

# ХИМИЯ

Известия ТСХА, выпуск 1, 2002 год

УДК 543.4:54.412.2

## СПОСОБ КАПЕЛЬНО-ТАБЛЕТНОГО КОЛОРИМЕТРИЧЕСКОГО ЭКСПРЕСС-АНАЛИЗА

Д. Л. КНЯЗЕВ, В. М. ИВАНОВ, С. Г. САМОХВАЛОВ,  
Ю. А. ЗОЛОТОВ, В. М. МАРКИНА, В. Д. КНЯЗЕВ

(Кафедра неорганической химии)

**Предлагается способ контроля качества продукции или параметров технологий при определении экологического состояния почв, вод, растений и других объектов окружающей среды; тестировании пищевой продукции, лекарственных средств и т. п.**

Ближайшими прототипами предлагаемого способа являются: капельная колориметрия на специальных пластинках [1, 2], а также таблетная колориметрия, использующая готовые к применению таблетки или порошкообразные смеси — россыпи, в которых резервированы все аналитические препараты, необходимые для осуществления конкретной цветной реакции [3—6]. Для первого прототипа, разработанного Н. А. Тананаевым [1], характерно выполнение колориметрической реакции в объеме капли или даже микрокапли исследуемого раствора. Второй прототип, таблетная колориметрия, используется в настоящее время как сред-

ство массового тестирования, но достигается это применением значительных объемов анализируемых проб.

Аналогами предлагаемого способа являются пластмассовые палочки (Stabchen) фирмы Merck [7] и реактивные индикаторные бумаги (РИБ) или пластинки (РИП) [8]. Их отличие от способов-прототипов состоит в том, что в них используются спектры отражения, а не спектры пропускания.

Суть предлагаемого способа заключается в следующем. Таблетки или порции россыпей вплоть до применения хранятся в герметизированных ячейках блистерных упаковок подобно обычным лекарственным таблеткам.

Блистерная упаковка реализует герметичный способ хранения таблеток в ячейках-блистерах, образованных в пластиковой фольге и закрытых другим слоем металлической фольги или плотной бумаги. Непосредственно перед тестированием герметизирующую фольгу снимают с блистерной ячейки, наносят на таблетку (или россыпь) одну или несколько капель исследуемой жидкости. Капли имеют объем около 0,05 мл, их число (1, 2, 3 ...) задается конкретной методикой, массой таблетки (россыпи) или объемом ячейки. С момента нанесения капель пробы начинает протекать цветная реакция. Интенсивность и оттенок окраски пробы в блистерной ячейке по истечении нескольких минут стабилизируются, после чего результат сравнивают с цветной шкалой, полученной с использованием растворов определяемого вещества различных концентраций. Возможно также прямое сравнение с окрасками, образуемыми в других блистерных ячейках растворами с известными концентрациями.

Таким образом, идея способа состоит в объединении трех элементов: визуального колориметрирования в микрообъеме, резервирования реагентов и средообразователей в специальной таблетке или в порционированном ко-

личестве порошкообразной россыпи, и наконец, выполнения тест-определения в той же блистерной ячейке, которая служила для герметичного хранения таблетки или россыпи. Эта идея требует разработки специальных таблеток и россыпей, способных давать нужный колориметрический эффект в очень малых объемах анализируемой пробы и, что существенно, без внешнего вмешательства с самого момента внесения пробы в ячейку с таблеткой или россыпью.

Общие характеристики предлагаемого способа, его прототипов и аналогов сопоставлены в таблице на примере определения нитрат-иона. В случае капельной колориметрии известен лишь способ открытия этого иона [2] и поэтому капельная колориметрия охарактеризована типичными показателями [1, 2].

Предлагаемый способ отличается от своих прототипов и аналогов специфичным для него сочетанием используемых средств и приемов. Специфичными для него средствами являются таблетки или россыпи специального состава, обеспечивающего их функциональную пригодность, а также ячейки блистера, выполняющего функцию герметичной емкости при хранении таблеток и россыпей и превращающиеся в емкости-кюветы, в которых

## Сравнительная характеристика методов

Способ	Капельная колориметрия [1, 2]	Колориметрия с таблетками и россыпями [3-6, 9, 10]	Капельно-таблеточная колориметрия	Тест-палочки фирмы Merck [7]	Реактивные индикаторные полосы, РИП [8]
Причина рассмотрения способа	Прототип	Прототип	Предлагаемый способ	Аналог	Аналог
Природа используемого спектра	Пропускание	Пропускание	Отражение	Отражение	Отражение
Устройство, в котором локализуется наблюдаемая окраска	Капля	Колориметрическая кювета	Блистерная ячейка	Тест-палочка с многослойным покрытием	РИП с тремя слоями реагентов
Инструментарий	Растворы, мини-капельницы, мини-капилляры и др.	Колориметр, кюветы, таблетки (россыпи), простая посуда	Блистерная упаковка с таблетками, пипетка, шкала	Мини-контейнер с РИП, пипетка, шкала	Мини-контейнер с РИП, пипетка, шкала
Условия выполнения	Лаборатория	Крытое помещение	«Полевые условия»	«Полевые условия»	«Полевые условия»
Компактность и транспортабельность	Низкие	Средние	Высокие	Высокие	Высокие
Квалификация исполнителя	Опытный профессионал	Малопытный исполнитель	Не имеющий опыта исполнитель	Малопытный исполнитель	Малопытный исполнитель

*Общие характеристики*

Метрологические характеристики

Интервал или градация измеряемых концентраций, их верхний предел, мг/л	10-1000 1000 (верхний предел)	20-2000	0-10-30-60- 100-250-500	0-10-20-50- 100-200-500
Относительная погрешность визуального колориметрирования, % к измеряемой концентрации	±10-20	±5-10	±40-70 (см. верхнюю строку)	±40-50 (см. верхнюю строку)

Характеристики процедуры тестирования

Объем анализируемой пробы, мл	-0,05	5-10	0,05-0,20	-0,10	0,05-0,10
Число операций (без подготовительных)	4-10	4-9	2	2	2
Время выполнения, мин	15-60	15-30	5-7	-2	8

осуществляют и наблюдают цветные реакции. Специфичный прием состоит в том, что одна или несколько капель анализируемого раствора наносится на таблетку или россыпь, масса и объем которой сопоставимы с массой или объемом наносимой пробы и вместимостью блистерной ячейки.

Капельно-таблетный способ превосходит свои прямые прототипы по ряду признаков группы «общие характеристики». Он практически безинструментален, работоспособен в полевых условиях, компактен и транспортабелен, не требует квалифицированного исполнителя. Он превосходит свои прототипы и по простоте процедуры выполнения и экспрессности.

Предлагаемый способ отличается от способов-аналогов не только природой используемого явления (спектр пропускания), но и превосходит их по точности и конструкционной простоте устройства, в котором локализуется наблюдаемая окраска цветной реакции.

Последнее утверждение нуждается в разъяснении. Тест-палочки фирмы Merck имеют непростую конструкцию. У них есть небольшие тест-зоны, на площади которых в несколько слоев импрегнированы реагенты разного назначения. У нитратной тест-палочки это восстановитель, буферная смесь и реагенты цветной реакции, обес-

печивающие ее трехстадийное протекание в режиме диффузного смешения действующих веществ; слои импрегнированных порошкообразных реагентов достаточно тонки.

Аналогичная трехстадийная цветная реакция для тестирования нитрат-иона в РИП обеспечивается 3 слоями реагентов, нанесенных на 2 бумажных слоя, между которыми размещен слой восстановителя. Во внешнем покрытии РИП есть 2 окошка. Верхнее используют для нанесения 1–2 капель анализируемого раствора, нижнее — при наблюдении результата. При тестировании этим способом других веществ применяют более простые однослойные реактивные индикаторные бумаги (РИБ) [8]. Тесты с помощью РИБ выполняют с прокачиванием через слой индикаторной бумаги определенного объема анализируемого раствора с определенной скоростью, для чего используют довольно сложное механическое устройство. В результате требования к квалификации оператора инструментальный уровень теста, требуемые объемы раствора и время выполнения возрастают [8].

Сложность устройств для осуществления цветных реакций и локализации их визуальных эффектов в способах [7] и [8] есть следствие того, что все стадии необхо-

димо проводить в одном объеме и без каких-либо вмешательств в ход этих стадий и реакции в целом.

Основная трудность при разработке таблетки для предлагаемого метода состоит в необходимости совместить в объеме таблетки большое число различных веществ и предохранить их от преждевременного взаимодействия. Требования к средствам достижения этой цели удобно разделить на 3 группы.

Первая группа — это прежде всего обычные требования к колориметрической реакции: сильная сдвигнутость в сторону окрашенного продукта, ее избирательность, возможность устранения мешающих реакций, простота обеспечения необходимых условий, достаточная скорость образования стабильной окраски раствора и т. п. Эта группа становится в основном известной еще на стадии разработки базовой спектрофотометрической методики, но, кроме перечисленных, она включает и специфичные для капельно-таблетного способа требования. Сюда относится прежде всего необходимость использовать реакцию с сильно окрашенным продуктом. Необходимая окраска капли имеет сложную природу, а именно, из-за сферичности формы капли ее цвет, по-видимому, следует считать отвечающим

спектру «многократно нарушенного полного внутреннего отражения» [10]. Желательно также, чтобы окраска капли изменяла свой цвет по мере увеличения концентрации определяемого вещества, т. е. чтобы спектр отражения капли был дифференцирующим, меняя тон. Наконец, необходимость иметь плотную окраску означает, что все используемые реагенты, продукты и средообразователи должны иметь растворимость, обеспечивающую работоспособность способа.

Вторая группа требований направлена на сохранение готовности таблеток (россыпей) к применению в течение длительных сроков хранения. Эти требования аналогичны требованиям к сохранности медицинских таблеток, но отличаются значительно большей жесткостью, так как смеси лечебных препаратов состоят из не реагирующих друг с другом веществ и наполнителей и только так называемые разрыхлители представляют собой комбинацию из изолированных друг от друга карбонатов и кристаллических кислот.

Наконец, третья группа требований обусловлена спецификой капельно-таблетного способа как такового. Важнейшим здесь являются проведение всех стадий реакции в одном и том же малом объеме без какого-либо вмеша-

тельства оператора, начиная с момента внесения капле пробы в блистерную ячейку. Иными словами, все стадии реакции следует осуществлять в среде с мало изменяющимся кислотно-основными и другими общими свойствами. Кроме того, важно, чтобы реакционный объем перемешивался без внешнего вмешательства, а весь тест выполнялся за короткое время.

Помимо трех перечисленных групп требований существует и четвертая группа. Ее требования разнородны и не относятся к обеспечению работоспособности капельно-таблетного способа как такового. Они внешни по отношению к способу и состоят в следующем.

1. Таблетки должны отвечать актуальным задачам массового тестирования, например, установленным предельно допустимым нормам содержания токсикантов в пищевой продукции, природных водах, почвах и т. п.

2. Они должны быть безвредны для здоровья и экологически безопасны.

3. Они должны быть по возможности дешевы, а их изготовление целесообразно осуществлять в соответствии с нормативами, существующими в фармацевтической промышленности.

Из сказанного следует, что разработка таблеток и россыпей для их изготовления яв-

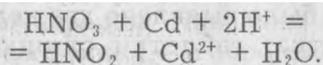
ляется сложной задачей, решение которой может быть найдено лишь в результате тщательного отбора вариантов. Рассмотрим результаты такого отбора на примере таблеток и россыпей для нитрат-аниона.

Среди колориметрических способов определения нитратов наибольшим выбором сильно окрашенных продуктов обладают реакции Грисса. Будучи хорошо исследованы, они предоставляют возможность надежного подбора окраски, реагентов и средообразователей, характеризуются малыми временами протекания. На их основе разработан ряд таблеток для определения иона  $\text{NO}_3^-$  с помощью визуальных компараторов и спектрофотометров [3~6, 9]. Чувствительность многих методик с применением таблеток отвечает диапазонам концентраций нитратов в пищевой продукции и в других объектах.

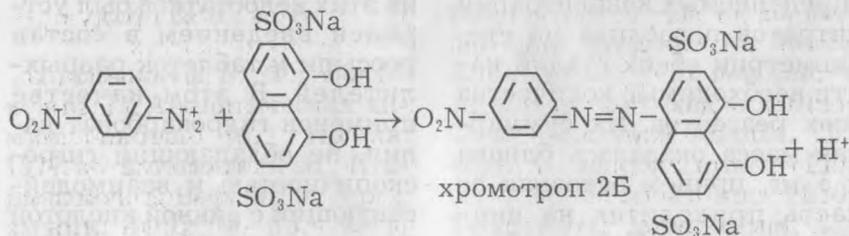
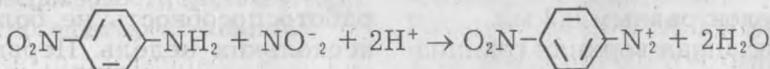
Выбор был остановлен на реакции Грисса-Илосвая в варианте [11], отличающимся от известного метода [12] заменой сульфаниловой кислоты на п-нитроанилин и канцерогенного а-нафтиламина на безвредную хромotropовую кислоту, а также тем, что стадии диазотирования и азосочетания можно проводить без изменения кислотности, что очень существенно для капельно-таблетного способа, где вмеша-

тельство в процедуру полностью исключено. Другим существенным преимуществом здесь является высокая плотность темно-вишневой окраски продукта — хромотропа 2Б и, что не менее важно, сложение его окраски с интенсивной желтой окраской п-нитроанилина. Суперпозиция этих окрасок позволяет с легкостью визуально дифференцировать все промежуточные тона от желто-оранжевых до вишневых.

В стандартной методике и во многих других модификациях реакции Грисса-Илюс-вая обычно в качестве восстановителя применяется порошкообразный кадмий



Кадмий канцерогенен; мы



Обе стадии количественно проходят при pH 1,5 -г 3,5, и требовалось отыскать соответствующую буферную смесь. Образующая ее кислота должна иметь рК в этом интервале и должна быть бесцветной, негигроскопичной, нетоксичной и

заменили его на практически безопасный в микроколичествах цинк. Это повлекло непредвиденный эффект — шкала определяемых визуально концентраций нитрата очень значительно выросла, а график оптическая плотность раствора — концентрация приобрел билогарифмический характер:  $\lg(I/I_0)$  —  $\lg C$  ( $I$  — интенсивность проходящего света,  $C$  — концентрация). Этот эффект имеет специфическую природу и был изучен, результаты будут сообщены в последующей публикации, а здесь авторы излагают лишь общую логику разработки.

В отобранной реакции на стадии диазотирования требуемые значения pH составляют 1-3, на стадии азосочетания — около 2:

хорошо растворимой в кристаллическом состоянии. То же требуется от ее калиевой соли (натриевые соли более гигроскопичны). Испытания ряда органических кислот позволили остановить выбор на винной кислоте квалификации ХЧ.

Анализ нормативных ПДК для овощей, фруктов, соков и другой подобной продукции [14] показал, что таблетки должны обеспечивать визуальное определение нитратов в интервале концентраций 50-2000 мг/кг сырого продукта. Поскольку нередко существенные превышения ПДК, в качестве верхней границы была выбрана концентрация 6000 мг/л. Объем добавляемой к таблетке пробы был определен в 0,10 мл, т. е. в 2 капли глазной пипетки. Масса таблетки, в соответствии с фармацевтическим стандартом на эти изделия, была выбрана равной 50 мг (минимальная стандартная масса таблетки) и, наконец, объем блистерной ячейки, опять-таки в соответствии со стандартом был определен равным 0,2 мл.

Заданная верхняя граница определяемых концентраций нитратов позволила из стехиометрии обеих стадий найти необходимые количества всех реагентов. Их суммарная масса оказалась близка к 5 мг, причем основная ее часть приходится на винную кислоту. Таким образом, масса наполнителя должна составлять большую часть массы таблетки, а сам наполнитель должен быть бесцветным, негигроскопичным, очень хорошо растворяться в воде, не реагировать ни с одним из реагентов веществом.

После ряда испытаний многих соответствующих веществ мы остановились на сахарозе квалификации х. ч.

Таблетки изготавливаются фармацевтической промышленностью на высокопроизводительных автоматах-таблетирах. Россыпи, из которых эти автоматы формируют таблетки, должны быть однородными, сыпучими, иметь определенный гранулометрический состав, не электризоваться, легко получаться истиранием и перемешиванием исходных россыпей, содержащих один или более компонентов [14]. При испытании таблеток, полученных из россыпей на основе сахарозы, было выявлено два недостатка: таблетки слишком медленно растворялись в объеме 0,1 мл и сохраняли работоспособность не более нескольких недель. Первый из этих недостатков был устранен введением в состав россыпи и таблеток разрыхлителей. В этом качестве применен гидрокарбонат калия, не обладающий гигроскопичностью и взаимодействующий с винной кислотой с выделением пузырьков углекислого газа. Задача же продления сроков сохранности россыпей и таблеток в работоспособном состоянии была решена путем взаимной изоляции реагентов. С этой целью реагенты абсорбировались из растворов бесцветным

силикагелем, который затем высушивался и использовался в россыпях на основе сахарозы. Порошкообразный цинк также вмешивался в конкретную россыпь в виде первичной россыпи на основе сахарозы. Таблетки, изготовленные с помощью этих приемов, сохраняли стартовую готовность более года и давали по истечении этого срока результаты, которые не отличались от результатов свежизготовленных. Полное растворение таблетки в блистерной ячейке после добавления 0,1 мл пробы происходило за 6-7 минут. Эти две важнейших характеристики в сочетании с возможностью визуально различать концентрации, отношение которых равно 1,4, с определенностью свидетельствуют о работоспособности капельно-таблетного экспресс-анализа.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. **Вольнец В. Ф., Вольнец М. П.** Аналитическая химия азота. М.: Наука. 1977. — 2. **Иванов В. М., Ширинова А. Г.** Вест. МГУ, сер. 2, химия. 1992, т. 33, № 1, с. 63-68. — 3. Нормативные до-

кументы по контролю за содержанием токсикантов в продукции растениеводства. М.: Агропромиздат, 1988. — 4. **Муравьев И. А.** Технология лекарств. М.: Медицина, 1981. — 5. **Островская В. М.** Реактивные индикаторные средства (РИС) для многоэлементного тестирования' воды. М.: Образцовая типография, 1992. — 6. **Тананасе Н. А.** Капельный метод. М.-Л., Госхимиздат, 1954. — 7. Химическая энциклопедия. М., 1995, т. 4, с. 782-783. — 8. **Фойгль Н. А., Ангер В. Ю.** Капельный анализ неорганических веществ / Пер. с англ. М.: Химия, 1976. — 9. Aquarium Pharmaceuticals Inc. Water Test Kits. — <http://www.aqualinc.com/direct/testkit>. — 10. Aqualife Chemical Analysis Com. — <http://www.aqualife.ca/pocket>. — 11. Palintest Water Test. Palintest Web Qite — <http://www.palintest.com/dpd/test>. — 12. Rapid Test Handbook — Merck E, 1987, p. 191. — 13. Sea Test — Aquarium Systems Ins. 8141, Tyler Boulevard Mentor, OH 44060. — 14. Soil Tester — Lister Leaf Product Inc., 2220, Techcourt, Woodstock, IL. 60098.

*Статья поступила  
15 мая 2001 г.*

#### SUMMARY

The way of controlling quality of products or parameters of technologies with estimating ecological condition of soils, waters, plants and other objects of environment, tesling food products, medicine agents etc is suggested.