

УДК 543.061+311.21

ВЛИЯНИЕ МАТЕРИАЛА НОСИТЕЛЯ НА ПРЕДЕЛ ОБНАРУЖЕНИЯ ПРИ ВИЗУАЛЬНОМ ТЕСТИРОВАНИИ

© 2007 Е.А. Решетняк, Н.А. Никитина, В.Э. Кармазина

Предложено пять тест-систем для визуального обнаружения суммы шести ионов тяжелых металлов (Cd^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+}) с 4-(2-пиридилazo)-резорцином (ПАР) в растворе и иммобилизованным в желатиновой пленке, на пенополиуретане, метилкремниевой кислоте. Изучены условия получения тест-средств и проведения тест-испытаний. Определены границы области ненадежной реакции (НР), ее относительная ширина, статистическим методом получены оценки предела обнаружения. Подтверждено, что на вид зависимости частот обнаружения от суммарной концентрации металлов в области НР большее влияние оказывает тип реакции, чем материал носителя. Оптимальным материалом для тест-обнаружения суммы металлов с ПАР признан пенополиуретан.

Для проведения экспресс-контроля в лаборатории или непосредственно на месте отбора пробы потребитель выбирает методику анализа по таким общепринятым характеристикам как: диапазон определяемых концентраций, предел обнаружения, погрешность и селективность определения, длительность анализа, доступность и др. Вопросам метрологии качественного и полуквантитативного визуального тестового анализа посвящен ряд работ [1-11]. На сегодняшний день, к сожалению, не существует единого подхода как к оценке метрологических характеристик методик тестового анализа, так и к терминологии. Авторы работы [3] считают большим недостатком отсутствие международного словаря терминов качественного анализа. Из-за этого возникает неоднозначное толкование понятий и характеристик метода. В документах международных организаций, посвященных качественному анализу, предлагается оценивать разные наборы параметров при валидации (проверке правильности) методик. Так, согласно EURACHEM, необходимо оценивать чувствительность, воспроизводимость, селективность / специфичность методик и учитывать форму идентификации [2]; согласно документам организации Association of Analytical Chemists – чувствительность, специфичность, показатели ложных положительных и ложных отрицательных результатов; Commission of European Communities – предел обнаружения, селективность / специфичность, устойчивость / стабильность методики [4]; European Cooperation for Accreditation of Laboratories – неопределенность [3]. В монографии [12] перечисляются только общие требования к тест-системам и тест-средствам.

В предыдущих публикациях [9-11] нами с соавторами сформулированы алгоритмы экспериментальной оценки нижней границы определяемых концентраций и предела обнаружения (C_{min}) для визуальных тест-систем; предложено характеризовать качество тест-системы значением относительной ширины области ненадежной реакции (отношением разности верхней и нижней границ к значению нижней границы концентраций области ненадежной реакции); установлено, что метрологические характеристики тест-систем зависят от числа наблюдений, от типа материала носителя и аналитической реакции, от условий наблюдения окраски. Эти заключения были сделаны при изучении двенадцати тест-систем с визуальной индикацией на основе реагентных индикаторных бумаг РИБ-Тест, пенополиуретана (ППУ), желатиновой пленки, порошкообразной метилкремниевой кислоты (МКК) и реагентных растворов. В качестве тест-реакций были использованы реакции комплексообразования ионов металлов с неорганическими и органическими лигандами [кобальт(II) с тиоцианатом на ППУ, РИБ-Cd-Тест, РИБ-Fe(II)-Тест, РИБ-Металл-Тест-II]; реакции образования ассоциатов (2,4-дихлорфеноксиуксусная кислоты с бутилпроламином на ППУ) и двойных солей [РИБ-Fe(III)-Тест]; хемосорбция [кобальт(II) на ППУ]; азосочетание (РИБ-Нитрит-Тест) и окислительно-восстановительная реакция [кобальт(II) с 2-нитрозо-1-нафтолом].

Наиболее узкая область ненадежной реакции (НР) характеризовала тест-системы для обнаружения и определения суммы тяжелых металлов на основе РИБ-Металл-Тест II в режиме концентрирования и кобальта(II) с 2-нитрозо-1-нафтолом на основе ППУ. Наиболее широкая область НР характеризовала тест-системы для обнаружения и определения NO_2^- реагентной бумагой и 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты с бутилпроламином на основе ППУ. Предварительное 1000-кратное концентрирование пробы с использованием устройства В.М. Островской [10]

приводило не только к соответствующему снижению значения предела обнаружения, но и к четырехкратному уменьшению относительной ширины области НР.

Величина относительной ширины области ненадежной реакции, характеризующая устойчивость тест-системы к внешним воздействиям [13], позволила сделать априорную оценку необходимого количества наблюдений для вычисления предела обнаружения [11]. Мы убедились, что для тест-систем с узкой областью НР (относительная ширина < 1) достаточно 50 наблюдений для выбора вида функциональной зависимости частот обнаружения в области ненадежной реакции и, как правило, для оценки значения c_{\min} .

На примере реакции обнаружения кобальта(II) с 2-нитрозо-1-нафтолом было установлено, что характеристики тест-систем зависят от типа материала носителя: значения c_{\min} для Co(II) убывали в ряду носителей: МКК > реагентная бумага > раствор > ППУ. Предел обнаружения аналита зависел и от типа реакции. Так, значение c_{\min} кобальта(II) с тиоцианатом на ППУ оказался почти в два раза ниже, чем с 2-нитрозо-1-нафтолом с использованием того же носителя.

Вид функциональной зависимости частот обнаружения в области ненадежной реакции в большей степени определялся типом реакции, чем материалом носителя: частоты обнаружения Co(II) с 2-нитрозо-1-нафтолом на разных носителях описала одна и та же функция распределения Вейбулла.

В данной работе перечисленные положения проверены еще на одной тест-реакции – взаимодействии шести ионов тяжелых металлов (Cd^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+}) с 4-(2-пиридилазо)-резорцином (ПАР) в растворе, в желатиновой пленке, на пенополиуретане и метилкремниевой кислоте.

Экспериментальная часть

Реактивы. В работе использовали: 4-(2-пиридилазо)-резорцин (г. Шостка), додецилсульфат натрия (NaDS) с массовой долей основного вещества 99% и Тритон X-100 производства фирмы Sigma, триоктиламин (Fluka).

Концентрацию металлов в исходных растворах устанавливали методами комплексонометрического и окислительно-восстановительного (медь (II)) титрования [14, 15]. Раствор трилона Б стандартизовали по навескам металлического висмута [15]. Все растворы готовили на бидистиллированной воде. Постоянное значение pH 5 в исследуемых растворах поддерживали добавками ацетатного буфера. Раствор Тритона X-100 готовили весовым методом. Триоктиламин применяли в виде ацетонового раствора с массовой долей 5%.

Сорбенты. Пенополиуретан марки ТУ 6-305-1-87 применяли в виде таблеток массой 0.03 - 0.05 г, диаметром 16 мм, высотой 5 - 10 мм. Таблетки промывали раствором 0.1 моль/л H_2SO_4 , водой до pH 5-6, ацетоном, отжимали между листами фильтровальной бумаги и высушивали на воздухе.

Фармацевтический препарат «ЭНТЕРОСГЕЛЬ» с массовой долей метилкремниевой кислоты 70% производства ЗАО «КРЕОМА-ФАРМ» (г. Киев) высушивали при $150^{\circ}C$ до постоянной массы.

Фотографическая пленка для офсетной печати фирмы AGFA с толщиной желатинового слоя ~20 мкм [16], из которой предварительно полностью удаляли галогениды серебра. Образцы пленок были бесцветными и прозрачными.

Оборудование. В спектрофотометрических исследованиях использовали фотоколориметр КФК-3. Поглощение рабочих растворов/пленок измеряли против раствора/пленки сравнения, содержащих все компоненты, кроме определяемого. Диффузное отражение непрозрачных сред измеряли на приборе «SPECOL 10» (Karl Zeiss, Jena). Максимум поглощения устанавливали по черному стандарту – саже, максимум отражения - по белому стандарту MgO. Аппарат для встряхивания АВУ-60 ТУ 64-1-2451-78 применяли при сорбировании реагентов и продуктов их взаимодействия из растворов на ППУ.

Методики приготовления тест-средств. Тест-средство для обнаружения суммы тяжелых металлов с пиридилазорезорцином на основе ППУ готовили и использовали в двух вариантах: сорбировали комплексы ионов металлов с ПАР из раствора на белые таблетки ППУ или сорбировали ионы металлов из раствора на ППУ с иммобилизованным реагентом. Как показало исследование, ПАР, иммобилизованный на ППУ, оказался мало устойчивым. В течение дня окра-

ска тест-средства менялась от желтой к бурой. В случае предварительного пластифицирования белых таблеток триоктиламиноом окраска ППУ с иммобилизованным реагентом не менялась в течение трех суток. В дальнейшем использовали такую методику: очищенные таблетки ППУ выдерживали в течение часа в растворе триоктиламина, извлекали из раствора, сушили на воздухе; затем таблетки встряхивали 5 минут с водным раствором ПАР ($3 \cdot 10^{-6}$ моль/л), извлекали из раствора, сушили на воздухе и хранили в темном месте.

Тест-средство на основе метилкремниевой кислоты готовили следующим образом: в 25 мл реагентного раствора, содержащего ПАР с концентрацией $5 \cdot 10^{-5}$ моль/л и Тритона X-100 с концентрацией 0.04 моль/л, вносили 1 г высушенного порошка, перемешивали 15 мин на магнитной мешалке, отфильтровывали и сушили при 40°C. Порошок с иммобилизованным пиридилазорезорцином имел желтую окраску, его хранили в темной посуде в течение двух месяцев.

Для иммобилизации реагента в желатиновые пленки их выдерживали в течение 45 мин в водном растворе ПАР с молярной концентрацией $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л. Полученные пленки желтого цвета промывали дистиллированной водой, сушили на воздухе, разрезали на отрезки нужного размера и хранили при комнатной температуре в темном месте [17].

Желтые сорбенты при контакте с растворами металлов становились красным. В случае применения немодифицированного ППУ наблюдали появление красной окраски комплексов на белом ППУ.

Проведение тест-реакции в растворе. В пробирку вместимостью 20 мл вносили 5 мл раствора, содержащего равные массовые концентрации ионов металлов (Cd^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+}), 5 мл раствора ПАР с молярной концентрацией $2 \cdot 10^{-5}$ моль/л. Полученный раствор перемешивали, пробирку располагали в штативе и через 10 мин наблюдали окраску раствора на белом фоне.

Методика оценки предела обнаружения. Предел обнаружения оценивали по алгоритму, описанному в [9-11].

Для выявления области ненадежной реакции готовили методом последовательного разбавления серию растворов, содержащих шесть ионов металлов с равными массовыми концентрациями. С помощью реагентных растворов, тест-средств на основе ППУ, МКК или желатиновой пленки проводили тестирование. Для этого контрольной группе из 15-20 наблюдателей предлагали сделать заключение: "Наблюдается изменение окраски тест-средства после его контакта с исследуемым раствором или нет?" Диапазон суммарной концентрации металлов, в котором часть проб давала положительный результат наблюдений, а часть – отрицательный, принимали за область ненадежной реакции.

Выявленную область разбивали на k уровней концентрации (c_k) с шагом Δc . Для каждой c_k получали необходимое число наблюдений и проверяли соответствие эмпирической зависимости частот обнаружения суммы ионов металлов в области НР, $P(c_k)$, функциям теоретических распределений (нормального, логнормального, экспоненциального, Вейбулла), используя статистические критерии χ^2 , λ , \tilde{A} и γ_2 . Для выбранной функции распределения при $P(c) = 0.95$ рассчитывали c_{\min} .

Результаты и их обсуждение

Иммобилизация реагента и комплексов ионов металлов с ПАР на носителях. Тест-система на основе желатиновой пленки. На основании литературных данных о константах протонирования реагента и условных константах устойчивости комплексов ионов металлов с ПАР в водных растворах были выбраны условия иммобилизации реагента (рН 6-7) и комплексов ПАР с ионами металлов (рН 5) в пленке [17].

Тест-системы на основе пенополиуретана. На основании данных спектроскопии диффузного отражения установили, что оптимальное время выдерживания в растворе ПАР обработанных раствором триоктиламина таблеток ППУ составило 5 мин (рис. 1), а максимальное развитие окраски таблеток с иммобилизованными комплексами ионов металлов наступало через час.

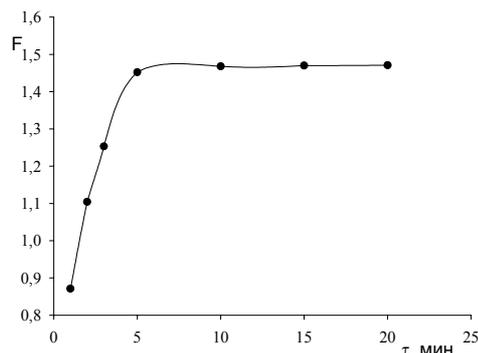


Рис. 1. Зависимость функции Гуревича-Кубелки-Мунка от времени контакта пластифицированного ППУ с раствором ПАР ($c(\text{ПАР}) = 3 \cdot 10^{-6}$ моль/л, $\lambda = 390$ нм)

Значение степени извлечения пиридазорезорцина и комплексов ПАР с ионами металлов таблеткой ППУ (R) рассчитывали по формуле:

$$R = \frac{c_0 - c}{c_0}, \quad (1)$$

где c_0 – начальная концентрация реагента или ионов металлов в растворе перед сорбцией; c – концентрация ПАР (ионов металлов) в растворе после сорбции, которую контролировали фотометрически.

Значение коэффициента распределения ПАР между раствором и сорбентом (D) оценивали по уравнению:

$$D = \frac{R}{1 - R} \frac{V}{m}, \quad (2)$$

где V – объем раствора (мл) с плотностью ~ 1 г/мл, m – масса сорбента (г).

Значения коэффициента распределения реагента в выбранных условиях составило 0.53, степени извлечения – 0.4, а степени извлечения комплексов металлов – 0.24.

Аналитическую длину волны иммобилизованных комплексов и реагента выбирали на основании спектров, приведенных на рис. 2. Максимум поглощения реагента на ППУ соответствует 390 нм, комплексов металлов – 510 нм. После обработки ППУ триоктиламином значение λ_{max} не изменилось.

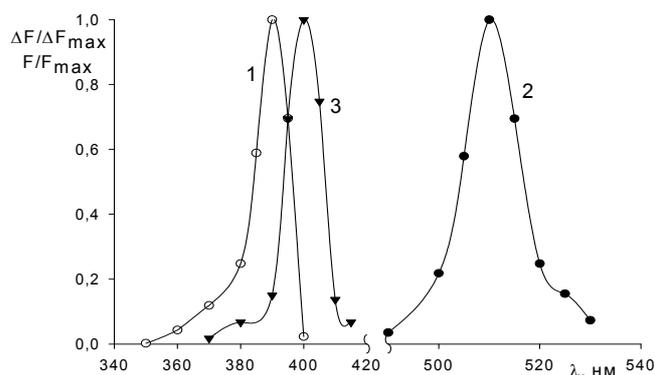


Рис. 2. Спектры поглощения ПАР, иммобилизованного на ППУ (1) и МКК (3), и спектр суммарного поглощения комплексов ионов металлов Cd^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} с ПАР, иммобилизованных на ППУ (2).

Тест-система на основе метилкремниевой кислоты. Было установлено, что в условиях иммобилизации степень извлечения реагента из раствора на порошкообразную МКК составляет 0.57, максимум поглощения иммобилизованного ПАР – 400 нм (рис. 2).

При тестировании на 0.02 г подготовленного порошка наносили 1 каплю (0.03 мл) раствора, содержащего ионы металлов, и через 10 мин наблюдали устойчивую окраску сорбента.

Оценка качества тест-систем и предела обнаружения суммы ионов металлов.

Выявив область ненадежной реакции и оценив ее относительную ширину, мы убедились, что наиболее узкая область характеризует тест-систему на основе МКК, наиболее широкая – тест-систему на основе ППУ (табл.). Таким образом, тест-реакция, протекающая на поверхности порошка метилкремниевой кислоты, является наиболее устойчивой по отношению к внешним воздействиям.

Для всех пяти изученных тест-систем оказалось достаточно пятидесяти наблюдений для установления вида функции распределения, а для окончательной оценки предела обнаружения – ста наблюдений. При увеличении количества наблюдений принятые гипотезы не отвергались. Экспериментальные зависимости частот обнаружения суммы металлов в растворе, в желатиновой пленке, на МКК и ППУ в области ненадежной реакции описала одна и та же функция распределения Вейбулла (как и для обнаружения кобальта(II) с 2-нитрозо-1-нафтолом [11]). Таким образом, на основании полученных результатов мы подтвердили вывод о том, что *на вид зависимости частот обнаружения аналита от его концентрации в области ненадежной реакции большее влияние оказывает тип реакции, чем материал носителя.*

Судя по полученным результатам (табл.), предел обнаружения суммы ионов металлов убывает в ряду: МКК > желатиновая пленка > раствор > ППУ > ППУ(пласт.) и составляет соответственно: 0.43, 0.24, 0.061, 0.034 и 0.015 мг/л. Предварительная обработка ППУ раствором триоктиламина привела к двукратному снижению значения c_{min} . Следовательно, *оптимальным материалом для обнаружения шести ионов тяжелых металлов (Cd^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+}) следует признать ППУ с иммобилизованным пиридилазорезорцином* Эта система характеризуется меньшим значением предела обнаружения, что согласуется с данными, полученными для обнаружения Со(II) с 2-нитрозо-1-нафтолом [11].

Таблица. Характеристики тест-систем

№ Системы	Носитель	Границы области НР, мг/л	Относительная ширина области НР	Δ_c , мг/л	Число уровней концентраций	c_{min} , мг/л
1	раствор	0.032 – 0.064	1.0	0.004	9	0.061
2	ППУ	0.013 – 0.035	1.8	0.0025	9	0.034
2 ^a		0.003 – 0.017	4.7	0.002	8	0.015
3	МКК	0.30 – 0.44	0.47	0.02	8	0.43
4	желатин	0.15 – 0.25	0.67	0.01	11	0.24

2^a – предварительно пластифицированные таблетки ППУ.

Литература

1. Мильман Б. Л., Конопелько Л. А. // Журн. аналит. химии. 2004. Т. 59. № 12. С. 1244 - 1258.
2. EURACHEM/CITAC Guide: The expression of uncertainty in qualitative testing. QAWG/03/06. 2003. 20 p.
3. Esther Trullós, Itziar Ruisánchez, F. Xavier Rius // Trends Anal. Chem. 2004. Vol. 23. № 2. P. 137 - 145.
4. Commission Decision of 12 August 2002 implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results.
5. Островская В. М. // Журн. аналит. химии. 1999. Т. 54. № 11. С. 1126 - 1133.

6. Kravchenko M. S., Fumarova M. S., Bugaevski A. A. // Intern. J. Environ. Chem. 1988. V. 33. P. 257.
7. 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.
8. Бланк А.Б. Метрологические аспекты аналитического контроля состава материалов // Журн. аналит. химии. 1997. Т. 52. № 7. С. 800 - 807.
9. Решетняк Е. А., Никитина Н. А., Холин Ю. В., Светлова Н. В., Островская В. М. // Вестник Харьк. нац. университета. 2003. № 596. Химия. Вып. 10(33). С. 90 – 98.
10. 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.
11. Решетняк Е. А., Никитина Н. А., Логинова Л. П., Островская В. М.. // Журн. аналит. химии. 2005. Т.60. № 10. С.1102 - 1109.
12. Золотов Ю. А., Иванов В. М., Амелин В. Г. Химические тест-методы анализа. – М.: Едиториал УРСС, 2002. 304 с.
13. Комарь Н. П. // Труды научно-исследовательского института химии Харьковского государственного университета. 1951.Т. 8. С. 143.
14. Умланд Ф., Янсен А., Тириг Д., Вюнш Г. Комплексные соединения в аналитической химии. Теория и практика применения. М.: Мир, 1975. 536 с.
15. Навчальний посібник. Лабораторний практикум з аналітичної хімії / Бугаєвський О. А., Дрозд А. В., Науменко В. А., Юрченко О. І. – Харків: ХДУ, 1999. 140 с.
16. Джеймс Т. Теория фотографического процесса. – Л.: Химия, 1980. 672 с.
17. Решетняк Е. А., Никитина Н. А., Логинова Л. П., Мчедлов-Петросян Н. О., Светлова Н. В. // Вестник Харьк. нац. университета. 2005. № 669. Химия. Вып. 13(36). С. 67 – 82.

Поступила в редакцию 17 апреля 2007 г.

Kharkov University Bulletin. 2007. №770. Chemical Series. Issue 15(38). E.A. Reshetnyak, N.A. Nikitina, V.E. Karmazina. The influence of carrier material on the detection limit of visual tests.

The five test-systems for visual detection of the sum total of six heavy metals (Cd^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+}) with 4-(2-pyridylazo)resorcinol on the basis of polyurethane foams, gelatin film, methylsilicic acid (powder) and reagent solutions are suggested. The conditions of obtaining the test-tools and the testing are studied. The limit of unreliable reaction area and its relative width are evaluated. The detection limit estimations are obtained by statistic approach. The influence of the reaction type on the detection frequency dependence on the total metal concentration in the unreliable reaction region was shown to be greater than that of carrier material. The polyurethane foam is the best material for test-detection of heavy metals.