

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ, МОЛОДІ ТА СПОРТУ УКРАЇНИ

Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна

Кафедра хімічної метрології

Навчальний посібник зі спецкурсу

«ХРОМАТОГРАФІЧНІ ТА ТЕСТОВІ МЕТОДИ АНАЛІЗУ»

ЧАСТИНА I «ТЕСТОВІ МЕТОДИ АНАЛІЗУ»

Харків 2011

Решетняк О.О., Нікітіна Н.О. „Хроматографічні та тестові методи аналізу. Частина I. Тестові методи аналізу”.

Мета цього невеликого за обсягом навчального посібника — показати можливості хімічних тест-методів аналізу; розкрити прийоми та засоби, які використовуються для виявлення та визначення різноманітних аналітів. Посібник може бути корисним широкому загалу читачів, що починають вивчення тест-методів аналізу, і, перш за все, студентам, які спеціалізуються в області аналітичної хімії.

ЗМІСТ

ВСТУП

1. Загальні відомості про тестові методи аналізу
2. Матеріали та середовища для тест-реакцій
 - 2.1. Целюлоза
 - 2.2. Пінополіуретани (ППУ)
 - 2.3. Желатинові плівки
 - 2.4. Волокнисті матеріали
 - 2.5. Кремнеземи та ксерогелі
3. Способи іммобілізації реагентів на твердій матриці
 - 3.1. Фізична іммобілізація
 - 3.1.1. Фізична іммобілізація на папері
 - 3.1.2. Фізична іммобілізація на пінополіуретанах
 - 3.1.3. Фізична іммобілізація в желатиновій плівці
 - 3.1.4. Фізична іммобілізація на кремнеземах
 - 3.2. Хімічна іммобілізація
 - 3.2.1. Хімічна іммобілізація на папері
 - 3.2.2. Хімічна іммобілізація на кремнеземах
4. Способи отримання забарвлених сполук у матриці сорбенту
5. Основні методи вивчення хімічних процесів, що відбуваються в прозорих та непрозорих середовищах
 - 5.1. Спектрофотометрія
 - 5.1.1. Спектрофотометрія для прозорих середовищ
 - 5.1.2. Твердофазна спектрофотометрія
 - 5.2. Спектроскопія дифузного відбиття
 - 5.3. Колірометрія
 - 5.3.1. Основні поняття
 - 5.3.2. Основи міжнародної колірометричної системи
 - 5.3.3. Комп'ютерні сканер-технології
6. Аналітичний сигнал та способи його реєстрації в тест-

визначеннях. Колірні шкали

7. Метрологічні характеристики візуального тестового аналізу

7.1. Інтервал ненадійності

7.2. Межа визначення

7.3. Межа виявлення

7.4. Адитивність сигналу політесту

7.5. Представлення результатів візуального тестування

8. Візуальне бінарне тестування з використанням одного зразка порівняння

ЛАБОРАТОРНІ РОБОТИ

1. Визначення рН розчинів з використанням модифікованих желатинових

2. Тест-визначення кобальту(II)

2.1. Визначення кобальту(II) у вигляді тіоціанатних комплексів, що сорбовані на пінополіуретані

2.2. Визначення кобальту(II) з тіоціанатом калію в розчинах

2.3. Визначення кобальту(II) з нітритно-*R*-сіллю на основі реагентних розчинів

2.4. Визначення кобальту(II) з нітритно-*R*-сіллю, іммобілізованою в желатиновій плівці

2.5. Визначення кобальту(II) з 1-(2-піридилазо)-2-нафтолом (ПАН), іммобілізованим на папері

2.6. Визначення кобальту(II) з 2-нітритно-1-нафтом, іммобілізованим на метилкремнієвій кислоті (МКК)

3. Фотометричне визначення кобальту(II) та ніколу(II) при їх одночасній присутності з нітритно-*R*-сіллю, іммобілізованою в желатиновій плівці

4. Контроль забруднювачів вод складного складу

4.1. Визначення феруму(III) у вигляді тіоціанатних комплексів, що сорбовані на ППУ

4.2. Визначення алюмінію(III) з еріохромціаніном *R*,

іммобілізованим в желатиновій плівці

4.3. Визначення борат-іонів

4.4. Непряме фотометричне визначення сульфат-іонів за реакцією іонів барію з нітхромазо, іммобілізованим у желатиновій плівці

5. Тест-визначення, що засновані на окисно-відновлювальних реакціях

5.1. Визначення йодид-іонів

5.2. Визначення бромід-іонів

6. Визначення аніонної поверхнево-активної речовини (АПАР) у вигляді асоціату з фенантроліном феруму(III), що сорбується на ПШУ

7. Тест-визначення нітрит- та нітрат-іонів

7.1. Хемосорбційне визначення нітрит-іонів

7.2. Визначення нітрат-іонів в овочах та фруктах з риванолом, іммобілізованим на папері

8. Визначення сумарного вмісту важких металів

8.1. Визначення суми важких металів (кобальту(II), кадмію(II), купруму(II), цинку(II), ніколу(II), плюмбуму(II)) з 4-(2-піридилазо)-резорцином, іммобілізованим в желатиновій плівці

8.2. Визначення сумарного вмісту металів (кобальту(II), кадмію(II), купруму(II), цинку(II), ніколу(II), плюмбуму(II)) з 4-(2-піридилазо)-резорцином в розчинах

8.3. Визначення сумарного вмісту металів (кобальту(II), кадмію(II), купруму(II), цинку(II), ніколу(II), плюмбуму(II)) з 4-(2-піридилазо)-резорцином, іммобілізованим на порошкоподібній метилкремнієвій кислоті (МКК)

8.4. Визначення сумарного вмісту металів (кобальту(II), кадмію(II), купруму(II), цинку(II), ніколу(II), плюмбуму(II)) з 1-(2-піридилазо)-2-нафтолом (ПАН), іммобілізованим на папері

9. Оцінювання метрологічних характеристик методик візуального

аналізу

9.1. Оцінювання межі визначення (c_{lim}) кобальту у вигляді тіоціанатних комплексів, що сорбовані на пінополіуретані

9.2. Перевірка адитивності сигналу політесту для визначення суми іонів металів Co^{2+} , Fe^{3+} , Cu^{2+} та Ni^{2+} з нітросо-**R**-сіллю, іммобілізований в желатиновій плівці

Література

ВСТУП

Хімічний аналіз все частіше здійснюється в місцях, де знаходиться об'єкт аналізу, а не у стаціонарній лабораторії. Переміщення аналізу з лабораторії — одна з основних тенденцій розвитку сучасної аналітичної хімії. Це пов'язано з безперервним зростанням потреб у позалабораторному аналізі, а також зі зростанням можливостей для здійснення такого аналізу. Створюються рухомі лабораторії, які розміщуються на потягах, кораблях або автомобілях. В цих лабораторіях використовуються аналітичні прилади та методики аналізу практично такі ж, що і в стаціонарних лабораторіях.

Більш масовий позалабораторний аналіз забезпечується портативними приборами та мініаналізаторами. Існують мініфотометри і мінірефлектометри, переносні прилади для рентгенофлуоресцентного аналізу, портативні газові та рідинні хроматографи, прилади, що призначені для багатокомпонентного аналізу. Мініаналізатори дуже прості у використанні, робота з ними не вимагає високої кваліфікації, ці прилади часто не потребують градування та додаткової методики.

Дуже важливі для позалабораторного аналізу хімічні та біохімічні тест-засоби. Вони ще більш прості і більш дешеві у порівнянні з мініаналізаторами. Паперові смуги, плівки, індикаторні трубки, таблетки, ампули та інші тест-засоби хімічного аналізу набувають усе більш широкого використання. Більшість тест-визначень засновано на хімічних реакціях, що перебігають на поверхні різноманітних сорбентів, та супроводжуються ефектом, який легко реєструвати, наприклад, появою або зміною забарвлення. Добре зарекомендували себе на ринку фірми-виробники тест-систем: Merck, CHEMetrics, Millipore, Riedel-de-Haen, Macherey-Nagel, ЭКОНИКС, Мультифан, КРИСМАС+, ВИНАР, «Иновационные Биотехнологии» та ін.

Під час контролю об'єктів навколишнього середовища, лікарських засобів, харчових продуктів, біологічних рідин зростає число проб і число

компонентів (аналітів), які необхідно аналізувати. Для масового аналізу однотипних проб широко використовується методологія скринінгу (попереднього відбракування зразків). Скринінг проводять, коли контролюємий компонент присутній не у всіх пробах або його вміст у пробі нижче значення, що було попередньо встановлене.

В процесі скринінгу масив проб розділяють на дві групи — на ті, що містять, і ті, що не містять аналіт. Це вирішується за допомогою інструментальних або органолептичних (частіше візуальних) тест-методів аналізу. Відповідь у цьому випадку буде: «є» — «відсутній» або «більше» — «менше» встановленої концентрації. Проби, які дали позитивний результат, потребують подальшого кількісного аналізу з використанням підтверджуючих методик. Негативний результат враховується правильним і кінцевим, з такими пробами надалі справи не мають. Методологія скринінгу відноситься більше до якісного, ніж до кількісного аналізу.

Тест-методам аналізу присвячено велика кількість оригінальних публікацій теоретичного и прикладного характеру, декілька оглядів та монографій; в міжнародній пресі в останні роки активно публікуються роботи з метрології якісного аналізу. Однак майже усі ці видання розраховані на вузьке коло спеціалістів та не можуть бути застосовані у якості учбових посібників.

1. Загальні відомості про тестові методи аналізу

В основі термінології, що склалася у тестовому аналізі, лежать наступні поняття:

тест-методи — експресні, прості та дешеві прийоми виявлення і визначення речовин на місці. Як правило, вони не потребують істотної підготовки проби до аналізу, використання складних стаціонарних приладів і лабораторного устаткування, залучення підготовленого персоналу;

тестування (тест) — швидка й проста оцінка присутності і/або оцінка вмісту хімічного компонента (аналіту) в зразку;

тест-засоби — компактні, легкі і звичайно дешеві одиничні пристрої або пристосування для тестування, набори або системи таких одиничних пристроїв (пристосувань);

тест-форма — аналітична форма реагенту або комбінації реагентів і різного роду добавок, які пристосовані до умов тестування й готові до застосування в цих умовах;

тест-методика — інструкція, що описує процедуру проведення тесту;

тест-система — сукупність тест-засобу та експресної методики для виявлення і визначення аналіту.

скринінг — проведення тестування великої кількості проб с метою виявлення проб, в яких вміст аналіту перевищує небезпечну, гранично допустиму або будь-яку нормовану концентрацію.

Хімія тест-методів ґрунтується, головним чином, на реакціях комплексоутворення, окиснення-відновлення, іонного обміну, органічного синтезу та на кислотно-основних реакціях. В реакціях приймають участь реагенти, що добре зарекомендували себе у практиці аналітичної хімії: кислотно-основні та металоіндикатори, реагенти з функціональними групами, деякі неорганічні сполуки, ферменти. «Ноу-хау» розробників та виробників тест-систем зосереджується на підборі та раціональному

комбінуванні реагентів, стабілізації сумішей реагентів та розчинів, на зменшенні заважаючого впливу шляхом додавання маскуючі реагентів.

Загальний принцип майже всіх хімічних тест-методів — використання аналітичних реакцій і реагентів в умовах і у формах, які забезпечують одержання візуального ефекту. Реагенти і різні добавки використовують у вигляді заздалегідь приготованих розчинів або у вигляді іммобілізованих на твердому носії — папері, силікагелі, пінополіуретані та ін.

Вибрані реакції і реагенти повинні відповідати ряду вимог: селективність по відношенню до компонентів, що визначають, чи їх суми; низька межа виявлення; стійкість реагентів при зберіганні; висока контрастність і висока швидкість кольорового переходу в присутності речовини, що визначається; достатня стійкість аналітичного ефекту протягом часу.

Області використання тестового аналізу: експрес-контроль технологічних процесів; виявлення метану у вугільних шахтах; виявлення витоків природного газу з газопроводів; визначення монооксиду вуглецю й вуглеводнів в автомобільних вихлопах; швидкий аналіз ґрунтів і води; контроль харчових продуктів на ринках; оперативний аналіз питної води безпосередньо споживачем; виявлення алкоголю в повітрі, що видихає водій; визначення цукру в крові й сечі діабетиків та інші швидкі аналізи клінічного призначення; аналіз повітря в робочій зоні і на вулицях; виявлення наркотиків в аеропортах; виявлення бойових отруйних речовин; виявлення вибухових речовин та ін.

Тестовий аналіз має багато **переваг**: заощаджується час і кошти на доставку проб у лабораторію й на сам лабораторний аналіз, знижуються вимоги до кваліфікації виконавця. Бінарне тестування великого масиву проб (процес скринінгу) різко скорочує число зразків, які необхідно аналізувати в лабораторії.

2. Матеріали та середовища для тест-реакцій

Готові розчини чи органічні розчинники для тест-визначень зберігають і продають в запаяних ампулах чи крапельницях. Для одного аналізу, як правило, використовують весь вміст ампули.

Для цілей сорбційно-тестового аналізу можуть бути використані сорбенти різної природи та з різними характеристиками. Це неорганічні матеріали на основі оксидів алюмінію чи кремнію; органічні матеріали (звичайно полімерні) як природного (целюлоза, желатин), так і синтетичного походження: на основі поліуретанів, метилметакрилату, полістиролу, іонітів та ін.

Сорбенти можуть бути в різній формі — в вигляді порошків, гранул, таблеток, волокон, тканин, паперів, плівок та ін.

2.1. Целюлоза

Целюлоза — природний полімер, хімічний склад та будова макромолекул якого (рис. 2.1) визначається особливостями біохімічного синтезу. Полімер складається з глюкопіранозних ланцюгів з середнім поперечним перерізом 32.8 Å. Молекули целюлози містять від 100 до 36000 ланцюгів, тому вони не однакові за довжиною, їх кінцівки не співпадають.

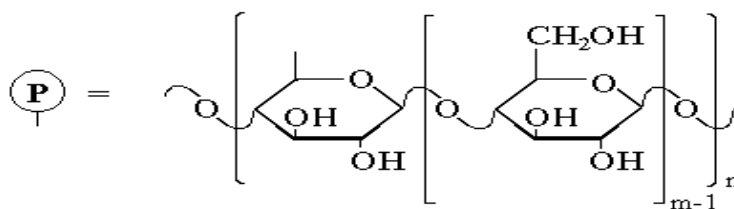


Рис. 2.1. Фрагмент молекули целюлози.

$$n = (2000 \div 16000) / m, \quad m = 10 \div 300$$

Молекули розміщені паралельно одна одній у вигляді кристалічних пучків шириною 50-100 Å та з'єднані між собою переважно водневим

зв'язком вільних гідроксильних груп. Пучки частково впорядковані, частково рихлі (на 70-80 % кристалічні, на 20-30 % аморфні). Кристалічні частини макромолекул складаються з нерізко обмежених утворень, що мають форму ґратки, з пустотами між ними. Аморфні частини макромолекул розміщені не строго паралельно, між ними теж з'являються пустоти.

В фільтрувальному папері волокна, що отримані зі стінок рослин, сплющені, вони утримуються між собою за допомогою сил тертя та водневих зв'язків між роздрібленими волокнами; водневий зв'язок утворюється при висушуванні вологого листа. В папері пори проходять між волокнами та в їх середині. Для отримання хроматографічного паперу використовують переважно бавовну. Бавовняні волокна нагадують скручені стрічки, посеред яких проходить широкий канал. Діаметр волокон становить 0.015–0.040 мм, тоді як їх довжина залежить від ступеня подрібнення зерна.

Целюлоза володіє високою проникністю та великою питомою поверхнею. Це полегшує її модифікацію та забезпечує добрі кінетичні характеристики сорбентів, отриманих на її основі. Питома поверхня волокон целюлози змінюється від 0.3 до 1.7 м²/г. Поверхня волокна целюлози, що набухло під впливом різних рідких середовищ, збільшується багаторазово. Це обумовлено, головним чином, структурними змінами, що відбуваються в самій целюлозі. Наприклад, внутрішня питома поверхня бавовняного фільтрувального паперу, який набух у воді, може зрости до 136-236 м²/г, ватманського фільтрувального паперу — до 122-303 м²/г.

В якості целюлозних сорбентів застосовують порошкоподібні, волокнисті та особливо часто — сорбенти у вигляді паперу. В тест-визначеннях смужку індикаторного паперу занурюють в розчин на деякий час або розчин для аналізу прокачують через реакційну зону паперу. Для цього використовують пристрої для концентрування різноманітного виду. Приклад пристрою у вигляді шприцу з насадкою наведено на рис. 2.2. Смужка паперу фіксується в спеціальному отворі діаметром 6 мм. Розчин для

аналізу можна сконцентрувати приблизно в 1000 разів, якщо через реакційну зону індикаторної смуги прокачувати 20 мл розчину за 5 хв.

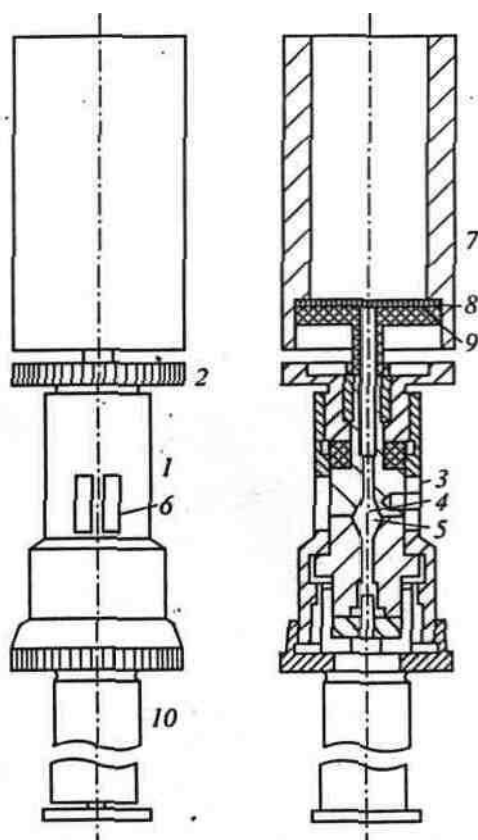


Рис. 2.2. Пристрій для концентрування розчинів на індикаторному папері.
Склад: 1 — корпус; 2 — обертова вставка; 3 — вікно в стінці корпусу; 4 — конічне розширення каналу центрального штоку; 5 — конічне розширення каналу втулки; 6 — фіксатор в отворі й ніші корпусу напроти вікна; 7 — роз'ємне пристосування для фільтрації; 8 — воронка; 9 — фільтр; 10 — контрольна камера шприца.

2.2. Пінополіуретани (ППУ)

Пінополіуретани — спінені поліуретани. У побуті ці матеріали називають поролонами. Пінополіуретани характеризуються мембранною комірковою структурою полімерної матриці, що містить функціональні

групи: уретанові (-NHCOO-), амідні (-C(O)-NH-), прості етерні (-O-), складні етерні (-C(O)-O-), січові (-NH₂-C(O)-NH₂-), кінцеві толуїдинові (-C₆H₃(CH₃)NH₂), а також ароматичні (-C₆H₄-) і аліфатичні (-CH₂-) радикали (рис. 2.3).

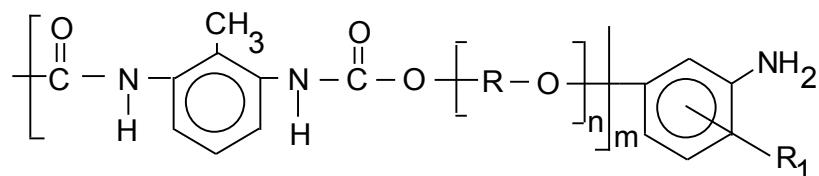
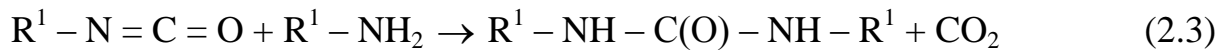
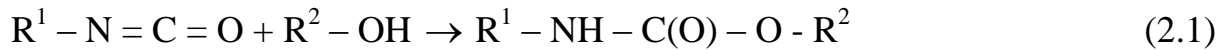


Рис. 2.3 Фрагмент молекули пінополіуретану
(-[R-O]_n- -етерна ланка, R₁ = 2-CH₃, 6-CH₃).

Пінополіуретани отримують за реакцією поліконденсації ізоціанатів з поліолами (гліколями, триглами, простими та складними поліетерами) з наступним спіненням полімерної маси вуглекислим газом.

Розрізняють ППУ на основі простих або складних етерів. При промисловому синтезі у якості вихідних речовин найчастіше використовують прості або складні поліетери з кінцевими ОН-групами та молекулярною масою 400-6000, а також суміш 2,4- і 2,6- толуїлендіізоціанатів у співвідношенні 65 : 35 або 80 : 20. При одностадійному синтезі діізоціанат, поліетерну смолу, воду, каталізатори, стабілізатори та емульгатори змішують одночасно. Компоненти взаємодіють одразу, причому піна починає підійматись через декілька секунд після змішування, і спінення завершується через 1-2 хв. Затвердіння піни продовжується від декількох годин до декількох діб.

Взаємодія між багатоатомним спиртом і ізоціанатом призводить до утворення уретанових угруповань та є реакцією розвитку ланцюга (рівняння 2.1). Одним з продуктів реакцій (2.2) і (2.3) є вуглекислий газ, за рахунок якого здійснюється спінення ППУ. В момент завершення реакції залишаються ізоціанатні (частіше толуїленізоціанатні) групи, які легко гідролізуються та перетворюються в кінцеві толуїдинові групи.



Пінополіуретан, що утворюється, є пластичним матеріалом. Частина твердої фази ППУ замінена на газ у вигляді чисельних бульбашок–комірок, що формують впорядковану систему твердих квазисферичних мембран. Більш ніж 90% загального об'єму полімеру займає повітря.

Коміркова мембранна структура, а також сполучення різноманітних гідрофобних та гідрофільних активних центрів і реакційно здатних кінцевих груп у значній мірі обумовлює унікальні сорбційні властивості пінополіуретанів. Наявність системи комірок-пор забезпечує доступ речовин, що сорбуються, всередину сорбенту. Речовини добуваються не тільки за рахунок адсорбції, а також і за рахунок абсорбції, у зв'язку з чим ємність ППУ виявляється значною (питома поверхня 0.007-0.035 м²/г). В дійсності, пінополіуретани сорбують, «розчинюючи» сорбати в своїх мембранах, що дозволяє концентрувати мікрокомпоненти з великих проб води.

Серед інших властивостей ППУ необхідно відзначити високу ефективність у сполученні з універсальністю (сорбують речовини різних класів); легкість — їх уявна густина складає 0.015-0.045 г/см³; термічну стабільність — розкладаються при температурі, що вища за 180 °С; хімічну стійкість — розчиняються лише в концентрованих кислотах H₂SO₄ та HNO₃, окиснюються лужним розчином KMnO₄, стійки до органічних розчинників; відносно дешевизну та доступність.

2.3. Желатинові плівки

За хімічною природою желатин є полідисперсною сумішшю низькомолекулярних поліпептидів (рис. 2.4). Молекули желатину різко

анізотропні та асиметричні. Желатин — типовий амфоліт. Ізоелектрична точка лужного желатину знаходиться в інтервалі рН 4.8–5.1. При цій кислотності всі основні групи желатину несуть позитивний заряд, а більшість карбоксильних груп знаходиться у дисоційованому стані й несе стільки ж негативних зарядів. Полімер фактично містить об'ємну сітку зарядів і деяку кількість вільних іонів, пов'язаних із цією сіткою. Желатин при будь-яких значеннях рН є сумішшю структур, що розрізняються зарядом. При рН вище ізоелектричної точки (рН>5) сумарний сітковий заряд желатина — негативний, а при рН нижче ізоелектричної точки (рН<5) — позитивний.

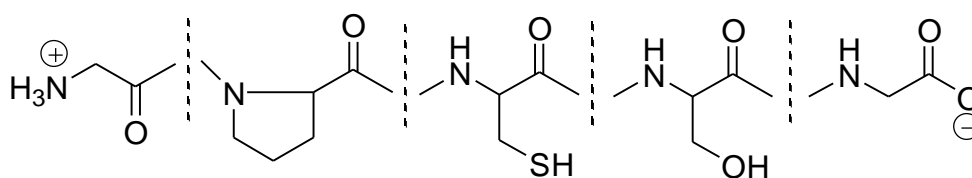


Рис. 2.4 Фрагмент молекули желатину

Желатинові плівки можна отримати в лабораторних умовах з водного розчину желатину, а можна використовувати готові желатинові шари чорно-білої фотографічної плівки. Для того, щоб затверділий желатиновий шар був безбарвний та прозорий, необхідно повністю видалити з нього галогеніди срібла.

Відомо, що желатинові плівки по своїй еластичності подібні до гуми. Це властиво спіралям, утвореним довгими ланцюговими молекулами, з'єднаними між собою обмеженим числом поперечних зв'язків. На основі полімерного масиву з подібною структурою можна одержувати матричні системи з досить однорідним розподілом іммобілізованої речовини, причому його молекули залишаються стерично доступними.

Цим створюються сприятливі умови для протікання різних хімічних процесів за участю іммобілізованого реагенту.

Желатинова матриця має пористу структуру та високий ступінь гідратації: 1 дм³ желатинового гелю може утримувати до 38 моль води; асоціація або агрегація іммобілізованих реагентів в фазі гелю відсутня; на 1 моль реагенту може приходиться більш ніж 100 моль води. В результаті високої «оводненості» желатинового гелю поведінка реагенту в плівці буде подібна його поведінці в водних розчинах.

2.4. Волокнисті матеріали

Волокнисті матеріали, наповнені іонообмінниками, отримують шляхом формування волокон з суспензії, що містить розчин поліакрилонітрилу у диметілформаміді та дрібно дисперсних катіоно- чи аніонообмінників різних типів. При продавлюванні такої суспензії крізь фільтри утворюються тонкі поліакрилонітрильні волокна, в середині яких знаходяться частки іонообмінника-наповнювача. Далі волокно обробляють розчином реагенту, відбувається його закріплення на іонообміннику.

Зазвичай сорбент отримують у вигляді шаруватих пластин з товщиною 0.1-0.2 мм білого або світло-жовтого кольору, з яких вирізають диски, квадрати, стрічки та ін. Отримані сорбенти стійкі у сильно кислих, нейтральних та слабо лужних середовищах та можуть бути використані як у статичному, так і в динамічному режимах.

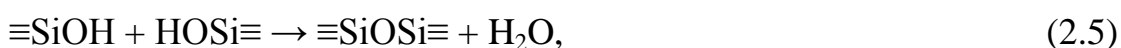
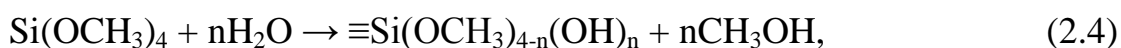
При роботі в динамічному режимі диски діаметром 10 або 20 мм вкладають шарами; немає необхідності поміщувати їх у спеціальні колонки. Селективні властивості волокнистих сорбентів визначаються природою наповнювача. Непогана фільтруюча здатність волокнистого каркасу та маленький розмір часток забезпечує можливість сорбції аналітів при високій швидкості пропускання розчину через шар сорбенту (завдяки великій поверхні контакту фаз).

Таким чином, тканини з іонообмінними групами виступають не тільки місцем протікання реакції, але і сорбентом, що концентрує іони, які визначаються. Це підвищує чутливість реакції та відділяє визначуваний компонент від більшої частини супутніх компонентів.

2.5. Кремнеземи та ксерогелі

Кремнеземи (силікагелі, силохроми, аеросили, пористе скло) відносяться до неорганічних сорбентів на основі аморфного SiO_2 . Вони не зазнають набухання, забезпечують досить високу швидкість масообміну, володіють хімічною стійкістю та механічною міцністю. Поверхня кремнезему досить реакційноздатна. Це дозволяє отримувати велику кількість різноманітних модифікованих матеріалів, що володіють хімічною індивідуальністю іммобілізованої сполуки та властивостями кремнезему як твердого тіла.

Ксерогелі кремнієвої кислоти отримують, використовуючи золь-гель синтез, який базується на гідролізі вихідної сполуки в водно-етанольному розчині. Серед вихідних сполук для отримання матеріалів на основі кремнезему розповсюджені тетраметоксисилан (ТМОС) та тетраетоксисилан (ТЕОС). Ці реагенти можуть гідролізуватися та конденсуватися при відносно м'яких умовах (кімнатна температура, атмосферний тиск). Нижче наведені рівняння реакцій гідролізу та поліконденсації ТМОС:



В якості пришвидшувача гідролізу використовують гексафторсилікат або фторид амонію. Протягом золь-гель процесу в'язкість розчину збільшується відповідно до перетворення золю (колоїдної суспензії) в гель з жорсткою пористою структурою. Тривалість гелеутворення може

змінюватися в широких межах – від секунд до місяців залежно від експериментальних умов (співвідношення $Si : H_2O$, типа та концентрації каталізатору і вихідної сполуки).

Отриманий вологий гель висушують за допомогою мікрохвильового випромінювання різної потужності (300 – 1000 Вт), що суттєво впливає на час висушування. Процедура висушування, яка призводить до утворення ксерогелю, має суттєвий вплив на морфологічні особливості кінцевої сполуки, її пористість та площу поверхні. Оптичні властивості гелів, що отримані у присутності фториду та гексафторсилікату амонію, різні: гелі, які отримано у присутності гексафторсилікату амонію, прозорі; гелі, приготовані з використанням фториду амонію, — непрозорі.

Схематично основні етапи золь-гель процесу ілюструє рис. 2.5.

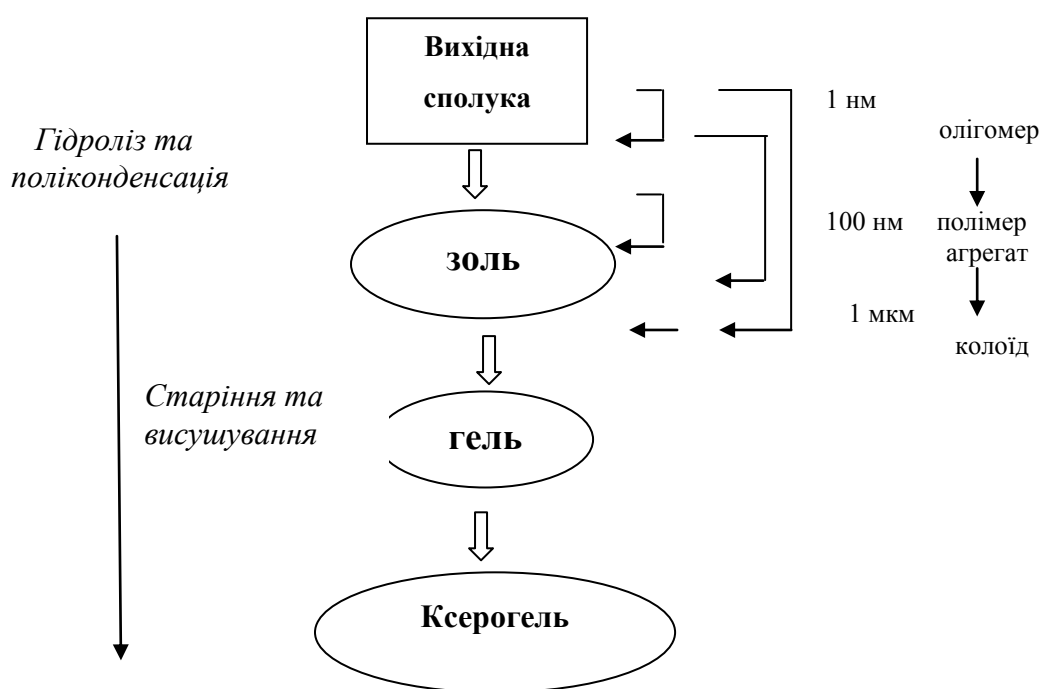


Рис. 2.5. Схема основних етапів золь-гель процесу

3. Способи іммобілізації реагентів на твердій матриці

Процес введення реагентів в фазу сорбенту (на поверхню, в об'єм) зветься *іммобілізацією*. Направлена зміна хіміко-аналітичних властивостей сорбенту за рахунок іммобілізації реагентів має назву *модифікування* (або *модифікація*) сорбенту.

Для закріплення аналітичного реагенту на сорбенті використовують два основних прийоми: 1) синтетичний спосіб — за рахунок ковалентного щеплення реагенту модифікатора на поверхні сорбенту (хімічна іммобілізація); 2) фізична (нековалентна) іммобілізація, яка включає імпрегнування (просочення) матриці розчином модифікатора та закріплення реагенту на поверхні носія за рахунок адсорбції, дисперсійної, електростатичної, диполь-дипольної взаємодії, а також утворення водневого зв'язку за участю функціональних груп сорбенту.

3.1. Фізична іммобілізація

Сорбція може здійснюватись як у статичних, так і в динамічних умовах. У першому випадку зразок сорбенту перемішують в розчині реагенту з подальшим висушуванням носія, у другому — розчин реагенту пропускають під тиском через сорбент. Процес може бути і багатостадійним, що пов'язано або з іммобілізацією другого реагенту, або з необхідністю створення захисного шару. Багатостадійне просочування сорбенту використовують також і при необхідності синтезу на ньому аналітичного хромогенного реагенту.

Слабка фіксація адсорбційно закріплених водорозчинних реагентів на поверхні носія може призводити до їх часткового змивання при контакті з розчином. Такі сорбенти мало здатні для роботи у динамічних умовах. Це є основним недоліком фізичної іммобілізації реагентів.

Малорозчинні у воді реагенти переважні, тому що з ними утворюються більш стабільні при зберіганні тест-форми та вони мало вимиваються з тест-матриці при контакті з рідиною, що досліджується.

Для модифікації властивостей іммобілізованих органічних реагентів можуть бути використані поверхнево-активні речовини (ПАР) різного типу. При цьому вони можуть утворювати іонні асоціати, які є більш чутливими і, у деяких випадках, більш вибірковими реагентами.

3.1.1. Фізична іммобілізація на папері

Целюлоза сорбує сполуки різноманітної природи — гідрофобні та гідрофільні. Це зв'язано з наявністю високорозвинутої сітки субмікросталічних капілярів, мікро- та макропор, а також високим ступенем декристалізації целюлози, що свідчить про послаблення міжмолекулярної взаємодії по всій структурі волокна. Вода, проникаючи в структуру волокна, руйнує водневий зв'язок між молекулами целюлози, що призводить до збільшення числа активних гідроксогруп, які здатні до утворення водневого зв'язку зі сполуками, що містять кисень, нітроген і сульфур. Потім неполярні та полярні молекули речовин поступово витискають воду та заповнюють увесь внутрішній простір між ланцюгами, забезпечуючи таким чином достатньо міцне закріплення сполук на поверхні целюлози.

Реагентні індикаторні папери отримують просоченням фільтрувального паперу сумішшю реагенту з буферними розчинами, маскуючими агентами, закріплювачами, змочувачами. Один й той самий реагент може використовуватися для визначення різних аналітів у сполученні з різними маскуючими агентами.

Іноді перед іммобілізацією реагентів папір змочують у воді та підсушують. Такий прийом призводить до більш повного витіснення води з субмікроскопічних капілярів целюлози та до розпушення волокон. Потім

папір обробляють розчинами реагентів, наприклад, розчином диметилглюксиму — для подальшого визначення ніколу, розчином дітізону — для визначення аргентуму, кадмію, гідраргірису, плюмбуму, цинку.

3.1.2. Фізична іммобілізація на пінополіуретанах

В сорбційно-фотометричних та тестових методах частіше використовують пінополіуретани на основі простих етерів. З листа полімеру вирізають або вибивають кубики, циліндри, циліндричні диски або таблетки. Для очищення від домішок ППУ витримують протягом часу в розчині HCl або H_2SO_4 , потім послідовно промивають водою до рН 5-6 та ацетоном, після чого висушують до повітряно-сухого стану. Зберігають у темному зачиненому місці.

Для іммобілізації реагентів на ППУ звичайно використовують фізичний спосіб, так як хімічне закріплення, яке здійснюється при синтезі ППУ, — процес дуже трудомісткий. Сорбцію реагентів здійснюють у статичних умовах, для цього струшують або перемішують визначену кількість кубиків чи таблеток ППУ у розчині реагенту. При цьому з сорбенту обов'язково видаляють пухирці повітря.

Іноді перед іммобілізацією реагентів (наприклад, дифенілкарбазиду, диметилглюксиму) з метою гідрофобізації поверхні пінополіуретану проводять попереднє пластифікування сорбента три-н-октиламином. Це поліпшує утримання і рівномірний розподіл реагентів в фазі сорбенту.

3.1.3. Фізична іммобілізація в желатиновій плівці

Желатин, як мікропориста речовина, володіє досить розвитою поверхнею, завдяки чому при контакті з водним розчином у його масив

проникає як розчинник, так і розчинені хімічні реагенти. Вода, проникаючи в желатиновий масив, викликає його ізотропне набрякання.

При виборі умов іммобілізації реагентів у желатинову плівку (особливо органічних сполук) необхідно враховувати їх заряд та гідрофобність. Зарядна сітка желатинового гелю більш повно зв'язує протилежно заряджені форми реагентів. Наприклад, при рН 1 в безбарвну плівку вилучається з розчину аніонна форма індикатору бромкрезолового зеленого, який забарвлює плівку в жовтий колір, а при рН 7 — катіонна форма індикатору нейтрального червоного, що забарвлює плівку в червоний колір.

Для модифікації властивостей іммобілізованих в желатиновій плівці органічних реагентів використовують поверхнево-активні речовини. Так, для визначення алюмінію(III) в водах запропоновано тест-систему на основі желатинової плівки з іммобілізованим еріохромціаніном R (ЕХЦ). Але при рН 5.5 — оптимальних умовах взаємодії Al(III) з ЕХЦ в розчинах, аніонна форма барвника вимивалась з желатинової плівки. Введення у розчин ЕХЦ катіонної ПАР цетилпіридиній хлориду дозволило отримати плівки, оранжеве забарвлення яких (колір реагенту) було стійким і при рН 5.5 також.

3.1.4. Фізична іммобілізація на кремнеземах

При підготовці тест-засобів на основі кремнеземів частіше використовують адсорбційне закріплення органічних реагентів, яке залежить від структури кремнезему, пористості і питомої поверхні сорбенту. Такі тест-засоби найчастіше використовують у вигляді порошків.

На поверхні немодифікованого кремнезему встановлено наявність як мінімум трьох типів груп: силанольних, силандіольних та силоксанових (рис. 3.1). Виходячи з загальноприйнятої моделі адсорбції на поверхні кремнезему — моделі водневого зв'язування, силоксанові групи не

приймають участі в процесах адсорбції, силандіольні групи — малоактивні, найбільш хімічно активними є силанольні групи.

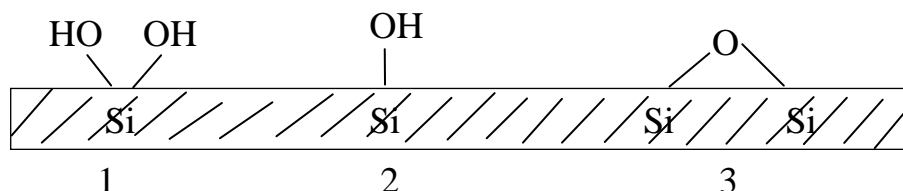


Рис. 3.1. Основні типи груп на поверхні кремнеземів: силандіольні (1), силанольні (2), силоксанові (3).

Імпрегнування, або просочення кремнеземної матриці, здійснюють переважно концентрованим розчином реагенту в леткому розчиннику з подальшим видаленням розчинника у вакуумі за умов кімнатної або більш високої температури. Модифікацію здійснюють у статичному та у динамічному режимах.

Для підвищення стійкості до вимивання реагентів, що сорбують на кремнеземі, використовують силікагелі з попередньо адсорбованими на їх поверхні високомолекулярними четвертинними амонієвими сполуками, наприклад, хлорид тринонілоктадециламмонію ($\text{ЧАС}^+\text{Cl}^-$). Такі сорбенти володіють аніонообмінними властивостями. Хлорид-іони можуть вступати в реакцію обміну, наприклад, з аніонним барвником метиловим оранжевим. При цьому утворюється порошок червоного кольору.

Як один з засобів фізичної іммобілізації може бути метод золь-гель синтезу (див. розділ 2.5), який є універсальним способом отримання модифікованих кремнеземів. Порівняно з матеріалами, які отримані за допомогою адсорбції з водних розчинів, золь-гель метод дозволяє отримувати матеріали з більш високою гідролітичною стійкістю. Це вдається внаслідок унікальних можливостей регулювання розміру пор матеріалу,

змінюючи умови синтезу. Реагенти, що іммобілізують, в залежності від розчинності вводять у суміш у вигляді водного або етанольного розчину або у вигляді седиментаційно стійкої етанольної суспензії (отриманої під впливом ультразвуку).

Модифіковані ксерогелі були використані для багаточисельних тест-визначень органічних і неорганічних сполук у якості порошоків або наповнювачів індикаторних трубок при аналізі вод та інших рідин.

3.2. Хімічна іммобілізація

При іммобілізації реагентів за рахунок ковалентного зв'язування у якості носіїв частіше використовують папір і силікагелі. Основною перевагою модифікованих сорбентів, створених шляхом ковалентного щеплення реагентів, є хімічна і механічна стійкість. Такі сорбенти можна використовувати багаторазово після руйнування продукту реакції, що утворюється при визначенні, промиванням кислотою або водою. Однак багатостадійність та складність синтезу, токсичність реагентів, невелика їх доступність і, відповідно, висока собівартість обмежує застосування таких систем.

3.2.1. Хімічна іммобілізація на папері

При створенні реагентних індикаторних паперів (РІП) із заданими властивостями обирають реагенти, молекули яких мають певні замісники, структуру, розмір, конфігурацію, дентатність, полярність та стехіометрію взаємодії.

На рис. 3.2 наведено приклад хімічної іммобілізації кислотно-основного індикатору на епоксидованому папері.

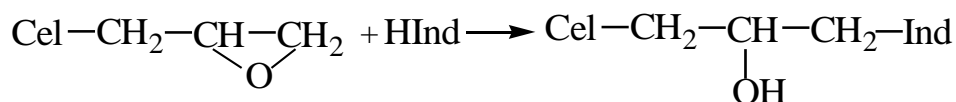


Рис.3.2 Схема закріплення кислотно-основного індикатору на епоксидованому папері.

При хімічному закріпленні індикатору на папері точність оцінки рН підвищується. Тести для визначення рН добре зарекомендували себе при аналізі природних і стічних вод, технологічних розчинів і біологічних рідин.

Епоксидований хроматографічний папір використовують для іммобілізації формазанів та гідразинів з різноманітними групами. Відмічено, що при хімічній іммобілізації формазанів фактор вибірковості підвищується у 2 рази у порівнянні із фізичною сорбцією, підвищується можливість утворення комплексів складу 1:1. Це пояснюють тим, що внутрішні порожнини реагенту стають доступними малій кількості іонів.

На рис.3.3 наведено приклад формазанів, ковалентне щеплення яких на епоксидованому папері, дозволило отримати індикаторні папери РІІ-Ферум-Тест і РІІ-Цинк-Тест.

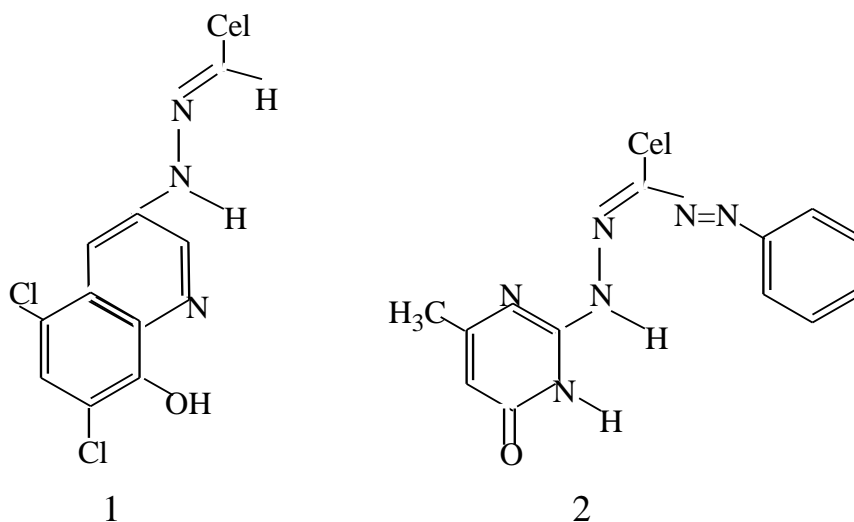


Рис. 3.3 Іммобілізовані формазани для визначення: 1 – феруму(III); 2 – цинку(II).

Для визначення багатьох аніонів використовують РІП з закріпленими відновлювачами. Наприклад, індикаторний папір для визначення активного хлору містить тіокетон Міхлера; РІП для визначення нітрит-іонів — азоз'єднання.

3.2.2. Хімічна іммобілізація на кремнеземах

Синтез ковалентно модифікованих кремнеземів досить складний та трудомісткий. Він включає обробку носія сполуками, що містять фрагменти, які здатні до реакцій конденсації з поверхневими силанольними групами. Приклад схеми силанізування поверхні кремнезему в результаті взаємодії силанольних груп з тетраметилкремніевою кислотою наведено на рис. 3.4.

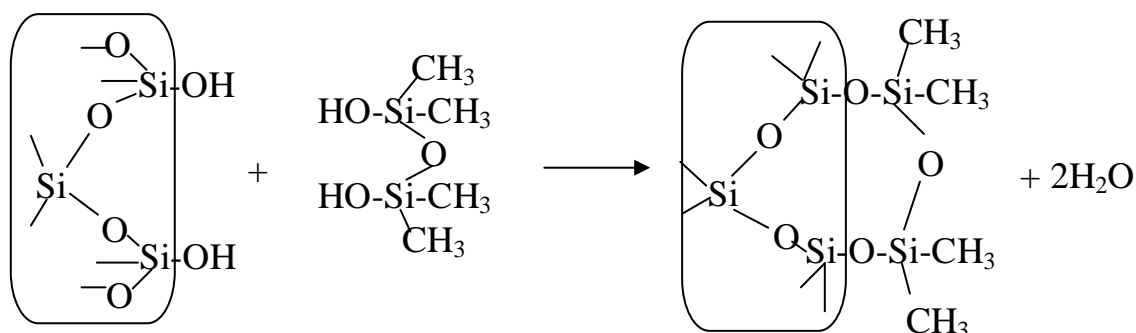


Рис. 3.4. Схема силанізування поверхні кремнезему.

Потім послідовно здійснюють декілька синтетичних стадій, в тому числі отримують реагент, що закріплюють, у формі, яка здатна до взаємодії з поверхнею кремнезему. Можна іммобілізувати тільки ті сполуки, хіміко-аналітичні функціональні групи яких (комплексоутворюючі та інші) зберігають стійкість на усіх стадіях синтезу.

Відомі хімічно модифіковані кремнеземи (ХМК) з прищепленими алкільними, фенільними, нітрильними, амінними, карбоксильними та іншими функціональними групами. Такі сорбенти у тест-методах використовуються

обмежено, більш широке застосування ХМК отримали для концентрування і розділення, наприклад, комплексоутворюючі ХМК дозволяють міцно зв'язувати іони металів.

На рис. 3.5 представлено фрагменти поверхні кремнеземів з ковалентно прищепленими триетилентриаміном (1) та четвертинною амонієвою основою (2). Перший сорбент може утворювати міцні комплекси з іонами Cu^{2+} , а другий сорбент проявляє аніонообмінні властивості.

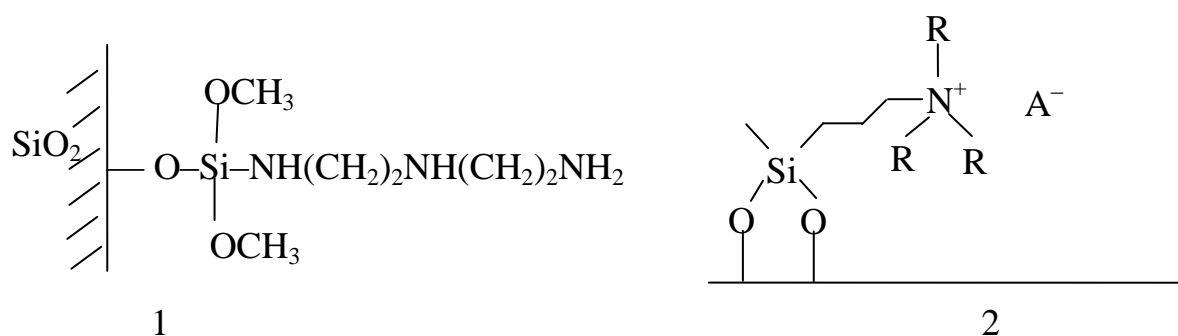


Рис. 3.5. Фрагменти поверхні хімічно модифікованих кремнеземів, що виявляють комплексоутворюючі (1) та аніонообмінні (2) властивості.

Більшість ХМК хімічно та механічно стійкі, на них швидко встановлюється рівновага навіть з-за умов малої концентрації речовин, що визначають ($\leq 10^{-5}$ моль/л), не набрякають у воді та в органічних розчинниках. Ці достоїнства часто окупають недоліки, що пов'язані зі складністю синтезу.

4. Способи отримання забарвлених сполук у матриці сорбенту

В тест-визначеннях для отримання забарвлених сполук у матриці сорбентів використовують різні способи. Основними з них є:

1) Сорбція немодифікованим незабарвленим сорбентом продуктів тест-реакції, утворених в розчині, що аналізують.

Приклади

Сорбція на білому пінополіуретані тіоціанатних комплексів кобальту(II), феруму(III), титану(IV), відповідно, блакитного, червоного і жовтого кольору при визначенні металів; сорбція забарвлених у червоний колір іонних асоціатів трис-(1,10-фенантролін)феруму (II) с додецилсульфат-іонами при визначенні аніонної ПАР; сорбційне концентрування забарвлених у червоний чи жовтий колір азоз'єднань, що утворюються в розчині в результаті взаємодії саліцилової, 4-гідроксібензойної, галлової, ванілінової і кавової кислот з 4-нітрофенілдіазонієм, при визначенні фенолкарбонових кислот.

2) Сорбція модифікованим незабарвленим сорбентом продуктів тест-реакції, утворених в розчині, що аналізують (іонний обмін).

Приклади

Високодисперсний порошок кремнезему білого кольору з адсорбованою на його поверхні четвортинною амонієвою основою N-метил-N,N,N',N',N'-пентадецилетилдіамонію при контакті з розчином аніонних йодидних комплексів вісмуту(III) стає жовтим, з розчином саліцилатних комплексів феруму(III) — червоним, з розчином перманганату — рожевим.

3) Сорбція аналіта на безбарвному сорбенті з наступною обробкою сорбенту реагентом.

Приклади

Сорбція на білих таблетках пінополіуретану безбарвної катіонної ПАР цетілтриметіламонію з подальшою обробкою розчином бромфенолового синього. Поява синього забарвлення ППУ обумовлена утворенням асоціату барвника з ПАР (при відсутності ПАР барвник не сорбується на ППУ).

Сорбція іонів Cu^{2+} на білому диску, що виготовлений з поліакрилнітрильного волокна, наповненого тонкодисперсним катіонообмінником, з подальшою обробкою диска розчином

диетилдитіокарбамінату натрію. Диск забарвлюється в жовтий колір в результаті утворення диетилдитіокарбамінату купруму. Для підвищення селективності реакції в розчин реагенту додають ЕДТА.

Сорбція іонів хрому(VI) на білих дисках волокнистого матеріалу, наповненого аніонітом, з подальшою обробкою диска розчином дифенілкарбазиду. В результаті окислювально-відновлювальної реакції диск забарвлюється в рожевий колір.

4) Утворення забарвлених продуктів реакції аналіту з реагентом, іммобілізованим на сорбенті. При цьому окраска продукту реакції відрізняється від окраски реагенту.

Приклади

Одне із визначень ніколу(II) засновано на його сорбції із аміачного буферного розчину пінополіуретаном, модифікованим диметилглюксимом. При цьому біла таблетка ППУ набуває червоного кольору. При сорбції хрому (VI) на ППУ, модифікованим дифенілкарбазидом, жовтій колір сорбенту змінюється на червоний.

Для виявлення та визначення сумарного вмісту іонів важких металів (Cu^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+}) можна використовувати желатинові плівки с попередньо іммобілізованим 4-(2-піридилазо)-резорцином. При зануренні в розчин металів (рН 5) жовті плівки стають червоними.

Селективне визначення кобальту(II) ґрунтується на сорбції іонів Co^{2+} з розчину (рН 5) диском з тканини з іммобілізованим 1-(2-піридилазо)-2-нафтолом. Далі диск обробляють розчином HCl (для руйнування комплексів інших металів), що призводить до зміни забарвлення з оранжевого на зелене.

Індикаторні смужки РІП-Метал-тест-II для візуального визначення суми важких металів (Cd^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{3+} , Hg^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+}) виготовлені з тетрадентатної нерегулярної 1-(2-карбоксифеніл)-5-(4-метил-6-метоксипіримідин-2-іл)-формазан-6-целюлози з ковалентно закріпленим

реагентом. При рН 6-7 в розчині металів окраска паперу змінюється від світло-жовтої до коричнево-фіолетової.

Індикаторний папір РІП-Кадмій-тест, виготовлений з нерегулярної 1-(2-метоксифеніл)-5-(4-метил-1,6-дигідро-1Н-6-оксопіримідин-2-іл)-формазан-6-целюлози з ковалентно закріпленим реагентом, в розчині кадмію(ІІ) при рН 9 змінює окраску від жовтої до червоно-коричневої.

Для контролю в водах феруму(ІІ) запропонований реагентний індикаторний папір РІП-Ферум (ІІ)-Тест з іммобілізованим гексаціаноферрат(ІІІ) цирконілом. При зануренні у розчин феруму(ІІ) (рН 3) світло-лимонний зразок РІП набуває синьо-блакитного забарвлення.

5) Утворення безбарвного або слабо забарвленого продукту реакції аналіту з реагентом, іммобілізованим на сорбенті, з подальшою обробкою сорбенту іншим реагентом з високими хромофорними властивостями.

Приклад

Світло-жовтим порошком кремнезему з адсорбційно закріпленим дитизоном кількісно вилучають з розчину (рН 5) плюмбум(ІІ), при цьому порошок набуває світло-рожевого кольору (колір дитизонату плюмбуму). Після обробки розчином піридилазорезорцину колір порошку змінюється на червоний — колір комплексу Pb(ІІ) з піридилазорезорцином.

б) Утворення забарвленої сполуки за рахунок гетерофазної реакції заміщення за участю іммобілізованих на сорбенті комплексів металів або малорозчинних солей.

Приклади

Світло-фіолетовий порошок силікагелю, модифікований дитизонатом цинку, в розчині гідраргіриту(ІІ) при рН 1 стає оранжево-червоним. При цьому дитизонат цинку руйнується, а дитизонат гідраргіриту утворюється.

Оранжевий фільтрувальний папір, що містить комплекс ніколу(ІІ) з 2-нітрузо-1-нафтолом (ПАН) в присутності дифенілгуанідину, при зануренні в

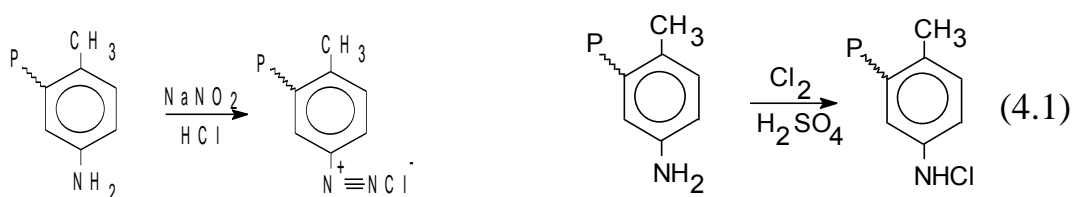
розчин кобальту(II) стає бузковим. Комплекс Ni(II) з ПАН руйнується, утворюється більш стійкий комплекс Co(II) з ПАН. Дифенілгуанідин посилює забарвлення.

Незабарвлений папір з імобілізованим діетилдитіокарбамінатом плюмбуму(II) в розчині купруму(II) стає коричневим. Ця тест-реакція оснований на різній розчинності солей — менш розчинним є діетилдитіокарбамінат купруму(II).

7) Утворення забарвленої сполуки за рахунок хімічної взаємодії аналіту з функціональними групами сорбенту (хемосорбція).

Приклади

При визначенні нітриту або активного хлору фіксують появу жовтого забарвлення пінополіуретану різної інтенсивності, що викликане продуктами взаємодії аналітів з кінцевими толуїдиновими групами ППУ:



5. Основні методи вивчення хімічних процесів, що відбуваються в прозорих та непрозорих середовищах

5.1. Спектрофотометрія

5.1.1. Спектрофотометрія для прозорих середовищ

Спектрофотометрія — метод, що найбільш часто використовують при розробці методик тестового аналізу на основі реагентних розчинів, желатинових плівок, поліметакрилатних матриць та інших прозорих

середовищ. Дослідження проводять в видимій області спектру, тому що вибрані аналітичні реакції забезпечують одержання візуального ефекту.

Метод ґрунтується на основному законі світлопоглинання — законі Бугера-Ламберта-Бера, математичний вираз якого має вигляд:

$$A_{\lambda} = -\lg T = \lg \frac{I_0}{I} = \varepsilon_{\lambda} l c, \quad (5.1)$$

де A_{λ} , T_{λ} , ε_{λ} — світлопоглинання, пропускання та коефіцієнт молярного поглинання при обраній довжині хвилі λ ; l — довжина поглинаючого шару; c — молярна концентрація реагенту у розчині або іншому прозорому середовищі.

Величину поглинання або пропускання аналіту вимірюють на спектрофотометрі або фотоколориметрі. Розчини наливають в кювети з обраною довжиною, плівки (прозорі матриці) поміщають в кювети з $l = 0.1$ або 0.5 см або закріплюють в держателі кюветного відділення приладу.

5.1.2. Твердофазна спектрофотометрія

Метод ґрунтується на прямому вимірюванні світлопоглинання сорбенту після сорбції з розчину аналіту. Сорбентами, що застосовуються в твердофазній спектрофотометрії, можуть бути: синтетичні порошкоподібні іонообмінники, пінополіуретани, кремнеземи, в тому числі золь-гель матеріали на основі кремнієвої кислоти.

Для непрозорих сорбентів притаманні велике поглинання та розсіяння світла. Фонове поглинання зростає зі збільшенням зернистості сорбенту та зменшенням довжини хвилі. Це призводить до того, що на відтворюваність аналітичного сигналу суттєвий вплив чинять конструкційні особливості спектрофотометрів та методики вимірювання світлопоглинання.

Найбільш розвинута спектрофотометрія іонообмінників на основі сополімерів стирола з дивінілбензолом. Приготування зразка для фотометричного аналізу зводиться до отримання шару, що поглинає світло,

який рівномірно заповнено іонообмінником. Як і в фотометрії розчинів, використовують кварцеву кювету, в яку переносять концентрат з невеликою кількістю розчину, другу кювету заповнюють іонообмінником, що набряк, з таким само ж розміром зерна. Світлопоглинання вимірюють при одній, двох чи трьох довжинах хвиль, одна з яких відповідає максимальному поглинанню забарвленої сполуки, при інших — світлопоглинання відсутнє чи є досить малим ($\lambda'' < \lambda_{\max} < \lambda'$).

З твердофазною спектрофотометрією непогано поєднується концентрування аналітів на пінополіуретанах. ППУ вирізають у вигляді тонкого паралелепіпеда, розміри якого відповідають розміру кювети (2 x 1 x 0,1 см), переносять сорбент в заповнену органічним розчинником кювету та вимірюють світлопоглинання. Розчинник відіграє роль імерсійної рідини, що зменшує розсіяння світла.

Для монодисперсних сорбентів (порошків) використовують метод гетерохроматичної екстраполяції. Його суть у вимірюванні світлопоглинання при двох довжинах хвиль з максимальним наближенням кювети до детектору. Для компенсації високого світлопоглинання матриці вимірювання проводять навпроти металевої пластинки з отворами (перфорованого диска). Світлопропускання такої пластини є постійним в широкому інтервалі довжин хвиль.

Наприклад, світлопоглинання іммобілізованого на сорбенті комплексу метала с реагентом буде дорівнювати різниці:

$$A_{RM} = A_{RM}^{\lambda_{\max}} - A_{RM}^{\lambda'} - \Delta A_R, \quad (5.2)$$

де $A_{RM}^{\lambda_{\max}}$, $A_{RM}^{\lambda'}$ — світлопоглинання забарвленого комплексу в фазі сорбенту при довжині хвилі в максимумі поглинання (λ_{\max}) та довжині хвилі, де поглинання майже відсутнє (λ'); $\Delta A_R = A_R^{\lambda_{\max}} - A_R^{\lambda'}$ — поправка на поглинання сорбенту з іммобілізованим реагентом.

Для вимірювання поглинання товстих шарів сорбенту (1-2 см) використовують метод гетерохроматичної екстраполяції в комбінації з методом дзеркальної трубки. В цьому випадку між кюветою та детектором розміщують дзеркальну трубку, що збирає розсіяне світло та направляє його до детектору.

Переваги методу твердофазної спектрофотометрії зв'язані:

- з поєднанням у часі концентрування та отримання придатної для вимірювання аналітичної форми концентрату;

- з підвищенням кінетичної стійкості сполук у фазі сорбенту у порівнянні з розчинами;

- з можливістю використовувати як закріплені на сорбенті органічні реагенти, що нерозчинні у водних розчинах, так і реакції, що призводять до утворення нерозчинних у воді сполук.

5.2. Спектроскопія дифузного відбиття

Спектроскопію дифузного відбиття застосовують для дослідження оптичних властивостей та кількісного визначення речовин, що іммобілізовано на непрозорих сорбентах. В цьому методі аналітичний сигнал — дифузне відбиття (R), яке дорівнює відношенню інтенсивності світла, відбитого зразком (I), до інтенсивності світла, що падає на зразок (I_0):

$$R = \frac{I}{I_0}. \quad (5.3)$$

Для нескінченно товстого шару часток з діаметром кілька мкм, виведено рівняння, що зв'язує R з оптичними характеристиками зразка:

$$\frac{(1-R_\infty)^2}{2R_\infty} = \frac{\beta}{s}, \quad (5.4)$$

де R_∞ — абсолютне дифузне відбиття, β — коефіцієнт поглинання, s — коефіцієнт розсіяння світла. Замість R_∞ звичайно мають справи з відносним дифузним відбиттям R , що вимірюють відносно стандарту (MgO або $BaSO_4$).

В цьому випадку припускають, що $\beta = 0$, $R_\infty = 1$ та $\frac{R_{\infty, \text{зразка}}}{R_{\infty, \text{стандарта}}} \equiv R$, і рівняння

(5.4) має вигляд:

$$F = \frac{(1-R)^2}{2R} = \frac{\beta}{s}, \quad (5.5)$$

F – функція Гуревича-Кубелки-Мунка.

Для зразків, що мають мале поглинання:

$$\beta = 2.3\epsilon c, \quad (5.6)$$

де ϵ – коефіцієнт молярного поглинання зразка, c – його концентрація.

Якщо підставити рівняння (5.6) в (5.5), отримуємо:

$$F = \frac{2.3\epsilon c}{s} = kc. \quad (5.7)$$

З рівняння (5.7) випливає, що функція Гуревича-Кубелки-Мунка лінійно зв'язана з концентрацією сорбата. Залежність $F = f(\lambda)$ подібна спектру поглинання розчину сполуки, що сорбується. Графік градувальної залежності будують в координатах: функція Гуревича-Кубелки-Мунка — концентрація аналізу в розчині.

На дифузне відбиття впливає нормальне (дзеркальне відбиття), товщина шару, розмір часток зразку та його вологість. При збільшенні розміру часток спектри дифузного відбиття стають ширшими, а при зменшенні — значення F зростає, що зумовлено зменшенням параметру s . З тієї ж причини збільшується дифузне відбиття сухих зразків у порівнянні з вологими.

5.3. Колірометрія

5.3.1. Основні поняття

Колірометрія — наука про способи вимірювання кольору і його кількісного вираження.

Колір непрозорих предметів, що не світяться, обумовлений спектральним складом відбитого від них світлового потоку, а прозорих

предметів — складом випромінювання, що пройшло крізь них. Здатність тіл відбивати або пропускати ті або інші промені характеризується за допомогою спектрів відбиття або пропускання.

Усі кольори діляться на дві групи — ахроматичні та хроматичні. До ахроматичних відносяться білі, чорні й сірі тони. Усі інші кольори є хроматичними. Будь-який колір може бути отриманий шляхом змішання певного монохроматичного випромінювання з білим кольором.

Додатковими називають такі пари кольорів, оптичне змішання яких у певній пропорції приводить до одержання ахроматичних кольорів.

Світловий потік — потік світлової енергії, оцінений по його впливу на око людини. Одиницею світлового потоку є люмен (лм).

Освітленість деякої ділянки площини — світловий потік, що припадає на одиницю площі. Одиницею виміру освітленості є люкс (лк). Люкс — це освітленість, при якій світловий потік в 1 лм рівномірно розподілений на поверхні в 1 м².

Міжнародною системою виміру кольору передбачено кожний хроматичний колір характеризувати трьома колірометричними величинами: колірним тоном, чистотою, яскравістю або світлотою. Яскравість визначається для характеристики кольору тіл, що світяться, світлота (або відносна яскравість) — для характеристики кольору тіл, що не світяться.

Для монохроматичного випромінювання *колірний тон* — це довжина хвилі випромінювання, що їм випромінюється.

Чистота (P, %) — колірометрична величина, що показує ступінь вираження колірному тону в даному кольорі. Найбільшу чистоту (100%) мають монохроматичні кольори, ахроматичні кольори мають чистоту, рівну нулю.

Яскравість — сила світла, що віднесена до одиниці площі поверхні, яка світиться, розташованої перпендикулярно напрямку світла.

Насиченість кольору — ступінь відмінності хроматичного кольору від рівного йому за світлотою ахроматичного. Чим більше відмінність

хроматичного кольору від ахроматичного, тобто чим сильніше він відрізняється від нього за чистотою, тем вище насиченість кольору.

Лінійно незалежні кольори — такі три кольори, кожний з яких не може бути отриманий змішанням двох інших. До таких кольорів належать, наприклад: червоний, зелений і синій; жовтий, блакитний і пурпурний. Існує нескінченна безліч інших тріад лінійно незалежних кольорів.

Будь-який колір може бути виражений через три лінійно незалежні кольори. Для довільного кольору (K) можна записати наступне колірне рівняння:

$$K = cЧ + cC + cЗ, \quad (5.8)$$

де $Ч$, C , $З$ — випромінювання червоного, синього й зеленого кольорів, що змішуються; c , c , c — множники, що показують кількості випромінювань. $Ч$, C , $З$, що забезпечують одержання кольору, тотожного по візуальному сприйняттю кольору K .

5.3.2. Основи міжнародної колірометричної системи

Міжнародна колірометрична система передбачає можливість вираження кольору трьома координатами кольору або двома координатами колірності та світлотою. Координати кольору, а також координати колірності знаходять розрахунковим шляхом на основі спектрофотометричних характеристик забарвлених тіл або за допомогою кольоровимірювальних приладів. **Координати кольору** — кількість трьох лінійно-незалежних кольорів, оптичне змішання яких забезпечує одержання даного кольору.

Система RGB

Міжнародною комісією з освітлення (МКВ або CIE) у якості трьох лінійно незалежних кольорів прийняті наступні монохроматичні випромінювання: червоний R ($\lambda=700$ нм), зелений G ($\lambda=546.1$ нм) та синій B ($\lambda=453.8$ нм). Кольори цих випромінювань зветься **основними кольорами**.

Розподіл інтенсивності світлового випромінювання на три складові є зручним при порівнянні з людським зором (через наявність у сітківці ока червоно-, зелене- і синьо-чутливих волокон). Координати кольору в системі RGB — це такі кількості одиничних кольорів R, G, B (позначувані як r' , g' , b'), при оптичному змішанні яких виходить колір, тотожний у візуальному відношенні даному кольору.

Сума координат кольору називається **модулем** (m), а відношення координат кольору до модуля — **координатами кольоровості**:

$$r' + g' + b' = m, \quad (5.9)$$

$$r = r' / m, \quad g = g' / m, \quad b = b' / m. \quad (5.10)$$

Модуль характеризує колір з кількісної сторони, а координати колірності — з якісної. Зі співвідношень (5.9) та (5.10) випливає, що $r + g + b = 1$.

Система XYZ

Міжнародна комісія з освітлення, узагальнивши відомі властивості кольору й формули для розрахунків зміни кольорів, в 1931 р. замінила одиничні кольори R, G, B трьома нереальними кольорами X, Y, Z. У результаті переходу до нових основних кольорів будь-який колір стали виражати через кількості кольорів X, Y, Z, сума яких забезпечує одержання даного кольору. Ці кількості кольорів X, Y, Z (позначувані як x' , y' , z') зветься координатами кольору в системі XYZ. У цій системі модуль кольору (m) і координати колірності x , y , z відповідно дорівнюють:

$$x' + y' + z' = m, \quad (5.11)$$

$$x = x' / m, \quad y = y' / m, \quad z = z' / m, \quad (5.12)$$

при цьому $x + y + z = 1$. Колір будь-якого випромінювання (F) у загальному виді виражається рівнянням:

$$F = x' X + y' Y + z' Z. \quad (5.13)$$

Нереальні кольори X, Y, Z пов'язані із кольорами R, G, B наступними рівняннями:

$$X = 2.36461 R - 0.51515 G + 0.00520 B, \quad (5.14)$$

$$Y = - 0.89654 R + 1.42640 G - 0.01441 B, \quad (5.15)$$

$$Z = - 0.46807 R + 0.08875 G + 1.00921 B. \quad (5.16)$$

З рівнянь (5.14)-(5.16) випливає, що $X+Y+Z = R+G+B$, тобто при додаванні X, Y, Z виходить такий же колір, що й при додаванні випромінювань R, G, B .

На основі значень координат кольоровості монохроматичних випромінювань $x(\lambda), y(\lambda), z(\lambda)$ було побудовано колірний графік (рис. 5.1). В прямокутній вершині трикутника розміщено основний колір Z , а кольори X та Y розміщуються у двох вершинах трикутника, рівні катети якого прийняті за одиниці. На площині трикутника XYZ по значенням координат кольоровості, що відкладаються по осях графіка, наносять точки, які відповідають монохроматичним випромінюванням від 380 до 780 нм. В результаті сполучення цих точок утворюється лінія спектральних кольорів. Точка білого кольору (W) розташована у центрі тяжіння трикутника та має координати кольоровості $x=y=z=1/3$.

Для визначення місцезнаходження того чи іншого кольору на графіці відкладають по осях графіка відповідні значення координат кольоровості „ x ” та „ y ” та у площині трикутника відзначають точку, що відповідає цим координатам (S). Потім з точки білого кольору W через отриману точку S проводять пряму (пунктир) до перетину з лінією спектральних кольорів. В точці перетину по цифрових значеннях, нанесеним на лінії спектральних кольорів, знаходять довжину хвилі, що визначає колірний тон (на рисунку $\lambda_s=520$ нм).

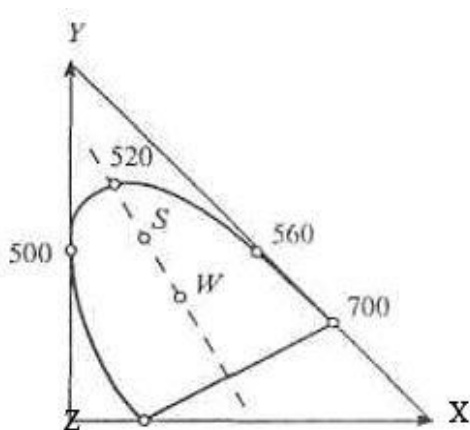


Рис. 5.1. Колірний графік системи XYZ. Суцільна крива — лінія чистих спектральних кольорів. Точки S і W відповідають координатам кольоровості даного й білого кольорів. Цифри — довжини хвиль випромінювання (λ , нм).

Розрахунок координат кольору та кольоровості методом обраних координат

Метод обраних координат дозволяє визначити координати кольору прозорих та непрозорих тіл, що не світяться, та розчинів відносно стандартних джерел світла зі спектрів відбиття або пропускання в діапазоні довжин хвиль від 410 до 670 нм. Координати кольору прозорих тіл або розчинів розраховують по формулах:

$$x' = K_x \sum T(\lambda_{ix}); \quad y' = K_y \sum T(\lambda_{iy}); \quad z' = K_z \sum T(\lambda_{iz}), \quad (5.17)$$

де K_x, K_y, K_z — постійні коефіцієнти, що залежать від числа довжин хвиль, при яких вимірювали пропускання; $T(\lambda_{ij})$ — значення пропускання (%) при визначених значеннях довжин хвиль. При визначенні координат кольору непрозорих тіл замість значень пропускання в формули підставляють значення дифузного відбиття.

Число довжин хвиль(n), що обирають, залежить від форми спектру пропускання чи відбиття. Зазвичай воно дорівнює 10 або 30. За наявності плавної форми спектрів, що не мають різких „піків” та „впадин”, n приймають рівним 10. Значення довжин хвиль, а також значення постійних коефіцієнтів наведено в табл. 5.1. Координати кольоровості розраховують по формулах (5.10), а з використанням графіка хроматичних кривих визначають колір (рис. 5.1).

Таблиця 5.1 Значення довжин хвиль для вимірювання поглинання або дифузійного відбиття, які необхідні для визначення координат кольору

Ордината	X	Y	Z
	Довжина хвилі, нм		
1	435.5	489.5	422.2
2	461.2	515.2	432.0
3	544.2	529.8	438.6
4	564.1	541.4	444.4

5	577.4	551.8	450.1
6	588.7	561.9	455.9
7	599.6	572.5	462.0
8	610.9	584.8	468.7
9	624.2	600.8	477.7
10	646.2	627.1	495.2
Значення коефіцієнтів	$K_x=0.09807$	$K_y=0.1$	$K_z=0.11822$

Вимірювання малих колірних розходжень

При вирішенні багатьох наукових чи практичних завдань часто виникає необхідність визначення ступеня відмінності близьких за кольором зразків. Проведення такого роду порівняння припускає визначення різниці у вигляді однозначної характеристики, що підсумовує різницю як за кольором, так і за світлотою. Така оцінка розходження між кольорами зветься ***загальним колірним розходженням***.

Так як кожний колір може бути уявлено у вигляді точки в трьохвимірному колірному просторі, загальне колірне розходження між кольорами, що порівнюються, може характеризуватися відстанню між точками, що відповідають цим кольорам. Якщо кольори є близькими поміж собою, то і точки цих кольорів у просторі будуть розташовані близько одна до одної. Зі збільшенням різниці між кольорами відстань між відповідними до них точками буде зростати. Якщо встановити одиницю довжини, що відповідає одному порогу кольоророзрізнення, то різниця між кольорами буде виражено числом порогів кольоророзрізнення, тобто числом, яке показує кількість проміжних кольорів, що незначно відрізняються один від одного, які умовно можна розташувати між кольорами, що порівнюються.

Потрібна ***рівноконтрасна*** система, в якій одиниця довжини, що відповідає одному порогу кольоророзрізнення, буде постійною для будь-якої області колірного простору.

Колірний простір Міжнародної колірометричної системи, що ґрунтується на кольорах XYZ, не володіє метричними властивостями. Окремі відстані між двома точками на діаграмі (рис. 5.1) не співвідносяться з

візуальним сприйняттям людини, тому що шкала діаграми нерівномірна. Окрім того, вона не дає інформації про світлоту кольору.

Міжнародною комісією з освітлення запропоновано у 1976 р. декілька таких квазірівноконтрастних систем, найпоширенішою з яких є CIELAB. Координати L, A, B в цій системі пов'язані з координатами X, Y, Z співвідношеннями:

$$L = 116(Y/Y_0)^{1/3} - 16, \quad (5.18)$$

$$A = 500[(X/X_0)^{1/3} - (Y/Y_0)^{1/3}], \quad (5.19)$$

$$B = 200[(Y/Y_0)^{1/3} - (Z/Z_0)^{1/3}], \quad (5.20)$$

де L — світлота; A, B — координати кольору (A – червоно-зелена вісь, B – жовто-синя вісь); X₀, Y₀, Z₀ — координати білого кольору у системі XYZ; осі A і B розташовуються в площині, перпендикулярній осі L.

Відстань між двома точками в трьохкоординатному колірному просторі LAB характеризує повне колірне розходження (ΔE), що обчислюють за формулою:

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta A)^2 + (\Delta B)^2}, \quad (5.21)$$

де $\Delta L = L - L_0$, $\Delta B = B - B_0$, $\Delta A = A - A_0$; L, A, B, L₀, B₀, A₀ — координати кольору зразка, що визначають, та зразка порівняння відповідно.

Загальне колірне розходження змінюється в діапазоні 0–100 умовних одиниць. Одній одиниці ΔE відповідає один поріг коліророзрізнення. Колірний тон (T) та насиченість кольору (S) визначаються наступними співвідношеннями:

$$S^2 = A^2 + B^2, \quad (5.22)$$

$$T = \arctg(B/A). \quad (5.23)$$

Колірний простір CIELAB найбільш прийнятний для розрахунків, тому що рівні відстані між точками, що відповідають різним кольорам, у будь-яких частинах цієї системи координат співвідносяться із зоровим сприйняттям, що дозволяє вести зручну міру для кількісного визначення колірних розходжень.

5.3.3 Комп'ютерні сканер-технології

З розповсюдженням цифрової фотографії, настільних сканерів та комп'ютерних технологій трансформації кольорового зображення з'явився швидкий та автоматизований спосіб оцінювання колірметричних характеристик забарвлених зразків.

Спосіб ґрунтується на скануванні забарвлених тест-зразків за допомогою планшетного сканера в режимі RGB. Розділення кольору та визначення яскравості каналів виконують у редакторі Adobe Photoshop. Для цього в графічному редакторі виділяють овальну область на відсканованому зображенні для отримання середнього значення яскравості, виконують команду "Image-Histogram" та зчитують середнє значення яскравості по кожному з трьох каналів. Математичну обробку результатів роблять у редакторі Origin або Sigma Plot.

Інформація про колір пікселя (елемента зображення) зберігається в трьох колірних каналах, відповідно R, G, та B, у вигляді чисел в інтервалі від 0 до 255. При цьому 0 відповідає нульовій яскравості, а число 255 — максимальній. Тоді, за правилами адитивного синтезу, комбінація 0, 0, 0 відповідає чорному кольору, а 255, 255, 255 — білому кольору максимальної яскравості; комбінація з однакових чисел в інтервалі від 0 до 255 — сірому кольору проміжної яскравості; сполучення з різних значень цифр – відтінкам того чи іншого кольору: 255, 255, 0 — жовтому максимальної насиченості та яскравості, 0, 255, 0 — зеленому, 0, 0, 255 — синьому, 255, 0, 255 — пурпуровому.

Після сканування забарвлених тест-зразків, що відповідають різній концентрації аналіту, будують залежності яскравості (інтенсивності) R, G або B каналів від концентрації аналіту (рис. 5.2) та знаходять апроксимуючу функцію для кожної залежності. Зі збільшенням концентрації аналіту збільшується інтенсивність забарвлення сорбенту, при цьому спостерігається зменшення яскравості колірного каналу, що викликане зменшенням доли

білого кольору у зразку. Залежності $I(R, G, B)$ від концентрації забарвленої речовини є градувальними залежностями та описуються експонентою, що спадає 1-го порядку або степеневою функцією.

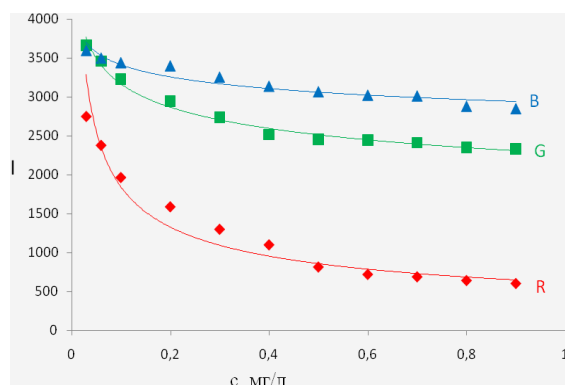


Рис. 5.2 Залежність яскравості R-, G- та B-складових забарвлення тіоціанатних комплексів Co^{2+} , що іммобілізовано на ППУ, від концентрації іонів Co^{2+} в розчині.

Для аналітичних цілей використовують градувальну залежність для найменш яскравого каналу, тому що для цих каналів зміна концентрації призводить до більшого змінення аналітичного сигналу. В випадку блакитних тіоціанатних комплексів Co^{2+} , іммобілізованих на ППУ, обирають у якості градувальної залежності яскравості червоної складової забарвлення комплексів (рис. 5.2).

6. Аналітичний сигнал та способи його реєстрації в тест-визначеннях. Колірні шкали

При візуальній реєстрації сигналу фіксують:

1. Зміну тону чи інтенсивності забарвлення рідини. При цьому реагент або вносять в розчин, що досліджують, або використовують ампули з реагентом (досліджуваний розчин підіймається по капіляру в ампулу з реагентом).
2. Зміну мутності стабілізованої суспензії.

3. Зміну тону або інтенсивності забарвлення сорбенту. Наприклад, фіксують появу синьо-зеленого забарвлення на жовтому фоні РІП при виявленні суми іонів важких металів або спостерігають забарвлення у червоний колір різної інтенсивності білих таблеток пінополіуретану після сорбції на ППУ комплексів феруму(III) з тіоціанатом.
4. Вимірювання довжини забарвленої або знебарвленої зони тест-засобу. Наприклад, вимірюють довжину забарвленої зони модифікованого ксерогелю в індикаторній трубці після пропускання через сорбент розчину, що досліджується; вимірюють площу чи довжину забарвленої плями на папері; вимірюють довжину забарвленої зони індикаторного паперу після занурення його в розчин, що аналізують.
5. Вимірювання „швидкості реакції”. Фіксують час індукційного періоду, тобто час від початку хімічної реакції до появи забарвлення тест-зразку.

Колірні шкали порівняння

Для кількісної оцінки вмісту аналіту використовують *колірну шкалу порівняння* — набір тест-зразків, що відповідають точно відомим концентраціям аналіту. Шкалу готують або безпосередньо перед тестуванням, або використовують комп'ютерне зображення шкали, яке отримують попереднім скануванням забарвлених тест-зразків, або використовують колірну шкалу, що створена методом комп'ютерної імітації або типографським способом. Аналіз без повторного приготування колірної шкали проводять тільки у тому випадку, якщо колір та інтенсивність забарвлення сорбату добре відтворюються.

Концентрація аналізу на колірній шкалі, збільшується не в арифметичній, а в геометричній прогресії. Це пов'язано зі сприйняттям кольору оком людини та експоненційною залежністю характеристик кольору від концентрації аналіту. *Коефіцієнт геометричної прогресії*, що дорівнює відношенню сусідніх концентрацій на шкалі,

$$q=c_{n+1}/c_n, \quad (6.1)$$

найчастіше обирають рівним двом або трьом.

Шкала повинна бути рівноконтрастною та добре сприйматись оком людини. Перевірку рівноконтрастності шкали на основі непрозорих сорбентів проводять із використанням методу колірометрії. Зі спектрів дифузного відбиття обчислюють колірні характеристики в колориметричній системі CIELAB та в якості основного аналітичного параметра для реєстрації зміни кольору модифікованих сорбентів обирають загальне колірне розходження.

Якщо шкалу побудовано вірно, то при збільшенні концентрації в q раз значення ΔE повинно змінюватись на означене число умовних одиниць, тобто на означене число порогів коліророзрізнення. Величина шага ΔE на шкалі:

$$\Delta E^* = \Delta E_{n+1} - \Delta E_n \quad (6.2)$$

залежить від типу сорбенту та від забарвлення продукту тест-реакції, шаг може відповідати 10 ум. од. або меншому числу порогів коліророзрізнення.

Наприклад, для визначення кобальту(II) з використанням реагентного індикаторного паперу РІП-Со-Тест було обрано колірні шкали з коефіцієнтом геометричної прогресії $q=2$ и $q=3$ (табл. 6.1). При зануренні у розчин, що досліджувався, зразки РІП змінювали колір з жовтого на червоний у результаті утворення комплексу Co^{2+} з іммобілізованим на папері 1-нітрозо-2-нафтолом. На шкалі з шагом $q=2$ шаг коліророзрізнення відповідав значенням $\Delta E^*=4-5$, а на шкалі з $q=3$ — $\Delta E^*=6-7$.

При створенні тест-шкали намагаються не виходити за межі ступеня насиченості забарвлення тест-зразків. Величина ΔS повинна змінюватись від 20 до 60%, інакше відтінки кольору будуть погано розрізнятися оком.

Правильність вибору геометричної прогресії для побудови колірної шкали повинна бути доведена візуальним методом. Для цього приготувану шкалу розміщують на аркуші білого паперу в порядку зростання

концентрації аналіту та при денному освітленні за умов розсіяного світла (значення освітленості у приміщенні повинно складати 500-600 лк) порівнюють інтенсивність забарвлення сусідніх тест-зразків шкали. П'ятдесятьом незалежним спостерігачам задають питання: «Чи бачите Ви різницю в забарвленні сусідніх зразків шкали?», фіксують відповіді та за результатами спостережень розраховують частоту виявлення різниці забарвлення:

$$P(c) = n / N, \quad (6.3)$$

де n — кількість позитивних відповідей, N — загальна кількість спостережень. Обирають ту шкалу, для якої $P(c) \geq 0.9$, тобто більше 90% спостерігачів бачать різницю у забарвленні сусідніх зразків шкали. Обрана шкала забезпечує більш високу точність візуального тестування.

Для тест-системи РІІ-Со-Тест (табл. 6.1) на всьому діапазоні концентрацій кобальту більш ніж 90% спостерігачів розрізнявали червоний колір комплексу у зразках індикаторного паперу, що були розташовані згідно геометричній концентраційній прогресії з $q=2$ та $q=3$. Мінімальне значення $\Delta E^*=4$ можна прийняти у якості граничного для візуального коліророзрізнення відтінків червоного кольору на жовтому фоні паперу.

Таблиця 6.1 Значення різниці ΔE^* та частоти виявлення різниці забарвлення сусідніх зразків на колірних шкалах для тест-системи РІІ-Со-Тест

Інтервал $\Delta c(\text{Co}^{2+})$, мг/л	$P(c),\%$ (N=50)	$\Delta E^* = \Delta E_{n+1} - \Delta E_n$	Інтервал $\Delta c(\text{Co}^{2+})$, мг/л	$P(c),\%$ (N=50)	$\Delta E^* = \Delta E_{n+1} - \Delta E_n$
q=2			q=3		
0-10	92	10	0-15	98	8
10-20	90	5	15-45	100	7
20-40	94	4	45-135	90	6
40-80	94	5			

Вибір шкали на основі забарвлених желатинових плівок проводять тільки за допомогою візуального методу. Наприклад, для тест-визначення Al(III) з еріохромціаніном R, іммобілізованим в желатиновій плівці, з чотирьох шкал з різним коефіцієнтом геометричної прогресії (у випадку ряду Фібоначі, кожна наступна концентрація на шкалі дорівнює сумі двох попередніх) було обрано дві шкали з $q=2$ та $q=3$ (табл. 6.2). Тільки для цих шкал на всьому діапазоні концентрацій алюмінію більше 90% спостерігачів розрізняли синій колір комплексу для сусідніх зразків шкали.

Таблиця 6.2 Значення частоти виявлення різниці забарвлення сусідніх зразків на колірних шкалах для тест-системи Al^{3+} -ЕХЦ-Желатинова плівка

Інтервал $\Delta c(Al^{3+})$, мг/л	P(c),% (N=50)	Інтервал $\Delta c(Al^{3+})$, мг/л	P(c),% (N=50)	Інтервал $\Delta c(Al^{3+})$, мг/л	P(c),% (N=50)
q=2		q=1.618 (ряд Фібоначі)		q=1.5	
0-0.14	90	0-0.14	90	0-0.14	90
0.14-0.27	92	0.14-0.16	26	0.14-0.20	60
0.27-0.54	95	0.16-0.30	86	0.20-0.30	54
0.54-1.1	98	0.30-0.46	90	0.30-0.46	96
1.1-2.2	100	0.46-0.76	96	0.46-0.70	94
q=3		0.76-1.2	100	0.70-1.1	80
0-0.14	90	1.2-2.0	86	1.1-1.6	92
0.14-0.41	98			1.6-2.4	92
0.41-1.2	100				
1.2-3.6	100				

7. Метрологічні характеристики візуального тестового аналізу

Тестові методи вирішують задачі якісного та кількісного аналізу. Виявлення аналіту в пробах, що аналізують, проведення скринінгу великої кількості проб з метою виявлення зразків, в яких вміст аналіту перевищує нормовану концентрацію — це задачі якісного аналізу; оцінка концентрації аналіту в пробі на основі колірної шкали порівняння – кількісного аналізу.

Метрологічні основи якісного та кількісного аналізу мають суттєві відмінності. Таку кількісну характеристику, як невизначеність, в область якісного аналізу можна впровадити лише штучно. Зростання публікацій з метрології якісного аналізу призвело до поглиблення розходжень в термінології. Немає узаконених нормативних документів, немає єдиних рекомендацій щодо надійного оцінювання метрологічних характеристик тест-визначень.

7.1. Інтервал ненадійності

При зменшенні концентрації аналіту, починаючи з деякого рівня, число правильних відповідей спостерігачів о присутності аналіту починає знижатися, тобто частина спостерігачів перестають бачити, наприклад, зміну забарвлення сорбенту або зміну мутності суспензії.

Область концентрації аналіту, в якій доля правильних відповідей спостерігачів (або частота виявлення аналіта $P(c)$) змінюється від одиниці до нуля, називається *інтервалом ненадійності (ІН)*. В інтервалі ненадійності:

$$0 < P(c) < 1, \quad (7.1)$$

де $P(c) = n / N$, n — число правильних відповідей спостерігачів, N — загальне число спостережень. Раніше цей діапазон концентрацій називали «областю ненадежной реакции» або «областю неустойчивой реакции».

Для порівняння різних тест-систем, насамперед в умовах визначення їхніх метрологічних характеристик, протяжність інтервалу ненадійності характеризують не абсолютною, а відносною величиною. *Відносна ширина інтервалу ненадійності* — відношення різниці верхньої та нижньої меж до значення нижньої межі інтервалу ненадійності. Чим більш вузький інтервал ненадійності, відповідно і менше значення його відносної ширини, тим зручніше тест-система для практичного використання: вона більш стійка до усяких зовнішніх впливів і отже краща в аналітичному сенсі.

Наприклад, з трьох тест-систем для виявлення та визначення кобальту(II) (табл. 7.1), найбільш вузький інтервал ненадійності характеризує тест-систему на основі пінополіуретану, а найбільш широкий — на основі індикаторного паперу.

Таблиця 7.1 Характеристики тест-систем для виявлення та визначення Co(II)

Реагент	Сорбент	Перехід забарвлення	ІН, мг/л	Відносна ширина ІН	c_{lim} мг/л
Нітросо-Р-сіль	желатинова плівка	жовте—червоно-коричневе	0.10 - 0.22	1.2	0.24
РІІ-Со-Тест	папір	жовте—червоне	2.5 - 6.5	1.6	8.5
KSCN	ППУ	появлення блакитного	0.010 - 0.020	1.0	0.024

7.2. Межа визначення

Межа визначення, c_{lim} — найменший вміст аналіту, який може бути кількісно визначений за допомогою даної методики аналізу речовини або матеріалу зі встановленими характеристиками похибки чи невизначеності.

Межу визначення з використанням колірної шкали розраховують як потроєне стандартне відхилення, що експериментально знайдене поблизу цієї величини (s_c). На практиці за орієнтовне значення c_{lim} приймають верхню межу інтервалу ненадійності, поблизу цього значення готують колірну шкалу порівняння та тест-зразок, що відповідає розчину з заданою концентрацією аналіту. За допомогою колірної шкали 15-18 спостерігачів оцінюють концентрацію аналіту в розчині (c_i). Експеримент повторюють тричі. З N (~50) результатів визначення розраховують стандартне відхилення концентрації, що шукають, та межу визначення за формулами:

$$s_c = \sqrt{s_c^2} = \sqrt{\frac{\sum (c_{зад} - c_i)^2}{N - 1}} \quad (7.2)$$

$$c_{lim} = 3s_c. \quad (7.3)$$

Наприклад, у випадку оцінювання межі визначення алюмінію(III) за допомогою індикаторних смуг РІП-Алюміній-Тест за орієнтовне значення c_{lim} прийняли концентрацію алюмінію, що дорівнює 3.12 мкг/л. Визначення проводили у режимі концентрування: через реакційну зону паперу діаметром 6 мм протягом 30 с прокачували 3 мл розчину, що аналізують, в камеру пристрою для концентрування. Приготували колірну шкалу порівняння, яка відповідала концентрації алюмінію: 0, 3.14 та 6.28 мкг/л, і контрольний зразок РІП, який відповідав концентрації 3.74 мкг/л. Приготування шкали та контрольного зразка проводили тричі. З використанням колірної шкали спостерігачі оцінили вміст алюмінію в розчині. З 51 результату визначення розрахували s_c та c_{lim} . Межа візуального визначення алюмінію склала 3.7 мкг/л (табл. 7.2).

Значення межі визначення кобальту(II) з використанням трьох тест-систем наведено в табл. 7.1. Більш низьке значення c_{lim} характеризує тест-систему на основі ППУ, що пов'язано з більш високим ступенем концентрування компонента в фазі пінополіуретану у порівнянні з іншими сорбентами.

Таблиця 7.2 Результати експериментальної оцінки межі визначення Al^{3+} з використанням РІП-Алюміній-Тест

Колірна шкала: 0; 3.14; 6.28 мкг/л, N=51

Введено алюмінію, мкг/л	знайдено алюмінію з використанням колірної шкали, мкг/л			
	1.57	3.14	4.67	6.28
3.74				
Число визначень	4	26	16	5
$s_c = 1.24$ мкг/л;		$c_{lim} = 3s_c = 3.7$ мкг/л		

7.3. Межа виявлення

Межа виявлення, c_{min} — найменший вміст аналіту, при якому його може бути виявлено за даною методикою аналізу речовини або матеріалу з заданою довірчою імовірністю.

Межі виявлення звичайно приписують концентрацію аналіту, яка відповідає довірчій імовірності 0.95.

Для оцінювання c_{min} виявляють інтервал ненадійності, в якому частота виявлення аналіту змінюється від 1 до 0. Залежність $P(c)$ в інтервалі ненадійності називають **кривою ефективності** («performance characteristic curve», «probability-concentration graph»). На рис. 7.1 показано умовну залежність частоти виявлення аналіту від його концентрації в інтервалі ненадійності.

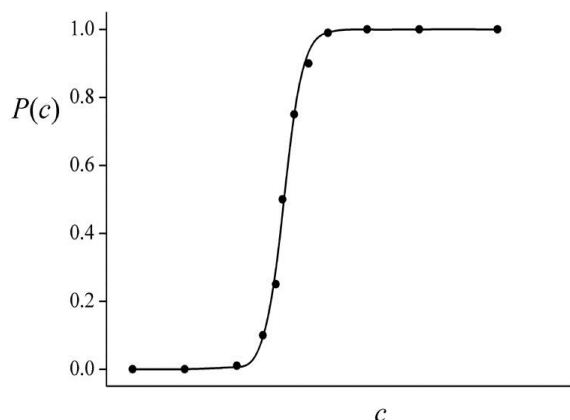


Рис. 7.1 Крива ефективності

В подальшому задача зводиться до отримання експериментальної залежності $P(c)$ в інтервалі ненадійності, підбору математичної функції, яка апроксимує емпіричну залежність, та розрахунку значення c_{min} , задаючи, наприклад, $P(c)=0.95$.

Для отримання експериментальної залежності $P(c)$:

- виявлений інтервал ненадійності розбивають на 7-12 (k) рівнів концентрації аналіту (c_k) з кроком Δ_3 , що перевищує потроєне стандартне відхилення концентрації приготуваних розчинів ($\Delta_3 > 3 s_v$);

- для кожного значення c_k одержують 50 результатів трьох серій спостережень. Серія відрізняється від серії повторенням експерименту – використовують нові порції розчинів, готують нові тест-зразки;

- обчислюють частоти виявлення аналіту в кожній серії: $P(c_k) = n_k/N_k$, де n_k – число позитивних спостережень, N_k – загальне число дослідів для концентрації c_k в серії;

- значення частот усереднюють по серіях, розраховуючи $\overline{P(c_k)}$ та стандартні відхилення частот.

Перевіряють відповідність отриманої емпіричної залежності частот виявлення в інтервалі ненадійності $\overline{P(c_k)}$ математичним функціям відомих розподілів — нормального, логнормального, експоненційного, логістичного, Вейбула, з використанням статистичних критеріїв χ^2 та λ . Для обраного розподілу при $P(c)=0.95$ розраховують значення межі виявлення c_{\min} .

Якщо величина відносної ширини інтервалу ненадійності менше 1, тоді для достовірної оцінки c_{\min} обмежуються п'ятдесятьма результатами спостережень та двома видами функції розподілу — експоненційного та логістичного. Якщо величина відносної ширини інтервалу ненадійності більше 1, то експеримент поповнюють до 100 результатів спостережень, при цьому розширюють вибір математичних функцій для опису емпіричної залежності $\overline{P(c_k)}$.

7.4 Адитивність сигналу політесту

Політести (мультитести) призначені для контролю інтегральних показників якості вод. Найбільш відомими серед них є тест-засоби для визначення твердості, рН, сумарного вмісту важких металів, загального вмісту феруму, активного хлору та ін. В практиці аналізу буває достатньо визначити сумарний вміст речовин якої-небудь групи та не визначати

конкретні компоненти цієї групи, якщо загальний вміст невеликий або речовин не знайдено.

Аналітичний сигнал політесту залежить від внеску окремих компонентів в суму, яку визначають, тому важливо оцінити якість політесту з точки зору його чутливості до окремих компонентів. Адитивність аналітичного сигналу політесту оцінюють з використанням інструментальних методів — спектрофотометрії, спектроскопії дифузного відбиття, колірометрії, сканер-технологій. Порівнюють значення сигналу, що отримано експериментально від суми аналітів, зі значенням, яке розраховано з суми сигналів, що отримано від кожного аналіту:

$$A_{\Sigma} \text{ та } \Sigma A_i / n \quad (\text{спектрофотометрія}),$$

$$F_{\Sigma} \text{ та } \Sigma F_i / n \quad (\text{спектроскопія дифузного відбиття}),$$

$$\Delta E_{\Sigma} \text{ та } (\Sigma \Delta E_i^2 / n)^{1/2} \quad (\text{колірометрія}),$$

$$I(R, G \text{ або } B)_{\Sigma} \text{ та } \Sigma I(R, G \text{ або } B)_i / n \quad (\text{сканер-технології}),$$

де n — кількість аналітів у суміші; A_i , F_i , ΔE_i , $I(R, G \text{ або } B)_i$, A_{Σ} , F_{Σ} , ΔE_{Σ} , $I(R, G \text{ або } B)_{\Sigma}$ — значення світлопоглинання, функції Гуревича-Кубелки-Мунка, загального колірного розходження, яскравості обраного каналу (R , G або B) для i -го аналіту та їх суми, відповідно. В кожному випадку обирають діапазон концентрації аналітів, в якому залежність функції, що аналізують, від їх концентрації має лінійний характер.

Адитивність аналітичного відгуку хімічного тесту на суму n аналітів можна встановити по експериментальним значенням межі визначення кожного аналіту ($c_{\text{lim},i}$) та їх суми ($c_{\text{lim},\Sigma}$), перевіряючи виконання рівності (подібно розрахунку гармонічного середнього):

$$c_{\text{lim},\Sigma} \text{ та } n / [\Sigma(1/c_{\text{lim},i})]. \quad (7.4)$$

В табл. 7.3 наведено результати перевірки адитивності сигналу політестів методом візуального тестування. Тест-системи призначені для контролю суми важких металів з піридилазонафтолом (ПАН) та формазами, іммобілізованими на папері, а також з піридилазорезорцином, іммобілізованим в желатиновій плівці. Для усіх вивчених тест-систем

різниця величин, що порівнюють, — межі визначення, експериментально встановленого для суми металів, та розрахованого зі значень межі визначення кожного іона металу — не перевищують похибку експеримента. Адитивність сигналу політестів було підтверджено інструментальними методами.

Таблиця 7.3 Результати перевірки адитивності сигналу політестів методом візуального тестування

M ⁿ⁺	c _{lim,i} , 10 ⁻⁶ моль/л			
	РІП-ПАН	Желатинова плівка, ПАР	РІП-Метал-Тест	РІП-Метал-Тест II
Cd ²⁺	2.7	30	66	17
Zn ²⁺	2.8	22	73	61
Cu ²⁺	3.5	15	85	35
Co ²⁺	3.3	15	85	51
Ni ²⁺	2.9	27	110	39
Pb ²⁺	3.0	39	26	—
Mn ²⁺	—	—	138	—
Fe ³⁺	—	—	43	22
ΣM ⁿ⁺	2.7	18	100	67
n / Σ(1/c _{lim,i})	3.0	22	82	60

7.5. Представлення результатів візуального тестування

Вміст аналіту в контрольному зразку оцінюють з використанням колірної шкали порівняння, враховуючи правило:

- якщо забарвлення контрольного зразку співпадає з забарвленням зразку шкали, то контрольному зразку приписують концентрацію, що відповідає зразку шкали;

- якщо забарвлення контрольного зразку є проміжним відносно двох сусідніх зразків шкали, то контрольному зразку приписують концентрацію, що дорівнює середині діапазону, тобто, якщо невідома концентрація компонента в пробі c_x попадає між n та $n+1$ членами ряду, то $c_x = (c_n + c_{n+1})/2$.

Колірна шкала, що побудована у відповідності з геометричною прогресією $c_{n+1} = qc_n$:

$$0; \quad c_1; \quad c_2; \quad c_3; \quad c_4, \quad (7.4)$$

не є рівномасштабною, величина кожного наступного інтервалу на шкалі збільшується у порівнянні з попереднім в q разів (тільки на логарифмічній шкалі можна отримати рівні за величиною інтервали $\Delta \lg c = \lg c_{n+1} - \lg c_n = \lg q$).

Традиційний підхід до обробки результатів аналізу, що отримані з використанням концентраційної колірної шкали (7.4), неможна застосовувати. Для представлення результатів візуального тест-визначення слід застосовувати статистику інтервальних даних, в котрій елементами вибірки є не числа, а інтервали. При збільшенні числа паралельних визначень (N) довжина інтервалів на колірній шкалі не змінюється, значення N відбивається тільки на оцінці середнього значення. Діапазон розкиду результатів визначення (аналог довірчого інтервалу) буде обмежуватися або реперними точками шкали, або середніми значеннями сусідніх інтервалів на шкалі.

Припустимо для візуального тестування була приготовлена шкала (7.4), тоді за результатами аналізу можливі такі варіанти представлення середнього результату та діапазону розкиду результатів визначення (табл. 7.3):

1. якщо N результатів визначення попали в інтервал шкали $c_1 - c_2$, тоді середній результат розраховують як $\Sigma c_i / N$, а діапазон розкиду результатів визначення для середнього вказують від c_1 до c_2 ;

2. якщо усі результати визначення i , відповідно, середній результат співпали зі значенням концентрації на шкалі, наприклад з c_2 , тоді межі діапазону розкиду результатів визначення вказують від середини інтервалу,

що знаходиться ліворуч від c_2 , до середини інтервалу, що знаходиться праворуч від c_2 , тобто від $(c_1+c_2)/2$ до $(c_2+c_3)/2$;

3. якщо частина результатів визначення (n_1) відповідає інтервалу c_1-c_2 , а частина результатів (n_2) — сусідньому інтервалу c_2-c_3 , то середній результат розраховують як $\Sigma c_i / (n_1+n_2)$, а діапазон розкиду результатів визначення для середнього вказують від c_1 до c_3 , тобто діапазон розкиду результатів визначення включає два сусідніх інтервали на шкалі.

Таблиця 7.3 Приклади представлення результатів візуального тест-визначення з використанням колірної шкали порівняння

Результати визначення	Число визначень	Середній результат	Діапазон розкиду результатів визначення
всередині інтервалу $c_1 — c_2$	N	$\Sigma c_i / N$	від c_1 до c_2
усі $c_i = c_2$	N	c_2	від $(c_1+c_2)/2$ до $(c_2+c_3)/2$
всередині інтервалів $c_1 — c_2$ та $c_2 — c_3$	$N=n_1+n_2$	$\Sigma c_i / (n_1+n_2)$	від c_1 до c_3

Результати визначення Al^{3+} з еріохромціаніном R, іммобілізованим в желатиновій плівці, що наведено в табл. 7.4, було розраховано з урахуванням наведених правил. Для трьох стандартних розчинів було приготовлено по два контрольних зразки плівок і п'ять спостерігачів оцінювали концентрацію Al^{3+} з використанням чотирьох шкал порівняння (діапазони концентрацій на шкалах вказано в табл. 6.2).

Задаючи концентрацію алюмінію 0.95 мг/л, за шкалою з $q=1.5$ було отримано наступні десять результатів визначення: 0.58, 0.70, 0.70, 0.70, 0.87, 0.87, 0.87, 0.87, 1.1 мг/л з середнім значенням 0.81 мг/л. Отримані результати відповідають двом концентраційним діапазонам шкали: 0.46-0.70 та 0.70-1.1 мг/л, тому діапазон розкиду результатів визначення для середнього результату вказали від 0.46 до 1.1 мг/л. За шкалою з рядом Фібоначі при заданій концентрації алюмінію 0.35 мг/л усі результати

визначення та середній результат співпали зі значенням 0.46 мг/л (з реперною точкою шкали), тому довірчий інтервал обмежили серединами діапазонів, що оточують знайдену концентрацію — від 0.38 до 0.61 мг/л.

Дані таблиці підтверджують правильність вибору колірної шкали для визначення алюмінія з ЕХЦ — більш точні результати визначення було отримано з використанням колірної шкали з коефіцієнтом $q=2$.

Таблиця 7.4 Результати визначення Al^{3+} з еріохромціаніном R, іммобілізованим в желатиновій плівці

Шкала, q	с(Al^{3+}), мг/л		Число інтервалів шкали, в які попадали відповіді спостерігачів	Інтервал розкиду результатів визначення Δc , мг/л
	Введено	Знайдено (N=10)		
1.5	0.35	0.43	1	0.30-0.46
2		0.40	1	0.27-0.54
3		0.49	1	0.41-1.23
1.618		0.46	1	0.38-0.61
1.5	0.95	0.81	2	0.46-1.05
2		0.90	1	0.54-1.08
3		0.81	1	0.41-1.23
1.618		1.02	1	0.76-1.22
1.5	1.75	1.59	2	1.05-2.36
2		1.62	1	1.08-2.16
3		1.58	1	1.23-3.69
1.618		1.46	1	1.22-1.98

8. Візуальне бінарне тестування з використанням одного зразку порівняння

Бінарне тестування з використання одного тест-зразку порівняння застосовують при скринінзі масових проб (рис. 8.1). Варіантами відповідей

при скринінзі можуть бути: аналіт «виявлено»—аналіт «не виявлено»; вміст аналіту «більше—менше» встановленої концентрації (небезпечної, гранично допустимої або будь-якої концентрації, що нормується, $c_{\text{гран}}$).

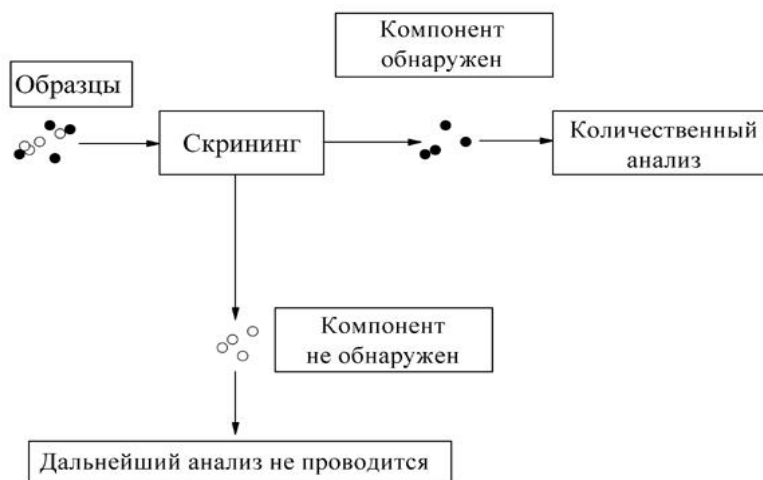


Рис. 8.1 Схема скринінгу (● – зразки, в яких аналіт виявлено, ○ – зразки, в яких аналіт не виявлено).

Попереднє обстеження повинно бути, по можливості, дешевим, простим, таким, що не потребує складної підготовки проби та високої кваліфікації виконавця; скринінг повинен забезпечувати масовість, тобто швидко обробку великої кількості проб. На основі вибору відповіді з двох можливих варіантів (ТАК / НІ) одразу приймають рішення — негативний результат вважають правильним та кінцевим, з такими пробами більше не мають справ. Тому хибний негативний результат є більш небезпечним, ніж хибний позитивний.

Рівень концентрації у тест-зразку порівняння, $c_{\text{порівн}}$, повинен бути задан нижче $c_{\text{гран}}$ настільки, щоб імовірність пропуску небажаних результатів не перевищувала задану, наприклад, 5%. В літературі цей рівень концентрації називають «пороговим значением», «пороговим уровнем» або «пороговим пределом» — «cut-off value», «cut-off level», «cut-off limit».

Обираючи тест-систему для створення зразка порівняння, аналітик повинен дотримуватись наступних вимог:

- сорбент та реагенти повинні бути досяжні, щоб тест-засіб можна було виготовити в лабораторних умовах;

- спостерігач повинен виявляти різницю в інтенсивності забарвлення (мутності) тест-засобів поблизу концентрації, що нормується;

- інтервал ненадійності повинен бути достатньо вузьким.

Оцінку концентрації в зразку порівняння проводять за кривою ефективності, використовуючи експериментальні та розрахункові процедури, що є аналогічними тим, які використовують при оцінці межі виявлення. Тільки вопрос спостерігачу задають інший: «Відрізняються чи ні сигнали (забарвлення, мутність, запах або ін.) від зразка порівняння та від нормованого зразку?» Нормований зразок — це тест-зразок, де вміст аналіту відповідає нормованій (граничній) концентрації $c_{\text{гран}}$. Інтервал ненадійності «зверху» буде обмежуватись граничною концентрацією, а всередині інтервала буде виконуватись умова $0 < P(c) < 1$ (рис. 8.2).

Підбирають математичну функцію, що апроксимує емпіричну залежність частоти виявлення різниці сигналів від концентрації аналізу в інтервалі ненадійності та розраховують значення $c_{\text{порівн}}$, задаючи, наприклад, $P(c) = 0.95$. При цьому надійність бінарного тестування буде відповідати 95%, а імовірність пропуску хибних негативних результатів не буде перевищувати 5%.

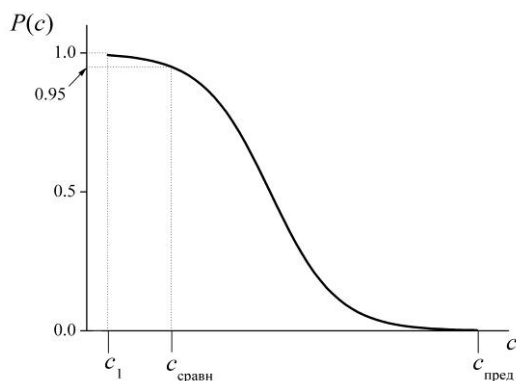


Рис. 8.2 Крива ефективності — залежність частоти виявлення різниць сигналів від зразка порівняння та нормованого зразка в інтервалі ненадійності

Наприклад, для бінарного тестування Fe(III) та SO₄²⁻ в зворотних супутньо-пластових підземних водах на рівні нормованої концентрації — 10 мг/л для Fe(III) та 500 мг/л для SO₄²⁻ — запропоновані зразки порівняння. В якості тестової для Fe(III) обрано реакцію взаємодії Fe(III) з KSCN, іммобілізованим на ППУ, для SO₄²⁻ — утворення стабілізованої суспензії BaSO₄. Отримані оцінки концентрації в зразках порівняння наведено в табл.8.1.

Таблиця 8.1 Зразки порівняння для бінарного тестування Fe(III) та SO₄²⁻ в звороних супутньо-пластових водах

	Fe(III)	SO ₄ ²⁻
Сигнал, що реєструється візуально	Появлення червоного забарвлення ППУ (Fe(SCN) ₄ ⁻)	Помутніння реagentного розчину (BaSO ₄ ↓)
Нормована концентарція, с _{гран} , мг/л	10	500
Інтервал ненадійності, мг/л	9.5—10.0	400—500
с _{порівн} , мг/л	9.6	407

ЛАБОРАТОРНІ РОБОТИ

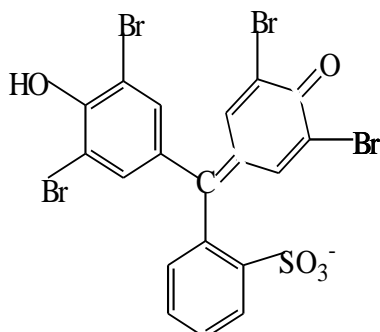
1. Визначення рН розчинів з використанням модифікованих желатинових плівок

У якості тест-засобів багаторазового використання для визначення рН розчинів використовують набір желатинових плівок, які модифіковані кислот-но-основними індикаторами: бромфеноловим синім (БФС), бромкезоловим зеленим (БКЗ), нейтральним червоним (НЧ) та малахітовим зеленим (МЗ). Зміна забарвлення плівок після занурення їх у розчин, що аналізують, відбувається протягом 1 хвилини. Колірний перехід, що спостерігається, є чітким, контрастним, а аналітичний ефект – стійким.

Плівки з іммобілізованими БФС та БКЗ використовують для контролю рН у кислих розчинах, а з іммобілізованими НЧ та МЗ – у лужних. Це насамперед пов'язано з тим, що у желатиновій плівці, яка є амфолітом, утримується форма барвника, що має протилежний за знаком заряд з желатиновою плівкою. При значеннях рН нижче 4.5, коли желатиновий масив має переважний позитивний заряд, в желатиновій матриці за рахунок електростатичних сил утримується аніонна форма індикатору, а при рН вище 4.5, навпаки, краще утримується катіонна форма барвника.

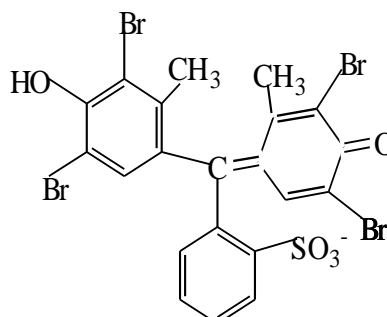
БФС

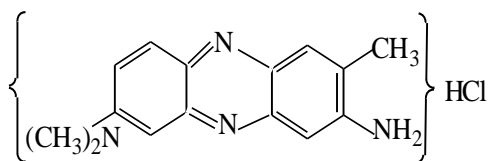
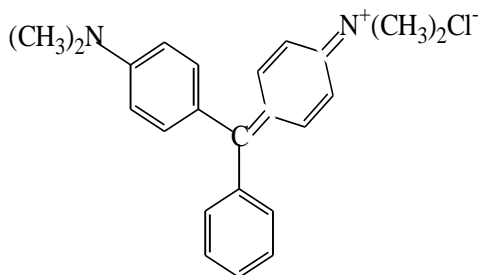
HR⁻ - форма:



БКЗ

HR⁻ - форма:



НЧR⁰ - форма:**МЗ**R⁰ - форма:Мета роботи:

- 1) виготовити тест-засоби
- 2) визначити рН природних вод або технологічних розчинів низької мінералізації.

Реактиви та обладнання:

розчини індикаторів: БФС, БКЗ, НЧ, МЗ

розчин кислоти;

розчин лугу;

набір стандартних буферних розчинів;

желатинові плівки;

мірний посуд.

Методика іммобілізації індикаторів в желатиновій плівці: в чашку Петрі наливають 25 мл розчину індикатору та занурюють у розчин плівки розміром 2.5×3.5 см (концентрацію реагентів та значення рН в розчинах наведено у табл. 1). Плівки виймають з розчину за допомогою пінцету; промивають дистильованою водою, яка має рН 1 (у випадку БФС та БКЗ) та сушать на повітрі протягом часу.

Таблиця 1. Умови модифікування желатинових плівок

Індикатор	Концентрація індикатора в розчині, моль/л	рН	Час контакту плівок з розчином індикатору, хв
Бромфеноловий синій	$1 \cdot 10^{-4}$	1	30
Бромкрезоловий зелений	$1 \cdot 10^{-4}$	1	30
Малахітовий зелений	$2 \cdot 10^{-4}$	6-7	30
Нейтральний червоний	$3 \cdot 10^{-4}$	6-7	30

Методика тестування:

У чашки Петрі наливають розчини, що аналізують. Занурюють у них модифіковану желатинову плівку на 2 с та роблять висновок про рН розчину, користуючись табл. 2. Якщо спостерігається вимивання індикатору БКЗ або БФС, значення рН розчину, що аналізують, більше 4.5, якщо вимиваються індикатори МЗ та НЧ – менше 5.

З використанням набору розчинів з відомим значенням рН можна приготувати шкалу або скористатися табл. 2.

Таблиця 2. Забарвлення модифікованих желатинових плівок при різних значеннях рН розчинів

Індикатор	Значення рН розчину	Колір плівки
БФС	< 1.5 2.5 3.0 – 5.0	жовтий зелений синій
БКЗ	< 2.5 3.5 4.5 – 5.0	жовтий зелений синій
НК	< 8.0 9.0 >10	червоний оранжевий жовтий
МЗ	5.0 – 11.0 12.0 >13	блакитно-зелений світло-блакитний плівка незабарвлена

2. Тест-визначення кобальту(II)

В даній лабораторній роботі пропонується засвоїти різні методики тестового визначення кобальту(II) та порівняти результати, отримані за різними методиками.

2.1. Визначення кобальту(II) у вигляді тіоціанатних комплексів, що сорбовані на пінополіуретані

В основі визначення лежить сорбція на ППУ забарвлених у голубий колір тіоціанатних комплексів кобальту(II) з кислих водяних розчинів. Концентрацію кобальту в контрольному зразку визначають шляхом порівняння інтенсивності забарвлення контрольної таблетки ППУ з колірною шкалою.

Мета роботи: ознайомитися із прийомами сорбційного концентрування; одержати колірну шкалу; визначити концентрацію кобальту в досліджуваному об'єкті.

Реактиви та обладнання:

розчин калію тіоціанату, 5 моль/л;
розчин кобальту нітрату з точно відомою концентрацією;
розчин сірчаної кислоти, 0.2 та 0.1 моль/л;
розчин натрію фториду, 1 моль/л;
таблетки ППУ;
механічний змішувач;
мірний посуд.

Методика приготування сорбенту: з листового пінополіуретану висотою 1 см вирізають таблетки ППУ пробивачем діаметром 16 мм. Для очищення таблетки витримують 30 хв у розчині 0.1 моль/л сірчаної кислоти, потім відмивають дистильованою водою до рН 4-5, промивають ацетоном і висушують на повітрі.

Методика тестування:

Приготування градуювальних розчинів

У мірні колби місткістю 25 мл вносять розраховані об'єми розчину нітрату кобальту, додають 1.5 мл розчину 0.2 моль/л сірчаної кислоти, 2.0 мл розчину тіоціанату калію, 2.0 мл розчину фториду натрію й доводять водою до мітки. Розчини добре перемішують.

Значення концентрації Co^{2+} у розчинах для готування колірної шкали:

$1 \cdot 10^{-6}$ $2 \cdot 10^{-6}$ $4 \cdot 10^{-6}$ $8 \cdot 10^{-6}$ $16 \cdot 10^{-6}$ $32 \cdot 10^{-6}$ моль/л

Приготування колірної шкали

Приготовлені для градування розчини переливають з мірних колб в конічні колби місткістю 100 мл із пришліфованими пробками. У розчини опускають по одній таблетці ППУ, скляною паличкою видаляють повітря, закривають колби пробками й струшують протягом 15 хв. Після сорбції таблетки виймають, віджимають між аркушами фільтрувального паперу й сушать на повітрі.

Таблетки розташовують на аркуші білого паперу в порядку зростання концентрації Co^{2+} .

Визначення концентрації кобальту(II) у контрольному розчині

У мірну колбу місткістю 25 мл вносять 15 мл досліджуваної води, 1.5 мл 0.2 моль/л сірчаної кислоти, 2.5 мл розчину тіоціанату калію, 2.5 мл розчину фториду натрію й доводять дистильованою водою до мітки. Потім роблять ті ж операції, що й із градувальними розчинами.

Порівнюють колір контрольної таблетки ППУ зі шкалою й роблять висновок про вміст кобальту(II) в досліджуваній воді.

2.2. Визначення кобальту(II) з тіоціанатом калію в розчинах

Визначення ґрунтується на екстракції в ацетон тіоціанатних комплексів кобальту. Концентрацію кобальту(II) в контрольному розчині визначають, порівнюючи інтенсивність голубого забарвлення розчину з колірною шкалою.

Мета роботи: приготувати колірну шкалу та оцінити вміст кобальту(II) у контрольному розчині за інтенсивністю голубого забарвлення комплексів іонів Co^{2+} з SCN^- .

Реактиви та обладнання:

розчин кобальту нітрату, 0.01 моль/л;
розчин сірчаної кислоти, 0.2 моль/л;
розчин KSCN , 5 моль/л;
розчин натрію фториду, 1 моль/л;
мірний посуд.

Методика тестування:

Готування градуювальних розчинів

У колби місткістю 25 мл вносять розраховані об'єми розчинів $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$, додають 1.5 мл розчину сірчаної кислоти, 0.5 мл розчину калію тіоціанату, 1 мл розчину натрію фториду й 10 мл ацетону. Доводять до мітки дистильованою водою ат перемішують. Забарвлені розчини переливають у пробірки. Пробірки розташовують у штативі в порядку збільшення концентрації кобальту у розчині.

Значення концентрації Co^{2+} для створення колірної шкали:

$1 \cdot 10^{-5}$ $2 \cdot 10^{-5}$ $4 \cdot 10^{-5}$ $8 \cdot 10^{-5}$ $16 \cdot 10^{-5}$ $32 \cdot 10^{-5}$ $64 \cdot 10^{-5}$ моль/л

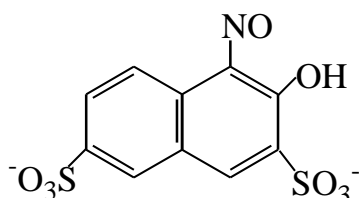
Визначення концентрації кобальту(II) в контрольному розчині:

У мірну колбу місткістю 25 мл вносять 10 мл досліджуваної води, 1.5 мл розчину сірчаної кислоти, 0.5 мл розчину калію тіоціанату, 1.0 мл розчину натрію фториду, 10 мл ацетону і доводять дистильованою водою до мітки. Готовий розчин переливають у пробірку, порівнюють його забарвлення з колірною шкалою та роблять висновок про вміст кобальту в досліджуваній воді.

Співставлення забарвлення розчинів у пробірках проводять при розсіяному світлі на білому фоні.

2.3. Визначення кобальту(II) з нітрузо-R-сіллю на основі реагентних розчинів

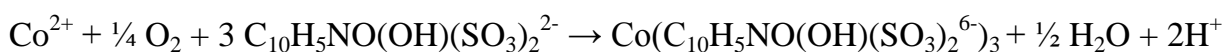
Визначення ґрунтується на утворенні у розчині забарвлених комплексів іонів Co^{2+} з нітрузо-R-сіллю в слабо кислому середовищі. Концентрацію кобальту в контрольному розчині визначають, порівнюючи інтенсивність забарвлення пробірок.



Нітрузо-R-сіль



Рівняння реакції:



Мета роботи: приготувати колірну шкалу та оцінити вміст кобальту(II) у контрольному розчині за інтенсивністю червоно-коричневого забарвлення комплексів іонів Co^{2+} з нітрузо-R-сіллю.

Реактиви та обладнання:

розчин нітрузо-R-солі, $5 \cdot 10^{-3}$ моль/л;

розчин кобальту нітрату, $5 \cdot 10^{-3}$ моль/л;

оцтово-ацетатний буферний розчин з рН 5;

мірний посуд.

Методика тестування:

Готування градувальних розчинів

У колби місткістю 50 мл вносять 0.5 мл розчину нітрузо-R-солі, 10 мл буферного розчину і розрахований об'єм розчину $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$. Доводять до мітки дистильованою водою та перемішують.

Значення концентрації Co^{2+} у розчинах для створення колірної шкали:

$5 \cdot 10^{-6}$ $1 \cdot 10^{-5}$ $2 \cdot 10^{-5}$ $4 \cdot 10^{-5}$ $8 \cdot 10^{-5}$ $16 \cdot 10^{-5}$ $32 \cdot 10^{-5}$ моль/л

Визначення концентрації кобальту(II) в контрольному розчині

У мірну колбу місткістю 50 мл вносять 25 мл досліджуваної води, 0.5 мл розчину нітритно-**R**-солі, 10 мл буферного розчину і доводять дистильованою водою до мітки. Готовий розчин переливають у пробірку, порівнюють його забарвлення з колірною шкалою та роблять висновок про вміст кобальту в досліджуваній воді.

Співставлення забарвлення розчинів у пробірках проводять при розсіяному світлі на білому фоні.

2.4. Визначення кобальту(II) з нітритно-R**-сіллю, іммобілізованою в желатиновій плівці**

В основі визначення лежить реакція комплексоутворення між іонами кобальту та нітритно-**R**-сіллю, що іммобілізовано у желатиновій плівці, в кислому середовищі.

Мета роботи: ознайомитися з прийомами модифікування желатинових плівок; одержати колірну шкалу; визначити концентрацію іонів кобальту у контрольному розчині.

Реактиви та обладнання:

розчин нітритно-**R**-солі, 0.015 моль/л;

розчин хлороводневої кислоти, 0.1 моль/л;

розчин кобальту нітрату, 0.05 моль/л;

желатинові плівки (фотографічна плівка, з якої повністю видалені галогеніди аргентуму);

мірний посуд.

Методика модифікування желатинових плівок :

В 4-х колбах місткістю 25 мл готують розчини реагенту (НРС) з концентрацією $1.5 \cdot 10^{-3}$ моль/л та рН 2 (доданки хлороводневої кислоти). Розчини виливають в чашки Петрі й занурюють в кожну на 45 хв по 4 зразки безбарвної плівки розміром 2.5×3.5 см. Плівки жовтого кольору за допомогою пінцета виймають з розчину та сушать на повітрі.

Методика тестування:

Приготування колірної шкали

Готують градуювальні розчини, що містять іони кобальту із заданою концентрацією та рН 2. Для цього в мірні колби місткістю 25 мл вносять необхідний об'єм розчину Co^{2+} , 2.5 мл розчину HCl , доводять розчини до мітки дистильованою водою і перемішують.

Значення концентрації Co^{2+} у розчинах для створення колірної шкали:

$0.5 \cdot 10^{-5}$ $1.0 \cdot 10^{-5}$ $2.0 \cdot 10^{-5}$ $4.0 \cdot 10^{-5}$ $8.0 \cdot 10^{-5}$ $16 \cdot 10^{-5}$ моль/л

Приготовлені розчини виливають у чашки Петрі; у них занурюють на 30 хв жовті желатинові плівки з іммобілізованою нітритно- R -сіллю; за допомогою пінцета плівки виймають із розчинів і висушують на повітрі.

Сухі плівки розкладають на білому папері в порядку зростання концентрації Co^{2+} .

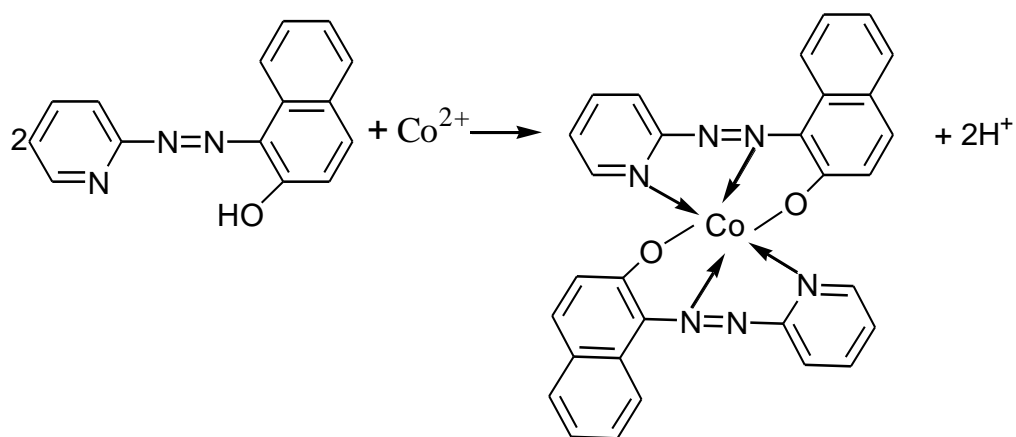
Визначення вмісту Co(II) у контрольному розчині

Вода для аналізу повинна мати малу мінералізацію. У мірну колбу місткістю 25 мл вносять 2.5 мл розчину 0.1 моль/л HCl і доводять до мітки водою, що аналізують. Забарвлення плівки після її занурення в отриманий розчин порівнюють з приготовленою тест-шкалою та оцінюють концентрацію Co(II) у воді.

2.5. Визначення кобальту(II) з 1-(2-піридилазо)-2-нафтолом (ПАН), іммобілізованим на папері

Визначення ґрунтується на утворенні в фазі паперу забарвлених комплексів іонів Co^{2+} з 1-(2-піридилазо)-2-нафтолом в лужному середовищі, що створено доданками розчину бури. Жовто-оранжевий колір індикаторного паперу змінюється на зелений у присутності іонів кобальту.

Рівняння реакції:



Мета роботи: ознайомитися з прийомами іммобілізації реагентів на папері; одержати колірну шкалу; визначити концентрацію кобальту(II) у досліджуваному розчині.

Реактиви та обладнання:

розчин натрію тетраборату, 0.08 моль/л;
 розчин 1-(2-піридилазо)-2-нафтола в ацетоні з масовою часткою 0.01%;
 розчин кобальту нітрату, 0.01 моль/л;
 фільтрувальний папір «синя стрічка»;
 мірний посуд.

Методика модифікування паперу:

Фільтрувальний папір просочують розчином натрію тетраборату і висушують при 40 °С. Потім папір занурюють на 15 хв у розчин ПАН і висушують на повітрі.

Методика тестування:

Приготування колірної шкали

У мірних колбах готують розчини, що містять іони кобальту різної концентрації у відповідності зі шкалою:

5·10⁻⁶ 10·10⁻⁶ 15·10⁻⁶ 30·10⁻⁶ 60·10⁻⁶ моль/л

Готові розчини виливають у чашки Петрі та занурюють у них на 15 хв модифікований папір. За допомогою пінцету, смуги паперу витягують із розчинів і висушують на повітрі.

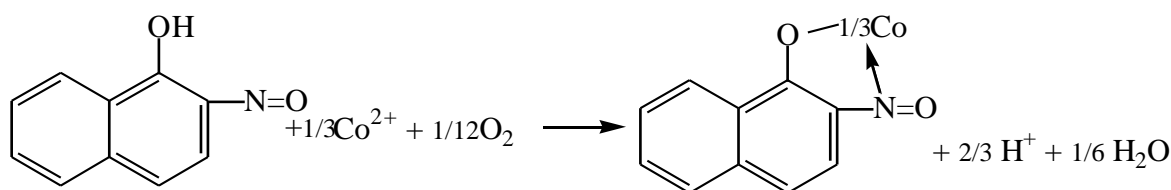
Визначення вмісту Co(II) в контрольному розчині

Воду, що аналізують, виливають у чашку Петрі, занурюють туди модифікований папір на 15 хв. За допомогою пінцету, смужку паперу витягують із розчину і висушують на повітрі. Потім порівнюють інтенсивність забарвлення контрольного тест-зразку з колірною шкалою та роблять висновок щодо вмісту кобальту(II) у пробі.

2.6. Визначення кобальту(II) з 2-нітрозо-1-нафтом, іммобілізованим на метилкремнієвій кислоті (МКК)

В основі визначення лежить реакція взаємодії Co^{2+} з 2-нітрозо-1-нафтолом, іммобілізованим на МКК. Реакція відбувається у присутності дифенілгуанідину, який вводять для підвищення контрастності реакції, та ніколу сульфату. На фоні оранжевого продукту взаємодії ніколу з 2-нітрозо-1-нафтолом добре видно бузковий колір комплексу кобальту(III).

Реакцію взаємодії 2-нітрозо-1-нафтолу з іонами Co^{2+} в присутності кисню повітря можна представити у наступному вигляді:



Мета роботи: ознайомитися з прийомами роботи з порошкоподібним сорбентом; одержати колірну шкалу; визначити концентрацію кобальту(II) в досліджуваному розчині.

Реактиви та обладнання:

порошок МКК;

розчин 2-нітрозо-1-нафтолу, $5 \cdot 10^{-3}$ моль/л;

розчин дифенілгуанідин, $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л;

розчин ніколу сульфату, $1 \cdot 10^{-4}$ моль/л;

розчин кобальту нітрату, 0.01 моль/л;

водний розчин неіонної ПАР Тритон X-100 (ТХ-100), 0.05 моль/л;

магнітна мішалка;

мірний посуд.

Методика приготування сорбенту:

Тест-засіб для виявлення й визначення Co(II) з 2-нітрозо-1-нафтолом у присутності дифенілгуанідину й NiSO_4 готують, обробляючи порошок МКК реагентним розчином, що містить $5.0 \cdot 10^{-4}$ моль/л 2-нітрозо-1-нафтолу, $1.6 \cdot 10^{-5}$ моль/л дифенілгуанідину, $2.3 \cdot 10^{-4}$ моль/л NiSO_4 , 0.01 моль/л Тритона Х-100. Неіоногенну ПАВ вносять в реагентний розчин для поліпшення змочування поверхні сорбенту. Готування тест-засобу включає наступні операції: 2 г сорбенту поміщають в 25 мл реагентного розчину та перемішують 30 хв за допомогою магнітної мішалки, фільтрують і сушать при 40°C . Отриманий жовтогарячий порошок зберігають у темному посуді протягом місяця.

Методика тестування:

Готування градуювальних розчинів

У мірну колбу місткістю 25 мл вносять аліквоти розчину $\text{Co(NO}_3)_2$, додають 5 мл розчину ТХ-100 з концентрацією 0.05 моль/л і доводять водою до мітки.

Значення концентрації Co^{2+} в градуювальних розчинах:

0.60 1.2 2.4 4.8 9.6 мг/л

Приготування колірної шкали

На порції підготовленого сорбенту масою (0.10-0.15) г, які розміщені в блістерних комірках, наносять по 3 краплі (0.10 мл) градуювального розчину. Порошок здобуває бузкове забарвлення різної інтенсивності, пропорційної концентрації Co(II) у розчині.

Визначення вмісту Co(II) в контрольному розчині

На порцію підготовленого сорбенту масою (0.10-0.15) г наносять 3 краплі (0.10 мл) контрольного розчину. Порівнюють інтенсивність забарвлення контрольного тест-зразка з колірною шкалою та оцінюють вміст Co^{2+} у пробі.

3. Фотометричне визначення кобальту(II) та ніколу(II) при їх одночасній присутності з нітрузо-R-сіллю, іммобілізованою в желатиновій плівці

З довідкової літератури відомо, що нітрузо-R-сіть в кислому середовищі утворює забарвлені комплексні сполуки з іонами: Co^{2+} , Fe^{3+} , Cu^{2+} та Ni^{2+} . Комплекси феруму(III) з нітрузо-R-сіллю забарвлені у зелений колір, кобальту(II) – у жовто-коричневий, купрум(II) та ніколу(II) – у жовтий. Такого ж кольору сполуки утворюються в середовищі отверділого желатинового гелю. Застосовуючи маскуючі агенти (тіосечовину для Cu^{2+} та фторид натрію для Fe^{3+}), можна визначити вміст іонів Co^{2+} та Ni^{2+} при їх одночасній присутності.

Модифіковані желатинові плівки прозорі, колір іммобілізованих реагентів стійкий у часі (див. розд. 2.3) та їх можна використовувати у фотометричному аналізі як одного, так і декількох аналітів.

Для визначення вмісту кобальту(II) і ніколу(II) при їх одночасній присутності у пробі треба виміряти спектри поглинання комплексів $\text{Co}(\text{II})$ та $\text{Ni}(\text{II})$ з нітрузо-R-сіллю в плівці, знайти положення максимумів поглинання (λ_1 та λ_2), визначити значення коефіцієнтів чутливості градувальних залежностей при знайдених довжинах хвиль та розв'язати систему рівнянь.

Мета роботи: ознайомитися з прийомами використання модифікованих желатинових плівок для фотометричного аналізу; визначити вміст кобальту(II) і ніколу(II) у досліджуваному об'єкті.

Реактиви та обладнання:

розчин нітрузо-R-солі, 0.015 моль/л;
розчин хлороводневої кислоти, 0.1 моль/л;
розчин кобальту нітрату, 0.05 моль/л;
розчин ніколу нітрату, 0.05 моль/л;
розчин тіосечовини, $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л;
розчин натрію фториду, $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л;
желатинові плівки;

мірний посуд;

фотоколориметр КФК-3.

Методику іммобілізації НРС в желатиновій плівці: див. лаб. роб. 2.4.

Методика визначення коефіцієнтів чутливості градуювальних залежностей комплексів Co(II) та Ni(II) з нітрузо-R-сіллю в желатиновій плівці

В мірних колбах місткістю 25 мл готують по три розчини $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$ та $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ в діапазоні концентрацій Co^{2+} від $1.0 \cdot 10^{-5}$ до $8.0 \cdot 10^{-5}$ моль/л, Ni^{2+} від $0.5 \cdot 10^{-4}$ до $4.0 \cdot 10^{-4}$ моль/л, в кожній колбі створюють рН 2 доданками хлороводневої кислоти (див. лаб. роб. 2.4). Готові розчини виливають у чашки Петрі та занурюють у них на 20 хв по два зразки плівок з реагентом. Плівки з іммобілізованими комплексами виймають з розчинів та сушать на повітрі.

Далі вимірюють спектри поглинання комплексів у плівці, для цього плівки закріплюють у кюветотримачі та фотометрують проти плівки з реагентом. Знаходять λ_{max} для комплексу Co(II) (~430 нм) та Ni(II) (~470 нм). При двох знайдених λ_{max} вимірюють світлопоглинання усіх плівок. Отримують чотири рівняння градуювальних залежностей та визначають коефіцієнти чутливості.

Визначення вмісту Co(II) та Ni(II) в контрольному розчині

У колбу місткістю 25 мл вносять 10 мл контрольного розчину, додають 2.5 мл розчину хлороводневої кислоти, 2.5 мл розчину $\text{CH}_4\text{N}_2\text{S}$, 2.5 мл розчину NaF та доводять дистильованою водою до мітки, ретельно перемішують.

Розчин виливають у чашку Петрі, занурюють в нього на 20 хв два зразки плівок з НРС. За допомогою пінцета плівки виймають з розчину і сушать на повітрі.

Плівки фотометрують при двох λ_{max} комплексів кобальту(II) та ніколу(II) і розраховують концентрацію кожного металу за системою рівнянь, використовуючи знайдені коефіцієнти чутливості:

$$\begin{cases} A^{\lambda_1} = k_{Co}^{\lambda_1} \cdot c_{Co} + k_{Ni}^{\lambda_1} \cdot c_{Ni} \\ A^{\lambda_2} = k_{Co}^{\lambda_2} \cdot c_{Co} + k_{Ni}^{\lambda_2} \cdot c_{Ni} \end{cases}$$

4. Контроль забруднювачів вод складного складу

4.1. Визначення феруму(III) у вигляді тіоціанатних комплексів, що сорбовані на ППУ

В основі роботи лежить сорбція комплексів $Fe(SCN)_4^-$ з розчину на ППУ, при цьому біла таблетка набуває червоного кольору.

Мета роботи: ознайомитися із прийомами сорбційного концентрування; одержати колірну шкалу; визначити концентрацію феруму(III) в контрольному розчині.

Реактиви та обладнання:

розчин тіоціанату калію, 5 моль/л, очищений від домішок Fe(III) (струшування з очищеними таблетками ППУ протягом 30 хв.);
сірчана кислота, 0.2 моль/л (очищена від домішок Fe(III));
розчин феруму (III) хлориду з точно відомою концентрацією;
очищені таблетки ППУ(див. роботу 2.1);
механічний змішувач;
мірний посуд.

Методика тестування:

Готування градувальних розчинів

У мірну колбу місткістю 25 мл вносять аліквоту розчину феруму(III), додають 2.5 мл розчину тіоціанату калію, 2.5 мл розчину сірчаної кислоти й доводять водою до мітки. Розчини добре перемішують.

Значення концентрації Fe^{3+} для створення колірної шкали:

0 30 90 270 810 мкг/л

Приготування колірної шкали

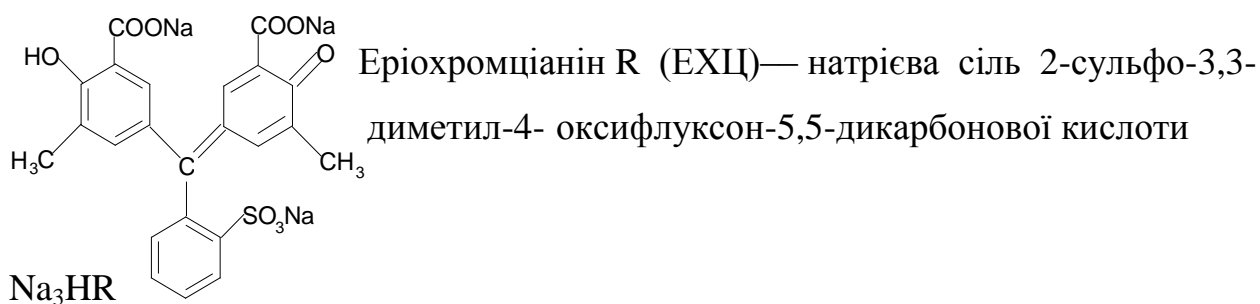
Приготовлені градувальні розчини переливають в конічні колби місткістю 100 мл із пришліфованими пробками. У розчини опускають по одній таблетці ППУ, скляною паличкою видаляють з таблеток повітря, закривають колби пробками і струшують 10 хв. Після сорбції таблетки виймають, віджимають між аркушами фільтрувального паперу й сушать на повітрі. Таблетки розташовують на аркуші білого паперу в порядку зростання концентрації Fe(III).

Визначення концентрації феруму(III) в контрольному розчині

У мірну колбу місткістю 25 мл вносять 10 мл досліджуваної води, 2.5 мл розчину тіоціанату калію, 2.5 мл розчину сірчаної кислоти й доводять дистильованою водою до мітки. Потім роблять ті ж операції, що й із градувальними розчинами.

Порівнюють колір контрольної таблетки ППУ зі шкалою й роблять висновок про вміст феруму(III) в досліджуваній воді.

4.2. Визначення алюмінію(III) з еріохромціаніном R, іммобілізованим в желатиновій плівці



В основі визначення лежить реакція комплексоутворення іонів Al^{3+} з ЕХЦ у желатиновій плівці при рН 5.5 у присутності катіонної поверхнево-активної речовини – цетилпіридиній хлориду (ЦПХ). В розчин для модифікування додають КПАР для запобігання вимивання аніонних форм з желатинової матриці реагенту та комплексу.

Мета роботи: одержати колірну шкалу на основі модифікованих желатинових плівок; визначити вміст алюмінію(III) у контрольному розчині.

Реактиви та обладнання:

розчин ЕХЦ, $1.5 \cdot 10^{-3}$ моль/л;

розчин алюмінію нітрату з точно відомою концентрацією;

розчин цетилпіридиній хлориду, 0.5 моль/л;

ацетатний буферний розчин з рН 5.5;

мірний посуд.

Методика приготування желатинових плівок з іммобілізованим ЕХЦ: В колбу місткістю 25 мл вносять 8.3 мл розчину ЕХЦ, 5 мл буферного розчину, 0.5 мл розчину ЦПХ, доводять до мітки дистильованою водою, перемішують. Розчин переливають у чашку Петрі занурюють на 25 хв 4-5 зразків желатинових плівок, виймають та висушують на повітрі, зберігають у темному місці. Висушені плівки мають оранжевий колір.

Методика тестування:

Приготування колірної шкали.

Готують градуювальні розчини з рН 5.5, що містять $1 \cdot 10^{-4}$ моль/л ЦПХ та іони Al^{3+} з концентрацією, моль/л:

0 $0.5 \cdot 10^{-5}$ $1.0 \cdot 10^{-5}$ $2.0 \cdot 10^{-5}$ $4.0 \cdot 10^{-5}$ $8.0 \cdot 10^{-5}$

Приготовлені розчини виливають в чашки Петрі; у них занурюють на 25 хв по два зразки плівок з ЕХЦ; плівки виймають із розчинів і висушують на повітрі. Плівки змінюють колір з оранжевого на синій різної інтенсивності. Сухі плівки розкладають на білому папері в порядку зростання вмісту алюмінію.

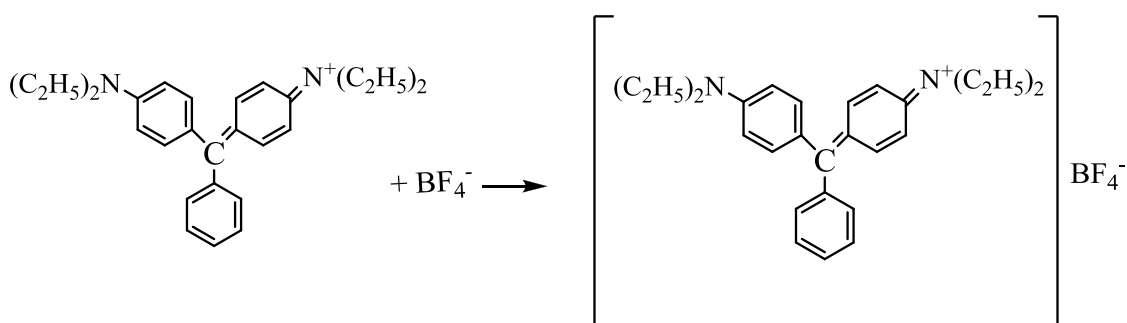
Визначення вмісту Al(III) в контрольному розчині

В мірну колбу місткістю 25 мл вносять 10 мл досліджуваного розчину, додають 5 мл буферного розчину, 2.5 мл розчину ЦПХ і доводять дистильованою водою до мітки. Готовий розчин виливають у чашку Петрі, в нього занурюють на 25 хв два зразки плівок з ЕХЦ. Плівки виймають і висушують. Забарвлення плівок порівнюють із забарвленням колірної шкали і роблять висновок про вміст алюмінію в контрольному розчині.

Якщо проба природної води містить багато органічних сполук і фторид-іони, її необхідно попередньо піддавати кислотному розкладанню з персульфатом амонію.

4.3. Визначення борат-іонів

Визначення борат-іону ґрунтується на переведенні його в тетрафторборат в кислому середовищі, утворенні асоціату BF_4^- з брильянтовим зеленим і екстракції асоціату в бензол. Взаємодія відбувається згідно рівнянь хімічних реакцій:



Мета роботи: ознайомитися з прийомами екстракційного концентрування та визначити концентрацію борат-іонів в контрольному розчині.

Реактиви та обладнання:

розчин з точною концентрацією борат-іону (~0.5 моль/л);

розчин брильянтового зеленого з масовою часткою 0.5%;

розчин сірчаної кислоти, 2 моль/л;

розчин натрію фториду, 1 моль/л;

бензол;

уротропін;

пробірки з пришліфованими пробками місткістю 30 мл;

мірний посуд.

Методика переведення борат-іонів у тетрафторборат

В колбу місткістю 25 мл вносять аліквоту розчину з точно відомою концентрацією борат-іону, 2.5 мл розчину сірчаної кислоти і доводять до мітки розчином фториду натрію. Отриманий розчин добре перемішують і залишають на 30 хв. При використанні даної методики не менш ніж 94% борат-іонів переходять у тетрафторборат.

Методика тестового визначення концентрації борат-іону в водах

Приготування градуювальних розчинів тетрафторборату

В мірні колбі місткістю 25 мл вносять необхідні аліквоти вихідного розчині тетрафторборату, що отримано з розчину борату, додають 1-2 краплі розчину брильянтового зеленого, нейтралізують кислоту розчином уротропіну до переходу жовтого забарвлення індикатору в блакитно-зелене, доводять розчин до мітки дистильованою водою, перемішують.

Значення концентрації тетрафторборат-іонів (що співпадає з молярною концентрацією борат-іонів) в градуювальних розчинах, моль/л:

0 $0.45 \cdot 10^{-5}$ $0.90 \cdot 10^{-5}$ $1.8 \cdot 10^{-5}$ $3.6 \cdot 10^{-5}$ $7.2 \cdot 10^{-5}$ $14.4 \cdot 10^{-5}$

Приготування колірної шкали

В пробірку з пришліфованою пробкою послідовно вносять 0.5 мл розчину брильянтового зеленого, 5 мл бензолу, 10 мл відповідного градуювального розчину тетрафторборату. Вміст пробірки перемішують протягом 1-2 хв. Після розділення шарів бензольний екстракт бірюзового кольору переносять в суху чисту пробірку. Пробірки з екстрактами розташовують в порядку зростання концентрації тетрафторборат-іону в розчині. Спостереження проводять на білому фоні при денному освітленні за умов розсіяного світла.

Визначення концентрації борат-іонів у контрольному розчині

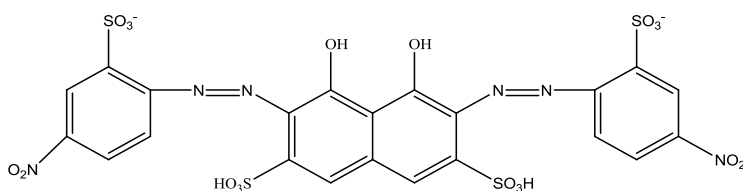
В мірну колбу місткістю 25 мл вносять 5 мл контрольного розчину, додають 2.5 мл розчину сірчаної кислоти та доводять до мітки розчином

фториду натрію (якщо вміст борат-іонів в контрольному розчині перевищує $1 \cdot 10^{-4}$ моль/л, контрольний розчин необхідно розвести). Потім роблять ті ж операції, що й із градувальними розчинами. Порівнюють інтенсивність забарвлення контрольного розчину з колірною шкалою й роблять висновок про вміст борат-іонів у пробі.

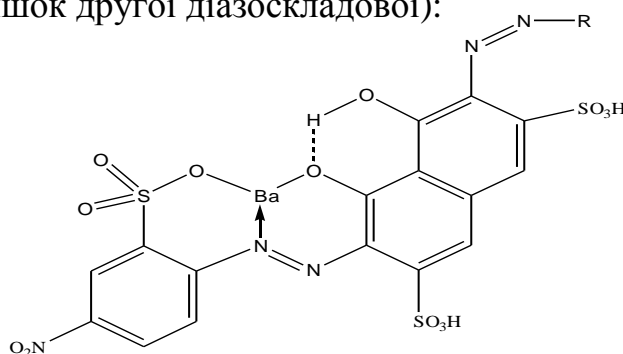
4.4. Непряме фотометричне визначення сульфат-іонів за реакцією іонів барію з нітхромазо, іммобілізованим у желатиновій плівці

Непряме фотометричне визначення SO_4^{2-} засновано на оцінюванні надлишку іонів барію, що залишаються у розчині після утворення сульфату барію, за реакцією з нітхромазо, іммобілізованим в желатиновій плівці.

Нітхромазо (біс-[2,7-(4-нітро-2-сульфо-1-азобензол)]-1,8-діоксинафталін-3,6-дисульфокислота):



Будову продукту взаємодії іонів барію з нітхромазо можна уявити наступним чином (R — залишок другої діазоскладової):



Мета роботи: ознайомитися з прийомами використання модифікованих желатинових плівок для фотометричного аналізу; визначити вміст сульфат-іонів у досліджуваному об'єкті.

Реактиви та обладнання:

розчин нітхромазо з масовою часткою 0.1%;

розчин хлороводневої кислоти, 0.1 моль/л;

розчин барію хлориду, $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л,

розчин натрію сульфату, 100 мг/л;

спирт етиловий;

желатинові плівки;

мірний посуд.

Методика іммобілізації нітхромазо у желатиновій плівці:

В мірну колбу місткістю 25 мл вносять 7.5 мл розчину HCl, 2.0 мл розчину нітхромазо, доводять до мітки водою і розчин перемішують. Отриманий розчин виливають в чашку Петрі та занурюють в нього на 30 хв 4 зразки безбарвної желатинової плівці розміром (3.5×2.5) см. Сині плівки виймають з розчину, промивають дистильованою водою і сушать на повітрі.

Методика аналізу:

Приготування модифікованих плівок з різним вмістом комплексу барію з нітхромазо

В мірні колби місткістю 25 мл вносять 7.5 мл розчину HCl, 1.3 мл етанолу, 6.0 мл розчину BaCl₂, необхідні об'єми розчину Na₂SO₄, розчини доводять водою до мітки, перемішують. Розчини витримують годину з моменту початку реакції, виливають в чашки Петрі, в них занурюють на 15 хв по два зразки желатинових плівок з іммобілізованим нітхромазо. Плівки дістають з розчинів, сушать на повітрі.

Концентрація сульфат-іонів в градуювальних розчинах:

0 1.0 2.0 3.0 4.0 5.0 6.0 7.0 8.0 9.0 мг/л

Отримання градуювальної характеристики

Плівки з утвореним комплексом барію з нітхромазо фотометрують відносно безбарвної желатинової плівки при $\lambda=660$ нм. Отримані значення поглинання ($A_{\text{BaR},i}$) віднімають від величини поглинання плівки з комплексом, яка відповідає холостому розчину ($A_{\text{BaR},\text{max}}$):

$$\Delta A_i = A_{\text{BaR, max}} - A_{\text{BaR, i}}$$

Будують градувальний графік в координатах ΔA_i — вміст SO_4^{2-} в градувальному розчині. Розраховують параметри градувальної залежності.

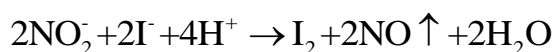
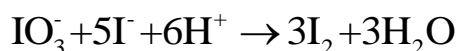
Визначення концентрації сульфат-іонів у контрольному зразку

В мірну колбу місткістю 25 мл вносять 7.5 мл розчину HCl , 1.3 мл етанолу, 6.0 мл розчину BaCl_2 , 10 мл контрольного розчину, доводять дистильованою водою до мітки, перемішують. Розчин витримують годину з моменту початку реакції, виливають в чашку Петрі та занурюють в нього на 15 хв два зразки желатинових плівок з іммобілізованим нітхромазо. Плівки дістають з розчинів, сушать на повітрі та фотометрують при довжині хвилі 660 нм. Обчислюють значення ΔA та за градувальним графіком або за рівнянням градувальної залежності розраховують вміст сульфат-іонів у контрольному розчині.

5. Тест-визначення, що засновані на окисно-відновлювальних реакціях

5.1. Визначення йодид-іонів

Визначення ґрунтується на окисненні йодид-іонів в кислому середовищі до молекулярного йоду, який сорбується на ППУ. У якості окисників можуть виступати йодат калію або нітрит натрію, що попередньо іммобілізовані на таблетках ППУ. Вибір реагенту залежить від співвідношення концентрацій бромід- та йодид-іонів у розчині: до п'ятиразового надлишку бромід-іонів можна використовувати у якості реагенту йодат калію, при більших надлишках – нітрит натрію. Взаємодія відбувається згідно рівнянь хімічних реакцій:



Мета роботи: ознайомитися з прийомами сорбційного концентрування; одержати колірну шкалу; визначити концентрацію йодид-іонів у контрольному розчині.

Реактиви та обладнання:

розчин йодату калію, 0.01 моль/л;
розчин нітриту натрію, 0.01 моль/л;
розчин сірчаної кислоти, 0.1 моль/л;
розчин йодиду калію, 0.01 моль/л;
очищені таблетки ППУ (див. лаб. роб. 2.1.);
мірний посуд;
магнітна мішалка.

Методика іммобілізації окисників на таблетках ППУ:

В конічну колбу місткістю 100-250 мл вносять 100 мл розчину йодату калію або нітриту натрію. В розчини занурюють 4 таблетки ППУ, видаляють з них повітря та струшують протягом 20 хв. Після сорбції таблетки виймають, віджимають між листами фільтрувального паперу та сушать на повітрі.

Методика тестування:

Приготування градуювальних розчинів

У мірні колби місткістю 50 мл вносять розрахований об'єм розчину йодиду калію, 5 мл сірчаної кислоти та доводять водою до мітки.

Значення концентрації йодид-іонів в розчинах для приготування колірної шкали:

0 $1 \cdot 10^{-5}$ $2 \cdot 10^{-5}$ $4 \cdot 10^{-5}$ $8 \cdot 10^{-5}$ $16 \cdot 10^{-5}$ моль/л

Приготування колірної шкали

Градуювальні розчини переливають до конічних колб, в розчини занурюють по 1 таблетці ППУ з іммобілізованим окисником, з таблеток видаляють повітря та перемішують 20 хв на магнітній мішалці. Жовті таблетки виймають, сушать між листами фільтрувального паперу і

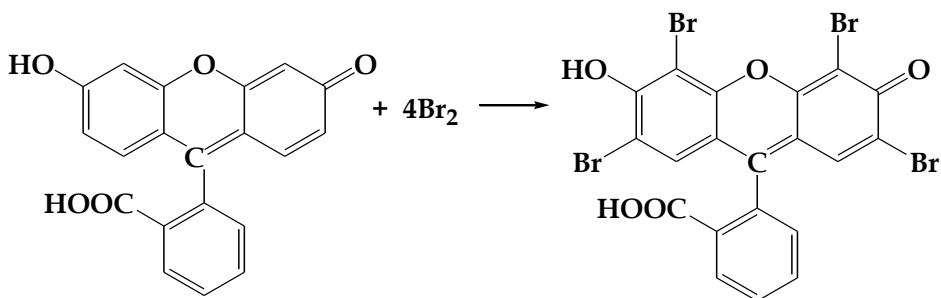
розташовують на аркуші білого паперу в порядку зростання концентрації йодид-іонів у розчині.

Визначення концентрації йодид-іонів в контрольному розчині

У мірну колбу місткістю 50 мл вносять 25 мл досліджуваної води, 5 мл сірчаної кислоти й доводять дистильованою водою до мітки. Потім роблять ті ж операції, що й із градувальними розчинами. Порівнюють колір контрольної таблетки ППУ зі шкалою й роблять висновок про вміст йодид-іонів у досліджуваній воді.

5.2. Визначення бромід-іонів

Тест-визначення бромід-іонів ґрунтується на окисненні бромід-іонів броматом калію з утворенням молекулярного броду, який вступає у взаємодію з індикатором флуоресцеїном з утворенням продукту рожевого кольору. Флуоресцеїн та бромат калію попередньо сорбують на ППУ. Взаємодія відбувається згідно хімічних рівнянь:



Мета роботи: ознайомитися з прийомами сорбційного концентрування; одержати колірну шкалу; визначити концентрацію бромід-іонів у контрольному розчині.

Реактиви та обладнання:

розчин бромату калію, 0.1 моль/л;
розчин сірчаної кислоти, 0.1 моль/л;
розчин бромиду калію, 0.01 моль/л;

розчин флуоресцеїну, $5 \cdot 10^{-3}$ моль/л;
очищені таблетки ППУ (див. лаб. роб. 2.1.);
мірний посуд;
магнітна мішалка.

Методика іммобілізації бромату калію та флуоресцеїну на ППУ:

Приготувати 100 мл розчину, що містить 0.001 моль/л бромату калію, $5 \cdot 10^{-5}$ моль/л флуоресцеїну та 0.01 моль/л сірчаної кислоти. Розчин переливають у конічну колбу, занурюють 4 таблетки ППУ, видаляють з них повітря та перемішують протягом 20 хв. Після сорбції таблетки виймають, віджимають між листами фільтрувального паперу та сушать на повітрі.

Методика тестування:

Приготування градуювальних розчинів

У мірні колби місткістю 50 мл вносять розрахований об'єм розчину броміду калію, 5 мл сірчаної кислоти та доводять водою до мітки.

Значення концентрації йодид-іонів у розчинах для приготування колірної шкали:

0 10 20 40 80 160 мг/л

Приготування колірної шкали:

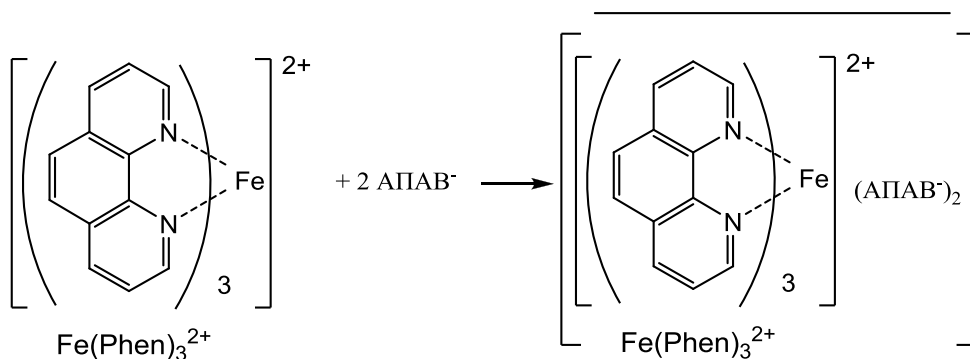
Градуювальні розчини переливають до конічних колб, в розчини занурюють по 2 таблетки модифікованого ППУ, з таблеток видаляють повітря та перемішують 20 хв на магнітній мішалці. Рожеві таблетки виймають, сушать між листами фільтрувального паперу і розташовують на аркуші білого паперу в порядку зростання концентрації бромід-іонів у розчині.

Визначення концентрації йодид іонів у контрольному розчині

У мірну колбу місткістю 50 мл вносять 25 мл досліджуваної води, 5 мл сірчаної кислоти й доводять дистильованою водою до мітки. Потім роблять ті ж операції, що й із градуювальними розчинами. Порівнюють колір контрольної таблетки ППУ зі шкалою й роблять висновок про вміст бромід-іонів у досліджуваній воді.

6. Визначення аніонної поверхнево-активної речовини (АПАВ) у вигляді асоціату з фенантроліном феруму(III), що сорбується на ППУ

В основі визначення лежить утворення у розчині іонного асоціату аніонної ПАВ (наприклад, додецилсульфату) з фенантроліном феруму(III) червоного кольору та сорбція асоціату на пінополіуретані.



Мета роботи: ознайомитися з прийомами сорбційного концентрування; одержати колірну шкалу; визначити концентрацію АПАВ у досліджуваному об'єкті.

Реактиви та обладнання:

розчин додецилсульфату натрію (ДСН) з відомою концентрацією;

розчин $[\text{Fe}(\text{Phen})_3]\text{Cl}_2$, $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л;

очищені таблетки ППУ;

механічний змішувач;

мірний посуд.

Методика тестування:

Приготування градувальних розчинів

У мірні колби місткістю 25 мл вносять необхідні аліквоти розчину додецилсульфату натрію, 5 мл розчину $[\text{Fe}(\text{Phen})_3]\text{Cl}_2$, доводять до мітки водою, перемішують.

Значення концентрації ДСН у розчинах для приготування колірної шкали:

0 $0.5 \cdot 10^{-5}$ $1 \cdot 10^{-5}$ $2 \cdot 10^{-5}$ $4 \cdot 10^{-5}$ $8 \cdot 10^{-5}$ моль/л

Приготування колірної шкали

Приготовлені градуювальні розчини переливають в конічні колби місткістю 100 мл з пришліфованими пробками. У розчини опускають по одній таблетці ППУ, скляною паличкою видаляють з таблеток повітря, закривають колби пробками та струшують 30 хв. Після сорбції таблетки виймають, віджимають між аркушами фільтрувального паперу й сушать на повітрі.

Визначення концентрації АПАР у контрольному розчині

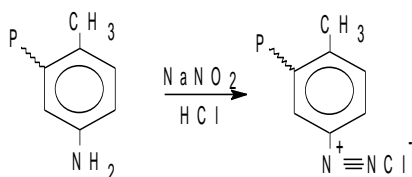
У мірну колбу місткістю 25 мл вносять 1 мл контрольного розчину, 5 мл розчину $[\text{Fe}(\text{Phen})_3]\text{Cl}_2$, доводять до мітки дистильованою водою і далі поступають, як із градуювальники розчинами.

Порівнюють колір контрольної таблетки ППУ зі шкалою й роблять висновок про вміст АПАР у контрольному розчині.

7. Тест-визначення нітрит- та нітрат-іонів

7.1. Хемосорбційне визначення нітрит-іонів

В основі визначення лежить хімічна взаємодія нітрит-іонів з кінцевими толуїдиновими групами пінополіуретану, в результаті якої ППУ набуває жовтого кольору:



Мета роботи: ознайомитись з прийомами хемосорбції на ППУ; одержати колірну шкалу; визначити концентрацію нітрит-іонів у контрольному розчині.

Реактиви та обладнання:

розчин нітриту натрію, свіжо приготований;

розчин хлороводневої кислоти, 1 моль/л та 5 моль/л;

таблетки ППУ;
механічний змішувач;
мірний посуд.

Методика очищення сорбенту: з листового пінополіуретану висотою 1 см пробивачем вирізають таблетки ППУ діаметром 16 мм. Таблетки витримують 15 хв у розчині 5 моль/л HCl, потім відмивають дистильованою водою до рН 4-5, промивають ацетоном і висушують на повітрі.

Методика тестування:

Приготування градуювальних розчинів

У мірні колби місткістю 25 мл вносять необхідний об'єм нітриту натрію, додають 2.5 мл розчину хлороводневої кислоти і доводять водою до мітки. Розчини добре перемішують.

Концентрації нітриту натрію в розчинах для приготування колірної шкали:

0 2.5 · 10⁻⁶ 5.0 · 10⁻⁶ 1.0 · 10⁻⁵ 2.0 · 10⁻⁵ 4.0 · 10⁻⁵ моль/л

Приготування колірної шкали

Приготовлені градуювальні розчини переливають в конічні колби місткістю 100 мл із пришліфованими пробками. У розчини опускають по 1 таблетці ППУ, видаляють повітря, закривають пробками і струшують 15 хв. Після струшування таблетки виймають, віджимають між аркушами фільтрувального паперу й сушать на повітрі.

Таблетки розташовують на аркуші білого паперу в порядку зростання концентрації нітрит-іонів.

Визначення концентрації нітрит-іонів у контрольному розчині

У мірну колбу місткістю 25 мл вносять 20 мл контрольного розчину, 2.5 мл розчину хлороводневої кислоти та доводять дистильованою водою до мітки. Потім здійснюють ті ж операції, що й з градуювальними розчинами.

Порівнюють колір контрольної таблетки ППУ зі шкалою й роблять висновок про вміст нітрит-іонів у пробі.

7.2. Визначення нітрат-іонів в овочах та фруктах з риванолом, іммобілізованим на папері

Сутність методу міститься у вилученні розчином алюмокалієвих галунів нітрат-іонів зі зразків, що аналізують, відновленні нітрату до нітриту за допомогою цинкового пилу та утворенні забарвленої сполуки нітри-іонів з риванолом (лактатом 2-етокси-6,9-діаміноакридину) в реагентній зоні індикаторного паперу.

Реактиви та обладнання:

розчин галунів алюмокалієвих з масовою часткою $KAl(SO_4)_2 \cdot 10H_2O$ 1% ;

розчин желатину з масовою часткою 1.5%;

розчин лимонної кислоти в ацетоні з масовою часткою 10%;

розчин калію нітрату, 1000 мг/л;

цинковий пил;

мангану(II) сульфат, х.ч.;

крохмаль водорозчинний;

риванол фармацевтичний;

посуд лабораторний;

ступка фарфорова;

тертка;

пензель шириною 8 мм;

папір білий щільністю 120 г/м².

Методика виготовлення індикаторного паперу

Приготування індикаторної суміші

В фарфоровій ступці змішують 1 г суміші цинкового пилу та мангану сульфату ($m_{Zn} : m_{солі} = 1 : 9$), 0.15 г риванолу та 5 г крохмалю. Суміш розтирають протягом 15 хв до повної гомогенізації та додають 10 мл розчину желатину, знов перемішують.

Виготовлення зразків індикаторного паперу

Виготовлену суспензію наносять пензлем на лист паперу у вигляді смуг шириною ~1 см через 5-6 см та сушать при температурі 40⁰С. Після повного висушування слою суспензії на ці ж смуги наносять розчин лимонної кислоти в ацетоні та сушать при кімнатній температурі.

Лист паперу з нанесеною індикаторною сумішшю нарізають на прямокутники розміром 5 см x 1 см таким чином, щоб індикаторна смуга знаходилась на краю вузької сторони прямокутника (див. рис. 1).

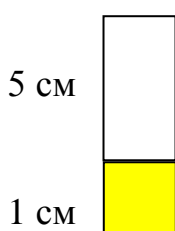


Рис. 1 Зразок індикаторного паперу

Методика підготування проб до аналізу

Овочі та фрукти миють, обтирають, розрізають на 4 частини та $\frac{1}{4}$ частину плода беруть для аналізу. У випадку зелених овочів (лук, салат, шпинат), овочі миють, обрізають та відкидають неїстівні частини.

Овочі труть на тертушці, ріжуть ножом або пропускають через сокодавильницю. Для аналізу відбирають 10 г отриманої маси або 10 мл соку.

До проби додають 25 мл розчину алюмокалієвих галунів та перемішують суміш на магнітній мішалці протягом 3 хв.

Методика тестування

Приготування колірної шкали

У мірні колби місткістю 25 мл вносять необхідний об'єм розчину нітрату калію і доводять до мітки розчином алюмокалієвих галунів. Розчини добре перемішують.

Концентрації нітрат-іонів у розчинах для приготування колірної шкали:

0 30 60 120 240 480, мг/л.

Розчини переливають у стакани місткістю 50 мл. Зразки індикаторного паперу викладають на білий аркуш та капіляром наносять на реакційну зону паперу по 2 мкл градуювальних розчинів. При цьому намагаються отримати плями правильної форми. Розвинення забарвлення спостерігають через 5 хв

після початку хімічної реакції, на жовтому фоні паперу з'являються червоні плями різної інтенсивності.

Тестування

Капіляром наносять 2 мкл розчину, що досліджують, та залишають на 5 хв. Порівнюють інтенсивність забарвлення плями з колірною шкалою та роблять висновок про масову концентрацію нітрат-іонів у розчині (мг/л).

Розраховують вміст нітратів в досліджуваному зразку (мг/кг), для цього помножують концентрацію, що було знайдено з використанням колірної шкали, на коефіцієнт 2.5:

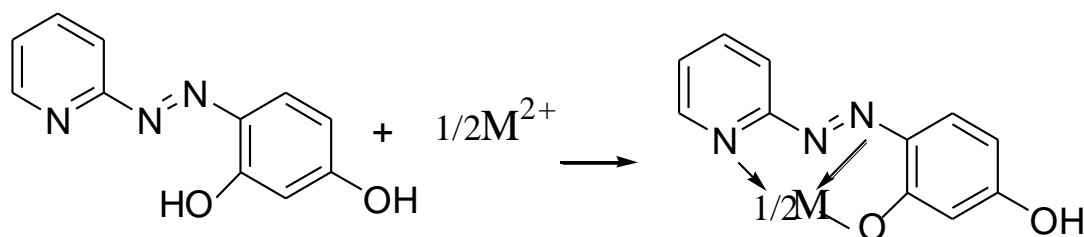
$$c(\text{NO}_3^-), \text{ мг/кг} = 2.5 \cdot c(\text{NO}_3^-), \text{ мг/л.}$$

Значення, що знайдено, порівнюють з нормативом ГДК (мг/кг) для даного виду рослинної продукції.

8. Визначення сумарного вмісту важких металів

8.1. Визначення суми важких металів (кобальту(II), кадмію(II), купруму(II), цинку(II), ніколу(II), плюмбуму(II)) з 4-(2-піридилазо)-резорцином, іммобілізованим в желатиновій плівці

В основі визначення лежить реакція комплексоутворення металів (кобальту(II), кадмію(II), купруму(II), цинку(II), ніколу(II), плюмбуму(II)) з 4-(2-піридилазо)-резорцином (ПАР), який іммобілізовано у желатиновій плівці. Реакцію взаємодії іонів металів та ПАР можна представити у вигляді:



Мета роботи: ознайомитися з прийомами модифікування желатинових плівок; одержати колірну шкалу; визначити суму важких металів у контрольному розчині.

Реактиви та обладнання:

водний розчин ПАР, 0.05 моль/л;

розчин з точно відомою сумарною молярною концентрацією іонів металів (в розчині всі шість іонів металів мають рівні молярні концентрації);

буферний розчин з рН 5;

желатинові плівки;

мірний посуд.

Методика модифікування желатинових плівок:

У мірній колбі місткістю 25 мл готують розчин реагенту ПАР з концентрацією 0.001 моль/л. Розчин виливають в чашку Петрі і занурюють в неї на 45 хв 4-5 зразків желатинових плівок розміром 2.5×3.5 см. Жовті плівки виймають із розчинів і висушують на повітрі.

Методика тестування:

Приготування колірної шкали:

В мірні колби місткістю 25 мл вносять необхідний об'єм розчину суми металів, 5 мл буферного розчину та доводять до мітки дистильованою водою.

Значення сумарної концентрації металів в розчинах для створення колірної шкали:

$1 \cdot 10^{-5}$ $2.0 \cdot 10^{-5}$ $4.0 \cdot 10^{-5}$ $8 \cdot 10^{-5}$ $1.6 \cdot 10^{-4}$ $3.2 \cdot 10^{-4}$ моль/л

Приготовлені розчини виливають у чашки Петрі, у них занурюють на 15 хв плівки з іммобілізованим реагентом. Червоні плівки виймають із розчинів і висушують на повітрі. Сухі плівки розкладають на білому папері в порядку зростання сумарної концентрації іонів металів.

Визначення сумарного вмісту іонів важких металів у контрольному розчині

У мірну колбу місткістю 25 мл вносять 5 мл буферного розчину і доводять до мітки водою, що аналізують. Розчин виливають у чашку Петрі, занурюють на 20 хв плівку з реагентом. Забарвлення контрольної плівки порівнюють з приготовленою колірною шкалою порівняння і роблять висновок про сумарний вміст металів.

8.2. Визначення сумарного вмісту металів (кобальту(II), кадмію(II), купруму(II), цинку(II), ніколу(II), плюмбуму(II)) з 4-(2-піридилазо)-резорцином в розчинах

Визначення ґрунтується на утворенні у розчині комплексів червоного кольору іонів Co^{2+} , Cd^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} з ПАР при рН 5.

Мета роботи: ознайомитися з прийомами приготування колірної шкали на основі реагентних розчинів, приготувати колірну шкалу для визначення суми важких металів (кобальту(II), кадмію(II), купруму(II), цинку(II), ніколу(II), плюмбуму(II)) з ПАР.

Реактиви та обладнання:

розчин ПАР, 0.001 моль/л;

розчин з точно відомою сумарною молярною концентрацією іонів металів (в розчині всі шість іонів металів мають рівні молярні концентрації);

буферний розчин із рН 5;

набір пробірок;

мірний посуд.

Методика тестування:

Приготування градуювальних розчинів:

У колби місткістю 25 мл вносять 2.5 мл розчину ПАР, 5 мл буферного розчину і необхідний об'єм розчину суми металів, доводять до мітки дистильованою водою й перемішують.

Значення концентрації суми металів в розчинах для створення колірної шкали:

$0.125 \cdot 10^{-4}$ $0.25 \cdot 10^{-4}$ $0.5 \cdot 10^{-4}$ $1 \cdot 10^{-4}$ $2 \cdot 10^{-4}$ $4 \cdot 10^{-4}$ моль/л

Готові розчини переливають у пробірки. Пробірки розташовують у порядку збільшення концентрації іонів металів у розчині.

Визначення сумарної концентрації іонів важких металів у контрольній пробі:

У колбу місткістю 25 мл вносять 2.5 мл розчину ПАР, 5 мл буферного розчину, доводять до мітки водою, що аналізують, та перемішують. Готовий розчин переливають у пробірку, порівнюють його забарвлення зі шкалою та роблять висновок про вміст іонів металів у пробі. Спостереження проводять при денному розсіяному освітленні.

8.3. Визначення сумарного вмісту металів (кобальту(II), кадмію(II), купруму(II), цинку(II), ніколу(II), плюмбуму(II)) з 4-(2-піридилазо)-резорцином, іммобілізованим на порошкоподібній метилкремнієвій кислоті (МКК)

В основі визначення лежить реакція взаємодії іонів металів з ПАР, іммобілізованим на сорбенті в присутності неіоногенної ПАР Тритон Х-100, яку додають для поліпшення змочування поверхні сорбенту.

Мета роботи: ознайомитися з прийомами роботи з порошкоподібним сорбентом; одержати колірну шкалу для визначення суми важких металів з ПАР; визначити сумарний вміст іонів у контрольному розчині.

Реактиви та обладнання:

розчин ПАР, 0.05 моль/л;

розчин з точно відомою сумарною молярною концентрацією іонів металів (в розчині всі шість іонів металів мають рівні молярні концентрації);

ацетатний буферний розчин, рН 5;

розчин Тритону Х-100 (ТХ-100), 0.05 моль/л;

порошок МКК;

магнітна мішалка;

мірний посуд.

Методика приготування сорбенту:

В мірній колбі місткістю 25 мл готують розчин, що містить $5 \cdot 10^{-5}$ моль/л ПАР і 0.05 моль/л ТХ-100. Розчин переливають в стакан місткістю 50 мл, в нього всипають 1 г сорбенту і перемішують 15 хв на магнітній

мішалці. Суспензію фільтрують, порошок жовтого кольору висушують при 40°C і зберігають в темному місці.

Методика тестування:

Приготування колірної шкали:

У мірні колби місткістю 25 мл вносять необхідний об'єм розчину суми металів, 5 мл розчину ТХ-100, 5 мл буферного розчину і доводять водою до мітки.

Значення концентрації суми металів у розчині для створення колірної шкали:

$0.25 \cdot 10^{-4}$ $0.5 \cdot 10^{-4}$ $1 \cdot 10^{-4}$ $2 \cdot 10^{-4}$ $4 \cdot 10^{-4}$ $8 \cdot 10^{-4}$ моль/л

На порції модифікованого сорбенту масою (0.10-0.15) г, які розміщені в блістерних комірках, наносять по 1 краплі (0.03 мл) градувальних розчинів та через 10 хв спостерігають стійке червоне забарвлення різної інтенсивності.

Визначення сумарної концентрації іонів важких металів у контрольному розчині:

У колбу місткістю 25 мл вносять 5 мл буферного розчину, доводять до мітки водою, що аналізують, та перемішують. На порцію підготовленого сорбенту масою (0.10-0.15) г наносять 1 краплю (0.03 мл) контрольного розчину та через 10 хв порівнюють його забарвлення з колірною шкалою, роблять висновок про вміст іонів металів у пробі.

8.4. Визначення сумарного вмісту металів (кобальту(II), кадмію(II), купруму(II), цинку(II), ніколу(II), плюмбуму(II)) з 1-(2-піридилазо)-2-нафтолом (ПАН), іммобілізованим на папері

Визначення ґрунтується на утворенні в лужному середовищі комплексів червоного кольору іонів металів з 1-(2-піридилазо)-2-нафтолом, іммобілізованим на папері.

Мета роботи: ознайомитися з прийомами іммобілізації реагентів на папері; одержати колірну шкалу; визначити сумарну концентрацію іонів металів у контрольному розчині.

Реактиви та обладнання:

розчин натрію тетраборату, 0.08 моль/л;

розчин 1-(2-піридилазо)-2-нафтола в ацетоні з масовою часткою 0.01%;

розчин з точно відомою сумарною молярною концентрацією іонів металів (в розчині всі шість іонів металів мають рівні молярні концентрації);

фільтрувальний папір «синя стрічка»;

мірний посуд.

Методику отримання модифікованого паперу жовтого кольору див. у лаб. роб. 2.5.

Методика тестування:

Приготування колірної шкали:

У мірних колбах місткістю 25 мл готують розчини, що містять сумарну концентрацію іони металів:

$1 \cdot 10^{-6}$ $2 \cdot 10^{-6}$ $4 \cdot 10^{-6}$ $8 \cdot 10^{-6}$ $16 \cdot 10^{-6}$ $32 \cdot 10^{-6}$ моль/л

Готові розчини виливають у чашки Петрі та занурюють у них на 15 хв зразки модифікованого паперу. За допомогою пінцету смужки паперу червоно-фіолетового кольору різної інтенсивності виймають із розчинів і висушують на повітрі.

Визначення сумарного вмісту іонів металів в контрольному розчині:

Воду, що аналізують, виливають у чашку Петрі, занурюють туди модифікований папір на 15 хв. За допомогою пінцету, смужку витягують із розчину і висушують на повітрі. Потім порівнюють інтенсивність забарвлення контрольного зразку зі шкалою та роблять висновок щодо вмісту іонів металів у пробі.

9. Оцінювання метрологічних характеристик методик візуального аналізу

9.1. Оцінювання межі визначення (c_{lim}) кобальту у вигляді тіоціанатних комплексів, що сорбовані на пінополіуретані

Для оцінювання межі визначення (c_{lim}) за допомогою колірної шкали необхідно експериментально знайти стандартне відхилення визначення аналіту з концентрацією, що близька до c_{lim} (s_c). Потроєне значення стандартного відхилення ($3s_c$) приймають за остаточну оцінку (див. п. 7.2 першого розділу).

Мета роботи: оцінити значення c_{lim} для тест-визначення кобальту(II) у вигляді тіоціанатних комплексів, що сорбовані на пінополіуретані.

Реактиви та обладнання:

розчин кобальту нітрату, 0.01 моль/л;

розчин сірчаної кислоти, 0.2 моль/л;

розчин KSCN, 5 моль/л;

розчин натрію фториду, 1 моль/л;

мірний посуд;

механічний змішувач.

Методика оцінювання межі визначення:

За орієнтовне значення c_{lim} приймають значення концентрації кобальту(II) $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л. Готують розчини нітрату кобальту для створення колірної шкали: $1 \cdot 10^{-5}$, $2 \cdot 10^{-5}$, $4 \cdot 10^{-5}$ моль/л; та приготування контрольного тест-зразку — $2.5 \cdot 10^{-5}$ або $1.7 \cdot 10^{-5}$ моль/л.

За допомогою 15-17 спостерігачів оцінюють вміст Co^{2+} в контрольному розчині з використанням колірної шкали (методики приготування тест-зразків на основі ППУ та тестування див. у лаб. роб. 2.3).

Приготування колірної шкали, контрольного тест-зразку та проведення тестування повторюють ще два рази. При цьому отримують 50 результатів визначень. Розраховують стандартне відхилення та значення межі

визначення за формулами (7.2), (7.3) і заповнюють підсумкову таблицю (см. табл. 7.2).

9.2. Перевірка адитивності сигналу політесту для визначення суми іонів металів Co^{2+} , Fe^{3+} , Cu^{2+} та Ni^{2+} з нітрито-*R*-сіллю, іммобілізований в желатиновій плівці

Методом спектрофотометрії попередньо доведено адитивність сигналу політесту, значення A_{Σ} та $\Sigma A_i/4$ співпали у межах похибки вимірювання, тобто світлопоглинання суми комплексів чотирьох іонів металів з НРС, які одночасно були іммобілізовані у желатиновій плівці, дорівнює сумі світлопоглинань індивідуально іммобілізованих комплексів. При цьому було виконано умову: молярна концентрація кожного металу в їх сумі дорівнювала концентрації металу в індивідуальному розчині (див. п. 7.4 першого розділу).

Мета роботи: перевірити адитивність сигналу політесту візуальним методом на основі експериментальних значень межі визначення кожного іону металу ($c_{\text{lim},i}$) та їх суми ($c_{\text{lim},\Sigma}$).

Реактиви та обладнання:

розчин нітрито-*R*-солі, 0.015 моль/л;

розчин хлороводневої кислоти, 0.1 моль/л;

розчин кобальту нітрату, 0.001 моль/л;

розчин ніколу нітрату, 0.001 моль/л;

розчин феруму(III) нітрату, 0.001 моль/л;

розчин купрум(II) нітрату, 0.001 моль/л;

розчин з точно відомою сумарною молярною концентрацією іонів металів (в розчині всі чотири іони металів мають рівні молярні концентрації);

желатинові плівки;

мірний посуд.

Методики іммобілізації реагенту і комплексів у желатиновій плівці див. лаб. роб. 2.4.

Методика визначення адитивності сигналу політесту:

Приготування градуювальник розчинів для створення колірних шкал та контрольних зразків

Для створення п'яти колірних шкал та контрольних зразків готують градуювальні розчини, що містять іони Co^{2+} , Fe^{3+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} або їх суму із заданою концентрацією (табл. 1) та рН 2. Для цього в мірні колби місткістю 25 мл вносять необхідні об'єми розчинів металів, 2.5 мл розчину HCl і доводять розчини до мітки дистильованою водою.

Таблиця 1 Значення концентрації іонів металів в розчинах для приготування колірної шкали та контрольного зразку

Іон металу	$c(\text{M}^{2+})$, моль/л в градуювальних розчинах			$c(\text{M}^{2+})$, моль/л в контрольному зразку
Co^{2+}	0	$4 \cdot 10^{-6}$	$8 \cdot 10^{-6}$	$5 \cdot 10^{-6}$
Fe^{3+}	0	$6 \cdot 10^{-6}$	$12 \cdot 10^{-6}$	$8 \cdot 10^{-6}$
Cu^{2+}	0	$5 \cdot 10^{-6}$	$10 \cdot 10^{-6}$	$7 \cdot 10^{-6}$
Ni^{2+}	0	$7 \cdot 10^{-6}$	$14 \cdot 10^{-6}$	$9 \cdot 10^{-6}$
Σ	0	$6 \cdot 10^{-6}$	$12 \cdot 10^{-6}$	$8 \cdot 10^{-6}$

Приготування колірних шкал та контрольних зразків

Приготовлені розчини виливають у чашки Петрі; у них занурюють на 30 хв по одному зразку желатинової плівки з іммобілізованою НРС; плівки виймають із розчинів і висушують на повітрі.

Оцінка межі визначення іонів металів

Оцінюють значення межі визначення кожного іону металу та їх суми згідно методики, що описано у лаб. роб. 9.1, та розраховують величину $4/[\Sigma(1/c_{\text{lim},i})]$.

Перевірка адитивності сигналу політесту

Проводять перевірку адитивності сигналу політесту, порівнюючи розраховані значення $c_{lim,\Sigma}$ та $4/[\Sigma(1/c_{lim,i})]$. Якщо вони різняться менш ніж на 20%, сигнал є адитивним.

Література

1. Золотов Ю.А. Химические тест-методы анализа / Золотов Ю.А., Иванов В.М., Амелин В.Г. – М.: Едиториал УРСС, 2002. – 304 с.
2. Швидкі аналітичні тести в хімічних дослідженнях доквілля / [Г. Шредер, А. Ніколаєвський, В. Рибаченко, Л. Опейда]. – Донецьк, 2001. – 161 с.
3. Вода. Индикаторные системы / [В.М. Островская, О.А. Запорожец, Г.К. Будников, Н.М. Чернавская]. – М.: ФГУП ВТИИ, 2002. – 266 с.
4. Комарь Н.П. Основы качественного химического анализа / Н.П. Комарь – Харьков: Изд-во ХГУ, 1955. – 447 с.
5. Сорбционное концентрирование микрокомпонентов из растворов: применение в неорганическом анализе / [Золотов Ю.А., Цизин Г.И., Дмитриенко С.Г., Моросанова Е.И.]. — М.: Наука, 2007. — 320 с.
6. Дмитриенко С.Г. Пенополиуретаны: сорбционные свойства и применение в химическом анализе / С.Г. Дмитриенко, В.В. Апяри. — М.: КРАСАНД, 2010. — 264 с.
7. Кириллов Е.А. Цветоведение / А.Е. Кириллов. – Москва: Легпромбытиздат, 1987. – 128с.
8. Применение сканера и компьютерных программ цифровой обработки изображений для количественного определения сорбированных веществ / Шишкин Ю.Л., Дмитриенко С.Г., Медведева О.М. [и др.]. // Журн. аналит. химии. – 2004. – Т.59, №2. – С. 119-124.
9. Иванов В.М. Химическая цветометрия: возможности метода, области применения и перспективы / В.М. Иванов, О.В. Кузнецова // Успехи химии. – 2001. – Т. 70, №5. – С. 411-428.
10. Метрологические характеристики методик обнаружения с бинарным откликом: монография / [Ю.В. Холин, Н.А. Никитина, А.В. Пантелеймонов и др.]. — Х.: Тимченко, 2008 — 128 с.
11. Экспресс-тест для определения кобальта в воде / Р.П. Панталер, А.К. Тимченко, Л.И. Авраменко, А.Б. Бланк // Журн. аналит. химии. – 1998. – Т. 53, № 5. – С. 529-532.

12. Амелин В.Г. Тест-метод определения суммарных показателей качества вод с использованием индикаторных бумаг / В.Г. Амелин // Журн. аналит. химии. – 2000. – Т.55, № 5. – С. 532-538.
13. Иммуноферментный анализ / [Под ред. Т.Т. Нго, Г. Ленхоффа]. – М.: Мир, 1988. – 444 с.
14. Мильман Б.Л. Неопределенность результатов качественного химического анализа. Общие положения и бинарные тест-методы / Б.Л. Мильман, Л.А. Конопелько // Журн. аналит. химии. – 2004. – Т. 59, № 12. – С. 1244-1258.
15. Бланк А.Б. Метрологические аспекты аналитического контроля состава материалов / А.Б. Бланк // Журн. аналит. химии. – 1997. – Т. 52, № 7. – С. 800-807.
16. Дмитренко С.Г. Пенополиуретаны в химическом анализе: сорбция различных веществ и ее аналитическое применение / С.Г. Дмитренко, Ю.А. Золотов // Успехи химии.– 2002. – Т. 71, № 2. – С. 180-197.
17. Холин Ю.В. Количественный физико-химический анализ комплексообразования в растворах и на поверхности химически модифицированных кремнеземов: содержательные модели, математические методы и их приложения / Ю.В. Холин. – Харьков: Фолио, 2000.– 288 с.
18. Золотов Ю.А. Метрология качественного анализа / Ю.А. Золотов // Журн. аналит. химии. – 2002. – Т. 57, № 7. – С. 677.
19. Унифицированные методы исследования качества вод. Тестовые методы анализа вод / [Под ред. Кравченко М.С., Осыки В.Ф.]. – М.: Постоянная комиссия СЭВ по сотрудничеству в области охраны окружающей среды, 1990. – 120 с.
20. Большев Л.Н. Таблицы математической статистики / Л.Н. Большев, Н.В. Смирнов. – М.: Наука, 1983. – 136 с.
21. Дерфель К. Статистика в аналитической химии / К. Дерфель. — М.: Мир, 1994. — 268 с.

22. О достоверной оценке метрологических характеристик тестового анализа / Е.А. Решетняк, Н.А. Никитина, Ю.В. Холин [и др.]. // Вестник Харьковского национального университета. –2003. – № 596. Химия. Вып. №. 10(33). – С. 90 –98.
23. Тест-метод определения суммы металлов индикаторной бумагой и его метрологические характеристики / Островская В.М., Решетняк Е.А., Никитина Н.А., Пантелеймонов А.В., Холин Ю.В. // Журн. аналит. химии. – 2004. – Т. 59, № 10. – С. 1101-1108.
24. Предел обнаружения в тестовом анализе. Влияющие факторы / Решетняк Е.А., Никитина Н.А., Логинова Л.П., Островская В.М. //Журн. аналит. химии. – 2005. – Т.60, № 10. – С.1102-1109.
25. Протолитические и комплексообразующие свойства индикаторов в среде желатинового геля / Е.А. Решетняк, Н.А. Никитина, Л.П. Логинова [и др.]. // Вестник Харьковского национального университета. – 2005. – № 669. Химия. Вып. №. 13(36). – С. 67 –82.
26. Никитина Н.А. Тест-методы химического анализа с визуальной индикацией: метрологическое обеспечение, новые тест-системы: дис... канд. хим. наук: 02.00.02 / Никитина Наталия Александровна. – Харьков, 2006. – 140 с.
27. Определение алюминия в природных водах тест-полосами на основе алюминона / Островская В.М., Решетняк Е.А., Немец Н.Н., Шевченко В.Н. // Методы и объекты химического анализа. – 2009. – Т.4, №1. – С. 85-91.
28. Дмитренко С.Г. Сорбционно-фотометрические и тест-методы анализа с применением пенополиуретанов / С.Г. Дмитриенко. – М.: МГУ, 2003. – 30 с.
29. Контроль объекта аналитический. Термины и определения: ГОСТ Р 52361-2005. – [Введен 2006-01-01]. – М.: Стандартиформ, 2005. – 50 с. – (Национальный стандарт Российской Федерации).

30. Создание образца сравнения для визуального бинарного тестирования железа(III) в подземных водах / Е.А. Решетняк, Н.Н. Немец, А.В. Пантелеймонов [и др.]. // Вестник Харьковского национального университета. – 2008. – № 820. Химия. Вып. №. 16(39). – С. 146–154.
31. Михайлов О.В. Желатин-иммобилизованные металлокомплексы / О.В. Михайлов. – М.: Научный Мир, 2004. – 236 с.
32. Оптические химические сенсоры (микро- и наносистемы) для анализа жидкостей / Савин С.Б., Кузнецов В.В., Шереметьев С.В., Михайлова А.В. // Рос. хим. журн. – 2008. – Т. 52, №2. – С. 7-16.
33. Джеймс Т. Теория фотографического процесса / Т. Джеймс. – Ленинград: Химия, 1980. – 672 с.
34. Кузнецов В.В. Аналитические реакции комплексообразования органических реагентов с ионами металлов в отвержденном желатиновом геле / В.В. Кузнецов, С.В. Шереметьев // Журн. аналит. химии. – 2009. – Т. 64, №9 – С. 910-919.
35. Коновалова О.Ю. Особенности протекания индикаторной реакции на первичные ароматические амины в желатиновой пленке / О.Ю. Коновалова, Л.П. Логинова // Методы и объекты хим. анализа. – 2008. – Т. 3, №2. – С. 147-156.
36. Оптический сенсор на основе отвержденного желатинового геля для фотометрического определения сульфатов в водных средах / Решетняк Е.А., Асмолов В.Е., Немец Н.Н., Никитина Н.А. // Вестн. Харьк. нац. ун-та. Химия. – 2010. – Вып. 18(41), № 895. – С. 74-81.