

METÓDY ANALÝZY REÁLNYCH VZORIEK NA OBSAH EDTA A PREHĽAD JEJ VYUŽITIA V MODERNÝCH SEPARAČNÝCH METÓDACH

JANKA RÁ CZOVÁ a MILAN HUTTA

Katedra analytickej chémie, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského, Mlynská dolina CH-2, 842 15 Bratislava
raczova@fns.uniba.sk

Došlo 18.4.12, prijaté 14.9.12.

Kľúčové slová: kyselina etyléndiamíntetraoctová, cheláty, metódy analýzy, reálne vzorky

Obsah

1. Úvod
2. Metódy analýzy a detekcie pri analýze vzoriek na prítomnosť a obsah EDTA
 - 2.1. Kvapalinová chromatografia
 - 2.2. Plynová chromatografia
 - 2.3. Elektroanalytické metódy
 - 2.4. Iné metódy
3. Využitie EDTA ako zložky mobilných fáz
4. Záver

1. Úvod

Etyléndiamíntetraoctová kyselina (EDTA) bola prvýkrát opísaná v roku 1935 Ferdinandom Munzom, ktorý pripravil túto látku z 1,2-diaminoetánu a kyseliny chlóróctovej^{1,2}. Dnes je EDTA syntetizovaná z 1,2-diaminoetánu, formaldehydu a NaCN (cit.³). Produktom tejto syntézy je sodná soľ, ktorá môže byť pomocou silnej kyseliny (napr. HCl) prevedená na voľnú kyselinu. EDTA vyrobená touto cestou je znečistená najmä glycinom a kyselinou nitrilotrioctovou⁴.

EDTA tvorí stabilné, vodorozpustné komplexy s dvoj až štvormocnými iónmi kovov so stechiometriou 1:1 (cit.^{5,6}). Anión EDTA sa obvykle viaže na kation prostredníctvom svojich 2 aminorov a 4 karboxylátov, čiže sa jedná o hexadentátny ligand. EDTA je štvorsýtna kyselina, jej titračná krivka vykazuje celkom tri pufrčné oblasti⁷.

V analytickej chémii sa vlastnosť EDTA tvoriť stabilné cheláty definovaného zloženia stala základom komplexometrickej titrácií. Stálosť komplexov je závislá na hodnote pH, čiže voľbou pH je možné ovplyvniť komplexotvornú rovnováhu a tým aj selektivitu stanovenia. Vo všeobecnosti cheláty dvojmocných kationov kovov sú stále v alkalických alebo slabob alkalických prostrediach, kým cheláty troj- a štvormocných kovov dosahujú najvyššiu stabilitu v kyslých roztokoch⁸.

Aj keď EDTA má aj pufrčnú schopnosť, v priemyselnej aplikácii sa EDTA využíva takmer výhradne z pohľadu jej vynikajúcich komplexotvorných a chelátotvorných vlastností^{9–11}. Schopnosť EDTA rozpúšťať železité zrazeniny je veľmi užitočná napr. v poľnohospodárstve, pretože v prítomnosti EDTA sa zvyšuje biologická dostupnosť železa, najmä vo vápenatých pôdach.

2. Metódy analýzy a detekcie pri analýze vzoriek na prítomnosť a obsah EDTA

Medzi najcitlivejšie metódy stanovenia EDTA v biologických vzorkách patrila v posledných rokoch kapilárna elektroforéza s hmotnostnou spektrometriou (CE s MS) a monitorovaním vybranej reakcie (SRM-CE/MS)¹² ale používali sa aj iné metódy.

2.1. Kvapalinová chromatografia

Kvapalinová chromatografia (LC) je najčastejšie používanou metódou na stanovenie EDTA, pričom medzi analyzované vzorky patrili nealkoholické nápoje^{13–15}, odpadové vody^{16–18}, povrchové vody¹⁹, nefiltrované vody¹⁹, prírodné vody^{16,19,20–22}, sedimenty²², hnojivá²³, kotľové vody^{24,25}, pitné vody¹⁹, potraviny^{26–30}. V posledných rokoch tiež narastá záujem o použitie tohto chelatačného činidla pri separácii stopových kovov a pri analýze chelátov metódou reverzno-fázovej vysokoúčinnnej kvapalinovej chromatografie (RP-HPLC) alebo iónovej chromatografie (IC). Toto bolo uskutočnené použitím EDTA pri úprave vzorky^{31,32–36} a použitím roztokov EDTA ako zložiek eluentov^{37–45}.

Pomocou HPLC je možné EDTA stanoviť na koncentračných úrovniach niekoľko mg l⁻¹ v odpadových vodách a 2,0 až 100 µg l⁻¹ v prírodných vodách. Pre dosiahnutie detekčného limitu na úrovni 1,0 µg l⁻¹ (pre stanovenie EDTA v prírodných vodách) je nutný časovo náročný obohacovací krok (odparovanie vodnej matrice)^{19,46}. Na druhej strane, LC metóda (bez obohacovacieho kroku) je vhodná na analýzu napr. potravín, kde nie je nutná taká vysoká citlivosť. V publikovaných prácach bola najbežnejšie používaným detekčným princípom UV spektrofotometria. Chinnick⁴⁷ detekciu vykonal pri 760 nm kvôli matricovým interferenciám, ktoré sú spôsobené inými UV absorbujúcimi zlúčeninami a Dai a Helz¹⁶ analyzovali komplexotvorné látky v ich voľnej kyslej forme ampérometrickou detekciou kvôli minimalizovaniu interferencií iónov kovov. Je zaujímavé, že mnohí autori nedetegovali komplexy kovov s EDTA pri ich absorpčnom maxime^{17,23,30–32,48–50}. EDTA je možné stanoviť aj vo forme jej komplexov s kovmi napr. Cu(II)^{30,48,50} alebo Fe(III)^{17–20,22,23,51–56}.

V posledných 10 rokoch bolo publikovaných niekoľ-

ko článkov zaoberajúcich sa stanovením EDTA v rôznych maticiach metódou HPLC. Najnovšie články sa zaoberajú stanovením EDTA v morskej vode pomocou SPE a HPLC (cit.⁵⁷), stanovením EDTA vo vodných vzorkách pomocou ión-párovacej HPLC s MS (cit.⁵⁸), stanovením EDTA v nealkoholických nápojoch metódou HPLC (cit.⁵⁹), stanovením EDTA v kozmetických produktoch pomocou CE a HPLC (cit.⁶⁰). Ako vyplynulo z literatúry, v posledných rokoch boli najčastejšie používanými metódami na stanovenie obsahu EDTA v rôznych typoch vzoriek metódy HPLC alebo IC, pričom najviac sa stanovoval obsah EDTA vo vodných vzorkách a tieto metódy boli tiež využívané na analýzu obsahu EDTA v rôznych vodných vzorkách v kombinácii so spektrofotometrickou (UV)^{19,21,55,61–63}, elektrochemickou^{16,64}, fluorescenčnou^{65,66} alebo MS detekciou^{58,67,68}. Aktívne uhlie bolo často používané pre SPE hydrofilných zlúčenín vo vodných vzorkách^{69–72}. Stanovenie stopových koncentrácií EDTA v morskej vode je zložité kvôli vysokému obsahu solí v matici, ktoré môžu interferovať^{16,74,75}.

Z tu uvedených prác vyplýva, že LC metódy možno využiť na stanovenie EDTA v rozmanitých kvapalných maticiach, akými sú napríklad kotlová voda, riečna voda, odpadová voda, pitná voda ale aj v pevných maticiach (sedimenty, konzervovaná zelenina, atď.). V prípade analýzy prírodných vôd je však nutný obohacovací krok.

2.2. Plynová chromatografia

Plynová chromatografia (GC) vyžaduje, aby stanovená zlúčenina bola dostatočne prchavá, pričom samotná EDTA ani jej cheláty nespĺňajú toto kritérium lebo sú to polárne zlúčeniny. Prchavosť polárnych zlúčenín sa zvyšuje vytvorením esterov (metyl, etyl, propyl alebo butyl) alebo silylderivátov^{76,77}. Na rozdiel od silylácie tvorba esterov nevyžaduje striktné aprotické prostredie, a preto je jednoznačne preferovanou derivatizáciou pri stanovení EDTA, pričom sa najčastejšie uplatňuje tvorba metylesterov⁶¹. Schopnosť EDTA tvoriť stabilné komplexy s kovmi (najmä Fe³⁺) môže spôsobovať interferenciu pri derivatizácii nedostatočne upravených vzoriek pochádzajúcich z priemyselnej činnosti alebo z poľnohospodárstva, čo môže viesť k nízkym výtťažkom analytu. V mnohých štúdiách zaoberajúcich sa analýzou zložitých vzoriek sa interferencii vyvolanej iónmi kovov nevenovala dostatočná pozornosť. Najviac sa stanovovala EDTA vo vodných maticiach^{78–85}, ako sú odpadové^{17,86,87}, prírodné^{17,73–75,87} a riečne vody⁷⁴, ale tiež v jadrovom odpade⁸⁸, potravinách^{89,90}, vodnej pare⁹¹, sedimentoch a rybách⁹².

Na detekciu EDTA po GC separácii bol najčastejšie použitý plameňovo-ionizačný detektor (FID). Kvantifikácia EDTA je možná aj použitím selektívneho detektora na dusík a fosfor na princípe termoionizácie (NPD)^{76,93–96}, alebo pomocou MS⁷⁵, pričom tieto detektory poskytovali 3 až 10násobne nižšie detekčné limity v porovnaní s FID.

Na základe dostupných informácií je zrejme, že stanovenie EDTA metódou GC je vhodné, keď sa vyžaduje vysoká citlivosť, t.j. pre environmentálne vzorky, pretože

detekčné limity sú približne o tri dekadické poriadky nižšie než pri HPLC metódach všeobecne (bez použitia skoncentrovania analytu pred HPLC). V posledných rokoch sa od stanovenia EDTA metódou GC upustilo, zrejme kvôli časovo náročnej príprave vzorky.

2.3. Elektroanalytické metódy

V minulosti bolo vyvinutých iba zopár elektrochemických aplikácií pre stanovenie EDTA pomocou potencio-metrie a voltampérometrie^{97–100}. Medzi najbežnejšie elektrochemické metódy používané na stanovenie EDTA patri-li: polarografia^{101–103}, diferenčne pulzná polarografia^{104,105}, potenciometria^{106,107}, square-wave polarografia¹⁰⁸, diferenčne pulzná anodická stripping voltampérometria (DPASV)^{109,110}, diferenčne pulzná katodická stripping voltampérometria (DPCSV)¹¹¹, potenciometrická stripping analýza (PSA)¹¹² a square-wave voltampérometria (SW)¹¹³. V posledných rokoch môžeme vyzdvihnúť tie práce, ktoré sa zaoberali stanovením EDTA foriem vo vode metódou SW voltampérometrie^{113,114}. Dôvodom zvýšeného záujmu o stanovenie EDTA vo vodách pomocou elektroanalytických metód je to, že sú pomerne málo pracné, lacnejšie z hľadiska prístrojového vybavenia a tak aplikovateľné na analýzy vykonávané v reálnom čase.

2.4. Iné metódy

Spektrofotometrické stanovenie EDTA je založené na tvorbe komplexu EDTA s kovom a následnom meraní jeho množstva priamo alebo nepriamo. Uvedené metódy nie sú dosť citlivé pre stopovú analýzu, ale na druhej strane sú pomerne rýchle a jednoduché. Je dostupný značný počet článkov^{115–134} zameraných na stanovenie EDTA pomocou spektrofotometrického postupu (50. až 80. roky) ale pomerne málo článkov bolo publikovaných v 90. rokoch (cit.^{135–137}). Jedným z mála článkov, ktorý sa v posledných rokoch zaoberal stanovením EDTA metódami titračnej potencio-metrie a spektrofotometrie bolo stanovenie konštanty stability komplexu Cu(II) s EDTA¹³⁸. Ďalšími metódami, ktoré boli taktiež v minulosti používané na stanovenie EDTA, boli niektoré titračné metódy^{139–141}. Tieto však majú tieto nevýhody: rušenie ďalšími komplexotvornými látkami a nízku citlivosť.

Ďalšou metódou v minulosti používanou na stanovenie EDTA, bola kapilárna elektroforéza (CE). Táto metóda je vhodná na analýzu nabitých hydrofilných zlúčenín, (účinná separácia nezávislá od matrice) a bola tiež používaná na stanovenie komplexov alkalických kovov a kovov alkalických zemín s EDTA vo vzorkách vody, moču a séra^{142,143}. Aj niektoré ťažké kovy (Cr, Fe(III), Cu a Pb) boli v predchádzajúcich rokoch stanovené ako komplexy s EDTA v odpadových vodách¹⁴⁴. Napriek tomu, aplikáciám CE pre stanovenie EDTA v posledných rokoch už nebola venovaná dostatočná pozornosť. Jedným z mála článkov, ktoré sú v tejto oblasti publikované, je súčasné stanovenie EDTA, DTPA a NTA pomocou CE po komplexácii s Cu (cit.¹⁴⁵).

V posledných 10 rokoch prišlo k zníženiu záujmu o stanovenie EDTA v rôznych maticiach týmto metódami, čo môže byť spôsobené výraznou dominanciou separačných metód v modernej analytickej praxi.

Stručný prehľad analytických metód na analýzu obsahu EDTA v rôznych vzorkách je vyobrazený v tabuľke I.

3. Využitie EDTA ako zložky mobilných fáz

V posledných 10 rokoch je známych niekoľko publikácií, ktoré využívajú EDTA ako zložku mobilných fáz pri analýze veľkého počtu látok. EDTA pridávaná ako zložka do mobilných fáz bola použitá napríklad pri meraní katecholamínov v plazme ľudí a hlodavcov pomocou HPLC (cit.¹⁴⁸), pri meraní norepineprínu, 3-metoxy-4-hydroxy-fenylglykolu a 3,4-dihydroxyfenylglykolu v mozgovej kôre

Tabuľka I

Prehľad vybraných analytických metód na analýzu obsahu EDTA v rôznych vzorkách

Matrica	Metóda	Podmienky	Chelát EDTA s	Detekcia	LOD (LOQ)	Lit.
Morská voda	SPE + HPLC	2 RP kolóny sériovo (3 μm , 150 mm \times 4,6 mm); 50 °C; mobilná fáza: 0,1 mmol/l FeCl_3 a 5 mmol/l H_2SO_4 , pH 2,0; 1,0 ml/min, injektovaný objem 10 μl	Fe(III)	UV (260 nm)	LOQ 0,3 $\mu\text{g/l}$	57
Odpadové, povrchové a pitné vody	Ión-párovacia RPLC-ESI-MS/MS	fenyl-hexylová kolóna (2 \times 150 mm); gradient – A: MeOH/TR (10:90), B: MeOH/TR (95:5), TR: 1 mmol/l $\text{Bu}_3\text{N}^{\text{a}}$ a 1 mmol/l CH_3COOH ; 0,20 ml/min; 30 °C, injektovaný objem 50 μl	Fe(III)	ESI-MS/MS v negatívnom móde	LOQ 1,0 $\mu\text{g/l}$	58
Nealkoholické nápoje	RP-HPLC	C_{18} kolóna ^b , mobilná fáza: 10 mmol/l fosforečnan amónny, CH_3CN a 40% $\text{Bu}_4\text{NOH}^{\text{c}}$ (90:10:2); pH 2,42	–	UV (257 nm)	0,6 mg/l (2,0 mg/l)	59
Kozmetické produkty (sprchový gél, pena do kúpeľa)	CE + ión-párovacia RPLC	HPLC: C_{18} kolóna ^b , mobilná fáza: Me/TR (10:90, v/v), TR: 20 mmol/l $\text{Bu}_4\text{HSO}_4^{\text{d}}$, 15 mmol/l HCOONa ; pH 4,0; 0,8 ml/min; 25 °C CE: kremenná kapilára (50 cm \times 50 μm); elektrolyt: 10 mmol/l MES^{e} a MOPSO^{f} (pH 5.5); –25 kV	Fe(III)	HPLC: UV (240 nm) CE: UV (215 a 225 nm)	HPLC: 0,1 $\mu\text{mol/l}$ (0,25 $\mu\text{mol/l}$) CE: 25 $\mu\text{mol/l}$ (75 $\mu\text{mol/l}$)	60
Saponáty na riad, prírodné vody	HPLC	C_{18} kolóna ^b (250 mm \times 4,6 mm); 1,2 ml/min; 25 °C	Fe(III)	UV-VIS (254nm)	324 $\mu\text{mol/l}$	146
Saponáty na riad, prírodné vody	CE	kremenná kapilára (61 cm \times 75 μm); Elektrolyt: 80 mmol/l H_3PO_4 a TTAB^{g} 0,5 mmol/l; pH 7,1; –20 kV	Cu(II)	UV (191 nm a 254 nm)	0,03 mmol/l	145
Riečna, podzemná a pramenitá voda	Iónová chromatografia (IC)	gélová IC kolóna (150 mm \times 4,6 mm); 40 °C; mobilná fáza: 0,1 mmol/l AlCl_3 a 5 mmol/l $\text{CH}_3\text{SO}_3\text{H}$	Fe(III)	UV (260 nm)	1,5 nmol/l	147
Prírodné, odpadové a podzemné vody	SW voltampérometria	3 elektródy: sklená uhlíková elektróda, Pt elektróda a Ag/AgCl referenčná elektróda, elektrolyt: roztok HCl s pH 2,8 a 50 mmol/l NaCl; 25 °C	Fe(III)	UV	$2 \cdot 10^{-7}$ mol/l	113

^a Bu_3N – tributylamín, ^b C_{18} kolóna – oktadecylsilikagélková reverznofázová kolóna, ^c Bu_4NOH – hydroxid tetrabutylamónny, ^d Bu_4NHSO_4 – hydrogénsíran tetrabutylamónny, ^e MES – 2-(*N*-morfolino)etánsulfónová kyselina monohydrát, ^f MOPSO – 3-morfolino-2-hydroxypropánsulfónová kyselina, ^g TTAB – tetradecyltrimetylámónium bromid

a plazme potkanov pomocou HPLC s elektrochemickou detekciou¹⁴⁹, pri stanovení katecholamínov v nadobličke metódou HPLC s elektrochemickou detekciou¹⁵⁰, pri monitorovaní 4 tetracyklínových antibiotík v svaloch rýb s využitím SPME a HPLC (cit.¹⁵¹), pri analýze 2 nových chelatačných činidiel železa, ktoré pôsobia proti rakovine, metódou HPLC s DAD detekciou¹⁵², pri stanovení zvyškov štyroch tetracyklínov v mäse pomocou mikrobiologickej kontroly, HPLC a LC-MS-MS (cit.¹⁵³), pri špeciácii vanádu (IV a V) v minerálnej vode metódou aniónovo-výmennej LC-ICP-MS po ich komplexácii s EDTA (cit.¹⁵⁴), pri stanovení organických kyselín vyvíjaných počas fermentácie jablčného muštu metódou HPLC (cit.¹⁵⁵), pri stanovení difosfónových kyselín pomocou HPLC (cit.¹⁵⁶), pri stanovení klioichinolínu (5-chlór-7-jód-8-hydroxychinolín) v klioichinolínovom kréme metódou HPLC (cit.¹⁵⁷), pri stanovení kyseliny listovej, 5-metyltetrahydrofolátu a metotrexátu v ľudskej plazme pomocou HPLC (cit.¹⁵⁸), pri štúdiu racemizácie syneprínu použitím HPLC (cit.¹⁵⁹), pri stanovení dopamínu, serotonínu a ich metabolitov v mozgovo miešnom moku pomocou HPLC s elektrochemickou detekciou¹⁶⁰ a ešte pri mnohých iných.

Po preštudovaní veľkého počtu dostupných publikácií sme sa rozhodli študovať aj možnosti využitia EDTA ako zložky mobilnej fázy v analýze porfyrínov metódou RP-HPLC a taktiež študovať metódy aniónovo výmennej chromatografie na charakterizovanie pôdnych a rašelinových humínových látok^{161–163} rovnako ako študovať metódy iónovo-výmennej chromatografie na analýzu a charakterizáciu humínových kyselín s využitím EDTA ako mobilnej fázy¹⁶⁴.

4. Záver

Na záver môžeme povedať, že na stanovenie EDTA je možné využiť široké spektrum analytických metód ako napr. separačné metódy (najmä HPLC, GC), rovnako ako elektroanalytické, spektrofotometrické a titračné metódy. Z prezentovaných prác vyplýva, že chromatografické metódy sú mimoriadne vhodné na stanovenie EDTA vo vodných matriciach (s výnimkou prírodných vôd). Postup prípravy vzorky pre HPLC je jednoduchý a vo väčšine prípadov je dosiahnutá požadovaná selektivita a citlivosť a neboli pozorované žiadne významné matricové interferencie.

GC je tiež možné použiť na stanovenie obsahu EDTA a DTPA a je veľmi vhodná pre rutinné sledovanie týchto činidiel v prírodných vodách kvôli vysokej citlivosti. Avšak, GC metódy vyžadujú časovo náročný postup prípravy vzorky a navyše kvôli nutnej derivatizácii možno stanoviť iba celkovú koncentráciu chelatačných činidiel. V prípade relatívne vysokých koncentrácií analytu, napríklad v prípade potravín, detergentov alebo odpadových vôd sa javí ako výhodnejšie použiť LC namiesto GC, hlavne kvôli kompatibilitite vzorky so separačným systémom. Na druhej strane, existujú metódy, založené na DPASV, PSA a iných metó-

dach, ktoré sú veľmi dobre kompatibilné s chromatografickými metódami z hľadiska citlivosti a jednoduchosti. CE sa ukazuje tiež ako sľubná technika pre stanovenie EDTA a DTPA v rôznych matriciach.

V druhej časti sa článok zaoberá využitím EDTA ako zložky mobilných fáz pri LC separáciách alebo pri úprave vzoriek pred samotnou separáciou. Pri uvedených aplikáciách bola použitá EDTA výhradne ako komplexačné činidlo zabraňujúce nežiaducim vedľajším reakciám analytu s anorganickými zložkami matrice. Práce pochádzajúce z nášho kolektívu však poukazujú na to, že je možné využiť EDTA aj ako pH tlmiaču zložku mobilnej fázy pri zvýšení jeho koncentrácie a zvýšiť tak kontrolu nad dejmi dochádzajúcim v separačnom systéme.

Táto práca vznikla za finančnej podpory projektov VEGA 1/1349/12, APVV-0597-07 v rámci činnosti Centra excelentnosti VVCE-0070-07.

LITERATÚRA

1. http://en.wikipedia.org/wiki/Ethylenediaminetetraacetic_acid, stiahnuté 01.02. 2012.
2. Münz F.: Polyamino carboxylic acids to I. G. Farb- und Industrie, DE 718 981, 1935; US 2130 505, (1938).
3. http://www.chm.bris.ac.uk/motm/edta/synthesis_of_edta.htm, stiahnuté 01.02. 2012.
4. Roger Hart J.: Ethylenediaminetetraacetic Acid and Related Chelating Agents, v *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Wiley-VCH, Weinheim 2005.
5. <http://www.chm.bris.ac.uk/motm/edta/edta.htm>, stiahnuté 01.02. 2012.
6. Holleman A. F., Wiberg E.: *Inorganic Chemistry*. Academic Press, San Diego 2001.
7. Příbyl R.: *Komplexometrie*. SNTL, Praha 1977.
8. Berka A., Felzl L., Němec I.: *Příručka k praktiku z kvantitativní analytické chemie*, Kap. 6, SNTL, Alfa, Praha 1985.
9. Furia T.: *Food Technol.* 18, 1874 (1964).
10. Lanigan R. S., Yamarik T. A.: *Int. J. Toxicol.* 21, 95 (2002).
11. www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/2006/ucm108636.htm, stiahnuté 01.02. 2012.
12. Sheppard R. L., Henion J.: *Anal. Chem.* 69, 477 (1997).
13. Loyaux-Lawniczak S., Douch J., Behra P.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 364, 727 (1999).
14. Cagnasso C. E., López L. B., Rodriguez G., Valencia M. E.: *J. Food Comp. Anal.* 20, 248 (2006).
15. Sillanpää M., Sihvonen M. L.: *Talanta* 44, 1487 (1997).
16. Dai J., Helz G. R.: *Anal. Chem.* 60, 301 (1988).
17. Randt C., Wittlinger R., Merz W.: *Fresenius J. Anal. Chem.* 346, 728 (1993).
18. Randt C., Klein J., Merz W.: *Vom Wasser* 84, 61 (1995).

19. Bergers P. J. M., de Groot A. C.: *Water Res.* 28, 639 (1994).
20. Harmen J., Van Den Toorn A.: *J. Chromatogr.* 249, 379 (1982).
21. Buchberger W., Haddad P. R., Alexander P. W.: *J. Chromatogr.* 558, 181 (1991).
22. Nowack B., Kari F. G., Hilger L. S.: *Anal. Chem.* 68, 561 (1996).
23. Gucht I. V.: *J. Chromatogr., A* 671, 359 (1994).
24. Venezky D. L., Rudzinski W. E.: *Anal. Chem.* 56, 315 (1984).
25. Hardy K. A. S., Cooper J. C., Ayres T. K., Rudzinski W. E.: *Proc.- Int. Water Conf., Eng. Soc. West. Pa.* 46, 245 (1985).
26. Perfetti G. A., Warner C. L.: *J. – Assoc. Off. Anal. Chem.* 62, 1092 (1979).
27. Yamaguchi A., Yamaguchi T., Shiroishi Y., Shimizu Y., Takasugi N.: *Shokuhin Eiseigaku Zasshi* 26, 253 (1985).
28. Hamano T., Mitsuhashi Y., Tanaka K., Matsuki Y., Tonogai Y., Nakamura K., Ito Y.: *Shokuhin Eiseigaku Zasshi* 26, 630 (1985).
29. Aihara M., Okada S.: *Fukuoka Joshi Daigaku Kaseigakubu Kiyo* 18, 73 (1987).
30. De Jong J., Van Polanen A., Driessen J. J. M.: *J. Chromatogr.* 553, 243 (1991).
31. Stålberg O., Arvidsson T.: *J. Chromatogr., A* 684, 213 (1994).
32. Knox J. H., Shibukawa M.: *J. Chromatogr.* 545, 123 (1991).
33. Jen J.-F., Chen C.-S.: *Anal. Chim. Acta* 270, 55 (1992).
34. Schöppenthau J., Dunemann L.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 349, 794 (1994).
35. Jen J. F., Yang S. M.: *Anal. Chim. Acta* 289, 97 (1994).
36. Taylor D. L., Jardine P. M.: *J. Environ. Qual.* 24, 789 (1995).
37. Matsushita S.: *J. Chromatogr.* 312, 327 (1984).
38. Tanaka T.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 320, 125 (1985).
39. Marina M. L., Diez-Masa J. C., Dabrio M. V.: *J. High Res. Chromatogr. Chromatogr. Comm.* 9, 300 (1986).
40. Lien W., Boerner B. K., Tarter J. G.: *J. Liq. Chromatogr.* 10, 3213 (1987).
41. Schwedt G., Kondratenok B.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 332, 855 (1989).
42. Nitsch A., Kalcher K., Posch U.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 338, 618 (1990).
43. Yan D., Schwedt G.: *J. Chromatogr.* 516, 383 (1990).
44. Marina M. L., Andres P., Diez-Masa J. C.: *Chromatographia* 35, 621 (1993).
45. Götze H.-J., Bialkowski D.: *Fresenius' Z. Anal. Chem.* 323, 350 (1986).
46. Nowack B., Kari F. G., Hilger S. U., Sigg L.: *Anal. Chem.* 68, 561 (1996).
47. Chinnick C. C. T.: *Analyst* 106, 1203 (1981).
48. Göttlicher U., Siegfied R., Birke H.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 352, 398 (1995).
49. Weiss J., Hägele G.: *Fresenius' Z. Anal. Chem.* 328, 46 (1987).
50. Unger M., Mainka E., König W.: *Fresenius' Z. Anal. Chem.* 329, 50 (1987).
51. Cassidy R. M., Elchuk S.: *Anal. Chem.* 57, 615 (1985).
52. Inman E. L., Clemens R. L., Olsen B. A.: *J. Pharm. Biomed. Anal.* 8, 513 (1990).
53. Richardson D. E., Ash G. H., Harden P. E.: *J. Chromatogr., A* 688, 47 (1994).
54. Yamaguchi A., Rajput A. R., Ohzeki K., Kambara T.: *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 56, 2621 (1983).
55. Yamaguchi A., Toda A., Ohzeki K., Kambara T.: *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 56, 2949 (1983).
56. Huber V. W.: *Acta Hydrochim. Hydrobiol.* 20, 6 (1992).
57. Kemmeia T., Kodama S., Fujishima H., Yamamoto A., Inoued Y., Hayakawa K.: *Anal. Chim. Acta* 709, 54 (2012).
58. Quintana J. B., Reemtsma T.: *J. Chromatogr., A* 1145, 110 (2007).
59. Cagnasso C. E., López L. B., Rodríguez V. G., Valencia M. E.: *J. Food Compos. Anal.* 20, 248 (2007).
60. Katata L., Nagaraju V., Crouch A. M.: *Anal. Chim. Acta* 579, 177 (2006).
61. Sillanpää M., Kokkonen R., Sihvonen M. L.: *Anal. Chim. Acta* 303, 187 (1995).
62. Dodi A., Bouscarel M.: *LC-GC Eur.* 19, 542 (2006).
63. Kemmei T. S., Muramoto T., Fujishima H., Yamamoto A., Inoue Y., Hayakawa K.: *J. Chromatogr., A* 1216, 1109 (2009).
64. Krokidis A. A., Megoulas N. C., Koupparis M. A.: *Anal. Chim. Acta* 535, 57 (2005).
65. Ye L., Lucy C. A.: *J. Chromatogr., A* 739, 307 (1996).
66. Ruiz T. P., Lozano C. M., Garcia M. D.: *J. Chromatogr., A* 1169, 151 (2007).
67. Dodi A., Monnier V.: *J. Chromatogr., A* 1032, 87 (2004).
68. Knepper T. P., Werner A., Bogenschutz G.: *J. Chromatogr., A* 1085, 240 (2005).
69. Kadokamivkoga M., Otsuki A.: *Anal. Sci.* 6, 843 (1990).
70. Slobodnik J., Oztezkizan O., Brinkman U. A. Th., Lingeman H.: *J. Chromatogr., A* 750, 227 (1996).
71. Kawata K., Ibaraki T., Tanabe A., Yagou H., Shinoda A., Suzuki H., Yasuhara A.: *J. Chromatogr., A* 911, 75 (2001).
72. Hayama T., Yoshida H., Todoroki K., Nohta H., Yamaguchi M.: *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 22, 2203 (2008).
73. Sillanpää M., Sorvari J., Sihvonen M. L.: *Chromatographia* 42, 578 (1996).
74. Wanke V. T., Eberle S. H.: *Acta Hydrochim. Hydrobiol.* 20, 192 (1992).

75. Nishikawa Y., Okumura T.: *J. Chromatogr., A* 690, 109 (1995).
76. Subach D. J., James J. E.: *J. High Resolut. Chromatogr. Chromatogr. Commun.* 3, 309 (1980).
77. Sniegowski P. J., Venezky D. L.: *J. Chromatogr. Sci.* 12, 359 (1974).
78. Gardiner J.: *Analyst* 102, 120 (1977).
79. Cassidy R. M., Harpur R., Elchuk S.: *J. Chromatogr.* 190, 188 (1980).
80. Dietz F.: *Wasser-Abwasser* 128, 286 (1987).
81. Ribick M. A., Jemal M., Cohen A. I.: *J. Pharm. Biomed. Anal.* 5, 687 (1987).
82. Schürch S., Dündendorfer G.: *Mitt. Geb. Lebensmittelunters. Hyg. Band* 80, 324 (1989).
83. Otteneder H., Schleser B.: *Lebensmittelchemie* 46, 87 (1992).
84. Nguyen D. K., Bruchet A., Arpino P.: *J. High Res. Chromatogr.* 17, 153 (1994).
85. Pietsch J., Schmidt W., Sacher F., Fichtner S., Brauch H. J.: *Fresenius' Z. Anal. Chem.* 353, 75 (1995).
86. Rudling L.: *Water Res.* 6, 871 (1972).
87. Momoki K., Sakamoto T.: *Bull. Fac. Eng., Yokohama Natl. Univ.* 33, 51 (1984).
88. Toste A. P., Lechner-Fish T. J.: *Waste Management* 13, 237 (1993).
89. Williams D. T.: *J. – Assoc. Off. Anal. Chem.* 57, 1383 (1974).
90. Retho C., Diep L.: *Z. Lebensm.-Unters. Forsch.* 188, 223 (1989).
91. Sniegowski P. J., Venezky D. L.: *J. Chromatogr. Sci.* 12, 359 (1974).
92. Nishikawa Y., Okumura T.: *J. Chromatogr., A* 690, (1995) 109.
93. Alder A. C., Siegrist H., Gujer W., Giger W.: *Water Res.* 24, 733 (1990).
94. Kari F. G., Giger W.: *Water Res.* 30, 122 (1995).
95. Xue H., Sigg L., Kari F. G.: *Environ. Sci. Technol.* 29, 59 (1995).
96. Lee H. B., Peart T. E., Kaiser K. L. E.: *J. Chromatogr., A* 738, 91 (1996).
97. Horacek J., Pribil R.: *Talanta* 16, 1495 (1969).
98. Yoshimura T.: *Fresenius' Z. Anal. Chem.* 305, 364 (1981).
99. Yoshimura T.: *Fresenius' Z. Anal. Chem.* 307, 197 (1981).
100. Yoshimura T.: *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 55, 2056 (1982).
101. Barbolani E. B.: *Inquinamento* 16, 19 (1974).
102. Kitagawa T., Kanei Y.: *Bunseki Kagaku* 19, 482 (1979).
103. Nomura T., Nakagawa G.: *J. Electroanal. Chem.* 111, 319 (1980).
104. Stolzberg R. J.: *Anal. Chim. Acta* 92, 139 (1977).
105. Stolzberg R. J.: *Electrochem. Stud. Biol. Syst. Symp.* 38, 194 (1977).
106. Hadjiioannou T. P., Koupparis M. A., Efstathiou C. E.: *Anal. Chim. Acta* 88, 281 (1977).
107. Milwidsky B. M.: *Soap. Cosmet. Chem. Spec.* 47, 46 (1971).
108. Stojek Z., Osteryoung J.: *Anal. Chem.* 53, 847 (1981).
109. Voulgaropoulos A., Valenta P., Nurnberg H. W.: *Fresenius' Z. Anal. Chem.* 317, 367 (1984).
110. Voulgaropoulos A., Tzivanakis N.: *Electroanalysis* 4, 647 (1992).
111. Ciszowska M., Stojek Z.: *Talanta* 33, 817 (1986).
112. Fayyad M., Tutunji M., Taha Z.: *Anal. Lett.* 21, 1425 (1988).
113. Zhao Ch., Pan Y., Su Y., Zhang Z., Guo Z., Sun L.: *Water Res.* 37, 4270 (2003).
114. Zhao Ch., Pan Y., He Ch., Guo Z., Sun L.: *Anal. Sci.* 19, 607 (2003).
115. Darbey A.: *Anal. Chem.* 24, 373 (1952).
116. Bersin T., Schwarz H.: *Schweiz. Med. Wochschr.* 83, 765 (1953).
117. Seris G.: *Ann. Falsif. Expert. Chim.* 47, 29 (1954).
118. Cherney P. J., Crafts B., Hagermoser H. H., Boyle A. J., Habin R., Zak B.: *Anal. Chem.* 26, 1806 (1954).
119. Menis O., House H. P., Rubins B.: *Anal. Chem.* 28, 1439 (1956).
120. Vogel J., Deshusses J.: *Mitt. Geb. Lebensmittelunters. Hyg.* 53, 175 (1962).
121. Brady G. W. F., Gwilt J. R.: *J. Appl. Chem. (London)* 12, 79 (1962).
122. Mosher R. E., Burcar P. J., Boyle A. J.: *Anal. Chem.* 35, 403 (1963).
123. Saito K., Hasuo T., Nakano H.: *Nippon Jozo Kyokai Zasshi* 63, 1193 (1968).
124. Bruno E., Calapaj R., Sergi G.: *Ann. Fac. Econ. Commer., Univ. Studi Messina* 7, 3 (1969).
125. Wallace R. M., Hinton J. F.: *Anal. Chim. Acta* 51, 536 (1970).
126. Bhattacharyya S. N., Kundu K. P.: *Talanta* 18, 446 (1971).
127. Kaiser K. L. E.: *Water Res.* 7, 1465 (1973).
128. Nikolelis D. P., Hadjiioannou T. P.: *Anal. Chim. Acta* 97, 111 (1978).
129. Ternero M., Pino F.: *Anal. Chim. Acta* 109, 401 (1979).
130. Qureshi S. Z., Bansal R.: *Fresenius' Z. Anal. Chem.* 308, 32 (1981).
131. Yamaguchi A., Ohzeki K., Kambara T.: *Fresenius' Z. Anal. Chem.* 310, 30 (1982).
132. Raya-Saro T., Perez-Bendito D.: *Analyst* 108, 857 (1983).
133. Yamaguchi A., Ohzeki K., Kambara T.: *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 56, 2293 (1983).
134. Rios A., Valcarcel M.: *Analyst* 109, 1147 (1984).
135. Parkash R., Bansal R.: *Anal. Lett.* 23, 1159 (1990).
136. Itabashi H., Umetsu K., Teshima N., Satoh K., Kawashima T.: *Anal. Chim. Acta* 261, 213 (1992).
137. Hamano T., Mitsushashi Y., Kojima N., Aoki N., Shibata M., Ito Y., Oji Y.: *Analyst* 118, 909 (1993).
138. Karaderi S., Bilgic D., Dölen E., Pekin M.: *Rev.*

- Inorg. Chem. 27, 459 (2007).
139. Clinckemaille G. G.: Anal. Chim. Acta 43, 520 (1968).
 140. Vanderdeelen J., Van Der Hende A.: Chim. Anal. 50, 237 (1968).
 141. Blijenberg B. G., Leijnse B.: Clinica Chim. Acta 26, 577 (1969).
 142. Motomizu S., Oshima M., Matsuda S., Obata Y., Tanaka H.: Anal. Sci. 8, 619 (1992).
 143. Wang T., Li S. F. Y.: J. Chromatogr., A 707, 343 (1995).
 144. Baraj B., Martinez M., Sastre A., Aguilar M.: J. Chromatogr., A 695, 103 (1995).
 145. Laamanen P. L., Mali A., Matilainen R.: Anal. Bioanal. Chem. 381, 1264 (2005).
 146. Laine P., Matilainen C. R.: Anal. Bioanal. Chem. 382, 1601 (2005).
 147. Kemmei T., Kodama S., Yamamoto A., Inoue Y., Hayakawa K.: Chromatographia 65, 229 (2007).
 148. Ueyama J., Kitaichi K., Iwase M., Takagi K., Takagi K., Hasegawa T.: J. Chromatogr., B 798, 35 (2003).
 149. Sastre E., Nicolay A., Bruguierolle B., Portugal H.: J. Chromatogr., B 801, 205 (2004).
 150. Sanchez A., Toledo-Pinto E. A., Menezes M. L., Pereira O. C. M.: Pharmacol. Res. 50, 481 (2004).
 151. Wen Y., Wang Y., Feng Y. Q.: Talanta 70, 153 (2006).
 152. Mrkvičková Z., Kovaříková P., Klimeš J., Kalinowski D., Richardson D. R.: J. Pharm. Biomed. Anal. 43, 1343 (2007).
 153. Kanda M., Kusano T., Osanai T., Ushiyama K., Takeba K., Sakamoto M., Hayashi H., Nagayama T.: J. Food Hyg. Soc. Jpn. 49, 37 (2008).
 154. Aureli F., Ciardullo S., Pagano M., Raggi A., Cubadda F.: J. Anal. Atom. Spectr. 23, 1009 (2008).
 155. Zhang H., Zhou F., Ji B., Nout R. M. J., Fang Q., Yang Z.: Eur. Food Res. Technol. 227, 1183 (2008).
 156. Pérez-Ruiz T., Martínez-Lozano C., García-Martínez M. D.: J. Chromatogr., A 1216, 1312 (2009).
 157. Jiang Y. H., Li X. J., Geng J., Zhang Y.: Chinese J. New Drugs 18, 1888 (2009).
 158. Zhang C. Y., Gu J.: Chinese Pharm. J. 45, 543 (2010).
 159. Pellati F., Cannazza G., Benvenuti S.: J. Chromatogr., A 1217, 3503 (2010).
 160. Hubbard K. E., Wells A., Owens T. S., Tagen M., Fraga C. H., Stewart C. F.: Biomed. Chromatogr. 24, 626 (2010).
 161. Ráčzová J.: *Diplomová práca*. Univerzita Komenského, Bratislava 2008.
 162. Pessl J.: *Diplomová práca*, Univerzita Komenského, Bratislava 2010.
 163. Hutta M., Pessl J., Ráčzová J.: *18. Medzinárodná vedecká konferencia Analytické metódy a zdravie človeka, Bratislava, 11-14 Okt. 2010*, Zborník príspevkov (bez editora), str. 206 (Plenary Lecture).
 164. Ráčzová J.: *Rigorózná práca*. Univerzita Komenského, Bratislava 2011.

J. Ráčzová and M. Hutta (*Department of Analytical Chemistry, Faculty of Natural Sciences, Comenius University, Bratislava, Slovak Republic*): **Methods of Analysis of Real Samples for EDTA and Review of Their Utilization in Modern Separations**

This article reviews the determination of EDTA in various samples (including natural and waste waters) by LC, GC, electroanalytical, spectrophotometric and other methods. EDTA is poorly degraded in waste water treatment plants, significant amounts of EDTA are released into natural waters, which can cause environmental damage by heavy metal leaching. It was shown that LC methods compared with GC offers better compatibility with aqueous samples at the cost of higher detection limits. The use of EDTA as a mobile phase component in LC separation methods is reviewed. EDTA was used as a complexation agent preventing unwanted side reactions of the analyte with the matrix, thus minimizing possible interferences.