

МБОУ «Татарская Гимназия № 11»,  
Советского района г. Казани  
МБУДО «Центр детского творчества «Танкодром»

## **Потенциометрическое определение нитратов в яблочном соке**

Давлетзянов Ибрагим Ирекович, 10 класс  
МБОУ «Татарская Гимназия № 11»,  
Советского района г. Казани  
Научный руководитель: к.х.н., п. д. о  
Гедмина Анна Владимировна

Казань, 2019 год

## СОДЕРЖАНИЕ

Введение	3
1. Литературный обзор	5
1.1. Влияние нитратов на живые организмы	5
1.2. Пути попадания нитратов в организм и допустимые нормы для человека.	6
1.3. Методы определения нитратов и нитритов	7
2. Экспериментальная часть	8
2.1. Приборы и химические реагенты, необходимые для исследования	9
2.2. Объекты исследования и приготовление растворов	10
3. Обсуждение полученных результатов	12
4. Статистическая обработка результатов	14
Выводы	16
Список использованных источников литературы	17

## ВВЕДЕНИЕ

Применение огромного количества химических неорганических удобрений для повышения урожайности сельскохозяйственных культур вызвали необходимость жёсткого контроля за качеством агропромышленной продукции на содержание в них нитрат-ионов, оказывающих негативное воздействие на организм человека, вызывая большое количество заболеваний и болевых симптомов.

**В качестве гипотезы мы предполагаем** наличие в исследуемых образцах яблочных соков «Добрый» и «Любимый» определенного количества нитратов, источником которых могут служить нитратные пищевые добавки или нитратсодержащие удобрения, применяемые для повышения урожайности фруктов, используемых для приготовления соков. Высокое содержание нитратов (выше или близкое к значениям ПДК) **может привести к экологическому риску**, проявляющемуся в токсическом действии нитратов на человеческий организм и, как следствие, стать причиной ряда тяжелых заболеваний. **Актуальность выбранной темы** обосновывается многократным ростом потребления соков населением Российской Федерации, причем первое место среди употребляемых соков занимает – яблочный. Может ли какое-либо количество нитратов получить человек вместе с выпитым соком, и будет ли это количество превышать установленные предельно допустимые нормы концентрации нитратов? В связи с этим, определение содержания нитратов в исследуемых соках является важным и востребованным исследованием, поскольку является индикатором **уровня экологического риска**.

**Целью исследования** является определение количественного содержания нитрат-ионов в яблочных соках «Добрый» и «Любимый».

В связи с предложенной целью исследования, были поставлены **следующие задачи:**

1. Осуществление пробоподготовки исследуемых объектов: проведение вытяжки нитрат-ионов яблочного сока;
2. Приготовление стандартных растворов нитрата калия, проведение потенциометрических измерений, построение градуировочной зависимости концентрации приготовленных стандартных растворов от измеряемой величины (потенциала) нитрат-селективного электрода;
3. Измерение потенциала изучаемых проб яблочных соков и расчет содержания в них нитрат-ионов по градуировочной зависимости;
4. Проведение статистической обработки результатов: оценка случайной погрешности и правильности разработанного метода определения нитрат-ионов.

Таким образом, объектом исследования является образец яблочных соков «Добрый» и «Любимый» для определения в них содержания нитратов, используя потенциометрическое определение с нитрат-селективным электродом. Расчет содержания нитратов в исследуемых соках проводили, применив метод градуировочного графика, а оценку правильности

разработанной методики – методом «введено-найдено».

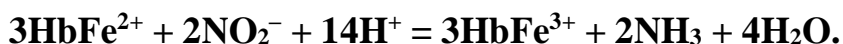
# 1. Литературный обзор

## 1.1. Влияние нитратов на живые организмы

Впервые заговорили о влиянии нитратов на организм человека в нашей стране в 70-е годы 20 в., когда в Узбекистане случилось несколько массовых желудочно-кишечных отравлений арбузами, по причине их чрезмерной подкормке аммиачной селитрой [2]. В мировой науке о нитратах знали уже гораздо раньше. Сейчас общеизвестно, что нитраты обладают высокой токсичностью для человека и сельскохозяйственных животных: нитраты под воздействием фермента нитрат-редуктазы восстанавливаются до нитритов, которые взаимодействуют с гемоглобином крови и окисляют в нём 2-х валентное железо в 3-х валентное. В результате образуется вещество метгемоглобин, которое не способно переносить кислород, вследствие чего нарушается нормальное дыхание клеток и тканей организма (тканевая гипоксия), накапливается молочная кислота, холестерин, и резко падает количество белка. Особенно опасны нитраты для грудных детей, так как их ферментная основа несовершенна и восстановление метгемоглобина в гемоглобин идёт медленно.

**Выявлены два способа окисления гемоглобина  $HbFe^{2+}$ .**

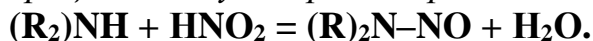
*При прямом окислении роль окислителя играют нитрит-анионы:*



*Во время косвенного окисления гемоглобина сначала нитриты окисляются до нитратов с образованием пероксида водорода, который затем вступает в реакцию с железом гемоглобина:*



Наибольшая же опасность повышенного содержания нитратов в организме заключается в способности нитрит-иона участвовать в реакции нитрозирования аминов и амидов, в результате которой образуются нитрозо-соединения, обладающие канцерогенным и мутагенным действием. *Образование нитрозо-соединений происходит при взаимодействии азотистой кислоты с вторичными аминами как в продуктах питания в процессе их кулинарной обработки, так и внутри организма:*



Проведенные на животных опыты [3] показали, что N-нитрозо-соединения способствуют образованию опухолей во всех органах, кроме костей. Кроме перечисленных серьезных негативных воздействий на живые организмы нитраты способствуют: развитию патогенной (вредной) кишечной микрофлоры, которая выделяет в организм человека ядовитые вещества-токсины, в результате чего идёт интоксикация организма.

**Основными признаками нитратных отравлений у человека являются:**

- 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;
- одышка, усиленное сердцебиение, вплоть до потери сознания;
- при выраженном отравлении - смерть.

#### **Последствия нитратных отравлений:**

- снижение содержания витаминов в пище, которые входят в состав многих ферментов, стимулируют действие гормонов, а через них влияют на все виды обмена веществ;
- уменьшение количества йода, что приводит к увеличению щитовидной железы;
- резкое расширение сосудов, в результате чего понижается кровяное давление;

#### *1.2. Пути попадания нитратов в организм и допустимые нормы для человека.*

Для взрослого человека предельно допустимая норма нитратов – 5 мг на 1кг массы тела человека (0,25г на человека весом 60 кг). Для ребёнка допустимая норма - не более 50 мг. Сравнительно легко человек переносит дневную дозу нитратов в 15-200 мг; 500 мг - это предельно допустимая доза (600 мг - уже токсичная доза для взрослого человека). В Российской Федерации допустимая среднесуточная доза нитратов - 312 мг, но в весенний период реально среднесуточная доза может достигать 500 – 800 мг/сутки [8].

#### *Пути попадания нитратов в организм человека.*

Нитраты попадают в организм человека через различные пути [9]:

1. через продукты питания:
  - а) растительного происхождения;
  - б) животного происхождения;
2. через питьевую воду;
3. через лекарственные препараты.

Часть нитратов может образоваться в самом организме человека при обмене веществ. Также нитраты попадают в организм человека через табак. Выяснено, что некоторые сорта табака содержат до 500 мг нитратов на 100г сухого вещества. В процентном отношении по поступлению в организм человека нитратов с овощами – 70%, с водой – 20%, с мясными, молочными и консервированными продуктами – 6%. Наиболее опасно отравление нитратами, растворимыми в воде [4];, т. к. это увеличивает скорость всасывания их в кровь, поэтому содержание нитрат-аниона в воде не должно превышать 45 мг/л [1]. Нитраты в основном скапливаются в корнях, корнеплодах, стеблях, черешках и крупных жилках листьев, значительно меньше их в плодах.

Меняется содержание нитратов в растениях и в течение суток. Это

объясняется интенсивностью восстановления нитрат-ионов до аммиака. Ночью и рано утром активность ферментов, участвующих в восстановлении  $\text{NO}_3^-$ , низка, что ведет к их накоплению. С повышением температуры и интенсивности освещения активность этих ферментов, в первую очередь нитрат-редуктазы, возрастает, что ведет к снижению содержания нитратов. В связи с этим сбор овощей лучше вести днем, когда содержание  $\text{NO}_3^-$  уменьшается на 30 – 40% по сравнению с утренними часами. Уменьшается количество нитратов и при хранении овощей и фруктов. Например, во время зимнего хранения содержание нитратов в картофеле снижается на 20% [5].

### *1.3. Методы определения нитратов и нитритов*

#### *Качественное определение нитратов и нитритов в растворе*

В аналитической химии известно несколько методов *качественного определения* нитратов и нитритов в растворе.

1. На часовое стекло поместить три капли раствора дифениламина, пять капель концентрированной серной кислоты и несколько капель исследуемого раствора. Если присутствуют нитрат- и нитрит-ионы, появляется темно-синее окрашивание.

2. К 10 мл исследуемого раствора прибавить 1 мл раствора, состоящего из 10%-го раствора реактива Грисса в 12%-й уксусной кислоте, и нагреть до 70–80 °С на водяной бане. Появление розового окрашивания свидетельствует о наличии нитрит-ионов.

3. К 10 мл исследуемого раствора прилить 10–15 капель щелочи, добавить 25–50 мг цинковой пыли, полученную смесь нагреть. Нитраты восстанавливаются до аммиака, который обнаруживается по покраснению фенолфталеиновой бумаги, смоченной в дистиллированной воде и внесенной в пары исследуемого раствора.

4. Оригинальные методы для определения нитратов и нитритов предложены А. Л. Рычковым (1-й Московский медицинский институт имени И. М. Семашко). Для их проведения можно воспользоваться аптечными препаратами: риванолом (этакридина лактат), физиологическим раствором (0,9%-й раствор хлорида натрия в дистиллированной воде), антипирином (1-фенил-2,3-диметилпиразолон-5). Появление розового окрашивания свидетельствует о наличии нитрит-ионов.

#### *Количественное определение нитратов и нитритов в растворе методом фотометрии*

Определение суммарного содержания нитратов и нитритов проводят с помощью реактива Грисса, переводя предварительно нитраты в нитриты цинковой пылью в кислой среде при  $\text{pH} = 3$ . Затем 10 капель исследуемого раствора подкисляют 10 каплями уксусной кислоты и прибавляют 8–10 капель реактива Грисса. Через 5–10 мин появляется розовое или красное окрашивание.

Для определения количественного содержания нитрит-ионов используют серию стандартных растворов. Сначала готовят основной раствор, содержащий 1г нитратов в литре. С этой целью 1,645 г нитрата калия, высушенного до постоянной массы при температуре 105 °С, растворяют в 1 л дистиллированной воды в мерной колбе. Из основного раствора готовят рабочие стандартные растворы (в день проведения анализа) с содержанием 100, 50, 25 и 10 мг/л разбавлением его соответственно в 10, 20, 40 и 100 раз. При проведении анализа с градуировочным раствором проводят те же операции, что и с анализируемой пробой. Затем интенсивность окраски исследуемого образца сравнивают с окраской эталонных растворов визуально или на фотоэлектроколориметре (табл. 1).

Таблица 1- Ориентировочное содержание нитритов

Окрашивание	Концентрация нитратов, мг/л
Красное	1,000
Сильно-розовое	0,500
Розовое	0,200
Светло-розовое	0,100
Слабо-розовое	0,050
Очень слабо-розовое	0,013
Едва заметное розовое	0,007
Нет	0,003 и меньше

## 2. Экспериментальная часть

Как следует из литературного обзора, развитие методов определения нитратов в соках, полученных из фруктов и овощей, как основных источников поступления нитрат-ионов в организм человека, является актуальнейшей задачей экологической аналитической химии.

### Этапы работы:

- Проведение пробоподготовки исследуемых объектов - соков «Добрый» и «Любимый»: проведение вытяжки нитрат-ионов яблочного сока.
- Приготовление стандартных растворов нитрата калия с точно известной концентрацией, проведение потенциометрических измерений стандартных растворов нитрата калия и построение градуировочной зависимости концентрации приготовленных стандартных растворов от измеряемой величины (потенциала) нитрат-селективного электрода.

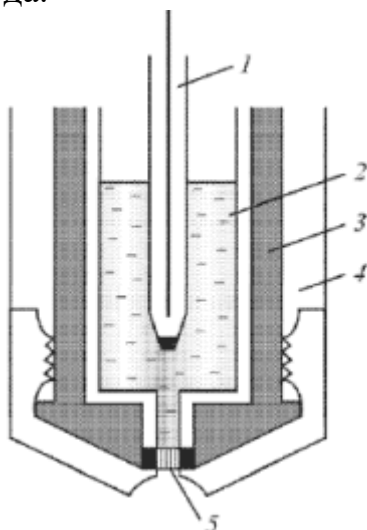
- Измерение потенциала исследуемого яблочного сока (после пробоподготовки) и определение содержания в ней нитрат-ионов по градуировочному графику.
- Проведение статистической обработки результатов: оценка случайной погрешности и правильности разработанного метода определения нитрат-ионов

## 2.1. Приборы и химические реагенты, необходимые для исследования

При массовых анализах растений на содержание нитратов используют **потенциометрический метод**, который позволяет определить различные физико-химические величины и проводить количественный анализ путем измерения электродвижущей силы элемента [1].

Этот метод основан на применении нитрат-селективного электрода [1,6], позволяющего быстро и точно проводить анализы вытяжек из свежего и сухого растительного материала. Метод используется не только благодаря высокой точности, но и универсальности применения, в том числе и для растительной продукции, имеющей ярко окрашенный сок, мешающий распознаванию нитратов колориметрическими методами. Нитрат-селективный электрод относится к ион-селективным электродам с жидкой мембраной, обладающей свойствами полупроницаемости и повышенной избирательности по отношению к определенному типу ионов.

На рисунке 1 представлена схема устройства ионо(нитрат)селективного электрода.



1 – внутренний электрод сравнения (хлорсеребряный); 2 – исследуемый раствор; 3 – ионообменный раствор; 4 – пластиковый корпус устройства; 5 – жидкая мембрана, приготовленная из пористой диафрагмы, пропитанной ионообменным нитратселективного раствором

**Рисунок 1** -Схема ионоселективного электрода с жидкой мембраной

Нитрат-селективный электрод является сенсорной частью потенциометрической установки, которая имеет вид (рис. 2)



- Потенциометрическая установка
- Индикаторный электрод-нитрат-селективный электрод
- Электрод сравнения – хлорид серебряный электрод

**Рисунок 2** –Потенциометрическая установка

## 2.2 Объекты исследования и приготовление растворов

Объектом исследования является проба соков «Добрый» и «Любимый», которые подвергались предварительной пробоподготовке: для экстракции нитратов из образцов яблочных соков использовали 1% раствор алюмокалиевых квасцов.

Для построения градуировочной зависимости серии стандартный растворов готовили последовательным разбавлением из стандартного 1 М раствора  $KNO_3$ . Способ приготовления стандартных растворов представлен в таблице 2. В качестве буферного раствора использовали ацетатный буферный раствор с рН 4.5

**Таблица 2 - Способ приготовления стандартных растворов**

№ р-ра	с, моль/л	Способ приготовления растворов, V колбы = 50 мл
1	$1 \times 10^{-1}$	5 мл станд.раствора, 5 мл буферн. раствора, 40 мл $H_2O$
2	$1 \times 10^{-2}$	5 мл раствора №1, 5 мл буферн. раствора, 40 мл $H_2O$
3	$1 \times 10^{-3}$	5 мл раствора №2, 5 мл буферн. раствора, 40 мл $H_2O$
4	$1 \times 10^{-4}$	5 мл раствора №3, 5 мл буферн. раствора, 40 мл $H_2O$
5	$1 \times 10^{-5}$	5 мл раствора №4, 5 мл буферн. раствора, 40 мл $H_2O$



Проведение потенциметрических измерений в лаборатории кафедры аналитической Химического института им. А.М. Бутлерова КФУ

### 3. Обсуждение полученных результатов

#### Проведение потенциометрических измерений

Для каждого стандартного раствора с обозначенными концентрациями нитрат-ионов были измерены значения потенциалов. В стакан с исследуемым раствором вносили нитрат-селективный электрод и электрод сравнения и измеряли потенциал системы. Измеренные значения потенциалов для стандартных растворов приведены в табл. 3

**Таблица 3** – Результаты потенциометрических измерений стандартных растворов

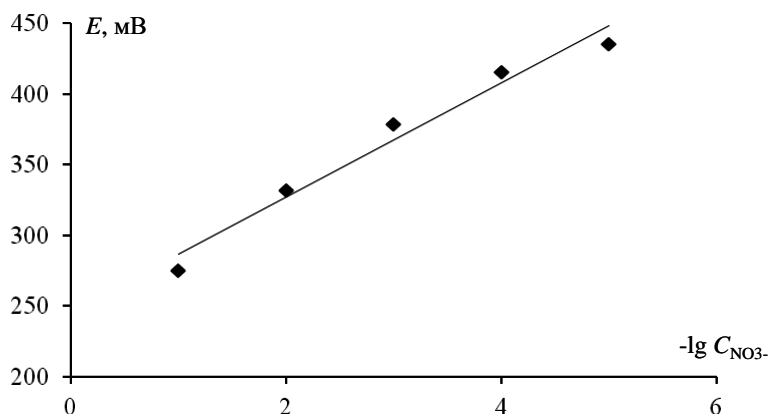
№ р-ра	c, моль/л	Потенциал электрода, E, мВ
1	$1 \times 10^{-1}$	275
2	$1 \times 10^{-2}$	332
3	$1 \times 10^{-3}$	379
4	$1 \times 10^{-4}$	416
5	$1 \times 10^{-5}$	436

Используя измеренные значения потенциала, была построена градуировочная зависимость в координатах: потенциал от отрицательного логарифма концентрации (линейная зависимость обусловлена выполнением уравнения Нернста) (рис.3).

Исходя из уравнения линии тренда, проведенной к полученной градуировочной зависимости установлена математическая запись:

$$E = 245.8 + 40.6 (-\lg C), R^2 = 0.97, E \text{ (мВ)}, C \text{ (M)}$$

Исходя из уравнения линии тренда, проведенной к полученной кривой, найдено следующее значение  $\text{tg } \beta = 40.6$  (в случае определения методом добавок).



**Рисунок 3** – Зависимость потенциала нитрат-селективного электрода от концентрации стандартного раствора  $\text{KNO}_3$

Правильность разработанной методики потенциометрического определения нитрат-ионов была подтверждена с помощью метода «введено-найдено» (табл.4). Значение стандартного отклонения ( $S_r < 5\%$ ), определяемое методом «введено-найдено», говорит о правильности используемой методики определения нитрат-ионов.

**Таблица 4** – Метрологические характеристики потенциометрического определения нитрат-ионов

Субстрат	Электрод	Содержание субстрата, мкМ		$S_r$
		Введено, мкМ	Найдено, ( $x \pm \Delta x$ ), мкМ	
Тетрациклин	Au-CU	5.0	$5.1 \pm 0.2$	0.04
		10.0	$10.2 \pm 0.3$	0.03
		100	$99 \pm 3$	0.03

Определение нитрат-ионов в образцах соков начинали с процесса пробоподготовки. Определенное количество соков (25 мл) переносили в мерную колбу на 50 мл, доводя до метки раствором 1 М алюмокалиевых квасцов. Далее из аликвоты полученного раствора (10 мл) готовили раствор



для измерения потенциала аналогичным способом, как в случае приготовления стандартных растворов, используемых для построения градуировочной зависимости. В табл. приведены измеренные значения потенциалов яблочных соков «Добрый» и «Любимый»:

**Таблица 4** – Результаты потенциометрических измерений яблочных соков «Добрый» и «Любимый»:

Исследуемый объект	Измеренный потенциал, мВ	Содержание в соке, ммоль/л	Масса нитрат-ионов в пересчете на растительный материал (яблоки) мг/кг
«Добрый» Яблочный	397	0.19	18.38
«Любимый» Яблочный	379	0.50	48.55

По градуировочному графику определяют концентрацию нитрат-ионов и рассчитывали содержание  $\text{NO}_3^-$  в граммах на 1 литр сока. Затем проводили пересчет полученного содержания нитрат-ионов в соке на растительных материалах, используемых для приготовления сока. Приведен алгоритм

расчета содержания нитратов для сока «Добрый»:

$$C_{\text{NO}_3^-} = 0.19 \text{ ммоль/л в } 50\text{мл, в } 10 \text{ мл}$$

$$v_{\text{NO}_3^-} = C \times V_{\text{аликвоты}} = 0.95 \text{ ммоль/л} \times 25 \times 10^{-3} \text{ л} = 2.375 \times 10^{-7} \text{ моль}$$

$$m_{\text{NO}_3^-} = v_{\text{NO}_3^-} \times M_r(\text{NO}_3^-) = 2.375 \times 10^{-7} \text{ моль} \times 62 \text{ г/моль} = 1.47 \times 10^{-3} \text{ г} = 1.47 \text{ мг} \setminus$$

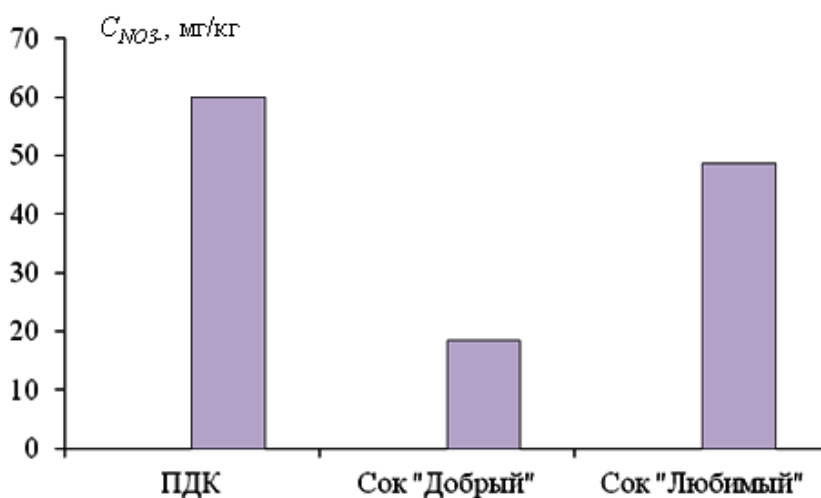
в аликвоте сока (25 мл)

Масса нитрат-ионов в объеме исследуемого раствора =  $1.47 \text{ мг} / 0.05 \text{ л} = 0.0294 \text{ г/л}$

При приготовлении яблочного сока на 1 л уходит 1,6 кг яблок.

Аналогичный алгоритм расчета был применен для сока «Любимый», рассчитанное значение нитратов для этого сока составило **48.55 мг/кг**.

Полученные значения нитрат-ионов в пересчете на растительный материал были сравнены со значениями ПДК нитратов в яблоках. Эти значения не превышают величину ПДК, но констатируют присутствие нитрат-ионов в образцах соков.



**Рисунок 4** –Сопоставление образцов соков со значениями ПДК

#### 4. Статистическая обработка полученных результатов

##### *Статистическая обработка результатов для ХПК*

Предмет статистической обработки результатов — случайные погрешности анализа [6]. Источники случайных погрешностей так многообразны, что их нельзя заранее предусмотреть и устранить. Эти погрешности приводят к тому, что результаты некоторых параллельных

определений практически никогда не совпадают, они рассеиваются вокруг определенного значения. Степень рассеивания результатов характеризует воспроизводимость анализа. Большой разброс результатов параллельных определений свидетельствует о плохой воспроизводимости. Наоборот, чем меньше отдельные результаты различаются, тем выше воспроизводимость.

Выборка результатов для сока «Добрый»: (0.19; 0.18; 0.19; 0.20; 0.19; 0.20) ммоль/л

Среднее значение  $C_{NO_3^-}$ : 0.19 ммоль/л.

Стандартное отклонение единичного результата находили по формуле:

$$S = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}, \underline{S=0.008}$$

Относительное стандартное отклонение находили по формуле:

$$S_r = \frac{S}{\bar{x}}, \underline{S_r=0.04}$$

Доверительный интервал находили по формуле:

$$\Delta x = \frac{S * t}{\sqrt{n}}, t_{\text{табл}}=2,57, n=6, \underline{\Delta x=0.009}$$

**Результат:  $C_{NO_3^-} = 0.190 \pm 0.009$  ммоль/л**

## Выводы

1. С помощью потенциометрического метода анализа оценено содержание нитрат-ионов в образцах яблочного сока. В основе метода лежит измерение потенциала раствора, содержащего различные содержания нитрат-ионов. Нижняя граница определяемых значений нитрат-ионов составляет 10 мкМ/л.

2. Проведена проба-подготовка исследуемого объекта (образцы сока), и измерено значение потенциала исследуемых систем и по градуировочной зависимости рассчитано содержание нитрат-ионов в образцах.

3. Статистическая оценка полученных результатов говорит о допустимости уровня случайной погрешности, значение  $S_r$ , определяемое методом «введено – найдено», говорит о правильности разработанной методики определения нитрат-ионов.

4. Методика определения была апробирована на реальном объекте (соки «Добрый» и «Любимый»). Установлено, что в соке «Добрый» содержание нитрат-ионов в пересчете на растительный материал, составляет 18.38 мкг/кг, в соке «Любимый» - 48.55 мкг/кг, что ниже значения ПДК нитрат-ионов в яблоках (60.00 мкг/кг).

Потенциометрический анализ нитратов в растительных объектах и продуктов питания, производимых из них, имеет ряд преимуществ по сравнению с другими методами анализа (хроматография, спектрофотометрия), такие как: простота, экспрессность, дешевизна эксперимента (недорогая приборная аппаратура и реактивы), возможность проводить анализ не только в лабораторных условиях. Помимо этого потенциометрический метод анализа показывает высокую чувствительность и селективность, что позволяет определять микроколичества нитратов в различных объектах и ответить на вопрос, не превышает ли определенное этим методом содержание нитратов, предельно-допустимое значение, при котором отмечаются отрицательные последствия для организма человека.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Будников Г.К. Основы современного электрохимического анализа. - М.:БИНОМ, 2003, с.592.
2. Гайлите, М. Ещё раз о нитратах / М. Гайлите, М. Гайлитис // Наука и мы.- 1990г.- №6.- с.2.
3. <http://him.1september.ru/article.php?id=200103101>
4. Речкалова, Н.И. Какую воду мы пьем / Н.И. Речкалова, Л.И. Сысоева Химия в школе. – 2004. - №3.- с.7-8.
5. Соколов О.А. Нитраты под строгий контроль //Наука и жизнь. -1988г., №3.
6. Шайдарова Л.Г., Медянцева Э.П., Приймак Е.В. Методическое руководство к практикуму по потенциометрии.-Изд-во Казанского университета, 1997, с.58
7. Шайдарова Л.Г., Улахович Н.А. Математическая обработка результатов химического анализа (методическое руководство).-Изд-во Казанского университета, 2000, с.44
8. [https://studwood.ru/1148197/ekologiya/dopustimye\\_normy\\_nitratov\\_cheloveka](https://studwood.ru/1148197/ekologiya/dopustimye_normy_nitratov_cheloveka)
9. <http://www.medintime.ru/medtimes-944-1.html>