



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **102959** (13) **C2**
(51) МПК (2013.01)
G01N 21/78 (2006.01)
G01N 33/52 (2006.01)
B01J 20/00

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки: **а 2012 09454**
(22) Дата подання заявки: **02.08.2012**
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: **27.08.2013**
(41) Публікація відомостей про заявку: **10.01.2013, Бюл.№ 1**
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: **27.08.2013, Бюл.№ 16**

(72) Винахідник(и):
Запорожець Ольга Антонівна (UA),
Кеда Тетяна Євгенівна (UA),
Яковчук Олена Петрівна (UA)
(73) Власник(и):
КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ТАРАСА
ШЕВЧЕНКА,
вул. Володимирська, 64, м. Київ, 01061,
Україна (UA)
(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:
UA 25054 U, 25.07.2007
RU 2368896 C1, 27.09.2009
Запорожець О.А., Линник Р.П., Воловенко О.Б. Иммунизированный на кремнезем АТАН в анализе сосуществующих форм меди в природных водах // Методы и объекты химического анализа. - 2007. - Т. 2, № 1. - С. 40-50
Запорожець О.А., Зінько Л.С., Кеда Т.Є. Твердофазно-спектрофотометричне визначення нікелю та цинку іммобілізованим дитизином // Методы и объекты химического анализа. - 2007. - Т. 2, № 1. - С. 62-69
Linnik R.P., Zaporozhets O.A. Solid-phase reagent for molecular spectroscopic determination of heavy metal speciation in natural water // Anal Bioanal Chem. - 2003. - P.1083-1088

(54) СПОСІБ ТЕСТ-ВИЗНАЧЕННЯ НІКЕЛЮ(II)

(57) Реферат:

Винахід належить до галузі аналітичної хімії. Спосіб тест-визначення нікелю(II) полягає в тому, що силікагель, модифікований 1-(4-адамантил-2-тіазоліл-азо)-2-нафтолом, обробляють розчинами нікелю при рН 5,5 і порівнюють колір сорбенту із стандартною кольоровою шкалою. Тест-метод характеризується вибірковістю визначення, зокрема в присутності надлишку Fe(III) та Co(II). Достатня чутливість методу дозволяє використовувати його для візуального тест-визначення мікрокілківностей Ni(II) у слині.

UA 102959 C2

Запропонований спосіб належить до аналітичної хімії, зокрема до візуальних тест-методів визначення нікелю(II) і може бути використаний при аналізі слини.

В цій галузі прийнято використовувати такі терміни і скорочення:

ППУ - пінополіуретан.

5 MB - межа виявлення.

СГ - силікагель.

HR-1-(4-адамантил-2-тіазоліл-азо)-2-нафтол.

HR-СГ - 1-(4-адамантил-2-тіазоліл-азо)-2-нафтол, іммобілізований на силікагелі.

BT - візуальне тест-визначення.

10 Відомі способи тест-визначення нікелю, які полягають в тому, що фільтрувальний папір, імпрегнований диметилглюксимом, [1] а також пінополіуретан (ППУ), модифікований рубеоноводневою кислотою, [2] попередньо оброблюють розчинами нікелю і порівнюють колір сорбентів зі стандартними кольоровими шкалами. Діапазон визначуваних концентрацій тест-шкал становить, мг/л нікелю(II): 10-500 [1], 0,02-1,00 [2]. Недоліком способу із використанням імпрегнованого на папері диметилглюксиму [1] є недостатня для аналізу біологічних рідин, зокрема слини, чутливість. Межа виявлення (MB) нікелю у 20 разів перевищує допустиму дієтартну норму споживання нікелю при виділенні людиною слини 1,5 л за добу. Недоліком способу із використанням модифікованого ППУ [2] є тривалість і трудомісткість одержання сорбенту, що містить процедуру приготування таблетки ППУ (3 год.).

20 Найбільш близьким за технічною суттю і результатом, що досягається, є спосіб визначення нікелю(II) візуальним тест-методом з використанням модифікованого цинк(II) 4-(2-піридилазо)-2-нафтолатом високодисперсного кремнезему Silpearl [3]. Спосіб ґрунтується на іммобілізації на Silpearl комплексної сполуки цинку(II) з 4-(2-піридилазо)-2-нафтолом, подальшу обробку сорбенту розчинами з pH=3,8 і порівняння кольору сорбенту зі стандартною кольоровою шкалою. MB нікелю(II) становить 0,06 мг/л. До недоліків запропонованого способу можна віднести трудомісткість і тривалість одержання модифікованого сорбенту через необхідність синтезу модифікатора - цинк(II) 4-(2-піридилазо)-2-нафтолату, погану седиментацію Silpearl, що ускладнює відокремлення сорбенту від матриці, збільшуючи тривалість аналізу. Проведення визначення можливе при pH, що не відповідає pH біологічних рідин, зокрема слини.

30 В основу винаходу поставлено задачу розробки простого і придатного для аналізу біологічних рідин, зокрема слини, способу візуального тест-визначення (BT) нікелю(II).

Поставлена задача вирішується за рахунок того, що мезопоруватий силікагель (СГ), модифікований 1-(4-адамантил-2-тіазоліл-азо)-2-нафтолом (HR-СГ), обробляють розчином Ni(II) при pH 5,5 з наступним візуальним порівнянням кольору сорбенту із стандартною кольоровою шкалою. Модифікацію СГ марки SG-60 фірми "Merck" (S=490 м²/г, розмір частинок: 63-200 мкм, d(пор)=6 нм) здійснюють адсорбцією 1-(4-адамантил-2-тіазоліл-азо)-2-нафтолу з гексанового розчину [4]. Модифікацію здійснюють в одну стадію шляхом перемішування певної наважки сорбенту СГ з гексановим розчином модифікатора впродовж 5 хв. [4]. Ємність одержаного сорбенту за модифікатором становить 2,0 мкмоль/г.

40 Діапазон стандартної кольорової шкали, що використовують для визначення концентрації нікелю, становить 90-600 мкг/л (при об'ємі проби 15,0 мл). MB нікелю у 5 разів менше за допустиму дієтартну норму споживання нікелю при виділенні людиною слини 1,5 л за добу, що робить придатним спосіб для візуального тест-визначення Ni(II) у слині.

Оптимальним для кількісного (≥80 %) вилучення Ni(II) модифікованим сорбентом є pH 5,5, оптимальний час перемішування сорбенту із розчином проби становить 15 хв.

45 Таким чином, суттєвими ознаками запропонованого способу є те, що як модифікатор використовують 1-(4-адамантил-2-тіазоліл-азо)-2-нафтол, а обробку сорбенту здійснюють розчином з pH 5,5.

Застосування СГ, модифікованого 1-(4-адамантил-2-тіазоліл-азо)-2-нафтолом, для визначення нікелю(II) у біологічних рідинах у літературі не відомо, що дозволяє вважати запропонований спосіб таким, що відповідає критеріям "новизна" та "винахідницький рівень". Винахід ілюструється наступними прикладами, які не обмежують обсяг правової охорони:

Приклад 1.

Одержання стандартної кольорової шкали.

55 Готують 8 розчинів з pH=5,5 (контроль за pH-метром) об'ємом 15,0 мл з вмістом Ni(II) 0, 90, 120, 150, 180, 300, 450, 600 мкг/л. До кожного розчину додають по 0,100 г HR-СГ і перемішують магнітною мішалкою впродовж 15 хв. Одержані забарвлені сорбенти відділяють центрифугуванням. Діапазон стандартної кольорової шкали становить 90-600 мкг/л Ni(II).

Приклад 2.

60 Вплив сторонніх іонів на результати визначення нікелю(II).

- Розчини з рН=5,5 (контроль за рН-метром) об'ємом 15,0 мл з вмістом Ni(II) 600 мкг/л за відсутності і у присутності різних концентрацій сторонніх іонів (Табл. 1) перемішували магнітною мішалкою з 0,100 г HR впродовж 15 хв. Розчин частково декантували і вимірювали поглинання сорбенту при 590 нм в кюветі з 1=0,10 см. Допустимим вважали такий вміст сторонніх іонів, при якому зміна аналітичного сигналу не перевищувала 5 %.

Результати дослідження заважаючого впливу сторонніх іонів наведено у таблиці 1.

Таблиця 1

Допустимі кількості сторонніх іонів при визначенні 10,0 мкмоль/л Ni(II)

Сторонні іони X	Допустиме співвідношення X:Ni	Сторонні іони X	Допустиме співвідношення X:Ni
K ⁺ , Na ⁺	10 ⁴	NO ₃ ⁻ , SO ₄ ²⁻	50
Ca ²⁺ , Mg ²⁺	10 ³	Cl ⁻ , HPO ₄ ²⁻	5
Fe ³⁺	50	CH ₃ COO ⁻	0,5
Cu ²⁺ , Co ²⁺ , Zn ²⁺	5		

- Видно, що ацетат-іони не заважають визначенню нікелю(II) при концентрації вдвічі меншій, ніж концентрація Ni(II). Однак вміст ацетат-іону, а також середній вміст Zn(II), Fe(III), Cu(II), Co(II) і аніонів SO₄²⁻ і HPO₄²⁻ у слині, нижчий за допустимий вміст. Заважаючий вміст хлорид-іонів, який у слині у 100-600 разів переважає допустимий, можна усунути введенням аніонообмінника, зокрема DEAE52-Cellulise, на стадії пробопідготовки. Це свідчить про придатність використання HR-СГ для визначення нікелю(II) у слині.

- Приклади 3-4.

Визначення нікелю (II) у слині.

- Пробу слини відбирали натщесерце вранці з метою усунення впливу факторів, що спричиняють зміну секреції слини, шляхом випльовування у мірну пробірку. Перед пробовідбором пацієнти прополіскували ротову порожнину дистильованою водою протягом 10 сек. і відпочивали 2 хв.

- З метою інтенсифікації пробопідготовки і руйнування органічних комплексів металів застосовували дію ультразвуку. Для цього до проби слини об'ємом 5,0 мл додавали 5,0 мл бідистильованої води, 0,1 мл HNO₃ (1:1) та піддавали дії ультразвуку з інтенсивністю 3,88 Вт/см³ та частотою 44 кГц впродовж 5 хв. Для усунення заважаючого впливу хлорид-іонів до одержаного розчину додавали 0,100 г аніонообмінника DEAE52-Cellulise і перемішували магнітною мішалкою протягом 10 хв. Розчин центрифугували і декантували. Доводили об'єм одержаного розчину до 15,0 мл бідистильованою водою та кислотність до рН 5,5 (контроль за рН-метром). Перемішували з HR-СГ протягом 15 хв. Сорбент відокремлювали від розчину й забарвлення вологого сорбенту порівнювали зі стандартною шкалою.

- Результати визначення вмісту Ni(II) у слині (X₁, мкг/л) обчислюють за формулою:

$X_1 = 15 \cdot X / V_{\text{проби}}$, де X - вміст Ni(II) за стандартною шкалою, мкг/л, V_{проби} - об'єм проби слини, мл.

- Правильність методики перевіряли методом "введено-знайдено". Для цього до проб слини об'ємом 5,0 мл вводили добавки Ni(II) 270 і 900 мкг/л. Далі діяли, як описано вище. Результати ВТ визначення нікелю в слині наведені в табл. 2.

Таблиця 2

Результати візуального тест-визначення вмісту Ni(II) у слині.
У спостереженні брали участь 15 спостерігачів. (n=15, P=0,95)

Приклади	Введено X ₁ , мкг/л	Знайдено X±ΔX, мкг/л (Sr)	Знайдено X ₁ ±ΔX ₁ , мкг/л (Sr)
3	270	100±10 (0,17)	300±30 (0,17)
4	900	330±35 (0,17)	900±100 (0,17)

З таблиці 2 видно, що відносне стандартне відхилення не перевищує 20 %, що є прийнятним для візуальних тест-методів. Розроблений спосіб характеризується задовільною

правильністю і відтворюваністю, що свідчить про його придатність для аналізу слини на вміст Ni(II).

Практичне застосування способу, що заявляється, дає змогу порівняно із прототипом збільшити вибірковість визначення (зокрема не заважає 10-кратний надлишок Fe(III) і 5-кратний надлишок Co(II)), модифікація матриці відбувається в одну стадію, оскільки не передбачає одержання комплексу, у 5 разів зменшується тривалість одержання сорбенту з 25 хв. до 5 хв. У 20 разів зменшено час відокремлення сорбенту від матриці за рахунок кращої седиментації мезопоруватого силікагелю, за прототипом він становить 20 хв., за способом, що заявляється, - 1 хв. Завдяки достатній чутливості (МВ у 5 разів менша за допустиму дієтарну норму споживання нікелю при виділенні людиною слини 1,5 л за добу) спосіб є придатним для візуального тест-визначення мікрокількостей Ni(II) у слині.

Джерела інформації:

1. US 3730688 A, 01.05.1973.

2. Атаманиченко Я.А. Тест-методы определения никеля (II) в питьевой воде // Методы и объекты химического анализа.-2007. - Т.2, № 1. - С.35-39.

3. Запорожец О.А., Петрунук Н.И., Калиниченко Е.В. Визуальный тест-метод для определения Ni(II) на основе иммобилизованого на кремнеземе 4-(2-пиридилазо)-2-нафтолата цинка // Химия и технология воды.-1999. - Т.21, № 1. - С.14-20.

4. Запорожец О.А., Линник Р.П., Воловенко О.Б. Иммобилизованный на кремнеземе АТАН в анализе сосуществующих форм меди в природных водах // Методы и объекты химического анализа.-2007. - Т.2, № 1. - С.40-50.

ФОРМУЛА ВІНАХОДУ

Спосіб тест-визначення нікелю(II), який полягає в тому, що кремнезем, модифікований органічним комплексоутворюючим реагентом, обробляють слабокислими розчинами нікелю і порівнюють колір сорбенту із стандартною кольоровою шкалою, який **відрізняється** тим, що як сорбент використовують силікагель, модифікований 1-(4-адамантил-2-тіазоліл-азо)-2-нафтолом, а обробку сорбенту здійснюють розчином з рН 5,5.

Комп'ютерна верстка Л. Бурлак

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601