

Проверка аддитивности аналитического сигнала при определении суммарного содержания металлов с применением твердофазных реагентов

Е.А. Решетняк¹, В.Н. Шевченко¹, Н.А. Никитина¹, В.М. Островская², Я.А. Бондаренко³, Ю.В. Холин¹

¹ Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, пл. Свободы 4, Харьков, Украина, 61022; reshetnyak@univer.kharkov.ua

² Институт общей и неорганической химии имени Н.С. Курнакова РАН, пр. Ленинский 31, Москва, Россия, 119991;

³ НТК «Институт монокристаллов» НАН Украины, пр. Ленина 60, Харьков, Украина, 61001;

Поступила: 29 июня 2012 г / Принята к публикации: 2 августа 2012 г.

Статистические 3s- и t-критерии, ранее применявшиеся лишь в спектрометрии растворов для выявления отклонений от аддитивности светопоглощения неразделенных смесей аналитов, предложено использовать для проверки аддитивности аналитического сигнала в твердофазной спектрофотометрии, спектроскопии диффузного отражения и цветометрии. Проверена аддитивность аналитических сигналов при определении суммарного содержания переходных металлов с использованием шести тест-систем — четырех индикаторных бумаг с ковалентно привитыми формазанами и сорбционно закрепленным 1-(2-пиридилазо)-2-нафтолом и двух индикаторных желатиновых пленок с иммобилизованными 4-(2-пиридилазо)-резорцином и 1-нитрозо-2-нафтол-3,6-дисульфокислотой. Установлено, что аналитический сигнал от суммы металлов, находящихся в равных концентрациях, не имеет значимых отклонений от аддитивности. Предложено для проверки аддитивности общего цветового различия смеси аналитов, иммобилизованных на непрозрачных сорбентах, применять χ^2 -критерий; в визуальной колориметрии предложено проверять аддитивность аналитического сигнала, используя эмпирический критерий, основанный на визуальной оценке пределов определения отдельных аналитов и их суммы.

E.A. RESHETNYAK, V.N. SHEVCHENKO, N.A. NIKITINA, V.M. OSTROVSKAYA, YA.A. BONDARENKO, Yu.V. KHOLIN. TESTING OF ANALYTICAL SIGNAL ADDITIVITY AT DETERMINATION OF SUM OF METALS WITH THE USE OF SOLID-PHASE REAGENTS. Statistical 3s- and t-criteria were applied earlier in spectrophotometry of solutions to detect deviations from additivity of absorption in un-separated mixtures of analytes. In this work the use of these criteria was extended on testing additivity of analytical signals in solid phase spectrophotometry, diffuse reflectance spectroscopy, and colorimetry. The additivity of analytical signals was checked at the determination of total content of transition metals with the use of six test systems (four indicator papers with covalently grafted formazans and sorptionally fixed 1-(2-pyridilazo)-2-naphthol as well as two indicator gelatin films with immobilized 4-(2-pyridilazo)-resorcinol and 1-nitroso-2-naphthol-3,6-disulfonic acid). No significant differences from additivity were detected for the analytical signals from sums of metals present in equal concentrations. The χ^2 criterion was proposed for testing additivity of total color difference of the mixture of analytes. The empirical criterion based on the visual estimation of determination limits of individual analytes and their sum was shown to be applicable for visual colorimetry.

Ключевые слова: сумма металлов, реагентная индикаторная бумага, желатиновая пленка, аддитивность аналитического сигнала, статистические критерии, спектрометрия, цветометрия, визуальная колориметрия.

Keywords: sum of metals, reagent indicator paper, gelatin film, additivity of signal, statistical criteria, spectrometry, visual colorimetry.

С каждым годом растет перечень контролируемых показателей в объектах окружающей среды, пищевых продуктах, лекарственных препаратах, биологических жидкостях. В некоторых случаях бывает достаточно определить суммарное содержание веществ какой-либо группы и, если оно мало или веществ не обнаружено, то

можно не определять конкретные компоненты этой группы [1-3].

Для экспресс-контроля интегральных (обобщенных) показателей химического состава предназначены специальные методики и соответствующие им тест-системы, ставшие в последние годы весьма популярными, особенно в ходе

скрининга. Наиболее известны из них тест-системы для определения общей жесткости, кислотности, суммарного содержания тяжелых металлов, фенолов, полициклических ароматических углеводородов, пестицидов, поверхностно-активных веществ, активного хлора, химического и биологического потребления кислорода и др. [1, 4-12]. Тестирование основано на неселективных индикаторных реакциях, например: азосочетание фенолов с 4-нитрофенилдиазонием в присутствии цетилтриметиламмония с последующей сорбцией окрашенного ассоциата на бумаге [1] или пенополиуретане [1, 5]; окисление о-толидина, иммобилизованного на бумаге, в присутствии «активного хлора» [1, 6]; образование окрашенных комплексов ионов тяжелых металлов с 1-(2-пиридилазо)-2-нафтолом, иммобилизованным на гидрофобизованном силикагеле [1], бумаге [1, 6, 7] или в прозрачных полимерных матрицах [11, 12]; взаимодействие ионов металлов с формазанами, ковалентно закрепленными на бумаге [4, 8].

В практике инструментальных методов анализа, особенно в спектрофотометрии, известно, что определение суммарного содержания однотипных аналитов возможно при соблюдении принципа аддитивности измеряемого свойства [13]. Методологии спектрофотометрического анализа смесей органических соединений посвящены работы [14-18], в которых авторы рассматривают проблемы, связанные с неаддитивностью светопоглощения неразделенных смесей; обсуждают причины, их вызывающие; предлагают способы выявления и прогнозирования отклонений от аддитивности (ОА); приходят к выводу, что «при разработке методик спектрофотометрического анализа неразделенных смесей проверка аддитивности аналитического сигнала должна стать столь же обычной процедурой, как оценка чувствительности или селективности» [16]. Отмечая, что стандартных способов выявления статистически значимых ОА на фоне случайных погрешностей нет, авторы предлагают проверять аддитивность светопоглощения неразделенных смесей одним из трех способов [14, 16]: 1) при неизменном составе исследуемой смеси использовать статистические критерии $3s$ или t ; 2) варьировать содержание одного из компонентов смеси; 3) одновременно варьировать содержание нескольких или всех компонентов смеси, т.е. проводить полный факторный анализ. Понятно, что сложность и информативность способа выявления ОА растет с увеличением числа варьируемых компонентов, а выбор способа должен осуществляться, исходя из стоящих перед исследователем задач.

Выполнение неселективных индикаторных реакций на сорбентах не снимает проблемы возможного отклонения от аддитивности аналитического сигнала. Однако исследователи оставляют эту проблему пока без внимания, хотя предлагают использовать модифицированные сорбенты в

качестве твердофазных реагентов не только для визуальной колориметрии, но и для спектроскопии диффузного отражения [5], спектрофотометрии [9-12], цветометрии [19].

Цель данной работы — применить достаточно простые статистические критерии $3s$ и t для проверки аддитивности светопоглощения, функции Гуревича-Кубелки-Мунка, общего цветового различия и интенсивности R-, G-, B-составляющих окраски иммобилизованных на сорбенте металлокомплексов.

В качестве объектов исследования выбраны шесть тест-систем для определения суммарного содержания металлов (от 4 до 8) с помощью твердофазных комплексообразующих реагентов: 1-(2-пиридилазо)-2-нафтола (ПАН) и трех формазанов, иммобилизованных на бумаге; 4-(2-пиридилазо)-резорцина (ПАР) и 1-нитрозо-2-нафтол-3,6-дисульфокислоты (нитрозо-Р-соль, НРС), иммобилизованных в желатиновой пленке.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Материалы и методики исследований.

В работе использовали реактивы квалификации х.ч. или ч.д.а. Концентрации исходных растворов солей металлов устанавливали методом титриметрии [20]. Исходные водные растворы НРС, ПАР, $\text{Na}_2\text{V}_4\text{O}_7$ и этанольный раствор ПАН готовили растворением соответствующих навесок препаратов. Для создания требуемых значений pH в растворах использовали HCl, ацетатный, аммиачный или боратный буферы. Рабочие растворы готовили разбавлением исходных перед проведением эксперимента.

В качестве прозрачного полимерного сорбента применяли фотографическую пленку для офсетной печати фирмы Agfa, из желатинового слоя которой полностью удаляли галогениды серебра. Иммобилизацию реагентов в пленке проводили в соответствии с методикой, описанной нами ранее [10, 21]. Индикаторную бумагу с иммобилизованным ПАН готовили согласно [7]: фильтровальную бумагу пропитывали раствором $\text{Na}_2\text{V}_4\text{O}_7$, высушивали при 40°C, погружали на 15 мин в раствор $4 \cdot 10^{-4}$ моль/л ПАН, высушивали на воздухе, разрезали на полосы нужного размера и хранили при комнатной температуре в темном месте.

В работе использовали реагентные индикаторные бумаги на основе целлюлозы с ковалентно привитыми формазанами — РИБ-Металл-Тест-I [4], РИБ-Металл-Тест-II [4, 8] и РИБ-Металл-Тест-III. Приготовление индикаторной бумаги РИБ-Металл-Тест-III включало две стадии (рис. 1): **1)** 6-альдегидцеллюлозу при pH 3-4 обрабатывали 4-гидразино-6-метил-5-этил-2-(4-этил-3,5-дипропил-1H-пиразол-1-ил)-пиримидином; **2)** образовавшуюся 6-метил-5-этил-2-(4-этил-3,5-дипропил-1H-пиразол-1-ил)-пиримидин-4-илгидразон-6-целлюлозу (ПППГЦ) обрабатывали при pH 9-10 диазотированной 2-аминофеноксисульфусной кислотой.

Таблица 1. Характеристики тест-систем и условия тестирования

№	M ⁿ⁺	Реагент	Индикаторная система	Сорбент	Диапазон определяемого содержания, моль/л	Время тестирования	Изменение цвета сорбента
1	Co ²⁺ , Cu ²⁺ , Ni ²⁺ , Cd ²⁺ , Zn ²⁺ , Pb ²⁺ , Mn ²⁺ , Fe ³⁺	Формазан	РИБ-Металл-Тест-I, pH 6-7		(0.9–40)·10 ⁻⁴	3 с	желтый – темно-серый
2	Co ²⁺ , Cu ²⁺ , Ni ²⁺ , Cd ²⁺ , Zn ²⁺ , Fe ³⁺	Формазан	РИБ-Металл-Тест-II, pH 6-7	Бумага	(0.8–8)·10 ⁻⁴	3 с	желтый – темно-синий
3	Co ²⁺ , Cu ²⁺ , Ni ²⁺ , Cd ²⁺ , Zn ²⁺ , Pb ²⁺ , Mn ²⁺ , Fe ³⁺	Формазан	РИБ-Металл-Тест-III, ацетатный буфер, pH 6		(1.3–14)·10 ⁻⁴	7 мин	желтый – зелено-коричневый
4	Co ²⁺ , Cu ²⁺ , Ni ²⁺ , Cd ²⁺ , Zn ²⁺ , Pb ²⁺	ПАН	Боратный буфер, pH 9		(0.3–32)·10 ⁻⁵	15 мин	желтый – красный
5	Co ²⁺ , Cu ²⁺ , Ni ²⁺ , Fe ³⁺	НРС	НСI, pH 2	Желатиновая пленка	(0.8–15)·10 ⁻⁵	20 мин	желтый – красно-коричневый
6	Co ²⁺ , Cu ²⁺ , Ni ²⁺ , Cd ²⁺ , Zn ²⁺ , Pb ²⁺	ПАР	Ацетатный буфер, pH 5		(0.3–25)·10 ⁻⁵	15 мин	желтый – красный

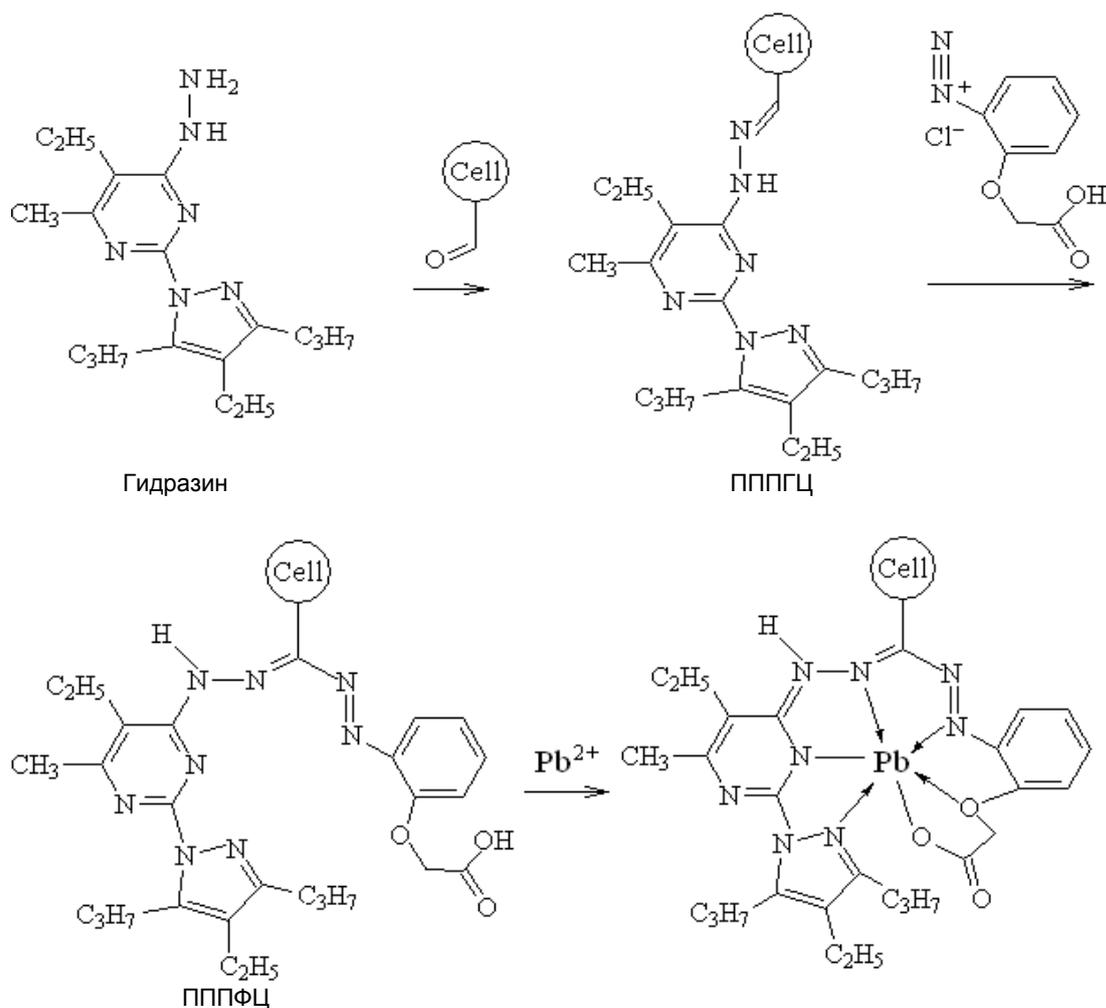


Рис. 1. Схема получения индикаторной бумаги РИБ-Металл-Тест-III и структура образующегося комплекса иона металла (Pb^{2+}) с группировкой ПППФ.

Полученную 1(5)-(2-карбоксиметоксифенил)-5(1)-[6-метил-5-этил-2-(4-этил-3,5-дипропил-1Н-пирозол-1-ил)-пиримидин-4-ил]-формазаанил-6-целлюлозу (ПППФЦ) промывали бидистиллированной водой, ацетоном и этанолом. В табл. 1 приведены характеристики тест-систем и условия тестирования.

Окрашенные пленки фотометрировали на спектрофотометре Hitachi U-3210, закрепляя пленки непосредственно в кюветном отделении прибора. Светопоглощение пленок с реагентом измеряли относительно бесцветной пленки, а пленок с металлокомплексами — относительно пленок с реагентом. Диффузное отражение реагентов и комплексов, иммобилизованных на бумаге, измеряли на спектрофотометре СФ-2000 относительно образца белой плотной бумаги. Функцию Гуревича-Кубелки-Мунка рассчитывали по формуле $F=(1-R)^2/2R$, где $0 < R \leq 1$ — коэффициент диффузного отражения. По значениям измеренных координат цвета X, Y, Z вычисляли цветные координаты L, A, B и общее цветовое различие ΔE по формулам: $L=116(Y/Y_0)^{1/3}-16$; $A=500[(X/X_0)^{1/3}-(Y/Y_0)^{1/3}]$, $B=200[(Y/Y_0)^{1/3}-(Z/Z_0)^{1/3}]$, $\Delta E=[(L_0-L)^2+(A-A_0)^2+(B-B_0)^2]^{1/2}$, где L, A, B, L_0 , B_0 , A_0 — координаты цвета образца с иммобилизованным комплексом и образца с реагентом соответственно [22].

Координаты цвета в системе RGB получали, сканируя образцы РИБ с использованием сканера HP Scan Jet 4890, с последующей обработкой сигнала в графическом редакторе Adobe Photoshop 7.0; а также с помощью портативного фотометра [23], определяя яркость R-, G-, B-каналов с помощью компьютерных программ Microsoft Excel и Origin 6.0.

Аддитивность светопоглощения смеси комплексов ионов металлов, иммобилизованных в прозрачных желатиновых пленках и на бумаге, проверяли по методике, подобной описанной в [14, 16] для растворов неразделенных смесей аналитов. Готовили по 3-4 раствора индивидуальных солей металлов и по 3-4 раствора, содержащих несколько солей металлов; концентрацию металлов в индивидуальных растворах (с) задавали равной концентрации смеси металлов (c_{Σ}), при этом молярные концентрации металлов в их смеси были равными; в растворы погружали пленки с реагентом; пленки фотометрировали, получали спектры поглощения иммобилизованных комплексов.

Во всем диапазоне длин волн (λ) спектра поглощения смеси с шагом 5 нм вычисляли суммы измеренных светопоглощений комплексов металлов, входящих в смесь, получая таким образом для каждой выбранной λ по 3-4 значения ΣA или ΣF , вычисляли из них средние значения и дисперсии s_1^2 ; одновременно усредняли для каждой λ измеренные значения суммарного светопоглощения A_{Σ} или F_{Σ} и вычисляли дисперсию усредненного суммарного светопоглощения s_2^2 .

Сравнивали найденные средние значения ΣA (ΣF) и A_{Σ} (F_{Σ}) по t-критерию Стьюдента, предварительно проверяя дисперсии s_1^2 и s_2^2 на однородность по критерию Фишера. Вычисляли значение $t_{\text{экср}}$ по формуле:

$$t_{\text{экср}} = |A_{\Sigma} - \Sigma A/n| / s_d \text{ или } t_{\text{экср}} = |F_{\Sigma} - \Sigma F/n| / s_d, \quad (1)$$

где n — число металлов в смеси, s_d — средневзвешенное стандартное отклонение, найденное из соотношения $s_d = [(s_1^2 + s_2^2)/m]^{1/2}$ (m — число повторных измерений, в данном случае m=3 или 4). Гипотезу об аддитивности светопоглощения смеси комплексов принимали, если значение $t_{\text{экср}}$ было меньше критического значения t-критерия ($t_{\text{крит}}$) для числа степеней свободы $f=2m-2$ и уровня значимости 1%.

При использовании 3s-критерия вывод о статистически незначимом отклонении от аддитивности светопоглощения исследуемой смеси иммобилизованных в пленке или на бумаге комплексов при выбранной длине волны делали, если выполнялось неравенство:

$$\Delta A' = |A_{\Sigma} - \Sigma A/n| < 3s \text{ или } \Delta F' = |F_{\Sigma} - \Sigma F/n| < 3s, \quad (2)$$

где s — единичное стандартное отклонение значений A_{Σ} или F_{Σ} при повторном приготовлении тест-образцов и фотометрировании смеси иммобилизованных комплексов.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Спектры поглощения индивидуальных комплексов ионов металлов в фазе сорбента, представленные на рис. 2 и 3, перекрываются в широком диапазоне длин волн. Следовательно, изучаемые твердофазные реагенты не являются селективными и необходима проверка аддитивности светопоглощения суммы иммобилизованных комплексов.

Примеры результатов проверки аддитивности светопоглощения комплексов ионов металлов с ПАР, иммобилизованных в желатиновой пленке, и комплексов с формазаном, иммобилизованных на бумаге РИБ-Металл-Тест-III, представлены в виде графических зависимостей на рис. 4 и 5. Горизонтальная линия на рис. 4 (1) и 5 (1) указывает критическое значение t-критерия, а нижние кривые — значения, вычисленные на основании экспериментальных данных.

Верхние кривые на рис. 4 (2) и 5 (2) отображают уровень случайных погрешностей (3s) при измерении светопоглощения смеси шести комплексов металлов с ПАР и семи комплексов металлов с формазаном, а нижние кривые — отклонения от аддитивности $\Delta A'$ и $\Delta F'$ соответственно. При всех длинах волн значения разности $\Delta A'$ и $\Delta F'$ не превысили (по абсолютной величине) уровень случайных погрешностей, а вычисленные значения t-критерия не превысили критического значения. Такие же результаты были получены и для других четырех тест-систем, т.е. ста-

тистически значимых отклонений от аддитивности светопоглощения продуктов индикаторных реакций не выявлено.

Разброс параллельных результатов измерений показал, что относительные стандартные отклонения светопоглощения и функции Гуревича-Кубелки-Мунка составляют 10-12% в области максимума суммарного спектра и могут достигать 20% на краях исследуемого диапазона. Эти значения в несколько раз превышают аналоги для растворов, но вполне ожидаемы для модифицированных сорбентов.

С распространением цифровой фотографии, настольных сканеров, минифотометров и компьютерных программ обработки изображений появился быстрый, объективный и автоматизированный способ оценки цветиметрических характеристик окрашенных непрозрачных тест-образцов в системе RGB. После сканирования образцов получают зависимости яркости R-, G-, B-составляющих окраски продуктов тест-реакции от концентрации аналита в растворе.

Для аналитических целей выбирают ту цветовую характеристику, интенсивность (яркость) которой с увеличением концентрации аналита убывает наиболее резко [23, 24]; выбранный цвет обычно бывает дополнительным к цвету образца.

В случае применения неселективных твердофазных реагентов необходимо предварительно проверять аддитивность аналитического сигнала, т.е. устанавливать: превышает или нет уровень случайных погрешностей различие между обобщенным аналитическим сигналом $I(R, G \text{ или } B)_{\Sigma}$ и суммой аналитических сигналов компонентов смеси $\Sigma I(R, G \text{ или } B)$. Мы применили для этой цели t- и 3s-критерии, вводя, как и в предыдущих примерах, экспериментальное ограничение: ионы металлов в смеси имели равные молярные кон-

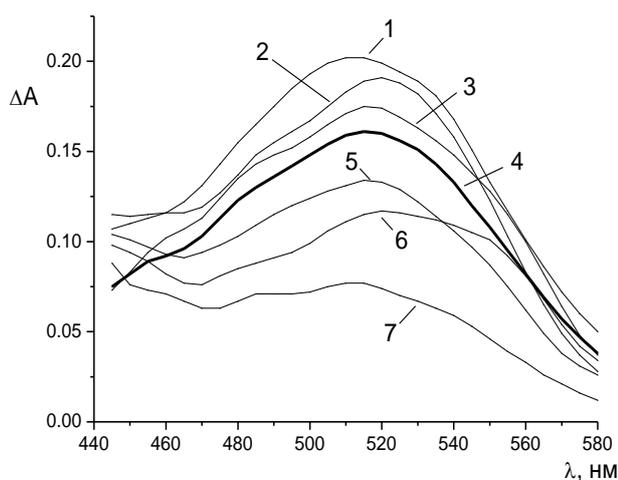
центрации, а концентрация металла в индивидуальном растворе была равна концентрации смеси. При задаваемых концентрациях сравнивали экспериментально полученное значение сигнала от суммы n иммобилизованных металлокомплексов со значением, вычисленным суммированием сигналов, полученных от каждого металлокомплекса:

$$\Delta I(R, G \text{ или } B) = | I(R, G \text{ или } B)_{\Sigma} - \Sigma I(R, G \text{ или } B)/n |,$$

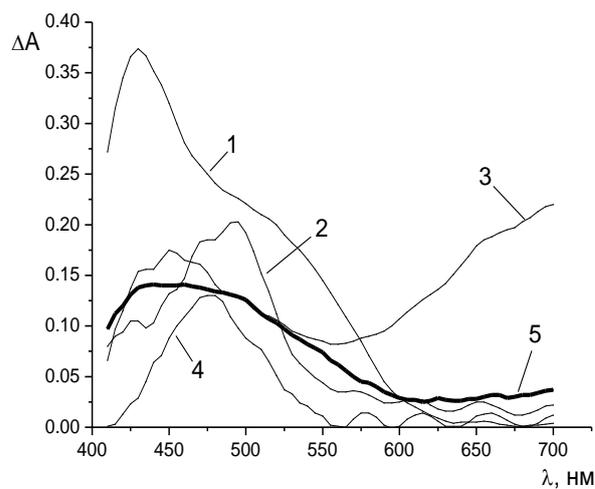
затем вычисляли значения t- и 3s-критериев и сравнивали их с соответствующими критическими значениями, как описано выше.

На рис. 6 представлены зависимости яркости R-, G-, B-составляющих окраски шести иммобилизованных на бумаге комплексов металлов с ПАН. Подобные зависимости были получены для индикаторных бумаг РИБ-Металл-Тест-I и РИБ-Металл-Тест-II, поэтому в качестве аналитической характеристики для этих РИБ в дальнейшем рассматривали зависимость яркости зеленого канала I(G) от концентрации металлов. Для бумаги РИБ-Металл-Тест-III в качестве рабочего был выбран красный канал.

На рис. 7 приведены примеры проверки аддитивности интенсивности выбранной составляющей суммарной окраски металлокомплексов с ПАН и формазаном, иммобилизованных на бумаге, при разной концентрации металлов в растворе. Изменение вычисленных разностей $\Delta I(R)$ и $\Delta I(G)$ представлено нижними графиками, изменение экспериментально найденной случайной погрешности — верхними. Ни в одной точке значение разности ΔI не превысило значение 3s, следовательно, можно принять, что отклонения сигнала от аддитивности носят случайный характер. Проверка по t-критерию привела к такому же выводу.



1



2

Рис. 2. Спектры поглощения иммобилизованных в желатиновой пленке комплексов ионов металлов с ПАН (1) и НРС (2): 1) 1 – Ni^{2+} , 2 – Cu^{2+} , 3 – Co^{2+} , 4 – ΣM^{2+} , 5 – Zn^{2+} , 6 – Pb^{2+} , 7 – Cd^{2+} , в растворах $c(\text{M}^{2+}) = c(\Sigma \text{M}^{2+}) = 8.0 \cdot 10^{-5}$ моль/л; 2) 1 – Co^{2+} , 2 – Cu^{2+} , 3 – Fe^{3+} , 4 – Ni^{2+} , 5 – ΣM^{2+} , в растворах $c(\text{M}^{n+}) = c(\Sigma \text{M}^{n+}) = 1.5 \cdot 10^{-4}$ моль/л.

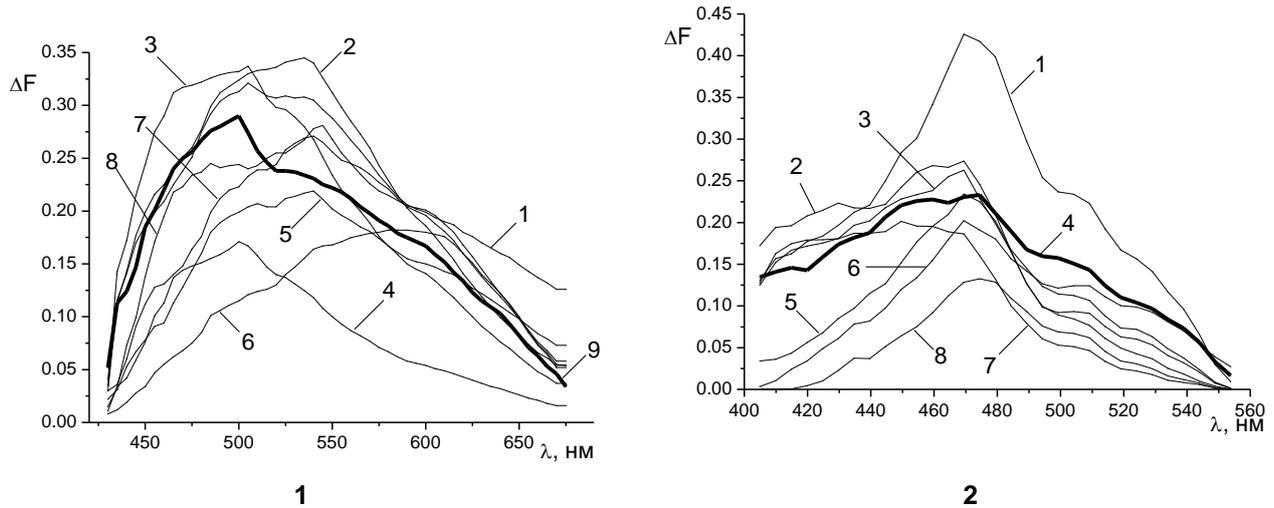


Рис. 3. Спектры поглощения иммобилизованных на бумаге комплексов ионов металлов с формазанами. 1) РИБ-Металл-Тест-I: 1 – Co^{2+} , 2 – Cu^{2+} , 3 – Ni^{2+} , 4 – Pb^{2+} , 5 – Zn^{2+} , 6 – Cd^{2+} , 7 – Fe^{3+} , 8 – Mn^{2+} , 9 – $\sum \text{M}^{n+}$; в растворах $c(\text{M}^{n+})=c(\sum \text{M}^{n+})=1.6 \cdot 10^{-3}$ моль/л; 2) РИБ-Металл-Тест-III: 1 – Cu^{2+} , 2 – Ni^{2+} , 3 – Pb^{2+} , 4 – $\sum \text{M}^{2+}$, 5 – Cd^{2+} , 6 – Co^{2+} , 7 – Mn^{2+} , 8 – Zn^{2+} ; в растворах $c(\text{M}^{n+})=c(\sum \text{M}^{2+})=8.0 \cdot 10^{-4}$ моль/л

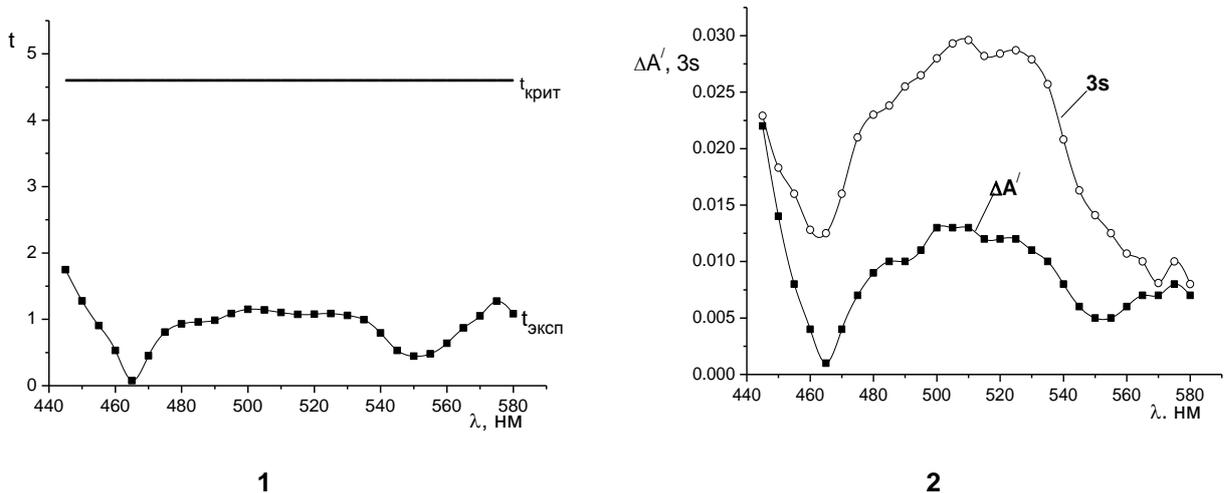


Рис. 4. Значения t-критерия, вычисленного по уравнению (1), значения отклонений от аддитивности ($\Delta A'$) и уровень случайных погрешностей ($3s$) при измерении на разных длинах волн светопоглощения смеси иммобилизованных в желатиновой пленке комплексов ионов Co^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} с ПАР ($m=3$).

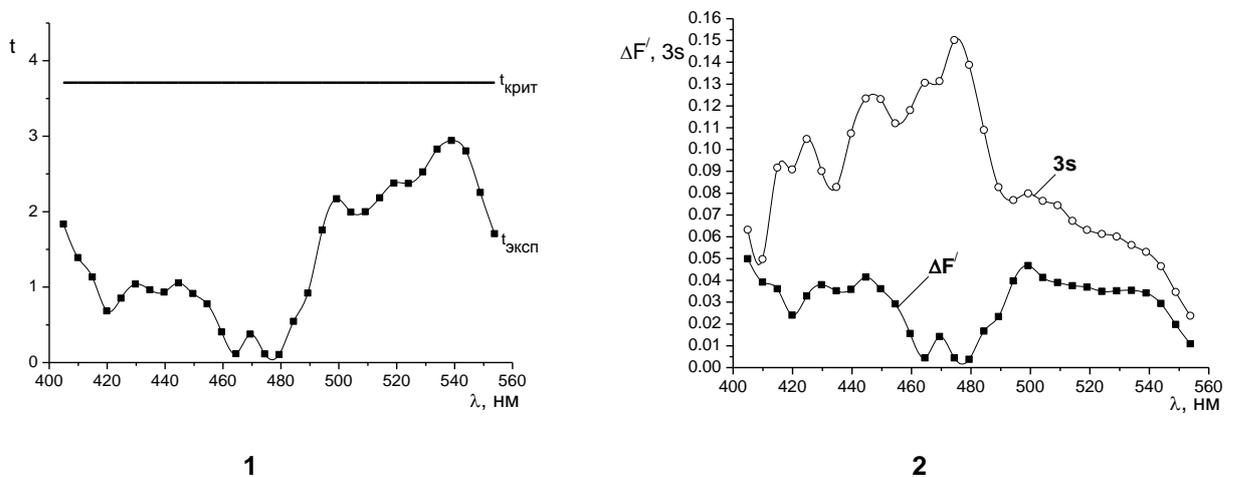


Рис. 5. Значения t-критерия, вычисленного по уравнению (1), значения отклонений от аддитивности ($\Delta F'$) и уровень случайных погрешностей ($3s$) при измерении на разных длинах волн функции Гуревича-Кубелки-Мунка смеси иммобилизованных на бумаге РИБ-Металл-Тест-III комплексов ионов Co^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} , Mn^{2+} с формазаном ($m=4$).

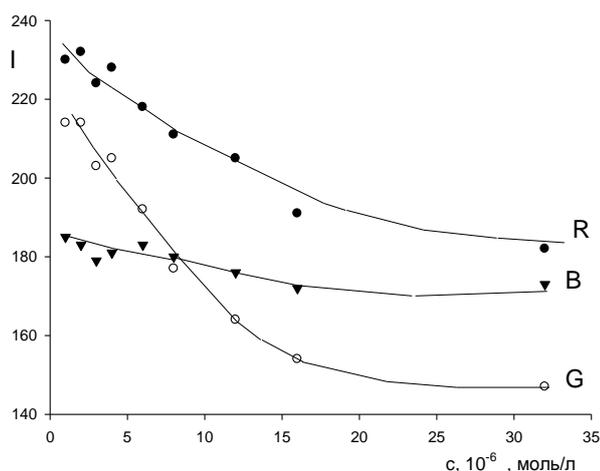


Рис. 6. Зависимость яркости R-, G-, B-составляющих окраски суммы иммобилизованных на бумаге комплексов ионов Co^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} , Pb^{2+} с ПАН.

Для окрашенных непрозрачных сорбентов в качестве аналитического сигнала может быть использовано общее цветовое различие ΔE , которое вычисляют из координат цвета L, A, B анализируемого тест-образца и образца сравнения.

На примере исследуемых твердофазных реагентов мы проанализировали возможность применения t- и 3s-критериев для проверки аддитивности общего цветового различия суммы иммобилизованных на сорбенте металлокомплексов (ΔE_{Σ}). Сопоставляли при разных суммарных концентрациях металлов величину ΔE_{Σ} и величину, рассчитанную как векторную сумму значений общего цветового различия, экспериментально полученных для каждого металлокомплекса:

$$\Delta E' = \left| \Delta E_{\Sigma} - \sqrt{\frac{1}{n} \sum \Delta E^2} \right|.$$

Данный подход применили для всех реагентных индикаторных бумаг и получили одинаковый результат: при всех концентрациях значения разности $\Delta E'$ (по абсолютной величине) не превысили уровень случайных погрешностей и вычисленные значения t-критерия не превысили критических (рис. 8).

Отметим, что и t-, и 3s-критерии обоснованы для нормального распределения погрешностей результатов измерений и в отсутствие такой информации являются эвристическими. Трудно оценить и мощность этих критериев. В такой ситуации рекомендуют пользоваться непараметрическими методами, не предполагающими нормальности распределения [25].

Один из таких способов – применение критерия χ^2 . Экспериментальное значение статистики $\chi^2_{\text{эксп}}$ находят как

$$\chi^2_{\text{эксп}} = \frac{1}{k} \sum \frac{\left(\Delta E_{\Sigma_i} - \sqrt{\frac{1}{n} \sum \Delta E_i^2} \right)^2}{s_{\Delta E_{\Sigma_i}}^2},$$

где i – номер текущей концентрации, k – число концентраций; в знаменателе формулы указана дисперсия величины ΔE_{Σ_i} , экспериментально оцениваемая из 3-4-х повторных измерений для i -той суммарной концентрации металлов. Гипотезу об аддитивности сигнала принимают, если выполняется неравенство $\chi^2_{\text{эксп}} < \chi^2_{\text{крит}}$, где $\chi^2_{\text{крит}}$ – 5%-я точка распределения χ^2 для числа степеней свободы $f=k$.

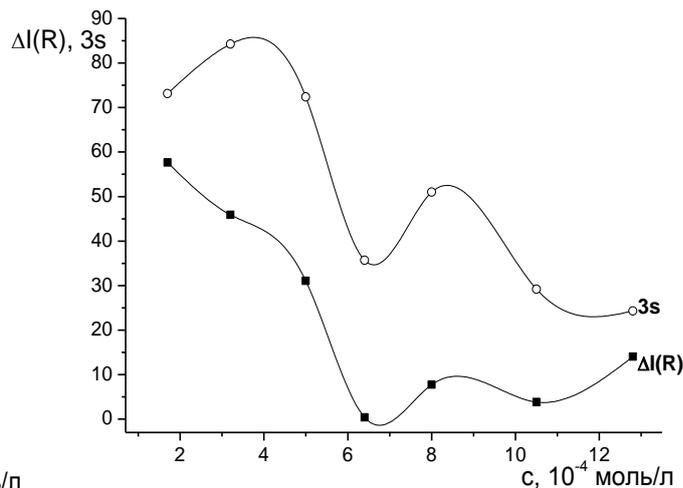
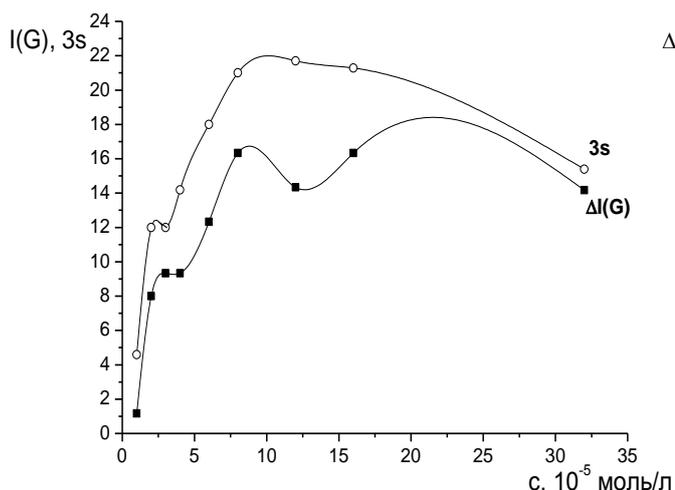


Рис. 7. Зависимость отклонений от аддитивности (ΔI) и величины случайных погрешностей ($3s$) при измерении яркости R- (2) и G- (1) составляющих суммарной окраски комплексов, иммобилизованных на бумаге, от концентрации металлов в растворе: 1) РИБ-ПАН, $m=3$; 2) РИБ-Металл-Тест-III, $m=4$.

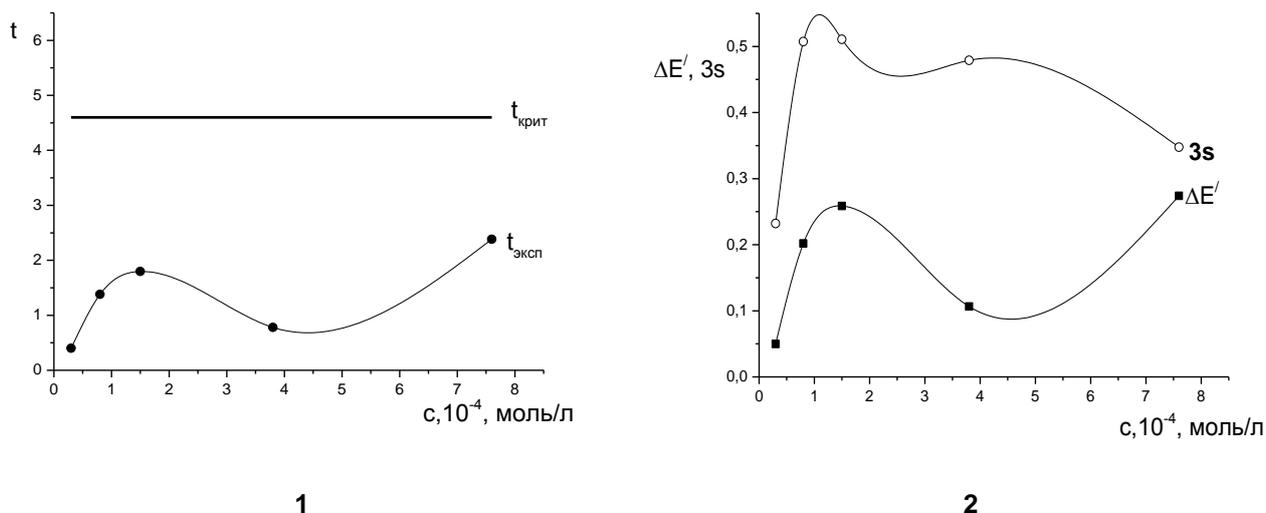


Рис. 8. Зависимость экспериментального значения t -критерия (1), отклонений от аддитивности ($\Delta E'$) и величины случайных погрешностей ($3s$) при измерении общего цветового различия (2) комплексов, иммобилизованных на бумаге РИБ-Металл-Тест-I, от концентрации металлов в растворе ($m=3$).

Полученные результаты (табл. 2) свидетельствуют о том, что и применение критерия χ^2 не выявляет значимых отклонений от аддитивности общего цветового различия суммы иммобилизованных на бумаге металлокомплексов.

Таблица 2. Проверка аддитивности общего цветового различия для реagentных индикаторных бумаг по критерию χ^2

Тест-система	$\chi^2_{\text{эксп}}$	$\chi^2_{\text{крит}}$
РИБ-ПАН	3.3	16.9 ($f=9$)
РИБ-Металл-Тест-I	2.0	11.1 ($f=5$)
РИБ-Металл-Тест-III	2.6	14.1 ($f=7$)

Таблица 3. Результаты экспериментальной оценки предела определения Pb(II) с использованием РИБ-Металл-Тест-III ($N = 48$)

Введено Pb(II) (0.17 ммоль/л)	Найдено Pb(II) с использованием цветовой шкалы, ммоль/л		
	0.10	0.15	0.20
Число определений	2	28	18
$s_c = 0.0243$ ммоль/л; $c_{\text{lim}} = 3s_c = 0.073$ ммоль/л			

Наряду с инструментальными методами, мы предлагаем еще один способ проверки аддитивности сигнала — метод визуальной колориметрии, основанный на сопоставлении экспериментально установленных значений предела определения аналитов. Согласно [8], предел определения аналита (c_{lim}) оценивают статистическим методом по цветовой шкале. Значение c_{lim} вычисляют как утроенное стандартное отклонение, экспериментально найденное вблизи искомой концентрации. Пример экспериментальной оценки предела определения Pb(II) с использованием индикаторной бумаги РИБ-Металл-Тест-III приве-

ден в табл. 3. В узком диапазоне концентраций приготовили цветовую шкалу сравнения, отвечающую концентрациям 0, 0.10 и 0.20 ммоль/л, и контрольный тест-образец, отвечающий раствору с заданной концентрацией 0.17 ммоль/л. Приготовление шкалы и контрольного образца повторили трижды. Используя цветовую шкалу, наблюдатели оценили содержание Pb(II) в растворе. Из 48 результатов определений вычислили s_c и c_{lim} . Искомый предел визуального определения Pb(II) составил $7.3 \cdot 10^{-5}$ ммоль/л.

Проверку аддитивности визуального сигнала можно проводить, используя эмпирический критерий. Необходимо сопоставить значения предела определения, экспериментально установленного для суммы аналитов $c_{\text{lim},\Sigma}$, со значением, вычисленным как гармоническое среднее из пределов определения каждого аналита $n/[\Sigma(1/c_{\text{lim},i})]$. Если отклонение от аддитивности визуального сигнала не превышает уровень случайных погрешностей, отличие сопоставляемых значений должно быть меньше стандартного отклонения определяемой концентрации s_c , равного $1/3$ экспериментально установленного значения $c_{\text{lim},\Sigma}$, т. е. должно соблюдаться неравенство

$$|c_{\text{lim},\Sigma} - n / [\Sigma(1/c_{\text{lim},i})]| < s_c = 1/3(c_{\text{lim},\Sigma}).$$

В табл. 4 приведены экспериментально установленные значения пределов визуального определения металлов и их суммы с использованием твердофазных реагентов; в последней строчке таблицы указаны вычисленные значения пределов суммарного определения металлов. Для всех изученных тест-систем различие сравниваемых величин не превысило уровень случайных погрешностей, равный $s_c = 1/3(c_{\text{lim},\Sigma})$ (указан в скобках в предпоследней строке таблицы), что подтверждает вывод о статистически незначимом отклонении от аддитивности визуального сигнала при тестовом определении суммарного содержания металлов.

Таблица 4. Значения пределов визуального определения металлов и их суммы с использованием твердофазных реагентов

M ⁿ⁺	C _{lim} , 10 ⁻⁶ моль/л					
	НРС- пленка	ПАР- пленка	РИБ- ПАН	РИБ- Металл- Тест-I	РИБ- Металл- Тест-II	РИБ- Металл- Тест-III
Cd ²⁺	—	3.0	2.7	66	170	72
Zn ²⁺	—	2.2	2.8	73	61	98
Cu ²⁺	4.9	1.5	3.5	85	35	78
Co ²⁺	4.5	1.5	3.3	85	51	78
Ni ²⁺	6.8	2.7	2.9	110	39	190
Pb ²⁺	—	3.9	3.0	26	—	73
Mn ²⁺	—	—	—	138	—	100
Fe ³⁺	5.4	—	—	360	220	800
ΣM ⁿ⁺ (1/3 c _{lim,Σ})	5.3 (1.8)	1.8 (6)	2.7 (0.9)	88 (29)	67 (22)	120 (40)
n / [Σ(1/c _{lim,i})]	5.3	2.2	3.0	73	60	100

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выполненные в работе исследования показали, что для проверки аддитивности светопоглощения, функции Гуревича-Кубелки-Мунка, общего цветового различия и интенсивности R-, G-, B-составляющих окраски иммобилизованных на сорбенте металлокомплексов можно применять достаточно простые 3s- и t-критерии, которые ранее использовались лишь в классической спектрометрии растворов. Наряду с этими критериями проверять аддитивность общего цветового различия смеси иммобилизованных на сорбенте аналитов можно по критерию χ^2 ; в визуальной колориметрии для проверки аддитивности аналитического сигнала можно применять эмпирический критерий, основанный на визуальной оценке пределов определения отдельных аналитов и их суммы.

В работе проверены шесть тест-систем, для которых значимое отклонение от аддитивности аналитического сигнала было маловероятным.

Компоненты исследуемых смесей находились в одинаковых концентрациях, они заведомо не реагировали друг с другом (в условиях измерения суммарного сигнала). Как известно [1, 4], ковалентная прививка реагентов на твердой матрице приводит к упрощению состава образующихся металлокомплексов, поэтому конкуренция за иммобилизованный реагент у ионов металлов также маловероятна.

Предложенные в работе способы выявления отклонений аналитического сигнала от аддитивности необходимо в дальнейшем проверить для случая, когда концентрации компонентов смеси различны, а также для заведомо неаддитивных систем.

Благодарности

Авторы благодарны профессору В.И. Вершинину (Омский государственный университет им. Ф.М. Достоевского) за интерес к работе и ценные советы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Золотов Ю.А., Иванов В.М., Амелин В.Г. Химические тест-методы анализа. Москва: Едиториал УРСС, 2002. С. 304.
2. Baena J.R., Valcarcel M. Total indices in analytical sciences. *Trends in Anal. Chem.* 2003. 22(10), 641-646.
3. Золотов Ю.А. Определение интегральных показателей как задача аналитической химии *Журн. аналит. химии.* 2004, 59(7), 677.
4. Островская В.М., Запорожец О.А., Будников Г.К., Чернавская Н.М. Вода. Индикаторные системы. Москва: ФГУП ВТИИ, 2002. С. 266.
5. Дмитриенко С.Г. Аляри В.В. Пенополиуретаны: сорбционные свойства и применение в химическом анализе. Москва: КРАСАНД, 2010. С. 264.
6. Амелин В.Г. Тест-метод определения суммарных показателей качества вод с использованием индикаторных бумаг. *Журн. аналит. химии.* 2000, 55(5), 532-538.
7. Панталер Р.П., Лебедь Н.Б., Авраменко Л.И., Бланк А.Б. Экспресс-тест для обнаружения и полуколичественного определения суммы тяжелых металлов в водах. *Журн. аналит. химии.* 1997, 52(6), 643-646.

8. Островская В.М., Решетняк Е.А., Никитина Н.А., Пантелеймонов А.В., Холин Ю.В. Тест-метод определения суммы металлов реактивной индикаторной бумагой и его метрологические характеристики. *Журн. аналит. хим.* 2004, 59(10), 1101-1108.
9. Решетняк Е.А., Никитина Н.А., Логинова Л.П., Мчедлов-Петросян Н.О., Светлова Н.В. Протолитические и комплексообразующие свойства индикаторов в среде желатинового геля. *Вестн. Харьк. нац. ун-та.* 2005, №669, Химия. Вып. 13(36), 67–82.
10. Nikitina N., Reshetnyak E., Ivchenko N. Gelatin films with immobilized nitroso-R-salt for the photometric determination of cobalt(II), nickel(II), copper(II) and iron(III). *Central European Journal of Chemistry.* 2012, DOI 10.2478/s11532-012-0081-7.
11. Гавриленко Н.А., Саранчина Н.В. Аналитические свойства 1-(2-пиридилазо)-2-нафтола, иммобилизованного в полиметакрилатную матрицу. *Журн. аналит. хим.* 2009, 64(3), 243-247.
12. Vuković J., Avidad M.A., Capitán-Vallvey L.F. Characterization of disposable optical sensors for heavy metal determination. *Talanta.* 2012, 94, 123-132.
13. Берштейн И.Я., Каминский Ю.А. Спектрофотометрический анализ в органической химии. Ленинград: Химия, 1986. С. 200.
14. Власова И.В., Шилова А.В. Новые подходы к спектрофотометрическому анализу многокомпонентных смесей. *Вестн. Харьк. нац. ун-та.* 2007, №770. Химия. Вып. 15(38), 141–146.
15. Власова И.В., Вершинин В.И. Возможность определения компонентов бинарных смесей по методу Фирордта с погрешностями, не превышающими заданный предел. *Журн. аналит. химии.* 2009, 64(6), 571–576.
16. Вершинин В.И., Власова И.В., Цюпко Т.Г. Выявление отклонений от аддитивности в спектрофотометрическом анализе неразделенных смесей. *Методы и объекты хим. анализа.* 2010, 5(4), 226–234.
17. Власова И.В., Вершинин В.И., Цюпко Т.Г. Методология спектрофотометрического анализа смесей органических соединений. Проблема неаддитивности светопоглощения. *Журн. аналит. химии.* 2011, 66(1), 25–33.
18. Вершинин В.И., Власова И.В., Цюпко Т.Г., Николаева Н.А., Харькова М.А. Методология спектрофотометрического анализа смесей органических соединений. Применение статистических моделей. *Журн. аналит. химии.* 2011, 66(7), 708-715.
19. Иванов В.М., Кузнецова О.В. Химическая цветометрия: возможности метода, области применения и перспективы. *Успехи химии.* 2001, 70(5), 411–428.
20. Умланд Ф., Янсен А., Тириг Д., Вьонш Г. Комплексные соединения в аналитической химии. Теория и практика. Москва: Мир, 1975. С. 536.
21. Решетняк Е.А., Холин Ю.В., Шевченко В.Н. Построение цветовых шкал для визуальной колориметрии. Представление результатов анализа. *Методы и объекты хим. анализа.* 2011, 6(4), 188–197.
22. Кириллов Е.А. Цветоведение. Москва: Легпромбытиздат, 1987. С. 128.
23. Решетняк Е.А., Никитина Н.А., Снежко Д.В., Житняковская Я.А., Бондаренко Я.А., Островская В.М. О применении портативного фотометра для регистрации цвета сорбентов в химическом анализе. *Вестн. Харьк. нац. ун-та.* 2010, №932. Химия. Вып. 19(42), 208–215.
24. Шишкин Ю.Л., Дмитриенко С.Г., Медведева О.М., Бадакова С.А., Пяткова Л.Н. Применение сканера и компьютерных программ цифровой обработки изображений для количественного определения сорбированных веществ. *Журн. аналит. хим.* 2004, 59(2), 119–124.
25. Орлов А.И. Прикладная статистика. Москва: Экзамен, 2004. С. 656.