



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **110765** (13) **C2**  
(51) МПК**G01N 21/76** (2006.01)**G01N 31/22** (2006.01)**G01N 33/18** (2006.01)**G01N 1/40** (2006.01)ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД**

<b>(21)</b> Номер заявки:	<b>а 2015 03326</b>	<b>(74)</b> Представник:	<b>Солнцев В'ячеслав Сергійович</b>
<b>(22)</b> Дата подання заявки:	<b>09.04.2015</b>	<b>(56)</b> Перелік документів, взятих до уваги експертизою:	UA 61031 U, 11.07.2011 UA 37020 A, 16.04.2001 UA 55841 A, 15.04.2003 SU 1550421 A1, 15.03.1990 RU 2022256 C1, 30.10.1994 JP 11-037990 A, 12.02.1999 JP 10-246701 A, 14.09.1998
<b>(24)</b> Дата, з якої є чинними права на винахід:	<b>10.02.2016</b>		Запорожець О.А. Твердофазні аналітичні реагенти на основі іммобілізованих на кремнеземах гетерополикислот та їх іонних асоціатів /О.А. Запорожець, І.А. Качан, Л.С. Зінко, Ю.П. Євлаш, С.І. Левченко // Вісник Харк. нац. ун-ту. - 2007. - Хімія. - Вип. 15(38). - № 770. - С. 155-162
<b>(41)</b> Публікація відомостей про заявку:	<b>26.10.2015, Бюл.№ 20</b>		Дубовик Д.Б. Определение кремния, фосфора, мышьяка и германия в виде гетерополикислот / Д.Б. Дубовик, Т.И. Тихомирова, А.В. Иванов, П.Н. Нестеренко, О.А. Шпигун // Журнал аналитической химии. - 2003. - Т. 58. - № 9. - С. 902-920
<b>(46)</b> Публікація відомостей про видачу патенту:	<b>10.02.2016, Бюл.№ 3</b>		Гончарук В.В. Избирательное определение фосфора в водах хемилюминесцентным методом в полевых условиях / В.В. Гончарук, О.В. Зуй, В.И. Максін // Химия и технология воды. - 2003. - Т. 25. - № 1. - С. 69-74
<b>(72)</b> Винахідник(и):	<b>Запорожець Ольга Антонівна (UA), Линник Ростислав Петрович (UA), Сумарокова Галина Сергіївна (UA)</b>		Zaporozhets O.A. Solid-phase-spectrophotometric and test determination of simultaneously present phosphorus forms (phosphorus Speciation) in water /O.A. Zaporozhets, L.S. Zinko, I.A. Kachan // Journal of Analytical Chemistry. - 2011. - Vol. 62. - N. 12. - P.1146-1150
<b>(73)</b> Власник(и):	<b>КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА, вул. Володимирська, 60, м. Київ, 01601 (UA)</b>		

UA 110765 C2

**(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ МІКРОКІЛЬКОСТЕЙ ФОСФОРУ****(57) Реферат:**

Винахід належить до галузі аналітичної хімії та може бути використаний для аналізу природних вод. Спосіб хемілюмінесцентного визначення фосфору (V) полягає у сорбційному вилученні модифікованим кремнеземом фосфат-аніону у формі змішаної молібдотибієвофосфатної гетерополикислоти з наступною обробкою люцигеном і лугом, та подальшою реєстрацією інтенсивності хемілюмінесцентного світіння. Концентрація люцигеніну становить 0,03-0,1 мМ, а

лугу - 0,5-1 М. Винахід забезпечує покращення вибірковості аналізу щодо іонів металів, спрощення та здешевлення процедури визначення фосфору.

Винахід належить до галузі аналітичної хімії, зокрема до комбінованих кінетичних методів визначення мікрокількостей фосфору, який може бути використаний для аналізу природних вод.

Відновлені гетерополікислоти належать до найбільш чутливих аналітичних форм визначення фосфору. Здатність фосфору до утворення молібдофосфатної або  
5 молібдованадієвофосфатної гетерополікислоти (ГПК) покладено в основу багатьох методик його визначення.

Для визначення фосфору у формі ГПК запропоновано потенціометричні, амперометричні та вольтамперометричні способи визначення. Обмеженням потенціометричних методик є малий час життя іонофору, що зазвичай входить до складу іон-селективної мембрани. Основною  
10 проблемою амперометричних сенсорів є низька вибірковість до фосфату у присутності сторонніх іонів. Для вольтамперометричного аналізу при високому вмісті фосфату необхідне додавання більшої кількості молібдату, ніж у стандартному колориметричному методі [1].

Відомий спосіб визначення фосфору є спектрофотометричний, що базується на реєстрації світлопоглинання відновленої ГПК, що утворюється при взаємодії ортофосфату з молібдатом, стибієм (III) та аскорбіновою кислотою. Нижня межа визначення ортофосфатів дорівнює 0,01 мг Р/л за об'єму проби 50 см<sup>3</sup>. Проте, метод характеризується недостатньою вибірковістю щодо  
15 арсенату, силікату, сульфідів та окисників [2].

Чутливішим, порівняно зі спектрофотометричним, є сорбційно-хемілюмінесцентний спосіб визначення фосфору, що базується на попередньому вилученні фільтром Filtrak № 338 з водного розчину фосфору у формі молібдованадієвофосфатної ГПК з наступною обробкою  
20 концентрату лужним розчином люмінолу і реєстрацією максимальної інтенсивності хемілюмінесценції (ХЛ) або суми світла [3]. Межа виявлення фосфору становить 0,1 мкг Р/л при об'ємі проби 150 см<sup>3</sup>. Недоліком запропонованої методики є низька величина сорбції (26 %) щодо молібдованадієвофосфатної ГПК та можливий вплив окисників, таких як NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, CrO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, ClO<sub>4</sub><sup>-</sup>, ClO<sub>3</sub><sup>-</sup>, на перебіг реакції окиснення люмінолу в лужному середовищі.

Найбільш близьким за технічною суттю та результатом, що досягається, є проточно-інжекційний метод [4], що передбачає утворення молібдофосфатної ГПК у середовищі 5 мМ H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> й 1,0·10<sup>-4</sup> моль/л гептамолібдату амонію, та введенням її в реакційну суміш, яка містить 5 мкМ люцигеніну і 0,04 М NaOH. Метод ґрунтується на вимірюванні інтенсивності світіння, що  
30 виникає в результаті взаємодії молібдофосфатної ГПК з лужним розчином люцигеніну. Межа виявлення фосфору дорівнює 0,95 мкг Р/л (0,031 мкмоль Р/л), градувальний графік лінійний у діапазоні 5,0-500 мкг Р/л. Визначенню не заважають сульфат-, хлорид-, нітрат-, нітрит-, гідрокарбонат-, фторид- й силікат-іони. Основним недоліком методики є низька вибірковість способу відносно іонів Co<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Cr<sup>3+</sup>, Fe<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>. Застосування іонообмінної смоли для усунення заважаючого впливу ускладнює процедуру аналізу і вимагає  
35 додаткових витрат на промивання та кондиціювання проточно-інжекційної системи.

В основу винаходу поставлено задачу підвищення вибіркової щодо іонів металів та спрощення способу визначення мікрокількостей фосфору шляхом концентрування цільової сполуки у формі змішаної молібдостибієвофосфатної ГПК на модифікованому четвертинною амонійною сіллю силікагелі. Поставлена задача вирішується за рахунок того, що спосіб  
40 визначення базується на попередньому вилученні за статичних умов фосфору у формі відновленої молібдостибієвофосфатної ГПК при C(H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)=0,49±0,06 моль-екв/л з водного розчину на поверхню силікагелю, модифікованого цетилтриметиламонію бромідом (ЦТМАБ), з наступною обробкою концентрату лужним (1 М NaOH) розчином люцигеніну і реєстрацією ХЛ  
45 світіння, що виникає в реакції ГПК з люцигеніном. Реєстрація інтенсивності хемілюмінесценції виконується за методом фіксованого часу у статичному режимі.

Межа виявлення фосфору становить 1,5 мкг Р/л при об'ємі проби 50,0 мл. Лінійність градувального графіка зберігається у діапазоні 4-36 мкг Р/л. Вплив NO<sub>3</sub><sup>-</sup> нівелюється шляхом відновлення до NO<sub>2</sub><sup>-</sup> тіосульфатом. Вміст силікатів усувається розбавленням проби води. Іони металів Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Fe<sup>3+</sup> та NH<sub>4</sub><sup>+</sup> не заважають визначенню.  
50

Використання способу, що заявляється, на відміну від прототипу, дає можливість уникнути впливу сторонніх іонів металів шляхом вибіркового вилучення ГПК аніонітом на основі силікагелю, модифікованого четвертинною амонійною сіллю, (ЦТМАБ-СГ), при збереженні чутливості, спрощенні та здешевленні процедури аналізу.

Застосування ЦТМАБ-СГ як сорбенту для сорбційно-хемілюмінесцентного визначення концентрації фосфору після його переведення у форму відновленої молібдостибієвофосфатної ГПК та реєстрація ХЛ світіння суспензії після її обробки лужним розчином люцигеніну у літературі не відоме, що дозволяє вважати запропонований спосіб таким, що відповідає критеріям "новизна" та "винахідницький рівень". Винахід ілюструється наступними прикладами,  
60 які не обмежують обсяг правової охорони:

## Приклад 1. Методика визначення фосфору.

Аліквотну частину проби, що містить фосфору не більше 4,0 мкг, вносять у мірну колбу ємністю 50,0 мл, додають 6,80 мл молібденового реактиву (суміш 0,0076 М амонію гептамолібдату,  $1,50 \cdot 10^{-4}$  М калію-антимонілу тартрату, 1,73 М  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) та 3,00 мл 0,1 М розчину аскорбінової кислоти. Через 5 хв додають 5,00 мл 1 М розчину калію-натрію тартрату та доводять об'єм у колбі до мітки бідистильованою водою. Вміст колб переносять до хімічних стаканів ємністю 100 мл, до кожного з яких додають наважку силікагелю, модифікованого ЦТМАБ за методикою [5], масою 0,050 г, і перемішують отриману суспензію магнітною мішалкою впродовж 15 хв. Сорбент відокремлюють, послідовно промивають трьома порціями бідистильованої води об'ємом 5 мл кожна, і переносять до скляної кювети для ХЛ вимірювань. До кювети із сорбентом додають 5 мл реакційної суміші, яка містить 50 мкМ люцигеніну і 1 М NaOH. Інтенсивність ХЛ світіння реєструють через 10 с після додавання до сорбента реакційної суміші. Інтенсивність ХЛ світіння сорбенту, що не містить ГПК, вважають фоновим. Для його вимірювання до наважки ЦТМАБ-СГ масою 0,030 г додають 50,00 мл 0,245 М розчину  $\text{H}_2\text{SO}_4$  у хімічному стакані ємністю 100 мл і перемішують отриману суспензію магнітною мішалкою впродовж 15 хв. Сорбент відокремлюють, тричі промивають бідистильованою водою і вимірюють інтенсивність ХЛ світіння як описано вище. Вміст фосфору знаходять за градувальним графіком.

## Приклад 2. Побудова градувального графіка.

Для побудови градувального графіка готують серію розчинів з концентрацією фосфору 0,0; 4; 16; 24; 36 мкг Р/л. Для цього в мірні колби ємністю 50,0 мл додають аліквотну частину стандартного 1,0 мг Р/л розчину калію дигідрофосфату об'ємом 0,00; 0,20; 0,80; 1,20; 1,8 0 мл і виконують всі операції, як описано у прикладі 1. Будують градувальний графік у координатах  $\lg(\Sigma I - \Sigma I_0) = f(C_p)$ , де  $\Sigma I$  - сума ХЛ світіння сорбенту, що містить ГПК,  $\Sigma I_0$  - сума ХЛ світіння сорбенту, що не містить ГПК,  $C_p$  - концентрація фосфору у розчині, мкг Р/л. Рівняння градувального графіка має вигляд:  $\lg(\Sigma I - \Sigma I_0) = (0,36 \pm 0,02) + (0,039 \pm 0,001) \cdot C_p$ , мкг/л. Межа виявлення, розрахована за  $3\sigma$ -критерієм, становить 1,5 мкг Р/л при об'ємі проби 50,0 мл. Діапазон лінійності градувального графіка становить 4-36 мкг Р/л. Співвідношення V/m становить 1000 мл/г при відношенні об'єму розчину (мл) до маси наважки (г) 50:0,050. Коефіцієнт розподілу становить 31,9 л/г при співвідношенні V/m=650 мл/г, величина сорбції за даних умов складає 98 %.

## Приклад 3. Вплив концентрації NaOH на інтенсивність хемілюмінесценції.

Для дослідження впливу концентрації NaOH на інтенсивність хемілюмінесценції готували серію розчинів, кожен з яких містив 4 0 мкг Р/л фосфору. Для переведення фосфору у форму відновленої молібдотибієвофосфатної ГПК виконували всі операції, як описано у прикладі 1. Для вилучення молібдотибієвофосфатної ГПК до кожного з отриманих розчинів додавали наважку модифікованого силікагелю і виконували усі операції, як описано у прикладі 1. До кювети із сорбентом додавали бідистильовану воду, NaOH в діапазоні концентрацій 0,16-1,0 М і розчин люцигеніну. Далі всі операції виконували як у прикладі 1. Як аналітичний сигнал розраховували різницю ХЛ інтенсивності зразка, що містить ГПК, та ХЛ інтенсивності модифікованого сорбенту, обробленого розчином луку та люцигеніну. Оптимальною було обрано концентрацію NaOH 1М, що забезпечує максимальну різницю інтенсивності ХЛ сигналу.

## Приклад 4. Вплив концентрації люцигеніну на інтенсивність хемілюмінесценції.

Для дослідження впливу концентрації люцигеніну на інтенсивність хемілюмінесценції готували серію розчинів, кожен з яких містив 62 мкг Р/л фосфору. Для переведення фосфору у форму відновленої молібдотибієвофосфатної ГПК виконували всі операції, як описано у прикладі 1. Для вилучення молібдотибієвофосфатної ГПК до кожного з отриманих розчинів додавали наважку модифікованого силікагелю і виконували усі операції, як описано у прикладі 1. До кювети із сорбентом додавали 0,1; 0,2; 0,5; 1,0; 2,0 мл концентрованого розчину люцигеніну (0,5 мМ), бідистильовану воду і NaOH як у прикладі 1. Далі всі операції виконували як у прикладі 1. Концентрацію фосфору визначали за градувальним графіком, як вказано у прикладі 2. Оптимальною було вибрано концентрацію люцигеніну 50 мкМ, що забезпечує максимальну інтенсивність ХЛ сигналу.

## Приклад 5. Оптимізація співвідношення об'єму аналізованого розчину фосфору (V) до маси ЦТМАБ-СГ.

Готували серію розчинів об'ємом 50,0 мл з концентрацією фосфору 62 мкг Р/л, як описано у прикладі 1. До отриманих розчинів додавали всі компоненти, як у прикладі 1, переносили до хімічних стаканів об'ємом 100 мл і додавали різні наважки ЦТМАБ-СГ від 0,020-0,075 г. Далі виконували усі операції, як у прикладі 1. Концентрацію фосфору визначали за градувальним графіком, як вказано у прикладі 2. Оптимальним обрано співвідношення V/m 1000 мл/г, для

якого спостерігається максимальна чутливість визначення фосфору (для маси сорбенту 0,050 г, об'єму розчину 50,0 мл).

Приклад 6. Вплив сторонніх іонів на результати визначення фосфору(V).

Сорбент готують, як вказано у прикладі 1.

- 5 В мірні колби ємністю 50,0 мл додають по 2,00 мл стандартного розчину P (V) (1,55 мг P/л), різні кількості розчину стороннього іона (табл. 1) та всі інші необхідні реактиви, як описано у прикладі 1. Через 5 хв. додають 5,00 мл 1 М розчину калію-натрію тартрату та доводять об'єм розчину до мітки бідистильованою водою. Вміст колб переносять до хімічних стаканів ємністю 100 мл і виконують всі операції, як описано у прикладі 1. Допустимим вважають такий вміст
- 10 стороннього іона, при якому зміна аналітичного сигналу не перевищує 10 %. Результати визначення впливу сторонніх іонів наведено у таблиці.

Таблиця

Кратні кількості сторонніх іонів, що не заважають визначенню 62 мкг P/л фосфору.

Сторонні іони, X	Допустиме співвідношення X:P(V)
$\text{NH}_4^+$	$2 \cdot 10^4$
$\text{Na}^+$	$4 \cdot 10^5$
$\text{K}^+$	$4 \cdot 10^5$
$\text{Ca}^{2+}$	$4 \cdot 10^2$
$\text{Mg}^{2+}$	$2 \cdot 10^2$
$\text{Fe}^{3+}$	$4 \cdot 10^2$
$\text{Cl}^-$	$10^5$
$\text{SO}_4^{2-}$ , $\text{HCO}_3^-$	$4 \cdot 10^4$
$\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6^{2-}$	$4 \cdot 10^5$
Аскорбат ( $\text{Asc}^-$ )	$2 \cdot 10^5$
$\text{SiO}_3^{2-}$	0,4 (20 мг/л)*
$\text{NO}_3^-$	1,0

\* максимальний вміст  $\text{SiO}_3^{2-}$  у поверхневих водах [6].

- 15 З таблиці видно, що визначенню фосфору вказаним способом не заважають  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{HCO}_3^-$  в концентраціях, в яких вони присутні у природних поверхневих водах. Найбільше заважають визначенню  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{SiO}_3^{2-}$ . Вплив  $\text{NO}_3^-$  усувають відновленням тіосульфатом до  $\text{NO}_2$ , вплив  $\text{SiO}_3^{2-}$  шляхом розбавлення проби води.

- 20 Таким чином, запропонований спосіб характеризується задовільною правильністю результатів. Чутливість методу становить 1,5 мкг P/л при об'ємі проби 50,0 мл, що дає можливість використовувати його для аналізу природних вод для визначення вмісту загального фосфору без попередньої пробопідготовки (ГДК(P)=0,1 мг/л).

- 25 В способі, що описаний, досягнуто усунення заважаючого впливу іонів металів за рахунок селективного відокремлення фосфору (V) у формі молібдотибієвофосфатної ГПК аніонообмінником на основі ЦТМАБ-СГ. Кількісне сорбційне вилучення молібдотибієвофосфатної ГПК на поверхню ЦТМАБ-СГ відбувається швидко (15 хв). Застосування запропонованого способу порівняно із прототипом спрощує та робить дешевшим процедуру аналізу із катіонообмінною колонкою через відсутність проточно-інжекційного обладнання, яке потребує додаткових витратних матеріалів, проведення процедури очистки і кондиціонування. Тривалість аналізу не перевищує 20 хв. Більшість катіонів та аніонів, присутніх у
- 30 природних водах, не заважають визначенню фосфору, що покращує вибірковість методу.

1. Warwick C. Sensing and analysis of soluble phosphates in environmental samples: A review / C. Warwick, A. Guerreiro, A. Soares // Biosens. Bioelectron. - 2013. - Vol. 41. - P. 1-11.

2. Набиванець В.І., Осадчий В.І., Осадча Н.М., Набиванець Ю.Б. Аналітична хімія поверхневих вод. - К.: Наукова думка, 2007. -456 с.

- 35 3. Зуй О.В. Гетерогенно-хемилюминесцентный анализ (обобщающая статья) / О.В. Зуй // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. - 2009. - т. 75, № 6 - С. 5-12.

4. Determination of phosphate in freshwater samples by flow-injection with lucigenin chemiluminescence / Attiqur-Rehman, M. Yaqoob, A. Waseem, A. Nabi, M. A. Khan // Intern. J. Environ. Anal. Chem. - 2010. - Vol. 90, Nos. 14-15. - P. 1119-1129.

5. Запорожец О.А. Твердофазно-спектрофотометрическое и тест-определение сосуществующих форм фосфора в воде /О.А.Запорожец, Л.С. Зинько, И.А. Качан // Журн. аналит. химии. - 2007. - т. 62, № 12. - С. 1271-1275.

6. Набиванець Б.Й. Аналітична хімія природного середовища: підруч. / Б.Й. Набиванець, В.В. Сухан, Л.В. Калабіна. - Київ: Либідь, 1996. - 304 с.

#### ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

10 Спосіб хемілюмінесцентного визначення фосфору (V), що включає отримання молібдофосфатної гетерополікислоти у сульфатнокислом розчині з наступним введенням її у реакційну суміш, що містить люцигенін і луг, і реєстрацією хемілюмінесценції, який **відрізняється** тим, що як гетерополікислоту використовують змішану молібдостибієвофосфатну кислоту, попередньо іммобілізовану на модифікованому цетилтриметиламонію бромідом силікагелі, причому концентрація люцигеніну становить 0,03-  
15 0,1 мМ, концентрація лугу становить 0,5-1 М, а реєстрацію хемілюмінесцентного світіння здійснюють в статичному режимі.

---

Комп'ютерна верстка Л. Бурлак

---

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

---

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