

НАУЧНАЯ СТАТЬЯ

УДК 543.422.7

**КОСВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВОДОРОДНОГО ПОКАЗАТЕЛЯ
РАСТВОРОВ МАЛОГО ОБЪЕМА МЕТОДОМ ЦИФРОВОЙ
ЦВЕТОМЕТРИИ****Кирилл Владимирович Осколок, Оксана Викторовна Моногарова,
Андрей Владимирович Гармай, Мария Михайловна Иванова**

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет, кафедра аналитической химии

Автор, ответственный за переписку: Кирилл Владимирович Осколок,
k_oskolok@mail.ru

Аннотация. Предложен способ косвенного определения водородного показателя водных растворов малого объема (от единиц до сотен микролитров) методом цифровой цветометрии с помощью бытовых оптических средств получения растровых изображений. Для нахождения pH не нужны постоянные цветовые шкалы или информация о концентрации кислотно-основного индикатора в растворе. Разработан прототип ручного pH-анализатора на базе смартфона для применения во внелабораторных условиях. Правильность результатов определения pH подтверждена методами ионометрии и спектрофотометрии.

Ключевые слова: определение pH, водные растворы малого объема, цифровая цветометрия, смартфон, офисный планшетный фотосканер

DOI: 10.55959/MSU0579-9384-2-2024-65-5-378-387

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания МГУ имени М.В. Ломоносова АААА-А21-121011590089-1 «Развитие высокоинформативных и высокотехнологичных методов химического анализа для защиты экосистем, создания новых материалов и передовых производственных технологий, перехода к экологически чистой и ресурсосберегающей энергетике, развития природоподобных технологий, высокотехнологичного здравоохранения и рационального природопользования».

Для цитирования: Осколок К.В., Моногарова О.В., Гармай А.В., Иванова М.М. Косвенное определение водородного показателя растворов методом цифровой цветометрии // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2024. Т. 65. № 5. С. 378–387.

ORIGINAL ARTICLE

**INDIRECT DETERMINATION OF THE HYDROGEN INDEX OF SMALL
VOLUME SOLUTIONS BY DIGITAL COLORIMETRY****Kirill V. Oskolok, Oksana V. Monogarova, Andrei V. Garmay, Mariia M. Ivanova**

Lomonosov Moscow State University, Department of Chemistry, Division of Analytical Chemistry

Corresponding author: Kirill V. Oskolok, k_oskolok@mail.ru

Abstract. A technique for indirect determination of the hydrogen index of aqueous solutions of small volume (from units to hundreds of μl) by digital colorimetry with the use of consumer optical raster imaging devices is proposed. To find pH, no fixed

color scales or information on the concentration of acid-base indicator in the solution is needed. A prototype of a hand-held analyzer based on a smartphone was developed for out-of-laboratory applications. The accuracy of pH determination results was confirmed by ionometry and spectrophotometry techniques.

Keywords: pH determination, low volume aqueous solutions, digital colorimetry, smartphone, office flatbed photoscanner

Financial Support. The work was carried out within the framework of the state task of the Lomonosov Moscow State University AAAA-A21-121011590089-1 «Development of highly informative and high-tech methods of chemical analysis for the protection of ecosystems, the creation of new materials and advanced production technologies, the transition to environmentally friendly and resource-saving energy, the development of nature-like technologies, high-tech healthcare and rational nature management».

For citation: Oskolok K.V., Monogarova O.V., Garmay A.V., Ivanova M.M. Indirect determination of the hydrogen index of low volume solutions by digital colorimetry // Vestn. Mosk. un-ta. Ser. 2. Chemistry. 2024. T. 65. № 5. S. 378–387.

Одним из наиболее часто контролируемых химико-аналитических показателей природных и технологических объектов при решении самых разных задач является водородный показатель. Для прямого определения pH растворов обычно используют потенциометрию, для косвенного – визуальную цветометрию [1, 2]. При этом достоинства одного метода отчасти компенсируют недостатки другого, и наоборот.

На сегодня потенциометрический метод определения водородного показателя является самым распространенным в силу своей универсальности. Действительно, он позволяет работать как с водными, так и неводными средами. Объем анализируемого раствора можно варьировать в очень широких пределах – от десятков миллилитров до десятых долей нанолитров. Время измерения, как правило, не превышает одной минуты. Стоимость бытовых pH-метров начального уровня составляет всего несколько тысяч рублей. Однако стоимость лабораторного прибора, обеспечивающего высокую точность результатов анализа, в десятки раз выше [3]. Стоимость микроэлектродов, предназначенных для работы с малыми и ультрамалыми объемам жидкости, в несколько раз выше стоимости обычного стеклянного электрода. Кроме того, стеклянные электроды требуют особых условий хранения. А для получения адекватных результатов анализа необходимо периодически проводить калибровку pH-метра.

Визуальную цветометрию обычно используют для экспрессной полуколичественной оценки pH водных растворов с помощью кислотно-

основных индикаторов. К достоинствам этого метода следует отнести техническую простоту и предельно низкую стоимость анализа. Применение универсальной индикаторной бумаги позволяет существенно расширить рабочий диапазон pH и проводить измерения для одной капли раствора (от 2 до 50 мкл). Серьезным ограничением метода является слишком низкая точность результатов определения [4]. Решению этой проблемы может способствовать цифровая фотографическая регистрация вместо субъективной визуальной оценки аналитического сигнала, а также отказ от использования постоянных цветовых шкал в пользу более гибких калибровочных зависимостей, учитывающих возможные изменения экспериментальных условий.

В последние 15–20 лет цифровую цветометрию активно используют для решения разных химико-аналитических задач, что связано с очень широким распространением бытовых оптических средств получения растровых изображений – смартфонов, цифровых фотокамер, офисных планшетных сканеров и т.п. Этот метод отличают, с одной стороны, достаточно высокие чувствительность и точность, а с другой, – техническая простота и доступность. Таким образом, цифровая цветометрия сочетает преимущества как инструментальных методов, так и тест-методов [5–7]. Стоимость бытовых оптических гаджетов невелика по сравнению со стоимостью сертифицированных средств измерения для проведения химического анализа. Особый интерес представляют компактные мобильные многофункциональные

устройства, прежде всего смартфоны. Сейчас они есть практически у всех. Возможность их использования одновременно в качестве приемника видимого излучения, регистрирующего устройства и средства обработки данных является полезным и бесплатным бонусом. Именно на базе смартфонов разумно создавать ручные анализаторы, пригодные в том числе для внелабораторного использования [8–11].

Формально косвенное цветометрическое определение водородного показателя возможно для растворов в очень широком диапазоне объемов, вплоть до ультрамалых (менее 1 нл). Например, с помощью флуоресцентных кислотно-основных индикаторов и оптического микроскопа можно определить pH внутриклеточной жидкости [12–14]. Однако наиболее перспективной нишей для этого метода представляется неинвазивное определение pH в малых объемах некоторых биологических жидкостей, а именно, выделений слюнных (pH 6,7–7,4), слезных (pH 6,5–7,8) и потовых (pH 3,8–6,2) желез. Изменение водородного показателя, наряду с другими, является одним из биомаркеров патологических процессов в организме человека [15–17]. Принимая во внимание, что диапазоны значений pH достаточно узки, можно создавать технически простые специализированные pH-анализаторы, используя только один индикатор для каждой биологической жидкости.

Цель настоящей работы состояла в создании и апробации способа косвенного цветометрического определения pH водных растворов малого объема (от единиц до сотен микролитров) с помощью смартфона / офисного планшетного фотосканера. Способ должен быть помехоустойчив и пригоден для исследований, в том числе для внелабораторного применения.

Теоретическая часть

Водородный показатель раствора с ненулевой ионной силой, очевидно, можно выразить через реальную константу кислотности добавленного кислотно-основного индикатора (органического красителя) и отношение равновесных концентраций его протонированной и депротонированной форм:

$$\text{pH} = \text{p}K_a - \lg R, \quad (1)$$

где

$$R = [\text{HInd}] / [\text{Ind}^-]. \quad (2)$$

Допустим, что протонированная форма красителя интенсивно поглощает свет в «синей»

области спектра (400–500 нм, индекс B в формулах), а депротонированная – в «зеленой» (500–600 нм, индекс G в формулах). Тогда для этих двух цветовых каналов можно составить систему линейных уравнений Фирордта:

$$\begin{aligned} A^B &= k_{\text{HInd}}^B l [\text{HInd}] + k_{\text{Ind}^-}^B l [\text{Ind}^-], \\ A^G &= k_{\text{HInd}}^G l [\text{HInd}] + k_{\text{Ind}^-}^G l [\text{Ind}^-], \end{aligned} \quad (3)$$

где A – условная оптическая плотность раствора, k – среднее значение коэффициента поглощения одной из двух форм красителя для рабочего интервала длин волн, вырезаемого одним из светофильтров (синим или зеленым) Байеровской матрицы ПЗС датчика, l – толщина поглощающего слоя раствора. Разделим оба уравнения сначала на равновесную концентрацию депротонированной формы красителя

$$\begin{aligned} A^B / [\text{Ind}^-] &= k_{\text{HInd}}^B l R + k_{\text{Ind}^-}^B l, \\ A^G / [\text{Ind}^-] &= k_{\text{HInd}}^G l R + k_{\text{Ind}^-}^G l, \end{aligned} \quad (4)$$

а затем друг на друга

$$A^B / A^G = (k_{\text{HInd}}^B R + k_{\text{Ind}^-}^B) / (k_{\text{HInd}}^G R + k_{\text{Ind}^-}^G). \quad (5)$$

Выразим из правой части равенства отношение равновесных концентраций разных форм красителя

$$\begin{aligned} R &= (A^G k_{\text{Ind}^-}^B - A^B k_{\text{Ind}^-}^G) / \\ &/ (A^B k_{\text{HInd}}^G - A^G k_{\text{HInd}}^B) \end{aligned} \quad (6)$$

и подставим в правую часть уравнения (1)

$$\text{pH} = \text{p}K_a - \lg \frac{A^G k_{\text{Ind}^-}^B - A^B k_{\text{Ind}^-}^G}{A^B k_{\text{HInd}}^G - A^G k_{\text{HInd}}^B}, \quad (7)$$

Принимая во внимание, что в цветовом пространстве RGB координаты цвета пропорциональны количеству лучистой энергии, прошедшей через соответствующий светофильтр Байеровской матрицы за время экспозиции, условную оптическую плотность раствора, например, по «зеленому» каналу можно вычислить по формуле

$$A^G = \lg (L_{\text{blank}}^G / L_{\text{sol}}^G), \quad (8)$$

где L^G – светлота (или яркость) «зеленого» канала, а нижние индексы sol и blank указывают на измеряемый раствор соответственно с красителем и без него (контрольный опыт). Более точное выражение учитывает вклад рассеянного излучения (индекс scatt), попавшего на ПЗС-датчик в обход кюветы с раствором:

$$AG = \lg \frac{L_{\text{blank}}^G - L_{\text{scatt}}^G}{L_{\text{sol}}^G - L_{\text{scatt}}^G}. \quad (9)$$

Вычислить средние коэффициенты поглощения обеих форм красителя (например, для «зеленого» канала) можно по формулам:

$$k_{HInd}^G = \frac{A^G / l}{[HInd]} = \frac{A_{HInd}^G / l}{c_{Ind^-}} \quad \text{при } pH < pK_a - 2, \quad (10)$$

$$k_{Ind^-}^G = \frac{A^G / l}{[Ind^-]} = \frac{A_{Ind^-}^G / l}{c_{Ind^-}} \quad \text{при } pH > pK_a + 2, \quad (11)$$

где c_{Ind^-} – общая концентрация красителя в растворе, A_{HInd}^G и $A_{Ind^-}^G$ – условная оптическая плотность растворов, содержащих только одну из форм красителя. Для получения более надежных значений следует выполнить регрессионный анализ экспериментальных зависимостей $A(c_{Ind^-})$ в пределах одного порядка шкалы концентраций красителя. Для нахождения более представительного значения параметра pK_a в уравнении (7) можно воспользоваться формулой для среднего:

$$\overline{pK_a} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \left(pH_i + \lg \frac{A_i^G k_{Ind^-}^B - A_i^B k_{Ind^-}^G}{A_i^B k_{HInd}^G - A_i^G k_{HInd}^B} \right), \quad (12)$$

применив ее к серии из n буферных растворов (индекс i) с известными значениями pH в интервале $pK_a \pm 1,0$. Ионная сила этих растворов должна быть максимально близка ионной силе анализируемых растворов. Итоговое выражение для расчета водородного показателя анализируемого раствора с учетом формул (7, 10–12) перепишем следующим образом:

$$pH = \overline{pK_a} - \lg \frac{A^G k_{Ind^-}^B - A^B k_{Ind^-}^G}{A^B A_{HInd}^G - A^G k_{HInd}^B}. \quad (13)$$

Весь представленный в разделе формализм можно применить при косвенном спектрофотометрическом определении водородного показателя растворов. Только вместо условной оптической плотности для рабочих интервалов длин волн светофильтров Байеровской матрицы следует использовать оптическую плотность при длине волны максимумов полос в спектрах поглощения.

Экспериментальная часть

Приборы и материалы

В работе использованы красители феноловый красный (ФК) и бромкрезоловый зеленый (БЗ, «ч.д.а.» «ЛенРеактив», Россия), уксусная (99,8%, «х.ч.»), ортофосфорная (87%, «х.ч.») и борная (99,8%, «х.ч.») кислоты («ЛенРеактив»,

Россия), гидроксид натрия (гранулированный, «ч.д.а.» «ЛенРеактив», Россия), спирт этиловый медицинский (95%, ЗАО «Северная медицинская компания», Россия), набор буферных растворов с pH 4,01; 7,00 и 10,01 («Merck», Германия).

Оборудование и вспомогательные материалы для цветометрического анализа: офисный планшетный фотосканер «EPSON Perfection 1670» (Япония), смартфон «Apple iPhone 12 Pro» (США), 96-луночный микропланшет из прозрачного полистирола («Greiner AG», Австрия) с плоским дном (емкость лунки 350 мкл), целлюлозная хроматографическая бумага Whatman 17 Chr («Cytiva», США), белые полипропиленовые наконечники емкостью 10 мкл для механической пипетки «BioHit» (Китай). Для измерения водородного показателя водных растворов методом цифровой цветометрии из подручных средств на базе смартфона «Xiaomi Mi 9T» (Китай) был также собран простой ручной pH -анализатор.

Спектры поглощения водных растворов в видимом диапазоне длин волн измеряли на одноручном спектрофотометре «PG T70» (Китай) в стандартных кюветах из полистирола толщиной 1 см. Водородный показатель растворов измеряли на иономере «И-160МИ», укомплектованном комбинированным стеклянным электродом ЭСК-10609 (ООО «Измерительная техника», Россия).

Приготовление растворов

Две серии растворов с ионной силой, равной $\sim 0,05$ моль/л и разными значениями водородного показателя в интервале от 4 до 8 с шагом, равным $\sim 0,2$ ед. pH приготовлены в мерных колбах емкостью 50,0 мл разбавлением дистиллированной водой универсальной буферной смеси щелочи (0,2 М NaOH) и кислот (0,04 М CH_3COOH , 0,04 М H_3PO_4 , 0,04 М H_3BO_3) в разном соотношении. В растворы серии № 1 добавляли кислотно-основные индикаторы (либо ФК, либо БЗ) в виде водно-спиртовых (1:1) растворов до конечной концентрации 0,02 и 0,005% соответственно. В растворы серии № 2 органические красители не добавляли. Водородный показатель растворов первой серии определяли методом спектрофотометрии, водородный показатель растворов второй серии – методом цифровой цветометрии. «Точные» значения pH всех приготовленных растворов установлены методом ионометрии с помощью стеклянного электрода.

Для подготовки микропланшета к измерениям в часть лунок добавляли либо 26 мкл

водно-спиртового (1:1) 0,25%-го раствора ФК, либо 7 мкл водно-спиртового (1:1) 0,25%-го раствора БЗ и дожидались полного испарения растворителя при комнатной температуре. В лунки для растворов «контрольного опыта» индикаторы не добавляли. В ручном рН-анализаторе для отбора раствора и одновременно в качестве кюветы использовали наконечники для механической пипетки объемом 10 мкл. Для подготовки к работе в наконечник отбирали 10 мкл раствора ФК с концентрацией 0,02%, аккуратно (чтобы не вытек раствор) снимали его с пипетки и помещали в штатив до полного испарения растворителя при комнатной температуре.

Хроматографическую бумагу пропитывали водно-спиртовыми (1:1) 1%-ми растворами либо ФК, либо БЗ и высушивали на воздухе при комнатной температуре в горизонтальном положении, дабы избежать возможной неравномерности распределения красителя по площади листа. Круги окрашенной бумаги диаметром 6 мм выбивали офисным дыроколом и приклеивали на полоску двухстороннего скотча. Другой стороной отрезок скотча приклеивали к ученической линейке. Правильно выбранные значения объема наносимой пробы и размера бумажного круга, а также ограничивающий его по периметру гидрофобный слой клея, с одной стороны,

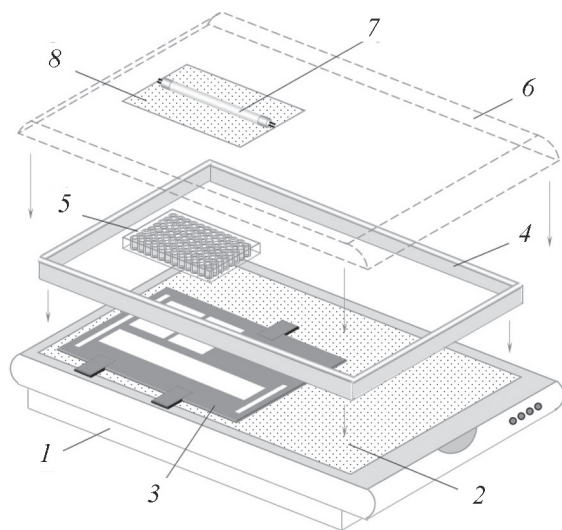


Рис. 1. Схема экспериментальной установки на основе офисного планшетного фотосканера для косвенного определения водородного показателя водных растворов методом цифровой цветометрии: 1 – корпус фотосканера, 2 – стеклянная столешница, 3 – слайд-адаптер, 4 – защитная рамка, 5 – 96-луночный микропланшет, 6 – крышка фотосканера, 7 – электролюминесцентная лампа, 8 – диффузор

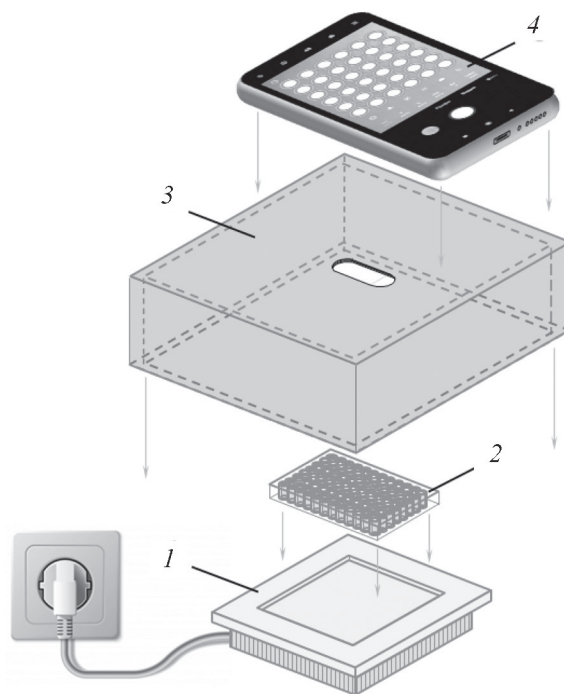


Рис. 2. Схема экспериментальной установки на основе смартфона для косвенного определения водородного показателя водных растворов методом цифровой цветометрии: 1 – OLED-светильник, 2 – 96-луночный микропланшет, 3 – защитный короб, 4 – смартфон

способствуют заполнению бумажной матрицы анализируемым раствором, с другой стороны, не позволяют ему выйти за ее пределы, и наконец, обеспечивают достаточную равномерность распределения цветовых показателей по поверхности носителя [18].

Проведение измерений

В «измерительные» лунки и лунки «контрольного опыта» микропланшета вносили 320 мкл каждого раствора серии № 2 (без индикаторов) с разными значениями рН. В небольшое число лунок помещали растворы объемом 160, 80 и 40 мкл. Содержимое «измерительных» лунок гомогенизировали с помощью механической пипетки. В наконечники с нанесенным красителем ФК для ручного рН-анализатора и на хроматографическую бумагу, пропитанную индикатором ФК или БЗ, помещали соответственно по 10 и 2 мкл растворов серии № 2.

Растровые изображения 96-луночного микропланшета с растворами получали в режиме «на просвет» с помощью офисного фотосканера и смартфона. В первом случае микропланшет помещали под диффузор электролюминесцентной лампы, вмонтированной в крышку фотосканера. Для уменьшения влияния на результат

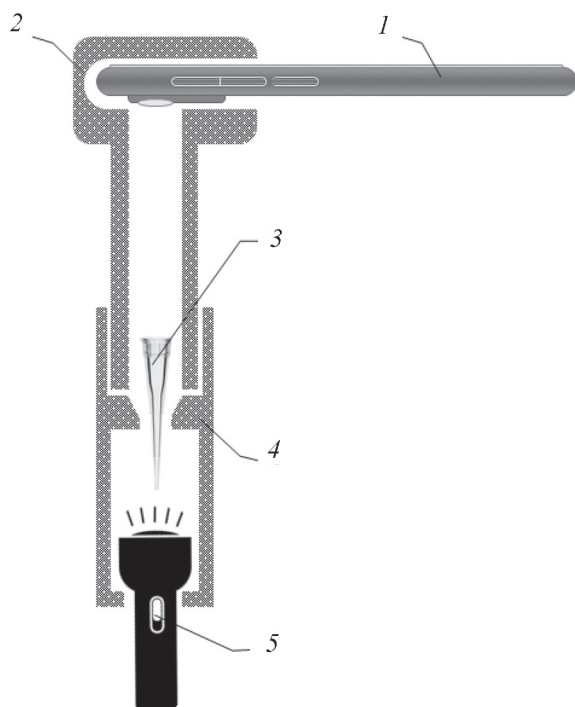


Рис. 3. Схема ручного pH-анализатора для косвенного определения водородного показателя водных растворов методом цифровой цветометрии: 1 – смартфон, 2 – туба-штатив, 3 – наконечник механической пипетки с нанесенным кислотно-основным индикатором, 4 – фиксирующий колпачок, 5 – карманный фонарик с «белым» светодиодом

измерений внешних засветок стеклянную столешницу фотосканера ограничивали по периметру защитной рамкой, высота которой равна толщине микропланшета (рис. 1). Во втором случае микропланшет помещали на квадратный OLED-светильник (мощность 15 Вт, цветовая температура 4100 K) и закрывали сверху коробом из черного ABS-пластика с прорезью для объектива фотокамеры смартфона (рис. 2).

Растровые изображения кругов хроматографической бумаги, пропитанных индикатором и приклеенных на жесткую подложку, получали с помощью офисного фотосканера в режиме «на отражение», а также с помощью фотокамеры смартфона при естественном дневном освещении в отсутствие ярких локальных источников света. Сканирование осуществляли в автоматическом режиме при отключенной функции постобработки изображения (автоматическая коррекция цвета и т.п.), а фотографирование проводили в режиме ручных настроек фотокамеры смартфона: минимальная чувствительность (ISO 100), баланс белого цвета (4100 K), фиксированное время экспозиции для достижения

оптимальной светлоты (или яркости) по всем цветовым каналам для растворов контрольного опыта (примерно 240 ед.). Отсканированные изображения сохраняли в 24-битном tif-формате без потери качества. Фотографии сохраняли в jpg-формате с минимальной компрессией.

«Измерительные» наконечники с растворами фиксировали в тубе ручного pH-анализатора и получали торцевое изображение с помощью фотокамеры смартфона в режиме ручных настроек, подсвечивая наконечник вдоль оси карманным фонариком с «белым» светодиодом (рис. 3). Для извлечения информации о значениях светлоты (яркости) цветовых каналов из растровых изображений на стационарном компьютере под управлением ОС Windows использовали бесплатно распространяемую программу IrfanView (разработчик «Irfan Skiljan» [19]), на смартфоне – RGBer для iOS («Magiowow LLC») [20] и ColorGrab для Android («Loomatix Ltd.» [21]).

Результаты и их обсуждение

Косвенное определение водородного показателя методом визуальной цветометрии основано на сопоставлении цветовых оттенков, т.е. сочетания глубины (светлоты) красного, зеленого и синего цветов, участка индикаторной бумаги с нанесенной каплей анализируемого раствора и универсальной цветовой pH-шкалы, напечатанной на бумаге. Различие фактуры индикаторной и полиграфической бумаги, светорассеивающих и абсорбционных свойств влажной и сухой бумаги, изменчивость условий измерения сигнала (угол наблюдения, цветовая температура источника света и т.д.) существенно увеличивают погрешность результатов анализа. Но и при фиксированных условиях (одинаковые значения концентрации индикатора и ионной силы, освещенность, параметры емкостей для растворов и др.) визуальное сравнение цвета стандартного и анализируемого растворов не обеспечивает достаточной точности результатов определения pH в виду субъективности восприятия. Указанного ограничения нет у метода цифровой цветометрии. Даже несертифицированные оптические средства измерения сигнала дают объективные данные, а использование вместо светлот (или яркостей) цветовых каналов (абсолютных величин) значений условной оптической плотности (приведенных, относительных величин) позволяет отчасти компенсировать вариабельность экспериментальных условий.

Однако для получения достоверных результатов определения водородного показателя методом цифровой цветометрии стабильность условий измерения аналитического сигнала все же необходима. В этих целях применяют специальные измерительные боксы и правильно подобранный источник света (однородность спектра, достаточная яркость). Не меньшую роль играет правильный выбор и фиксирование условий функционирования средств измерения. В отличие от офисного планшетного сканера, фотокамера смартфона обладает более широким набором ручных настроек для получения растровых изображений. При текущей яркости источника света чувствительность ПЗС-датчика и баланс белого цвета должны быть выбраны так, чтобы для 24-битного *RGB*-изображения (т.е.

256 оттенков каждого базового цвета) раствора контрольного опыта по всем цветовым каналам света составляла примерно 230–240 ед. Концентрацию индикатора следует выбирать так, чтобы для всех растворов (и калибровочных, и анализируемых) света рабочих цветовых каналов не опускалась ниже 10–20 ед. Такой выбор условий измерения аналитического сигнала обеспечит оптимальное соотношение ширины диапазона калибровочной зависимости и погрешности результатов определения рН. Кроме того, для повышения правильности результатов при приготовлении калибровочных растворов концентрацию компонентов универсальной буферной смеси следует выбирать так, чтобы ионная сила была близка ионной силе анализируемых растворов (в частности, для биологических

Относительные погрешности (%) косвенного цветометрического и спектрофотометрического определения рН водных растворов

Емкость/носитель для измерения сигнала	Объем пробы, мкл	Средство измерения		
		фотосканер	смартфон	спектрофотометр
Индикатор феноловый красный (pT 7,6)				
Лунка микропланшета	160	2,6–6,4	0,9–3,5	–
	320	0,2–4,7	0,2–2,2	–
Бумажный круг (диаметр 4 мм)	2	0,2–4,3	0,9–3,8	–
Наконечник дозатора (ручной анализатор)	10	–	1,7–5,6	–
Стандартная кювета толщиной 1 см	~ 4000	–	–	1,5–2,3
Индикатор бромкрезоловый зеленый (pT 4,6)				
Лунка микропланшета	160	1,2–7,4	2,2–6,8	–
	320	0,2–9,6	0,2–9,3	–
Бумажный круг (диаметр 4 мм)	2	1,8–8,2	5,0–9,9	–
Наконечник дозатора (ручной анализатор)	10	–	2,2–6,1	–
Стандартная кювета толщиной 1 см	~ 4000	–	–	1,8–2,5

жидкостей – секретов слюнных, слезных и потовых желез, $n \cdot (10^{-2} - 10^{-1})$ моль/л).

Самодельные устройства для измерения цветowych характеристик твердых или жидких образцов, как правило, включают специальный бокс, одной из основных функций которого является экранирование системы от внешних паразитных засветок. Однако проблему внутренних засветок наличие обычного бокса решить не может. Часть лучистой энергии используемого источника света всегда попадает на приемник в обход кюветы с пробой. Уровень рассеянного света в цветометрических установках на 1–2 порядка больше, чем в спектрофотометрах. В результате искажается зависимость условной оптической плотности от содержания окрашенного вещества в пробе, сужается диапазон линейности этой зависимости. Несовершенство оптической схемы цветометрических установок обуславливает необходимость явного учета вклада рассеянного излучения в измеряемый аналитический сигнал по формуле (9). Для оценки этого параметра следует измерить светлоту (яркость) рабочих цветowych каналов изображения либо лунки микропланшета, заполненной черной тушью, либо хроматографической бумаги, пропитанной тушью.

Погрешность вычисления рН для i -го раствора по формуле (7) должна возрастать с увеличением модуля разности $|pH_i - pK_a|$, поскольку при этом разность либо в числителе, либо в знаменателе дроби начинает стремиться к нулю, и даже небольшая погрешность значений условной оптической плотности и коэффициентов поглощения разных форм красителя приводит к значимой неопределенности рН раствора. Коэффициенты поглощения и значения оптической плотности при длинах волн максимумов полос поглощения отдельных форм красителя заметно больше условных коэффициентов поглощения и оптической плотности, усредненных по широкому интервалу длин волн, вырезаемых светофильтрами байеровской матрицы. Поэтому можно было бы ожидать, что интервал определяемых значений рН для цифровой цветометрии уже, чем для спектрофотометрии. Однако на практике мы этого эффекта не наблюдали. Косвенное определение водородного показателя водных растворов двумя указанными методами возможно в интервале $pK_a \pm 1,5$. Погрешность результатов цветометрического определения рН несколько выше (таблица). Причем наибольшее различие наблюдается при использовании красителя БЗ, что, по-видимому, обусловлено расположением максимума его полосы поглощения почти

на границе разных цветowych каналов. Это обстоятельство следует принимать во внимание при выборе кислотно-основного индикатора.

Значимых различий результатов определения не обнаружено при проведении цветометрического анализа растворов в кюветах разного объема (лунке микропланшета и пластиковом наконечнике механической пипетки) с помощью офисного планшетного фотосканера и фотокамеры смартфона. За «истинные» значения водородного показателя были приняты результаты ионометрического определения в растворах объемом 50 мл. Некоторое снижение качества результатов определения рН отмечено при уменьшении объема анализируемого раствора до 160 мкл и менее в лунке емкостью 350 мкл. Вероятно, рост погрешности обусловлен сопоставимыми величинами средней толщины поглощающего слоя раствора в лунке микропланшета и глубины мениска на поверхности жидкости. Это обстоятельство повышает неопределенность аналитического сигнала (таблица). В настоящей работе водородный показатель водных растворов был определен ионометрическим методом с помощью «полноразмерного» стеклянного электрода, спектрофотометрическим методом с помощью стандартной кюветы толщиной 1 см и цветометрическим методом с помощью 96-луночного микропланшета. В этом ряду объем анализируемого раствора каждый раз уменьшается примерно на порядок:

25–50 мл $\rightarrow$ 3–4 мл $\rightarrow$ 320 мкл.

Предельно малый объем раствора (2 мкл) можно использовать при определении рН на хроматографической бумаге, пропитанной раствором индикатора. К недостаткам этого способа следует отнести очень высокую необходимую концентрацию красителя и неоднородность твердого носителя. Оба фактора могут искажать результат определения. Указанные ограничения отсутствуют при использовании предложенного в работе ручного рН-анализатора. При несколько большем объеме анализируемого раствора (10 мкл в наконечнике механической пипетки) толщина изначально однородного поглощающего слоя составляет примерно 1 см (вдоль оси наконечника), что позволяет работать с концентрациями красителя в десятки раз более низкими, чем при использовании хроматографической бумаги.

В заключение следует отметить, что использованный в работе «двухканальный» алгоритм обработки цветометрических данных обладает достаточной устойчивостью к небольшим флук-

туациям условий измерения аналитического сигнала. Расчетная модель обеспечивает высокую точность результатов косвенного определения водородного показателя в достаточно узком интервале (2–3 ед. pH в окрестности pK_a красителя), что обусловлено характером измеряемого сигнала. Это обстоятельство делает целесообразным применение ручного pH-анализатора, прежде всего, для работы с малыми объемами ряда биологических жидкостей. Однако не следует рассматривать развитый подход исключительно как нишевый. Использование наконечников с 5–6 разными нанесенными на них кислотно-

основными индикаторами позволяет работать в интервале pH от 1 до 10. Если принимать в расчет возможность автоматической обработки растворов изображений на стационарном компьютере или смартфоне, главным преимуществом косвенного цветометрического определения водородного показателя одновременно большого числа растворов с помощью микропланшета или хроматографической бумаги, пропитанной кислотно-основным индикатором, является очень высокая производительность (на 1–2 порядка большая, чем у ионометрии) при сопоставимой точности результатов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Bakker E. Ion-selective electrodes / overview. Encyclopedia of analytical sciences. 2019. Elsevier. P. 231 (499 p.).
2. Золотов Ю.А., Иванов В.М., Амелин В.Г. Химические тест-методы анализа. М., 2002. 304 с.
3. Справочник по измерению pH: теория и практика лабораторных измерений. Mettler Toledo. [www.mt.com \(https://www.mt.com/ru/ru/home/library/know-how/lab-analytical-instruments/pH-measurement-small-samples-micro-sensor.html\)](https://www.mt.com/ru/ru/home/library/know-how/lab-analytical-instruments/pH-measurement-small-samples-micro-sensor.html).
4. Иванов В.М., Кузнецова О.В. // Успехи химии. 2001. Т. 70. № 5. С. 411.
5. Апяри В.В., Горбунова М.В., Исаченко А.И., Дмитриенко С.Г., Золотов Ю.А. // Журн. аналит. химии. 2017. Т. 72. № 11. С. 963.
6. Шульц Э.В., Моногарова О.В., Осколок К.В. // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2019. Т. 60. № 2. С. 79.
7. Черноусова О.В., Рудаков О.Б. // Химия, физика и механика материалов. 2019. Т. 2. № 21. С. 55.
8. Oskolok K.V., Monogarova O.V., Garmay A.V. // J. chemical education. 2021. Vol. 98. N 6. P. 1937.
9. Hosker B.S. // J. chemical education. 2021. Vol. 95. N 1. P. 178.
10. Kovarik M.L., Clapis J.R., Romano-Pringle K.A. // J. chemical education. 2020. Vol. 97. N 1. P. 2185.
11. Masawat P., Harfield A., Namwong A. // Food chemistry. 2015. Vol. 184. P. 23.
12. Loisel F.B., Casey J.R. // Methods in molecular biology. 2010. Vol. 637. P. 311.
13. Nunes P., Guido D., Demaurex N. // Immunology and infection. 2015. Vol. 106. P. 53402.
14. Specht E. A., Braselmann E., Elmer A. E. // Annual review of physiology. 2017. Vol. 79. P. 93.
15. Михайлова М.В., Городенцева Я.Ю. // Ортопедия. 2018. Т. 87. № 3. С. 83.
16. Гаджиев Н.К., Гелиг В.А., Кутина А.В., Горгоцкий И.А., Карпищенко А.И. и др. // Вестник урологии. 2022. Т. 10. № 4. С. 120.
17. Духанин А.С., Малкин П.А., Шимановский Н.Л. // Вестник Российского государственного медицинского университета. 2013. № 1. С. 54.
18. Gutorova S.V., Apyari V.V., Kalinin V.I., Furletov A.A., Tolmacheva V.V., Gorbunova M.V., Dmitrienko S.G. // Sensors and Actuators: B. Chemical. 2021. Vol. 331. N 129398.
19. IrfanView – Official Homepage. URL: <https://www.irfanview.com> (дата обращения 04.07.2023).
20. RGBer v2.5 by Magiwow, LLC. URL: <http://magiwow.com/products/rgb.html> com (дата обращения 04.07.2023).
21. ColorGrab(color detection)–App on Google Play. URL: <https://play.google.com/store/apps/details?id=com.loomatix.colorgrab&hl=en&gl=US&pli=1> (дата обращения 04.07.2023).

Информация об авторах

Кирилл Владимирович Осколок – доцент кафедры аналитической химии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, канд. хим. наук (k_oskolok@mail.ru);

Оксана Викторовна Моногарова – доцент кафедры аналитической химии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, канд. хим. наук (o_monogarova@mail.ru);

Андрей Владимирович Гармай – мл. науч. сотр. кафедры аналитической химии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, канд. хим. наук (andrew.garmay@yandex.ru);

Мария Михайловна Иванова – студентка химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова (masha.ivma@mail.ru).

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических стандартов

В данной работе отсутствуют исследования человека и животных.

Статья поступила в редакцию 29.06.2023;
одобрена после рецензирования 05.07.2023;
принята к публикации 12.07.2023.