

УДК 614.3

*Л.С. Егорова, А.М. Кандаурова***Тест-определение нитрата в пищевых продуктах***L.S. Egorova, A.M. Kandaurova***Nitrate Test in Foodstuff**

Предложены тест-системы для определения нитрат-ионов в пищевых продуктах по интенсивности окраски индикаторных полос. Данные тест-методы можно использовать для простого и быстрого контроля нитрата в реальных объектах.

Ключевые слова: тест-методы, химические реакции и реагенты, тест-полоски, интенсивность окраски, стандартная цветовая шкала, дифениламин.

Стремление к удешевлению и упрощению процедуры анализа в аналитической химии достигается за счет разработки средств экспресс-контроля, в том числе и тест-методов. На протяжении столетий химический анализ осуществлялся в лабораториях. Сегодня химический анализ постепенно перемещается из лаборатории к анализируемому объекту. Перенос образцов заменяется переносом информации. В 1767 г. для обнаружения кислот или щелочей Льюис описал способ получения лакмусовой бумаги. В настоящее время разработкой тест-методов занимаются ряд ученых: Э. Юнграйс, Г. Шведт, В.Г. Амелин, Ю.А. Золотов, В.М. Иванов и др. Анализ «на месте» имеет много достоинств. Экономятся время и средства на доставку проб в лабораторию и лабораторный анализ. При анализе «на месте» снижаются требования к квалификации исполнителя, поскольку используются более простые средства анализа. Часто анализ в стационарной лаборатории вообще не выполняем, поскольку за время доставки образца в лабораторию изменяется форма существования аналита. Анализ «на месте» происходит в режиме реального времени, это позволяет без промедления начать действия по устранению источников и/или последствий загрязнения, не дожидаясь проведения анализа в лаборатории. Тест-методы получили распространение в различных областях: экспресс-контроль технологических процессов, обнаружение метана в угольных шахтах, быстрый анализ почв, контроль пищевых продуктов на рынках, обнаружение алкоголя в выдыхаемом водителем воздухе, домашнее определение сахара в крови и моче диабетиков, оперативный анализ воды, в том числе питьевой, непосредственно потребителем и многое другое [1, с. 902].

**ВРЕДНОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ НИТРАТОВ
НА ОРГАНИЗМ ЧЕЛОВЕКА**

В нашей стране впервые заговорили о нитратах в 1970-х гг., когда в Узбекистане случилось несколько массовых желудочно-кишечных отравлений арбузами

Test systems for definition of nitrate-ions in foodstuff using intensity of test-strips colouring are offered. The given test methods can be used for the simple and fast control of nitrate in real objects.

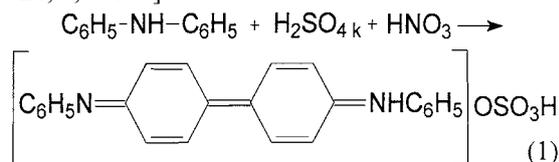
Key words: test methods, chemical reactions and reagents, test-strips, intensity of coloring, standard color scale, difenilamin.

при чрезмерной подкормке последних аммиачной селитрой. В мировой науке о нитратах знали гораздо раньше. Они обладают токсичностью для человека и сельскохозяйственных животных. Нитраты под воздействием фермента нитратредуктазы восстанавливаются до нитритов, которые взаимодействуют с гемоглобином крови, окисляя 2-валентное железо в 3-валентное. В результате образуется метгемоглобин, который уже не способен переносить кислород. Тканевая гипоксия нарушает нормальное дыхание клеток и тканей организма, в результате чего накапливаются молочная кислота, холестерин и резко падает количество белка. Особенно опасны нитраты для грудных детей, так как их ферментная основа несовершенна, восстановление метгемоглобина в гемоглобин идет медленно. Нитраты способствуют развитию патогенной кишечной микрофлоры, которая выделяет в организм человека токсины, вызывая его отравление. Признаки нитратных отравлений у человека следующие: синюшность ногтей, лица, губ и видимых слизистых оболочек, тошнота, желтизна белков глаз, головные боли, повышенная усталость, сонливость, снижение работоспособности, одышка, усиленное сердцебиение, вплоть до потери сознания. Нитраты влияют на возникновение раковых опухолей в желудочно-кишечном тракте человека.

МЕТОДИКА ОПРЕДЕЛЕНИЯ НИТРАТА

Для определения нитрат-аниона предложена качественная химическая специфическая реакция на анион третьей аналитической группы – нитрат-ион [2, с. 124–125; 3, с. 254]. Выбор методики обусловлен следующими причинами: доступность используемых реактивов, отсутствие сложной, дорогостоящей аппаратуры, простота выполнения, экспрессность. В качестве носителя использована стеклоткань – экологически чистый материал, обладающий высокой стойкостью к разложению и механическому износу, он долговечен, прочен, сочетает в себе пористость

структуры и гидрофильность, не притягивает пыль, не обладает статистическим зарядом. Степень удержания реагентов на стеклоткани выше (70–90%), чем на бумаге (40–50%). Носитель готовят путем однократной пропитки в 4–5 каплях раствора дифениламина в концентрированной серной кислоте. В присутствии нитрат-ионов появляется интенсивно синяя окраска вследствие окисления дифениламина образующейся азотной кислотой до имониевых солей дифенилбензидина (схема реакции Кермана) (1) [4, с. 324; 5, с. 137]:

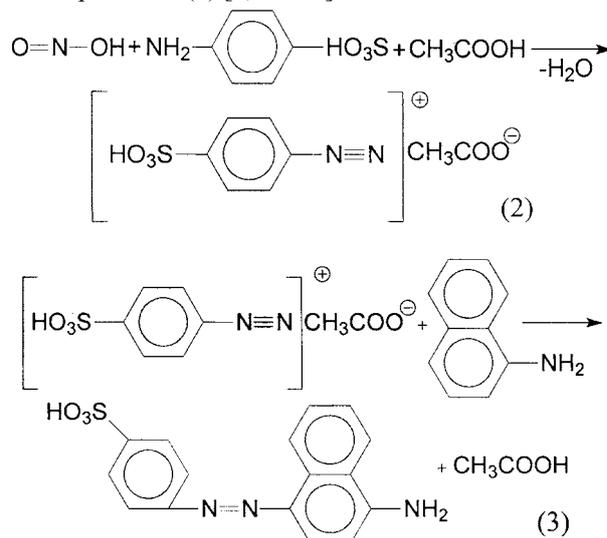


В литературе существует описание этой реакции, но описание химизма не встречается. Носитель, пропитанный в сернокислом растворе дифениламина, закрепляли 0,3% раствором желатина, высушивали в потоке теплого воздуха, нарезали полосами размером 12 x 30 мм. Носитель не изменяет своих свойств в течение двух месяцев при хранении в эксикаторе (в темном месте). Для создания стандартной цветовой шкалы использовали ГСО состава нитрат-ионов. Рабочие растворы меньших концентраций: 0,10; 0,15; 0,20; 0,25; 0,30; 0,35 и 0,40 мг/л готовили последовательным разбавлением исходного раствора дистиллированной водой. При контакте полученного носителя с рабочими растворами наблюдались появление окраски и ее изменение в зависимости от концентрации компонента. Окраска изменялась от бледно-голубой до ярко-синей. Индикаторные полосы использовали для определения нитрата в яблоках. Для анализа брали свежесжатый сок [6, с. 4–5]. 10 мл сока перенесли в колбу на 25 мл и довели дистиллированной водой до метки. Тест-полосу опускали в 15 мл полученного раствора на 1 с и затем наблюдали ее цвет после высушивания на воздухе через 1 мин. Интенсивность окраски реакционной зоны полосы оценивали по стандартной цветовой шкале. Время анализа составляет 3–5 мин. Параллельно одни и те же пробы анализировали дополнительно фотометрическим методом [7, с. 546].

**ФОТОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД
ОПРЕДЕЛЕНИЯ НИТРАТОВ
И НИТРИТОВ ПО ISO 13395.
СУЩНОСТЬ МЕТОДА**

ISO 13395 устанавливает метод определения нитритов, нитратов или их суммарного содержания в различных типах вод – грунтовых, поверхностных, сточных, а также в питьевой воде. Система может быть адаптирована для анализа проб пищевых продуктов (водной вытяжки). Сущность метода заключается в восстановлении нитрата в нитрит с помощью металлического кадмия с последующим определением окрашенного соединения, полученного после ряда реакций

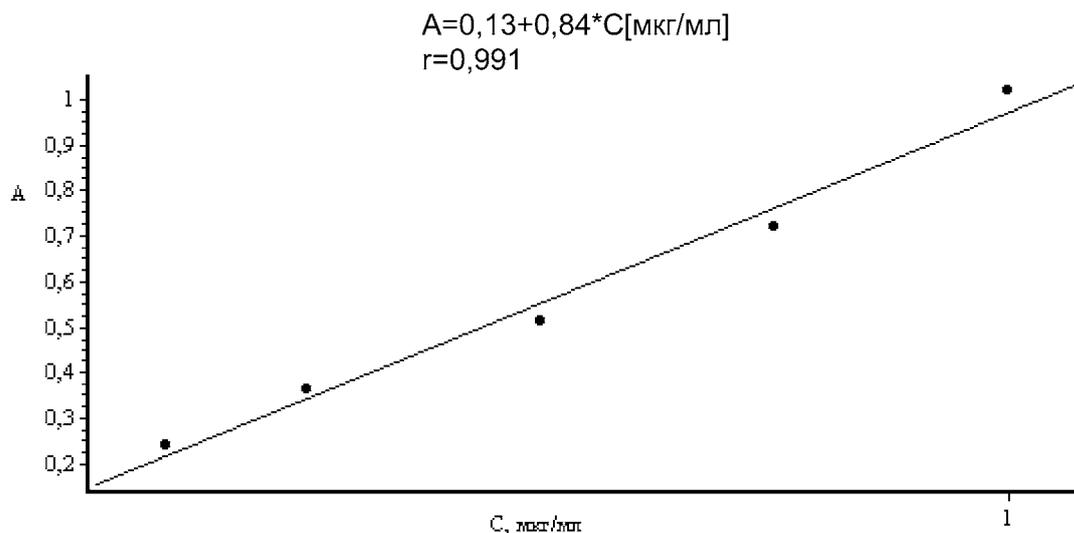
с участием нитрита. Содержание нитрита в пробе устанавливают без обработки кадмиевым восстановителем. Реакция проходит в две стадии: при действии на сульфаниловую кислоту нитрита, переходящего в уксуснокислой среде в азотистую кислоту, образуется диазосоединение (фенилдиазонийсульфоуксусная кислота) (2), которое реагирует с α-нафтиламином, превращаясь в азокраситель (3) [7, с. 547]:



Реакция относится к числу наиболее чувствительных колориметрических реакций и дает возможность обнаружить 0,5 мкг N/л (чувствительность метода). Точность метода 3–5%. Данный метод позволяет определять без разбавления до 0,3 мг NO₂ /л. При больших концентрациях исследуемую пробу рекомендуется разбавлять. Высокая чувствительность метода требует тщательного предохранения применяемых в анализе реактивов и бидистиллированной воды от загрязнения нитритами.

ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

Система должна быть оборудована колонкой с кадмиевым восстановителем с эффективностью 90%. Кадмиевая колонка (редуктор с амальгамой кадмия) представляет собой трубку высотой около 40 см, с внутренним диаметром 10 см. В верхней части трубки желательнее воронкообразное расширение для удобного наполнения трубки жидкостью. Для приготовления амальгамы кадмия берут 100 г гранулированного кадмия, очищают поверхность гранул, обрабатывая ее 1 н хлористоводородной кислотой, затем промывают водой и для стабилизации погружают в раствор сульфата меди с концентрацией 2,5 г/л (при этом поверхность гранул становится черной). Полученный амальгированный кадмий промывают достаточным объемом дистиллированной воды и наполняют им трубку редуктора, на дно которого предварительно помещают слой стеклянной ваты. Переносят амальгированный кадмий в трубку вместе с дистиллированной водой и заливают его водой так, чтобы она покрывала кадмий и в колонке не было пузырьков



Зависимость оптической плотности от концентрации нитрит-ионов

воздуха. Амальгама кадмия должна заполнять 1/3 трубки. Анализируемый раствор пропускают через редуктор со скоростью 4 мл/мин. Первые несколько миллилитров прошедшего через редуктор раствора отбрасывают, далее находят содержание нитрит-ионов фотометрическим методом. Метод применяется для анализа нитрат-ионов в концентрациях от 0,002 до 0,5 мг/л. Мешают взвешенные вещества и мутность, поэтому перед анализом пробу фильтруют. Мешают также фосфат-ионы в концентрациях, превышающих 100 мг/л. Присутствующие в пробе нитриты проходят через редуктор без изменения. Их анализируют отдельно и результат вычитают из результата определения нитратов. Не мешают хлориды (до 50 мг), фториды (до 25 мг), сульфаты (до 25 мг), сульфиты (до 10 мг), фосфаты (до 25 мг) и бораты (до 1 мг). Недостатком этого метода является низкая скорость прохождения анализируемого раствора через кадмиевую колонку [7, с. 546–548].

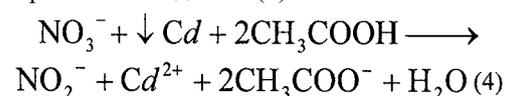
ПОСТРОЕНИЕ ГРАДУИРОВОЧНОГО ГРАФИКА

Для приготовления стандартных растворов использовали ГСО состава нитрит-ионов. Для приготовления рабочего раствора 5 мл основного раствора переносили в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводили водой до метки и перемешивали. Из полученного раствора готовили серию стандартных растворов в мерных колбах на 25 мл для построения градуировочного графика с концентрацией 0,20; 0,40; 0,60; 0,80 и 1,00 мкг/мл. Затем последовательно во все колбы приливали по 1 мл реактива Грисса, растворы в колбах доводили дистиллированной водой до метки и через 30 мин после развития окраски выполняли фотометрирование. Измеряли поглощающую способность красного раствора на спектрофотометре при длине волны 540 нм с зеленым светофильтром в кювете с толщиной 1 см в отношении раствора сравнения.

По полученным данным строили градуировочный график. На оси абсцисс откладывали концентрацию нитрит-иона (в мкг в 1 мл окрашенного раствора); на оси ординат – соответствующую оптическую плотность [7, с. 546–548]. Градуировочный график представлен на рисунке.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

В мерные колбы вместимостью 25 мл помещали 10 мл водной вытяжки яблок и груш, добавляли 1 мл реактива Грисса, растворы в колбах доводили дистиллированной водой до метки и через 30 мин после развития окраски фотометрировали. Концентрацию нитрата/нитрита устанавливали по градуировочному графику. Для определения нитрат-ионов анализируемый раствор пропускали через кадмиевую колонку, состоящую из стеклянной трубки, заполненной амальгамированным кадмием (4):



По разности концентраций в пробе нитрата/нитрита и нитрит-ионов, найденных по градуировочному графику, определяли содержание нитрат-ионов в анализируемом объекте [7, с. 546–548]. Результаты анализа представлены в таблице. Предельно допустимое содержание нитрата в яблоках и грушах – 60 мг/кг. Можно сделать вывод, что лишь один объект не превышает предельно допустимого уровня. Недостатком предложенного метода является то, что реакция дифениламина в концентрированной серной кислоте характерна также для NO_2^- ; CrO_4^{2-} ; MnO_4^- ; Fe^{3+} ; $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ и других окислителей, имеющих весьма высокий стандартный потенциал. Но, как показывает опыт, при низких концентрациях эти ионы не дают реакции с дифениламином. Основной недостаток обнаружения нитратов параллельным методом – необходимость их восстанавливать. Однако при

Результаты определения нитрата в яблоках (n = 3, P = 0,95)

Объект анализа	Сектор торговли	Найдено тест-методом, мг/г	Найдено фотометрическим методом, мг/г
Образец 1	«Мария-Ра»	0,090 ± 0,003	0,088 ± 0,002
	Рынок «Старый базар»	0,100 ± 0,005	0,118 ± 0,006
Образец 2	«Мария-Ра»	0,045 ± 0,004	0,044 ± 0,001
	Рынок «Старый базар»	0,065 ± 0,007	0,061 ± 0,003

Примечание. Образец 1 – яблоки «Фуши», Китай; образец 2 – яблоки «Гала», Италия.

избытке восстановителя возможно восстановить нитраты до аммиака, который уже определяется реактивом Несслера.

Таким образом, предложен новый экспресс-метод анализа нитрат-иона с дифениламино, ранее применяемый лишь для качественного обнаружения. Установлено, что оптимальные условия проведения реакции в растворах совпадают с условиями сорбции определяемых ионов на модифицированных органическими реагентами носителях. Учтены требования к аналитическим реагентам: контрастность цветовой шкалы, высокая скорость взаимодействия с определяемым компонентом, прочное удерживание реагента

в порах стеклоткани. Наличие стандартной цветовой шкалы и индикаторных полос позволяет определять содержание нитрата в пищевых продуктах. Конечно, тест-метод не может соперничать по точности с инструментальными методами анализа. Однако, как уже было отмечено, он обладает рядом преимуществ: простотой, экспрессностью, нет сложной аппаратуры. Следует также подчеркнуть, что при его использовании нет необходимости в проведении длительной пробоподготовки и поиске способов устранения влияния мешающих компонентов. Предлагаемый метод позволяет значительно повысить наглядность анализа, получить оперативную информацию о качестве объекта.

Библиографический список

1. Амелин В.Г. Химические тест-методы определения компонентов жидких сред // Журнал аналитической химии. – 2000. – Т. 55, №9.
2. Алексеев В.Н. Курс качественного химического полумикроанализа. – М., 1973.
3. Крешков А.П. Основы аналитической химии. – М., 1976.
4. Каррер П. Курс органической химии. – 2-е изд., перераб. и доп. – Л., 1962.
5. Аверина А.В., Снегирева А.Я. Лабораторный практикум по органической химии : учеб. пособие для техникумов. – М., 1980.
6. ГОСТ 26929-94. Сырье и продукты пищевые. Подготовка проб. Минерализация для определения содержания токсичных элементов. Введ. 1996-01-01. – М., 1996.
7. Фомин Г.С. Вода. Контроль химической, бактериальной и радиационной безопасности по международным стандартам : энциклопед. справ. – 2-е изд., перераб. и доп. – М., 2000.