

УДК 006.91 (083.131)

А.А. Поліщук¹, О.М. Захарія², Р.М. Колпак¹, О.В. Коротков², О.М. Чеботарьов²

¹ООО «Інфокс» філія «Інфоксводоканал», Одеса

²Одеський національний університет ім. І.І. Мечникова, Одеса

НЕВИЗНАЧЕНІСТЬ АТОМНО-АБСОРБЦІЙНОГО ВИМІРЮВАННЯ КОНЦЕНТРАЦІЙ Рb У СЕЧІ ТА КРОВІ ІЗ ЗАСТОСУВАННЯМ «ГРАФІТОВОЇ ВТУЛКИ-ФІЛЬТРУ»

При оцінюванні сумарної невизначеності атомно-абсорбційних вимірювань потрібно враховувати основні джерела невизначеності. Але для віднесення їх до основних недостатньо лише емпіричної та суб'єктивної думки аналітика, особливо при аналізі таких складних об'єктів, як кров та сеча. В той же час такі можливі джерела невизначеності як матричні впливи та обмежена стабільність роботи спектрофотометру часто не приймаються до уваги. Показано, що матричні впливи значно збільшують сумарну невизначеність і тому мають враховуватись, а вплив обмеженої стабільності роботи спектрофотометру та дозування є незначним.

Ключові слова: невизначеність вимірювань, атомно-абсорбційний аналіз, «графітова втулка-фільтр».

Вступ

Для забезпечення якості вимірювань існують законодавчо закріплені вимоги, що включають в себе в тому числі і оцінку невизначеності. Особливо важливим питанням якості вимірювань є в клінічних дослідженнях, в яких приймаються важливі рішення, що стосуються здоров'я людини. Загальний алгоритм знаходження невизначеності описується в керівному документі [1]. Даний документ вимагає від аналітика врахування всіх можливих джерел невизначеності, але приймання до уваги лише основних з них, з тим щоб достатньо повно оцінити невизначеність без надлишкових втрат часу.

Атомно-абсорбційна спектроскопія широко використовується для визначення важких металів, в тому числі і Рb. Але при аналізі складних об'єктів часто виникають матричні впливи, які потрібно мінімізувати та приймати до уваги. Одним з засобів зменшення матричних впливів є «графітова втулка-фільтр» [2], яка може бути ефективно використана при аналізі крові та сечі.

Результати досліджень

Приклад оцінки невизначеності атомно-абсорбційного визначення кадмію, що екстрагується в керамічному посуді наведена в [1]. При розрахунках було використано основні шляхи та підходи, застосовані в цьому прикладі. Але на нашу думку, даний приклад не є вичерпним, так як не враховується вплив обмеженої точності вимірювання атомно-абсорбційного спектрофотометру, впливи при дозуванні проби у піч та матричних компонентів. Тим не менш, дані впливи можуть значно змінити оцінку невизначеності і тому їх потрібно враховувати.

Загальна формула оцінки невизначеності приведена нижче:

$$C = k \cdot f_{\text{розч}} \cdot f_{\text{град}} \cdot f_{\text{матр}} \cdot f_{\text{пр}}; \quad (1)$$

де k – коефіцієнт розбавлення проби, $f_{\text{розч}}$ – приготування градуовальних розчинів та розбавлення проб, $f_{\text{град}}$ – градування, $f_{\text{матр}}$ – матричні впливи, $f_{\text{пр}}$ – вплив стабільності роботи спектрофотометру.

Було враховано невизначеності обумовлені обмеженою збіжністю об'ємів при розбавленні проби та стандартних розчинів, які обумовлені в тому числі обмеженою збіжністю відбору об'ємів проби піпеткою та невизначеністю номінального об'єму колби та піпетки (табл. 1).

Для врахування невизначеності, обумовленої дозуванням та можливою нестабільністю роботи спектрофотометру було використано документацію виробника [3]. Згідно цього для використовуваного дозатору ПДП 5М-1 допускається середньоквадратичне відхилення від номінальної дози, яке складає 2% відносних. Для дози 20мкл довірчий інтервал становить $20 \pm 0,4$ мкл. Відносна стандартна невизначеність складатиме $0,4/20 = 0,02$ мкл.

Для врахування невизначеності обумовленої вимірюванням абсорбційності потрібно врахувати невизначеність вимірювань світлового потоку та невизначеність стабільності роботи атомізатору. Згідно з протоколом перевірки фотоелектричного помножувача по каналу вимірювання оптичної густини при використанні стандартного світофільтру на 0,2Б фактичне значення стандартного відхилення вимірювань світлового потоку становить 0,005 і використовується далі безпосередньо як значення невизначеності вимірювань світлового потоку. Середньоквадратичне відхилення вимірювання стабільності роботи атомізатору складає $0,60 \text{ мкг/дм}^{-3}$ при вимірювання концентрації 20 мкг/дм^{-3} . Для перерахування у відносну стандартну невизначеність: $0,60/20 = 0,03 \text{ мкг/л}$.

Таблиця 1

Вклади в невизначеність та їх значення

Фактор	Вклади у невизначеність	Значення		Відносна невизначеність
$f_{\text{розб}}$	Невизначеність об'ємів при розбавленні проби,	піпетка	5 мл	0,07
		колба	100 мл	
		температура	± 5 °C	
	Невизначеність об'ємів при розбавленні стандартних розчинів	піпетка	10 мл	0,13
		колба	100 мл	
		температура	± 5 °C	
$f_{\text{пр}}$	Невизначеність вимірювань абсорбційності	світловий потік	0,2 Б	0,03
		стабільність ЕТА	20 мкг/л	
	Невизначеність дозування у піч, (мкл)	20		0,02
$f_{\text{град}}$	Невизначеність градуювання, мкг/дм ⁻³	Pb в крові	4,82	0,30
		Pb в сечі	8,21	0,36

Сумарна невизначеність вимірювання абсорбційності таким чином складатиме 0,03 мкг/л.

Кількість свинцю у крові та сечі знаходять за допомогою побудованої градуювальної залежності. З цієї метою були приготовлені 3 градуювальних розчини з концентраціями 5, 10 та 20 мкг/дм⁻³, з вихідного розчину стандартного зразку з концентрацією свинцю 1 мг/см⁻³. При цьому відносна стандартна невизначеність концентрації стандартного зразку також була врахована і становила 0,01 мг/см⁻³. Абсорбційність кожного з трьох градуювальних розчинів вимірювали 3 рази. Градувальна функція описується рівнянням $A=B_0+B_1 \cdot C$, де A – абсорбційність розчину, B_0 – точка перетину лінійного градувального графіку з віссю ординат, B_1 – кутовий коефіцієнт лінійного градувального графіку, C – концентрація металів у розчині. Результати статистичного аналізу для визначення свинцю в крові з використанням методу найменших квадратів такі: $B_1=0,081$ зі стандартним відхиленням 0,005, $B_0=0,01$ зі стандартним відхиленням 0,003, з коефіцієнтом кореляції $r=0,99$. Залишкове стандартне відхилення S складає 0,035. Для свинцю в сечі: $B_1=0,04$ зі стандартним відхиленням 0,004, $B_0=0,0075$ зі стандартним відхиленням 0,003, з коефіцієнтом кореляції $r=0,99$. Залишкове стандартне відхилення S складає 0,033.

Для визначення свинцю у сечі та крові використовували попередньо побудовану градувальну залежність. Оптичне поглинання розчину після розбавлення вимірювали двічі, у результаті отримане значення концентрації свинцю (C_0) у зразку сечі склало 8,21 мкг/100г, а в зразку крові – 4,82 мкг/100 г.

Стандартна невизначеність градуювання вираховувалась за формулою:

$$u = \frac{S}{B} \sqrt{\left(\frac{1}{P} + \frac{1}{n} + \frac{(C_0 - C_{\text{cp}})^2}{S_{\text{xx}}} \right)}, \quad (1)$$

з залишковим стандартним відхиленням S :

$$u = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (A_i - (B_0 + B_1 \cdot C_i))^2}{n-2}} = 0,098699 \quad (2)$$

і значенням S_{xx} :

$$S_{\text{xx}} = \sum_{i=1}^n (C_i - C_{\text{cp}})^2 = 1,2 \times 10^{-4} \quad (3)$$

де p – кількість вимірювань при визначенні C_0 , n – загальне число вимірювань при градуюванні, C_0 – знайдена концентрація свинцю після розбавлення, C_{cp} – середнє значення концентрації для градуювальних розчинів, i – загальний індекс вимірювання при градуюванні, S – залишкове стандартне відхилення, B (B_1) – кутовий коефіцієнт лінійного градувального графіку.

Невизначеність, яка пов'язана з обмеженою збіжністю виміру концентрацій Pb в градуювальних розчинах та зразку сечі, складає 0,36 мкг/дм⁻³. Для зразку крові дана величина складає 0,30 мкг/дм⁻³. При вирахуванні вищенаведених невизначеностей не мав значення тип атомізатору. Але при аналізі складних об'єктів зі значними матричними впливами необхідно використовувати усі можливості для їх зменшення. Найчастіше для цього використовують складні процедури пробопідготовки. Їх недоліком є значна витрата реактивів та ризик забруднення. Крім того, за рахунок збільшення кількості стадій може значно збільшуватись невизначеність. В даному випадку для зменшення матричних впливів використовували «графітову втулку-фільтр».

Для врахування невизначеності матричних впливів вивчали вплив основних макрокомпонентів сечі та крові – альбуміну, сечовини та хлоридів на абсорбційність атомів плюмбуму. Кожен розчин аналізувався 5 разів. Випаровування велось в присутності модифікатора матриці (нітрату паладію) як зі стінки печі, так і з поверхні «графітової втулки-фільтру». При цьому, відхилення значення абсорб-

ційності розчину макрокомпоненту з добавкою Pb від значення абсорбційності стандартного розчину Pb без домішок аналізували з урахуванням загальнозваженого стандартного відхилення s_c (4) за допомогою t-критерію Стьюдента:

$$S_c = \sqrt{\frac{S_1(n-1) + S_2(n-1)}{2n-2}}; \quad (4)$$

$$t = \frac{X_1 - X_2}{S_c \sqrt{\frac{2}{n}}} \quad (5)$$

Якщо значення t-критерію перевищувало 2,3 (для 8 степенів свободи) відхилення вважалось значним. Отримане загальнозважене стандартне відхилення далі використовувалось в якості невизначеності, яка приписана даному результату (рис. 1).

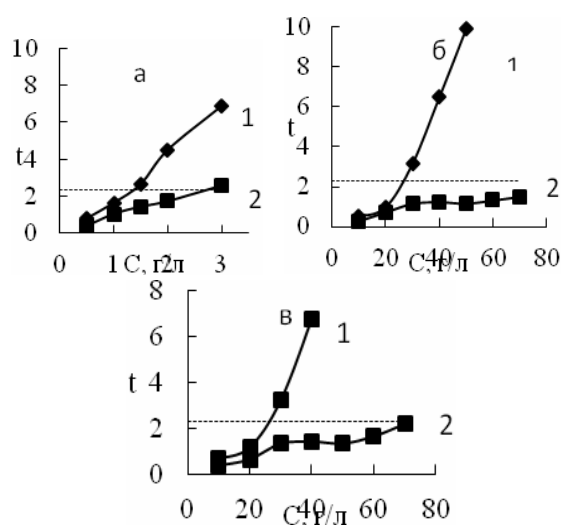


Рис. 1. Залежність t-критерію від концентрації (C, г/л), хлоридів (а), сечовини (б) та альбуміну (в) при випаровуванні зі стінки печі (1) та «графітової втулки-фільтру» (2)

На рис. 1 штриховою лінією позначено критичний рівень t-критерію ($t \geq 2,3$). Як видно, при випаровуванні зі стінки печі зміщення є значним починаючи з концентрацій 1 г/дм для хлоридів та 20 г/л сечовини та альбуміну. Це пов'язано зі значними матричними впливами, викликаними втратами свинцю на стадіях атомізації та озолення. Таким чином звичайна електротермічна трубчаста піч не може бути застосована для прямого аналізу сечі та крові. При використанні «графітової втулки-фільтру» не спостерігається значного зміщення ($t \leq 2,3$), за рахунок усунення або значного зменшення матричних впливів. Це дозволяє проводити прямий аналіз сечі та крові без попередньої пробопідготовки. Але навіть при зменшенні матричних впливів вони можуть бути джерелом невизначеності. Для її оцінки було використано середньозважене квадратичне відхилення між результатами отриманими методом доба-

вок та методом градувального графіку (табл. 2). Тоді за формулами (4) та (5) при визначенні Pb в крові $s_c=1,7$ та $t=0,54$, а в сечі $s_c=1,15$ та $t=0,56$. Таким чином, отримане середньозважене квадратичне відхилення s_c можна використовувати безпосередньо як невизначеність, викликану матричними впливами. Так як $t \leq 2,3$ дане зміщення можна вважати незначним.

Таблиця 2

Порівняння результатів визначення Pb в крові та сечі за методом добавок та за допомогою градувального графіку

Метод	Значення, мкг/100 г		Середньоквадратичне відхилення
	сеча	кров	
Стандартних добавок	сеча	8,21	1,6
	кров	4,82	1,1
Градувального графіку	сеча	7,64	1,7
	кров	4,41	1,2

Для вирахування сумарної невизначеності просумували основні джерела невизначеності та помножили на коефіцієнт покриття $k=2$.

Висновки

Прямий електротермічний атомно-абсорбційний аналіз таких складних об'єктів як кров та сеча при використанні звичайної печі неможливий і вимагає застосування попередньої пробопідготовки. За допомогою атомізатору «графітова втулка-фільтр» зменшено матричні впливи, що дозволило провести їх прямий аналіз.

Концентрація свинцю у зразку сечі складає $8,21 \pm 3,4$ мкг/100г, в зразку крові $4,82 \pm 2,4$ мкг/100г. Показано, що при аналізі складних об'єктів невизначеність викликана матричними впливами може бути дуже значною. Невизначеність, викликана можливою нестабільністю роботи приладу є незначною і може не прийматись до уваги.

Список літератури

1. *Руководство Еврахим/Ситак. Количественное описание неопределенности в аналитических измерениях, 2-е издание, 2000г. Пер. С англ. – С. Петербург: ВНИИМ им. Д.И. Менделеева, 2002г., - 149с.*
2. *А.Н. Захария, Р.Н. Колпак, А.А. Полищук, А.Н. Чеботарев, Прямое электротермическое атомно-абсорбционное определение свинца (Pb) и кадмия (Cd) в природных водах с помощью графитовой «втулки-фильтра». Методи та об'єкти хімічного аналізу, 2011, т.6, №2, с. 124-131.*
3. *Сатурн ЗП-1. Методические указания. Методика поверки МИ 920-85.*

Надійшла до редколегії 19.02.2013

Рецензент: д-р техн. наук, проф. І.П.Захаров, Харківський національний університет радіоелектроніки, Харків.

**НЕОПРЕДЕЛЕННОСТЬ ЭЛЕКТРОТЕРМИЧЕСКОГО АТОМНО-АБСОРБЦИОННОГО ИЗМЕРЕНИЯ
КОНЦЕНТРАЦИЙ РВ В КРОВИ И МОЧЕ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ «ГРАФИТОВОЙ ВТУЛКИ-ФИЛЬТРА»**

А.А. Полищук, А.Н. Захария, Р.Н. Колпак, А.В. Коротков, А.Н. Чеботарев

При оценивании суммарной неопределенности атомно-абсорбционных измерений необходимо учитывать основные источники неопределенности. Но для отнесения их к основным недостаточно только эмпирического и субъективного мнения аналитика, особенно при анализе таких сложных объектов, как кровь и моча. В то же время такие возможные источники неопределенности измерений, как матричные влияния и ограниченная стабильность работы спектрофотометра, часто не принимаются во внимание. Показано, что матричные влияния значительно увеличивают суммарную неопределенность и потому должны учитываться, а влияние ограниченной стабильности работы спектрофотометра - незначительно.

Ключевые слова: неопределенность измерений, атомно-абсорбционный анализ, «графитовая втулка-фильтр»

**THE UNCERTAINTY OF ELECTROTHERMAL ATOMIC-ABSORPTION DETERMINATION Pb
IN URINE AND BLOOD USING "FILTER FURNACE ATOMIZER"**

A.A.Polischuk, O.M. Zachariya, R.N. Kolpak, O.V. Korotkov, O.M. Chebotarev.

In assessing the total uncertainty of atomic-absorption measurements main sources of uncertainty have to be taken into account. But for the reference them to the main sources the empirical and subjective analyst's opinion isn't enough, especially when such complex objects as blood and urine are analyzed. At the same time possible sources of uncertainty as matrix effects and limited stability of the spectrophotometer aren't often taken into account. It is shown that matrix effects significantly increase the total uncertainty and therefore they should be considered, but the impact of spectrophotometer's limited stability is small.

Keywords: the uncertainty of measurements, atomic absorption analysis, «filter furnace atomizer».