



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2015115614/15, 27.04.2015

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
27.04.2015

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 27.04.2015

(45) Опубликовано: 20.03.2016 Бюл. № 8

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: RU2265828 C1, 10.12. 2005. SU 1814060 A1, 07.05.1993. ГОСТ 8558.1-78. Продукты мясные. Методы определения нитрита (с Изменениями N 1, 2), 01.01.1981, найдено 20.11.2015 в Интернете на сайте <http://docs.cntd.ru/document/gost-8558-1-78>. ENSAFI A. A, Monitoring nitrite with optical sensing films, Microchemical Journal, 2002, 72, pp. 193-199, найдено (см. прод.)

Адрес для переписки:

634050, обл. Томская, г. Томск, ул. пр. Ленина,
36, ТГУ, отдел интеллектуальной собственности,
Спиваковой Л.Н.

(72) Автор(ы):

Гавриленко Наталия Айратовна (RU),
Саранчина Надежда Васильевна (RU),
Федан Дмитрий Андреевич (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего
образования "Национальный
исследовательский Томский
государственный университет" (ТГУ, НИ
ТГУ) (RU)

(54) СПОСОБ ОПРЕДЕЛЕНИЯ НИТРИТОВ

(57) Реферат:

Изобретение относится к аналитической химии, а именно к методам определения нитрит-ионов, и может быть использовано при их определении в питьевых и минеральных водах. Для этого готовят раствор нитрита и помещают в него полиметакрилатную мембрану с иммобилизованным сафранином, в результате чего происходит обесцвечивание окрашенной матрицы за счет реакции диазотирования сафранина. Затем мембрану отделяют от раствора

и оценивают содержание нитрит-ионов по интенсивности окраски оптической мембраны методом спектрофотометрии при 530 нм по градуировочному графику или визуально-тестовым методом с использованием цветовой шкалы. Для снижения предела обнаружения нитритов применяют метод добавок. Изобретение обеспечивает простой и быстрый способ определения содержания нитрит-ионов в воде. 1 табл., 2 ил., 4 пр.

(56) (продолжение):

20.11.2015 в Интернете на сайте <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0026265X02000358>. KAZEMZADEH A., Optical nitrite sensor based on chemical modification of a polymer film, Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2005, 61, 8, pp. 1871-1875, найдено 20.11.2015 в Интернете на сайте <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1386142504003853>.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(19) **RU** (11) **2 578 024** (13) **C1**

(51) Int. Cl.

G01N 33/18 (2006.01)

G01N 21/75 (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21)(22) Application: **2015115614/15, 27.04.2015**

(24) Effective date for property rights:
27.04.2015

Priority:

(22) Date of filing: **27.04.2015**

(45) Date of publication: **20.03.2016** Bull. № 8

Mail address:

**634050, obl. Tomskaya, g. Tomsk, ul. pr. Lenina, 36,
TGU, otdel intellektualnoj sobstvennosti, Spivakovoj
L.N.**

(72) Inventor(s):

**Gavrilenko Nataliya Ajratovna (RU),
Saranchina Nadezhda Vasilevna (RU),
Fedan Dmitrij Andreevich (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Federalnoe gosudarstvennoe avtonomnoe
obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego
obrazovaniya Natsionalnyj issledovatel'skij
Tomskij gosudarstvennyj universitet (TGU, NI
TGU) (RU)**

(54) **NITRITE DETECTION METHOD**

(57) Abstract:

FIELD: chemistry.

SUBSTANCE: invention can be used for their determination in potable and mineral waters. To this, a solution of nitrite and placed in a polymethacrylate membrane immobilized Safranin thereby bleaching colored matrix by diazotization reaction safranin. Membrane is then separated from the solution and evaluate the content of nitrite ions on the color intensity

of the optical membrane by spectrophotometry at 530 nm on the calibration curve or visual test method using a color scale. In order to reduce the detection limit of the method used nitrite additives.

EFFECT: invention provides a simple and quick way to determine the content of nitrite ions in the water.

1 cl, 1 tbl, 2 dwg, 4 ex

RU 2 578 024 C1

RU 2 578 024 C1

Изобретение относится к области аналитической химии, а именно к методам определения нитрит-ионов, и может быть использовано при их определении в питьевых и минеральных водах.

Известен способ спектрофотометрического определения нитрит-ионов в питьевых и минеральных водах с использованием реактива Грисса (ГОСТ 4192-82. Вода питьевая. Методы определения минеральных азотсодержащих веществ; ГОСТ 23268.8-78. Воды минеральные питьевые лечебные, лечебно-столовые и природные столовые. Методы определения нитрит-ионов). Определение основано на способности нитритов диазотировать сульфаниловую кислоту и на образовании красно-фиолетового красителя диазосоединения с 1-нафтиламином. Интенсивность окраски, пропорциональную содержанию нитритов, измеряют при длине волны 520-540 нм.

Недостатком предлагаемого способа является длительность анализа из-за двухстадийности реакции определения нитрит-ионов или трудоемкость процесса определения, которая состоит в необходимости включения стадии подогревания растворов на водяной бане для сокращения времени анализа. Также существенным недостатком является токсичность компонентов, входящих в состав реактива Грисса.

В настоящее время достаточно перспективными и активно развивающимися являются методы, основанные на определении элементов с органическими реагентами на твердой фазе. Как правило, их преимущество заключается в сочетании концентрирования и повышения избирательности и чувствительности по сравнению со спектрофотометрическими методами. Кроме того, использование твердых носителей зачастую обеспечивает экологическую безопасность анализа из-за значительного уменьшения объемов токсичных реагентов и возможности их включения в фазу твердого носителя. В качестве носителей для проведения реакций на твердой фазе используют самые разнообразные материалы: силикагели, пенополиуретаны, бумаги, ионообменные смолы, ацетилцеллюлозные мембраны, поливинилхлоридные пленки и другие.

В работе (L.F. Capitán-Vallvey, R. Avidad, M.D. Fernández-Ramos, A. Ariza-Avidad, E. Arroyo. Test strip for determination of nitrite in water //Anal. Bioanal. Chem. 2002, vol. 373, pp. 289-294) предложено использовать тест-полоски на основе нафтиона с иммобилизованными сульфаниламидом и N-1-(нафтил)этилендиамином для определения нитритов в различных типах вод. Такое сочетание реагентов было выбрано вследствие их лучшей растворимости в мембране, увеличения скорости реакции и меньшей токсичности по сравнению с компонентами, входящими в состав реактива Грисса. Способ основан на извлечении нитритов из водного раствора с pH 2 нафтионовой пленкой с иммобилизованными реагентами. В результате реакции диазотирования, протекающей в нафтионовой мембране, образуется окрашенное в красно-фиолетовый цвет соединение с максимумом поглощения 536 нм. Диапазон определяемых концентраций составляет 4,7-200 мкг/л с пределом обнаружения 1,4 мкг/л.

Несмотря на снижение токсичности выбранных реагентов для определения нитрит-ионов, предлагаемый способ определения является длительным из-за двухстадийности реакции определения, время формирования аналитического сигнала в нафтионовой мембране, пропорционального концентрации нитритов в анализируемом растворе, составляет 60 мин.

В работе (N. Lopez-Ruiz, V.F. Curto, M.M. Erenas, F. Benito-Lopez, D. Diamond, A.J. Palma, L.F. Capitan-Vallvey. Smartphone-Based Simultaneous pH and Nitrite Colorimetric Determination for Paper Microfluidic Devices //Anal. Chem. 2014, vol. 86, pp. 9554-9562) для определения нитрит-ионов в пробах питьевых вод также, как и в работе, описанной выше, предложено использовать сочетание сульфаниламида и N-1-(нафтил)этилендиамина. Для определения

нитритов на бумажный носитель наносили раствор нафтионовой смолы в сочетании с сульфаниламидом, N-1-(нафтил)этилендиамином и полиэтиленгликолем 400 для формирования чувствительной зоны. В дальнейшем на сформированную зону капают микроколичество анализируемого раствора, в результате чего происходит окрашивание чувствительной зоны в красно-фиолетовый цвет. Аналитический сигнал фиксируют через 15 мин, используя камеру мобильного телефона с операционной системой Android. С помощью особого алгоритма измеряют и обрабатывают насыщенность (S) - координату цветового пространства HSV - и связывают ее с концентрацией нитрит-ионов в анализируемом объекте. Данный способ позволяет проводить определение нитрит-ионов в диапазоне 0,52- 4,00 мг/л с ПО 0,52 мг/л.

Существенным недостатком предлагаемого способа является необходимость проведения реакции в темноте вследствие того, что нанесенный на бумажный носитель N-1-(нафтил)этилендиамин является фоточувствительным и на свету дает окрашивание чувствительной зоны в фиолетовый цвет.

Известен способ определения нитритов с использованием оптически прозрачной триацетилцеллюлозной мембраны (А.А. Ensafi, А. Kazemzadeh. Monitoring nitrite with optical sensing films //Microchemical Jour. 2002, vol. 72, pp. 193-199), который является наиболее близким аналогом к заявляемому изобретению. В предлагаемом способе в качестве реагента применяли сафранин, иммобилизованный в триацетилцеллюлозную мембрану. Способ основан на взаимодействии нитритов с сафранином в твердой фазе, которое сопровождается снижением поглощения реагента при длине волны 520 нм, пропорционально увеличению концентрации нитритов в растворе. Диапазон определяемых содержаний составил 0,005-2,0 мг/л с пределом обнаружения 0,001 мг/л. Предлагаемый способ был применен для определения содержания нитритов в пробах природных вод, мясной продукции и других объектах.

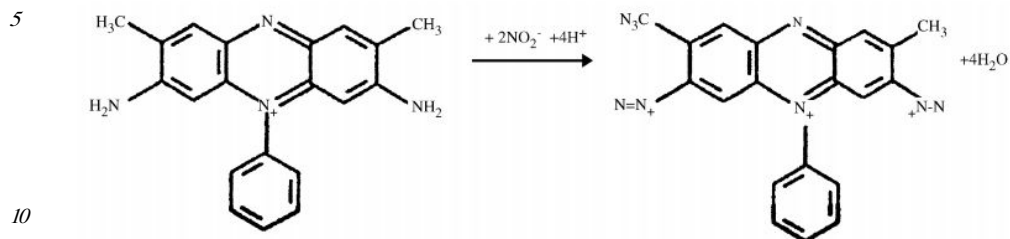
К существенным недостаткам предлагаемого способа можно отнести высокую длительность и трудоемкость подготовки мембраны к процессу иммобилизации реагента, которая заключается в необходимости проведения процесса гидролиза мембраны для увеличения ее пористости, а также длительность порядка 15 ч и самого процесса иммобилизации реагента в мембрану.

Задачей настоящего изобретения является разработка простого, нетрудоемкого, экспрессного способа определения нитрит-ионов с низким пределом обнаружения и различными вариантами детектирования аналитического сигнала и оценки содержания нитритов.

Решение указанной задачи достигается тем, что в способе определения нитритов, включающем приготовление раствора нитритов, извлечение нитрит-ионов из анализируемого раствора мембраной с иммобилизованным сафранином, измерение аналитического сигнала и определение содержания нитритов, новым является то, что в качестве мембраны применяют полиметакрилатную матрицу, в качестве аналитического сигнала используют светопоглощение при 530 нм или визуальную оценку интенсивности окраски оптической мембраны, оценку содержания нитрит-ионов проводят по градуировочному графику методом добавок или визуально-тестовым методом.

Сущность заявляемого способа заключается в следующем: находящиеся в анализируемом растворе нитрит-ионы извлекаются полиметакрилатной матрицей с иммобилизованным сафранином. При взаимодействии сафранина, иммобилизованного в полиметакрилатной матрице, с раствором нитрит-ионов наблюдается уменьшение интенсивности малиновой окраски матрицы, что сопровождается снижением поглощения

реагента пропорционально увеличению концентрации нитритов в растворе. Реакция нитрит-ионов с иммобилизованным в полиметакрилатную матрицу сафранином протекает в сильноокислой среде:



Иммобилизацию сафранина в прозрачную полиметакрилатную матрицу размером 6,0×8,0×0,6 мм проводили его сорбцией из раствора в статическом режиме. Для этого 25 мл 0,01% раствора реагента перемешивали с матрицей в течение 15 с, при этом происходило окрашивание матрицы в малиновый цвет. Максимум поглощения реагента в матрице соответствует длине волны 530 нм.

В исследуемый раствор, содержащий нитрит-ионы, вносили полиметакрилатную матрицу с иммобилизованным сафранином, тщательно перемешивали в течение 5 мин, вынимали, подсушивали фильтровальной бумагой, измеряли аналитический сигнал с последующим установлением зависимости величины аналитического сигнала от содержания нитритов в анализируемом растворе и его оценкой. При контакте с раствором нитрит-ионов происходило обесцвечивание полиметакрилатной матрицы вследствие протекания реакции диазотирования в твердой фазе. Спектры поглощения полиметакрилатной матрицы с иммобилизованным сафранином после контакта с раствором нитрит-ионов представлены на рисунке 1.

Ниже представлены примеры осуществления заявленного изобретения.

Пример 1. Измерение поглощения полиметакрилатной матрицы и определение содержания нитрит-ионов по градуировочному графику

В 50 мл анализируемого раствора с содержанием нитрит-ионов 0,05-0,25 мг, среда 2,5 М HCl, помещали пластинку полиметакрилатной матрицы с иммобилизованным сафранином и перемешивали в течение 5 мин, затем вынимали, подсушивали фильтровальной бумагой и измеряли поглощение при 530 нм. Содержание нитрит-ионов находили по градуировочной зависимости, построенной в аналогичных условиях. Уравнение градуировочной зависимости имеет вид: $A_{530} = 1,22 - 0,21 \cdot c_{NO_2^-}$ ($r = 0,996$), где $c_{NO_2^-}$ - концентрация нитрит-ионов, мг/л. Диапазон линейности градуировочной зависимости составляет 1,0 - 5,0 мг/л. Предел обнаружения, рассчитанный по 3s - критерию, равен 0,5 мг/л.

Пример 2. Измерение поглощения полиметакрилатной матрицы и определение содержания нитрит-ионов методом добавок

Анализируемый раствор 25,0 с содержанием нитритов 0,025-0,075 мг вносили в колбу вместимостью 50,0 мл, добавляли 10 мл HCl_{конц} и разбавляли дистиллированной водой до метки. Также готовили растворы в других колбах, куда дополнительно вводили 0,5; 1,0 и 1,5 мл рабочего раствора нитритов с концентрацией 100 мг/л. В растворы помещали пластинку полиметакрилатной матрицы с иммобилизованным сафранином и перемешивали в течение 5 мин, затем вынимали, подсушивали фильтровальной бумагой и измеряли поглощение при 530 нм. Содержание нитрит-ионов определяли графическим способом, экстраполируя прямолинейную зависимость изменения поглощения ΔA_{530}

от концентрации нитрит-ионов в добавке до значения $A=0$, где $\Delta A_{530}=A_0-A_1$ (A_0 , A_1 - проба минеральной воды без добавки и с добавкой нитрит-ионов соответственно).

Пример 3. Визуально-тестовое определение содержания нитрит-ионов

Для визуально-тестового определения нитрит-ионов получена цветовая шкала путем сканирования образцов, полученных при построении градуировочной зависимости. Визуальное тест-определение выполняли аналогично методике, описанной в примере 1, с тем отличием, что после контакта с раствором нитрит-ионов поглощение полиметакрилатных матриц не измеряли, а проводили сравнение их окраски с цветовой шкалой (рисунок 2), и полуколичественно определяли концентрацию нитритов.

Пример 4. Определение содержания нитрит-ионов в питьевых и минеральных водах

Отбор проб проводили в соответствии с ГОСТ 23268.0-91 и ГОСТ Р 51593-2000.

Для анализа питьевой воды отбирали аликвотную часть в мерную колбу на 50 мл и поступали, как указано в примере 1.

Определение нитрит-ионов в минеральных водах проводили методом добавок, как указано в примере 2, чтобы исключить мультипликативные систематические погрешности, связанные с влиянием широкого круга веществ, присутствующих в анализируемых объектах.

Результаты определения нитритов заявляемым способом представлены в таблице 1. Правильность предлагаемого способа оценивали по результатам определения добавок нитрит-ионов в пробах питьевых и минеральных вод. Для оценки правильности использовали показатель правильности (σ), представляющий собой выраженное в процентах отношение разности найденной концентрации (среднего значения) и введенного значения концентрации к введенному значению. Полученные результаты свидетельствуют о правильности и повторяемости предлагаемого способа определения нитрит-ионов.

Таблица - Результаты определения нитрит-ионов в реальных объектах ($n=3$; $P=0,95$)

Объект	Указано на упаковке, мг/л	Введено, мг/л	Найдено, мг/л	σ , %	s_r , %
Водопроводная вода	-	3,00	$2,91 \pm 0,24$	-3,0	4,4
Минеральная вода «Касмалинская»	-	2,00	$2,10 \pm 0,17$	5,2	5,9
Минеральная вода «Серебряный ключ»	-	1,00	$0,89 \pm 0,17$	-11	17

Преимущество заявленного изобретения по сравнению с прототипом заключается в различных способах измерения аналитического сигнала полиметакрилатной матрицы и оценки содержания нитрит-ионов. Кроме того, значительным преимуществом заявляемого способа по сравнению с известными является простота выполнения определения нитритов в пробах питьевых вод на уровне ПДК и высокая экспрессность.

Формула изобретения

Способ определения нитритов с использованием полиметакрилатной матрицы, включающий приготовление раствора нитритов, извлечение нитритов мембраной с иммобилизованным сафранином, последующее ее отделение от раствора, измерение аналитического сигнала и оценку содержания нитрит-ионов, отличающийся тем, что в качестве мембраны применяют полиметакрилатную матрицу, в качестве аналитического сигнала используют светопоглощение при 530 нм или визуальную оценку интенсивности окраски оптической мембраны, оценку содержания нитритов проводят по

градуировочному графику методом добавок или визуально-тестовым методом.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

СПОСОБ ОПРЕДЕЛЕНИЯ НИТРИТОВ

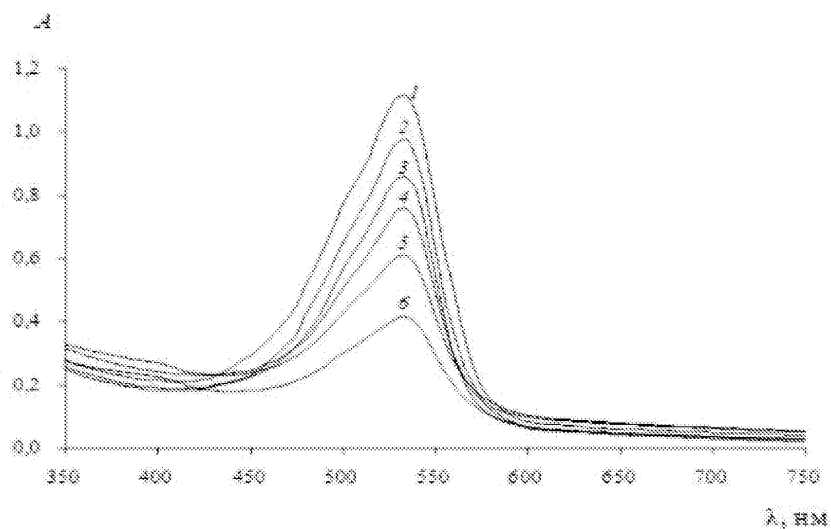


Рисунок 1 – Спектры поглощения сафранина, иммобилизованного в полиметакрилатной матрице, после контакта с раствором нитрит-ионов, $c_{\text{NO}_2^-}$, мг/л: 1 – 0; 2 – 1; 3 – 2; 4 – 3; 5 – 4; 6 – 5

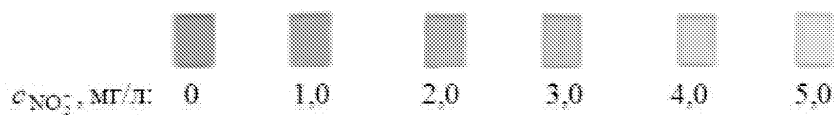


Рисунок 2 – Сканированное изображение образцов полиметакрилатной матрицы с иммобилизованным сафранином после контакта с раствором нитрит-ионов