Построение цветовых шкал для визуальной колометрии. Представление результатов анализа

Е.А. Решетняк, Ю.В. Холин, В.Н. Шевченко

Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, пл. Свободы, 4, Харьков 61077, Украина, e-mail: reshetnyak@univer.kharkov.ua

Поступила: 27 июля 2011 г./ Принята в печать: 14 ноября 2011 г.

Для семи тест-систем на основе трех сорбентов – пенополиуретана, индикаторной бумаги, желатиновой пленки – приготовлены цветовые шкалы с разным коэффициентом геометрической прогрессии (q=1,5, q=2, q=3 и q≈1,618). Проанализированы два способа оценки качества шкал, их равноконтрастности: цветометрия и статистика наблюдений. Установлено, что критерий визуального цветоразличения ΔE≥10 не является универсальным для модифицированного пенополиуретана и реагентной индикаторной бумаги, его нельзя применить для окрашенных прозрачных желатиновых пленок. При выборе оптимальной цветовой шкалы для визуальной колориметрии предпочтение следует отдать визуальному методу. Показано, что точность результата тестирования напрямую связана с используемой цветовой шкалой. Для представления результатов определения в визуальной колориметрии предложено применять статистику интервальных данных; рекомендуется указывать число параллельных определений, средний результат и интервал разброса результатов.*

E.A. RESHETNYAK, YU.V. KHOLIN, V.N. SCHEVCHENKO. *THE COLOR SCALES CONSTRACTION FOR VISUAL COLORIMETRY. REPRESENTATION OF ANALYSIS RESULTS - For seven test systems on the basis of three sorbents – polyurethane foam, indicator paper, gelatin film – color scales is prepared with a different coefficients of geometric progression (q=1,5, q=2, q=3 u q≈1,618). Two approaches of color scales quality estimation: colorimetry and observation statistics it is analysed. It is established that the criterion of visual distinguishing of color ΔE*≥10 is not universal for the modified polyurethane and reagent indicator paper. This criterion can not be applied to transparent colored gelatin films. When choosing the best color scheme for visual colorimetry the preference should be given to the visual method. It is shown that the accuracy of test results is directly related to the color scale used. The statistics of interval data is proposed for presentation of the results of test analysis. It is also recommended to indicate the number of parallel determinations and confidence interval (interval variability of the results).*

Ключевые слова: цветовые шкалы сравнения, визуальная колориметрия, цветометрия, статистика интервальных данных

Key words: color scale of comparing, visual testing, visual colorimetry, statistic of interval data

Цветовые шкалы сравнения используют для количественной оценки содержания аналита в объектах анализа. Шкалы представляют собой набор тест-образцов (эталонов) — реагентных растворов, полосок индикаторной бумаги, модифицированных таблеток пенополиуретана, индикаторных трубок, окрашенных пленок, — отвечающих точно известному содержанию определяемого компонента [1, 2].

Концентрация аналита на цветовой шкале увеличивается в геометрической прогрессии. Это связано с восприятием цвета человеческим глазом и экспоненциальной зависимостью характеристик цвета от концентрации аналита. Коэффициент геометрической прогрессии, равный отношению соседних концентраций на шкале, $q=c_{n+1}/c_n$, выбирают равным двум, реже – трем. Но есть и другие рекомендации. Геометрическая прогрессия с коэффициентом q=1,19 была выбрана для визуального экспресс-определения нитратов и с коэффициентом q=1,41 для определения фосфатов в продуктах сельского хозяйства [3, 4]; при создании цветовой шкалы на основе реагентных растворов рекомендовано изменять концентрацию аналита в геометрической прогрессии с q=1,2-1,5 [5]. Недавно предложено строить шкалу в соответствии с рядом Фибоначчи [6], в этом случае каждая последующая концентрация на шкале равна сумме двух предыдущих концентраций; прогрессия асимптотически приближается к геометрической с коэффициентом q=1,618.

Шкала должна быть равноконтрастной и хорошо восприниматься глазом человека. Это основное требование, предъявляемое к цветовой шкале для визуальной колориметрии. Проверку равноконтрастности шкалы, приготовленной с использованием непрозрачных сорбентов

 © Е.А. Решетняк, Ю.В. Холин, В.Н. Шевченко

(кремнеземов, силикагелей, бумаги, ионитов), проводят, используя метод цветометрии [7-12].

Из спектров диффузного отражения вычисляют цветовые характеристики в колориметрической системе CIELAB (1976 г.) и в качестве основного аналитического параметра для регистрации изменения цвета модифицированных сорбентов выбирают общее цветовое различие ΔE [13]. Получив экспериментальную зависимость ΔE от концентрации определяемого компонента (c), строят цветовую шкалу с постоянным шагом ΔE=10 (согласно рекомендациям [9, 11]), при этом считают, что погрешность тест-методики сводится к минимуму и созданная шкала будет различаться глазом любого человека [8, 10, 11, 14-16].

Однако критерий ΔE≥10 оказался не достаточно строгим для визуально наблюдаемого различия окраски соседних эталонов шкалы. При двукратном увеличении концентрации на цветовой шкале для тест-определения Al(III) с хромазуролом S, иммобилизованным на хроматографической целлюлозной бумаге, общее цветовое различие изменялось на 5-7 усл. ед. [17]. Авторы [6] утверждают, что значение ΔE=5 является естественной границей цветового восприятия глаза, если шкала построена в соответствии с рядом Фибоначчи.

Такую шкалу использовали для сорбционно-колориметрического определения перхлоратов с тионином на пенополиуретане, более 90% наблюдателей различали синюю окраску соседних таблеток на шкале.

Таким образом, до сих пор нет единого мнения о способах построения цветовой шкалы; не ясно, какой критерий соответствует граничному восприятию человеком цвета сорбата; нет рекомендаций для проверки равноконтрастности шкалы, приготовленной с использованием прозрачного сорбента.

По уровню погрешности (неопределенности результатов) визуальные методы анализа относят к полуколичественным методам определения, но в некоторых публикациях указывают более низкие оценки относительной погрешности тест-определений, например, 10% при N=5 [17] или 4-6% (без указания числа параллельных измерений) [1, с. 96 и с. 104]. При вычислении дисперсии, стандартного отклонения, доверительного интервала для среднего результата тестового анализа рекомендуют [18] использовать формулы, привычные для инструментального анализа. Правомочен ли такой подход для статистической обработки результатов определения, полученных на основе цветовой шкалы?

Настоящая работа посвящена принципам построения и способам оценки качества цветовых шкал для визуальной колориметрии, выяснению особенностей приготовления шкал с использованием сорбентов разной природы, изучению критерия визуального цветоразличения, а также формам представления результатов тест-определения с использованием выбранной шкалы.

Для исследования было выбрано семь тест-систем на основе сорбентов разной природы: пенополиуретана (ППУ), реагентной индикаторной бумаги (РИБ), желатиновой пленки. Выбраны разного цвета продукты гетерофазных реакций: голубые и красные тиоцианатные комплексы ионов Co^{2+} и Fe^{3+}, сорбирующиеся из раствора на белые таблетки ППУ; красно-коричневый комплекс Co^{2+} с нитрозо-Р-солью, синий комплекс Al^{3+} с эриохромцианином R и красно-малиновые комплексы шести ионов металлов (Zn^{2+}, Pb^{2+}, Cu^{2+}, Co^{2+}, Ni^{2+}, Cd^{2+}) с пиридилазорезорцином, образующиеся в среде отвержденного желатинового геля фотографической пленки; появление желтого цвета ППУ в результате хемосорбционного взаимодействия с ионами NO_2^-; изменение желтого цвета индикаторной бумаги РИБ-Co-Тест на красный при взаимодействии ионов Co^{2+} с нитрозонафтолом, иммобилизованным на бумаге.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Реагенты, растворы, материалы

Все растворы готовили на дистиллированной воде, используя реагенты с квалификацией не ниже «ч.д.а.». Точную концентрацию ионов металлов в исходных растворах солей устанавливали трилонометрическим ($Co(NO_3)_2$, $Cd(NO_3)_2$, $Ni(NO_3)_2$, $Zn(NO_3)_2$, $Pb(NO_3)_2$, $FeCl_3$, $Al(NO_3)_3$ [19]) и йодометрическим ($Cu(NO_3)_2$ [20]) титрованием. Исходные растворы 1 моль/л NaF, 5 моль/л KSCN, 1 моль/л NaCl, 0,01 моль/л $NaNO_2$, 0,03 моль/л нитрозо-R-соли (НРС), 0,005 моль/л 4-(2-пиридилазо)-резорцина (ПАР) и 0.5 моль/л цетилпиридиний хлорида (ЦПХ) готовили по точной навеске; раствор эриохромцианина R (ЭХЦ) с массовой концентрацией 0,7 мг/л готовили по методике, приведенной в [21]. Требуемые значения pH в растворах создавали добавками кислот (H_2SO_4, HCl) или ацетатным буфером.

Реагентная индикаторная бумага.

В работе использовали индикаторную бумагу на основе эпоксидированной целлюлозы РИБ-Co-Тест. В процессе изготовления РИБ реагент 1-нитрозо-2-нафтол был введен путем смешанной иммобилизации — ковалентной и адсорбционной [2].

Пенополиуретан.

Тест-средства для определения ионов Co^{2+} и Fe^{3+} с KSCN и хемосорбционого определения нитритов готовили из листового пенополиуретана на основе смешанных эфиров марки 2240 по методикам, описанным в [1, 22]. Сорбент использовали в виде таблеток диаметром 16 мм, толщиной 7-10 мм, массой 0,03-0,05 г. Таблетки ППУ очищали, выдерживая 30 мин в растворах 0,1 моль/л H_2SO_4 (для дальнейшего определе-

ния Co^{2+}), 0,1 моль/л HCl (для Fe^{3+}), 5 моль/л HCl (для NO_2^-), затем последовательно промывали водой до pH 5-6, ацетоном, отжимали между листами фильтровальной бумаги, сушили на воздухе и хранили при комнатной температуре в темном закрытом месте.

Желатиновые пленки применяли в качестве материала-носителя для определения ионов Co^{2+} с нитрозо-R-солью, Al^{3+} с эриохромцианином R и суммы ионов металлов (Zn^{2+}, Pb^{2+}, Cu^{2+}, Co^{2+}, Ni^{2+}, Cd^{2+}) с 4-(2-пиридилазо)-резорцином. Для изготовления чувствительных элементов использовали фотографическую пленку для офсетной печати фирмы AGFA с толщиной желатинового слоя ~ 20 мкм [23], из которого полностью удаляли галогениды серебра. Образцы пленок размером 1×3,5 см были бесцветными и прозрачными. Реагент нитрозо-R-соль извлекали в желатиновую матрицу из раствора с концентрацией НРС 0,003 моль/л и pH 2 (HCl); эриохромцианин R — из раствора с pH 5,5, содержащего $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л ЭХЦ и 0,01 моль/л ЦПХ; пиридилазорезорцин — из раствора $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л ПАР. Образцы пленок погружали в раствор реагента на 30 мин в случае НРС, на 20 мин — в случае ЭХЦ и на 45 мин — в случае ПАР, затем пленки извлекали из раствора с помощью пинцета и сушили на воздухе в чашке Петри, расположив наклонно (на ребро) на фильтровальной бумаге. Образцы пленок с иммобилизованными реагентами были равномерно окрашены в желтый (НРС, ПАР) и оранжевый (ЭХЦ) цвет, их хранили при комнатной температуре в темном закрытом месте.

Процедуры

В табл. 1 приведены характеристики тест-систем и условия тестирования.

Для приготовления цветовых шкал и контрольных образцов квадратики индикаторной бумаги РИБ-Со-Тест размером 1×1 см погружали на 5 с в исследуемый раствор, вынимали из раствора и подсушивали на воздухе. Образцы модифицированных желатиновых пленок погружали в растворы с разным содержанием ионов металлов (табл. 1), в результате индикаторной реакции пленки меняли свой цвет, их вынимали из растворов и сушили на воздухе. Для приготовления цветовых шкал с использованием ППУ растворы нужного состава (табл. 1) объемом 25 мл переливали в конические колбы вместимостью 100 мл, в каждую колбу погружали по одной таблетке ППУ, из таблеток удаляли пузырьки воздуха, колбы закрывали пробками и встряхивали на механическом смесителе. Окрашенные таблетки вынимали из растворов, отжимали между листами фильтровальной бумаги и сушили на воздухе.

Все наблюдения с сорбентами проводили при дневном освещении в условиях рассеянного света, значение освещенности в помещении составляло 500-600 лк. Сопоставление интенсивности окраски соседних эталонных образцов шкалы и сопоставление окраски контрольных образцов (полученных в результате тестирования контрольных проб или модельных растворов) с цветовой шкалой проводили, размещая шкалу и контрольные образцы на листе белой бумаги.

Оборудование

Диффузное отражение таблеток ППУ и образцов РИБ измеряли на спектрофотометре СФ-2000. Таблетки и образцы индикаторной бумаги закрепляли на приставке, отражение измеряли относительно белой таблетки очищенного ППУ или образца белой плотной бумаги в интервале длин волн 400-700 нм. С помощью программного обеспечения, прилагаемого к спектрофотометру, для всех окрашенных сорбентов получили цветометрические характеристики и значения общего цветового различия ΔE.

Поглощение (пропускание) желатиновых пленок регистрировали на спектрофотометре Hitachi U 3202, закрепляя пленки в держателе непосредственно в кюветном отделении прибора. Пленки с иммобилизованным реагентом и с комплексом фотометрировали против неокрашенного образца. Для нахождения координат цвета X, Y, Z использовали метод избранных координат [13, 24]. Для каждой координаты получали по 30 значений светопропускания (T, %) при заданных длинах волн λ_i, их суммировали и умножали на соответствующие коэффициенты: $X=0{,}03269\ \Sigma T(\lambda_{ix})$; $Y=0{,}03333\ \Sigma T(\lambda_{iy})$; $Z=0{,}03938\ \Sigma T(\lambda_{iz})$. Зная величины X, У, Z, вычисляли координаты L, A, B и общее цветовое различие по формулам:

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

$$A = 500[(X/X_0)^{1/3} - (Y/Y_0)^{1/3}], \quad (2)$$

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

$$\Delta E = [(L_0 - L)^2 + (A - A_0)^2 + (B - B_0)^2]^{1/2}, \quad (4)$$

где L, A, B, L_0, B_0, A_0 — координаты цвета образца с иммобилизованным комплексом и образца с реагентом, соответственно.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Построение цветовых шкал

Для семи тест-систем (табл. 1) приготовили по четыре цветовые шкалы с коэффициентами геометрической прогрессии q=1,5, q=2, q=3 и q≈1,618 (ряд Фибоначчи). Найденные ранее значения пределов определения аналитов позволили указать уровень концентрации, с которого можно было начинать построение цветовой шкалы. Приготовление всех шкал повторили 2-3 раза. На основе цветометрических измерений для всех окрашенных сорбентов получили значения общего цветового различия ΔE и для каждого интервала концентраций на шкале вычислили разность:

© Е.А. Решетняк, Ю.В. Холин, В.Н. Шевченко

$$\Delta E^* = \Delta E_{n+1} - \Delta E_n. \quad (5)$$

По величине шага цветоразличения на шкале (ΔE*) установили, какая из шкал построена более правильно, т.е. является равноконтрастной. Наряду с методом цветометрии для оценки качества приготовленных цветовых шкал применили статистику наблюдений. С этой целью шкалы размещали на листе белой бумаги в порядке возрастания концентрации аналита и сопоставляли интенсивность окраски соседних эталонных образцов шкалы.

Пятидесяти независимым наблюдателям задавали вопрос: «Видите ли Вы различие цвета соседних образцов шкалы?», фиксировали ответы и по результатам наблюдений вычисляли частоту обнаружения различия цвета:

$$P(c) = n / N, \quad (6)$$

где n — число положительных ответов, N — общее число наблюдений. Выбирали ту шкалу, для которой P(c)≥0,9, т.е. более 90% наблюдателей видели различие цвета соседних эталонов шкалы. Такая шкала должна обеспечить в дальнейшем более высокую точность тест-определений.

В табл. 2-3 приведены примеры результатов инструментального и визуального способов исследования правильности построения цветовых шкал для двух тест-систем на основе индикаторной бумаги и пенополиуретана.

Можно заметить, что для тест-системы РИБ-Со-Тест (табл. 2) более различимы в окраске оказались образцы индикаторных бумаг на шкалах с коэффициентами 2 и 3, условие P(c)>90% выполнялось при ΔE*≥4. Шкала с q=1,5 оказалась менее воспроизводимой по восприятию цвета образцов, а на шкале, построенной в соответствии с рядом Фибоначчи, значение P(c) не достигло 90%. В случае определения железа(III) в виде красных, сорбируемых на ППУ комплексов $Fe(SCN)_4^-$, следует выбрать шкалу с коэффициентом 2 или 3 в диапазоне концентраций $c(Fe^{3+})$=0,02-0,8 мг/л (табл. 3).

Таблица 1. Характеристики тест-систем и условия тестирования

Аналит	Сорбент	Индикаторная система		Диапазон определяемого содержания аналита, мг/л	Время теста, мин	Изменение цвета сорбента
		Реагент	Вспомогательные вещества			
Co^{2+}	ППУ	SCN^-	KSCN, 0,5 моль/л, NaF, 0,01 моль/л, H_2SO_4, pH 2	0,03 – 2,5	15	белый — голубой
Fe^{3+}		SCN^-	KSCN, 0,5 моль/л (очищенный от примеси	0,02 – 1,3	15	белый — красный
NO_2^-		—	HCl, pH 0	0,1 – 1,8	15	белый — лимонно-желтый
Co^{2+}	Бумага (РИБ-	Нитрозо-нафтол	Ацетатный буфер, pH 6.6	10 – 130	5 с	желтый — красный
Al^{3+}	Желатиновая пленка	ЭХЦ	ЦПХ, $1 \cdot 10^{-4}$ моль/л, ацетатный буфер, pH 5,5,	0,12 – 3,5	20	оранжевый — синий
Co^{2+}		HPC	HCl, pH 2	0,3 – 10	20	желтый — красно-коричн.
ΣMe^{n+}		ПАР	Ацетатный буфер, pH 5	$(0,3 – 40) \cdot 10^{-5}$ моль/л*	15	желтый — красный

Примечание. * в каждом растворе все шесть ионов металлов имеют равные молярные концентрации

Таблица 2. Значения разности ΔE* и частоты обнаружения различия цвета соседних эталонных образцов цветовых шкал для тест-системы РИБ-Со-Тест

Интервал $\Delta c(Co^{2+})$, мг/л	P,%(N=50)	$\Delta E^* = \Delta E_{n+1} - \Delta E_n$	Интервал $\Delta c(Co^{2+})$, мг/л	P,%(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		45-135	90	6
40-80	94	5			
q=1.5			ряд Фибоначчи		
0-7.5	78	7	0-8	80	7
7.5-11	72	2	8-13	82	3
11-17	58	2.5	13-21	79	2.5
17-25	78	2	21-34	89	3.5
25-38	90	4	34-55	82	3
38-57	64	2.5	55-89	80	3.5

Таблица 3. Значения разности ΔE* и частоты обнаружения различия цвета соседних эталонных образцов цветовых шкал для тест-системы Fe^{3+}-SCN^--ППУ

Интервал $\Delta c(Fe^{3+})$, мг/л	P,% (N=50)	$\Delta E^* = \Delta E_{n+1} - \Delta E_n$	Интервал $\Delta c(Fe^{3+})$, мг/л	P,% (N=50)	$\Delta E^* = \Delta E_{n+1} - \Delta E_n$
q=2			q=3		
0-0.02	100	4	0-0.02	100	4
0.02-0.04	92	4	0.02-0.06	100	8
0.04-0.08	93	4	0.06-0.18	98	7
0.08-0.16	95	6	0.18-0.54	100	8
0.16-0.32	98	4	0.54-1.62	100	16
0.32-0.64	100	6			
0.64-1.28	100	14			
q=1.5			ряд Фибоначчи		
0-0.02	100	4	0-0.02	100	4
0.02-0.03	68	2.5	0.02-0.03	70	3
0.03-0.05	60	3	0.03-0.05	63	2.5
0.05-0.07	44	2	0.05-0.08	85	3.5
0.07-0.10	72	2	0.08-0.13	89	4
0.10-0.15	94	6	0.13-0.21	86	3
0.15-0.23	96	4	0.21-0.34	87	3
0.23-0.34	90	6	0.34-0.55	85	3
0.34-0.51	89	3	0.55-0.89	91	5
0.51-0.77	88	4			

Таблица 4. Результаты выбора оптимальной цветовой шкалы сравнения

Тест-система	Граница цвето-различения на шкале, ΔE*	Работоспособная шкала			
		q=2	q=3	q=1,5	q=1,62
Fe^{3+}-SCN^--ППУ	4	+	+	-	-
Co^{2+}-SCN^--ППУ	4	+	+	-	-
NO_2^--ППУ	3	+	+	-	+
РИБ-Со-Тест	4	+	+	-	-
Co^{2+}-НРС-желат. пл.	-	+	+	-	-
ΣM^{2+}-ПАР-желат. пл.	-	+	+	-	-
Al^{3+}-ЭХЦ-желат. пл.	-	+	+	-	-

В этом диапазоне на шкале с q=2 шаг цветоразличения ΔE*=4-6, а на шкале с q=3 — ΔE*=7-8. Выше указанных концентраций интенсивность цвета таблеток резко увеличилась, и, следовательно, увеличилось значение разности ΔE*.

При определении кобальта(II) в виде голубых тиоцианатных комплексов на ППУ наблюдали похожую ситуацию. Равноконтрастность шкалы с коэффициентом 2 соблюдалась в интервале концентраций $c(Co^{2+})$=0,03-0,5 мг/л (ΔE*≈4), при более высоких концентрациях значение ΔE* резко возросло, однако более 90% наблюдателей видели различие голубого цвета таблеток на всем концентрационном интервале шкалы. Шкалы с коэффициентами q=1,5 и q=1,618 оказались неработоспособными при $c(Co^{2+})$<0.5 мг/л.

В случае хемосорбционного определения NO_2^- равноконтрастными были все шкалы в диапазоне концентраций NO_2^- от 0,1 до 1,6 мг/л, кроме шкалы с коэффициентом 1,5. Условие P(c)>90% выполнялось при ΔE*≥3, т.е. оттенки желтого цвета на ППУ глаз различал лучше, чем оттенки голубого и красного.

Таким образом, значение ΔE*=4 можно принять в качестве граничного для визуального цветоразличения оттенков красного и голубого цветов на ППУ и оттенков красного цвета на желтом фоне бумаги, а значение ΔE*=3 — для цветоразличения оттенков желтого цвета на ППУ (табл. 4). Если следовать рекомендациям [11], для создания равноконтрастных цветовых шкал с шагом ΔE*=10 концентрацию ионов Fe^{3+}, Co^{2+} и NO_2^- пришлось бы увеличивать более чем в 3 раза, что для практических целей нецелесообразно.

К довольно неожиданным результатам мы пришли при изучении тест-систем на основе

© Е.А. Решетняк, Ю.В. Холин, В.Н. Шевченко

желатиновой пленки. Значение общего цветового различия иммобилизованного комплекса ионов Co^{2+} с нитрозо-Р-солью практически не изменялось вплоть до средины концентрационных диапазонов всех шкал (до $c(Co^{2+}) \sim 1,5$ мг/л), а разность ΔЕ*, соответственно, была равна нулю (табл. 5). При более высоких концентрациях комплекса разность ΔЕ* не превысила значение 2,5. Похожие результаты получены для тест-систем, предназначенных для определения Al(III) с ЭХЦ (табл. 6) и суммы ионов металлов с ПАР (табл. 7).

Таблица 5. Значения разности ΔЕ* и частоты обнаружения различия цвета соседних эталонных образцов цветовых шкал для тест-системы Co^{2+}-НРС-желатиновая пленка

Интервал $\Delta c(Co^{2+})$, мг/л	Р,% (N=50)	$\Delta E^* = \Delta E_{n+1} - \Delta E_n$	Интервал $\Delta c(Co^{2+})$, мг/л	Р,% (N=50)	$\Delta E^* = \Delta E_{n+1} - \Delta E_n$
q=2			q=3		
0-0.3	98	0	0-0.3	97	0
0.3-0.6	100	0	0.3-0.9	100	0
0.6-1.2	92	0	0.9-2.7	100	2.5
1.2-2.4	94	2	2.7-8.1	98	4
2.4-4.8	96	2			
4.8-9.6	94	2			
q=1.5			ряд Фибоначчи		
0-0.30	96	0	0-0.3	96	0
0.30-0.45	62	0	0.3-0.4	51	0
0.45-0.7	65	0	0.4-0.7	65	0
0.7-1.0	80	0	0.7-1.1	90	0
1.0-1.5	76	0	1.1-1.8	92	0.5
1.5-2.3	96	2	1.8-2.9	96	1.5
2.3-3.4	85	2	2.9-4.7	96	2
3.4-5.1	79	1.5	4.7-7.6	88	2.5
5.1-7.7	100	3			

Таблица 6. Значения разности ΔЕ* и частоты обнаружения различия цвета соседних эталонных образцов цветовых шкал для тест-системы Al^{3+}-ЭХЦ-желатиновая пленка

Интервал $\Delta c(Al^{3+})$, мг/л	Р,% (N=50)	$\Delta E^* = \Delta E_{n+1} - \Delta E_n$	Интервал $\Delta c(Al^{3+})$, мг/л	Р,% (N=50)	$\Delta E^* = \Delta E_{n+1} - \Delta E_n$
q=2			q=3		
0-0.14	90	1	0-0.14	90	1
0.14-0.27	92	0	0.14-0.41	98	0
0.27-0.54	95	0	0.41-1.23	100	1
0.54-1.08	98	0	1.23-3.69	100	1
1.08-2.16	100	1			
q=1.5			ряд Фибоначчи		
0-0.14	90	1	0-0.14	90	0
0.14-0.20	60	0	0.14-0.16	26	0
0.20-0.30	54	0	0.16-0.30	86	0
0.30-0.46	96	0	0.30-0.46	90	0
0.46-0.70	94	1	0.46-0.76	96	0
0.70-1.05	80	1	0.76-1.22	100	2
1.05-1.57	92	0	1.22-1.98	86	1
1.57-2.36	92	1			

Таблица 7. Значения разности ΔE* и частоты обнаружения различия цвета соседних эталонных образцов цветовых шкал для тест-системы ΣMe^{2+}-ПАР-желатиновая пленка

Интервал Δc(ΣMe^{2+}),10^{-5} М	P,%(N=50)	$\Delta E^* = \Delta E_{n+1} - \Delta E_n$	Интервал Δc(ΣMe^{2+}),10^{-5} М	P,%(N=50)	$\Delta E^* = \Delta E_{n+1} - \Delta E_n$
q=2			q=3		
0-0,50	100	0	0-0,33	60	0
0,5-1,0	100	0	0,33-1,0	100	1
1,0-2,0	92	1	1,0-3,0	100	2
2,0-4,0	100	2	3,0-9,0	100	2
4,0-8,0	98	2	9,0-27,0	100	1
8,0-16,0	74	1			
q=1.5			ряд Фибоначчи		
0-0,45	96	0	0-0,5	100	0
0,45-0,70	54	0	0,5-0,8	64	0
0,7-1,0	84	0	0,8-1,2	72	0,5
1,0-1,5	100	0	1,2-2,0	100	0
1,5-2,3	100	1	2,0-3,0	100	1,5
2,3-3,4	32	0	3,0-5,0	46	0
3,4-5,1	100	3	5,0-8,0	98	2
5,1-7,6	24	0	8,0-13,0	50	1
7,6-11,4	24	0			

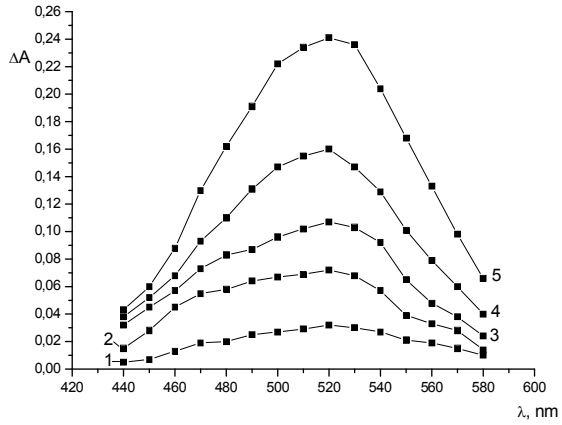

Рис 1. Спектры суммарного поглощения комплексов ионов металлов (Zn^{2+}, Pb^{2+}, Cu^{2+}, Co^{2+}, Ni^{2+}, Cd^{2+}) с ПАР в желатиновой пленке при суммарной концентрации ионов металлов: 1 — $0{,}5\cdot10^{-5}$ моль/л, 2 — $1{,}0\cdot10^{-5}$ моль/л; 3 — $2{,}0\cdot10^{-5}$ моль/л; 4 — $4{,}0\cdot10^{-5}$ моль/л; 5 — $8{,}0\cdot10^{-5}$ моль/л.

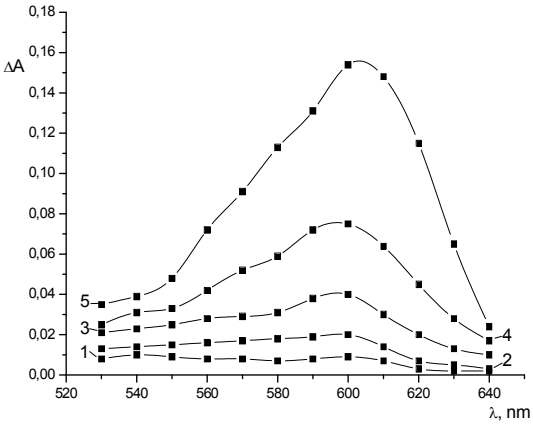

Рис. 2. Спектры поглощения комплекса ионов Al^{3+} с ЭХЦ в желатиновой пленке в присутствии ЦПХ при различной концентрации ионов Al^{3+} в растворе: 1 — $0{,}5\cdot10^{-5}$ моль/л; 2 — $1{,}0\cdot10^{-5}$ моль/л; 3 — $2{,}0\cdot10^{-5}$ моль/л; 4 — $4{,}0\cdot10^{-5}$ моль/л; 5 — $8{,}0\cdot10^{-5}$ моль/л.

Разность ΔE* превысила нулевое значение при $c(Al^{3+}) \sim 0{,}5$ мг/л и при $c(\Sigma M^{2+}) \sim 1\cdot10^{-5}$ моль/л. Приведенные на рис. 1 и 2 спектры поглощения иммобилизованных в пленке комплексов и кривые насыщения (рис. 3) доказывают, что с увеличением концентрации ионов металлов в растворе пропорционально растет концентрация продуктов тест-реакций в среде желатинового геля и растет при этом аналитический сигнал.

Более 90% наблюдателей различали цвет соседних эталонных образцов шкалы на всем диапазоне исследуемых концентраций для трех изученных тест-систем. В качестве оптимальных были выбраны цветовые шкалы с коэффициентами q=2 и q=3.

Итак, для тест-систем на основе прозрачной желатиновой пленки проверить равноконтрастность шкал с помощью метода цветометрии и установить критерий цветоразличения не удалось, но статистика наблюдений позволила выбрать оптимальную цветовую шкалу.

Нельзя сформулировать единых рекомендаций и единых критериев для построения цветовых шкал с использованием различных сорбентов. При выборе оптимальной шкалы для визу-

© Е.А. Решетняк, Ю.В. Холин, В.Н. Шевченко

альной колориметрии предпочтение следует отдать визуальному методу, в каждом конкретном случае нужно выбирать ту геометрическую концентрационную прогрессию и тот цвет фона, при которых более 90% большого числа наблюдателей (~50) будут различать по цвету соседние эталонные образцы шкалы.

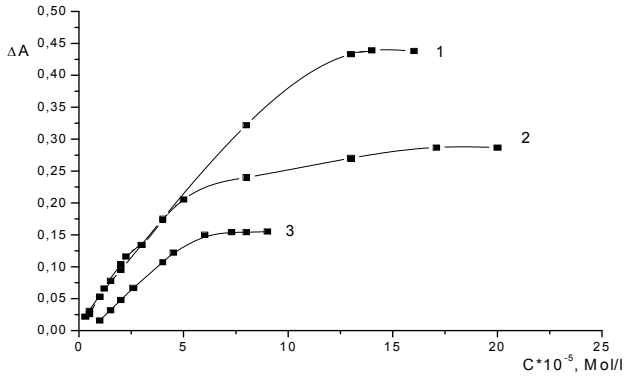

Рис. 3. Зависимость поглощения комплексов, иммобилизованных в желатиновой пленке, от концентрации ионов металлов в растворе:
1 — Co^{2+} с НРС, λ_{max}=435 нм; 2 — ΣM^{2+} с ПАР, λ_{max}=520 нм; 3 — Al^{3+} с ЭХЦ, λ_{max}=600 нм.

Представление результатов визуального тестирования

Содержание аналита в контрольном образце оценивают по цветовой шкале сравнения, учитывая правила: - если цвет контрольного образца совпадает с цветом эталонного образца шкалы, то контрольному образцу приписывают концентрацию, отвечающую эталонному образцу шкалы;

- если цвет контрольного образца является промежуточным относительно двух соседних эталонных образцов шкалы, то контрольному образцу приписывают концентрацию, равную середине диапазона, т.е., если неизвестная концентрация аналита в пробе c_x попадает между n и n+1 членами ряда, то $c_x=(c_n + c_{n+1})/2$.

Цветовая шкала, построенная в соответствии с геометрической прогрессией $c_{n+1}=qc_n$:

0; c_1; c_2; c_3; c_4, (7)

не является равномасштабной, величина каждого последующего интервала на шкале увеличивается по сравнению с предыдущим в *q* раз. Только на логарифмической шкале получаются равные по величине интервалы $\Delta lg\ c = lg\ c_{n+1} - lg\ c_n = lg\ q$, внутри которых результаты определения распределены симметрично относительно середины и должны подчиняться логнормальному закону (эти положения были подтверждены в работе [4]). Внутри интервалов ряда геометрической прогрессии $c_{n+1}=qc_n$ центр рассеяния вариант соответствует среднему геометрическому значению, поэтому в случае попадания c_x между n и n+1 членами ряда правильнее приписывать полученному результату не среднее арифметическое, а среднее геометрическое значение, т.е. $c_x=\sqrt{c_n \cdot c_{n+1}}$. Однако для шкалы с коэффициентом q=2 различие двух средних оценок не превышает 6%, что на фоне общей неопределенности результатов визуального колориметрического определения не является значимым.

Экспериментаторы, получая результаты тестирования, нередко сталкиваются с, казалось бы, парадоксальными ситуациями. Например, все наблюдатели, используя цветовую шкалу, получили одинаковый результат определения аналита в пробе. Эксперимент повторили еще два раза, приготовив новые шкалы и контрольные образцы, результаты тестирования уже различались между собой, дисперсии средних имели какие-то значимые величины. Можно ли утверждать, что средний результат анализа в первой серии определений получен с нулевой погрешностью? Как проверить дисперсии на однородность и можно ли объединить результаты трех выборок? Критерий Кохрена (как и Q-критерий) в этом случае не работает. Следовательно, традиционный подход к обработке результатов тестирования, полученных на основе концентрационных цветовых шкал, применять нельзя.

Для представления результатов визуального колориметрического определения следует применять статистику интервальных данных, в которой элементами выборки являются не числа, а интервалы. Методы статистики интервальных данных применяют при решении традиционных эконометрических задач, в инновационном менеджменте [25], в биометрии [26].

При увеличении числа параллельных определений (N) длина интервалов на цветовой шкале не меняется, значение N будет сказываться только на точности оценки среднего. Диапазон разброса результатов определения (аналог доверительного интервала) будет ограничен либо реперными точками шкалы, либо средними значениями соседних интервалов на шкале.

Пусть для визуального колориметрического определения была приготовлена шкала (7), тогда по результатам анализа возможны такие варианты представления среднего результата и диапазона разброса результатов определения (табл. 8):

1. если N результатов определения попали в интервал шкалы c_1–c_2, тогда средний результат вычисляют как Σc_i / N, а диапазон разброса результатов определения для среднего указывают от c_1 до c_2;

2. если все результаты определения и, следовательно, средний результат совпали со значением концентрации на шкале, например с c_2, то границы диапазона разброса результатов определения указывают от середины интерва-

ла, находящегося слева от c_2, до середины интервала, находящегося справа от c_2, т.е. от $(c_1+c_2)/2$ до $(c_2+c_3)/2$;

3. если часть результатов определения (n_1) отвечает интервалу c_1–c_2, а часть результатов (n_2) — соседнему интервалу c_2–c_3, то средний результат вычисляют как $\Sigma c_i / (n_1+n_2)$, а диапазон разброса результатов определения для среднего указывают от c_1 до c_3, т.е. диапазон разброса результатов определения включает два соседних интервала на шкале (получив такой результат, следует задуматься о правильном выборе цветовой шкалы). Результаты визуального колориметрического определения Al(III) с эриохромцианином R, иммобилизованным в желатиновой пленке, представленные в табл. 9, были вычислены с учетом приведенных правил. Для трех стандартных растворов было приготовлено по два контрольных образца пленок и пять наблюдателей оценивали концентрацию ионов Al^{3+}, используя четыре шкалы сравнения (диапазоны концентраций на шкалах указаны в табл. 6). Задавая концентрацию алюминия 0,95 мг/л, по шкале с q=1,5 были получены следующие десять результатов определения: 0,58; 0,70; 0,70; 0,70; 0,87; 0,87; 0,87; 0,87; 0,87; 1,1 мг/л со средним значением 0,81 мг/л. Полученные результаты отвечали двум концентрационным диапазонам шкалы: 0,46-0,70 и 0,70-1,1 мг/л.

Таблица 8. Примеры представления результатов визуального колориметрического определения с использованием цветовой шкалы сравнения

Результаты определения	Число определений	Средний результат	Диапазон разброса результатов определения
внутри интервала c_1 — c_2	N	$\Sigma c_i / N$	от c_1 до c_2
все $c_i = c_2$	N	c_2	от $(c_1+c_2)/2$ до $(c_2+c_3)/2$
внутри интервалов c_1 — c_2 и c_2 — c_3	$N=n_1+n_2$	$\Sigma c_i / (n_1+n_2)$	от c_1 до c_3

Таблица 9. Результаты визуального колориметрического определения Al^{3+} с эриохромцианином R, иммобилизованным в желатиновой пленке

Шкала,q	$c(Al^{3+})$, мг/л		Число интервалов шкалы, с ответами наблюдателей	Интервал разброса результатов определения Δc, мг/л
	Введено	Найдено (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
2	1.75	1.62	1	1.08-2.16
3		1.58	1	1.23-3.69
1.618		1.46	1	1.22-1.98

Поэтому диапазон разброса результатов определения для среднего результата указали от 0,46 до 1,1 мг/л. По шкале с рядом Фибоначчи при заданной концентрации алюминия 0,35 мг/л все результаты определения и средний результат совпали со значением 0,46 мг/л (с реперной точкой шкалы), поэтому диапазон разброса результатов ограничили серединами диапазонов, окружающих найденную концентрацию — от 0,38 до 0,61 мг/л. Данные табл. 9 подтверждают правильность выбора цветовой шкалы для определения алюминия с ЭХЦ — более точные результаты определения были получены, используя цветовую шкалу с коэффициентом q=2.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарны проф. В.М. Островской (ИОНХ РАН) за предоставление образцов индикаторных бумаг, Я.А. Бондаренко (НТК «Институт Монокристаллов» НАН Украины) за помощь в проведении измерений на спектрофотометре СФ-2000, проф. В.И. Вершинину (Омский государственный университет им. Ф.М. Достоевского) за интерес к работе и ценные советы.

© Е.А. Решетняк, Ю.В. Холин, В.Н. Шевченко

ЛИТЕРАТУРА

1. Золотов Ю.А., Иванов В.М., Амелин В.Г. Химические тест-методы анализа. — М.: Изд. «Эдиториал УРСС», 2002. — 302 с.
2. Островская В.М., Запорожец О.А., Будников Г.К., Чернавская Н.М. Вода. Индикаторные системы. — Москва, 2002. — 226 с.
3. Князев Д.А., Иванов В.М., Самохвалов С.Г., Золотов Ю.А., Маркина В.М., Князев В.Д. Блистерные капельно-таблетные тесты на нитраты и нитриты // Журн. аналит. химии. — 2002. — 57, №1. — С. 85–92.
4. Князев Д.А., Жевнеров А.В., Иванов В.М., Князев В.Д. Коррекция градуировочной шкалы для визуального полуколичественного экспресс-определения фосфат-ионов в сельскохозяйственных объектах // Журн. аналит. химии. — 2006. — 61, №12. — С. 1249–1253.
5. Бабко А.К., Пилипенко А.Т. Фотометрический анализ. Общие сведения и аппаратура. — М.: Химия, 1968. — 388 с.
6. Экспериандова Л.П., Химченко С.В. Ряд Фибоначчи в тест-анализе и граница зрительного восприятия // Методы и объекты химического анализа. // 2008. — 3, №1. — С. 113-116.
7. Иванов В.М., Морозко С.А., Качин С.В. Тест-методы в аналитической химии. Обнаружение и определение кобальта иммобилизованным 1-(2-пиридилазо)-2-нафтолом // Журн. аналит. химии. — 1994. — 49, №8. — С. 857-861.
8. Иванов В.М., Морозко С.А., Сабри Массуд. Тест-методы в аналитической химии. Реакция на уран (IV) и его определение методом спектроскопии диффузного отражения // Журн. аналит. химии. — 1995. — 50, №12. — С. 1280–1287.
9. Морозно С.А., Іванов В.М. Тест-методы в аналитической химии. Раздельное определение меди и цинка методом цветометрии // Журн. аналит. химии. — 1997. — 58, №8. — С. 858-865.
10. Кузнецова О.В. Применение иммобилизованных органических реагентов в сорбционно-оптических и химических тест-методах: Автореферат дис. канд. хим. наук: 02.00.02 / МГУ им. М.В. Ломоносова. — М., 2000. — 23 с.
11. Иванов В.М., Кузнецова О.В. Химическая цветометрия: возможности метода, области применения и перспективы // Успехи химии. — 2001. — 70, №5. — С. 411-428.
12. Алюкаева А.Ф., Иванов В.М., Цыцарин А.Г. Тестирование и цветометрическое определение железа(II, III) в форме сорбата фенантролината железа(II) // Журн. аналит. химии. — 2002. — 57, №11. — С. 1197-1201.
13. Кириллов Е.А. Цветоведение. М.: Легпромбытиздат, 1987. — 128 с.
14. Запорожец О.А., Иванько Л.С., Быкова Л.В., Мостовая Н.А. Сорбционно-спектрофотометрическое и тест-определение цинка(II) в виде разнолигандного комплекса с 1,10-фенантролином и бромфеноловым синим // Журн. аналит. химии. — 2004. — 59, №1. — С. 29–34.
15. Запорожец О.А., Цюкало Л.Е. Тест-определение свинца и цинка в воде с использованием иммобилизованного на кремнеземе ксиленолового оранжевого // Журн. аналит. химии. — 2004. — 59, №4. — С. 434–439.
16. Запорожець О.А., Качан І.А., Зінько Л.С., Євлаш Ю.П., Шевченко С.І. Твердофазні аналітичні реагенти на основі іммобілізованих на кремнеземах гетерополікислот та їх іонних асоціатів // Вісн. Харк. нац. ун-ту. Хімія. — 2007. — 15(38), № 770. — С. 155-162.
17. Наджафова О.Ю., Лагодзинская С.В., Сухан В.В. Индикаторная бумага для тест-определения алюминия в растворах // Журн. аналит. химии. — 2001. — 56, №2. — С. 201–205
18. Кравченко М.С., Осыка В.Ф. Унифицированные методы исследования качества вод. Тестовые методы анализа. М.: СЭВ, постоянная комиссия по сотрудничеству в области охраны окружающей среды, 1990. — 120 с.
19. Умланд Ф., Янсен А., Тириг Д., Вюнш Г. Комплексные соединения в аналитической химии. М: Мир, 1975. — 536 с.
20. Бугаєвський О.А., Дрозд А.В., Науменко В.А., Юрченко О.І. Навчальний посібник. Лабораторний практикум з аналітичної хімії. Харків: ХДУ, 1999. — 140 с.
21. Вода питна. Нормативні документи. Довідник у 2 т. / За ред. Іванова В.І. — Львів: НТЦ «Леонорм-стандарт», Т. 1, 2001. — 260 с.
22. Дмитренко С.Г. Сорбционно-фотометрические и тест-методы анализа с применением пенополиуретанов. М.: МГУ, 2003. — 30 с.
23. Джеймс Т. Теория фотографического процесса. Л.: Химия, 1980. — 672 с.
24. Унифицированные методы исследования качества вод. Часть 1. Методы химического анализа вод. Том 1. Основные методы. Москва, 1987. — 592 с.
25. Орлов А.И. Эконометрика. М.: Экзамен, 2002. — 576 с.
26. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высш. шк., 1990 — 352 с