

ние вторичного фактора из второго шага регрессии (фактор – температуры) приводит к уравнению ($R^2=88,4\%$):

$$PEF = 0,035 * X_3 + 0,356 * X_1 \quad R^2=88,4\% \\ p=0,00 \quad p=0,23$$

К обострению БА в летний период приводят рост атмосферного давления и повышение температуры воздуха. Оптимальная зависимость атмосферного давления от температуры воздуха описывается формулой:

$$X_3=943 - 10,2 * X_1$$

Например, при максимальном встречающемся давлении летом 750 мм.рт.ст. к росту обострений БА будет приводить дневная температура выше 18°C.

Осень. Наиболее важным фактором является влажность воздуха, предсказательная способность равна 89,9%. Получаем следующее уравнение.

$$PEF = 0,354 * X_2 \quad R^2=89,9\% \\ p=0,00$$

С учетом среднесуточного разброса PEF при обострении БА (30,3, стандартное отклонение – 9,72), оптимальная влажность будет равна 85,6%. На втором шаге в модель входит температурный фактор ($R^2=90,9\%$).

$$PEF = 0,333 * X_2 - 0,541 * X_1 \quad R^2=90,9\% \\ p=0,00 \quad p=0,04$$

Отсюда получаем оптимальное сочетание двух показателей (с учетом среднесуточного разброса PEF при обострении БА).

$$X_2=91+1,6 * X_1$$

При дневной температуре -5°C к росту обострений осенью будет приводить влажность воздуха выше 80%.

Таким образом, к обострению БА приводят: зимой и осенью рост относительной влажности на фоне понижения температуры воздуха; летом – рост атмосферного давления на фоне повышения средней температуры воздуха; весной – повышение влажности и температуры воздуха. Статистическая обработка показала, что указанные изменения достоверны ($p=0,00$).

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СПОСОБОВ ОПРЕДЕЛЕНИЯ НИТРАТОВ И НИТРИТОВ В ПРОДУКТАХ РАСТЕНИЕВОДСТВА

А.К. Жерносек, А.А. Волжанков

Введение. В литературе описано большое количество методик, преимущественно фотометрических, количественного определения нитратов и нитритов в пищевых продуктах [1–5]. Известные способы определения данных веществ различаются между собой по сложности и длительности выполнения анализа, воспроизводимости, границам определяемых содержаний и селективности. Некоторые методики предполагают использование токсичных реагентов.

Целью данной работы является сравнение методик количественного определения нитратов и нитритов в пищевых продуктах растительного происхождения и их применение для анализа образцов продуктов растениеводства.

Материалы и методы. Объектами исследований служили образцы овощей (картофель, морковь, кабачок, огурцы, свекла, редис, редька, лук, капуста, томаты, укроп, петрушка и др.), выращенных в различных условиях.

Количественное определение нитратов и нитритов в исследуемых образцах проводили фотометрическим методом согласно методикам, описанным в [4, 5], а также методом потенциометрии с использованием нитрат-селективного электрода. Оптическую плотность растворов измеряли с помощью фотометра КФК-3. Для потенциометрических определений применяли иономер лабораторный И-160.

Результаты и их обсуждение. Простейшим способом полуколичественной оценки содержания нитратов в продуктах растениеводства является их колориметрическое определение с помощью дифениламина. Область определяемых содержаний нитратов с помощью данной методики составляет 100–3000 мг/кг. Её нижней границе соответствует появление быстро исчезающей бледно-голубой окраски. При содержании нитратов более 3000 мг/кг исследуемый материал быстро окрашивается в иссиня-чёрный цвет, при этом окраска устойчива во времени. В реакцию с дифениламином могут вступать также и нитриты, однако содержание последних в свежих овощах, как правило, значительно меньше содержания нитратов.

В табл. 1 показаны результаты колориметрического определения нитратов с помощью дифениламина. Наибольшее количество нитратов обнаружено в огурце, укропе и петрушке, наименьшее – в капусте белокачанной, капусте кольраби, редьке черной.

Таблица 1. Результаты определения нитратов с помощью дифениламина

Исследуемое растение	Содержание нитратов в мг/кг
Картофель свежий	10– 500
Морковь	100–1000
Капуста белокачанная	0–500
Капуста пекинская	500–1000
Капуста кольраби	0–500
Кабачок	100
Огурец	250– >3000
Укроп	1000–3000
Петрушка	500– >3000
Салат	1000
Редька чёрная	0–100
Свёкла	0–1000
Лук зелёный	250–500

Содержание нитратов в различных частях исследуемых растений может значительно отличаться. Например, при исследовании образца огурцов установлено, что содержание нитратов в серединной части растения составляет 250 мг/кг, под кожурой – 1000 мг/кг, в кожуре и возле плодоножки более 3000 мг/кг.

Для количественного определения нитратов нами также использована фотометрическая методика, основанная на образовании окрашенного продукта при взаимодействии с салицилатом натрия. Данная методика не требует применения дорогостоящих и токсичных реактивов, но подходит, главным образом, для определения нитрат-ионов в образцах воды. В случае применения её к пищевым продуктам необходима тщательная очистка извлечения. По результатам фотометрического определения нитратов (очистка с помощью диализа) найдено, что содержание нитрат-ионов в исследуемом образце картофеля составляет (73 ± 5) мг/кг, в огурцах – (105 ± 4) мкг/кг, моркови – (102 ± 8) мкг/кг.

Методика потенциометрического определения нитратов в растительной продукции обладает значительными преимуществами перед другими методиками: хорошая воспроизводимость (величина S_r не превышает 0,02), экспрессность, простая пробоподготовка, отсутствие влияния экстрактивных веществ. Потенциометрия в настоящее время является основным методом определения нитратов в лабораториях контроля качества растениеводческой продукции. Результаты определения нитратов с помощью ионоселективного электрода приведены в табл. 2. Среди исследованных образцов наибольшее содержание нитратов обнаружено в свекле. Данное содержание превышает ПДК (1400 мг/кг), но меньше критической нормы (1550 мг/кг).

Таблица 2. Результаты потенциометрического определения нитрат-ионов в образцах растениеводческой продукции ($n = 5, P = 0,95$)

Образец	Метрологические характеристики результатов определения					
	\bar{x} , мг/кг	S^2	S	$S_{\bar{x}}$	S_r	$\Delta\bar{x}$
Картофель	150	7,30	2,70	1,21	0,018	3
Морковь	100	3,70	1,92	0,86	0,019	2
Огурец	190	2,50	1,58	0,71	0,0083	2
Капуста	296	3,70	1,92	0,86	0,0065	2
Укроп	228	5,70	2,39	1,07	0,010	3
Свекла	1535	12,8	3,58	1,60	0,0023	4

Для фотометрического определения нитритов в образцах продуктов растениеводства использован реактив Грисса. Градуировочная зависимость линейна в диапазоне концентраций нитрит-ионов от 0,1 до 1 мкг/мл. конечного раствора. Методика обладает достаточно хорошей воспроизводимостью, основным её недостатком является канцерогенность используемого реагента

(α -нафтиламин). Содержание нитритов в большинстве исследуемых образцов продуктов растениеводства оказалось ниже предела определения методики. Найдены нитриты в свёкле – (94 ± 5) мкг/кг и редисе – (55 ± 3) мкг/кг.

Выводы. Проведено сравнительное исследование методик количественного определения нитратов с помощью дифениламина, салицилата натрия, ионоселективного электрода и нитритов по реакции с реактивом Грисса в растительных продуктах. Отмечены их основные метрологические характеристики, преимущества и недостатки. Методики апробированы на образцах продуктов растениеводства.

Литература

1. Methods of analysis of food components and additives / Ed. by S. Ötles. – Taylor&Francis. – 2005. – 451 p.
2. Moorcroft, M.J. Detection and determination of nitrate and nitrite: a review / M.J. Moorcroft, J. Davis, R.G. Compton // Talanta. – 2001. – Vol. 54, N 5. – p. 785–803.
3. Nitrates and nitrites in food and water / ed. by M. Hill. – Woodhead Publishing, 1996. – 196 p.
4. Вольнец, В.Ф. Аналитическая химия азота / В.Ф. Вольнец, М.П. Вольнец. – М.: Наука, 1977. – 307 с.
5. Скурихина, И.М. Руководство по методам анализа качества и безопасности пищевых продуктов / И.М. Скурихина, В.А. Тутельян. – М.: Брандес, 1998. – 340 с.

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

Б.Н. Кочергин

В молекулярной биологии, биохимии и других смежных с ними дисциплинах большое значение имеют физико-химические методы определения нуклеиновых кислот. Изменения в их составе позволяет получить ценную информацию о функциональной активности органов и тканей и характере обменных процессов в организме.

В настоящее время в биохимической практике существует много различных способов определения количественного содержания ДНК и РНК в биологических системах. В основе этих способов лежат специфические реакции на их составные части: углеводный компонент (рибоза или дезоксирибоза), фосфорную кислоту или на измерении поглощения нуклеиновых кислот в ультрафиолетовом свете за счет азотистых оснований. Свойства азотистых оснований поглощать ультрафиолетовые лучи в зоне максимума (260 нм) используется для количественного определения ДНК и РНК спектрофотометрическим методом. Существует много модификаций этого метода. Среди них метод двухволновой спектрофотометрии, разработанный Цаневым и Марковым [1, 151-154]. В этом методе подбираются такие две длины волн, при которых оптическое поглощение примесей, в основном, ароматических аминокислот одинаково, а величина разности при этих длинах волн, при которых белковые примеси имеют одинаковое оптическое поглощение.

Недостатком метода Цанева-Маркова является гидролиз ткани 1 н щелочью, что приводит к появлению значительных белковых примесей и к дезаменированию цитидиловой кислоты. Другим недостатком является применение ТХУ для удаления кислоторастворимых продуктов. С учетом этих недостатков и некоторых других процедур, связанных с подготовкой образцов тканей для анализа нами внесены изменения в метод Цанева-Маркова. Ниже дается описание спектрофотометрического метода раздельного определения ДНК и РНК в одной навеске. Метод позволяет вести определение в свежем или фиксированном биологическом материале. Свежую или фиксированную в этаноле (1:15) ткань массой 500 мг. тщательно измельчали, затем обрабатывали 50% раствором этанола, содержащим 2% ацетат калия, а затем 5 мл. 96% этанола при $0-4^{\circ}\text{C}$, в течении 15 минут, отделяя его каждый раз центрифугированием. После этого из образцов ткани экстрагировали липиды, в начале 10 мл. смесью ацетона и хлороформа (5:1), трижды на холоду, затем 10мл. кипящей смесью хлороформа с этанолом 15 минут, тоже три раза. После этого осадок обрабатывали диэтиловым эфиром по 10 мл. 3 раза, дополнительную обработку осадка проводили пентаном 2 раза по 5 мл. Высушенную ткань и измельченную до порошкообразного состояния, использовали для последующей экстракции кислоторастворимых продуктов. Навеску сухого порошка весом 20мг. трижды обрабатывали 10-кратным объемом холодной $0,2\text{ н HClO}_4$ с последующим центрифугированием на холоду. Образовавшийся осадок, содержащий нуклеиновые кислоты инкубировали в $0,5\text{ н KOH}$ при температуре 37°C в течение 18 часов. На каждые 5 мг. сухой ткани брали 1 мл. KOH . В начале, пока не прогреются образцы (1 час), закрывать пробкой не следует. Содержимое пробирок периодически перемешивали стеклянной палочкой. К охлажденному гидролизату прибавляли холодную концентрированную HClO_4 до pH 1 (0,1 мл. HClO_4 на каждый мл. KOH).