— ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ —

УДК 543.39

## СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СУММАРНОГО СОДЕРЖАНИЯ ОДНОТИПНЫХ АНАЛИТОВ С ПОМОЩЬЮ ОБРАЩЕННЫХ МНОГОМЕРНЫХ ГРАДУИРОВОК

© 2022 г. И. В. Власова<sup>а,</sup> \*, В. И. Вершинин<sup>а</sup>

<sup>а</sup>Омский государственный университет им. Ф.М. Достоевского просп. Мира, 55а, Омск, 644077 Россия \*e-mail: vlaso-iri@yandex.ru Поступила в редакцию 01.02.2022 г. После доработки 11.02.2022 г. Принята к публикации 13.02.2022 г.

Для спектрометрического определения суммарного содержания (c<sub>Σ</sub>) однотипных веществ в объектах окружающей среды и пищевых продуктах применяют обращенные многомерные градуировки. Они представляют  $c_5$  в виде суммы обобщенных сигналов ( $A_i$ ), измеренных при разных длинах волн  $(\lambda_i)$  и домноженных на соответствующие регрессионные коэффициенты  $(k_i)$ . Значения  $k_i$  находят с помощью хемометрических алгоритмов, исходя из спектров поглощения смесей известного состава, входящих в обучающую выборку. При аддитивном светопоглощении смесей такой способ группового анализа дает довольно точные результаты. Возможность определять этим способом суммарные содержания аналитов, имеющих неаддитивное поглощение, не очевидна и не изучена. Цель данного исследования — проверка применимости обращенных градуировок при неаддитивном светопоглощении аналитов. В качестве модельных объектов использовали смеси комплексных соединений Cu, Co, Ni, Zn и Pb с фотометрическим реагентом 4-(2-пиридилазо)резорцином (ПАР). Водные растворы этих комплексов при рН 10 имеют довольно близкие спектры поглошения с максимумами в области 490-530 нм. Установлено, что в спектрах поглощения многих растворов, содержащих ионы указанных металлов и избыток ПАР, наблюдаются статистически значимые (до 30 отн. %) положительные отклонения от аддитивности. Для построения обращенной градуировки использовали 14 смесей с известным суммарным содержанием металлов ( $c_{\Sigma}$  от 8 до 25 мкмоль/л), светопоглощение измеряли при шести длинах волн. МНК-оценки регрессионных коэффициентов находили с помощью программы Microsoft Excel. По полученной градуировке рассчитывали значения  $c_{\Sigma}$  для смесей из тест-выборок. Относительные погрешности определения  $c_{\Sigma}$  не превышали 8 отн. % при s<sub>r</sub> < 4%, причем систематические погрешности статистически незначимы. Дальнейшее увеличение числа АДВ и объема обучающей выборки не приводило к существенному снижению погрешностей. Таким образом, обращенные градуировки применимы для определения суммарных содержаний однотипных веществ не только при аддитивном, но и при неаддитивном светопоглощении пробы.

Ключевые слова: групповой анализ, многоволновая спектрофотометрия, обращенные многомерные градуировки, суммарное содержание металлов, отклонения от аддитивности светопоглощения. **DOI:** 10.31857/S0044450222110159

Для спектрометрического определения суммарного содержания ( $c_{\Sigma}$ ) однотипных веществ, например аренов или полифенолов, применяют многомерные градуировки [1]. Этот способ дает лучшие результаты, чем использование интегральных показателей [2]. Как показано в нашем предыдущем сообщении [3], в групповом анализе применяют линейные многомерные градуировки двух типов.

Градуировки первого типа ("традиционные градуировки") — развитие классического метода Фирордта [4]. Их общая формула  $(A_{\Sigma})_i = \Sigma k_{ij} c_i$ , где  $(A_{\Sigma})_j$  — обобщенный сигнал присутствующих в пробе аналитов искомой группы при *j*-ой длине волны,  $k_{ij}$  — коэффициент поглощения *i*-го аналита при *j*-ой длине волны,  $c_i$  — концентрация *i*-го аналита. Значения  $c_i$  рассчитывают с помощью хемометрических алгоритмов, а затем суммируют. Примером может быть анализ гексановых растворов, содержащих от 3 до 6 аренов [3]. Измерения проводили на 11 аналитических длинах волн (**АДВ**) в УФ-области спектра. Коэффициенты поглощения индивидуальных аренов определяли по их однокомпонентным модельным растворам. Значения  $c_i$  рассчитывали методом множест-венной линейной регрессии (**МЛР**). Суммирование найденных  $c_i$  приводило к довольно точным оценкам  $c_{\Sigma}$ ; в интервале значений  $c_{\Sigma}$  от 0.1 до 0.5 мг/л относительная погрешность оценки не превышала 5 отн. %. Условием применимости таких методик является аддитивность светопоглощения смесей аналитов. Главный недостаток градуировок первого типа — трудоемкость составления матрицы коэффициентов поглощения для всех используемых АДВ. Как правило, число АДВ превышает число аналитов в пробе. В настоящей работе градуировки первого типа не применяли.

Градуировки второго типа (обращенные градуировки) отвечают общей формуле  $c_{\Sigma} = \Sigma k_i A_i$ . Они связывают суммарное содержание аналитов искомой группы с их обобщенными сигналами  $(A_{\Sigma})_i$ , измеренными при разных АДВ. Коэффициенты поглощения аналитов не определяют, значения сі не вычисляют и не суммируют, а регрессионные коэффициенты k<sub>i</sub> заранее находят по спектрам модельных смесей с известными значениями  $c_{\Sigma}$ , образующим обучающую выборку. Для расчетов часто используют хемометрический алгоритм PLS и пакет программ "Unscrambler" [5]. Можно применять и другие алгоритмы (MLR, OLS), реализуемые с помощью более доступных программ [6]. Методики определения суммарного содержания однотипных аналитов с помощью обращенных градуировок приведены, например, в статьях [6-9] и нормативных документах [10, 11]. Разработать такие методики проще и быстрее, чем составлять градуировки первого типа. Дело в том, что при построении обращенных градуировок число АДВ может быть меньше ожидаемого числа аналитов в пробе [1]. Так, суммарное содержание множества углеводородов в водах определяют, используя всего три АДВ [11]. При аддитивном светопоглощении применение обращенных градуировок дает весьма точные результаты группового анализа [8, 9]. Возможность применения обращенных градуировок для определения суммы аналитов, имеющих неаддитивное светопоглощение, не изучена.

Поскольку в обучающую выборку вводят модельные смеси, состав которых близок к ожидаемому составу пробы, отклонения от аддитивности ( $\Delta A_j$ ) при фотометрировании пробы должны быть примерно такими же, как и при фотометрировании градуировочных смесей, что должно приводить к компенсации погрешностей. Поэтому при использовании обращенных градировок отклонения от аддитивности не должны сильно влиять на результаты анализа. Это предположение следовало проверить в ходе анализа смесей однотипных и устойчивых веществ, поглощающих свет в одной и той же области спектра. Светопоглощение этих веществ должно подчиняться закону Бугера—Ламберта—Бера, а в спектрах смесей должны проявляться отклонения от аддитивности.

Перечисленным требованиям отвечают комплексные соединения, образующиеся при взаимодействии ионов металлов с фотометрическими реагентами, например окрашенные комплексы катионов Cu<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup>, Co<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup> и Pb<sup>2+</sup> с неселективным фотометрическим реагентом 4-(2-пиридилазо)резорцином (**ПАР**). Их состав отвечает стехиометрическим формулам MR и MR<sub>2</sub>, комплексы устойчивы (lg $\beta_1 > 10$ ) и имеют высокие молярные коэффициенты поглощения ( $n \times 10^4$  л моль<sup>-1</sup> см<sup>-1</sup>) [12]. Известно, что светопоглощение смесей, одновременно содержащих разные металлы и избыток ПАР, может быть неаддитивным [13]. Это обстоятельство определило выбор объектов данного исследования.

Цель настоящего исследования — оценка аналитических возможностей обращенных многомерных градуировок при определении суммарного содержания однотипных аналитов по их неаддитивному светопоглощению. Положительный результат проверки позволит разрабатывать экспрессные методики анализа реальных объектов и определять с их помощью суммарные содержания тяжелых металлов, антиоксидантов, белков и других аналитов, светопоглощение которых нередко неаддитивно [4].

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Исходные водные растворы, содержащие (порознь) нитраты меди, цинка, никеля, кобальта и свинца на уровне  $10^{-3}$ — $10^{-2}$  М, готовили из реактивов квалификации х. ч. Концентрацию этих растворов уточняли, проводя комплексонометрическое титрование по стандартным методикам [14]. Рабочие растворы солей каждого металла готовили в день эксперимента, разбавляя исходные дистиллированной водой в 10 раз. Исходный раствор ПАР (6.67 ×  $10^{-3}$  М) готовили по точной навеске реактива марки х. ч. Одно- и многокомпонентные окрашенные растворы, содержащие металлы в виде их соединений с ПАР, готовили в день эксперимента в мерной колбе емк. 100.0 мл. Для этого вводили заранее рассчитанные объемы рабочих растворов, содержащих ионы металлов, затем 1.50 мл раствора ПАР, 10 мл децимолярного аммиачного буферного раствора (рН 10.0), доводили до метки дистиллированной водой, перемешивали и через 15-20 мин фотометрировали. Приготовление и фотометрирование каждого раствора повторяли трижды. Молярные соотношения разных металлов в многокомпонентных растворах ("смесях") не превышали 20 : 1. Суммарные содержания металлов в таких смесях находились в диапазоне от 8 до 25 мкмоль/л. Примеры смесей приведены в табл. 1.

Общая концентрация ПАР во всех приготовленных смесях составляла 100 мкмоль/л, т.е. ПАР всегда находился в избытке. Тривиальные расчеты, учитывающие состав образующихся комплексов, показывают, что концентрация свободного ПАР во всех смесях была не ниже 50 мкмоль/л. что в отсутствие конкурирующих реакций обеспечивает полное связывание металлов. При рН 10 в водных растворах ПАР доминирует реакционноспособная форма – анионы HR<sup>-</sup> [12]. Всего было приготовлено более 50 пятикомпонентных смесей, из которых формировали обучающую выборку, включавшую 14 смесей. В отдельных опытах использовали обучающие выборки другого объема (от 8 до 20 смесей). Из оставшихся смесей были сформированы две тест-выборки, содержавшие 12 и 36 смесей.

Спектры поглощения окрашенных растворов регистрировали на спектрофотометре СФ-2000-01 в области 300-600 нм с шагом 1 нм. Использовали кварцевые кюветы толшиной 1.0 см. Раствор сравнения – дистиллированная вода + аммиачный буферный раствор. Как правило, измеряли оптические плотности растворов при шести АДВ (485, 490, 495, 500, 505 и 510 нм). Поглощение избытка ПАР в этой области длин волн намного меньше, чем поглощение комплексов (рис. 1). При фотометрировании растворов вводили поправки на поглощение холостого раствора с той же концентрацией ПАР, но без металлов. Скорректированные результаты повторных измерений усредняли. Результат фотометрирования і-ой смеси на *j*-ой АДВ обозначали символом А<sub>ii</sub>. В дополнительных опытах использовали другие наборы АДВ, содержавшие от 4 до 11 АДВ. При всех АДВ повторные измерения оптической плотности одного раствора характеризовались величиной  $s_r \approx 0.5\%$ , а измерения оптической плотности повторно приготовленных растворов давали  $s_{\rm r} \approx 1.5\%$ .

Аддитивность поглощения смесей металлов при выбранных АДВ проверяли по методике [15]. Абсолютные значения отклонений от аддитивности ( $\Delta A$ ) находили, вычитая из оптической плотности модельной смеси ( $A_{\Sigma}$ ) сумму скорректированных оптических плотностей ( $\Sigma A$ ) растворов, содержащих компоненты смеси (окрашенные комплексы) по отдельности, в соответствующих концентрациях. Абсолютные ( $\Delta A$ ) и относительные ( $\delta A$ ) значения отклонений от аддитивности светопоглощения при выбранной АДВ рассчитывали по формулам

$$\Delta A = A_{\Sigma} - \Sigma A,\tag{1}$$

$$\delta A = \frac{A_{\Sigma} - \Sigma A}{\Sigma A} \times 100\%. \tag{2}$$

**Таблица 1.** Состав ( $c_i$ , мкмоль/л) некоторых модельных смесей

Номер смеси	Cu <sup>2+</sup>	Co <sup>2+</sup>	Zn <sup>2+</sup>	Ni <sup>2+</sup>	Pb <sup>2+</sup>	$c_{\Sigma}$
1	0.95	2.44	2.81	2.06	0.53	8.79
2	0.97	0.97	1.05	7.04	0.99	11.02
3	3.01	3.01	3.03	2.98	0.51	12.53
4	5.89	0.98	6.06	0.99	0.83	14.74
5	0.97	6.98	6.99	0.99	0.30	16.24
6	6.01	6.01	1.98	1.99	0.39	16.39
7	6.01	6.98	1.05	1.99	0.81	16.84
8	6.98	6.98	1.05	0.99	0.99	17.00
9	6.01	6.01	6.06	1.99	0.39	20.47
10	6.98	6.98	6.99	0.99	0.30	22.25

Абсолютное значение отклонения сопоставляли с утроенным стандартным отклонением при фотометрировании повторно приготовленных смесей при данной АДВ. Отклонения считали статистически значимыми, если  $|\Delta A| > 3s$ .

Регрессионные коэффициенты  $(k_j)$  рассчитывали при шести АДВ по усредненным значениям  $A_{ij}$  N растворов, составлявших обучающую выборку. Как правило, N = 14. Переопределенную систему из N линейных уравнений вида  $(c_{\Sigma})_i =$  $= \Sigma k_j A_{ij}$  решали методом наименьших квадратов (**МНК**) с применением пакета Microsoft Excel (Анализ данных  $\rightarrow$  Регрессия). МНК-оценки регрессионных коэффициентов включали в искомую градуировку, которую затем использовали



**Рис. 1.** Спектры поглощения водных растворов, содержащих ионы металлов (порознь), избыток ПАР и аммиачный буферный раствор (pH 10). Концентрации, мкмоль/л:  $1 - c_{Co} = 3.01$ ;  $2 - c_{Ni} = 2.98$ ;  $3 - c_{Cu} =$ = 3.01;  $4 - c_{Zn} = 3.03$ ;  $5 - c_{PB} = 2.51$ ;  $6 - c_{\Pi AP} = 100$ . Кривые 1-5 скорректированы с учетом поглощения ПАР.

ЖУРНАЛ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ том 77 № 11 2022

Ион металла	λ, нм	Диапазон линейности, мкмоль/л	Градуировочная зависимость	R
Cu <sup>2+</sup>	500	1-18	A = 0.004 + 0.0378c	0.999
Co <sup>2+</sup>	520	1-20	A = 0.017 + 0.0600c	0.999
$Zn^{2+}$	500	1-7	A = 0.004 + 0.0549c	0.997
Ni <sup>2+</sup>	500	1-7	A = 0.009 + 0.0513c	0.993
Pb <sup>2+</sup>	500	0.3-38	A = 0.005 + 0.0290c	0.998

Таблица 2. Характеристики градуировочных зависимостей при определении ионов металлов в однокомпонентных ПАР-содержащих растворах

для анализа смесей из тест-выборок. Результаты анализов далее обозначены символом  $c_{\Sigma}^*$ . Значения  $c_{\Sigma}^*$ , полученные для повторно приготовленных проб одинакового состава, обрабатывали по стандартному алгоритму Стьюдента (n = 3, P == 0.95), записывали в виде доверительных интервалов, а затем рассчитывали относительную погрешность ( $\delta c$ , %) и относительное стандартное отклонение ( $s_r$ , %) данной выборки. Обобщенную погрешность анализа смесей из тест-выборки характеризует параметр RMSEP, выраженный в мкмоль/л:

RMSEP = 
$$\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{i=t} (c_{\Sigma}^* - c_{\Sigma})^2}{t}},$$
 (3)

где t — общее число проанализированных смесей (объем тест-выборки,),  $1 \le i \le t$ . По той же формуле рассчитывали обобщенную погрешность градуировки (RMSEC), обрабатывая данные по обучающей выборке. Данный способ оценки обоб-



Рис. 2. Спектры поглощения растворов, содержащих смеси металлов и избыток ПАР. *1* − смесь № 1, *2* − смесь № 6, *3* − смесь № 9. Составы смесей и значения  $c_{\Sigma}$  приведены в табл. 1.

ЖУРНАЛ АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ том 77 № 11 2022

щенных погрешностей широко применяют при использовании многомерных градуировок [16].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Спектры однокомпонентных растворов. Спектры поглощения растворов, содержащих разные металлы (по отдельности) и избыток ПАР, довольно близки (рис. 1). Наблюдается не только наложение спектров, но и линейная корреляция взятых попарно спектральных кривых. Так, для спектров поглощения комплексов Pb и Co в области 400-600 нм коэффициент линейной корреляции (R) равен 0.958.

Доминирующие при pH 10 комплексы исследуемых металлов имеют максимальное светопоглощение в области 480—530 нм, что совпадает с литературными данными [12]. По нашим данным, молярные коэффициенты поглощения разных комплексов при фиксированной длине волны различаются не более чем в два раза. Низкая селективность аналитических сигналов способствует точной спектрометрической оценке суммарного содержания металлов.

Светопоглощение комплексов ПАР с металлами подчиняется закону Бугера–Ламберта–Бера, коэффициенты линейной корреляции для всех одномерных градуировок превышают 0.99 (табл. 2). Искривления градуировок для Ni<sup>2+</sup> и Zn<sup>2+</sup> наблюдаются, начиная с концентрации 7 мкмоль/л. Для других металлов диапазоны линейности градуировок намного шире. Содержания любого из индивидуальных металлов во всех модельных смесях находились в границах их диапазонов линейности.

Спектры поглощения смесей и отклонения от аддитивности. Спектры поглощения разных модельных смесей довольно похожи друг на друга (рис. 2).

Для определения суммарного содержания металлов наиболее пригодна область 480–530 нм. При меньших длинах волн измерению сигналов мешает сильное поглощение избытка реагента

Номер смеси	λ, нм	$A_{\Sigma}$	ΣΑ	$\Delta A$	δА, отн. %
2	490	0.663	0.526	0.137	26
	500	0.668	0.525	0.143	27
	510	0.616	0.484	0.132	27
3	490	0.735	0.565	0.170	30
	500	0.750	0.579	0.171	30
	510	0.716	0.558	0.158	28
7	490	0.822	0.824	-0.002	-0.2
	500	0.874	0.865	0.009	1.0
	510	0.862	0.862	0.000	0.0

Таблица 3. Отклонения от аддитивности светопоглощения некоторых модельных смесей из обучающей выборки

(см. рис. 1, кривая 6), при больших длинах волн снижается чувствительность определения металлов.

Аддитивность светопоглощения модельных смесей проверяли при трех АДВ. Значения δА, вычисленные для единичной смеси на разных АДВ, были близки между собой. Для разных смесей значения  $\delta A$  существенно различались. В качестве примера в табл. 3 представлены данные по трем смесям. Большая часть проверенных смесей имела статистически значимые отклонения от аддитивности светопоглощения (пример - смеси №№ 2 и 3). Эти отклонения были положительными и достигали 30% от  $\Sigma A$ . Для нескольких смесей отклонения оказались статистически незначимыми (пример – смесь № 7). Такие смеси были выявлены и в составе обучающей выборки (3 смеси из 14), и в составе тест-выборок. Спектры поглощения "аддитивных" и "неаддитивных" смесей по своему виду были одинаковыми. Образование в системе металлы-ПАР и "аддитивных", и "неаддитивных" смесей является ее интересной особенностью. Очевидно, на величину  $\delta A$  влияют даже небольшие различия в составе модельных смесей (качественный состав всех смесей был одинаков, но соотношения компонентов существенно различались).

Причиной выявленных отклонений могло быть образование двуядерных комплексов, однако типичной для этого механизма тенденции к снижению  $\delta A$  при уменьшении  $c_{\Sigma}$  мы не наблюдали. Действительные причины неаддитивности светопоглощения в системе металлы—ПАР пока не выявлены. Этот вопрос интересен в теоретическом отношении, но он не связан с целью данной работы и требует специального изучения с применением бинарных смесей разного состава.

Определение суммарного содержания металлов по многомерной градуировке. При использовании обучающей выборки из 14 пятикомпонентных смесей и измерении значений  $A_{ij}$  при шести АДВ мы получили градуировку:

$$c_{\Sigma}^{*} = -79.35A_{485} + 96.57A_{490} - 43.27A_{495} - (4) - 0.10A_{500} + 21.31A_{505} + 20.32A_{510}.$$

Подстановка в формулу (4) набора значений  $A_{ij}$  для любого из приготовленных модельных растворов приводит к значениям  $c_{\Sigma}^*$ , близким к  $c_{\Sigma}$ . Например, для смеси № 17

$$c_{\Sigma}^{*} = -79.2 \times 0.967 + 96.57 \times 0.984 - - 43.27 \times 0.986 - 0.10 \times 0.961 + + 21.31 \times 0.917 + 20.32 \times 0.867 = 12.81.$$

Этот результат близок к действительному значению  $c_{\Sigma}$  этой смеси (13.46 мкмоль/л), но занижен на 4.8%. Результаты и погрешности анализа всех смесей из малой тест-выборки (12 смесей) приведены в табл. 4. Погрешности δс (%) были как положительными, так и отрицательными, по модулю они не превышали 8 отн.%. Величина RMSEP равна 0.51 мкмоль/л. Так как среднее значение  $c_{\Sigma}$ по этой выборке составляло 15.85 мкмоль/л, относительная величина RMSEP равна 3.2%. Аналогичные, но чуть худшие результаты были получены и для большой тест-выборки (36 смесей). В этом случае единичные погрешности изредка доходили до 10 отн. %, а величина RMSEP составляла 0.73 мкмоль/л, т.е. 4.8% от среднего значения  $c_{\Sigma}$ . Для сравнения укажем, что обобщенная погрешность градуировки (RMSEC) составляет 0.81 мкмоль/л, т.е. обобщенные погрешности для всех выборок являются величинами одного порядка.

Как отмечают авторы обзора [16], метрологические характеристики методик анализа, основанных на применении многомерных градуировок, недостаточно исследованы. В частности, почти не изучена прецизионность результатов анализа и их устойчивость к случайным погрешностям исходных измерений. Для изучения сходимости результатов группового анализа в настоящем исследовании в формулу (4) подставляли

Номер смеси	$\mathcal{C}_{\Sigma}$	$c^*_\Sigma$	Доверительный интервал с <sub>Σ</sub> *	$\Delta c$	δc, %	<i>s</i> <sub>r</sub> , %
15	11.02	10.25	9.2-11.2	-0.77	-7.0	3.7
16	11.39	11.72	11.3-12.3	0.33	2.9	1.6
17	13.46	12.81	12.0-13.7	-0.65	-4.8	2.7
18	14.74	14.61	13.5-15.7	-0.13	-0.9	3.0
19	15.49	14.99	14.0-16.0	-0.50	-3.2	2.7
20	16.39	15.41	14.3-16.6	-0.98	-6.0	3.0
21	16.49	16.61	15.9-17.3	0.12	0.7	1.5
22	16.97	16.39	15.2-17.7	-0.58	-3.4	3.0
23	17.00	17.29	16.7-17.9	0.29	1.7	1.4
24	17.89	18.05	17.8-18.3	0.16	0.9	0.5
25	18.94	18.77	18.6-19.0	-0.17	-0.9	0.5
26	20.47	20.06	19.7-21.5	-0.41	-2.0	2.5

Таблица 4. Результаты (мкмоль/л) и погрешности анализа модельных смесей из малой тест-выборки

полученные при фотометрировании повторно приготовленных растворов (неусредненные) значения А<sub>ії</sub>. Полученные результаты повторных анализов статистически обрабатывали, предполагая нормальное распределение вариант. Относительные стандартные отклонения (s<sub>r</sub>, %) для единичных выборок (см. последний столбец в табл. 5) доходили до 4 отн. %. Проверка по критерию Кохрена [17] показала статистическую однородность соответствующих дисперсий, что позволяет их усреднять. Среднее значение s<sub>r</sub> для смесей из малой тест-выборки равно 2.2%. Границы доверительных интервалов рассчитывали для уровня значимости  $\alpha = 0.05$  по формуле Стьюдента. Для всех проб из малой тест-выборки действительные значения  $c_{\Sigma}$  находились внутри соответствующих доверительных интервалов, т.е. систематические погрешности анализа модельных смесей были статистически незначимыми. Это подтверждает адекватность обращенной градуировки (4) и ее применимость для определения суммарного содержания металлов. Продолжительность анализа единичной пробы по готовой градуировке не превышает 10 мин, применение компьютера в данном случае не обязательно (достаточно калькулятора). Компьютер нужен лишь для расчета обращенной градуировки. Отметим, что переход к другому спектрофотометру может привести к изменению исходных данных для построения градуировки. Поэтому не следует использовать готовые градуировки типа (4), в каждой лаборатории их следует рассчитывать заново, используя те же приборы и реагенты, которые будут здесь применяться для группового анализа реальных объектов.

Влияние объема обучающей выборки и числа аналитических длин волн на точность оценки  $c_{\Sigma}$ .

Как показано выше, единичные погрешности оценки  $c_{\Sigma}$  с помощью градуировки (4) для неаддитивных модельных смесей обычно не превышают 8 отн. %. При аддитивном светопоглощении смесей аналитов погрешности оценки  $c_{\Sigma}$  с помощью обращенных градуировок иногда удается снизить до (3–5)% [9]. Чтобы снизить погрешности группового анализа, наши предшественники рекомендовали увеличивать объем обучающей выборки [1, 8], увеличивать число АДВ [6, 9] или менять способ расчета регрессионных коэффициентов [7]. Можно также перейти к измерениям в другой области длин волн [18] или использовать спектрометры более высокого класса, обеспечивающие прецизионность исходных данных.

В ходе настоящего исследования сначала меняли объем обучающей выборки (N) при неизменном наборе АДВ. Результаты показаны в верхней части табл. 5. Во второй серии опытов меняли число АДВ (m) при неизменном объеме обучающей выборки. Так как расстояние между соседними АДВ при этом не менялось ( $\Delta \lambda = 5$  нм), увеличение числа АДВ приводило к небольшому расширению интервала длин волн, используемому для построения обращенной градуировки. Результаты этих опытов приведены в нижней части табл. 5. Во всех случаях рассчитывали результаты и погрешности анализа одного и того же набора модельных смесей (большая тест-выборка). Значения RMSEP выражали как в мкмоль/л, так и в процентах от среднего значения  $c_{\Sigma}$  в тест-выборке. Любое изменение N или m приводило к изменению регрессионных коэффициентов, т.е. к новой обращенной градуировке. Однако результаты группового анализа модельных смесей с применением новой градуировки почти не отличались от прежних, как и погрешности анализа. Есте-

Ν		Ционо А ПР	RMSEP		
	диапазон Адь, нм	число Адв	мкмоль/л	$\%$ ot $c_\Sigma$	
8	485-510	6	1.57	10.4	
10	485-510	6	1.19	7.9	
12	485-510	6	1.14	7,5	
14	485-510	6	0.73	4.8	
20	485-510	6	0.72	4.7	
14	490-505	4	0.86	5.7	
14	480-500	5	0.73	4.8	
14	485-510	6	0.73	4.8	
14	480-510	7	0.89	5.9	
14	480-530	11	1.22	8.1	

Таблица 5. Влияние объема обучающей выборки (N) и числа аналитических длин волн на обобщенную погрешность (RMSEP) оценки суммарного содержания металлов по однотипным многомерным градуировкам

ственно, обобщенные погрешности (значения RMSEP) менялись намного меньше, чем единичные.

Полученные нами данные подтвердили желательность увеличения объема обучающей выборки (при прочих постоянных условиях). При увеличении N от 7 до 14 величина RMSEP монотонно снижалась, а далее почти не менялась. Подтвердилась и зависимость точности группового анализа от числа используемых АДВ. При постоянном объеме выборки (N = 14) минимальные значения RMSEP получали при повышении числа АДВ до 5-6. Дальнейшее увеличение числа АДВ ухудшало результаты анализа модельных смесей. Это не соответствует рекомендациям других авторов [9 и др.]. Вероятно, причиной повышения RMSEP при использовании 10-11 АДВ является одновременное расширение спектрального интервала, используемого в ходе группового анализа.

Подводя итоги, укажем, что поставленные цели исследования в основном достигнуты. На примере комплексов разных металлов с ПАР доказано, что обращенные градуировки можно применять для определения суммарного содержания однотипных аналитов даже при их неаддитивном светопоглощении. Альтернативные варианты анализа (применение интегральных показателей или прямых градуировок традиционного типа) в подобных случаях приводят к большим систематическим погрешностям [19, 20]. В данном случае этого не наблюдалось. Хотя все отклонения от аддитивности светопоглощения в системе металлы-ПАР были положительными, а по модулю доходили до 30 отн. %, единичные погрешности группового анализа разных проб имели разные

\* \* \*

знаки, а по модулю не превышали 8–10 отн. %. При оптимальном способе построения градуировки систематическая составляющая общей погрешности для всех проб оказалась статистически незначимой.

Известные приемы повышения точности группового анализа (повышение числа АДВ и объема обучающей выборки) не привели к дальнейшему снижению погрешностей. Для определения суммы металлов с помощью обращенной градуировки мы рекомендуем первоначально выбранный вариант ее построения. А именно, измерять оптические плотности 14 модельных смесей при шести АДВ в области 485-510 нм, а затем находить МНК-оценки регрессионных коэффициентов, решая переопределенную систему линейных уравнений с помощью программы Microsoft Excel. Состав модельных смесей из обучающей выборки должен быть близок к ожидаемому составу пробы. Вероятно, дальнейшее снижение погрешностей может быть достигнуто в результате применения алгоритма PLS и специализированного программного обеспечения, а также путем увеличения числа АДВ при неизменной ширине используемого интервала длин волн.

Возможность группового анализа "неаддитивных" смесей с применением обращенных градуировок открывает путь к разработке методик определения суммы тяжелых металлов в объектах окружающей среды и пищевых продуктах. Хотя ПДК тяжелых металлов сильно различаются, экспрессная методика определения их суммарного содержания была бы весьма полезна (хотя бы на стадии скрининга проб). Для разработки таких методик необходимы дополнительные исследования, связанные с варьированием качественного состава проб и концентрации посторонних веществ, оценкой метрологических характеристик, а также выяснением причин неаддитивности сигСПЕКТРОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СУММАРНОГО СОДЕРЖАНИЯ

налов. Эти вопросы будут рассмотрены в следующем сообщении.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1. *Brereton R.G.* Introduction to multivariate calibration in analytical chemistry // The Analyst. 2000. V. 125. № 11. P. 2125.
- Vershinin V.I. Total indices as a tool to estimate sum content of similar analytes. Review // Talanta. 2015. V. 131. № 1. P. 293.
- 3. Власова И.В., Вершинин В.И. Спектрометрическое определение суммарного содержания однотипных аналитов с помощью многомерных градуировок традиционного типа // Журн. аналит. химии. 2022. Т. 77. № 1. С. 22. (Vlasova I.V., Vershinin V.I. Spectrometric determination of the total concentration of similar analytes using conventional multidimensional calibrations / J. Anal. Chem. 2022. V. 77. № 1. Р. 35.)
- Берштейн И.Я., Каминский Ю.А. Спектрофотометрический анализ в органической химии. Л.: Химия, 1986. 200 с.
- Esbensen K.H. Multivariate Data Analysis in Practice. An Introduction to Multivariate Data Analysis and Experimental Design. 5th Ed. Woodbridge: Camo Process AS, 2004. 588 p.
- 6. Антонова Т.В., Вершинин В.И., Власова И.В. УФспектрометрическое определение суммарного содержания аренов в сточных водах // Журн. аналит. химии. 2021. Т. 76. № 7. С. 603. (Antonova, T.V., Vershinin, V.I., Vlasova, I.V. UV-spectrometric determination of total concentration of arenes in wastewaters // J. Anal. Chem. 2021. V. 76. № 7. Р. 815.)
- 7. Quansheng C., Jiewen Z., Muhua L., Jianrong C., Jianchua L. Determination of total polyphenols content in green tea using FT-NIR spectroscopy and different PLS algorithms // J. Pharm. Biomed. Anal. 2008, V. 46. № 3. C. 568.
- 8. Вершинин В.И, Коптева Е.В., Троицкий В.В. Определение суммарных содержаний парафинов, нафтенов и аренов по светопоглощению бензинов в ближней ИК-области // Заводск. лаборатория. Диагностика материалов. 2005. Т. 71. № 11. С. 10.
- Vershinin V.I., Petrov S.V. The estimation of total petroleum hydrocarbons in waste waters by multiwave IR spectrometry with multivariate calibrations // Talanta. 2016. V. 148. P. 163.

- DIN 38409-H18. Bestimmung von Kohlenwasserstoffen. Ausgabe 02-1981.
- ГОСТ 51797-2001. Вода питьевая. Метод определения содержания нефтепродуктов / Контроль качества воды. Сб. ГОСТов. М.: Стандартинформ, 2010. 15 с
- 12. Иванов В.М. Гетероциклические азотсодержащие азосоединения. М.: Наука, 1982. 229 с.
- 13. Бурюкина П.А., Власова И.В., Спиридонова К.А. Применение хемометрических алгоритмов в спектрофотометрическом анализе смесей с подобными спектрами поглощения // Аналитика и контроль. 2013. Т. 17. № 3. С. 333.
- ГОСТ 10398-2016. Реактивы и особо чистые вещества. Комплексонометрический метод определения содержания основного вещества. М.: Стандартинформ, 2019. 20 с. (Russian standard GOST 10398-2016. Reagents and superpure substances. Complexonometric method for determination of main substance. 2019. 20 р.)
- 15. Вершинин В.И., Власова И.В., Цюпко Т.Г. Выявление отклонений от аддитивности в спектрофотометрическом анализе неразделенных смесей // Методы и объекты химического анализа. 2010. Т. 5. № 4. С. 226.
- 16. Olivieri A.C., Faber N. M., Ferre J., Boque R. Uncertainty estimation and figures of merit for multivariate calibration (IUPAC Technical Report) // Pure Appl. Chem. 2006. V. 78. № 4. P.633. https://doi.org/10.1351/pac200678030633
- 17. Дерффель К. Статистика в аналитической химии. M.: Мир, 1994. 268 с. (*Doerffel K.* Statistics in the Analytical Chemistry. Leipzig: VEB Deutscher Verlag für Grundstoffindustrie, 1987. 192 р.)
- Вострокнутова Е.В., Ябуров М.А., Голик В.М., Сапрыгин А.В. Определение массовой доли эпоксидных групп в эпоксидной смоле ДЭГ-1 методом спектрометрии в ближней ИК-области // Аналитика и контроль. 2011. Т. 15. № 2. С. 209.
- 19. Цюпко Т.Г., Петракова И.С., Бриленок Н.С., Николаева Н.А., Чупрынина Д.А., Темердашев З.А., Вершинин В.И. Определение суммарного содержания антиоксидантов методом FRAP // Аналитика и контроль. 2011. Т. 15. № 3. С. 287.
- 20. Власова И.В, Вершинин В.И., Цюпко Т.Г. Методология спектрофотометрического анализа смесей органических соединений. Проблема неаддитивности светопоглощения // Журн. аналит. химии. 2011. Т. 66. № 1. № 11. С. 25.