

## Сравнительная характеристика различных вариантов количественного хроматографического анализа методом двойной стандартной добавки

*И.Г. Зенкевич\**, *Д.Д. Бархатова*, *М.Н. Бельшева*, *Н.А. Каминский*,  
*Е.М. Карчуганова*, *А.В. Клавинг*, *А.А. Коваленко*, *В.С. Кривовичева*,  
*А.А. Кузьмин*, *М.В. Мельник*, *П.С. Парамонова*, *Р.А. Попов*,  
*В.В. Потапенков*, *А.А. Рашевский*, *А.А. Сысоева*, *И.И. Федорова*,  
*А.А. Фирсов*

Санкт-Петербургский государственный университет, Институт химии,  
198504, Российская Федерация, Санкт-Петербург, Университетский просп., 26

\*Адрес для переписки: Зенкевич Игорь Георгиевич, E-mail: [izenkevich@yandex.ru](mailto:izenkevich@yandex.ru)

Поступила в редакцию 25 мая 2021 г., после исправления – 9 июня 2021 г.

Различные варианты обработки результатов количественного газохроматографического анализа способом двойной стандартной добавки сопоставлены по точности. Три основных из них: I – простое сравнение данных, получаемых с использованием однократной и двойной добавок, II – аппроксимация зависимости  $m(S)$  в координатах «площадь пика определяемого компонента» ( $S$ ) – «масса добавки» ( $m_{\text{доб}}$ ) методом наименьших квадратов по уравнению линейной регрессии и III – вычисление количеств определяемых компонентов ( $m_x$ ) по каждой из стандартных добавок с последующей линейной экстраполяцией их значений на «нулевую» стандартную добавку,  $m_x(m_{\text{доб}} = 0)$ . Показано, что результаты определений в различных вариантах стандартных добавок сопоставимы по точности, но несколько занижены относительно заданных количеств аналитов. Главной причиной таких систематических погрешностей является испарение растворителя при последовательном дозировании проб одних и тех же образцов в хроматограф. В результате площади пиков, определяемые после ввода стандартных добавок в образцы, оказываются несколько завышенными, что и приводит к занижению результатов. Второй (менее значимый) фактор – незначительное увеличение объема образцов за счет добавок определяемых компонентов. Отмечено, что погрешности определений различными вариантами способа стандартной добавки не превышают случайных составляющих погрешностей. Лучшие результаты (с учетом знаков отклонений) обеспечивает вычисление содержания определяемого аналита методом двойной стандартной добавки с экстраполяцией результатов на «нулевую» величину добавки. Для исключения влияния «человеческого фактора» (увеличение точности результатов в ходе анализа серий однотипных образцов за счет опыта аналитиков) все параллельные определения были проведены студентами бакалавриата Института химии Санкт-Петербургского государственного университета в ходе выполнения ими лабораторных работ. Такая организация экспериментов повышает их достоверность, поскольку исключает зависимость результатов от различий в квалификации аналитиков.

**Ключевые слова:** Количественный хроматографический анализ, способ двойной стандартной добавки, различные варианты обработки результатов, особенности параллельных определений.

For citation: *Analitika i kontrol'* [Analytics and Control], 2021, vol. 25, no. 2, pp. 146-154

DOI: 10.15826/analitika.2021.25.2.010

## Comparative characterization of different kinds of chromatographic quantification using the double standard addition method

*Igor G. Zenkevich\**, *Darina D. Barkhatova*, *Maria N. Belysheva*,  
*Nikita A. Kaminskii*, *Elizabet M. Karchuganova*, *Anastasia V. Klaving*,  
*Alexander A. Kovalenko*, *Vasilisa S. Krivovicheva*, *Artem A. Kuz'min*,

**Maria V. Mel'nik, Polina S. Paramonova, Roman A. Popov,  
Vassyliv V. Potapenkov, Artem A. Rashevskii, Alexandra A. Sysoeva,  
Irina I. Fedorova, Andrew A. Firsov**

*St. Petersburg State University, Institute for Chemistry, Universitetskii prosp., 26,  
St. Petersburg 198504, Russian Federation*

\*Corresponding author: Igor G. Zenkevich, E-mail: [izenkevich@yandex.ru](mailto:izenkevich@yandex.ru)

Submitted 25 May 2021, received in revised form 09 June 2021

Different algorithms for processing the quantitative gas chromatographic analysis data using the double standard addition method are compared for their accuracy. Three principal approaches are possible for such processing: **I** – simple comparison of values determined by single and double standard additions, **II** – approximation of «peak area of analyte» ( $S$ ) – «mass of standard addition» ( $m_{\text{add}}$ ) dependence by the least squares method [linear regression,  $m(S)$ ], and **III** – independent quantification of analyte with both standard additions followed by the linear extrapolation of two sub-results on the so-called «zero standard addition»,  $m_x(m_{\text{add}} = 0)$ . It is concluded that the quantitation results obtained using the various modes of the method are comparable in accuracy, but somewhat underestimated relative to the specified amounts of analytes. The principal reason of such systematic errors is the evaporation of the solvent during the successive injecting of the same samples into the gas chromatograph. Due to this reason the peak areas, measured after the standard addition, appear to be slightly increased and this leads to the systematic underestimation of the results. The second (less important) factor is the small increase of the sample volumes due to the addition of the components to be determined. It is confirmed that the systematic errors of different modes of standard addition are not exceeding the values of their random uncertainties. The optimal results (considering their signs of deviations) are provided using the double standard addition method with extrapolation of sub-results on «zero standard addition». In order to exclude the possible influence of «human factor» (increasing the results precision during the series of analyses of similar samples due to the rising experience of analytical chemists) all parallel measurements have been performed by bachelor students of the Chemistry Institute of the St. Petersburg State University in the course of their laboratory practical works in chromatography. Such organization of experiments increases their credibility as it excluded the dependence of the results on the qualification of chemists.

**Keywords:** Quantitative chromatographic analysis, double standard addition, different kinds of data processing, «human factor» for parallel measurements

## ВВЕДЕНИЕ

Основными способами количественного хроматографического (без учета комбинированных вариантов) считают пять: внешнего стандарта, абсолютной градуировки, внутреннего стандарта, стандартной добавки и внутренней нормализации [1–3]. Каждый из них обладает своей областью применения. Однако во многих современных руководствах особенности различных методов количественного хроматографического анализа часто приводят без подробных комментариев, полагая их достаточно хорошо известными. Так, например, модифицированный вариант способа внешнего стандарта (с использованием дополнительного стандарта) [4, 5], позволяющий существенно снизить случайную составляющую погрешности определений, до настоящего времени рассмотрен только в оригинальных публикациях. То же относится к способу двойного внутреннего стандарта, впервые предложенного еще в 1986 г. [6] и позже усовершенствованного [7, 8].

Настоящее сообщение посвящено характеристике особенностей одного из вариантов количественных определений – способу стандартной добавки [9–13]. Этот способ широко используют в хроматографии и

других методах количественного анализа. Его можно «позиционировать» как вариант способа внутреннего стандарта, когда к образцу добавляют не другой компонент, а определяемое соединение. Это исключает необходимость проверки полноты разделения добавляемого и других компонентов образца. Такой способ позволяет определять суммарную массу аналита в образце без измерения его объема. Кроме того, в хроматографии это единственный способ, применимый к образцам, матрицы которых обладают сорбционными свойствами, что может существенно исказить результаты определений иными методами. Важно отметить, что он применим к гетерофазным (гетерогенным) образцам (все остальные – только к гомогенным). Это позволяет по результатам анализа лишь одного из слоев (как правило, того, который содержит меньше мешающих компонентов) определять суммарные количества целевых аналитов во всех фазах гетерогенных систем ( $m_x, M_x$ ) [14–16]. Эта особенность оказывается настолько практически полезной, что некоторые образцы перед анализом целесообразно искусственно превращать в гетерофазные системы.

Основная расчетная формула способа стандартной добавки имеет вид:

$$M_x = M_{доб} S_x / (S_{x+доб} - S_x) = M_{доб} / (S_{x+доб} / S_x - 1), \quad (1)$$

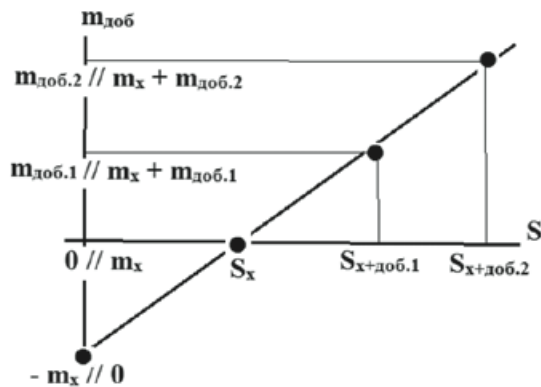
где  $M_{доб}$  – масса добавки,  $S_x$  и  $S_{x+доб}$  – площади пиков определяемого компонента до и после добавки. При усреднении данных для нескольких параллельных определений площади пиков в этой формуле заменяют их средними значениями  $\langle S_x \rangle$  и  $\langle S_{x+доб} \rangle$ .

Точность определений способом стандартной добавки весьма «чувствительна» к величине добавки, что следует из наличия сомножителя  $[S_{x+доб} / (S_{x+доб} - S_x)]$  в формуле для относительных погрешностей:

$$\delta(M_x) \approx \left( \frac{\langle S_{x+доб} \rangle}{\langle S_{x+доб} \rangle - \langle S_x \rangle} \right) \sqrt{\delta S_x^2 + \delta S_{x+доб}^2}, \quad (2)$$

где  $\langle S_x \rangle$  и  $\langle S_{x+доб} \rangle$  – средние площади пиков аналита до и после добавки,  $dS_x$  и  $dS_{x+доб}$  – их относительные стандартные отклонения.

В способе стандартной добавки возможен контроль правильности результатов за счет введения дополнительной добавки аналита в те же самые образцы и их повторного анализа – способ



**Рис. 1.** Графическая интерпретация наиболее распространенного варианта обработки данных, получаемых способом двойной (в общем случае – многократной) стандартной добавки: линейная регрессия  $m(S)$ . Среднее значение площади пика  $S_x$  соответствует нулевой величине добавки, точка с координатами  $[S_{x+доб.1}$  и  $(m_{доб.1})]$  отвечает первой стандартной добавке, а точка с координатами  $[S_{x+доб.2}$  и  $(m_{доб.2})]$  – второй. Длина отрезка  $[0, -m_x]$  соответствует количеству определяемого аналита или, иначе, значению коэффициента  $b$  уравнения линейной регрессии с обратным знаком.

**Fig. 1.** Graphical interpretation of the mostly used mode of data processing in the method of double (in general case – multi-fold) standard addition, namely linear regression  $m(S)$ . The average value of peak area  $S_x$  corresponds to zero standard addition, the point with coordinates  $[S_{x+add.1}$  и  $(m_{add.1})]$  corresponds to the first standard addition, while the point with coordinates  $[S_{x+add.2}$  и  $(m_{add.2})]$  marks the second standard addition. The length of the interval  $[0, -m_x]$  corresponds to the amount of the target component or, otherwise, the value of the coefficient  $b$  of linear regression with the reciprocal sign.

двойной (в общем случае –  $N$ -кратной) стандартной добавки. Поскольку в общем случае получаемые результаты не должны точно совпадать друг с другом, то может понадобиться их дополнительная обработка. Известны три ее варианта:

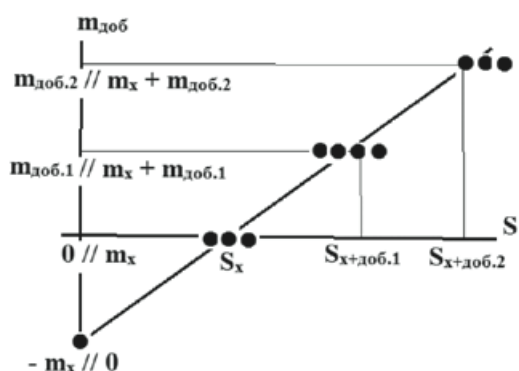
Второе значение  $m_x$ , полученное при использовании двойной добавки, рассматривают просто как контроль первого [17]. При их удовлетворительном совпадении в качестве окончательного результата принимают среднюю величину. Этот вариант настолько прост, что не требует дополнительных комментариев.

Следующий вариант обработки данных, получаемых способом двойной стандартной добавки, судя по литературным данным, является самым распространенным и предусматривает совместную обработку всех значений  $m(S)$  методом наименьших квадратов [9, 11-13]. С обычным способом стандартной добавки он соотносится так же, как способ абсолютной градуировки со способом внешнего стандарта (различаются числом точек градуировочной зависимости). Его графическая иллюстрация представлена на рис. 1.

Построим график линейной зависимости  $m(S)$  в координатах «площадь пика определяемого компонента» ( $S$ ) – «масса добавки» ( $m_{доб}$ ). Площадь пика (среднее значение  $\langle S_x \rangle$ ) определяемого компонента отвечает нулевой величине добавки, а соответствующая точка графика расположена на оси абсцисс. Точка, отражающая состав образца после первой добавки, имеет координаты  $S_{x+доб.1}$  и  $(m_{доб.1})$ , а после второй добавки –  $S_{x+доб.2}$  и  $(m_{доб.2})$ . Таким образом, получаем три точки, что достаточно для обработки данных методом наименьших квадратов с оценками коэффициента корреляции ( $R$ ) зависимости  $m(S)$  и погрешностей коэффициентов линейной регрессии  $m = aS + b$ . Наиболее значимо значение коэффициента  $b \pm s_b$ , численно равное экстраполированному значению  $m_x$  с обратным знаком. Если для более наглядной интерпретации данных перенести начало координат в точку  $(-m_x)$ , то площадь пика  $\langle S_x \rangle$  соответствует  $m_x$ , площадь пика  $\langle S_{x+доб.1} \rangle$  – значению  $(m_x + m_{доб.1})$ , а  $\langle S_{x+доб.2} \rangle$  – значению  $(m_x + m_{доб.2})$ .

Такой вариант (по значению коэффициента корреляции ( $R > 0.998$ )) позволяет характеризовать аккуратность дозирования в образцы двух добавок, а также оценивать стандартные отклонения экстраполированных значений  $m_x$ . Более того, вместо средних значений  $\langle S_x \rangle$ ,  $\langle S_{x+доб.1} \rangle$  и  $\langle S_{x+доб.2} \rangle$  можно использовать все наборы измеренных площадей пиков (без их предварительного усреднения), что позволяет получить более «реалистичные» оценки погрешностей  $s_b$  и, следовательно, результатов  $m \pm s_m$ , что иллюстрирует рис. 2 (в настоящей работе этот вариант исключен из рассмотрения).

Во многих публикациях выбирают противоположное расположение осей «масса добавки» ( $m_{доб}$ ) – «площадь пика определяемого компонента» ( $S$ ).



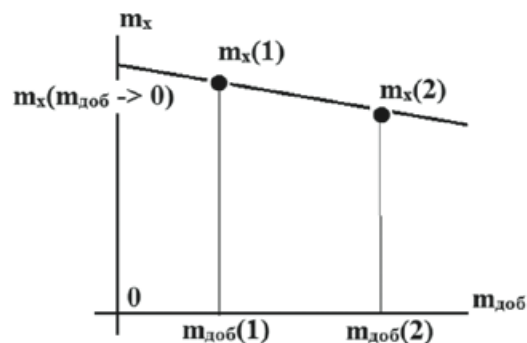
**Рис. 2.** Графическая интерпретация наиболее распространенного варианта обработки данных. Рис. 2. Графическая интерпретация линейной регрессии  $m(S)$  с использованием не средних значений площадей пиков, а всего набора данных. Обозначения на рисунке такие же, как и на рис. 1.

**Fig. 2.** Graphical interpretation of the linear regression  $m(S)$  based on using the whole set of experimental data instead of their average values. The symbols on this figure are the same as those for fig. 1.

В таком случае отрезок, длина которого соответствует значению  $m_x$ , расположен на оси абсцисс. Из этого же графика на рис. 2 можно представить себе суть  $N$ -кратной стандартной добавки, хотя такой вариант на практике используют существенно реже. Кроме того, для увеличения числа точек на таких графиках иногда рекомендуют добавлять не определяемые, а матричные компоненты (т.е. разбавлять образцы) [11]: соответствующие точки при этом располагаются ниже оси абсцисс.

Третий вариант обработки данных был предложен в работах [14 – 17] для образцов со сложными матрицами, обладающими сорбционными свойствами, либо для использования в условиях нелинейности детектирования аналитических сигналов. По результатам анализов исходного образца и после первой стандартной добавки вычисляем значение  $m_x(1)$ . После второй добавки обработку данных проводим аналогичным образом и получаем величину  $m_x(2)$ . Если  $m_x(1) \approx m_x(2)$ , то дополнительные операции с результатами не требуются. Если же  $m_x(1) \neq m_x(2)$ , то в качестве результата определений принимается значение  $m_x$ , экстраполированное на «нулевую» величину стандартной добавки,  $m_x(m_{доб} = 0)$ . «Нулевая» стандартная добавка соответствует образцам, свойства которых не искажены искусственно введенными в них компонентами. В зависимости от характера образцов и особенностей детектирования могут потребоваться иные способы экстраполяции. Графическая интерпретация этого варианта в координатах « $m_x - m_{доб}$ » представлена на рис. 3.

Тем не менее, несмотря на, казалось бы, достаточно подробную характеристику способа двойной стандартной добавки, до настоящего времени точность его различных вариантов для одних и тех же образцов не охарактеризована. Такая неопреде-



**Рис. 3.** Графическая интерпретация варианта обработки данных способа двойной стандартной добавки, предполагающего вычисление количеств определяемого аналита по каждой из добавок,  $m_x(1)$  и  $m_x(2)$  с их последующей экстраполяцией на «нулевую» величину добавки  $m_x(m_{доб} = 0)$ .

**Fig. 3.** Graphical interpretation of the data processing mode which implies the quantification of the target analyte using both standard additions,  $m_x(1)$  and  $m_x(2)$ , followed by their extrapolation on the so-called «zero standard addition»  $m_x(m_{add} = 0)$ .

ленность осложняет практическое использование разных модификаций этого способа. Поэтому цель настоящей работы – сравнение возможностей двух вариантов двойной стандартной добавки по критерию точности результатов. Такое сравнение основано на анализе нескольких серий однотипных образцов. Однако при этом возникает неожиданная проблема, которая, возможно, препятствовала проведению подобных сравнений ранее. Дело в том, что если выполнение таких определений, а также приготовление самих образцов, выполняет один и тот же химик-аналитик, то условия анализа первых и последних образцов в таких сериях могут заметно отличаться. Это связано с тем, что выполнение экспериментальных операций в ходе однотипных определений неизбежно совершенствуется за счет приобретения опыта работы с подобными образцами, что может исказить объективную характеристику как случайных, так и систематических составляющих погрешностей определений. Необходимость учета этого условия определила особенности организации экспериментов в настоящей работе<sup>1</sup>.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

**Приготовление образцов.** Образцы для количественного анализа методом двойной стандартной добавки готовили дозированием 30 – 40 мкл циклогексанона («ХЧ», «Реахим», Москва,  $d_4^{20} = 0.948$ ) в 2.0 – 5.0 мл изопропилового спирта («ХЧ», «Вектон», Санкт-Петербург). Для дозирования спирта использовали медицинский шприц объемом 5 мл,

<sup>1</sup> Один из авторов (И.З.) благодарит декана факультета психологии Санкт-Петербургского государственного университета проф. А.В. Шаболтас за полезную консультацию по рассматриваемой проблеме.

циклогексанона – хроматографический шприц объемом 50 мкл. Изопропиловый спирт выбран для того, чтобы минимизировать искажения состава образцов за счет испарения растворителя в процессе работы с ними. По сравнению, например, с неполярным *n*-гексаном он обладает не только большей температурой кипения (82.3 °С по сравнению с 68.7 °С), но и вдвое большей удельной теплотой испарения (0.76 кДж/г по сравнению с 0.37 кДж/г) и, при этом, меньшим индексом удерживания на стандартных неполярных фазах (489 ± 11).

Стандартные добавки определяемого соединения (циклогексанон) объемом 40 – 50 мкл дозировали в образцы хроматографическим шприцем объемом 50 мкл. В отдельных случаях при необходимости дозирования больших количеств добавок применяли 2-3-кратное дозирование.

**Условия анализа.** Газохроматографический анализ проводили на трех хроматографах «Хроматэк-Кристалл» 5000.2 с пламенно-ионизационными детекторами и идентичными WCOT-колонками с неподвижной фазой HP-5 длиной 10 м, внутренним диаметром 0.53 мм и толщиной пленки фазы 2.65 мкм при температуре 90 °С. Газ-носитель азот, объемная скорость 3.8 мл/мин, линейная скорость 34 см/с, деление потоков 1 : 3. На четвертом хроматографе использовали колонку с аналогичной фазой ВРХ-5 длиной 30 м, внутренним диаметром 0.53 мм и толщиной пленки фазы 1.5 мкм при температуре 120 °С. Газ-носитель азот, объемная скорость 5.0 мл/мин, линейная скорость 41.5 см/с, деление потока 1 : 3. На всех приборах температуры испарителей составляли 180 °С, детекторов 200 °С. Пробы дозировали микрошприцами объемом 10 мкл, объем проб 1.0 мкл, кратность дозирования каждого из образцов 3 – 6 (в зависимости от воспроизводимости).

**Особенности параллельного анализа однотипных образцов.** Для достоверной сравнительной характеристики различных вариантов количественного хроматографического анализа число параллельных измерений должно составлять не менее нескольких десятков. Это условие весьма сложно реализовать на практике, поэтому при меньших объемах выборок данных желательно стремиться к максимальной независимости определений и исключению возможного влияния человеческого фактора. Настоящую работу выполняли студенты бакалавриата Института химии Санкт-Петербургского государственного университета (учебные группы 17.Б04-х и 17.Б05-х), в качестве лабораторной работы к курсу лекций «Хроматографические методы разделения и очистки органических соединений». Необходимо заметить, что до завершения работы студенты не располагали информацией об особенностях последующей математической обработки результатов. Данные, полученные с использованием второй стандартной добавки, рассматривали как способ контроля результатов, полученных после первой добавки. Подобный прием привлечения студентов для характеристики

новых вариантов количественных определений в ходе выполнения ими лабораторных работ ранее был использован для проверки возможностей модифицированного способа внешнего стандарта [5]. Такой подход обеспечивает отсутствие заметных различий в квалификации участников таких параллельных определений.

**Обработка результатов.** Статистическую обработку первичных результатов определений проводили с использованием ПО Excel. Для обработки данных в двух вариантах способа двойной стандартной добавки использовали ПО Origin (версия 4.1).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

**Погрешности результатов определений способами обычной и двойной стандартных добавок.** Средние значения площадей пиков циклогексанона в исходных образцах и после первой и второй стандартных добавок, а также вычисленные на основании этих данных количества циклогексанона в образцах 1 – 8 способами обычной стандартной добавки и двойной стандартной добавки приведены в двух однотипных табл. 1 и табл. 2 (по четыре образца в каждой). Образцы ранжированы по увеличению количеств определяемого аналита от 28.4 мг до 37.9 мг. В последнем образце № 8 количество циклогексанона доведено до 104.2 мг.

Поскольку целью настоящей работы являлось сравнение точности определений суммарного количества аналита в образцах с использованием различных вариантов однократной и двойной стандартных добавок, характеристики случайной составляющей погрешностей результатов исключены из рассмотрения. Относительные стандартные отклонения результатов при необходимости могут быть рассчитаны из данных табл. 1 и табл. 2 по соотношению (2). Кроме того, если потребуется, случайную составляющую погрешности определений можно уменьшить за счет введения в образцы дополнительных стандартов [4].

Сравнивая результаты определений всеми вариантами способа стандартной добавки, следует отметить, что их точность оказалась сопоставимой; относительные стандартные отклонения варьируют в пределах 2-7 % отн., что считается вполне допустимым. Эти значения получены студентами, имеющими весьма ограниченный опыт не только хроматографического анализа, но и даже дозирования проб. Единственным исключением закономерно оказался образец № 7, хранившийся перед анализом в течение приблизительно одного года, в котором результаты определения количества циклогексанона двумя вариантами способа стандартной добавки различаются более чем на 10 %. Подобные расхождения первичных результатов указывают на необходимость исключения таких результатов из дальнейшего рассмотрения. Причина подобных расхождений, возможно, обусловлена взаимодействием определяемого компонента (циклогексанона)

Таблица 1

Средние значения площадей пиков и результаты определения содержания циклогексанона в образцах 1 – 4 способами однократной и двойной стандартных добавок

Table 1

Average values of peak areas and results of cyclohexanone quantification in the samples 1 – 4 by single and double standard addition methods

Номер образца	1	2	3	4
Заданное количество аналита в образце, мг	28.4	28.4	28.4	37.9
Средняя площадь пиков до добавки, $S_0 \times 10^{-4}$	$6.7 \pm 0.1$	$23.5 \pm 0.2$	$6.5 \pm 0.1$	$5.5 \pm 0.3$
Масса первой добавки, $m_1$ , мг	47.4	37.9	37.9	47.4
Средняя площадь пиков после первой добавки, $S_1 \times 10^{-4}$	$18.0 \pm 0.4$	$8.4 \pm 0.4$	$15.1 \pm 0.1$	$12.0 \pm 0.6$
Масса второй добавки, $m_2$ , мг	47.4	37.9	37.9	47.4
Суммарная масса двух добавок, мг	94.8	75.8	75.8	98.4
Средняя площадь пиков после второй добавки, $S_2 \times 10^{-4}$	$28.8 \pm 0.2$	$12.9 \pm 0.6$	$25.2 \pm 0.1$	$20.3 \pm 0.8$
Масса аналита по результатам первой добавки, $M_x(1)$ , мг	27.8	27.6	28.8	34.8
Относительная погрешность $dM_x(1)$ , %	-3.7	-2.8	+1.4	-8.2
Масса аналита по результатам второй добавки, $M_x(2)$ , мг	28.6	28.5	26.6	35.5
Относительная погрешность $dM_x(2)$ , %	+0.7	+0.4	-6.3	-5.8
Результат экстраполяции II, мг	$28.9 \pm 1.3$	$28.9 \pm 1.4$	$25.5 \pm 3.1$	$33.1 \pm 6.5$
Относительная погрешность способа II, $dM_x(II)$ , %	+1.8	+2.4	-10.2	-12.7
Результат экстраполяции III, мг	27.0	26.8	31.0	34.1
Относительная погрешность способа III, $dM_x(III)$ , %	-4.9	-5.6	+9.2	-10.0

с растворителем – изопропиловым спиртом при длительном хранении образца.

Усредненные характеристики точности всех рассматриваемых вариантов сопоставлены в табл. 3. Для всех образцов представляет интерес сравнение двух видов таких характеристик: средних абсолютных относительных погрешностей (формула

3) и средних относительных погрешностей с учетом их знаков (формула 4).

$$\langle |\delta M_x| \rangle \approx \sum |\delta M_x| / N \quad (3) \quad \text{и} \quad \langle \delta M_x \rangle \approx \sum (\delta M_x) / N. \quad (4)$$

Небезынтересно заметить, что средняя точность варианта двойной стандартной добавки оказалась, хоть и незначительно, все-таки меньшей,

Таблица 2

Средние значения площадей пиков и результаты определения содержания циклогексанона в образцах 5 – 8 способами однократной и двойной стандартных добавок

Table 2

Average values of peak areas and results of cyclohexanone quantification in the samples 5 – 8 by single and double standard addition methods

Номер образца	5	6	7	8
Заданное количество аналита в образце, мг	37.9	37.9	37.9	104.2
Средняя площадь пиков до добавки, $S_0 \times 10^{-4}$	$17.5 \pm 0.5$	$18.7 \pm 0.4$	$7.9 \pm 0.2$	12.6
Масса первой добавки, $m_1$ , мг	47.4	47.4	47.4	94.8
Средняя площадь пиков после первой добавки, $S_1 \times 10^{-4}$	$40.1 \pm 0.7$	$43 \pm 1$	$20.2 \pm 0.2$	24.0
Масса второй добавки, $m_2$ , мг	94.8	47.4	47.4	142.2
Суммарная масса двух добавок, мг	142.2	94.8	94.8	237.0
Средняя площадь пиков после второй добавки, $S_2 \times 10^{-4}$	$91.6 \pm 6.0$	$68 \pm 3$	$29.9 \pm 0.7$	41.6
Масса аналита по результатам первой добавки, $M_x(1)$ , мг	36.7	36.5	<b>30.8*</b>	104.6
Относительная погрешность $dM_x(1)$ , %	-3.2	-3.7	-18.7	+0.4
Масса аналита по результатам второй добавки, $M_x(2)$ , мг	33.6	36.0	<b>34.2*</b>	102.8
Относительная погрешность $dM_x(2)$ , %	-11.3	-5.0	-9.8	-1.3
Результат экстраполяции II, мг	$31.6 \pm 3.5$	$35.7 \pm 0.8$	$35.6 \pm 5.9$	$101.9 \pm 2.1$
Относительная погрешность способа II, $dM_x(II)$ , %	-16.6	-5.8	-6.1	-2.2
Результат экстраполяции III, мг	38.2	37.0	27.4	105.8
Относительная погрешность способа III, $dM_x(III)$ , %	+0.8	-2.4	-27.7	+1.5

**Примечание:** \* – жирным шрифтом выделены результаты для образца № 7, не совпадающие в пределах 10%. Характеристики точности для этого образца не рассматривали при сравнении с другими.

Таблица 3

Средние значения точности определений методами обычной и двойной стандартных добавок

Table 3

Average accuracy of determinations by single and double standard addition methods

Параметр точности определений	Численное значение, %
Средняя относительная погрешность $dM_x(1)$ , %	3.3
то же с учетом знаков	-2.8
Средняя относительная погрешность $dM_x(2)$ , %	4.4
то же с учетом знаков	-4.1
Средняя относительная погрешность способа II, $dM_x(II)$ , %	7.4
то же с учетом знаков	-6.1
Средняя относительная погрешность способа III, $dM_x(III)$ , %	4.9
то же с учетом знаков	-1.6

чем точность однократной стандартной добавки [4.4 % против 3.3 %, соответственно, по соотношению (3) и -2.8 % против -4.1 % по соотношению (4)], что представляет собой достаточно важный для практической работы факт. Однако все подобные систематические отклонения не превышают оценок случайной составляющей погрешности определений по соотношению (2). Главной причиной преобладания погрешностей одних и тех же знаков следует считать испарение растворителя (изопропиловый спирт с  $T_{\text{кип}} 82.3^\circ\text{C}$ ) в результате неоднократного открывания (для дозирования проб в хроматограф) флаконов с образцами относительно небольшого объема (2 мл). Действительно, в знаменатель расчетной формулы способа стандартной добавки (1) входит разность величин ( $\langle S_{x+\text{доб}} \rangle$  и  $\langle S_x \rangle$ ). Однако **эти величины по объективным причинам определяют не одновременно**: сначала получают набор значений  $\{S_x\}$  и только после этого (т.е. для более концентрированных растворов) набор значений  $\{S_{x+\text{доб}}\}$ . Это приводит к завышению их разности и, следовательно, к систематическому занижению результатов количественных определений способом стандартной добавки. Для устранения (точнее – минимизации) подобных ошибок следует рекомендовать использование менее летучих растворителей и хранение образцов в герметически закрытых флаконах при пониженных температурах.

Второй причиной, приводящей к искажению результатов количественных определений, но уже с противоположными знаками, следует считать разбавление проб. Дело в том, что введение стандартной добавки в анализируемые образцы хоть и незначительно, но увеличивает их объем. Следовательно, измеряемые для таких разбавленных образцов площади пиков  $\{S_{x+\text{доб}}\}$  оказываются несколько завышенными, а результаты анализа,

соответственно, заниженными. Для компенсации подобных эффектов в некоторых модификациях расчетных формул способа стандартной добавки предусмотрены коэффициенты, компенсирующие подобные разбавления, а именно  $(v_x / v_{x+\text{доб}} < 1)$  перед  $\langle S_{x+\text{доб}} \rangle$  в формуле (1) [14]. С учетом этого результирующее соотношение приобретает следующий вид:

$$M_x = M_{\text{доб}} S_x / [(v_x / v_{x+\text{доб}}) S_{x+\text{доб}} - S_x]. \quad (5)$$

Несмотря на то, что значения сомножителя  $(v_x / v_{x+\text{доб}})$  при  $v_x \sim 2$  мл и  $v_{\text{доб}} \sim 50$  мкл составляют приблизительно 0.98, его влияние на результаты весьма заметно. Учет фактора разбавления проб приводит к увеличению результатов, получаемых способом однократной стандартной добавки, на  $\sim 1\%$ , а двойной – на  $\sim 2\%$ , что несколько компенсирует обсуждаемое выше их систематическое занижение за счет испарения растворителя. Так, например, результаты анализа образца 1 (табл. 1) по формуле (5) в случае однократной стандартной добавки оказываются равными 28.8 мг (вместо 27.8 мг), а двойной – 30.5 вместо 28.6. В целом же, ошибки количественных определений определяются совместным действием обоих указанных факторов.

**Погрешности различных вариантов экстраполяции результатов количественных определений способом двойной стандартной добавки.** После сравнения результатов, получаемых способами обычной и двойной стандартной добавки, целесообразно рассмотреть два варианта (II и III) их экстраполяции. Первый вариант – обработка данных в координатах «площадь пика определяемого компонента» ( $S$ ) – «масса добавки» ( $m_{\text{доб}}$ ) методом наименьших квадратов. Как следует из сопоставления средних характеристик точности разных вариантов (табл. 3), точность получаемых этим способом экстраполированных значений  $m_x$  несколько уступает результатам непосредственных определений (7.4 % без учета и -6.1 % с учетом знаков отклонений). Причиной этого состоит в том, что вычисление значений, экстраполированных на величину  $m_{\text{доб}} = 0$ , приводит не к компенсации возможных погрешностей определений, а, наоборот, к некоторому увеличению разброса данных. Таким образом, этот широко используемый прием не имеет отчетливо выраженных преимуществ по сравнению с простейшими (без дополнительной обработки данных) вариантами однократной и двойной стандартных добавок.

Если же говорить о последнем из обсуждаемых вариантов обработки данных, предполагающем экстраполяцию получаемых результатов на «нулевую» величину стандартной добавки ( $m_{\text{доб}} = 0$ ), то, можно полагать, что в нем возможные искажения результатов, обусловленные как испарением растворителя, так и разбавлением образцов, в той или иной степени могут компенсироваться. Рассмотрение данных табл. 3 показывает, что средние абсолютные значения относительных погрешностей (формула 2) в этом случае находятся на уровне двойной

стандартной добавки (4.9 %). Однако средние значения относительных погрешностей с учетом их знаков (формула 3) оказываются минимальными (-1.9 %) по сравнению с другими вариантами обработки данных, получаемых способами обычной и двойной стандартной добавки. Дополнительно к преимуществам этого варианта следует отнести его применимость к образцам, матрицы которых обладают сорбционными свойствами [14-17].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, показано, что проведение серий хроматографических измерений студентами еще на начальных этапах изучения ими хроматографических методов, характеризуется рядом важных преимуществ. Главное из них – сопоставимость таких измерений по точности, поскольку они осуществляются параллельно и не искажены различной квалификацией химиков-аналитиков. Такая организация экспериментов позволяет исключить возможные вариации точности в сериях последовательных определений, обусловленные накоплением опыта работы экспериментаторов в процессе анализа однотипных образцов.

Подтверждено наличие двух основных причин снижения точности определений способом стандартной добавки, как в однократном, так и в двойном его вариантах. Главной из них является систематическое занижение результатов за счет испарения растворителя в процессе последовательного дозирования проб одних и тех же образцов в хроматограф. Второй фактор, приводящий к некоторому завышению результатов определений – увеличение объема образцов за счет добавок определяемых компонентов.

Показано, что различные варианты способа стандартной добавки характеризуются сопоставимой точностью, но лучшие результаты (с учетом знаков погрешностей) обеспечивает вычисление содержания определяемого анализа для каждой из добавок с последующей их экстраполяцией на «нулевую» величину добавки. Следовательно, в этом варианте возможна компенсация влияния различных источников погрешностей.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Студенческая лабораторная работа, результаты которой составили предмет настоящего сообщения, выполнена с использованием оборудования Ресурсного Центра «Методы анализа состава вещества» Санкт-Петербургского государственного университета. Авторы благодарят сотрудников Центра за содействие.

## ACKNOWLEDGEMENTS

The students' work, results of which are discussed in the current paper, was carried out using the equipment

of the "Methods of analysis of substance's composition" Resource Centre at the St. Petersburg State University. The authors are grateful to the staff of this Center for assistance.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Новак Й. Количественный анализ методом газовой хроматографии. Пер с англ. М.: Мир, 1978. 180 с.
2. Гийшон Ж., Гийемен К. Количественная газовая хроматография. Пер. с англ. М.: Мир, 1991. Т. 2. 376 с.
3. Аналитическая химия. Методы разделения и гибридные методы анализа / Под ред. Л.Н. Москвина // СПб: Изд-во «Лань». 2019. Т. 2. 332 с.
4. Зенкевич И.Г., Прокофьев Д.В. Уменьшение погрешностей хроматографического анализа методами внешнего стандарта и стандартной добавки за счет использования дополнительных стандартов // Аналитика и контроль. 2015. Т. 19. № 4. С. 302-309.
5. Зенкевич И.Г., Девлешова Н.А., Криволапова Ю.В., Москвичев Д.О., Рубичева Л.Г., Тюфтяков Н.Ю. Сравнительная характеристика возможностей количественного газохроматографического анализа обычным и модифицированным методами внешнего стандарта // Аналитика и контроль. 2019. Т. 23. № 2. С. 223-228.
6. Вигдергауз М.С., Краузе И.М. Развитие методов количественной интерпретации хроматограмм сложных смесей // Журн. аналит. химии. 1986. Т. 41. № 11. С. 2064-2074.
7. Zenkevich I.G., Makarov E.D. Chromatographic quantitation at losses of analyte during sample preparation. Application of the modified method of double internal standard // J. Chromatogr. A. 2007. V. 1150. P. 117-123.
8. Зенкевич И.Г., Королев К.М. Новые возможности количественного хроматографического анализа методом двойного внутреннего стандарта // Аналитика и контроль. 2014. Т. 18. № 4. С. 469-476.
9. Standard addition: myth and reality. AMC Technical Briefs No. 37. Ed. M. Thompson. 2009. № 3. P. 1-2.
10. Vial J., Jardy A. Quantitation by standard addition. Encyclopedia of Chromatography / [Ed. J. Cazes] // New York: Taylor & Francis, 2010. V. 3. P. 1975-1976.
11. Steliopoulos P. Extension of the standard addition method by blank addition // MethodsX. 2015. V. 2. P. 353-359.
12. Andersen E.T. The standard addition method revisited // Trends Analyt. Chem. 2017. V. 89. P. 21-33.
13. Burns D.T., Walker M. Origins of the method of standard addition and of the use of an internal standard in quantitative instrumental chemical analyses // Anal. Bioanal. Chem. 2019. V. 411. P. 2749-2753.
14. Зенкевич И.Г., Климова И.О. Применение метода стандартной добавки для количественного хроматографического анализа // Журн. аналит. химии. 2006. Т. 61. № 10. С. 1048-1054.
15. Зенкевич И.Г., Морозова Т.Е. Особенности метода стандартной добавки для количественного определения аналитов в сложных смесях, обладающих сорбционными свойствами // Аналитика и контроль. 2010. Т. 14. № 3. С. 164-171.
16. Зенкевич И.Г., Морозова Т.Е. Области применения и особенности количественного хроматографического анализа методом последовательных стандартных добавок // Журн. аналит. химии. 2014. Т. 69. № 4. С. 369-377.
17. Зенкевич И.Г., Рагозина Т.Н. Количественный газохроматографический анализ компонентов гетерофазных систем методом двойной стандартной добавки // Журн. прикладн. химии. 1998. Т. 71. № 5. С. 763-767.



## REFERENCES

1. Novak J. *Quantitative analysis by gas chromatography*. New York: Marcel Dekker Inc., 1975, 130 p.
2. Guiochon G., Guillemin C. *Quantitative gas chromatography*. Amsterdam: Elsevier, 1988, vols. 1, 2.
3. Moskvina L.N. (Ed.) *Analiticheskaya khimiya. Metody razdeleniya i gibridnye metody analiza [Analytical chemistry. Separation and hyphenated methods of analysis]*. St. Petersburg: "Lan" Publ. 2019, vol. 2. 332 p. (In Russian).
4. Zenkevich I.G., Prokofiev D.V. [Decreasing the chromatographic quantitation uncertainty using the external standard and standard addition methods with additional standards]. *Analitika i Kontrol'* [Analytics and Control], 2015, vol. 19, no. 4, pp. 302-309. (In Russian). doi: 10.15826/analitika.2015.19.4.007.
5. Zenkevich I.G., Devleshova N.A., Krivolapova Yu.V., Moskvichev D.O., Rubicheva L.G., Tyufiyakov N.Yu. [Comparative characterization of quantitative has chromatographic analysis capabilities using basic and modified external standard methods]. *Analitika i Kontrol'* [Analytics and Control], 2019, vol. 23, no. 2, pp. 223-228. (In Russian). doi: 10.15826/analitika.2019.23.2.007.
6. Vigdergaus M.S., Krauze I.M. [Development of the methods for quantitative interpretation of chromatograms of complex mixtures]. *Zhurnal analiticheskoi khimii*. [J. of Analyt. Chem.], 1986, vol. 41, no. 11, pp. 2064-2074 (In Russian).
7. Zenkevich I.G., Makarov E.D. Chromatographic quantitation at losses of analyte during sample preparation. Application of the modified method of double internal standard. *J. Chromatogr. A*, 2007, vol. 1150, pp. 117-123. doi: 10.1016/j.chroma.2006.08.083.
8. Zenkevich I.G., Korolev K.M. [New possibilities for quantitative chromatographic analysis by method of double internal standard]. *Analitika i Kontrol'* [Analytics and Control], 2014, vol.18, no. 4, pp. 469-476 (In Russian). doi: 10.15826/analitika.2014.18.4.014
9. Standard addition: myth and reality. *AMC Technical Briefs*, No. 37, [Ed. M. Thompson], 2009, no. 3, pp. 1-2.
10. Vial J., Jardy A. Quantitation by standard addition. *Encyclopedia of Chromatography*, [Ed. J. Cazes], New York: Taylor & Francis, 2010, vol. 3, pp. 1975-1976.
11. Steliopoulos P. Extension of the standard addition method by blank addition. *MethodsX*, 2015, vol. 2, pp. 353-359. doi: 10.1016/j.mex.2015.09.001.
12. Andersen E.T. The standard addition method revisited. *Trends in Analyt. Chem.*, 2017, vol. 89, pp. 21-33. doi: 10.1016/j.mtrac.2016.12.013.
13. Burns D.T., Walker M. Origins of the method of standard addition and of the use of an internal standard in quantitative instrumental chemical analyses. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2019, vol. 411, pp. 2749-2753. doi: 10.1007/s00216-019-01754-w.
14. Zenkevich I.G., Klimova I.O. Use of standard addition method in quantitative chromatographic analysis. *J. of Analyt. Chem.*, 2006, vol. 61, no. 10, pp. 967-972. doi: 10.1134/S1061934806100042.
15. Zenkevich I.G., Morozova T.E. [Features of the method of standard addition for quantitation of analytes in complex mixtures with sorption properties]. *Analitika i Kontrol'* [Analytics and Control], 2010, vol.14, no. 3, pp. 164-171. (In Russian).
16. Zenkevich I.G., Morozova T.E. [Areas of application and characteristics of quantitative chromatographic analysis by the consecutive standard addition method]. *J. of Analyt. Chem.*, 2014, vol. 69, no. 4, pp. 327-335. doi: 10.1134/S1061934814040157.
17. Zenkevich I.G., Ragozina T.N. [Quantitative gas chromatographic analysis of constituents of heterophaseous systems by method of double standard addition]. *Zhurnal prikladnoi khimii* [Rus. J. Applied. Chem.], 1998, vol. 71, no. 5, pp. 763-767 (In Russian).