

УДК 543.422

Новые подходы к спектрофотометрическому анализу неразделенных смесей органических веществ

В. И. ВЕРШИНИН

Омский государственный университет им. Ф. М. Достоевского,
проспект Мира, 55а, Омск 644077 (Россия)

E-mail: vyvershinin@yandex.ru

Аннотация

Обсуждаются задачи и методические проблемы молекулярной абсорбционной спектрометрии как метода анализа неразделенных смесей органических соединений (нефтепродуктов, лекарственных препаратов и др.), который в ряде случаев успешно конкурирует с хроматографией. Использование хемометрических алгоритмов, в частности метода проекции на латентные структуры, позволяет успешно решить три основные проблемы: устранить влияние межэталонных спектральных наложений, учесть неаддитивность поглощения, нивелировать чувствительность определения однотипных аналитов. Приведен краткий обзор соответствующих исследований, выполненных в последние годы в Омском государственном университете.

Ключевые слова: анализ органических веществ, анализ неразделенных смесей, молекулярная абсорбционная спектрометрия, межэталонные наложения, неаддитивность, интегральные показатели

ВВЕДЕНИЕ

Количественный анализ неразделенных смесей по молекулярным спектрам поглощения в УФ, ИК или видимой области имеет давнюю и непростую историю [1]. В спектре смеси органических соединений редко удается найти участки (длины волн), где поглощает лишь один компонент, один вид молекул. Это затрудняет молекулярно-абсорбционный анализ смесей по сравнению с атомно-абсорбционным. Решению этой проблемы посвящено множество работ, начиная с исследований основоположника спектрофотометрического анализа – Карла Фирордта (1873 г.). Были разработаны методики прямого определения ряда органических соединений в лекарственных препаратах, нефтепродуктах и других смесях. Обычно пробу переводили в раствор, измеряли поглощение на нескольких длинах волн, а затем рассчитывали концентрации компонентов, решая систему алгебраических уравнений [2, 3]. Таким образом

можно рассчитать и суммарное содержание ряда определяемых соединений (аналитов), что важно для экологии и медицины.

Нередко перед регистрацией спектра пробы проводят дериватизацию аналитов, отделяют или маскируют мешающие компоненты. Например, фенолы, содержащиеся в природных водах, отгоняют с паром, а затем переводят в интенсивно окрашенные хинониминовые соединения [4]. Однако соответствующие фотометрические реакции недостаточно селективны. Многие органические соединения можно определять и без дериватизации, по собственному поглощению в УФ-области. В ИК-спектрометрии дериватизацию практически не используют.

Ввиду непредсказуемого влияния межэталонных наложений спектрометрия неразделенных смесей редко применялась на практике. Точным методом количественного анализа реальных объектов спектрометрия стала лишь в последние годы XX века, после создания хемометрических алгоритмов и раз-

работки программного обеспечения для обработки многомерных данных [5]. “Математизированные” варианты многоволновой спектроскопии сегодня применяют не только в научных исследованиях [6], но и в заводских контрольно-аналитических лабораториях. Так, пользуясь заранее полученной многомерной градуировкой, по УФ-спектру поглощения лекарственного препарата можно отдельно определить его активные компоненты даже в присутствии наполнителей [7]. По спектру поглощения бензина в ближней ИК-области можно установить его структурно-групповой состав, октановое число и другие характеристики [8]. Многоволновая спектроскопия неразделенных смесей в ряде случаев успешно конкурирует с хроматографией [9], обеспечивая примерно ту же точность результатов при меньших затратах времени и средств.

К сожалению, уникальные возможности “компьютеризированной” спектроскопии неизвестны большинству химиков и технологов, а сам метод еще не описан в вузовских учебниках. Возникающие в ходе анализа смесей методические проблемы обычно рассматривают, ограничиваясь смесями какого-либо одного типа. Идеи и достижения специалистов, занимающихся, например, анализом нефтепродуктов, недостаточно используются в анализе лекарственных препаратов, и наоборот. Очевидно, в дополнение к специфическим способам анализа смесей каждого типа надо развивать *общую методологию анализа смесей*. Проблемы *качественного* анализа неразделенных смесей обобщенно рассматривались в монографии [10] и в ряде обзоров. Общая методология *количественного* анализа неразделенных смесей только складывается [3, 11, 12]. Центром соответствующих исследований в России в последние годы стала кафедра аналитической химии Омского университета (ОмГУ), однако в этих работах участвуют и специалисты других организаций: Института проблем переработки углеводородов СО РАН (Омск), Томского политехнического университета, Кубанского университета (Краснодар), Северного (Арктического) федерального университета (Архангельск) и др. Методы спектроскопического анализа неразделенных смесей разрабатываются в Саратовском государственном университете [13–15]. Весьма интересные ра-

боты зарубежных исследователей опубликованы в журналах *Journal of Chemometrics* и *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* (см. обзор [16]).

В данной статье подведены итоги фундаментальных исследований в области спектроскопического анализа неразделенных смесей органических соединений. Эти работы выполнены на стыке аналитической химии, хемотрики и молекулярной спектроскопии. Выявленные в последние годы закономерности позволили нам разработать и внедрить в практику ряд экспрессных методик анализа нефтепродуктов, лекарственных препаратов, пищевых продуктов, питьевой воды. Знакомство с методологией и примерами анализа таких смесей поможет молодым исследователям успешно развивать этот перспективный метод применительно к новым объектам (полимерам, биоматериалам, катализаторам и др.).

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ЗАДАЧИ И МЕТОДИЧЕСКИЕ ПРОБЛЕМЫ

В анализе смесей можно выделить четыре типовые задачи: 1) определение единичного компонента; 2) отдельное определение ряда компонентов; 3) определение суммарного содержания группы однотипных компонентов; 4) отдельное определение нескольких групп. Все эти задачи можно решать как с разделением, так и без разделения компонентов. В настоящее время смеси органических соединений анализируют, разделяя все компоненты в хроматографической колонке, однако в ряде случаев это нецелесообразно. Полное разделение смеси не требуется при определении одного соединения или одной группы соединений. Учитывая преимущества спектроскопии – экспрессность, минимальное воздействие на пробу, простоту и дешевизну анализа, – для решения первой и третьей задач лучше применять этот метод. Если же надо отдельно определить содержание ряда компонентов одной пробы или групповой состав, то предпочтительнее использовать хроматографию. Однако ввиду неустойчивости некоторых аналитов в ходе их разделения и длительности хроматографического анализа иногда целесообразно использовать спектроскопию и для решения задач второго и четвертого типов.

ТАБЛИЦА 1

Методические проблемы, возникающие при решении задач разного типа в анализе смесей

Тип задачи	Что определяют	Методические проблемы
1	Содержание аналита (X)	Влияние посторонних веществ
2	Содержания ряда аналитов (X, Y, Z и т. п.)	Межэталонные наложения, неаддитивность светопоглощения, влияние посторонних веществ
3	Суммарное содержание группы однотипных аналитов, ΣX	Разная чувствительность определения аналитов, неаддитивность светопоглощения, не полностью известный качественный состав пробы, выбор стандартного вещества, влияние посторонних веществ
4	Суммарные содержания ряда групп, $\Sigma X, \Sigma Y, \Sigma Z$	Межгрупповые наложения спектров, внутригрупповые различия коэффициентов поглощения однотипных аналитов, неаддитивность светопоглощения, не полностью известный качественный состав пробы, выбор стандартных веществ, влияние посторонних веществ

Методические проблемы, с которыми приходится сталкиваться спектроскопистам в ходе анализа неразделенных смесей, определяются не природой исследуемой смеси и не выбором той или иной области спектра, а типом решаемой задачи. Естественно, в ряду перечисленных задач число и сложность этих проблем возрастают (табл. 1). Главные проблемы во всех случаях – межэталонные спектральные наложения и неаддитивность светопоглощения. При определении суммарных содержаний добавляется проблема неодинаковой чувствительности определения однотипных компонентов. Аналитики ОмГУ уделяют основное внимание именно этим трем проблемам. Серьезные трудности возникают также в связи с не полностью известным качественным составом пробы и непредсказуемым влиянием посторонних веществ. Однако, судя по литературным данным, систематических исследований по этим направлениям нет.

Перечисленные факторы приводят к систематическим погрешностям анализа, которые можно исключить или снизить, применяя математическую обработку спектральных данных.

Цели математической обработки – извлечение максимального количества информации о составе исследуемой системы и оценка достоверности этой информации. Рассмотрим методические проблемы, возникающие в спектрометрическом анализе смесей органических соединений, и способы решения этих проблем, основанные на применении хемометрических алгоритмов.

Учет межэталонных наложений

Проблема межэталонных наложений стоит особенно остро в случае одновременного и раздельного определения ряда компонентов смеси (задача второго типа). На рис. 1 приведены спектры поглощения шести витаминов в УФ-области. Определить содержание каждого витамина по спектру такой смеси, на первый взгляд, кажется невозможным. Поэтому, разрабатывая методики анализа поливитаминных смесей, наши предшественники основное внимание уделяли поиску специфических для каждого компонента фотометрических

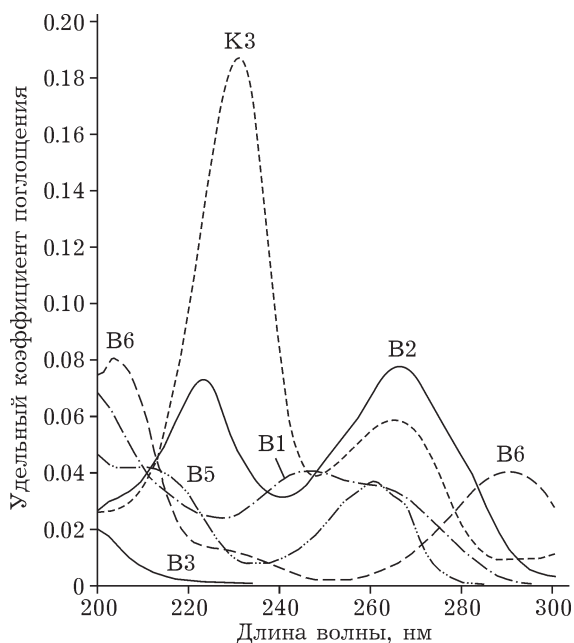


Рис. 1. Спектры поглощения некоторых водорастворимых витаминов.

реакций либо разделению витаминов методом ВЭЖХ. Однако с появлением хемометрических алгоритмов межэталонные наложения перестали быть непреодолимым препятствием. Используя алгоритм проекции на латентные структуры, по спектру поливитаминовой смеси теперь можно определить концентрации каждого витамина и их суммарное содержание [17]. При этом химические реакции не проводятся. При наличии заранее подготовленной многомерной градуировки анализ смеси занимает всего 20–30 мин.

Известно множество хемометрических алгоритмов, пригодных для анализа смесей в условиях межэталонных наложений: метод главных компонент (ГК), метод множественной линейной регрессии (МЛР), метод проекции на латентные структуры (ПЛС), многочисленные методы декомпозиции спектров и др. [18]. В количественном анализе смесей широко применяют метод Фирордта [2], метод линейного программирования [3] и другие алгебраические методы. Влияние межэталонных наложений сильно снижается в результате дифференцирования спектров. Для решения конкретной аналитической задачи следует лишь выбрать наиболее подходящий способ математической обработки спектральных данных.

К сожалению, возможности разных хемометрических алгоритмов применительно к спектральному анализу смесей почти не изучены. Неизвестно, можно ли применять тот или иной метод, если качественный состав смеси не полностью известен. Что делать, если светопоглощение смеси неаддитивно? Какой алгоритм выбрать, если отсутствуют эталоны или не выполняется закон Бугера – Ламберта – Бера, если оптические свойства или концентрации компонентов резко различаются? Специалисты ОмГУ сначала должны были изучить и сопоставить аналитические возможности разных алгоритмов. При этом в качестве модельных объектов использовали смеси органических соединений, от бинарных до десятикомпонентных. Концентрации компонентов в фотометрируемом растворе составляли 10^{-7} – 10^{-4} моль/л, соотношения концентраций – до 20 : 1. Модифицированные и проверенные на модельных смесях алгоритмы использовали для разработки методик анализа реальных объектов. Так, груп-

па И. В. Власовой занималась анализом лекарственных препаратов, группа Т. В. Антоновой – гидрохимическими объектами, группа Т. Г. Цюпка – пищевыми продуктами. Другие группы анализировали нефтепродукты, смеси продуктов лабораторного органического синтеза и т. п. Проведенные исследования показали, что с помощью хемометрических алгоритмов можно получить точные (± 5 отн. %) результаты анализа неразделенных смесей даже тогда, когда УФ- или ИК-спектры поглощения компонентов полностью перекрываются. Однако одни алгоритмы (метод Фирордта) пригодны лишь в самых простых случаях (2–3 компонента), другие (МЛР) могут использоваться и для более сложных смесей (4–5 компонентов), а третьи (ПЛС) дают хорошие результаты даже в анализе 10-компонентных смесей [19].

Многие хемометрические алгоритмы требуют предварительного построения математической модели (многомерной градуировки). Такие модели рассчитывают по спектрам смесей известного качественного и количественного состава, которые составляют так называемую обучающую выборку. Однако неясно, какие именно смеси должны входить в эту выборку и сколько смесей требуется в каждом случае. Считается, что чем больше, тем лучше. Но в ряде случаев это не так. Наши исследования показали, что при увеличении объема обучающей выборки погрешности последующих анализов изменяются немонотонно (рис. 2): сначала они снижаются, а далее

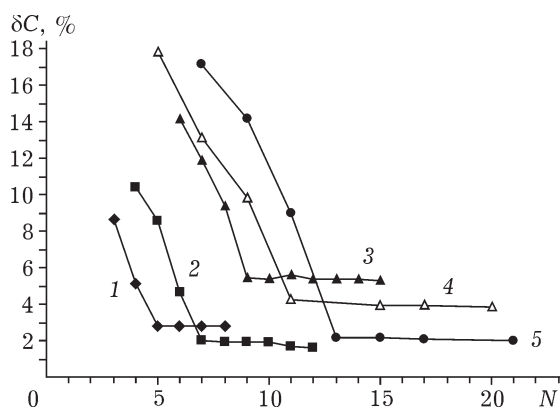


Рис. 2. Зависимость обобщенной погрешности анализа (δC) модельных смесей от объема обучающей выборки (N): 1–5 – число одновременно определяемых компонентов (n), равное 1–5 соответственно.

остаются примерно постоянными [20]. Необходимое и достаточное число смесей известного состава (оптимальный объем обучающей выборки) зависит от сложности решаемой задачи, прежде всего от числа одновременно определяемых аналитов. Как видно из рис. 2, для построения многомерной градуировки методом ПЛС целесообразно использовать обучающие выборки, содержащие $N = 2n + 1$ смесей известного состава, где n – число одновременно определяемых компонентов. Дальнейшее увеличение параметра N не приведет к повышению точности. Вместе с тем, оптимальное значение N в некоторых случаях заметно превышает $(2n + 1)$ [21]. Превышение требуется в следующих случаях: а) спектры компонентов очень похожи (достоверно закоррелированы); б) одновременно определяют макро- и микрокомпоненты пробы; в) одновременно определяют сильно- и слабопоглощающие соединения.

Удалось также установить, какие именно смеси должны входить в обучающую выборку, чтобы обеспечить наибольшую точность последующих анализов при реализации метода МЛР. Для решения этой задачи был использован аппарат матричного анализа и создано специальное программное обеспечение, которое автоматически рассчитывает оптимальный состав обучающих выборок [22]. Пользователь должен лишь указать нижние и верхние границы диапазонов содержания каждого аналита в исследуемом объекте, а также число смесей в обучающей выборке. Разработанные на основе этих рекомендаций экспрессные методики анализа лекарственных препаратов метрологически аттестованы и внесены в Федеральный реестр методик анализа. Примером может служить методика одновременного определения активных компонентов лекарственного препарата “Папазол” по спектру поглощения его водного раствора в УФ-области (табл. 2).

Использован алгоритм МЛР в варианте не прямой градуировки, т. е. регрессионные коэффициенты для папаверина и дибазола определены по спектрам модельных смесей ($N = 5$). Данная методика внесена в Федеральный реестр (ФР 1.31.2010.07919); по точности она не уступает фармакопейной, но результат достигается быстрее и без применения токсичных реагентов.

Для контроля качества лекарственных препаратов по спектрам поглощения в ближней ИК-области пригодны и другие алгоритмы (в частности, метод ГК), которые также предполагают построение многомерных градуировок [7]. Альтернативный подход к решению задач, связанных с отдельным определением ряда компонентов, развивают саратовские исследователи [15]. Они используют хемометрические алгоритмы для декомпозиции спектра смеси. Выделенные компьютером субспектры очень похожи на спектры компонентов данной смеси, взятых порознь; при правильном выборе алгоритма и диапазона длин волн соответствующие коэффициенты корреляции близки к 1. Благодаря этому можно опознавать компоненты и проводить качественный анализ смесей, вплоть до шести-компонентных. Далее определяют вклад каждого компонента в суммарное поглощение смеси на аналитической длине волны и, наконец, рассчитывают концентрации компонентов.

Межэталонные наложения мешают и спектрометрическому определению группового состава объектов (задача четвертого типа). Правильно подобрать состав обучающей выборки и спектральный диапазон для построения адекватных многомерных градуировок в этом случае намного труднее. Серьезную проблему также представляет фоновое поглощение света посторонними соединениями (не теми, которые надо определять). С этой проблемой мы впервые столкнулись в анализе лекарственных и витаминных препаратов, содер-

ТАБЛИЦА 2

Метрологические характеристики методики анализа препарата “Папазол”

Аналиты	Диапазон содержания, мг/табл.	Показатель повторяемости, %	Показатель воспроизводимости, %	Показатель точности, %
Дибазол	20–40	2.0	3.0	7.0
Папаверина гидрохлорид	20–40	1.5	2.0	6.0

жащих наполнители. В подобных случаях смеси, используемые для построения многомерной градуировки, должны содержать тот же набор мешающих веществ, что и исследуемые пробы. Соответствие должно быть выдержано и по количественному содержанию примесей, что требует наличия надежных референтных методик анализа или стабильного и заранее известного состава примесей.

Проблема неаддитивности

При решении задач, связанных с анализом неразделенных смесей, особую проблему представляет неаддитивность светопоглощения, обычно связанная с взаимодействием компонентов. Это источник систематических погрешностей [12]. При неаддитивности светопоглощения оптическая плотность смеси (A_{Σ}) достоверно отличается от суммы оптических плотностей компонентов, измеренных порознь при той же длине волны (ΣA). Отклонение $\Delta A = A_{\Sigma} - \Sigma A$ может быть как положительным, так и отрицательным. Отметим, что систематические исследования отклонений от аддитивности светопоглощения (ОА) ранее не проводились, хотя в практике анализа неразделенных смесей статистически значимые ОА встречаются довольно часто. С другой стороны, измерения ОА могут дать ценную информацию о химических (в том числе супрамолекулярных) взаимодействиях в растворах.

По-видимому, при разработке методик анализа неразделенных смесей проверка аддитивности аналитических сигналов должна стать столь же обязательной и тривиальной процедурой, как оценка чувствительности или проверка селективности. Желательно проверять аддитивность светопоглощения модельных смесей в разных условиях, при варьировании концентрации аналита и реагентов, величины рН, длины волны и т. п. [23]. Отклонения легко выявить, если снять спектр смеси и визуально сопоставить его с суперпозицией спектров компонентов. Примером может служить спектрометрическое определение суммарного содержания двух антиоксидантов – аскорбиновой кислоты и кверцетина – по реакции с железом (III) и фенантролином (рис. 3, а). В этом случае проявляются отрицательные ОА, достигающие по абсолютной величине около 40 % [24]. Это приводит к заниженной оценке суммарного содержания антиоксидантов. Для другой пары – аскорбиновой кислоты и рутина – ОА незначимы (см. рис. 3, б), а суммарная концентрация определяется правильно.

Выявить небольшие, но статистически значимые ОА при фиксированной длине волны довольно сложно: нужна статистическая обработка данных, полученных при многократном приготовлении и фотометрировании растворов, и последующая оценка значимости нуль-гипотезы. Стандартных способов такой проверки нет. Ранее для этой цели предлага-

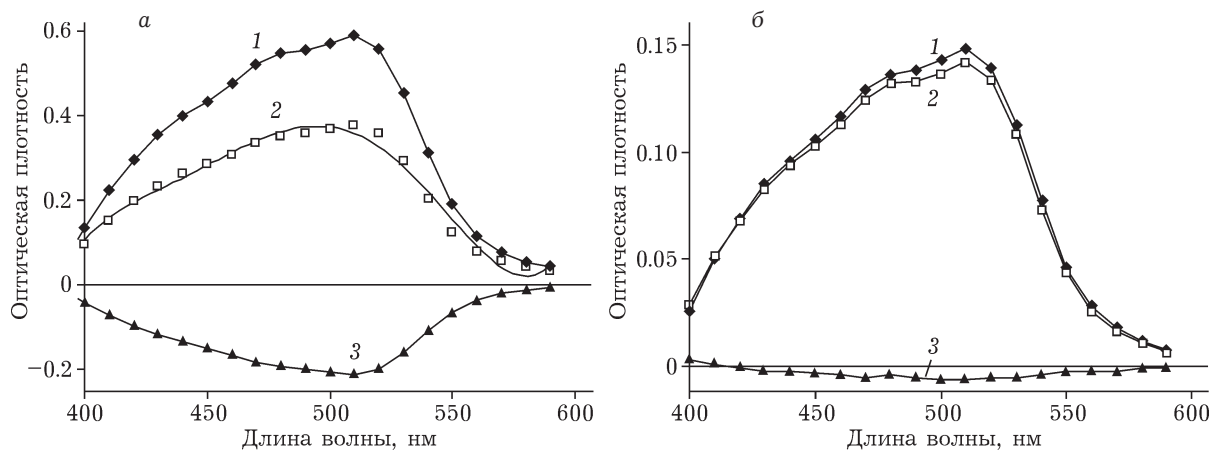


Рис. 3. Спектры продуктов взаимодействия смесей антиоксидантов с комплексным реагентом ($C_{Fe} = 60$ мкмоль/л, $C_{o-фен} = 100$ мкмоль/л, $T = 25$ °С): а – аскорбиновая кислота (10 мкмоль/л) + кверцетин (3 мкмоль/л); б – аскорбиновая кислота (2.5 мкмоль/л) + рутин (2.5 мкмоль/л): 1 – ΣA , 2 – A_{Σ} , 3 – ΔA .

ТАБЛИЦА 3

Выявление отклонений от аддитивности в ИК-области по $3S$ -критерию [26]

Состав смеси	ν , см^{-1}	A_{Σ}	ΣA	$ \Delta A $	$3S$	Значимость ΔA
Нафталин + антрацен	879.7	0.219	0.219	0	0.006	–
	3055.7	0.291	0.289	0.002	0.019	–
Этилендиамин + бензойная кислота	883.5	0.226	0.285	0.059	0.001	+
	1597.3	0.237	0.110	0.127	0.001	+
Цис- R^* + транс- R^*	1500.9	0.059	0.057	0.002	0.007	–
	1709.2	0.100	0.098	0.002	0.002	–

* R = N-[(2-оксогексилиден)метил]-2-хлорацетамид.

ли сложные и трудоемкие способы, основанные на применении корреляционного или регрессионного анализа [23]. Нами разработаны и проверены три способа выявления статистически значимых ОА [25]. Они применимы не только в спектрометрии, но и в других инструментальных методах анализа. Самый простой способ – проверка по $3S$ -критерию. Для заведомо аддитивных смесей (например, смесей аренов) величина ΔA по модулю не превышает утроенного стандартного отклонения оптической плотности смеси. В других случаях (смеси этилендиамина и органических кислот) $|\Delta A| > 3S$, что свидетельствует о статистической значимости ОА (табл. 3).

Неаддитивное поглощение смесей кислот и аминов в ИК-области объясняется протолитическим взаимодействием компонентов. Отметим, что проверку аддитивности ИК-спектров нельзя проводить, используя шкалу пропусков: $\Sigma T \neq T_{\Sigma}$ даже в случае аддитивных смесей. Нельзя судить об аддитивности и по положению пиков в шкале длин волн (волновых чисел). Достоверные сдвиги пиков могут появляться и в спектрах аддитивных смесей, из-за суперпозиции расположенных близко друг к другу пиков разных веществ [26].

Более сложный, но и самый информативный способ проверки – построение статистических моделей светопоглощения в ходе полного факторного эксперимента. Это позволяет связать величину ОА с составом смеси, т. е. прогнозировать степень неаддитивности, причем с довольно высокой точностью прогнозов: для систем, изученных в работах [24, 25], расхождения прогнозируемых и реальных значений ΔA не превышают 20 отн. %. С помощью подобных моделей можно рассчитывать условия проведения анализа, в которых

ОА должны быть пренебрежимо малы. Это возможно даже в случае, когда причины возникновения неаддитивности не установлены. Однако всегда следует попытаться выяснить эти причины! Помимо протолиза, образования ассоциатов и других процессов взаимодействия растворенных веществ, ОА могут вызываться конкуренцией аналитов за реагент (при малом его избытке), ингибированием или каталитическим ускорением фотометрических реакций, неверной градуировкой измерительного прибора и др. [12]. С учетом этого можно осознанно изменять методику анализа (концентрационные условия, длины волн, способы измерения сигналов), предотвращая появление отклонений от аддитивности. Примером могут служить проведенные в КубГУ исследования по оценке суммарного содержания антиоксидантов в пищевых продуктах [27]. Важно понять, как именно ОА влияют на результаты анализа смесей. Для некоторых алгоритмов эта связь установлена теоретически [28, 29], для других – в ходе экспериментов на модельных смесях. В любом случае систематические погрешности анализа быстро возрастают по мере увеличения ОА [19]. Сопоставление результатов

ТАБЛИЦА 4

Погрешности (δC , %) определения папаверина (П) и дибазола (Д) в трех неаддитивных бинарных смесях при использовании разных алгоритмов расчета (МФ, МЛР, ПЛС)

Смеси	МФ		МЛР		ПЛС	
	П	Д	П	Д	П	Д
1	17.3	12.1	3.1	-0.8	0.5	-0.2
2	-3.4	1.9	-3.1	2.4	0.7	-0.2
3	2.1	-3.9	-1.1	-2.3	0.9	-0.6

анализа одних и тех же смесей с применением ряда алгоритмов показало, что наиболее чувствителен к ОА метод Фирордта, а наименее чувствителен – метод ПЛС (табл. 4).

Возможность точной оценки суммарных содержаний

Задачи, связанные с определением суммарного содержания ряда соединений, родственных в структурном или функциональном отношении (задачи 3-го типа), в теоретическом аспекте изучены довольно слабо, несмотря на их важность. Чаще всего суммарное содержание однотипных компонентов смеси находят “в пересчете на стандартное вещество”. Примером может быть определение фенольного индекса (ФИ). Это экспрессная оценка суммарного содержания летучих фенольных соединений в природных и сточных водах, выраженного в пересчете на простейший фенол C_6H_5OH . Для определения ФИ фенолы отгоняют с паром, превращают их в окрашенные дериваты по реакции с 4-аминоантипирином, измеряют обобщенный аналитический сигнал (оптическую плотность на фиксированной длине волны в видимой области) и, наконец, вычисляют ФИ, пользуясь градуировочным графиком, построенным по стандартным растворам C_6H_5OH [30].

Экспрессные оценки суммарных содержаний однотипных соединений, выраженные

в пересчете на какое-либо стандартное вещество, называют интегральными показателями (ИП) и широко применяют в анализе объектов окружающей среды, нефтепродуктов и пищевых продуктов (рис. 4). Однако результаты анализа одной и той же пробы, выраженные в пересчете на разные стандартные вещества, достоверно различаются между собой и не соответствуют действительному суммарному содержанию искомым компонентов (c_{Σ}). При этом значение интегрального показателя (c^*) может отличаться от величины c_{Σ} в несколько раз! Ввиду неточности, субъективности и теоретической необоснованности многих ИП известный испанский аналитик Валкарсель назвал ИП “черной дырой” химической метрологии [31]. Тем не менее систематические исследования в данной области до сих пор не проводились.

Мы показали, что появление систематических погрешностей при оценке суммарных содержаний в пересчете на стандартное вещество обусловлено неодинаковой чувствительностью определения разных компонентов смеси, что проявляется в виде “веера градуировок” (рис. 5). Разработан алгоритм прогнозирования соответствующих погрешностей, учитывающий возможный состав исследуемой смеси и природу стандартного вещества [32]. Оказалось, что относительная погрешность $\delta c = (c^* - c_{\Sigma})/c_{\Sigma}$ зависит от выбора стандартного вещества и соотношения концент-

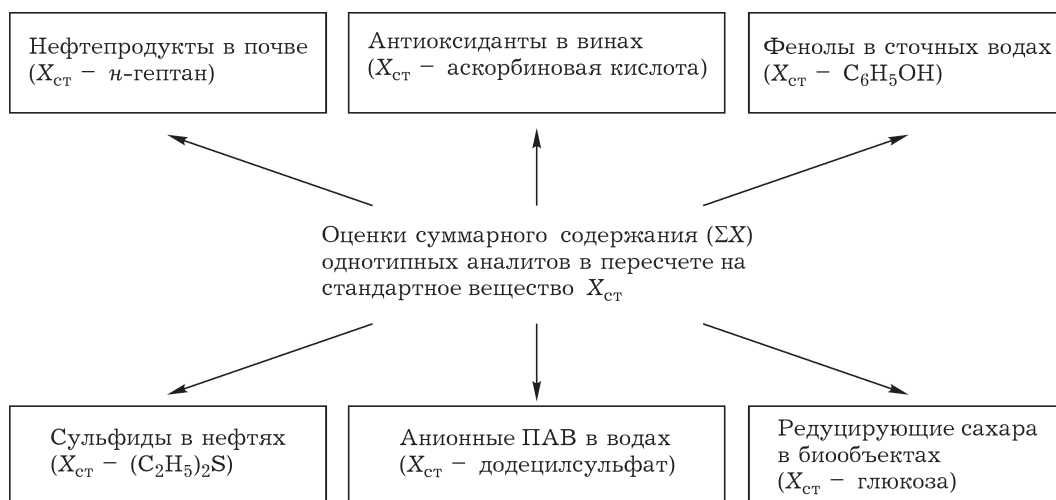


Рис. 4. Интегральные показатели для оценки суммарных содержаний аналитов разного типа.

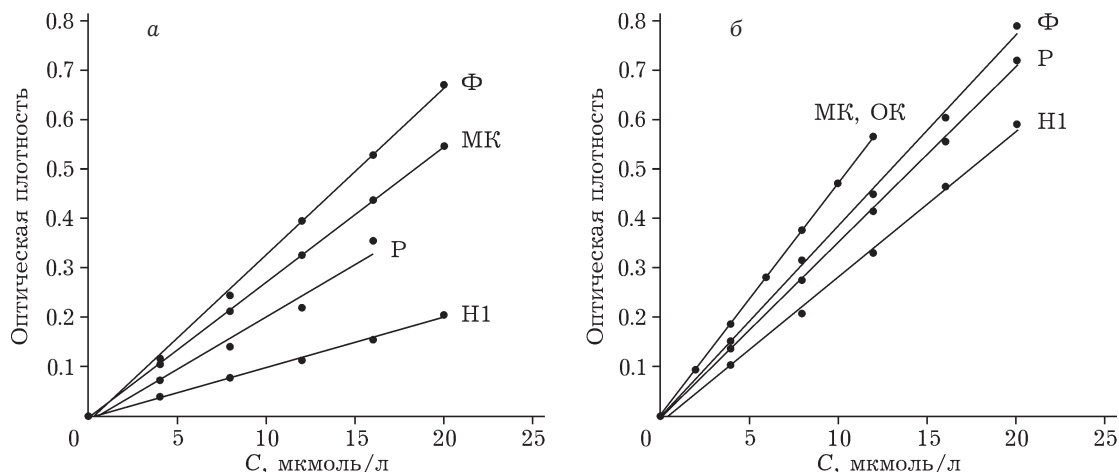


Рис. 5. Вееры градуировок при определении фенолов по реакции с сульфаниловой кислотой: а – до оптимизации методики: $\lambda = 450$ нм, рН 8.3, $T = 3.4$; б – после оптимизации: $\lambda = 360$ нм, рН 7.3, $T = 1.5$; Ф – фенол (карболовая кислота), МК – *мета*-крезол, ОК – *орто*-крезол, Р – резорцин, Н1 – 1-нафтол.

раций компонентов смеси, но не от их общего содержания:

$$\delta c = \sum p_i R_i - 1 \quad (1)$$

где $p_i = K_i/K_{ст}$ – нормированная по стандартному веществу чувствительность определения i -го аналита; R_i – доля i -го аналита в смеси совместно определяемых соединений. Результаты прогнозирования δc по формуле (1) хорошо согласуются с экспериментом. Соответствующая проверка была проведена на разных модельных смесях с использованием разных спектрометрических методов, рефрактометрии и кондуктометрии. Разработанный алгоритм можно применять для оптимизации методик анализа (подбор стандартного вещества, длины волны и т. п.). Однако зачастую неизвестно, какие именно аналиты данной группы и в каком концентрационном соотношении будут присутствовать в исследуемых пробах, а без этой информации нельзя использовать алгоритм, приведенный в работе [32]! В последнее время это ограничение удалось преодолеть. Мы стали прогнозировать не сами погрешности, а их предельные значения, которые зависят не от качественного и количественного состава той или иной смеси, а от степени различия коэффициентов чувствительности разных аналитов данной группы, т. е. от того, насколько широк веер градуировок. В качестве параметра оптимизации удобно использовать переменную T , равную отношению максимального и минимального

коэффициентов чувствительности при определении всех аналитов данной группы:

$$T = K_{max}/K_{min} \quad (2)$$

Чем шире веер градуировок, тем больше (по модулю) могут быть погрешности анализа неразделенной смеси. Суммарное содержание однотипных аналитов в пересчете на некоторое стандартное вещество определяется с погрешностями, лежащими в интервале $Q^{-1} - 1 \leq \delta C \leq W - 1$ (3) где $Q = K_{ст}/K_{min}$, $W = K_{max}/K_{ст}$, $QW = T$. Интервал тем шире, чем больше величина T . Имеет значение и второй фактор – выбор стандартного вещества. Как показано в работе [33], оптимальное значение $K_{ст} = 0.5(K_{min} + K_{max})$, т. е. градуировочный график для стандартного вещества должен проходить в середине веера градуировок, полученного в условиях анализа для всех соединений данной группы. Эта рекомендация подтверждена в эксперименте, в частности, при спектрометрическом определении суммарного содержания фенолов в модельных смесях разного состава. Следует также минимизировать ширину веера градуировок, варьируя длину волны, на которой измеряют суммарное поглощение смесей. Можно также варьировать рН раствора или менять способ расчета интегрального показателя. После оптимизации параметр T удастся уменьшить в 2–3 раза, благодаря чему точность оценок суммарных содержа-

ТАБЛИЦА 5

Определение суммарного содержания антиоксидантов полифенольного типа (ΣC_{AO}) в пятикомпонентных модельных смесях с применением алгоритма МЛР

ΣC_{AO} , мкмоль/л		δC , %	s_r
Введено	Найдено		
66	67.3	1.9	0.005
67	70.1	4.7	0.002
69	70.8	2.7	0.018
70	73.0	4.3	0.001
73	74.9	2.6	0.002
77	74.8	-2.8	0.030
78	74.1	-5.0	0.015
81	80.8	-0.2	0.006
83	83.5	0.6	0.006
85	86.0	1.2	0.004
89	90.5	1.7	0.005

ний значительно возрастает: погрешности снижаются в 3–4 раза [27, 33].

Еще более точные оценки суммарных содержаний можно получить, если регистрировать весь спектр поглощения пробы, а затем рассчитывать суммарные содержания по заранее построенным многомерным градуировкам [34, 35]. В этом случае погрешность при анализе смеси известного качественного состава не превышает 5 отн. % (табл. 5).

В ходе соответствующих исследований получены практически важные результаты. В частности, в ОмГУ были разработаны “хемометрические” методики структурно-группового анализа бензинов, основанные на регистрации спектра поглощения пробы в ближней ИК-области и его обработке с применением алгоритма ПЛС-1 [9]. Использование новых

методик вместо стандартной методики ASTM D.5134–98, предполагающей полное разделение компонентов пробы, позволяет более чем в 20 раз сократить длительность анализа без существенного ухудшения его точности (табл. 6). Разработанные методики применяются для оперативного контроля и коррекции технологических процессов на Омском нефтекомбинате.

Единственный недостаток подобных методик состоит в том, что для каждого типа проб (например, для прямогонных бензинов) нужно составлять и использовать свою многомерную градуировку. Попытки применить ту же градуировку для анализа проб иного типа (например, для бензиновых фракций риформинга) приводят к большим погрешностям. В связи с этим в ходе анализа автоматически проверяется соответствие спектра очередной пробы используемой градуировке. В противном случае для анализа этой пробы надо использовать другую модель (заранее загруженную в память компьютера). Подбор адекватных обучающих выборок, построение и тестирование градуировок требуют немалых затрат труда и времени. Однако в дальнейшем анализ каждой пробы занимает всего 5–10 мин. Очевидно, что спектрометрическое определение группового состава бензинов целесообразно при массовом анализе однотипных проб, а для единичных анализов разнородных проб лучше использовать метод ГЖХ.

Качественный состав объектов анализа обычно известен далеко не полностью, и не ясно, какие соединения и в каком соотношении следует использовать при формировании обучающей выборки. Эта неопределенность затрудняет применение хемометрических ал-

ТАБЛИЦА 6

Структурно-групповой состав прямогонных бензинов, найденный по стандартной (ГЖХ) и разработанной (БИК) методикам (δ – относительное расхождение результатов, отн. %)

Номер пробы	Нафтены, мас. %			Парафины, мас. %			Арены, мас. %		
	ГЖХ	БИК	δ , %	ГЖХ	БИК	δ , %	ГЖХ	БИК	δ , %
1	48.03	48.08	0.1	43.27	43.34	0.2	8.69	8.52	-2.0
2	48.25	48.02	-0.5	42.71	43.02	0.7	9.04	8.82	-2.5
3	48.94	48.81	-0.3	43.70	43.85	0.3	7.34	7.48	1.9
4	48.61	47.80	-1.7	45.00	44.49	1.1	7.38	7.77	5.3

горитмов для оценки суммарных содержаний однотипных аналитов. Выйти из положения можно двумя способами: 1) включать в обучающую выборку как можно больше смесей с не полностью известным качественным составом, но определять в каждой такой смеси суммарное содержание аналитов по стандартной (референтной) методике; 2) создавать и использовать информационно-избыточные математические модели. Первый подход применяют в случае, если есть надежные референтные методики. Так, суммарные содержания парафинов, нафтен и аренов в “обучающих” пробах бензинов заранее определяли по ASTM D.5134–98 методом ГЖХ [9], а суммарное содержание полифенолов в образцах чая – методом Фолина – Чиокальтеу [34]. Второй подход можно применять, когда подходящих референтных методик нет. В этом случае “обучающие” смеси готовят по точным навескам как можно большего числа индивидуальных аналитов. Далее рассчитывают многомерную градуировку (информационно-избыточную модель). Используя эту модель, по спектру реальной пробы можно рассчитать концентрации всех соединений, использованных при формировании модели. Концентрации соединений, отсутствующих в данной пробе, оказываются нулевыми или отрицательными, а присутствующих – положительными [35]. Это позволяет уточнить качественный состав смеси, а последующее суммирование концентраций опознанных компонентов дает довольно точную (± 10 отн. %) оценку общего содержания аналитов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Необходимо отметить, что развитие прямого спектрометрического анализа неразделенных смесей с применением хемометрических алгоритмов только начинается, однако перспективность нового метода уже не вызывает сомнений. Разумеется, он никогда не заменит хроматографический анализ, но может и должен быть важным дополнением, а в некоторых случаях – удачной альтернативой.

Для развития спектрометрического анализа неразделенных смесей представляют осо-

бый интерес следующие перспективные направления исследований:

- повышение точности анализа неразделенных смесей в неблагоприятных ситуациях (сходство эталонных спектров, большой избыток одних аналитов по сравнению с другими и т. п.);

- применение многоволновой спектрометрии и хемометрических алгоритмов для изучения химических взаимодействий в растворах;

- повышение точности оценки суммарных содержаний аналитов с использованием хемометрических алгоритмов и интегральных показателей, в частности в анализе объектов окружающей среды

Успешное решение трех основных проблем спектрометрического анализа неразделенных смесей (межэталонные наложения, неаддитивность, разная чувствительность определения однотипных соединений) открывает путь к созданию множества хороших методик экспрессного анализа самых разных объектов. В частности, “компьютеризированную” спектрометрию можно использовать для контроля состава жидких или газообразных реакционных смесей при реализации каталитических процессов, а также при изучении кинетики и механизма соответствующих химических реакций.

Исследования проведены при поддержке Министерства образования и науки РФ в рамках программы “Научные и научно-педагогические кадры инновационной России” (проект № 3.4461.2011) и РФФИ (проект № 12-03-00446-а, 2012–2013 гг.).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Золотов Ю. А., Вершинин В. И. История и методология аналитической химии. М.: Академия, 2007. 464 с.
- 2 Берштейн И. Я., Каминский Ю. А. Спектрофотометрический анализ в органической химии. Л.: Химия, 1986. 200 с.
- 3 Васильев А. Ф. Теоретические основы современных методов количественного анализа многокомпонентных систем по спектрам поглощения: Дис. д-ра хим. наук. М., 1976. 314 с.
- 4 Коренман И. М. Фотометрический анализ. Методы определения органических соединений. М.: Химия, 1975. 359 с.
- 5 Эсбенсен К. Анализ многомерных данных. Черноголовка: Изд-во ИПХФ РАН, 2005. 160 с.
- 6 Математические методы и ЭВМ в аналитической химии: Сб. науч. тр. / Отв. ред. Л. А. Грибов. М.: Наука, 1989. 300 с.
- 7 Арзамасцев А. П., Садчикова Н. П., Титова А. П. // Вопросы биол., мед. и фарм. химии. 2010. № 1. С. 16–20.

- 8 Иванова Л. В., Сафиева Р. З., Кошелев В. Н. // Вестн. Башк. ун-та. 2008. Т. 13, № 4. С. 869–874.
- 9 Вершинин В. И., Коптева Е. В., Троицкий В. В. // Завод. лаб. 2005. Т. 71, № 11. С. 10–15.
- 10 Вершинин В. И., Дерендяев Б. Г., Лебедев К. С. Компьютерная идентификация органических соединений. М.: Академкнига, 2002. 197 с.
- 11 Хоц М. С. // Математические методы и ЭВМ в аналитической химии. М.: Наука, 1989. С. 87–99.
- 12 Власова И. В., Вершинин В. И., Цюпко Т. Г. // ЖАХ. 2011. Т. 66, № 1. С. 24–33.
- 13 Монахова Ю. Б., Астахов С. А., Муштакова С. П. // ЖАХ. 2009. Т. 64, № 5. С. 495–505.
- 14 Monakhova Yu. B., Astakhov S. A., Kraskov A. V., Mushtakova S. P. // Chem. Intel. Lab. Syst. 2010. Vol. 103, No. 2. P. 108–115.
- 15 Monakhova Yu. B., Mushtakova S. P., Kolesnikova S. S., Astakhov S. A. // Analyt. Bioanalyt. Chem. 2010. Vol. 397, No. 3. P. 1297–1306.
- 16 Родионова О. Е., Померанцев А. Л. // Усп. химии. 2006. Т. 75, № 4. С. 302–321.
- 17 Власова И. В., Масякова Е. Н., Корягина А. В. // Завод. лаб. 2010. Т. 76, № 2. С. 18–20.
- 18 Brereton P. G. Chemometrics. Data Analysis for Laboratory and Chemical Plant. NY: Wiley, 2003. 489 p.
- 19 Власова И. В., Вершинин В. И., Шелпакова А. С. // Вестн. ОмГУ. 2010, № 2. С. 14–20.
- 20 Власова И. В., Шелпакова А. С., Вершинин В. И. // Завод. лаб. 2011. Т. 75, № 4. С. 19–23.
- 21 Власова И. В., Бурюкина П. А. // Вестн. ОмГУ. 2012. № 2. С. 123–126.
- 22 Власова И. В., Шелпакова А. С., Нагаев А. А. // Вестн. ОмГУ. 2010. № 2. С. 99–104.
- 23 Khots M. S., Nazarov V. I., Lyovin A. A. // Chem. Intell. Lab. Syst. 1993. Vol. 18, No. 3. P. 281–284.
- 24 Вершинин В. И., Власова И. В., Цюпко Т. Г., Николаева Н. А., Харьковская М. А. // ЖАХ. 2011. Т. 66, № 7. С. 708–715.
- 25 Вершинин В. И., Власова И. В., Цюпко Т. Г. // Методы и объекты хим. анализа. 2010. Т. 5, № 4. С. 226–233.
- 26 Усова С. В., Богза Ю. П., Гончаров Д. С., Вершинин В. И. // Аналитика и контроль. 2011, № 1. С. 78–84.
- 27 Цюпко Т. Г., Петракова И. С., Бриленок Н. С., Николаева Н. А., Чупрынина Д. А., Темердашев З. А., Вершинин В. И. // Аналитика и контроль. 2011. Т. 15, № 3. С. 287–298.
- 28 Власова И. В., Вершинин В. И. // ЖАХ. 2009. Т. 64, № 6. С. 571–576.
- 29 Власова И. В., Исаченко Н. А., Шилова А. В. // ЖАХ. 2010. Т. 65, № 5. С. 481–487.
- 30 Воробьева Т. В., Терлецкая А. В., Кущевская Н. Ф. // Химия и технология воды. 2007. № 4. С. 370–382.
- 31 Vaena J. R., Valcarcel M. // Trends in Analytical Chemistry. 2003. No. 10. P. 641.
- 32 Вершинин В. И., Бриленок Н. С., Цюпко Т. Г. // ЖАХ. 2012. Т. 67, № 7. С. 715–720.
- 33 Вершинин В. И., Кулешова М. П., Исаченко Н. А., Шилигин П. В. // ЖАХ. 2013. Т. 68, № 6. (в печати).
- 34 Quansheng C., Jiewen Z., Muhua L., Jianrong C., Jianhua L. // J. Pharm. Biomed. Analysis. 2008. Vol. 46, No. 3. P. 568–571.
- 35 Власова И. В., Цюпко Т. Г., Шелпакова А. С. // Методы и объекты хим. анализа. 2012. Т. 7, № 1. С. 118–124.