

УДК 543.422

НОВЫЕ ПОДХОДЫ К СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОМУ АНАЛИЗУ МНОГОКОМПОНЕНТНЫХ СМЕСЕЙ

© 2007 Власова И.В.* , Шилова А.В.*

Предложен новый критерий выбора аналитических длин волн при определении компонентов в бинарных смесях по методу Фирордта. Показано, что для повышения точности анализа желательно использовать несколько однотипных наборов длин волн - из числа ранее отобранных с помощью критерия, а затем усреднять результаты соответствующих анализов. В этом случае компоненты с малым и большим содержанием можно определять примерно с одинаковой погрешностью. Предложенный подход применен к анализу некоторых лекарственных препаратов.

Постановка проблемы. Метод Фирордта - общеизвестный способ спектрофотометрического анализа смесей, используемый при перекрывании спектров поглощения компонентов [1]. Точность этого метода, основанного на решении системы линейных уравнений, во многом зависит от правильного выбора аналитических длин волн (АДВ). Известен целый ряд критериев выбора АДВ, в которых учитываются: значения молярных (или удельных) коэффициентов поглощения компонентов [1-4], ожидаемые концентрации компонентов [2], случайные погрешности при определении коэффициентов поглощения [5-6], а также различия случайных погрешностей спектрофотометрических измерений на разных длинах волн [7,8]. Достоинства и ограничения разных критериев детально рассмотрены в работах И.Г. Перькова [5], А.И. Гризодуба и соавт. [7,8].

Перечисленные выше критерии выбора АДВ имеют одну общую черту. Наблюдаемые на практике небольшие отклонения от аддитивности ($\Delta A = A_{X+Y} - A_X - A_Y$) рассматриваются как случайные погрешности измерений. Однако в реальных методиках анализа могут наблюдаться отклонения от аддитивности, вызываемые систематически действующими факторами. Если неаддитивность спектра смеси доказана, то анализ проводят по методу градуировки, с предварительным центрированием полученных данных. В этом случае критерием при выборе аналитических длин волн может являться, например, минимум дисперсии градуировки для каждого компонента [9,10]. В конечном итоге для каждого компонента смеси находится свой оптимальный по критерию набор АДВ, причем, это может быть как определенная, так и переопределенная система. Реализация данного подхода требует приготовления большого числа смесей переменного состава, что весьма трудоемко, а поиск АДВ возможен только с помощью соответствующих пакетов компьютерных программ. Такой подход, несомненно, перспективен не только в случае доказанной неаддитивности регистрируемого аналитического сигнала, но и при анализе смесей, содержащих большое число компонентов, 4-6 и более.

Что же касается двух-трехкомпонентных смесей, то они не являются слишком сложными для анализа, и для нахождения концентраций всех компонентов можно использовать один, общий набор АДВ, даже если в спектре смеси имеются значимые отклонения от аддитивности. По литературным данным, для одной и той же системы эффект неаддитивности может проявляться в разной степени, в зависимости от длины волны, то есть $\Delta A = f(\lambda)$ [11]. Очевидно, при выборе оптимального набора АДВ надо избегать тех участков спектра, в которых проявляются «неслучайные» отклонения от аддитивности. В качестве АДВ следует выбирать такие длины волн, при которых отклонения вообще не наблюдаются или имеют чисто случайный характер. Таким образом, для выбора АДВ могут быть созданы и использованы критерии более общие, чем ранее предлагавшиеся. Они должны учитывать не только случайные погрешности измерений, но и влияние систематически действующих факторов [12], выявляя и «обходя стороной» участки с отклонением от аддитивности. Частный критерий такого типа предложен нами для анализа бинарных смесей. Отбор АДВ с использованием этого критерия, а затем и расчет результатов анализа можно вести с помощью специального программного обеспечения [13].

* Омский государственный университет им. Ф.М.Достоевского. Россия, 644077, Омск, пр.Мира 55а.
E-mail: vlasova@univer.omsk.su

Еще одной характерной чертой известных подходов является применение *одного* набора АДВ. Если погрешность анализа смеси оказывается выше допустимой, увеличивают число АДВ в наборе, т. е. переходят к решению переопределенных систем линейных уравнений [6,8]. Однако возможен и другой, более простой способ. Можно заранее отбирать *несколько* наборов АДВ, не содержащих избыточных длин волн, а затем усреднять результаты анализа, полученные с помощью разных наборов. При той же точности анализа объем вычислений будет не больше, чем при решении переопределенных систем, а подбор АДВ – проще.

Целью работы является упрощение алгоритма поиска общих наборов АДВ для одновременного определения компонентов в двухкомпонентных смесях, как в отсутствие, так и при наличии отклонений от аддитивности.

Поскольку метод Фирордта широко применяется в анализе лекарственных препаратов [14], проверку вышеизложенных предложений мы вели на модельных бинарных смесях, близких по составу к известным лекарственным препаратам. Для приготовления смесей использовали реактивы х.ч.: анальгин (АН), папаверина гидрохлорид (ПГ), хинина гидрохлорид (ХГ), дибазол (ДБ), кофеин (КФ), парацетамол (ПР) и др. Растворы этих веществ поглощают в УФ-области, молярные коэффициенты поглощения ϵ при λ_{\max} близки между собой, значения $\lg \epsilon$ составляют 3.8 – 4.4. Соотношение компонентов смесей составляло от 1:1 до 1:20 по массе, при этом соотношение вкладов компонентов в суммарный аналитический сигнал менялось от 1:1 до 1:12. Для растворов чистых веществ нарушения закона Бугера – Ламберта - Бера не выявлены, поэтому анализировать смеси этих веществ по методу Фирордта можно. Разработанные нами методики спектрофотометрического анализа модельных смесей мы применили к анализу лекарственных препаратов «Солпадеин», «Тетралгин», «Папазол» и «Анальгин-хинин», содержащих вышеуказанные вещества попарно.

Значимость отклонений от аддитивности. Прежде всего, надо было проверить исходное предположение. Действительно ли в спектрах некоторых бинарных смесей существуют как участки, на которых отклонения от аддитивности отсутствуют или имеют чисто случайный характер, так и участки, где эти отклонения статистически достоверны. Для проверки этого предположения записывали спектры поглощения водных растворов в области 220 - 300 нм на спектрофотометре СФ-2000-01. Использовали кварцевые кюветы с толщиной слоя $l = 1.0$ см, раствор сравнения – дистиллированная вода. Повторные измерения оптической плотности ($0.1 < A < 0.7$) на этом приборе характеризуются нормальным распределением случайных погрешностей, величина s_p не выше 0.003 ($n = 5$). При повторном приготовлении фотометрируемых растворов s_p возрастает до 0.007-0.015.

Рассмотрим в качестве примера данные, полученные для модельной системы ПГ - ДБ (концентрации компонентов по 3.0 мкг/мл). Оптическую плотность водных растворов ПГ, ДБ и их смесей измеряли при рН 6.0 (фосфатный буферный раствор) и постоянной ионной силе $\mu = 0.10$ (рис.1), а затем вычисляли отклонения от аддитивности ΔA (рис.2). Здесь и далее для каждой длины волны приведены усредненные значения ΔA , вычисленные по результатам измерения пяти повторно приготовленных растворов. Для сравнения на рис.2 указаны значения $3s$, вычисленные по результатам пяти повторных измерений величины A_{X+Y} (соответствующие растворы также готовились заново). В области 235-250 нм значения ΔA невелики, но в несколько раз превышают критерий $3s^1$. В спектрах других смесей мы также обнаружили участки, на которых систематические отклонения от аддитивности были статистически значимы. Были выявлены и такие системы, в которых отклонения от аддитивности во всем исследованном интервале длин волн имеют чисто случайный характер, например, ХН - АН (1 : 4), ПР - КФ (1 : 8).

Связь отклонений от аддитивности с результатами анализа. Выявленные в исследованных системах систематические отклонения от аддитивности по абсолютной величине невелики ($\Delta A < 0,1A_{X+Y}$). Поэтому нельзя исключить возможность, что они практически не повлияют на результаты анализа смеси по методу Фирордта. Важно заранее знать, какие значения ΔA могут привести к погрешностям анализа, превышающим (хотя бы для одного компонента) некоторый

¹ Конкретные причины отклонений от аддитивности, наблюдаемых на тех или иных длинах волн в тех или иных системах, в настоящей работе не изучались. Этот вопрос требует особого исследования и отдельного обсуждения.

допустимый уровень. Зная концентрации компонентов и коэффициенты поглощения на аналитических длинах волн, для каждой конкретной смеси задачу можно решить путем компьютерного эксперимента. Постулируя разные по знаку и по абсолютной величине значения ΔA и решая систему соответствующих линейных уравнений, мы получали расчетные значения концентраций (C_X^* и C_Y^*), а затем оценивали абсолютные (ΔC) и относительные (δC) погрешности определения концентрации каждого компонента. Как и следовало ожидать, расчетные значения погрешностей анализа возрастали по мере роста отклонений от аддитивности.

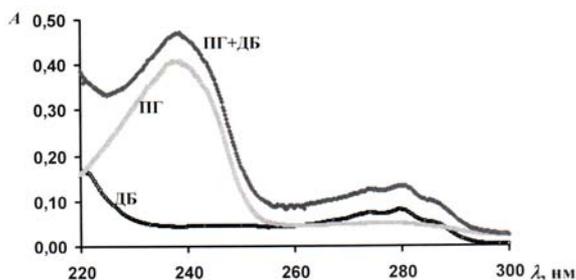


Рис. 1. УФ-спектры поглощения водных растворов папаверина (ПГ), дибазола (ДБ) и их смеси с массовым соотношением 1:1 (ПГ + ДБ).

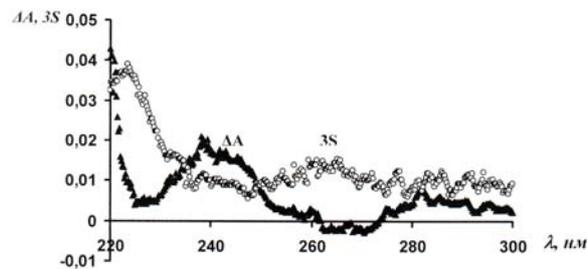


Рис. 2. Отклонения от аддитивности (ΔA) и уровень случайных погрешностей ($3S$) при измерении оптической плотности смеси ПГ – ДБ (1:1) на разных длинах волн

Так, для смеси ПГ – ДБ значения δC превышали 5% (по модулю), если задавали относительные отклонения $\delta A = \Delta A / A_{X+Y}$, превышающие 0.04. В абсолютном выражении «критические» значения ΔA составляли 0.015 (230 нм) и 0.005 (270 нм). Очевидно, для других приборов, других смесей и других требований к точности анализа критическая величина ΔA будет принимать иные значения, но в любом случае критические значения ΔA (или δA) весьма малы, и их можно заранее оценить методом компьютерного эксперимента. Участки спектра, где $\Delta A > \Delta A_{\text{крит}}$, при выборе АДВ использовать не следует.

Критерий отбора АДВ. В данном исследовании использован критерий [13]:

$$K = K_0 \cdot \sqrt{\delta A_1^2 + \delta A_2^2} \cdot \frac{\delta A_1}{\delta A_2} \quad (1)$$

где δA_1 и δA_2 - усредненные по 5 параллельным определениям относительные отклонения, полученные на 1-ой и 2-ой аналитических длинах волн. Индексы 1 и 2 расставляют так, чтобы выполнялось условие $\delta A_1 > \delta A_2$ (по абсолютной величине). В формуле (1) первый множитель характеризует молярные коэффициенты поглощения компонентов [3], а второй и третий характеризуют отклонения от аддитивности. И множители, и их произведение K зависят от выбора АДВ. Величину K_0 рассчитывают по формуле:

$$K_0 = \frac{\alpha_1 \cdot \alpha_2 + \beta_1 \cdot \beta_2}{\sqrt{\alpha_1^2 + \beta_1^2} \cdot \sqrt{\alpha_2^2 + \beta_2^2}}, \quad (2)$$

где $\alpha_1, \alpha_2, \beta_1, \beta_2$ – молярные коэффициенты поглощения веществ X и Y на 1-ой и 2-ой длинах волн соответственно. Чем меньше K_0 , тем лучше определена система линейных уравнений [15], тем более точным будет результат расчета по методу Фирордта.

Критерий $K = f(\lambda_1, \lambda_2)$ может принимать и положительные, и отрицательные значения. Перебор всевозможных сочетаний λ_1, λ_2 (с шагом 5 нм по каждой переменной) и расчет значений K для каждого сочетания проводили с помощью программы Optic-Tablet, написанной в пакете Microsoft Excel [13]. Исходными данными являлись заранее определенные значения молярных коэффициентов $\alpha_1, \alpha_2, \beta_1, \beta_2$ и непосредственно измеряемые значения A_{X+Y} . Одновременно программа вычисляет концентрации компонентов смеси (C_X^* и C_Y^*) и относительные погрешности определения концентрации каждого компонента ($\delta C, \%$) В качестве примера на рис. 3 приведены значения критерия K и относительные погрешности определения ПГ и ДБ в модель-

ной смеси состава 1:1 (по массе) на разных наборах длин волн. Как видно, для данной смеси существуют такие наборы АДВ, при которых для обоих компонентов одновременно выполняется условие $\delta C \approx 0$. Это именно те наборы, для которых значения критерия K минимальны по абсолютной величине. Для модельных смесей тех же веществ с другим соотношением концентраций, а также для модельных смесей другого качественного состава аналогичные исследования привели к тому же выводу: *чем меньше абсолютная величина K , тем точнее результаты одновременного определения X и Y по методу Фирордта.*

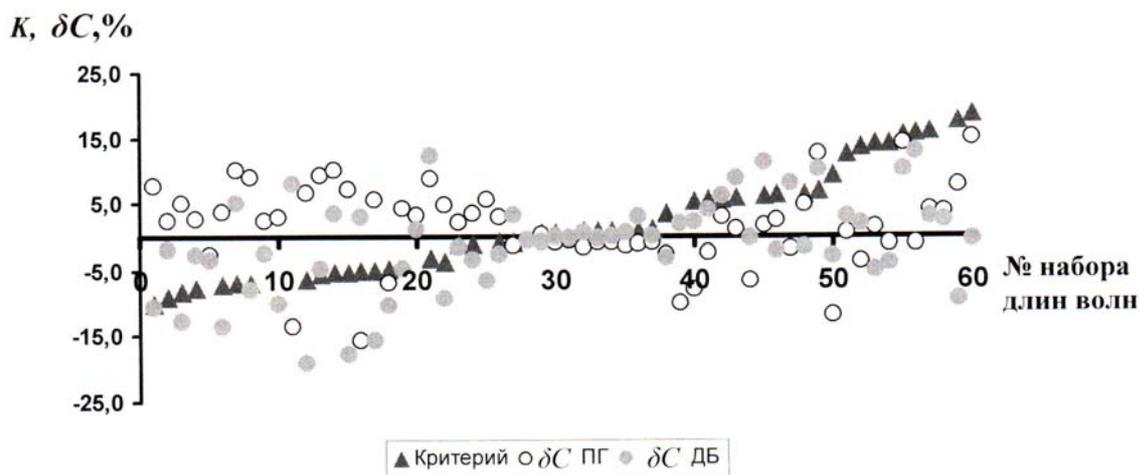


Рис. 3. Значения критерия K и относительных погрешностей (δC , %) определения ПГ и ДБ в смеси 1:1 при использовании разных наборов длин волн

Отметим, что для каждой смеси количество «подходящих» наборов АДВ (с минимальными значениями K) было довольно большим (10-20), что обеспечивает свободу дальнейшего выбора. При прочих равных условиях количество таких наборов возрастало по мере увеличения содержания компонента в смеси. В случае, если один из компонентов был взят в большом избытке (10:1 и более), для определения X можно использовать одни, а для определения Y - другие наборы АДВ. Но в любом случае используемые наборы АДВ должны характеризоваться малыми значениями критерия K .

Результаты анализа реальных объектов с применением единичного набора АДВ. В ходе настоящего исследования был проведен анализ некоторых таблетированных лекарственных препаратов. Применяли следующую методику: взвешивали на аналитических весах 8-12 таблеток исследуемого препарата (содержимое одной упаковки), растирали их в керамической ступке до однородного состояния. Точную навеску полученного порошка массой около 0.025 г растворяли в дистиллированной воде. Нерастворимый осадок отфильтровывали, доводили объем фильтрата в мерной колбе до 50.0 см³. Аликвоту полученного раствора переносили в мерную колбу объемом 25.0 см³, вводили 5.0 см³ буферного раствора (фосфатного или аммиачного) и доводили дистиллированной водой до метки. Чтобы выбрать оптимальные АДВ, для каждого лекарственного препарата заранее получали и обрабатывали по программе “Optic-Tablet” данные по спектрам модельных смесей аналогичного состава. Выбирали наборы АДВ, которым соответствовали минимальные значения критерия K (табл.1). Содержания компонентов рассчитывали по методу Фирордта, а затем выражали результаты анализа как массы компонентов в одной таблетке. Фотометрировали не менее трех растворов, полученных из отдельных навесок каждого лекарственного препарата. Статистическую обработку результатов вели по методу Стьюдента для вероятности $P = 0.95$. Сходимость результатов анализа характеризуется значениями s , порядка 0.02 – 0.05.

Таблица 1. Аналитические длины волн для определения компонентов в модельных смесях и лекарственных препаратах

Препарат	Модельная смесь	λ , нм			
		Набор 1	Набор 2	Набор 3	
Анальгин– хинин	АН + ХГ (4:1)	235 250	235 255	235 260	
Тетралгин	АН + КФ (6:1)	250 265	250 270	250 275	
Папазол	ПГ + ДБ (1:1)	230 260	230 265	230 280	
Солпадеин	ПР + КФ (17:1)	для ПР:	220 225	220 230	220 255
		для КФ:	255 270	260 270	265 270

В качестве примера в табл. 2 приведены результаты определения кофеина и анальгина в препарате «Тетралгин». Результаты, полученные на каждом из наборов АДВ, близки между собой и соответствуют данным производителя. Анализ препаратов, содержащих смеси анальгин-хинин, папаверин-дибазол и кофеин–парацетамол (1:8), привел к аналогичным результатам. Отметим, что анализировали как препараты, для которых во всем исследованном диапазоне длин волн отклонения от аддитивности имели чисто случайный характер («Тетралгин»), так и препараты, где в спектрах смесей наблюдались значимые отклонения от аддитивности (но не на выбранных для анализа длинах волн). Примером таких препаратов являются «Папазол» и «Солпадеин».

Таблица 2. Результаты определения активных компонентов в препарате «Тетралгин» на разных наборах АДВ (n= 3, P=0,95)

Наборы АДВ*	Найдено в таблетке, г	
	АН	КФ
1	0.291 ± 0.009	0.051 ± 0.011
2	0.298 ± 0.011	0.051 ± 0.012
3	0.292 ± 0.011	0.050 ± 0.014
Среднее по всем наборам	0.294 ± 0.006	0.051 ± 0.001
Указано на упаковке, г	0.300	0.050

* Номера наборов соответствуют указанным в табл. 1.

Одновременное использование нескольких наборов АДВ. Строго говоря, определения, выполненные на разных наборах длин волн, нельзя рассматривать как абсолютно независимые, однако в модельных экспериментах было установлено, что полученные результаты на выбранных наборах АДВ очень слабо коррелированы. Их зависимостью можно пренебречь, поскольку она не будет вносить значительного вклада в общую погрешность, что и было подтверждено в экспериментах. Повторные определения состава смесей на выбранных наборах длин волн характеризовались примерно одинаковым разбросом результатов (по критерию Фишера). Средние значения соответствующих выборок статистически не различались (проверка по критерию Стьюдента). Следовательно, результаты анализа, полученные на трех выбранных АДВ, можно рассматривать как независимые и отнести к одной и той же генеральной совокупности. Это позволяет усреднять результаты анализа, полученные с использованием разных наборов, что улучшает сходимость результатов (табл 2, 3). Кроме того, частично компенсируются и случайные погрешности анализа.

Таблица 3. Результаты анализа лекарственных препаратов с использованием трех наборов АДВ (n = 3, P = 0.95)

Название препарата	Компоненты	Указано на упаковке, г	Найдено в таблетке, г
Анальгин-хинин	АН	0.200	0.198 ± 0.003
	ХГ	0.050	0.045 ± 0.002
Папазол	ПГ	0.030	0.029 ± 0.007
	ДБ	0.030	0.029 ± 0.008
Солпадеин	ПР	0.500	0.490 ± 0.060
	КФ	0.030	0.031 ± 0.003

Усреднение результатов, полученных на нескольких «допустимых» наборах АДВ, может быть полезным приемом не только в случае двухкомпонентных смесей, но и в более сложных случаях.

Основными выводами из выполненного исследования мы считаем следующие:

1. Метод Фирордта можно использовать не только при «идеальной аддитивности» оптических плотностей компонентов анализируемой смеси, но и в тех случаях, когда имеются отклонения от аддитивности. Для анализа соответствующих смесей следует выбирать те длины волн, где отклонения от аддитивности статистически не значимы или, по крайней мере, не превышают критический уровень, найденный в компьютерном эксперименте. Предложенный способ отбора АДВ и реализующий его критерий (1) позволяют одновременно минимизировать погрешности определения обоих компонентов смеси. Этот способ отбора АДВ применим и в тех случаях, когда отклонения от аддитивности носят чисто случайный характер.

2. Для повышения точности анализа желательно использовать *несколько* однотипных наборов длин волн - из числа ранее отобранных с помощью критерия (1), а затем усреднять результаты соответствующих анализов.

Авторы выражают благодарность проф. В.И.Вершинину, доц. А.В.Дрозду за замечания и консультации при подготовке статьи.

Литература

1. Берштейн И.Я., Каминский Ю.А. Спектрофотометрический анализ в органической химии. Л.: Химия, 1986. 200 с.
2. Кац М.Д., Розкин М.Я. // Завод. лаб. 1972. т.38. № 6. С.688.
3. Васильев А.Ф., Панкова М.Б., Маркош Ю. // Завод. лаб. 1973. т. 39. № 9. С.1073.
4. Адамов С.А., Александрова С.А., Денисов А.Н., Мосур Е.Ю., Семиколенова Н.А. // Биохимия. 1998. т. 63. № 10. С.1362.
5. Перьков И.Г., Дрозд А.В., Арцебашев Г.В. // Ж. аналит. химии. 1987. т. 42. № 1. С.68.
6. Перьков И. Г., Арцебашев Г.В., Дрозд А.В., Сырова Е.Г. // Ж. аналит. химии. 1987. т.42. №11. С.1951.
7. Гризодуб А.И., Левин М.Г., Георгиевский В.П. // Ж. аналит. химии. 1987. т. 42. № 9. С.1589.
8. Гризодуб А.И., Асмолова Н.Н., Георгиевский В.П., Белоброва Н.В.// Ж. аналит. химии. 1989. т. 44. № 10. С.1824.
9. Дрозд А.В., Баскир И.М., Климова И.В. // Вісник Харків. Ун-ту. Хімічні науки. 1997. № 1. С.105
10. Дрозд А.В., Баскир И.М. // Укр. метрологічний журнал. 1998. Вип.3. С.52.
11. Антонова Т.В., Вершинин В.И., Дедков Ю.М. // Ж. аналит. химии. 2005. Т. 60, № 3. С.278.
12. Vlasova I.V., Shilova A.V. // International Congress on Analytical Sciences ICAS 2006. 25-30 June, Moscow. Book of Abstracts. 2006. Vol.2. P.534.
13. Власова И.В., Шилова А.В. // Вестник Омского университета. 2006. № 2. С.53.
14. Государственная фармакопея Союза Советских социалистических республик. 11-е изд. Вып.1. Общие методы анализа. М. 1991. 313 с.
15. Курош А.Г. Курс высшей алгебры. СПб.: изд-во «Лань». 2003. 432 с.

Поступила в редакцию 5 марта 2007 г.

Kharkov University Bulletin. 2007. №770. Chemical Series. Issue 15(38). I.V. Vlasova, A.V. Shilova. New approaches to spectrophotometric analysis of multi-components mixtures.

A new criterion is proposed to choose analytic wave lengths while components determining in the binary mixtures with using Fiordt's method. We have demonstrated the following: to increase analysis accuracy it is desirable to employ several sister sets of the wave lengths (from the number of earlier selected with the criteria) and then to average the results of the corresponding tests. In this case components of the low and high content can be determined with the equal inaccuracy. This proposed approach has been employed to the analysis of some drugs.