

УДК 543.42

# СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СМЕСЕЙ ВЕЩЕСТВ С СИЛЬНО ПЕРЕКРЫВАЮЩИМИСЯ СПЕКТРАМИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПОЛИНОМИАЛЬНОЙ АППРОКСИМАЦИИ И НЕЛИНЕЙНОГО ПРЕОБРАЗОВАНИЯ ОСИ ДЛИН ВОЛН

© 1995 г. А. В. Гармаш, О. Н. Воробьева, А. В. Кудрявцев

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова  
119899 Москва, Воробьевы горы

Поступила в редакцию 19.01.93 г.

Большинство методов спектрофотометрического анализа многокомпонентных смесей основано на решении системы линейных уравнений вида

$$y_i = \sum_{j=1}^m S_{ij} c_j \quad i = 1, 2, \dots, n \geq m. \quad (1)$$

Здесь  $(y_1, \dots, y_i, \dots, y_n)$  – вектор-столбец аналитических сигналов (индекс  $i$  обозначает аналитическую позицию),  $(c_1, \dots, c_j, \dots, c_m)$  – вектор-столбец концентраций компонентов (индекс  $j$  обозначает номер компонента), а

$$\begin{pmatrix} S_{11} & \dots & S_{1j} & \dots & S_{1m} \\ \vdots & & \vdots & & \vdots \\ S_{i1} & \dots & S_{ij} & \dots & S_{im} \\ \vdots & & \vdots & & \vdots \\ S_{n1} & \dots & S_{nj} & \dots & S_{nm} \end{pmatrix}$$

матрица коэффициентов чувствительности. При  $n > m$  (переопределенная система) для нахождения значений  $c_j$  применяют метод наименьших квадратов. В простейшем случае (метод Фирордта [1]) величины  $y_i$  представляют собой оптические плотности анализируемой смеси при длинах волн  $\lambda_i$ , а  $S_{ij}$  – коэффициенты поглощения компонентов при тех же длинах волн. В последнее время получил распространение ряд методов [1 - 16], использующих аппроксимацию спектров поглощения компонентов суммой ортогональных полиномов вида

$$\epsilon_j(\lambda) = \sum_{i=1}^n a_{ij} P_i(\lambda), \quad (2)$$

где  $\epsilon_j(\lambda)$  – коэффициент поглощения  $j$ -го компонента при длине волны  $\lambda$ ,  $P_i(\lambda)$  – ортогональный полином заданного вида от  $\lambda$  степени  $i - 1$ ,  $a_{ij}$  – коэффициент. Спектр поглощения анализируемой

смеси также аппроксимируют суммой ортогональных полиномов

$$A(\lambda) = \sum_{i=1}^n b_i P_i(\lambda). \quad (3)$$

В этом случае в качестве вектора аналитических сигналов можно использовать вектор коэффициентов  $b_i$ , а в качестве матрицы коэффициентов чувствительности – матрицу коэффициентов  $a_{ij}$ . Простейшими разновидностями методов, использующих ортогональную аппроксимацию, являются методы Дейли–Ефимовой–Марковича (ДЕМ) [3 - 7] и Эштона–Тутилла (ЭТ) [8 - 10]. Они применимы в тех случаях, когда спектр поглощения одного из компонентов (для определенности будем считать, что для этого компонента  $j = 1$ ) аппроксимируется суммой полиномов более высоких степеней, чем спектры остальных, примесных

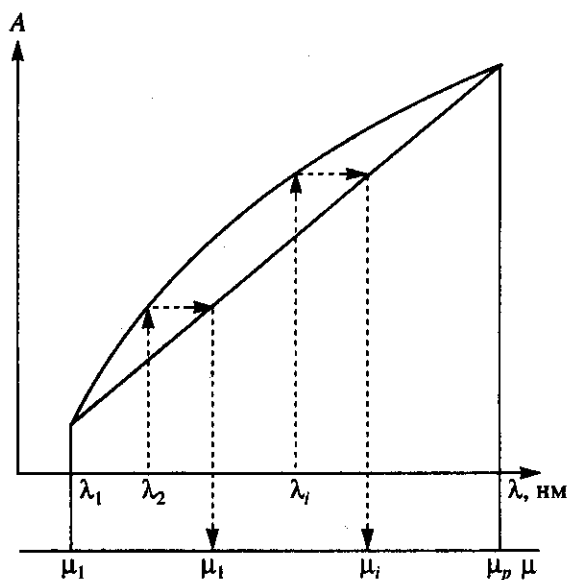


Рис. 1. Преобразование оси длин волн для приведения спектра поглощения к линейному виду.

компонентов (т.е. существует такое  $k < n$ , что для любого  $j > 1$  и  $l > k$  все  $a_{jl} = 0$  и при этом  $a_{n1} \neq 0$ ). В этом случае значение  $c_1$  можно рассчитать как

$$c_1 = \frac{b_l}{a_{l1}} \quad (4)$$

для любого  $l > k$ , при котором  $a_{l1} \neq 0$  (метод ДЕМ), либо как

$$c_1 = \frac{\sum_{l=k+1}^n b_l P_l(\lambda)}{\sum_{l=k+1}^n a_{l1} P_l(\lambda)} \quad (5)$$

(метод ЭТ). Как метод ДЕМ, так и метод ЭТ неприменимы, если спектры поглощения всех компонентов аппроксимируются полиномами одинаковой степени. Кроме того, при больших значениях  $k$  использование этих методов нецелесообразно, так как погрешности определения коэффициентов  $a_{l1}$  и  $b_l$  резко возрастают с ростом  $l$ . Поэтому как метод ДЕМ, так и метод ЭТ обычно применяют лишь при  $k = 2$ , т.е. в случае линейного спектра примесных компонентов [1].

В настоящей работе предложена модификация методов ДЕМ и ЭТ, основанная на приведении спектра поглощения примесных компонентов к линейному виду путем нелинейного преобразования оси длин волн. Возможности модифицированных методов продемонстрированы на примере анализа смесей красителей с близкими, сильно перекрывающимися спектрами поглощения.

## ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

Пусть спектр поглощения многокомпонентной смеси  $A = f(\lambda)$  задан на множестве длин волн  $\lambda_1 < \lambda_2 < \dots < \lambda_i < \dots < \lambda_p$ . Будем рассматривать этот спектр как линейную комбинацию спектра поглощения основного (определяемого) компонента с концентрацией  $c_1$   $A_1 = f_1(\lambda) = c_1 \varepsilon_1(\lambda)$  и суммарного спектра поглощения остальных компонентов ("спектра примесей")  $A_2 = f_2(\lambda)$ . Функция  $f_2(\lambda)$ , вообще говоря, не является линейной. Однако, перейдя к новой независимой переменной  $\mu$ , можно представить ее в виде линейной зависимости  $A_2 = u\mu + v$ . Значения переменной  $\mu_i$  при этом рассчитываются как

$$\mu_i = \frac{A_2(\lambda_i) - v}{u}, \quad (6)$$

а параметры линейной зависимости  $u$  и  $v$  — как

$$u = \frac{A_2(\lambda_p) - A_2(\lambda_1)}{\mu_p - \mu_1}, \quad (7)$$

$$v = \frac{\mu_p A_2(\lambda_1) - \mu_1 A_2(\lambda_p)}{\mu_p - \mu_1}. \quad (8)$$

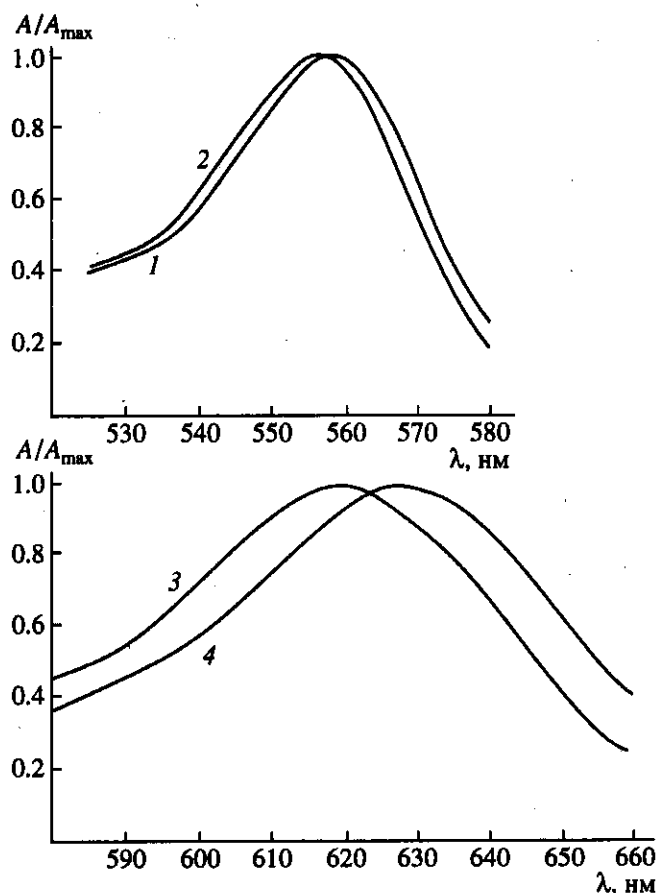


Рис. 2. Электронные спектры поглощения водных растворов красителей. 1 — Rh3B, 2 — BuRhC, 3 — MG, 4 — BG. Спектры нормированы к величине оптической плотности в максимуме светопоглощения.

Значения  $\mu_1$  и  $\mu_p$  можно выбрать произвольно — например, положить их равными, соответственно,  $-1$  и  $+1$  либо  $\lambda_1$  и  $\lambda_p$ . Характер преобразования оси длин волн при переходе от переменной  $\lambda$  к переменной  $\mu$  поясняет рис. 1.

В координатах  $\mu$ — $A$  спектр примеси описывается линейной функцией и может быть представлен в виде суммы ортогональных полиномов степени не выше 1. Если спектр основного компонента в этих же координатах является нелинейным, то после преобразования оси длин волн для определения концентрации этого компонента можно применить как метод ДЕМ, так и метод ЭТ. При этом желательно, чтобы на заданном множестве длин волн спектр примеси  $A_2 = f(\lambda)$  представлял собой монотонную (возрастающую либо убывающую) функцию от  $\lambda$ . Если эта функция не будет монотонной, то преобразование оси длин волн по формулам (6) — (8) не будет непрерывным. Это может привести к существенному усложнению спектра основного вещества в координатах  $\mu$ — $A$ , появлению в нем большого количества чередующихся максимумов и минимумов и, в

конечном счете, сделает невозможной его адекватную аппроксимацию суммой ортогональных полиномов.

Нами разработана программа SOBIS, позволяющая рассчитывать концентрацию одного из компонентов смеси с помощью линейризации спектра примеси описанным выше методом. Программа включает в себя отдельные блоки, выполняющие следующие действия.

1. Ввод спектров определяемого и примесного компонентов.

2. Преобразование оси длин волн по формулам (6) - (8) с целью линейризации спектра примеси.

3. Аппроксимация спектра определяемого компонента в преобразованной системе координат суммой ортогональных полиномов. Максимальная степень полиномов может задаваться пользователем или определяться автоматически.

4. Ввод спектра анализируемой смеси, аппроксимация этого спектра в преобразованной системе координат.

5. Расчет концентрации определяемого компонента по формулам (4) и (5).

Программа написана на языке Фортран F80. Для построения системы ортогональных полиномов и аппроксимации спектров использованы алгоритмы и фрагменты программы FORSY [17]. Для автоматического выбора оптимальной степени аппроксимирующего полинома использован критерий, описанный в [1, 18 - 19].

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе были использованы красители родамин 3В (Rh3B), бутилродамин С (BuRhC), маляхитовый зеленый (MG) и бриллиантовый зеленый (BG) квалификации ч. Исходные растворы этих веществ концентрации 50 - 200 мг/л готовили растворением в воде точных навесок. Рабочие растворы модельных объектов (индивидуальных красителей и их смесей) готовили разбавлением аликвот исходных растворов водой. Концентрации компонентов для модельных объектов выбирали таким образом, чтобы оптическая плотность при длине волны максимального поглощения находилась в пределах 0.2 - 0.8 (это соответствует концентрациям порядка 0.5 - 5 мкг/мл или  $(1 - 10) \times 10^{-6}$  М). Соотношения массовых концентраций компонентов бинарных смесей красителей варьировали в пределах 1 : 5 - 5 : 1. Электронные спектры поглощения записывали на спектрофотометре СФ-16 в прямоугольных кварцевых кюветках с  $l = 1$  см при длинах волн, кратных 5 нм, в диапазонах 525 - 580 нм (Rh3B, BuRhC) и 580 - 660 нм (MG, BG). Для уменьшения случайной погрешности измерения проводили при чувствительности 1, а также использовали один и тот же фотоэлемент (сурьмяно-цезиевый) для всех рабочих длин волн. Для каждой изучаемой системы проводили не менее трех параллельных измерений. При этом каждое измерение проводили для раствора, приготовленного заново.

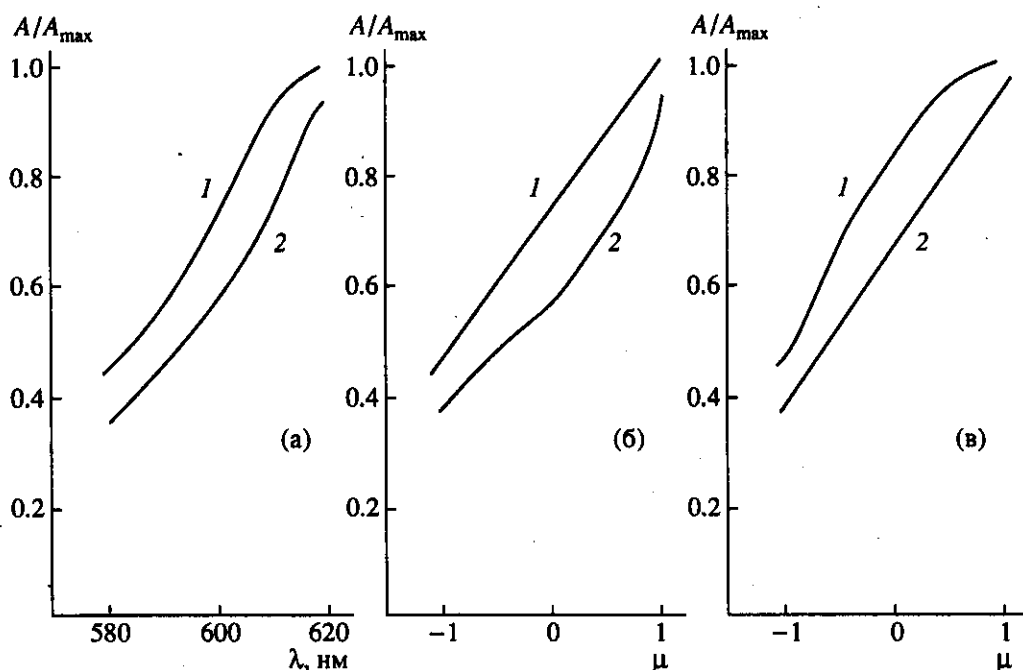


Рис. 3. Исходные (а) и преобразованные (б, в) спектры поглощения MG (1) и BG (2). Преобразование выполнено: б - для определения BG, в - для определения MG.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В работе исследованы пары красителей Rh3В–BuRhC и MG–BG. Для каждой из этих пар спектры компонентов (рис. 2) сильно перекрываются (значения  $\Delta\lambda_{\max}$  в обоих случаях составляют 3 - 7 нм). Для анализа таких систем была изучена возможность использования метода Фирордта и методов ДЕМ и ЭТ как в исходном, так и в предложенном варианте (линеаризация спектра одного из компонентов путем предварительного преобразования оси длин волн).

**Метод Фирордта.** Использовали варианты этого метода как с определенной (число аналитических позиций  $n = 2$ ), так и с переопределенной ( $n = 3 - 10$ ) системой линейных уравнений. При выборе оптимальных аналитических позиций руководствовались критериями, описанными в [1, 20]. Ни в одном из вариантов анализа с использованием метода Фирордта величина  $s_r$  не была меньше, чем 0.4. Таким образом, метод Фирордта для анализа систем со столь сильно перекрывающимися спектрами непригоден.

**Методы ДЕМ и ЭТ.** При большом (8 - 15) числе аналитических позиций спектры компонентов удовлетворительно аппроксимируются лишь полиномиальными суммами достаточно высоких степеней (5 - 8). Вследствие этого величины  $s_r$  концентраций компонентов, рассчитанных при этих условиях методами ДЕМ и ЭТ, оказывались равными 0.5 и выше. При меньшем числе аналитических позиций спектры обоих компонентов каждой из пар аппроксимируются полиномами

одинаковых степеней, что не позволяет использовать методы ДЕМ и ЭТ. Таким образом, указанные методы в данном случае также непригодны.

**Методы ДЕМ и ЭТ с линеаризацией спектра одного из компонентов.** В качестве рабочих областей были выбраны области длин волн, в которых спектр хотя бы одного из компонентов смесей является монотонным: 580 - 625 нм и 620 - 660 нм для системы MG–BG и 525 - 560 нм для системы Rh3В–BuRhC (участок 555 - 580 нм для этой системы не использовали, так как при этих длинах волн спектры компонентов заметно искажаются из-за флуоресценции). Для выбранной области проводили преобразование оси длин волн с целью линеаризации спектра компонента, не подлежащего определению. В качестве примера на рис. 3 приведены исходные и преобразованные спектры MG и BG. Как видно из этого рисунка, при подходящем выборе рабочей области длин волн возможно из одних и тех же спектральных данных определять концентрации обоих компонентов, используя два различных преобразования. В преобразованной системе координат спектры поглощения определяемого компонента, а также анализируемой смеси в целом, для всех изученных систем удовлетворительно аппроксимировались полиномиальными суммами 2 - 4 степени. Для расчетов концентраций определяемого компонента по методу ДЕМ использовали коэффициенты при ортогональных полиномах второй степени.

Результаты анализа модельных смесей красителей приведены в табл. 1 и 2.

Таблица 1. Определение родамина 3В (Rh3В) и бутилродамина С (BuRhC) в их смесях.  $n = 3$ ,  $P = 0.95$

Введено, мкг		Найдено методом ДЕМ, мкг				Найдено методом ЭТ, мкг			
Rh3В	BuRhC	Rh3В	$s_r$	BuRhC	$s_r$	Rh3В	$s_r$	BuRhC	$s_r$
80.0	78.6	81 ± 12	0.06	78 ± 9	0.05	78 ± 8	0.04	79 ± 6	0.03
106.8	110.0	103 ± 8	0.03	114 ± 4	0.01	100 ± 7	0.03	111 ± 6	0.02
53.4	78.6	52 ± 6	0.05	75 ± 14	0.08	51 ± 8	0.07	76 ± 15	0.08
53.4	110.0	54 ± 3	0.03	103 ± 7	0.03	56 ± 6	0.04	104 ± 10	0.04

Таблица 2. Определение малахитового зеленого (MG) и бриллиантового зеленого (BG) в их смесях.  $n = 3$ ,  $P = 0.95$

Введено, мкг		Найдено методом ДЕМ, мкг				Найдено методом ЭТ, мкг			
MG	BG	MG	$s_r$	BG	$s_r$	MG	$s_r$	BG	$s_r$
54.5	48.0	54 ± 3	0.02	46 ± 3	0.03	55 ± 4	0.03	44 ± 5	0.04
54.5	96.0	54 ± 4	0.03	99 ± 7	0.03	57 ± 2	0.02	103 ± 11	0.04
54.5	144.0	57 ± 9	0.06	149 ± 12	0.03	52 ± 3	0.02	55 ± 1	0.01
109.0	48.0	114 ± 6	0.02	44 ± 5	0.05	110 ± 11	0.04	46 ± 3	0.02
163.5	48.0	157 ± 16	0.04	51 ± 4	0.03	152 ± 16	0.04	50 ± 6	0.05
218.0	48.0	216 ± 13	0.03	49 ± 6	0.05	213 ± 8	0.02	49 ± 4	0.03

Таким образом, предварительное нелинейное преобразование оси длин волн существенно расширяет возможности известных спектрофотометрических методов анализа многокомпонентных смесей – в частности, в случае сильного перекрытия спектров поглощения компонентов.

### ВЫВОДЫ

Предложен метод спектрофотометрического анализа многокомпонентных смесей, включающий нелинейное преобразование оси длин волн с целью приведения спектра поглощения одного из компонентов к линейному виду и последующую аппроксимацию спектров поглощения определяемого компонента и анализируемой смеси суммой ортогональных полиномов. Для реализации предложенного метода анализа разработана программа на языке Фортран F80. Метод применен к анализу бинарных смесей красителей с сильно перекрывающимися спектрами поглощения в соизмеримых концентрациях.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Берштейн И.Я., Каминский Ю.Л. Спектрофотометрический анализ в органической химии. Изд. 2-е. Л.: Химия, 1986. 199 с.
2. Daly C. // *Analyst*. 1961. V. 86. № 2. P. 129.
3. Ефимова Г.В., Маркович А.В. // Тр. Лен. НИИ антибиотиков. 1963. Т. 3. С. 82.
4. Ефимова Г.В., Маркович А.В. // Вопросы мед. химии. 1963. Т. 9. № 4. С. 429.

5. Glenn A.L. // *J. Pharm. Pharmacol.* 1963. V. 15 (Suppl.). P. 123T.
6. Wahbi A.M. // *Pharmazie*. 1971. V. 26. № 5. P. 291.
7. Wahbi A.M., Ebel S., Steffens U. // *Fres. Z. anal. Chem.* 1975. Bd. 273. № 3. S. 183.
8. Ashton G.C., Tootill J.R.T. // *Analyst*. 1956. V. 81. № 961. P. 232.
9. Берштейн И.Я. // *Антибиотики*. 1980. № 6. С. 444.
10. Лунашевская Д.П., Берштейн И.Я. Количественный спектрофотометрический анализ вещества в присутствии примеси. М.: ЦБНТИ Медпром, 1978. 42 с.
11. Wahbi A.M., Ebel S. // *J. Pharm. Pharmacol.* 1974. V. 26. № 5. P. 317.
12. Wahbi A.M., Ebel S. // *J. Pharm. Pharmacol.* 1974. V. 26. № 12. P. 968.
13. Wahbi A.M., Ebel S. // *Fres. Z. anal. Chem.* 1974. Bd. 270. № 4. S. 282.
14. El-Yazbi F.A., Korany M.A. // *Spectroscopy Letters*. 1985. V. 18. № 7. P. 543.
15. Korany M.A., Bedair M.A., El-Yazbi F.A. // *Analyst*. 1986. V. 111. № 1. P. 41.
16. Korany M.A., Elsayed M.A.-H., Bedair M., Mahgoub H. // *Anal. Letters*. 1990. V. 23. № 3. P. 507.
17. Джонсон К. Численные методы в химии. М.: Мир, 1983. 503 с.
18. Себер Д. Линейный регрессионный анализ. М.: Мир, 1980. 456 с.
19. Айвазян С.А., Енюков И.С., Мешалкин Л.Д. Прикладная статистика. Исследование зависимостей. М.: Финансы и статистика, 1985. 487 с.
20. Перьков И.Г. // *Журн. аналит. химии*. 1991. Т. 46. № 10. С. 2069.

## Spectrophotometric Analysis of Mixtures of Substances with Strongly Overlapped Spectra by Polynomial Approximation and Nonlinear Transformation of the Wavelength Axis

A. V. Garmash, O. N. Vorob'eva, and A. V. Kudryavtsev

*Lomonosov Moscow State University, Moscow, 119899 Russia*

A method of spectrophotometric analysis of multicomponent mixtures was proposed. This method includes a nonlinear transformation of the wavelength axis to linearize the absorption spectrum of one component and a subsequent approximation of the absorption spectra of the test component and mixture by a sum of orthogonal polynomials. The method was implemented in a FORTRAN F80 program and applied to the analysis of binary mixtures of dyes with strongly overlapping absorption spectra with comparable concentrations.