

УДК 543.427.4

## Возможности рентгенофлуоресцентного анализа молочных продуктов с помощью спектрометра с полным внешним отражением

Г. В. ПАШКОВА<sup>1</sup>, А. Н. СМАГУНОВА<sup>2</sup>, А. Л. ФИНКЕЛЬШТЕЙН<sup>3</sup><sup>1</sup>Институт земной коры Сибирского отделения РАН,  
ул. Лермонтова, 128, Иркутск 664033 (Россия)

E-mail: pashkova.gv@yandex.ru

<sup>2</sup>Иркутский государственный университет,  
ул. Карла-Маркса, 1, Иркутск 664003 (Россия)

E-mail: smag@chem.isu.ru

<sup>3</sup>Институт геохимии им. А. П. Виноградова Сибирского отделения РАН,  
ул. Фаворского, 1а, Иркутск 664033 (Россия)

E-mail: finkel@igc.irk.ru

(Поступила 06.08.10)

### Аннотация

Теоретически и экспериментально изучено влияние поверхностной плотности излучателя на результаты рентгенофлуоресцентного анализа молочных продуктов на спектрометре с геометрией полного внешнего отражения (РФА ПВО). С помощью математического планирования эксперимента получены модели зависимости погрешности подготовки проб молока от степени разбавления его водой и объема аликвоты, наносимой на подложку. Дана физическая интерпретация этих моделей. Получены модели зависимости предела обнаружения элементов в молоке от указанных выше факторов. Разработана методика неdestructивного определения P, S, Cl, K, Ca, Fe, Ni, Cu, Zn, Br, Rb, Sr, Pb в молоке и молочных продуктах с помощью метода РФА ПВО. Проведены метрологические исследования разработанной методики.

**Ключевые слова:** рентгенофлуоресцентный анализ с полным внешним отражением, молоко, молочные продукты

### ВВЕДЕНИЕ

Пищевая ценность молока и молочных продуктов во многом определяется содержанием и соотношением в них минеральных веществ [1]. Такая информация важна для изучения рациона питания человека [2], особенностей вида млекопитающего [3], периода лактации [4], породы [5] и состояния здоровья животного [6], а также при биогеохимических исследованиях миграции элементов по трофической цепочке почва – растения – животные – молоко [7]. Анализ статей и рефератов за 1998–2008 гг. (более 100 работ) показал, что для определения элементов в молоке и молочных продуктах наиболее час-

то используются следующие методы: атомная абсорбция (ААА), масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой (МС-ИСП) и атомно-эмиссионная спектрометрия с индуктивно связанной плазмой (АЭС-ИСП) [8]. Эти методы ориентированы на анализ растворов после разложения органической матрицы молока. Для перевода молока в раствор чаще используется “мокрое озоление” в открытой посуде или под давлением (в автоклавах, установках микроволнового разложения), где в качестве окислительных реагентов применяют  $\text{HNO}_3$  [5], смеси  $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$  [4] или  $\text{HNO}_3/\text{HClO}_4$  [3]. Матрица молока довольно трудно поддается минерализации в процессе кислотного разложения ввиду высокого со-

держания органических веществ, в частности молочного жира [9]. Как следствие, этот этап занимает около 60 % от времени, затраченного на анализ, а его вклад в суммарную погрешность результата анализа нередко достигает 30 % [10].

Недеструктивный рентгенофлуоресцентный анализ (РФА) применяется значительно реже [8]. Как правило, РФА молока проводят с использованием энергодисперсионных (ЭД РФА), реже – волнодисперсионных спектрометров (ВД РФА), и только в единичных случаях применяются спектрометры с геометрией полного внешнего отражения (РФА ПВО) [8]. В первых двух случаях жидкие пробы молока обычно высушивают, далее из порошка прессуют излучатели. При этом одним из ограничений ЭД РФА и ВД РФА является необходимость иметь градуировочные образцы, адекватные по химическому составу пробам анализируемого объекта [8].

В последнее десятилетие РФА ПВО нередко стал использоваться для анализа биологических жидкостей [11], но при анализе молока этот метод не получил распространения, несмотря на его кажущуюся перспективность. При РФА ПВО аликвоту жидкой пробы (5–10 мкл) наносят на подложку, которая после высушивания используется в качестве излучателя. Возбуждение образца рентгеновским пучком с использованием геометрии полного внешнего отражения уменьшает матричные эффекты поглощения и интенсивность рассеянного излучения [12]. Содержание элемен-

тов определяют, как правило, по способу внутреннего стандарта, роль которого часто выполняет галлий [11]. Из известных нам работ [13–15], посвященных анализу молока на рентгеновских спектрометрах с ПВО, в двух случаях [13, 14] пробы предварительно подвергали “мокрому озолению”, и только при определении селена анализировали исходное грудное молоко [15]. Детальные исследования особенностей применения РФА ПВО для определения макро- и микроэлементов в молоке в литературе не обнаружены. Цель данной работы – оценка возможностей РФА жидких проб молочных продуктов на спектрометре с геометрией ПВО.

#### АППАРАТУРА

Измерения выполняли на спектрометре настольного типа S2 PICOFOX (Bruker AXS) в Аналитическом центре Института земной коры СО РАН. Основные характеристики спектрометра: потребляемая мощность – до 150 Вт, металлокерамическая рентгеновская трубка с Мо-анодом и воздушным охлаждением, способная работать в следующем режиме: напряжение до 50 кВ, сила тока до 750 мкА, мощность до 37 Вт. Спектрометр оснащен Ni/C-многослойным монохроматором для выделения  $MoK_{\alpha}$ -излучения рентгеновской трубки и полупроводниковым детектором (Silicon Drift Detector) площадью 10 мм<sup>2</sup> с энергетическим разрешением 145 эВ

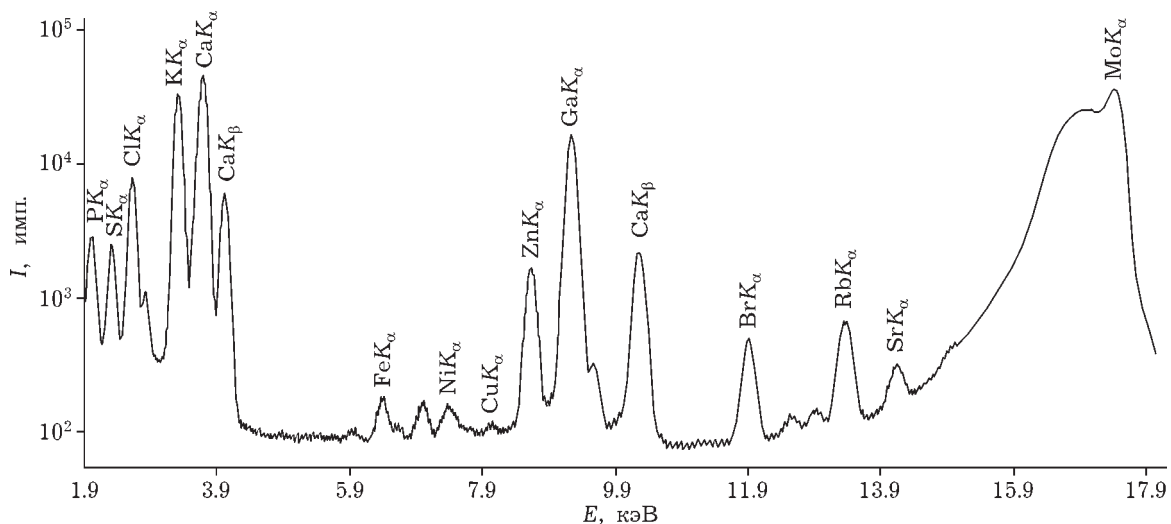


Рис. 1. Рентгеновский спектр образца молока с добавленным внутренним стандартом (Ga).

на  $MnK_{\alpha}$ -линии. Совместно со спектрометром поставляется программное обеспечение Spectra 6, позволяющее проводить обработку спектра и расчет содержания элементов.

На рис. 1 приведен пример рентгеновского спектра молока в диапазоне энергий 1.8–18 кэВ. Время регистрации спектра 1000 с. Спектрометр работает в воздушном режиме, что не обеспечивает возможности измерения  $K_{\alpha}$ -линий элементов с  $Z < 13$ . В спектре хорошо видны пики  $K_{\alpha}$ -линий P, S, Cl, K и Ca, концентрация  $C_i$  которых варьирует в пределах 500–1500 мг/л; из микроэлементов регистрируются  $K_{\alpha}$ -линии Fe, Zn, Br, Rb и Sr ( $C_i \sim 0.5\text{--}5$  мг/л); могут быть измерены также слабые пики  $K_{\alpha}$ -линий Ni, Cu и Pb ( $C_i < 0.5$  мг/л). В области энергий 16–18 кэВ наблюдаются интенсивные пики когерентного и некогерентного рассеяния первичного излучения рентгеновской трубки.

#### ОЦЕНКА СТЕПЕНИ УЧЕТА ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА И ПОВЕРХНОСТНОЙ ПЛОТНОСТИ ИЗЛУЧАТЕЛЯ С ПОМОЩЬЮ СПОСОБА ВНУТРЕННЕГО СТАНДАРТА

При определении концентраций способом внутреннего стандарта спектрометр предварительно градуируют по синтетическим многоэлементным растворам. Концентрацию аналита определяют по формуле

$$C_i = \frac{S_{i,s} I_i}{S_i I_{i,s}} C_{i,s} \quad (1)$$

где  $I$  – интенсивность флуоресценции аналитической линии;  $S$  – относительная чувствительность; индексы  $i$  и  $i,s$  относятся к определяемому элементу и элементу сравнения (внутреннему стандарту) соответственно. Предполагается, что образец удовлетворяет критерию “тонкого слоя”. Внутренний стандарт вводится с целью уменьшить влияние неоднородности распределения исследуемого материала на подложке [12]. В случае анализа органических веществ приготовить “тонкий” образец проблематично [11], так как его толщина для аналитических линий элементов в диапазоне энергий 1–20 кэВ не должна превышать 4 мкм [16]. При нанесении на подложку биологических жидкостей поверхностная плотность излучателя чаще соответствует поверхностной плотности “промежуточного

слоя” [17]. В этом случае результаты РФА ПВО могут зависеть от матричных эффектов, а также от неравномерности распределения сухого остатка пробы по поверхности подложки. Для уменьшения указанных эффектов биологические жидкости разбавляют водой [11, 17]. Однако вследствие различия энергий аналитических линий определяемого элемента и элемента сравнения учет химического состава и поверхностной плотности излучателя способом внутреннего стандарта может быть неполным [18]. Для количественной оценки зависимости указанных эффектов от энергии аналитических линий определяемых элементов при РФА молочных продуктов проведены теоретические исследования.

Интенсивность рентгеновской флуоресценции ( $I_i$ ), возбужденной монохроматическим первичным излучением Мо-трубки ( $I_0$ ), определяется, согласно [17], как

$$I_i = \text{const } I_0 C_i f_i \quad (2)$$

где  $\text{const}$  – постоянная величина, независящая от химического состава;

$$f_i = \frac{\exp[-2\mu(E_0)\varphi^{-1}P_s] - \exp[-\mu_{\Sigma}(E_i)P_s]}{\mu(E_i) - \mu(E_0)/\sin \varphi} + \frac{1 - \exp[-\mu_{\Sigma}(E_i)P_s]}{\mu_{\Sigma}(E_i)} \quad (3)$$

$$\mu_{\Sigma} = (\mu(E_0)/\sin \varphi) + (\mu(E_i)/\sin \psi) \quad (4)$$

где  $P_s$  – поверхностная плотность излучателя;  $\mu(E_0)$  и  $\mu(E_i)$  – массовые коэффициенты ослабления первичного и флуоресцентного излучения в образце соответственно;  $\varphi$  и  $\psi$  – углы падения первичного излучения на образец и отбора флуоресцентного излучения соответственно. Для геометрии используемого нами спектрометра  $\varphi = 0.1^\circ$ ,  $\psi = 90^\circ$ . Выражение (2) является приближением для более общей формулы, приведенной в работе [19], без учета члена, описывающего возбуждение стоячих волн рентгеновского излучения вблизи поверхности подложки. Для биологических образцов с толщиной более 200 нм этим членом можно пренебречь [19].

Поверхностная плотность излучателя, удовлетворяющая критерию “тонкого” слоя (приближение 10%), оценена с помощью выражения [20]

$$P_s^* \leq 0.195 / \mu_{\Sigma} \quad (5)$$

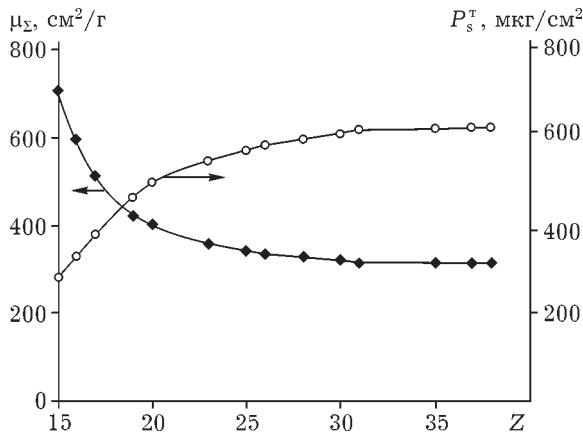


Рис. 2. Зависимости массовых коэффициентов ослабления  $\mu_{\Sigma}$  и поверхностной плотности "тонкого слоя"  $P_S^r$  для  $K_{\alpha}$ -линий элементов от  $Z$ .

Исходя из среднего содержания в молоке белков, жиров и углеводов рассчитан состав органической матрицы, %: Н 8, С 51, N 5, О 36. Рассчитанное значение коэффициента ослабления первичного излучения  $MoK_{\alpha}$ -линии составляет  $\mu(E_0) = 0.54 \text{ см}^2/\text{г}$ , тогда  $\mu(E_0)/\sin \varphi = 310 \text{ см}^2/\text{г}$ . Значения массового коэффициента ослабления флуоресцентного излучения  $\mu(E_i)$  изменялись от 394 ( $PK_{\alpha}$ ) до  $2.5 \text{ см}^2/\text{г}$  ( $SrK_{\alpha}$ ). На рис. 2 приведены зависимости значений  $\mu_{\Sigma}$  и  $P_S^r$ , вычисленных по формуле (5), от атомного номера определяемого элемента  $Z$ .

Видно, что для  $K_{\alpha}$ -линий элементов с  $Z > 20$  величина  $P_S^r$  относительно постоянна и составляет  $500\text{--}600 \text{ мкг}/\text{см}^2$ . Этот факт обусловлен слабой зависимостью величины  $\mu_{\Sigma}$  от  $Z$ , так как

$\mu(E_0)/\sin \varphi \gg \mu(E_i)/\sin \psi$ . Для элементов с  $Z \leq 20$  вкладом  $\mu(E_i)$  в величину  $\mu_{\Sigma}$  пренебречь нельзя, поэтому  $P_S^r$  увеличивается с ростом  $\mu(E_i)$  и изменяется от 280 до  $500 \text{ мкг}/\text{см}^2$ .

Реальная поверхностная плотность излучателя при использовании метода РФА ПВО зависит от массовой доли сухого остатка ( $\omega_{\text{сух}}$ ) в исходной жидкости, степени ее разбавления и объема аликвоты, наносимой на подложку. В составе молока наиболее широко варьирует содержание молочного жира ( $C_{\text{ж}}$ ), а содержание других компонентов относительно постоянно [21]. Массовая доля сухого остатка в молоке изменяется от 8–9 (при  $C_{\text{ж}} \sim 0.1 \%$ ) до 14 % (при  $C_{\text{ж}} = 5\text{--}6 \%$ ). При нанесении на подложку 5 мкл молока с массовой долей сухого вещества 8–14 % значения  $P_S$  находятся в диапазоне  $2000\text{--}3600 \text{ мкг}/\text{см}^2$ , что значительно превышает величину  $P_S$  "тонкого" слоя. В этой связи в формулу (1) расчета искомой концентрации  $C_i$  элемента  $i$  в пробе необходимо ввести множитель  $K_i$  (поправочный коэффициент):

$$K_i = f_{Ga}/f_i \quad (6)$$

где  $f_i$  и  $f_{Ga}$  вычисляется для определяемого элемента и элемента сравнения (Ga) соответственно по выражению (3). Для способа внутреннего стандарта коэффициент  $K_i$  зависит от поверхностной плотности анализируемой пробы, различия энергий излучения сравниваемых линий и массовых коэффициентов ослабления излучений этих линий. При определении содержания в молоке P, S, Cl, K, Ca, Zn и Sr изучали зависимость коэффициента

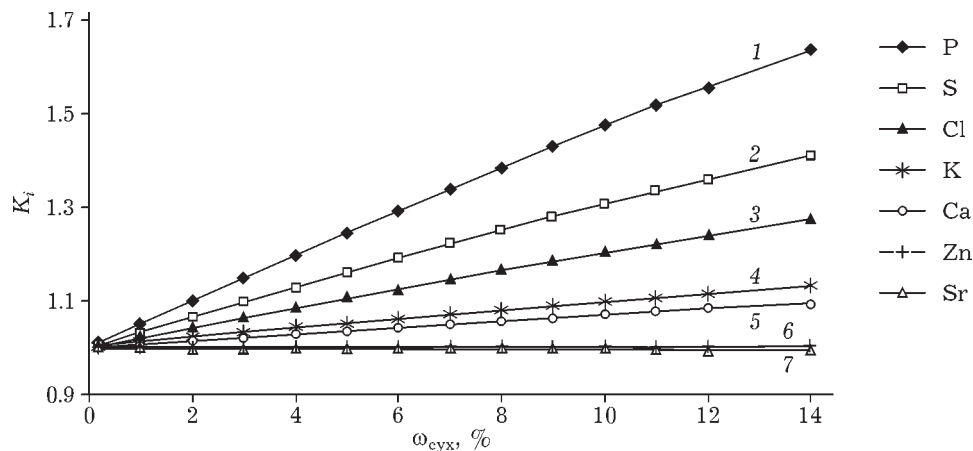


Рис. 3. Зависимость величины поправки  $K_i$  от массовой доли сухого остатка в молоке  $\omega_{\text{сух}}$ .

ТАБЛИЦА 1

Теоретические и экспериментальные модели ( $Y = I_i/I_{Ga}$ )

Элементы	Теоретические модели	Экспериментальные модели	
P	$Y = 1 - 0.372X_1 - 0.050X_2 + 0.028X_1X_2$	$Y = 1 - 0.178X_1 - 0.140X_2 + 0.097X_1X_2$ ,	$\Delta a = 0.077$
S	$Y = 1 - 0.417X_1 - 0.035X_2 + 0.022X_1X_2$	$Y = 1 - 0.263X_1 - 0.113X_2 + 0.075X_1X_2$ ,	$\Delta a = 0.069$
Cl	$Y = 1 - 0.443X_1 - 0.025X_2 + 0.017X_1X_2$	$Y = 1 - 0.346X_1 - 0.088X_2 + 0.093X_1X_2$ ,	$\Delta a = 0.087$
K	$Y = 1 - 0.471X_1 - 0.013X_2 + 0.009X_1X_2$	$Y = 1 - 0.445X_1$ ,	$\Delta a = 0.071$
Ca	$Y = 1 - 0.479X_1 - 0.010X_2 + 0.007X_1X_2$	$Y = 1 - 0.411X_1$ ,	$\Delta a = 0.054$
Zn	$Y = 1 - 0.500X_1 - 0.0002X_2 + 0.0001X_1X_2$	$Y = 1 - 0.465X_1$ ,	$\Delta a = 0.035$
Sr	$Y = 1 - 0.501X_1$	$Y = 1 - 0.457X_1$ ,	$\Delta a = 0.036$

$K_i$  от содержания сухого остатка в молоке (рис. 3). Поверхностную плотность излучателя рассчитывали для следующих условий: объем аликвоты молока 5 мкл, диаметр пятна 5 мм. Видно, что с уменьшением различия в энергиях излучения сравниваемых аналитических линий величина поправки уменьшается. Так, величина  $K_i$  при максимальном содержании сухого остатка ( $\omega_{\text{сух}} = 14\%$ ) для различных элементов имеет следующие значения: P 1.6, S 1.4, Cl 1.3, K 1.13, Ca 1.09, Zn 1.001, Sr 0.996. Таким образом, для элементов с  $Z > 20$  способ внутреннего стандарта позволяет учесть поверхностную плотность излучателя, однако для элементов с  $Z \leq 20$  необходимо вводить поправку для снижения систематических погрешностей в результатах анализа.

Для оценки влияния изменения поверхностной плотности излучателя на величину аналитического сигнала  $I_i/I_{Ga}$  в реальных условиях эксперимента использовали математическое планирование, когда отклик  $Y = I_i/I_{Ga}$ . Факторами служили степень разбавления исходного молока бидистиллированной водой ( $X_1$ ) и объем пробы, наносимой на отражатель ( $X_2$ ). Натуральные значения нижнего уровня фактора составили:  $X_1' = 0$  (без разбавления) и  $X_2' = 5$  мкл; верхнего уровня –  $X_1'' = 3$  (разбавление 1 : 2) и  $X_2'' = 11$  мкл. Зависимость отклика от действия изучаемых факторов аппроксимировали полиномом:

$$Y = a_0 + a_1X_1 + a_2X_2 + a_{12}X_1X_2 \quad (7)$$

Сначала получили модели (7) с использованием теоретических интенсивностей аналитических линий элементов  $i$ , рассчитанных с помощью выражения (2) для образцов, химический состав и поверхностная плотность ко-

торых заданы матрицей планирования рассматриваемого эксперимента. Концентрация Ga в образцах составляла 10 мг/л.

Полученные модели для элементов P, S, Cl, K, Ca, Zn и Sr, нормированные относительно свободного члена, представлены в табл. 1. Видно, что разбавление пробы водой (фактор  $X_1$ ) уменьшает аналитический параметр  $I_i/I_{Ga}$  для всех элементов. Это связано с увеличением интенсивности  $K_{\alpha}$ -линии Ga вследствие роста его концентрации в сухом остатке разбавленного молока на подложке. Увеличение аликвоты молока, наносимого на подложку (фактор  $X_2$ ), приводит к росту толщины излучающего слоя. В этих условиях интенсивность излучения длинноволновых аналитических  $K_{\alpha}$ -линий (P, S, Cl, K и Ca) увеличивается медленнее, чем интенсивность  $GaK_{\alpha}$ -линии, для которой образец в большей степени соответствует “тонкому излучателю”, поэтому коэффициент  $a_2$  имеет отрицательный знак. При разбавлении молока водой излучающий слой будет тоньше, поэтому эффект  $X_2$  будет проявляться слабее, что определяет положительный знак коэффициента парного взаимодействия  $a_{12}$ .

Теоретические выводы о влиянии разбавления молока и объема аликвоты на величину  $I_i/I_{Ga}$  проверили экспериментально с помощью пробы молока, для которой  $C_{ж} = 1.5\%$ . В пробу (неразбавленную и разбавленную в три раза) объемом 500 мкл добавляли 5 мкл стандартного раствора Ga ( $C_{Ga} = 1$  г/л). После их перемешивания отбирали аликвоту (5 или 11 мкл), наносили ее на кварцевую подложку, которую после высушивания на воздухе использовали в качестве излучателя. Для каждого опыта в матрице планирования



независимо готовили по 10 излучателей, а затем от каждого излучателя дважды измеряли интенсивности флуоресценции и фона аналитических линий. Экспериментальные модели (см. табл. 1) в пределах погрешности эксперимента ( $\Delta a$  – доверительный интервал коэффициентов моделей) подтвердили теоретические выводы. Исключение составляют модели, полученные для  $K_{\alpha}$ -линий Р и S, что обусловлено неравномерным распределением пробы по поверхности подложки. Вариации значений  $P_s$  для разных участков излучателя приводят к вариациям значений коэффициентов  $K_i$  (6), а это будет влиять на значение коэффициентов  $a_1$ ,  $a_2$  и  $a_{12}$  экспериментальных моделей. Теоретические модели получены при условии, что для каждого опыта матрицы планирования величина  $P_s$  постоянна.

#### ВЫБОР УСЛОВИЙ ПРИГОТОВЛЕНИЯ ИЗЛУЧАТЕЛЕЙ

Погрешности приготовления излучателей при РФА ПВО обусловлены неравномерностью распределения материала по поверхности излучателя и случайными изменениями массы образца, участвующей в образовании флуоресценции [18]. Для выбора оптимальных условий приготовления излучателей из жидкого молока поставили двухфакторный эксперимент, когда откликом  $Y$  служил коэффи-

циент вариации ( $Y = V_{\text{ПП}}$ ), характеризующий погрешность приготовления излучателей, а факторы и значения их уровней оставались прежними. Исследования выполняли с помощью трех образцов коровьего молока с низким ( $C_{\text{жк}} = 1.5\%$ ), средним ( $C_{\text{жк}} = 4\%$ ) и высоким ( $C_{\text{жк}} = 6\%$ ) содержанием жира. Доверительный интервал коэффициентов моделей ( $\Delta a$ ) оценивали по величине аппаратурной погрешности (коэффициент вариации), которая изменялась в пределах 0.4–2.7% в зависимости от содержания элемента в пробе.

Модели, полученные для молока с содержанием жира 1.5 и 4%, приведены в табл. 2. Видно, что в длинноволновой области спектра ( $K_{\alpha}$ -линии Р, S, Cl, K и Ca) разбавление пробы водой (фактор  $X_1$ ) приводит к уменьшению погрешностей приготовления излучателей. Так, для молока средней жирности ( $C_{\text{жк}} = 4\%$ ) величина  $V_{\text{ПП}}$  для Р снижалась от 28 до 4%, для S – от 16 до 3%, для Cl – от 17 до 4%, для K – от 10 до 3%, для Ca – от 8 до 2%. Это обусловлено более равномерным распределением высушенной разбавленной пробы по поверхности подложки. Как отмечалось выше, способ внутреннего стандарта не обеспечивает полного учета эффекта неравномерности распределения сухого остатка молока по подложке. По мере увеличения энергии аналитической линии  $E_i$  (пере-

ТАБЛИЦА 2

Модели ( $Y = V_{\text{ПП}}$ ) для молока с разной жирностью

Элементы	Содержание молочного жира, %	
	4	1.5
Р	$Y = 16.3 - 12.1X_1 + 2.3X_2 - 2.3X_1X_2$ , $\Delta a = 0.59$	$Y = 6.3 - 3.5X_1$ , $\Delta a = 1.1$
	$Y = 1 - 0.741X_1 + 0.137X_2 - 0.138X_1X_2$ , $\Delta a = 0.036$	$Y = 1 - 0.516X_1$ , $\Delta a = 0.198$
S	$Y = 9.2 - 6.7X_1 + 1.1X_2 - 0.93X_1X_2$ , $\Delta a = 0.77$	$Y = 4.8 - 2.4X_1$ , $\Delta a = 1.1$
	$Y = 1 - 0.727X_1 + 0.124X_2 - 0.101X_1X_2$ , $\Delta a = 0.081$	$Y = 1 - 0.512X_1$ , $\Delta a = 0.245$
Cl	$Y = 10 - 6.5X_1 + 1.7X_2 - 1.2 X_1X_2$ , $\Delta a = 0.48$	$Y = 6.0 - 2.9X_1$ , $\Delta a = 1.7$
	$Y = 1 - 0.606X_1 + 0.156X_2 - 0.112X_1X_2$ , $\Delta a = 0.045$	$Y = 1 - 0.485X_1$ , $\Delta a = 0.183$
K	$Y = 6.7 - 3.4X_1 + 0.77X_2 - 0.44X_1X_2$ , $\Delta a = 0.40$	$Y = 4.6 - 2.2X_1$ , $\Delta a = 1.3$
	$Y = 1 - 0.508X_1 + 0.116X_2 - 0.066X_1X_2$ , $\Delta a = 0.059$	$Y = 1 - 0.479X_1$ , $\Delta a = 0.259$
Ca	$Y = 5.3 - 3.5X_1 + 0.85X_2$ , $\Delta a = 0.34$	$Y = 3.4 - 1.7X_1$ , $\Delta a = 0.69$
	$Y = 1 - 0.656X_1 + 0.162X_2$ , $\Delta a = 0.065$	$Y = 1 - 0.496X_1$ , $\Delta a = 0.193$
Zn	$Y = 3.2$ , $\Delta a = 0.37$	$Y = 2.5$ , $\Delta a = 0.86$
	$Y = 1.0$ , $\Delta a = 0.117$	$Y = 1.0$ , $\Delta a = 0.134$
Sr	$Y = 2.0$ , $\Delta a = 2.3$	$Y = 3.0$ , $\Delta a = 2.7$
	$Y = 1.0$ , $\Delta a = 0.935$	$Y = 1.0$ , $\Delta a = 0.655$

ход от Р к К) значение коэффициента  $a_1$  уменьшается. Некоторое нарушение этой зависимости для  $K_{\alpha}$ -линии Са можно связать с ростом поглощающей характеристики пробы за счет значительного количества атомов К.

Влияние фактора  $X_2$  проявилось для элементов Р, S, Cl, К и Са только в молоке со средним содержанием жира ( $C_{жк} = 4\%$ ). Положительный знак коэффициента  $a_2$  свидетельствует о том, что с ростом объема наносимого раствора увеличивается поверхностная плотность излучателя, а это повышает неравномерность распределения сухого остатка молока по подложке. Этот эффект ( $X_2$ ) снижается при разбавлении молока водой, что определяет отрицательный знак коэффициента  $a_{12}$ . По мере роста величины  $E_i$  абсолютная величина коэффициента  $a_{12}$  уменьшается; уже для кальция этот коэффициент становится незначительным.

В коротковолновой области спектра ( $K_{\alpha}$ -линии Zn, Br и Sr) действие факторов  $X_1$  и  $X_2$  не проявилось, так как излучатель приближается к "тонкому слою". Кроме того, эффект неравномерности распределения пробы по подложке более полно учитывается способом внутреннего стандарта вследствие уменьшения различий длин волн сравниваемых линий.

Из сопоставления ненормированных моделей, полученных для молока с разной жирностью (см. табл. 2), видно, что для элементов Р, S, Cl, К и Са для молока средней жирности ( $C_{жк} = 4\%$ ) значения  $V_{III}$  в 1.5–3 раза выше по сравнению с низкожирным молоком ( $C_{жк} = 1.5\%$ ). Однако при разбавлении молока водой значения  $V_{III}$  становятся сопоставимы (см. табл. 2). На основании данных о высоких погрешностях пробоподготовки, полученных для молока средней жирности, можно сделать вывод о том, что анализировать без разбавления молоко с высоким содержанием жира нецелесообразно. В связи с этим при построении моделей для молока с жирностью 6% изменили значения уровней фактора  $X_1$ : нижний уровень  $X_1' = 2$  (разбавление 1:1), верхний уровень  $X_1'' = 5$  (разбавление 1:4). Значения фактора  $X_2$  остались прежними. Полученные модели приведены в табл. 3. Как видно, коэффициенты моделей, построенных для разбавленного жирного молока

ТАБЛИЦА 3

Модели ( $Y = V_{III}$ ) для молока с жирностью 6%

Элементы	Модель	
Р	$Y = 5.4 - 3.1X_1,$	$\Delta a = 1.1$
	$Y = 1 - 0.564X_1,$	$\Delta a = 0.198$
S	$Y = 3.9 - 2.2X_1,$	$\Delta a = 1.1$
	$Y = 1 - 0.550X_1,$	$\Delta a = 0.245$
Cl	$Y = 1.8 - 0.65X_1,$	$\Delta a = 1.7$
	$Y = 1 - 0.368X_1,$	$\Delta a = 0.183$
К	$Y = 1.4 - 0.49X_1,$	$\Delta a = 1.3$
	$Y = 1 - 0.362X_1,$	$\Delta a = 0.259$
Са	$Y = 2.0 - 1.2X_1,$	$\Delta a = 0.69$
	$Y = 1 - 0.596X_1,$	$\Delta a = 0.193$
Zn	$Y = 1.5,$	$\Delta a = 0.86$
	$Y = 1.0,$	$\Delta a = 0.134$
Sr	$Y = 3.9,$	$\Delta a = 2.7$
	$Y = 1.0,$	$\Delta a = 0.655$

( $C_{жк} = 6\%$ ), сопоставимы с коэффициентами моделей, полученными для низкожирного молока ( $C_{жк} = 1.5\%$ ). Вероятно, это связано с тем, что при выбранных условиях разбавления поверхностная плотность нанесенного на подложку разбавленного в соотношении 1:1 жирного молока близка к поверхностной плотности неразбавленного низкожирного молока. Для молока с жирностью 6% массовая доля сухого остатка  $\omega_{сух}$  после разбавления 1:1 равна 7%, при разбавлении в соотношении 1:4 – 2.8%; для низкожирного молока без разбавления  $\omega_{сух} = 9.6\%$ , при разбавлении в соотношении 1:2 – 3.2%.

Таким образом, погрешность пробоподготовки при РФА ПВО молока зависит не только от содержания молочного жира, но и от поверхностной плотности излучателя, и с увеличением массовой доли сухого вещества в молоке она возрастает. Это хорошо иллюстрируется зависимостью коэффициента вариации  $V_{III}$ , характеризующего погрешность приготовления излучателей, от содержания сухого вещества в молоке для элементов Р, S, Cl, К, Са и Zn (рис. 4). Значения  $V_{III}$  получены для излучателей, приготовленных нанесением 5 мкл неразбавленного и разбавленного молока с разной жирностью.

Проведенные теоретические и экспериментальные исследования показали, что при определении элементов Р, S, Cl, К и Са в мо-

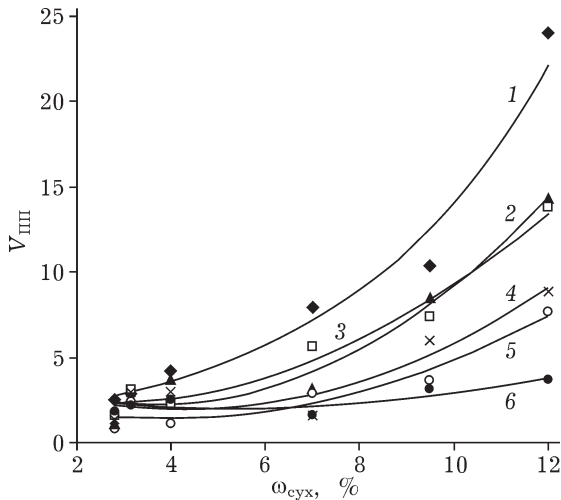


Рис. 4. Зависимости коэффициента вариации, характеризующего погрешность пробоподготовки  $V_{III}$ , от массовой доли сухого вещества в молоке  $\omega_{\text{сух}}$  для Р (1), S (2), Cl (3), К (4), Са (5), Zn (6).

локе для снижения влияния химического состава и неравномерности распределения материала по поверхности подложки исходную пробу следует разбавлять водой. Повышать объем наносимой жидкости от 5 до 11 мкл нецелесообразно, так как это увеличивает неравномерность распределения сухого остатка жирного молока по подложке.

Модели, полученные с помощью математического планирования эксперимента, когда в качестве отклика  $Y$  использовали величину предела обнаружения ( $Y = C_{0.997}$ ), подтверждают этот вывод:

$$Y_P = 1 - 0.653X_1 + 0.501X_2 - 0.502X_1X_2; \quad \Delta a = 0.135 \quad (8a)$$

$$Y_S = 1 - 0.548X_1 + 0.134X_2 - 0.124X_1X_2; \quad \Delta a = 0.094 \quad (8б)$$

$$Y_{Zn} = 1 - 0.475X_1; \quad \Delta a = 0.048 \quad (8в)$$

$$Y_{Sr} = 1 - 0.472X_1; \quad \Delta a = 0.075 \quad (8г)$$

Значения  $C_{0.997}$  рассчитаны для образцов, состав которых задан матрицей планирования эксперимента. Для оценки стандартного отклонения  $\sigma_{\text{хол}}$ , характеризующего разброс результатов измерений сигналов от холостой пробы, использовали значения интенсивности фона, измеренные рядом с аналитической линией. Установлено, что полученные модели слабо зависят от жирности молока. Из построенных моделей (8a)–(8г) следует, что увеличение степени разбавления приводит к снижению предела обнаружения для всех рассматриваемых элементов, в то время как для Р и S уве-

личение аликвоты дает обратный эффект. С ростом  $X_2$  растет разброс измеренных фоновых значений  $\sigma_{\text{хол}}$ , что приводит к увеличению значения  $C_{0.997}$ . Отрицательный знак коэффициента парного взаимодействия  $a_{12}$  связан с тем, что при нанесении большего объема разбавленного молока увеличивается интенсивность  $I_i$ , а это снижает значение  $C_{0.997}$ . Для элементов Zn и Sr, аналитические линии которых лежат в коротковолновой области спектра, указанный эффект оказался несущественным.

Сделанные выводы учтены при разработке методики анализа жидких проб молока и молочных продуктов с разной жирностью на рентгеновском спектрометре S2 PICOFOX с геометрией ПВО. Для приготовления излучателей исходную пробу разбавляли бидистиллированной водой в три раза, затем отбирали аликвоту 500 мкл и добавляли 5 мкл стандартного раствора галлия с концентрацией 1 г/л. После их перемешивания из этой смеси отбирали аликвоту 5 мкл и наносили на кварцевую подложку, которую после высушивания на воздухе использовали в качестве излучателя. Время регистрации спектра составляло 1000 с. Для обработки спектра и расчета искомых содержаний использовали программное обеспечение Spectra 6. Для снижения систематических погрешностей при расчете концентраций Р, S, Cl, К и Са можно вводить поправку  $K_i$  на содержание сухого остатка в пробе, определяя его экспериментально высушиванием навески молока при  $(102 \pm 2)^\circ\text{C}$  до постоянной массы.

#### МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценили метрологические характеристики разработанной методики. Значения  $C_{0.997}$  рассчитали с помощью критерия  $3\sigma$ . Стандартное отклонение  $\sigma_{\text{хол}}$  определяли как разброс между 20 измерениями интенсивностей фона рядом с аналитической линией элемента. На рис. 5 приведена зависимость пределов обнаружения ( $C_{0.997}$ ) элементов в молоке с жирностью 1.5 % от их порядкового номера  $Z$ . Минимальные пределы обнаружения ( $C_{0.997} = 0.008$  мг/л) получены для элементов Ni, Cu и Zn, для Pb  $C_{0.997} = 0.012$  мг/л.

Коэффициенты вариации ( $V_{III}$ ), характеризующие внутрилабораторную прецизионность результатов измерения, составили, %:



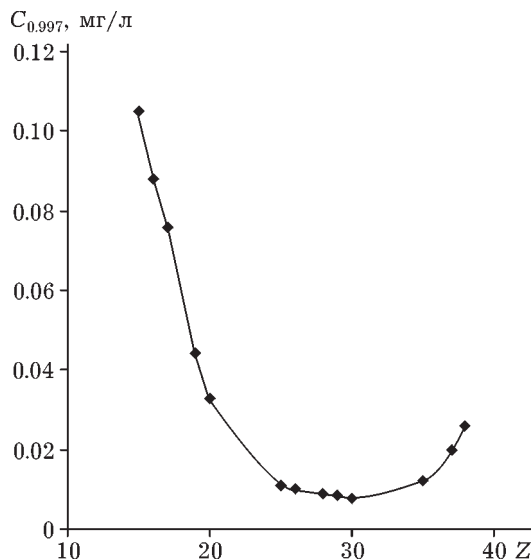


Рис. 5. Зависимость предела обнаружения от атомного номера элемента Z.

P 5, S 3.4, Cl 4.7, K 4.4, Ca 3.1, Fe 17, Ni 19, Cu 18, Zn 3, Br 4, Rb 4, Sr 3, Pb 16. Высокие значения  $V_{ВП}$  для Fe, Ni, Cu и Pb связаны с их низким содержанием в молочных продуктах.

Для контроля правильности результатов анализа молочных продуктов использовали стандартный образец сухого молока IAEA-153 [22]. Для проведения анализа навеску (0.03 г) растворили в 1 мл бидистиллированной воды. Ре-

ТАБЛИЦА 4

Результаты анализа состава стандартного образца сухого молока, мг/кг

Элемент	$C_{ат}$	$C_{РФА ПВО}$
P	10100±1015	9501±320
K	17620±1140	15600±516
Ca	12870±315	12600±193
Fe	25±0.9	3.0±0.5
Cu	(0.57±0.2)	0.75±0.15
Zn	39.6±1.8	41.0±0.6
Br	12.3±1.3	12.2±0.3
Rb	14.0±1.9	14.6±0.28
Sr	(4.09±0.62)	4.1±0.2

Примечание. В скобках приведены информационные величины.

зультаты РФА ПВО ( $C_{РФА ПВО}$ ) и аттестованные содержания ( $C_{ат}$ ) в образце IAEA-153 приведены в табл. 4. Видно, что для большинства элементов значения  $C_{РФА ПВО}$  лежат в пределах доверительного интервала. Исключение составляет калий, содержание которого занижено на 10 % по сравнению с аттестованным значением. Причины этого факта не установлены.

Кроме того, правильность методики подтвердили сравнением результатов неструктурного РФА ПВО с результатами РФА ПВО

ТАБЛИЦА 5

Результаты определения содержания элементов, полученные при РФА ПВО без разложения и с разложением молока, мг/л

Элементы	Коровье молоко		Козье молоко ( $C_{ж} = 2.5\%$ )	Кефир ( $C_{ж} = 0.1\%$ )	Молочная смесь*
	$C_{ж} = 1.5\%$	$C_{ж} = 4\%$			
P	689±27/710±26	615±44/654±8	722±30/727±19	800±25/812±22	2999±205/3100±172
S	200±6/197±6	177±8/168±3	213±9/204±5	272±5/229±10	919±32/878±28
Cl	748±30/-	750±24/-	820±33/-	1080±20/-	2862±413/-
K	1220±60/1190±72	1160±30/1020±25	958±40/995±34	1550±80/1340±150	4820±677/4600±487
Ca	918±30/1193±6	872±29/856±3	808±24/882±10	1130±22/1080±26	4695±245/4430±171
Fe	0.68±0.1/-	1.2±0.4/-	0.45±0.05/-	0.14±0.02/-	90±8/-
Ni	0.04±0.02/0.05±0.02	0.10±0.02/0.12±0.03	0.08±0.01/0.13±0.01	0.08±0.01/0.15±0.01	0.27±0.04/0.52±0.02
Cu	0.10±0.01/0.07±0.02	0.11±0.03/0.09±0.04	0.14±0.02/0.11±0.02	0.13±0.01/0.08±0.01	3.2±0.14/3.4±0.15
Zn	3.6±0.2/3.8±0.2	4.2±0.2/3.9±0.1	3.1±0.1/3.2±0.1	4.4±0.1/4.5±0.1	55±1/53±0.5
Br	2.7±0.03/-	2.4±0.04/-	1.8±0.08/-	5.0±0.04/-	13±1/-
Rb	1.1±0.04/0.95±0.05	1.3±0.04/1.2±0.02	1.6±0.05/1.5±0.03	1.2±0.03/1.1±0.05	4.0±0.5/4.0±0.2
Sr	0.78±0.03/0.82±0.02	0.89±0.05/0.90±0.02	0.75±0.04/0.80±0.03	1.1±0.02/1.1±0.03	3.9±0.29/4.2±0.06
Pb	0.045±0.01/0.049±0.01	0.068±0.007/0.053±0.008	0.070±0.004/0.059±0.008	0.040±0.007/0.028±0.006	0.80±0.07/0.61±0.06

Примечание. Первое значение – содержание в пробах без разложения, второе – после кислотного разложения молочных проб.

\* В пересчете на сухое вещество, мг/кг.

проб молочных продуктов после кислотного разложения (табл. 5). Пробы разлагали смесью  $\text{HNO}_3/\text{HClO}_4$  по методике, описанной в работе [3]. Содержание Cl и Fe в пробах после разложения не удалось определить количественно из-за высоких сигналов этих элементов в холостой пробе, концентрацию Br – из-за потерь этого элемента при разложении молока в открытом сосуде. Результаты оценки правильности методики показали, что значимые систематические погрешности отсутствуют. Относительные стандартные отклонения, характеризующие расхождения между сравниваемыми результатами, для P, S, K, Ca, Zn, Rb и Sr составили менее 10 %, для Ni, Cu и Pb – 20–30 %.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, использование рентгеновского спектрометра с полным внешним отражением позволяет определять макро- и микроэлементы в молочных продуктах без использования химического разложения образцов. Показано, что способ внутреннего стандарта с использованием в качестве элемента сравнения Ga позволяет учесть поверхностную плотность излучателя для элементов с  $Z > 20$ . При определении элементов с  $Z \leq 20$  (P, S, Cl, K, Ca) для снижения влияния поверхностной плотности излучателя и погрешностей пробоподготовки на результаты анализа исходную пробу следует разбавлять водой.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект № 10-07-00051-а).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Химический состав российских продуктов питания: справочник / под ред. И. М. Скурихина, В. А. Тутельяна. Институт питания РАМН М.: ДеЛи принт, 2002. 236 с.
- 2 Waheed S., Zaidi J. H., Ahmad S., Saleem M. // J. Radioanal. Nucl. Chem. 2002. Vol. 254, No. 3. P. 597–605.
- 3 Rodriguez E. M. R., Alaejos M. S., Romero C. D. // Agric. Food Chem. 1999. Vol. 47, No. 4. P. 1520–1524.
- 4 Abdulrazzaq Y. M., Osman N., Nagelkerke N., Kosanovic M., Adem A. // J. Environ. Sci. Health, part A: Tox. Hazard. Subst. Environ. Eng. 2008. Vol. 43. P. 329–334.
- 5 Hermansen J. E., Badsberg J. H., Kristensen T., Gundersen V. // J. Dairy Res. 2005. Vol. 72. P. 362–368.
- 6 Zubeir Ibtisam E. M. el, Owni O. A. O. el, Mohamed G. E. // Res. J. Agric. & Biol. Sci. 2005. Vol. 1, No. 1. P. 45–49.
- 7 Solis C., Isaac-Olive K., Mireles A., Vidal-Hernandez M. // Microchem. J. 2009. Vol. 91. P. 9–12.
- 8 Пашкова Г. В. // Аналитика и контроль. 2010. Т. 14, № 1. С. 4–15.
- 9 Greenberg R. R. // Anal. Chem. 1986. Vol. 58, No. 12. P. 2511–2516.
- 10 Handbook of Dairy Food Analysis / Ed. by L. Nollet, F. Toldra. Boca Raton: CRC Press, 2009. 918 p.
- 11 Szoboszlai N., Polgari Z., Mihucz V. G., Zaray G. // Anal. Chim. Acta. 2009. Vol. 633. P. 1–18.
- 12 Ревенко А. Г. // Аналитика и контроль. 2010. Т. 14, № 2. С. 42–64.
- 13 Costa R. S. S. da, Carmo M. G. T. do, Lopes C., Jesús E. F. de, Simabuco S. M. // J. Food Comp. Anal. 2002. Vol. 15. P. 27–33.
- 14 Costa R. S. S. da, Carmo M. G. T. do, Saunders C., Jesús E. F. O. de, Lopes R. T., Simabuco S. M. // Int. J. Food Sci. Nutr. 2003. Vol. 54. P. 111–117.
- 15 Gross A., Stosnach H. Lab Report XRF 434 S2 PICOFOX. Trace Elements in Biological Matrices and Their Impact in Clinical Chemistry // Bruker AXS Microanalysis GmbH, Berlin. [Электронный ресурс]: URL: [http://www.bruker-axs.de/uploads/tx\\_linkselectorforpdfpool/LR\\_XRF\\_434\\_Biological\\_Matrices\\_low\\_res.pdf](http://www.bruker-axs.de/uploads/tx_linkselectorforpdfpool/LR_XRF_434_Biological_Matrices_low_res.pdf) (дата обращения 22.07.2010).
- 16 Klockenkamper R., Bohlen A. von // Spectrochim. Acta B. 1989. Vol. 44, No. 5. P. 461–469.
- 17 Zarkadas Ch., Karydas A. G., Paradellis T. // Spectrochim. Acta B. 2001. Vol. 56. P. 2219–2228.
- 18 Павлинский Г. В., Смагунова А. Н., Карпукова О. М., Болормаа О., Дорж Д. // Журн. анал. химии. 2002. Т. 57, № 3. С. 231–239.
- 19 Boer D. K. G. de // Spectrochim. Acta B. 1991. Vol. 46, No. 10. P. 1433–1436.
- 20 Лосев Н. Ф. Количественный рентгеноспектральный флуоресцентный анализ. М.: Наука, 1969. 336 с.
- 21 Горбатова К. К. Химия и физика молока: учебник для вузов. СПб.: ГИОРД, 2004. 288 с.
- 22 Strachnov V. I., Schelenz R. F. W., Dekner R., Zeiller E., Burns K. Report on the Intercomparison Run IAEA-153: Trace Elements in Milk Powder IAEA/A1/010. Vienna: IAEA, 1989. 105 p.