

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **201800637** (13) **A1**

**(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки  
**2020.02.28**

(51) Int. Cl. **G01N 21/77** (2006.01)

(22) Дата подачи заявки  
**2018.12.27**

**(54) СПОСОБ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СВИНЦА(II) В ВОДНЫХ ОБЪЕКТАХ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБРАЗЦАХ**

(31) **2018129943**

(72) Изобретатель:

(32) **2018.08.16**

**Пешкова Мария Анатольевна,  
Калиничев Андрей Владимирович,  
Декина Дарья Иосифовна (RU)**

(33) **RU**

(71) Заявитель:

(74) Представитель:

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ  
ГОСУДАРСТВЕННОЕ  
БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО  
ОБРАЗОВАНИЯ "САНКТ-  
ПЕТЕРБУРГСКИЙ  
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
УНИВЕРСИТЕТ" (СПбГУ) (RU)**

**Матвеев А.А., Матвеева Т.И., Леонов  
И.Ф. (RU)**

(57) Изобретение представляет собой новый экспрессный оптический аналитический способ определения свинца(II) в водных объектах анализа: в питьевой воде, в природных водах, в промышленных сточных водах, а также определения патологических концентраций свинца(II) в биологических жидкостях. Сущность способа состоит в помещении полимерной сенсорной пленки в известный объем анализируемого раствора и после её извлечения в сравнении цвета полимерной сенсорной пленки с калиброванной цветовой шкалой. Полуколичественно содержание свинца(II) в испытуемом образце определяют по совпадению цвета полимерной сенсорной пленки с определённым делением калиброванной цветовой шкалы. Количественное содержание свинца(II) в испытуемом образце определяют спектрофотометрически, путём измерения поглощения полимерной сенсорной пленки с последующим определением содержания свинца(II) по градуировочному графику. В качестве сенсорной пленки используют пластифицированную бис-(этилгексиловым) эфиром себаценовой кислоты поли(винилхлоридную) плёнку, содержащую 9-диметиламино-5-[4-(15-бутил-1,13-диоксо-2,14-иоксанадецил)фенилимино]бензо[а]феноксазин 4-трет-бутил-каликс[4]арен-тетракис-(N,N-диметилтиоацетамид) и тетракис-[3,5-бис-(трифторметил)фенил]борат натрия. Способ может применяться для селективного скрининга групп лиц, находящихся в зоне повышенного риска отравления тяжелыми металлами, также возможен экспресс-анализ мочи и выявление степени отравления тяжелыми металлами при их утечках в окружающую среду в случае аварий, техногенных ЧП.

**201800637  
A1**

**201800637  
A1**

## Способ определения свинца (Pb) в водных объектах окружающей среды и биологических образцах

Изобретение относится к аналитической химии, конкретно, к оптохимическим ионоселективным объемным сенсорам (оптодам) для экспрессного определения содержания ионов свинца (Pb) в водных объектах анализа: в питьевой воде, в природных водах, в промышленных сточных водах, — а также для определения патологических концентраций свинца (Pb) в биологических жидкостях.

Известно определение содержания свинца в моче методом атомной абсорбции (МУК 4.1.799-99) [1]. Методика основана на прямом измерении содержания свинца в биологическом материале (моче). Определение элементов методом атомно-абсорбционной спектрофотометрии основано на поглощении света соответствующей длины волны исследуемого элемента в высокотемпературном пламени. Для измерения используется поглощение с длиной волны, соответствующей максимуму поглощения свинца при прохождении через содержащий пары атомов свинца слой воздуха: 283,3 нм. Оценку содержания свинца проводят по заранее установленной градуировочной характеристике. Однако известный способ дорогостоящ и малодоступен, поскольку требует использования атомно-адсорбционного спектрофотометра, а также предъявляет высокие требования к квалификации персонала.

Известен электрохимический способ определения свинца (Pb) в крови и других жидкостях [2]. Способ основан на применении биоэлектрода с использованием коллоидного золота, на поверхность которого иммобилизован фермент (изоцитратдегидрогеназа), подвергающийся необратимому ингибированию в присутствии ионов свинца (Pb). Для оценки содержания свинца (Pb) по градуировочному графику или методом стандартной добавки проводят измерение ингибирования изоцитратдегидрогеназы. Однако известный способ неприменим в качестве экспресс-теста, так как подразумевает использование внешнего источника питания и проводных соединений, что делает невозможной миниатюризацию; неселективен к свинцу в присутствии других тяжелых металлов, так как используется неселективное ингибирование фермента; дорогостоящ, так используются дорогие реагенты (коллоидное золото, фермент).

Известен способ определения свинца в природных водах экстракционно-спектрофотометрическим методом [3]. Способ основан на реакции комплексообразования свинца с ксиленоловым оранжевым с предварительным экстракционным разделением. Для оценки содержания свинца (II) по градуировочному графику проводят измерение светопоглощения раствора свинца после проведения фотометрической реакции при длине волны 600 нм. Однако, известный способ не обладает экспрессностью за счет дополнительной стадии пробоподготовки — экстракционного разделения компонентов, имеет недостаточно низкий предел обнаружения для измерения свинца (II) на уровне ПДК в водных и биологических объектах.

Известен фотометрический способ определения свинца (II) с 4-(2-пиридилазо)-резорцином. [4]. Способ основан на реакции комплексообразования ионов свинца (II) с 4-(2-пиридилазо)резорцином. Для оценки содержания свинца (II) по градуировочному графику или методом стандартной добавки проводят измерение светопоглощения анализируемого раствора после проведения фотометрической реакции при длине волны 520 нм. Однако, известный способ имеет низкую чувствительность и малоселективен.

Известен визуальный способ полуколичественного определения ионов свинца (II) с помощью реактивной бумаги [4]. Способ основан на реакции комплексообразования ионов свинца (II) с дитизоном. Для оценки содержания свинца (II) визуально сравнивают интенсивность окраски подготовленной реактивной бумаги с имитационной цветовой шкалой. Однако, известный способ не обладает экспрессностью за счет трудоёмкой и длительной подготовки реактивной бумаги, имеет низкую точность за счет плохой воспроизводимости подготовки бумаги, малочувствителен и низкоселективен, неприменим для анализа окрашенных объектов.

Известен визуальный способ полуколичественного определения ионов свинца (II) с использованием тест-полосок [5]. Способ основан на фотометрической реакции ионов свинца (II) с диметилфенол оранжем, *o*-фенантролином и эмульгатором ОП с предварительной экстракцией ионов свинца (II) из анализируемого раствора на поверхность подложки (фильтровальной бумаги или полимерной плёнки) с нанесенной на неё реагентами. Для оценки содержания свинца (II) визуально сравнивают интенсивность окраски с имитационной цветовой шкалой. Однако известный способ не обладает экспрессностью, требует длительного времени анализа за счет трудоёмкой подготовки подложки: создания многокомпонентной фотометрической смеси, необходимости высушивания подложки в течение нескольких часов.

Известен визуальный способ полуколичественного определения ионов свинца (II) по реакции с 1-фенил-3-изопропил-5-(бензилбензимидазол-2-ил)формазаном [6]. Способ

основан на реакции ионов свинца (II) с 1-фенил-3-изопропил-5-(бензилбензимидазол-2-ил)формазаном, определение осуществляется путём сорбции ионов свинца (II) из анализируемого раствора на тканевый бязевый носитель с последующим отделением жидкой фазы и проведением фотометрической реакции. Для оценки содержания свинца (II) визуально сравнивают интенсивность окраски тканевого носителя с имитационной цветной шкалой. Однако известный способ не обладает экспрессностью за счет сложной пробоподготовки, необходимости стандартизации подготовки бязевых дисков, обладает недостаточно широким диапазоном определяемых концентраций свинца (II) для определения свинца в реальных объектах, неприменим для анализа окрашенных объектов.

Известен визуальный и спектрофотометрический способ определения ионов свинца (II) по реакции с 18-краун-6-эфиром [7]. Способ основан на реакции комплексообразования ионов свинца (II) с 18-краун-6-эфиром в присутствии красителя фенолфталеинового ряда, определение осуществляется путём ионного обмена между ионами свинца (II) анализируемого раствора и катионами сенсорной плёнки. Последняя получается нанесением на вращающуюся стеклянную подложку методом спин-коатинга жидкой композиции, которая представляет собой гомогенный раствор комплексообразующего вещества и отрицательно заряженного красителя (тетрабромфенолфталеинэтил эфир) в пластифицированном полимере. Для полуколичественной оценки содержания свинца (II) визуально сравнивают интенсивность окраски пленки с имитационной цветной шкалой, для количественной оценки содержания свинца (II) по градуировочному графику или методом стандартной добавки проводят измерение светопоглощения сенсорной плёнки при 525 нм. Однако, известный способ имеет высокую ошибку определения свинца (II) за счет неконтролируемого вымывания из пленки малополярного индикатора при проведении, требует длительного времени анализа, неизвестен точный предел обнаружения ионов свинца (II), а также отсутствуют данные о селективности и о точном времени отклика сенсора.

Известен способ определения ионов свинца (II) с использованием свинец-селективного ионофора, иммобилизованного в полимерную пластифицированную матрицу, которая представляет собой ионоселективные микросферы [8]. Способ основан на химическом распознавании матрицей ионов свинца (II) путём их сорбции из анализируемого раствора с последующим изменении оптических характеристик мембраны. Для количественной оценки содержания свинца (II) по градуировочному графику проводят измерение интенсивности люминесценции полимерных люминесцентных микросфер. Однако известный способ является технически более сложным по сравнению пленочными сенсорами, приводит к необратимому загрязнению

образца, дорогостоящ и не обладает экспрессностью за счет использования стационарного спектрофлуориметра, не позволяет проведение визуального определения свинца (II) за счет флуориметрического сигнала.

Известные сенсоры катионов тяжелых металлов имеют общие недостатки, а именно: требуют специального сугубо лабораторного оборудования и/или пробоподготовки и/или являются разрушающими и/или не позволяют осуществлять визуальное определение аналита и/или требуют длительного времени анализа и/или не подходят для окрашенных образцов. Таким образом, существует потребность в воспроизводимом аналитическом способе, который можно использовать для экспресс-определения свинца (II), в водных объектах и реальных биологических образцах.

Известен сорбционно-спектрофотометрический способ определения свинца (II) [9], наиболее близкий к заявленному изобретению по решению технической задачи и принятый в качестве прототипа. Он включает реакцию бромпирогаллолового красного со свинцом (II), предваренной концентрированием металла из пробы в индикаторную пленку, представляющую собой прозрачную полимерную подложку, на которую нанесен слой желатина толщиной до 20 мкм, иммобилизованный водным раствором бромпирогаллолового красного при фиксированном значении pH. Для оценки содержания свинца (II) по градуировочному графику или методом стандартной добавки проводят измерение светопоглощения желатиновой пленки при длине волны 610 нм. Однако, прототип требует длительного (не менее 20 мин) времени анализа, невозможен для применения в окрашенных образцах, обладает коротким временем жизни сенсора из-за деградации желатиновой матрицы, не позволяет определять свинец (II) на уровне и ниже ПДК в водных и биологических объектах, а также при его значительном превышении ПДК, за счет узкого диапазона измеряемых концентраций.

Технической задачей заявляемого изобретения является создание нового экспрессного оптического аналитического способа определения свинца (II) в водных объектах окружающей среды и биологических образцах в двух вариантах: полуколичественном при визуально-тестовом способе путём сравнения цвета полимерной сенсорной пленки с калиброванной цветовой шкалой, а также в количественном варианте при спектрофотометрическом определении, осуществляемом путём измерения поглощения полимерной сенсорной пленки с последующим определением содержания свинца (II) по градуировочному графику.

Поставленная задача достигается помещением полимерной сенсорной пленки в испытуемый образец с анализируемым раствором известного объёма не менее 0,5 мл с добавкой смеси ацетата магния и уксусной кислоты, взятых в соотношении

$2,50 \cdot 10^{-3}$  моль/л :  $1,25 \cdot 10^{-4}$  моль/л, на 2–18 минут и, после её извлечения, сравнением цвета полимерной сенсорной пленки с калиброванной цветовой шкалой. Количественный диапазон содержания свинца (II) в испытуемом образце определяют по совпадению цвета полимерной сенсорной пленки с определённым делением калиброванной цветовой шкалы. В качестве полимерной сенсорной пленки используют пластифицированную бис(этилгексилловым) эфиром себаценовой кислоты (DOS) поли(винилхлоридную) (ПВХ) плёнку толщиной 2–7 мкм, содержащую индикатор: хромоионофор 9-диметиламино-5-[4-(15-бутил-1,13-диоксо-2,14-иоксанадецил)фенилимино]-бензо[а]феноксазин (ETH5418), ионофор 4-*трет*-бутил-каликс[4]арен-тетраakis(N,N-диметилтиоацетамид) (Pb IV) и ионную добавку натрий тетраakis-[3.5-бис(трифторметил)фенил]борат (NaTFPB) в соотношении: 1 массовая часть ПВХ, 2 массовые части DOS, 10 ммоль/кг DOS ETH5418, 11 ммоль/кг DOS NaTFPB, 60 ммоль/кг DOS Pb IV.

Сущность заявляемого способа заключается в том, что при pH 6,0–6,4 находящийся в растворе свинец (II) вступает в реакцию ионного обмена между анализируемым раствором и полимерной сенсорной пленкой, содержащей липофильный свинец(II)-селективный лиганд (ионофор Pb IV) и индикатор (хромоионофор ETH5418), который существует в нейтральной, депротонированной, и заряженной, протонированной, формах с резко отличающимися длинами волн максимумов поглощения света, с образованием в полимерной фазе прочного комплекса свинца (II) с ионофором, что приводит к депротонированию хромоионофора и изменению цвета полимерной сенсорной пленки с голубого на малиновый, до и после контакта с раствором 1 моль/л свинца (II). В черно-белой шкале это изменение представлено на Фиг.1, где слева – пленка до контакта с раствором соли свинца, справа – пленка после контакта с раствором 1 моль/л свинца (II). На Фиг.1 и далее буквами R, G, B обозначены красная, зеленая и синяя компоненты цвета пленки и их числовые значения в цветовой модели RGB, распространенной для количественного представления цвета объектов. Задав численные значения R, G, B при заливке цветом любого графического объекта, к примеру, в ПО MS Office, можно легко получить цветной аналог Фиг.1. Изменение окраски полимерной сенсорной пленки количественно связано с концентрацией свинца (II).

Для получения полимерной сенсорной пленки приготовленная сенсорная композиция наносится на полимерный или стеклянный носитель. Для приготовления сенсорной композиции взвешивается навеска ПВХ, добавляется двукратный по массе избыток DOS, к полученной смеси добавляется растворитель в соотношении 1 к 6–12 по массе, в полученный раствор вносится необходимое количество активных компонентов

для достижения требуемой концентрации: 10 ммоль/кг DOS ETH5418, 11 ммоль/кг DOS NaTFPB и 60 ммоль/кг DOS Pb IV.

Для проведения определения содержания свинца (II) приготовленную полимерную сенсорную пленку помещают на 2–18 минут в испытуемый образец известного объема не менее 0,5 мл. Время контакта полимерной сенсорной пленки и испытуемого образца зависит от содержания в нём свинца (II), практически это время определяется моментом, когда окраска полимерной сенсорной пленки перестаёт изменяться.

Для точного проведения анализа испытуемый образец, помимо анализируемого раствора, должен содержать рН-буферную смесь для обеспечения постоянства рН. В качестве рН-буферной смеси используется магний-ацетатная смесь, состоящая из раствора ацетата магния и раствора уксусной кислоты. Для задания необходимого рН 6,0–6,4 испытуемого образца, в последний добавляют необходимые количества растворов ацетата магния и уксусной кислоты для задания соотношения концентраций в испытуемом образце  $2,50 \cdot 10^{-3}$  моль/л :  $1,25 \cdot 10^{-4}$  моль/л.

После извлечения полимерной сенсорной пленки из испытуемого образца проводят определение наличия свинца (II) в испытуемом образце визуальным способом путём сравнения цвета полимерной сенсорной пленки с калиброванной цветовой шкалой, и по совпадению цвета полимерной сенсорной пленки с определённым делением калиброванной цветовой шкалы делают вывод о количественном диапазоне содержания свинца (II) в испытуемом образце.

Для изготовления цветовой шкалы с желаемым количеством делений, это количество полимерных сенсорных пленок помещают в стандартные образцы с известной концентрацией свинца (II) с добавкой смеси ацетата магния и уксусной кислоты, взятых в соотношении  $2,50 \cdot 10^{-3}$  моль/л :  $1,25 \cdot 10^{-4}$  моль/л, на 2–18 минут, после извлечения полимерных сенсорных пленок проводят регистрацию их цвета путём фотографирования. Затем усредняют по площади цвет каждой полимерной сенсорной пленки и создают деление цветовой шкалы с усреднённым цветом полимерной сенсорной пленки.

Исходный раствор свинца (II) для тестирования сенсора и изготовления цветовой шкалы готовили растворением точной навески кристаллогидрата нитрата свинца в деионизованной воде с удельным сопротивлением 18,2 МОм/см (деионизатор Milli-Q Reference Water Purification System, Франция). Растворы с различной концентрацией свинца (II) готовили в день работы последовательным разбавлением исходного раствора при помощи программируемого разбавителя-смесителя Dosino 700 с контроллером Liquino 711, Metrohm (Швейцария). Образцы мочи с известными концентрациями свинца (II) готовили добавкой аликвоты концентрированного раствора свинца (II) к

образцу мочи, имеющему отрицательный результат при определении наличия в ней свинца (II) по результатам масс-спектрометрического анализа с индуктивно связанной аргонной плазмой, проводимого ООО «Независимая лаборатория ИНВИТРО», г. Санкт-Петербург. рН-буферную смесь готовили путём растворения необходимой аликвоты стандартного раствора ацетата магния, приготовленного из точной навески его кристаллогидрата, и необходимой аликвоты раствора уксусной кислоты, приготовленной из стандарт-титра уксусной кислоты.

Потенциометрические измерения проводили относительно насыщенного хлорсеребряного электрода («Измеритель», Беларусь) с помощью рН метра/иономера («Экотест-120», Россия). Значения рН контролировалось при помощи стеклянного электрода (ЭСЛ 43-07, «Измеритель», Беларусь).

Заявленный способ был апробирован в Санкт-Петербургском государственном университете, результаты апробации приведены в виде примеров его реализации.

### **Пример 1.**

Нанесение сенсорной композиции на полимерный носитель.

Для приготовления сенсорной композиции взвесили навеску 16,7 мг ПВХ, добавили 33,3 мкл DOS, полученную смесь растворили в 350 мкл тетрагидрофурана, в полученный раствор внесли 0,24 мг ETH5418, 0,32 мг NaTFPB и 2,11 мг Pb IV. Смесь перемешивали в течение 10 мин при помощи роллер-миксера J.P. Spectra MOVIL-ROD (Испания). Нанесение мембранного коктейля на полимерный носитель осуществляли путём спин-коатинга полимерного носителя 20 мкл мембранного коктейля при скорости вращения спин-коатера 8500 rpm, толщина сенсорных пленок составила 2–7 мкм.

### **Пример 2.**

Изготовление цветовой шкалы.

Для изготовления цветовой шкалы с 5 делениями, 5 полимерных сенсорных пленок, полученным по Примеру 1, поместили по одной в стандартные образцы объёмом 50 мл с концентрацией свинца (II)  $10^{-4}$  моль/л,  $10^{-5}$  моль/л,  $10^{-6}$  моль/л,  $10^{-7}$  моль/л,  $10^{-8}$  моль/л с добавкой 17,8 мг ацетата магния и 0,37 мг уксусной кислоты на 2, 5, 10, 15, 18 минут соответственно, после извлечения полимерных сенсорных пленок провели регистрацию их цвета путём фотографирования. На Фиг.2А в черно-белом виде представлены фотографии полимерных сенсорных пленок, после контакта с растворами свинца (II) с концентрациями  $10^{-8}$  моль/л,  $10^{-7}$  моль/л,  $10^{-6}$  моль/л,  $10^{-5}$  моль/л,  $10^{-4}$  моль/л (слева направо на Фиг.2). Затем при помощи программного обеспечения *ImageJ* усреднили цвет каждой полимерной сенсорной пленки и создали деление цветовой шкалы с равномерным

цветом полимерной сенсорной пленки, получив, таким образом, пятичленную цветовую шкалу, которая представлена в черно-белом виде на Фиг.2Б с указанием соответствующих значений красной, зеленой и синей цветовых компонент.

### Пример 3.

Визуально-тестовое определение содержания свинца (II) в водных объектах.

Были приготовлены 3 модельных образца, представляющие собой деионизованную воду без и с добавками свинца (II) в количестве  $3,2 \cdot 10^{-6}$  моль/л и  $6,3 \cdot 10^{-4}$  моль/л свинца (II). В 25 мл испытуемого модельного образца с добавкой 8,9 мг ацетата магния и 0,19 мг уксусной кислоты помещали по одной полимерной сенсорной пленке, полученной по Примеру 1, на 18 минут. После их извлечения проводили сравнение цвета полимерной сенсорной пленки с калиброванной цветовой шкалой, полученной по Примеру 2.

Для контроля правильности определения содержания свинца (II) в модельных образцах в качестве референтного способа применялась потенциометрия со свинец(II)-селективными электродами ( $Pb^{2+}$ -ИСЭ) по методике, описанной в [10]. Результаты потенциометрии и результаты анализа «введено–найдено» приведены в Табл. 1. На Фиг.3 представлен градуировочный график, полученный методом потенциометрии со свинец (II)-селективными электродами при различных концентрациях свинца (II), где заполненные символы — экспериментальные значения, полученные для стандартных образцов; линия — линейный фитинг этих значений, пустые символы — экспериментальные значения, полученные для модельных образцов; квадраты — цвет полимерных сенсорных пленок после контакта с модельными образцами в черно-белом виде с указанием соответствующих значений красной, зеленой и синей цветовых компонент. Полученные результаты свидетельствуют о корректности предлагаемого способа определения свинца (II).

Таблица 1. Результаты визуально-тестового определения свинца (II) методом «введено–найдено»

введено, моль/л	найдено, моль/л	
	предлагаемый визуально-тестовый способ	потенциометрия с $Pb^{2+}$ -ИСЭ
0	$<10^{-8}$	$<10^{-7}$
$3,2 \cdot 10^{-6}$	от $10^{-6}$ до $10^{-5}$	$2,5 \cdot 10^{-6}$
$6,3 \cdot 10^{-4}$	$>10^{-4}$	$5,0 \cdot 10^{-4}$

### Пример 4.

Измерение поглощения полимерной сенсорной пленки и определение содержания свинца (II) по градуировочному графику в образце мочи человека.

Цвет полимерной сенсорной пленки в предлагаемом способе также может быть проанализирован по поглощению света методом спектрофотометрии. Для этого был

приготовлен рабочий образец мочи, полученный путём разбавления мочи человека, имеющей отрицательный результат при определении наличия в ней свинца (II), 10-кратным объёмом деионизованной воды с добавкой ацетата магния и уксусной кислоты так, чтобы концентрации ацетата магния и уксусной кислоты в полученном рабочем растворе были в соотношении  $2,50 \cdot 10^{-3}$  моль/л :  $1,25 \cdot 10^{-4}$  моль/л. Этот раствор был первым стандартным образцом мочи. Для приготовления 5 остальных стандартных образцов к рабочему образцу мочи добавляли аликвоты концентрированного раствора свинца (II) до получения концентраций свинца (II)  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  моль/л.

В каждый из 6 стандартных образцов мочи, последовательно от наиболее разбавленного до наиболее концентрированного по свинцу (II), помещалась полимерная сенсорная пленка, полученная по Примеру 1, и выдерживалась в течение 2–18 минут (см. Пример 2). После этого полимерную сенсорную пленку извлекали и записывали её спектр поглощения в диапазоне 580–740 нм на спектрофотометре Shimadzu UV-1800 (Япония). Пример такой серии спектров приведён на Фиг.4, где цифрами указаны концентрации свинца (II) в стандартных образцах мочи. Строилась градуировочная зависимость интенсивности максимума пика поглощения на 670 нм от концентрации свинца (II) в стандартном образце мочи. На Фиг.5 представлен градуировочный график, полученный методом спектрофотометрии полимерных сенсорных пленок при различных концентрациях свинца (II): заполненные символы — экспериментальные значения, полученные для стандартных образцов мочи; линия — их Больцмановский фитинг, пустой символ — экспериментальное значение, полученное для модельного образца мочи человека; квадрат, представленный на Фиг.5 в черно-белом виде с указанием соответствующих значений красной, зеленой и синей цветовых компонент — цвет полимерной сенсорной пленки после контакта с модельным образцом мочи человека. Предел обнаружения свинца (II) в заявляемом спектрофотометрическом способе анализа составил  $3,3 \cdot 10^{-8}$  моль/л.

Для определения содержания свинца (II) по градуировочному графику в образце мочи человека был приготовлен модельный образец с концентрацией свинца (II)  $4,0 \cdot 10^{-7}$  моль/л. Для этого к рабочему образцу мочи была добавлена соответствующая аликвота концентрированного раствора свинца (II). В модельный образец помещали полимерную сенсорную пленку, выдерживали в течение 18 минут, после чего её извлекали и проводили измерение интенсивности максимума ее пика поглощения на 670 нм, при помощи градуировочного графика определяли содержания свинца (II) в модельном образце (Табл. 2). Полученные результаты свидетельствуют о согласованности предлагаемого способа определения свинца (II).

Таблица 2. Результаты спектрофотометрического определения свинца (II) методом «введено–найдено»

введено, моль/л	найдено, моль/л	
	заявляемый спектрофотометрический способ	заявляемый визуально-тестовый способ
0	$<10^{-8}$	$<10^{-8}$
$4,0 \cdot 10^{-7}$	$4,3 \cdot 10^{-7}$	от $10^{-7}$ до $10^{-6}$

Техническим результатом заявляемого изобретения является разработка более экспрессного, чувствительного способа определения свинца (II) по сравнению с прототипом, характеризующегося более широким интервалом определяемых концентраций, меньшим временем проведения анализа и возможностью измерения не только в чистых водных, но и в биологических образцах.

Получаемый технический результат обеспечивает отличительные признаки заявляемого способа, т.е. предлагаемый способ обладает изобретательским уровнем, новизной и промышленной применимостью. Сфера применения заявляемого способа — клинический и экспресс-анализ. Способ может применяться для селективного скрининга групп лиц, находящихся в зоне повышенного риска отравления тяжелыми металлами. Также возможен экспресс-анализ мочи и выявление степени отравления тяжелыми металлами при их утечках в окружающую среду в случае аварий, техногенных ЧП, когда экспрессность анализа играет решающую роль.

#### Список используемой литературы

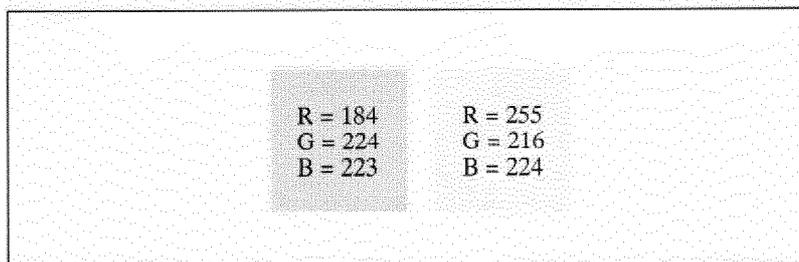
1. Контроль содержания химических соединений и элементов в биологических средах: руководство / Г. Г. Онищенко, Н. В. Зайцева, Т. С. Уланова; под ред. Г. Г. Онищенко. — Пермь: Книжный формат, 2011. — 520 с.
2. Патент US5217594, МПК G01N 27/26, опубл. 08.06.1993
3. Т. В. Гуркина, А.М. Игошин / Журнал аналитической химии.-1965.-Т. 20-С.778
4. Ю. А. Золотов, В. М. Иванов, В. Г. Амелин / Химические текст-методы анализа. — М.: Едиториал УРСС, 2002. — 304 с.
5. Патент CN105548170, МПК G01N 021/77, G01N 021/78, опубл. 04.05.2016
6. Патент РФ RU2441232, МПК G01N 31/22, G01N 21/78, опубл. 27.01.2012
7. Патент JP2005098760, МПК G01N-021/77, G01N-021/78, G01N-031/00, G01N-031/22, опубл. 14.04.2005
8. Патент US7247489, МПК G01N 33/20, G01N 33/52, опубл. 24.07.2007
9. Патент RU 2 529 660 C1, МПК G01N 21/77, опубл. 27.09.2014 (прототип)
10. Gupta V.K., Mangla R., Agarwal S., Pb(II) Selective Potentiometric Sensor Based on 4-tert-Butylcalix[4]arene in PVC Matrix. *Electroanalysis*, 2002, 14, 1127–1132

## Способ определения свинца (II) в водных объектах окружающей среды и биологических образцах

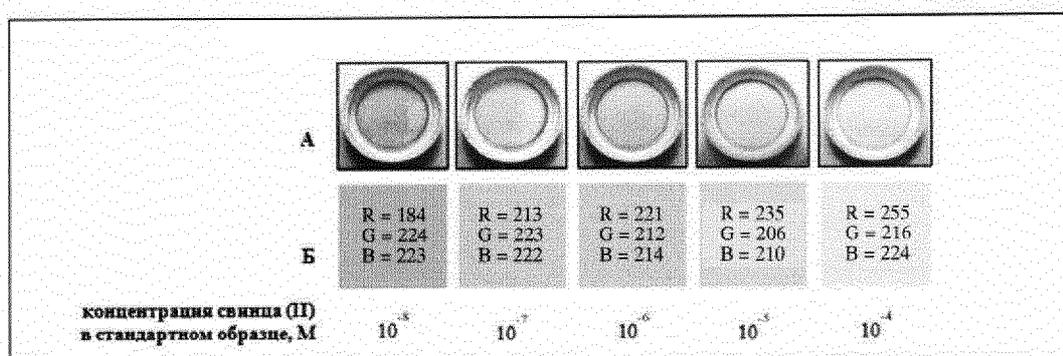
### Формула изобретения

Способ определения свинца (II) в водных объектах окружающей среды и биологических образцах, включающий приготовление полимерной сенсорной пленки, которую помещают в испытуемый образец и по изменению цвета полимерной сенсорной пленки определяют наличие в нем свинца (II), количество которого определяют по калиброванной цветовой шкале, предварительно полученной из не менее 5-ти испытуемых образцов с известными концентрациями свинца, *отличающийся тем, что* полимерную сенсорную пленку помещают в испытуемый образец анализируемого раствора известного объема от 0,5 мл до 10 мл вместе со смесью ацетата магния и уксусной кислоты, взятых в соотношении  $2,50 \cdot 10^{-3}$  моль/л :  $1,25 \cdot 10^{-4}$  моль/л анализируемого раствора, и выдерживают 2–18 минут, в качестве полимерной сенсорной пленки берут пластифицированную бис(этилгексилловым) эфиром себациновой кислоты (ДОС) поли(винилхлоридную) (ПВХ) плёнку толщиной 2–7 мкм, содержащую индикатор нейтральный хромоионофор 9-диметиламино-5-[4-(15-бутил-1,13-диоксо-2,14-иоксанадецил)фенилимино]-бензо[а]феноксазин (ETH5418), ионофор 4-трет-бутил-каликс[4]арен-тетракис(N,N-диметилтиоацетамид) (lead ionophore IV) и ионную добавку натрий тетракис-[3.5-бис(трифторметил)фенил]борат (NaTFPB) в соотношении: 16,7 мг ПВХ, 33,3 мкл ДОС, 10 ммоль/кг DOS ETH5418, 11 ммоль/кг ДОС NaTFPB, 60 ммоль/кг ДОС lead ionophore IV, размещённую на носителе, а определение наличия свинца (II) в испытуемом образце проводят визуально-тестовым способом путём сравнения цвета полимерной сенсорной пленки с калиброванной цветовой шкалой, и по совпадению цвета полимерной сенсорной пленки с определённым делением калиброванной цветовой шкалы определяют количественный диапазон содержания свинца (II) в испытуемом образце.

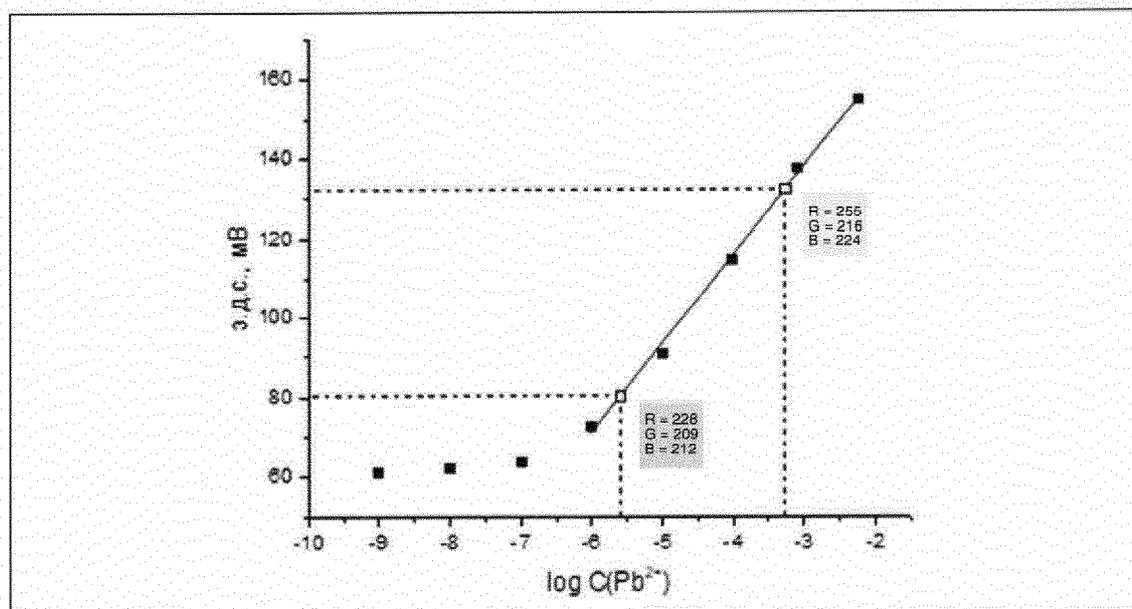
## Способ определения свинца (II) в водных объектах окружающей среды и биологических образцах



Фиг.1

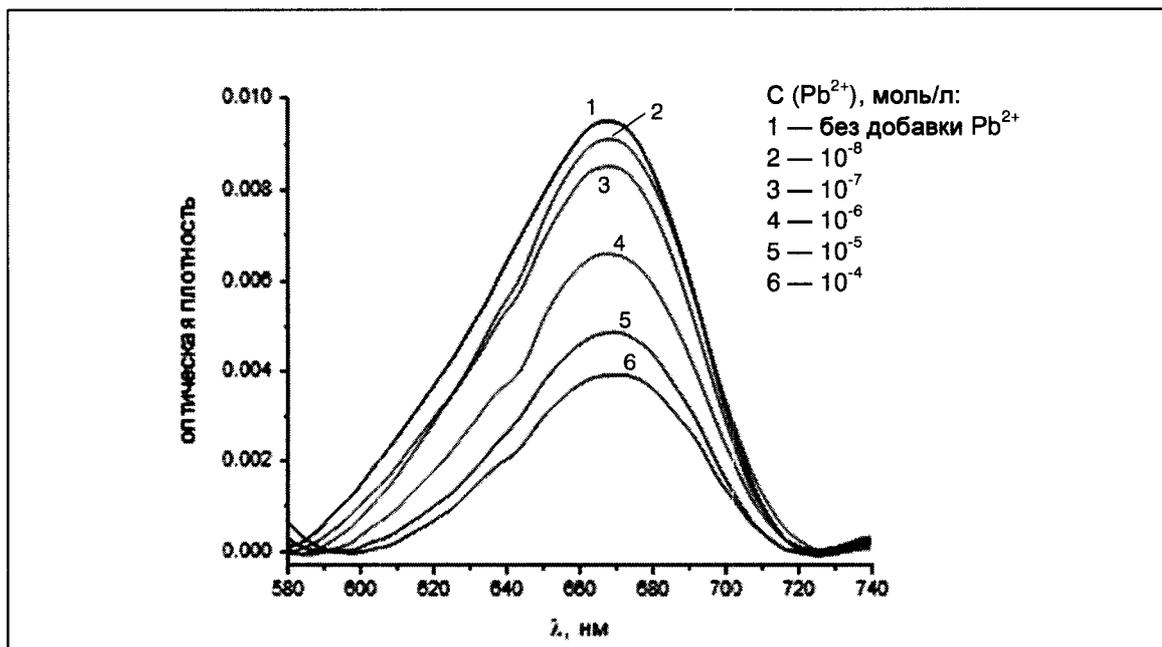


Фиг.2

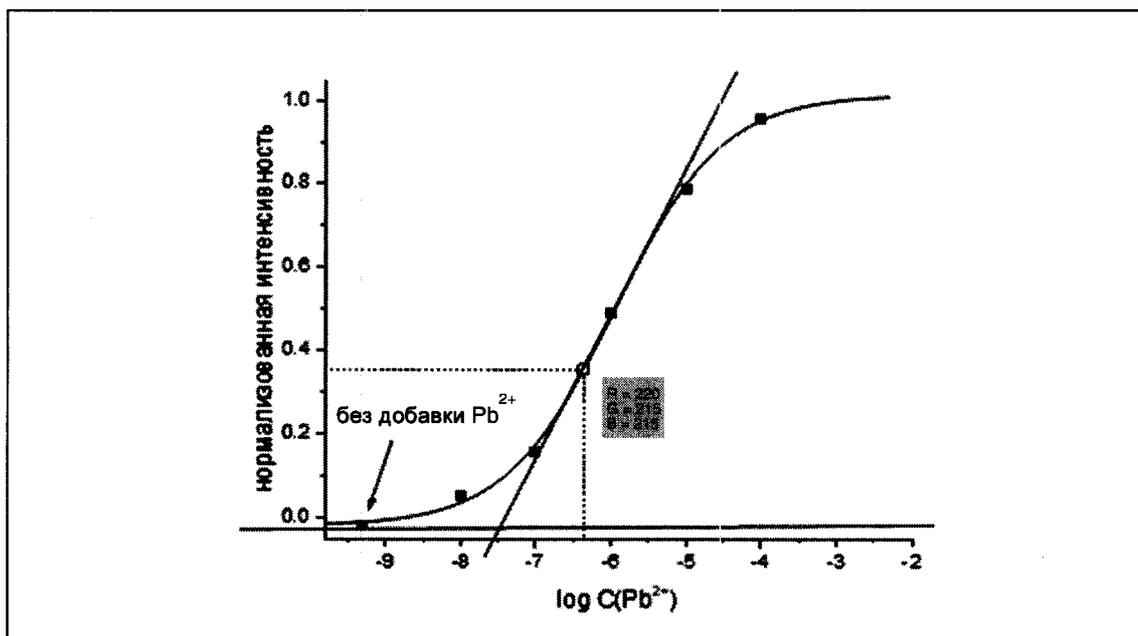


Фиг.3

Способ определения свинца (II) в водных объектах  
окружающей среды и биологических образцах



Фиг.4



Фиг.5

## ЕВРАЗИЙСКОЕ ПАТЕНТНОЕ ВЕДОМСТВО

ОТЧЕТ О ПАТЕНТНОМ  
ПОИСКЕ(статья 15(3) ЕАПК и правило 42  
Патентной инструкции к ЕАПК)

Номер евразийской заявки:

201800637

Дата подачи: 27 декабря 2018 (27.12.2018) | Дата испрашиваемого приоритета: 16 августа 2018 (16.08.2018)

Название изобретения: СПОСОБ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СВИНЦА (II) В ВОДНЫХ ОБЪЕКТАХ ОКРУЖАЮЩЕЙ  
СРЕДЫ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБРАЗЦАХЗаявитель: ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО  
ОБРАЗОВАНИЯ "САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ" Некоторые пункты формулы не подлежат поиску (см. раздел I дополнительного листа) Единство изобретения не соблюдено (см. раздел II дополнительного листа)

## А. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ:

МПК: G01N 31/22 (2006.01) СПК: G01N 31/22 (2013-01)  
G01N 21/78 (2006.01) G01N 21/78 (2013-01)  
G01N 1/28 (2006.01) G01N 1/28 (2017-08)

Согласно Международной патентной классификации (МПК) или национальной классификации и МПК

## Б. ОБЛАСТЬ ПОИСКА:

Минимум просмотренной документации (система классификации и индексы МПК)

G01N 31/22, G01N 21/78, G01N 1/28, G01N 33/18, G01N 33/50

Другая проверенная документация в той мере, в какой она включена в область поиска:

## В. ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ

Категория*	Ссылки на документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №
A	RU 2441232 C1 (ГОСУДАРСТВЕННОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ УРАЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЕ ЛЕСОТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ) 27.01.2012	1
A	RU 2529660 C1 (ФГБОУ ВПО "КубГУ") 27.09.2014	1
A	RU 2218563 C2 (ВАШЕНКОВ ЕВГЕНИЙ ГЕОРГИЕВИЧ) 10.12.2003	1
A	US 5217594 A (ENZYME TECHNOLOGY RESEARCH GROUP, INC) 08.06.1993	1
A	CN 101592597 A (BEIJING BOHUI INNIVATION TECHN) 02.12.2009	1

 последующие документы указаны в продолжении графы В данные о патентах-аналогах указаны в приложении

\* Особые категории ссылочных документов:

"А" документ, определяющий общий уровень техники

"Е" более ранний документ, но опубликованный на дату  
подачи евразийской заявки или после нее"О" документ, относящийся к устному раскрытию, экспони-  
рованию и т.д."Р" документ, опубликованный до даты подачи евразийской  
заявки, но после даты испрашиваемого приоритета

"D" документ, приведенный в евразийской заявке

"Т" более поздний документ, опубликованный после даты  
приоритета и приведенный для понимания изобретения"Х" документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету  
поиска, порочащий новизну или изобретательский уровень,  
взятый в отдельности"У" документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету  
поиска, порочащий изобретательский уровень в сочетании с  
другими документами той же категории

"&amp;" документ, являющийся патентом-аналогом

"L" документ, приведенный в других целях

Дата действительного завершения патентного поиска: 12 сентября 2019 (12.09.2019)

Наименование и адрес Международного поискового органа:

Федеральный институт

промышленной собственности

РФ, 125993, Москва, Г-59, ГСП-3, Бережковская наб.,  
д. 30-1. Факс: (499) 243-3337, телетайп: 114818 ПОДАЧА

Уполномоченное лицо:

О.В.Кишкович

Телефон № (499) 240-25-91