

*Л.С. Егорова, А.М. Кандаурова*

## Тест-определение нитрита в пищевых продуктах

*L.S. Egorova, A.M. Kandaurova*

### Nitrite Test for Foodstuff

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

**Ключевые слова:** тест-методы, химические реакции и реагенты, реактивные индикаторные бумаги, интенсивность окраски, стандартная цветовая шкала.

Одной из важнейших тенденций развития современной аналитической химии является стремление к удешевлению и упрощению процедуры анализа, это возможно за счет разработки методов и средств экспресс-контроля, к числу которых могут быть отнесены и тест-методы. На протяжении столетий, со времен алхимиков, химический анализ осуществлялся в лабораториях. Благодаря тест-системам химический анализ перемещается из лаборатории к анализируемым объектам. Перенос образцов заменяется переносом информации.

Трудно установить, кто первый использовал твердофазные реакции на бумаге для аналитических целей. По-видимому, наиболее ранний пример был опубликован Льюисом в 1767 г. – для обнаружения кислот или щелочей. В настоящее время ряд ученых занимаются разработкой тест-методов: 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 на сам лабораторный анализ (конечно, более дорогой). При анализе «на месте» обычно снижаются требования к квалификации исполнителя, поскольку используются более простые средства анализа. Но главное заключается в том, что часто анализ в стационарной лаборатории вообще невыполним или не имеет никакого смысла, поскольку, например, изменяются формы существования компонентов. Анализ «на месте» происходит в режиме реального времени, это позволяет без промедления начать действия по устранению источников и/или последствий происшествия, не дожидаясь проведения анализа в лаборатории и соответствующих лабораторных данных.

Во многих случаях тест-методы используют для предварительной оценки наличия и содержания компонентов. Эти полуколичественные методы получили

Test systems for definition of nitrite-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 nitrite in real objects.

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

огромное 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 воздухе водителя, домашнее определение сахара в крови и моче диабетиков, оперативный анализ воды, в том числе питьевой, непосредственно потребителем и многое другое [1, с. 902].

#### Методика определения нитрита

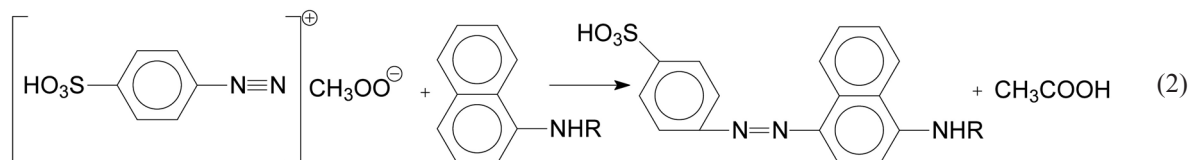
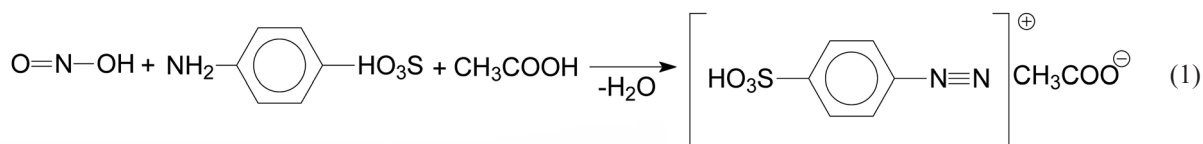
При проведении исследований за основу взята методика В.М. Островской для анализа почв и сточных вод, в несколько видоизмененной форме. В методике, предложенной указанным автором [1, с. 889; 2, с. 199], в качестве носителя использовалась бумага марки F со впитывающей способностью 40 мм/мин, которая заменена на фильтровальную бумагу «Красная лента» со впитывающей способностью 30 мм/мин. Предлагаемый  $\alpha$ -нафтиламин заменен на N-(1-нафтил)-этилендиамин. N-(1-нафтил)-этилендиамин обладает рядом преимуществ перед канцерогенным  $\alpha$ -нафтиламином:

- N-(1-нафтил)-этилендиамин не имеет неприятного запаха, подобного запаху более летучего 1-нафтиламина;

- он более труднорастворим;

- обладает значительно большей устойчивостью к окислению и разложению, что особенно заметно при хранении на воздухе и на свету, и, как следствие, большей устойчивостью при хранении как в таре, в адсорбированном виде на бумаге, так и в продуктах его азосочетания.

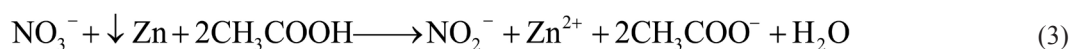
В основе применяемого тест-метода лежит реакция Грисса – реакция диазотирования и азосочетания с образованием азокрасителя:



где  $\text{R} = \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{NH}_2$ .

Оптимальной для проведения реакции выступает кислая среда ( $\text{pH}=2-4$ ) [3, с. 275]. В случае появления при смешивании растворов розовой окраски добавля-

ли цинковую пыль. При действии цинка в присутствии уксусной кислоты нитрат-ионы восстанавливаются до нитрит-ионов [4, с. 484]:



При изготовлении индикаторных полос применен метод закрепления реагентов с помощью 0,3%-го раствора желатина, который препятствует вымыванию реагента с поверхности носителя, что ранее не использовалось в предложенной методике. Индикаторная бумага не изменяет своих свойств в обычных условиях две недели, если над осушителем – до двух месяцев.

Для создания стандартной цветовой шкалы использовали ГСО состава нитрит-ионов. Рабочие растворы меньших концентраций: 0,05; 0,10; 0,20; 0,30; 0,40; 0,50; 0,60 мг/л готовили последовательным разбавлением исходного раствора дистиллированной водой. При контакте индикаторных бумаг с рабочими растворами наблюдались появление окраски и ее изменение в зависимости от концентрации определяемого компонента. Окраска изменялась от бледно-розовой до красной. Индикаторную бумагу использовали для определения нитрит-ионов в мясных продуктах. Соли нитритов добавляют в готовую мясную продукцию с целью улучшения ее потребительских свойств (они придают этой продукции розовый мясной цвет), а также для более длительного хранения (нитриты натрия и калия обуславливают цвет, вкус и аромат мясных изделий, ингибируют рост микрофлоры и образование токсинов в мясопродуктах). Это пищевые добавки Е 249-Е 252 [5, с. 6].

Пробоподготовка проводилась методом квартования [6, с. 3; 7, с. 8]. Затем пробы дважды измельчали на мясорубке с отверстиями решетки диаметром от 3 до 4 мм. 5 г пробы, подготовленной к анализу, помещали в химический стакан. Заливали 30 мл дистиллированной воды, нагретой до  $(55 \pm 2)^\circ\text{C}$ . Стакан с содержимым нагревали на кипящей водяной бане, периодически перемешивая, в течение 5 мин. Затем вытяжку фильтровали через ватный фильтр, не перенося осадка на фильтр. Тест-полосу опускали в 20 мл полученного «обезбелоченного» фильтрата на

1 с и наблюдали ее цвет после высушивания на воздухе через 1 мин. Интенсивность окраски реакционной зоны оценивали по стандартной цветовой шкале. Время анализа составляет 10–15 мин. Параллельно одни и те же пробы анализировали дополнительно фотометрическим методом [8, с. 15].

#### Фотометрический метод определения нитрита по ГОСТ 8558.1-78

##### Сущность метода

Настоящий стандарт распространяется на мясные продукты всех видов, при изготовлении которых применяют нитрит, а также на рассолы и посолочные смеси и устанавливает методы определения нитрита.

Первый метод основан на реакции нитрита с N-(1-нафтил)-этилендиамин дигидрохлоридом и сульфаниламидом в «обезбелоченном» фильтрате и последующем фотоколориметрическом или визуальном определении интенсивности окраски.

При фотоколориметрическом определении интенсивности окраски метод соответствует международному стандарту ISO 2918-75 и применяется при разногласиях в оценке качества.

Второй метод основан на реакции Грисса. В качестве параллельного метода использован первый метод определения нитрита [8, с. 19].

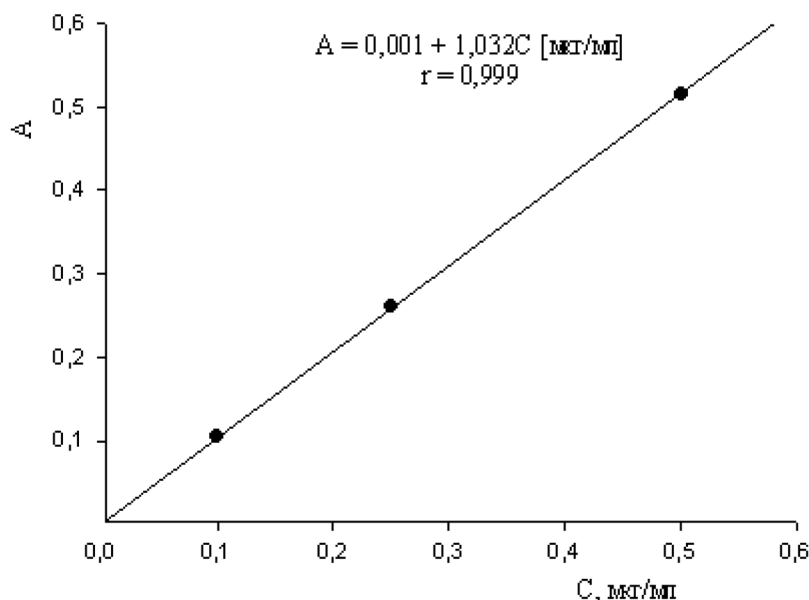
##### Построение градуировочного графика

В четыре мерные колбы вместимостью 50 мл пипеткой вносят: в первую колбу для сравнения 5 мл воды, а в остальные – по 5 мл стандартных растворов, содержащих 1,0; 2,5 и 5,0 мкг нитрит-иона в 1 мл раствора соответственно.

В каждую колбу добавляют по 25 мл воды, 5 мл раствора 1 для проведения цветной реакции. Растворы в колбах перемешивают и выдерживают в темном месте 5 мин. Добавляют 1 мл раствора 2 для проведения цветной реакции, перемешивают и снова выдерживают в темном месте при  $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$  3 мин.

Растворы в колбах доводят водой до метки и перемешивают. Измеряют интенсивность красной окраски на спектрофотометре при длине волны 540 нм с зеленым светофильтром в кювете с толщиной поглотившего свет слоя 1 см относительно раствора сравнения.

По полученным средним данным по трем стандартным растворам строят градуировочный график. На оси абсцисс откладывают концентрацию нитрит-ионов (в мкг в 1 мл окрашенного раствора), на оси ординат – соответствующую оптическую плотность [8, с. 20]. Градуировочный график представлен на рисунке.



Зависимость оптической плотности от концентрации нитрит-ионов

### Проведение анализа

В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 5 г подготовленной к анализу пробы, добавляют последовательно 2,5 мл насыщенного раствора буры и 50 мл воды (температура воды  $(75 \pm 2)$  °С). Колбу с содержимым нагревают на кипящей водяной бане 15 мин, периодически встряхивая, затем охлаждают до  $(20 \pm 2)$  °С, тщательно перемешивая, последовательно добавляют по 1 мл реактива Карреза 1 и реактива Карреза 2, доводят до метки и выдерживают 30 мин при  $(20 \pm 2)$  °С. Затем содержимое колбы фильтруют через складчатый фильтр «Черная лента». Получен-

ный «обезбелоченный» фильтрат вносят в количестве не более 5 мл пипеткой в мерную колбу вместимостью 50 мл, проводят цветную реакцию и фотометрирование, используя вместо стандартных растворов указанное выше количество «обезбелоченного» фильтрата. Параллельно осуществляют контрольный опыт на реактивы, помещая в мерную колбу вместимостью 100 мл вместо 5 г пробы 5 мл воды [8, с. 20]. Результаты анализа представлены в таблице. Массовая доля нитрит-ионов не должна превышать 0,005% [5, с. 10]. Из таблицы следует, что образцы 2 и 5 содержат нитрит-ионы больше допустимого значения.

Результаты определения нитрит-ионов в мясных продуктах (n=3, P=0,95)

Объект анализа	Найдено тест-методом, % ( $10^3$ )	Найдено фотометрическим методом, % ( $10^3$ )	Срок реализации при t хранения от 0 до +6 °С и относительной влажности 75±5%
Образец 1	2,0 ± 0,3	1,5 ± 0,6	30 суток
Образец 2	5,2 ± 0,2	5,0 ± 0,9	15 суток
Образец 3	3,5 ± 0,5	3,0 ± 0,7	72 часа
Образец 4	4,0 ± 0,1	3,2 ± 0,3	60 суток
Образец 5	5,5 ± 0,2	6,0 ± 0,1	30 суток

Примечание: образец 1 – колбаса московская вареная, высший сорт, охлажденная. ГОСТ Р 52196-2003; образец 2 – колбаса краковская копченая. ГОСТ 16351-86; образец 3 – окорок копчено-вареный. ТУ 9213-186-01597945-03; образец 4 – шпик соленый по-домашнему. ГОСТ ОСТ 4938-85; образец 5 – шпик копченый. ГОСТ ОСТ 4938-85.

В данной работе предпринята попытка адаптации известного тест-метода определения нитрит-ионов в сточных водах и водной вытяжке почв для анализа пищевых продуктов. Методика модифицирована следующим образом: вместо бумаги марки F использована фильтровальная бумага «Красная лента» с лучшей впитывающей способностью, канцерогенный реагент заменен на его производное, отвечающее всем требованиям к импрегнируемому на бумаге реактиву. 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 удержива-

ние реагента в порах бумаги. Наличие стандартной цветовой шкалы и индикаторных полос позволяет выявлять содержание нитрита в пищевых продуктах. Конечно, данный метод не может соперничать по точности с другими методами анализа, поскольку является полуколичественным. Однако он обладает рядом неоспоримых преимуществ: простотой, экспрессностью, отсутствием сложной аппаратуры. Следует также отметить, что при его использовании нет необходимости в проведении длительной пробоподготовки и поиске способов устранения влияния мешающих компонентов. Предлагаемый метод позволяет значительно повысить наглядность анализа по сравнению с контролируемым методом, получить оперативную информацию о качестве анализируемого объекта.

### Библиографический список

1. Амелин В.Г. Химические тест-методы определения компонентов жидких сред // Журнал аналитической химии. – 2000. – Т. 55, №9.
2. Островская В.М. Вода индикаторные системы. – М., 2002.
3. Крешков А.П. Основы аналитической химии. – М., 1976.
4. Алексеев В.Н. Курс качественного химического полумикроанализа. – М., 1973.
5. ГОСТ 16290-86. Характеристики на мясные продукты. Введ. 1993-01-01. – М., 1993.
6. ГОСТ 9792-73. Отбор и подготовка проб колбасных изделий. – Введ. 1993-01-01. – М., 1993.
7. ГОСТ 26929-94. Сырье и продукты пищевые. Подготовка проб. Минерализация для определения содержания токсичных элементов. – Введ. 1996-01-01. – М., 1996.
8. ГОСТ 8558.1-78. Продукты мясные. Методы определения нитрита. – Введ. 1993-01-01. – М., 1993.