

目标因子法同时测定扑热息痛中三组分

李淑军¹, 余煜棉¹, 刘春英¹, 周蓓蕾¹, 方岩雄²

(广东工业大学 1. 分析测试中心; 2. 轻工化工学院, 广东 广州, 510090)

摘要: 详细介绍了目标因子紫外分光光度法同时测定多组分体系的基本原理和分析步骤, 并将其应用于对乙酰氨基酚、对硝基酚、对氨基酚三组分含量的分析. 研究表明: 在无水乙醇介质中, 在 206~320 nm 处每隔 2 nm 扫描测定样品吸光度, 利用目标因子法处理数据得标准加入回收率为 97.2%~105.7%.

关键词: 目标因子分析法; 分光光度法; 对乙酰氨基酚; 对硝基酚; 对氨基酚; 同时测定

中图分类号: O657.32

文献标识码: A

文章编号: 1007-7162(2001)02-0074-05

在多组分样品的分光光度分析法测定中, 吸收曲线常会发生不同程度重叠. 以往多是将组分经化学分离后再逐个进行测定, 这样不仅耗费试剂和时间, 而且增大工作强度. 近年来因计算数学的发展及计算机应用的普及使得各种计算分光光度法得以迅速发展. 常见计算分光光度法有 CPA 矩阵法、岭回归法、卡尔曼(Kalman)滤波法、人工神经网络法(ANN)^[1~4]等, 这些各具特点的方法都能不经分离快速有效地同时测定多组分体系. 而因子分析是多元统计分析的一个分支, 是一种处理可表达成乘积函数和的数据集合的通用数学方法. 已在质谱、核磁共振、高效液相色谱等方面有所应用^[5~7], 在紫外分光光度法多组分同时测定中应用报导不多. 本文研究应用此法进行多组分同时测定.

在合成扑热息痛的生产过程中, 需检测对乙酰氨基酚(APAP)、对硝基酚(PNP)和对氨基酚(PAP)三种成分, 而这三组分的紫外吸收相互重叠(如图1). 传统的分析方法是采用逐步萃取、沉淀分离法进行测定, 繁琐又耗费试剂. 本文首次采用目标因子分析光度法对上述三种组分不经分离同时测定, 取得满意结果, 标准加入回收率为 97.2%~105.7%. 结果表明, 目标因子分析法简便、快捷, 省却一般化学分离等繁杂步骤, 大大提高工作效率, 在分析化学领域将有光明应用前景.

1 基本原理

目标因子紫外分光光度分析主要包括主成分分析和目标检验两部分, 应用于混合物组分含量计算时, 首先进行主成分分析, 根据一些误差指标判断出混合物体系中包含的因子数(即组分数, 如混合物中的组分数已知则可忽略这一步), 然后将混合物的吸光度数据矩阵分解成两个矩阵的乘积, 得到两个新矩阵, 求出一个变换矩阵, 将上述两个新矩阵经变换成为朗伯-比耳吸收定律 $A = KC$ 中 K 与 C 对应的两矩阵, 这样可求得混合物中各组分的含量.

收稿日期: 2000-08-30

作者简介: 李淑军(1971-), 女, 98 级在读研究生; 主要研究方向: 环境监测.

主成分分析(PCA)的主要目的是综合原始数据的特征性质而形成有代表性的新特征(主成分),然后基于新特征将原始数据矩阵分解为两个矩阵,两者的乘积等于原始矩阵.在本法中求出原始数据矩阵即吸光度矩阵的协方差矩阵,计算出协方差矩阵的特征值和特征向量,从特征值和对应的特征向量可构造出新的特征,每个新特征是原有各特征的线性组合,因此新特征完全包含原始矩阵的信息量.当前 i 个新特征所代表信息量足够大时($\geq 70\% \sim 80\%$),即累计方差贡献率($i < g, g$ 为样品的特征数) $(\lambda_1 + \lambda_2 + \dots + \lambda_i) / (\lambda_1 + \lambda_2 + \dots + \lambda_g) > 70\% \sim 80\%$,就可以只取前 i 个新特征而舍弃其余新特征,从而可降低矩阵维数,简化计算.首先由前 i 个新特征可得一个新矩阵,又由实验可得其中一个原始矩阵,因此可计算出另一个新矩阵,两个新矩阵相乘可得原始矩阵.但两个新矩阵只有数学上的意义,是纯数学解,没有实际意义,不能代替朗伯-比耳定律 $[A] = [K][C]$ 中的 $[K]$ 矩阵与 $[C]$ 矩阵,因此第二步需求出一个变换矩阵,使两个新矩阵经变换成为具有实际意义的矩阵,对应 $[C]$ 的矩阵就是混合物中各组分含量的数据矩阵.现令混合标准样品数为 n ,混合物中组分数为 t ,分别在 m 个波长点测量 n 个样品的吸光度,得到一个吸光度数据矩阵 $A_{m \times n}$.整个方法的数学过程如下:

a. 计算协方差矩阵 D

$$D_{n \times n} = A^T A = A_{n \times m} A_{m \times n}.$$

b. 求算特征值和特征向量

选用雅可比法(Jacobi)^[7]计算出 D 矩阵的特征值和特征向量,得到一组特征值 $\lambda_1, \lambda_2, \dots, \lambda_n$ 和特征向量矩阵 $U_{n \times n}$.

c. 构造新矩阵

组分数为 t ,所以前 t 个原特征值和特征向量所构造的新特征所代表的信息量必然满足大于总信息量的 $70\% \sim 80\%$,因此取前 t 个特征值所对应的特征向量构成新矩阵 C ,称为 C_{PCA} 矩阵,且

$$C_{PCA, t \times n} = U_{t \times n}.$$

d. 求算分子特性矩阵 R_{PCA}

设 $A = R_{PCA} C_{PCA}$, 则 $R_{PCA} = A C_{PCA}^T [C_{PCA} C_{PCA}^T]^{-1}$, 令

$$C_{PCA}^T [C_{PCA} C_{PCA}^T]^{-1} = B_{n \times t}, \text{ 则}$$

$$R_{PCA, m \times t} = A_{m \times n} B_{n \times t}.$$

e. 求变换矩阵 Q

令 Q 为方阵, 则 $QQ^{-1} = E$, 代入 $Q = R_{PCA} C_{PCA}$ 中, 得

$$A = R_{PCA} Q Q^{-1} C_{PCA} = RC,$$

其中 $R = R_{PCA} Q$, $C = Q^{-1} C_{PCA}$.

如果所选择变换矩阵 Q 是一合适变换矩阵, 则可使 R 、 C 具有实际意义, 即分别对应于朗伯-比耳定律中的 K 与 C . 设一已知的矩阵 R 相当于具有实际意义的 K 矩阵, 那么欲求的 R 矩阵就等同于矩阵 R , 所以

$$R = R = R_{PCA} Q, Q = (P_{PCA}^T R_{PCA}^{-1}) R_{PCA}^T,$$

$$R_{PCA}^T R_{PCA} = (AB)^T (AB) = B^T A^T AB = B^T DB, \text{ 令 } B^T DB = [N],$$

所以 $R_{PCA}^T R_{PCA} = [N], Q = [N]^{-1} R_{PCA}^T$.

R 矩阵就是目标检验矩阵, 可以由理论或实际经验得到. 本方法中, 因为 R 对应于 $A = KC$

中的吸光系数 K ,所以取三种组分在 m 个波长点的吸收系数为目标检验矩阵 $\mathbf{R}$,可由对混合物的标准溶液的吸光度与标准溶液中各组分浓度进行多元线性拟合或其他数学方法计算出.

f. 计算 $\mathbf{C}$ 矩阵

由上可知 $\mathbf{C}_{t \times n} = \mathbf{Q}_{t \times t}^{-1} \mathbf{C}_{\text{PCA}, t \times n}$, $\mathbf{C}_{t \times n}$ 就是各组分含量的数据矩阵. 对于 h 个待测样品, 根据 $\mathbf{C}_{t \times h} = \mathbf{Q}_{t \times t}^{-1} \times \mathbf{C}_{\text{PCA}, t \times h}$, 而 $\mathbf{Q}_{t \times t}^{-1}$ 可由标准样品测试数据代入上述公式求出, 显而易见只要从待测样品含量数据矩阵求出 $\mathbf{C}_{\text{PCA}, t \times h}$ 就可以求出 $\mathbf{C}_{t \times h}$.

3 实验部分

3.1 仪器和试剂

紫外—可见分光光度计: Lambda 17 型, 586 微机

对乙酰氨基酚、对氨基酚、对硝基酚标准贮备液 1000mg/L (A. R.)

溶剂: 无水乙醇

3.2 实验方法

按均匀设计要求分别配制不同浓度的对硝基酚, 对乙酰氨基酚和对氨基酚的标准液, 置于 10mL 比色管中, 用无水乙醇稀至所需刻度, 摇匀, 然后在紫外分光光度计上, 以无水乙醇作参比, 在 206~ 320nm 每隔 2nm 测一次吸光度值, 将所测吸光度矩阵和多组分浓度矩阵输进编写好的目标因子计算程序, 便可求出样品中各组分浓度.

4 结果与讨论

4.1 吸收曲线

分别取一定含量的对乙酰氨基酚, 对硝基酚和对氨基酚溶液, 以无水乙醇作空白, 在 190~ 350nm 范围内进行扫描, 得各组分的吸收曲线如图 1. 由图 1 可知, 三组分的吸收光谱相互重叠, 不经分离采用常规分析方法难于同时测定三组分的含量.

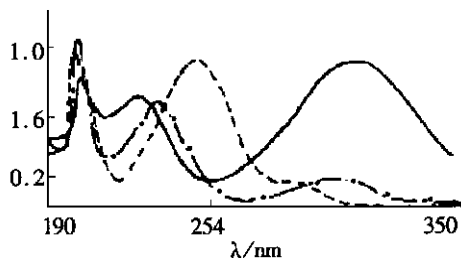


图 1 吸收曲线

--- 10 μ g/mL 对乙酰氨基酚;
 ... 8 μ g/mL 对氨基酚;
 — 12 μ g/mL 对硝基酚.

4.2 吸光度加和性试验

配制质量浓度分别为对乙酰氨基酚 16mg/L, 对氨基酚 8mg/L, 对硝基酚 8mg/L 的单组分溶液及相应浓度三组分的混合液, 然后在紫外分光光度计上, 以溶剂为参比溶液, 从 206~ 320nm 每隔 2nm 测其吸光度值. 结果经计算得: 在所有测量点中, 三组分吸光度之和与混合液在该处的吸光度和的相对误差都 $\leq 5\%$, 说明在上述波长范围内此三组分体系的吸光度具有良好的加和性.

4.3 计算波长段的选择

选择恰当的测定波长位置, 对改善检测结果很重要. 如选择不当方程可能为病态方程时, 测定误差会较大. 由于波长小于 200nm 时测定稳定性差, 而大于 320nm 对氨基酚和对乙酰氨基酚的吸光度值太小, 因此确定 206~ 320nm 为计算波长范围.

4.4 溶剂的选择与样品稳定性试验

根据样品多组分本身的溶解性, 三者都溶于无水乙醇, 故选无水乙醇作为溶剂. 另外, 稳定性试验结果显示, 采用避光保存, 对硝基酚和对氨基酚可稳定 3h 以上, 对乙酰氨基酚则可稳定

7h 以上.

4.5 混合标样的配制

配制的混合标准溶液应具有代表性和覆盖性. 为使各组分浓度配制得均匀、分散, 选用均匀设计表安排试验. 先后配制六、七、九组混合标准溶液进行试验, 结果表明按 $U_7(7^6)$ 进行试验结果最好. 具体过程是按照均匀设计表, 按实验方法配制七组混合标准样品, 然后以溶剂用参比, 在紫外分光光度计上, 在 206~ 320nm 每隔 2nm 测定一次吸光度值, 将所得数据输入 586 微机计算.

4.6 主成分分析时的原始特征选取

进行主成分分析时, 首先计算原始矩阵的协方差矩阵. 如果原始数据矩阵即吸光度矩阵的排列方式不同, 所得到的协方差矩阵也不同, 分别为

$$A_{m \times n}^T A_{m \times n} = D_{n \times n},$$
$$A_{n \times m}^T A_{n \times m} = D_{m \times m},$$

n 为样品数, m 为波长点数. 就理论上而言, 上述两种协方差矩阵的实际意义是相同的, 能互相兼容, 取得一致的结果. 但在本实验中, 应选取对应于 $A_{m \times n}$ 的计算所得的矩阵 $D_{n \times n}$ 作为协方差矩阵, 因若选取由 $A_{n \times m}$ 计算所得的 $D_{m \times m}$ 矩阵, 则计算出的特征值及值及其对应的特征向量分别为 $[\lambda]_m$ 和 $U_{m \times m}$ 且 $C_{PCA, t \times m} = U_{t \times m}$ (t 为组分数), 则

$$R_{PCA} = A_{n \times m} B_{m \times t} = R_{PCA, n \times t}, \quad Q = [\lambda]^{-1} R_{PCA}^T R = [\lambda]^{-1}_{t \times t} [R_{PCA}]_{n \times t}^T R,$$

R 为吸收系数矩阵, 是三组分在 m 个波长点的吸收系数, 所以 R 矩阵应为 $R_{t \times m}$ 或 $R_{m \times t}$, 矩阵 $[\lambda]_{t \times t}^{-1}$ 与 $[R_{PCA}]_{n \times t}^T$ 相乘得到一个 t 行 n 列的矩阵, 然而 R 不论是取 $R_{m \times t}$ 还是 $R_{t \times m}$ 都无法左乘一个 t 行 n 列的矩阵, 如果选择矩阵 $D_{n \times n}$ 则不存在这一问题, 故本实验中采用 $D_{n \times n}$ 矩阵作为协方差矩阵, 其含义是以混合标准样本数 n 作为主成分分析时的原始特征.

4.7 标准样品浓度计算

将各混合标准溶液的浓度数据和吸光度数据输入计算机, 用目标因子分析法程序计算, 得出结果见表 1. 从表中可见除个别标样对氨基酚的误差稍大些外, 其余相对误差都小于 4%.

表 1 标准样品测定结果

序 号	对乙酰氨基酚			对氨基酚			对硝基酚		
	原浓度 $/(mg \cdot L^{-1})$	测得值 $/(mg \cdot L^{-1})$	相对误差 $/\%$	原浓度 $/(mg \cdot L^{-1})$	测得值 $/(mg \cdot L^{-1})$	相对误差 $/\%$	原浓度 $/(mg \cdot L^{-1})$	测得值 $/(mg \cdot L^{-1})$	相对误差 $/\%$
1	1.00	0.96	4.00	5.00	5.51	3.00	2.00	2.02	1.00
2	3.00	3.00	0	6.00	6.02	0.33	8.00	7.92	1.00
3	4.00	3.93	1.75	2.00	2.09	4.50	12.00	12.01	0.08
4	6.00	5.92	1.33	7.00	7.14	2.00	1.00	0.99	1.00
5	7.00	6.88	1.71	3.00	3.26	8.67	4.00	3.90	2.50
6	8.00	8.11	1.38	8.00	7.69	3.88	6.00	6.06	1.00
7	9.00	9.08	0.89	4.00	3.92	2.00	10.00	10.05	0.50

4.8 标准加入回收试验

取合成生产中一定体积的样液, 加入两中不同的混合标准液, 进行回收试验. 按实验方法

测定. 结果见表 2.

表 2 标准加入回收

序 号	对乙酰氨基酚			对氨基酚			对硝基酚		
	加入量 /μg	回收值 /μg	回收率 / %	加入量 /μg	回收值 /μg	回收率 / %	加入量 /μg	回收值 /μg	回收率 / %
1	60. 0	58. 3	97. 2	30. 0	31. 7	105. 7	30. 0	30. 5	101. 7
2	100. 0	100. 8	100. 8	50. 0	49. 6	99. 2	50. 0	50. 4	100. 8
平均回收率(%)			99. 0				101. 2		

5 结语

目标因子紫外分光光度分析法是一种较理想的计算光度法, 也是一种可靠的数学计量方法, 从本实验可看出方法准确度高, 回收率好, 预报能力强. 可以实际应用对吸收曲线相互重叠的多组分在不经分离时进行同时测定.

参考文献:

[1] 刘春英, 周蓓蕾, 方岩雄, 等. CPA 矩阵分光光度法同时测定三种酚[J]. 光谱实验室, 1998, 15(6) : 44-46.

[2] 杨劲涛, 余煜棉. 岭回归分光光度法测定多组分样品的研究[J]. 华南理工大学学报, 1997, 25(2) : 92-96.

[3] 余煜棉, 陈伟湘, 秦明维, 等. 卡尔曼滤波紫外分光光度法同时测定息喘灵片三组分的含量[J]. 广东工学院学报, 1993, 10(4) : 84.

[4] 余煜棉, 李智, 李荣, 等. 人工神经网络紫外分光光度法测定息喘灵片多组分体系的研究[J]. 分析测试学报, 1996, 15(3) : 7.

[5] R E Majors. Techniques for liquid chromatographic columns packed with small porous particles[J]. Anal. Chem. , 1973, 45: 755-762.

[6] E R Malinowski. Obtaining the key set of typical vectors by factor analysis and subsequent isolation of component spectra [J]. Anal. Chem. Acta, 1982, 134, 129-137.

[7] H B Woodruff, P C Tway, L T Cline Love. Factor analysis of mass spectra from partially resolved chromatographic peaks using simulated data[J]. Anal. Chem. , 1981, 53: 84-84.

[8] 俞斌. 计算机化学[M]. 北京: 化学工业出版社, 1995. 157-182.

[9] 王碧泉, 陈祖荫. 模式识别理论、方法和应用[M]. 北京: 地震出版社, 1989. 7-69.

(下转第 84 页)

参考文献:

- [1] 余琳, 李运朋. 槲皮素—锑(III)—Tween-80 荧光光度法的研究及其应用[J]. 分析试验室, 1998, 17(5): 48-50.
- [2] 余琳, 尚红霞, 邱治平. 槲皮素—铝(VI)—十六烷基三甲基溴化铵荧光光度法测定中药中槲皮素[J]. 分析化学, 2000, 28(2): 253.
- [3] 余琳, 陈梅. 槲皮素—锡(IV) 荧光光度法的研究及其应用[J]. 分析试验室, 2000, 19(4): 53-55.
- [4] 陈国珍. 荧光分析法[M]. 北京: 科学出版社, 1975, 151.

Study on Fluorimetric System of Quercetin— Al(III) — Tween-80 and Its Application

YU Lin, HUANG Chun-xia

(Faculty of Light Industry and Chemical Engineering, Guangzhou 510090, China)

Abstract: The Optimum, Conditions are studied for the formation of the Quercetin— Al(III) — Tween-80 fluorescence system, and a fluorimetric method is proposed for the determination of Quercetin, In Tween-80 medium, complex composition is Quercetin: Al(III) = 1: 1 under HAc— NaAc buffer solution (pH= 5.0), The maximum excitation wavelength is 415nm, and the maximum emission wavelength is 486nm, The Calibration graph is linear in the concentration range of $4.0 \times 10^{-6} \sim 1.4 \times 10^{-4}$ mol/L with a good correlation coefficient ($r = 0.9997$). The detection limit is 2.0×10^{-6} mol/L. This simple method has been applied to the analysis of quercetin in plants with satisfactory results.

Key words: quercetin; aluminium(III); tween-80; fluorimetry

(上接第 75 页)

Simultaneous Determination of Tricomponent in Acetaminophen by Target Factor Analysis

LI Shu-jun¹, YU Yu-mian¹, LIU Chun-ying¹, ZHOU Bei-lei¹, FANG Yan-xiong²

(1. Analytical Testing Center;

2. Faculty of Chemical Engineering and Light Industry, GDUT Guangzhou 510090, China)

Abstract: In this paper the basic principle and analytical steps of target factor analysis and UV spectrophotometry are described in detail, and the method is used to analyze three components— Acetaminophen, P-Nitrophenol and P-Aminophenol. The experimental results show that the recovery of each component ranges from 97.2% to 105.7% with the medium of absolute ethanol when the absorption of the samples is scanned at intervals of 2nm between 206nm and 320nm.

Key words: target factor analysis; spectrophotometry; acetaminophen; p-Nitrophenol p-Aminophenol; simultaneous determination