

Н.В. Данилюк

*Навчально-науковий центр хімічного матеріалознавства та нанотехнологій,
Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника*

ЕКСПРЕС-МЕТОД КОЛОРИМЕТРИЧНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ІОНІВ Ca^{2+} У ВОДІ ЗА ДОПОМОГОЮ СМАРТФОНУ

У цій роботі описано новий метод кількісного визначення концентрації іонів Ca^{2+} у водних об'єктах за допомогою смартфона, який дозволяє проводити аналіз з високою чутливістю та відтворюваністю в широких діапазонах концентрацій. Дане дослідження демонструє високу точність методу вимірювання концентрації іонів Ca^{2+} у межах від 0,0 до 7,0 мг/л з високим коефіцієнтом кореляції, який становить 0,9924. Для підтвердження точності колориметричного аналізу проведеного з використанням смартфона було використано спектрофотометр ULAB 102-UV.

Ключові слова: смартфон, кальцій, колориметричний аналіз.

N. Danyliuk

RAPID COLORIMETRIC DETECTION OF Ca^{2+} IONS IN DRINKING WATER USING A SMARTPHONE

The paper describes a new method for quantifying the concentration of Ca^{2+} ions in water using a smartphone, which allows for analysis with high sensitivity and reproducibility in a wide range of concentrations. This work shows the high accuracy of the method of measuring the concentration of Ca^{2+} ions in the range from 0.0 to 7.0 mg/L with a correlation coefficient of 0.9924. The accuracy of colorimetric analysis using a smartphone was confirmed using a ULAB 102-UV spectrophotometer.

Keywords: smartphone, calcium, colorimetric analysis.

Постановка проблеми. Останнім часом, аналіз речовин смартфоном привертає все більшу увагу дослідників у галузі аналітичної хімії та біомедицині. У міру вдосконалення технології аналітичної хімії з появою автоматизованих титраторів та інших комп'ютерно-контрольованих приладів, швидкість, зручність, точність аналітичних методів значно покращуються. Смартфони ж у свою чергу також можуть бути застосовані у хімічному аналізі за рахунок поєднання їх разом з паперовими тест-смужками, датчиками на основі мікросхем та багато іншими детекторами для виявлення харчових забруднювачів, хімікатів та токсинів.

Аналіз речовин смартфоном базується переважно на колориметричному, флуоресцентному, люмінесцентному та електрохімічному аналізах. Деякі аналізи на основі смартфонів вже застосовані для використання в галузі охорони здоров'я, харчової безпеки та навколишнього середовища. Мобільні додатки, які є не від'ємною складовою аналізу речовин смартфоном, дозволяють виявляти та кількісно визначати цільові аналіти з передачею даних за допомогою бездротових систем зв'язку Bluetooth та Wi-Fi. Додаток, як правило виконує всі складні аналітичні розрахунки, що дає можливість проводити аналіз різних досліджуваних об'єктів користувачам без спеціальної освіти та підготовки.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Аналітична хімія часто застосовується в галузі медицини [1]. Наприклад кількісні вимірювання іонізованого кальцію в сироватці крові допомагають діагностувати захворювання паращитовидної залози у людини. Також кальцій – є життєво необхідним елементом для розвитку організму, здорових кісток та зубів. Основна маса кальцію у кістках знаходиться у вигляді гідроксиапатиту $3Ca_3(PO_4)_2 \cdot Ca(OH)_2$ і фторапатиту $3Ca_3(PO_4)_2 \cdot CaF_2$. Кальцій необхідний для скорочення м'язів серця та відіграє важливу роль у мінералізації скелета, згортанні крові та приймає участь у формуванні кров'яних тілець.

В даний час багато людей не споживають достатньої кількості кальцію, особливо люди похилого віку та підлітки. Причиною якого є мінімальна засвоєваність кальцію організмом – незбалансованість мінерального обміну. Надмірне споживання кальцію ж у свою чергу може призвести до підвищення вмісту кальцію в крові та спричинити загрозу для здоров'я людини. У цьому документі представлено зручний та надійний метод, розроблений для постійного вимірювання концентрації іонів кальцію у пробах води за допомогою колориметричного визначення з арсеналом III.

Спектрофотометричне визначення концентрації кальцію, як правило, засноване на реакції комплексоутворення між іонами кальцію та деякими забарвлюючими реагентами, такими, як 2-гідроксинаіл у природних водах, ґрунті та рослинних матеріалах утворюючи комплекс червоно-рожевого кольору, який має максимум світлопоглинання при довжині хвилі 520 нм [2, 3], еріохром чорний Т [4], кальмагіт [5].

Для спектрофотометричного визначення кальцію часто використовується мурексид, який в сильнолужному середовищі реагує з кальцієм, при цьому утворює червоно-оранжевий комплекс з максимальною оптичною густиною при 505 нм. Причому висота піку зменшується зі зниженням значення рН. Тому NaOH необхідний для підтримки високого рівня рН в розчині [6].

Водний розчин хлорфосфозадо III реагує з іонами кальцію з утворенням забарвленої комплексної сполуки при рН 2,0-12,0. Для фотометричного визначення кальцію краще використовувати кислий розчин з рН 2,2-2,5 при якому усувається вплив іонів Mg^{2+} та Mn^{2+} , перехід кольору відбувається від синьо-фіолетового до зеленого з світлопоглинанням при довжині хвилі 664 нм [7].

Фотометричне визначення кальцію з арсеназо I, полягає у проходженні реакції у лужному середовищі, максимум поглинання знаходиться при 520 нм, де спостерігається накладання спектрів поглинання реагенту і його комплексу з кальцієм, тому проводять визначення при 560-580 нм, максимальне насичення комплексу спостерігається при рН = 12,0-13,0 [8].

Реагент арсеназо III [1,8-діоксинафталін-3,6-дисульфокислота-2,7-біс(азо-2-арсенобензол)] завдяки цінним властивостям широко застосовуються для фотометричного визначення дво- і тривалентних металів. Арсеназо III (рис. 1) є груповим реагентом і придатним для визначення близько 30 елементів, для деяких розроблені кількісні фотометричні визначення в різних об'єктах дослідження. Арсеназо III утворює з кальцієм інтенсивно забарвлену комплексну сполуку синього кольору. Спектр поглинання кальцію з арсеназо III, представлений на Рис. 2а. Формування комплексу супроводжується утворенням двох чітко виражених піків на 610 і 658 нм, так само, як для комплексів зі стронцієм, і барієм. Два максимуми також зустрічаються в спектрах комплексів арсеназо III з багатьма іншими металами. Це пояснюється індуктивним ефектом двох кон'югованих систем реагенту.

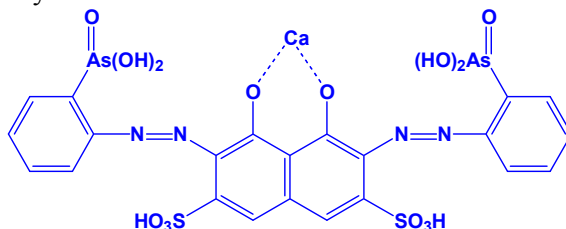


Рис. 1. Молекулярна структура комплексу іонів Ca^{2+} з арсеназо (III).

Постановка завдання. Мета дослідження – провести кількісне визначення іонів Ca^{2+} у природній воді на основі аналізу RGB-зображень, отриманих із використанням цифрової камери смартфона.

Методологія досліджень. Об'єктом дослідження є колір досліджуваних розчинів у певному діапазоні концентрацій. Для отримання інформації про колір користуються різними програмними забезпеченнями, найчастіше використовують мобільні додатки з колірною системою (RGB) червоний-зелений-синій кольори компоненти. Різні комбінації кольорів червоного (R), зеленого (G) і синього (B), можуть створювати широкий спектр кольорів. Наприклад, комбінація кольорів $R = 0$, $G = 0$ і $B = 0$ відповідає чорному кольору, а $R = 255$, $G = 255$, а $B = 255$ дає білий колір. Отримані дані про колір є основою для кількісного аналізу. На сьогодні існує декілька методів інтерпретації результатів, які дозволяють обробляти початкові значення RGB [9]. У роботі були використана наступна формула:

$$R' = -\log\left(\frac{R}{R+G+B}\right). \quad (1)$$

Збільшення концентрації розчинів дає пропорційну зміну інтенсивностей кольорів червоного (R), зеленого (G) і синього (B). Реєстрування цифрових зображень проводили у відкритому приміщенні, з використанням світлодіодної лампи потужністю 7 Вт, кількістю світлодіодів 30 LED і кольором свічення 4000 К. Оскільки лампа використовувалася високої потужності, це дозволило усунути вплив стороннього світла і гарантувати відтворюваність

результатів. Цифрові зображення розчинів були записані за допомогою камери смартфона Samsung Galaxy A6 з 16-мегапіксельним сенсором і діафрагмою $f/1,7$. Програма «Спектр» представляє дані у вигляді значень RGB червоного (R), зеленого (G) та синього (B) кольорів.

Для підтвердження отриманих значень концентрації Ca^{2+} за допомогою смартфона був використаний спектрофотометр ULAB 102-UV. Калібрувальну криву будували шляхом визначення оптичної густини відомих концентрацій стандартного розчину Ca^{2+} ($0,0\text{--}17,5 \text{ мг/дм}^3$) та подальшого додавання до нього 5 см^3 фосфатної буферної суміші та 5 см^3 розчину арсеназо III. Визначення максимальної довжини хвилі світлопоглинання проводилося в діапазоні від 400 до 725 нм (рис. 2а). Оптичну густину приготованих розчинів вимірювали через 10-15 хвилин на спектрофотометрі, використовуючи довжину хвилі опромінення ($\lambda = 658 \text{ нм}$) у кюветах із товщиною світлопоглинаючого шару 10 мм. У якості розчину порівняння використовують: 5 см^3 фосфатної буферної суміші і 5 см^3 арсеназо III, розчинених водою у колбі на 50 см^3 . За отриманими даними, побудовано калібрувальний графік (рис. 2б) залежності оптичної густини від концентрації розчину (c_0 , мг/дм^3). Закон Бугера-Ламберта-Берра справджується в діапазоні концентрацій $0,0\text{--}3,5 \text{ мг/дм}^3$.

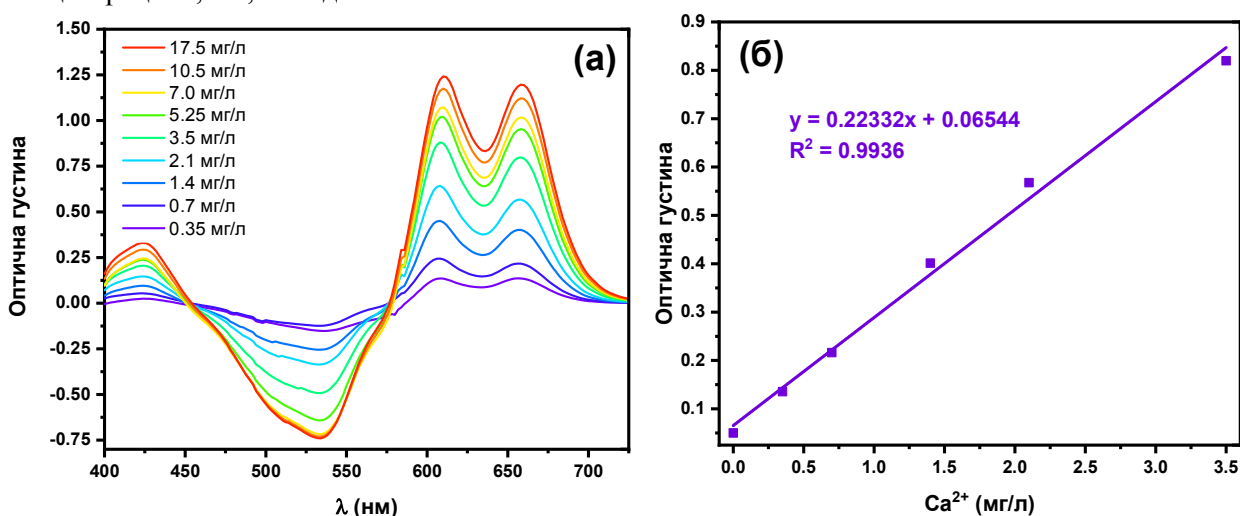


Рис. 2. (а) Спектри поглинання комплексу Ca – арсеназо III; (б) калібрувальна крива для визначення концентрації іонів Ca^{2+} (максимум світлопоглинання 658 нм).

Викладення основного матеріалу дослідження. При кількісному визначенні іонів Ca^{2+} у вигляді комплексу з арсеназо III використано цифрові зображення розчинів, отримані за допомогою камери смартфона, з яких взято параметри RGB. Дані представлено у таблиці 1 та зображено на рис. 3а. Криві зеленого та синього кольорів демонструють тенденцію збільшення інтенсивності, зі збільшенням концентрації іонів Ca^{2+} . Натомість інтенсивність червоного кольору спадає, що пов'язано з утворенням комплексу Ca з арсеназо III, і також це є наслідком зменшення значень синього (B) та зеленого (G) компонентів.

Табл. 1

Параметри кольору R, G, B та відносний параметр R' цифрових зображень розчинів із різною концентрацією іонів Ca^{2+} у воді

№ з/п	Ca^{2+} (мг/л)	R	G	B	R'
1	0.00	255	0	154	0.205
2	0.35	254	0	172	0.225
3	0.70	255	0	188	0.240
4	1.40	242	0	209	0.270
5	2.10	236	0	224	0.290
6	3.50	205	8	245	0.349
7	5.25	170	70	248	0.458
8	7.00	154	94	250	0.510
9	10.50	134	122	248	0.575
10	17.50	93	112	233	0.673

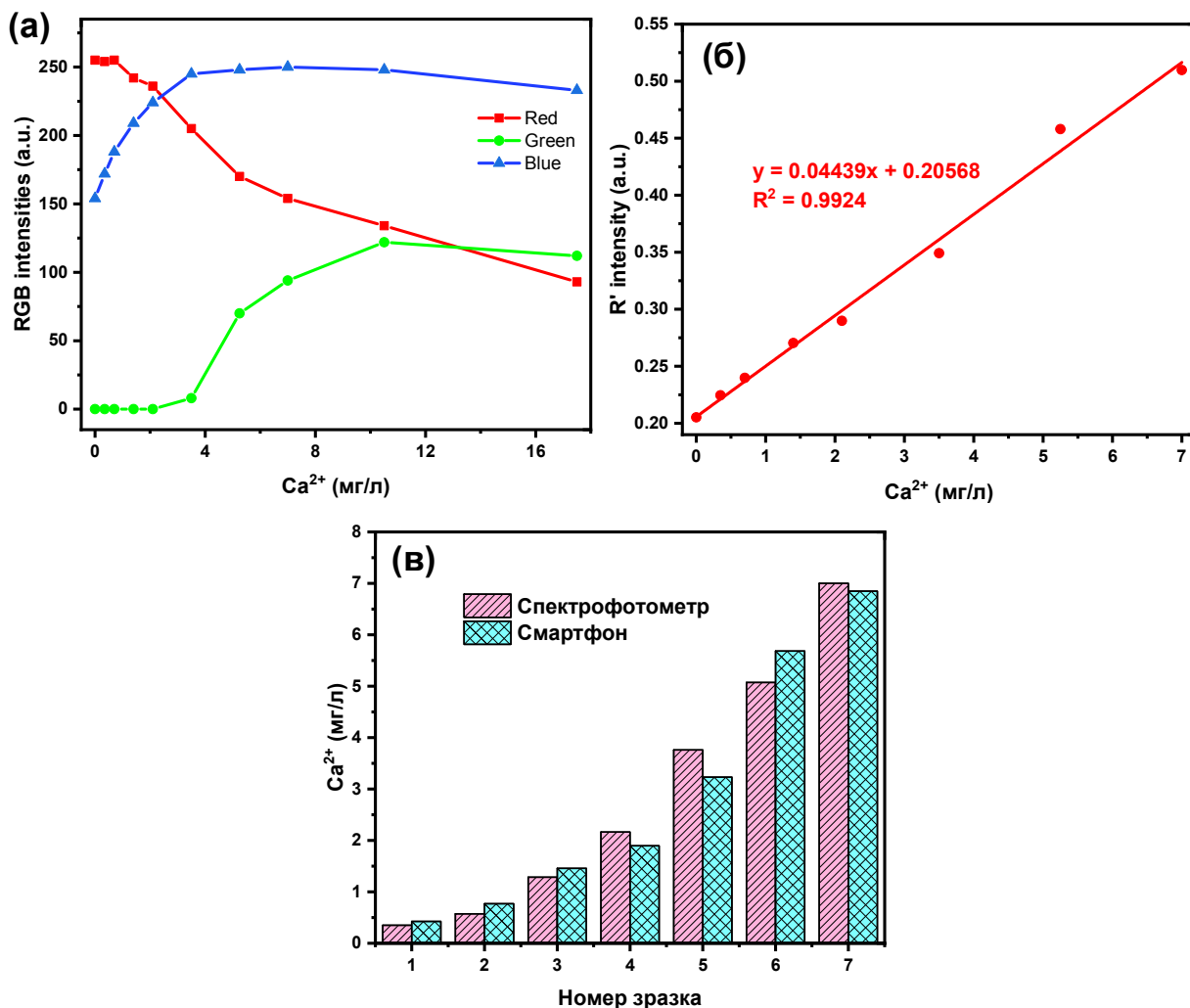


Рис. 3. (а) Зміна інтенсивності червоного (R), зеленого (G) та синього (B) кольорів зі збільшенням концентрації іонів Ca^{2+} ; (б) калібрувальна крива для визначення концентрації іонів Ca^{2+} у воді за допомогою смартфона – червоний колір (параметр R'); (в) порівняльна діаграма визначення концентрації іонів Ca^{2+} за допомогою смартфона та спектрофотометру

Після обробки даних з використанням формули (1) була побудована аналітична крива для еталонних розчинів Ca^{2+} (рис. 3б). Зміна концентрації розчину призводить до зміни кольору, який використовується для отримання цифрового зображення, реєстрованого смартфоном. Отримані дані RGB були перетворені на еквівалентні сигнали R'. Зростання концентрації комплексу Са-арсеназо (III) призводить до пропорційного зменшення кількості вмісту червоної (R) складової кольору, яка фіксується камерою смартфона та перетворюються в еквівалентні сигнали RGB. Спостерігається лінійність калібрувальної кривої в діапазоні концентрацій від 0,0 до 7,0 мг/л, згідно графіку на рис. 3б, що у два рази більше, ніж з використанням спектрофотометру. Межа виявлення становить 0,35 мг/л, виходячи з найнижчої доданої концентрації Ca^{2+} , що сприяє зміні значень RGB відносно розчину порівняння (5 см³ фосфатної буферної суміші та 5 см³ розчину арсеназо III, розчинених водою у колбі на 50 см³).

Порівняння отриманих результатів аналізу визначених смартфоном та спектрофотометром, вказані у вигляді діаграми на рис. 3в. З діаграми видно, що результати цих двох методів практично співпадають і свідчать про те, що можна проводити визначення концентрації іонів Ca^{2+} у водних розчинах, використовуючи смартфон.

Висновки. У цій роботі описано простий метод визначення концентрації іонів Ca^{2+} у водних об'єктах, за допомогою смартфона. Параметри цифрових зображень, показали хорошу повторюваність та надійність проведення експерименту. В оптимізованих умовах був отриманий

робочий діапазон визначення концентрації іонів Ca^{2+} в діапазоні від 0,0 до 7,0 мг/л з коефіцієнтом кореляції 0,9924 для семи калібрувальних точок. Порівняння отриманих результатів по визначенню концентрації іонів Ca^{2+} за допомогою смартфона та спектрофотометру, не показало суттєвих відмінностей між методами. Таким чином, це дослідження вказує на успішне використання смартфонів для проведення колориметричного аналізу з високим рівнем точності, відтворюваності та низької вартості.

Список використаних джерел:

- [1] Smartphone-Based Device in Exotic Pet Medicine. *Vet. Clin. North Am. Exot. Anim. Pract.* 22 (2019) 349–366. <https://doi.org/10.1016/J.CVEX.2019.05.001>.
- [2] A.O. Jacintho, E.A.G. Zagatto, B.F. Reis, L.C.R. Pessenda, F.J. Krug. Merging zones in flow injection analysis. Part 6. determination of calcium in natural waters, soil and plant materials with glyoxal bis(2-hydroxyanil). *Anal. Chim. Acta.* 130 (1981) 361–368. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(01\)93014-4](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(01)93014-4).
- [3] B. Peng, J. Zhou, J. Xu, M. Fan, Y. Ma, M. Zhou, T. Li, S. Zhao. A smartphone-based colorimetry after dispersive liquid–liquid microextraction for rapid quantification of calcium in water and food samples. *Microchem. J.* 149 (2019) 104072. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.104072>.
- [4] A.T. Haj-Hussein, G.D. Christian. Multicomponent flow injection analysis using spectrophotometric detection with reagent spectral overlap: Application to determination of calcium and magnesium in blood serum using Eriochrome Black T. *Microchem. J.* 34 (1986) 67–75. [https://doi.org/10.1016/0026-265X\(86\)90103-7](https://doi.org/10.1016/0026-265X(86)90103-7).
- [5] F. Ingman, A. Ringbom. Spectrophotometric determination of small amounts of magnesium and calcium employing Calmagite. *Microchem. J.* 10 (1966) 545–553. [https://doi.org/10.1016/0026-265X\(66\)90239-6](https://doi.org/10.1016/0026-265X(66)90239-6).
- [6] K. Grudpan, J. Jakmunee, Y. Vaneesorn, S. Watanesk, U.A. Maung, P. Sooksamiti. Flow-injection spectrophotometric determination of calcium using murexide as a color agent. *Talanta.* 46 (1998) 1245–1257. [https://doi.org/10.1016/S0039-9140\(97\)00410-4](https://doi.org/10.1016/S0039-9140(97)00410-4).
- [7] Y. Youxian. Simultaneous spectrophotometric determination of calcium and magnesium with chlorphosphonazo-III by flow injection analysis. *Anal. Chim. Acta.* 212 (1988) 291–295. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(00\)84153-7](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(00)84153-7).
- [8] P.L. Dorogi, U. Santarius, E. Neumann. Arsenazo I and tetramethylmurexide as optical calcium indicators. *Anal. Biochem.* 124 (1982) 27–36. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(82\)90215-9](https://doi.org/10.1016/0003-2697(82)90215-9).
- [9] N. Danyliuk, T. Tatarchuk, A. Shyichuk. Estimation of Photocatalytic Degradation Rate Using Smartphone Based Analysis. *Phys. Chem. Solid State.* 4 (2020) 727–736. <https://doi.org/10.15330/pcss.21.4.727-736>.