Одновременное определение аскорбиновой кислоты и нитрит-ионов в мясных изделиях

Петрушина Г.А.[1]✉, Цыганок Л.П.[1], Вишникин А.Б.[2], Базель Я.Р.[3]

[1]кафедра химии и химической технологии высокомолекулярных соединений, Днепропетровский национальный университет им. Олеся Гончара, пр. Гагарина 72, Днепропетровск, Украина, ✉galinka83@gmail.com
[2]кафедра аналитической химии, Днепропетровский национальный университет им. Олеся Гончара, пр. Гагарина 72, Днепропетровск, Украина
[3]Университет Павла Иозефа Шафарика в Кошицах, ул. Мойзесова 11, г. Кошице, Словакия

Поступила: *22 февраля 2011 г* / Подписана к печати: *23 февраля 2012 г*

Разработана простая и экспрессная спектрофотометрическая методика одновременного определения аскорбиновой кислоты и нитрит-ионов с помощью одного вещества – гетерополианиона 18-молибдодифосфата ($P_2Mo_{18}O_{62}^{6-}$). Методика основана на использовании окисленной формы гетерополианиона для определения аскорбиновой кислоты, а восстановленной – для определения NO_2^-. Методика апробирована на образцах мясных изделий и характеризуется достаточной чувствительностью, высокой избирательностью и точностью (S_r не превышает 3%).

G.A. PETRUSHINA, L.P. TSIGANOK, A.B. VISHNIKIN, J.R. BAZEL. *SIMULTANEOUS DETERMINATION OF ASCORBIC ACID AND NITRITE IN MEAT PRODUCTS. A simple and express spectrophotometric technique for simultaneous determination of ascorbic acid and nitrite-ions by means of one substance – heteropoly anion 18-molybdodiphosphate ($P_2Mo_{18}O_{62}^{6-}$) is developed. The technique is based on use of the oxidized form of heteropoly anion for determination of ascorbic acid, and reduced – for determination of NO_2^-. The technique is approved on samples of meat products and characterized by sufficient sensitivity, sharp selectivity and accuracy (S_r does not exceed 3 %).*

Ключевые слова: гетерополикомплекс структуры Доусона, 18-молибдодифосфат, гетерополисинь, аскорбиновая кислота, нитрит-ионы

Keywords: Wells-Dawson heteropoly complex, 18-molybdodiphosphate, heteropoly blue, ascorbic acid, nitrite

Нитриты вводят в мясные изделия с целью предотвращения роста микроорганизмов, таких как Clostridium botulinum, и улучшения их товарного вида. Нитриты довольно токсичны. Поступая в кровь, они реагируют с гемоглобином, образуя нитрозогемоглобин, трансформирующийся далее в метагемоглобин. Как следствие, нарушается функция дыхания: кровь теряет способность переносить кислород. Кроме того, в кислой среде нитриты способны вступать в реакцию с вторичными аминами, образуя нитрозоамины, обладающие канцерогенным, мутагенным и эмбриотропным действием на организм [1]. Количество добавляемых в мясные изделия нитритов не должно превышать 50 мг/кг (30 мг/кг для изделий, рекомендованных для детского и диетического питания) [2].

Аскорбиновая кислота (АК) – водорастворимый витамин, являющийся составляющей овощей и фруктов и широко использующийся в пищевой промышленности в качестве антиоксиданта и консерванта. В качестве пищевых добавок в состав многих мясных изделий входят одновременно нитрит-ион и аскорбиновая кислота. Содержание АК в мясных изделиях регламентируется нормами международных стандартов [2]. Большинство существующих методик определения АК – спектрофотометрические [3–5], что объясняется их достаточно высокой селективностью, чувствительностью, простотой и доступностью анализа.

Для определения нитрита в мясных изделиях предложены различные методики. Наиболее известна спектрофотометрическая методика, использующая сульфаниламид и N-(1-нафтил)этилендиамин [6]. К сожалению, при этом часто получают заниженные (до 50%) результаты определения вследствие взаимодействия нитрита с аскорбиновой кислотой.

В кислой среде при pH<5.0 азотистая кислота окисляет аскорбиновую [7]. Предложен ряд способов уменьшения влияния аскорбиновой кислоты, например, разложение водной суспензии образца

© Петрушина Г.А., Цыганок Л.П., Вишникин А.Б., Базель Я.Р.

при 80°С в течение 1.5–2 часов с последующим просветлением раствора действием сульфата цинка [8]. Такая методика является длительной, кроме того, реакция диазотирования требует тщательного контроля кислотности в ходе образования окрашенного вещества и необходимость использования канцерогенных веществ. Разработаны альтернативные методики для определения нитрита в мясных изделиях в присутствии АК, основанные на использовании нитрит редуктазы [9, 10], модификации электродов полимерными пленками [7, 11, 12] и др.

Для определения нитрита можно использовать восстановленные формы гетерополимолибдатов структуры Кеггина (12-ГПА) [13–16], методики основаны на окислении гетерополисиней (ГПС) нитритом с уменьшением интенсивности синей окраски. Такие методики оказались более чувствительными и надежными по сравнению с упомянутыми выше. При использовании молибденового 12-ГПС реакция заканчивается через 1 час. Концентрацию нитрита рассчитывали по результатам измерения уменьшения оптической плотности через 30 минут или кинетическим методом в течение первых 5 минут. Линейность градуировочного графика соблюдалась в узком интервале концентраций от 0.5 до 2.0 мг/л [14]

При использовании восстановленного 12-молибдокремниевого гетерополианиона (ГПА) [15] были получены два линейных участка на градуировочной кривой с разным наклоном в интервалах 0.02-0.10 и 0.1-1.0 мг/л NO_2^- без объяснения причины этого явления.

В ряде работ обсуждаются перспективы использования гетерополисоединений в качестве медиаторов электрокаталитического восстановления нитрита [17, 18].

В работе [19] показано, что весьма эффективными реагентами для определения окислителей являются восстановленные формы 18-молибдодифосфорного ГПА $P_2Mo_{18}O_{62}^{6-}$ (18-МФА).

Скорость реакции выше, чем с кеггиновскими ГПС, существенно возрастает чувствительность определения. Кроме того, 18-МФА является одним из лучших реагентов для определения АК [20].

Реакция 18-МФА реагирует с АК практически мгновенно, молярный коэффициент – $1.15 \cdot 10^4$ моль$^{-1}$·л·см$^{-1}$.

Различие в окислительно-восстановительном поведении редокс-форм 18-МФА, полная обратимость этих процессов, зависимость их скорости от pH, природы ГПА и определяемых веществ, различия в спектрах поглощения двух- (18-МФС-2) и четыехэлектронной синей (18-МФС-4) были положены в основу методики определения нитрит-ионов и АК при их совместном присутствии с использованием различных форм одного и того же реагента.

Предложена методика анализа мясных изделий на содержание нитрита и АК.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Материалы и оборудование

$(NH_4)_6P_2Mo_{18}O_{62}\cdot 14H_2O$ 18-молибдодифосфат аммония синтезировали по методике [21], модифицированной нами. Для получения исходного 0.01 М раствора 18-МФК растворяли 0.7855 г полученной соли в дистиллированной воде и доводили до метки в колбе на 25 мл.

0.01 М раствор АК (х.ч.) и растворы нитрита натрия (ч.д.а.) готовили растворением точных навесок веществ в свежепрокипяченной дистиллированной воде непосредственно перед использованием. Учитывая быстрое окисление АК при контакте с воздухом, свежий раствор готовили каждый час. Использовали ацетатный буферный раствор с pH = 5.0.

pH растворов контролировали иономером ЭВ-74 со стеклянным и хлоридсеребряным электродами. Спектры поглощения и оптическую плотность исследуемых растворов измеряли на спектрофотометре СФ-26 (ЛОМО, Россия) в стеклянных кюветах с толщиной поглощающего слоя 0.5, 1 и 5 см.

Методика получения18-МФС-4

Для получения $H_4P_2Mo_{14}^{VI}Mo_4^{V}O_{62}^{6-}$ (18-МФС-4) смешивали 10 мл 0.01 М раствора 18-МФК и 10 мл 0.01 М сульфата гидразина, подкисляли 5 мл 5 М H_2SO_4 и доводили объем до 50 мл, нагревали на водяной бане в течение 20 мин. Гидразин при этом практически полностью переходит в нереакционноспособную форму, окисляясь до N_2. При условии хранения в герметически закрытой посуде раствор реагента устойчив в течение месяца.

Методика построения градуировочного графика для определения АК

В мерные колбы на 25 мл помещали 0.25 мл 10^{-3} М раствора 18-МФК, прибавлением 0.5–1.0 мл ацетатного буферного раствора создавали pH 5.0, вводили аликвоту 10^{-3} М раствора АК и доводили объем дистиллированной водой до метки. Измеряли оптическую плотность при длине волны 820 нм в стеклянной кювете с l = 5 см относительно воды.

Методика построения градуировочного графика для определения NO_2^-

В мерные колбы на 25 мл помещали 0.25 мл 0.002 М раствора 18-МФС-4, прибавляли 2.5 мл 0.5 М H_2SO_4, вводили аликвоту раствора NO_2^- и доводили дистиллированной водой объем до метки. Измеряли оптическую плотность через 25 мин при длине волны 660 нм в кювете с *l* = 1 см относительно воды.

Пробоподготовка образцов мясных изделий.

Пробоподготовку мясных изделий для анализа на содержание АК и NO_2^- проводили в соответствии с методикой [22]. Навеску колбасы массой

10.0 г помещали в коническую колбу, добавляли 5 мл насыщенного раствора буры для подщелачивания, приливали 100 мл горячей воды и нагревали на водяной бане 15 мин, периодически помешивая пробу. Охлажденный экстракт количественно переносили в мерную колбу на 200 мл и добавляли по 2 мл растворов Карреза (0.25 М $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$ и 1 М $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$), тщательно перемешивая после каждой добавленной порции. Доводили водой объем до 200 мл, через 20–30 мин осторожно декантировали раствор и фильтровали через складчатый фильтр, отбрасывая первые 10 мл раствора. Далее анализ проводили согласно приведенной методике.

Методика определения АК и NO_2^- в модельных растворах и мясных изделиях

Концентрации АК и нитрит-ионов определяли в модельных растворах и мясных изделиях после проведения пробоподготовки, как описано выше. Для этого, в первую очередь, находят концентрацию АК согласно следующей методике.

Методика определения АК

В мерные колбы на 25 мл помещали 0.25 мл 10^{-3} М раствора 18-МФК, прибавлением 0.5–1.0 мл ацетатного буферного раствора создавали pH 5.0, вводили аликвоту модельного или анализируемого раствора, содержащего нитрит-ионы и АК, и доводили объем дистиллированной водой до метки. Измеряли оптическую плотность при длине волны 820 нм в стеклянной кювете с l = 5 см относительно воды. Концентрацию АК определяли по градуировочному графику. Далее проводили анализ на содержание нитрит-ионов согласно следующей методике.

Методика определения NO_2^-

В мерную колбу на 25 мл вводили аликвоту модельного или анализируемого раствора, содержащего нитрит-ионы и АК. С целью предотвращения реакции между АК и нитрит-ионами добавляли объем раствора 18-МФК, в котором количество ГПА равно или немного больше количества АК, находящегося в пробе.

После окончания реакции между АК и 18-МФК (1 мин), прибавляли 0.25 мл $2 \cdot 10^{-3}$ М раствора 18-МФС-4 и 2.5 мл 0.5 М H_2SO_4, доводили объем дистиллированной водой до метки.

Оптическую плотность измеряли сразу после смешивания реагентов (A_0) и через 25 минут (A_{25}) при 660 нм в кювете с l = 1 см относительно воды. Концентрацию нитрит-ионов определяли по градуировочному графику.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Свойства окисленной и восстановленных форм 18-молибдодифосфата

При химическом или электрохимическом восстановлении 18-МФА [19, 20] образуются двух-, четырех- и шестиэлектронная (18-ГПС-6) гетерополисини, способные к обратимому реокислению. ГПС-6 легко окисляется растворенным в воде кислородом и устойчива только в атмосфере инертного газа. При восстановлении аскорбиновой кислотой могут быть получены только 18-МФС-2 и 18-МФС-4 [20].

18-МФК, 18-МФС-2 и 18-МФС-4 являются перспективными аналитическими реагентами для определения окислителей и восстановителей. Образование конкретной формы ГПС зависит от соотношения концентраций восстановителя и 18-МФК. До соотношения АК:18-МФА = 1:1 в растворах присутствует только 18-ГПС-2, при соотношениях, больших 2:1, единственным продуктом является 18-ГПС-4, а в промежуточной области сосуществуют обе формы.

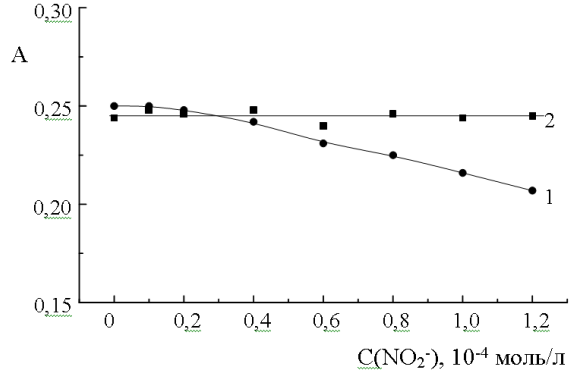

Рис. 1. Зависимость оптической плотности растворов 18-МФК, восстановленных АК, от концентрации NO_2^- (С(АК)=$4 \cdot 10^{-5}$ М, С(18-МФК)=10^{-4} М, pH=4.0, λ=790 нм (1) и pH=5, λ=820 нм (2), l=0.5 см, t=1 мин)

Спектроскопические характеристики и окислительно-восстановительные свойства 18-МФС-2 и 18-МФС-4 существенно отличаются. Свойства 18-МФС-2 как окислителя и восстановителя являются промежуточными между 18-МФК и 18-МФС-4. При pH 4.0 формальные редокс-потенциалы соответствующих пар составляют: E^f_1(18-МФК/18-МФС-2) =0.63 В, E^f_2(18-МФС-2/18-МФС-4)=0.31 В. 18-МФС-2 более устойчива по сравнению с 18-МФС-4, медленнее разрушается в сильнощелочной среде. При pH 5.0 18-МФС-2 максимально поглощает излучение при 820 нм, а ε составляет $1.15 \cdot 10^4$ моль$^{-1}$·л·см$^{-1}$, для 18-МФС-4 эти значения при pH 1.0 равны 660 нм и $2.16 \cdot 10^4$ моль$^{-1}$·л·см$^{-1}$ соответственно. Значение ε для 18-МФС-2 при 660 нм и pH=1.0, составляет $7.5 \cdot 10^3$ моль$^{-1}$·л·см$^{-1}$. Максимумы полос поглощения 18-МФС-2 и 18-МФС-4 смещаются гипсохромно при понижении pH за счет протонизации ГПС: число протонов равно количеству присоединенных электронов [20].

Определение аскорбиновой кислоты

Свойства 18-МФК, 18-МФС-2 и 18-МФС-4 указывают на возможность их использования для определения АК и нитрит-ионов в смеси. Реакция АК

с 18-МФК протекает практически мгновенно в интервале pH от 3.8 до 5.0 с образованием дегидроаскорбиновой кислоты. При pH>5.0 скорость основной реакции по-прежнему высока, но параллельно с увеличением pH становится заметной и растет скорость реакции щелочного разложения 18-МФК. В этой области pH 18-МФС-2 полностью депротонирована.

Как видно из рис. 1, при pH 4.0 наблюдается значительное влияние нитрита на поглощение раствора 18-МФС-2, в то время как при pH 5.0 во всем исследованном интервале концентраций нитрита взаимодействие между АК и NO_2^- не происходит. Поэтому при определении АК в смеси с нитритом в качестве оптимального должен быть выбран pH 5.0. Концентрацию АК (в моль/л) находят по градуировочному графику, который описывается уравнением: A = (-0.009±0.004)+(5.58±0.09)·10^4·C(АК), R^2=0.999.

Определение нитрита

Для определения NO_2^- в качестве реагента была выбрана 18-МФС-4. Это вещество имеет примерно в два раза более высокий молярный коэффициент поглощения, чем 18-МФС-2. Кроме того, скорость его реакции с нитрит-ионами существенно выше. Раствор ГПС-4 готовили восстановлением 18-МФК гидразинсульфатом при нагревании в кислой среде, используя молярное соотношение реагентов 1:1. При комнатной температуре гидразин очень медленно реагирует с ГПА с образованием азота. Найдено, что гидразин вплоть до 600-кратного избытка по отношению к 18-МФС-4 не препятствует проведению основной реакции. В работе [14] рекомендовано использовать для тех же целей сульфид натрия, который реагирует с ГПА при комнатной температуре, мешая определению.

Скорость реакции 18-МФС-4 с NO_2^- повышается с ростом кислотности. Оптимальным является интервал pH 0.5–1.5. В этой области скорость реакции окисления 18-МФС-4 нитритом максимальна. В более кислых растворах становится существенным разложение ГПА. При pH 1.0 реакция 18-МФС-4 с нитрит-ионами заканчивается через 25–30 мин (рис. 2).

Точка пересечения прямых на рис. 3 соответствует соотношению концентраций C(NO_2^-):C(18-МФС-4) = 1:3. Поскольку в превращении 18-МФС-4 в 18-МФС-2 участвуют два электрона, можно сделать вывод о восстановлении нитрит-иона до ионов аммония. Наличие ионов аммония было подтверждено и реакцией с реактивом Несслера после замены аммонийной соли 18-МФК натриевой, полученной ионным обменом на катионите КУ-2 в Na^+-форме.

Следовательно, можно предположить, что взаимодействие нитрит-ионов с 18-МФС-4 протекает по схеме:

$$3H_4P_2Mo_{18}O_{62}^{6-} + NO_2^- + 2H^+ = NH_4^+ + 3H_2P_2Mo_{18}O_{62}^{6-} + 2H_2O \quad (1)$$

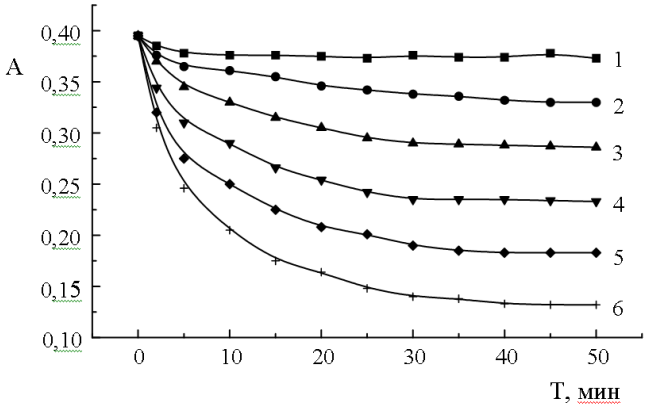

Рис. 2. Изменение оптической плотности растворов 18-МФС-4 во времени. C(18-МФС-4)=2·10^{-5} М, pH = 1.0, C(NO_2^-), 10^{-6} М: 0.8 (1), 1.6 (2), 2.4 (3), 3.2(4), 4.0 (5), 4.8 (6), λ = 660 нм, l=1 см.

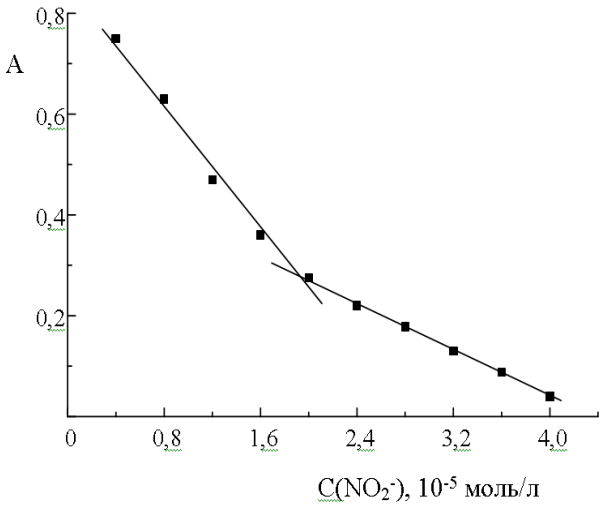

Рис. 3. Зависимость оптической плотности растворов 18-МФС-4 от концентрации нитрит-ионов (C(18-МФС-4) = 10^{-4} М, pH=1.0, t=25 мин, λ=660 нм, l=0.5 см)

Зависимость оптической плотности раствора ГПС от концентрации нитрита имеет два линейных участка (рис. 3). Первый участок для интервала концентраций NO_2^- (1.5 – 4.5)·10^{-6} моль/л соответствует переходу 18-МФС-4 в 18-МФС-2 и имеет тангенс угла наклона, отвечающий молярному коэффициенту 5.76·10^4 моль$^{-1}$·л·см$^{-1}$. Это значение находится в удовлетворительном согласии с указанной выше стехиометрией реакции и получается, если умножить на три разность молярных коэффициентов 18-МФС-4 (2.16·10^4) и 18-МФС-2 (0.75·10^4) при длине волны 660 нм, которую использовали для измерений.

Второму участку после точки перегиба отвечает превращение 18-МФС-2 в 18-МФК. Для этой части градуировочной кривой характерны более низкое значение тангенса угла наклона (ε=2.30·10^4 моль$^{-1}$·л·см$^{-1}$) и меньшая скорость реакции.

Определение аскорбиновой кислоты и нитрита при совместном присутствии

АК часто присутствует в мясных изделиях наряду с нитрит-ионами и, являясь сильным восстановителем, взаимодействует с ними в кислой среде при pH<5.0. Учитывая то, что большинство методик определения нитрит-ионов основываются на использовании кислой среды, присутствие АК в мясных изделиях существенно усложняет методики определения нитрит-ионов и влияет на правильность полученных результатов анализа.

Одновременное определение нитрит-ионов и АК в смеси основано на различии в скоростях реакций этих веществ с окисленной и восстановленной формами 18-МФК от кислотности.

Скорость реакции восстановителей с 18-МФК сильно растет при смещении pH в щелочную область, а скорость окисления такими веществами, как нитрит-ион, становится заметной только в сильнокислой области. При pH 5.0 высока скорость только одной реакции – АК и 18-МФК (менее одной минуты). В то же время, как видно из рис. 1, взаимодействие NO_2^- с 18-МФС-2 при pH 5.0 практически не проявляется.

Перед определением нитрита следует перевести АК в неактивную форму (дегидроаскорбиновую кислоту). Рекомендуется использовать для этого предварительное окисление равным или чуть большим, чем стехиометрическое, количеством 18-МФК при pH ~5.0 (рис. 4b).

Следует избегать большого избытка 18-МФК, так как не вступивший в реакцию с АК избыток 18-МФК на стадии определения нитрита в результате реакции диспропорционирования образует с 18-МФС-4 двухэлектронную ГПС – 18-МФС-2:

$$H_4P_2Mo_{18}O_{62}^{6-} + P_2Mo_{18}O_{62}^{6-} = 2H_2P_2Mo_{18}O_{62}^{6-} \quad (2)$$

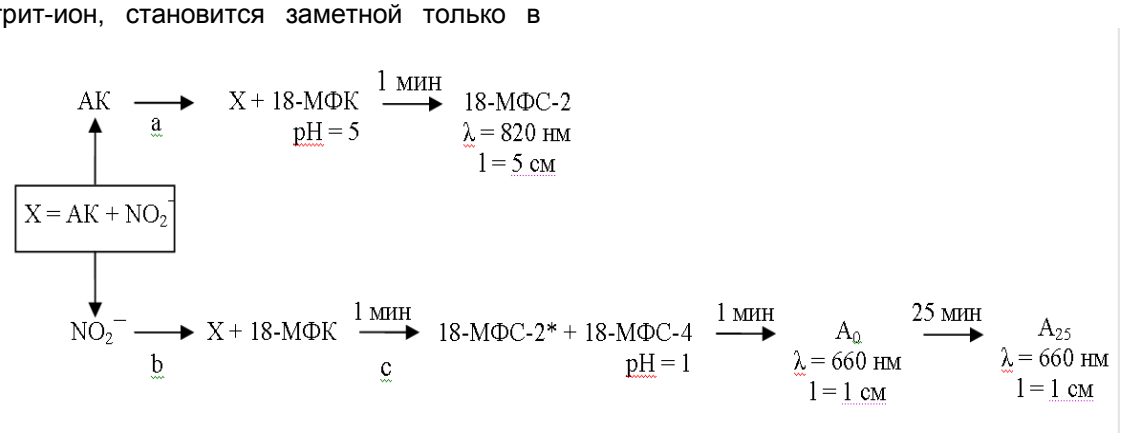

Рис. 4. Алгоритм методики одновременного определения АК и нитрит-ионов.

Соотношение избытка 18-МФК к 18-МФС-4 не должно превышать 1:10; значительный избыток 18-МФС-4 может повысить исходную оптическую плотность раствора реагента. Этот же фактор ограничивает допустимый избыток АК по отношению к нитриту: $C(NO_2^-)$:C(АК) не должно превышать 1:10. Например, в интервале концентраций NO_2^- $(1.0 – 5.0)\cdot10^{-6}$ моль/л концентрационный интервал АК должен составлять $(0.1 – 50.0)\cdot10^{-6}$ моль/л. Далее добавляется раствор реагента (ГПС-4) и кислотность доводится до pH 1.0 (Рис. 4c). В данных условиях проходит только реакция (1).

В качестве аналитического сигнала используется разность оптических плотностей исследуемого раствора в начальный момент времени и после окончания реакции через 25 минут. Концентрацию нитрита (моль/л) находят по градуировочному графику: $A = (0.438\pm0.002) – (5.76\pm0.07)\cdot10^4\ C(NO_2^-)$, $R^2 = 0.999$.

Как видно из рис. 5, при концентрациях $5\cdot10^{-6}$ М и выше за первые 10 минут восстанавливается примерно 70% всего нитрита. Поэтому, если проводить измерения через 10 минут после начала реакции, достигнутая чувствительность определения несколько понизится: $A=(0.43\pm0.01)–(4.4\pm0.3)\cdot10^4\cdot C(NO_2^-)$, $R^2=0.990$, ($C(NO_2^-)$ выражена в моль/л), но значительно возрастет экспрессность методики.

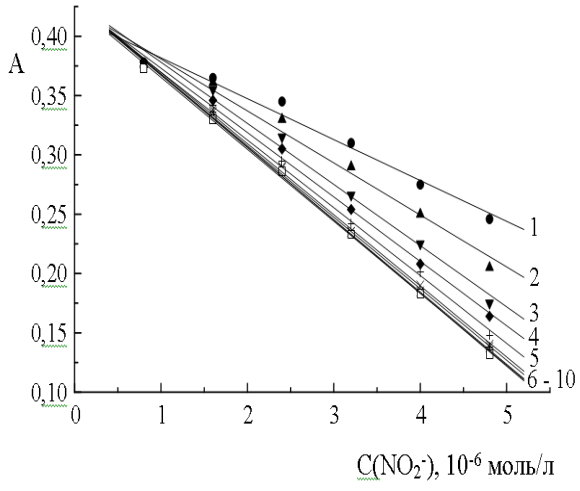

Рис. 5. Зависимость оптической плотности раствора 18-МФС-4 от концентрации нитрит-ионов и времени реакции: t = 5 (1), 10 (2), 15 (3), 20 (4), 25 (5), 30–50 (6–10) мин (C (18-МФС-4) = $2\cdot10^{-5}$ М, pH = 1.0, λ = 660 нм, l = 1 см)

Определение АК и нитрита в модельных растворах и колбасных изделиях

Методика совместного определения АК и нитрит ионов была апробирована на модельных растворах и нескольких видах колбасных изделий, содержащих оба компонента (табл. 1).

Пробоподготовка включала перевод анализируемых компонентов в водную вытяжку при обработке горячей водой и осаждении протеинов растворами Карреза [22]. Периодически проводилась и более сложная пробоподготовка по методике [23]. Между результатами, полученными при обоих способах пробоподготовки, не было обнаружено значимых расхождений. Показано, что вещества, используемые в процессе пробоподготовки, не мешают определению нитрит-ионов и АК предлагаемой методикой. Однако даже небольшие остаточные количества белков мешают определению вследствие осаждения их ГПА.

Правильность результатов определения нитрита и аскорбиновой кислоты была подтверждена сравнением с результатами, полученными с использованием стандартных методик [23, 24], относительное стандартное отклонение не превышало 0.03.

Таблица 1. Результаты определения NO_2^- и АК в мясных изделиях (мг/кг) и модельных растворах (моль/л), P = 0.95, n = 6

Образец	Найдено NO_2^- предложенной методикой (S_r, %)	Найдено NO_2^- методом [23] (S_r, %)	Найдено АК предложенной методикой (S_r, %)	Найдено АК методом [24] (S_r, %)
$C(NO_2^-)$ $2.4\cdot10^{-6}$*	$(2.39\pm0.06)\cdot10^{-6}$	-**	$(1.58\pm0.04)\cdot10^{-5}$	-
C(АК) $1.6\cdot10^{-5}$	(2.5)		(2.3)	
$C(NO_2^-)$ $2.4\cdot10^{-6}$*	$(2.42\pm0.05)\cdot10^{-6}$	-	$(1.57\pm0.04)\cdot10^{-6}$	-
C(АК) $1.6\cdot10^{-6}$	(1.9)		(2.6)	
Докторская "Алан"	52±2 (2.5)	54±2 (2.8)	17.0±0.5 (2.4)	-***
Докторская "Ятрань"	51±1 (1.5)	51±1 (1.0)	74±2 (2.2)	74±2 (2.4)
Докторская "ИНО"	34±1 (2.5)	33±1 (2.1)	44±2 (2.7)	45±2 (4.3)

Примечания. * результаты определения NO_2^- и АК в модельных растворах приведены в моль/л;
** анализ методами [23, 24] на модельных растворах не проводился;
*** невозможно определить титриметрическим методом в данном объекте ввиду малой концентрации АК;

ВЫВОДЫ

Многообразие форм 18-молибдодифосфорного ГПА (окисленной и восстановленных) позволяет использовать его для определения окислителей и восстановителей. Свойства 18-МФК и его восстановленных форм: устойчивость в широком интервале pH (0 – 11.0) [25], более высокие значения ред-окс потенциалов пар 18-МФК/18-МФС-2 и 18-МФС-2/18-МФС-4, молярных коэффициентов 18-МФС-2 и 18-МФС-4 позволяют использовать их в качестве аналитических реагентов для чувствительного, селективного и экспрессного определения восстановителей и окислителей.

Реакция восстановления 11-молибдовисмутофосфата аскорбиновой кислотой заканчивается через 10 мин, $\varepsilon = 6\cdot10^3$ моль$^{-1}$·л·см$^{-1}$ [5]. При использовании 18-МФК для определения АК молярный коэффициент составляет $1.15\cdot10^4$ моль$^{-1}$·л·см$^{-1}$, окисление АК заканчивается менее чем за одну минуту.

В случае нитрита повышению чувствительности способствует и благоприятный стехиометрический фактор: C (18-МФС-4):$C(NO_2^-)$ = 3:1, что дает в итоге очень высокий молярный коэффициент светопоглощения – $5.8\cdot10^4$ моль$^{-1}$·л·см$^{-1}$, при использовании 12-ГПС ε в 5 раз меньше [14].

Более обоснованной является и методика приготовления исходного реагента для определения нитрита – четырехэлектронной ГПС. Предлагаемый восстановитель гидразин не мешает проведению дальнейшего определения NO_2^-.

Приведенные преимущества предлагаемых реагентов позволили разработать новую спектрофотометрическую методику одновременного определения АК и нитрит-ионов в мясных изделиях.

В отличие от стандартного метода, использующего реакции диазотирования, предложенная методика определения нитрита более экспрессна, устранена серьезная проблема мешающего влияния аскорбиновой кислоты на определение.

***

Петрушина Г.А. благодарит Международный Вышеградский Фонд за поддержку стажировки (проект SK-UA-0009-09) на кафедре аналитической химии Университета имени П.Й. Шафарика (г. Кошице, Словацкая Республика).

ЛИТЕРАТУРА

1. Дурынина Е. П., Егоров В.С. Агрохимический анализ почв, растений, удобрений. Москва: МГУ, 1998. С. 113.

2. ДСТУ 4436:2005 Ковбаси варені, сосиски, сардельки, хліби м'ясні. Загальні технічні умови. 2006.

3. Запорожец О.А., Крушинская Е.А. Определение аскорбиновой кислоты методами молекулярной спектроскопии. *Журн. аналит. химии*. 2002, 57(4), 343–354.

4. Arya S.P., Mahajan M., Jain P. Photometric methods for the determination of vitamin C. *Anal. Sci*. 1998, 14(5), 889-95.

5. Vishnikin A.B., Svinarenko T.Ye., Sklenářová H., Solich P., Bazel Ya.R., Andruch V. 11-Molybdobismuthophosphate – a new reagent for the determination of ascorbic acid in batch and sequential injection systems. *Talanta*. 2010, 80(5), 1838–1845.

6. Moorcroft M.J., Davis J., Compton R.G. Detection and determination of nitrate and nitrite: a review. *Talanta*. 2001, 54(5), 785–803.

7. Badea M., Amine A., Benzine M., Curulli A., Moscone D. Rapid and selective electrochemical determination of nitrite in cured meat in the presence of ascorbic acid. *Microchim. Acta*. 2004, 147(1–2), 51–58.

8. Norwitz G., Keliher P.N. Interference of ascorbic and isoascorbic acids in the spectrophotometric determination of nitrite by the diazotisation-coupling technique. *Analyst*. 1987,112(6), 903–907.

9. Hamano T., Mitsuhashi Y., Aoki N., Semma M., Ito Y., Oji Y. Enzymic method for the determination of nitrite in meat and fish products. *Analyst*. 1998, 123(5), 1127–1129.

10. Salome P.J., Amutha R., Jagannathan P., Josiah J.J.M., Berchmans S., Yegnaraman V. Electrochemical assay of the nitrate and nitrite reductase activities of the nitrate and nitrite reductase activities of Rhizobium japonicum. *Biosensors and Bioelectronics.* 2009, 24(12), 3487–3491.

11. Zen J.-M., Kumar A.S., Wang H.F. A dual electrochemical sensor for nitrite and nitric oxide. *Analyst*. 2000, 125(12), 2169–2172.

12. Badea M., Amine A., Palleschi G., Moscone D., Volpe G., Curulli A. New electrochemical sensors for detection of nitrites and nitrates. *J. Electroanal. Chem*. 2001, 509(1), 66–72.

13. Цыганок Л.П., Мальцева Г.В., Вишникин А.Б., Хмеловская С.А. Определение некоторых окислителей и восстановителей при помощи кеггиновских гетерополианионов. *Вопросы химии и хим. технологии.* 1999, (3), 15–18.

14. Zatar N.A., Abu-Eid M.A., Eid A.F. Spectrophotometric determination of nitrite and nitrate using phosphomolybdenum blue complex. *Talanta*. 1999, 50(4), 819–826.

15. Barzegar M., Mousavi M.F., Nemati A. Kinetic spectrophotometric determination of trace amounts of nitrite by its reaction with molybdosilicic acid blue. *Microchem. J.* 2000, 65(2), 159–163.

16. Niazi A., Ghasemi J., Yazdanipour A. PARAFAC Decomposition of three-way kinetic-spectrophotometric spectral matrices based on phosphomolymbdenum blue complex chemistry for nitrite determination in water and meat samples. *Analyt. Lett*. 2005, 38(14), 2377–2392.

17. Sun W., Zhang S., Liu H., Jina L., Kong J. Electrocatalytic reduction of nitrite at a glassy carbon electrode surface modified with palladium(II)-substituted Keggin type heteropolytungstate. *Anal. Chim. Acta.* 1999, 388(1–2), 103–110.

18. Huang S.-S., Xu Y., Liu G.-D., Tao H., Li B.-F. Determination of ntrite by a modified electrode of poly(1-Naphthylamine) film doped with Dawson-type heteropolyanions. *Microchim. Acta*. 2001, 137(1–2), 1–5.

19. Петрушина Г.А., Цыганок Л.П., Вишникин А.Б. Восстановленный 18-молибдодифосфат – новый реагент для определения нитрит-ионов. *Вопросы химии и хим. технологии*. 2010, (1), 79–83.

20. Vishnikin A.B., Sklenařova H., Solich P., Petrushina G.A., Tsiganok L.P. Determination of ascorbic acid with Wells-Dawson type molybdophosphate in sequential injection system. *Anal. Lett.* 2011, 44(3-4), 514-527.

21. Руководство по неорганическому синтезу. Т. 6. Под ред. Г. Брауэра. Москва: Мир, 1986. С. 360.

22. ГОСТ 29299-92 Мясо и мясные продукты. Определение нитрита. 1992.

23. ДСТУ 12014-3:2003. Визначення вмісту нітрату і (або) нітриту. Частина 3. Спектрометричне визначення вмісту нітрату і нітриту в м'ясних продуктах після ферментативного відновлення нітрату до нітриту. 2005.

24. Cunniff P. Official methods of analysis of the AOAC, 16-th. ed. Marylend: AOAC International, 1999.

25. Petrushina G., Vishnikin A.B., Tsiganok L.P., Bazel J.R. Simultaneous determination of paracetamol and ascorbic acid in pharmaceutical formulations. *Тез. допов. І міжнар. наук. конф. студентів, аспірантів та молодих вчених "Хімія та хімічні технології 2010" (ССТ-2010). Львів,* 2010, 26-27.