


МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«КУБАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
(ФГБОУ ВО «КубГУ»)

Факультет химии и высоких технологий
Кафедра аналитической химии

Допустить к защите
Заведующий кафедрой
д-р хим. наук, проф.
 З.А. Темердашева
2019 г.

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА
(БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА)

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ ПОДГОТОВКИ ОБРАЗЦОВ ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ
ИНДИГОКАРМИНА МЕТОДОМ СПЕКТРОСКОПИИ ДИФФУЗНОГО
ОТРАЖЕНИЯ

Работу выполнил  К.А. Давыдова

Направление подготовки 27.03.01 Стандартизация и метрология

Направленность (профиль) Стандартизация и сертификация

Научный руководитель
доц., канд. хим. наук  П.В. Анисимович

Нормоконтролер
доц., канд. хим. наук  О.Б. Воронова

Краснодар
2019

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
1 Аналитический обзор.....	6
1.1 Основные инструментальные методы изучения химических процессов, происходящих в непрозрачных средах.....	6
1.1.1 Твердофазная спектрофотометрия.....	7
1.1.2 Спектроскопия диффузного отражения	9
1.2 Методы статистической оценки результатов измерений	12
1.3. Визуальное детектирование.....	22
2. Экспериментальная часть.....	32
2.1 Используемые реактивы, материалы и оборудование	32
2.2 Приготовление рабочих растворов	33
2.3 Исследование зависимости функции Кубелки–Мунка от концентрации индигокармина с применением методики прессования таблеток	34
2.4 Методика нанесения модифицированного сорбента на твердую основу	34
2.5 Методика исключения выбросов по t -критерию.....	36
2.6 Исследование влияния плотности бумаги на показатель повторяемости	38
2.7 Исследование влияния плотности бумаги на показатель воспроизводимости	44
2.8 Оценка метрологических характеристик методики с визуальным детектированием	49
2.8.1 Определение области ненадежной реакции по кривым эффективности	49
2.8.2 Процедура выбора функции, аппроксимирующей зависимость $P(C)$ от концентрации индигокармина	51
2.8.3 Методика оценки предела определения	51

2.8.4 Проверка правильности методики визуального детектирования при определении индигокармина на модельных растворах	53
3 Обсуждение результатов	54
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	65
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	67

ВВЕДЕНИЕ

Методы оптической молекулярной абсорбционной спектроскопии, такие как твердофазная спектрофотометрия, спектроскопия диффузного отражения и цветометрия, занимают особое место среди методов современной аналитической химии. Эти методы характеризуются экспрессностью и легкостью в реализации во внелабораторных условиях, что определяет их ценность при проведении рутинных исследований. Однако, хотелось бы отметить тот факт, что методы оптической молекулярной абсорбционной спектроскопии обладают значительным потенциалом, который необходимо раскрывать. Развитие методов аналитической химии, сочетающих во времени процедуру концентрирования и получения пригодной для измерения аналитической формы концентрата, остается актуальным направлением. Одним из направлений развития этих методов, является разработка рациональных и новых вариантов сочетания методов определения и концентрирования, при этом сохранить возможность выбора основных направлений управления характеристиками гетерогенных аналитических систем с участием сорбентов различной природы. Сорбционно-спектроскопические методы анализа, основаны на концентрировании определяемого компонента из жидкости или газа на твердом носителе, образовании на его поверхности окрашенного или люминесцирующего продукта и последующем его определении непосредственно в матрице сорбента. Однако, наряду с инструментальными методами определения веществ, закрепленных на твердом сорбенте, существует принципиально другой метод-визуального детектирования. Качественной характеристикой электромагнитного излучения оптического диапазона, определяемой на основании возникающего физиологического зрительного ощущения и зависящей от ряда факторов, является цвет аналита. Восприятие цвета определяется индивидуальностью человека, а также спектральными

состовляющими, цветовым и яркостным контрастом с окружающими источниками света, а также несветящимися объектами. Для применения методов анализа с визуальной индикацией, как и для любой другой методики анализа, требуется метрологическая обработка полученных результатов. Однако не смотря на нарастающий интерес к вопросу метрологического обеспечения методик с визуальным детектированием, на данный момент не существует унифицированной и надежной методики оценки метрологических характеристик тестового анализа.

Интерес представляет оценка и сопоставление метрологических характеристик методики определения индигокармина методами спектроскопии диффузного отражения и визуального тестирования.

Таким образом, целью данной работы являлась оптимизация условий подготовки образцов при определении индигокармина методом спектроскопии диффузного отражения и оценка возможности создания тест-системы с применением метода визуального тестирования.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

- изучить возможность реализации новых способов подготовки образцов при определении аналитов методом спектроскопии диффузного отражения;
- исследовать влияние способа подготовки образцов на метрологические характеристики методики определения индигокармина методом спектроскопии диффузного отражения;
- оценить метрологические характеристики методики с визуальным детектированием.

1 Аналитический обзор

1.1 Основные инструментальные методы изучения химических процессов, происходящих в непрозрачных средах

В зависимости от способа измерения аналитического сигнала среди сорбционно-спектроскопических методов различают твердофазную спектроскопию, сорбционно-фотометрический и сорбционно-люминесцентный методы, цветометрию. В настоящее время в аналитической химии все большее применение находят сорбционно-спектрофотометрические методы, которые позволяют сочетать процедуру концентрирования аналита и выделение его из сложной матрицы. Метод твердофазной спектрофотометрии основан на прямом измерении светопоглощения сорбента, чаще всего ионообменника, после сорбции на нем определяемого компонента. В сорбционно-фотометрическом методе анализа появление или изменение окраски сорбента вследствие сорбции на его поверхности определяемого компонента регистрируют, измеряя величину диффузного отражения. Сорбционно-люминесцентный метод основан на концентрировании определяемого компонента твердым носителем и последующем его определении непосредственно в фазе сорбента методом люминесцентной спектроскопии. В методе цветометрии аналитическим сигналом служат такие цветовые характеристики, как координаты цвета [1].

Процедура анализа с использованием твердофазного реагента предполагает извлечение определяемого аналита или вещества в фазу модифицированного сорбента за счет его взаимодействия с реагентом-модификатором и дальнейшее определение выделенного компонента непосредственно в фазе сорбента [2]. При изменении способа закрепления реагента на носителе, условий сорбции и анализа, состав образующихся соединений, их поведения в растворе и твердой фазе, кинетику процесса

сорбции с участием твердой фазы, то чувствительность и селективность метода также будут изменяться [3–11, 12 – 14].

1.1.1 Твердофазная спектрофотометрия

Метод твердофазной спектроскопии был предложен в конце семидесятых годов двадцатого века японскими химиками К. Йошимурой, Х. Ваки и С. Охаши, которые впервые обратили внимание на прямо пропорциональную зависимость между концентрацией иона в исходном растворе и светопоглощением твердой фазы [15]. Исследования авторов наглядно показали, что чувствительность метода в 10 раз выше по сравнению с аналогичными измерениями в растворах при погрешности всего в 5–10 процентов.

Данный метод основан на прямом измерении светопоглощения сорбента после сорбции из раствора аналита. Благодаря возможностям сочетания органических реагентов и различных сорбентов, метод весьма привлекателен для исследователей. Сорбентами, пригодными для использования в твердофазной спектрофотометрии, могут быть: синтетические ионообменники, пенополиуретаны, кремнеземы, в том числе золь-гель-материалы на основе кремниевой кислоты. Непрозрачные сорбенты имеют большие значения поглощения и рассеяния света. Фоновое поглощение возрастает с увеличением зернистости сорбента и уменьшением длины волны. Это приводит к тому, что на прецизионность аналитического сигнала существенное влияние оказывают конструкционные особенности спектрофотометров и методики измерения светопоглощения. Наиболее разработана спектрофотометрия ионообменников на основе сополимеров стирола с дивинилбензолом. Приготовление пробы для фотометрического анализа сводится к получению светопоглощающего слоя, равномерно заполненного ионообменником. Как и в фотометрии растворов, используют

кварцевую кювету, в которую переносят концентрат с небольшим количеством раствора, вторую кювету заполняют набухшим ионообменником такого же зернения. Светопоглощение измеряют при одной, двух или трех длинах волн. В последнем случае одна из трех длин волн соответствует максимальному поглощению окрашенного соединения, при других длинах волн светопоглощение отсутствует или является достаточно малым ($\lambda'' < \lambda_{\max} < \lambda'$) [16].

Более перспективной твердой матрицей, используемой в методе твердофазной спектрофотометрии для создания твердофазных аналитических систем является пенополиуретан. Образцы ППУ вырезают в виде тонкого параллелепипеда, размеры которого соответствуют размерам кюветы (2 x 1 x 0.1 см), переносят сорбент в заполненную органическим растворителем кювету и измеряют светопоглощение. Растворитель служит иммерсионной жидкостью, уменьшающей рассеяние света. Для монодисперсных сорбентов применяют метод гетерохроматической экстраполяции. Он заключается в измерении светопоглощения при двух длинах волн с максимальным приближением кюветы к детектору. Для компенсации высокого светопоглощения матрицы измерения проводят против металлической пластинки с отверстиями (перфорированного диска). Светопропускание такой пластины является постоянным в широком интервале длин волн. Для измерения поглощения толстых слоев сорбента (1–2 см) используют метод гетерохроматической экстраполяции в сочетании с методом зеркальной трубки. В этом случае между кюветой и детектором размещают зеркальную трубку, которая собирает рассеянный свет и направляет его на детектор [15].

В работе Мирзаевой Х.А. и Ахмедовой Р.И. для разработки тест-методов и методик твердофазной спектрофотометрии были выявлено влияние рН и времени контакта фаз на извлечение метиленового синего (МС) и 2,6-дихлорфенолиндифенола (ДХФИФ) пенополиуретаном. Установлено, что

температура практически не влияет на сорбцию в ППУ. После контакта с раствором аскорбиновой кислоты в зависимости от ее концентрации интенсивность окраски модифицированных сорбентов ППУ– ДХФИФ и ППУ–МС уменьшаются до обесцвечивания. Однако, независимо от концентрации аскорбиновой кислоты максимум светопоглощения во всех спектрах остается постоянным и наблюдается при 580 и 670 нм для ППУ– ДХФИФ и ППУ–МС соответственно [17].

Преимущества метода твердофазной спектрофотометрии связаны [15]:

- с сочетанием во времени концентрирования и получения пригодной для измерения аналитической формы концентрата;
- с повышением кинетической устойчивости соединений в фазе сорбента в сравнении с растворами;
- с возможностью использовать как закрепленные на сорбенте органические реагенты, нерастворимые в водных растворах, так и реакции, приводящие к образованию нерастворимых в воде соединений.

1.1.2 Спектроскопия диффузного отражения

Метод спектроскопии диффузного отражения (СДО) – один из не деструктивных методов исследования молекул, адсорбированных на поверхности твердых тел. С помощью данного метода возможно получить информацию об электронных переходах в молекулах и на поверхности дисперсного вещества на уровне десятых и менее долей монослоя [18]. С помощью данного метода возможно создать высокочувствительные и простые методы определения веществ. Наравне с коэффициентом рассеяния, данный метод позволяет также измерить цветометрические характеристики получившихся окрашенных комплексов: насыщенность, яркость, белизну, цветовой тон, координаты цвета, желтизну [19].

Метод СДО в аналитической практике осуществляется при получении электронных спектров адсорбированных веществ, снятых в отраженно-

рассеянном монохроматическом свете относительно носителя (адсорбента) с целью исключения его мешающего влияния на спектр адсорбата (рисунок 1) [19].

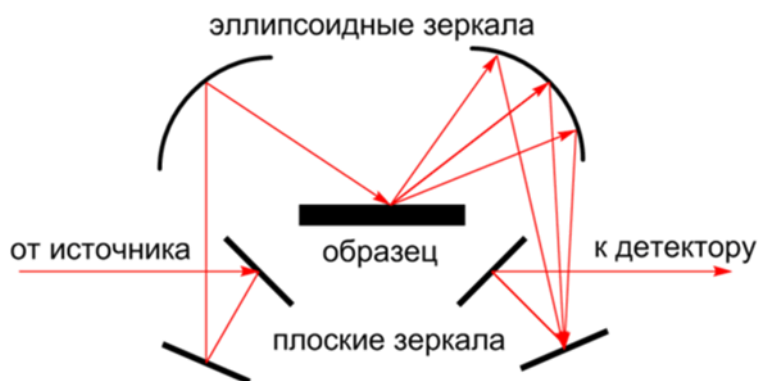


Рисунок 1- Схема ячейки диффузного отражения

На диффузное отражение влияет ряд факторов, основным из которых являются нормальное (зеркальное) отражение, толщина поглощающего слоя и размер частиц образца, его влажность [20].

Диффузное отражение измеряют, используя приставки для твердых образцов, которыми комплектуют все современные спектрофотометры, специализированные колориметры и портативные фотометры–рефлектометры карманного типа с автономным электропитанием [20].

К достоинствам метода относится высокая чувствительность, благодаря селективному выделению и концентрированию элементов, информативность, эффективность, простота выполнения, относительная дешевизна и доступность необходимого оборудования [18, 21–23].

Однако при использовании метода диффузного отражения возникает ряд проблем, препятствующих количественным измерениям. Это обусловлено, прежде всего тем, что в отличие от регистрации спектров растворов и газов трудно или практически невозможно определить количество материала, от которого регистрируется сигнал. Типичная процедура съемки спектра состоит в том, что образцы в виде порошков засыпаются в кюветы или готовятся в виде

таблеток. В качестве образца сравнения используют сульфат бария белого цвета, полагая, что его коэффициент отражения близок к ста процентам [24].

Другая особенность метода состоит в том, что уравнение Кубелки–Мунка не применимо к сильно поглощаемым объектам. Неприменимость обусловлена тем, что глубина проникновения в образец света начинает сильно зависеть от коэффициента поглощения. Чем поглощение выше, тем на меньшую глубину свет может проникать в образец [24].

Так же необходимо отметить невозможность или ошибочность приема для получения хорошо видимых спектров использовать разбавление образца порошком хорошо отражающего вещества. Проблема состоит в том, что для сильно поглощающего образца каждая отдельная частица, при прохождении через неё света, может поглотить девяносто и более процентов света. Следовательно, количество света, прошедшего через частицу и отраженного во внешнюю среду, далее разбавителем, будет суммироваться со светом, вообще не попавшим на частицу исследуемого образца. В результате будет наблюдаться существенное искажение спектра, снижение интенсивности и появление упрощенных по форме пиков (рисунок 2) [24].

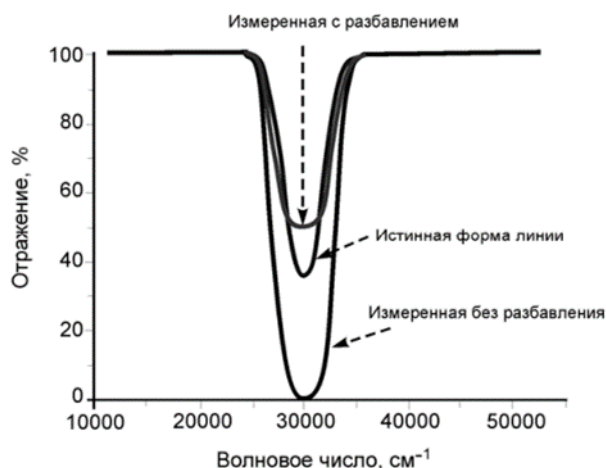


Рисунок 2 – Искажение спектров при разбавлении сильно поглощающих образцов оксидом магния или сульфатом бария

Метод твердофазной спектрофотометрии находит широкое применение в анализе аналитов благодаря сравнительной доступности, дешевизне, простоте в сочетании с хорошей точностью.

Сорбционно–спектроскопические методы анализа, основаны на концентрировании определяемого компонента из жидкости или газа на твердом носителе, образовании на его поверхности окрашенного или люминесцирующего продукта и последующем его определении непосредственно в матрице сорбента путем измерения оптической плотности, диффузного отражения, интенсивности люминесценции или цветометрических характеристик [25, 1].

1.2 Методы статистической оценки результатов измерений

Обработка результатов эксперимента в аналитической химии, заключается в применении методов математической статистики для оценки значений различных физических величин изучаемого объекта, и зависимости этих величин от одного или нескольких измеряемых внешних условий. Обработка результатов эксперимента включает определение точности данных. Как показывает практика, как бы тщательно не было спланирован и проведен эксперимент, всегда есть место погрешности результата измерения [26].

Погрешность результата измерения – отклонение результата измерения от истинного (действительного) значения измеряемой величины [27]. При этом под истинным значением понимается значение величины, которое идеальным образом характеризует в качественном и количественном отношении соответствующую физическую величину. Действительное значение – значение физической величины, полученное экспериментальным путем и настолько близко к истинному значению, что в поставленной измерительной задаче может быть использовано вместо него [26].

Существуют случайные и систематические погрешности, также существуют и выбросы, которые возникают из-за отступления от прописанных методикой условий измерений, или же из-за недосмотра оператора [26].

Случайная погрешность – составляющая погрешности результата измерения, изменяющаяся случайным образом (по знаку и значению) при повторных измерениях, проведенных с одинаковой тщательностью, одной и той же физической величины [27].

Систематическая погрешность – разность между математическим ожиданием результатов измерений и истинным значением [28].

Результаты любых измерений могут содержать случайные и систематические погрешности, эти погрешности будут влиять на такие метрологические характеристики как прецизионность (связана с случайной ошибкой) и правильность (связана с систематической ошибкой) [26].

Прецизионность – степень близости друг к другу независимых результатов измерений, полученных в конкретных регламентированных условиях [27].

Прецизионность могут характеризовать:

– повторяемость (сходимость) – степень близости друг к другу независимых результатов измерений, полученных в условиях повторяемости: одним и тем же методом на идентичных объектах в одной и той же лаборатории одним и тем же оператором, с использованием одного и того же оборудования [29].

– воспроизводимость – степень близости друг к другу независимых результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости: одним и тем же методом на идентичных объектах в разных лабораториях разными операторами, с использованием различного оборудования [29].

Правильность – степень близости среднего значения, полученного на основании большой серии результатов измерения, к принятому опорному значению [28].

Оценить воспроизводимость на практике возможно при наличии серии параллельных результатов измерений, однако для оценки правильности этого будет недостаточно, так как для сравнения необходимо истинное значение. Вместо истинного возможно использовать любое значение, систематическая погрешность которого пренебрежимо мала. Если при этом и случайная погрешность также пренебрежимо мала, то такое значение можно считать точной величиной (константой) и постулировать в качестве истинного [29].

Любой результат измерения – это случайная величина, потому различие результатов может быть вызвано случайными причинами и это не означает что результаты действительно разные. Если различие между величинами обусловлено только случайными причинами, то оно незначимое. Если же уровень случайных погрешностей превышен, то различие между величинами называется значимым. Значимое и незначимое различие отделены некоторой критической величиной, которую можно рассчитать с помощью различных статистических тестов или критериев проверки статистических гипотез [29].

Сравнение среднего и константы. Данный подход используется в случае, когда проверяемый результат является средним из нескольких параллельных определений (случайная величина \bar{x}). А в качестве результата сравнения используется величина, чья погрешность пренебрежительно мала, в сравнении с погрешностью проверяемого значения ($s=\text{const}$). Необходимо рассчитать доверительный интервал для среднего, по формуле Стьюдента (1), а затем проанализировать данные: если величина a входит в этот интервал, то различие между \bar{x} и a следует считать значимым

$$\bar{x} \pm \frac{t(P,f)s(\bar{x})}{\sqrt{n}} \quad (1)$$

где

$f=n-1$, а величины \bar{x} и a рассчитываются по формулам (2) и (3)

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} \quad (2)$$

$$s(x) = \sqrt{V(x)} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \quad (3)$$

где

\bar{x} – среднее арифметическое результатов единичного анализа;

x_i – i -й результат единичного анализа;

s – стандартное квадратичное отклонение, характеризующая повторяемость результатов единичного анализа;

n – количество результатов анализа.

Сравнение двух средних. Используется в случае, если сравниваемые результаты анализа одного и того же образца получены разными методами, но случайные погрешности этих результатов сравнимы между собой ($s_1^2 = s^2(x_1)$ и $s_2^2 = s^2(x_2)$). Тогда проверяем есть ли различие между воспроизводимостями обеих серий данных с помощью теста Фишера (4). Необходимо, чтобы s_1^2 был не меньше s_2^2 .

$$\xi = \frac{s_1^2}{s_2^2} \quad (4)$$

где

s_1^2 и s_2^2 – дисперсии первой и второй серий.

Далее вычисляем тестовую статистику (5), необходимо чтобы выполнялось неравенство (7), если дисперсии различаются значимо, то точного статистического теста сравнения средних не существует и необходимо применить простой тест Стьюдента в приближенном варианте.

$$\xi = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{\bar{s}(x)} \cdot \sqrt{\frac{n_1 n_2}{n_1 + n_2}} \quad (5)$$

где

n_1 и n_2 – числа параллельных значений, из которых рассчитаны величины \bar{x}_1 и \bar{x}_2 , соответственно;

$\bar{s}(x)$ – среднее стандартное отклонение (6)

$$\bar{s}(x) = \sqrt{\overline{s^2}(x)} = \sqrt{\frac{f_1 s_1^2 + f_2 s_2^2}{f_1 + f_2}} \quad (6)$$

$$\xi > t(P, f = n_1 + n_2 - 2) \quad (7)$$

где

f_1 и f_2 – числа степеней свободы соответствующих дисперсий, равные n_1-1 и n_2-1 .

Для того, чтобы рассчитанные статистические данные были верными, необходимо в первую очередь выявить промахи. Для этого используют такие инструменты как Q-тест, г-критерий, критерий Граббса и другие.

При использовании Q-теста, необходимо упорядочить серию данных по возрастанию, наименьшее и наибольшее значения будут подвергаться проверке. Проводим расчет тестовой статистики (8), за критическую величину принимаем табличное значение Q (P, n), оно зависит от доверительной вероятности и общего числа данных в серии. Если тестовая статистика превышает критическую величину, то значение считают промахом из серии. После его исключения необходимо проверить на наличие промахов оставшиеся данные (с другим значением Q), поскольку промах в серии может быть не один.

$$\xi = \frac{x_n - x_{n-1}}{x_{max} - x_{min}} \quad (8)$$

где

x_n и x_{n-1} – исследуемое и ближайшее значения;

x_{min} и x_{max} – максимальное и минимальное значение в серии

При исключении выбросов по г-критерию, принимается нуль-гипотезу, по которой сомнительное значение не является выбросом, далее рассчитываем по формуле (9) и сравниваем результат с табличным значением. Если рассчитанное значение меньше табличного, нуль-гипотезу принимаем и выброса у нас нет, если же рассчитанное значение больше табличного, нуль-гипотезу отвергаем и сомнительное значение – это выброс.

$$r_i = \frac{|x_i - \bar{x}|}{s \cdot \sqrt{\frac{n-1}{n}}} \quad (9)$$

где

\bar{x} – среднее арифметическое результатов единичного анализа;

x_i – i -й результат единичного анализа;

s – стандартное квадратичное отклонение, характеризующая повторяемость результатов единичного анализа.

При выявлении выбросов с помощью критерия Граббса можно провести проверку на один или на два выброса. Для расчета критерия необходимо расположить данные выборки в порядке возрастания значений и предварительно рассчитать среднее арифметическое (10) и дисперсию (11)

$$\bar{x} = \frac{\sum_{n=1}^N x_i}{n} \quad (10)$$

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{n=1}^N (\bar{x}_i - X_i)^2}{n-1}} \quad (11)$$

Проверка на один выброс (12)

$$G_n = \frac{x_n - \bar{x}}{s} \quad (12)$$

Проверка на два выброса подразумевает расчет суммы квадратов отклонений (13), после этого необходимо исключить два сомнительных значения случайной величины X , рассчитанный критерий Граббса (14) сравнивают с табличным значением. Если рассчитанное значение меньше табличного – оба проверяемых значения считают выбросами и исключают из выборки.

$$L_i^2 = \sum_{t=1}^n (x_i - \bar{x})^2 \quad (13)$$

$$G = \frac{L_2^2}{L_1^2} \quad (14)$$

Метрологические исследования при разработке методики выполнения измерений состоят в оценивании метрологической характеристики прецизионности (повторяемости, внутрилабораторной прецизионности, воспроизводимости) и правильности, которые являются показателями

качества результатов количественного химического анализа. После определения перечисленных выше характеристик, считается, что установлены количественные характеристики показателей качества результатов количественного химического анализа. На этапе разработки методики, установив метрологические характеристики, сравнивают их с требованиями к точности результатов количественного химического анализа, заданными в техническом задании, и делают соответствующие выводы. Если полученные значения метрологических характеристик не соответствуют требованиям точности, то методику выполнения измерений дорабатывают: приводят дополнительные методические исследования. При этом суммарные оценки случайной и систематической составляющих погрешности с целью поиска источника погрешности разлагают на компоненты, вносимые на разных стадиях анализа [26].

Показатели качества результатов анализа исследователи предлагают характеризовать неопределенностью [26]. Неопределенность измерений – это параметр, связанный с результатом измерения и характеризующий рассеяние значений, которые могли бы быть приписаны измеряемой величине [30]. Концепция неопределенности основана на том, что истинное значение неизвестно, хотя, безусловно, оно существует [26].

Повторяемость. Показатель повторяемости методики анализа – значение неопределенности (приписанной характеристики случайной погрешности) результатов единичного анализа, полученных в условиях повторяемости. Для расчета повторяемости необходимо рассчитать среднее арифметическое (15) и выборочную дисперсию (16) и СКО (17) результатов единичного анализа содержания компонентов в m -образце в условиях повторяемости [31].

$$X_{m,l} = \frac{\sum_{i=1}^N x_{m,l,i}}{N} \quad (15)$$
$$m=1, \dots, M$$

$$S^2_{m,l} = \frac{\sum_{i=1}^N (x_{m,l,i} - X_{m,l})^2}{N-1} \quad (16)$$

$$l = 1, \dots, L$$

$$S_{r,m} = \sqrt{\frac{\sum_{l=1}^{L'} S^2_{m,l}}{L'}} \quad (17)$$

где

$X_{m,l}$ – среднее арифметическое результатов единичного анализа;

N – количество измерений;

$x_{m,l,i}$ – i -й результат единичного анализа;

$S^2_{m,l}$ – выборочная дисперсия результатов единичного анализа;

$S_{r,m}$ – среднее квадратическое отклонение, характеризующая повторяемость результатов единичного анализа;

L' – число не отброшенных дисперсий или число не отброшенных результатов анализа.

На основе полученных значений выборочных дисперсий проверяют гипотезу о равенстве генеральных дисперсий, используя критерий Кохрена (18), который сравнивают с табличным значением.

$$G_{m(\max)} = \frac{(s^2_{m,l})_{\max}}{\sum_{e=1}^L s^2_{m,l}} \quad (18)$$

$$l = 1, \dots, L$$

Показатель повторяемости методики анализа в виде СКО устанавливают, принимая равным $S_{r,m}$ (19), Показатель повторяемости методики анализа в виде предела повторяемости $r_{n,m}$ рассчитывают по формуле (20)

$$\sigma_{r,m} \approx S_{r,m} \quad (19)$$

$$r_{n,m} = Q(P, n) S_{r,m} \quad (20)$$

Где

$\sigma_{r,m}$ – показатель повторяемости методики анализа;

n – число параллельных определений;

$S_{r,m}$ – среднее квадратическое отклонение, характеризующая повторяемость результатов единичного анализа;

$Q(P, n) = 2.77$ при $n=2$, $P=0.95$ [31].

Внутрилабораторная прецизионность. Показатель внутрилабораторной прецизионности – значение неопределенности (приписанной характеристике случайной погрешности) результатов анализа, полученных в условиях внутрилабораторной прецизионности) [31].

Для оценки показателя воспроизводимости методики анализа, рассчитывают среднее значение результатов анализа и среднее квадратическое отклонение (СКО) по формулам (21) и (22)

$$X_m = \frac{\sum_{l=1}^L x_{m,l}}{L} \quad (21)$$

$$S_m = \sqrt{\frac{\sum_{l=1}^L (x_{m,l} - X_m)^2}{L-1}} \quad (22)$$

Проверку средних значений \bar{X}_m на наличие выбросов проводят по критерию Граббса по формулам (23) и (24) и затем сравнивают с табличным значением по неравенствам (25) и (26)

$$GR_{m,max} = \frac{x_{m,max} - X_m}{S_m} \quad (23)$$

$$GR_{m,min} = \frac{X_m - x_{m,min}}{S_m} \quad (24)$$

$$GR_{m,max} > GR_{табл} \quad (25)$$

$$GR_{m,min} > GR_{табл} \quad (26)$$

где $x_{m,max}$ – максимальное расчетное значение критерия Граббса; $x_{m,min}$ – минимальное расчетное значение критерия Граббса; x_m – среднее арифметическое результатов единичного анализа; S_m – среднее квадратическое отклонение.

Значение выборочной СКО результатов анализа m -го образца оценивания, полученного в условиях воспроизводимости, рассчитывают по формуле (27).

$$S_{R,m} = \sqrt{\frac{\sum_{l=1}^{L'} (X_{m,l} - X'_m)^2}{L' - 1} + \left(\frac{1}{n} - \frac{1}{N}\right) S_{r,m}^2} \quad (27)$$

$$m = 1, \dots, M$$

где

$X_{m,l}$ – подозрительный результат, требующий проверки;

X'_m – среднее арифметическое не отброшенных результатов;

L' – число не отброшенных результатов;

N – количество повторных измерений;

n – число параллельных определений;

$S_{r,m}^2$ – среднее квадратичное отклонение.

Показатель воспроизводимости для m -ного образца высчитываем по формуле (29), [31].

$$\sigma_{R,m} \approx S_{R,m} \quad (28)$$

$$R_{n,m} = Q(P, n) \sigma_{R,m} \quad (29)$$

Правильность. Показатель правильности методики анализа – значение неопределенности смещения (приписанной характеристики систематической погрешности) методики анализа [31].

Для расчета показателя точности необходимо вычислить значимость вычисленных значений (30), проверить значимость вычисленных значений по критерию Стьюдента (31) и сравнить с табличным значением

$$\theta_m = X_m - C_m \quad (30)$$

$$m = 1, \dots, M$$

$$t_m = \frac{|\theta_m|}{\sqrt{\frac{S_m^2}{L} + \frac{\Delta_{0,m}^2}{3}}} \quad (31)$$

где

$$S_m^2 = \frac{\sum_{l=1}^L (X_{m,l} - X_m)^2}{L-1}$$
 – дисперсия, характеризующая разброс средних арифметических результатов единичного анализа $X_{m,l}$ относительно среднего значения X_m ;

$\Delta_{o,m}$ – погрешность аттестованного значения.

Тогда показатель правильности методики анализа при получении экспериментальных данных в условиях повторяемости и воспроизводимости, для доверительной вероятности P равное 0,95 рассчитывают по формуле (32) [31].

$$\Delta_{c,m} = 1,96 \sqrt{\frac{S_m^2}{L} + \frac{\Delta_{o,m}^2}{3}} = 1,96 \sigma_{m,l} \quad (32)$$

Точность. Показатель точности методики анализа – значение неопределенности (приписанной характеристики погрешности) методики анализа [31].

Показатель точности методики анализа рассчитывают по формуле (33)

$$\Delta_{c,m} = 1,96 \sqrt{\sigma_{R,m}^2 + \sigma_{c,m}^2} = 1,96 \sigma_{m,l} \quad (33)$$

В случае если выполняется неравенство (34), показатель правильности методики анализа будет вычисляется по формуле (35) [31].

$$\frac{\sigma_{c,m}}{\sigma_{R,m}} \leq 1/3 \quad (34)$$

$$\Delta_m = \pm 1,96 \sigma_{R,m} \quad (35)$$

1.3. Визуальное детектирование

Цвет — качественная субъективная характеристика электромагнитного излучения оптического диапазона, определяемая на основании возникающего физиологического зрительного ощущения и зависящая от ряда факторов. Восприятие цвета определяется индивидуальностью человека, а также спектральным составом, цветовым и яркостным контрастом с окружающими источниками света, а также несветящимися объектами. Говоря простым

языком цвет — это ощущение, которое получает человек при попадании ему в глаз световых лучей. Одни и те же световые воздействия могут вызвать разные ощущения у разных людей. И для каждого из них цвет будет разным. Человеческий глаз – это орган, дающий нам возможность видеть окружающий мир. Восприятие глаза основывается на светочувствительном внутреннем слое глаза, сетчатке. Отраженные от объектов лучи попадают через зрачок на сетчатку, которая представляет собой прозрачный шарообразный экран толщиной 0.1 - 0.5 мм, на который проецируется окружающий мир. Сетчатка содержит 2 типа фоточувствительных клеток: палочки и колбочки. Эти клетки являются своего рода датчиками, которые реагируют на падающий свет, преобразовывая его энергию в сигналы, передаваемые в мозг. Мозг переводит эти сигналы в образы, которые мы «видим».

В научных и практических целях возникает необходимость определения степени различия близких по цвету объектов. Это реализуется за счет проведения сравнения различия по цветности или по светлоте двух рядом стоящих образцов. Для решения этой задачи используют различные способы регистрации аналитического сигнала, в том числе и визуальное детектирование, для количественной оценки которого готовят цветовую шкалу сравнения [32].

Эти шкалы представляют собой набор образцов, содержащих в себе точно известную концентрацию аналита. Для приготовления шкалы необходимо выбирать такой шаг концентраций, чтобы глаз человека смог воспринять различия между образцами аналита. Для расчета интервала между соседними образцами используют коэффициент геометрической прогрессии (36)

$$q = \frac{c_{n-1}}{c_n} \quad (36)$$

Погрешность при визуальных оценках, не смотря на субъективный фактор, не больше, чем погрешность инструментального определения с помощью минифотометра. Данный метод дает возможность создать

равноконтрастную цветовую шкалу, которую хорошо различает глаз человека. Чаще всего выбирают шкалу с шагом 2 или 3. При использовании шкалы при q равным 2, мы имеем абсолютную погрешность результатов колориметрирования 33 процента. Если мы используем шкалу с q равным 3, то абсолютную погрешность уже составит 50 процентов. Возможно, для построения шкалы использовать ряд Фибоначчи, ряд в котором каждый последующий член равен сумме двух предыдущих. При использовании данного ряда, для начального участка (до третьего члена) выполняется арифметическая прогрессия, но начиная с четвертого члена прогрессия асимптотически приближается к геометрической. Использование этого ряда приводит к уменьшению абсолютной и относительной погрешностей анализа. В этом случае относительная погрешность равна 24 процента.

Существует два подхода к построению цветовых шкал: применению инструментального метода цветометрии и использование визуального метода.

В первом случае использование метода позволит оценить равноконтрастность шкалы. В основе метода построения цветовых шкал сравнения лежит формула общего цветового различия (разнооттеночности) ΔE , предложенная Международной организацией по стандартизации [33 – 35].

Во втором случае метод позволит формировать цветовую шкалу на основе восприятия различия цветов соседних образцов шкалы с помощью независимых наблюдателей. Установлено, что критерий визуального цветоразличения ΔE меньше или равно 10 не является универсальным для модифицированного пенополиуретана и реагентной индикаторной бумаги, его нельзя применить для окрашенных прозрачных желатиновых пленок. При выборе оптимальной цветовой шкалы для визуальной колориметрии предпочтение следует отдать визуальному методу.

Если шкала построена правильно, то при увеличении концентрации в q раз значение ΔE должно изменяться на определенное число условных единиц, т. е. на определенное число порогов цветоразличения.

Величина шага на шкале зависит от типа сорбента и от окраски продукта тест-реакции, шаг может соответствовать 10 усл. ед. или меньшему числу порогов цветоразличения. При создании тест-шкалы стараются не выходить за пределы степени насыщенности окраски тест-образцов. Величина ΔS должна изменяться от 20 до 60 %, иначе оттенки цвета будут плохо различаться глазом [32].

Метрологические характеристики визуального тестового анализа.
Широкое применение тест-методов анализа с визуальной индикацией обуславливает необходимость в надежной методике оценки метрологических характеристик. Единый подход к оценке метрологических характеристик методик тестового анализа и терминологии не сформирован. В разное время для описания тест – методик было предложено более двадцати метрологических характеристик качественного анализа [36, 37]. Рассмотрим основные из них.

В качестве количественной характеристики свойств методики используют понятие «недостоверности». Высокой достоверности соответствует низкая доля ложных отрицательных и ложных положительных результатов. При использовании одного из подходов проводится проверка некоторой гипотезы H_0 . За H_0 принимают случай, когда образец содержит аналит, а альтернативная гипотеза предполагает отсутствие аналита. Тогда достоверность методики рассчитывается по формуле (37)

$$R=100 - \alpha - \beta \quad (37)$$

где

α -ошибка первого рода;

β - ошибка второго рода.

Второй подход к оценке достоверности заключается в изучении кривых эффективности. Кривая эффективности представляет собой зависимость вероятности обнаружения аналита (P) от его концентрации (C) (рисунок 3).

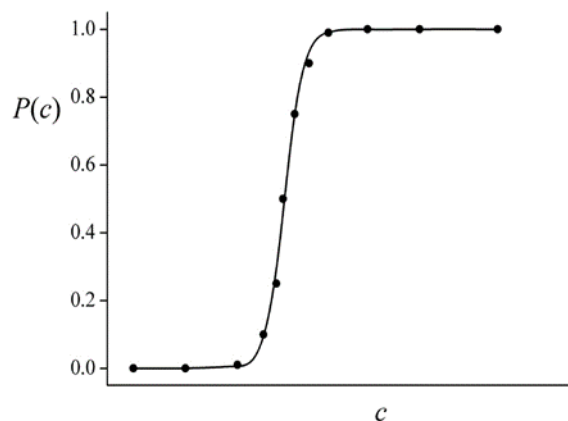


Рисунок 3 – Кривая эффективности

Кривую эффективности подбирают как функцию, аппроксимирующую эмпирическую зависимость частот обнаружения $P_{\text{эмп}}$ от C , эту зависимость получают экспериментальным образом. Для этого необходимо выбирают несколько концентраций внутри интервала ненадежности, для каждой из которых проводят несколько испытаний N_i , фиксируют число положительных результатов (n_i) и вычисляют эмпирическую частоту обнаружения аналита (38)

$$P_i^{\text{эмп}} = \frac{n_i}{N_i} \quad (38)$$

Далее зависимость линеаризируют, для этого используют любые функции, ограниченные от 0 до 1, это функции логнормального, экспоненциального, логистического распределений, распределений экстремального значения первого рода (Вейбулла) [38].

Одной из важнейших характеристик является область ненадежной реакции. Область ненадежной реакции – интервал концентраций аналита, в котором при определении одинаковых проб встречаются как положительные (компонент присутствует), так и отрицательные (компонент не присутствует) результаты о присутствии определяемого компонента. За границы интервала ненадежности были приняты концентрации $C_{5\%}$ и $C_{95\%}$, для которых

вероятности обнаружения аналита больше 5 процентов и меньше 95 процентов [39].

Наименьшее содержание аналита, которое может быть количественно определено с помощью данной методики анализа вещества или материала с установленными значениями характеристик погрешности или неопределенности, называют пределом определения [32]. В исследованиях для оценки предела определения чаще всего предлагают доверительные вероятности равные 95 процентов и 99 процентов [39–45].

Для сопоставления и оценки работоспособности тест-систем пользуются относительной величиной, которая называется шириной интервала ненадежности. Это значение рассчитывают, как разность верхней и нижней границы отнесенное к значению нижней границы области ненадежности. Принято считать, что чем ниже относительная ширина интервала ненадежности тест-системы, тем она характеризуется большей устойчивостью к внешним воздействиям [46, 47].

Нижняя граница определяемых концентраций представляет собой концентрация аналита, которую возможно определить с заданной вероятностью равной 5%. Для определения этой величины необходимо относительное стандартное отклонение S_r для различных концентраций аналита, далее строим экспериментальную зависимость S_r от C , затем находят C , начиная с которой величины S_r становятся меньше заданного значения $S_r(C)$ равной 0,33.

Между величинами C_{\min} и C_n существует зависимость, которая выражается в формуле (39)

$$C_n = k \times C_{\min} \quad (39)$$

где

k равно 2 или 3.

Б.Л. Мильманом были предложены метрологические термины: «чувствительность» и «специфичность» [39]. Если тест позволяет надежно

определить небольшие количества вещества (низкий предел обнаружения), то чувствительность, т.е. доля правильных положительных ответов высока. Специфичность тест-метода качественно выражает степень, в которой другие вещества мешают определению соединения по данной методике.

Принципы и расчетные процедуры подбора кривых эффективности.

Повышению надежности определения метрологических характеристик по кривым эффективности помогло бы ограничение набора выражений для описания зависимостей $P(C)$ лишь несколькими рекомендованными к применению функциями [48, 49]. Эту задачу можно решить с помощью теоретического анализа различий в цветовосприятии в зависимости от условий проведения хромогенной реакции и учетом разброса свойств детектора (при визуальном тестировании глаза). В вероятность обнаружения аналита вводят параметры, учитывающие присутствие сопутствующих компонентов. Для этого требуется проведение большого количества экспериментов, причем вид зависимости будет определяться в большей степени типом хромогенной реакции [50].

Согласно другому подходу, необходимо применение различных функций, которые адекватно описывают зависимость вероятности обнаружения аналита от его концентрации. Все аппроксимирующие функции характеризуют с помощью математического ожидания и дисперсии. Наиболее известными статистическими способами определения подгоночных параметров функции и оценки адекватности аппроксимации зависимостей $P_{эмп}$ от C являются графический и метод максимального правдоподобия [51].

При использовании графического способа пользуются функциями нормального, логнормального, экспоненциального распределений и распределение экстремального значения первого рода (Вейбулла).

Функция нормального распределения для $P(c)$ (40):

$$P(c) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \times \int_{-\infty}^c \exp\left[-\frac{(x-\bar{c})^2}{2\sigma^2}\right] dx \quad (40)$$

где

\bar{c} - первый начальный момент (математическое ожидание);

σ^2 -второй центральный момент (дисперсия).

Если подставим функцию $u = \frac{c-\bar{c}}{\sigma}$, получаем что зависимость $P(u)$ описывает функция стандартного нормального распределения (41):

$$P(u) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \times \int_{-\infty}^u \exp\left[\frac{-u^2}{2}\right] dx \quad (41)$$

Отклик Y представляет собой функцию $\Psi[P(u)]$ (42)

$$Y_i = \Psi[P(u_i)] = \Psi(P^{эмп}) = -\frac{\bar{c}}{\sigma} + \frac{1}{\sigma} c_i \quad (42)$$

Если кривую эффективности выражает функция логарифмически нормального распределения (43), тогда отклики Y равны (44)

$$P(c) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \times \int_0^c \exp\left[\frac{-(x-\ln\bar{c})^2}{2\sigma^2}\right] dx \quad (43)$$

$$Y_i = -\frac{\ln x}{\sigma} + \frac{1}{\sigma} \ln c_i \quad (44)$$

Функция экспоненциального распределения (45):

$$P(c) = 1 - \exp\left(-\frac{c-a}{b}\right) \quad (45)$$

при a больше 0, b больше 0.

Линеаризуют уравнение (46), тогда (47)

$$\ln \frac{1}{1-P(c)} = -\frac{a}{b} + \frac{1}{b} c \quad (46)$$

$$Y_i = \ln \frac{1}{1-P_i^{эмп}} \quad (47)$$

Выражение для функции распределения экстремального значения первого рода (48)

$$P(C) = \left\{ \begin{array}{l} 1, c > a \\ 1 - \exp\left[-\left(\frac{c-a}{b}\right)^k\right], a \leq c \leq \infty, \end{array} \right\} \quad (48)$$

В частном случае, a равна 0 зависимость $P(C)$ линеаризуется, тогда в результате получают (49) (50):

$$\ln \ln[1-P(c)] = -k \ln b + k \ln c \quad (49)$$

$$Y_i = \ln \ln(1-P_i^{эмп}) = -k \ln b + k \ln c_i \quad (50)$$

По полученным данным строят зависимости откликов функций распределения от концентрации определяемого компонента (в случае экспоненциальной и нормального распределения функций) или от логарифма концентрации (в случае логнормального и Вейбулла распределений). Качество аппроксимации линеаризованных функции можно проверяют с помощью коэффициента аппроксимации R^2 и критерия χ^2 . После выявления функции, которая наилучшим образом описывает эмпирические данные, по уравнению прямой находят подгоночные параметры, а затем с помощью них рассчитывают границы интервала ненадежности.

Наиболее математически строгим способом оценивания подгоночных параметров является метод максимального правдоподобия [52]. В этом случае вариантами случайного события могут быть положительный (аналит обнаружен), либо отрицательный (аналит не обнаружен). В отдельном испытании вероятность успеха равна P , а неудачи равна $1-P$ в соответствии со схемой Бернулли. Если вероятность успеха определяют единственной переменной концентрацией аналита C , то число положительных результатов n_i в N_i испытаниях – это случайная величина, подчиняющаяся закону биномиального распределения (51):

$$P(n_i, N_i) = \frac{N_i!}{n_i!(N_i - n_i)!} P(c_i)^{n_i} [1 - P(c_i)]^{(N_i - n_i)} \quad (51)$$

Тогда функция правдоподобия – это произведение величин $P(n_i, N_i)$ для всех концентраций C_i . Далее переходят к логарифму этой функции и получают критериальную функцию (52)

$$F = \sum_{i=1}^M \{n_i \ln P(c_i) + (N_i - n_i) \ln(1 - P(c_i))\} \quad (52)$$

Параметры функции $P(c)$ определяют вектором $|\theta|$. Его находят как оценки, обращающие функцию F в максимум. Оптимум ищут численными методами, начальными приближениями при поиске максимума F считают оценки, полученные с использованием графического способа. Качество аппроксимации $P_{эмп}$ функцией $P(C)$ и оценивают с помощью критерия χ^2 , сравнивая рассчитанное значение с критическим значением для числа

степеней свободы $f=M-z$, где z -число подгоночных параметров аппроксимирующей функции. Данный критерий используют только при большом числе испытаний. Чаще всего максимум критерия F ищут с помощью метода Ньютона. Существуют и другие способы оценки адекватности аппроксимации кривых эффективности [52].

2. Экспериментальная часть

2.1 Используемые реактивы, материалы и оборудование

Для выполнения эксперимента были использованы следующие реактивы, материалы и оборудование:

- спектрофотометр UV-2550, «Shimadzu», Япония;
- иономер «Эксперт-001», Россия;
- весы аналитические лабораторные, ГОСТ 24104–80, класс точности 1, 2 WA-34, Польша;
- весы лабораторные ВЛР-200 2 класса точности ТУ 25–06–131–75;
- устройство перемешивающее LS110;
- колбы мерные вместимостью 50, 100, 1000 см³ исполнение 2,2 класса точности, ГОСТ 1770–74;
- пипетки градуированные 1,0; 2,0; 5,0; 10,0 см³ исполнения 2,2 класса точности ГОСТ 20292–74;
- колбы мерные 500, 1000 см³ по ГОСТ 10394–72;
- стаканы стеклянные лабораторные вместимость 50 см³;
- агатовая ступка;
- фильтры обеззоленные «СИНЯЯ ЛЕНТА» ТУ 6–09–1678–95;
- воронки лабораторные типа В по ГОСТ 25336182;
- ацетатный буфер рН=4,5;
- кислота соляная по ГОСТ 3118–77;
- натр едкий по ГОСТ 4328–66;
- индигокармин ТУ 6–09–714–71, «чда» ;
- алюминий оксид LL 5/40 нейтральный, для хроматографии. ВЕКТОН, Санкт-Петербург;
- барий сульфат по ГОСТ 3158–75;
- бумага акварельная Ирис, плотность $1,2 \cdot 10^{-2}$, г/см³;

- бумага плотностью $1,7 \cdot 10^{-2}$, г/см³;
- бумага акварельная Ирис, плотность $2,4 \cdot 10^{-2}$, г/см³;
- бумага плотностью $2,2 \cdot 10^{-2}$, г/см³;
- клей канцелярский, ТУ–2385–001–54824507–2000;
- вода дистиллированная.

pH буфера контролировали с помощью pH – метра – иономера «Эксперт – 001».

Спектры диффузного отражения снимали на спектрофотометре UV–2550 фирмы SHIMADZU при длине волны 600 нм.

2.2 Приготовление рабочих растворов

Ацетатный буфер. В колбу на 500 см³ внесли навеску ацетата натрия 2,05 г, содержимое колбы довели до метки дистиллированной водой. В другую колбу на 500 см³ внесли отмеренное пипеткой 1,43 см³ «ледяной» уксусной кислоты примерной исходной 17,5 М, довели до метки дистиллированной водой. Полученные растворы перенесли в колбу на 1000 см³, измерили с помощью pH–метра значение pH, равное 4,5.

0,1М раствор гидроксида натрия. Навеску гидроксида натрия массой 2 г растворили в колбе на 500 см³.

0,1М раствор хлороводородной кислоты. Данный раствор готовили из фиксанала.

Исходный раствор индигокармина. Молекулярная масса красителя 466,36 г/моль. В колбу на 250 см³ внесли точную навеску массой 0,11659 г и довели до метки дистиллированной водой. Концентрация исходного раствора 0,001 М.

2.3 Исследование зависимости функции Кубелки–Мунка от концентрации индигокармина с применением методики прессования таблеток

Растворы с концентрациями $1 \cdot 10^{-5}$; $5 \cdot 10^{-5}$; $8 \cdot 10^{-5}$; $2 \cdot 10^{-4}$, $5 \cdot 10^{-4}$ и $8 \cdot 10^{-4}$ готовили разбавлением рабочего раствора, для этого в колбу на 100 см^3 помещали 0,5; 2,5; 4,0; 10,0; 25,0 и 40,0 см^3 исходного раствора, добавляли 10 см^3 ацетатного буферного раствора и доводили до метки дистиллированной водой.

Далее полученные растворы по 25 см^3 помещали в стаканы и добавляли сорбент, массой 0,25 г. Стаканы устанавливали на перемешивающее устройство LS 110 на 60 минут, скорость вращения 200 об/мин. После проведения сорбции, сорбент отделяли от растворов, высушивали на воздухе.

Сорбированный краситель смешивали с 5,00 г сульфата бария, тщательно растирали пестиком в агатовой ступке до получения однородного порошка. Полученный порошок вносили в специальную кювету, прессовали с помощью стеклянного цилиндра и аккуратно выравнивали поверхность таблетки.

Для приготовления таблетки сравнения, необходимо в специальную кювету внести 5,00 г порошка сульфата бария. Порошок прессовать с помощью стеклянного цилиндра и аккуратно выравнивали поверхность таблетки.

Кювету с полученной таблеткой помещали в спектрофотометр UV-2550, «Shimadzu» и измеряли спектры диффузного отражения полученной таблетки относительно кюветы с сульфатом бария.

2.4 Методика нанесения модифицированного сорбента на твердую основу

В ходе исследования были использованы бумаги различной плотности:
–Тип 1 (бумага акварельная Ирис, плотность $1,2 \cdot 10^{-2}$, г/см^3);

- Тип 2 (бумага плотностью $1,7 \cdot 10^{-2}$, г/см³);
- Тип 3 (бумага акварельная плотностью $2,2 \cdot 10^{-2}$, г/см³);
- Тип 4 (бумага акварельная Ирис, плотность $2,4 \cdot 10^{-2}$, г/см³).

Растворы с концентрациями $1 \cdot 10^{-5}$; $5 \cdot 10^{-5}$; $8 \cdot 10^{-5}$; $2 \cdot 10^{-4}$, $5 \cdot 10^{-4}$ и $8 \cdot 10^{-4}$ готовили разбавлением рабочего раствора, для этого в колбу на 100 см³ помещали 0,5; 2,5; 4,0; 10,0; 25,0 и 40,0 см³ исходного раствора, добавляли 10 см³ ацетатного буферного раствора и доводили до метки дистиллированной водой. Каждую концентрацию готовят в двух параллелях и в пяти повторностях для каждого вида бумаги.

Далее полученные растворы по 25 см³ помещали в стаканы и добавляли сорбент, массой 0,25 г. Стаканы устанавливали на перемешивающее устройство LS 110 на 60 минут, скорость вращения 200 об/мин. После проведения сорбции, сорбент отделяли от растворов, высушивали на воздухе.

Для приготовления таблетки модифицированного сорбента, необходимо вырезать бумагу диаметром под размер специальной спектрометрической кюветы, покрыть поверхность бумаги тонким слоем силикатного клея. Высушенный модифицированный сорбент нанести на бумагу, равномерно распределить по всей поверхности клея, убрать излишки, нанести сорбент еще раз. Повторять процедур до тех пор, пока сорбент не будет закреплен на поверхности бумаги равномерно.

Для приготовления таблетки сравнения, необходимо вырезать бумагу диаметром под размер специальной спектрометрической кюветы, покрыть поверхность бумаги тонким слоем силикатного клея, затем равномерно нанести оксид алюминия, убирать излишки, нанести сорбент еще раз. Повторяли процедур до тех пор, пока сорбент не закрепится на поверхности бумаги равномерно.

Полученную таблетку с модифицированным сорбентом помещали в спектрофотометр UV-2550, «Shimadzu» и измеряли спектры диффузного

отражения полученной таблетки относительно таблетки, на которую был нанесен оксид алюминия.

2.5 Методика исключения выбросов по г-критерию

В результате выполнения пункта 2.4 были получены следующие значения коэффициента отражения (R) которые представлены в таблице 1–4

Таблица 1 – Коэффициент отражения (R) поверхности таблетки модифицированного сорбента в зависимости от концентрации на бумаге Тип 1

Сик	АС (R)									
	1		2		3		4		5	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
$1 \cdot 10^{-5}$	0,827	0,873	0,836	0,757	0,781	0,757	0,755	0,743	0,798	0,820
$5 \cdot 10^{-5}$	0,437	0,392	0,459	0,413	0,448	0,413	0,338	0,375	0,429	0,406
$8 \cdot 10^{-5}$	0,265	0,251	0,251	0,265	0,263	0,279	0,296	0,287	0,269	0,278
$20 \cdot 10^{-5}$	0,142	0,137	0,153	0,149	0,165	0,150	0,136	0,149	0,146	0,152
$50 \cdot 10^{-5}$	0,132	0,130	0,127	0,129	0,380	0,124	0,119	0,118	0,117	0,120
$80 \cdot 10^{-5}$	0,114	0,101	0,108	0,107	0,115	0,112	0,092	0,087	0,099	0,105

Таблица 2 – Коэффициент отражения (R) поверхности таблетки модифицированного сорбента в зависимости от концентрации на бумаге Тип 2

Сик	АС (R)									
	1		2		3		4		5	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
$1 \cdot 10^{-5}$	0,832	0,878	0,842	0,763	0,787	0,763	0,763	0,751	0,783	0,863
$5 \cdot 10^{-5}$	0,344	0,368	0,315	0,311	0,292	0,251	0,246	0,350	0,350	0,329
$8 \cdot 10^{-5}$	0,443	0,351	0,383	0,355	0,401	0,415	0,261	0,241	0,316	0,220
$20 \cdot 10^{-5}$	0,150	0,171	0,126	0,129	0,129	0,126	0,124	0,124	0,170	0,136
$50 \cdot 10^{-5}$	0,135	0,156	0,111	0,114	0,114	0,111	0,109	0,109	0,155	0,121

$80 \cdot 10^{-5}$	0,122	0,143	0,098	0,101	0,101	0,098	0,096	0,096	0,142	0,108
--------------------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

Таблица 3 – Коэффициент отражения (R) поверхности таблетки модифицированного сорбента в зависимости от концентрации на бумаге Тип 3

Сик	АС (R)									
	1		2		3		4		5	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
$1 \cdot 10^{-5}$	0,919	0,802	0,790	0,750	0,814	0,806	0,760	0,851	0,925	0,911
$5 \cdot 10^{-5}$	0,373	0,356	0,402	0,402	0,558	0,348	0,334	0,493	0,399	0,492
$8 \cdot 10^{-5}$	0,319	0,387	0,306	0,279	0,300	0,282	0,251	0,262	0,262	0,309
$20 \cdot 10^{-5}$	0,138	0,277	0,119	0,275	0,201	0,195	0,201	0,157	0,131	0,189
$50 \cdot 10^{-5}$	0,072	0,061	0,072	0,061	0,071	0,104	0,085	0,076	0,077	0,076
$80 \cdot 10^{-5}$	0,051	0,059	0,069	0,077	0,061	0,065	0,054	0,072	0,089	0,072

Таблица 4 – Коэффициент отражения (R) поверхности таблетки модифицированного сорбента в зависимости от концентрации на бумаге Тип 4

Сик	АС (R)									
	1		2		3		4		5	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
$1 \cdot 10^{-5}$	0,910	0,844	0,831	0,827	0,912	0,963	0,945	0,942	0,904	0,945
$5 \cdot 10^{-5}$	0,541	0,455	0,450	0,553	0,466	0,426	0,466	0,422	0,384	0,425
$8 \cdot 10^{-5}$	0,284	0,318	0,354	0,269	0,306	0,302	0,320	0,276	0,238	0,279
$20 \cdot 10^{-5}$	0,233	0,261	0,251	0,172	0,202	0,162	0,209	0,185	0,218	0,259
$50 \cdot 10^{-5}$	0,158	0,186	0,176	0,097	0,127	0,087	0,134	0,110	0,143	0,184
$80 \cdot 10^{-5}$	0,107	0,135	0,125	0,046	0,076	0,036	0,083	0,059	0,092	0,133

Из полученных данных были исключены выбросы по г-критерию по формуле (9)

2.6 Исследование влияния плотности бумаги на показатель повторяемости

Растворы с концентрациями $1 \cdot 10^{-5}$; $5 \cdot 10^{-5}$; $8 \cdot 10^{-5}$; $2 \cdot 10^{-4}$, $5 \cdot 10^{-4}$ и $8 \cdot 10^{-4}$ готовили разбавлением рабочего раствора, для этого в колбу на 100 см^3 помещали 0,5; 2,5; 4, 10, 25 и 40 см^3 исходного раствора, добавляли 10 см^3 ацетатного буферного раствора и доводили до метки дистиллированной водой. Каждую концентрацию готовят в двух параллелях и в пяти повторностях для каждого вида бумаги.

Далее полученные растворы по 25 см^3 помещали в стаканы и добавляли сорбент, массой 0,25г. Стаканы устанавливали на перемешивающее устройство LS 110 на 60 минут, скорость вращения 200 об/мин. После проведения сорбции, сорбент отделяли от растворов, высушивали на воздухе, закрепляли на белую плотную бумагу, используя силикатный клей, и измеряли спектры диффузного отражения.

Полученные при измерении результаты были проверены на выбросы по t -критерию по пункту 2.5. В таблице 5 приведены данные, по которым оценивался показатель повторяемости методики.

Таблица 5 – Зависимость функции Кубелки–Мунка от концентрации индигокармина

Тип поверхности	Сик	Номер серии результатов анализа	Номер результата, полученного в условиях повторяемости, N	
			1	2
Бумага Тип 1	$1 \cdot 10^{-5}$	1	0,018	0,009
		2	0,016	0,039
		3	0,031	0,039
		4	0,040	0,045
		5	0,036	0,030
	$5 \cdot 10^{-5}$	1	1,186	1,314

Продолжение таблицы 5

Тип поверхности	С _{ик}	Номер серии результатов анализа	Номер результата, полученного в условиях повторяемости, N	
			1	2
		2	1,000	0,999
		3	1,373	1,376
		4	1,491	1,440
		5	1,020	1,125
	8·10 ⁻⁵	1	1,635	1,800
		2	1,769	2,093
		3	1,842	2,057
		4	2,507	2,332
		5	2,338	2,025
	2·10 ⁻⁴	1	5,479	4,833
		2	5,175	4,777
		3	4,253	4,005
		4	5,063	5,107
		5	6,026	5,528
	5·10 ⁻⁴	1	11,163	11,640
		2	11,000	10,980
		3	11,000	11,490
		4	10,980	10,397
		5	10,290	10,375
	8·10 ⁻⁴	1	18,600	18,990
2		17,190	17,775	
3		18,277	18,826	
4		18,621	17,978	
5		18,010	17,900	
Бумага Тип 2	1·10 ⁻⁵	1	0,018	0,030
		2	0,025	0,036
		3	0,031	0,026
		4	0,037	0,037

Продолжение таблицы 5

Тип поверхности	С _{ик}	Номер серии результатов анализа	Номер результата, полученного в условиях повторяемости, N	
			1	2
	5·10 ⁻⁵	5	0,033	0,030
		1	0,790	0,876
		2	0,667	0,666
		3	0,915	0,917
		4	0,994	0,960
		5	0,680	0,750
	8·10 ⁻⁵	1	1,090	1,200
		2	1,179	1,395
		3	1,228	1,372
		4	1,671	1,555
		5	1,559	1,350
	2·10 ⁻⁴	1	3,653	3,222
		2	3,450	3,185
		3	2,835	2,670
		4	3,375	3,405
		5	4,017	3,686
	5·10 ⁻⁴	1	7,442	8,159
		2	8,100	8,400
		3	7,660	6,932
		4	7,170	6,863
		5	7,000	6,916
	8·10 ⁻⁴	1	12,400	12,660
		2	11,460	11,850
		3	12,185	12,551
		4	12,414	11,985
5		11,250	11,850	
Бумага Тип 3	1·10 ⁻⁵	1	0,023	0,024
		2	0,028	0,030
		3	0,021	0,023

Продолжение таблицы 5

Тип поверхности	С _{ик}	Номер серии результатов анализа	Номер результата, полученного в условиях повторяемости, N	
			1	2
		4	0,038	0,035
		5	0,034	0,032
	5·10 ⁻⁵	1	0,527	0,584
		2	0,444	0,444
		3	0,610	0,612
		4	0,662	0,640
		5	0,453	0,500
	8·10 ⁻⁵	1	0,727	0,800
		2	0,786	0,930
		3	0,819	0,914
		4	1,114	1,037
		5	1,039	0,900
	2·10 ⁻⁴	1	2,435	2,148
		2	2,300	2,123
		3	1,890	1,780
		4	2,250	2,270
		5	2,678	2,457
	5·10 ⁻⁴	1	4,961	5,439
		2	5,597	6,201
		3	5,106	4,621
		4	4,780	4,575
		5	4,573	4,611
	8·10 ⁻⁴	1	8,889	8,440
		2	7,640	7,900
		3	8,123	8,367
4		8,276	7,990	
5		7,500	7,900	
Бумага Тип 4	1·10 ⁻⁵	1	0,018	0,027
		2	0,016	0,039

Продолжение таблицы 5

Тип поверхности	С _{ик}	Номер серии результатов анализа	Номер результата, полученного в условиях повторяемости, N	
			1	2
Таблетки с BaSO ₄		3	0,031	0,039
		4	0,040	0,040
		5	0,029	0,035
	5·10 ⁻⁵	1	0,527	0,584
		2	0,444	0,444
		3	0,610	0,612
		4	0,662	0,640
		5	0,453	0,500
	8·10 ⁻⁵	1	0,484	0,533
		2	0,524	0,620
		3	0,546	0,610
		4	0,743	0,691
		5	0,693	0,600
	2·10 ⁻⁴	1	1,623	1,432
		2	1,533	1,415
		3	1,260	1,187
		4	1,500	1,513
		5	1,785	1,638
	5·10 ⁻⁴	1	3,308	3,626
		2	3,731	4,134
		3	3,404	3,081
		4	3,187	3,050
		5	3,049	3,074
	8·10 ⁻⁴	1	5,926	5,627
		2	5,093	5,267
3		5,415	5,578	
4		5,517	5,327	
5		5,000	5,267	
1·10 ⁻⁵	1	0,013	0,058	

Продолжение таблицы 5

Тип поверхности	С _{ик}	Номер серии результатов анализа	Номер результата, полученного в условиях повторяемости, N	
			1	2
		2	0,034	0,050
		3	0,021	0,066
		4	0,040	0,058
		5	0,019	0,035
	5·10 ⁻⁵	1	0,053	0,083
		2	0,029	0,044
		3	0,061	0,038
		4	0,052	0,093
		5	0,028	0,050
	8·10 ⁻⁵	1	0,048	0,078
		2	0,042	0,062
		3	0,055	0,079
		4	0,086	0,039
		5	0,069	0,041
	20·10 ⁻⁵	1	0,004	0,007
		2	0,004	0,085
		3	0,004	0,007
		4	0,008	0,003
		5	0,006	0,029
	50·10 ⁻⁵	1	0,331	0,397
		2	0,450	0,413
		3	0,490	0,308
		4	0,319	0,386
		5	0,419	0,270
	80·10 ⁻⁵	1	0,593	0,458
2		0,613	0,527	
3		0,497	0,558	
4		0,552	0,634	
5		0,500	0,690	

Полученные данные подвергаются проверке гипотезы о равенстве генеральных дисперсий по критерию Кохрена (18), показатель повторяемости методики анализа представляется в виде точечного значения (19) и предела повторяемости $r_{n,m}$ (20).

2.7 Исследование влияния плотности бумаги на показатель воспроизводимости

Растворы с концентрациями $1 \cdot 10^{-5}$; $5 \cdot 10^{-5}$; $8 \cdot 10^{-5}$; $2 \cdot 10^{-4}$, $5 \cdot 10^{-4}$ и $8 \cdot 10^{-4}$ готовили разбавлением рабочего раствора, для этого в колбу на 100 см^3 помещали 0,5; 2,5; 4, 10, 25 и 40 см^3 исходного раствора, добавляли 10 см^3 ацетатного буферного раствора и доводили до метки дистиллированной водой. Каждую концентрацию готовят в двух параллелях и в пяти повторностях для каждого вида бумаги.

Далее полученные растворы по 25 см^3 помещали в стаканы и добавляли сорбент, массой 0,25г. Стаканы устанавливали на перемешивающее устройство на 60 минут, скорость вращения 200 об/мин. После проведения сорбции, сорбент отделяли от растворов, высушивали на воздухе, закрепляли на белую плотную бумагу, используя силикатный клей, и измеряли спектры диффузного отражения.

Полученные при измерении результаты были проверены на выбросы по t -критерию. В таблице 6 – приведены данные, по которым оценивался показатель повторяемости методики.

Таблица 6 - Зависимость функции Кубелки–Мунка от концентрации индигокармина

Тип бумаги	$S_{ик}$	Номер серии результатов анализа	F_{cp}
Бумага Тип 1	$1 \cdot 10^{-5}$	1	0,014

Продолжение таблицы 6

Тип бумаги	Сик	Номер серии результатов анализа	F _{ср}
		2	0,028
		3	0,035
		4	0,042
		5	0,033
		1	1,250
	5·10 ⁻⁵	2	0,999
		3	1,374
		4	1,465
		5	1,073
		1	1,717
	8·10 ⁻⁵	2	1,931
		3	1,950
		4	2,420
		5	2,182
		1	5,156
	20·10 ⁻⁵	2	4,976
		3	4,129
		4	5,085
		5	5,777
		1	11,401
	50·10 ⁻⁵	2	10,990
		3	11,245
		4	10,689
		5	10,332
		1	18,795
80·10 ⁻⁵	2	17,483	
	3	18,551	
	4	18,299	
	5	17,955	
	1	0,024	
Бумага Тип 2	1·10 ⁻⁵	1	0,024

Продолжение таблицы 6

Тип бумаги	Сик	Номер серии результатов анализа	F _{ср}
		2	0,031
		3	0,028
		4	0,037
		5	0,032
		1	0,833
	5·10 ⁻⁵	2	0,666
		3	0,916
		4	0,977
		5	0,715
		1	1,145
	8·10 ⁻⁵	2	1,287
		3	1,300
		4	1,613
		5	1,454
		1	3,437
	20·10 ⁻⁵	2	3,317
		3	2,753
		4	3,390
		5	3,851
		1	7,800
	50·10 ⁻⁵	2	8,250
		3	7,296
		4	7,016
		5	6,958
		1	12,530
80·10 ⁻⁵	2	11,655	
	3	12,368	
	4	12,200	
	5	11,550	
	1	0,024	
Бумага Тип 3	1·10 ⁻⁵	1	0,024

Продолжение таблицы 6

Тип бумаги	Сик	Номер серии результатов анализа	F _{ср}
		2	0,029
		3	0,022
		4	0,036
		5	0,033
		1	0,370
	5·10 ⁻⁵	2	0,396
		3	0,367
		4	0,651
		5	0,477
		1	0,763
	8·10 ⁻⁵	2	0,858
		3	0,866
		4	1,075
		5	0,970
		1	2,292
	20·10 ⁻⁵	2	2,212
		3	1,835
		4	2,260
		5	2,568
		1	5,200
	50·10 ⁻⁵	2	5,899
		3	4,864
		4	4,678
		5	4,592
		1	8,665
80·10 ⁻⁵	2	7,770	
	3	8,245	
	4	8,133	
	5	7,700	
	1	0,023	
Бумага Тип 4	1·10 ⁻⁵	1	0,023

Продолжение таблицы 6

Тип бумаги	Сик	Номер серии результатов анализа	F _{ср}
		2	0,028
		3	0,035
		4	0,040
		5	0,032
		1	0,555
	5·10 ⁻⁵	2	0,444
		3	0,611
		4	0,651
		5	0,477
		1	0,763
	8·10 ⁻⁵	2	0,858
		3	0,866
		4	1,075
		5	0,970
		1	1,528
	20·10 ⁻⁵	2	1,474
		3	1,223
		4	1,507
		5	1,712
		1	3,467
	50·10 ⁻⁵	2	3,933
		3	3,242
		4	3,118
		5	3,061
		1	5,776
80·10 ⁻⁵	2	5,180	
	3	5,497	
	4	5,422	
	5	5,133	

Проверку средних значений на наличие выбросов проводят по критерию Граббса по формулам (23) и (24) и затем сравнивают с табличным значением по неравенствам.

За показатель воспроизводимости для m -ного образца принимаем величину $S_{R,m}$, показатель внутрилабораторной прецизионной высчитывается по формуле (29)

2.8 Оценка метрологических характеристик методики с визуальным детектированием

Для опроса были подготовлены две выбранные цветовые шкалы.

Шкала с $q=2$. Готовили растворы с концентрацией $1 \cdot 10^{-5}$; $2 \cdot 10^{-5}$; $4 \cdot 10^{-5}$; $8 \cdot 10^{-5}$; $16 \cdot 10^{-5}$; $32 \cdot 10^{-5}$; $64 \cdot 10^{-5}$; $128 \cdot 10^{-5}$; $256 \cdot 10^{-5}$; $512 \cdot 10^{-5}$; $1024 \cdot 10^{-5}$ М в колбу на 100 см^3 вносили нужный объем рабочего раствора и добавляли ацетатный буфер. Все дальнейшие операции выполняли согласно пункту 2.4.

Шкала с $q=3$. Готовили растворы с концентрацией $1 \cdot 10^{-5}$; $3 \cdot 10^{-5}$; $9 \cdot 10^{-5}$; $27 \cdot 10^{-5}$; $81 \cdot 10^{-5}$; $243 \cdot 10^{-5}$; $729 \cdot 10^{-5}$ М, для этого в колбу на 100 см^3 вносили нужный объем рабочего раствора и добавляли ацетатный буфер. Все дальнейшие операции выполняли согласно пункту 2.4.

Для выбора работоспособной шкалы, респондентам было предложено 2 тест-шкалы с $q=2$ и $q=3$. Предлагалось ответить на вопрос: «Видите ли вы разницу в окрасе соседних образцов?». По данным этого опроса для дальнейшего исследования была выбрана шкала с интервалом $q=2$.

2.8.1 Определение области ненадежной реакции по кривым эффективности

По результатам опроса независимых наблюдателей выбрали два рядом стоящих образца для одного из которых индигокармин не обнаруживался, а

для другого – обнаруживался. Полученные ориентировочные диапазоны концентраций индигокармина примерно соответствовали области ненадежной реакции. Далее выбранные диапазоны разбили еще на 9 интервалов.

Были опрошены 48–50 респондентов, каждому из них показывали эталоны сравнения и задавали вопрос: «Окрашенный образец соответствует эталону сравнения №1 или №2?». Верхнюю границу этих диапазонов обозначили как эталон сравнения №2 (индигокармин обнаруживается), нижнюю – эталон сравнения №1 (индигокармин не обнаруживается). Рассчитали вероятность обнаружения аналита по формуле (37). Данные опроса представлены в таблице 7.

Таблица 7 – Значения частоты обнаружения индигокармина

$C_{ик}$, г/л	n_i	$P(C_k)$
$1 \cdot 10^{-6}$	0	0,00
$2 \cdot 10^{-6}$	0	0,00
$2,5 \cdot 10^{-6}$	4	0,08
$3 \cdot 10^{-6}$	11	0,23
$3,5 \cdot 10^{-6}$	23	0,47
$4 \cdot 10^{-6}$	36	0,75
$6 \cdot 10^{-6}$	46	0,96
$8 \cdot 10^{-6}$	48	1,00
$16 \cdot 10^{-6}$	48	1,00

Исходя из полученных данных были построены кривые эффективности.

2.8.2 Процедура выбора функции, аппроксимирующей зависимость P(C) от концентрации индигокармина

Для более точной оценки области ненадежной реакции проводим расчет по кривой эффективности. Для аппроксимации зависимости вероятности обнаружения альбумина и общего белка от их концентраций рассматривали две функции: экспоненциального распределения и функцию экстремального распределения первого рода (Вейбулла).

Для функции экспоненциального распределения отклики Y_i рассчитывали по формуле (53), а для функции Вейбулла по формуле (54)

$$Y_i = \ln \frac{1}{1 - P_i^{\text{ЭМП}}} \quad (53)$$

$$Y_i = \ln \ln(1 - P_i^{\text{ЭМП}}) \quad (54)$$

Данные для построения графиков представлены в таблице 8

Таблица 8 – Данные для построения линеаризованных функций экспоненциального распределения и экстремального распределения первого рода

Сик, М	ln C	$P^{\text{ЭМП}}$	$\ln \frac{1}{1 - P_i^{\text{ЭМП}}}$	$\ln \ln(1 - P_i^{\text{ЭМП}})$
$3 \cdot 10^{-6}$	-12,72	0,23	0,3	-1,3
$3,5 \cdot 10^{-6}$	-12,56	0,47	0,6	-0,5
$4 \cdot 10^{-6}$	-12,43	0,75	1,4	0,3
$6 \cdot 10^{-6}$	-12,02	0,96	3,2	1,2

2.8.3 Методика оценки предела определения

Предел определения индигокармина с использованием цветовой шкалы вычисляют как утроенное стандартное отклонение, экспериментально найденное вблизи этой величины (s_c). На практике за ориентировочное

значение c_{lim} принимают верхнюю границу интервала ненадежности [25]. c_{lim} равно $5,6 \cdot 10^{-6}$.

Для оценки предела определения готовили цветовую шкалу сравнения из 3 образцов и контрольные тест-образцы, отвечающие растворам с заданными концентрациями аналита ($c_{зад}$). $c_{зад}$ готовили равной $2,9 \cdot 10^{-5}$; $5,8 \cdot 10^{-5}$; $11,6 \cdot 10^{-5}$ М. Для этого в колбы на 100 см^3 вносили необходимый объем рабочего раствора и ацетатный буфер. Все дальнейшие операции выполняли согласно пункту 2.4.

В опросе участвовали 30 респондентов, каждому из наблюдателей задавали вопрос: «Исследуемый образец имеет концентрацию, соответствующую какому из образцов сравнения?». При этом можно было выбрать один из трех вариантов ответа: исследуемый объект соответствует первому (меньшая концентрация), второму (большая концентрация) или среднему (промежуточная концентрация) образцу сравнения. Результаты опроса представлены в таблице 9.

Таблица 9 – Полученные статистические данные для расчета предела определения индигокармина

Введено индигокармина, М	Число определений (n)					$C_{\text{рассчит}}, \text{ М}$
	$C_1, \text{ М}$	$C_{\text{ср1-2}}, \text{ М}$	$C_2, \text{ М}$	$C_{\text{ср2-3}}, \text{ М}$	$C_3, \text{ М}$	
$7,5 \cdot 10^{-6}$	0	2	8	14	6	$8,2 \cdot 10^{-6}$

Из 30 результатов определения вычисляли стандартное отклонение искомой концентрации и предел определения по формулам (55) и (56)

$$S_c = \sqrt{S_c^2} = \sqrt{\frac{\sum (C_{\text{зад}} - C_i)^2}{N-1}} \quad (55)$$

$$C_{lim} = 3S_c \quad (56)$$

где

$C_{зад}$ – заданная концентрация белка в тест-образце;

C_i – заданное значение концентрации белка в образце сравнения;

N – общее число испытаний.

2.8.4 Проверка правильности методики визуального детектирования при определении индигокармина на модельных растворах

Для проверки правильности методики методом «введено-найдено» готовили контрольные образцы с известным количеством индигокармина. Значения концентраций индигокармина в модельных растворах составляли $5 \cdot 10^{-5}$; $7 \cdot 10^{-5}$; $10 \cdot 10^{-5}$; $20 \cdot 10^{-5}$; и $40 \cdot 10^{-5}$ М.

Проводили среди 15 человек. Каждому задавали вопрос: «Какому значению концентраций на шкале соответствует каждый из контрольных тест-образцов?». Далее проводили расчет концентраций индигокармина, которые были определены наблюдателями и диапазон разброса значений.

Погрешность визуального определения рассчитывали по формуле (57)

$$\Delta = \frac{|X_{\text{теор}} - X_{\text{эксп}}|}{X_{\text{теор}}} \quad (57)$$

3 Обсуждение результатов

Исследуя зависимость функции Кубелки–Мунка от концентрации индигокармина на различных типах поверхности при $\text{pH} = 4,5$, $\lambda = 600$ нм и времени сорбции 60 минут, были получены зависимости, представленные на рисунках 4 и 5.

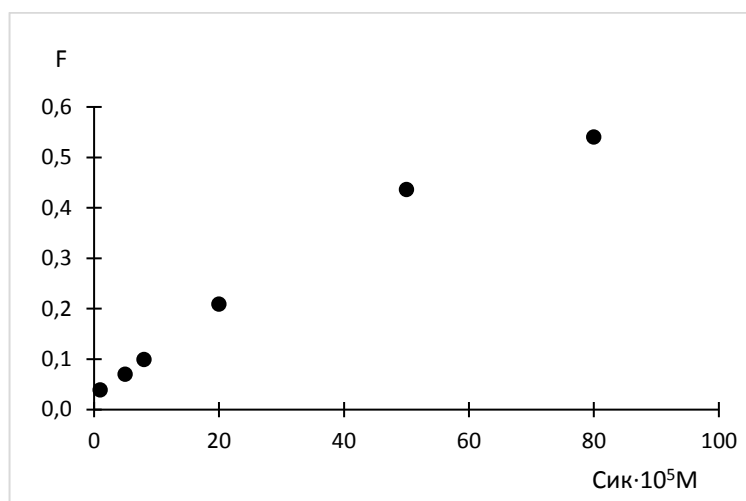


Рисунок 4- Зависимость функции Кубелки–Мунка от концентрации индигокармина, методика прессования таблеток

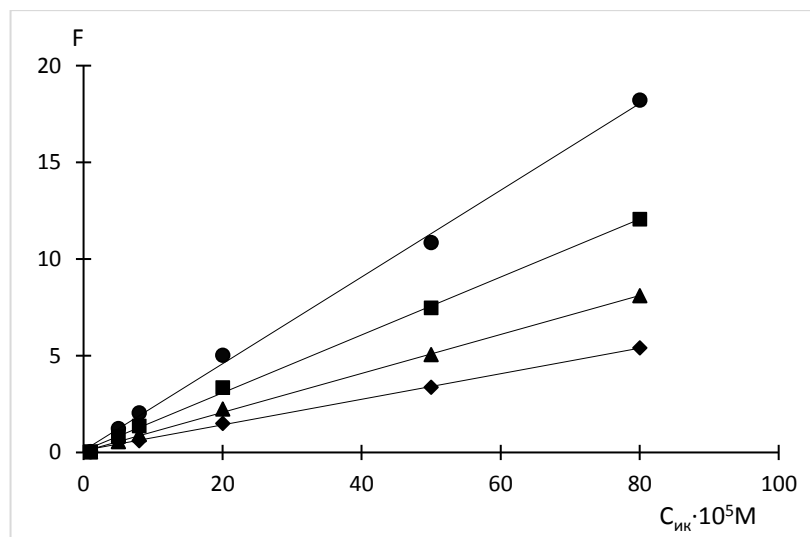


Рисунок 5– Зависимость функции Кубелки–Мунка от концентрации индигокармина, методика нанесения модифицированного сорбента на разные типы бумаг; 1) Бумага Тип 1; 2) Бумага Тип 2, г/см^3 ; 3) Бумага Тип 3, г/см^3 ; 3) Бумага Тип 4

Полученные результаты показывают, что зависимость функции Кубелки–Мунка от концентрации индигокармина линейна в диапазоне концентраций от $1 \cdot 10^{-5}$ до $8 \cdot 10^{-4}$ М. Увеличение плотности бумаги приводит к снижению тангенса угла наклона зависимости F от C , однако на метрологические характеристики оказывает влияние не только плотности используемой бумаги, но и характер поверхности. Полученные градуировочные зависимости функции Кубелки–Мунка от концентрации индигокармина описаны уравнениями $y = 0,2243x + 0,1007$ для бумаги тип 1, $y = 0,1496x + 0,0906$ для бумаги типа 2, $y = 0,1007x + 0,0581$ для бумаги типа 3, $y = 0,0661x + 0,1052$ для бумаги типа 4, $y = 0,0066x + 0,0525$ для таблеток с сульфатом бария.

Для оценки показателя воспроизводимости проводят проверку средних значений, полученных в условиях воспроизводимости, \bar{X}_m на наличие выбросов по критерию Граббса (таблица 10–13).

Таблица 10 – Оценивание статистика Граббса для бумаги Типа 1

C, M	\bar{X}_m	S_m	$X_{m,max}$	$X_{m,min}$	$GR_{m,max}$	$GR_{m,min}$	$GR_{табл}$
$1 \cdot 10^{-5}$	0,030	0,011	0,042	0,014	1,115	1,559	1,715
$5 \cdot 10^{-5}$	1,232	0,197	1,465	0,999	1,186	1,185	1,715
$8 \cdot 10^{-5}$	2,040	0,269	2,420	1,717	1,415	1,201	1,715
$20 \cdot 10^{-5}$	5,025	0,590	5,777	4,129	1,276	1,519	1,715
$50 \cdot 10^{-5}$	10,838	0,430	11,401	10,332	1,092	1,393	1,715
$80 \cdot 10^{-5}$	18,217	0,515	18,795	17,483	1,123	1,426	1,715

Таблица 11 – Оценивание статистика Граббса для бумаги Типа 2

C, M	\bar{X}_m	S_m	$X_{m,max}$	$X_{m,min}$	$GR_{m,max}$	$GR_{m,min}$	$GR_{табл}$
$1 \cdot 10^{-5}$	0,030	0,005	0,037	0,024	1,422	1,323	1,715
$5 \cdot 10^{-5}$	0,822	0,131	0,977	0,666	1,186	1,185	1,715
$8 \cdot 10^{-5}$	1,360	0,179	1,613	1,145	1,415	1,201	1,715

Продолжение таблицы 8

C, M	\bar{x}_m	Sm	$X_{m,max}$	$X_{m,min}$	GR _{m,max}	GR _{m,min}	GR _{табл}
20·10 ⁻⁵	3,350	0,393	3,385	2,753	1,276	1,519	1,715
50·10 ⁻⁵	7,464	0,551	8,250	6,958	1,426	0,306	1,715
80·10 ⁻⁵	12,060	0,436	12,530	11,550	1,078	1,175	1,715

Таблица 12 – Оценивание статистика Граббса для бумаги Типа 3

C, M	\bar{x}_m	Sm	$X_{m,max}$	$X_{m,min}$	GR _{m,max}	GR _{m,min}	GR _{табл}
1·10 ⁻⁵	0,029	0,006	0,036	0,022	1,254	1,096	1,715
5·10 ⁻⁵	0,548	0,120	0,651	0,367	1,662	0,708	1,715
8·10 ⁻⁵	0,906	0,119	1,075	0,463	1,415	1,201	1,715
20·10 ⁻⁵	2,233	0,262	2,592	1,835	0,223	1,519	1,715
50·10 ⁻⁵	5,047	0,531	5,899	4,592	1,606	0,856	1,715
80·10 ⁻⁵	8,103	0,390	8,665	7,700	1,440	1,031	1,715

Таблица 13 – Оценивание статистика Граббса для бумаги Типа 4

C, M	\bar{x}_m	Sm	$X_{m,max}$	$X_{m,min}$	GR _{m,max}	GR _{m,min}	GR _{табл}
1·10 ⁻⁵	0,031	0,006	0,040	0,023	1,271	1,326	1,715
5·10 ⁻⁵	0,581	0,087	0,651	0,444	1,186	1,185	1,715
8·10 ⁻⁵	0,604	0,119	1,075	0,763	1,415	1,201	1,715
20·10 ⁻⁵	1,488	0,175	1,712	1,223	1,276	1,519	1,715
50·10 ⁻⁵	3,364	0,354	3,933	3,061	1,606	0,856	1,715
80·10 ⁻⁵	5,401	0,260	5,776	5,133	1,440	1,031	1,715

Исследование показало, что выбросов нет.

Для того, чтобы оценить влияние способа закрепления сорбента на твердой матрице на метрологические характеристики методики определения аналита, необходимо рассчитать показатели внутрилабораторной прецизионности для концентрации индигокармина в каждом образце для различных типов бумаг в виде предела воспроизводимости $\sigma_{R,m}$, предела

повторяемости $\sigma_{r,m}$, показателя правильности и точности методики измерения (таблицы 14–16).

Таблица 14 – Результаты оценки показателя внутрилабораторной прецизионности методики для разного типа бумаг

Тип бумаги	C, M	\bar{x}_m	Sm	$\sigma_{r,m}$	$\sigma_{R,m}$	Γ_m	Rm
Тип 1	$1 \cdot 10^{-5}$	0,030	0,011	0,009	0,012	0,024	0,034
	$5 \cdot 10^{-5}$	1,232	0,197	0,055	0,224	0,152	0,621
	$8 \cdot 10^{-5}$	2,040	0,269	0,175	0,306	0,485	0,848
	$20 \cdot 10^{-5}$	5,025	0,590	0,298	0,673	0,825	1,863
	$50 \cdot 10^{-5}$	10,838	0,430	0,285	0,491	0,791	1,359
	$80 \cdot 10^{-5}$	18,217	0,515	0,350	0,587	0,968	1,626
Тип 2	$1 \cdot 10^{-5}$	0,030	0,005	0,005	0,005	0,015	0,015
	$5 \cdot 10^{-5}$	0,822	0,131	0,037	0,149	0,101	0,414
	$8 \cdot 10^{-5}$	1,360	0,179	0,117	0,204	0,324	0,565
	$20 \cdot 10^{-5}$	3,350	0,393	0,199	0,448	0,550	1,242
	$50 \cdot 10^{-5}$	7,464	0,551	0,352	0,629	0,974	1,741
	$80 \cdot 10^{-5}$	12,060	0,436	0,300	0,497	0,830	1,376
Тип 3	$1 \cdot 10^{-5}$	0,029	0,006	0,002	0,007	0,004	0,019
	$5 \cdot 10^{-5}$	0,548	0,120	0,186	0,137	0,516	0,378
	$8 \cdot 10^{-5}$	0,907	0,119	0,078	0,136	0,216	0,377
	$20 \cdot 10^{-5}$	2,233	0,262	0,132	0,299	0,367	0,828
	$50 \cdot 10^{-5}$	5,047	0,531	0,295	0,605	0,818	1,676
	$80 \cdot 10^{-5}$	8,103	0,390	0,239	0,445	0,662	1,233
Тип 4	$1 \cdot 10^{-5}$	0,031	0,007	0,009	0,026	0,007	0,021
	$5 \cdot 10^{-5}$	0,581	0,087	0,024	0,067	0,100	0,276
	$8 \cdot 10^{-5}$	0,604	0,119	0,078	0,216	0,136	0,377
	$20 \cdot 10^{-5}$	1,489	0,175	0,088	0,244	0,199	0,552
	$50 \cdot 10^{-5}$	3,364	0,354	0,197	0,545	0,403	1,117
	$80 \cdot 10^{-5}$	5,402	0,260	0,159	0,297	0,441	0,822

Таблица 15 – Оценка показателя правильности методики измерений

Сик	Тип поверхности	С _{ср} , М	Θ _м	Δ _{о,м}	t _м	σ _{см}	Δ _{с,м}
1·10 ⁻⁵	Тип 1	0,031	0,001	0,006	0,014	0,035	0,068
	Тип2	0,030	0,001	0,006	0,057	0,025	0,049
	Тип3	0,029	0,001	0,006	0,054	0,024	0,047
	Тип4	0,031	0,000	0,006	0,002	0,059	0,115
5·10 ⁻⁵	Тип 1	1,232	1,062	0,016	7,691	0,138	0,271
	Тип2	0,822	0,023	0,016	0,203	0,113	0,221
	Тип3	0,548	0,018	0,016	0,194	0,092	0,181
	Тип4	0,581	0,018	0,016	0,191	0,191	0,374
8·10 ⁻⁵	Тип 1	2,040	0,024	0,030	0,142	0,170	0,333
	Тип2	1,360	0,007	0,030	0,050	0,050	0,099
	Тип3	0,907	0,026	0,030	0,228	0,114	0,223
	Тип4	0,604	0,018	0,030	0,187	0,187	0,367
20·10 ⁻⁵	Тип 1	5,025	0,141	0,050	0,573	0,246	0,483
	Тип2	3,350	0,023	0,050	0,114	0,202	0,396
	Тип3	2,233	0,006	0,050	0,036	0,166	0,325
	Тип4	1,489	1,075	0,050	7,886	0,136	0,267
50·10 ⁻⁵	Тип 1	10,838	0,026	0,050	0,117	0,225	0,441
	Тип2	7,464	0,101	0,050	0,415	0,243	0,476
	Тип3	5,047	0,046	0,050	0,195	0,314	0,616
	Тип4	3,364	0,040	0,050	0,208	0,193	0,378
80·10 ⁻⁵	Тип 1	18,217	0,014	0,050	0,060	0,237	0,464
	Тип2	12,060	0,011	0,050	0,052	0,218	0,428
	Тип3	8,103	0,059	0,050	0,290	0,204	0,400
	Тип4	5,402	0,026	0,050	0,156	0,168	0,329

Таблица 16 – Результаты оценивания показателя точности методики

Сик	Тип поверхности	\bar{X}_m	$\sigma_{R,m}$	σ_{cm}	$\sigma_{cm}/\sigma_{R,m}$	Δ_m
$1 \cdot 10^{-5}$	Тип 1	0,031	0,012	0,035	2,857	0,072
	Тип2	0,030	0,005	0,025	4,611	0,050
	Тип3	0,029	0,007	0,024	3,569	0,049
	Тип4	0,030	0,007	0,059	7,887	0,116
$5 \cdot 10^{-5}$	Тип 1	1,232	0,224	0,138	0,616	0,516
	Тип2	0,822	0,149	0,113	0,755	0,367
	Тип3	0,548	0,137	0,092	0,676	0,323
	Тип4	0,581	0,100	0,191	1,915	0,422
$8 \cdot 10^{-5}$	Тип 1	2,040	0,306	0,170	0,554	0,686
	Тип2	1,360	0,204	0,050	0,247	0,412
	Тип3	0,548	0,136	0,114	0,836	0,348
	Тип4	0,604	0,136	0,187	1,376	0,454
$20 \cdot 10^{-5}$	Тип 1	5,025	0,673	0,057	0,085	1,318
	Тип2	3,350	0,448	0,202	0,450	0,964
	Тип3	2,233	0,299	0,166	0,554	0,670
	Тип4	1,489	0,021	0,136	6,361	0,270
$50 \cdot 10^{-5}$	Тип 1	10,838	0,491	0,117	0,239	0,962
	Тип2	7,464	0,629	0,243	0,387	1,232
	Тип3	4,804	0,855	0,314	0,368	1,785
	Тип4	3,364	0,403	0,193	0,479	0,876
$80 \cdot 10^{-5}$	Тип 1	18,217	0,587	0,237	0,403	1,151
	Тип2	12,060	0,497	0,218	0,439	0,974
	Тип3	8,103	0,445	0,204	0,459	0,960
	Тип4	5,402	0,297	0,168	0,565	0,668

Для оценки метрологических характеристик тест-методики использовали 2 цветовые шкалы с q равной 2 и q равной 3. После обработки данных опроса независимых респондентов, была выбрана в качестве более равноконтрастной шкала с q равной (таблица 17).

Таблица 17 – Значения частоты обнаружения различия окраски соседних образцов на цветовых шкалах для тест-системы Индигокармин- Al_2O_3

Интервал $\Delta c(\text{ИК}) \cdot 10^{-5}$, М	P(c),% (N=50)	Интервал $\Delta c(\text{ИК}) \cdot 10^{-5}$, М	P(c),% (N=50)
q=2		q=3	
0–1	100	0–1	100
1–2	100	1–3	100
2–4	100	3–9	100
4–8	100	9–27	100
8–16	92	27–81	100
16–32	100	81–243	76
32–64	100	243–729	80
64–128	92	-	-
128–256	64	-	-
256-512	24	-	-

Для выбранной серии была построена зависимость вероятности обнаружения индигокармина от его концентрации в растворе. Проводили предварительную визуальную оценку области ненадежной реакции с помощью групп независимых наблюдателей и оценку ОНР графическим путем по кривым эффективности (рисунок 6). При предварительной визуальной оценке ОНР были определен интервал равный $(3-8) \cdot 10^{-6}$ М, при оценке ОНР по кривым эффективности интервал был равен $(2,5-6) \cdot 10^{-6}$ М.

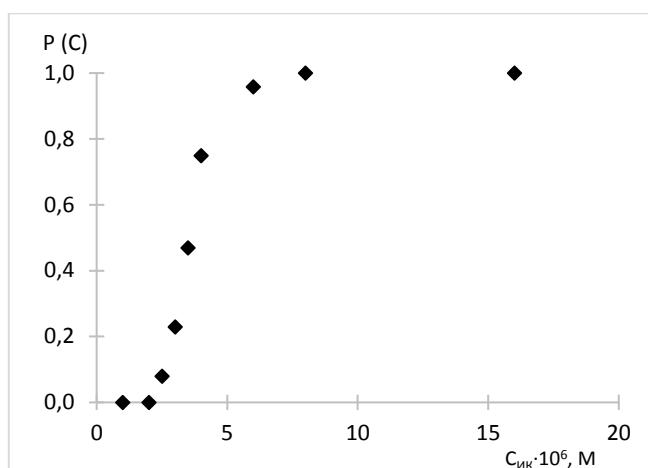


Рисунок 6 – Зависимость вероятности обнаружения аналита $P(C)$ от концентрации индигокармина

Более точную оценку ОНР проводили расчетным путем по кривым эффективности. Для этого проводили аппроксимацию зависимости вероятности обнаружения аналита от его концентрации с помощью функций экспоненциального распределения и экстремального распределения первого рода (Вейбулла). Для выбора функции распределения проводили линеаризацию полученных экспериментальных статистических данных. Выбор функции проводили с учетом значения коэффициента корреляции уравнения прямой. Полученные графические зависимости двух функций для представлены на рисунках 7 и 8.

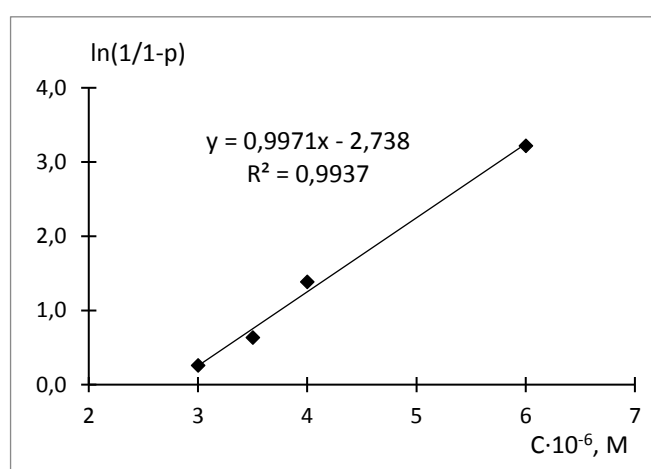


Рисунок 7 – Линеаризация функции экспоненциального распределения

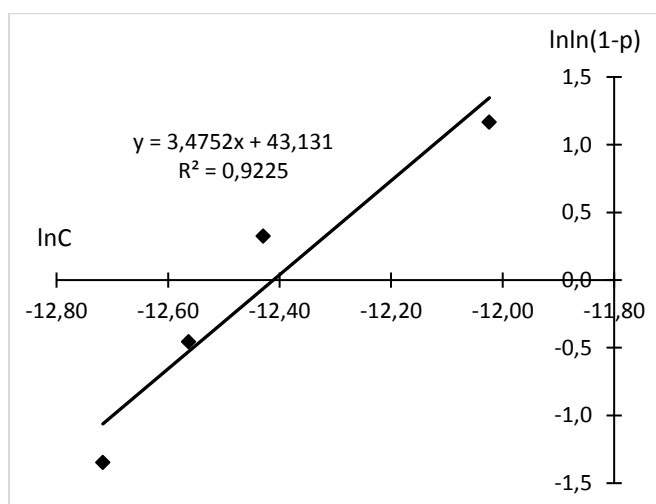


Рисунок 8 – Линеаризация функции экстремального распределения первого рода (Вейбулла)

Установлено, что для полученной тест-системы экспериментальные данные лучше описывает функция экспоненциального распределения. Эта функция и были использована для расчета предела обнаружения индигокармина. Математически рассчитанные метрологические характеристики приведены в таблице 18.

Таблица 18 – Основные метрологические характеристики методики

Подходы к оценке метрологических характеристик	C_{\min}, M	Интервал ненадежной реакции, C, M	Относительная ширина области ненадежной реакции, у.е.
Предварительная визуальная оценка ($0 < P(C) < 1$)	$6 \cdot 10^{-6}$	$2,5 \cdot 10^{-6} - 6 \cdot 10^{-6}$	1,4
По уравнению линеаризованных функций распределения ($0,05 < P(C) < 0,95$)	$5,6 \cdot 10^{-6}$	$1,7 \cdot 10^{-6} - 5,6 \cdot 10^{-6}$	2,2

Как видно из таблицы 9 предел, рассчитанный по уравнению линеаризованных функций распределения, равен $5,6 \text{ M}$, а относительная ширина области ненадежной реакции достаточно мала, что свидетельствует об устойчивости тест-методики к изменениям внешних условий.

Наименьшее содержание аналита, которое может быть установлено рассчитывали, как утроенное стандартное отклонение. Полученные данные представлены в таблице 19.

Таблица 19 – Результаты экспериментальной оценки предела определения индигокармина

С _{ик} образцов сравнения, М	С _{ик} заданная, М	С _{изм} , М	С _{lim} , М
$2,9 \cdot 10^{-6}$	$7 \cdot 10^{-6}$	$8,2 \cdot 10^{-6}$	$2,75 \cdot 10^{-5}$
$4,35 \cdot 10^{-6}$			
$5,8 \cdot 10^{-6}$			
$8,7 \cdot 10^{-6}$			
$11,6 \cdot 10^{-6}$			

Оценку правильности тест-методики определения индигокармина проводили путем приготовления модельных растворов и проведения опроса. Задача респондентов заключалась к отнесению образца к одному из интервалов шкалы сравнения. Рассчитанные погрешности представлены в таблице 20.

Таблица 20 – Проверка правильности методик визуального тест-определения индигокармина

Введено С _{ик} , М	Найдено С _{ик} , М	Δ , %	Найдено (интервальные значения), М	Число интервалов шкалы, в которые попадали ответы
$5 \cdot 10^{-5}$	$5,73 \cdot 10^{-5}$	-14,67	$4 \cdot 10^{-5} - 8 \cdot 10^{-5}$	1

Продолжение таблицы 20

Введено С _{ик} , М	Найдено С _{ик} , М	Δ, %	Найдено (интервальные значения), М	Число интервалов шкалы, в которые попадали ответы
$7 \cdot 10^{-5}$	$7,47 \cdot 10^{-5}$	-6,67	$4 \cdot 10^{-5} - 8 \cdot 10^{-5}$	1
$10 \cdot 10^{-5}$	$11,2 \cdot 10^{-5}$	-12,00	$8 \cdot 10^{-5} - 16 \cdot 10^{-5}$	1
$20 \cdot 10^{-5}$	$22,9 \cdot 10^{-5}$	-14,67	$16 \cdot 10^{-5} - 32 \cdot 10^{-5}$	1
$40 \cdot 10^{-5}$	$48,0 \cdot 10^{-5}$	-20,00	$40 \cdot 10^{-5} - 56 \cdot 10^{-5}$	0,5

Как видно из данных таблицы, при использовании выбранных цветовых шкал возникающие ошибки определения белков не превышают значения, допустимые для тест-методов анализа.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Показано влияния способа закрепления сорбента на твердой матрице на метрологические характеристики методик определения индигокармина с использованием спектроскопии диффузного отражения. Получены зависимости функции Кубелки–Мунка от концентрации индигокармина в растворе при закреплении сорбента на бумагах различной плотности. Показано, что плотность бумаги оказывает влияние на чувствительности методики и предел обнаружения индигокармина в водных растворах. Рассчитаны показатели прецизионности для каждого образца на бумагах различной плотности в виде предела воспроизводимости и предела повторяемости. Для всех типов бумаг с увеличением концентрации индигокармина наблюдается увеличение выборочной дисперсии. Результаты оценки однородности дисперсий для каждого из исследуемых образцов показали, что независимо от типа бумаги дисперсии однородны.

Рассчитаны характеристики погрешности измерений для определения индигокармина методом спектроскопии диффузного отражения. На основе значений показателя воспроизводимости (минимальное и максимальное значения в процентах отличаются не более двух раз) установлено, что в диапазоне концентраций от $1 \cdot 10^{-5} \text{ М}$ до $80 \cdot 10^{-5} \text{ М}$, в пределах которого установлены единые характеристики погрешностей: показатель повторяемости (σ_r) равен 2 %, показатель воспроизводимости (σ_R) равен 2 %, показатель систематической погрешности (Δ_c) равен 4 %.

Исследована возможность визуального определения индигокармина с использованием тест-шкалы. По кривой эффективности установлено, что для наиболее подходящих полученных тест-систем экспериментальные данные лучше описывает функция экспоненциального распределения. Рассчитаны метрологические характеристики тест-методики определения индигокармина. Диапазон определяемых концентраций $1,8 \cdot 10^{-5} - 12,8 \cdot 10^{-4} \text{ М}$; относительная

ширина области ненадежной реакции составила 2,2 у.е.; предел обнаружения индигокармина составил $5,6 \cdot 10^{-6}$ М; предел определения $1,8 \cdot 10^{-5}$ М. Правильность визуального определения индигокармина проверяли на модельных растворах. Погрешность тест-определения индигокармина не превышает 20%.

Проведено сравнение метрологических характеристик методик с использованием спектроскопии диффузного отражения и визуального детектирования. Методика тест-определения по чувствительности не превосходит сорбционно-спектроскопическую, однако она позволяет быстро и надежно оценить концентрацию индигокармина в исследуемом объекте.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1 Дмитриенко, С.Г. Сорбционно–фотометрические и тест-методы анализа с применением пенополиуретанов. Практическое руководство / С.Г. Дмитриенко – Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, 2003. – 35.

2 Амелин, В.Г. 2,3,7–тригидроксифлуороны, иммобилизованные на целлюлозных матрицах, в тест-методах определения редких элементов / В.Г. Амелин, О.И. Абраменкова // Журн. аналит. химии. – 2008. – Т. 63. – № 11. – С. 1217.

3 Амелин, В.Г. Адсорбционно закрепленные азореагенты в химических тест-методах анализа, использующих принципы осадочной хроматографии на бумаге / В.Г. Амелин, А.В. Третьяков // Журн. аналит. химии. – 2003. – Т. 58. – № 8. – С. 829.

4 Амелин, В.Г. Химические тест-методы / В.Г. Амелин // Журн. аналит. химии. – 2000. – Т. 55. – № 9. – С.903.

5 Гавриленко, Н.А. Окислительно–восстановительные и кислотнo–основные свойства 2,6–дихлорфенолиндофенола, иммобилизованного в полиметакрелатную матрицу / Н.А. Гавриленко, А.В. Суханов, О.В. Мохова // Журн. аналит. химии. – 2010. – Т. 65. – № 1. – С.20.

6 Дмитриенко, С.Г. Пенополиуретаны: Сорбционные свойства и применение в химическом анализе / С.Г. Дмитриенко, В.В. Апяри. – М.: КРАСАНД, 2010. – С. 264.

7 Починок, Т.Б. Использование тонкослойных сорбентов на основе пирогаллолового красного для тест–определения свинца / Т.Б. Починок, В.М. Островская, П.В. Тарасова, [и др.] // Экологический вестник научных центров ЧЭС. – 2010. – № 3. – С. 37.

8 Починок, Т.Б. Каталитическое тест–определение меди на твердом носителе / Т.Б. Починок, Т.В. Сынкova, Т.Н. Шеховцова, [и др.] // Журн. аналит. химии. – 2007. – Т. 62. – № 2. – С. 204.

9 Yamamoto, K. Sensitive determination of quaternary ammonium salts by extraction-spectrophotometry of ion associates with bromophenol blue anion and coextraction / K. Yamamoto // Anal. Chim. Acta. – 1995. – V. 302. – № 1. – P. 75.

10 Yusof, N.A. A flow cell optosensor for lead based on immobilized gallocynin in chitosan membrane / N.A. Yusof, M. Ahmad // Talanta. – 2005. – V. 58. – № 3. – P. 459.

11 Sadeghi, S. Solid phase extraction using silica gel functionalized with Sulfasalazine for preconcentration of uranium (VI) ions from water samples / S. Sadeghi, E. Sheikhzadeh // Microchimica Acta. – 2008. – V.163. – P.313.

12 Diaz, G.M.E. On the surfactant-sensitized analytical -reaction of titanium with bromopyrogallol red / G.M.E. Diaz, G.E. Blanco, A. Sans–Medel // Microchem. J. – 1984. – V. 30. – № 2. – P. 211.

13 Xie, Z.H. Thioacetamide chemically immobilized on silica gel as a solid phase extracting for the extraction and preconcentration of copper (II), lead (II), and cadmium (II) / Z.H. Xie, F.Z. Xie, L.Q. Guo, [et al.] // Journal of Separation Science. – 2005. –V. 28. – P.462.

14 Safari Sinegani, A. A. The effects of soil properties and temperature on the adsorption isotherms of lead on some temperate and semiarid surface soils of Iran / Safari Sinegani A. A., Mirahamdi Araki A // Environ. Chem. Lett. – 2010. – V. 8. – N 2. – P. 129–137.

15 Joshimura, K. Ion–exchange colorimetry / K. Joshimura, H. Waki, S. Ohashi // Talanta. – 1976. – V. 23. – N 3. – P. 449–454.

16 Решетняк, Е.А. Хроматографические и тестовые методы анализа: учебное пособие: в 2 ч. Ч. 1. Тестовые методы анализа / Е. А. Решетняк, Н. А. Никитина // – Х.: ХНУ имени В. Н. Каразина, 2011. – С. 113.

17 Мирзаева, Х.А. Получение модифицированных 2,6-дихлорфенолиндофенолом и метиленовым синим сорбентов на основе пенополиуретана / Х.А. Мирзаева, Р.И. Ахмедова // Научный форум: Медицина, биология и химия: сб. ст. по материалам I междунар. науч.-практ. конф. – № 1(1). – М., Изд. «МЦНО», 2016. — С. 59-64.

18 Толстой, В. П. Введение в оптическую абсорбционную спектроскопию наноразмерных материалов / В. П. Толстой // СОЛО. – Санкт-Петербург, 2014. – С. 360.

19 ДангНянТхонг. Изучение сорбции органических красителей на наноразмерном оксиде алюминия / Научные руководители – Т.А. Юрмазова, Н.Б.Шахова. – С. 90–93.

20 Дмитриенко, С.Г. Сорбционно–фотометрические и тест-методы анализа с применением пенополиуретанов. Практическое руководство / С.Г. Дмитриенко – Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, 2003. – 35.

21 Кортюм, Г. Принципы и методика измерения в спектроскопии диффузного отражения / Г. Кортюм, В.Браун, Г.Герцог // Успехи физ. наук. – 1965. – Т. 85. – № 2. – С 365-379.

22 Рамазанова, Г.Р. Сорбция пищевого красителя желтый солнечный закат FCF из водных растворов и его определение с использованием спектроскопии диффузного отражения / Г.Р. Рамазанова, Т.И. Тихомирова, В.В. Апяри. – Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет. – 2005.

23 Химченко, С.В. Методы определения перхлоратов в лабораторных и полевых условиях / С. В. Химченко, Л. П. Экспериандова. // Методи та об'єкти хімічного аналізу. – т. 4, № 2. – 2009. – С 108–119.

24 Паукштис, Е.А. Оптическая спектроскопия в адсорбции и катализе. Часть 2 / Паукштис Е.А., Ларина Т.В., Глазнева Т.С., Шалыгин А.С. // институт катализа им. Г.К. Борескова. – 2012. – С. 99.

25 Тосмаганбетова, К.С. Метод твердофазной спектроскопии определения серебра (I) / К.С. Тосмаганбетова, С.С. Досмагамбетова, А.К. Ташенов, Р.Ш. Еркасов. // Журн. аналит. химии. – 2009. – Т. 66. – № 3. – С. 198.

26 Смагунова, А. Н. Методы математической статистики в аналитической химии / А. Н. Смагунова, О. М. Карпукова // Изд-во Иркут. гос. ун-та, 2008. – С. 50.

27 РМГ 29 – 2013 ГСИ. Метрология. Основные термины и определения. Дата введения 2015–01–01. – М.:Стандартформ

28 ГОСТ Р ИСО 5725–1–2002. Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерения. Дата введения 2002–11–01. – М.: Стандартиформ

29 Гармаш, А.В. Метрологические основы аналитической химии / А.В. Гармаш, Н.М. Сорокина // Изд-во Московского гос. ун-та, 2012. – С. 47.

30 Александров, Ю.И. Спорные вопросы современной метрологии в химическом анализе / Ю.И. Александров. – СПб., 2003. – С. 304.

31 РМГ 61 – 2010 ГСИ. Показатели точности, правильности, прецизионности методик количественного химического анализа. Дата введения 2012–09–01. – М.:Стандартформ.

32 Решетняк, Е.А. Хроматографические и тестовые методы анализа: учебное пособие: в 2 ч. Ч. 1. Тестовые методы анализа / Е. А. Решетняк, Н. А. Никитина // – Х. : ХНУ имени В. Н. Каразина, 2011. – С. 113.

33 Ашкенази, Г. И. Цвет в природе и технике/Г.И.Ашкенази – М.: Энергоатомиздат. –1985. – 96 с.

34 Иванов, В. М. Тест методы в аналитической химии. Реакция на уран (IV) и его определение методом спектроскопии диффузного отражения/ В. М. Иванов, С. А. Морозко, С Массуд // Журнал аналитической химии. – 1995. – Т. 50.- № 12. – С. 1280–1287.

35 Островская, В.М. Реактивные индикаторные средства для многокомпонентного тестирования. – М.: 1-я образцовая типография, 1992.– 36 с.

36 Починок, Т.Б. Сорбционно-спектроскопическое определение Pb(II) с бромпирогаллоловым красным, иммобилизованным в отвержденный желатиновый гель / Т.Б. Починок, П.В. Анисимович, З.А. Темердашев, Е.А. Решетняк // Аналитика и контроль. – 2013. – Т. 17. – №4. – С.477-484.

37 Золотов, Ю.А. Химический анализ без лабораторий: тест-методы / Ю.А. Золотов // Вестник РАН. – 1997. – Т.67. – №6. – С. 508.

38 Пантейлемонов, А.В. Новые хемометрические способы обработки данных химического эксперимента/ А.В.Пантейлемонов // Доклад. –2006.
URL: <http://www-chemo.univer.kharkov.ua/departament/seminar/panteleimonov>
(дата обращения: 11.04.2019)

39 Мильман, Б.Л. Неопределенность результатов качественного химического анализа. Бинарные тест-системы / Б.Л.Мильман // Журнал аналитической химии. – 2004. – Т.59. – №12. – С. 1245–1252.

40 Armbruster, D.A. Limit of detection (LQD)/limit of quantitation (LOQ): comparison of the empirical and the statistical methods exemplified with GC-MS assays of abused drugs / Armbruster D.A., Tillmann M.D., Hubbs L.M. // Clin.Chem. – 1994. – V. 40. – № 7. – P. 1233.

41 Chansuvarn, W. Visual and colorimetric detection of mercury (II) ion using gold nanoparticles stabilized with a dithia-diaza ligand / Chansuvarn W. // Microchimica Acta. – 2012. – V. 176. – P. 57–64.

42 Hung, YL. Colorimetric detection of heavy metal ions using label-free gold nanoparticles and alkanethiols. / Hung YL, Hsiung TM, Chen YY, Huang YF, Huang CC // J Phys Chem C. –2010. – V. 114. – P. 16329–16334.

43 Решетняк, Е.А. Предел обнаружения в тест-методах анализа с визуальной индикацией. Влияющие факторы / Е.А.Решетняк, Н.А.Никитина // Журнал аналитической химии. – 2003. – Т.60. – №10. – С. 1102–1109.

44 Valcárcel, M. Metrology of qualitative chemical analysis / M Valcárcel S., Cárdenas S. – Luxembourg: Office for official publications of the European Communities, 2002. – P. 166.

45 Экспериандова, Л.П. Еще раз о пределах обнаружения и определения / Экспериандова Л.П., Беликов К.Н., Химченко С.В., Бланк Т.А. // Журнал аналитической химии. – 2010. – Т. 65. – №3. – С. 229–234.

46 Вершинин, В.И. Метрологические оценки неопределенности в качественном анализе / В.И.Вершинин // Доклад. – М. –2005.URL: <http://www.chemometrics.ru/materials/presentations/analytica-2005/vershinin> (дата обращения: 11.04.2019)

47 Wang, J.D. A discrete stress-strength interference model for unreliability bounds / Wang J.D., Liu T.S. // Reliability Engineering & System Safety. – 1994. – V. 44. – N 2. – P. 125–130.

48 Бугаевский, А. А. Графический анализ функций распределения вероятностей, связанных с пределом обнаружения / А.А.Бугаевский, М.С. Кравченко // Журнал аналитической химии. – 1983. – Т. 38. – № 1. – С.17–27.

49 Бугаевский, А. А. О вероятностных моделях чувствительности качественных химических реакций / А.А. Бугаевский, В.О. Круглов, М.С. Кравченко // Заводская лаборатория. – 1976. – Т. 42. – №1. – С. 68–70.

50 Бугаевский, А.А. Предел обнаружения в качественном анализе / А.А.Бугавский. – Харьков: ХГУ. – 1985. – С.26.

51 Aguilera, E.E. Robustness in qualitative analysis: a practical approach / E. Aguilera, E. Aguilera, R Lucena, S Cardenas // Trends Anal. Chem. – 2006. – V. 25, No. 6. – P. 621–627.

52 Пантейлемонов, А.В. Новые хемометрические способы обработки данных химического эксперимента / А.В.Пантейлемонов // Доклад. – 2006. URL: <http://www-chemo.univer.kharkov.ua/departament/seminar!/panteleimonov>. (дата обращения: 19.04.2019)