

*В.В. Носкова, С.В. Темерев*

**Применение расслаивающейся системы  
вода – антипирин – сульфосалициловая кислота  
в химическом мониторинге нитрит-ионов\***

*V.V. Noskova, S.V. Temerev*

**Application of Stratified System  
Water – Antipyrine – Sulfosalicylic Acid  
in the Chemical Monitoring of Nitrite Ions**

Нитрит-ионы – лабильные токсиканты природных систем, питьевых вод и пищевых продуктов. Цель работы – продемонстрировать возможности извлечения системой *вода – антипирин – сульфосалициловая кислота* нитрит-ионов из водных растворов для стабилизации и концентрирования.

Показана эффективность извлечения нитрит-ионов с помощью расслаивающейся системы *вода – антипирин – сульфосалициловая кислота*. Путем концентрирования *in situ* методом «введено-найденно» и спектрофотометрически на модельных системах определены степень извлечения ( $96,3 \pm 0,3\%$ ) и коэффициент концентрирования ( $129 \pm 5$ ) нитрит-ионов.

**Ключевые слова:** расслаивающая система, органическая фаза, нитрит-ионы, экстракция.

Негативное воздействие нитритов и нитратов на организм человека доказано давно. Опасные последствия для человека, в том числе рак и метгемоглобинемию [1], вызывают нитриты, восстанавливающиеся из нитратов воды и пищи при хранении, кулинарной обработке и в пищеварительном тракте человека под действием разнообразных микроорганизмов, в том числе и необходимых для человека. Во многих продуктах питания (свекле, колбасных изделиях, яблоках, капусте и т.д.) содержится большое количество нитритов и нитратов [2]. Нитриты – лабильные компоненты химического состава, требуют аккуратного соблюдения условий подготовки образцов к анализу. Сильные окислители окисляют нитриты до нитратов, восстановители, напротив, восстанавливают нитриты до аммиака. В настоящей работе показана возможность извлечения нитрит-ионов из водных растворов с помощью расслаивающейся системы *вода – антипирин – сульфосалициловая кислота*. Система использует фармакопейные препараты,

Nitrite ions are labile toxicants for natural systems, drinking water and food.

Aim of this research is to demonstrate the possibility to extract nitrite ions from water solutions by the system *water – antipyrine – sulfosalicylic acid* for stabilization and concentration. This study shows the efficiency of extraction of nitrite ions by bottom system *water – antipyrine – sulfosalicylic acid*. By means of concentrating nitrite ions “*in situ*” using methods “*added–identified*” and spectrophotometry on model systems the researchers determines the degree of extraction ( $96,3 \pm 0,3\%$ ) and concentration factor ( $129 \pm 5$ ) for nitrite-ions.

**Key words:** bottom system, organic phase, nitrite ions, the extraction.

требует малые объемы образца, не токсична с позиций «зеленой химии», позволяет «законсервировать» нестабильные нитрит-ионы *in situ* в органической фазе в форме молекул азотистой кислоты для последующего инструментального определения. Нитрат-ионы после расслаивания остаются в водной фазе и определяются традиционными методиками. Концентраты нитрит-ионов можно доставлять на большие расстояния без потерь нитритов и нитратов.

**Методика и техника эксперимента**

*Серная кислота* концентрированная (ГОСТ 4204-77). *Спирт этиловый* (ГОСТ 18300-72). *Салициловая кислота* (2-оксибензойная) техническая ГОСТ 624-70: в колбу на 100 мл вносим 5 г салициловой кислоты и доводим до метки 96<sup>0</sup> этиловым спиртом. *Натрий гидроксид* технический, массовая доля едкого натра не менее 98,5% (ГОСТ 2263-79): в колбу на 100 мл вносили 5 г гидроксида натрия и доводили до метки дистиллированной водой. *Нитрат-ион* ГСО 6094-91, концентрация 0,95–1,05 мг/см<sup>3</sup>. *Антипирин* – фар-

\* Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 11-03-98001\_п\_Сибирь\_а №01201169015).

макопейный препарат. Сульфосалициловая кислота двухводная чистая (ГОСТ 4478-78). Реактив Грисса (МРТУ 6-09-3085-66, марка ч.д.а.): в колбе на 50 мл смешивали 25 мл 12% уксусной кислоты и 2,5 г сухого реактива Грисса (сульфаниловая кислота и  $\alpha$ -нафтиламин в соотношении 2:1). Кадмиевая колонка (ТУ 6-09-5434-88, марка ч.): для приготовления амальгамы кадмия 100 г гранулированного кадмия очищали, обрабатывая поверхность гранул 1 н хлороводородной кислоты, затем промывали дистиллированной водой и для стабилизации погружали в раствор сульфата меди с концентрацией 2,5 г/л. Полученный амальгамированный кадмий промывали водой и наполняли им трубку редуктора, на дно которого предварительно помещали слой стеклянной ваты. Переносили амальгамированный кадмий в трубку вместе с дистиллированной водой, заливали его водой так, чтобы вода покрывала его, а в колонке не было пузырьков воздуха. Амальгама кадмия должна заполнить треть трубки. Восстановление нитратов до нитритов с помощью амальгамы кадмия обеспечивается на  $91 \pm 2\%$  [3]. Нитрит-ион (ГСО 7479-98), концентрация 0,95–1,05 мг/см<sup>3</sup>. Нитрат-ион (ГСО 6094-91), концентрация 0,95–1,05 мг/см<sup>3</sup>.

Спектрофотометр SPEKOL 11: однолучевой спектрофотометр, оснащенный микропроцессором и монохроматором (прецизионная дифракционная решетка с 651 штр./мм). Плавная регулировка диапазона длин волн: 340...850 нм. Ширина спектральной полосы – 11 нм.

Пипетки по ГОСТ 20292-74 вместимостью 1, 2, 5 и 10 мл. Мерные колбы по ГОСТ 1770-74 вместимостью 25, 50, 100 мл.

Метод определения нитритов основан на фотометрическом измерении интенсивности окраски азосоединения розово-малинового цвета, образующегося при реакции нитритов с  $\alpha$ -нафтиламином и сульфани-

ловой кислотой (реактив Грисса) в кислой среде после их извлечения водой из исследуемых проб. Реакция специфична для нитритов [4]. Сульфаниловая кислота реагирует с нитрит-ионами с образованием соответствующего диазосоединения, которое сочетается с  $\alpha$ -нафтиламином, образуя азокраситель, имеющий пурпурную окраску. Интенсивность окраски возрастает по закону Бера в границах от 10 до 600 мкг/л в расчете на NO<sub>2</sub><sup>-</sup> (от 3 до 180 мкг/л в расчете на азот) при толщине слоя жидкости в кювете 1 см,  $\lambda = 530$  нм. Молярный коэффициент поглощения  $\epsilon = 3,3 \cdot 10^4$ .

Метод определения нитратов основан на извлечении их из исследуемых проб, количественном восстановлении нитратов (с помощью гранулированного кадмия или цинковой пыли) в нитриты и последующем определении нитритов реактивом Грисса.

#### Метрологическая характеристика метода

Предел обнаружения нитритов составляет 0,05 мг/кг (мг/л), правильность определения нитритов  $90 \pm 10\%$ .

Предел обнаружения нитратов составляет 0,05 мг/кг (мг/л), степень восстановления нитратов до нитритов  $83 \pm 17\%$  [5].

Приготовление рабочего раствора нитрит-ионов. Раствор готовили из ГСО 7479-98 (концентрация 0,95–1,05 мг/см<sup>3</sup>) в колбе на 100 см<sup>3</sup>. Для этого из ГСО брали аликвоту 0,7 мл и переносили в колбу на 100 мл и доводили до метки дистиллированной водой. Рабочий раствор имел концентрацию 7 мкг/мл. Построения градуировочного графика для нитрит-ионов: в 6 мерных колб на 25 мл из рабочего раствора нитрит-иона брали аликвоты 0,00; 3,00; 3,50; 4,00; 4,50; 5,00 мл. Доводили до метки дистиллированной водой. Затем в каждую колбу приливали 1 мл реактива Грисса и перемешивали. Через 30 минут выполняли фотометрирование в кювете на 1 см при длине волны 540 нм относительно «холостого» раствора (1 мл реактива Грисса в 25 мл воды) (рис. 1).

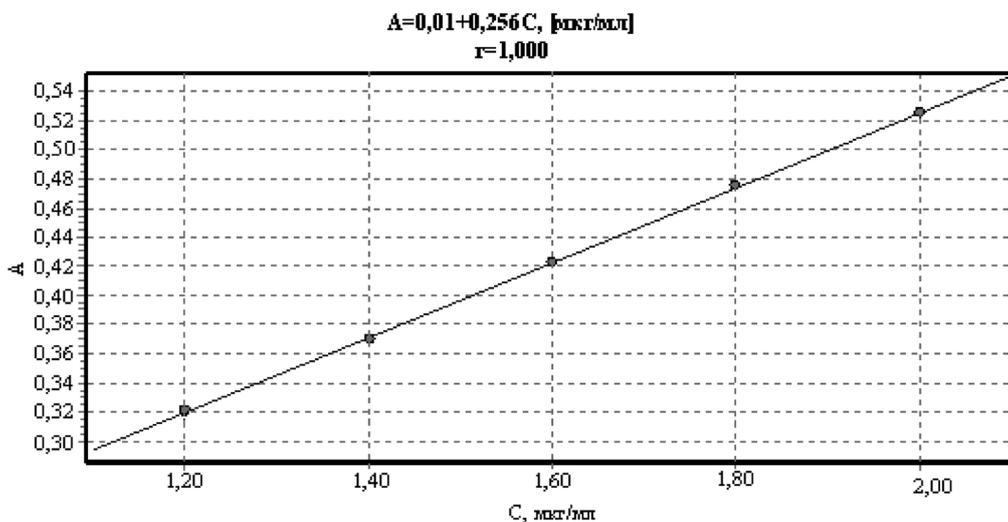


Рис. 1. Градуировочный график модельных растворов ГСО нитрит-ионов

*Приготовление рабочего раствора нитрата:* готовили стандартный раствор нитрат-иона из ГСО 6094-91 (концентрация 0,95–1,05 мг/см<sup>3</sup>). Для этого в колбу на 100 см<sup>3</sup> добавляли 1 мл ГСО и доводили до метки дистиллированной водой. После перемешивания получили рабочий раствор с концентрацией 10,0 мкг/мл (10,0 мг/л). *Построение градуировочного графика для нитрат-ионов:* полученный стандартный раствор пропускали через кадмиевую колонку со скоростью 4 мл/мин. Первые несколько миллилитров прошедшего через редуктор раствора отбрасывали, далее определяли содержание нитрат-ионов таким же способом, как и нитрит-ионов (рис. 2).

В инициативном порядке выполнен независимый контроль нитратов и нитритов образцов яблок (n = 19)

и колбас (n = 20) стандартным фотометрическим методом с реактивом Грисса с использованием восстановительной колонки из амальгамы кадмия. Выявлены устойчивые превышения существующих норм по нитритам в сортах «Медовые» и «Джонаголд» и по нитратам в яблоках из Китая и Бельгии. Практически во всех образцах вареных колбас по результатам исследования водных колбасных вытяжек установлены значительные превышения величин ПДК нитритов и нитратов. Результаты мониторинговых исследований мотивировали к разработке унифицированного способа извлечения нитритов в органическую фазу *in situ* путем расслоения в системе вода – антипирин – сульфосалициловая кислота на нижнюю органическую и верхнюю водную фазы, которые исследовали отдельно, как описано ниже.

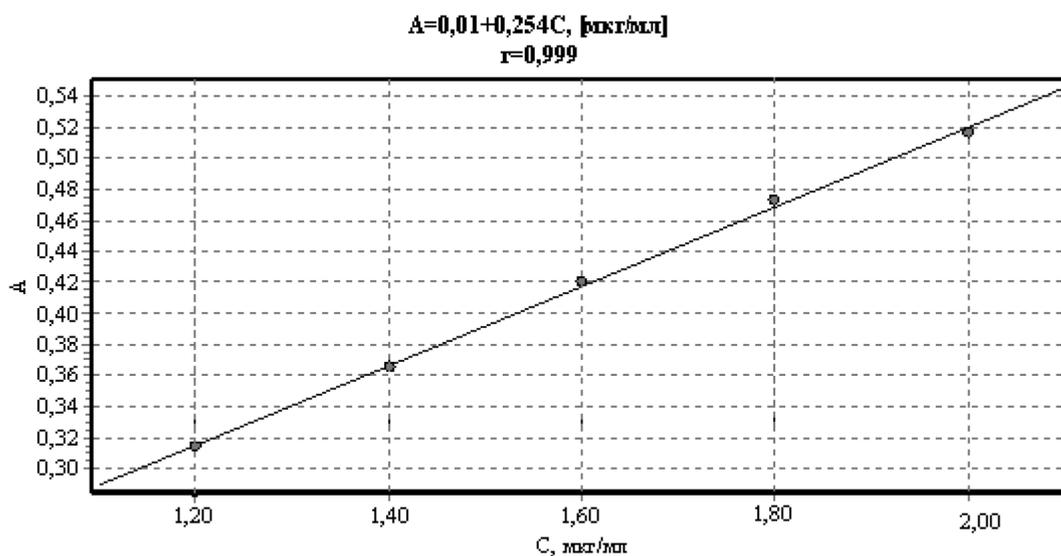


Рис. 2. Градуировочный график модельных растворов ГСО нитрат-ионов

*Приготовление расслаивающейся системы вода – антипирин – сульфосалициловая кислота:* в мерной центрифужной пробирке смешивали 1,0 г антипирина (фармакопейный препарат) и 0,5 г сульфосалициловой кислоты (ч.д.а.) (мольное соотношение реагентов около 2:1). В образовавшуюся смесь добавляли 4 мл воды (соотношение водной фазы к органической 4:1, табл. 1). После перемешивания формировалась расслаивающаяся система. При взаимодействии антипирина и сульфосалициловой кислоты образовывался сульфосалицилат антипирина. Таким образом, готовили расслаивающуюся систему в 5 мерных градуированных пробирках. Для этого в каждую пробирку вносили 1,0 г антипирина и 0,5 г сульфосалициловой кислоты. Далее в каждую пробирку вносили соответственно 0,00; 7,00; 10,50; 14,00; 17,50 мкг нитрит-иона из рабочего раствора. Далее добавляли воды так, чтобы общий объем воды и стандартного раствора нитрита составлял 4 мл. После перемешивания отделяли ор-

ганическую фазу от водной, добавляли в последнюю 0,3 мл реактива Грисса, перемешивали и через 30 мин фотометрировали при  $\lambda=540$  нм относительно «холостого» раствора (контрольный опыт). Эффективность извлечения рабочих растворов ГСО нитрит-ионов представлена в таблице 2.

Таблица 1

Объемы водной и органической фаз в различных пробирках

Номер пробирки	Объем, мл		
	общий	водной фазы	органической фазы
1	5,00	4,10	0,90
2	5,00	4,20	0,80
3	5,10	4,20	0,90
4	5,10	4,30	0,80
Контроль	5,00	4,10	0,90

Таблица 2  
Метрологические характеристики расслаивающейся системы вода – антипирин – сульфосалициловая кислота

Введено NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> , мкг.	Найдено NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> , мкг		R, %	D
	в водной фазе	в органической фазе		
7,00	0,06	6,94	96,5	126
10,50	0,08	10,42	96,1	130
14,00	0,11	13,89	96,4	126
17,50	0,13	17,37	96,1	132
			96,3±0,3	129±5

Дополнительно исследовали оптическое пропускание органической фазы исследуемой системы. Для этого готовили расслаивающуюся систему в 6 мерных градуированных пробирках на 25 мл. В каждую пробирку вносили удвоенные количества реагентов 2,0 г

антипирина и 1,0 г сульфосалициловой кислоты. Вносили в систему соответственно добавки 0,00; 1,30; 1,50; 1,80; 2,00; 2,50 мг/мл рабочего раствора нитрит-ионов. При этом общий объем воды в системе – 8 мл при соотношении фаз водной к органической 8:2 = 4:1 (см. табл. 1). После расслаивания отделяли органическую фазу (ОФ) от водной. Спектр пропускания ОФ регистрировали в области от 333 до 714 нм на Specord UV-Vis [6–7] в кварцевой кювете толщиной 0,2 см относительно «контрольной» ОФ. Обобщающий рисунок 3 спектров поглощения и результаты обработки данных представлены в таблице 3. Оптимальная длина волны определения нитрит-ионов в ОФ предлагаемой системы – 365 нм.

На рисунке 4 представлен градуировочный график для нитрит-ионов, концентрирующихся в органическую фазу модельных систем, удовлетворяющей линейной корреляции в пределах оптимальности  $A = 0,2 + 0,3 C(\text{NO}_2^-)[\text{мг/мл}]$  (0,992) и величине коэффициента экстинкции (табл. 3) в пределах 400.

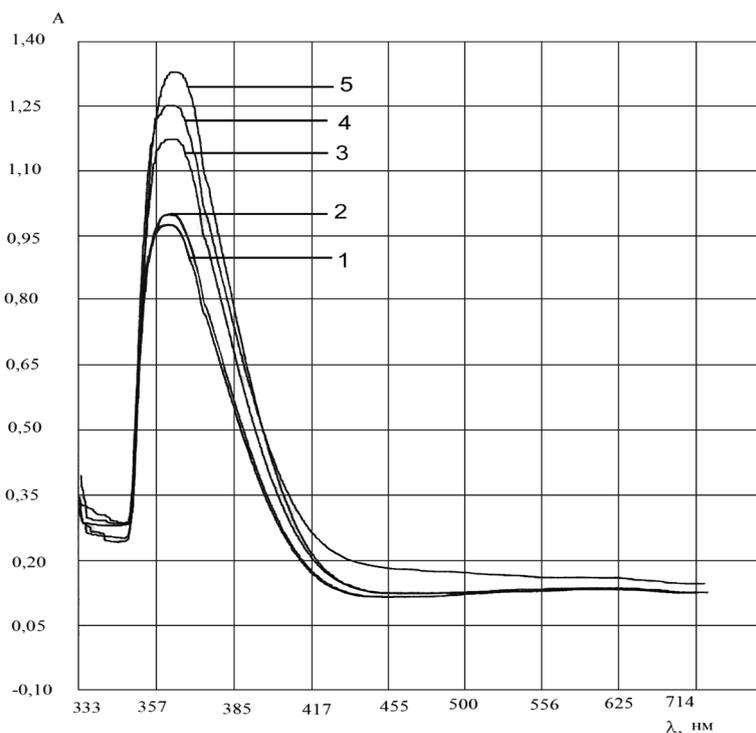


Рис. 3. Спектры поглощения ОФ расслаивающейся системы, содержащей согласно таблице 3 нитрит-ионы ( $\lambda_{\text{max}} = 365 \text{ нм}$ )

Таблица 3

Результаты обработки данных модельных систем

Номер раствора нитрит-ионов	C, мг/мл	C <sub>м</sub> , ммоль/л	Оптическая плотность A	Молярный коэффициент светопоглощения E, моль <sup>-1</sup> ·л·см <sup>-1</sup>
1	1,30	6,91	0,59	4,3·10 <sup>2</sup>
2	1,50	7,98	0,63	3,9·10 <sup>2</sup>
3	1,80	9,57	0,75	3,9·10 <sup>2</sup>
4	2,00	10,64	0,82	3,8·10 <sup>2</sup>
5	2,50	13,30	0,93	3,6·10 <sup>2</sup>

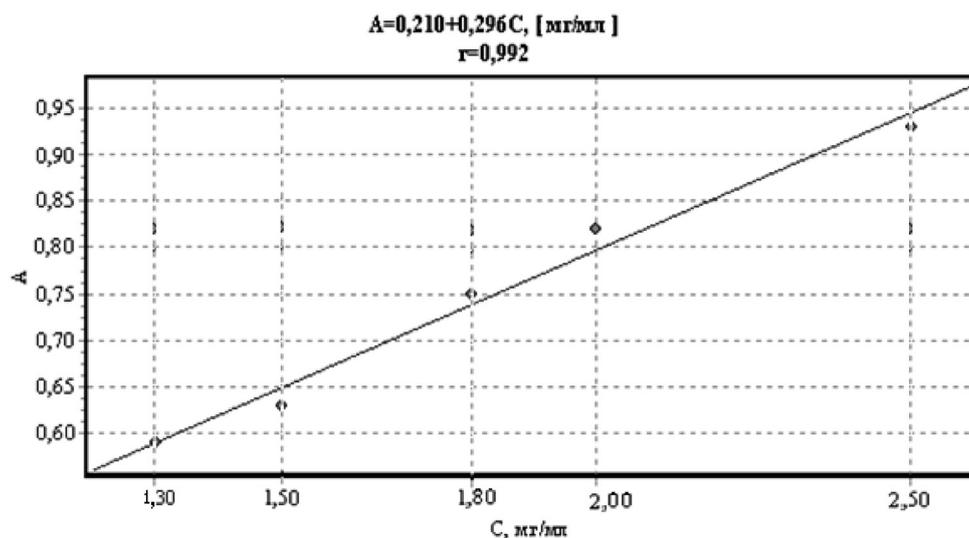
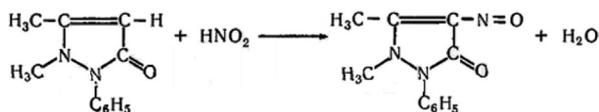


Рис. 4. Зависимость оптической плотности ОФ от добавок рабочего раствора нитрит-ионов в модельных системах

При увеличении содержания нитрит-ионов более 50 мг/мл с антипирином в кислой среде образуется нитроантипирин, имеющий изумрудно-зеленое окрашивание [8]. Реакция используется в полумикроанализе для качественного обнаружения антипирина. Если в растворе присутствуют следы дихромата калия, то чувствительность реакции сильно возрастает.



Дополнительно в данной системе можно концентрировать не только лабильный нитрит-ион, но и фенолы ( $\text{pK}_a = 9,98$ ), например, из поверхностных вод. В соленых водах, например морских, система пригодна для одновременного контроля фенольного индекса (антипириновые красители, рекомендуемая длина волны 510 нм [3]). Органическую фазу системы можно использовать для оптического контроля морских вод на содержание фенола (510 нм), нитритов (365 нм, рис. 3) и железа (III) [9] в виде моносульфосалицилата. На практике следует учитывать влияние pH объекта анализа и объем отбираемой для исследования воды (водного раствора). С применением сканирующей молекулярной спектроскопии таких концентратов в комбинированном экстракционно-фотометрическом методе можно реализовать новые возможности гидрохимического анализа водных объектов. Погрешности определения нитрит-ионов связаны с собственным поглощением несвязанного антипирина.

Органическая фаза, отдельно приготовленная из реагентов и воды, может применяться как эффективный экстрагент для экстрагирования нитритов

из пищевых продуктов, например, взамен водной вытяжки.

Водные растворы нитратов и нитритов обладают собственным поглощением ионов в ультрафиолетовой области ( $\text{NO}_2^-: \lambda_{\text{max}} = 211 \text{ нм}$ ,  $\text{NO}_3^-: \lambda_{\text{max}} = 205 \text{ нм}$ ), отвечающим за взаимодействие  $\pi$ -электронов с УФ-излучением. По данным химической энциклопедии область максимального поглощения нитратов – 200–209 нм, нитритов – 210–220 нм. Экспериментально исследовано оптическое УФ-поглощение модельных водных растворов ГСО нитритов и нитратов. Экспериментально для нитритов минимальное пропускание зафиксировано при длине волны 211 нм, при этом коэффициент экстинкции рассчитан в пределах 7500–14000 моль<sup>-1</sup>·л·см<sup>-1</sup>. Причем весьма значим в регрессионном уравнении  $A = 0,020 + 0,015 C(\text{NO}_2^-)$  коэффициент неучтенных факторов, вероятно, связанный с поглощением растворенного органического вещества дистиллированной воды. Несколько меньший коэффициент отмечен для неучтенных факторов поглощения модельных растворов ГСО нитрат-ионов  $A = 0,010 + 0,020 C(\text{NO}_3^-)$ , коэффициент экстинкции 1600–11000 моль<sup>-1</sup>·л·см<sup>-1</sup>. Мешающее влияние поглощения растворимым органическим веществом, а значит, органическими реагентами требует дополнительного разделения при определении нитрат-ионов оптическим методом УФ-детектирования.

Таким образом, применение системы *вода – антипирин – сульфосалициловая кислота* извлекает ряд веществ из водных растворов, концентрирует неустойчивые вещества (нитрит-ионы, фенолы) и повышает информативность спектрофотометрического анализа, причем органическая фаза как эффективный реагент применима отдельно для извлечения целевых компонентов путем экстра-

гирования их из твердых биологических объектов и пищевых продуктов.

По результатам исследования можно сделать следующие выводы:

1. Система *вода – антипирин – сульфосалициловая кислота* с химическим взаимодействием компонентов и расслаиванием применима для концентрирования нитрит-ионов в виде азотистой кислоты в органическую фазу.

2. Экспериментально спектрофотометрическим методом доказана эффективность извлечения нитрит-ионов в органическую фазу системы *вода – антипирин – сульфосалициловая кислота*. Степень извлечения со-

ставляла  $96,3 \pm 0,3\%$ . Коэффициент распределения –  $(129 \pm 5)$ .

3. Исследования водных растворов нитритов и нитратов на собственное оптическое поглощение в ультрафиолетовой области показали, что градуировочная зависимость применима только для разбавленных водных растворов, что ограничивает исследование растворов с повышенным содержанием водорастворимого органического вещества.

4. Получена градуировочная зависимость целевого компонента (нитрита) в органической фазе, которая пригодна для спектрофотометрического определения нитритов в различных объектах.

### Библиографический список

1. Боговский П.А. Азотные удобрения и проблемы рака : учебник для вузов. – М., 1980.

2. Нечаев А.П. Пищевая химия : учебник для вузов. – 5-е изд., перераб. и доп. – М., 2004.

3. Фомин Г.С. Вода. Контроль химической, бактериальной и радиационной безопасности по международным стандартам : энциклопедический справочник. – 3 изд., перераб. и доп. – М., 2000.

4. Цыбикова Г.Ц., Охинова А.М. Безопасность продовольственного сырья и продуктов питания : методические указания к выполнению лабораторных работ. – Улан-Удэ, 2006.

5. Nims R.W., Darbyshire J.F., Saavedra J.F. Colorimetric methods for the determination of nitric oxide concentration in neutral aqueous solutions. – Sarasota, 1996.

6. Мейер А., Зейтц Э. Ультрафиолетовое излучение: получение, измерение и применение в медицине, биологии и технике : пер. с нем. – М., 1952.

7. Пенкин Ю.А. Основы молекулярной спектроскопии : учебное пособие. – М., 2008.

8. Крамаренко В.Ф. Токсикологическая химия. – Киев, 1989.

9. Физико-химические методы анализа. Практическое руководство : учебное пособие для вузов / под ред. В.Б. Алесковского. – Л., 1988.