

Київський національний університет імені Тараса Шевченка
Міністерство освіти і науки України

Київський національний університет імені Тараса Шевченка
Міністерство освіти і науки України

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

Коржан Людмили Петрівни

УДК [543.422.7:535.37:543.395:544.7]:621.395.721.5(043.3)

ДИСЕРТАЦІЯ

**СМАРТ-КОЛЬОРОМЕТРІЯ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ ГІДРОФОБНИХ СПОЛУК
ІОННОЇ ПРИРОДИ ТА БІЛКІВ В ОРГАНІЗОВАНИХ СЕРЕДОВИЩАХ НА
ОСНОВІ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН**

102 – ХІМІЯ

10 – природничі науки

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії.

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

Л.П. Коржан

Науковий керівник: Куліченко Сергій Анатолійович, кандидат хімічних наук,
доцент

Київ – 2026

АНОТАЦІЯ

Коржан Л.П. Смарт-кольорометрія для визначення гідрофобних сполук іонної природи та білків в організованих середовищах на основі поверхнево-активних речовин. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 102 «Хімія» (10 – Природничі науки). – Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, 2026.

Цифрова кольорометрія активно розвивається протягом останніх 20 років завдяки інтеграції з передовими технологіями та може застосовуватися як для лабораторного, так і для позалабораторного аналізу. Хімічний аналіз із застосуванням смартфонів є перспективною галуззю на стику аналітичної хімії та цифрових технологій. Інтеграція фізико-хімічних методів із смартфоном сприяє створенню простих, доступних та портативних аналітичних методик.

У хімічному аналізі флуоресцентні реагенти становлять значний практичний та науковий інтерес. Водночас, інформація щодо використання класичних флуорофорів у цифровій кольорометрії залишається обмеженою.

Проведення аналітичних реакцій в організованих розчинах поверхнево-активних речовин (ПАР) є поширеним трендом, який відкриває нові можливості підвищення чутливості та вибірковості аналітичних методик. При проведенні реакцій в системах, модифікованих ПАР, зазвичай збільшується інтенсивність аналітичного сигналу та підвищується стійкість аналітичної форми визначуваних речовин. Під дією ПАР реалізується стабілізація колоїдно-хімічного стану розчинів; раціональні добавки ПАР дозволяють керувати зміною протолітичних властивостей реагентів та аналітів.

Гідрофобні сполуки іонної природи і ПАР є не лише «корисними» компонентами реагентної системи, а й актуальними аналітами. Так, поверхнево-активні речовини широко використовують у багатьох галузях промисловості, що робить ПАР важливим об'єктом аналізу та зумовлює необхідність контролю їх

вмісту в складі миючих, косметичних, лікарських засобів, а також при аналізі вод різного походження. Білки також належать до гідрофобних органічних сполук іонної природи. Оцінка вмісту білків – важливе завдання в багатьох галузях – її проводять з метою діагностики захворювань, контролю якості продукції, при проведенні наукових досліджень тощо.

З урахуванням зазначеного, дослідження у сфері цифрової кольориметрії з використанням флуоресцентних барвників, реалізація аналітичних реакцій в ПАР-організованих середовищах з детектуванням і обробкою сигналу за допомогою смартфона є актуальною задачею.

Дисертаційна робота присвячена систематичному дослідженню конструктивних та фізико-хімічних умов реєстрації кольориметричного сигналу розчинів за допомогою смартфона, встановленню закономірностей впливу організованих середовищ на основі поверхнево-активних речовин на кольориметричний відгук розчинів флуоресцентних реагентів; розробці смарт-кольориметричних систем та методик визначення гідрофобних органічних сполук іонної природи та білків.

У роботі досліджено вплив конструктивних й фізико-хімічних параметрів та розроблено методологічні основи реєстрації кольориметричного сигналу в розчинах за допомогою смартфона. Встановлено оптимальну інтенсивність та температуру освітлення, висоту шару розчину, оптичну схему. Показано виконання закону Бугера-Ламберта-Бера у смарт-кольориметрії розчинів. Складено алгоритм оптимізації виду кольориметричних залежностей та побудови градувальних графіків при проведенні смарт-кольориметричних визначень. Розроблено портативну платформу для позалабораторного кольориметричного аналізу розчинів.

Зареєстровано підвищення кольориметричного сигналу розчинів флуоресцентних барвників (флуоресцеїну та його похідних, родаміну 6Ж та родаміну С) при застосуванні УФ-освітлення. Запропоновано новий метод кількісного вимірювання кольору флуоресценції розчинів барвників за допомогою кольорових моделей із реєстрацією сигналу за допомогою цифрових

детекторів кольору (смартфону) – флуорокольорометрія (смарт-флуорокольорометрія).

У роботі дослідили вплив природи та концентрації ПАР на кольорометричний та флуорокольорометричний сигнал барвників та їх асоціатів з іонними ПАР. Показано підсилення кольорометричного сигналу нефлуоресцентних та флуоресцентних барвників та їх асоціатів з протиіонами ПАР у розчинах неіонних поверхнево-активних речовин (НПАР).

На основі дослідження асоціатів «реагент-протиіон ПАР» у водних розчинах та середовищах неіонних ПАР сформульовано рекомендації до створення раціональних ПАР-модифікованих реагентних систем для смарт-кольорометричного та смарт-флуорокольорометричного визначення гідрофобних органічних сполук іонної природи із покращеними метрологічними характеристиками. Згідно з принципами супрамолекулярної хімії, відповідність частинок між собою забезпечує підвищену стійкість утворених асоціатів – аналітичних форм. Вирішальну роль у їх формуванні відіграє гідрофобна та просторова відповідність між компонентами.

На основі досліджених систем «реагент-іонна ПАР» та «реагент-іонна ПАР-неіонна ПАР» розроблено методику смарт-кольорометричного визначення цетилпіридиній хлориду в льодяниках «Септолете Тотал» з НПАР-модифікованим бромтимоловим синім. Також запропоновано умови смарт-кольорометричного визначення аніонного додецилсульфату натрію з використанням НПАР-модифікованої реагентної системи «бромтимоловий синій – катіонна ПАР». Розроблено методику смарт-флуорокольорометричного визначення клемастину у лікарському препараті «Тавегіл». Запропоновано умови смарт-флуорокольорометричного визначення додецилсульфату натрію та цетилпіридиній хлориду у НПАР-модифікованих системах флуоресцентних барвників: «родамін 6Ж – Tween-20» та «флуоресцеїн – ТХ-100», відповідно. Розроблені методики характеризуються простотою виконання, експресністю та покращеними метрологічними характеристиками у порівнянні із аналогами.

У роботі показано можливість одночасного смарт-кольорометричного визначення барвників у їхніх сумішах за власним забарвленням із використанням світлофільтрів. В основу запропонованого підходу покладено здатність за допомогою світлофільтрів виділити необхідний для кольорометрії спектральний діапазон випромінювання. Підхід застосовано для селективного визначення харчових барвників E133 та E102 у суміші в напої «4move Isotonic Sports Drink».

Coomassie Brilliant Blue G - аніонний органічний барвник, який широко застосовують у хімічних та біохімічних аналізах та визначеннях білка. Поєднання високої гідрофобності барвника та його розгалуженої структури зумовлюють перспективність використання СВВГ для розробки методик смарт-кольорометричного визначення білка.

У роботі досліджено аналітичний сигнал катіонних ПАР та білків у реакції з Coomassie Brilliant Blue G методами спектрофотометрії, флуоресцентної спектроскопії та смарт-кольорометрії у водних розчинах та організованих розчинах неіонних ПАР. Показано вплив довжини вуглеводневого радикалу катіонів алкілпіридиніїв, як модельних сполук, на характер процесів асоціації в розчинах реагенту. Оптимальна неіонна ПАР-модифікатор містить витягнутий вуглеводневий радикал, який виконує функцію "гідрофобного якоря" асоціації, а також довгий поліоксиетиленовий фрагмент для стабілізації розчинів. На основі виявленого підсилення кольорометричного сигналу в присутності НПАР розроблено методику смарт-кольорометричного визначення альбуміну з модифікованою НПАР реагентною системою Coomassie Brilliant Blue G – Triton X-305. Апробацію методики проведено при визначенні вмісту альбуміну в сечі. Розроблена методика характеризується простотою виконання, експресністю та високою чутливістю у порівнянні із аналогами.

Проведені дослідження і розроблені аналітичні методики показали перспективність запропонованого підходу до аналізу мікрокомпонентів – (флуоро)кольорометрії, оснований на вимірюванні кольорометричного сигналу аналітів в реакції з флуоресцентними реагентами і проведенні реакції в організованих розчинах неіонних ПАР.

Ключові слова: кольориметрія, спектрофотометрія, флуоресценція, смартфон, іонні асоціати, флуоресцентні барвники, поверхнево-активні речовини, іонні ПАР, неіонні ПАР, аніонні ПАР, кольориметричне визначення, білки, визначення аніонів та катіонів.

ABSTRACT

Korzhan L.P. Smart colorimetry for the determination of hydrophobic ionic compounds and proteins in organized surfactant-based media. – Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

Thesis for scientific degree of Doctor of Philosophy in Chemistry (specialty 102 – Chemistry, 10 – Natural Sciences). Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, 2026.

Digital colorimetry has been actively developing over the past 20 years, thanks to its integration with advanced technologies, and can be applied to both laboratory and field analysis. Chemical analysis using smartphones is a promising field at the intersection of analytical chemistry and digital technologies. The integration of physicochemical methods with smartphones contributes to the development of simple, accessible, and portable analytical methods.

In chemical analysis, fluorescent reagents are of significant practical and scientific interest. However, information on the use of classical fluorophores in digital colorimetry remains limited.

The implementation of analytical reactions in organized surfactant solutions is a widespread trend that opens new opportunities for increasing the sensitivity and selectivity of analytical methods. When reactions are carried out in surfactant-modified systems, the intensity of the analytical signal generally increases, and the stability of the analytical form of the determined substances improves. Under the action of surfactants, the colloidal–chemical state of solutions is stabilized, and rational surfactant additives allow controlled modification of the protolytic properties of reagents and analytes.

Hydrophobic ionic compounds and surfactants are not only functional components of reagent systems but also relevant analytes. Surfactants are widely used in various industries, which necessitates control of their content in detergents, cosmetic and pharmaceutical products, and waters of different origins. Proteins also belong to hydrophobic organic compounds of ionic nature, and the determination of their content is essential for disease diagnostics, product quality control, and scientific research.

Taking the above into account, research on digital colorimetry involving fluorescent dyes and analytical reactions in surfactant-organized media, with signal detection and processing via a smartphone, constitutes a relevant scientific task.

The dissertation is devoted to a systematic investigation of the design-related and physicochemical conditions of colorimetric signal registration in solutions using a smartphone, to establishing the regularities of the influence of surfactant-based organized media on the colorimetric response of fluorescent reagent solutions, and to the development of smart colorimetric systems and methods for the determination of hydrophobic organic compounds of ionic nature and proteins.

In this work, the influence of design-related and physicochemical parameters on colorimetric signal registration in solutions using a smartphone has been investigated, and methodological foundations for such registration have been developed. The optimal illumination intensity and color temperature, solution layer height, and optical configuration have been established. Compliance with the Beer–Lambert–Bouguer law in smart colorimetry of solutions has been demonstrated. An algorithm for optimizing the type of colorimetric dependences and constructing calibration curves has been developed. A portable platform for out-of-laboratory colorimetric analysis of solutions has been designed.

An increase in the colorimetric signal of fluorescent dye solutions (fluorescein and its derivatives, Rhodamine 6G, and Rhodamine C) under UV illumination has been recorded. A new method for the quantitative measurement of fluorescence color in dye solutions using color models with signal registration by digital color detectors (e.g., a smartphone) has been proposed: fluorocolorimetry (smart fluorocolorimetry).

The influence of the nature and concentration of surfactants on the colorimetric and fluorocolorimetric signals of dyes and their associates with ionic surfactants has been investigated. An enhancement of the colorimetric signal of nonfluorescent and fluorescent dyes, as well as their associates with surfactant counterions, in solutions of nonionic surfactants has been demonstrated.

Based on the study of «reagent–surfactant counterion» associates in aqueous solutions and nonionic surfactant media, recommendations for the design of rational surfactant-modified reagent systems for smart colorimetric and smart fluorocolorimetric determination of hydrophobic organic compounds of ionic nature with improved metrological characteristics have been formulated. In accordance with the principles of supramolecular chemistry, complementarity between interacting species ensures enhanced stability of the formed associates, which serve as analytical forms. Hydrophobic and spatial complementarity between the components play a decisive role in their formation.

Based on the investigated systems «reagent–ionic surfactant» and «reagent–ionic surfactant–nonionic surfactant», a smart colorimetric method for the determination of cetylpyridinium chloride in «Septolete Total» throat lozenges using a nonionic surfactant-modified bromothymol blue reagent system has been developed. Conditions for the smart colorimetric determination of sodium dodecyl sulfate using a nonionic surfactant-modified reagent system, «bromothymol blue–cationic surfactant», have also been established. A smart fluorocolorimetric method for the determination of clemastine in the pharmaceutical preparation «Tavegil» has been developed. Conditions for the smart fluorocolorimetric determination of sodium dodecyl sulfate and cetylpyridinium chloride in nonionic surfactant-modified systems of fluorescent dyes (Rhodamine 6G – Tween 20 and fluorescein – Triton X-100, respectively) have been established. The developed methods are characterized by simplicity of implementation, rapid analysis, and improved metrological characteristics compared to existing analogues.

The study demonstrates the possibility of simultaneously determining dyes in mixtures by their intrinsic coloration using optical filters. The approach has been

applied to the selective determination of food dyes E133 and E102 in their mixture in the beverage «4move Isotonic Sports Drink».

Coomassie Brilliant Blue G is an anionic organic dye widely used in chemical and biochemical analyses for protein determination. The combination of high hydrophobicity and branched molecular structure makes this dye a promising reagent for the development of smart colorimetric methods for protein determination.

In this work, the analytical signals of cationic surfactants and proteins in reactions with Coomassie Brilliant Blue G have been investigated by spectrophotometry, fluorescence, and smart colorimetry in aqueous solutions and organized nonionic surfactant media. The influence of the alkylpyridinium cation hydrocarbon chain length on the nature of association processes in reagent solutions has been demonstrated. The optimal nonionic surfactant modifier contains an extended hydrocarbon chain that serves as a hydrophobic anchor for association, and a long polyoxyethylene fragment that provides solution stabilization. Based on the observed enhancement of the colorimetric signal in the presence of nonionic surfactants, a smart colorimetric method for the determination of albumin using a nonionic surfactant-modified Coomassie Brilliant Blue G – Triton X-305 reagent system has been developed. The method has been tested by determining albumin in urine samples. The developed method is characterized by simplicity, rapidity, and greater sensitivity than existing analogues.

The conducted studies and the developed analytical methods have demonstrated the prospects of the proposed approach to microcomponent analysis, namely, (fluoro)colorimetry based on measuring the colorimetric signal of analytes in reactions with fluorescent reagents, performed in organized nonionic surfactant solutions.

Keywords: colorimetry, spectrophotometry, fluorescence, smartphone, ionic associates, fluorescent dyes, surfactants, ionic surfactants, nonionic surfactants, anionic surfactants, colorimetric determination, proteins, determination of anions and cations.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці, в яких опубліковано основні результати дисертації:

Статті у періодичних виданнях (Web of Science та Scopus):

1. **Коржан, Л.;** Куліченко, С.; Лелюшок, С. Смарт-кольориметричне визначення іонних ПАР з бромтимоловим синім у присутності неіонної ПАР Triton X-100. *Methods Objects Chem. Anal.*, **2023**, 18 (3), 136-142. <https://doi.org/10.17721/moca.2023.136-142> (Особистий внесок здобувача: аналіз даних літератури, проведення експериментальних досліджень, інтерпретація результатів, написання статті).
2. **Korzhan, L.;** Kulichenko, S.; Lelyushok, S.; Klovak, V. Coomassie Brilliant Blue G for Smart Colorimetric Determination of the Ionic Surfactants in Triton X-100 Solutions. *Appl. Spectrosc.*, **2024**, 78(10), 1105-1114. <https://doi.org/10.1177/00037028241267900> (Особистий внесок здобувача: аналіз даних літератури, проведення експериментальних досліджень, інтерпретація результатів, написання статті).
3. **Korzhan, L.;** Kulichenko, S.; Lelyushok, S.; Klovak, V.; Kruchek, A. Fluorescent detection of albumin with Coomassie brilliant blue G in nonionic surfactant Triton X-305 solutions. *Chem. Pap.*, **2025**, 79 (6), 3811-3820. <https://doi.org/10.1007/s11696-025-04033-4> (Особистий внесок здобувача: аналіз даних літератури, проведення експериментальних досліджень, інтерпретація результатів, написання статті).
4. **Korzhan, L.;** Kulichenko, S.; Lelyushok, S.; Klovak. Nonionic Surfactant Media for Smartphone-based Colorimetric Determination of Protein. *Methods Objects Chem. Anal.*, **2025**, 20 (4), 270-279. <https://doi.org/10.17721/moca.2025.270-279> (Особистий внесок здобувача: аналіз даних літератури, проведення експериментальних досліджень, інтерпретація результатів, написання статті).

Статті у наукових фахових виданнях України (з переліку МОН України):

5. **Коржан, Л.;** Титович, В.; Куліченко, С.; Лелюшок, С. Параметри кольориметричного сигналу розчинів бромтимолового синього та бромфенолового червоного. *Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Хімія*, **2023**, 1 (58), 42-47. [https://doi.org/10.17721/1728-2209.2023.1\(58\).8](https://doi.org/10.17721/1728-2209.2023.1(58).8) (*Особистий внесок здобувача: аналіз даних літератури, проведення експериментальних досліджень, інтерпретація результатів, написання статті*).

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

1. **Коржан Л.П.;** Титович В.В., Лелюшок С.О., Куліченко С.А. Смарт-кольориметричне визначення цетилпіридиній хлориду з бромтимоловим синім в присутності неіонної ПАР Triton X-100. Збірник тез доповідей XV Всеукраїнської наукової конференції студентів та аспірантів «Хімічні Каразінські читання – 2023» 24-26 квітня 2023 р., Харків, Україна; с. 74.
2. Мадараш І.В.; **Коржан Л.П.;** Лелюшок С.О. Цифрове колориметричне визначення субстратів катіонної природи з флуоресцентними барвниками. Збірка тез доповідей XXIV Міжнародної конференції студентів, аспірантів та молодих вчених «Сучасні проблеми хімії» 17-19 травня 2023 р., Київ, Україна; с.28.
3. Максименко С.П.; **Коржан Л.П.;** Лелюшок С.О. Спектрофотометричне визначення катіонних поверхнево-активних речовин з Кумассі діамантовим синім G-250. Збірка тез доповідей XXV Міжнародної конференції студентів, аспірантів та молодих вчених «Сучасні проблеми хімії» 15-17 травня 2024 р., Київ, Україна; с.17.
4. **Коржан Л.П.;** Куліченко С.А.; Лелюшок С.О. Coomassie brilliant blue G в організованих розчинах НПАР для визначення білків методами молекулярної спектроскопії. Збірка тез доповідей Міжнародної конференції «Київська конференція з аналітичної хімії: Сучасні тенденції –2024» 16-18 жовтня 2024р., Київ, Україна; с.66-67.

5. **Коржан Л.П.**; Куліченко С.А.; Лелюшок С.О. Смарт кольорометричне визначення білку з Coomassie brilliant blue G-250 в розчинах НПАР. Збірка тез доповідей XX Науковій конференції «Львівські хімічні читання – 2025» 2-4 червня 2025 р., Львів, Україна; с.31.
6. Лагодіч В.С.; Лелюшок С.О.; **Коржан Л.П.** Використання Родаміну С та Родаміну бЖ у методі цифрової колориметрії для визначення речовин аніонної природи. Збірка тез доповідей XXVI Міжнародної конференції студентів, аспірантів та молодих вчених «Сучасні проблеми хімії» 14-16 травня 2025 р. Київ, Україна; с.24.
7. **Коржан Л.П.**; Лелюшок С.О.; Куліченко С.А. Смарт-кольорометричне визначення іонних поверхнево-активних речовин. Збірка тез доповідей XXIV Міжнародної конференції студентів, аспірантів та молодих вчених «Сучасні проблеми хімії» 17-19 травня 2023 р., Київ, Україна; с.25.
8. Титович В.В.; **Коржан Л.П.**; Лелюшок С.О. Вплив фізико-хімічних параметрів на аналітичний сигнал в колориметрії. Збірка тез доповідей XXIV Міжнародної конференції студентів, аспірантів та молодих вчених «Сучасні проблеми хімії» 17-19 травня 2023 р., Київ, Україна; с.40.
9. Кручек А.Я.; **Коржан Л.П.**; Кловак В.О. Флуоресцентне визначення білку з ПАР-модифікованим реагентом Кумасі діамантовим блакитним G-250. Збірка тез доповідей XXV Міжнародної конференції студентів, аспірантів та молодих вчених «Сучасні проблеми хімії» 15-17 травня 2024 р., Київ, Україна; с.48.
10. Петренко В.С.; **Коржан Л.П.**; Куліченко С.А. Кольорометрія із смартфоном для визначення білку з Coomassie Brilliant Blue G-250 в системі Triton X-100. Збірка тез доповідей XXVI Міжнародної конференції студентів, аспірантів та молодих вчених «Сучасні проблеми хімії» 14-16 травня 2025 р. Київ, Україна; с.31.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	16
ВСТУП	17
РОЗДІЛ 1. ЦИФРОВА КОЛЬОРОМЕТРІЯ ОРГАНІЗОВАНИХ РОЗЧИНІВ НА ОСНОВІ ПАР В АНАЛІЗІ	23
1.1. Сучасні напрями розвитку цифрової кольорометрії	23
1.2. Кольорометрія розчинів флуоресцентних барвників	27
1.3. Організовані середовища на основі ПАР у методах молекулярної спектроскопії	31
1.4. Методи молекулярної спектроскопії та кольорометрії для визначення гідрофобних органічних сполук та білків	36
1.4.1. Coomassie Brilliant Blue G для визначення білків	40
1.4.2. Комерційні експресні тест-системи для визначення білків	43
1.5. Висновки до розділу 1	46
РОЗДІЛ 2. ОБҐРУНТУВАННЯ ОБ’ЄКТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ, РЕАКТИВІВ, УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТУ ТА МЕТОДІВ ДОСЛІДЖЕННЯ	48
2.1. Обґрунтування вибору об’єктів дослідження, використаних реагентів та ПАР	48
2.2. Обґрунтування вибору методів дослідження та обладнання	53
2.2.1. Оптимізація умов реєстрації кольорометричного сигналу	54
2.3. Розрахунки за результатами досліджень	56
2.4. Висновки до розділу 2	60
РОЗДІЛ 3. ВПЛИВ КОНСТРУКТИВНИХ ТА ФІЗИКО-ХІМІЧНИХ ПАРАМЕТРІВ НА КОЛЬОРОМЕТРИЧНИЙ СИГНАЛ РОЗЧИНІВ РЕАГЕНТІВ	61
3.1. Вплив параметрів освітлення на кольорометричний сигнал барвника	61
3.1.1. Вплив температури та інтенсивності освітлення.....	61
3.1.2. Вплив природи електромагнітного випромінювання на кольорометричний сигнал розчинів флуоресцентних барвників.....	63

3.1.3. Вплив інтенсивності освітлення на флуорокольорометричний сигнал	67
3.2. Кольорометричний сигнал за різних оптичних схем реєстрації	68
3.3. Закон Бугера-Ламберта-Бера в цифровій кольорометрії	71
3.4. Вплив поверхнево-активних речовин на кольорометричний сигнал розчинів барвників	74
3.5. Смарт-кольорометричне визначення аналітів	76
3.5.1. Смарт-кольорометричне визначення іонних ПАР з бромтимоловим синім	76
3.5.2. Смарт-кольорометричне визначення цукрового колеру IV у напоях «Coca-Cola» та «Pepsi-Cola Mango»	80
3.5.3. Роздільне визначення харчових барвників у їх суміші у напої «4move Isotonic Sports Drink»	82
3.6. Висновки до розділу 3	84
РОЗДІЛ 4. СМАРТ-КОЛЬОРОМЕТРІЯ ОРГАНІЗОВАНИХ РОЗЧИНІВ ФЛУОРЕСЦЕНТНИХ РЕАГЕНТІВ	86
4.1. Вплив концентрації аніонних флуоресцентних барвників на кольорометричний та флуорокольорометричний сигнал	87
4.2. Флуорокольорометричний сигнал розчинів катіонних флуоресцентних барвників	91
4.3. Смарт-кольорометрія флуоресцентних реагентів в ПАР-організованих розчинах	95
4.3.1. Вплив ПАР на кольорометричний сигнал флуоресцеїну та його похідних	95
4.3.2. Вплив ПАР на кольорометричний сигнал розчинів родамінів	102
4.3.3. Вплив природи неіонної ПАР на сигнал барвників в розчинах	108
4.4. Вплив неіонної ПАР на кольорометричний сигнал аналіту в реакції з флуоресцентними реагентами	110

4.5. Смарт-флуорокольорометричне визначення гідрофобних органічних сполук іонної природи з флуоресцентними барвниками	116
4.5.1. Флуорокольорометричне визначення клемастину з еозином в антигістамінних лікарських препаратах	117
4.5.2. Флуорокольорометричне визначення додецилсульфату натрію у реакції з родаміном бЖ	119
4.5.3. Смарт-флуорокольорометричне визначення ЦПХ у системі з флуоресцеїн – неіонна ПАР	121
4.6. Висновки до розділу 4	122
РОЗДІЛ 5. СМАРТ-КОЛЬОРОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ БІЛКІВ ТА КАТІОННИХ ПАР З COOMASSIE BRILLIANT BLUE G	123
5.1. Аналітичний сигнал Coomassie Brilliant Blue G у розчинах	123
5.2. Вплив катіонної ПАР на сигнал Coomassie Brilliant Blue G	129
5.2.1. Влив Triton X-100 на систему Coomassie Brilliant Blue G – катіонна ПАР	133
5.3. Розчини Coomassie Brilliant Blue G – альбумін	136
5.3.1. Аналітичний сигнал альбуміну з Coomassie Brilliant Blue G у розчинах неіонної ПАР.....	139
5.4. Оптимізовані реагентні системи Coomassie Brilliant Blue G для визначення іонних ПАР та білків	143
5.5. Висновки до розділу 5	150
ВИСНОВКИ	151
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	152
Додаток А	169
Додаток Б	172
Додаток В	173
Додаток Г	174

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

CVBG	– Coomassie Brilliant Blue G
Er	– еритрозин
Eo	– еозин
E102	– тартразин
E133	– діамантовий синій
E150d	– цукровий колер IV
Fl	– флуоресцеїн
K1	– клемастин
Q	– квантовий вихід флуоресценції барвника
RC	– родамін С
R6G	– родамін 6Ж
RGB	– red, green, blue, адитивна колірна модель
TX-100	– Triton X-100
TX-305	– Triton X-305
A	– оптична густина поглинання
АПАР	– аніонна поверхнево-активна речовина
БСА	– бичачий сироватковий альбумін
БТС	– бромтимоловий синій
БФЧ	– бромфеноловий червоний
вид	– видимий діапазон освітлення
ДДСН	– додецилсульфат натрію
I	– інтенсивність випромінювання
ККМ	– критична концентрація міцелоутворення
КПАР	– катіонна поверхнево-активна речовина
МФ	– метиловий фіолетовий
НПАР	– неіонна поверхнево-активна речовина
ПАР	– поверхнево-активна речовина
ПЕГ-115	– поліетиленгліколь-115
ПЕГ-6000	– поліетиленгліколь-6000
смарт	– смартфон
УФ	– ультрафіолетовий
ЦПХ	– цетилпіридинію хлорид

ВСТУП

Актуальність теми. Розвиток сучасної аналітичної хімії спрямований на створення простих, доступних і портативних методів аналізу, придатних до використання в лабораторних і позалабораторних дослідженнях. У цьому контексті цифрова кольориметрія, зокрема з використанням смартфона, виступає перспективним напрямком, що поєднує досягнення аналітичної хімії та цифрових технологій. Смартфон розглядається як сучасний варіант детектора кольориметричного сигналу та процесор його математичної обробки. Використання смартфона дозволяє суттєво знизити вартість вимірювань, спростити процедуру визначення та забезпечити її оперативність і мобільність.

Використання організованих середовищ на основі поверхнево-активних речовин (ПАР) у методах молекулярної спектроскопії є ефективним підходом до підвищення стійкості та покращення оптичних характеристик аналітичних форм типу асоціатів реагентів з гідрофобними органічними протиіонами. Раціональна модифікація аналітичних систем за допомогою поверхнево-активних речовин, а також прояв ефектів супрамолекулярної відповідності, відкривають нові можливості підвищення чутливості та вибіркової аналітичних методик. Водночас вивчення цього підходу у сфері цифрової кольориметрії, зокрема у поєднанні зі смартфоном, залишається майже відсутнім.

Іонні ПАР та гідрофобні органічні сполуки іонної природи, зокрема білки, мають важливе практичне та наукове значення. Поверхнево-активні речовини є поширеним класом хімічних сполук з широким технологічним застосуванням у виробництві миючих, гігієнічних і косметичних засобів, харчових продуктів та ряду фармацевтичних препаратів. Масштабне використання ПАР зумовлює їх присутність у стічних і природних водах, що становить екологічну проблему та зумовлює необхідність моніторингу їх вмісту. Контроль за вмістом катіонних поверхнево-активних речовин (КПАР) у складі лікарських засобів також залишається актуальним аналітичним завданням. Контроль вмісту білка у біологічних рідинах, зокрема у крові та сечі, є важливим для оцінки стану

організму. Створення швидких смарт-кольорометричних методик аналізу дає передумови для розробки простих та експресних тест-наборів.

Флуоресцентні реагенти, завдяки здатності до емісії світла, потенційно можуть забезпечити формування більш інформативних та «чутливих» аналітичних сигналів у кольорометрії, у порівнянні з «традиційними» нефлуоресцентними барвниками. Разом із цим, дані літератури щодо використання класичних флуорофорів, характерних для методу флуоресценції, у поєднанні з цифровою кольорометрією розчинів, є мінімальними.

Тому дослідження цифрової кольорометрії з використанням флуоресцентних барвників, реалізацією аналітичних реакцій у ПАР-організованих середовищах та детектуванням і обробкою сигналу за допомогою смартфона є актуальним науковим та практичним завданням.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційну роботу виконано на кафедрі аналітичної хімії хімічного факультету Київського національного університету імені Тараса Шевченка відповідно до тематичного плану науково-дослідних робіт: наукова тема № 22БФ037-08 «Оптичні та електрохімічні сенсори на основі наноматеріалів і супрамолекулярних систем для on-site та in vitro аналізу», (2022-2024 рр., номер держреєстрації 0122U002023).

Мета і завдання дослідження. Метою дисертаційної роботи є дослідження конструктивних та фізико-хімічних умов реєстрації кольорометричного сигналу розчинів за допомогою смартфона, встановлення закономірностей формування кольорометричного відгуку для розчинів флуоресцентних реагентів, вивчення впливу організованих середовищ на основі поверхнево-активних речовин для розробки смарт-кольорометричних методик визначення гідрофобних іонних органічних аналітів та білків.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі **завдання**:

- дослідити вплив конструктивних та фізико-хімічних параметрів на кольорометричний сигнал барвників у розчинах;

- дослідити спектральні та кольорометричні характеристики ПАР-модифікованих розчинів флуоресцентних реагентів та барвників;
- дослідити аналітичний сигнал іонних ПАР та білків в реакції з флуоресцентними реагентами в організованих середовищах на основі ПАР методами кольорометрії та флуорокольорометрії;
- провести узагальнення та зіставлення ефектів ПАР на кольорометричний сигнал з таким для методів спектрофотометрії та люмінесценції;
- розробити умови смарт-кольорометричного визначення гідрофобних іонних органічних аналітів та білків з флуоресцентними реагентами, модифікованими неіонними поверхнево-активними речовинами (НПАР);
- розробити методики смарт-кольорометричного та смарт-флуорокольорометричного визначення іонних ПАР і білків з модифікованими реагентними системами та провести їх апробацію на реальних об'єктах і зразках.

Об'єкт дослідження – асоціація у розчинах флуоресцентних органічних барвників з поверхнево-активними речовинами у цифровій кольорометрії, спектрофотометрії та люмінесцентній спектроскопії.

Предмет дослідження – вплив організованих середовищ на основі ПАР на кольорометричний сигнал гідрофобних органічних сполук та білків в реакції з флуоресцентними реагентами у розчинах.

Методи дослідження: цифрова кольорометрія із смартфоном, спектрофотометрія, флуоресцентна спектроскопія, турбідиметрія (метод спектра каламутності), рН-потенціометрія.

Наукова новизна отриманих результатів:

- Виявлено збільшення кольорометричного сигналу в розчинах флуоресцентних реагентів при застосуванні УФ-освітлення, що покращує чутливість визначення. Явище вперше покладено в основу нового методу кількісного вимірювання кольору флуоресценції барвників з реєстрацією сигналу за допомогою смартфона – смарт-флуорокольорометрії розчинів. Показана значимість квантового виходу флуоресценції барвників як основного чинника чутливості методу смарт-флуорокольорометрії .

- Показано виконання закону Бугера–Ламберта–Бера у смарт-кольорометрії розчинів.
- Вперше показано збільшення кольорометричного сигналу флуоресцентних реагентів, аналітів та відповідних аналітичних форм у розчинах неіонних ПАР. Підсилення зазвичай реалізується у доміцелярних системах і зумовлене утворенням стехіометричних асоціатів за участю НПАР.
- Охарактеризовано вплив природи неіонної ПАР на кольорометричний сигнал гідрофобних органічних аналітів в реакції з флуоресцентними реагентами, який зумовлений гідрофобною відповідністю і загальною стабілізацією аналітичної системи.
- Встановлено хімізм асоціації Coomassie Brilliant Blue G з катіонними ПАР різної гідрофобності у водних розчинах. Показано уніфікацію хімізму асоціації катіонних ПАР з СВВГ у розчинах неіонної ПАР. Катіонні ПАР та білки, незалежно від гідрофобності, у присутності неіонної ПАР здатні до заміщення протону гетероатому і перерозподілу відповідних форм реагенту.

Практична значимість отриманих результатів. Проведені у роботі дослідження дали змогу розробити методологію кольорометрії розчинів із детектуванням та математичною обробкою аналітичного сигналу за допомогою смартфона, обґрунтувати доцільність проведення кольорометричних визначень в організованих розчинах ПАР, а також розробити низку кольорометричних методик визначення актуальних аналітів із покращеними метрологічними характеристиками.

Поєднання смартфона як детектора та процесора обробки сигналу кольору або флуоресценції розчинів дозволило сформувати основу (оптична схема, характер та тип освітлення, концентрації реагентів) запропонованого методу смарт-кольорометрії розчинів. Показана можливість селективного смарт-кольорометричного визначення барвників у їх суміші із використанням світлофільтрів використана при визначенні харчових барвників E133, E102 за їх власним забарвленням у напоях.

Виявлене явище підсилення кольорометричного сигналу флуоресцентних реагентів при застосуванні УФ-освітлення дозволило розробити основу смарт-флуорокольорометрії розчинів. Розроблено методику смарт-флуорокольорометричного визначення клемастину (LOD 0,5 мг/л) у препараті «Тавегіл» (RSD < 0,025). Показано перспективність методу і раціональне коло об'єктів аналізу для смарт-флуорокольорометричного визначення.

На основі виявленого явища підсилення кольорометричного сигналу в присутності неіонної ПАР розроблено методику смарт-кольорометричного визначення цетилпіридиній хлориду (ЦПХ) у системі «бромтимоловий синій - Triton X-100» (LOD $2,5 \cdot 10^{-6}$ моль/л) у льодяниках «Септолете Тотал» (RSD < 0,021). Запропоновано умови смарт-кольорометричного визначення додецилсульфату натрію (ДДСН) з НПАР-модифікованою реагентною системою бромтимоловий синій - ЦПХ (LOD $7,5 \cdot 10^{-7}$ моль/л). За чутливістю методика визначення ДДСН не має аналогів серед методів молекулярної спектроскопії.

На основі виявленого явища підсилення флуорокольорометричного сигналу в присутності неіонної ПАР, дослідженого впливу природи НПАР та оптимально підібраних концентрацій, запропоновано умови смарт-флуорокольорометричного визначення аніонних ПАР у реакції з родаміном 6Ж у розчинах неіонної Tween-20 (LOD $5,6 \cdot 10^{-6}$ моль/л), та цетилпіридиній хлориду у системі «флуоресцеїн - TX-100» (LOD $5,7 \cdot 10^{-6}$ моль/л).

На основі сформульованих вимог до НПАР-модифікаторів реагентних систем Coomassie Brilliant Blue G розроблено методики смарт-кольорометричного визначення білка з CBGG у присутності неіонної TX-305 (LOD 0,3 мг/л) у сечі (RSD < 0,075) та методику визначення цетилпіридиній хлориду (LOD 2,5 мг/л) у льодяниках «Септолете Тотал» (RSD < 0,025).

Особистий внесок здобувача. Аналіз та систематизація даних літератури за темою дисертації, основний обсяг експериментальних досліджень та вимірювань, обробка, попередній аналіз та інтерпретація даних були виконані здобувачем особисто або за безпосередньої його участі. Постановка мети та завдань дослідження, аналіз та обговорення результатів, формулюванням

висновків проводилося дисертантом разом з науковим керівником к.х.н., доц. С.А. Куліченком. Підготовка наукових публікацій до друку здійснювалася спільно з науковим керівником та PhD (д-р філософії) В.О. Кловак. Постановка окремих експериментальних досліджень була проведена разом з к.х.н., доц. С.О. Лелюшком. Смарт-кольорометричне визначення харчових барвників проводились спільно з студенткою ОР магістр В.В.Титович, дослідження флуоресцентних реагентів виконувались зі студенткою ОР магістр І.В. Мадараш та ОР бакалавр В.С. Лагодіч.

Апробація результатів дисертації. Основні результати дисертаційної роботи були представлені здобувачем на конференціях: XV Всеукраїнській науковій конференції студентів та аспірантів «Хімічні Каразінські читання – 2023» (Харків, 2023), XXIV, XXV та XXVI Міжнародних конференціях студентів та аспірантів «Сучасні проблеми хімії» (Київ, 2023, 2024, 2025), Київській конференції з аналітичної хімії «Сучасні тенденції-2024» (Київ, 2024), та XX Науковій конференції «Львівські хімічні читання – 2025» (Львів, 2025).

Публікації. Основний зміст дисертаційної роботи викладено у 5 статтях та 10 тезах доповідей на наукових конференціях.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена на 174 сторінках друкованого тексту, складається зі вступу, 5 розділів, висновків, списку використаних джерел (161 найменування) та додатки. Дисертація містить 53 рисунки, 36 таблиць.

РОЗДІЛ 1. ЦИФРОВА КОЛЬОРОМЕТРІЯ ОРГАНІЗОВАНИХ РОЗЧИНІВ В АНАЛІЗІ (огляд літератури)

Цифрова кольорометрія з використанням смартфона як детектора розглядається як перспективний підхід для реєстрації сигналу, що забезпечує оперативність, мобільність і зниження вартості вимірювань [1]. Підвищення чутливості та вибірковості спектроскопічних методів досягається шляхом використання організованих середовищ на основі поверхнево-активних речовин, які підвищують стійкість аналітичних форм і покращують їх оптичні характеристики [2]. Водночас застосування аналітичних систем за участю ПАР у поєднанні із цифровою кольорометрією та смартфоном залишається недостатньо дослідженим.

Іонні поверхнево-активні речовини та білки є важливими об'єктами аналітичного контролю в екологічних, фармацевтичних і біомедичних дослідженнях, що зумовлює потребу в експресних і доступних методиках визначення [3]. Флуоресцентні реагенти потенційно здатні забезпечити більш інформативний аналітичний сигнал у кольорометрії, однак використання класичних флуорофорів у методах цифрової кольорометрії представлено в літературі обмежено.

Розглянуто стан досліджень в галузі цифрової кольорометрії розчинів з флуоресцентними реагентами і реалізацією методик в ПАР-організованих системах.

1.1. Сучасні напрями розвитку цифрової кольорометрії

Кольорометрія – це фізико-хімічний метод кількісного визначення вмісту широкого кола забарвлених речовин у різноманітних об'єктах, оснований на вимірюванні кольору. У класичному варіанті кольорометрія використовує візуальне порівняння забарвлення з еталонними зразками, однак сучасні цифрові технології дозволили автоматизувати процес і значно підвищити точність вимірювань. Цифрова кольорометрія – це сучасний напрям аналітичної хімії та

обробки зображень, що базується на вимірюванні та аналізі кількісних характеристик кольору за допомогою цифрових технологій та сенсорів. Цей підхід дозволяє перетворити візуальну інформацію на кількісні дані, що значно підвищує точність порівняно з візуальним аналізом неозброєним оком. В основі цифрової кольориметрії лежить фундаментальний принцип, що інтенсивність забарвлення розчину пропорційна концентрації речовини, що поглинає світло. Цифрова кольориметрія складається з двох ключових етапів: реєстрації зображення та отримання кількісних характеристик кольору. На ринку доступний широкий спектр пристроїв з оптичними можливостями, які можна використовувати для збору інформації про колір для кількісного аналізу, включаючи сканери, камери, веб-камери, смартфони та планшети [4-6]. Вартість таких пристроїв на декілька порядків нижча, ніж вартість аналітичного обладнання. Різне обладнання призводить до різної якості зображень, тому для мінімізації інструментальних помилок для отримання зображень протягом усього процесу аналізу слід використовувати одне й те саме обладнання. Щоб отримати кількісні характеристики кольору використовують програмне забезпечення, наприклад, Adobe Photoshop, ImageJ або MATLAB та інші. Для стандартизації і перетворення інформації про колір в числові значення використовують колориметричні системи та колірні простори [7,8]. До найпоширеніших відносяться:

- RGB (Red, Green, Blue): модель, що базується на адитивному змішуванні трьох основних кольорів. Колір визначається трьома координатами, що відповідають інтенсивності червоного, зеленого та синього каналів. Ця модель широко використовується в цифрових продуктах.
- CMYK (Cyan, Magenta, Yellow, Key/Black): субадитивна система, яка використовується в кольоровому друку, де кольори створюються шляхом змішування різних кількостей блакитного, пурпурового та жовтого чорнила.
- HSV (Hue, Saturation, Value): описує колір за допомогою трьох параметрів: відтінку (Hue), насиченості (Saturation) та значення (Value). Разом з RGB, ця модель є однією з найбільш поширених для цифрової кольориметрії.

- CIE $L^*a^*b^*$: ця модель, розроблена Міжнародною комісією з освітлення (CIE), є незалежною від пристрою та максимально відповідає людському сприйняттю кольору. L^* позначає світлоту, a^* - координату від зеленого до червоного, b^* - від синього до жовтого.

Отримані числові значення використовують для побудови градуовальної залежності та встановлення кореляції між кількісним сигналом цифрового зображення і концентрацією аналіту. Це дозволяє точно визначати склад невідомого зразка на основі його кольору.

Метод цифрової кольориметрії – це швидкий, економічний та портативний інструмент для аналізу, особливо для польових вимірювань. Він усуває суб'єктивні помилки спостерігача, що є ключовою перевагою порівняно з візуальною кольориметрією. Однак, для підвищення надійності та точності, необхідні додаткові налаштування, такі як контроль умов освітлення та геометрії зйомки. Цифрова кольориметрія активно розвивається протягом останніх 20 років завдяки об'єднанню з передовими технологіями, цей метод підходить для лабораторного та позалабораторного аналізу [9-10]. Сучасні напрями розвитку включають: застосування нейромережевих алгоритмів для класифікації кольорових зображень; інтеграцію кольориметричних методів у мобільні пристрої та сенсори; розробку нових моделей обробки кольору, що враховують освітлення, текстуру та геометрію об'єктів [11,12]. Один із напрямків розвитку є використання наноматеріалів для покращення чутливості та специфічності кольориметричних біосенсорів [13, 14]. Такий підхід відкриває нові можливості для виявлення біомаркерів і дозволяє створювати нові сенсори.

Сучасна кольориметрія часто поєднується з іншими методами для підвищення надійності та чутливості. Завдяки різноманітним напрямкам розвитку, цифрова кольориметрія знаходить широке застосування в різних сферах: діагностика [8], криміналістика [15], контроль якості та безпеки [16], а також моніторинг стану довкілля [17]. Цифрову кольориметрію використовують в біології та медицині [18], харчовій та фармацевтичній промисловості [19], екології [20,21]. Згідно з дослідженнями [22], цифрова кольориметрія ефективно

застосовується для вивчення кислотно-основних рівноваг у розчинах поліфункціональних органічних сполук, зокрема через використання функцій повної колірної відмінності та показника жовтизни як аналітичного сигналу. У роботі [23] використали датчик кольору для кількісного оптичного аналізу кольорових розчинів. Для оцінки можливостей RGB-сенсора були обрані різні кольорові барвники, що охоплює широкий діапазон кольорів. Аналітична продуктивність RGB-сенсора показала лінійний діапазон 5,0–50,0 мкмоль/л для розчинів барвників. Точність цього датчика була продемонстрована тіоціанатним методом для кольориметричного визначення заліза у зразках ґрунту та добавок. Такий RGB-датчик досяг аналітичних характеристик, подібних до тих, що отримуються за допомогою комерційного спектрофотометра, без необхідності використання комп'ютерів для обробки зображень.

За останні роки прогрес у технології смартфонів зробив їх доступними та універсальними платформами для різноманітних застосувань, зокрема в хімічному аналізі [24]. Смартфони дедалі частіше використовуються як «портативні хімічні аналізатори». Смартфони використовують як зовнішній сенсорний модуль для обробки та відображення даних, або як детектор сигналу за допомогою вбудованих (внутрішніх) датчиків пристрою [25]. Смартфон це сучасний варіант детектора у методах аналізу та діагностики [26]. Смартфони можуть функціонувати як спектрометри [27,28], флуориметри [29], вольтамперометри [30,31], колориметри [32]. Сфери використання смартфона охоплюють діагностику, криміналістику, контроль якості продукції та моніторинг стану довкілля [33]. Це зумовлено доступністю, портативністю, простотою використання та широким поширенням цих пристроїв.

Найбільш практичними сенсорами на основі смартфонів є кольориметричні сенсори [34-37]. Цифрова кольориметрія зі смартфоном активно розвивається. Це сучасний конкурентоздатний метод аналізу, що дозволяє кількісну оцінку кольору не лише твердих поверхонь, наприклад сорбентів або реагентного паперу, а і забарвлених розчинів. У такому аналізі

розчинів сигналом є цифрові значення інтенсивності кольору зображення, які корелюють із концентрацією аналіту у розчині. Наприклад ацетамінофен можна визначити кольорометрично у діапазоні концентрацій 5–40 мкМ [8]. Утворений фероціанід реагує з іонами Fe (III), утворюючи інтенсивно забарвлений комплекс берлінської лазури (фероціанід заліза). У роботі використали камеру смартфона для фіксації синього кольору, що утворився у результаті проведеної реакції.

Для смартфонів можна використовувати спеціально розроблене програмне забезпечення на Android для кількісної оцінки зображення миттєво і без реєстрації самих зображень: Colorgrab® , Photometrix®, ColorLab®, ImageJ® , ColorPicker®. Таким чином, серед багатьох інструментів для зйомки зображень, смартфон можна вважати одним із кращих варіантів.

У роботі [27] описали кольорометричний датчик зі смартфоном для швидкого неферментативного вимірювання рівня глюкози в зразках крові людини.

Було створено програмне забезпечення, що аналізує комерційні тест-смужки для сечі [38]. Застосунок (працює на операційній системі Android) може вимірювати рН, білки та глюкозу з високою чутливістю, використовуючи колірні простори CIE-XY, RGB та HSV.

Запропоновано безекстракційну методику кількісного визначення сечовини в косметиці, яка базується на зменшенні знебарвлення метилового червоного гіпохлоритом натрію під дією сечовини [39]. Метод застосовується безпосередньо до косметичної формули, а отримана інтенсивність кольору фіксується камерою смартфона. Продемонстровано лінійну залежність інтенсивності кольору від вмісту сечовини в емульсіях «олія у воді» та шампуні.

1.2 Кольорометрія розчинів флуоресцентних барвників

Останні роки розвивається ще один підхід цифрової кольорометрії, а саме поєднання вимірювання флуоресценції із цифровою обробкою зображення або реєстрацією сигналу за допомогою смартфона [40-42]. Нещодавні дослідження демонструють, що використання флуоресцентних зондів з детекцією за

допомогою смартфона є перспективним та універсальним аналітичним підходом. Він виходить за рамки класичної кольориметрії і дозволяє досягти вищої чутливості та вибірковості визначень в портативних реалізаціях. У цих системах камера смартфона функціонує як портативний флуориметричний детектор, фіксуючи флуоресценцію як зміну забарвлення сенсора/датчика/паперової платформи під ультрафіолетовим освітленням. Отримані зображення кількісно обробляють за допомогою спеціальних програм або алгоритмів для визначення концентрації аналіту.

Наприклад, у роботі [43] розробили флуоресцентний сенсор для чутливого виявлення кількох патогенних бактерій на основі магнітного розділення, флуоресцентних зондів та обробки зображень за допомогою смартфона. Мікроканальний пристрій було зібрано з використанням фотополімерної смоли та технології 3D-друку. Цей пристрій було поєднано зі смартфоном та зовнішньою лінзою для реалізації флуоресцентного зондування. За допомогою RGB-аналізу флуоресцентного зображення провели виявлення в реальному часі з чутливістю до $\sim 10^2$ КУО/мл, час - 40 хвилин. Сенсор може бути використаний у медичній діагностиці, тестуванні харчових продуктів та аналізі об'єктів навколишнього середовища.

В роботі [44] показано інтерфейс для смартфона, що дозволяє реєстрацію повного спектру випромінювання при біологічних аналізах. Спеціальний тримач з'єднує тилову камеру смартфона з компонентами оптичної схеми (дифракційна решітка, фокусуєча лінза, збиральна лінза, оптичне волокно), необхідними для збору, колімації та дисперсії світла від невеликого об'єму рідини, що проявляє флуоресцентні властивості. Робота ілюструє можливість смартфонів служити портативними флуориметрами, здатними зчитувати сигнали флуоресценції в біохімічних аналізах.

У нещодавніх дослідженнях [45] описано дворезимний колориметрично-флуоресцентний сенсор, для визначення тіраму (тетраметилтіурамдисульфід) в об'єктах довкілля. Сенсор на основі наночастинок вуглецю був модифікований іонами Cu(II) , мав високу чутливість та селективність і продемонстрував надійну

роботу при аналізі реальних зразків води. Для реєстрації зміни кольору у видимому діапазоні за допомогою смартфона розроблено портативну паперову платформу. Отримані зображення обробляли за допомогою програмного забезпечення для смартфонів, яке давало значення RGB зображення. Інтеграція датчику зі смартфоном забезпечила зручне і швидке виявлення фунгіциду на місці відбору проби.

Розробляють паперові дворезимні системи, що поєднують флуоресцентні та колориметричні канали. У роботі [46] індоксилглюкозид було нанесено на фільтрувальний папір для флуоресцентного та колориметричного дворезимного виявлення β -глюкозидази. Для аналізу інтенсивності флуоресценції було використано смартфон (реєстрація кольору індикаторного паперу) при опроміненні світлом (λ 365 нм) у спеціальному боксі. Значення RGB-каналів зображень змінювалися залежно від активності β -глюкозидази; межа виявлення активності β -глюкозидази 0,005 одиниць /мл.

У [47] показана можливість визначення креатиніну в сечі у двох режимах – флуоресцентному та колориметричному, відповідно. Розроблено дворезимну платформу для визначення креатиніну через співвідношення флуоресценції та показників кольору за допомогою смартфона. Встановлено, що співвідношення інтенсивності флуоресценції (652 нм / 599 нм) лінійно пов'язане з концентрацією креатиніну в діапазоні від $3,0 \cdot 10^{-10}$ до $1,0 \cdot 10^{-3}$ моль/л з LOD 0,084 нМ. Для реєстрації колориметричного сигналу була розроблена система ідентифікації креатиніну за допомогою смартфона на основі зміни кольору паперових смужок з використанням видимого або УФ-освітлення. Дворезимна система забезпечує зручне, надійне та візуальне визначення і придатна для застосування на місці відбору проб.

Похідні родаміну за рахунок випромінювання у видимій ділянці спектра, низькій біотоксичності та контрастній зміні кольору використовують як флуоресцентні та колориметричні маркери для візуальної детекції аналітичного сигналу [48,49].

У [50] було розроблено дворежимну рН-чутливу індикаторну систему, отриману методом трафаретного друку, для візуального контролю свіжості креветок в реальному часі. У дослідженні модифіковані родамін В та флуоресцеїн було обрано як флуоресцентні зонди для сенсорної системи на основі полісахаридів. Отриманий індикатор показав чіткі та оборотні переходи кольору (від рожевого до жовтого) як за умов видимого освітлення, так і під дією ультрафіолету (від яскраво-оранжевого до зеленого) при зміні рН у присутності летких амінів. Система ефективно розрізняє свіжі, не зовсім свіжі та зіпсовані зразки, має високу чутливість, селективність і стабільність при зберіганні. Кількісна оцінка RGB-параметрів кольору виконується із використанням смартфона і забезпечує швидку експрес-оцінку свіжості *in situ*.

У роботі [51] представлено оптично активний хемосенсор на основі флуоресцеїну, що містить 4-(диметиламіно)циннамальдегідний фрагмент, який може вибірково ідентифікувати іони Au^{3+} . Зондування виконується флуориметричним, колориметричним та RGB методами. Використання смартфона для аналізу RGB-сигналу спростило, скоротило і пришвидшило процес виявлення іонів Au^{3+} у зразках води в режимі реального часу.

Таким чином аналіз літератури показує тенденцію використання портативних флуоресцентних аналізаторів у поєднанні зі смартфонами та іншими пристроями зчитування для біохімічного та екологічного аналізу, зокрема в місцях надання медичної допомоги. За останнє десятиліття зростає кількість публікацій, присвячених поєднанню флуоресцентних сенсорів, датчиків і платформ із смартфонами. Від ранніх портативних флуориметрів для смартфонів, про які згадувалось в середині 2010-х років, до сплеску публікацій у 2020-х роках - які показують, що ця інтеграція перейшла від етапу перевірки концепції до все більш практичного застосування в екологічному, біомедичному аналізі та контролі безпеки харчових продуктів [52-54]. Водночас представлені у літературі смартфон-флуоресцентні системи, як і більшість смартфон-кольориметричних, являють собою певні, інколи складні, технічні та оптичні пристрої (платформи), які дають можливість реєстрації сигналу сенсора

(найчастіше – твердого) або RGB-сигналу реагентних індикаторних смужок. Дослідження, присвячені безпосередній оцінці кольору або флуоресценції розчинів флуоресцентних реагентів за допомогою смартфона є поодиноким, а відповідні технічні реалізації знаходяться на початковій стадії розвитку.

1.3 Організовані середовища на основі ПАР у методах молекулярної спектроскопії

Поверхнево-активні речовини – це природні або синтетичні дифільні сполуки органічного походження. Їхня унікальна молекулярна структура, тобто наявність гідрофобного та гідрофільного фрагментів, відповідає за характерну їм властивість - знижувати поверхневий натяг міжфазної поверхні [55,56]. Виділяють три основні типи ПАР: катіонні, аніонні (АПАР) та неіонні. З одного боку, поверхнево-активні речовини можуть виступати як аналітичні реагенти, а з іншого - здатні раціонально та ефективно модифікувати фізико-хімічні властивості інших речовин у розчинах. Хімізм впливу ПАР на характеристики аналітичних систем реалізується через процеси асоціації та солюбілізації [57,58]:

- модифікація органічних реагентів у доміцелярних розчинах ПАР внаслідок утворення асоціатів між молекулами / іонами реагентів і поверхнево-активних речовин;
- міцелярні системи ПАР виступають ефективним середовищем для проведення аналітичних реакцій завдяки процесам солюбілізації, які забезпечують розчинення, стабілізацію та підвищення реакційної здатності реагентів і аналітів. Міцелярні системи ПАР здатні утворювати у розчинах власну мікропсевдофазу, а солюбілізація виступає як «зелена» альтернатива екстракції токсичними органічними розчинниками.

Поверхнево-активні речовини можуть створювати класичні організовані середовища, які є об'єктом вивчення супрамолекулярної хімії. Супрамолекулярна природа ПАР зумовлена, з одного боку, їх здатністю до нековалентної асоціації з реагентами, а з іншого - спроможністю до самоорганізації з утворенням упорядкованих ансамблів і фаз, які формують

специфічні мікросередовища та визначають особливості перебігу хімічних процесів. В організованих розчинах на основі ПАР спостерігається прояв зарядової, просторової та гідрофобної відповідності між реагентом або аналітом і частинками ПАР, що позитивно впливає на аналітичний сигнал та метрологічні характеристики методики. Така «відповідність» проявляється через підвищення стійкості і, відповідно, аналітичного сигналу системи, коли просторові (площа поверхні), гідрофобні характеристики ($\lg P$) і заряд частинок реагенту і ПАР є відповідним [59].

Раціональна модифікація аналітичних систем реалізується за рахунок використання різних типів і концентрацій ПАР. Ефекти ПАР-організованих середовищ часто використовують у методах молекулярної спектроскопії [60,61]. При цьому, асоціати «реагент- ПАР» виступають як модифікований реагент або як модифікована аналітична форма у різних методах визначення, концентрування та розділення [62-65]. Для барвників при їх зв'язуванні катіонними міцелами спостерігається невеликий гіперхромний ефект. Аналогічні закономірності також реєструються у випадку інших розчинів, що містять позитивно заряджені колоїдні частинки [66].

У низці робіт досліджено вплив поверхнево-активних речовин на інтенсивність флуоресценції та чутливість визначення у спектрофлуориметричних методиках [67-69]. Так у [67] систематично дослідили вплив аніонних (додецилсульфат натрію), катіонних (цетилтриметиламоній бромід) і неіонних (Tween 80) і високомолекулярних ПАР (карбоксиметилцелюлози) на флуоресцентні властивості похідних ситагліптину та саксагліптину. Показано, що ДДСН сильніше підсилює флуоресценцію, ніж інші типи ПАР. Катіонні та більшість неіонних ПАР не проявляли суттєвого ефекту. Отриманий результат пов'язують із солюбілізацією флуоресцентних продуктів у міцелах ДДСН та стабілізацією збудженого стану, що призводить до підвищення чутливості аналітичного визначення.

Автори [68] використали міцелярні розчини аніонної ПАР для спектрофлуориметричного визначення аванафілу у фармацевтичних препаратах.

Метод ґрунтується на посиленні власної флуоресценції аванафілу в присутності міцел додецилсульфату натрію: спостерігали суттєве зростання інтенсивності флуоресценції, що забезпечило підвищення чутливості методу.

Міцелярні розчини ПАР використані в [69,70] для підвищення чутливості та розчинності гідрофобних і малорозчинних аналітичних систем при визначенні важких металів за допомогою зонда на основі 1,4,7-триазаціклононану. Зростання чутливості у присутності ПАР зумовлене їх здатністю до електростатичної взаємодії з аналітами, процесами солюбілізації, а також стабілізацією аналітичних форм у розчині.

У роботі [71] досліджено вплив різних типів ПАР на чутливість спектрофотометричного визначення Cu(II) у фармацевтичних препаратах та зразках води. Використовували неіонну Triton X-100, аніонний лаурилсульфат натрію та катіонний цетилтриметиламонію бромід. Встановили, що НПАР та АПАР суттєво не підвищують аналітичний сигнал, тоді як у присутності катіонної ПАР зареєстрували значне зростання чутливості визначення Cu(II). Такий ефект пояснюється електростатичним притяганням між негативно зарядженою сульфогрупою пірогалолового червоного (PGR) і катіоном ПАР. Асоціація в міцелярному середовищі полегшує координацію PGR з іонами міді (II) і приводить до утворення більш стабільного комплексу.

Для кольорометричного визначення торію [72] використали КПАР-модифікований 5-(2',4'-диметилфенілазо)-6-гідроксипіримідин-2,4-діон. Показано, що використання змішаної міцелярної системи, утвореної катіонним цетилтриметиламоній бромідом та неіонною ТХ-100, істотно підвищує поглинання та ефективність екстракції утвореного комплексу Th(IV). Використання ПАР для попереднього концентрування торію дозволило уникнути токсичної екстракції розчинником. Порівняно із наявними, запропонований метод є швидшим, простішим та забезпечує низьку межу виявлення (0,16 нг/мл).

У роботі [73] дослідили вплив ПАР на спектрофотометричні та флуоресцентні характеристики метал-реагентної системи молібден(VI) – бром-пірогалоловий червоний. Показано, що модифікація системи катіонними, неіонними ПАР та їх сумішами впливає на інтенсивність і контраст аналітичного сигналу. Колоїдно-хімічний стан розчинів також стабілізується. При цьому добавки ТХ-100 призводять до зменшення межі виявлення гідрофобних органічних катіонів у флуоресцентному варіанті визначення та підвищують контрастність ($\Delta\lambda$) спектрофотометричної реакції. Використання катіонних ПАР сприяє утворенню інтенсивно забарвлених і флуоресцентно-активних асоціатів. Колоїдна агрегація і каламутність розчинів, що негативно впливають на «якість» фотометричного визначення, також нівелюються. Запропоновано умови контрольованої супрамолекулярної модифікації метал-реагентних систем, які забезпечують оптимальне поєднання чутливості, відтворюваності та стабільності аналітичного сигналу при визначенні гідрофобних органічних катіонів методами молекулярної спектроскопії.

Досліджено вплив ПАР різної природи на флуоресцентні характеристики еозину [74]. Показано, що введення ПАР істотно змінює інтенсивність флуоресценції, положення спектральних максимумів і квантовий вихід барвника, що зумовлено процесами сольобілізації та перебудови мікрооточення. Як ПАР використовували препарати Brij-35, Tween-40, Triton X-100; аніонні додецилбензолсульфонат натрію, ДДСН, диоктил сульфосукцинат натрію, та катіонні ЦТАБ та ЦПХ. Катіонні ПАР забезпечують найбільше підсилення флуоресценції еозину внаслідок: електростатичної взаємодії з аніонною формою барвника; утворенням іонних асоціатів; міцелярної сольобілізації. Аніонні ПАР демонстрували помірний ефект, який залежав від їх будови, тоді як неіонні ПАР, у більшості випадків, призводили до гасіння. Отримані результати підтверджують, що ПАР можуть ефективно впливати на аналітичний сигнал методів молекулярної спектроскопії.

У роботі [75] автори вивчали іонні рівноваги родамину Б у міцелярних розчинах аніонного додецилсульфату натрію, неіонних ПАР (Brij 35, неонол

АФ9-12, Triton X-100, Triton X-305, Tween 80), а також у циклодекстринових системах. Показано, що за умов повного зв'язування реагенту та ПАР значення pK барвника зростають порівняно з водним середовищем. Авторами також показано, що на значення pK_a барвника впливають зміни його міцелярного мікросередовища. Була продемонстрована можливість використання родаміну Б як кислотно-основного показника, наприклад, для контролю поверхневих потенціалів та об'ємної іонної сили.

У роботі [76] дослідили солюбілізацію гідрофобних барвників у водних розчинах ПАР із використанням індивідуальних та змішаних міцелярних систем на основі різних ПАР. Автори зазначають, що змішані міцелярні системи на основі катіонних і неіонних поверхнево-активних речовин забезпечують вищу ефективність солюбілізації та стабілізації барвників, порівняно з індивідуальними ПАР за рахунок збільшення гідрофобного ядра міцели та зростання констант зв'язування.

Таким чином, ПАР-модифікація реагентних систем та прояви супрамолекулярної відповідності в таких системах показують можливості підвищення чутливості та вибірковості аналітичних методик. При проведенні реакцій в системах, модифікованих ПАР, зазвичай збільшується інтенсивність аналітичного сигналу, підвищується стійкість аналітичної форми визначуваних речовин, стабілізується колоїдно-хімічний стан розчинів, можлива керована зміна протолітичних властивостей реагентів та аналітів [77 - 79]. Неіонні ПАР часто використовують для модифікування органічних реагентів. Розчини НПАР також застосовують як середовище проведення аналітичних реакцій за сприянням солюбілізації [80]. При проведенні аналітичних реакцій у розчинах неіонних ПАР зазвичай очікується підвищення аналітичного сигналу, розширення інтервалу лінійності градуовальної залежності та зниження межі виявлення цільового компоненту.

1.4 Методи молекулярної спектроскопії та кольориметрії для визначення гідрофобних органічних сполук та білків

Поверхнево-активні речовини є поширеним класом хімічних сполук, які мають важливе технологічне значення та широко застосовуються у виробництві пестицидів, палив, миючих засобів, шампунів, косметики, харчових продуктів і деяких фармацевтичних препаратів [3]. Внаслідок масштабного використання ПАР часто виявляють у стічних водах і природних водних екосистемах, що викликає екологічні проблеми. Високі концентрації поверхнево-активних речовин та продуктів їх деградації порушують мікробні взаємодії й пов'язані з ними важливі біогеохімічні процеси, пригнічують процеси життєдіяльності рослин та їхні екологічні ніші, а також негативно впливають на системні функції організму людини [81]. Такий вплив підкреслює важливість розробки чутливих аналітичних методик для їх виявлення. Суттєвий практичний інтерес становить визначення катіонних ПАР, що застосовуються як антисептики, дезінфікуючі речовини та консерванти у лікарських препаратах [82, 83].

Для кількісного визначення ПАР у природних водах запропоновано низку аналітичних методів, зокрема методи на основі високоефективної рідинної хроматографії та капілярного електрофорезу з УФ–видимим детектуванням [84], а також газової хроматографії в поєднанні з мас-спектрометрією [85]. Якщо ПАР присутня як окремий компонент, завдяки низькій вартості та простоті виконання, застосовують УФ–видиму спектрофотометрію [86].

Доцільним було здійснити аналіз даних літератури у контексті визначення гідрофобних органічних сполук іонної природи методами молекулярної спектроскопії та кольориметрії. Поширені методи визначення аніонних ПАР у воді, що поєднують концентрування з подальшим фотометричним аналізом (найчастіше у вигляді асоціатів з метиленовим синім [87]). Більшість існуючих спектрофотометричних методів визначення КПАР у водній фазі базуються на утворенні кольорового комплексу між КПАР та аніонними барвниками (бромкрезоловий зелений [88], помаранчевий II [89], метиловий оранжевий [90], бромфеноловий синій [91] та інші) з подальшою екстракцією комплексу в

хлороформі або 1,2-дихлоретані, і, нарешті, вимірюванням поглинання органічного шару.

У роботі [92] на прикладі додецилсульфату натрію запропоновано «зелену» методику визначення аніонних ПАР у природних водах. Метод базується на утворенні іонної пари між ПАР та метиленовим синім з подальшою екстракцією асоціату у гідрофобний природний глибокоевтектичний розчинник (NADES) на основі ментолу та лауринової кислоти. Кількісне визначення здійснювали шляхом цифрового аналізу інтенсивності забарвлення органічної фази з використанням камери смартфона та програм обробки зображень. Межа виявлення ДДСН у запропонованій методиці 2,0 мкг/л. Перевагами підходу є відмова від токсичного хлороформу, швидкість аналізу, можливість польових вимірювань та екобезпечність процедури, що підтверджується інтегральним показником екологічності 96%.

Розроблено простий спектрофотометричний метод визначення катіонних ПАР (цетилтриметиламоній броміду, цетилпіридинію хлориду та додецилтриметиламоній броміду) у водних середовищах [93]. Метод ґрунтується на утворенні іонного асоціату між катіоном ПАР та аніонним барвником - хромазуолом S, - з подальшою екстракцією в 1-бутанол. Запропонований підхід характеризується широким лінійним діапазоном визначуваних концентрацій (до ~80-90 мкМ), задовільними межами виявлення та доброю відтворюваністю результатів. Метод застосовано для визначення КПАР у природніх і стічних водах методом добавок із маскуванням заважаючих неорганічних катіонів за допомогою ЕДТА.

В [94] стандартну процедуру визначення АПАР з метиленовим синім адаптували до режиму безперервного потоку. Метод ґрунтується на утворенні іонної пари між аніонною ПАР та катіонним барвником з подальшою екстракцією асоціату в хлороформ і його безперервним транспортуванням до проточної кювети для спектрофотометричного вимірювання (λ 652 нм). Запропонована схема дозволяє зменшити витрату реагентів, скоротити час аналізу та підвищити чутливість, порівняно зі стандартним методом.

Для визначення додецилсульфату натрію розроблено екологічно чистий, чутливий та селективний метод [95], в основі якого рідина-рідинна мікроекстракція поєднана з флуоресцентним детектуванням. Метод оснований на реакції ДДСН з флуорофором - 3,3'-дітилоксадикарбоціанін йодидом. При оптимізації вивчали вплив різних хімічних та фізичних факторів на інтенсивність флуоресценції. Оптимізовані умови забезпечують широкий лінійний діапазон, межа виявлення 0,90 мкг/л. Метод застосований для визначення аніонних ПАР у реальних зразках води та в складі фармацевтичних препаратів.

Визначення концентрації білка є рутинною процедурою в багатьох медико-біологічних лабораторіях всього світу. Завдання є важливою складовою у біохімічних дослідженнях, при діагностиці захворювань, у криміналістичному аналізі, в контролі якості харчових продуктів тощо [96, 97]. Оцінку вмісту білку здійснюють методами УФ-, видимої- та ІЧ-спектроскопії, кольориметрії, імунологічного аналізу, мас-спектроскопії [98-100]. Вибірковість методик забезпечується методами електрофорезу та хроматографії [101]. Варіації таких методик застосовують в аналізі різних об'єктів, включно з біологічними рідинами (сироватка крові, сеча, слина), клітинними культурами та продуктами харчування [102, 103].

Визначення білку при аналізі продуктів харчування здійснюють переважно методом К'ельдаля [104], який включений у відповідні ДСТУ та ISO [105].

Визначення білку у фізіологічних рідинах часто виконують за допомогою методик, в основу яких покладено кольорові реакції [106]. Серед таких реакцій: біуретова [107], Лоурі [108], Сміта, ксантопротеїнова, Фоля; реакція з бромтимоловим синім, з кумасі діамантовим синім (СВВГ) [109], з комплексом в системі молібден (VI) - піраголловий червоний. Такі реагентні системи також придатні для визначення катіонних поверхнево-активних речовин (КПАР) та гідрофобних органічних сполук катіонної природи.

У роботі [110] запропоновано колориметричний метод визначення загального вмісту білка в сечі людини з використанням наночастинок золота.

Визначення білка здійснювали за допомогою цифрового RGB-аналізу зображень, отриманих зі смартфона, з використанням червоного каналу як аналітичного сигналу (межа виявлення 1,19 мкг/мл). Метод пропонує швидкий, економічний, ефективний та неінвазивний інструмент для контролю за вмістом білка у сечі. Метод є перспективним для застосування у рутинній клінічній діагностиці та моніторингу захворювань.

Безреагентна УФ-спектроскопія запропонована для одночасного визначення альбуміну та креатиніну в сечі людини [111]. Визначення здійснювали реєструючи спектри поглинання без попередньої пробопідготовки з подальшою хемометричною обробкою даних методом часткових найменших квадратів (PLS-регресії). Правильність результатів перевірено референтним аналізом, метод характеризується низькою межею виявлення, є швидким та придатним для портативного аналізу в місці надання медичної допомоги.

В [102] запропоновано виявлення фальсифікації молока методом цифрової кольорометрії. Метод ґрунтується на осадженні білків (переважно казеїну) сульфатом міді (II). Кількість залишкового Cu (II) у сироватці визначають з ЕДТА шляхом аналізу інтенсивності синього забарвлення за R-каналом RGB. Методика є добре відтворювана, швидка, екобезпечна, прецизійна та придатна для скринінгового контролю якості молока в умовах рутинного аналізу. Отримані результати узгоджуються з результатами, отриманими референтним методом ближньої ІЧ-спектроскопії.

Флуоресцентний сенсор на основі похідних дикетопіролопіролу (DPP) розроблений для визначення загального вмісту білка в сечі [112]. Реєстрували підсилення флуоресценції DPP-сенсора внаслідок специфічної та оборотної взаємодії альдегідних груп сенсора з аміногрупами білків. Це дозволяє кількісне визначення білку за інтенсивністю випромінювання (λ 581 нм). Лінійний діапазон 10–100 мг/л, LOD=3,1 мг/л, що є на рівні кращих спектрофотометричних методик. Перевагами методу виступають висока селективність, можливість багаторазового використання сенсора. Флуоресцентна система випробувана для аналізу реальних зразків сечі здорових донорів.

У роботі розроблено флуоресцентний біосенсор з використанням вуглецевих квантових точок (Ce-CQDs) для визначення бичачого сироваткового альбуміну у зразках крові та сечі [113]. При додаванні білка посилюється фотолюмінесценція Ce-CQDs, що дозволяє здійснювати кількісне визначення БСА протягом двох хвилин. Запропонований сенсор демонструє високу селективність і чутливість у діапазоні концентрацій 1–1000 мкМ з низькою межею виявлення 0,98 мкМ, що відповідає вимогам клінічного аналізу.

Варто зазначити, що визначення вмісту білка в сечі належить до найпоширеніших аналізів, що виконуються в клініко-діагностичних лабораторіях. Добова екскреція білка з сечею < 150 мг вважається нормою [114]. Протеїнурія понад 150 мг на день вважається патологією, хоча зараз визнано, що рання стадія захворювання нирок (особливо у пацієнтів з діабетом) пов'язана з низьким рівнем альбумінурії (30–300 мг на день) тобто мікроальбумінурією.

1.4.1. Coomassie Brilliant Blue G для визначення білків

Coomassie Brilliant Blue G є основним компонентом реагенту Бредфорда. Метод Бредфорда - колориметричний метод кількісного визначення білка при взаємодії з барвником у кислому розчині. Оригінальна публікація Бредфорда [115] є однією з найбільш цитованих методичних робіт у біохімії. Станом на січень 2026 року ця публікація нараховує понад 230 000 цитувань (згідно даних Science Direct), що свідчить про її фундаментальне значення та широке застосування в біохімічних і біомедичних дослідженнях.

У методі Бредфорда в результаті зв'язування СВВГ з білком відбувається батохромний зсув максимуму поглинання (з $\lambda=465$ нм до $\lambda=595$ нм), що дозволяє кількісне визначення концентрації білка вимірюванням поглинання при $\lambda=595$ нм [116]. Зміна спектральних характеристик барвника зумовлена утворенням стійких нековалентних асоціатів між реагентом і білком. Coomassie Brilliant Blue G-250 зв'язується з білками переважно через аргінінові залишки, а також за участю лізину, гістидину та ароматичних амінокислот – триптофану, тирозину і фенілаланіну. Стійкі сполуки при взаємодії СВВГ з амінокислотними

залишками білку утворюються за рахунок електростатичних взаємодій, силам Ван-дер-Ваальса та гідрофобному зв'язуванні з ароматичними залишками. Для реєстрації зміни кольору барвника використовують спектрофотометри, пристрої для зчитування мікропланшетів або навіть портативну камеру, наприклад камеру смартфона [117, 118]. Вибірковість методики зумовлена супрамолекулярною відповідністю СВВГ та аналіту. Висока чутливість методу зумовлена гідрофобністю реагенту і здатністю білка до заміщення двох протонів СВВГ в умовах визначення.

Однак є певні обмеження роботи з СВВГ. Барвник специфічно взаємодіє з основними амінокислотами білків. Зв'язування барвника залежить від основного вмісту амінокислот, який може відрізнитися між білками [119]. Білки з низьким вмістом цих амінокислот можуть давати слабкий сигнал, що ускладнює кількісне визначення. Разом з цим, при виборі відповідного стандарту аналіз є точним і чутливим. Іншою проблемою методу Бредфорда є утворення осадів в концентрованих розчинах білка при взаємодії з реагентом-барвником. Є певна нелінійність градувальних залежностей, забарвлення розчинів може змінюватися з часом що зумовлює необхідність контролю останнього [120]. Ще однією проблемою виступає гідрофобність самого СВВГ, що зумовлює його схильність до агрегації у водних розчинах. Агрегація негативно впливає на відтворюваність визначень. Агрегацію СВВГ у водних розчинах долають додаванням органічного розчинника. Так практично всі наведені в літературі методики використовують спиртові розчини реагенту [121].

У роботі [122] розробили та випробували портативну платформу для кількісного визначення загального вмісту білка з Coomassie Brilliant Blue G. Для детектування оптичного сигналу використовували смартфон. Для мінімізації впливу зовнішнього освітлення використали негатоскоп зі світлодіодним підсвічуванням для освітлення 96-лункового планшета. Кількісну обробку результатів здійснювали через аналіз параметра відтінку (hue) у колірній моделі HSV (лінійний діапазон 0,2-0,8 мг/мл). Запропонований підхід показав задовільну, порівняно з традиційною спектрофотометрією, точність визначення

загального білка в зразках плазми крові людини. Методика є простою у реалізації та придатна для використання в умовах point-of-care.

Автори [123] провели порівняння колориметричних методів Бредфорда та Лоурі для визначення білку в ґрунтових цитратних витяжках. Показано, що метод Бредфорда є високочутливим до поліфенольних сполук, характерних для ґрунтових витяжок. Разом з цим поліфеноли пригнічують розвиток забарвлення, зумовленого зв'язуванням барвника з білком, а самі викликають додаткове забарвлення внаслідок взаємодії поліфенолів із Coomassie Brilliant Blue G-250. Це призводить до систематичних похибок визначення білка. На основі порівняння з модифікованим методом Лоурі зроблено висновок про обмежену придатність методу Бредфорда з Coomassie Brilliant Blue G-250 для кількісного визначення білків у ґрунтових екстрактах з високим вмістом поліфенолів. У таких системах метод розглядається як напівкількісний.

Визначення вмісту білка в харчових продуктах є необхідним при контролі якості та має важливе значення для точного маркування. В [121] розроблено і оптимізовано процедуру екстракції білка з чотирьох видів зерна та кількісного визначення методом Бредфорда. Екстракція за допомогою NaOH значно підвищує вихід білка і дозволяє отримувати оцінки його вмісту, які, на думку авторів, краще узгоджуються з даними, отриманими методом К'ельдаля. Оптимальні параметри забезпечують максимальний вихід білка (~43,6 % w/w) за короткий час з мінімальною токсичністю використаних реактивів. Це робить метод придатним для швидкого лабораторного визначення білка у зернових продуктах харчування.

У роботі [124] реалізовано кількісне визначення білків з використанням Coomassie Brilliant Blue G-250 на портативній оптомікрофлюїдній платформі. Визначення білків (на прикладі альбуміну сироватки великої рогатої худоби) менш ніж за 1 хвилину проводили за допомогою однієї окремої мікрофлюїдної краплі, а також статистичним аналізом ансамблів з кількох тисяч крапель. Межа кількісного визначення 0,12 мг/мл. Отримані результати свідчать про

ефективність інтеграції реакції Бредфорда з Coomassie Brilliant Blue G у мікрофлюїдні та оптофлюїдні системи для високочутливого визначення білків.

З метою розширення інтервалів лінійності, збільшення чутливості та точності визначення білків у складних біологічних матрицях з CBVG у [120] застосували: методи першої похідної УФ-спектроскопії; інтегрування площі похідного спектра в інтервалі 545–565 нм; та співвідношення похідних сигналів $^1D_{550}/^1D_{420}$. Встановили, що останній підхід забезпечує найкращу лінійність градууювальної залежності ($R=0,9991$), найнижчі межі виявлення ($LOD = 5,45$ мкг/мл) та кількісного визначення ($LOQ = 16,5$ мкг/мл), порівняно з класичним варіантом методу Бредфорда. Запропоновану модифікацію було успішно валідовано та застосовано для визначення загального вмісту білків у зразках людського волосся.

У роботі [125] метод Бредфорда адаптовано для кількісного визначення білків із застосуванням камери смартфона для реєстрації аналітичного сигналу. Після проведення аналізу в мікропланшеті робили знімок за допомогою камери смартфона. Дані RGB отримували із зображення за допомогою програмного забезпечення для аналізу зображень. Показано, що співвідношення інтенсивностей синього та зеленого каналів RGB лінійно корелює з концентрацією білка в діапазоні 0,025–1,0 мг/мл. Запропонований підхід було валідовано на біологічних зразках (лізат клітин BV-2 та *Galleria mellonella* homogenate), для яких не виявлено статистично значущих відмінностей між результатами, отриманими класичним методом Бредфорда та його модифікацією із смартфон.

1.4.2. Комерційні експресні тест-системи для визначення білків

Для швидкого вимірювання загальної кількості або концентрації білка на ринку доступні різноманітні набори для аналізу. Це можуть бути як набори готових реагентів для проведення визначень в лабораторії, так і тест-набори (test-kits) для позалабораторного визначення. На ринку присутні реагенти для визначення загального білка, зокрема: реагенти для аналізу за методом

Бредфорда; набори для ВСА-аналізу (Bicinchoninic Acid); стандарти сироваткового альбуміну великої рогатої худоби та інші реагенти й тест-системи для спектрофотометричних та мікропланшетних визначень білка [126-128]. Їх використовують для кількісного визначення загальної концентрації білка після лізису клітин, мічення або очищення тощо.

Тест-набори для швидкого визначення білка - це діагностичні системи для використання безпосередньо на місці відбору проби. Залежно від сфери застосування, розрізняють тест-системи для клінічної оцінки біомаркерів білка (тести на С-реактивний білок для швидкої оцінки запалення або інфекції в зразках крові); тести для контролю залишків білка на поверхнях (санітарні умови) та в об'єктах довкілля; тест-набори для виявлення алергенів або специфічних білків. Функціонування таких систем зазвичай ґрунтуються на імунохроматографічних аналізах латерального потоку, методах із використанням мазків, або колориметричних реакціях (кольорова взаємодія барвника із аналітом), що забезпечують отримання результатів протягом кількох хвилин [129-131].

Визначення білку у фізіологічних рідинах також часто виконують за допомогою кольорових тест-методик та експрес тестів [132, 133]. У роботі [132] розроблено смартфон-колориметричну сенсорну платформу для визначення білка у сечі на основі комерційних тест-смужок. Метод ґрунтується на стандартній реакції білка з тетрабромфеноловим синім із зміною забарвлення сенсорної зони від жовтого до зеленого за контрольованого освітлення кільцевою лампою. Кількісну оцінку здійснювали за інтенсивністю червоного каналу (RGB) - межі виявлення становили 30–406 мкг/мл залежно від типу тест-смужки та програмного забезпечення. Основними перевагами методу є простота, низька вартість, відсутність складної пробопідготовки, портативність і придатність для скринінгу.

У роботі [134] розроблено паперову point-of-care тест-смужку на основі латерального потоку, призначену для швидкого виявлення S-білка вірусу SARS-CoV-2 як цільового аналіту для діагностики вірусу. Сенсорна платформа

ґрунтується на аптамер-індукованій агрегації та дезагрегації наночастинок золота, що забезпечує візуалізацію результатів у вигляді кольорових смуг на нітроцелюлозній мембрані протягом кількох хвилин. Показано, що запропонований paper-based тест поєднує високу специфічність і чутливість (1–10 нМ) із простотою використання, що робить його перспективним для експресної діагностики у позалабораторних умовах.

Набір Nutri-Test® розроблений для визначення вмісту сирого протеїну за допомогою УФ-вид спектrometerії, пропонує доступне та надійне рішення з кореляцією результатів з методами Дюма та К'ельдаля [129]. Набір забезпечує просте та ефективне виявлення та оцінку рівня білка в різних харчових продуктах та порошкоподібних кормах. Набір придатний для визначення нових та альтернативних білків, включаючи одноклітинні та мікробні білки.

Деякі приклади комерційних тест-систем:

- Реагент для тестування залишків білка Nitta PRO-100 PRO-Clean – це набір для перевірки чистоти, який використовує білок як індикатор забруднення. Використовують для виявлення білкових плям на посуді та обладнанні на виробничих та кулінарних майданчиках харчових продуктів [130].
- Тест на С-реактивний білок Prima Home Test – для швидкого скринінгу запалення в місці надання медичної допомоги [131].
- Bartovation test strips – тестові смужки для визначення білка призначені для використання в освіті та навчанні. Тестові смужки для визначення залишкового білка у воді, 0-10 г/л – флакон з 50 смужок. Швидкий, простий та повністю безпечний спосіб аналізу [135].
- Набір «Urine Analysis Test Strip» виробник Precision Europe Ltd-UK для аналізу сечі є швидким колориметричним діагностичним інструментом, який дозволяє одночасно оцінювати кілька параметрів сечі, включаючи наявність білка, рН, глюкози та інші біохімічні показники, шляхом порівняння змін кольору реактивних зон із калібрувальною шкалою. Тест-смужка для аналізу сечі підходить також для навчання та підготовки [136].

На українському ринку також доступні тест-набори, наприклад:

- тест-смужки URISCAN U41, призначені для напівкількісного визначення основних показників загального аналізу сечі, зокрема рН, ацетону, білка, білірубіну, глюкози, крові, лейкоцитів, нітритів, щільність, уробіліногену, аскорбінової кислоти. Смужки можуть застосовуватися як у поєднанні з аналізатором URiSCAN Optima, так і для візуальної інтерпретації результатів, що робить їх придатними для використання у клінічній практиці, амбулаторному контролі, а також для моніторингу стану пацієнтів при метаболічних порушеннях, діабеті та під час вагітності. [137].
- тест-смужки Citolab 3 GK для визначення глюкози, білка та кетонів у сечі. Граничний рівень при визначенні білка дорівнює 10 - 15 мг/дл, при визначенні глюкози - 50 мг/дл [138].
- візуальні тест смужки на білок «Прототест» - це індикаторні смужки для визначення білка в сечі за кольоровою шкалою. Діапазон вимірювань 0 - 2,0 г/л, час вимірювання 3 хвилини. [139].

Комерційні експрес-тест-системи для визначення білка відіграють важливу роль у забезпеченні оперативної оцінки вмісту білка *in situ* у сфері охорони здоров'я, безпеки харчових продуктів, ветеринарної медицини та промислового контролю. Висока швидкість отримання результатів і зручність застосування зумовлюють їх ефективність для первинного скринінгу та поточного моніторингу. Водночас, з огляду на обмежену аналітичну чутливість і переважно напівкількісний характер результатів, такі методи доцільно доповнювати більш чутливими лабораторними аналізами. Загалом, за умови коректного вибору, тест-системи та експрес-тести забезпечують практичну та економічно обґрунтовану аналітичну інформацію, підтримують можливість прийняття рішень не очікуючи результатів лабораторних досліджень.

1.5 Висновки до розділу 1

Дані літератури свідчать, що цифрова кольорометрія є сучасним і актуальним напрямом аналітичної хімії, ефективною при аналізі забарвлених та «флуоресцентних» розчинів. Хімічний аналіз за допомогою смартфонів є

перспективним перетином аналітичної хімії та цифрових технологій. Інтеграція смартфонів з методами аналізу допомагає у створенні простих, доступних та портативних аналітичних пристроїв. Смартфон – це актуально, сучасно і зручно для аналізу.

Флуоресцентні барвники та реагенти забезпечують реєстрацію аналітичного сигналу за низьких концентрацій аналіту, а їх поєднання з цифровою кольорометрією є ефективним підходом до вирішення аналітичних завдань. Смартфон-флуоресцентні системи, переважно являють собою певні технічні (платформи) або оптичні пристрої, які дають можливість реєстрації сигналу сенсора/датчика або RGB-сигналу розчинів або реагентних індикаторних смужок. Разом з цим, методологія поєднання цифрової кольорометрії з флуоресцентними вимірюваннями в розчинах потребує розвитку та вдосконалення.

Поверхнево-активні речовини підвищують якість аналітичних сигналів в методах молекулярної спектроскопії, зокрема в спектрофотометрії та при люмінесцентних вимірюваннях. Разом з цим систематизація ефектів ПАР в кольорометрії потребує нових досліджень.

Спектроскопічні й кольорометричні методи застосовують для визначення білків і гідрофобних сполук. Coomassie Brilliant Blue G зарекомендував себе як один із найпоширеніших і ефективних реагентів для кількісного визначення білків. Широко вживані комерційні експрес-тести поєднують зручність і швидкість, але мають обмеження, які полягають переважно лише у можливості ідентифікації мікрокомпонента або у напівкількісному характері її визначення, часто у недостатній чутливості та селективності.

Таким чином, огляд даних літератури показав, що, незважаючи на певні набірки і досягнення, дослідження у сфері цифрової кольорометрії з використанням флуоресцентних барвників, реалізація аналітичних реакцій в ПАР-організованих середовищах з детектуванням і обробкою сигналу за допомогою смартфона є актуальним і перспективним.

РОЗДІЛ 2. ОБҐРУНТУВАННЯ ОБ'ЄКТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ, РЕАКТИВІВ, УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТУ ТА МЕТОДІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Обґрунтування вибору об'єктів дослідження, використаних реагентів та ПАР

Флуоресцентні барвники характеризуються високою чутливістю та селективністю, а також високими значеннями молярного коефіцієнта світлопоглинання і квантового виходу випромінювання, що дозволяє реєструвати аналітичний сигнал у реакції з реагентом за низьких концентрацій аналіту. Поєднання переваг флуоресцентних реагентів із цифровим варіантом кольорометрії за допомогою смартфона є ефективним підходом до розв'язання ряду аналітичних завдань завдяки своїй експресності, низькій собівартості та портативності. Аналіз даних літератури (розділ 1), а також результати попередніх досліджень, виконаних на кафедрі аналітичної хімії Київського національного університету імені Тараса Шевченка [59], показали позитивний вплив поверхнево-активних речовин на стійкість та оптичні характеристики асоціатів гідрофобних органічних протиіонів у методах молекулярної спектроскопії: збільшення аналітичного сигналу та зменшення межі виявлення аналітів. Тому основним об'єктом дослідження виступили нефлуоресцентні та флуоресцентні органічні барвники та їх асоціати з протиіонами ПАР у цифровій кольорометрії.

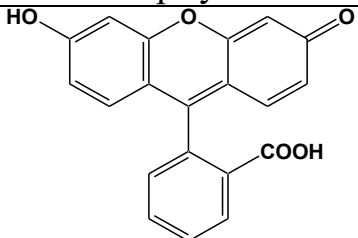
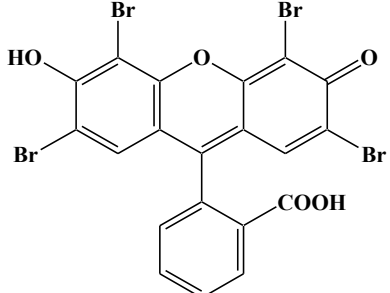
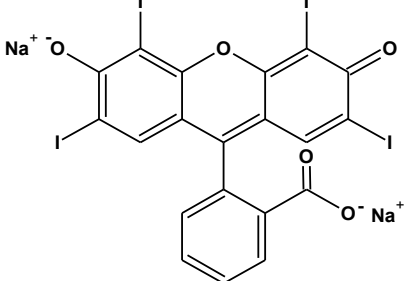
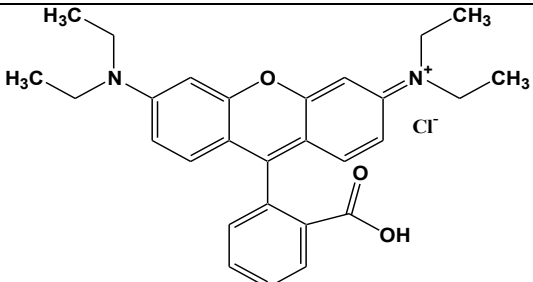
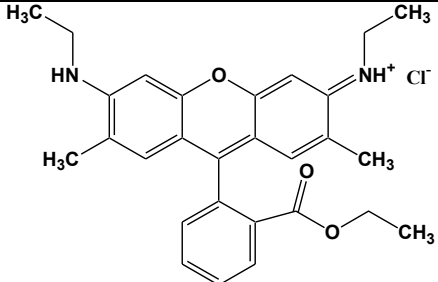
Органічні аналітичні реагенти. Як реагенти у роботі використали аніонні флуоресцентні барвники – флуоресцеїн ($\geq 95\%$, Sigma-Aldrich), еозин ($\geq 99\%$, Sigma-Aldrich) та еритрозин ($\geq 95\%$, Sigma-Aldrich), та катіонні флуоресцентні барвники – родамін С та родамін 6Ж, кваліфікації «ч.д.а» (Табл.2.1.). Також у роботі як реагенти використовували сульфоталеїнові барвники – бромфеноловий червоний (кваліфікації «ч.д.а»), бромтимоловий синій («Merck») та основний барвник – метиловий фіолетовий («ч.д.а»). У роботі також використали трифенілметановий барвник Coomassie Brilliant Blue G (“for electrophoresis”, Sigma-Aldrich) як один з поширених реагентів на білок.

Флуоресцентні барвники використовували не лише як реагенти на іонні ПАР, але також як аналіти.

Робочі розчини реагентів готували розчиненням точної наважки препаратів у дистильованій воді.

Таблиця 2.1

Використані у роботі реагенти

Реагент	Скорочення	Формула
Флуоресцеїн	Fl	
Еозин Y	Ео	
Еритрозин	Er	
Родамін С (Б)	RC	
Родамін 6Ж	R6G	

Реагент	Скорочення	Формула
Бромтимоловий синій	БТС	
Бромфеноловий червоний	БФЧ	
Метилловий фіолетовий	МФ	
Coomassie Brilliant Blue G	СВВГ	

Поверхнево-активні речовини. Іоногенні ПАР були використані у роботі як аналіти в реакціях з протиіоніми реагентів і для створення ПАР-організованих середовищ при дослідженні їх впливу на кольориметричний сигнал. Неіонні ПАР використовували переважно як модифікатори реагентів в їх реакціях з протиіонами ПАР в методах молекулярної спектроскопії, таблиця 2.2. Використовували поліоксиетильовані алкілфеноли різного ступеня оксиетильовання: Triton X-100 (вміст основної речовини >98,0%, Merck) та Triton X-305 («Merck»). Також у роботі використали поліоксиетиленовий

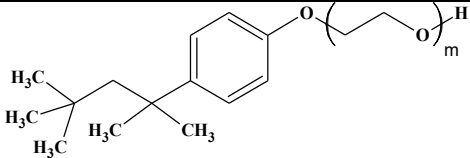
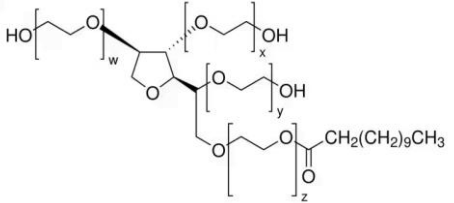
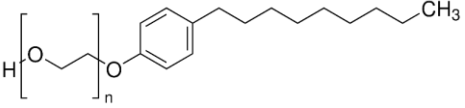
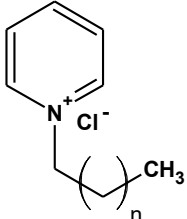
сорбітан монолаурат Tween-20 (Ph. Eur., «Merck»), неонол АФ₉₋₁₂, високомолекулярні поверхнево-активні речовини поліетиленгліколь-115 («РІАП»), поліетиленгліколь - 6000 (Ph. Eur. «Sigma-Aldrich»).

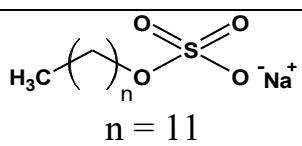
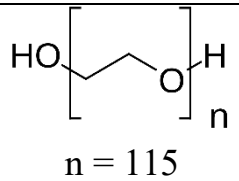
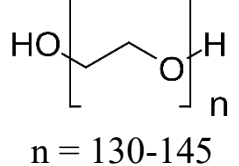
Як модельні іонні поверхнево-активні речовини використовували катіонні ПАР - хлориди алкілпіридинію з різною довжиною вуглеводневого радикалу (вміст основної речовини >98%, «Sigma-Aldrich») та аніонний додецилсульфат натрію (98,5%, «Merck»).

Робочі розчини ПАР готували розчиненням точної наважки у дистильованій воді.

Таблиця 2.2

Використані у роботі ПАР

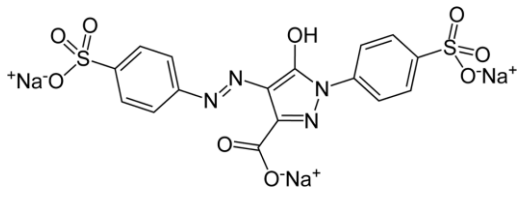
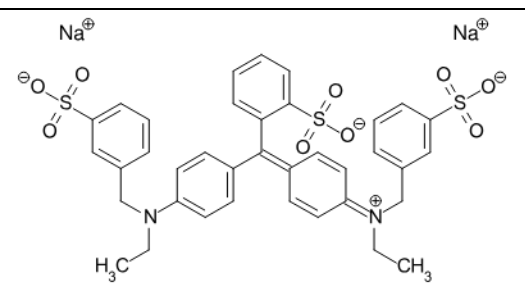
	Назва	Скорочення	Формула
Неіонні ПАР	Triton X-100	TX-100	 $\text{TX-100 } m \approx 9-10$ $\text{TX-305 } m \approx 30$
	Triton X-305	TX-305	
	Tween-20	-	 $x+y+z+w \approx 21-22$
	Неонол АФ ₉₋₁₂	-	 $n \approx 9$
Катіонні ПАР	Ундецилпіридиній хлориду	C ₁₁	 $n = 10-17$
	Додецилпіридиній хлориду	C ₁₂	
	Тридецилпіридиній хлориду	C ₁₃	
	Тетрадецилпіридиній хлориду	C ₁₄	

Назва	Скорочення	Формула	
Пентадецилпіридиній хлориду	C ₁₅		
Цетилпіридиній хлориду	C ₁₆ (ЦПХ)		
Октадецилпіридиній хлориду	C ₁₈		
Аніонна ПАР	Додецилсульфат натрію	ДДСН	 $\text{H}_3\text{C}-(\text{CH}_2)_n-\text{O}-\text{S}(=\text{O})_2\text{O}^-\text{Na}^+$ $n = 11$
Високомолекулярні ПАР			
Поліетиленгліколь-115	ПЕГ-115		 $\text{HO}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n-\text{H}$ $n = 115$
Поліетиленгліколь-6000	ПЕГ-6000		 $\text{HO}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n-\text{H}$ $n = 130-145$

Харчові барвники. Для побудови градувальних залежностей при визначенні аналітів за власною кольорометрією в аналізі напоїв використовували наведені у табл. 2.3 реагенти.

Таблиця 2.3

Використані у роботі харчові барвники

Реагент	Скорочення	Формула
Тартразин	E102	
Діамантовий синій	E133	
Цукровий колер IV	E150d	суміш високомолекулярних азотовмісних полімерних сполук

Робочі розчини барвників готували розчиненням точної наважки у дистильованій воді.

Білкові субстрати. У роботі використовували бичачий сироватковий альбумін (основної речовини >96,0 % Sigma-Aldrich, БСА) та яєчний альбумін. Робочі розчини білків готували розчиненням точної наважки у дистильованій воді.

2.2. Обґрунтування вибору методів дослідження та обладнання

Зростання потреби експресного аналітичного визначення в екологічних, біомедичних і харчових дослідженнях безпосередньо на місці відбору проби зумовлюють підвищений інтерес до розробки простих у реалізації, портативних та економних підходів кількісного аналізу. Підвищений інтерес до їх розробки зумовлюють складність і висока вартість класичних інструментальних методів. Одним із перспективних напрямків є поєднання кольориметричних вимірювань з обробкою сигналу за допомогою смартфона. Завдяки широкій доступності, високій роздільній здатності камер та потужним обчислювальним можливостям смартфони стають поширеним інструментом експрес-аналізу. Цифрова кольориметрія зі смартфоном активно розвивається (розділ 1.1). Наразі це сучасний конкурентоздатний метод аналізу, що дозволяє кількісну оцінку кольору. Тому кольориметрія у роботі виступила як основний метод дослідження, а методи молекулярної спектроскопії – спектрофотометрія і флуоресценція – для обґрунтованого порівняння.

Детектування кольориметричного сигналу здійснювали за допомогою камери смартфона з використанням програми “Color Picker”. Для оцінки інтенсивності кольору розчинів використовували адитивну колірну модель RGB.

Спектри поглинання розчинів реєстрували за допомогою спектрофотометра UV2401 PC Shimadzu.

Реєстрацію спектрів флуоресценції здійснювали за допомогою люмінесцентного спектрометра PerkinElmer LS 55.

Кислотність розчинів контролювали за допомогою рН-метра OrigaMeter OpH218 (OrigaLys, France).

Оцінку інтенсивності освітлення світлодіодною стрічкою видимого діапазону проводили за допомогою цифрового люксметра «MT-30 Vautech» з діапазоном вимірювань 0,1–200000 Lux.

2.2.1. Оптимізація умов реєстрації кольориметричного сигналу

Для отримання стабільного, відтворюваного сигналу та усунення сторонніх джерел освітлення смарт-кольориметричні вимірювання проводили у фотобоксі (рис.2.1, а). Реєстрацію сигналу розчинів проводили у чашці Петрі ($d=3\text{см}$). Фотобокс із білим фоном був оснащений круговим діодним освітленням (світлодіоди SMD 2835, 3000-5000 К, 12В, 60led/m, 6W/m). Фотобокс із чорним фоном - діодним освітленням з ультрафіолетовим випроміненням при $\lambda=360\text{нм}$ (світлодіоди SMD 5050, 12В, 60led/m, 9W/m Ultraviolet ip33) та ультрафіолетовою газорозрядною лампою при $\lambda=250\text{ нм}$. Досліджувані розчини у фотобоксі розміщували на центральній геометричній вісі в системі «фотобокс-освітлення-камера смартфона», а за допомогою поворотного столу розчини розміщували у заданій фіксованій точці.

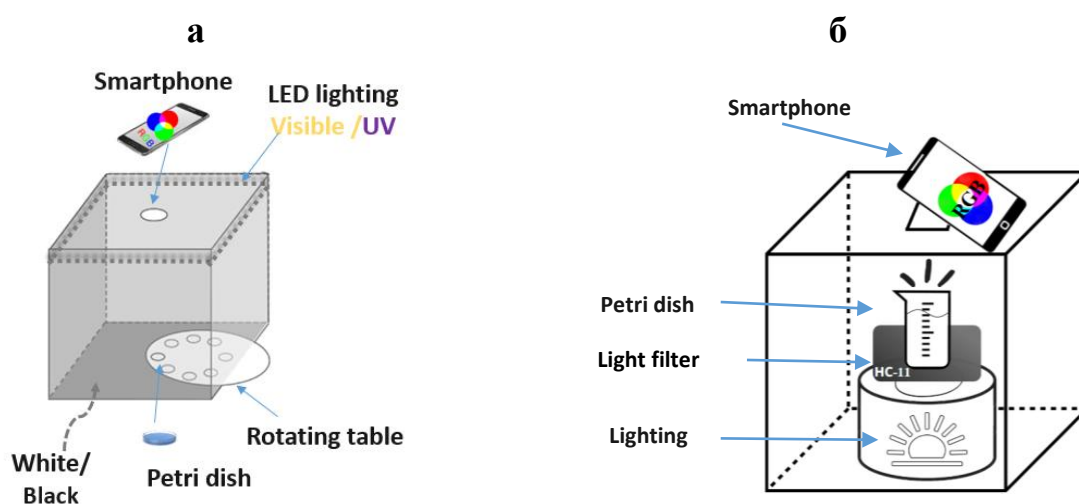


Рис. 2.1. Схема вимірювання кольориметричного сигналу: а - освітлення розчинів зверху, б - освітлення розчинів знизу

При дослідженні параметрів оптичних схем для освітлення розчинів знизу використовували установку, зображену на рисунку 2.1,б. Світлофільтр НС11 використовували для зменшення інтенсивності освітлення, параметри світлофільтра наведено у таблиці 2.4.

Таблиця 2.4

Базові характеристики світлофільтра НС11

Параметр	Значення
Марка	НС-11
Тип фільтра	Нейтральне кольорове оптичне скло
Розміри / товщина	40 × 40 × 3 мм
Показник заломлення	1,514 (для видимого та УФ діапазону)

Для підвищення вибіркової кольориметричного визначення барвників в їх суміші використовували додаткові світлофільтри. Вибір світлофільтра визначали найбільш чутливим каналом, який відповідає за аналітичний сигнал барвника. Для В-каналу використовували світлофільтр СС8, який забезпечує виокремлення синьої компоненти спектра; для G-каналу - світлофільтр ЗС11; для R-каналу - світлофільтр КС13. Деякі спектральні характеристики обраних світлофільтрів наведено в таблиці 2.5.

Таблиця 2.5

Спектральні характеристики використаних світлофільтрів

Світлофільтр	Діапазон пропускання, нм	λ_{\max} , нм
ЗС11	480-570	525
НС11	≥ 1700	2500
КС13	≥ 630	630
СС8	370-500	410

Для проведення позалабораторного аналізу було розроблено портативну установку - бокс, обладнаний круговим світлодіодним освітленням (світлодіоди SMD 2835, 3000-5000 K, 12В, 60led/m, 6W/m), та підключенням живлення через Power bank (рис.2.2).

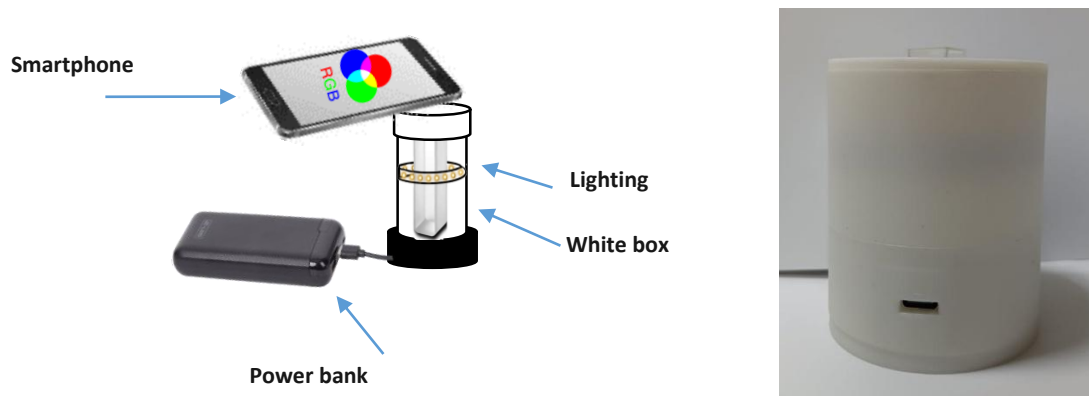


Рис. 2.2. Портативна схема вимірювання кольориметричного сигналу

Зйомку проводили фотографуванням розчинів у фотометричній кюветі ($l=1\text{см}$). Бокс портативної моделі було надруковано за допомогою технології адитивного виробництва (3D-друку).

2.3. Розрахунки за результатами досліджень

Оптимізація виду кольориметричного сигналу. Для оцінки інтенсивності кольору досліджуваних розчинів використовували RGB-характеристику. У кольориметричній моделі RGB кожен канал кольору відповідає певному спектральному діапазону видимого світла: R (червоний) $\approx 550\text{-}750\text{нм}$, G (зелений) $\approx 450\text{-}650\text{ нм}$, B (синій) $\approx 400\text{-}550\text{нм}$ [5]. У векторному представленні $(0,0,0)$ і $(255, 255, 255)$ означають повне поглинання і відсутність поглинання (повне відбиття) падаючого випромінювання.

За результатами експериментальних досліджень було складено певний алгоритм оптимізації виду кольориметричних залежностей та побудови градувальних графіків. Колір визначається як результат взаємодії кількох кольірних компонентів, внесок яких є неоднаковим. Вплив цих компонентів не є обов'язково однонаправленим: збільшення внеску одного компонента може

супроводжуватися зменшенням або частковою компенсацією впливу іншого, що зумовлює нелінійний характер формування підсумкового кольору. На першому етапі реєструють значення або величини змін трьох каналів кольору R, G та B. На основі попереднього аналізу обирають найбільш чутливий та інформативний канал. За необхідності розраховують комбінацію найбільш інформативних каналів або суму трьох колірних каналів:

$$\sum RGB = R + G + B$$

Кольорометричний сигнал аналіту – це зміна кольору. Для побудови градуовальної залежності кольорометричний сигнал розраховували як зміну окремих координати кольору R, G чи B, або як модуль суми змін координат кольору:

$$|\Delta R| = |R - R_{\text{хол.}}|$$

$$\sum |\Delta|RGB = \sum (|\Delta|R + |\Delta|G + |\Delta|B) = \sum (|R - R_{\text{хол.}}| + |G - G_{\text{хол.}}| + |B - B_{\text{хол.}}|)$$

Порівняння різних кольорометричних систем (наприклад, у розчинах різних ПАР), здійснювали за допомогою нормованого аналітичного сигналу:

$$\sum |\Delta|RGB / \sum |\Delta|RGB^0$$

де $\sum |\Delta|RGB^0$ кольорометричний сигнал розчину за відсутності ПАР.

Оцінка чутливості кольорометричного визначення барвника. Для оцінки чутливості визначень та порівняння різних реагентних систем у роботі використовували «коефіцієнт чутливості, S», який визначали як тангенс кута нахилу градуовальної залежності: $RGB=f(C_{\text{аналіт}})$, що чисельно відповідає параметру a у рівнянні $y = ax + b$. Оцінку проводили для першого лінійного фрагменту градуовальної залежності (для найменшого інтервалу концентрацій аналіту).

Межу виявлення (LOD) розраховували за формулою:

$$LOD = \frac{3 \times \Delta a}{b},$$

де b – тангенс кута нахилу градувальної залежності, Δa – похибка значення коефіцієнта «а» рівняння градувальної залежності. Оцінку проводили для першого фрагменту градувальної залежності (для найменшого інтервалу концентрацій аналіту). Межа виявлення це найменша кількість аналіту, що відповідає мінімальному детектованому сигналу, який можна відрізнити від сигналу холостої проби або сигналу фону [140].

Гідрофобність використаних у роботі реагентів та аналітів оцінювали через значення коефіцієнту / константи розподілу речовини ($\lg D / \lg P$) у системі вода-октанол які були розраховані за допомогою програми ICDLab або отримані з баз даних [141, 142], таблиця 2.6.

Таблиця 2.6

Деякі характеристики реагентів

Показник	F1	Eo	Er	RC	R6G	СВВВ	БТС	БФЧ	МФ
M_r , г/моль	332,3	647,9	879,9	479,0	479,0	856,0	624,4	669,9	407,9
Q^{***}	0,97	0,36	0,08	0,31	0,96	-	-	-	-
$\lg P^*$	3,39	6,36	7,17	2,99	7,35	9,7/5.2**	5,24	3,35	1,99

* розраховані за програмою ICDLab

** молекулярна форма та дианіон

*** квантові виходи вказано для водних розчинів реагентів [59, 143-145].

Оцінка протолітичних властивостей використаних у роботі реагентів. У роботі систематично досліджували вплив кислотності середовища на кольорометричні характеристики розчинів реагентів та сигнал аналіту. Кольорометричні та флуорокольорометричні залежності $R, G, B = f(pH)$ можуть бути використані для оцінки величин pK реагентів, які корелюють з оцінками, отриманими іншими методами ($A_{\lambda_{max}} = f(pH)$, $\lambda_{max} = f(pH)$, $I_{ФЛ} = f(pH)$) та з даними літератури. Наприклад, для визначення константи дисоціації БТС проводили вимірювання RGB-сигналу його розчинів за різної кислотності (рис.2.3 а).

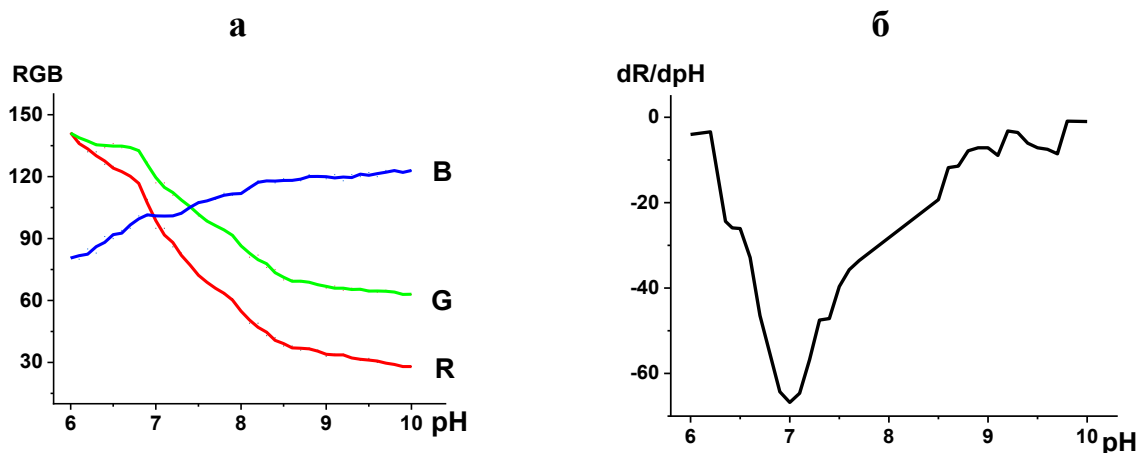


Рис 2.3. Залежність RGB-сигналу БТС (а) та диференційна залежність R-каналу (б) від кислотності розчинів. $C_{\text{БТС}}=2,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л

Знайдене за положенням мінімуму на диференційній залежності кольориметричного сигналу від рН значення рК $7,0 \pm 0,1$ [146] узгоджується з оцінкою рК, отриманою спектрофотометричним методом та даними літератури, наприклад рК = 7,11 [147], (рис.2.3, б).

Дослідження каламутності розчинів. Найбільш гідрофобним серед досліджених барвників є Coomassie Brilliant Blue G, колоїдна агрегація в розчинах якого є суттєвим чинником впливу на величину та «якість» кольориметричного сигналу. Агрегацію в розчинах СВВГ оцінювали за допомогою методу «спектру каламутності» [148]. Каламутність (τ) визначали за поглинанням розчинів при $\lambda=800$ нм (за довжини хвилі ≥ 100 нм від положення максимуму поглинання реагенту). Поглинання розчинів СВВГ в довгохвильовій ділянці спектра зумовлене переважно розсіюванням світла агрегатами частинок барвника. Значення каламутності розраховували за формулою:

$$\tau = \frac{2,3 \times A_{\lambda}}{l}$$

де A_{λ} – оптична густина розчину, l – товщина поглинаючого шару.

Розміри колоїдних агрегатів водних розчинів були оцінені за допомогою фактору розсіювання (F_r). Значення F_r розраховували як тангенс кута нахилу допоміжної функції $\ln A = f(\ln \lambda)$ для довгохвильової області спектру ($\lambda=800$ -850 нм). Значення $F_r < 4$ свідчило про присутність в розчинах колоїдних

агрегатів. Для інтервалу значень $2 < F_r < 4$ виконується кореляція параметру з розмірами частинок у системі. Разом з цим, для оцінки колоїдно-хімічного стану розчинів ми обмежувались значення τ і F_r , як достатніми. Примітно, що ПАР-концентраційні залежності для τ та F_r , як і традиційні криві насичення, виявились зручними і інформативними для встановлення складу асоціатів у розчинах СВВГ-ПАР.

2.4. Висновки до розділу 2

У розділі наведено перелік використаних у роботі органічних флуоресцентних та нефлуоресцентних реагентів, поверхнево-активних речовин та використаного обладнання. Наведено формули для розрахунку параметрів, що застосовували у ході виконання роботи. Описано алгоритм оптимізації виду кольорометричних залежностей та побудови градувальних залежностей. Також обґрунтовано вибір об'єктів та методів експериментальних досліджень.

РОЗДІЛ 3. ВПЛИВ КОНСТРУКТИВНИХ ТА ФІЗИКО-ХІМІЧНИХ ПАРАМЕТРІВ НА КОЛЬОРОМЕТРИЧНИЙ СИГНАЛ РОЗЧИНІВ РЕАГЕНТІВ

Цифрова кольориметрія із смартфоном є перспективним методом аналізу забарвлених розчинів та інших систем (розділ 1.1). Однак, кольориметрія розчинів має свої технічні проблеми і специфіку, котрі потребують детального вивчення. У розділі 3 наведено результати дослідження умов та закономірностей формування кольориметричного сигналу, а також вплив конструктивних та фізико-хімічних параметрів на сигнал розчинів реагентів різної природи. Параметри кольориметричного сигналу вивчали на прикладі розчинів сульфоталеїнових барвників – бромфенолового червоного, бромтимолового синього та основного барвника – метилового фіолетового. Одним із важливих аспектів роботи стало використання флуоресцентних реагентів у кольориметрії. Було досліджено формування кольориметричного сигналу розчинів таких барвників і вплив характеру освітлення на сигнал. Як флуоресцентний реагент використали аніонний флуоресцеїн.

Оцінка впливу чинників на аналітичний сигнал дозволила покращити метрологічні параметри кольориметрії розчинів та оптимізувати умови проведення аналізу. Постановка досліджень була спрямована на розробку методик кольориметричного визначення аналітів із застосуванням смартфона та показ можливостей методу.

3.1. Вплив параметрів освітлення на кольориметричний сигнал барвника

У роботі в першу чергу дослідили вплив характеру освітлення на кольориметричний сигнал розчинів реагентів та аналітів.

3.1.1. Вплив температури та інтенсивності освітлення

Дослідили вплив температури та інтенсивності освітлення на кольориметричний RGB-сигнал розчинів бромфенолового червоного, бромтимолового синього та метилового фіолетового. У розчинах встановлювали фіксоване значення рН задля забезпечення і стабільності певного кольору

барвника (бромтимоловий синій $pH=2,0$ (HR^-) – жовті розчини, $pH=11,0$ (R^-) - сині розчини; бромфеноловий червоний $pH=7,5$ (R^-) – пурпурний; метиловий фіолетовий $pH=0,9$ (H_2R^{2+}) –зелений).

Однією із ключових характеристик світлодіодів є їхня колірна температура. Найчастіше для освітлення використовують світлодіоди з температурою 2000-7000К. Для дослідження впливу температури на кольориметричний сигнал розчинів використали діапазон, близький до денного світла – 3000-5000К. Для реагент-концентраційних залежностей показано, що зміна температури світла в цьому інтервалі на величину R- та G-компонентів розчинів барвників практично не впливає (рис.3.1, а). Разом з цим, інтенсивність В-компоненти дещо збільшується, що можна пояснити зростанням інтенсивності синьої компоненти в спектрі світлодіодів з підвищенням температури кольору світла (рис.3.1, б).

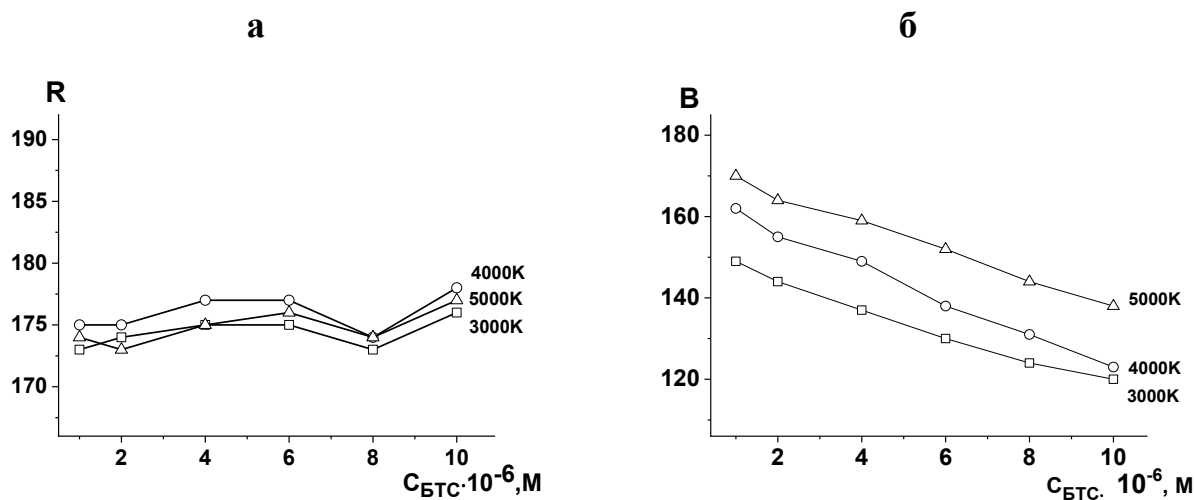


Рис. 3.1. Величина R- (а) та В-каналів (б) кольориметричного сигналу розчинів БТС за різної температури світла. $pH=2,0$

Отримані дані свідчать про недоцільність використання для освітлення розчинів барвників світлодіодів з колірною температурою > 5000 К. Загалом для реєстрації кольориметричного сигналу оптимальними будуть світлодіоди із колірною температурою 3000 К [149].

Важливим фактором, що впливає на кольориметричний сигнал, є інтенсивність освітлення. На прикладі розчинів бромтимолового синього

показали, що зі збільшенням інтенсивності освітлення кольориметричний сигнал барвника зростає (рис.3.2 а, б). Разом з цим, при освітленні > 500 Lux зміна сигналу незначна. Аналогічний характер впливу освітлення на кольориметричний сигнал зберігається і для інших використаних у роботі барвників (БФЧ, МФ).

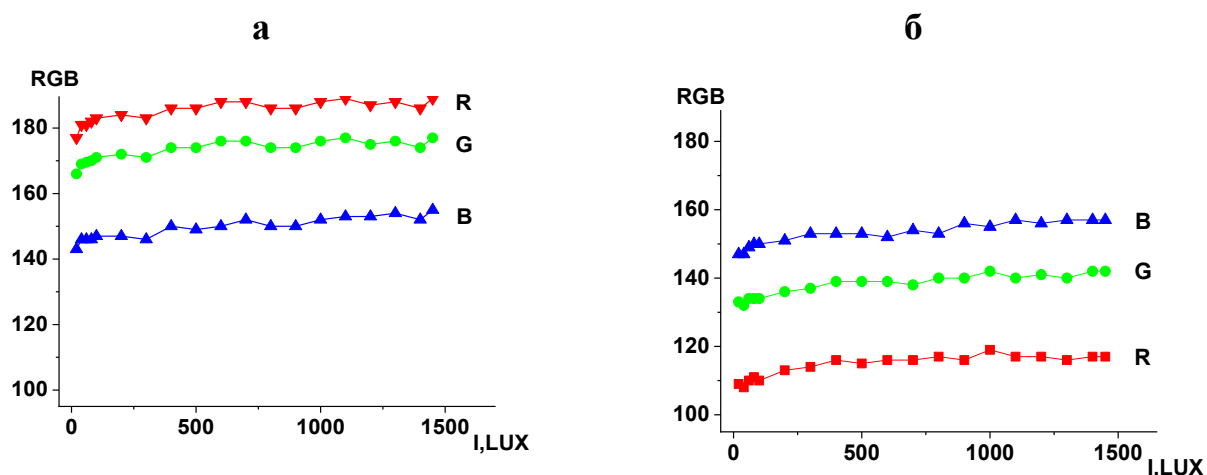


Рис. 3.2. Вплив інтенсивності освітлення на кольориметричний сигнал розчину БТС. $C_{\text{БТС}}=5,0 \cdot 10^{-6}$ моль/л; а - рН=2,0 (жовта форма); б - рН=11,0 (синя форма)

Отримані дані дозволили сформулювати рекомендації щодо інтенсивності освітлення при проведенні кольориметричних вимірювань: для отримання стабільних і відтворюваних результатів (в умовах експерименту) слід використовувати освітлення в інтервалі 500–1500 Lux. За таких умов розкид отриманих оцінок величин RGB не перевищував 1% [149].

3.1.2. Вплив природи електромагнітного випромінювання на кольориметричний сигнал розчинів флуоресцентних барвників

Флуоресцентні реагенти, завдяки своїй здатності до емісії світла, становлять особливий інтерес для кольориметрії. Такі барвники потенційно здатні давати більш інформативні та чутливі кольориметричні сигнали, порівняно із традиційними барвниками. Використання флуоресцентних реагентів у кольориметрії відкриває додаткові можливості аналітичного потенціалу кольориметричного методу.

Кольорометричний сигнал розчинів флуоресцентних барвників залежить від ряду факторів, серед яких важливу роль відіграє природа освітлення. Спектральний склад, інтенсивність та тип джерела світла визначають умови збудження барвників, і, відповідно, будуть впливати на кольорометричний сигнал флуоресцентних барвників. У роботі дослідили кольорометричний сигнал розчинів флуоресцентних барвників для реагент-концентраційних залежностей флуоресцеїну за різних умов проведення експерименту. Детектування кольорометричного сигналу проводили за таких умов:

1. вимірювання у фотобоксі із білим фоном при освітленні світлодіодною стрічкою видимого діапазону;
2. вимірювання у фотобоксі із білим фоном та ультрафіолетовим освітленням;
3. вимірювання у фотобоксі із чорним фоном та ультрафіолетовим освітленням.

Для першої постановки експерименту основним фактором, який впливає на сигнал RGB, що реєструється, є видима зміна кольору розчинів реагенту і в експерименті реєстрували «класичний» кольорометричний сигнал (рис.3.3 а). За зміну кольору флуоресцеїну відповідає найбільш чутлива синя компонента. Величина зміни сигналу в дослідженому інтервалі концентрацій барвника становила ≈ 115 одиниць.

При другій постановці експерименту замінили видиме освітлення розчинів флуоресцеїну на освітлення джерелом з випромінюванням в ультрафіолетовому діапазоні. Це дозволило отримати кольорометричний сигнал, який включає люмінесцентну компоненту (рис.3.3. б). Тобто, за таких умов вимірювання сигналу (фотобокс із білими стінками, УФ-освітлення) реєстрували сумарний кольорометричний сигнал від зміни кольору розчину та його світіння. Зі збільшенням вмісту барвника змінюється не лише величина В-каналу, яка відповідає за зміну кольору флуоресцеїну, а й зелена компонента кольору, що визначає зміну флуоресценції барвника. Величина зміни G-сигналу в дослідженому інтервалі концентрації становила ≈ 150 одиниць.

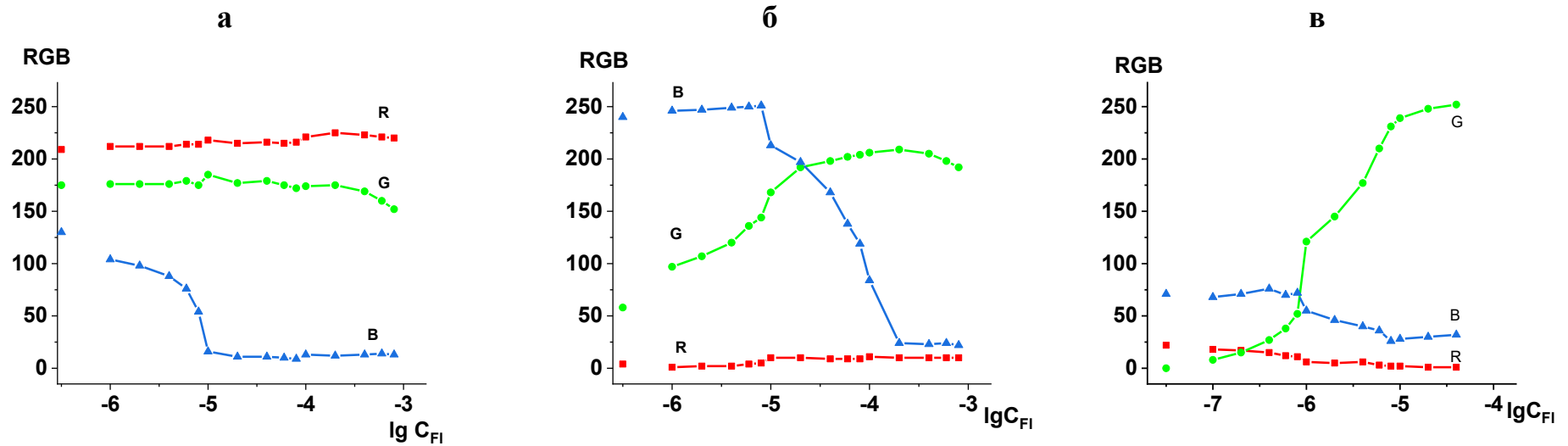


Рис. 3.3. Кольориметричний сигнал розчинів флуоресцеїну від концентрації реагенту. рН=11. а - фотобокс із білим фоном, вид-освітлення; б - фотобокс із білим фоном, УФ-освітлення; в - фотобокс із чорним фоном, УФ-освітлення

Разом з цим слід враховувати, що бокс із білими стінками під дією УФ випромінення також має фонову флуоресценцію, що призводить до появи надмірної синьої компоненти. Як наслідок, на RGB-сигнал барвника накладається синє випромінювання світлодіодів та блакитне випромінювання оптичних вибілюючих добавок білого фону фотобоксу. У результаті накладання фіксується завищений сигнал В компоненти, а в камеру телефону потрапляє: синє випромінювання світлодіодів, люмінесцентне випромінювання досліджуваного реагенту, та люмінесцентне випромінювання вибілюючої добавки з стінок фотобоксу.

При третій постановці цього експерименту у роботі використали фотобкс з чорним фоном для нівелювання впливу синього світла (світла світлодіодів та люмінесцентного випромінювання білих стінок фотобоксу). Чорні стінки зменшують фонове випромінювання: поглинають УФ-світло, не мають власної флуоресценції, мають кращий контраст. Тому навіть слабка флуоресценція за цих умов стає помітною для RGB-детектора (смартфона). Реєстрація кольориметричного сигналу у чорному фотобоксі з УФ-освітленням дозволяє вимірювати флуоресцентне випромінювання флуоресцеїну кольориметричним методом. «Частка кольору» розчину у кольориметричному сигналі за таких умов є значно меншою, ніж внесок світіння барвника (рис.3.3.в). Величина зміни сигналу G-компоненти, що відображає колір флуоресценції флуоресцеїну в досліджуваному діапазоні концентрацій, становить ≈ 250 одиниць.

Отримані результати дозволили запропонувати новий метод кількісного вимірювання кольору флуоресценції розчинів барвників за допомогою кольорових моделей, із реєстрацією сигналу за допомогою цифрових детекторів кольору (смартфону) – **флуорокольориметрія** (смарт-флуорокольориметрія).

У таблиці 3.1 наведено результати порівняння чутливості кольориметричного визначення флуоресцеїну з використанням «оптимальних» каналів кольору за різних умов реєстрації сигналу. Параметри LOD та S були отримані шляхом аналізу барвник-концентраційних залежностей $RGB=f(C_{Fl})$.

Таблиця 3.1

Параметри концентраційних залежностей $RGB=f(C_{Fl})$ кольорометричного сигналу розчинів флуоресцеїну за різних умов реєстрації.

$$C_{Fl}=1 \cdot 10^{-7}-8 \cdot 10^{-4} \text{ моль/л, pH}=11$$

Бокс/освітлення	Канал	Лінійний інтервал, моль/л	LOD, моль/л	r	$S \cdot 10^6$, л/моль
Білий бокс/ вид-діапазон	B	$1 \cdot 10^{-6}-8 \cdot 10^{-6}$	$1,5 \cdot 10^{-6}$	0,985	6,8
Білий бокс/ УФ-діапазон	G	$1 \cdot 10^{-6}-8 \cdot 10^{-6}$	$1,0 \cdot 10^{-6}$	0,990	6,8
Чорний бокс/ УФ-діапазон	G	$1 \cdot 10^{-7}-8 \cdot 10^{-7}$	$3,4 \cdot 10^{-8}$	0,999	62

Дані таблиці 3.1. показують, що для розчинів флуоресцеїну при заміні видимого світла на ультрафіолетове у фотобоксі із білими стінками реєструються статистично однакові показники чутливості. А при переході від класичного кольорометричного сигналу до флуорокольорометричного, параметри концентраційних залежності значно покращуються: знижується межа виявлення, чутливість визначення збільшується на порядок, значно зростає величина аналітичного сигналу.

3.1.2. Вплив інтенсивності освітлення на флуорокольорометричний сигнал

Прослідкували вплив інтенсивності світлового потоку на флуорокольорометричний сигнал для реагент-концентраційної залежності розчинів флуоресцеїну. Інтенсивність освітлення при реєстрації флуорокольорометричного сигналу розчинів регулювали, подаючи різну силу струму на УФ-світлодіоди (фотобокс із чорним фоном). Для розчинів флуоресцеїну показано, що залежність величини зеленого каналу (G) від силу струму та, відповідно, інтенсивності УФ-освітлення, проходить через максимум (рис.3.4).

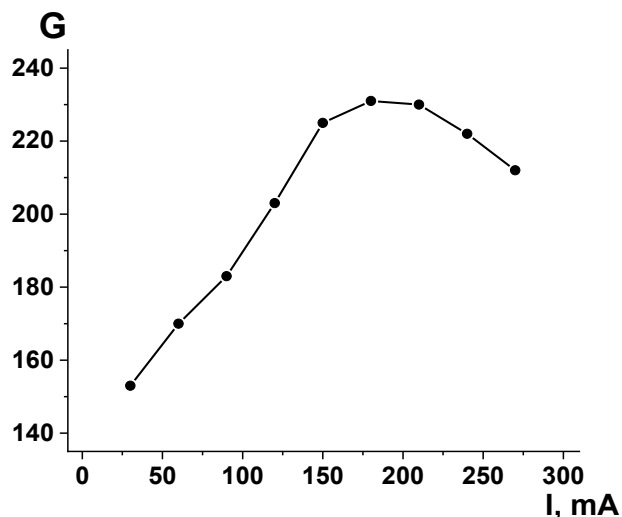


Рис. 3.4. Вплив інтенсивності освітлення на флуорокольорометричний G-сигнал розчинів флуоресцеїну. $C_{\text{Fl}}=8,0 \cdot 10^{-6}$ моль/л, рН=11; чорний фон, УФ-освітлення

Подальші флуорокольорометричні вимірювання у роботі проводили за цих оптимізованих умов для інтенсивності УФ-освітлення ($I \approx 180$ мА).

3.2. Кольорометричний сигнал за різних оптичних схем реєстрації

З метою оптимізації оптичної схеми реєстрації кольорометричного сигналу провели серію вимірювань сигналу розчинів БТС для двох схем освітлення - зверху та знизу, відповідно (рис 3.5.)

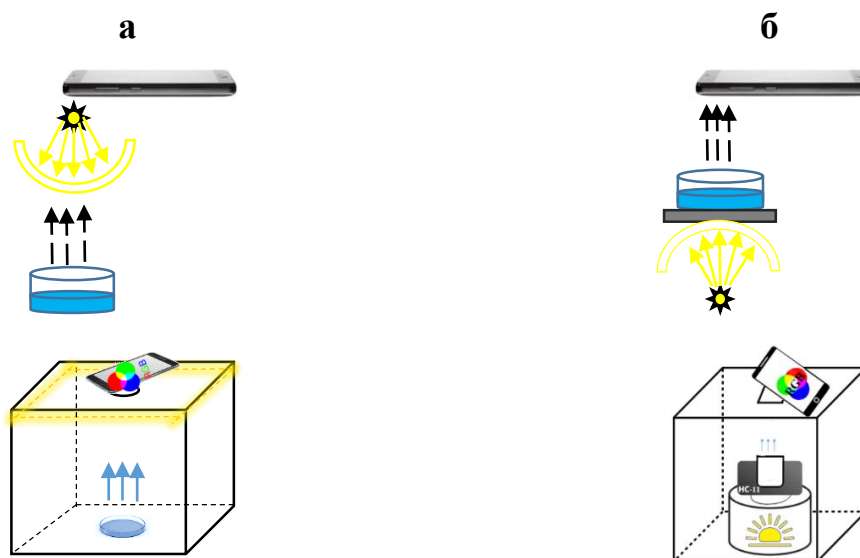


Рис. 3.5. Оптична схема реєстрації кольорометричного сигналу. а – освітлення зверху, б – освітлення знизу

Встановили, що при освітленні розчинів знизу, навіть за мінімальних параметрів живлення світлодіодів, інтенсивність випромінювання залишається надмірно високою (світлодіоди та камера смартфона на одній оптичній осі). Надлишкова яскравість призводить до перенасичення світлочутливої матриці камери смартфона.

У роботі дослідили можливість та доречність використання світлофільтрів для оптимізації інтенсивності освітлення та зниження інтенсивності світлового потоку. Застосування світлофільтра HC11 дозволило зменшити інтенсивність світлового потоку в 3000 разів до рівня, прийнятного для коректної реєстрації кольориметричного сигналу розчину БТС.

Показано однакову тенденцію зміни кольориметричного сигналу розчинів бромтимолового синього від концентрації барвника, як при освітленні зверху так і знизу. Проте чутливість R-каналу при освітленні зверху виявилась у 1,5 рази більша, ніж при освітленні знизу (рис.3.6).

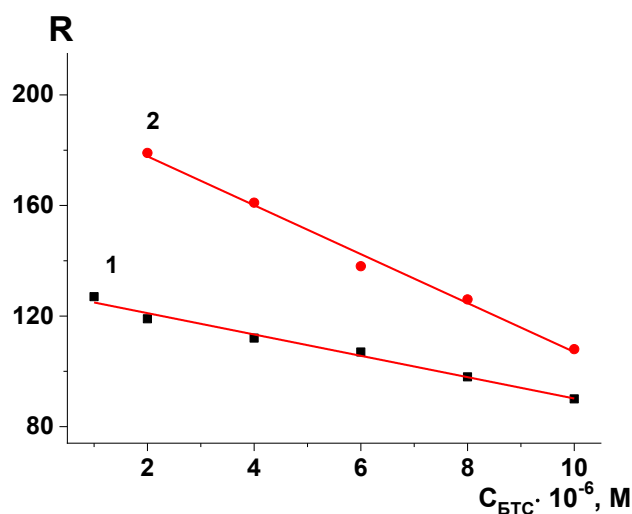


Рис. 3.6. Кольориметричний сигнал (R-канал) розчинів бромтимолового синього від концентрації реактиву. рН=11 (синя форма); білий фон, вид-освітлення; 1- освітлення знизу зі світлофільтром HC11, 2- освітлення зверху

Мініатюризація технічної реалізації схем вимірювання аналітичного сигналу є одним із важливих трендів сучасного хімічного аналізу, оскільки розширює можливості створення портативних і польових аналітичних приладів. Варто

зазначити, що в контексті мініатюризації установки освітлення знизу є більш оптимальним варіантом.

При проведенні кольориметричних вимірювань світлофільтри дозволяють не лише зменшити світловий потік, а й виділити необхідний спектральний діапазон випромінювання. Такий діапазон відповідає максимумам поглинання або флуоресценції досліджуваних барвників. Запропонований підхід підвищує селективність кольориметричних вимірювань і може бути використаний для кількісного визначення вмісту барвників у їх суміші.

Для перевірки коректності запропонованого смарт-кольориметричного підходу визначення барвників у суміші дослідили модельний розчин фенолфталеїну (червона форма) та бромтимолового синього (синя форма). Найбільш чутливим до зміни вмісту фенолфталеїну є G-канал, тоді як для бромтимолового синього - R-канал, що зумовлює вид відповідних градуовальних залежностей і вибір світлофільтрів (рис. 3.7 а, б). Для селективного визначення барвників за сумісної присутності обрали світлофільтри, узгоджені з найбільш чутливими каналами: ЗС11 для фенолфталеїну та КС13 для бромтимолового синього. При цьому використання «чужого» світлофільтра не призводить до зміни кольориметричного сигналу в досліджуваному діапазоні концентрацій.

Для перевірки правильності отримуваних результатів проаналізували модельний розчин суміші ФФ та БТС у співвідношенні 1:1 з концентрацією $C_{\text{ФФ}} = C_{\text{БТС}} = 2,5 \cdot 10^{-5}$ моль/л. Провели вимірювання кольориметричного сигналу розчинів барвників із використанням світлофільтрів КС13, ЗС11 та НС11 (нейтральне кольорове оптичне скло для зменшення світлового потоку) за умови «нижнього» освітлення зразків. Визначені концентрації фенолфталеїну та бромтимолового синього становлять $(2,5 \pm 0,2) \cdot 10^{-5}$ та $(2,6 \pm 0,3) \cdot 10^{-5}$ моль/л відповідно, що узгоджується із вихідними даними.

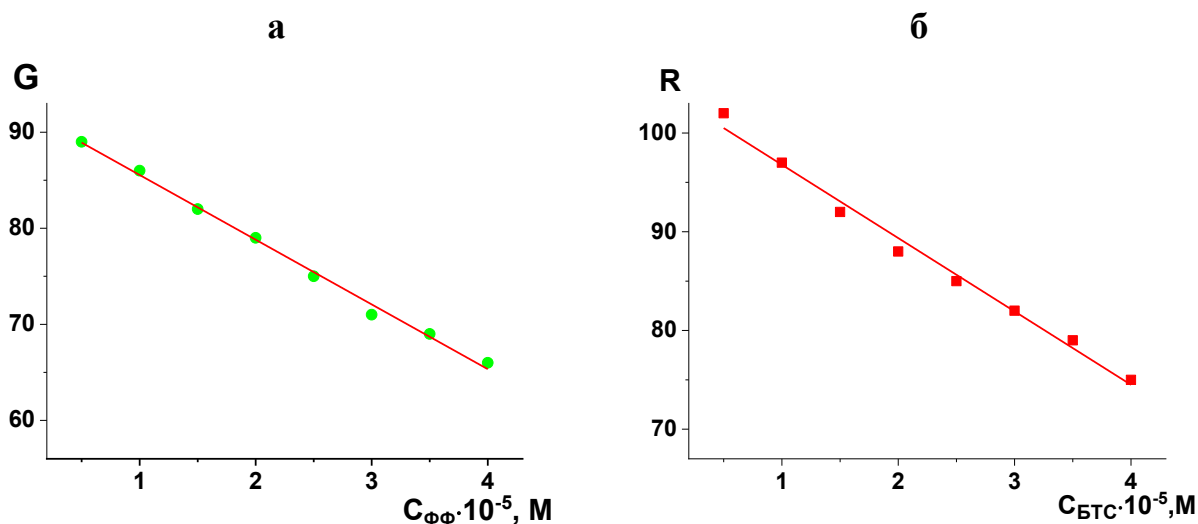


Рис. 3.7. Кольорометричний сигнал розчинів фенолфталеїну (а) та бромтимолового синього (б) від концентрації реагентів. рН=11; світлофільтр: а - НС11+ЗС11, б - НС11+КС13

Отримані дані підтверджують можливість селективного смарт-кольорометричного визначення барвників у їх суміші із використанням світлофільтрів що свідчить про перспективність підходу для розробки кольорометричних методик аналізу розчинів сумішей забарвлених компонентів.

3.3. Закон Бугера-Ламберта-Бера в цифровій кольорометрії

Кольорометричний сигнал розчинів зумовлений поглинанням випромінювання речовиною та розсіювання світла. У цьому зв'язку вбачали доцільним дослідити виконання закону Бугера–Ламберта–Бера (БЛБ) при проведенні смарт-кольорометричних вимірювань у розчинах барвників. Відповідно до закону, оптична густина розчину пропорційна товщині шару та концентрації поглинаючої речовини, що визначають величину аналітичного сигналу. На прикладі розчину бромтимолового синього показали, що із збільшенням висоти шару розчину барвника в діапазоні 0,5-5см спостерігається зростання інтенсивності забарвлення, що супроводжується зменшенням величини найбільш чутливого каналу кольору (рис. 3.8, а). Аналогічна залежність кольорометричного сигналу від товщини шару властива і для інших

використаних у роботі барвників (БФЧ, МФ), а також при освітленні розчинів знизу (рис.3.8, б). Це підтверджує загальний характер такої закономірності.

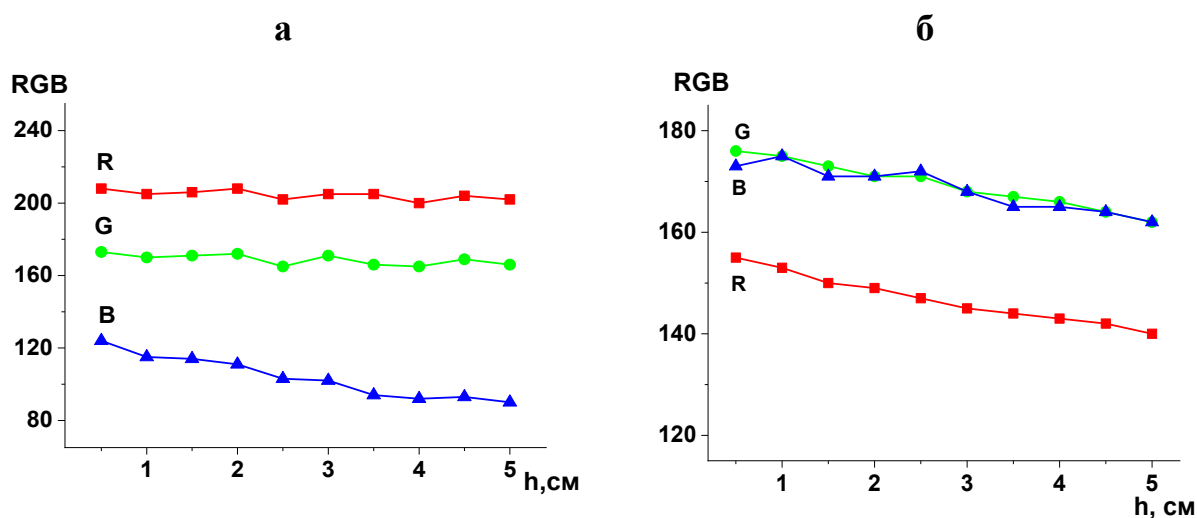


Рис. 3.8. Кольорометричний сигнал бромтимолового синього залежно від товщини шару розчину. $C_{\text{БТС}}=1,0 \cdot 10^{-6}$ моль/л. а- рН=2 (жовта форма), освітлення зверху; б - рН=11 (синя форма); освітлення знизу; світлофільтр НС11

Отримані дані таблиці 3.2. показують виконання закону Бугера-Ламберта-Бера у кольорометрії розчинів. Зареєстроване відхилення добутків « $h \cdot c$ » не перевищувало 2,0 %.

Таблиця 3.2.

RGB характеристики розчинів барвників за різної товщини шару та їх концентрації

$C_{\text{барвник}}$, МОЛЬ/Л	h , см	R	G	B	ΣRGB	$\delta, \%$
БТС жовта форма						
$1 \cdot 10^{-6}$	5	203	167	90	460	1,3
$1 \cdot 10^{-5}$	0,5	206	170	90	466	
БФЧ червона форма						
$1 \cdot 10^{-6}$	5	183	112	135	433	0,7
$1 \cdot 10^{-5}$	0,5	187	113	133	430	

Так, для кольорометричного сигналу зростання концентрації барвника у розчині в 10 разів аналогічне зменшенню товщини шару розчину в 10 разів. Це дає можливість підвищити величину кольорометричного сигналу шляхом збільшення товщини поглинаючого шару досліджуваного розчину, і навпаки. Отримані результати показують також необхідність суворого дотримання однакової висоти розчинів при реєстрації кольорометричного сигналу

Дослідження виконання БЛБ-закону в кольорометрії розчинів продовжили при вивченні впливу концентрації барвника на сигнал. Загалом, при збільшенні концентрації барвника забарвлення розчинів стає більш насиченим і, відповідно, спостерігається зменшення величини кольорометричного сигналу. Так, при підвищенні концентрації БТС з $1,0 \cdot 10^{-6}$ до $1,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л величина R- та G-каналів поступово зменшується (рис.3.9.). Разом з цим, сигнал B-компоненти практично не змінюється. Подальше підвищення концентрації барвника призводить до зменшення RGB-сигналу з виходом на насичення. Загалом, чутливість каналів кольору до барвників (аналітів) залежить від їх концентрації.

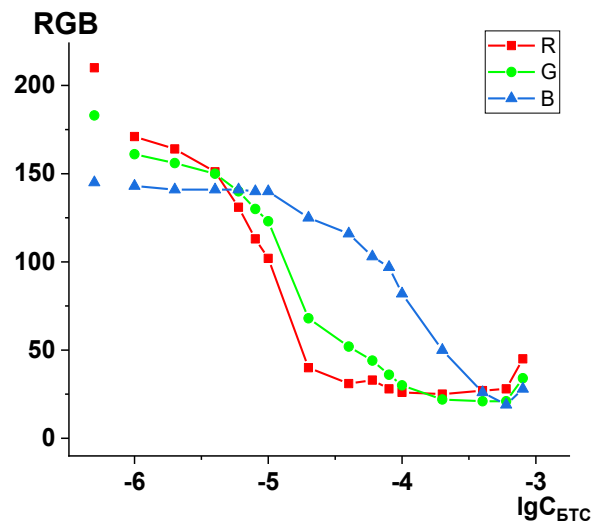


Рис. 3.9. Кольорометричний сигнал розчинів бромтимолового синього від концентрації барвника. рН=11

Незалежна поведінка RGB-каналів та різний характер їх концентраційних залежностей є наслідком залежності молярного коефіцієнта світлопоглинання барвника від довжини хвилі випромінювання. Саме ті RGB-канали, чутливість

яких перекривається з ділянкою максимального світлопоглинання барвника, мають найбільший кольориметричний відгук. На рис. 3.10 наведено спектри поглинання розчинів досліджуваних барвників.

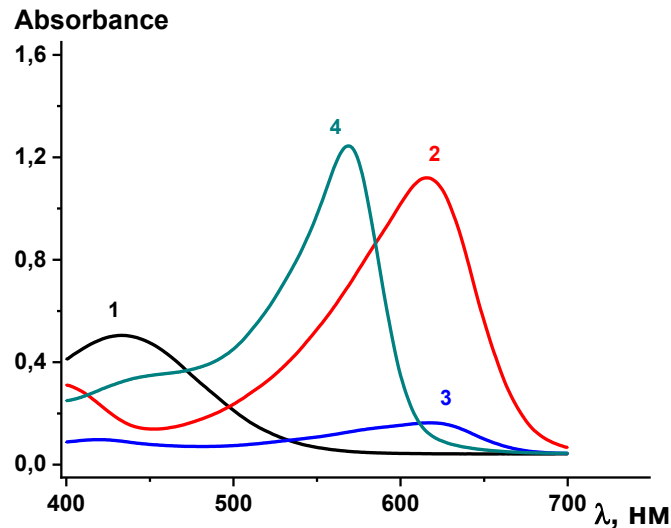


Рис. 3.10. Спектри поглинання розчинів барвників. 1 – БТС, рН=2; 2 – БТС, рН=11; 3 – МФ, рН=0,9; 4 – БФЧ, рН=7; $C_{\text{барвника}}=1 \cdot 10^{-5}$ моль/л, порівняння – вода

Так, для синьої форми БТС максимум поглинання знаходиться на ділянці видимого спектру від зеленого до червоного кольору (рис.3.10, крива 2). Відповідно, на кольориметричні реагент-концентраційні залежності для БТС, у широкому інтервалі концентрацій R та G- канали є більш чутливими ніж синій канал (рис. 3.9).

3.4. Вплив поверхнево-активних речовин на кольориметричний сигнал розчинів барвників

У розділі наведено результати дослідження впливу поверхнево-активних речовин на кольориметричний сигнал барвника. Окремо розглянуто вплив неіонної ПАР, яка виконує роль модифікатора і стабілізатора, на кольориметричний сигнал іонних ПАР. Постановка такого завдання випливає із досвіду використання ПАР у спектрофотометричному та люмінесцентному аналізі, для яких в ПАР-організованих розчинах зазвичай реалізується

збільшення інтенсивності аналітичного сигналу, покращення чутливості та вибірковості визначень.

Дослідили вплив доміцелярної концентрації неіонної ПАР Triton X-100 на метрологічні параметри реагент-концентраційних залежностей розчинів бромтимолового синього. Дані таблиці 3.3. показують, що у розчинах TX-100 межа виявлення барвника знижується. Методом молекулярних співвідношень встановили стехіометрію утворюваних у доміцелярних розчинах TX-100 асоціатів із співвідношенням компонентів БТС:TX 100=1:2 (додаток В).

Таблиця 3.3

Параметри концентраційних залежностей кольориметричного сигналу

$\sum|\Delta|RGB = f(C_R)$ БТС у водних розчинах та у розчинах TX-100

Параметр	C_{TX-100} , моль/л	
	0	$4 \cdot 10^{-5}$
r	0,985	0,990
LOD, моль/л	$5,8 \cdot 10^{-6}$	$4,9 \cdot 10^{-6}$
Г.Г., $C_{БТС}$, моль/л	$\sum \Delta RGB = (9,3 \pm 10,7) + (5,5 \pm 0,4) \cdot 10^6 \cdot C_{БТС}$	$\sum \Delta RGB = (4,6 \pm 9,2) + (5,6 \pm 0,3) \cdot 10^6 \cdot C_{БТС}$

У методах молекулярної спектроскопії у присутності неіонної ПАР зазвичай підвищується інтенсивність сигналу іонних ПАР в реакції з протионами органічних реагентів. Аналітична форма «реагент-протион» також стабілізується.

За оптимальних умов дослідили вплив концентрації неіонної ПАР TX-100 на кольориметричний сигнал цетилпіридинію хлориду у реакції з бромтимоловим синім. Показали, що кольориметричний сигнал ЦПХ у доміцелярних розчинах TX-100 підвищується, а при концентрації НПАР > ККМ, навпаки, зменшується, рис. 3.11. Примітно, що максимум RGB-сигналу ЦПХ реєструється при концентрації неіонної ПАР $2 \cdot 10^{-5}$ моль/л.

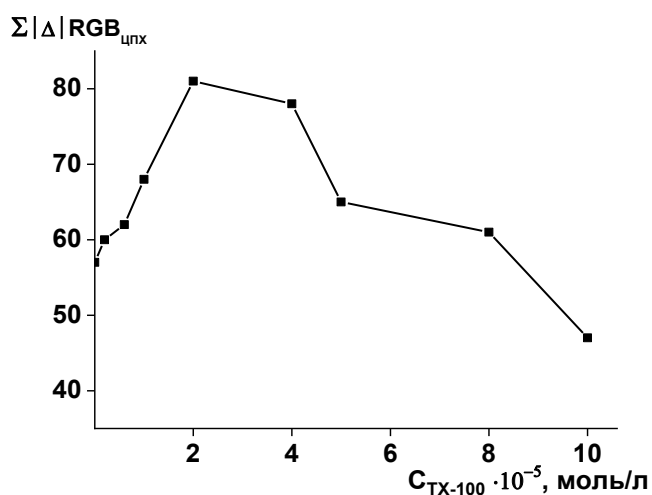


Рис. 3.11. Кольориметричний сигнал ЦПХ у реакції з бромтимоловим синім від концентрації ТХ-100. $C_{\text{БТС}}=2,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $C_{\text{ЦПХ}}=1,5 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $\text{pH}=8,1$

Таким чином, ПАР здатні підвищувати кольориметричний сигнал барвників у розчинах і сигнал аналітів у реакціях з такими реагентами. Це покращує метрологічні параметри відповідних процедур визначення.

Підвищення чутливості та покращання відтворюваності аналітичного сигналу у присутності ПАР свідчить про перспективність і доцільність використання організованих середовищ у кольориметричному аналізі.

3.5. Смарт-кольориметричне визначення аналітів

У розділі 3.5 на основі досліджених конструктивних та фізико-хімічних параметрів та раціонально сформованих реагентних систем показано можливості смарт-кольориметрії для визначення ряду аналітів. Розроблено методику кількісного визначення іонних ПАР у реагентних системах, що містить неіонну ПАР як модифікатор.

3.5.1. Смарт-кольориметричне визначення іонної ПАР з бромтимоловим синім

Визначення іонних поверхнево-активних речовин (КПАР та АПАР) є актуальним завданням сучасного аналітичного контролю, зумовленим їх широким застосуванням у побуті та промисловості. Значні кількості іонних ПАР надходять у природні та стічні води, де навіть за низьких концентрацій вони

впливають на фізико-хімічні властивості водного середовища та стан водних екосистем. Катионні ПАР застосовують у фармацевтичних препаратах, косметичних засобах та антисептиках. Аналітичний контроль їх вмісту забезпечує безпечність і якість продукції, а також відповідність нормативним вимогам. Тому розробка чутливих та швидких методик визначення іонних ПАР є актуальним аналітичним завданням.

Смарт-кольорометричне визначення ЦПХ в системі БТС - Triton X-100. В основу запропонованої методики покладено утворення асоціатів бромтимоловго синього з протиіоном ЦПХ у присутності ТХ-100. Використали ефект підсилення кольорометричного сигналу іонного аналіту у реакції з протиіоном реагенту у доміцелярному розчині неіонної ПАР (розділ 3.4). Попередньо встановлено, що максимальне значення кольорометричного сигналу ЦПХ реєструється при рН 7, що є близьким до рК барвника.

Відповідний об'єм розчину ЦПХ поміщали в пробірки об'ємом 10.0 мл, що містили розчини БТС та Triton X-100. Вміст пробірок доводили фосфатним буферним розчином до кінцевого об'єму 10,0 мл, ретельно перемішували, встановлювали рН 7,0 та вимірювали кольорометричний сигнал розчинів. Інтервал лінійності градуовальної залежності для смарт-кольорометричного визначення цетилпіридій хлориду у реакції з бромтимоловим синім ($C_{\text{БТС}} = 2 \cdot 10^{-5}$ моль/л) у присутності ТХ-100 ($C_{\text{ТХ-100}} = 4 \cdot 10^{-5}$ моль/л) становить $(1-10) \cdot 10^{-6}$ моль/л; $r=0,992$. Методика показала прийнятно високу чутливість визначення ЦПХ, $\text{LOD}=2,5 \cdot 10^{-6}$ моль/л. Правильність отриманих результатів перевіряли методом «введено-знайдено» при кольорометричному аналізі модельних розчинів з відомим вмістом ЦПХ (табл. 3.4).

Таблиця 3.4

Результати смарт-кольорометричного визначення ЦПХ з бромтимоловим синім у присутності ТХ-100 . $C_{\text{БТС}} = 2 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $C_{\text{ТХ-100}} = 4 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $\text{pH}=7,0$, $n=5$, $P=0,95$

Реагентна система	Введено ЦПХ, $\cdot 10^{-6}$ моль/л	Знайдено ЦПХ, $\cdot 10^{-6}$ моль/л	RSD
БТС-ТХ-100	3,0	$2,98 \pm 0,05$	0,014
	5,0	$5,01 \pm 0,06$	0,010
	7,0	$7,03 \pm 0,04$	0,013

Кольорометричного визначення ЦПХ в препараті «Септолете Тотал». Розроблені оптимальні умови використали для кольорометричного визначення ЦПХ в препараті «Септолете Тотал» («Krka, d.d.», Словенія. 1 таблетка препарату містить цетилпіридинію хлориду 1,0 мг, бензидаміну гідрохлориду 3,0 мг та допоміжні речовини) [146].

Два льодяника препарату «Септолете Тотал» розчиняли у 20 мл дистильованої води. Аліквотний об'єм, який відповідає вмісту ЦПХ 0,1 мг/мл, поміщали у мірні пробірки об'ємом 10 мл, кожна з яких містила 0,2 мл $1,0 \cdot 10^{-3}$ моль/л розчину БТС та 0,4 мл $1,0 \cdot 10^{-3}$ моль/л розчину Triton X-100. Доводили фосфатним буферним розчином ($\text{pH}=7,0$) до загального об'єму 10 мл та перемішували. Для реєстрації інтенсивності кольору відбирали 5,0 мл аліквоти, поміщали у чашки Петрі і проводили зйомку кольорометричного сигналу. Розчин порівняння містив всі компоненти, окрім визначуваного. Вміст ЦПХ визначали за допомогою градуювального графіку.

Дані Таблиці 3.5 підтверджують правильність результатів визначення катіонної ПАР у препараті. Визначений вміст ЦПХ за смарт-кольорометричною методикою відповідає значенню, що задекларовано виробником.

Таблиця 3.5

Результати смарт-кольорометричного визначення вмісту ЦПХ у льодяниках «Септолете Тотал». $C_{\text{БТС}} = 2 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $C_{\text{ТХ-100}} = 4 \cdot 10^{-5}$ моль/л, рН=7,0, n=5, P=0,95

Препарат	Заявлено виробником, мг	Знайдено за розробленою методикою, мг	RSD
«Септолете Тотал»	$1,0 \pm 0,05^*$	$1,01 \pm 0,03$	0,021

* - згідно Еур [149]

Смарт-кольорометричне визначення ДДСН в системі БТС-ТХ-100-ЦПХ. У роботі для визначення додецилсульфату натрію було використано здатність аніонної ПАР утворювати стійкі асоціати з катіонними ПАР, стабілізованих присутньою у розчині неіонною ПАР. Трикомпонентна система БТС-ЦПХ-ТХ-100 слугувала реагентом для визначення аніонної ПАР з вивільненням аніонів БТС:



Оптимальні умови смарт-кольорометричного визначення аніонних ПАР (табл. 3.6.) було встановлено на підставі дослідження залежностей кольорометричного сигналу ДДСН від рН, концентрації реагенту та неіонної ПАР ТХ-100.

Таблиця 3.6

Параметри смарт-кольорометричного визначення ДДСН з реагентною системою БТС-ЦПХ-ТХ-100.

$$C_{\text{БТС}}=2,0 \cdot 10^{-5} \text{ моль/л}, C_{\text{ЦПХ}}=1,5 \cdot 10^{-5} \text{ моль/л}, C_{\text{ТХ-100}}=4,0 \cdot 10^{-5} \text{ моль/л}, \text{pH}=8,1$$

Метод	Лінійність Г.Г., $\cdot 10^{-6}$ моль/л	Г.Г., моль/л	r	LOD, мг/л
Кольорометрія	0 - 10	$\Sigma \Delta _{\text{RGB}} = (-1,4 \pm 1,4) + (5,6 \pm 0,2) \cdot 10^6 \cdot C_{\text{ДДСН}}$	0,99	0,22

Отримані дані показують конкурентоздатність запропонованої методики кольорометричного визначення додецилсульфату натрію. Чутливість визначення аніонних ПАР за розробленою методикою є нижче гранично допустимої концентрації аніонних ПАР у питній воді. Гранично допустима концентрація аніонних ПАР у питній воді становить 0,5 мг/л [151], а, згідно з «Правилами приймання стічних вод до систем централізованого водовідведення та Порядку визначення розміру плати, що справляється за понаднормативні скиди стічних вод до систем централізованого водовідведення» від 01.12.2017 р., за наявності у стічних водах суміші аніонних та неіоногенних ПАР їх загальна концентрація на спорудах біологічного очищення не повинна перевищувати 20 г/м³.

У методах молекулярної спектроскопії чутливість визначення АПАР, аналогічна розробленій методиці, досягається лише за умови попереднього концентрування, зазвичай методом рідинної екстракції.

3.5.2. Смарт-кольорометричне визначення цукрового колеру IV у напоях «Coca-Cola» та «Pepsi-Cola Mango»

Цукровий колер IV (E150d) – синтетичний барвник, що застосовується в харчовій промисловості для надання напоям характерного забарвлення. Саме цей барвник надає «Coca-Cola» характерного темно-коричневого кольору. Контроль його вмісту є необхідним з огляду на вимоги нормативної документації

та з метою оцінювання якості й безпечності харчових продуктів, а також для підтвердження відповідності продукції встановленим стандартам. Харчові барвники не належать до біологічно необхідних сполук і для них встановлюють токсикологічні показники безпеки, зокрема значення ЛД₅₀. Враховуючи потенційну токсичність окремих барвників контроль їх вмісту в напоях є важливим не лише з позицій відповідності нормативним вимогам, але й з огляду на забезпечення безпеки та охорону здоров'я споживачів.

У роботі запропоновано умови смарт-кольорометричного визначення цукрового колеру за власним забарвленням без використання додаткових реагентів. Найбільш чутливим до зміни концентрації барвника є В-канал, тому його було обрано для побудови градууювальної залежності визначення E150d в напої. Інтервал лінійності ГГ становив (1-7,5) г/л ($r = 0,99$); LOD=0,9 г/л.

Розроблені умови використали для кольорометричного визначення E150d в напої «Coca-Cola» та «Pepsi-Cola Mango». Розчин «Coca Cola» для проведення визначення було розведено у 7 разів. За градууювальним графіком визначали концентрацію в розбавлених зразках напою. Для реєстрації RGB-сигналу зразок «Pepsi-Cola Mango» розбавляли в 5 разів.

Дані Таблиці 3.7 підтверджують правильність результатів визначення E150d, отриманих запропонованим підходом, і їх тотожність із визначеним вмістом за спектрофотометричною методикою.

Таблиця 3.7

Результати смарт-кольорометричного визначення цукрового колеру у напої «Coca-Cola» та «Pepsi-Cola Mango». n=5, P=0,95

Напій	Метод визначення	Знайдено E150d, г/л	RSD
«Coca-Cola»	Смарт-кольорометрія	4,1 ± 0,21	0,04
	Спектрофотометрія	4,2 ± 0,21	0,016
«Pepsi-Cola Mango»	Смарт-кольорометрія	2,0 ± 0,09	0,04
	Спектрофотометрія	2,1 ± 0,05	0,019

Знайдений вміст барвника узгоджується з наявною інформацією про вміст цукрового колеру в безалкогольних напоях (1,6-5 г/л) [152].

3.5.3. Роздільне визначення харчових барвників у їх суміші у напої «4move Isotonic Sports Drink»

Визначення вмісту харчових барвників у багатокомпонентних сумішах є важливим завданням для забезпечення безпеки споживача та відповідності міжнародним і національним стандартам якості харчових продуктів. Кількісний аналіз дозволяє оцінити склад суміші, вміст окремих барвників та запобігти перевищенню встановлених гранично допустимих концентрацій та допустимого добового споживання.

У роботі показано можливість смарт-кольорометричного визначення барвників діамантового синього (E133) та тартразину (E102) у їх суміші за власним забарвленням із використанням світлофільтрів. В основу підходу покладено здатність за допомогою світлофільтрів виділити необхідний спектральний діапазон випромінювання (розділ 3.2). Найбільш чутливим до зміни вмісту тартразину є В-канал, тоді як для діамантового синього - R-канал, що зумовлює вибір світлофільтрів та відповідних кольорових каналів для побудови градувальних графіків (рис. 3.12 а та б). Для селективного визначення барвників за сумісної присутності обрали світлофільтри, узгоджені з найбільш чутливими каналами: СС8 для тартразину та КС13 для діамантового синього. Було проведено оптимізацію аналітичного сигналу, щоб зменшити вплив барвників один на одного. Оптимізоване значення RGB сигналу барвника враховувало проведення вимірювань з використанням світлофільтра. Для тартразину оптимізоване значення В каналу матиме вигляд:

$$|\Delta|B = V_{\text{ТТ}(HC11+CC8)} - V_{\text{ДС}(HC11+CC8)},$$

а для діамантового синього:

$$|\Delta|R = R_{\text{ДС}(HC11+KC13)} - R_{\text{ТТ}(HC11+KC13)}.$$

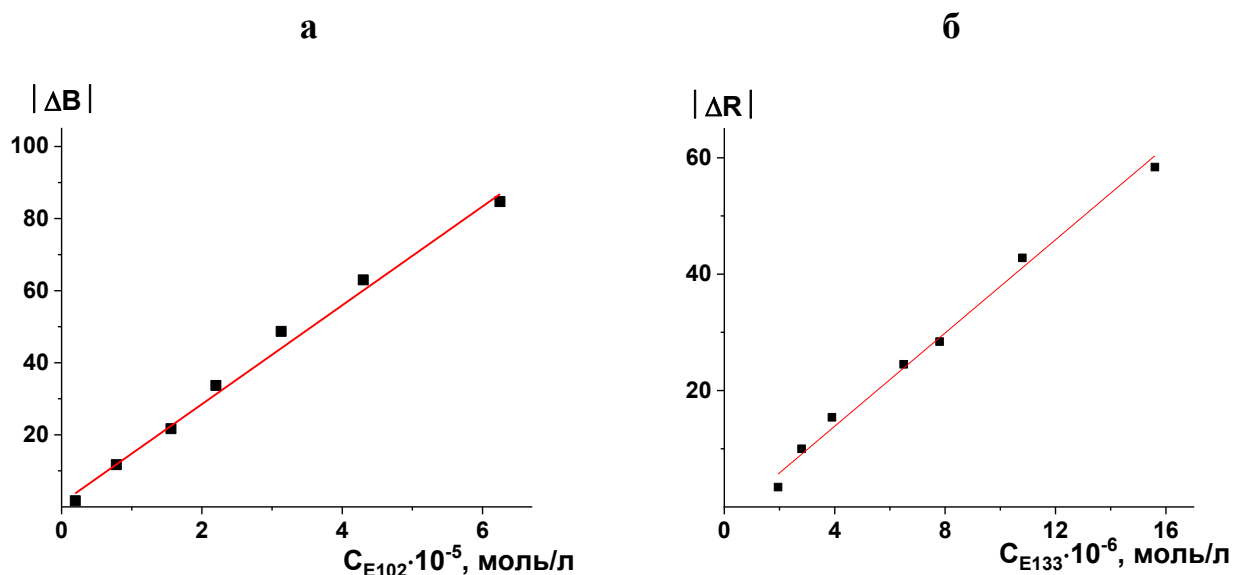


Рис. 3.12. Кольорометричний сигнал розчинів тартразину (а) та діамантового синього (б) від концентрації барвників. рН=4; світлофільтр: а - НС11+СС8, б - НС11+КС13

Інтервал лінійності градуовальної залежності визначення тартразину становив (1-34) мг/л ($r = 0,997$), $LOD=1,8$ мг/л; для діамантового синього (1,5-13) мг/л ($r=0,997$), $LOD=1,2$ мг/л. Розроблені умови використали для смарт-кольорометричного визначення барвників у напої «4move Isotonic Sports Drink» зі смаком м'яти і лайму (табл.3.8). Склад напою: вода, декстроза, лимонна кислота, регулятори кислотності, ароматизатори, підсолоджувачі, стабілізатори, вітаміни, консерванти, барвники: тартазин, діамантовий синій.

Таблиця 3.8

Результати смарт-кольорометричного визначення тартразину та діамантового синього у напої «4move Isotonic Sports Drink». $n=5$, $P=0,95$

Барвник	Знайдено, мг/л	RSD
Тартазин	$4,9 \pm 0,2$	0,05
Діамантовий синій	$1,7 \pm 0,1$	0,05

Отримані дані показують можливість використання смарт-кольорометричного методу для визначення барвників у їх суміші за власним забарвленням із використанням світлофільтрів в аналізі реальних об'єктів.

3.6. Висновки до розділу 3

1. Проведена оптимізація методології (оптичної схеми, характеру та типу освітлення й світлофільтрів, концентрації реагентів) при реєстрації кольорометричного сигналу в розчинах за допомогою смартфона – методом смарт-кольорометрії.
2. Виявлене явище підсилення кольорометричного сигналу в розчинах флуоресцеїну при застосуванні УФ-освітлення використане для розробки основ (оптична схема, характер та тип освітлення, колір фону і концентрація реагентів) нового методу кількісного вимірювання кольору флуоресценції розчинів барвників – флуорокольорометрії.
3. Показана можливість реєстрації сигналу флуоресцентних реагентів у розчинах методами смарт-кольорометрії і смарт-флуорокольорометрії. Для флуорокольорометрії встановлено покращення метрологічних параметрів визначення флуоресцеїну, у порівнянні із смарт-кольорометрією.
4. Показано виконання закону Бугера–Ламберта–Бера у смарт-кольорометрії розчинів.
5. Виявлено покращення метрологічних параметрів реагент-концентраційних залежностей бромтимолового синього під дією неіонної ПАВ Triton X-100, що свідчить про перспективність і доцільність використання організованих середовищ у кольорометрії розчинів.
6. Розроблено методики смарт-кольорометричного визначення катіонного цетилпіридиній хлориду та аніонного додецилсульфату натрію у НПАВ-модифікованих реагентних системах бромтимолового синього з покращеними метрологічними характеристиками. За чутливістю методика

визначення ДДСН не має аналогів серед методів молекулярної спектроскопії.

7. Виявлена можливість селективного смарт-кольорометричного визначення барвників у їх суміші із використанням світлофільтрів використана при визначенні харчових барвників E133, E102 за їх власним забарвленням у напоях.

РОЗДІЛ 4. СМАРТ-КОЛЬОРОМЕТРІЯ ОРГАНІЗОВАНИХ РОЗЧИНІВ ФЛУОРЕСЦЕНТНИХ РЕАГЕНТІВ

Флуоресцентні реагенти, завдяки своїй здатності до емісії світла, можуть генерувати більш інформативні та «чутливі» аналітичні сигнали у кольорометрії, у порівнянні із звичайними барвниками (розділ 3.1). Як показано в розділі 1.3, використання організованих розчинів на основі ПАР дає можливість раціональної модифікації аналітичної системи. Реалізація методик в ПАР-організованих розчинах є ефективним способом підвищення чутливості та вибіркової аналітичних визначень. Це актуально для цілого ряду фізико-хімічних методів, особливо для методів молекулярної спектроскопії.

У розділі 4 наведено результати дослідження доцільності застосування флуоресцентних реагентів у цифровій кольорометрії з використанням смартфона. Як реагенти були використані аніонні барвники ряду флуоресцеїну та родамінові барвники катіонного типу. Барвники ряду флуоресцеїну та родаміни виступають у роботі як загальноприйняті класичні реагенти у флуоресцентній спектроскопії, що підтверджується великою загальною практикою їх застосування в аналізі.

Реєстрацію сигналу проводили у дворезимному виявленні кольорометричного та флуорокольорометричного сигналу (розділ 3.1.2). Використані сполуки-аналоги дозволили дослідити вплив будови молекули флуоресцентного реагенту на кольорометричний сигнал.

Одним із ключових аспектів дослідження є оцінка впливу організованих середовищ на основі ПАР на кольорометричний та флуорокольорометричний сигнал розчинів флуоресцентних реагентів. Постановка досліджень була спрямована на розробку практичних методик смарт-флуорокольорометричного визначення актуальних аналітів.

4.1. Вплив концентрації аніонних флуоресцентних барвників на кольориметричний та флуорокольориметричний сигнал

У розділі 3.2.1 показано можливість реєстрації сигналу флуоресцентних реагентів в розчинах методами смарт-кольориметрії та смарт-флуорокольориметрії. Для останньої встановлено покращення метрологічних параметрів визначення флуоресцеїну, у порівнянні з смарт-кольориметрією.

Прослідкували вплив концентрації флуоресцеїну, еозину та еритрозину на кольориметричний та флуорокольориметричний сигнал їх розчинів. Для детектування кольориметричного сигналу проводили вимірювання у фотобоксі із білим фоном при освітленні світлодіодною стрічкою видимого діапазону. Для реєстрації флуорокольориметричного сигналу вимірювання проводили у фотобоксі із чорним фоном та ультрафіолетовим освітленням. При проведенні кольориметричних визначень основним фактором, який впливає на RGB сигнал, є видима зміна кольору розчинів реагентів. Флуорокольориметричний метод дозволяє вимірювати колір флуоресцентного випромінювання барвника кольориметричним методом. «Частка кольору» розчину у флуорокольориметричному сигналі є значно меншою, ніж внесок світіння барвника.

Аналіз отриманих кольориметричних залежностей $RGB=f(C_{\text{барвник}})$ для розчинів барвників показав зміни величин R-, G- та B-каналів залежно від концентрації реагенту (додаток Б). Для розчинів флуоресцеїну зміна концентрації барвника на значення R та G- каналів практично не впливає, тоді як величина B-каналу зменшується при зростанні вмісту барвника, з подальшим виходом на «плато». Для розчинів еозину величина R-каналу слабо залежить від зміни вмісту барвника, тоді як G-канал змінюється у всьому дослідженому інтервалі концентрацій. Для еритрозину, аналогічно розчинам еозину, зростання червоної компоненти є незначним і сигнал G- та B-каналів змінюється у всьому дослідженому діапазоні концентрацій (рис. 4.1). При цьому, в розведених розчинах ($\approx 10^{-6}$ моль/л) G-канал є більш чутливим до зміни вмісту барвника.

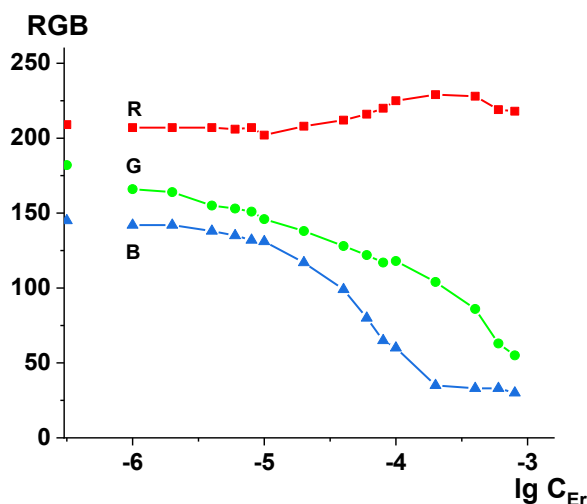


Рис. 4.1. Кольорометричний RGB-сигнал розчинів еритрозиу від концентрації барвника. рН=10; фотобокс із білим фоном, вид-освітлення

На основі отриманих даних обрали оптимальні канали кольору та оцінили параметри (коефіцієнт чутливості, LOD та інтервали лінійності) концентраційних залежностей $RGB=f(C_{\text{барвник}})$, які можуть бути використані для визначення барвників (Таблиця 4.1).

Аналогічно кольорометрії, у роботі проаналізували флуорокольорометричні залежності $RGB=f(C_{\text{барвник}})$ для розчинів флуоресцеїну та його похідних (додаток Б). Це дозволило прослідкувати внесок квантового виходу барвників у флуорокольорометричний сигнал, а також обрати найбільш «чутливі» канали для оцінки метрологічних параметрів барвник-концентраційних залежностей. Встановили, що зелена компонента кольору є найбільш чутливою до зміни концентрації флуоресцеїну; інтенсивність G-каналу зростає з подальшим виходом на насичення при $C_{\text{FL}} \geq 2 \cdot 10^{-5}$ моль/л, що узгоджується з даними спектра флуоресценції барвника (додаток Г).

Таблиця 4.1

Параметри концентраційних залежностей $RGB=f(C_{\text{барвник}})$ при реєстрації (флуоро)кольорометричного сигналу розчинів флуоресцентних барвників.

Барвник / квантовий вихід	Бокс/освітлення	Канал	Лінійний інтервал, моль/л	LOD, моль/л	r	$S \cdot 10^6$, л/моль	Рівняння Г.Г., $C_{\text{барвник}}$, МОЛЬ/Л
Флуоресцеїн $Q = 0,97$ $lgP = 3,39$	Білий бокс/ вид-діапазон	B	$1 \cdot 10^{-6} - 8 \cdot 10^{-6}$	$1,5 \cdot 10^{-6}$	0,985	6,8	$V = (112 \pm 3) + (-6,8 \pm 0,6) \cdot 10^6 \cdot C_{\text{Fl}}$
	Чорний бокс/ УФ- діапазон	G	$1 \cdot 10^{-7} - 8 \cdot 10^{-7}$	$3,4 \cdot 10^{-8}$	0,999	62	$G = (2,1 \pm 0,7) + (6,2 \pm 0,1) \cdot 10^7 \cdot C_{\text{Fl}}$
Еозин $Q = 0,32$ $lgP = 6,36$	Білий бокс/ вид-діапазон	B	$1 \cdot 10^{-6} - 8 \cdot 10^{-6}$	$6,5 \cdot 10^{-7}$	0,997	3,2	$V = (137 \pm 1) + (3,2 \pm 0,1) \cdot 10^6 \cdot C_{\text{Eo}}$
	Чорний бокс/ УФ- діапазон	G	$1 \cdot 10^{-6} - 8 \cdot 10^{-6}$	$5,9 \cdot 10^{-7}$	0,997	6,7	$G = (25,1 \pm 1,3) + (6,7 \pm 0,3) \cdot 10^6 \cdot C_{\text{Eo}}$
Еритрозин $Q = 0,08$ $lgP = 7,17$	Білий бокс/ вид-діапазон	G	$1 \cdot 10^{-6} - 8 \cdot 10^{-6}$	$2,7 \cdot 10^{-6}$	0,953	2,3	$G = (167 \pm 2) + (-2,3 \pm 0,4) \cdot 10^6 \cdot C_{\text{Er}}$
	Чорний бокс/ УФ- діапазон	G	$1 \cdot 10^{-5} - 8 \cdot 10^{-5}$	$2,5 \cdot 10^{-5}$	0,946	0,1	$G = (5,9 \pm 1,1) + (1,3 \pm 0,2) \cdot 10^5 \cdot C_{\text{Er}}$

Для еозину та еритрозину у діапазоні низьких концентрацій ($\sim x \cdot 10^{-7}$ моль/л) величини R, G та B-сигналів залишаються сталими, що пояснюється меншими квантовими виходами, порівняно з флуоресцеїном (рис.4.2.). А в інтервалі концентрації $1 \cdot 10^{-6}$ - $1 \cdot 10^{-4}$ моль/л для еозину та еритрозину G-канал є найбільш чутливим до зміни концентрації барвників. Величина B-каналу зменшується в даному діапазоні концентрацій еозину та еритрозину, однак, залежність характеризується низькою чутливістю для визначення барвників.

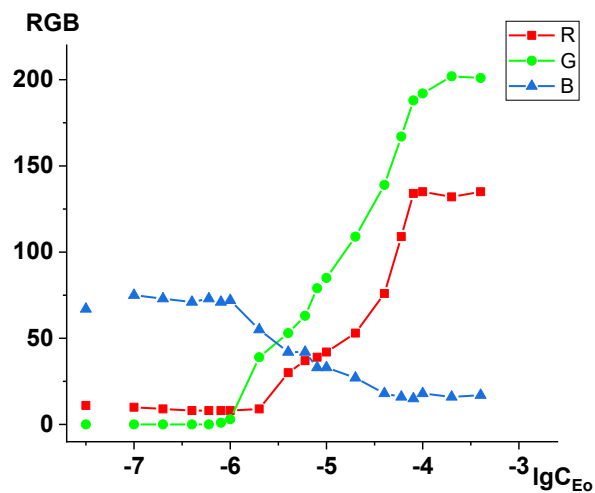


Рис. 4.2. Флуорокольорометричний RGB-сигнал розчинів еозину від концентрації барвника. рН=10; фотобокс із чорним фоном, УФ-освітлення

На основі отриманих даних обрали оптимальні канали кольору та оцінили параметри концентраційних залежностей $RGB=f(C_{\text{барвник}})$, які можуть бути використані для флуорокольорометричного визначення барвників. Дані таблиці 4.1. показують, що у «класичному» кольорометричному варіанті (білий бокс / вид-діапазон) із збільшенням гідрофобності барвника чутливість визначення зменшується. Так LOD при визначенні еозину становить $6,5 \cdot 10^{-7}$ моль/л. При переході до флуорокольорометрії покращуються параметри концентраційних залежностей для розчинів барвників з вищим квантовим виходом. Також, для барвників із високим квантовим виходом реєструється флуорокольорометричний сигнал в широкому діапазоні концентрацій (10^{-7} - 10^{-5} моль/л). Нездатність еритрозину до генерації флуоро-

кольорометричного сигналу за низьких концентрацій барвника зумовлена найменшим його квантовим виходом в ряду аналогів. Таким чином, у системі реалізуються дві протилежно спрямовані тенденції впливу на її чутливість: зростання гідрофобності барвника та зміни його квантового виходу. Із збільшення квантового виходу та із зменшенням гідрофобності реагенту чутливість визначення барвників підвищується як у кольорометричному варіанті, так і у флуорокольорометрії (рис.4.3 а та б).

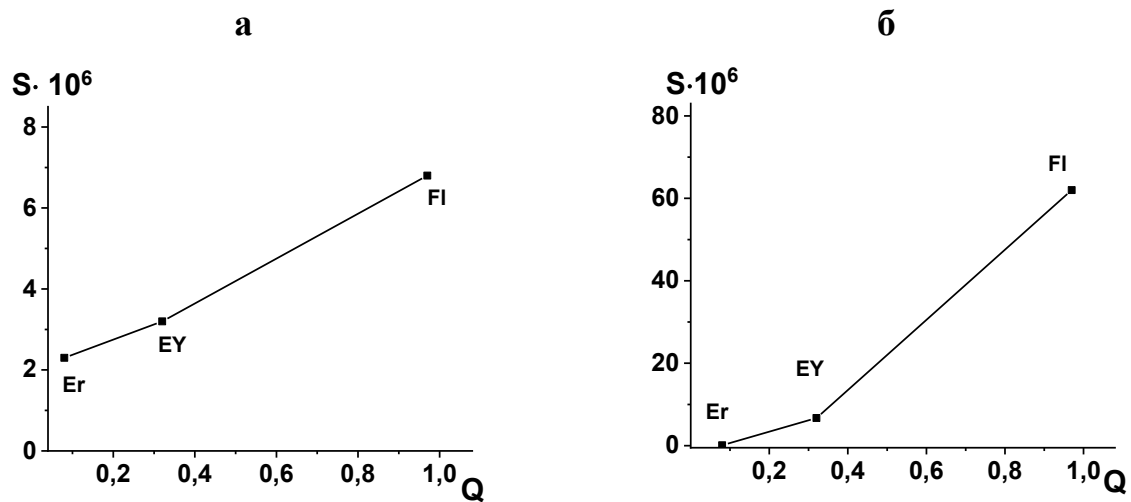


Рис.4.3. Залежність чутливості визначення барвників від квантового виходу реагенту. а – кольорометрія, б – флуорокольорометрія. $C_{\text{барвник}} = 1 \cdot 10^{-7} - 8 \cdot 10^{-5}$ моль/л

Еозин, як представник ряду «флуоресцеїн–еозин–еритрозин», характеризується проміжним значенням квантового виходу та гідрофобності, що узгоджуються з отриманими метрологічними даними: кольорометричні та флуорокольорометричні показники чутливості для еозину виявляються практично ідентичними. Це свідчить про збалансований вплив обох чинників на сигнал.

4.2. Флуорокольорометричний сигнал розчинів катіонних флуоресцентних барвників

По аналогії з аніонними барвниками, дослідили кольорометричний та флуорокольорометричний сигнал у розчинах катіонних родаміну С та

родаміну 6Ж. Важливо, що ефекти «покращення» якості кольорометричного сигналу при ультрафіолетовому освітленні і чорному фоні спостерігали також і для розчинів катіонних флуоресцентних барвників.

З метою порівняння проводили паралельні вимірювання флуоресцентного і флуорокольорометричного сигналів розчинів родамінів. Так, реагент-концентраційні залежності для родаміну С та родаміну 6Ж характеризуються максимумом інтенсивності флуоресценції при концентрації $\approx 2 \cdot 10^{-5}$ моль/л, з подальшим концентраційним гасінням сигналу (рис.4.4).

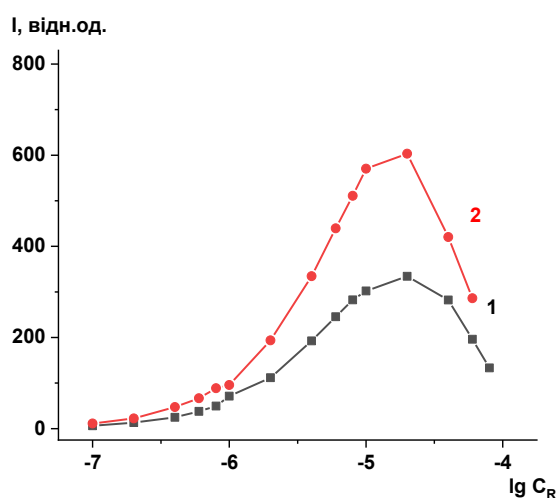


Рис.4.4. Залежність інтенсивності флуоресценції розчинів родаміну С (1) та родаміну 6Ж (2) від концентрації реагенту. рН=6,5

Встановлено, що для розчинів обох родамінів із збільшенням вмісту реагенту флуорокольорометричний сигнал R- та G-каналів зростає (рис. 4.5). Вихід сигналу на «плато» при концентрації барвника $8 \cdot 10^{-6}$ моль/л пояснюється, на нашу думку, «засліпленням» камери смартфона надмірною яскравістю розчинів. При цьому сигнал синьої компоненти зменшується для розчинів обох реагентів.

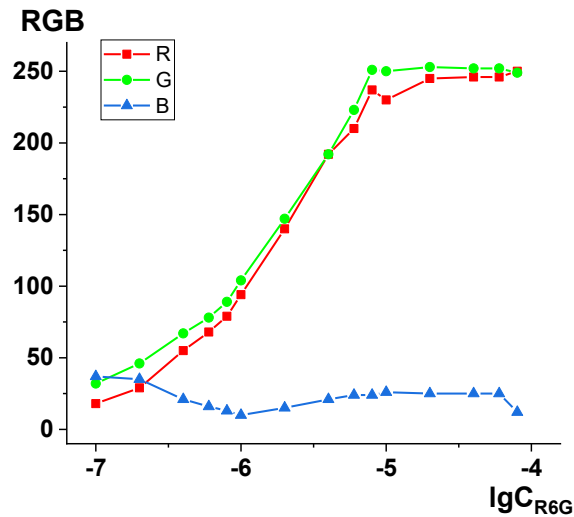


Рис. 4.5. Флуорокольорометричний RGB-сигнал розчинів родаміну 6Ж від концентрації барвника. рН=6,5, фотобокс із чорним фоном, УФ-освітлення

Така постановка експерименту дозволила порівняти метрологічні параметри концентраційних залежностей $RGB=f(C_{\text{барвник}})$, отриманих методами кольориметрії і флуорокольориметрії та провести порівняння із аналогічними залежностями, отриманих методами спектрофотометрії та люмінесценції (Таблиці 4.2 та 4.3).

Показано, що перехід від «класичного» кольориметричного сигналу до флуорокольориметричного дозволяє реєструвати сигнал барвників за нижчих концентрацій, чутливість такого визначення також підвищується. При цьому, за чутливістю та межею визначення флуорокольориметрія показала себе конкурентно здатною у порівнянні із люмінесцентним визначенням. Також цей метод є портативний й простий у виконанні, в порівнянні із класичною люмінесцентною спектроскопією, та має меншу вартість.

Таблиця 4.2

Параметри концентраційних залежностей $RGB=f(C_{RC})$ для розчинів родаміну С (Q= 0,31)

Метод	Лінійний інтервал, моль/л	LOD·10 ⁻⁷ , моль/л	r	S·10 ⁶ , л/моль	Рівняння Г.Г., C _{RC} , моль/л
Кольорометрія	1·10 ⁻⁶ – 1·10 ⁻⁵	17	0,978	6,0	$G=(158\pm 3)+(-6,0\pm 0,6)\cdot 10^6\cdot C_{RC}$
Флуорокольорометрія	1·10 ⁻⁷ – 1·10 ⁻⁶	1,8	0,981	40	$R=(25,5\pm 2,4)+(4,0\pm 0,4)\cdot 10^7\cdot C_{RC}$
Спектрофотометрія	1·10 ⁻⁶ – 1·10 ⁻⁵	7,6	0,996	0,09	$A=(0,02\pm 0,02)+(8,9\pm 0,4)\cdot 10^4\cdot C_{RC}$
Люмінесцентна спектроскопія	1·10 ⁻⁷ – 1·10 ⁻⁶	1,0	0,992	69	$I=(-1,8\pm 2,4)+(6,9\pm 0,4)\cdot 10^7\cdot C_{RC}$

Таблиця 4.3

Параметри концентраційних залежностей $RGB=f(C_{R6G})$ для розчинів родаміну 6Ж (Q=0,96)

Метод	Лінійний інтервал, моль/л	LOD·10 ⁻⁷ , моль/л	r	S·10 ⁶ , л/моль	Рівняння Г.Г., C _R , моль/л
Кольорометрія	1·10 ⁻⁶ – 1·10 ⁻⁵	6,2	0,997	3,6	$B=(152\pm 1)+(-3,6\pm 0,1)\cdot 10^6\cdot C_{R6G}$
Флуорокольорометрія	1·10 ⁻⁷ – 1·10 ⁻⁶	1,5	0,987	83	$R=(14,4\pm 4,1)+(8,3\pm 0,7)\cdot 10^7\cdot C_{R6G}$
Спектрофотометрія	1·10 ⁻⁶ – 1·10 ⁻⁵	3,5	0,999	0,09	$A=(0,02\pm 0,01)+(8,2\pm 0,2)\cdot 10^4\cdot C_{R6G}$
Люмінесцентна спектроскопія	1·10 ⁻⁷ – 1·10 ⁻⁶	1,3	0,988	98	$I=(4,7\pm 4,2)+(9,8\pm 0,7)\cdot 10^7\cdot C_{R6G}$

4.3. Смарт-кольорометрія флуоресцентних реагентів у ПАР-організованих розчинах

Організовані середовища, зокрема супрамолекулярні системи на основі поверхнево-активних речовин, мають суттєві переваги в молекулярній спектроскопії та кольорометрії. Такі середовища сприяють підвищенню інтенсивності аналітичного сигналу, покращують чутливість і селективність визначення, а стабілізація колоїдно-хімічного стану гідрофобних реагентних систем забезпечує точніші та надійніші вимірювання (розділ 1.3).

Дослідили вплив ПАР-організованих середовищ на кольорометричний та флуорокольорометричний сигнали розчинів флуоресцентних аніонних та катіонних барвників. Для «організації» середовища використовували поверхнево-активні речовини неіонного, катіонного та аніонного типів за доміцелярних та міцелярних концентрацій. Також дослідили кольорометричний та флуорокольорометричний сигнал ПАР як аналітів у реакціях з флуоресцентними реагентами. Для загальної оцінки відповідних залежностей використали кількісні метрологічні параметри. На основі отриманих даних запропонували раціональні умови реалізації аналітичних методик кольорометричного та флуорокольорометричного визначення іонних ПАР з протиіонами реагентів.

4.3.1. Вплив ПАР на кольорометричний та флуорокольорометричний сигнал флуоресцеїну та його похідних

Вплив ПАР на кольорометричний RGB-сигнал барвників. Шляхом аналізу барвник-реагентних залежностей дослідили вплив різних типів поверхнево-активних речовин на кольорометричний сигнал флуоресцеїну та його похідних. На першому етапі дослідили вплив міцелярних концентрацій неіонної ПАР – класичних організованих середовищ, які використовують для стабілізації різних аналітичних систем.

Оцінили вплив міцелярної концентрації неіонної ПАР TX-100 ($C_{TX-100}=1\%$) на кольорометричний сигнал флуоресцеїну та його аналогів – еозину та еритрозину. Загалом, введення НПАР до розчинів досліджених реагентів слабо впливає на

загальний вигляд реагент-концентраційних залежностей; величина кольориметричного сигналу майже не змінюється. Положення характеристичних концентрацій (перегини на залежностях для $RGB=f(C_{\text{барвник}})$) у водних та водно-міцелярних розчинах збігаються. Коефіцієнт чутливості реагент-концентраційних залежностей кольориметричного сигналу флуоресцеїну, еозину та еритрозину у міцелярних розчинах НПАР знижується у порівнянні із чистими водними розчинами (рис.4.6). Зміни коефіцієнта чутливості в ряду флуоресцеїн – еритрозин є монотонними. При цьому, коефіцієнт чутливості для флуоресцеїну є найвищим у порівнянні із його похідними як у водних так і у водно-міцелярних розчинах.

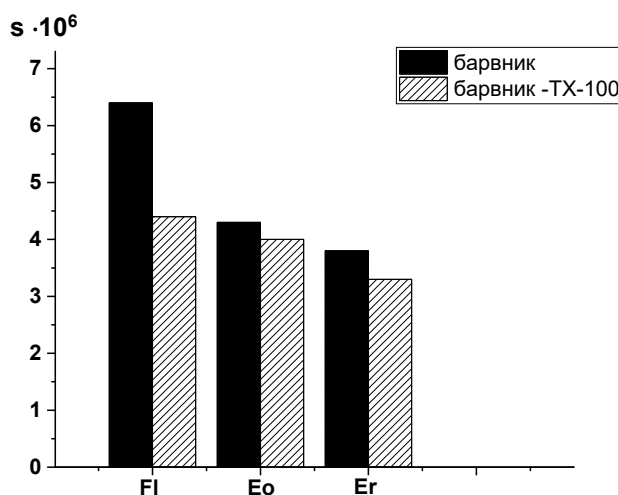


Рис. 4.6. Коефіцієнт чутливості кольориметричного визначення флуоресцеїну та його похідних у водному розчині та у присутності ТХ-100. $C_{\text{барвник}}=1 \cdot 10^{-6} - 8 \cdot 10^{-6}$ моль/л, $C_{\text{ТХ-100}}=1\%$, $\text{pH}=11$ (Fl), $\text{pH}=10$ (Eo, Er), фотобокс із білим фоном, видосвітлення

Також дослідили вплив концентрації катіонної ПАР цетилпіридинію хлориду на кольориметричний сигнал аніонних барвників. ПАР-концентраційні залежності для ΣRGB -сигналу реагентів у водних та водно-міцелярних розчинах розглянуто на прикладі флуоресцеїну (рис.4.7). Так, при додаванні до розчину барвника мінімальних кількостей катіонної поверхнево-активної речовини ЦПХ ($C_{\text{КПАР}} < \text{ККМ}$) кольориметричний сигнал різко зменшується внаслідок утворення стехіометричного асоціату складу $R:\text{КПАР}=1:2$. З підвищенням вмісту КПАР

кольорометричний сигнал барвника у широкому інтервалі концентрації ЦПХ виходить на «нижнє плато».

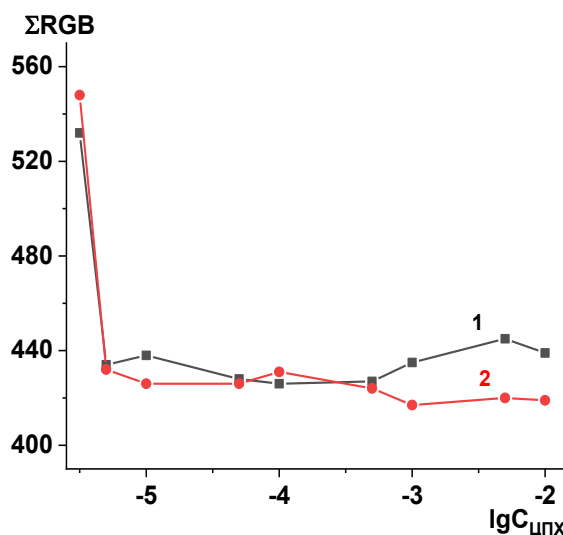


Рис 4.7. Кольорометричний ΣRGB -сигнал розчинів флуоресцеїну від концентрації ЦПХ у водних (1) та водно-міцелярних (2) розчинах. $C_{\text{Fl}}=1 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $C_{\text{ТХ-100}}=1\%$, рН=11, фотобокс із білим фоном, вид-освітлення

На основі отриманих даних розраховали кольорометричний сигнал ЦПХ в системі і провели порівняння сигналу в реакції з різними барвниками. Цікаво, що кольорометричний сигнал ЦПХ виявився найвищим в реакції з флуоресцеїном (таблиця 4.4).

Таблиця 4.4

$\Sigma \Delta RGB_{\text{ЦПХ}}$ кольорометричний сигнал ЦПХ в реакції із флуоресцентними реагентами у розчинах. $C_{\text{барвник}}=1 \cdot 10^{-5}$ моль/л; фотобокс із білим фоном, вид-освітлення

Реагент	$\Sigma \Delta RGB_{\text{ЦПХ}}$			
	$C_{\text{ЦПХ}}=1 \cdot 10^{-5}$ моль/л		$C_{\text{ЦПХ}}=5 \cdot 10^{-3}$ моль/л	
	$C_{\text{ТХ-100}}=0\%$	$C_{\text{ТХ-100}}=1\%$	$C_{\text{ТХ-100}}=0\%$	$C_{\text{ТХ-100}}=1\%$
Флуоресцеїн	132	124	115	128
Еозин	95	91	80	85
Еритрозин	120	102	94	100

Зазвичай при визначенні катіонів ПАР у водних розчинах у вигляді асоціатів з протиіонами реагентів чутливість визначення зростає із збільшенням гідрофобності реагентів. Збільшення гідрофобності компонентів органічних асоціатів у водних розчинах призводить до збільшення стійкості утворюваного асоціату і, відповідно, до збільшення виходу аналітичної форми [59]. Таким чином, виходячи з традиційних уявлень, слід було очікувати найбільшу чутливість визначення ЦПХ з найбільш гідрофобним еритрозином. Однак, результати дослідження демонструють значну чутливість для найменш гідрофобного флуоресцеїну, що пояснюється його більшим квантовим виходом у дослідженому ряду барвників. Флуоресценція додає свій внесок у кольориметричний сигнал навіть за стандартних умов освітлення. При цьому, мінімальне значення сигналу ЦПХ в реакції з «компромісним» еозином пояснюється реалізацією в системі двох протилежно направлених тенденцій: збільшення сигналу ЦПХ із збільшенням гідрофобності протиіона реагенту та зменшення сигналу із зниженням квантового виходу барвника. У ряду «F1–Eo–Er» ці тенденції впливають на кольориметричний сигнал ЦПХ в протилежних напрямках.

Примітно, що добавки неіонної ПАР ТХ-100 можуть збільшувати або зменшувати сигнал ЦПХ у залежності від природи протиіону реагенту та концентраційних умов. Вплив неіонних ПАР на сигнал іонних ПАР в реакції з протиіонами органічних реагентів в методах молекулярної спектроскопії вивчається в роботах кафедри аналітичної Київського національного університету імені Тараса Шевченка і підтверджений на різних системах [153]. Разом з цим, такий вплив ТХ-100 на кольориметричний сигнал ЦПХ в реакції з флуоресцеїном і аналогами виявився невеликим, Табл.4.4.

Вплив ПАР на флуорокольориметричний RGB-сигнал. Аналогічно кольориметричному визначенню, прослідкували вплив неіонної ТХ-100 на флуорокольориметричний сигнал розчинів флуоресцеїну та його похідних. Так, у присутності міцелярних концентрацій НПАР спостерігали незначне підвищення

сигналу барвників. При цьому загальний вигляд реагент-концентраційних залежностей під дією НПАР змінюється мало (рис.4.8).

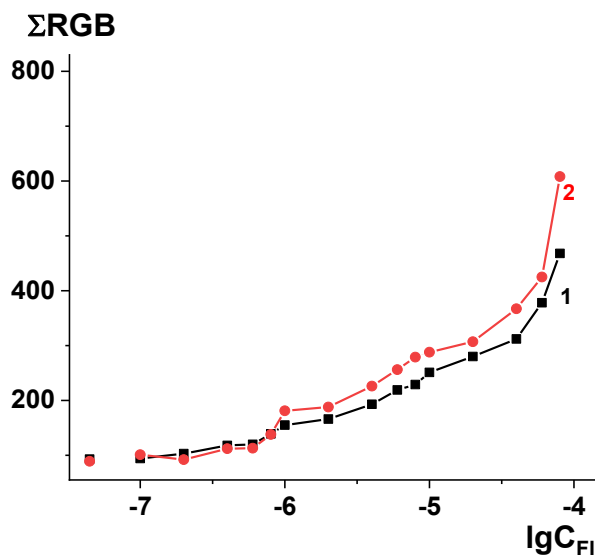


Рис. 4.8. ΣRGB -сигнал розчинів флуоресцеїну у водному (1) та у водно-міцелярному (2) розчині ТХ-100 від концентрації барвника. $C_{ТХ-100}=1\%$, $pH=11$; фотобокс із чорним фоном, УФ-освітлення

Примітно, що за відсутності НПАР еритрозин демонструє зменшення сигналу при концентрації барвника $> 10^{-6}$ моль/л внаслідок високої гідрофобності. У присутності ТХ-100 агрегація еритрозиону уповільнюється, нівелюється і вигляд реагент-концентраційної залежності сигналу еритрозиону стає аналогічним сигналу для менш гідрофобних і менш агрегованих флуоресцеїну та еозину. Так, для системи еритрозин – Triton X-100 при введенні НПАР зафіксовано зростання флуорокольорометричного сигналу барвника в 1,5-2,5 рази у порівнянні із водними розчинами.

У таблицях 4.5 та 4.6 наведено параметри концентраційних залежностей сигналу флуоресцеїну і його похідних для найбільш чутливих каналів у водних розчинах та у присутності міцелярної концентрації НПАР. Для еозину та еритрозиону у водно-міцелярних розчинах НПАР межа виявлення для барвника знизилась на порядок. Важливо, що у водно-міцелярних розчинах НПАР межа виявлення барвників сягає рівня $\times 10^{-8}$ моль/л, що показує принципово нові

можливості методу флуорокольорометрії. При цьому, в інтервалі низьких концентрацій, флуорокольорометричний сигнал флуоресцеїну є вищим ніж для його похідних.

Таблиця 4.5

Параметри концентраційних залежностей $G=f(C_{\text{барвник}})$ флуорокольорометричного сигналу барвників у водних розчинах

Барвник	Лінійний інтервал, моль/л	LOD, моль/л	Рівняння Г.Г., $C_{\text{барвник}}$, моль/л
Флуоресцеїн	$1 \cdot 10^{-7}$ - $8 \cdot 10^{-7}$	$3,4 \cdot 10^{-8}$	$G=(2,1 \pm 0,7) + (6,2 \pm 0,1) \cdot 10^7 \cdot C_{\text{Fl}}$
Еозин	$1 \cdot 10^{-6}$ - $8 \cdot 10^{-6}$	$5,9 \cdot 10^{-7}$	$G=(25,1 \pm 1,3) + (6,6 \pm 0,3) \cdot 10^6 \cdot C_{\text{Eo}}$
Еритрозин	$1 \cdot 10^{-5}$ - $8 \cdot 10^{-5}$	$2,5 \cdot 10^{-5}$	$G=(5,9 \pm 1,1) + (1,3 \pm 0,2) \cdot 10^5 \cdot C_{\text{Er}}$

Таблиця 4.6

Параметри концентраційних залежностей флуорокольорометричного сигналу барвників $G=f(C_{\text{барвник}})$ у міцелярних розчинах ТХ-100 ($C_{\text{ТХ-100}}=1\%$)

Барвник	Лінійний інтервал, моль/л	LOD $\cdot 10^{-8}$, моль/л	Рівняння Г.Г., $C_{\text{барвник}}$, моль/л
Флуоресцеїн	$1 \cdot 10^{-7}$ - $8 \cdot 10^{-7}$	7,5	$G=(3,9 \pm 1,2) + (4,8 \pm 0,2) \cdot 10^7 \cdot C_{\text{Fl}}$
Еозин	$1 \cdot 10^{-7}$ - $8 \cdot 10^{-7}$	6,2	$G=(1,2 \pm 0,6) + (2,7 \pm 0,1) \cdot 10^7 \cdot C_{\text{Eo}}$
Еритрозин	$1 \cdot 10^{-6}$ - $8 \cdot 10^{-6}$	77	$G=(8,2 \pm 0,5) + (2,0 \pm 0,1) \cdot 10^6 \cdot C_{\text{Er}}$

Дослідили вплив концентрації катіонної ПАР цетилпіридиній хлориду на флуорокольорометричний сигнал барвників у водних та водно-міцелярних розчинах неіонної ПАР. Під дією НПАР зазвичай підвищується інтенсивність сигналу іонних ПАР в реакції з протионами органічних реагентів, а також стабілізується аналітична форма «реагент-протион» та покращується відтворюваність сигналу. На основі отриманих даних розраховували

флуорокольорометричний сигнал ЦПХ у реакції із флуоресцеїном та його похідними (табл.4.7).

Таблиця 4.7

$\Sigma|\Delta|RGB$ флуорокольорометричний сигнал ЦПХ в реакції із флуоресцентними барвниками у розчинах. $C_{\text{барвник}}=1 \cdot 10^{-5}$ моль/л; фотобокс із чорним фоном, УФ-освітлення

Барвник	$\Sigma \Delta RGB_{\text{ЦПХ}}$			
	$C_{\text{ЦПХ}}=1 \cdot 10^{-5}$ моль/л,		$C_{\text{ЦПХ}}=5 \cdot 10^{-3}$ моль/л	
	$C_{\text{ТХ-100}}=0\%$	$C_{\text{ТХ-100}}=1\%$	$C_{\text{ТХ-100}}=0\%$	$C_{\text{ТХ-100}}=1\%$
Флуоресцеїн	60	99	253	207
Еозин	24	34	145	34
Еритрозин	26	7	89	10

Найвищий сигнал КПАР у водних та міцелярних розчинах реєструється при взаємодії із флуоресцеїном, аналогічно кольорометричному визначенню. Разом з цим, міцели НПАР чинять двонаправлений вплив на сигнал ЦПХ, і, відповідно, на чутливість його визначення. При малих концентраціях ЦПХ в міцелярних розчинах ТХ-100 спостерігали підвищення сигналу катіонної ПАР в реакції з флуоресцеїном та еозином, і зменшення такого в реакції з еритрозином. Це пояснюється підвищенням стійкості і виходу асоціатів катіонів ЦП з більш гідрофільним в дослідженому ряду барвників флуоресцеїном. І навпаки: міцелярні добавки НПАР зменшують стійкість і вихід асоціатів з найбільш гідрофобним еритрозином. Такий характер впливу НПАР на властивості, стійкість і оптичні характеристики асоціатів гідрофобних органічних протиіонів детально вивчався на кафедрі аналітичної хімії Київського національного університету імені Тараса Шевченка і підтверджений для багатьох систем «реагент - протиіон ПАР» [59].

Стабілізація аналітичної форми «F1-ЦП» під дією ТХ-100 і збільшення флуорокольорометричного сигналу ЦПХ додатково підсилюється найбільшим в ряду квантовим виходом реагенту. Примітно, що підсилення сигналу ЦПХ в реакції

з флуоресцеїном під дією НПАР, реєструється для «стехіометричних» концентрацій КПАР, а в концентрованих міцелярних розчинах ЦПХ – зникає. Добавки НПАР зменшують сигнал ЦПХ для концентрованих розчинів останнього в реакції з усіма дослідженими реагентами. Взаємодії в таких системах зумовлені сукупністю явищ асоціації, солубілізації, утворення змішаних міцел КПАР-НПАР які менш придатні для проведення аналітичних визначень.

Таким чином, міцелярні концентрації неіонних ПАР суттєво не впливають на інтенсивність кольорометричного та флуорокольорометричного сигналу флуоресцеїну та аналогів. Водночас у присутності НПАР межа виявлення гідрофобних барвників флуорокольорометричним методом знижується. У розчинах неіонних ПАР спостерігається стабілізація аналітичних форм типу іонних асоціатів барвників з протиіонами ПАР (зокрема ЦПХ), що супроводжується підвищенням інтенсивності сигналу.

4.3.2. Вплив ПАР на кольорометричний сигнал розчинів родамінів

Аналогічно аніонним барвникам, прослідковували вплив ПАР різних типів на характеристики родаміну С та родаміну 6Ж для реагент-концентраційних та ПАР-концентраційних залежностей.

Показано, що добавки неіонної ПАР ТХ-100 на характер кольорометричних та флуорокольорометричних реагент-концентраційних залежностей родамінів майже не впливають (рис.4.9. а, б). Разом з цим, величина кольорометричного та флуорокольорометричного сигналу барвників у розчинах ТХ-100 змінюється; у різних концентраційних діапазонах - по-різному. Неіонна ПАР також по-різному впливає на коефіцієнт чутливості визначення родамінів. Важливо, що при переході від кольорометричного до флуорокольорометричного варіанту величина сигналу значно збільшується. Так, для кольорометрії величина зміни сигналу в дослідженому інтервалі концентрації становить до 200 одиниць, а для флуорокольорометричного – до 400 одиниць і більше.

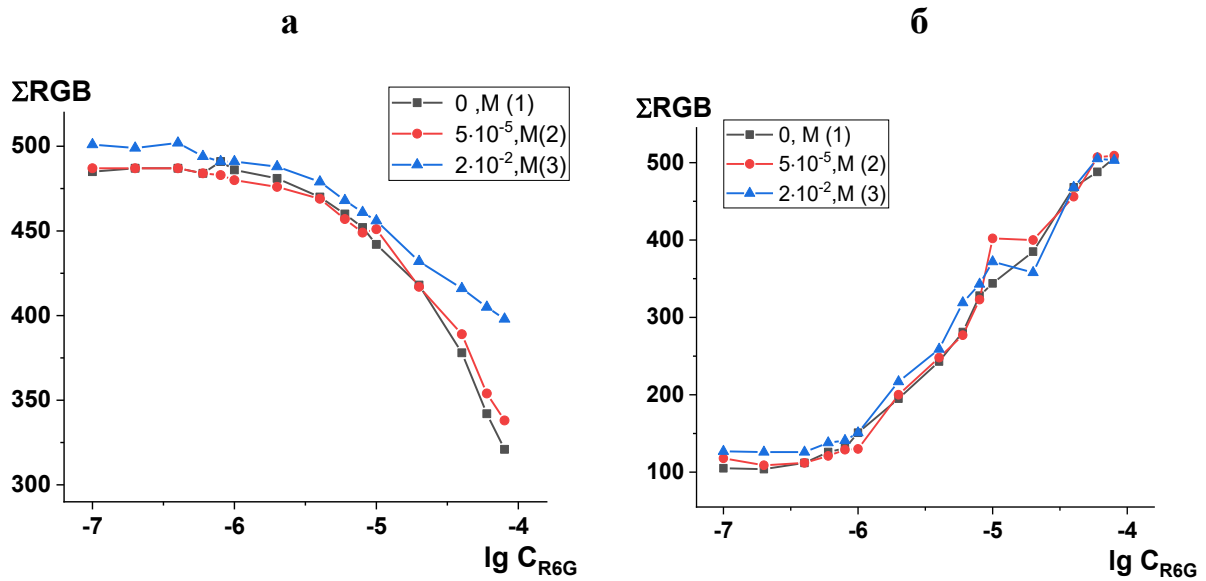


Рис.4.9. Залежність ΣRGB -сигналу родаміну бЖ від концентрації барвника у водному розчині (1) та у присутності НПАР (2, 3). $C_{TX-100}=5 \cdot 10^{-5}$ моль/л (2), $C_{TX-100}=2 \cdot 10^{-2}$ моль/л (1% р-н) (3). а – кольорометричний сигнал, б – флуорокольорометричний сигнал

Вплив НПАР на флуорокольорометричні реагент-концентраційні залежності для родаміну С та родаміну бЖ виявився різним. Примітно, що асоціація і солубілізація в розчинах НПАР гасить сигнал для більш гідрофобного родаміну бЖ. Так, в інтервалі концентрацій барвників ($1 \cdot 10^{-7}$ - $1 \cdot 10^{-6}$ моль/л) вплив міцел НПАР на коефіцієнт чутливості визначення родамінів є протилежно направлений (рис.4.10 а, б). Для родаміну С спостерігається зростання коефіцієнту чутливості та зниження межі виявлення, тоді як для родаміну бЖ - навпаки. Важливо, що у міцелярному розчині ТХ-100 межа виявлення родаміну С сягає $8,1 \cdot 10^{-8}$ моль/л. Цей факт підтверджує перспективність флуорокольорометрії у міцелярних розчинах і є корисним для прогнозування раціонального кола об'єктів для флуорокольорометричних визначень за власним сигналом.

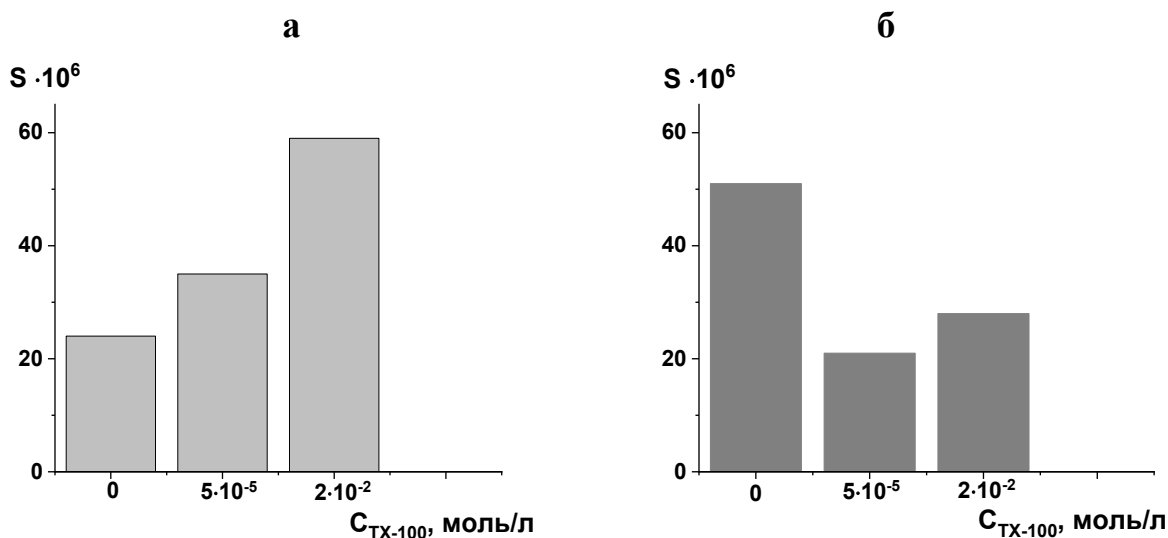


Рис. 4.10. Коефіцієнт чутливості флуорокольорометричного визначення родаміну С (а) та родаміну бЖ (б) у водних розчинах та у присутності ТХ-100. $C_{\text{барвник}}=1 \cdot 10^{-7}-1 \cdot 10^{-6}$ моль/л, рН=6,5; фотобокс із чорним фоном, УФ-освітлення

Заміна джерела освітлення із світлодіодної УФ-стрічки ($\lambda_{\text{max}}=360$ нм) на УФ-лампу розжарювання ($\lambda_{\text{max}}=250$ нм) призвела до додаткового збільшення коефіцієнта чутливості та зниження межі виявлення барвників у діапазоні концентрацій $1 \cdot 10^{-7}-1 \cdot 10^{-6}$ моль/л (табл. 4.8). Примітно, що за доміцелярних концентрацій НПАР коефіцієнт чутливості визначення родаміну С зростає, а межа виявлення, відповідно, знижується.

Таблиця 4.8

Параметри концентраційних залежностей $\Sigma RGB=f(C_{\text{барвник}})$ у водному розчині та у присутності НПАР. $C_{\text{барвника}}=1 \cdot 10^{-7}-1 \cdot 10^{-6}$ моль/л; фотобокс із чорним фоном, освітлення УФ-лампою

Показники	Водний р-н	$C_{TX-100} = 5 \cdot 10^{-5}$ моль/л
Родамін С		
Г.Г, C_{RC} , моль/л	$\Sigma RGB=(86,1 \pm 3,8)+$ $(6,3 \pm 0,6) \cdot 10^7 \cdot C_{RC}$	$\Sigma RGB=(86,2 \pm 1,9)+$ $(7,3 \pm 0,3) \cdot 10^7 \cdot C_{RC}$
$S \cdot 10^6$, л/моль	63	73
r	0,981	0,996
$LOD \cdot 10^{-7}$, моль/л	1,8	0,8

Показники	Водний р-н	$C_{TX-100} = 5 \cdot 10^{-5}$ моль/л
Родамін 6Ж		
Г.Г, C_{R6G} , моль/л	$\Sigma RGB = (82,6 \pm 5,3) + (12,7 \pm 0,9) \cdot 10^7 \cdot C_{R6G}$	$\Sigma RGB = (85,8 \pm 6,4) + (11,0 \pm 1,1) \cdot 10^7 \cdot C_{R6G}$
$S \cdot 10^6$, л/моль	127	110
r	0,990	0,982
$LOD \cdot 10^{-7}$, моль/л	1,3	1,7

На прикладі реагент-концентраційних залежностей дослідили вплив доміцелярної та міцелярної концентрацій протилежно зарядженого аніонного ПАР додецилсульфату натрію на флуорокольорометричний сигнал родамінів. Встановлено, що величина флуорокольорометричного сигналу родаміну 6Ж у розчинах ДДСН зменшується (рис. 4.11), що може бути використано для розробки методики визначення аніонних ПАР. У міцелярних розчинах ДДСН також змінився характер реагент-концентраційної залежності - із зростаючої на спадну.

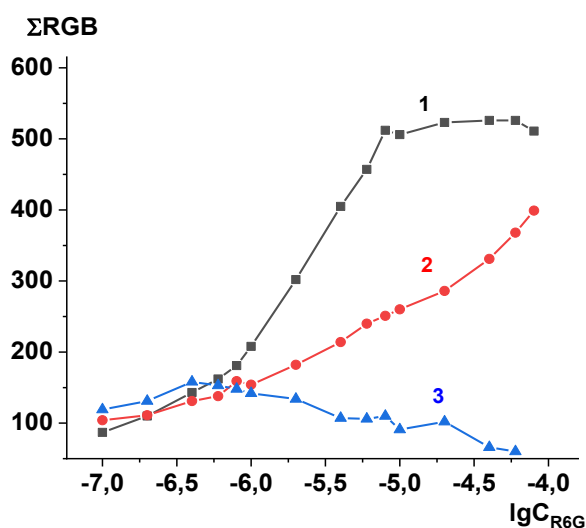


Рис. 4.11. ΣRGB -сигнал родаміну 6Ж від концентрації барвника у водних розчинах (1) та у присутності ДДСН (2,3). $C_{ДДСН} = 1 \cdot 10^{-3}$ моль/л (2), $C_{ДДСН} = 1 \cdot 10^{-2}$ моль/л (3), рН=6,5; фотобокс із чорним фоном, УФ-освітлення

На основі отриманих даних розраховали флуорокольорометричний сигнал ДДСН у реакції із родаміном 6Ж. Відповідна реагент-концентраційна залежність ($C_{\text{ДДСН}}=1 \cdot 10^{-3}$ моль/л) проходить через плато максимуму при $C_{\text{R6G}}=8 \cdot 10^{-6}$ - $2 \cdot 10^{-5}$ моль/л (рис.4.12), яке відповідає оптимальній концентрації родаміну 6Ж при визначенні АПАР. При подальшому збільшенні вмісту барвника спостерігається зменшення сигналу ДДСН - концентраційне гасіння.

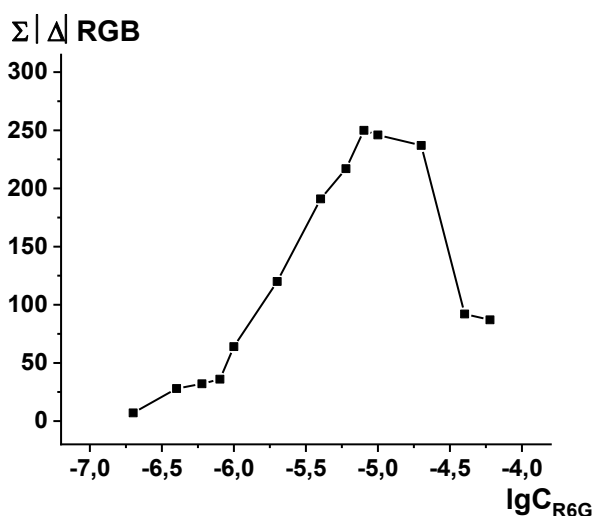


Рис. 4.12. Флуорокольорометричний $\Sigma|\Delta|RGB$ сигнал ДДСН у реакції з родаміном 6Ж. $C_{\text{ДДСН}}= 1 \cdot 10^{-3}$ моль/л, $pH=6,5$; фотобокс із чорним фоном, УФ-освітлення

Встановлено, що доміцелярні концентрації ДДСН не призводять до змін RGB-сигналу розчинів родаміну С. Це обмежує використання родаміну С для кольорометрії аніонних ПАР. З іншого боку, для більш гідрофобного родаміну 6Ж для АПАР-концентраційної залежності в інтервалі концентрацій $1 \cdot 10^{-6}$ - $8 \cdot 10^{-4}$ моль/л спостерігали концентраційне гасіння інтенсивності R- та G-каналів (рис.4.13 а). Аналогічно флуоресцентному сигналу, зменшення флуорокольорометричного сигналу починається при стехіометричному співвідношенні ДДСН : родамін 6Ж = 1:1, (рис.4.13 б).

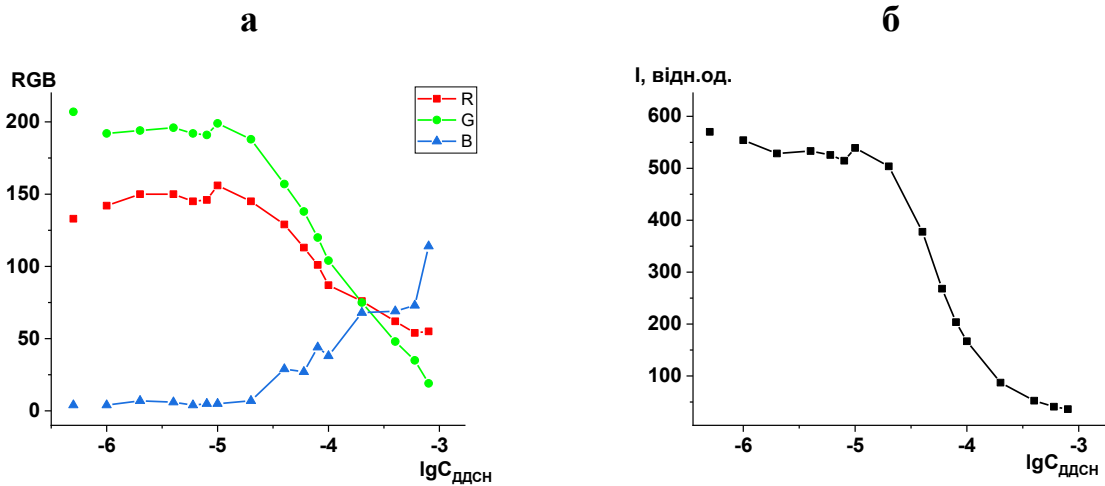


Рис. 4.13. Залежність флуорокольориметричного (а) та флуоресцентного (б) сигналів родаміну бЖ від концентрації ДДСН у розчинах. $C_{\text{R6G}}=1,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л; $\text{pH}=6,5$, фотобокс із чорним фоном, УФ-освітлення (а)

Провели визначення ДДСН з родаміном бЖ методами молекулярної спектроскопії. Отримані експериментальні результати дали змогу порівняти метрологічні характеристики визначення ДДСН методами молекулярної спектроскопії (табл.4.10.).

Таблиця 4.10

Характеристики визначення ДДСН у реакції з родаміном бЖ. $C_{\text{R6G}}= 1 \cdot 10^{-5}$ моль/л,
 $C_{\text{ДДСН}} = 1 \cdot 10^{-5} - 1 \cdot 10^{-4}$ моль/л, $\text{pH}=6,5$

Метод	$\text{LOD} \cdot 10^{-5}$, моль/л	r	$S \cdot 10^6$, л/моль	Рівняння Г.Г., моль/л
Люмінесцентна спектроскопія	1,7	0,985	4,4	$\Delta I = (0 \pm 24) + (-4,4 \pm 0,4) \cdot 10^6 \cdot C_{\text{ДДСН}}$
Флуорокольориметрія	1,1	0,995	1,1	$\Delta G = (-0,8 \pm 3,9) + (1,1 \pm 0,6) \cdot 10^6 \cdot C_{\text{ДДСН}}$
Кольориметрія	17*	0,970	0,03	$\Delta G = (-3,3 \pm 1,9) + (-3,3 \pm 0,4) \cdot 10^4 \cdot C_{\text{ДДСН}}$

* - Лінійний інтервал, $8 \cdot 10^{-5} - 8 \cdot 10^{-4}$ моль/л

Порівняння групи методів показало, що найменша межа виявлення ДДСН з родаміном бЖ для флуорокольориметрії. Межа виявлення та лінійність

градуувальної залежності для флуорокольорометрії за даних експериментальних умов виявилась краща ніж для люмінесценції.

4.3.3. Вплив природи неіонної ПАР на сигнал барвників в розчинах

Дослідили вплив природи неіонних поверхнево-активних речовин на кольорометричний та флуорокольорометричний сигнал флуоресцентних барвників. Як модельний аніонний барвник використали флуоресцеїн, а серед катіонних - було обрано родамін 6Ж.

Вплив природи неіонної ПАР на сигнал флуоресцеїну. Кольорометричний сигнал флуоресцеїну в доміцелярних розчинах ТХ-100 та Tween-20 помірно зростає, що зумовлено колоїдно-хімічною стабілізацією розчинів (рис.4.14. крива 1). Локальні максимуми на НПАР-концентраційних залежностях зазвичай спостерігали при стехіометричних співвідношеннях НПАР:F1 = 1:1 та 2:1. В області ККМ неіонної ПАР реєстрували зростання сигналу барвника на $\approx 10\%$. Неіонна ПАР ТХ-305 у доміцелярних концентраціях не чинить значного впливу на сигнал реагенту, а подекуди його знижує.

У міцелярних розчинах трьох досліджених неіонних ПАР (ТХ-100, Tween-20, ТХ-305) кольорометричний сигнал флуоресцеїну підвищується на 20%. Зростання кольорометричного сигналу зумовлене сольобілізаційними процесами та зниженням агрегації барвника. Міцелярні добавки Tween-20 монотонно підвищують сигнал реагенту що дозволяє, за необхідності, визначати вміст даної НПАР.

Флуорокольорометричний сигнал флуоресцеїну підсилюється в доміцелярній області ТХ-100 та Tween-20 при утворенні асоціату F1:НПАР = 1:1 та в області ККМ неіонних ПАР (рис.4.14. крива 2). На відмінну від кольорометричного сигналу, в міцелярних розчинах НПАР інтенсивність флуорокольорометричного сигналу барвника зменшується. Різностямований вплив НПАР на сигнал зумовлений зміною кольору внаслідок перерозподілу форм реагенту під дією міцел НПАР та процесів сольобілізації. У розчинах ТХ-305

флуорокольорометричний сигнал барвника зменшується як в доміцелярних, так і в міцелярних розчинах.

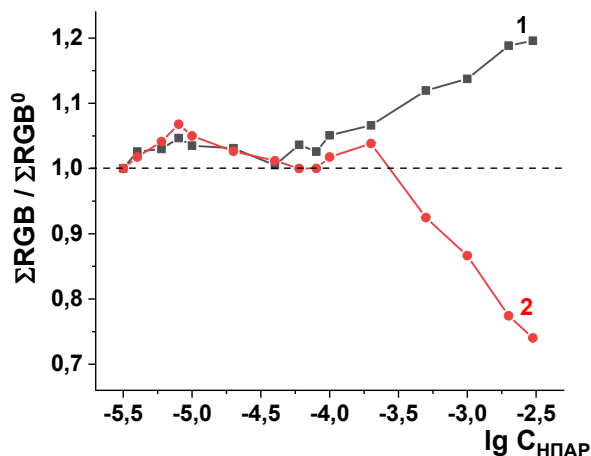


Рис. 4.14. Нормований кольорометричний (1) та флуорокольорометричний (2) ΣRGB -сигнал флуоресцеїну у розчинах Tween-20. $C_{\text{Fl}} = 1 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $\text{pH}=5,5$

Таким чином, серед досліджених неіонних ПАР Triton X-100 показав найвищу ефективність як модифікатор для стабілізації та підвищення інтенсивності флуорокольорометричного та кольорометричного сигналів флуоресцеїну.

Вплив природи неіонної ПАР на сигнал родаміну бЖ. Аналогічно флуоресцеїну, дослідили вплив трьох неіонних ПАР (ТХ-100, Tween-20 та неонолу АФ₉₋₁₂) на кольорометричний та флуорокольорометричний сигнал катіонного родаміну бЖ в розчинах. Кольорометричний сигнал реагенту під дією неіонних ПАР практично не змінюється. Для неонолу АФ₉₋₁₂ невелике підвищення сигналу реєструється при утворенні асоціату $\text{R6G}:\text{НПАР} = 1:2$ та в області ККМ.

Флуорокольорометричний сигнал родаміну бЖ підвищується у доміцелярних і у міцелярних розчинах неіонних ПАР (рис. 4.15.). Для розчинів ТХ-100 зафіксовано послідовне приєднання НПАР до реагенту з утворенням асоціатів різних складів (рис.4.16). Також флуорокольорометричний метод дозволяє реєструвати ККМ неіонної ПАР.

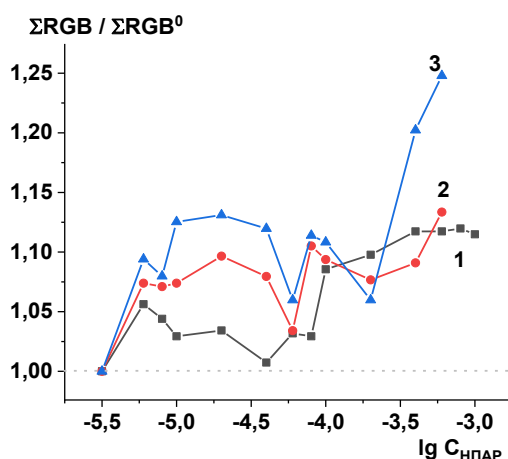


Рис.4.15. Нормований флуорокольоро- метричний ΣRGB -сигнал родаміну бЖ у розчинах НПАР. $C_{R6G}=1 \cdot 10^{-5}$ моль/л, рН=6,5 1-ТХ-100, 2-Тween-20, 3- неонол АФ₉₋₁₂

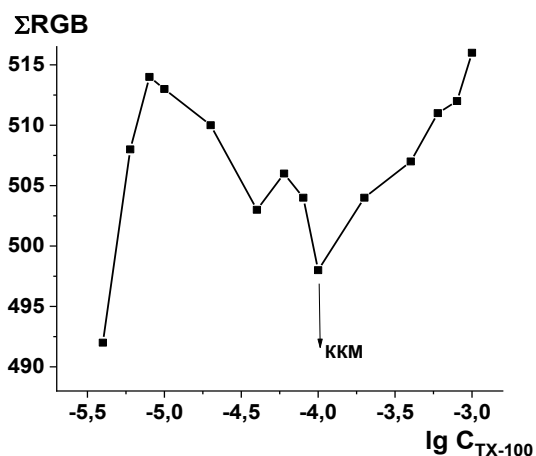


Рис.4.16. Флуорокольорометричний ΣRGB -сигнал родаміну бЖ в розчинах ТХ-100. $C_{R6G}=1 \cdot 10^{-5}$ моль/л, рН=6,5

Неонол АФ₉₋₁₂ показав себе найбільш ефективною добавкою для підсилення флуорокольорометричного сигналу родаміну бЖ (рис.4.15, крива 3). Плато високих значень сигналу зареєстровано при доміцелярних концентраціях НПАР при утворенні асоціату із співвідношенням неонол:R6G=1:1. У міцелярній області неіонної ПАР сигнал реагенту зростає на 25%.

Таким чином, при виборі НПАР для підвищення сигналу катіонних флуоресцентних барвників, важливим чинником є природа модифікатора.

4.4. Вплив неіонної ПАР на кольорометричний сигнал аналіту в реакції з флуоресцентними реагентами

Дослідили вплив доміцелярних та міцелярних концентрацій неіонних ПАР різної природи на кольорометричний та флуорокольорометричний сигнал ЦПХ у реакції з флуоресцеїном та ДДСН у реакції з родаміном бЖ. Досліджені системи в загальному контексті моделювали аналітичні системи для визначення гідрофобних органічних катіонів та аніонів у формі іонних асоціатів. Флуоресцентні барвники, які в розділі 4.3.3 виступали як аналіти, «взяли» на себе роль традиційних

органічних реагентів. У дослідженні використовували поліоксиетильовані алкілфеноли різного ступеня оксиетилування та поліоксиетиленовий сорбітан монолаурат – Tween-20. Встановили, що характер і напрямок впливу НПАР на кольорометричний сигнал досліджених систем залежить від природи неіонної ПАР та його концентрації.

Вплив НПАР на сигнал ЦПХ у реакції з флуоресцеїном. Кольорометричний сигнал ЦПХ у присутності TX-100 підвищується в діапазоні доміцелярних концентрацій НПАР. Локальні максимуми RGB-сигналу ЦПХ реєструються при концентрації неіонної ПАР $6 \cdot 10^{-5}$ моль/л (за умов експерименту ЦП:TX-100=3:1) та в області ККМ TX-100 ($\approx 1 \cdot 10^{-4}$ моль/л); за таких умов підвищення сигналу аналіту є суттєвим – на 77 та 54%, відповідно. Зазначені концентрації НПАР можуть бути рекомендовані як оптимальні при визначенні гідрофобних органічних катіонів з флуоресцеїном в присутності TX-100. Однак, абсолютні значення інтенсивності сигналу залишаються низькими, що обмежує використання кольорометричного підходу. При цьому, збільшення кольорометричного сигналу ЦПХ в реакції з флуоресцеїном є вищим у розчинах TX-100, порівняно з впливом TX-305 та Tween-20. Неіонна ПАР TX-305 на сигнал ЦПХ практично не впливає. Модифікуюча дія Tween-20 також виявилась менш ефективною, ніж вплив TX-100; збільшення сигналу ЦПХ (до 30 %) реєстрували при концентрації НПАР, близькій до ККМ.

У флуорокольориметрії добавки доміцелярних концентрацій TX-100 також підвищують сигнал ЦПХ. Зареєстровано дві характерні концентрації НПАР, при яких сигнал ЦПХ суттєво зростає. Локальні максимуми сигналу ЦПХ реєстрували при співвідношенні F1:TX-100=1:2 та ЦПХ:TX-100=1:1. Зареєстровані співвідношення компонентів узгоджуються з раніше сформульованим правилом, що кількість молекул НПАР, що входить до трикомпонентного асоціату «реагент – протион ПАР – неіонна ПАР» відповідає кількості іонів катіонної ПАР. Такі трикомпонентні асоціати також виступають аналітичною формою при визначенні іонних ПАР з реагентами в доміцелярних розчинах НПАР методами

спектрофотометрії та флуоресценції. Максимальне підвищення флуорокольорометричного сигналу ЦПХ становило 3,4 рази. Більше підвищення флуорокольорометричного сигналу ЦПХ у розчинах НПАР, у порівнянні з кольорометричним методом, додатково підсилюється високим квантовим виходом реагенту та впливом НПАР на флуоресценцію.

Для Tween-20 у флуорокольорометрії зафіксовано дві оптимальні концентрації НПАР – $8 \cdot 10^{-6}$ та $2 \cdot 10^{-4}$ моль/л, за яких спостерігається підвищення сигналу ЦПХ на $\approx 56\%$ та 20% , відповідно.

З метою порівняння, простежили вплив неіонної TX-305 на флуорокольорометричний сигнал розчинів Fl-ЦПХ (рис. 4.17). Спостерігали підвищення інтенсивності сигналу системи з максимумом в області ККМ неіонної ПАР. При цьому вплив НПАР на сигнал самого аналіту (ЦПХ) є слабо вираженим, а його максимальна інтенсивність відповідає стехіометричному співвідношенню Fl:TX-305=1:1, що свідчить також про значимість доміцелярних взаємодій у системі.

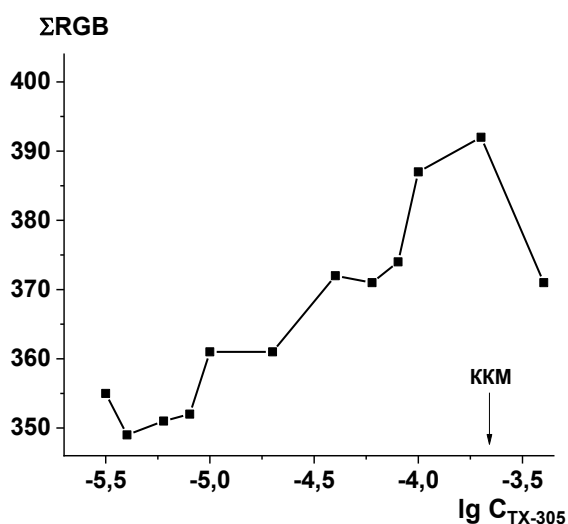


Рис. 4.17. Флуорокольорометричний ΣRGB -сигнал розчинів Fl - ЦПХ від концентрації TX-305. $C_{\text{Fl}} = 1 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $C_{\text{ЦПХ}} = 2 \cdot 10^{-5}$ моль/л, рН=5,5; чорний фон, УФ-освітлення

Позитивний вплив неіонних ПАР на аналітичні характеристики флуорокольорометричного визначення зумовлені підвищенням стійкості і виходу асоціатів аніонів реагенту з катіонами ЦП. Такий вплив проявляються не лише у підвищенні інтенсивності сигналу ЦПХ, але й у покращенні метрологічних параметрів градуувальної залежності та самого визначення. Вбачалось доцільним порівняти характеристики методик (коефіцієнт чутливості, межу виявлення, коефіцієнт лінійності градуувальної залежності) визначення ЦПХ з флуоресцеїном у водних розчинах та у присутності оптимальних добавок НПАР (табл. 4.11). Слід зауважити, що коректне порівняння цих показників і формулювання обґрунтованих висновків можливі лише за умови зіставлення параметрів сигналу для однакових каналів кольору (G-канал для даних табл.4.11).

Таблиця 4.11

Характеристики флуорокольорометричного визначення ЦПХ у реакції з флуоресцеїном. $\Delta G = f(C_{\text{ЦПХ}})$. $C_{\text{Fl}} = 1 \cdot 10^{-5}$ моль/л, pH=5,5

$C_{\text{ТХ-100}}$, моль/л	r	$S \cdot 10^6$, л/моль	$\text{LOD} \cdot 10^{-6}$ моль/л	Δ , од.
0	0,993	$-1,40 \pm 0,07$	8,7	125
$2 \cdot 10^{-5}$	0,996	$-1,62 \pm 0,05$	5,8	146

Флуорокольорометрична методика визначення ЦПХ з флуоресцеїном в організованих розчинах ТХ-100 (за оптимальної концентрації НПАР) характеризується покращеними метрологічними параметрами - зниженням межі виявлення та підвищенням чутливості визначення.

Вплив НПАР на сигнал ДДСН у реакції з родаміном бЖ. Дослідили вплив неіонних ТХ-100, Tween-20 та неонолу АФ₉₋₁₂ на кольорометричний та флуорокольорометричний сигнал аніонної ДДСН у реакції з катіонним родаміном бЖ. У розчинах досліджених неіонних ПАР кольорометричний сигнал ДДСН підвищується із збільшенням концентрації НПАР і проходить через максимум в області ККМ (рис.4.18). Найбільш виражений вплив НПАР спостерігали у розчинах Tween-20

(рис.4.18 крива 3). Проведення визначення у розчинах Tween-20 призводить до триразового зростання сигналу ДДСН як результат модифікації аналітичної системи (приєднання НПАР до самого реагенту та до асоціату реагенту з протионом аніонної ПАР). Відповідно з принципами супрамолекулярної хімії, відповідність частинок між собою забезпечує підвищену стійкість утвореного асоціату. Вирішальну роль у його формуванні відіграє гідрофобна відповідність між компонентами.

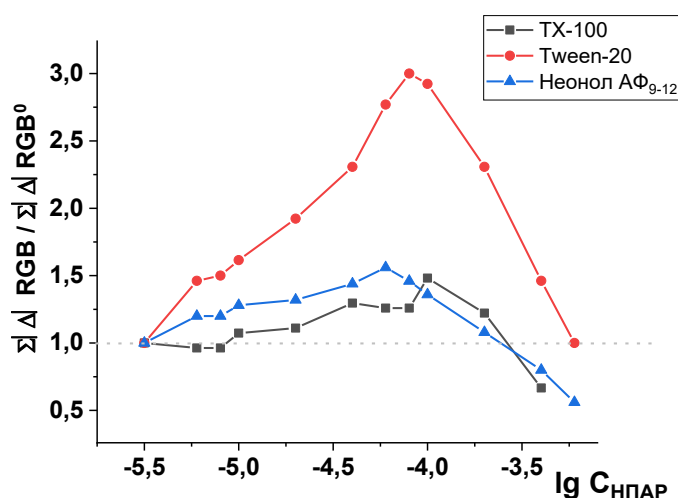


Рис. 4.18. Нормований кольориметричний $\Sigma\Delta RGB$ -сигнал ДДСН у реакції з родаміном 6Ж від концентрації НПАР. $C_{R6G}=1 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $C_{ДДСН} = 1 \cdot 10^{-4}$ моль/л, рН=6,5; білий фон, вид-освітлення

Аналогічно кольориметрії, флуорокольориметричний сигнал ДДСН в діапазоні доміцелярних концентрацій неіонних ПАР також підвищується (рис.4.19). При цьому препарат Tween-20 показав себе найбільш ефективною добавкою. Максимальний сигнал ДДСН спостерігали в інтервалі концентрацій НПАР від 1:1 співвідношення R6G : Tween-20 до ККМ неіонної ПАР. При концентрації неіонної ПАР > ККМ сигнал аніонної ПАР зменшується. Зменшення флуорокольоро-метричного сигналу аналіту пов'язане із сольобілізаційними процесами в міцелярних розчинах і гасінням флуоресцентної компоненти сигналу під дією надлишків аніонної ПАР.

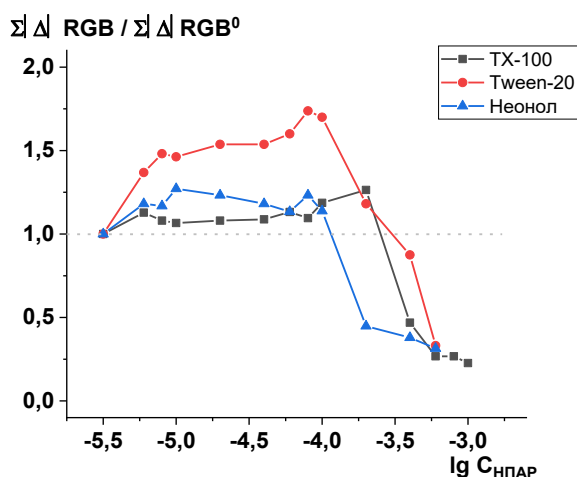


Рис. 4.19. Нормований флуорокольоро-
метричний $\Sigma|\Delta|RGB$ -сигнал ДДСН у
реакції з R6G від концентрації НПАР.

$C_{R6G}=1 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $C_{ДДСН}=1 \cdot 10^{-4}$ моль/л,
 $pH=6,5$

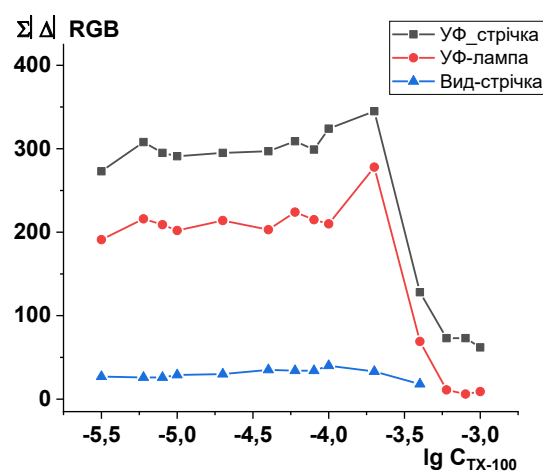


Рис. 4.20. Флуорокольорометричний
сигнал ДДСН у реакції з R6G від
концентрації ТХ-100 за різних умов
реєстрації. $C_{R6G}=1 \cdot 10^{-5}$ моль/л,
 $C_{ДДСН}=1 \cdot 10^{-4}$ моль/л, $pH=6,5$

Зміна характеру освітлення системи «родамін–ДДСН–НПАР», як і для розчинів родамін–ДДСН у розділ 4.3.2, також показала переваги флуорокольоро-метричного визначення у порівнянні із кольорометричним при використанні флуоресцентних реагентів (рис. 4.20). Так, показано збільшення кольорометричного сигналу ДДСН у реакції з родаміном 6Ж у розчинах неіонної ПАР при використанні УФ-освітлення: УФ-стрічка або УФ-лампа.

Отримані дані показують доцільність використання неіонної ПАР Tween-20 для флуорокольорометричного визначення ДДСН за реакцією з родаміном 6Ж (табл.4.12.).

Таблиця 4.12

Характеристики флуорокольорометричного визначення ДДСН у реакції з
родамином 6Ж $\Delta G = f(C_{\text{ДДСН}})$. $C_{\text{R6G}} = 1 \cdot 10^{-5}$ моль/л, pH=6,5

$C_{\text{Tween-20}}$, МОЛЬ/Л	r	$S \cdot 10^5$	$\text{LOD} \cdot 10^{-5}$ МОЛЬ/Л	RSD %	Δ , од.
0	0,993	$-4,4 \pm 0,3$	1,1	2,2	34
$4 \cdot 10^{-5}$	0,997	$-7,5 \pm 0,3$	0,56	1,4	78

Флуорокольорометрична методика визначення ДДСН з родамином 6Ж в організованих розчинах Tween-20 за оптимальної концентрації НПАР характеризується покращеними метрологічними параметрами - зниженням межі виявлення та підвищенням чутливості визначення. Досягнення такої чутливості визначення аніонних ПАР з використанням асоціатів реагентів як аналітичних форм методами молекулярної спектроскопії досягається зазвичай з використанням попереднього концентрування – екстракції [154].

4.5. Смарт-флуорокольорометричне визначення гідрофобних органічних сполук іонної природи з флуоресцентними барвниками

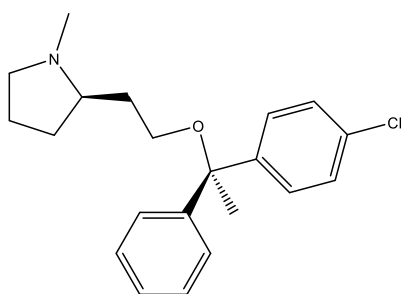
У розділі 4.5 подано результати апробації раціонально сформованих флуоресцентних реагентних систем при кольорометричному визначенні органічних сполук іонної природи. Також розглянуто методики кількісного визначення гідрофобних органічних іонів у реагентних системах, що містять неіонні ПАР як модифікатори. Проведено апробацію запропонованих методик на реальних об'єктах.

Раціональне коло об'єктів флуорокольорометрії розчинів становлять речовини (або їх аналітичні форми), що характеризуються інтенсивним поглинанням у видимій ділянці спектра (мають власне забарвлення) та здатністю до флуоресцентної емісії. За заданих умов збудження і реєстрації речовина повинна забезпечувати формування відтворюваного колірною відгуку. Визначальними

характеристиками є достатня інтенсивність і стабільність флуоресценції, а також лінійна залежність аналітичного сигналу від концентрації у робочому діапазоні.

4.5.1. Флуорокольорометричне визначення клемастину з еозином в антигістамінному препараті «Тавегіл»

Клемастин - синтетичний антигістамінний засіб, який використовується для полегшення та зняття симптомів лихоманки та алергії. Клемастин є похідним бензгідрильного етеру, гідрофобним субстратом катіонної природи ($\lg P=5,0$). Визначення клемастину проводять спектрофотометричним та флуоресцентним методом, а також методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ). ВЕРХ вбачається дороговартісною альтернативою, а СФ- та флуоресцентні методи не завжди придатні для оперативного позалабораторного визначення.



Клемастин

З урахуванням даних розділу 4.3.1, вбачалося доцільним розробити методику визначення клемастину методом смарт-флуорокольорометрії. В основу такого визначення покладена реакція асоціації катіонного субстрату з аніонним еозином.

Еозин, як представник ряду похідних флуоресцеїну, забезпечував компромісні показники визначення. Аналогічно флуоресценції (рис 4.21, а), при додаванні клемастину до розчину еозину спостерігали зменшення флуорокольорометричного сигналу, (рис 4.21, б). Цей ефект використали для розробки умов визначення клемастину.

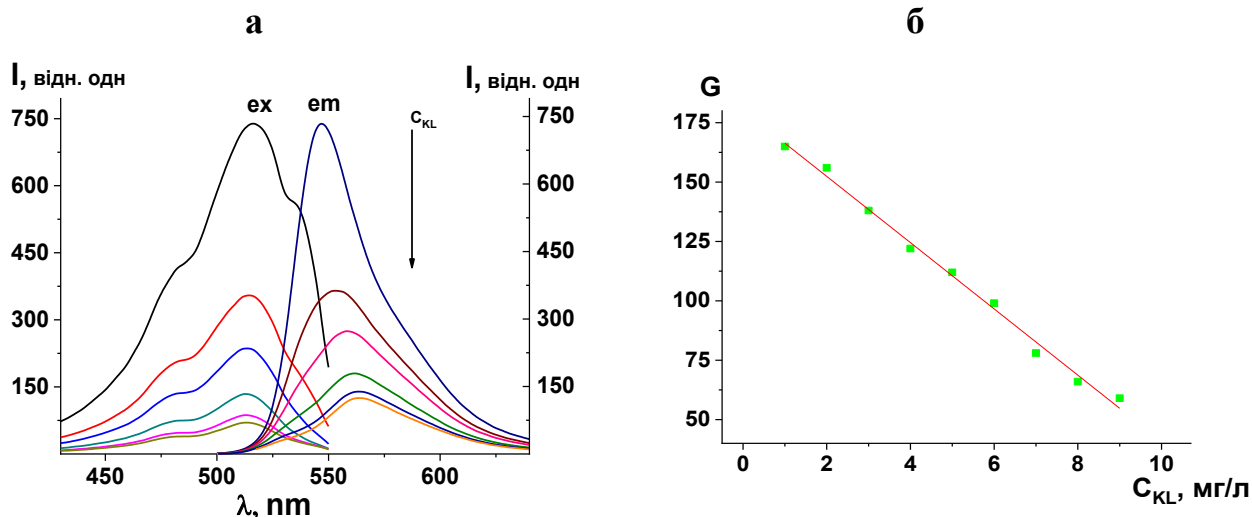


Рис.4.21. Спектри збудження і флуоресценції (а) та флуорокольорометричний G-сигнал (б) розчинів еозину від концентрації клемастину. $C_{Eo} = 3,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л; $C_{KI} = 1-9$ мг/л; pH=3,7

Смарт-флуорокольорометричне визначення клемастину проводили за умов $C_{Eo} = 3 \cdot 10^{-5}$ моль/л; pH=3,7 [155]; інтервал лінійності ГГ становив 1-9 мг/л ($r = 0,997$); LOD 0,5 мг/л. Розроблені умови використали для флуорокольорометричного визначення клемастину в препараті «Тавегіл» (HALEON ALCALA, STADA Arzneimittel AG, Німеччина. 1 таблетка препарату містить клемастину фумарату 1,34 мг, що відповідає 1 мг клемастину; допоміжні речовини: магнію стеарат, повідон, тальк, крохмаль кукурудзяний, лактози моногідрат).

Таблетку препарату «Тавегіл» перетирали у порцеляновій ступці до однорідності і переносили порошок у мірну колбу об'ємом 50 мл та додавали 30 мл етанолу. Отриманий розчин обробляли ультразвуком 20 Гц протягом 5 хв і фільтрували («синя стрічка») у колбу об'ємом 50 мл. Отриманий фільтрат доводили водою до кінцевого об'єму та перемішували. З отриманого розчину відбирали аліквоту 2,5 мл у мірну пробірку об'ємом 10 мл. У цю ж пробірку додавали 0,3 мл розчину еозину концентрації $1,0 \cdot 10^{-3}$ моль/л та доводили водою до загального об'єму 10 мл. Отриманий розчин перемішували і встановлювали pH 3,6-3,8

розчином HNO_3 . Вміст клемастину визначали за допомогою градуювального графіку.

Дані Таблиці 4.13 підтверджують правильність результатів визначення клемастину, отриманих запропонованою методикою, і їх тотожність із вмістом, задекларованим виробником.

Таблиця 4.13

Результати флуорокольометричного визначення клемастину у таблетках «Тавегіл». $C_{E0}=3,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $n=5$, $P = 0,95$

Препарат	Вміст клемастину, мг		RSD
	Задекларовано виробником	Знайдено за методикою	
«Тавегіл»	$1,00 \pm 0,05^*$	$1,05 \pm 0,03$	0,022

* - значення RSD згідно [150]

Отримані дані показують коректність та доцільність використання смарт-флуорокольорометричного методу в аналізі реальних об'єктів.

4.5.2. Флуорокольорометричне визначення додецилсульфату натрію у реакції з родаміном 6Ж

Аніонні ПАР становлять одну з поширених груп антропогенних забруднювачів практично у всіх водних екосистемах, що зумовлено їх широким застосуванням у складі побутових та промислових миючих засобів та засобах особистої гігієни. Постійне надходження цих сполук до систем централізованого водовідведення обумовлює необхідність систематичного моніторингу їх вмісту з метою оцінки ефективності очисних процесів та виявлення потенційних екологічних ризиків. Визначення аніонних ПАР зазвичай здійснюють у формі асоціатів з протиіонами реагентів з детекцією методами фотометрії, флуориметрії та електрохімічними методами [156]. Для визначення АПАР в забруднених водах також використовують хроматографічні методи [157]. Низькі значення ГДК

зумовлюють використання попереднього концентрування, найчастіше методом екстракції.

У роботі запропоновано смарт-флуорокольорометричне визначення аніонних ПАР у реакції з катіонним родаміном 6Ж у розчинах неіонної ПАР Tween-20 (табл. 4.14). В основу методики покладено гасіння сигналу барвника при утворенні асоціатів родаміну 6Ж з ДДСН у присутності неіонної ПАР (розділ 4.3.2).

Таблиця 4.14

Параметри смарт-флуорокольорометричного визначення ДДСН з родаміном 6Ж у присутності Tween-20. $C_{R6G}=1,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $C_{\text{Tween-20}}=4,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л, рН=6,5

Метод	Лінійність Г.Г., $\cdot 10^{-5}$ моль/л	Г.Г., моль/л *	r*	LOD, моль/л*
Флуорокольорометрія	1,0-40,0	$\Delta G = (-0,9 \pm 1,4) + (-0,76 \pm 0,03) \cdot 10^5 \cdot C_{\text{ДДСН}}$	0,997	$5,6 \cdot 10^{-6}$

* - розраховано для інтервалу концентрацій ДДСН $(1-10) \cdot 10^{-5}$ моль/л

Запропонована методика була перевірена методом «введено–знайдено» при флуорокольорометричного визначенні ДДСН у модельних розчинах. При вмісті ДДСН в модельному розчині $8,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л, за розробленою методикою знайдено $(8,1 \pm 0,1) \cdot 10^{-5}$ моль/л аніонної ПАР (RSD=0,014). Методика показала задовільну правильність та точність визначення ДДСН.

Отримані дані показують доцільність використання та конкурентоздатність запропонованої методики флуорокольорометричного визначення ДДСН з родаміном 6Ж. Досягнення такого рівня чутливості визначення аніонних ПАР (LOD $5,6 \cdot 10^{-6}$ моль/л) із застосуванням асоціатів реагентів як аналітичних форм у методах молекулярної спектроскопії зазвичай забезпечується обов'язковим використанням попереднього концентрування.

4.5.3. Смарт-флуорокольорометричне визначення ЦПХ у системі з флуоресцеїн – неіонна ПАР

Катіонні поверхнево-активні речовини широко використовують у промисловості, фармації, косметології та побутовій хімії завдяки їх миючим, бактерицидним та антисептичним властивостям. Контроль за вмістом катіонних ПАР у складі лікарських засобів є важливим аналітичним завданням.

У роботі запропоновано умови смарт-флуорокольорометричного визначення КПАР у реакції з аніонним барвником у розчинах НПАР (табл. 4.16). В основу методики покладено гасіння сигналу барвника при утворенні асоціатів флуоресцеїну з ЦПХ у присутності ТХ-100 (розділ 4.3.1). Використання флуоресцеїну як регенту зумовлено його найбільшою чутливістю при флуорокольорометричному визначенні катіонних ПАР.

При вмісті ЦПХ в модельному розчині $4,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л, за розробленою методикою знайдено $(3,9 \pm 0,5) \cdot 10^{-5}$ моль/л катіонної ПАР (RSD=0,053). Отримані результати показують задовільну правильність та точність флуорокольорометричного визначення ЦПХ у реакції із флуоресцеїном у розчинах неіонної ТХ-100.

Таблиця 4.16

Параметри смарт-флуорокольорометричного визначення ЦПХ у системі флуоресцеїн - ТХ-100. $C_{\text{Fl}}=1,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $C_{\text{ТХ-100}}=2,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л, рН=5,5

Метод	Лінійність Г.Г., $\cdot 10^{-5}$ моль/л	Г.Г., моль/л	r	LOD, моль/л
Флуорокольорометрія	1 -10	$\Delta G=(2,1 \pm 2,9) +$ $(-1,5 \pm 0,05) \cdot 10^6 \cdot C_{\text{ЦПХ}}$	0,998	$5,7 \cdot 10^{-6}$

Таким чином, реагентна система «флуоресцеїн –ТХ-100» є придатною для визначення катіонної ПАР у розчинах смарт-флуорокольорометричним методом, а сама методика є конкурентноздатною до наявних методик молекулярної спектроскопії за рахунок своєї простоти та швидкості виконання.

4.6. Висновки до розділу 4

1. Показано, що за умов ультрафіолетового освітлення інтенсивність кольорометричного сигналу розчинів ряду аніонних та катіонних флуоресцентних реагентів суттєво перевищує відповідний сигнал, зареєстрований за умов видимого освітлення.
2. Показано збільшення смарт-флуорокольорометричного сигналу та чутливості визначення барвників із збільшенням квантового виходу реагенту.
3. Виявлено збільшення кольорометричного та флуорокольорометричного сигналів флуоресцентних барвників в організованих розчинах ПАР різних типів.
4. Виявлене збільшення кольорометричного сигналу флуоресцентних аналітів та відповідних аналітичних форм з флуоресцентними реагентами у розчинах неіонних ПАР. Збільшення кольорометричного сигналу спостерігається переважно у доміцелярних розчинах і зумовлене утворенням стехіометричних асоціатів за участю НПАР.
5. Показана перспективність і раціональне коло об'єктів нового запропонованого методу аналізу розчинів – смарт-флуорокольорометрії в організованих середовищах ПАР.
6. Розроблено методику смарт-флуорокольорометричного визначення клемастину ($LOD= 0,5$ мг/л) у препараті «Тавегіл» ($RSD= 0,022$). Запропоновано умови смарт-флуорокольорометричного визначення додецилсульфату натрію у реакції з родаміном 6Ж у розчинах неіонної ПАР Tween-20 ($LOD= 5,6 \cdot 10^{-6}$ моль/л), та цетилпіридиній хлориду у системі «флуоресцеїн - ТХ-100» ($LOD= 5,7 \cdot 10^{-6}$ моль/л).

РОЗДІЛ 5. СМАРТ-КОЛЬОРОМЕТРІЯ ВИЗНАЧЕННЯ БІЛКІВ ТА КАТІОННИХ ПАР З COOMASSIE BRILLIANT BLUE G

Оцінка вмісту білка є стандартною процедурою в практиці медико-біологічних лабораторій і має важливе значення для біохімічних, медичних, харчових та фармацевтичних досліджень. Наразі її здійснюють з використанням різноманітних тест-систем і фізико-хімічних методів аналізу (розділ 1.4). Поширеними є аналітичні системи, які засновані на кольорових реакціях реагенту з аналітом (біуретова і ксантопротеїнова реакції, метод Бредфорда, комплексоутворення в системі молібден (VI) - пірогалоловий червоний (розділ 1.4)).

Coomassie Brilliant Blue G є основним компонентом реагенту Бредфорда, який широко використовують у хімічному та біохімічному аналізі для виявлення та визначення білків. У роботі СВВГ розглядається як оптимальний аналітичний реагент, що характеризується високою гідрофобністю, розгалуженою структурою, супрамолекулярною спорідненістю до білків а також високою контрастністю реакцій з білками та катіонними ПАР. Саме ці особливості зумовлюють перспективність використання СВВГ для розробки методик смарт-кольорометричного визначення гідрофобних органічних сполук катіонної природи та білків.

У розділі 5 дослідили спектрофотометричні, флуоресцентні, кольорометричні та турбідиметричні характеристики розчинів СВВГ, а також вивчили вплив поверхнево-активних речовин різної природи на сигнал СВВГ та КПАР і білків у реакціях з барвником. Постановка досліджень була спрямована на розробку практичних методик смарт-кольорометричного визначення гідрофобних органічних сполук іонної природи з Coomassie Brilliant Blue G.

5.1. Аналітичний сигнал Coomassie Brilliant Blue G у розчинах

Дослідили характер спектрів поглинання та флуоресценції, а також кольорометричний сигнал розчинів Coomassie Brilliant Blue G. Спектри поглинання водних розчинів СВВГ характеризуються трьома максимумами, один з яких ($\lambda_{\max} \approx 585$ нм) переважає у широкому діапазоні рН (рН=2,0-11,0) (рис.5.1). У кислих розчинах,

при $\text{pH} < 1$ основний максимум з $\lambda_{\text{max}} \approx 465$ нм. В інтервалі $\text{pH} = 1,0-1,6$ максимум поглинання розчинів СВВГ реєструється в області $\lambda_{\text{max}} \approx 645$ нм.

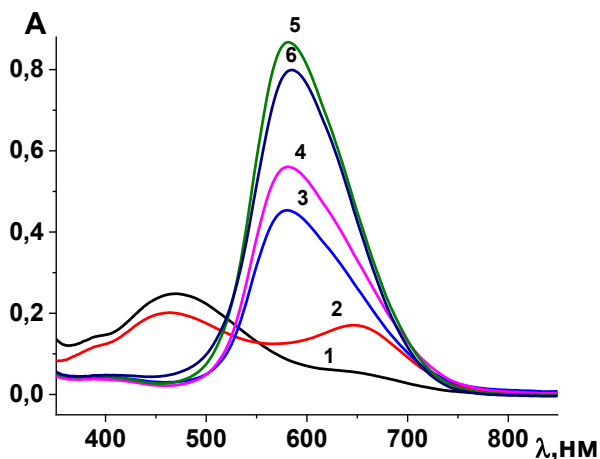


Рис. 5.1. Спектри поглинання водних розчинів СВВГ при різних значеннях рН. $C_{\text{СВВГ}} = 2,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л; рН : 0 (1), 1,0 (2), 3,0 (3), 5,0 (4), 9,0 (5), 11,0 (6); $\ell = 1,0$ см

Колір розчинів СВВГ зумовлений існуванням різних заряджених форм барвника. Зіставлення розрахункових та експериментальних значень рК [158] показало, що у сильно кислих розчинах, при $\text{pH} < 0$, у червоній формі реагенту ($\lambda_{\text{max}} = 460-465$ нм) всі три атоми азоту несуть позитивний заряд (H_5L^{3+} -форма СВВГ). Дві групи сульфанової кислоти мають низький рК, як правило, дисоційовані й негативно заряджені; при $\text{pH} < 1,0$ барвник виступає монокатіоном (H_3L^+ -форма). Зелений колір ($\lambda_{\text{max}} = 620-640$ нм) розчинів при $\text{pH} = 0,8-2,0$ відповідає незарядженій H_2L формі барвника. Синій колір розчинів ($\lambda_{\text{max}} = 585-595$ нм) у діапазоні $\text{pH} = 2,0-11,0$ зумовлений присутністю моноаніона HL^- , коли лише атом азоту барвника несе позитивний заряд. Останній протон втрачається у лужному середовищі ($\text{pH} > 11,0$) з утворенням форми L^{2-} і розчини набувають рожевого забарвлення ($\lambda_{\text{max}} = 518$ нм).

Аналогічно, у роботі дослідили спектри флуоресценції розчинів СВВГ. Coomassie Brilliant Blue не має жорсткої структури молекули, однак, за рахунок утрудненого обертання, молекула має власну флуоресценцію. Спектр збудження й флуоресценції водних розчинів СВВГ характеризуються максимумами $\lambda_{\text{ex}} = 345$ нм,

$\lambda_{em}=460$ нм (рис. 5.2 а). Інтенсивність емісії розчину реагенту в діапазоні рН 2,0-3,0 є максимальною (рис.5.2 б, крива 1). При $pH \geq 4,0$ зареєстровано зменшення інтенсивності флуоресценції та гіпсохромний зсув положення довжин хвиль збудження та емісії розчинів СВВГ (рис. 5.2 б, крива 2).

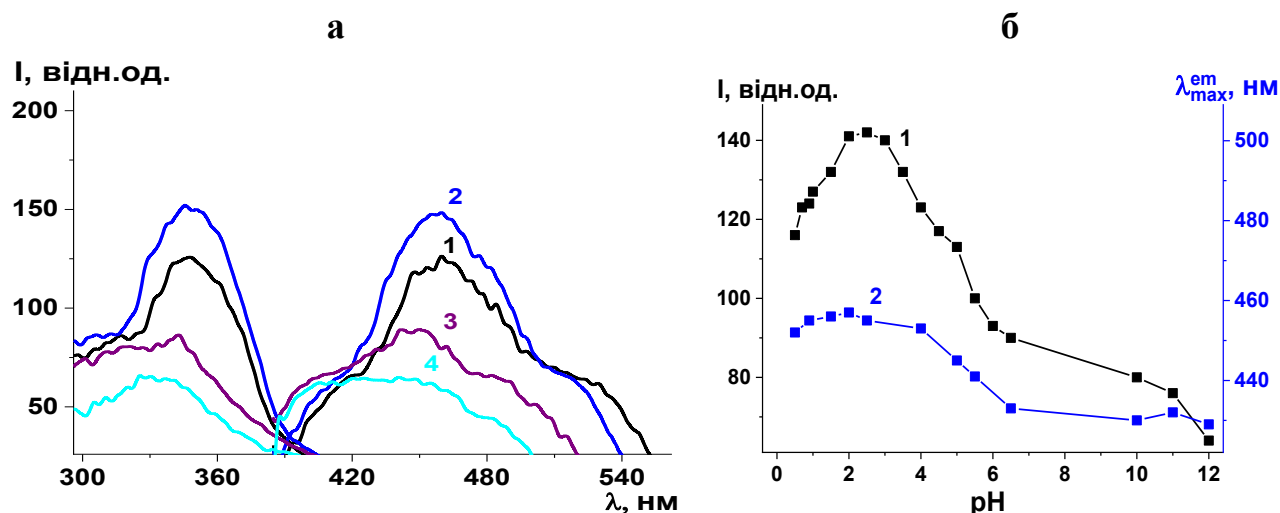


Рис. 5.2. Спектри збудження й флуоресценції (а), залежність інтенсивності флуоресценції (1б) та положення максимумів довжин хвиль емісії (2б) розчинів СВВГ від рН. $C_{СВВГ}=1,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л; рН (а): 1,0 (1), 2,5 (2), 6,5 (3), 12,0 (4)

Попередні дослідження показали доцільність проведення кольориметричних і флуоресцентних визначень катіонних субстратів з СВВГ при рН 1 [148, 149]. Це значення рН розглядалось як оптимальне при проведенні досліджень властивостей систем на основі СВВГ при фіксованій кислотності розчинів. В умовах експерименту, при $pH=1,0$, розчини СВВГ зелено-сині, що зумовлено присутністю NL^- та H_2L форм, а наявність в спектрах максимуму поглинання при 460 нм свідчить про співіснування за цих умов і H_3L^+ форми.

Аналіз кольориметричних залежностей $RGB=f(C_{СВВГ})$ показав, що при збільшенні концентрації барвника забарвлення розчинів стає більш насиченим і, відповідно, спостерігається зменшення кольориметричного сигналу. Так, при підвищенні концентрації СВВГ з $1,0 \cdot 10^{-7}$ до $1,0 \cdot 10^{-4}$ моль/л величина R-, G- та B-

каналів зменшується (рис.5.3.). При цьому, чутливість каналів кольору ($\Delta RGB/\Delta C_{CBVG}$) до вмісту барвника залежить від його концентрації.

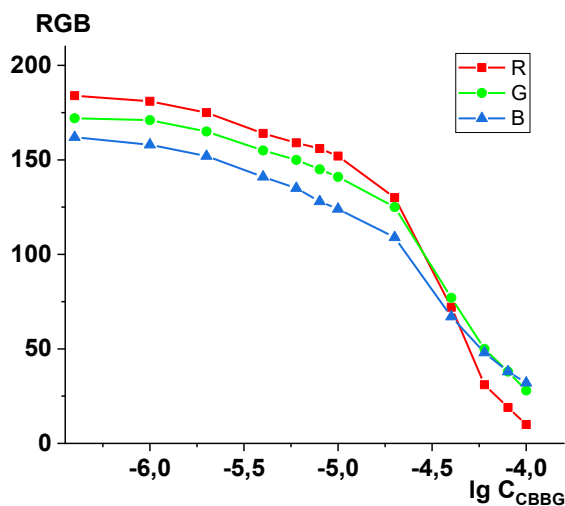


Рис. 5.3. Кольорометричний сигнал розчинів Coomassie Brilliant Blue від концентрації барвника. рН=1,0

Coomassie Brilliant Blue є високо гідрофобним реагентом, що зумовлює його схильність до агрегації у водних розчинах. Агрегацію CBVG у водних розчинах зазвичай зменшують додаванням спирту [121]. Відстежуючи поглинання ($\lambda=800$ нм) розчинів в рамках методу спектра каламутності встановили, що зі збільшенням вмісту етанолу каламутність розчинів CBVG-EtOH зменшується, а розмір присутніх у розчині агрегованих частинок збільшується. При вмісті етанолу $w=2-30\%$ (vol.) каламутність розчинів $2,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л CBVG не реєструється [159].

Добавки етанолу також впливають на інтенсивність сигналу. У роботі дослідили вплив етанолу на кольорометричний, спектрофотометричний та флуоресцентний сигнал CBVG. Поглинання розчинів CBVG підвищується зі збільшенням вмісту етанолу, що пояснюється збільшенням розчинності CBVG (крива 1, рис.5.4). Так, при вмісті етанолу $w(\text{EtOH})=30\%$ (vol.) інтенсивність поглинання в максимумі $\lambda=640$ нм зростає у 3 рази при невеликому гіпсохромному зсуві. Інтенсивність флуоресценції розчинів CBVG зі збільшення вмісту етанолу

також підвищується (на 4-16%), а максимальна інтенсивність флуоресценції спостерігається при вмісті етанолу $\approx 27\%$.

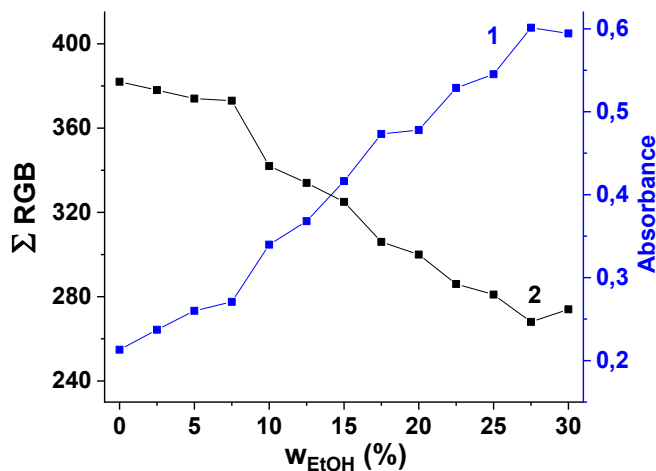


Рис. 5.4. Спектрофотометричний (1) та кольорометричний (2) сигнали водно-етанольних розчинів СВВГ. $C_{\text{СВВГ}}=2,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л, рН=1,0, $\lambda=640$ нм (1)

Аналогічно простежили залежність кольорометричного сигналу розчинів СВВГ від концентрації етанолу. Спостерігали злам концентраційної залежності при вмісті спирту 7,5% (vol.) (крива 2, рис.5.4), який проявляється для СВВГ в різних етанол-концентраційних залежностях. При додаванні 2,5-7,5% (vol.) спирту зміни кольорометричного сигналу системи СВВГ-EtOH незначні. Подальше додавання етанолу зменшує кольорометричний сигнал системи на 10-30%.

Вплив неіонної ПАР Triton X-100 на сигнал розчинів СВВГ. Дослідили вплив Triton X-100 на кольорометричні, спектрофотометричні та люмінесцентні характеристики розчинів Coomassie Brilliant Blue. Розчини НПАР розглядали як альтернативу етанолу для запобігання агрегації та можливого покращення «якості» сигналу розчинів СВВГ і метрологічних характеристик аналітичних процедур.

Доміцелярні концентрації TX-100 слабо впливають як на поглинання (крива 1, рис.5.5), так і на інтенсивність флуоресценції розчинів СВВГ. Водночас, при концентрації НПАР $>$ ККМ реєстрували різке збільшення поглинання та інтенсивності флуоресценції (підвищення на $\approx 15\%$), що пояснюється дезагрегацією частинок реагенту та сольобілізацією. За цих умов реєструється невеликий

гіпсохромний зсув максимуму поглинання при $\lambda=640$ нм ($\Delta\lambda \approx 15$ нм), а також максимуму довжини хвилі збудження $\lambda=345$ нм ($\Delta\lambda \leq 8$ нм), тоді як положення максимуму емісії залишається незмінним.

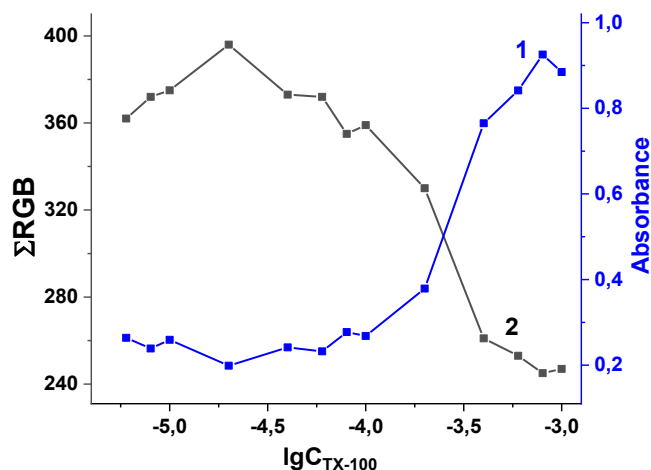


Рис. 5.5. Спектрофотометричний (1) та кольориметричний (2) сигнали СВВГ від концентрації TX-100 в розчині. $C_{\text{СВВГ}}=2,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $\text{pH}=1,0$, $\lambda=640$ нм

Також простежили залежність кольориметричного сигналу розчинів СВВГ-TX-100 від концентрації НПАР (крива 2, рис.5.5). Незначне підвищення кольориметричного сигналу системи спостерігали при доміцелярних концентраціях TX-100. Максимальне зростання сигналу реєстрували при стехіометричному співвідношенні СВВГ:НПАР=1:1, за концентрації НПАР $2,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л. Різку зміну кольориметричного сигналу розчинів СВВГ-TX-100 реєстрували при концентрації НПАР $>$ ККМ, що викликано процесами міцелоутворення і солубілізації в системі. Залежність кольориметричного сигналу TX-100 від концентрації НПАР дає змогу зареєструвати утворення асоціатів із співвідношенням СВВГ:НПАР = 2:1 та 1:4 .

Загалом, введення TX-100 зменшує каламутність розчинів СВВГ. Найбільшою мірою ефект проявляється у міцелярних розчинах: каламутність розчинів різко зменшується, а розмір присутніх агрегованих частинок зростає. Для НПАР-концентраційних залежностей каламутності фіксували слабо виражені локальні максимуми при мольному співвідношенні СВВГ:TX-100=1:2 та при ККМ.

Вплив спирту та ТХ-100 на інтенсивність кольориметричного сигналу системи є практично однаковий. При введенні навіть малих добавок спирту $> 2\%$ (vol). каламутність розчинів СВВГ не реєструється, тоді як ТХ-100 усуває каламутність лише за міцелярних концентрацій ($C_{\text{ТХ-100}} > 4,0 \cdot 10^{-4}$ моль/л). Тому доцільно було розглянути сумісний вплив спирту та НПАР на властивості системи. Показано, що додавання ТХ-100 до спиртових розчинів СВВГ призводить до додаткового збільшення поглинання розчинів [159], а кольориметричний сигнал водно-спиртових розчинів СВВГ-ТХ-100 – зменшується. Така залежність характеризується локальним максимумом в області ККМ. За міцелярних концентрацій ТХ-100 каламутність спиртового розчину барвника не реєструється.

5.2. Вплив катіонної ПАР на сигнал Coomassie Brilliant Blue G

Катіонні ПАР є модифікаторами аналітичного сигналу реагентів у методах молекулярної спектроскопії і, одночасно, актуальними об'єктами аналізу. Введення цетилпіридиній хлориду у розчини СВВГ призводить до зміни характеру спектрів поглинання у широкому інтервалі рН. Спектрофотометричне визначення КПАР з СВВГ у двокомпонентних розчинах можна проводити у кислих (рН \approx 1,0) та лужних (рН 9,0-12,0) розчинах. Наявність двох інтервалів кислотності для визначення ЦПХ пояснюється реалізацією декількох кольорових переходів барвника. Примітно, що знайдені значення рН потрапляють у межі інтервалів $pK_a \pm 1,0$, що забезпечує найбільш різку зміну кольору розчинів барвників та самого СВВГ. З практичних міркувань проведення визначення КПАР у лужних розчинах є незручним і часто ускладнене процесами гідролізу. Тому у роботі більш детально дослідили асоціацію реагенту з КПАР саме для рН $\approx 1,0$. У таких системах при додаванні ЦПХ до водного розчину СВВГ інтенсивність поглинання у довгохвильовій ділянці ($\lambda=620$ нм) збільшується при одночасному гіпсохромному зсуві максимуму (рис.5.6).

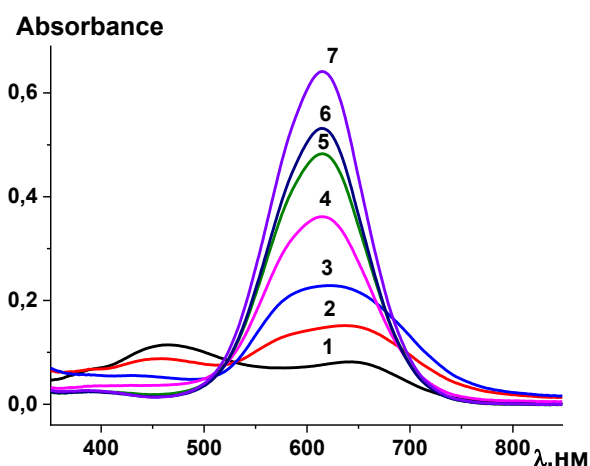


Рис. 5.6. Спектри поглинання розчинів СВВГ-ЦПХ. $C_{\text{СВВГ}} = 2 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $C_{\text{ЦПХ}} = 0$ (1), $1,0 \cdot 10^{-5}$ (2), $2,0 \cdot 10^{-5}$ (3), $4,0 \cdot 10^{-5}$ (4), $6,0 \cdot 10^{-5}$ (5), $1,0 \cdot 10^{-4}$ (6), $2,0 \cdot 10^{-4}$ (7) моль/л; $\text{pH} = 1,0$, $\ell = 1,0$ см

Розраховували флуоресцентний сигнал ЦПХ при взаємодії із СВВГ (рис. 5.7.). При збільшенні концентрації КПАР інтенсивність випромінювання зростає з появою характерних змін при $C_{\text{ЦПХ}} = C_{\text{СВВГ}}$.

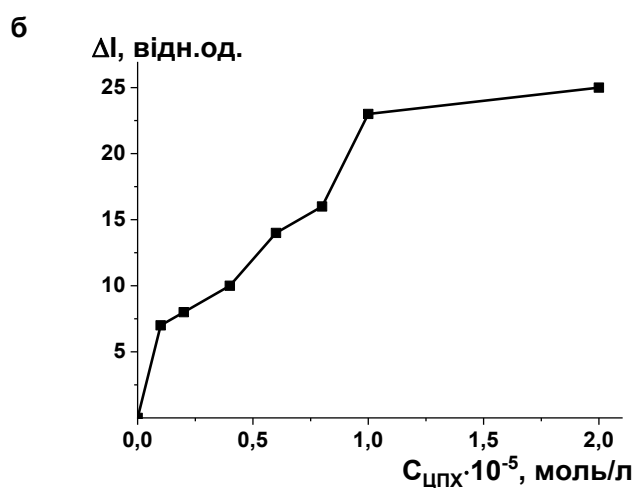


Рис. 5.7. Флуоресцентний сигнал ЦПХ у реакції з СВВГ залежно від концентрації катіонної ПАР. $C_{\text{СВВГ}} = 1,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $w_{\text{EtOH}} = 10\%$, $\text{pH} = 1,0$, $\lambda_{\text{ex}} = 345$ нм, $\lambda_{\text{em}} = 460$ нм, $\ell = 1,0$ см

Катіонні ПАР та протеїни у кислих розчинах утворюють асоціати з аніоном барвника. Утворення таких асоціатів відбувається за рахунок гідрофобного

зв'язування, підсиленого електростатичними взаємодіями частинок протилежного заряду. КПАР здатні також до заміщення протону гетероатому у відповідних формах СВВГ і, як наслідок, – їх перерозподілу. Такі реакції при рН розчину \approx рК є високо контрастними і складають основу використання реагенту в кольорометрії. Примітно, що при рН=1,0 сульфогрупи реагенту є дисоційованими і асоціація «перших» катіонів ПАР реалізується саме за цими групами. Асоціація КПАР за сульфогрупами слабо впливає на систему π -супряжених зв'язків реагенту й характер його спектрів поглинання. Використання здатності КПАР впливати на умовне значення рК реагенту через депротонування при побудові кольорометричних методик є більш доцільним. Шляхом аналізу кривих насичення в координатах $(A_{\max}, \lambda_{\max})=f(C_{\text{СВВГ:ЦПХ}})$ зафіксували утворення асоціатів із співвідношенням компонентів СВВГ:ЦП = 2:1, 1:1, 1:2 та 1:3. Логічно припустити приєднання перших двох катіонів ЦП за сульфогрупами реагенту з утворенням частинки $(\text{HL}^-) \cdot (\text{КПАР}^+)_2$. Приєднання наступного катіону ЦП зумовлено заміщенням протону гетероатому з утворенням частинки $(\text{L}^-) \cdot (\text{КПАР}^+)_3$ (додаток В).

Максимальну каламутність розчинів спостерігали при співвідношенні компонентів СВВГ:ЦП=1:1, а при подальшому збільшенні концентрації КПАР каламутність зменшується (крива 1, рис.5.8). При цьому, аналогічно розчинам СВВГ, зміни каламутності і фактору розсіювання є симбатними. При молярному співвідношенні СВВГ:ЦП=1:1 реєстрували максимальне значення Fr і, відповідно, найменший розмір присутніх у розчині агрегованих частинок.

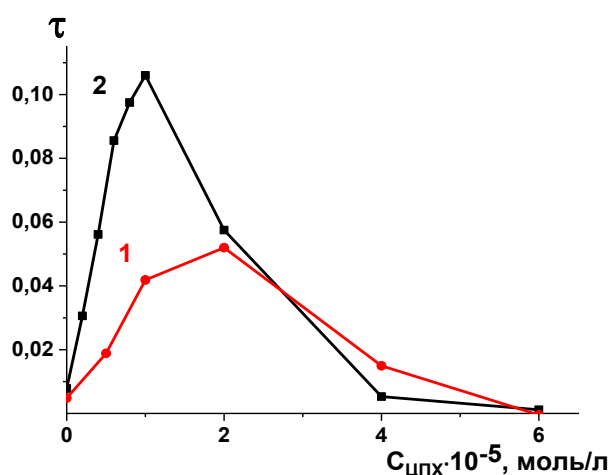


Рис. 5.8. Каламутність водних розчинів СВВГ-ЦПХ від концентрації КПАР за відсутності (1) та у присутності ТХ-100 (2). $C_{\text{СВВГ}} = 2,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $C_{\text{ТХ-100}} = 1,0 \cdot 10^{-4}$ моль/л (2), $\text{pH}=1,0$, $\lambda=800$ нм, $\ell=1,0$ см

У роботі відстежили вплив довжини вуглеводневого радикалу катіонів алкілпіридиніїв на характер процесів асоціації в розчинах реагенту. Показали, що менш гідрофобні КПАР з $n=10-12$ на характер спектрів поглинання впливають мало. Для більш гідрофобних катіонів встановлено збільшення поглинання розчинів СВВГ-КПАР зі збільшенням довжини вуглеводневого радикалу КПАР (крива 1, рис.5.9). Вплив найбільш гідрофобного довголанцюгового КПАР з $n=18$ на поглинання максимуму при λ 640 нм аналогічний дії ЦПХ і ускладнений агрегацією розчинів. Примітно, що для розчинів коротколанцюгових КПАР з $n=10-12$ збільшення поглинання при λ 640 нм не супроводжується зменшенням поглинання максимуму при λ 460 нм і відповідна ізобестична точка в спектрах поглинання за різної концентрації КПАР не появляється. Це свідчить, що такі «коротколанцюгові» КПАР не здатні до заміщення протону гетероатому. Приєднання КПАР з $n=10-12$ при асоціації з СВВГ здійснюється переважно до сульфогруп реагенту, що підтверджувалось складом утворюваних в умовах експерименту асоціатів СВВГ:ЦП=1:2. Більш гідрофобні катіони ПАР з $n=14-16$ за цих умов ($\text{pH}=1$) вже здатні до такого заміщення протону.

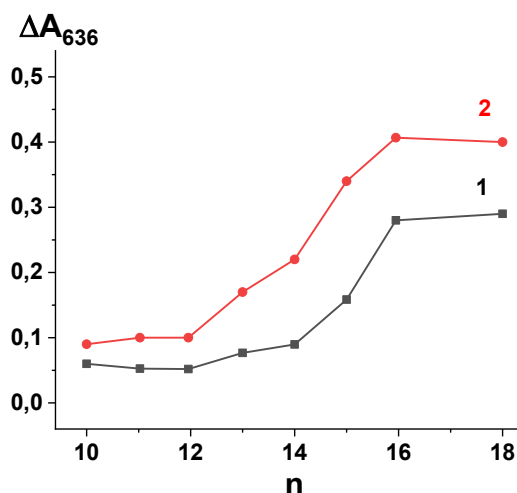


Рис. 5.9. Поглинання розчинів асоціатів СВВГ-КПАР від числа атомів вуглецю в радикалі алкілпіридиніїв за відсутності (1) та у присутності ТХ-100 (2). $C_{\text{СВВГ}}=2,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $C_{\text{КПАР}}=4,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $C_{\text{НПАР}}=2,0 \cdot 10^{-4}$ моль/л, рН=1,0, $\lambda=636$ нм

Примітно, що найбільшу каламутність розчинів реєстрували для КПАР із помірною величиною вуглеводневого радикалу, а довголанцюгові КПАР здатні до часткової стабілізації колоїдно-хімічного стану розчинів асоціатів. При цьому взаємна залежність показників τ та F_r підтверджується найбільшими значеннями F_r і, відповідно, найменшими розмірами присутніх у розчинах частинок асоціатів КПАР із середньою довжиною вуглеводневого радикалу. Примітно, що залежності $\tau_{800}=f(C_{\text{КПАР}})$ та $F_r=f(C_{\text{КПАР}})$ характеризуються екстремумами, що відповідають стехіометричним співвідношенням СВВГ:КПАР=2:1 та 1:2. Для більш гідрофобних КПАР з $n>15$ відповідні концентраційні залежності проходять через максимум при співвідношенні концентрацій СВВГ:КПАР = 1:1 (додаток В).

5.2.1. Вплив Triton X-100 на систему Coomassie Brilliant Blue G – катіонна ПАР

Неіонні ПАР є зручними при створенні організованих розчинів для проведення аналітичних реакцій. Неіонні ПАР не блокують функціональні угруповання реагентів. При цьому, за рахунок асоціації реагентів з аналітом у доміцелярних розчинах НПАР, та внаслідок сольубілізації компонентів у

міцелярних розчинах НПАР, відбувається загальне покращення метрологічних параметрів аналітичної системи.

У роботі дослідили вплив доміцелярних та міцелярних концентрацій ТХ-100 на характер спектрів поглинання розчинів асоціатів у системі СВВГ-ЦПХ. Добавка НПАР збільшує інтенсивність максимуму поглинання у довгохвильовій ділянці ($\lambda=615$ нм) при невеликому батохромному зсуві його положення. При цьому залежність сигналу ЦПХ від концентрації НПАР характеризується наявністю максимуму в області ККМ ТХ-100. При подальшому збільшенні концентрації ТХ-100 аналітичний сигнал КПАР зменшувався внаслідок солюбілізації як асоціату СВВГ-ЦПХ так і самого реагенту.

Аналогічно простежили залежність кольориметричного сигналу ЦПХ від концентрації НПАР та визначили оптимальну концентрацію ТХ-100 для проведення визначень ЦПХ (рис.5.10). Показали, що в умовах експерименту, максимальний кольориметричний сигнал ЦПХ реєструється при $C_{\text{ТХ-100}}=2,0 \cdot 10^{-4}$ моль/л, що відповідає ККМ неіонної ПАР.

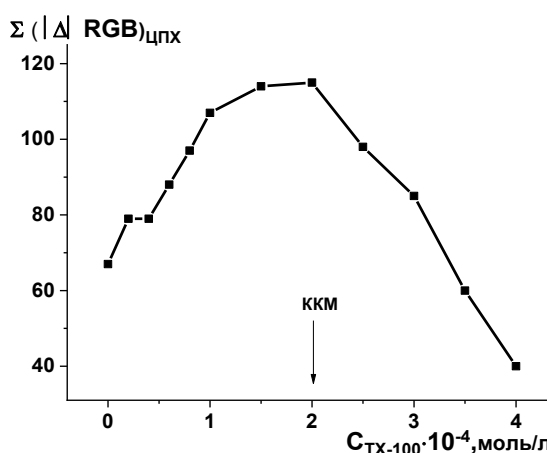


Рис.5.10. Кольориметричний сигнал ЦПХ в реакції з СВВГ від концентрації НПАР у розчині. $C_{\text{СВВГ}} = 2,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $C_{\text{ЦПХ}} = 6,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $w_{\text{EtOH}} = 10\%$, $\rho\text{H}=1,0$; $l=1,0$ см

Загалом введення НПАР зменшує каламутність розчинів, однак в області ККМ цей показник збільшується і відповідна концентраційна залежність

проходить через максимум при $C_{\text{TX-100}}=2,0 \cdot 10^{-4}$ моль/л. Примітно, що крім ККМ, залежності $\tau_{800} = f(C_{\text{TX-100}})$ та $F_r = f(C_{\text{TX-100}})$ дають змогу зареєструвати утворення у системі асоціатів із співвідношенням компонентів СВВГ·ЦП₂·НПАР та СВВГ·ЦП₂·НПАР₂. Примітно, що у присутності TX-100 змінюється склад і співвідношення компонентів СВВГ-ЦПХ для найбільш гідрофобних асоціатів. Так максимальну каламутність водних розчинів СВВГ-ЦПХ спостерігали для асоціатів складу СВВГ:ЦП=1:1, а у розчинах НПАР для асоціатів із співвідношенням СВВГ:ЦП=2:1 (крива 2, рис.5.8).

У роботі вплив неіонної TX-100 на аналітичний сигнал катіонної ЦПХ в реакції з СВВГ порівняли із впливом спирту. Виявили, що із збільшенням вмісту EtOH, кольориметричний та спектрофотометричний сигнали КПАР загалом зменшуються. Цей ефект пояснюється зменшенням внеску гідрофобних взаємодій в утворення асоціатів СВВГ-ЦПХ при зменшенні полярності водно-спиртового середовища. Тому для визначення ЦПХ у водно-етанольному середовищі рекомендується використовувати помірні кількості EtOH ($w_{\text{EtOH}} = 5-10\%$) при концентрації НПАР $(1,0-1,5) \cdot 10^{-4}$ моль/л.

Відстежили вплив довжини вуглеводневого радикалу КПАР на характер процесів асоціації у розчинах СВВГ у присутності НПАР. Показано, що для всіх досліджених КПАР введення TX-100 збільшує поглинання асоціатів (крива 2, рис.5.9). Однак, контрастність реакції СВВГ з гідрофобними КПАР у присутності НПАР зменшується ($\Delta\lambda = 30$ нм для водних розчинів і $\Delta\lambda = 8$ нм в присутності $2,0 \cdot 10^{-4}$ моль/л TX-100).

В умовах експерименту (рН=1) введення КПАР у розчини СВВГ, незалежно від довжини радикалу КПАР, збільшує поглинання у довгохвильовій ділянці при одночасному зменшенні поглинання поблизу максимуму 460 нм і супроводжується наявністю відповідної ізобестичної точки в спектрах поглинання. Це свідчить, що у присутності НПАР навіть помірно гідрофобні КПАР з $n=10-12$ здатні до заміщення протону гетероатому і перерозподілу відповідних форм реагенту.

У присутності НПАР каламутність розчинів СВВГ–КПАР зменшується для всіх досліджених КПАР незалежно від їх гідрофобності. Збільшення розміру присутніх у розчинах ТХ-100 агрегатів СВВГ-КПАР також є універсальним і простежується для всіх КПАР.

5.3. Розчини Coomassie Brilliant Blue G – альбумін

Coomassie Brilliant Blue G широко використовують як аналітичний реагент для визначення білка. Підвищена вибірковість визначення зумовлена супрамолекулярною відповідністю реагенту та аналіту. Підвищена контрастність зумовлена здатністю білка заміщувати два протони в реакції з СВВГ з відповідною зміною форми реагенту. Барвник специфічно взаємодіє з основними амінокислотами білків. Структура трифеніламіну в молекулі СВВГ може взаємодіяти з амінокислотними залишками аргініну, лізину, гістидину, тирозину, триптофану та фенілаланіну. Зв'язування барвника при кількісному визначенні залежить від основного вмісту амінокислот, який може відрізнитися між білками. Це зумовлює актуальність питання стандартної речовини при побудові градууювальних залежностей при визначенні білків.

При додаванні бичачого сироваткового альбуміну до розчину СВВГ спостерігається гіперхромний ефект у довгохвильовій ділянці спектра поглинання ($\lambda=640$ нм) при одночасному гіпсохромному зсуві максимуму (рис.5.11). Інтенсивність флуоресцентного сигналу, в залежності від вмісту БСА, також зростає.

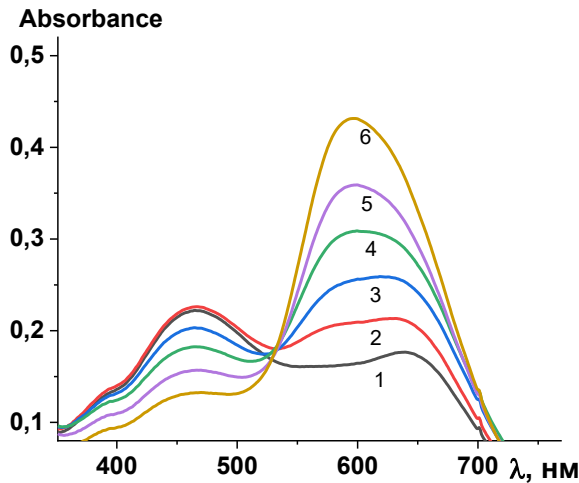


Рис. 5.11. Спектри поглинання водних розчинів СВВГ-БСА. $C_{\text{СВВГ}}=2,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $C_{\text{БСА}}$ (мг/л): 0 (1), 2 (2), 4 (3), 8 (4), 12 (5), 20 (6); $\text{pH}=1,0$, $\ell=1,0$ см

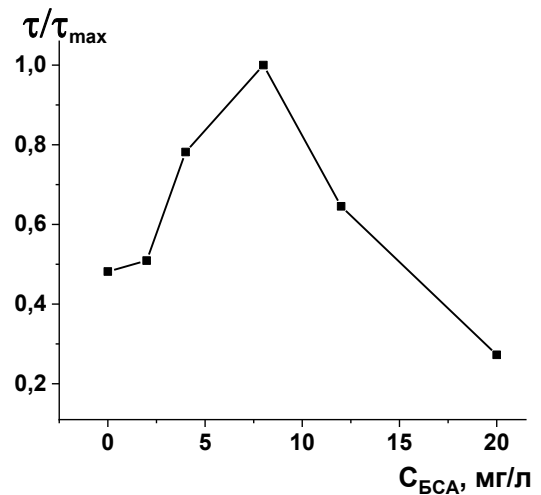


Рис. 5.12. Нормована каламутність водних розчинів СВВГ-БСА від концентрації БСА. $C_{\text{СВВГ}}=2,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $\ell=1,0$ см, $\text{pH}=1,0$

Білок з Coomassie Brilliant Blue взаємодіє в широкому інтервалі кислотності. Разом з цим, максимальний спектрофотометричний сигнал білку реєструється в кислих розчинах при $\text{pH}=1$. Білки при цьому стабілізують синю аніонну форму барвника ($\lambda_{\text{max}}=595$ нм). Стійкі асоціати СВВГ з амінокислотними залишками БСА утворюються завдяки водневим зв'язкам, силам Ван-дер-Ваальса та гідрофобним взаємодіям. Разом з цим, отримані градувальні залежності спектрофотометричного визначення БСА з СВВГ ($\lambda=595$ нм) показали певну не лінійність. Не лінійність ГГ може бути спричинена співіснуванням катіонної, нейтральної та аніонної форм СВВГ, зменшенням доступності вільного барвника зі збільшенням концентрації білка. Сильним чинником впливу виступає також агрегація аналітичної форми (рис.5.12). Колоїдна агрегація чинить негативний вплив на стабільність системи і показник відтворюваності при визначенні білка: контроль часу є необхідним.

Аналогічно спектрофотометрії, дослідили залежність кольориметричного сигналу розчинів СВВГ-БСА від концентрації альбуміну (рис.5.13). Аналіз отриманих кольориметричних залежностей $\text{RGB}=f(C_{\text{БСА}})$ показав, що при

збільшені вмісту БСА зміна величини R- та В- каналів є протилежно направленою. При цьому червоний канал є більш чутливим до зміни концентрації білка. При концентрації БСА >12 мг/л сигнал R -, G- та В- каналів виходить на «плато». Така «поведінка» кольорометричного сигналу узгоджується з результатами спектрофотометричних вимірювань.

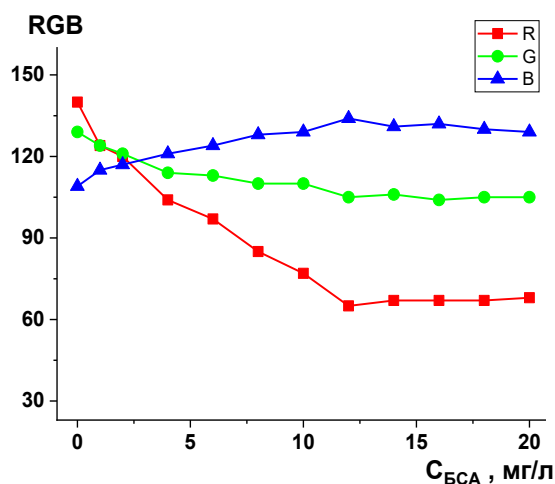


Рис. 5.13. Кольорометричний сигнал водних розчинів СВВГ-БСА. $C_{\text{СВВГ}}=2,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л, pH=1,0

Вплив етанолу на сигнали альбуміну в реакції з СВВГ. Дослідили вплив спирту на колоїдно-хімічний стан розчинів СВВГ–БСА та на інтенсивність спектрофотометричного, флуоресцентного та кольорометричного сигналів БСА. Колоїдно-хімічний стан розчинів безпосередньо впливає на відтворюваність аналітичного сигналу. Показали, що навіть невеликі концентрації спирту $\leq 10\%$ (vol.) зменшують каламутність розчинів СВВГ-БСА, а при вмісту етанолу $>20\%$ (vol.) - ефект суттєво підсилюється. Однак додавання спирту до 30% (vol.) не призводить до повного зникнення каламутності.

Досліджена у роботі аналітична форма являє собою асоціат СВВГ з білком, стійкість якого зумовлена електростатичними та гідрофобними взаємодіями. Останні проявляють максимальний ефект в полярних середовищах, зокрема у водних розчинах. Логічно, що введення органічних розчинників загалом зменшує поглинання асоціатів. Однак сигнал БСА підсилюється на 30-40% при вмісті

спирту 2-7% (vol.). При вмісті спирту $> 10\%$ (vol.) сигнал БСА зменшується, а при $w(\text{EtOH})=22-27\%$ (vol.) сигнал білку взагалі не реєструється.

Аналогічно спектрофотометричному сигналу, кольориметричний та флуоресцентний сигнали білка підвищуються лише до $w(\text{EtOH})=7,5\%$ (vol.), подальше збільшення вмісту спирту призводить до зниження інтенсивності сигналу альбуміну (рис.5.14).

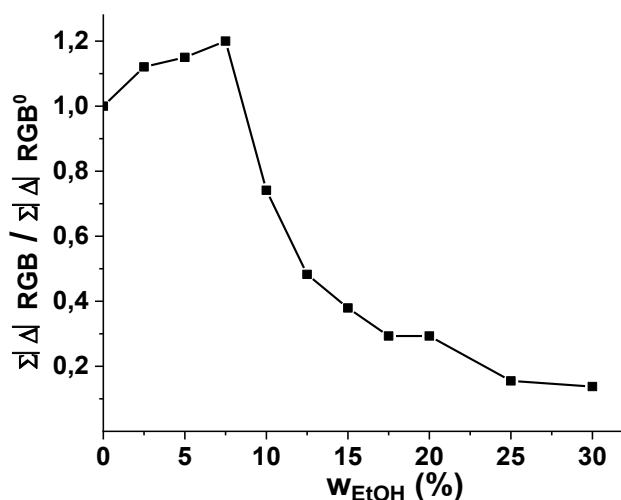


Рис. 5.14. Вплив етанолу на кольориметричний сигнал БСА в реакції з Coomassie Brilliant Blue. $C_{\text{CBVG}}=2,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $C_{\text{БСА}}=5$ мг/л, $\text{pH}=1,0$

Отже, добавка спирту 2,5-7,5% є доцільною при побудові кольориметричних систем визначення білка з СВВГ для зменшення каламутності розчинів.

5.3.1. Аналітичний сигнал альбуміну з Coomassie Brilliant Blue G у розчинах неіонної ПАР

Дослідили вплив доміцелярних та міцелярних концентрацій TX-100 на аналітичний сигнал білку в реакції з Coomassie Brilliant Blue спектрофотометричним, флуоресцентним та кольориметричним методами. Поглинання системи у довгохвильовій ділянці ($\lambda=620$ нм) зростає при доміцелярних концентраціях неіонної ПАР з невеликим батохромний зсувом положення максимуму ($\Delta\lambda_{\text{max}}=11$ нм), рис.5.15. При концентрації TX-100 $>$ ККМ реєстрували триразове збільшення поглинання розчинів СВВГ-БСА. Аналогічна

тенденція впливу НПАР спостерігається і для кольориметричного та флуоресцентного сигналів: за доміцелярних концентрацій TX-100 кольориметричний сигнал білка підвищується, тоді як у міцелярних розчинах його інтенсивність зменшується. Неіонна ПАР при концентрації більше ККМ не підвищує сигнал білка, оскільки солюбілізація нівелює різницю полярності мікрооточення реагенту і аналітичної форми. Максимальні значення кольориметричного та флуоресцентного сигналів білка у реакції з Coomassie Brilliant Blue G реєструються в інтервалі концентрацій TX-100 $(2,0-6,0) \cdot 10^{-5}$ моль/л. Залежність аналітичного сигналу БСА від концентрації неіонної ПАР характеризується наявністю локальних максимумів при стехіометричних співвідношеннях СВВГ:TX-100 =1:1, 3:1 та в області ККМ TX-100; локальні максимуми інтенсивності флуоресценції спостерігали при стехіометричних співвідношеннях СВВГ:НПАР= 1:1 або 1:2.

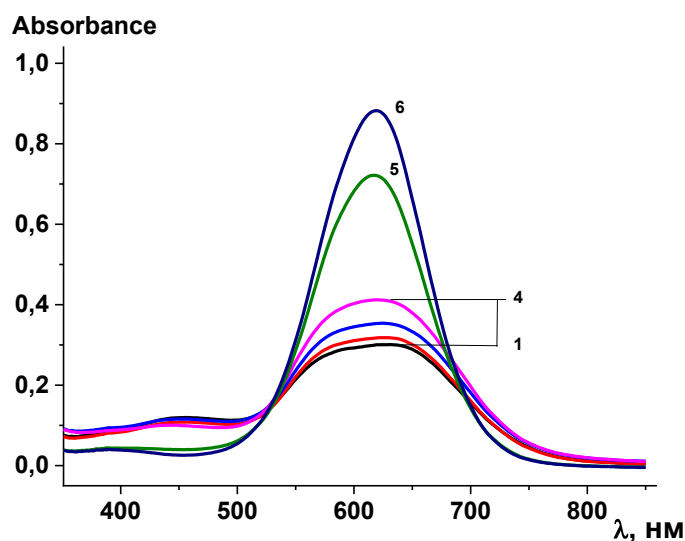


Рис. 5.15. Спектри поглинання водних розчинів СВВГ-БСА-TX-100. $C_{\text{СВВГ}}=2,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $C_{\text{БСА}}=5$ мг/л, $C_{\text{TX-100}}$ (моль/л): $6,0 \cdot 10^{-6}$ (1), $1,0 \cdot 10^{-5}$ (2), $1,0 \cdot 10^{-4}$ (3), $2,0 \cdot 10^{-4}$ (4), $4,0 \cdot 10^{-4}$ (5), $1,0 \cdot 10^{-3}$ (6), pH=1,0; l=1 см

За конентрації TX-100, оптимальної з точки зору впливу на величину сигналу, неіонна ПАР ще не усуває каламутність, тоді як у міцелярних розчинах

каламутність зникає (рис. 5.16). Тому у подальшій роботі при створенні умов кольориметричного визначення білка використовували добавку спирту.

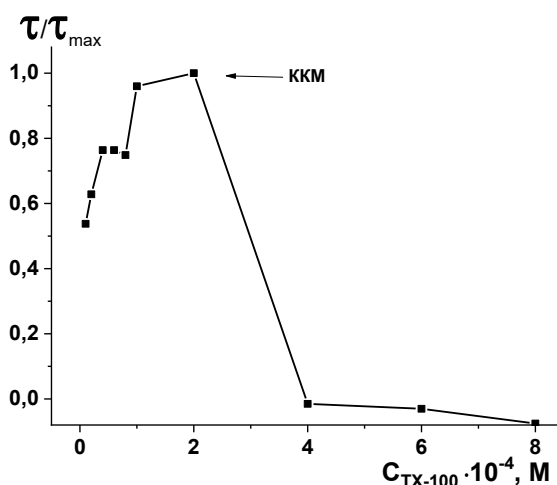


Рис. 5.16. Нормована каламутність розчинів СВВГ-БСА-ТХ-100 від концентрації НПАР. $C_{\text{СВВГ}}=2 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $C_{\text{БСА}}=5$ мг/л, $\lambda = 800$ нм, $\text{pH}=1$, $l=1$ см

Кольориметричний сигнал системи зі спиртом є більш стабільним у часі, що пов'язано зі стабілізацією колоїдно-хімічного стану. За сумісної дії етанолу та НПАР спостерігали додаткове зменшення каламутності у доміцелярних розчинах НПАР. Залежність каламутності водних та водно-спиртових розчинів СВВГ-БСА при додаванні НПАР має універсальний характер та характеризується наявністю максимумів. Зазвичай максимум каламутності в таких розчинах реєструється при $C_{\text{НПАР}} \approx \text{ККМ}$. Разом з цим, локальні максимуми каламутності розчинів реєстрували при стехіометричних співвідношеннях компонентів СВВГ:НПАР = 1:1, 2:1 або 3:1. Важливо, що максимальний кольориметричний сигнал білку в реакції з СВВГ також спостерігали при ККМ НПАР для спиртового розчину. Сумісна присутність НПАР і спирту призводить до додаткового збільшення інтенсивності аналітичного сигналу та стабілізації системи.

Вплив НПАР різних типів на сигнал білку в реакції СВВГ. Дослідили вплив природи неіонних поверхнево-активних речовин на кольориметричний та флуоресцентний сигнал бичачого сироваткового альбуміну в реакції з Coomassie Brilliant Blue G. У

роботі використовували поліоксиетильовані алкілфеноли різного ступеня оксиетильовання, поліоксиетиленовий сорбітан монолаурат і високомолекулярні ПАР.

Серед досліджених неіонних ПАР вплив добавок ТХ-305 (ступінь оксиетильовання $m \approx 30$) на кольориметричний сигнал білка в реакції з СВВГ виявився найбільшим. Добавки ТХ-305 підвищують сигнал білка в широкому інтервалі концентрацій НПАР $(0,1-2,0) \cdot 10^{-4}$ моль/л (крива 1, рис.5.17). В діапазоні доміцелярних концентрацій ТХ-305 кольориметричний сигнал БСА підвищується на $> 60\%$; максимальний сигнал білка реєструється в області ККМ.

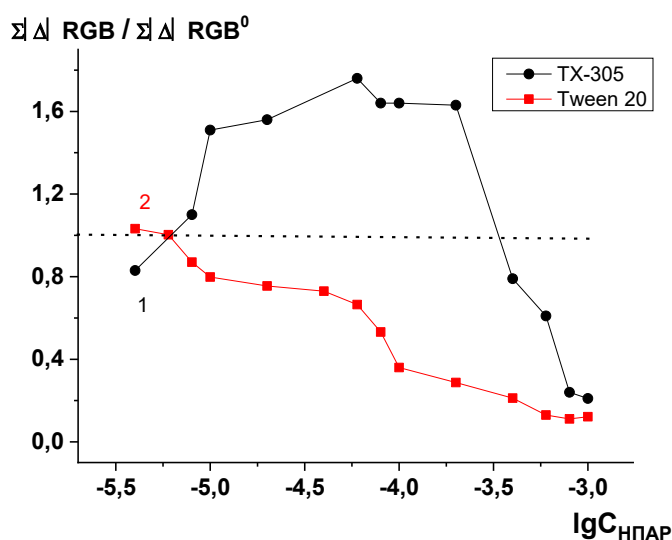


Рис. 5.17. Нормований кольориметричний $\Sigma \Delta \text{RGB}$ -сигнал альбуміну в реакції з СВВГ від концентрації ТХ-305 (1) та Tween 20 (2). $C_{\text{СВВГ}} = 2,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $C_{\text{БСА}} = 5$ мг/л, $w(\text{EtOH}) = 5\%$ (vol.), $\text{pH} = 1,0$

Модифікуюча дія препаратів групи Tween та високомолекулярних ПЕГів на сигнал БСА виявилась менш продуктивною. Витягнутий вуглеводневий радикал, який виконує роль «якоря» при гідрофобній асоціації з Coomassie Brilliant Blue, в молекулі Tween 20 відсутній. Сигнал БСА зменшується у всьому дослідженому діапазоні концентрацій Tween 20 (крива 2, рис.5.17). Поліетиленгликолі (ПЕГ-115, ПЕГ-6000) не містять у своєму складі гідрофобного фрагменту - «якір» гідрофобної асоціації відсутній. Крім цього, ПЕГи на формують класичних міцел у розчинах і не здатні до солюбілізації субстратів. Як наслідок, ПЕГи слабо впливали на

каламутність розчинів СВВГ-БСА, і кольорометричний сигнал БСА не підвищували. Разом з цим, ПЕГ-6000 у концентрованих розчинах ($w \leq 7\%$ (vol)) здатний зменшувати каламутність розчинів СВВГ–БСА.

Аналогічно кольорометричному сигналу, інтенсивність флуоресцентного сигналу БСА підвищується у розчині СВВГ-ТХ-305-ЕтОН при ККМ неіонної ПАР. При цьому добавки Tween 20 зменшували сигнал БСА в усьому дослідженому інтервалі концентрацій НПАР. Добавки ПЕГів флуоресцентний сигнал БСА також не підвищували [160].

Отже, найкращий НПАР-модифікатор для гідрофобного Coomassie Brilliant Blue та його аналітичних форм з білком має відповідати певним критеріям. Як модифікатор доцільно використовувати НПАР, молекула яких має витягнутий вуглеводневий радикал у поєднанні з достатньою довжиною поліоксиетиленового ланцюга. Аліфатичний нерозгалужений радикал виконує функцію гідрофобного «якоря», що забезпечує можливість «прив'язки» молекули НПАР до аналітичної форми. Довгий поліоксиетиленовий фрагмент НПАР, у свою чергу, забезпечує стабільність аналітичної форми у розчині, зокрема, в колоїдно-хімічному аспекті. Серед досліджених НПАР добавки ТХ-305 виявилась найбільш ефективними: молекула ТХ-305 має більшу кількість поліоксиетиленових фрагментів. Оптимальна концентрація ТХ-305 для кольорометричного визначення білку близька до ККМ. При цьому сумісне використання неіонної ПАР ТХ-305 і етанолу є доречним.

5.4. Оптимізовані реагентні системи Coomassie Brilliant Blue G для визначення іонних ПАР та білків

У розділі 5.4 наведено результати апробації раціонально сформованих реагентних систем з Coomassie Brilliant Blue G для кольорометричного визначення органічних сполук іонної природи. Запропоновано умови смарт-кольорометричного визначення іонних поверхнево-активних речовин у системах, що

містять неіонні ПАР як модифікатори. Проведено перевірку прецизійності запропонованих методик при аналізі реальних об'єктів.

Смарт-кольорометричне визначення іонних ПАР з СВВГ у присутності Triton X-100. Іонні поверхнево-активні речовини є актуальним об'єктом аналізу через їх широке використання у багатьох галузях промисловості. Вони входять до складу миючих, косметичних та лікарських засобів, а також можуть потрапляти у водойми внаслідок антропогенної діяльності. Кількісне визначення катіонних ПАР є важливим для забезпечення контролю якості різноманітної продукції та при моніторингу стану навколишнього середовища.

На основі результатів досліджень, наведених у розділі 5.2, розроблено умови смарт-кольорометричного визначення іонних ПАР з Coomassie Brilliant Blue у розчинах неіонної ПАР Triton X-100. Сумісна присутність НПАР та розчинника забезпечують оптимальні метрологічні характеристики аналітичної процедури. Кольорометричне визначення катіонних ПАР з СВВГ рекомендовано проводити у кислому (рН=1,0) водно-етанольному середовищі ($w_{\text{EtOH}}=5-10\%$) при концентрації ТХ-100 $(1,0-1,5) \cdot 10^{-4}$ моль/л. При визначенні КПАР в кольорових матрицях доцільно використовувати метод добавок.

Смарт-кольорометричне визначення ЦПХ у системі СВВГ - Triton X-100. У калібровані пробірки об'ємом 10,0 мл, що містили відповідний об'єм водно-етанольного розчину СВВГ та розчин ТХ-100 вносили різний об'єм розчину ЦПХ. Вміст пробірок доводили до кінцевого об'єму, перемішували та встановлювали рН 1,0. Для проведення кольорометричного визначення ЦПХ 5,0 мл аналізованого розчину переносили в чашку Петрі та поміщали у фотобокс. Інтервал лінійності градуовальної залежності смарт-кольорометричного визначення цетилпіридій хлориду $(1,8-21,5)$ мг/л; $\sum|\Delta|RGB_{\text{ЦПХ}} = (1,7 \pm 4,4) + (5,2 \pm 0,4) \cdot C_{\text{ЦПХ}}$, мг/л; $r=0,99$. Методика була перевірена при смарт-кольорометричному визначенні ЦПХ у модельних розчинах відомого складу і показала задовільну правильність та прийнятно високу чутливість ($LOD=2,5$ мг/л;). Результати перевірки правильності і прецизійності методики наведено у таблиці 5.1.

Таблиця 5.1.

Правильність та прецизійність кольорометричної методики визначення цетилпіридиній хлориду у реакції з СВВГ. $C_{\text{СВВГ}}=2,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $C_{\text{ТХ-100}}=1,0 \cdot 10^{-4}$ моль/л, рН=1, n=5, P=0,95

Введено, мг/л	Intra-day		Inter-day	
	Знайдено, мг/л	RSD	Знайдено, мг/л	RSD
3,0	3,01±0,08	0,024	2,99±0,08	0,023
6,0	6,01±0,08	0,014	6,00±0,08	0,012
12,0	11,9±0,1	0,010	11,9±0,1	0,009

Смарт-кольорометричне визначення ЦПХ в препараті «Септолете Тотал». Розроблені умови були застосовані для визначення вмісту ЦПХ в складі льодяників «Септолете Тотал» («Krka, d.d.», Словенія). Визначення проводили методом добавок. Одна таблетка «Септолете Тотал» містить цетилпіридинію хлориду 1,0 мг, бензидаміну гідрохлориду 3,0 мг та допоміжні речовини. Таблетки «Септолете Тотал» розчиняли в 50,0 мл дистильованої води: відбирали аліквоту і поміщали в пробірку об'ємом 10,0 мл, яка містила розчин СВВГ, ТХ-100 та серію добавок розчину ЦПХ (сумарний діапазон вмісту ЦПХ в кінцевому об'ємі становив 1,7-13,6 мг/л). Вміст пробірок доводили до кінцевого об'єму, перемішували та встановлювали рН 1,0. Для смарт-кольорометричного визначення ЦПХ 5,0 мл аналізованого розчину переносили в чашку Петрі та поміщали у фотобокс.

Дані Таблиці 5.2 підтверджують правильність результатів визначення катіонної ПАР у препараті. Вміст ЦПХ в льодянику, знайдений за розробленою методикою, відповідає вмісту, що задекларований виробником.

Таблиця 5.2

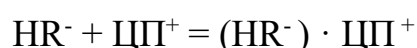
Результати смарт-кольорометричного визначення ЦПХ у льодяниках «Септолете Тотал». $C_{\text{СВВГ}} = 2,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $C_{\text{ТХ-100}} = 1,0 \cdot 10^{-4}$ моль/л, рН=1,0, n=5, P=0,95

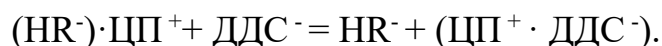
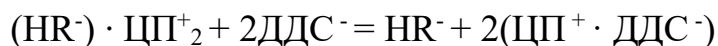
Препарат	Задекларовано виробником, мг	Знайдено за розробленою методикою, мг	RSD
«Септолете Тотал»	$1,0 \pm 0,05^*$	$1,03 \pm 0,03$	0,022

* - значення RSD згідно [150]

Смарт-кольорометричне визначення ЦПХ у системі СВВГ - Triton X-100 у портативному фотобоксі. Запропоновані умови для оцінки вмісту катіонної ПАР було використано для смарт-кольорометричного визначення ЦПХ із використанням портативного варіанту фотобоксу (міні-бокс, розділ 2.2.1). Інтервал лінійності градуовальної залежності кольорометричного визначення цетилпіридій хлориду становив (0,4-3,6) мг/л; $\Delta B_{\text{ЦПХ}} = (-10,5 \pm 1,9) + (22,5 \pm 0,9) \cdot C_{\text{ЦПХ}}$ мг/л; $r=0,994$. Методика характеризується високою чутливістю, $\text{LOD}=0,26$ мг/л. У портативному варіанті визначення межа виявлення ЦПХ становила у 10 раз менша ніж у «звичайному». Правильність отриманих результатів перевіряли методом «введено-знайдено» при аналізі модельних розчинів з відомим вмістом ЦПХ. При вмісті ЦПХ в модельному розчині $6,0 \cdot 10^{-6}$ моль/л, за розробленою методикою знайдено $(5,9 \pm 0,5) \cdot 10^{-6}$ моль/л катіонної ПАР ($\text{RSD}=0,032$).

Смарт-кольорометричне визначення ДДСН в системі СВВГ-ТХ-100-ЦПХ. Здатність аніонних ПАР давати стійкі асоціати з катіонними ПАР, стабілізованих присутньою у розчині неіонною ПАР, було використано для визначення додецилсульфату натрію. Трикомпонентна система СВВГ-ЦПХ-ТХ-100 виступала як реагентна при визначенні аніонної ПАР з вивільненням частинок СВВГ:





Розроблені умови дозволяють проводити чутливе визначення аніонних ПАР з прийнятними метрологічними характеристиками (табл. 5.3).

Таблиця 5.3

Параметри смарт-кольорометричного визначення ДДСН з реагентною системою СВВГ-ЦПХ-ТХ-100.

$$C_{\text{СВВГ}}=2,0 \cdot 10^{-5} \text{ моль/л}, C_{\text{ЦПХ}}=6,0 \cdot 10^{-5} \text{ моль/л}, C_{\text{ТХ-100}}=1,0 \cdot 10^{-4} \text{ моль/л}, \text{pH}=1,0$$

Метод	Лінійність Г.Г., мг/л	Г.Г., мг/л	r	LOD, мг/л
Смарт-кольорометрія	1,4 - 17	$\Sigma \Delta \text{RGB} = (2,9 \pm 3,7) + (4,7 \pm 0,4) \cdot C_{\text{ДДСН}}$	0,990	2,4

Отримані дані показують конкурентоздатність запропонованої методики кольорометричного визначення додецилсульфату натрію по відношенню до методів молекулярної спектроскопії.

Смарт-кольорометричне визначення білка з Coomassie Brilliant Blue G.

Контроль вмісту білка в біологічних рідинах, зокрема у крові та сечі, є важливим для оцінки фізіологічного та патологічного станів. Розробка смарт-кольорометричних методик створює передумови для розробки експресних тест-наборів (розділ 1.4).

Оптимальні умови кольорометричного визначення білка в НПАР-модифікованій реагентній системі СВВГ-ЕтОН встановили дослідженням відповідних концентраційних залежностей: $C_{\text{СВВГ}}=2,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $C_{\text{ТХ-305}}=1,5 \cdot 10^{-4}$ моль/л, $w(\text{ЕтОН})=5\%$ (vol.) [161].

Побудова ГГ смарт-кольорометричного визначення альбуміну в системі СВВГ–ТХ-305-ЕтОН. Відповідний об'єм розчину альбуміну поміщали в пробірки об'ємом 10,0 мл, що містили розчини СВВГ, Triton X-305 та етанол. Вміст пробірок

доводили до кінцевого об'єму 10,0 мл і перемішували, встановлювали рН=1,0 та вимірювали кольориметричний сигнал розчинів. У таблиці 5.4 наведені параметри кольориметричного визначення альбуміну у системі СВВГ–ТХ-305-ЕтОН.

Таблиця 5.4

Параметри смарт-кольориметричного визначення альбуміну.

$$C_{\text{СВВГ}}=2,0 \cdot 10^{-5} \text{ моль/л, } C_{\text{ТХ-305}}=1,5 \cdot 10^{-4} \text{ моль/л, рН=1,0}$$

Білок	ГГ, мг/л	Лінійність ГГ, мг/л	LOD, мг/л
Яєчний альбумін	$\Delta R = (-10,4 \pm 1,2) + (-2,3 \pm 0,1) \cdot C_{\text{альбумін}}$	1,0 - 14,0	1,5
Бичачий сироватковий альбумін	$\Delta R = (-4,2 \pm 0,6) + (-5,7 \pm 0,1) \cdot C_{\text{БСА}}$	1,0 - 8,0	0,3

Показники розробленої методики смарт-кольориметричного визначення білку доречно порівняти з параметрами визначення іншими методами молекулярної спектроскопії. У роботі визначення вмісту білка проводили також методами спектрофотометрії та флуоресцентної спектроскопії в реакції з СВВГ у присутності НПАР. Дані табл.5.5. показують конкурентоспроможність розробленої смарт-кольориметричної методики за чутливістю, у порівнянні із методами спектрофотометрії та флуоресценції.

Таблиця 5.5

Параметри визначення БСА у реакції з Coomassie Brilliant Blue.

$$C_{\text{СВВГ}}=2,0 \cdot 10^{-5} \text{ моль/л, } C_{\text{ТХ-305}}=1,5 \cdot 10^{-4} \text{ моль/л}^*, \text{ рН=1, } n=5, P=0,95$$

Система	Метод	Лінійність ГГ, мг/л	LOD, мг/л
СВВГ-ЕтОН-ТХ-305	смарт-кольориметрія	1,0 – 8,0	0,3
СВВГ-ЕтОН-ТХ-100	спектрофотометрія	1,0 - 8,0	0,51
СВВГ-ЕтОН-ТХ-305	флуоресцентна спектроскопія	1,0 – 14,0	1,1

* - для СФ визначення $C_{\text{ТХ-100}}=8,0 \cdot 10^{-5} \text{ моль/л}$

Запропоновані умови були використані для кольориметричного визначення вмісту альбуміну в сечі.

Визначення вмісту альбуміну в сечі. Відбір проби сечі людини здійснювали у спеціальний медичний контейнер і фільтрували з використанням паперового фільтру («червона стрічка»). Відповідний об'єм проби додавали у пробірки ємністю 10,0 мл, що містили необхідні кількості розчинів Coomassie Brilliant Blue (1,0 мл, $C_{\text{CBVG}}=2,0 \cdot 10^{-4}$ моль/л), неіонної ПАР TX-305 (1,0 мл, $C_{\text{TX-305}}=1,5 \cdot 10^{-3}$ моль/л), EtOH (0,5 мл). Встановлювали рН=1,0 та дистильованою водою доводили до кінцевого об'єму. Вміст пробірок ретельно перемішували. Вимірювання кольориметричного сигналу розчинів проводили за допомогою смартфона у фотобоксі.

Результати смарт-кольориметричного визначення вмісту білку за розробленою методикою наведено у таблиці 5.6. Правильність методики перевіряли арбітражним методом за результатами «Synevo» medical laboratory.

Таблиця 5.6.

Результати смарт-кольориметричного визначення вмісту білка в сечі.

$C_{\text{CBVG}}=2,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $C_{\text{TX-305}}=1,5 \cdot 10^{-4}$ моль/л, $w_{\text{EtOH}}=5\%$ (vol.), рН=1, n=5, P=0,95

Реагентна система	За розробленою методикою		Арбітражний метод*
	Знайдено альбуміну мг/л	RSD	Знайдено альбуміну мг/л
CBVG-EtOH- TX-305	49,3 ± 3,4	0,075	47,0

*- за результатами європейської медичної лабораторії «Synevo»

Отримані результати свідчать про те, що розроблена методика смарт-кольориметричного визначення альбуміну може стати перспективною альтернативою існуючим системам визначення білку у сечі. Зіставлення параметрів розробленої методики з такими, що наведені в огляді літератури (розділ 1.4) підтверджує високу чутливість визначення білку смарт-кольориметричним методом. Методика проста у виконанні, швидка та демонструє задовільну

правильність кольорометричного визначення. Крім того, розроблена методика дозволяє проводити швидкий скринінговий аналіз.

5.5. Висновки до розділу 5

1. Досліджено спектрофотометричний, флуоресцентний та кольорометричний сигнал Coomassie Brilliant Blue G та його асоціатів з катіонними ПАР у водних розчинах і розчинах неіонного ПАР; обговорено склад утворюваних асоціатів.
2. Встановлено хімізм асоціації СВВГ – КПАР залежно від гідрофобності катіона ПАР у водних розчинах. Показано уніфікацію хімізму асоціації КПАР у розчинах неіонної ПАР, що проявляється у здатності до заміщення протона гетероатома та відповідного перерозподілу форм реагенту незалежно від довжини вуглеводневого радикала КПАР.
3. Показано зміну стехіометрії асоціації СВВГ з КПАР у водних розчинах при введенні неіонної ПАР. Встановлена специфіка зміни стехіометрії дозволяє припустити, що у трикомпонентних системах СВВГ–КПАР–НПАР асоціація КПАР з СВВГ здійснюється через молекули НПАР.
4. Показано стабілізацію колоїдно-хімічного стану системи у міцелярних розчинах неіонної ПАР. Специфіка впливу етанолу і НПАР на колоїдні властивості розчинів СВВГ-білок та величину сигналу зумовлюють необхідність їх сумісного використання.
5. Сформульовано вимоги до оптимальних НПАР-модифікаторів реагентних систем на основі СВВГ. Оптимальною є неіонна ПАР, що містить витягнутий вуглеводневий радикал, який виконує функцію "гідрофобного якоря" асоціації, а також довгий поліоксиетиленовий фрагмент для стабілізації розчинів.
6. Розроблено методики смарт-кольорометричного визначення білку, катіонних та аніонних ПАР у НПАР-модифікованих реагентних системах СВВГ з покращеними метрологічними характеристиками. Розроблені експресні смарт-кольорометричні методики конкурентоспроможні в ряду методів молекулярної спектроскопії і можуть слугувати основою для розробки тест-систем.

ВИСНОВКИ

1. Розроблено методологічні основи (оптична схема, характер та тип освітлення, концентрації реагентів) при реєстрації кольориметричного та флуориметричного сигналів у розчинах за допомогою смартфона (смарт-кольориметрія, смарт-флуориметрія). Виявлено підсилення кольориметричного сигналу в розчинах флуоресцентних реагентів при застосуванні УФ-освітлення.
2. Запропоновано новий метод кількісного вимірювання кольору флуоресценції барвників у розчинах з реєстрацією сигналу за допомогою смартфона – смарт-флуориметрія. Показано перспективність і раціональне коло аналітів запропонованого методу аналізу.
3. Показано підсилення кольориметричного та флуориметричного сигналів органічних барвників й реагентів та їх асоціатів з протиіонами ПАР в організованих середовищах на основі неіонних поверхнево-активних речовин.
4. Охарактеризовано вплив природи і концентрації неіонної ПАР на смарт-кольориметричний й смарт-флуориметричний сигнали іонних ПАР та білків у реакції з СВВГ та флуоресцентними реагентами.
5. Розроблено умови смарт-кольориметричного і смарт-флуориметричного визначення аніонного додецилсульфату натрію та катіонного цетилпіридиній хлориду у НПАР-модифікованих системах протиіонів барвників (родамін 6Ж-Tween-20 та флуоресцеїн-TX-100, відповідно). Запропоновано умови чутливого смарт-кольориметричного визначення додецилсульфату натрію з НПАР-модифікованою реагентною системою «бромтимоловий синій-катіонна ПАР».
6. Запропоновано умови смарт-кольориметричного визначення білків з Coomassie Brilliant Blue G у присутності неіонної ПАР. Показано вплив природи і концентрації НПАР, оптимізовано умови їх застосування. Методика характеризується покращеними метрологічними характеристиками і випробувана при визначенні вмісту альбуміну в сечі.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Ciaccheri, L.; Adinolfi, B.; Mencaglia, A.; Mignani, A.G. Smartphone-Enabled Colorimetry. *Sensors*. **2023** *23*, 5559.
2. Kumar, D.; Rub, M.A. Study of Zinc-glycylglycine Complex with Ninhydrin in Aqueous and Cationic Micellar Media: A Spectrophotometric Technique. *Tenside, Surfactants, Deterg.*, **2019**, *56* (4), pp 312–318.
3. Badmus, S. O.; Amusa, H. K.; Oyehan, T. A.; Saleh, T. A. Environmental risks and toxicity of surfactants: overview of analysis, assessment, and remediation techniques. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2021** *28* (44), 62085–62104.
4. Fernandes, G. M.; Silva, W. R.; Barreto, D. N.; Lamarca, R. S.; Lima Gomes, P. C. F.; Petrucci, J. F. S.; Batista, A. D. Novel Approaches for Colorimetric Measurements in Analytical Chemistry: A Review. *Anal. Chim. Acta* **2020**, *1135*, 187–203.
5. Capitán-Vallvey, L. F.; López-Ruiz, N.; Martínez-Olmos, A.; Erenas, M. M.; Palma, A. J. Recent Developments in Computer Vision-Based Analytical Chemistry: A Tutorial Review. *Anal. Chim. Acta* **2015**, *899*, 23–56.
6. Lopez-Molinero, A.; Cubero, V. T.; Irigoyen, R. D.; Piazuolo, D. S. Feasibility of Digital Image Colorimetry: Application for Water Calcium Hardness Determination. *Talanta* **2013**, *103*, 236–244.
7. Fan, Y.; Li, J.; Guo, Y.; Xie, L.; Zhang, G. Digital Image Colorimetry on Smartphone for Chemical Analysis: A Review. *Measurement* **2021**, *171*, 108829.
8. James, H.; Honeychurch, K. C. Digital Image Colorimetry Smartphone Determination of Acetaminophen. *J. Chem. Educ.* **2024**, *101* (1), 187–196.
9. Yarynka, D.; Sergeyeva, T.; Piletska, E.; Linnik, R.; Antonyuk, M.; Brovko, O.; Piletsky, S.; El'skaya, A. Validation of aflatoxin B1 MIP membrane-based smartphone sensor system for real sample applications. *Biopolym. Cell.* **2021**, *37*, 346–356.
10. Maznaya, Y.I.; Zui, O.V. The use of fuchsin basic for determination of bromide-ions in waters by the method of reflection colorimetry. *J. Water Chem. Technol.* **2016**, *38*, 102–105.

11. Kavaliauskas, Ž. Application of RGB Color Analysis and Neural Networks for Preliminary Assessment of Wastewater Pollutant Concentration. *Appl. Sci.* **2025**, *15* (23), 12572.
12. Bao, Y.; Wan, P.; Zhang, C.; Feng, Z.; Luo, J.; Li, K. Advances in Smartphone-Based Colorimetry and Fluorimetry. *ChemPlusChem* **2025**, *90* (8), e202500135.
13. Tessaro, L.; Aquino, A.; Panzenhagen, P.; Joshi, N.; Conte-Junior, C. A. A Systematic Review of the Advancement on Colorimetric Nanobiosensors for SARS-CoV-2 Detection. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2023**, *222*, 115087.
14. Lee, Y.; Haizan, I.; Sim, S. B.; Choi, J.-H. Colorimetric Biosensors: Advancements in Nanomaterials and Cutting-Edge Detection Strategies. *Biosensors* **2025**, *15* (6), 362.
15. Chen, H.; Zhang, Y.; Li, X.; Wu, Y. Smartphone-Based Digital Image Colorimetry for Rapid Detection of Latent Bloodstains in Forensic Analysis. *Forensic Sci. Int.* **2021**, *319*, 110668.
16. Idros, N.; Chu, D. Triple-Indicator-Based Multidimensional Colorimetric Sensing Platform for Heavy Metal Ion Detections. *ACS Sens.* **2018**, *3* (9), 1756–1764.
17. Wang, Y.; Zeinhom, M. M. A.; Yang, M.; Sun, R.; Wang, S.; Smith, J. N.; Timchalk, C.; Li, L.; Lin, Y.; Du, D. A 3D-Printed, Portable, Optical-Sensing Platform for Smartphones Capable of Detecting the Herbicide 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid. *Anal. Chem.* **2017**, *89* (17), 9339–9346.
18. Mirhosseini, S.; Nasiri, A. F.; Khatami, F.; Mirzaei, A.; Aghamir, S. M. K.; Kolahdouz, M. A Digital Image Colorimetry System Based on Smart Devices for Immediate and Simultaneous Determination of Enzyme-Linked Immunosorbent Assays. *Sci. Rep.* **2024**, *14*, 2587.
19. Wongthanyakram, J.; Masawat, P. Rapid Low-Cost Determination of Lead(II) in Cassava by an iPod-Based Digital Imaging Colorimeter. *Anal. Lett.* **2019**, *52* (3), 550–561.
20. Pohanka, M.; Zakova, J.; Sedlacek, I. Digital Camera-Based Lipase Biosensor for the Determination of Paraoxon. *Sens. Actuators B Chem.* **2018**, *273*, 610–615.

21. Kumar, A.; Bera, A.; Kumar, S. A Smartphone-Assisted Sensitive, Selective, and Reversible Recognition of Copper Ions in an Aqueous Medium. *ChemistrySelect* **2020**, 5 (3), 1020–1028.
22. Кольорометрія в дослідженні кислотно-основних рівноваг у розчинах поліфункціональних органічних сполук : монографія. / О. М. Чеботарьов, Д. В. Снігур. – Одеса : Одес. нац. ун-т ім. І. І. Мечникова, **2020**. – 122 с.
23. de Carvalho Oliveira, G.; Machado, C. C. S.; Inácio, D. K.; Silveira Petrucí, J. F. D.; Silva, S. G. RGB Color Sensor for Colorimetric Determinations: Evaluation and Quantitative Analysis of Colored Liquid Samples. *Talanta* **2022**, 241, 123244.
24. Upadhyay, S.; Kumar, A.; Srivastava, M.; Srivastava, A.; Dwivedi, A.; Singh, R. K.; Srivastava, S. K. Recent Advancements of Smartphone-Based Sensing Technology for Diagnosis, Food Safety Analysis, and Environmental Monitoring. *Talanta* **2024**, 275, 126080.
25. Chandra Kishore, S.; Samikannu, K.; Atchudan, R.; Perumal, S.; Edison, T. N. J. I.; Alagan, M.; Sundramoorthy, A. K.; Lee, Y. R. Smartphone-Operated Wireless Chemical Sensors: A Review. *Chemosensors* **2022**, 10, 55.
26. Xing, E.; Chen, H.; Xin, X.; Cui, H.; Dou, Y.; Song, S. Recent Advances in Smart Phone-Based Biosensors for Various Applications. *Chemosensors* **2025**, 13, 221.
27. Srivastava, M.; Srivastava, S.; Ojha, R. P.; Prakash, R. Smartphone-Assisted Colorimetric Sensor Based on Nanozyme for On-Site Glucose Monitoring. *Microchem. J.* **2022**, 182, 107850.
28. Wang, Y.; Liu, X.; Chen, P.; Tran, N. T.; Zhang, J.; Chia, W. S.; Boujday, S.; Liedberg, B. Smartphone Spectrometer for Colorimetric Biosensing. *Analyst* **2016**, 141 (11), 3233–3238.
29. Granica, M.; Tymecki, Ł. Analytical Aspects of Smart (Phone) Fluorometric Measurements. *Talanta* **2019**, 197, 319–325.
30. Ji, D.; Liu, L.; Li, S.; Chen, C.; Lu, Y.; Wu, J.; Liu, Q. Smartphone-Based Cyclic Voltammetry System with Graphene Modified Screen Printed Electrodes for Glucose Detection. *Biosens. Bioelectron.* **2017**, 98, 449–456.

31. Salimi, M.; Sun, B. R.; Tabunag, J. S.; Li, J.; Yu, H.-Z. A Mobile Analytical Device for On-Site Quantitation of Anthocyanins in Fruit Beverages. *Micromachines* **2021**, *12* (3), 246.
32. Hussein, M. A.; Al-Iessa, L. A. R.; Alrufaie, M. M. M.; Al-Sowdani, K. Using Mobile- iPhone as New Visible Colour Detector for Determination of Pharmaceutical (Potassium Permanganate). *J. Pharm. Res. Int.* **2020**, *32* (1), 13–17.
33. Upadhyay, S.; Kumar, A.; Srivastava, M.; Srivastava, A.; Dwivedi, A.; Singh, R. K.; Srivastava, S. K. Recent Advancements of Smartphone-Based Sensing Technology for Diagnosis, Food Safety Analysis, and Environmental Monitoring. *Talanta* **2024**, *275*, 126080.
34. Materón, E. M.; Gómez, F. R.; Almeida, M. B.; Shimizu, F. M.; et.al. Colorimetric Detection of SARS-CoV-2 Using Plasmonic Biosensors and Smartphones. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2022**, *14* (49), 54527–54538
35. Zhu, Y.; Fang, X.; Lv, X.; Lu, M.; Xu, H.; Hu, S.; Zhao, S.; Ye, F. A Single Aptamer-Dependent Sandwich-Type Biosensor for the Colorimetric Detection of Cancer Cells via Direct Coordinately Binding of Bare Bimetallic Metal-Organic Framework-Based Nanozymes. *Biosensors* **2023**, *13* (2), 225.
36. Yu, X.; Pan, B.; Zhao, C.; Shorty, D.; Solano, L. N.; Sun, G.; Liu, R.; Lam, K. S. Discovery of Peptidic Ligands against the SARS-CoV-2 Spike Protein and Their Use in the Development of a Highly Sensitive Personal Use Colorimetric COVID-19 Biosensor. *ACS Sens.* **2023**, *8* (6), 2159–2168
37. Liu, D.-M.; Xu, B.; Dong, C. Recent Advances in Colorimetric Strategies for Acetylcholinesterase Assay and Their Applications. *TrAC, Trends Anal. Chem.* **2021**, *142*, 116320.
38. Balbach, S.; Jiang, N.; Moreddu, R.; Dong, X.; Kurz, W.; Wang, C.; Dong, J.; Yin, Y.; Butt, H.; Brischwein, M.; Hayden, O.; Jakobi, M.; Tasoglu, S.; Koch, A. W.; Yetisen, A. K. Smartphone-Based Colorimetric Detection System for Portable Health Tracking. *Anal. Methods* **2021**, *13* (38), 4361–4369

39. Tsotsou, G. E. Extraction-Free Analysis in Cosmetics by Digital Image Colorimetry, Illustrated by the Quantification of Urea. *Heliyon* **2024**, 10 (3), e25503.
40. Liu, S.; Liang, T.; Tian, M.; Wu, C.; Tang, L.; Li, Y.; Zhong, K.; Sun, X.; Li, X.; Li, J. Smartphone-Assisted Fluorescent Probe to Evaluate the Salmon Freshness. *J. Food Eng.* **2025**, 399, 112614
41. Huo, S.-h.; et al. Graphene Quantum Dot-Enabled Dual-Modal Fluorescence/Colorimetry Detection of Formaldehyde. *Environ. Funct. Mater.* **2025**.
42. Sahare, T.; Singh, N.; Sahoo, B. N.; Joshi, A. Smartphone-Enhanced Nanozyme Sensors: Colorimetric and Fluorescence Sensing Techniques. *Biosens. Bioelectron. X* **2024**, 21, 100544.
43. Yin, P.; Wang, J.; Li, T.; Pan, Q.; Zhu, L.; Yu, F.; Zhao, Y. Z.; Liu, H. B. A Smartphone-Based Fluorescent Sensor for Rapid Detection of Multiple Pathogenic Bacteria. *Biosens. Bioelectron.* **2023**, 242, 115744.
44. Yu, H.; Tan, Y.; Cunningham, B. T. Smartphone Fluorescence Spectroscopy. *Anal. Chem.* **2014**, 86 (17), 8805–8813.
45. Lei, T.; Xu, Y.; Tang, Y.; Tan, S.; Xiao, J.; Zhao, S.; Lan, M. Smartphone-Integrated Colorimetric and Fluorometric Sensor Based on Copper-Doped Carbon Dots for Visual and Rapid Detection of Thiram. *J. Mater. Chem. B* **2025**, 43.
46. Zhang, W.-Y.; Tian, T.; Peng, L.-J.; Zhou, H.-Y.; Zhang, H.; Chen, H.; Yang, F.-Q. A Paper-Based Analytical Device Integrated with Smartphone: Fluorescent and Colorimetric Dual-Mode Detection of β -Glucosidase Activity. *Biosensors* **2022**, 12 (10), 893.
47. Chen, Q.; Liu, W.; Du, Z.; Li, Y.; Zeng, C.; Zhu, M.; Pang, M.; Wang, Y. Ratio Fluorescence and Smartphone-Assisted Colorimetry Dual-Mode Detection of Creatinine Based on F, B, N-Doped Red Fluorescent Carbon Dots. *Anal. Chim. Acta* **2025**, 1349, 343815.
48. Xie, X.; Pan, M.; Hong, L.; Liu, K.; Yang, J.; Wang, S.; Wang, S. An “Off–On” Rhodamine 6G Hydrazide-Based Output Platform for Fluorescence and Visual Dual-Mode Detection of Lead(II). *J. Agric. Food Chem.* **2021**.

49. Zhang, Z.; Han, R.; Chen, S.; Zheng, F.; Ma, X.; Pan, M.; Wang, S. Fluorescent and Colorimetric Dual-Mode Strategy Based on Rhodamine 6G Hydrazone for Qualitative and Quantitative Detection of Hg²⁺ in Seafoods. *Foods* **2023**, 12 (5), 1085.
50. Jitjamrasrat, A.; Chalitangkoon, J.; Monvisade, P. Smart Dual-Mode Fluorescent Label from Rhodamine-Alginate and Fluorescein-Chitosan for Real-Time Shrimp Freshness Monitoring. *Food Chem.* **2026**, 499, 147355.
51. Singh, A.; Rajput, J. Fluorometric and Smartphone-Enabled Colorimetric RGB-Based Quantification of Au(III) Ions Using Fluorescein-Based Organic Compound. *J. Mol. Struct.* **2025**, 1353, 144839.
52. Batsaikhan, O.; Choi, B.; Nam, H.; Kim, C. Fluorescent and Colorimetric Dual-Mode Chemosensor for Easy Detection of Cu²⁺: Practical and Smartphone-Based Application to Test Strip and Water Sample. *Inorg. Chim. Acta* **2024**.
53. Antony, E.; Narmatha, G.; Kavanya, S.; et al. A Dual-Functional Fluorescent Chemosensor Derived from Naphthalene Dithiouryl for Cu²⁺: Applications in Water Analysis, Logic Gates, Swab Tests, and Pesticide Monitoring. *J. Fluoresc.* **2025**.
54. Wang, S.; Ding, Y.; Zhang, L.; Cheng, Y.; Deng, Y.; Jiang, Q.; Gao, H.; Gu, J.; Yang, G.; Zhu, L.; Yan, T.; Zhang, Q.; Ye, J. Combination of Colorimetry, Inner Filter Effect-Induced Fluorometry and Smartphone-Based Digital Image Analysis: A Versatile and Reliable Strategy for Multi-Mode Visualization of Food Dyes. *J. Hazard. Mater.* **2023**, 445, 130563.
55. Kronberg, B.; Holmberg, K.; Lindman, B. *Surface Chemistry of Surfactants and Polymers*; Wiley: West Sussex, **2014**.
56. Das, N. Ch.; Cao, H.; Kaiser, H.; Warren, G. T.; Gladden, J. R.; Sokol, P. E. Shape and Size of Highly Concentrated Micelles in CTAB/NaSal Solutions by Small Angle Neutron Scattering (SANS). *Langmuir* **2012**, 28 (33), 11962–11968.
57. Burmistrova, N.; Mushtakova, S.; Shtykov, S.; Kozhina, L.; Rodnikova, V. Physicochemical and Analytical Properties of Surfactant-Modified Redox Reagents of the Diphenylamine Series. *J. Anal. Chem.* **2001**, 56, 651–657.

58. Мчедлов-Петросян М. О. Колоїдна хімія : підручник / М. О. Мчедлов-Петросян, В. І. Лебідь, О. М. Глазкова, О. В. Лебідь ; за ред. проф. М. О. Мчедлова-Петросяна. – 2-ге вид., випр. і доп. – Х. : ХНУ імені В. Н. Каразіна, 2012. – 500с.
59. Кловак, В. О. *Гідрофобно-модифіковані реагентні системи для флуоресцентного визначення органічних сполук іонної природи*; дисертація на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 102 «Хімія»; Київський національний університет імені Тараса Шевченка: Київ, **2022**; ДФ 26.001.256.
60. Kaliszczak, W.; Nosal-Wiercińska, A. The Importance of the Active Complexes of 6-Mercaptopurine with Bi(III) with Regards to Kinetics and Electrode Mechanism Changes in the Presence of Non-Ionic Surfactants. *J. Electroanal. Chem.* **2018**, 828, 108–115.
61. Kumar, D.; Rub, M. A. Study of Zinc–Glycylglycine Complex with Ninhydrin in Aqueous and Cationic Micellar Media: A Spectrophotometric Technique. *Tenside Surfactants Deterg.* **2019**, 56 (4), 312–318.
62. Grisci, G.; Kozma, E.; Mróz, W.; Pagano, K.; Ragona, L.; Galeotti, F. Self-Assembly of a Water-Soluble Perylene and Surfactant into Fluorescent Supramolecular Ensembles Sensitive to Acetylcholinesterase Activity. *RSC Adv.* **2016**, 6 (69), 64374–64382.
63. Zolgharnein, J.; Bagtash, M.; Shariatmanesh, T. Simultaneous Removal of Binary Mixture of Brilliant Green and Crystal Violet Using Derivative Spectrophotometric Determination, Multivariate Optimization and Adsorption Characterization of Dyes on Surfactant-Modified Nano- γ -Alumina. *Spectrochim. Acta A* **2015**, 137, 1016–1028.
64. Quagliotto, P.; Barbero, N.; Barolo, C.; Buscaino, R.; Carfora, P.; Prosperini, S.; Viscardi, G. Water-Based Surfactant-Assisted Synthesis of Thienylpyridines and Thienylbipyridine Intermediates. *Dyes Pigm.* **2017**, 137, 468–479.
65. Petcu, A. R.; Rogozea, E. A.; Lazar, C. A.; Olteanu, N. L.; Meghea, A.; Mihaly, M. Specific Interactions within Micelle Microenvironment in Different Charged Dye/Surfactant Systems. *Arab. J. Chem.* **2016**, 9 (1), 9–17.

66. Bryleva, E.Yu.; Vodolazkaya, N.A.; Mchedlov-Petrosyan, N.O.; Samokhina, L.V.; Matveevskaya, N.A.; Tolmachev, A.V. Interfacial properties of cetyltrimethylammonium-coated SiO₂ nanoparticles in aqueous media as studied by using different indicator dyes. *J. Colloid Interface Sci.*, **2007**, *316* (2), pp 712–722.
67. Barseem, A.; Ahmed, H.; El-Shabrawy, Y.; Belal, F. The Use of SDS Micelles as Additive to Increase Fluorescence Analysis of Sitagliptin and Saxagliptin Derivatives in Their Tablets and Human Plasma. *Microchem. J.* **2019**, *146*, 20–24.
68. Barseem, A.; Obaydo, R.; Elagamy, S. Micelle-Enhanced Green Spectrofluorimetric Method for the Determination of Avanafil in Dosage Forms and Spiked Human Plasma with Sustainability Assessment. *Talanta Open* **2025**, *12*, 100526.
69. Maiti, B.; Dey, N.; Bhattacharya, S. Engaging Dynamic Surfactant Assemblies in Improving Metal Ion Sensitivity of a 1,4,7-Triazacyclononane-Based Receptor: Differential Optical Response for Cysteine and Histidine. *ACS Appl. Bio Mater.* **2019**, *2*, 2365–2373.
70. Pharr, D. Y. A Review of the Use of Surfactants in Flow Injection Analysis. *Anal. Lett.* **2011**, *44*, 2287–2311.
71. Rattanakit, P. Determination of copper(II) by pyrogallol red with sensitivity enhancement of cetyltrimethylammonium bromide in reverse flow injection spectrophotometric system. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* **2020**, *102*(16), 4378–4387.
72. Amin, A. S.; Kassem, M. A.; Mohammed, T. Y. Utilization of Cloud-Point Extraction for Colorimetric Determination of Trace Amounts of Thorium(IV) in Real Samples. *RSC Adv.* **2015**, *5*, 52095–52100.
73. Klovak, V.; Kulichenko, S. Spectrophotometric and Fluorescent Determination of Hydrophobic Organic Cations in the Surfactant-Modified System Mo(VI)–Bromopyrogallol Red. *Methods Objects Chem. Anal.* **2023**, *18*, 55–62.
74. Acharya, S.; Rebery, B. Fluorescence Spectrometric Study of Eosin Yellow Dye–Surfactant Interactions. *Arab. J. Chem.* **2009**, *2*, 7–12.
75. Mchedlov-Petrosyan, N.O.; Vodolazkaya, N.A.; Doroshenko, A.O. Ionic Equilibria of Fluorophores in Organized Solutions: The Influence of Micellar Microenvironment

- on Protolytic and Photophysical Properties of Rhodamine B. *J. Fluorescence*, **2003**, *13* (3), pp 235–248.
- 76.Irshad, S.; Sultana, H.; Usman, M.; Ahmad, M.; Al-Hussain, S.; Zaki, M. Enhanced Solubilization and Encapsulation of Direct Dyes through Self-Assembled Single and Mixed Micellar Nanocarriers. *Environ. Technol. Innov.* **2023**, *30*, 103061.
- 77.Obukhova, E. N.; Mchedlov-Petrossyan, N. O.; Vodolazkaya, N. A.; Patsenker, L. D.; Doroshenko, A. O.; Marynin, A. I.; Krasovitskii, B. M. Absorption, fluorescence, and acid-base equilibria of rhodamines in micellar media of sodium dodecyl sulfate. *Spectrochim. Acta, Part A*, **2017**, *170*, 138–144.
- 78.Bedir, Y.; Yardim, Y. Sensing of the COVID-19 Antiviral Molnupiravir in the Presence of an Anionic Surfactant on the Surface of a Boron-Doped Diamond Electrode in Pharmaceutical Formulation. *Monatsh. Chem.* **2024**, *156*.
- 79.Klovak, V.; Kulichenko, S.; Lelyushok, S. Influence of Colloid-Chemical State of Solutions on Fluorescence and Spectrophotometry Analytical Signals of Surfactants in Reaction with Eosin Y. *Chem. Pap.* **2020**, *74*, 4337–4344.
- 80.Zhang, Q.; Kim, D.; Li, L.; Patel, S.; Duhamel, J. Surfactant Structure-Dependent Interactions with Modified Starch Nanoparticles Probed by Fluorescence Spectroscopy. *Langmuir* **2019**, *35*, 3432–3444.
- 81.Badmus, S. O.; Amusa, H. K.; Oyehan, T. A.; Saleh, T. A. Environmental Risks and Toxicity of Surfactants: Overview of Analysis, Assessment, and Remediation Techniques. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* **2021**, *28*, 62085–62104.
- 82.Блажеєвський, М. Є.; Ковальська, О. В. Порівняльна характеристика аналітичних методів, придатних для кількісного визначення декаметоксину. *Фармаком* **2016**, *4*, 53–58.
- 83.Блажеєвський, М. Є.; Карпушина, С. А.; Степаненко, В. І.; Баюрка, С. В. Кількісне визначення декаметоксину у лікарських формах ензимно-кінетичним методом. *Вісник фармації* **2007**, *4*, 13–15.

- 84.Liu, H.-Y.; Ding, W.-H. Determination of Homologues of Quaternary Ammonium Surfactants by Capillary Electrophoresis Using Indirect UV Detection. *J. Chromatogr. A* **2004**, *1025*, 303–312
- 85.Lara-Martín, P. A.; Gómez-Parra, A.; González-Mazo, E. Simultaneous Determination of Linear Alkylbenzene Sulfonates, Alkylphenol Ethoxylates, and Their Degradation Products in Waters by Gas Chromatography–Mass Spectrometry. *J. Chromatogr. A* **2005**, *1073*, 131–139.
- 86.Jackson, M.; Eadsforth, C.; Schowanek, D.; Delfosse, T.; Riddle, A.; Budgen, N. Comprehensive Review of Several Surfactants in Marine Environments: Fate and Ecotoxicity. *Environ. Toxicol. Chem.* **2016**, *35*, 1077–1086
- 87.Yoon, J.-H.; Shin, Y.-G.; Kirkham, M.B.; Jeong, S.-S.; Lee, J.-G.; Kim, H.-S.; Yang, J.E. A Simplified Method for Anionic Surfactant Analysis in Water Using a New Solvent. *Toxics* **2022**, *10*, 162.
- 88.Wee, V. T. Determination of Cationic Surfactants in Waste- and River Waters. *Water Res.* **1984**, *18*, 223–225.
- 89.Irving, H. M. N. H.; Markham, J. J. The Determination of Small Amounts of Long-Chain Tertiary Alkylamines and Quaternary Ammonium Salts. *Anal. Chim. Acta* **1967**, *39*, 7–12.
- 90.Scott, G. V. Spectrophotometric Determination of Cationic Surfactants with Orange II. *Anal. Chem.* **1968**, *40*, 768–773
- 91.Simón, M. M. B.; Cózar, A. D. E.; Díez, L. M. P. Spectrophotometric Determination of Cationic Surfactants in Frozen and Fresh Squid by Ion-Pair Formation with Methyl Orange. *Analyst* **1990**, *115*, 337–339.
- 92.Santos, V.; Ayres, L.; Sousa, H.; Suarez, W. Detection of Surfactants Using a Hydrophobic Natural Deep Eutectic Solvent and Smartphone. *Sens. Diagn.* **2024**, *3*, 1467–1475.
- 93.Biswas, S.; Pal, A. Spectrophotometric Determination of Cationic Surfactants in Aqueous Media Using Chrome Azurol S as Colour-Forming Agent and 1-Butanol as Extracting Solvent. *Talanta* **2020**, *206*, 120238

94. Wyrwas, B.; Zgoła-Grześkowiak, A. Continuous Flow Methylene Blue Active Substances Method for the Determination of Anionic Surfactants in River Water and Biodegradation Test Samples. *J. Surfactants Deterg.* **2013**, *17*, 191–198
95. Kakalejčíková, S.; Bazel', Y. A Combination of Vortex-Assisted Liquid–Liquid Microextraction with Fluorescence Detection: An Innovative Approach for a Green and Highly Sensitive Determination of Sodium Dodecyl Sulfate in Water Samples and Pharmaceuticals. *Microchem. J.* **2024**.
96. Bodaghi, A.; Fattahi, N.; Ramazani, A. Biomarkers: Promising and Valuable Tools towards Diagnosis, Prognosis and Treatment of COVID-19 and Other Diseases. *Heliyon* **2023**, *9*, e13323.
97. Parker, G. J.; McKiernan, H. E.; Legg, K. M.; Goecker, Z. C. Forensic Proteomics. *Forensic Sci. Int. Genet.* **2021**, *54*, 102529
98. Aitekenov, S.; Gaipov, A.; Bukasov, R. Detection and Quantification of Proteins in Human Urine. *Talanta* **2021**, *223*, 121718.
99. Gaither, C.; Popp, R.; Zahedi, R. P.; Borchers, C. H. Multiple Reaction Monitoring–Mass Spectrometry Enables Robust Quantitation of Plasma Proteins Regardless of Whole Blood Processing Delays That May Occur in the Clinic. *Mol. Cell. Proteomics* **2022**, *21*, 100212
100. Song, J. G.; Baral, K. C.; Kim, G. L.; Park, J. W.; Seo, S. H.; Kim, D. H.; Jung, D. H.; Ifekpolugo, N. L.; Han, H. K. Quantitative Analysis of Therapeutic Proteins in Biological Fluids: Recent Advancement in Analytical Techniques. *Drug Deliv.* **2023**, *30*, 2183816.
101. Vernerová, A.; Krčmová, L. K.; Heneberk, O.; *et al.* Chromatographic Method for the Determination of Inflammatory Biomarkers and Uric Acid in Human Saliva. *Talanta* **2021**, *233*, 122598.
102. Silva, A. F.; Rocha, F. R. A Novel Approach to Detect Milk Adulteration Based on the Determination of Protein Content by Smartphone-Based Digital Image Colorimetry. *Food Control* **2020**, *115*, 107299.

103. Chawjiraphan, W.; Apiwat, C.; Segkhoonthod, K.; *et al.* Albuminuria Detection Using Graphene Oxide–Mediated Fluorescence Quenching Aptasensor. *MethodsX* **2020**, *7*, 101114.
104. Kamizake, N. K. K.; Gonçalves, M. M.; Zaia, C. T. B. V.; Zaia, D. A. M. Determination of Total Proteins in Cow Milk Powder Samples: A Comparative Study between the Kjeldahl Method and Spectrophotometric Methods. *J. Food Compos. Anal.* **2003**, *16*, 507–516.
105. ISO 20483:2013 Cereals and pulses - Determination of the nitrogen content and calculation of the crude protein content - Kjeldahl method
106. Tonelotto, V.; Davini, A.; Cardarelli, L.; Calderone, M.; Marin, P. Efficacy of Fluorecare SARS-CoV-2 Spike Protein Test Kit for SARS-CoV-2 Detection in Nasopharyngeal Samples of 121 Individuals Working in a Manufacturing Company. *PLoS One* **2022**, *17*, e0262174.
107. Robson, R. M.; Goll, D. E.; Temple, M. J. Determination of Proteins in Tris Buffer by the Biuret Reaction. *Anal. Biochem.* **1968**, *24*, 339–341.
108. Waterborg, J. H. The Lowry Method for Protein Quantitation. In *The Protein Protocols Handbook*; Walker, J. M., Ed.; Humana Press: Totowa, NJ, **2009**; pp 7–10.
109. Oviedo, M. J.; Quester, K.; Hirata, G. A.; Vazquez-Duhalt, R. Determination of Conjugated Protein on Nanoparticles by an Adaptation of the Coomassie Blue Dye Method. *MethodsX* **2019**, *6*, 2134–2140.
110. Quintas, B.; Galhano, J.; Santos, H.; Oliveira, E. Smartphone-Based Colourimetric Protein Quantification in Human Urine Using Gold Nanoparticles. *SSRN Preprint* **2024**.
111. Dias, K. E.; Sourris, K. C.; Jha, J. C.; Jandeleit-Dahm, K.; Wood, B. R. Rapid, Precise, and Clinically Relevant Quantification of Urinary Albumin and Creatinine Using a NanoDrop UV/Vis Spectrophotometer. *Sensors* **2025**, *25*, 3307.
112. Veríssimo, M. I. S.; Almodôvar, V. A. S.; Tomé, A. C.; Gomes, T. S. R. Fluorescent Optrode for Proteins Based on a Diketopyrrolopyrrole Derivative: Practical

- Application to Total Protein Determination in Urine. *Opt. Laser Technol.* **2020**, *130*, 106364.
113. Hafez, N. A.; Fadl, E.; Ebrahim, S.; Soliman, M.; Shokry, A. Fluorescent Biosensor Based Cerium-Doped Carbon Quantum Dots for Albumin Detection. *RSC Adv.* **2026**, *16*, 3819–3829.
114. Topham, P. Proteinuric Renal Disease. *Clin. Med.* **2009**, *9*, 284–287.
115. Bradford, M. M. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein–Dye Binding. *Anal. Biochem.* **1976**, *72*, 248–254.
116. Kielkopf, C. L.; Bauer, W.; Urbatsch, I. L. Bradford Assay for Determining Protein Concentration. *Cold Spring Harb. Protoc.* **2020**, *2020*, pdb.prot102269.
117. Moreira, D. C. RGBBradford: Accurate Measurement of Protein Concentration Using a Smartphone Camera and the Blue to Green Intensity Ratio. *Anal. Biochem.* **2022**, *655*, 114839.
118. Gee, C. T.; Kehoe, E.; Pomerantz, W. C. K.; Penn, R. L. Quantifying Protein Concentrations Using Smartphone Colorimetry: A New Method for an Established Test. *J. Chem. Educ.* **2017**, *94*, 941–945
119. Yang, M.; Shi, D.; Wang, Y.; Ebadi, A.; Toughani, M. Study on Interaction of Coomassie Brilliant Blue G-250 with Bovine Serum Albumin by Multispectroscopic Methods. *Int. J. Pept. Res. Ther.* **2021**, *27*, 421–431.
120. Sherovski, P.; Stojković, G.; Ristovska, N. Development, Validation and Application of First Derivative Spectroscopy Ratio Method for Estimation of Bradford Assay. *Anal. Biochem.* **2018**, *558*, 35–40.
121. Karimi, F.; Hamidian, Y.; Behrouzifar, F.; *et al.* An Applicable Method for Extraction of Whole Seeds Protein and Its Determination through Bradford's Method. *Food Chem. Toxicol.* **2022**, *164*, 113053.
122. de Camargo, C.; Vicentini, M.; Gobbi, A.; Martinez, D.; Lima, R. Smartphone for Point-of-Care Quantification of Protein by Bradford Assay. *J. Braz. Chem. Soc.* **2016**.

123. Redmile-Gordon, M. A.; Armenise, E.; White, R. P.; Hirsch, P. R.; Goulding, K. W. T. A Comparison of Two Colorimetric Assays, Based upon Lowry and Bradford Techniques, to Estimate Total Protein in Soil Extracts. *Soil Biol. Biochem.* **2013**, *67*, 166–173.
124. Zanini, L.; Zaltron, A.; Turato, E.; Zamboni, R.; Sada, C. Opto-Microfluidic Integration of the Bradford Protein Assay in Lithium Niobate Lab-on-a-Chip. *Sensors* **2022**, *22*, 1144.
125. Moreira, D. C. RGBradford: Protein Quantitation with a Smartphone Camera. *J. Vis. Exp.* **2023**, (199), e65547.
126. *Bradford Protein Assay*; <https://www.bio-rad.com/en-us/product/bradford-protein-assay> (дата звернення 28.01.2026).
127. *BCA Protein Assay Kits*; <https://www.thermofisher.com/us/en/home/life-science/protein-biology/protein-assays-analysis/protein-assays/bca-protein-assays.html> (дата звернення 28.01.2026).
128. *Bovine Serum Albumin (BSA) Standards for Protein Assays*; Sigma-Aldrich (Merck).
<https://www.sigmaaldrich.com/US/en/products/biology/biochemicals/protein-standards> (дата звернення 28.01.2026).
129. *Crude Protein Test Kit*; <https://www.novatica-tech.com/product-page/crude-protein-test-kit> (дата звернення 28.01.2026).
130. *PRO-100 Residual Protein Test Reagent (PRO-Clean)*.
<https://qtetech.com/en/nitta-pro-100-residual-protein-test-reagent-pro-clean-1-box-25-bottles-x-4-bags-pr61707> (дата звернення 28.01.2026).
131. *PRIMA Home — Protein Detection Solutions*; <https://primalabsa.ch/en/prima-home/> (дата звернення 28.01.2026).
132. Sahare, T.; Sahoo, B.; Rana, S.; Joshi, A. Smartphone-Based Colorimetric Protein Sensor Platform Utilizing an Ambient Ring Light Setup for Urinary Protein Detection. *Microchem. J.* **2024**, *208*, 112527.

133. El-Nour, K. M.; El-Sherbiny, I. M.; Abbas, A. M.; Salem, E. H.; Khairy, G. M. Applying Smartphone Camera, Spectrophotometry, or Ocular Analysis-Based Dipsticks for the Detection of Glutathione Level as a Cancer Biomarker. *Talanta Open* **2023**.
134. Elsutohy, M.; Raynard, S.; Guyer, K.; Fear, E.; Roberts, E.; Trifkovic, M. An Aptamer-Based Point-of-Care Diagnostic Test Strip for Rapid Diagnosis of Surface Spike Proteins of SARS-CoV-2 Virus. *Biomed. Anal.* **2024**, *1*, 199–204.
135. *Residual Protein Food Test Strips*; <https://bartovation.com/product/educational/other-educational/protein-food-test-strips-vial-of-50-strips> (дата звернення 28.01.2026).
136. *Urine Analysis Test Strip*; <https://www.preclaboratories.com/product/urine-analysis-test-strip/> (дата звернення 28.01.2026).
137. URISCAN U41 Test Strips (11 Parameters). <https://mes.com.ua/ua/p874742595-test-poloski-uriscan.html> (дата звернення 28.01.2026).
138. Citolab 3 GK. *Information Page, Tabletki.ua*. <https://tabletki.ua/uk/Citolab-3-G%D0%9A/1039268/> (дата звернення 28.01.2026).
139. Prototest 50 Test Strips. *Visual Test Strips*; NetDiabet.com: Ukraine. <https://netdiabet.com/uk/visual-test-strips/test-poloski-prototest-50-noram-ukraina.html> (дата звернення 28.01.2026).
140. Обробка даних у хімічному аналізі. Навчальний посібник (для студентів хімічного факультету) / М.В. Іщенко – Ірпінь: Видавництво та друкарня НУДПС України, 2017 . – 69 с.
141. PubChem, U.S. National Library of Medicine National Center for Biotechnology Information. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>
142. DrugBank Online. Database for Drug and Drug Target Info. <https://go.drugbank.com/>
143. Rurack, K. (2008). Fluorescence Quantum Yields: Methods of Determination and Standards. In: Resch-Genger, U. (eds) Standardization and Quality Assurance in

- Fluorescence Measurements I. Springer Series on Fluorescence, vol 5. Springer, Berlin, Heidelberg.
144. Biasiori-Poulanges, L.; Jarny, S.; El-Rabii, H. Data on eosin Y solutions for laser-induced fluorescence in water flows. *Data in Brief*, 2020, 29, 105350.
145. Lahmann, W.; Ludewig, H.J. Opto—acoustic determination of absolute quantum yields in fluorescent solutions. *Chem. Phys. Lett.*, 1977, 45 (1), pp 177–179.
146. Коржан, Л.; Куліченко, С.; Лелюшок, С. Смарт-кольорометричне визначення іонних ПАР з бромтимоловим синім у присутності неіонної ПАР Triton X-100. *Methods Objects Chem. Anal.*, **2023**, 18 (3), 136-142. <https://doi.org/10.17721/moca.2023.136-142>
147. Klotz, E.; Doyle, R.; Gross, E.; Mattson, B. The Equilibrium Constant for Bromothymol Blue: A General Chemistry Laboratory Experiment Using Spectroscopy. *J. Chem. Educ.* **2011**, 88(5), 637–639.
148. Hall, D.; Zhao, R.; Dehlsen, I.; et al. Protein aggregate turbidity: Simulation of turbidity profiles for mixed-aggregation reactions. *Anal Biochem.* **2016**, 498, 78-94.
149. Коржан, Л.; Титович, В.; Куліченко, С.; Лелюшок, С. Параметри кольорометричного сигналу розчинів бромтимолового синього та бромфенолового червоного. *Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Хімія*, **2023**, 1 (58), 42-47.
150. *European Pharmacopoeia*, 10th ed.; Council of Europe: Strasburg, 2019.
151. ДСТУ 7525:2014. Вода питна. Вимоги та методи контролювання
152. EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources Added to Food (ANS). Scientific Opinion on the Re-Evaluation of Caramel Colours (E 150a, E 150b, E 150c, E 150d) as Food Additives. *EFSA J.* **2011**, 9, 2004 (103 pp.).
153. Klovak, V.; Kulichenko, S.; Lelyushok, S. Charge, Hydrophobic and Spatial Matching in the Association of Fluorescent Reagents with Ionic Surfactants in Aqueous Solutions. *Chem. Pap.* **2021**, 75, 2477–2484.
154. ДСТУ ISO 7875-1:2012 Якість води. Визначення поверхнево-активних речовин. Частина 1. Метод визначення вмісту аніонних поверхнево-активних

- речовин вимірюванням індексу метиленового блакитного (МБАР) (ISO 7875-1:1996, IDT + ISO 7875-1:1996/Cor 1:2003, IDT
155. Mohamed A.; Ibrahim A.; Hassanien G.; Noha S. Development of Eco-Friendly Scattering and Fluorimetric Methods for the Determination of Clemastine Interaction with Eosin Y: Assessment of Whiteness, Blueness, and Greenness Tools. *Journal of Fluorescence*. **2024**, *35*, 2773-2784.
156. Kulkarni, D.; Jaspal, D. Techniques for Surfactant Detection from Wastewater: A Review. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* **2025**, *105*, 1115–1131.
157. Wiest, L.; Giroud, B.; Assoumani, A.; Lestremau, F.; Vulliet, E. A Multi-Family Offline SPE LC–MS/MS Analytical Method for Anionic, Cationic and Non-Ionic Surfactants Quantification in Surface Water. *Talanta* **2021**, *232*, 122441.
158. Cao, Y.; Zhao, J.; Xiong, Y. L. Coomassie Brilliant Blue-Binding: A Simple and Effective Method for the Determination of Water-Insoluble Protein Surface Hydrophobicity. *Anal. Methods* **2016**, *8*, 790–795.
159. Korzhan, L.; Kulichenko, S.; Lelyushok, S.; Klovak, V. Coomassie Brilliant Blue G for Smart Colorimetric Determination of the Ionic Surfactants in Triton X-100 Solutions. *Appl. Spectrosc.*, **2024**, *78*(10), 1105-1114.
160. Korzhan, L.; Kulichenko, S.; Lelyushok, S.; Klovak, V.; Kruchek, A. Fluorescent detection of albumin with Coomassie brilliant blue G in nonionic surfactant Triton X-305 solutions. *Chem. Pap.*, **2025**, *79* (6), 3811-3820.
161. Korzhan, L.; Kulichenko, S.; Lelyushok, S.; Klovak. Nonionic Surfactant Media for Smartphone-based Colorimetric Determination of Protein. *Methods Objects Chem. Anal.*, **2025**, *20* (4), 270-279.

ДОДАТОК А

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці, в яких опубліковано основні результати дисертації:

Статті у періодичних виданнях (Web of Science та Scopus):

1. **Коржан, Л.;** Куліченко, С.; Лелюшок, С. Smart-кольорометричне визначення іонних ПАР з бромтимоловим синім у присутності неіонної ПАР Triton X-100. *Methods Objects Chem. Anal.*, **2023**, 18 (3), 136-142. <https://doi.org/10.17721/moca.2023.136-142> (Особистий внесок здобувача: аналіз даних літератури, проведення експериментальних досліджень, інтерпретація результатів, написання статті).
2. **Korzhan, L.;** Kulichenko, S.; Lelyushok, S; Klovak, V. Coomassie Brilliant Blue G for Smart Colorimetric Determination of the Ionic Surfactants in Triton X-100 Solutions. *Appl. Spectrosc.*, **2024**, 78(10), 1105-1114. <https://doi.org/10.1177/00037028241267900> (Особистий внесок здобувача: аналіз даних літератури, проведення експериментальних досліджень, інтерпретація результатів, написання статті).
3. **Korzhan, L.;** Kulichenko, S.; Lelyushok, S.; Klovak, V.; Kruchek, A. Fluorescent detection of albumin with Coomassie brilliant blue G in nonionic surfactant Triton X-305 solutions. *Chem. Pap.*, **2025**, 79 (6), 3811-3820. <https://doi.org/10.1007/s11696-025-04033-4> (Особистий внесок здобувача: аналіз даних літератури, проведення експериментальних досліджень, інтерпретація результатів, написання статті).
4. **Korzhan, L.;** Kulichenko, S.; Lelyushok, S.; Klovak. Nonionic Surfactant Media for Smartphone-based Colorimetric Determination of Protein. *Methods Objects Chem. Anal.*, **2025**, 20 (4), 270-279. <https://doi.org/10.17721/moca.2025.270-279> (Особистий внесок здобувача: аналіз даних літератури, проведення експериментальних досліджень, інтерпретація результатів, написання статті).

Статті у наукових фахових виданнях України (з переліку МОН України):

5. **Коржан, Л.;** Титович, В.; Куліченко, С.; Лелюшок, С. Параметри кольорометричного сигналу розчинів бромтимолового синього та бромфенолового червоного. *Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Хімія*, **2023**, 1 (58), 42-47. [https://doi.org/10.17721/1728-2209.2023.1\(58\).8](https://doi.org/10.17721/1728-2209.2023.1(58).8)) (*Особистий внесок здобувача: аналіз даних літератури, проведення експериментальних досліджень, інтерпретація результатів, написання статті*).

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

1. **Коржан Л.П.;** Титович В.В., Лелюшок С.О., Куліченко С.А. Смарт-кольорометричне визначення цетилпіридиній хлориду з бромтимоловим синім в присутності неіонної ПАР Triton X-100. Збірник тез доповідей XV Всеукраїнської наукової конференції студентів та аспірантів «Хімічні Каразінські читання – 2023» 24-26 квітня 2023 р., Харків, Україна; с. 74.
2. Мадараш І.В.; **Коржан Л.П.;** Лелюшок С.О. Цифрове колориметричне визначення субстратів катіонної природи з флуоресцентними барвниками. Збірка тез доповідей XXIV Міжнародної конференції студентів, аспірантів та молодих вчених «Сучасні проблеми хімії» 17-19 травня 2023 р., Київ, Україна; с.28.
3. Максименко С.П.; **Коржан Л.П.;** Лелюшок С.О. Спектрофотометричне визначення катіонних поверхнево-активних речовин з Кумасі діамантовим синім G-250. Збірка тез доповідей XXV Міжнародної конференції студентів, аспірантів та молодих вчених «Сучасні проблеми хімії» 15-17 травня 2024 р., Київ, Україна; с.17.
4. **Коржан Л.П.;** Куліченко С.А.; Лелюшок С.О. Coomassie brilliant blue G в організованих розчинах НПАР для визначення білків методами молекулярної спектроскопії. Збірка тез доповідей Міжнародної конференції «Київська конференція з аналітичної хімії: Сучасні тенденції –2024» 16-18 жовтня 2024р., Київ, Україна; с.66-67.

5. **Коржан Л.П.**; Куліченко С.А.; Лелюшок С.О. Смарт кольорометричне визначення білку з Coomassie brilliant blue G-250 в розчинах НПАР. Збірка тез доповідей XX Науковій конференції «Львівські хімічні читання – 2025» 2-4 червня 2025 р., Львів, Україна; с.31.
6. Лагодіч В.С.; Лелюшок С.О.; **Коржан Л.П.** Використання Родаміну С та Родаміну бЖ у методі цифрової колориметрії для визначення речовин аніонної природи. Збірка тез доповідей XXVI Міжнародної конференції студентів, аспірантів та молодих вчених «Сучасні проблеми хімії» 14-16 травня 2025 р. Київ, Україна; с.24.
7. **Коржан Л.П.**; Лелюшок С.О.; Куліченко С.А. Смарт-кольорометричне визначення іонних поверхнево-активних речовин. Збірка тез доповідей XXIV Міжнародної конференції студентів, аспірантів та молодих вчених «Сучасні проблеми хімії» 17-19 травня 2023 р., Київ, Україна; с.25.
8. Титович В.В.; **Коржан Л.П.**; Лелюшок С.О. Вплив фізико-хімічних параметрів на аналітичний сигнал в колориметрії. Збірка тез доповідей XXIV Міжнародної конференції студентів, аспірантів та молодих вчених «Сучасні проблеми хімії» 17-19 травня 2023 р., Київ, Україна; с.40.
9. Кручек А.Я.; **Коржан Л.П.**; Кловак В.О. Флуоресцентне визначення білку з ПАР-модифікованим реагентом Кумасі діамантовим блакитним G-250. Збірка тез доповідей XXV Міжнародної конференції студентів, аспірантів та молодих вчених «Сучасні проблеми хімії» 15-17 травня 2024 р., Київ, Україна; с.48.
- 10.Петренко В.С.; **Коржан Л.П.**; Куліченко С.А. Кольорометрія із смартфоном для визначення білку з Coomassie Brilliant Blue G-250 в системі Triton X-100. Збірка тез доповідей XXVI Міжнародної конференції студентів, аспірантів та молодих вчених «Сучасні проблеми хімії» 14-16 травня 2025 р. Київ, Україна; с.31.

Кольориметричний сигнал розчинів флуоресцеїну та його похідних

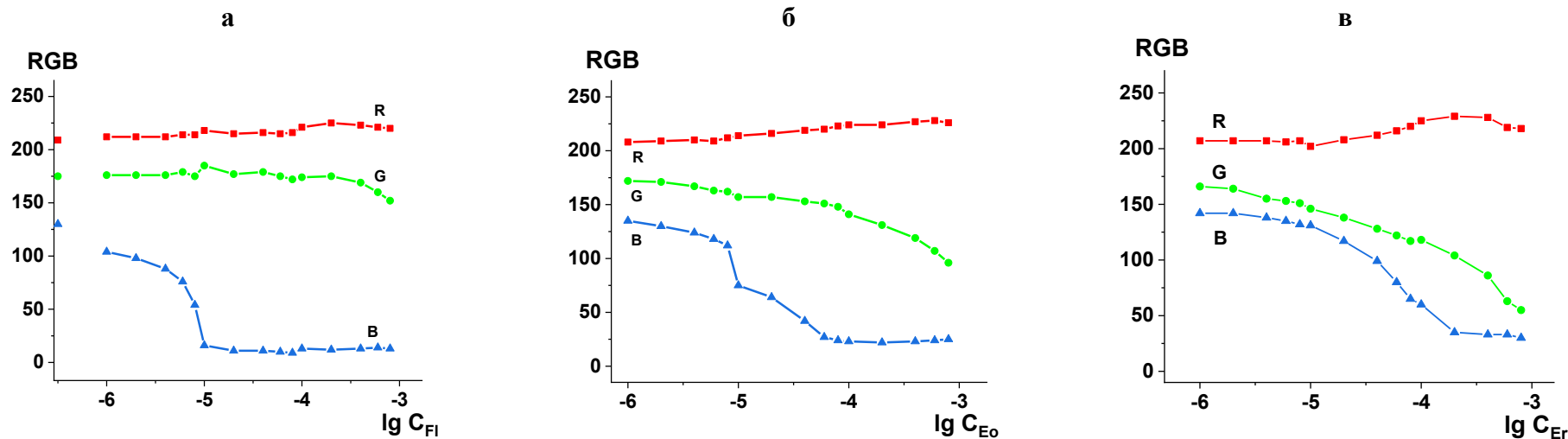


Рис. Б1. Кольориметричний RGB-сигнал розчинів флуоресцеїну (а), еозину (б), еритрозину (в) від концентрації барвника. а- рН=11; б, в - рН=10; фотобокс із білим фоном, вид-освітлення

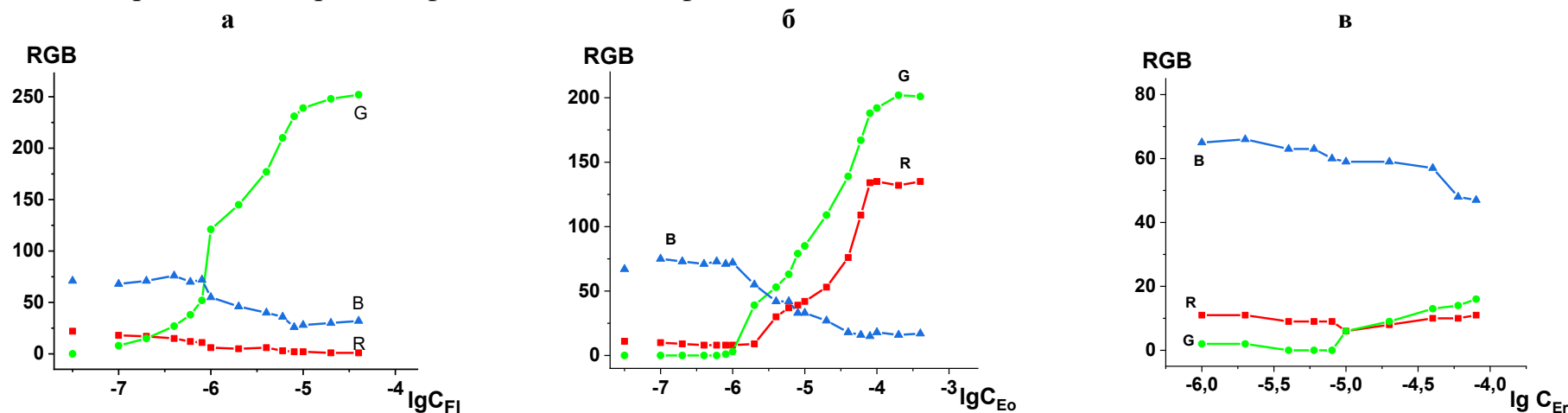


Рис. Б2. Флуорокольориметричний RGB-сигнал розчинів флуоресцеїну (а), еозину (б), еритрозину (в) від концентрації барвника. а- рН=11; б, в - рН=10; фотобокс із чорним фоном, УФ-освітлення

Типові криві насичення в координатах $(RGB, A, I, \lambda, \tau) = f(C_{\text{реагенту}} / \text{ПАР})$ при визначенні складу асоціатів реагентів і ПАР у розчинах

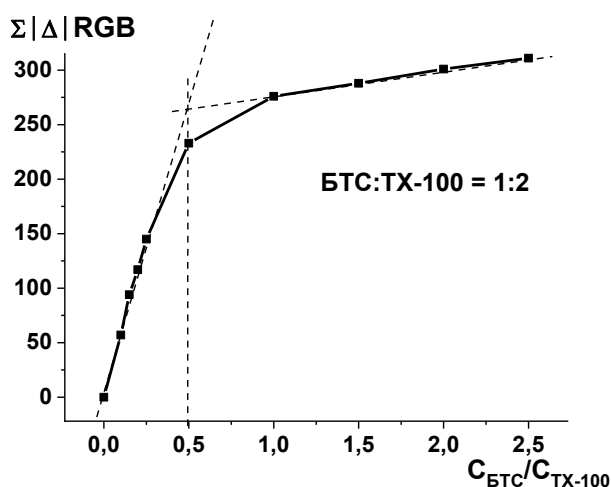


Рис. В1. Кольориметричний $\Sigma|\Delta|RGB$ сигнал БТС у присутності ТХ-100 від співвідношення концентрацій БТС та НПАР. $C_{TX-100} = 4 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $pH=8,1$

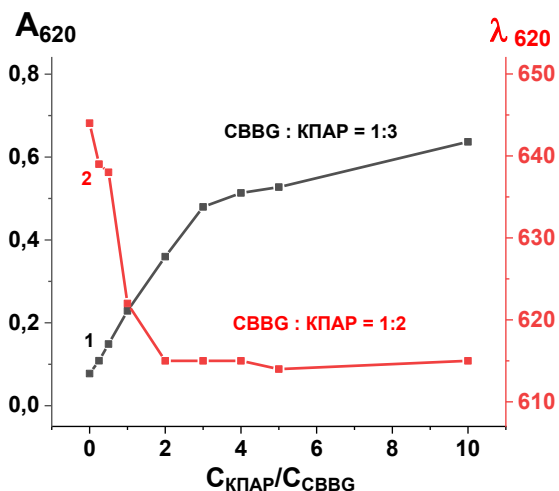


Рис. В2. Залежність поглинання (1) та положення максимуму (2) розчинів СВВГ від співвідношення концентрацій КПАР та реагенту. $C_{CBVG} = 2 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $pH=1,0$

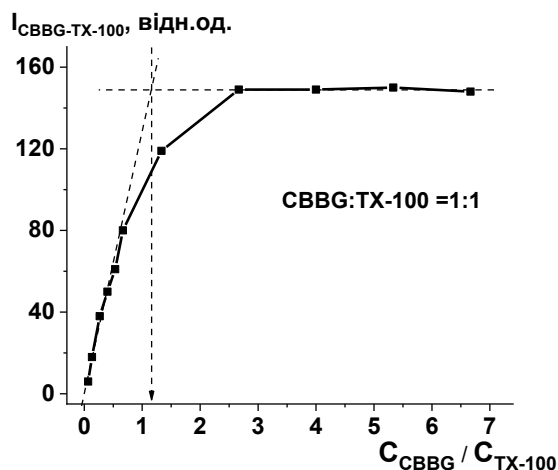


Рис. В3. Залежність інтенсивності флуоресценції розчинів СВВГ у присутності ТХ-100 від співвідношення концентрацій реагенту та НПАР. $C_{TX-100} = 1,5 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $pH=1,0$, $\lambda_{ex}=345$ нм, $\lambda_{em}=460$ нм

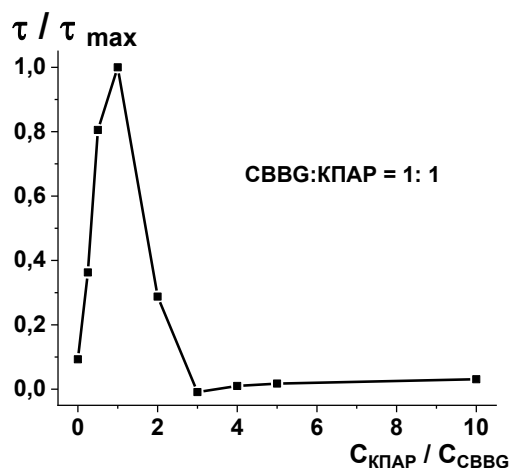


Рис. В4. Нормована каламутність розчинів СВВГ-КПАР від співвідношення концентрації КПАР та реагенту. $C_{CBVG} = 2,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $\lambda = 800$ нм, $\ell = 1,0$ см, $pH = 1,0$

Флуоресцентний сигнал розчинів флуоресцеїну та еозину

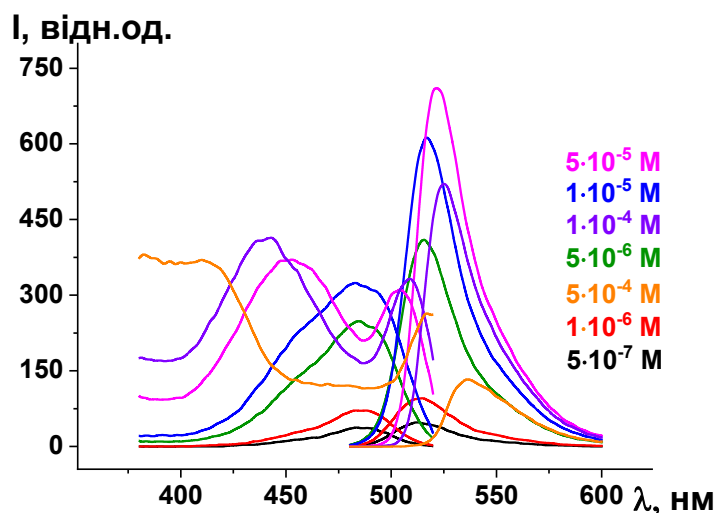


Рис. Г1. Спектри збудження та флуоресценції водних розчинів флуоресцеїну за різних концентрацій. C_{Fl} , моль/л: $5,0 \cdot 10^{-7}$, $1,0 \cdot 10^{-6}$, $5,0 \cdot 10^{-6}$, $1,0 \cdot 10^{-5}$, $5,0 \cdot 10^{-5}$, $1,0 \cdot 10^{-4}$, $5,0 \cdot 10^{-4}$; рН=11

C_{Fl} , моль/л	I, відн.од.	λ_{max} , нм
$5 \cdot 10^{-7}$	48	512
$1 \cdot 10^{-6}$	95	515
$5 \cdot 10^{-6}$	409	516
$1 \cdot 10^{-5}$	611	517
$5 \cdot 10^{-5}$, зміна спектра збудження	709	522
$1 \cdot 10^{-4}$, зміна спектра збудження	518	525
$5 \cdot 10^{-4}$, зміна спектра збудження	134	537

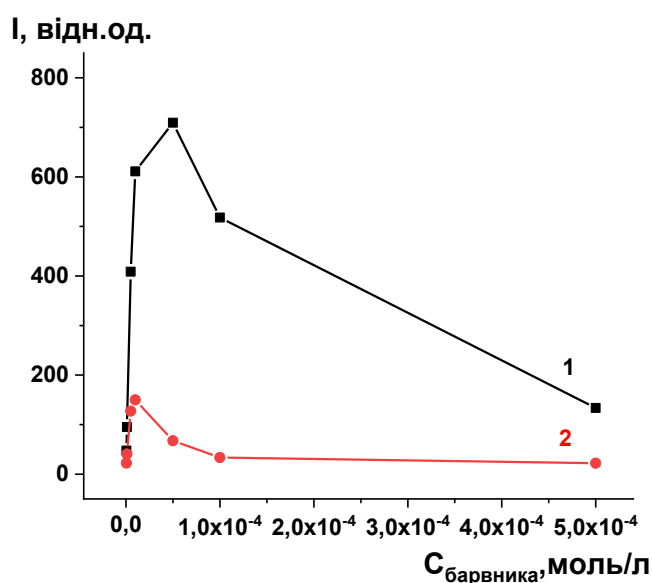


Рис. Г2. Вплив концентрації реагенту на інтенсивність флуоресценції розчинів флуоресцеїну (1) та еозину (2). 1 - рН=11, 2 - рН=10. 1 - $\lambda_{Em} = 540$ нм, $\lambda_{Ex} = 460$ нм. 2 - $\lambda_{Em} = 530$ нм, $\lambda_{Ex} = 510$ нм