

Министерство сельского хозяйства Российской Федерации
Красноярский государственный аграрный университет

А.И. Хохлова

**НИТРАТЫ И МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ИХ СОДЕРЖАНИЯ
В ПИЩЕВОЙ ПРОДУКЦИИ**

Методические указания

Красноярск 2011

Рецензент

В.Т. Сакилиди, канд. хим. наук, доцент каф. химии
ГОУ ВПО КГПУ им. В.П. Астафьева

Хохлова, А.И.

Нитраты и методы определения их содержания в пищевой продукции: метод. указания / А.И. Хохлова; Краснояр. гос. аграр. ун-т. – Красноярск, 2011. – 15 с.

Предназначено для студентов Института агробизнеса пищевой и перерабатывающей промышленности, обучающихся по направлению подготовки бакалавров 260.100.62 «Технология продуктов питания».

Печатается по решению редакционно-издательского совета
Красноярского государственного аграрного университета

© Хохлова, А.И., 2011
© Красноярский государственный
аграрный университет, 2011

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение	4
Содержание и накопление нитратов в растениях	4
Накопление нитритов в продуктах животного происхождения	5
Пути попадания нитратов в организм человека	6
Основные признаки нитратных отравлений у человека	6
Лабораторная работа 1	7
Лабораторная работа 2	10
Лабораторная работа 3	11
Лабораторная работа 4	12
Вопросы для закрепления	13
Литература	14

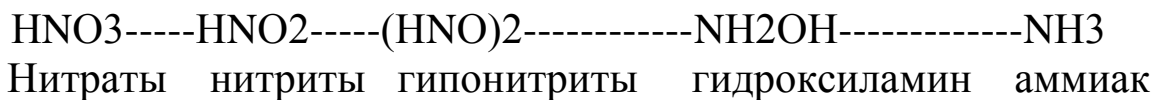
Введение

Нитраты (соли азотной кислоты) – это одно из важнейших соединений азота. Как известно, азот – противоречивый элемент.

Лавуазье дал азоту его название. «Азот» означает «безжизненный» (в переводе с латинского языка «а» – нет, «зоэ» – жизнь). Животные в атмосфере азота погибают.

В то же время это один из самых важнейших химических элементов в жизнедеятельности живых организмов, так как он необходим для синтеза аминокислот, из которых образуются белки. Без белка нет жизни, а без азота нет белка. Азот входит в состав хлорофилла и многих ферментов.

Нитраты являются нормальным продуктом обмена азотистых веществ любого живого организма, растительного или животного, поэтому «безнитратных» продуктов в природе не бывает. Даже в организме человека в сутки образуется и используется в обменных процессах около 100 мг нитратов. В организме метаболизм азота идет по схеме



Но при употреблении нитратов в повышенных количествах они в пищеварительном тракте могут восстанавливаться до нитритов (токсичных соединений), последние при поступлении в кровь могут вызывать метгемоглобинемию, когда окисленное трехвалентное железо не способно переносить кислород. Кроме того, из нитритов в присутствии аминов могут образовываться нитрозоамины, обладающие канцерогенной активностью.

Содержание и накопление нитратов в растениях

Повышенные концентрации нитратов в растительной пищевой продукции в основном зависят от:

- неконтролируемого использования азотных удобрений;
- режима минерального питания растений, например,

микроэлементы снижают содержание нитратов в редисе, редьке, цветной капусте, цинк, алюминий – в картофеле, огурцах и в кукурузе;

– замены минерального удобрения на органическое, правильного их применения;

– факторов окружающей среды (температура, влажность воздуха, почвы, интенсивность и продолжительность светового дня);

– условия хранения растений;

– нарушения севооборотов;

– густоты посева растений;

– сроков уборки урожая;

– режимов орошения и т. д.

По способности накапливать нитраты овощи, плоды и фрукты делятся на 3 группы.

1. Высокое содержание нитратов (до 5000 мг/кг сырой массы) – салат, шпинат, свекла, укроп, листовая капуста, редис, зеленый лук, дыня, арбуз.

2. Среднее содержание нитратов (300–600 мг/кг) – цветная капуста, белокачанная капуста, кабачки, огурцы, морковь, хрен, редька, репа, тыква.

3. Низкое содержание нитратов (10–80 мг/кг) – брюссельская капуста, горох, щавель, фасоль, картофель, томаты, репчатый лук, фрукты и ягоды.

С физиологической точки зрения количество нитратного азота в растениях определяется соотношением:

1. Процессов поглощения.

2. Транспорта.

3. Ассимиляции.

Накопление нитритов в продуктах животного происхождения

Нитриты в организм человека поступают в основном с животной пищей, так, мясо и мясные продукты обрабатывают нитритом калия или натрия для придания копченостям и колбасам характерной для них окраски (от розовой окраски до красной).

Нитрит натрия или калия вводят в подсолочные смеси или рассолы, предназначенные для посола мяса. В результате гидролиза нитриты образуют азотистую кислоту, которая затем под влиянием восстанавливающих веществ распадается до оксида азота. Образовавшийся оксид азота взаимодействует с миоглобином мышечной ткани

и гемоглобином крови, в результате чего получают соединения розовато-красного цвета (нитрозомиоглобин и нитрозогемоглобин). В процессе тепловой обработки (высушивание) эти нитрозосоединения переходят в нитрозохромогены, обуславливающие ярко-красную окраску мяса.

Нитрит является фиксатором цвета, он участвует и в развитии ветчинного вкуса и аромата, тормозит активирование окислительных процессов поваренной солью, ингибирует рост посторонней микрофлоры в процессе посола и хранения готовой продукции.

При использовании нитрита возможно образование в колбасах и копченостях нитрозаминов, обладающих канцерогенным действием. Предельно допустимые нормы содержания нитритов в готовой продукции – 30–50 мг/кг.

Пути попадания нитратов в организм человека

- продукты питания: растительного и животного происхождения;
- лекарственные препараты;
- консервы и свежие овощи;
- рыбная и мясная продукция;
- хлебобулочные изделия, фрукты, молочные продукты;
- питьевая вода;
- табак.

Часть нитратов может образовываться в самом организме человека при его обмене веществ

Основные признаки нитратных отравлений у человека

- синюшность ногтей, лица, губ и видимых слизистых оболочек;
- тошнота, рвота, боли в животе;
- понос, часто с кровью;
- увеличение печени, желтизна белков глаз;
- головные боли, повышенная усталость, сонливость, снижение работоспособности, холодные конечности;

- одышка, судороги мышц лица, усиленное сердцебиение, вплоть до потери сознания, кома;
- при выраженном отравлении – летальный исход.

Лабораторная работа 1

Тема: определение нитратов в продуктах растительного происхождения на предмет безопасности.

Цель работы: определить нитратное загрязнение пищевой продукции и сравнить с ПДК.

Задача: определить количество нитратов в продуктах растительного происхождения на предмет безопасности.

Оснащение занятия: плодово-овощная продукция, фарфоровые ступки с пестиками, пробирки, предметные стекла, марлевые салфетки, пипетки химические на 5 мл, мелкие емкости, мерные колбы, воронки, химические стаканы, стеклянные палочки, нож, терка, весы, водяная баня, центрифуга, ФЭК, иономер.

Подготовка продукции к анализу: свежий растительный материал средних проб (стебли, листья злаковых, бобовых, травы, ботва и т. д.) измельчают ножницами или ножом на деревянной доске и тщательно перемешивают. Плоды, корне- и клубнеплоды натирают на терке.

В химический стакан взвешивают нужную навеску для приготовления экстракта из расчета 10–15 мг NO₃/мл в зависимости от предполагаемого содержания нитратов в продукте, например, для картофеля 20 мг на 100 мл, для свеклы – 10 мг на 100 мл.

Ход работы

Экспресс-метод 1

Из продукта, взятого на определение нитратов, выжимают в фарфоровую чашку 1–2 капли сока и стеклянной палочкой закапывают в него 1 каплю реактива 0,5%-го дифениламина в серной кислоте (1г (C₆H₅)NH+100мл (H₂SO₄); P=1,84 г/мл).

Через три минуты по степени окрашивания определяют наличие нитратного загрязнения продукции.

Таблица 1 – Градация окраски *дифениламина* в зависимости от концентрации нитратов в сырье (качественное определение)

Окрашивание сока	Нитратное загрязнение
Нет	Нет
Слабо-синее	Слабое
Очень синее	Сильное

Этот анализ можно проводить и с использованием предметного стекла. Предметное стекло подкладывается под лист белой бумаги, на стекло капают 2 капли изучаемого раствора и 2 капли дифениламина в трехкратной повторности и определяют степень окрашивания.

Таблица 2 – Градация окраски *дифениламина* и содержания нитратов в исследуемом образце (количественное определение)

Баллы	Характер окраски	Содержание нитратов, мг/кг
6	Раствор или сок окрашиваются быстро и интенсивно в иссиня-черный цвет Окраска устойчива и не пропадает	>3000
5	В темно-синий цвет, сохраняется некоторое время	3000
4	В синий цвет окрашивается, наступает не сразу	1000
3	Светло-синяя окраска исчезает через 2–3 минуты	500
2	Светло-синяя окраска быстро исчезает	250
1	Следы голубой, быстро исчезающей окраски	100
0	Нет ни голубой, ни синей окраски	0

Модификацией данного метода является определение концентрации с использованием предварительно построенного калибровочного графика с использованием серии калибровочных растворов.

Подготовка калибровочных растворов:

– в один из стаканов наливают 10 мл исходного раствора нитрата натрия, соответствующего по концентрации максимальному содержанию нитратов в овощах, – 3000 мг/кг.

– затем готовят серию калибровочных растворов путем разбавления пополам предыдущего (например, к трем мл исходного раствора прибавляют три мл дистиллированной воды, взбалтывают).

Получают серию растворов с разным содержанием нитратов: 3000, 1500, 750, 188, 47, 23 мг/кг.

Экспресс-метод 2

В пробирку выдавливают 1 мл сока исследуемой продукции, прибавляют 1 мл 5%-го сульфифенилового раствора (5 г фенола растворить в 20 мл концентрированной серной кислоты) и кипятят на водяной бане в вытяжном шкафу в течение 6 часов так, чтобы капли попадали на поверхность сока.

Параллельно ставят пробу с дистиллированной водой (контроль). Смесь в пробирках взбалтывают, оставляют в покое на 20 минут и по степени окрашивания определяют содержание нитратов.

Таблица 3 – Градация окраски сульфифенила и содержания нитратов в исследуемом образце

Окрашивание	Содержание нитратов, мг/л (кг)
Улавливается по сравнению с контролем	0,5
Едва желтое	1,0
Слабо-желтоватое	5,0
Слабо-желтое	10,0
Светло-желтое	25,0
Желтое	50,0
Сильно-желтое	100,0

Лабораторная работа 2

Тема: определение нитратов методом «сухого восстановителя».

Оборудование: химический стакан; мерная колба; воронка.

Реактивы: реактив «сухого восстановителя»: 100 г высушенного при температуре 110 °С сульфата бария; 9 г сульфата марганца; 2 г порошкообразного цинка; 75 г лимонной кислоты; 4 г сульфаниловой кислоты; 2 г альфа-нафтиламина; соляная кислота.

Методику подготовки продукции смотри выше.

Ход анализа

Пробу в химическом стакане заливают 30 мл соляной кислоты при температуре 50–70 °С.

Полученную массу переливают через воронку в мерную колбу на 100 мл, промывают стакан соляной кислотой несколько раз и добавляют промывную жидкость через воронку в мерную колбу. Колбу оставляют на 30 минут в водяной бане при температуре 60–70 °С, периодически взбалтывая.

После охлаждения смеси до комнатной температуры, ее доводят соляной кислотой до метки и фильтруют.

В центрифужную пробирку отмеряют 1 мл экстракта, добавляют 9 мл 20%-й уксусной кислоты и 0,3–0,5 г реактива «сухого восстановителя».

Пробирку закрывают пробкой и энергично встряхивают в течение одной минуты, центрифугируют в течение 5 минут (2 раза) при 4000–5000 об/мин. После центрифугирования жидкость сразу отсасывают.

Затем определяют оптическую плотность полученного раствора на фотоэлектроколориметре (ФЭК) при длине волны 540 нм. В качестве контроля используют 1 мл исследуемого экстракта, 9 мл 20%-й уксусной кислоты и 0,3–0,5 г сульфата бария.

Лабораторная работа 3

Тема: определение содержания нитратов в растениях с помощью ионоселективного электрода по методу ЦИНАО.

Принцип метода

Нитраты в растениях определяют потенциометрически с помощью ионоселективного нитратного электрода в вытяжке из свежего растительного материала. В качестве экстрагирующего раствора используют 1%-й раствор алюмокалиевых квасцов при отношении пробы к раствору 1:4.

Ход анализа

Пробу массой 12,5 г помещают в стакан гомогенизатора и приливают 50 мл 1%-го раствора алюмокалиевых квасцов и гомогенизируют в течение двух минут при 6000 об/мин. После гомогенизации суспензию переливают в химический стаканчик.

При отсутствии гомогенизатора навеску измельченного материала растирают в ступке с кварцевым песком до однородной массы. Предварительно песок выдерживают в соляной кислоте, отмывают от хлорид-ионов водопроводной и дистиллированной водой, высушивают и прокалывают в муфеле при $t = 250\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Содержимое ступки заливают 10–20 мл (из отмеренного объема 50 мл) 1%-го раствора алюмокалиевых квасцов и растирают в течение 3–5 минут. Затем массу переносят в стакан, смывая остатки на ступке и пестике оставшимся раствором алюмокалиевых квасцов, и перемешивают стеклянной палочкой в течение 2–3 минут.

В суспензии измеряют потенциал нитратного ионоселективного электрода на иономере. Расчет ведут по формуле

$$N - \text{NO}_3 = -\log (4,75 - p\text{NO}_3),$$

где $N - \text{NO}_3$ – миллиграмм нитратов N на 1 кг пробы;
– $-\log$ – отрицательный логарифм;
– 4,75 – постоянный коэффициент;
– $p\text{NO}_3$ – концентрация нитратов по иономеру.

Лабораторная работа 4

Тема: определение количества нитритов в копченостях и колбасных изделиях.

Цель работы: определить количество нитритов в образцах колбас и копченостей и сравнить полученные результаты с требованиями нормативных документов.

Задача: определить количество нитритов в копченостях и колбасных изделиях.

Оснащение занятия:

- 1-й реактив – насыщенный раствор буры;
- 2-й реактив – 10,6 г железосинеродистого калия помещают в мерную колбу на 100 мл, доводят до метки дистиллированной водой;
- 3-й реактив – 22 г уксуснокислого цинка помещают в мерную колбу на 100 мл, добавляют 3 мл ледяной уксусной кислоты и доводят до метки дистиллированной водой;
- 4-й реактив – 0,6%-й раствор сульфаниловой кислоты в 2,4 г соляной кислоты (0,6 г сульфаниловой кислоты в мерной колбе на 100 мл доводят до метки соляной кислотой);
- 5-й реактив – 0,6 г α -нафтиламина помещают в мерную колбу на 100 мл, добавляют туда же 1 мл концентрированной соляной кислоты, доводят до 100 мл водой;
- 6-й реактив – 25%-й раствор ацетата натрия в дистиллированной воде (25 г уксуснокислого натрия помещают в мерную колбу на 100 мл и доводят до метки дистиллированной водой).

Ход работы

Для того чтобы определить количество нитритов, необходимо предварительно удалить из образца мешающие проведению реакции белки, поэтому работа проводится в две стадии.

Первая стадия – осаждение белков

10 г исследуемого продукта измельчают и помещают в мерную колбу на 200 мл, куда добавляют 5 мл реактива 1 и 100 мл горячей, нагретой до температуры 70 °С, дистиллированной воды, хорошо перемешивают и оставляют на столе до остывания.

После остывания в колбу добавляют по два мл реактива 2 и реактива 3, и доводят общий объём до 200 мл дистиллированной водой. Полученную смесь хорошо перемешивают и оставляют на 15 минут,

затем фильтруют через бумажный фильтр и фильтрат используют для определения нитритов во второй стадии.

Вторая стадия – определение нитритов в фильтрате

10 мл фильтрата переносят в мерную колбу на 50 мл, туда же доливают один мл реактива 4 и выдерживают смесь 3–4 минуты в темном месте, затем добавляют в колбу по одному мл реактива 5 и реактива 6.

Раствор в колбе доводят до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают. Затем центрифугируют 5 минут при 3 тыс. об/мин.

Оптическую плотность растворов определяют на фотоэлектродколориметре (ФЭК).

Концентрацию нитритов в фильтрате определяют по калибровочному графику. Для пересчета количества нитритов в первом кг исследуемого продукта используют формулу

$$N = X \cdot V2 / V1 \cdot m \cdot 1000,$$

где N – количество нитритов в 1 кг продукта;

X – количество нитритов в исследуемом растворе, определенное по калибровочному графику, мг;

$V1$ – количество фильтрата, взятое для определения нитритов во второй стадии, мл;

$V2$ – общее количество полученного в первой стадии экстракта, мл;

m – величина навески продукта, взятого для исследования в первой стадии, г;

1000 – коэффициент пересчета на 1 кг продукта.

Вопросы для закрепления

1. Дайте определение термину «нитраты».
2. Содержание нитратов в организме человека и растений.
3. Назовите факторы, вызывающие накопление нитратов в растениях.
4. Дайте характеристику нитритам.
5. Назовите признаки нитратных отравлений у человека.
6. Назовите пути попадания нитратов в организм человека.
7. На какие группы делятся овощи, плоды и фрукты по способности накапливать нитраты?
8. Назовите причины накопления нитратов в растениях.
9. Что нужно для предотвращения превращения нитратов в нитриты?
10. Что используется для обезвреживания поверхностных вод?

Литература

1. Борисов, В.А. Экологическая проблема накопления нитратов в окружающей среде / В.А. Борисов. – М., 1990.
2. Донченко, Л.В. Безопасность пищевой продукции / Л.В. Донченко, В.Д. Надыкта. – М.: ДеЛи принт, 2005. – 539 с.
3. Донченко, В.К. Экологическая экспертиза / В.К. Донченко. – М., 2004. – 465 с.
4. Покровская, С.Ф. Пути снижения нитратов в овощах / С.Ф. Покровская. – М., 1988.
5. Плотникова, Т.В. Экспертиза свежих плодов и овощей: учеб. пособие / Т.В. Плотникова, В.М. Позняковский. – Новосибирск: Изд-во Сиб. ун-та, 2001. – 302 с.

НИТРАТЫ И МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ИХ СОДЕРЖАНИЯ В ПИЩЕВОЙ ПРОДУКЦИИ

Методические указания

Составитель
А.И. Хохлова

Редактор
А.М. Зубарева

Санитарно-эпидемиологическое заключение № 24.49.04.953.П. 000381.09.03 от 25.09.2003 г.

Подписано в печать 6. 10.2011. Формат 60x84/16. Бумага тип. № 1.

Печать – ризограф. Усл. печ. л. Тираж 110 экз. Заказ №

Издательство Красноярского государственного аграрного университета
660017, Красноярск, ул. Ленина, 117

