

УДК 543.422.7

ОДНОВРЕМЕННЫЙ ДВУХКОМПОНЕНТНЫЙ АНАЛИЗ НЕЙЗИЛЬБЕРА МЕТОДОМ КОМПЬЮТЕРНОЙ ЦВЕТОМЕТРИИ

К.В. Осколок*, О.В. Моногарова, А.В. Гармай, А.А. Пастухова

(Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет; *e-mail: k_oskolok@mail.ru)

Разработан простой и доступный способ одновременного определения больших концентраций меди(II) и никеля(II) в водном растворе в виде окрашенных аквакомплексов методом компьютерной цветометрии с помощью офисного планшетного фотосканера. Адекватность предложенного подхода проверена в работе при анализе стандартного образца нейзильбера. Точность результатов определения меди и никеля в металлическом сплаве методами компьютерной цветометрии и спектрофотометрии отличается незначимо.

Ключевые слова: компьютерная цветометрия, двухкомпонентный анализ, нейзильбер, медь, никель.

Создание новых и совершенствование уже существующих методов и средств определения состава веществ и материалов – одна из важнейших задач современной аналитической химии как прикладной научной дисциплины. При этом низкая стоимость, техническая простота метода и его доступность, в том числе для неквалифицированных пользователей, во многих случаях становятся ключевыми факторами. К таким методам относится компьютерная (или цифровая) цветометрия, которая получила широкое распространение в химико-аналитической практике в последние 15–20 лет в связи с повсеместным использованием бытовых оптических гаджетов: цифровых фотокамер, смартфонов, планшетных сканеров, web-камер и т.д. [1, 2]. Компьютерная цветометрия сочетает основные преимущества химических тест-методов (низкую стоимость, простоту использования, экспрессность) и инструментальных методов анализа (документальность результатов, достаточно высокую точность и чувствительность) [3, 4]. С одной стороны, стоимость бытовых оптических гаджетов в десятки (иногда сотни) раз ниже стоимости сертифицированных средств измерения аналитического сигнала. С другой стороны, она заметно выше стоимости тест-средств измерения (например, универсальной индикаторной бумаги, индикаторных трубок и т.п.). Но сегодня планшетные сканеры есть в любом офисе, а смартфоны – практически у каждого человека. Так что доля стоимости средств измерения в общей стоимости анализа оказывается ничтожной.

Метод компьютерной цветометрии широко используют в фармацевтическом анализе [5–7], анализе пищевых продуктов [8–10], а также экологическом мониторинге объектов окружающей среды [11]. Однако до сих пор остается не решенной в полном объеме проблема одновременного многокомпонентного анализа, что обусловлено, прежде всего, низкой селективностью метода. Цель настоящей работы – изучение принципиальной возможности одновременного двухкомпонентного анализа реального объекта методом компьютерной цветометрии.

Для достижения поставленной цели был выбран достаточно простой объект – нейзильбер, а в качестве аналитов использовали два основных компонента этого металлического сплава – медь и никель. Аквакомплексы ионов этих металлов имеют характерную окраску, что исключает необходимость проведения фотометрической реакции, снижающей экспрессность и повышающей стоимость анализа. Существенное сходство спектров поглощения аквакомплексов меди(II) и никеля(II) сразу в двух областях длин волн (красной и зеленой) является важным фактором, позволяющим адекватно оценить влияние селективности метода на погрешность результатов двухкомпонентного анализа. В качестве средства измерения в работе был выбран офисный планшетный сканер, позволяющий лучше стабилизировать условия получения растровых цифровых изображений по сравнению с другими оптическими гаджетами, например смартфонами [12, 13].

Экспериментальная часть

Из сульфатов меди(II) и никеля(II) (*ReagentPlus*®, ≥99%) по навескам готовили растворы с примерной концентрацией 25 мг/мл. Точная концентрация меди и никеля была определена комплексонометрически. В пробирках Eppendorf было приготовлено 25 растворов, содержащих оба металла с концентрацией 1–5 мг/мл в разных соотношениях (от 1:5 до 5:1). С помощью механической пипетки по 320 мкл каждого раствора вводили в ячейки 96-луночного микропланшета, изготовленного из полистирола (*Corning*®). В каждом ряду плоскодонных лунок в одну из них помещали дистиллированную воду объемом 320 мкл – раствор контрольного опыта (рис. 1). Измерение точного объема жидкостей необходимо для фиксирования толщины поглощающего слоя.

Микропланшет устанавливали на стекло офисного планшетного фотосканера «EPSON Perfection 1670» (Япония), позволяющего получать растровые изображения в режимах как «на отражение», так и «на просвет». Микропланшет размещали под электролюминесцентной лампой в крышке фотосканера так, чтобы ряды лунок были расположены параллельно перемещающейся каретке с ПЗС-матрицей. Для исключения влияния на результат измерений паразитных засветок от внешних источников излучения по периметру стекла сканера устанавливали не-

прозрачную защитную рамку формата А4, высота которой равна толщине микропланшета. Для сохранения растровых изображений без потери качества использовали TIF-формат. Для извлечения информации о координатах цвета из полученных изображений микропланшета применяли бесплатно распространяемую программу IrfanView (разработчик «Irfan Skiljan» [14]). Полученные результаты были использованы в работе для нахождения многопараметрических градуировочных зависимостей.

Для проверки аналитических возможностей предлагаемого в работе подхода три разные навески (0,1779; 0,1802 и 0,1785 г) стандартного образца нейзильбера (Cu65Ni18Zn17) растворяли при нагревании в концентрированной азотной кислоте («Supelco», 65%). Полученные растворы нагревали еще примерно 10–15 мин до удаления оксидов азота, добавляя по мере упаривания дистиллированную воду. Полноту удаления оксидов азота контролировали цветометрически. После охлаждения синие-зеленые растворы переносили в мерные колбы емкостью 25,0 мл, разбавляли дистиллированной водой до метки и тщательно перемешивали. По 320 мкл каждого анализируемого раствора помещали в лунки микропланшета и сканировали вместе со стандартными растворами и раствором контрольного опыта.

Для сравнения метрологических характеристик результатов определения меди и никеля

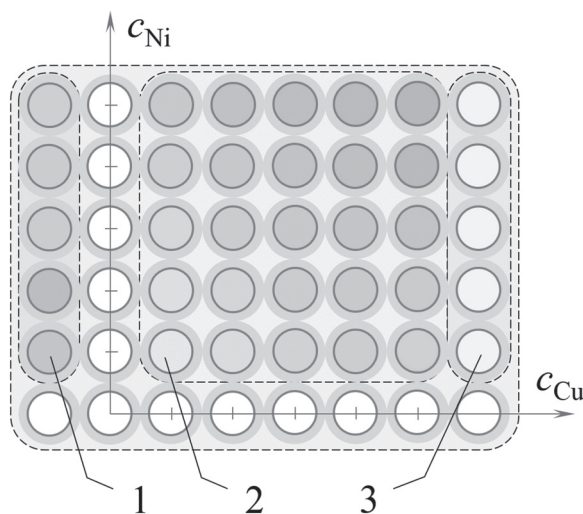


Рис. 1. Фрагмент 96-луночного микропланшета для проведения двухкомпонентного анализа методом абсолютной цифровой цветометрии: 1 – анализируемые растворы; 2 – стандартные двухкомпонентные (Cu и Ni) растворы; 3 – раствор контрольного опыта (вода)

цветометрическим и фотометрическим методами полученные после вскрытия стандартного образца нейзильбера растворы анализировали способом Фирордта на двухлучевом регистрирующем UV/Vis-спектрофотометре «Hitachi U-2900» (Япония).

Для контроля точности определения проводили также анализ гравиметрическим и рентгенофлуоресцентным (РФ) методами. В первом случае никель определяли в виде комплекса с диметилглиоксимом из навески 0,1163 г, цинк – виде комплекса с 8-гидроксихинолином из навески 0,1119 г; по разности полученных значений рассчитывали содержание меди. РФ-спектры измеряли с помощью РФ-спектрометра «Спектроскан Макс-G» («Спектрон», Россия), время накопления сигнала составляло 3 с. Концентрацию рассчитывали способом фундаментальных параметров.

Теоретическая часть

С помощью растрового графического редактора можно извлечь информацию о координатах цвета в любой точке полученного изображения. Поскольку светлота выбранного цветового канала пропорциональна количеству лучистой энергии, прошедшей через соответствующий светофильтр и попавшей на детектор, в качестве аналитического сигнала была выбрана условная оптическая плотность, вычисляемая по формуле:

$$A = \lg(L_0/L),$$

где L и L_0 – светлота цветового канала для фотометрируемого раствора и раствора контрольного

опыта. Все дальнейшие математические расчеты были сделаны в предположении выполнения для системы основного закона поглощения света и закона аддитивности оптических плотностей.

В табличном процессоре «Calc» бесплатно распространяемого офисного программного пакета LibreOffice для MS Windows были найдены коэффициенты расчетной матрицы B при решении с помощью только встроенных функций переопределенной системы линейных уравнений:

$${}_n[C]^k = {}_n[B]^m \cdot {}_m[A]^k,$$

где C – матрица концентраций стандартных растворов, A – матрица значений условной оптической плотности, n – число стандартных растворов, m – число цветовых каналов, k – число определяемых компонентов. Решение этого матричного уравнения можно представить в виде:

$$B = C \cdot A^T \cdot (A \cdot A^T)^{-1},$$

где A^T – транспонированная матрица условной оптической плотности. Содержание (c) ионов меди и никеля в растворе, полученном при кислотном вскрытии навески нейзильбера, вычисляли по уравнениям

$$\begin{aligned} c_{Cu} &= b_{Cu}^R A_x^R + b_{Cu}^G A_x^G + b_{Cu}^B A_x^B, \\ c_{Ni} &= b_{Ni}^R A_x^R + b_{Ni}^G A_x^G + b_{Ni}^B A_x^B, \end{aligned}$$

где b – коэффициенты расчетной матрицы для аналитов, A – значение условной оптической плотности для цветовых R -, G - и B -каналов. Относительную погрешность регрессионной модели вычисляли при анализе стандартных растворов,

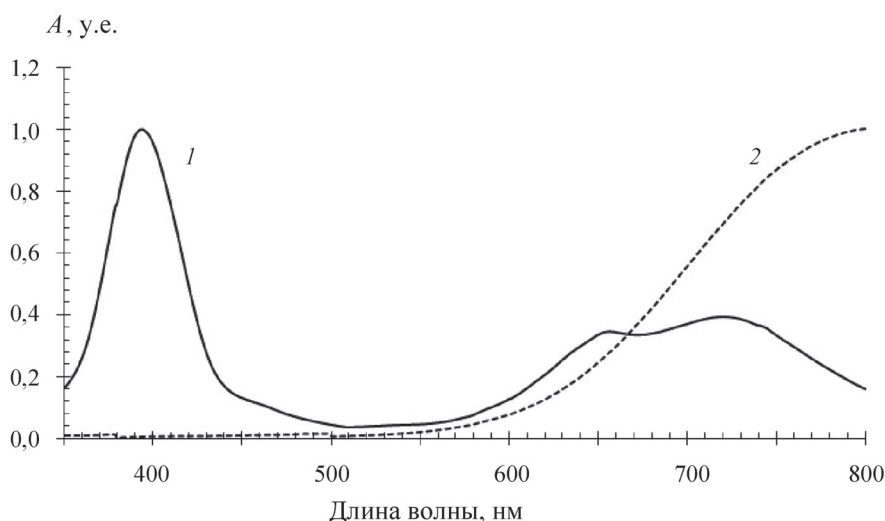


Рис. 2. Нормированные оптические спектры поглощения аквакомплексов никеля(II) (1) и меди(II) (2)

не использованных при ее создании. Дисперсию результатов определения ионов металлов (М) в анализируемом растворе оценивали по формуле:

$$s^2(c_M) = (b_M^R)^2 \cdot s^2(A_x^R) + (b_M^G)^2 \cdot s^2(A_x^G) + (b_M^B)^2 \cdot s^2(A_x^B).$$

Дисперсию значений условной оптической плотности по выбранному цветовому каналу вычисляли по формуле:

$$s^2(A) = 0,434^2 \left[\frac{s^2(L_0)}{\bar{L}_0^2} + \frac{s^2(L)}{\bar{L}^2} \right],$$

где L и L_0 – светлота цветового канала для фотометрируемого раствора и раствора контрольного опыта. Уровень цифрового шума оценивали после вычисления среднего значения и дисперсии светлоты цветового канала на выбранных участках изображения.

При необходимости расширения рабочего диапазона концентраций ионов металлов (М) в растворе не более чем до одного порядка величины регрессионную модель следует усложнить:

$$C_M = \sum_{i=1}^3 b_M^i A_x^i + \sum_{i=1}^3 b_M^{ii} (A_x^i)^2 + \sum_{i=1}^3 \sum_{j \neq i}^3 b_M^{ij} A_x^i A_x^j,$$

где i и j – равные 1, 2 или 3 идентификаторы цветных R -, G -, B -каналов. Второе слагаемое учитывает значимые отклонения от основного закона поглощения, третье слагаемое – значимые отклонения от закона аддитивности оптической плотности. При этом вместо 24-битных изображений (8 бит на канал) в TIF-формате целесообразно формировать 48-битные (16 бит на канал). Сканер «EPSON Perfection 1670» позволяет это делать. Для работы с 48-битными изображениями удобно использовать бесплатно распространяемую программу ImageJ (разработчик Wayne Rasband (National Institute of Health) [15]).

Результаты и их обсуждение

Конструкция офисного планшетного фотосканера включает источник полихроматического света (электролюминесцентную лампу), рудиментарный монохроматор (красный, зеленый и синий светофильтры) и приемник излучения (ПЗС-матрица). Персональный компьютер, к которому подключен сканер, выполняет функции регистрирующего устройства и средства для обработки результатов измерений. Таким образом, комбинация фотосканера и компьютера может быть использована в качестве основы для построения современного цифрового фотокориметра,

к недостаткам которого следует отнести малое число светофильтров (всего 3 против обычных 9–11), а к достоинствам – возможность картирования значений аналитического сигнала, что в сочетании с использованием микропланшетов позволяет проводить однокомпонентный анализ большого числа проб, факторное планирование химико-аналитического эксперимента, а также создавать многопараметрические градуировочные зависимости при выполнении двухкомпонентного фотокориметрического анализа.

Действительно, большое число лунок малой емкости (около 350 мкл) и достаточно большой глубины (около 1 см) позволяет использовать микропланшет для одновременного измерения аналитического сигнала нескольких десятков растворов с минимальным расходом реактивов. При этом можно измерять либо разные растворы в одинаковых условиях, фиксируя толщину поглощающего слоя, либо одинаковые растворы в разных условиях, варьируя толщину поглощающего слоя изменением объема жидкости, либо варьировать оба фактора одновременно и получать по одному растровому изображению микроплшета несколько градуировочных зависимостей для разных значений толщины поглощающего слоя, выбирая из них оптимальную, обеспечивающую наивысшую точность результатов анализа.

Для учета возможных флуктуаций яркости электролюминесцентной лампы, влияющих на погрешность измерения условной оптической плотности, использовали значения светлоты соответствующего цветового канала для раствора контрольного опыта, помещенного в лунку из того же ряда микроплшета, где размещены фотометрируемые растворы, расположенного параллельно каретке сканера, перемещающейся в процессе формирования изображения. Аналогичный способ аппаратной коррекции сигнала применяют в двулучевых спектрофотометрах. Следует также подчеркнуть, что формировать растровые изображения следует строго в режиме «на просвет». В режиме «на отражение» изображения лунок получаются неоднородными: есть пересвеченные и сильно затененные участки, что приводит к существенному увеличению погрешности результатов измерения светлоты [10].

Известно, что координаты цвета в пространстве XYZ прямо пропорциональны количеству лучистой энергии, попавшей через соответствующий светофильтр на ПЗС-матрицу [16]. Однако, поскольку координаты в цветовом пространстве RGB и XYZ однозначно связаны линейным пре-

Результаты анализа стандартного образца нейзильбера ($f = 3, P = 0,95$)

Метод	Содержание, %	
	Cu	Ni
Спектрофотометрия	66,2 ± 2,6	18,8 ± 0,7
Компьютерная цветометрия	65,7 ± 3,3	17,5 ± 0,9
Гравиметрия	68,6 ± 0,7	15,3 ± 0,1
РФА	67,0 ± 1,1	18,5 ± 0,6

образованием, серьезных преимуществ (в частности, снижения погрешности) от использования цветовой модели XYZ не обнаружено. Поэтому мы использовали цветовое пространство RGB, более востребованное распространенными графическими редакторами.

Для демонстрации возможности двухкомпонентного цветометрического анализа нами были приготовлены 25 бинарных стандартных растворов, равномерно распределенных на представляющем интерес участке двумерной координатной сетки концентраций меди(II) и никеля(II) (рис. 1). Для построения регрессионной модели

$$c_{\text{Cu}} = 8,42 \cdot 10^1 \cdot A_x^R + 6,30 \cdot 10^2 \cdot A_x^G - 4,98 \cdot 10^2 \cdot A_x^B,$$

$$c_{\text{Ni}} = 1,11 \cdot 10^2 \cdot A_x^R - 7,24 \cdot 10^2 \cdot A_x^G + 6,06 \cdot 10^2 \cdot A_x^B$$

использованы только те растворы, для которых значения условной оптической плотности для цветовых R-, G- и B-каналов попадают в интервал значений от 0,1 до 0,9 ед., где погрешность результатов измерений минимальна. Использование для нахождения коэффициентов расчетной матрицы бинарных стандартных растворов вместо индивидуальных позволило скомпенсировать возможные отклонения результатов измерений от основного закона поглощения света и закона аддитивности оптических плотностей.

Для повышения правильности результатов многокомпонентного спектрофотометрического анализа измерение оптической плотности проводят только при так называемых «информативных» длинах волн, для которых различие коэффициентов поглощения определяемых компонентов максимально, в частности, при длинах волн максимумов полос и в области индивидуального поглощения отдельных компонентов [17]. Учитывая конструктивное сходство средств измерения, можно было бы ожидать справедливости этого принципа выбора условий фор-

мирования аналитического сигнала также и в цифровой цветометрии. Однако спектрально чистая («зеленая») область, достаточно мало информативная для фотометрии меди(II) и никеля(II) (рис. 2), оказалась весьма полезной при выполнении цветометрического анализа. Действительно, относительная погрешность результатов определения ионов металлов при использовании трехпараметрической регрессионной модели (цветовые R-, G- и B-каналы) составляет 4–6%, тогда как при использовании двухпараметрической модели (только R- и B-каналы) этот показатель равен 10–12%.

В таблице представлены результаты определения меди и никеля в нейзильбере методами спектрофотометрии и компьютерной цветометрии. Статистически значимых отличий между ними нет. Случайная погрешность результатов цветометрического анализа с помощью офисного планшетного сканера несущественно превышает погрешность спектрофотометрического анализа. В таблице также приведены результаты РФА и гравиметрического анализа. Статистически значимые отличия между ними и результатами спектрофотометрии и цветометрии отсутствуют. Таким образом, точность предложенного метода можно считать удовлетворительной.

Заключение

В настоящей работе показана принципиальная возможность проведения одновременного двухкомпонентного анализа металлического сплава методом компьютерной цветометрии. Предложенный способ может быть рекомендован не только для проведения рутинного анализа, но и для создания практикума по аналитической химии в вузах. Его отличает техническая простота, малый расход реактивов, экспресс-

ность. Стоимость офисного планшетного сканера в десятки раз ниже стоимости спектрофотометра, а точность и воспроизводимость результатов анализа цветометрическим и фотометрическим методами сопоставима.

Работа выполнена в рамках государственного задания МГУ имени М.В. Ломоносова

АААА-А16-116111750033-9 «Разработка высокоэффективных методов, в том числе основанных на использовании наноструктур, для химического анализа объектов окружающей среды, пищевых продуктов и технологических объектов».

Конфликта интересов нет.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Grudpan K., Kolev S.D., Lapanantnopakhun S., McKelvie I.D., Wongwilai W. // *Talanta*. 2015. Vol. 136. P. 84.
2. Capitán-Vallvey L.F., López-Ruiz N., Martínez-Olmos A., Erenas M.M., Palma A.J. // *Anal. Chim. Acta*. 2015. Vol. 899. P. 23.
3. Шульц Э.В., Моногарова О.В., Осолок К.В. // *Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия*. 2019. Т. 60. № 2. С. 79.
4. Моногарова О.В., Осолок К.В., Аняри В.В. // *Журн. аналит. хим.* 2018. Т. 73. № 11. С. 857.
5. Choodum A., Daeid N.N. // *Talanta*. 2011. Vol. 86. P. 284.
6. Monogarova O.V., Chaplenko A.A., Oskolok K.V. // *Sens. Actuators B: Chem.* 2019. Vol. 299. С. 126909.
7. Sens da Silva R., Borges E. M. // *J. Chem. Educ.* 2019. Vol. 96. N 7. P. 1519.
8. Chung S., Park T.S., Park S.H., Kim J.Y., Park S., Son D., Bae Y.M., Cho S.I. // *Sensors*. 2015. Vol. 15. P. 18197.
9. Coskun A.F., Wong J., Khodadadi D., Nagi R., Tey A., Ozcan A. // *Lab on a Chip*. 2013. Vol. 13. P. 636.
10. Ledesma C.M., Krepsky L.M., Borges E.M. // *J. Chem. Educ.* 2019. Vol. 96. N 10. P. 2315.
11. Choodum A., Kanatharana P., Wongniramaikul W., Daeid N.N. // *Talanta*. 2014. Vol. 115. P. 143.
12. Болотов В.М., Комарова Е.В., Саввин П.Н., Хрупушин В.В. // *Вестн. Воронеж. гос. техн. ун-та. Фунд. приклад. хим., хим. технол.* 2013. № 4. P. 154.
13. Oskolok K.V., Shults E.V., Monogarova O.V., Chaplenko A.A. // *Talanta*. 2018. Vol. 178. P. 377.
14. IrfanView – Official homepage. <https://www.irfanview.com/> (дата обращения: 25.08.2020)
15. ImageJ. <https://imagej.nih.gov/ij/> (дата обращения: 25.08.2020)
16. Домасев М.В., Гнатюк С.П. Цвет, управление цветом, цветовые расчеты и измерения. СПб., 2009.
17. Берштейн И.Я., Каминский Ю.Л. Спектрофотометрический анализ в органической химии. Л., 1986.

Поступила в редакцию 10.05.2020
Получена после доработки 12.05.2020
Принята к публикации 20.05.2020

SIMULTANEOUS DETERMINATION OF TWO COMPONENTS OF NICKEL SILVER BY DIGITAL COLORIMETRY

K.V. Oskolok*, O.V. Monogarova, A.V. Garmay, A.A. Pastukhova

(Division of Analytical Chemistry; *e-mail: k_oskolok@mail.ru)

A simple and cheap method for the simultaneous determination of high copper(II) and nickel(II) concentrations in aqueous solutions was developed, based on the formation of their colored complexes with the subsequent digital colorimetric analysis using an office flatbed photo scanner. Its validity was verified by the analysis of a nickel silver standard sample. The difference between the accuracy of copper and nickel determination using digital colorimetry and spectrophotometry was negligible.

Key words: digital colorimetry, two-component analysis, nickel silver, copper, nickel.

Сведения об авторах: Осолок Кирилл Владимирович – доцент кафедры аналитической химии химического факультета Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, канд. хим. наук (k_oskolok@mail.ru); Моногарова Оксана Викторовна – доцент кафедры аналитической химии химического факультета Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, канд. хим. наук (o_monogarova@mail.ru); Гармай Андрей Владимирович – инженер кафедры аналитической химии химического факультета Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, канд. хим. наук (andrew-garmay@yandex.ru); Пастухова Анна Анатольевна – студентка факультета фундаментальной медицины Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова (anpast2018@gmail.com).