



УКРАЇНА

(19) UA (11) 58801 (13) U
(51) МПК

G01N 33/12 (2011.01)

G01N 33/18 (2011.01)

G01N 33/52 (2011.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ЕКСПРЕСНОГО ТЕСТ-ВИЗНАЧЕННЯ НІТРИТ-ІОНІВ

1

(21) u201011728

(22) 04.10.2010

(24) 26.04.2011

(46) 26.04.2011, Бюл.№ 8, 2011 р.

(72) ПЕТРУШИНА ГАЛИНА ОЛЕКСАНДРІВНА,
ЦИГАНOK ЛЮДМИЛА ПАВЛІВНА, ВИШНІКІН АН-
ДРІЙ БОРИСОВИЧ, СТЕПНЕВСЬКА ЯНА ВАЛЕ-
РІЄВНА(73) ДНІПРОПЕТРОВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ОЛЕСЯ ГОНЧАРА

2

(57) Спосіб експресного тест-визначення нітрит-іонів, що включає виготовлення тест-смужок іммобілізацією реагенту на папері, який відрізняється тим, що як реагент використовують відновлену амонійну сіль 18-молібдодифосфату синього кольору, який закріплюють на папері імпрегуванням тетраетиламонію бромідом, тест-смужку занурюють у розчин з невідомою концентрацією NO_2^- і рН 0,75-1,5 на 14-16сек., витримують 7-10хв. на повітрі та порівнюють з паперовими тест-смужками або зі сканованою тест-шкалою.

Корисна модель стосується розробки нової тест-методики визначення нітрит-іонів у різних об'єктах.

Нітрит-іони - це забруднювачі, гранично допустима концентрація (ГДК) яких нормуються у природних, технічних водах, харчових продуктах тощо [1]. Застосування азотних добрив сприяє накопиченню нітритів у ґрунті, тканинах рослин, природних водах. Нітрити використовують також у харчовій промисловості, зокрема у виробництві м'ясних виробів як консервант та компонент, який надає ковбасам рожеве забарвлення. Нітрити є доволі токсичними для людини та тварин, їх токсичність у 10 разів більша, ніж нітратів [2]. Вони в організмі людини сприяють перетворенню гемоглобіна на метгемоглобін та нітрозогемоглобін, які не здатні транспортувати кисень. Крім цього, нітрити у кислому середовищі реагують з вторинними амінами, утворюючи нітрозозаміни, які мають канцерогенну, мутагенну та ембріотропну дію на організм.

Класичною реакцією для встановлення вмісту NO_2^- є реакція Гріса, яка ґрунтується на взаємодії 1-нафтиламіну з 4-діазобензолсульфокислотою. Остання утворюється при взаємодії NO_2^- з сульфаніловою кислотою. Аналітичний сигнал - помаранчево-червоне забарвлення азосполук [3]. Недоліками цієї та інших реакцій утворення азосполук [3-7] є канцерогенна токсичність реаген-

тів, перш за все, нафтиламіну та його похідних, нестійкість забарвлення на повітрі та світлі.

Є спроби замінити феніламін іншими реагентами, наприклад, 3-гідрокси-7,8-бензо-1,2,3,4-тетрагідрокіноліном (ТБТГХ), який використано для розробки тест-смужок і пластин з покриттям для визначення NO_2^- на рівні 0,5 та 0,8мг/л [4]. Недоліками є як складність самих реагентів, так і спосіб їх нанесення.

Патент Китаю [5], в якому рекомендована тест-методика для виявлення NO_2^- в овочах, теж заснована на утворенні азосполук. Недоліки - складність та недостатня стійкість суміші реагентів та забарвлення смужок, токсичність утворених азосполук.

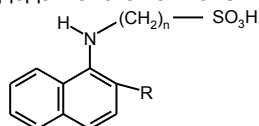
У патенті Росії запропоновані паперові тест-смужки для визначення NO_2^- та NO_3^- в стічних водах з ковалентно зв'язаним реагентом, діазоскладові - новокаїн або анестезин, $S_r = 0,3$. Заміна деяких компонентів реакції не зменшили її складності та залежності від багатьох факторів.

Аналіз патентної літератури свідчить про те, що основною реакцією для визначення NO_2^- залишається утворення азосполук, відбувається заміна тільки деяких компонентів, але реагентні суміші є складними, ними не завжди можливо ім-

(13) U
(11) 58801
(19) UA

прегнутувати тверді носії, реакція перебігає повільно, забарвлення не стійке.

Найбільш близьким до способу, що заявляється, є «Composition for assaying for nitrites» [7], який заснований на використанні для іммобілізації на паперові смужки композиції, яка складається з діазотуючого аміна, кислотного компонента та додаткового компонента формули:



Де R - атом гідрогену або алкільна група з не-розгалуженою структурою, яка має від 1 до 6 атомів карбону; n - ціле число від 1 до 6.

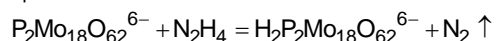
Суттєвим недоліком цього способу є складність реагенту та реакції діазотування, мала швидкість реакції, токсичність азосполук, недостатня стійкість забарвлення.

Задачею корисної моделі є розробка дешевого, експресного, селективного та простого способу тест-визначення NO_2^- шляхом використання синього забарвлення реагенту.

Задача вирішується способом експресного тест-визначення нітрит-іонів, який включає виготовлення тест-смужок іммобілізацією реагенту на целюлозі і відрізняється тим, що як реагент використовують відновлену амонійну сіль 18-молібдодифосфату (ГПА) синього кольору, який отримують відновленням даної солі гідразинсульфатом в інтервалі pH 0-1 при нагріванні на водяній бані протягом 10-20 хв, потім закріплюють на папері імпрегнуванням тетраетил амонію (ТЕА) бромідом. Тест-смужку занурюють у розчин з невідомою концентрацією NO_2^- і pH 0,75-1,5 на 10-15сек., витримують 7-10хв. на повітрі та порівнюють з тест-шкалою з паперових смужок або сканованою.

Спосіб одержання забарвлених тест-смужок включає імпрегнування фільтрувального паперу в 0,01М розчині реагенту, а потім - у 1М розчині ТЕА броміду.

При взаємодії ГПА з гідразиним утворюється чотирьохелектронна гетерополісинь (ГПС-4) за реакцією:



Одержаний розчин яскраво-синього кольору стійкий досить довго (місяць), перевагою такого реагенту є те, що при його виготовленні продукт реакції N_2 видаляється з реакційного середовища. Реакція залежить від pH розчину та температури, оптимальний вихід продуктів реакції спостерігається під час нагрівання суміші при pH близько 1.

Приклад 1. Приготування розчину реагенту.

Зважують 0,7855 г $(\text{NH}_4)_6\text{P}_2\text{Mo}_{18}\text{O}_{62} \cdot 14\text{H}_2\text{O}$, розчиняють у мірній колбі на 25 мл. Одержаний розчин має насичений жовтий колір. До 10мл 18-МФК 10^{-2}M додають 10мл 10^{-2}M гідразинсульфату, 5мл 5М H_2SO_4 та доводять об'єм до 50мл, нагрівають на водяній бані протягом 10-20хв в інтервалі pH 0-1.

Приклад 2. Іммобілізація $(\text{NH}_4)_6\text{P}_2\text{Mo}_{18}\text{O}_{62}$ на папір.

У прямокутній посудині розміщують аркуші щільного фільтрувального паперу (синя стрічка), заливають розчином реагенту і витримують протягом 30-60хв., висушують на повітрі, занурюють у розчин тетраетиламонію броміду на 10хв., промивають дистильованою водою та сушать на повітрі протягом доби. Нарізають папір на смужки 0,5 на 4см. Зберігають тест-смужки в щільно закритій тарі в приміщенні, повітря якого не містить відновників.

Приклад 3. Одержання тест-шкали та тест-визначення NO_2^- .

У розчин з певною концентрацією NO_2^- додають 0,5мл 5М H_2SO_4 , занурюють на 10-15сек.(табл.1) тест-смужки, які отримані за умов прикладів 1, 2. Висушують на повітрі протягом 60 хвилин. Одержані смужки запаковують у поліетилен. В таблиці 2 наведена залежність забарвлення тест-смужок від концентрації NO_2^- . Для визначення нітриту тест-смужку після занурення в аналізат необхідно попередньо висушити на повітрі, після чого порівнювати зі шкалою. Час аналізу п'яти проб - близько 30 хвилин.

Таблиця 1

Залежність зміни забарвлення тест-смужок від терміну контакту з аналітом, С (NO_2)=200мг/л

Термін контакту смужки з аналітом, сек	Колір тест-смужки
2	темно-синій
5	синій
7	зеленувато-блакитний
10	зелений
15	зелений

Таблиця 2

Залежність забарвлення тест смужок від концентрації NO_2^-

Концентрація нітрит-іонів, мг/л	Колір тест-смужки
0	темно-синій
40	синій
80	блакитний
160	зеленувато-блакитний
220	зелений
280	жовто-зелений
340	зеленувато-жовтий
500	жовтий

Приклад 4. Одержання сканованої тест-шкали для експресного тест-визначення NO_2^- .

У розчин з певною концентрацією NO_2^- (табл.2) додають 0,5мл 5М H_2SO_4 , занурюють на 10-15сек. Тест-смужки, які отримані за умов прик-

ладів 1, 2. Витримують 5-7хв. та сканують на побутовому сканері зображення вологих смужок. Одержану тест-шкалу друкують на кольоровому принтері, підібравши відтінки за допомогою програм-редакторів зображення, які найбільше відповідають дійсним, увесь час порівнюючи отримані зображення з вологою тест-шкалою. Отримана таким чином тест-шкала може зберігатися набагато довше, ніж шкала, отримана за прикладом 3, та не потребує пакування у поліетилен.

Шкала, одержана за допомогою запропонованої методики містить паперові тест-смужки у порядку зростання концентрації NO_2^- від 0 до 340мг/л, при цьому забарвлення смужок змінюється від темно-синього до жовтого та є доволі контрастним.

Для визначення NO_2^- в аналіт занурюють тест-смужку на 10-15сек. та кладуть на рівну поверхню, бажано білого кольору (скло, пофарбоване знизу білою фарбою, або покладене на білий папір; аркуш білого паперу, вкладений у канцелярський файл тощо). Витримують 5-7 хвилин та порівнюють (у вологому стані) зі шкалою. Час аналізу - 10 хвилин.

Таким чином, дана корисна модель дозволяє отримати новий реагент та на його основі тест-смужки для простого, дешевого та експресного

напівкількісного визначення нітрит-іонів у широкому інтервалі концентрацій 20-500мг/л. Відносне відхилення визначення не перевищує 0,3.

Джерела інформації:

1. Moorcroft M.J., Davis J., Compton R.G. Detection and determination of nitrate and nitrite: a review. // *Talanta*. 2001. - V. 54. - P.785-803.

2. Дурынина Е.П., Егоров В.С. Агрохимический анализ почв, растений, удобрений. -М.: МГУ, 1998г. - 113с.

3. Золотов Ю.А., Иванов В.М., Амелин В.Г. Химические тест-методы анализа. М: Эдиториал УССР, 2002, 302с.

4. Островская В.М., Цыганков А.В., Прокопенко О.А. и др. Определение нитрит-ионов тест-полосками на основе 3-гидрокси-7,8-бензо-1,2,3,4-тетрагидрохинолина. // *ЖАХ*. - 2008. - Т.63, №8, с.866-872.

5. Патент CN №1445531, 2003р. Test paper for fast testing nitrite, azotate in vegetables and its testng methode. X. Zenghong, C. Guonan.

6. Патент RU №2173851, 2001р.Способ определения нитратов и нитритов тест-методом. Амелин В.Г., Колодкин И.С.

7. Патент США №4631255, 1986р. Composition for assaying for nitrites. K. Takino, H. Asahi, H. Wada.

