

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ РЕНТГЕНОФЛУОРЕСЦЕНТНОГО АНАЛИЗА ВОЛОС С ПОМОЩЬЮ СПЕКТРОМЕТРА С ПОЛНЫМ ВНЕШНИМ ОТРАЖЕНИЕМ ПЕРВИЧНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

О.Болормаа*, О.М.Карпукова**, Ш.Гэрбиш*, Д.Дорж*, А.Н.Смагунова**

*Монгольский государственный университет, Улан-Батор

** Иркутский государственный университет

664082, Иркутск

Разработана методика рентгенофлуоресцентного анализа проб волос ограниченной массы (20-50 мг) на спектрометре с полным внешним отражением первичного излучения. При подготовке к анализу волосы разлагали концентрированной азотной кислотой; содержание элементов (K, Ca, Fe, Cu, Zn, Pb) находили способом внутреннего стандарта, используя Ga в качестве элемента сравнения. Погрешности пробоподготовки оценили, планируя эксперимент по схеме дисперсионного анализа. С помощью математического моделирования эксперимента оценили эффекты взаимного влияния элементов при РФА растворов волос. Провели метрологические исследования методики.

Оюунцэцэгийн Болормаа – аспирантка Иркутского госуниверситета, старший преподаватель кафедры аналитической химии Монгольского госуниверситета.

Область научных интересов: аналитическая химия, рентгеноспектральный анализ, экология.

Автор 12 опубликованных работ.

Карпукова Ольга Михайловна – кандидат химических наук, старший научный сотрудник Института нефте-и углехимического синтеза при Иркутском государственном институте.

Область научных интересов: аналитическая химия, рентгеноспектральный анализ, экология.

Автор более 50 опубликованных работ.

Ш.Гэрбиш – кандидат физико-математических наук, заведующий лабораторией Центра ядерных исследований Монгольского госуниверситета.

Область научных интересов: рентгеноспектральный анализ.

Д.Дорж – кандидат химических наук, профессор, декан химического факультета Монгольского госуниверситета.

Область научных интересов: химия, экология.

Смагунова Антонина Никоновна – заслуженный деятель науки РФ, доктор технических наук, профессор Иркутского госуниверситета.

Область научных интересов: аналитическая химия, рентгеноспектральный анализ, контроль технологических процессов, метрология, экология.

Автор более 200 опубликованных работ.

Традиционный метод рентгенофлуоресцентного анализа (РФА), обладая рядом достоинств (экспрессность, неdestructивность, развитая теория метода, позволяющая предсказать систематические погрешности), имеет плохую чувствительность, что существенно ограничивает область его применения. Указанный недостаток в значительной степени устраняется при анализе вещества на спектрометрах с геометрией, использующей эффект полного внешнего отражения (ПВО) возбуждающего рентгеновского излучения. Этот эффект был открыт Комптоном в 20-х годах и детально описан в монографии М.А. Блохина [1]. О популярности этого варианта метода РФА за рубежом говорит факт посвящения изложению его методических основ специального выпуска журнала *Spectrochimica Acta* (vol. 44B, N5, 1989). В обзорах [2,3], в которых рассмотрены принцип эффекта ПВО, аппаратура, способы подготовки проб к анализу и чувствительность, показана эффективность использования РФА ПВО при решении ряда аналитических задач. Michaelis W. [4] на примере анализа объектов окружающей среды (дождевая вода, атмосферные аэрозоли, почвы, донные отложения, частицы и фильтраты речной и океанической воды, растения) сопоставил эффективность использования РФА ПВО, нейтронно-активационного анализа (НАА) и эмиссионного спектрального с индуктивно связанной плазмой и показал, что РФА ПВО по многим параметрам не уступает другим сравниваемым методам. В частности, при сопоставлении правильности результатов анализа группы проб почв, полученных в 56 лабораториях с

помощью различных методов, пришли к выводу, что лучшими являются результаты НАА и незначительно уступают им данные РФА ПВО. В работах [2-4] отмечается, что РФА ПВО особенно эффективен при определении малых содержаний компонентов в пробах ограниченной массы. Это качество делает РФА ПВО привлекательным при анализе биосубстратов, в частности, при анализе волос детей, склонных к облысению. Поэтому целью настоящих исследований является разработка методики рентгенофлуоресцентного анализа проб волос массой 20–50 мг.

Исследования проводили на энергодисперсионном рентгенофлуоресцентном спектрометре с полным внешним отражением первичного излучения, установленного в Центре ядерных исследований МоНГУ (г.Улан-Батор). Спектрометр собран из блоков, выпускаемых в разных странах: блок полного отражения (Атоминститут, Вена, Австрия); спектрометр рентгеновского излучения (полупроводниковый детектор Si(Li)) модель SI 18080 (CANBERRA, США); генератор рентгеновского излучения, модель ISO-3000 SEIFERT; компьютер типа "NUCLEUS" (США), программное обеспечение (AXIL), которое позволяет рассчитывать содержание компонентов по способу внутреннего стандарта (элемент сравнения Ga). Рентгеновская трубка с Mo-анодом работает в режиме: напряжение $V = 45$ кВ, ток $i = 10$ мА.

При подготовке к анализу для удаления поверхностного загрязнения пробы волос помещали в химический стакан, заливали 1%-ным мыльным раствором и хорошо перемешивали. Через 20–30 мин мыльный раствор сливали, волосы дважды промывали дистиллированной водой, затем ацетоном и снова дистиллированной водой. После высушивания в сушильном шкафу при $100 \pm 5^\circ\text{C}$ волосы подвергали кислотному разложению [5]. Для этого навеску волос массой 20–50 мг (в зависимости от количества волос, поступивших на анализ) помещали в пробирку высотой 4 см и диаметром 1 см, смачивали 1 мл конц. HNO_3 и, закрепив пробирку в специальном держателе, растворяли волосы при нагревании на электрической плитке. Полученный раствор осторожно выпаривали почти досуха, добавляли к остатку 1 мл разбавленной HNO_3 (1:99) и вновь осторожно выпаривали практически досуха. Остаток растворяли в 1 мл разбавленной HNO_3 (1:99). Растворы имеют желтую или оранжевую окраску.

Для приготовления излучателей из анализируемого раствора отбирали аликвоту объемом до 1,5 мл и, поместив в специальную емкость, взвешивали на электронных весах типа AG204 (фир-

ма METTLER TOLEDO, Швейцария). Затем, добавив 5 мкл стандартного раствора Ga с концентрацией 1000 ppm, вновь взвешивали. После перемешивания из этого раствора отбирали аликвоту 5 мкл, наносили на кварцевый отражатель, сушили под инфракрасной лампой и использовали в качестве излучателя. Время регистрации спектра 100 с. Программное обеспечение спектрометра позволяет выдавать на печать значение интенсивности аналитической линии элемента i (I_i) и его содержание в пробе, найденное методом РФА ПВО.

Для оценки погрешностей пробоподготовки планировали эксперимент по двухступенчатой схеме дисперсионного анализа [6]. С этой целью выбрали 4 пробы волос с различным содержанием элементов, из каждой пробы независимо, повторяя все операции разложения проб, приготовили 2 раствора, в каждый раствор ввели внутренний стандарт и приготовили по 2 излучателя, от которых дважды с интервалом 1–2 часа зарегистрировали интенсивности аналитических линий элементов K, Ca, Fe и Zn и определили их содержание. Таким образом, суммарную погрешность S_{Σ} эксперимента разложили на составляющие:

$$S_{\Sigma}^2 = S_{\text{об}}^2 + S_{\text{отв}}^2 + S_{\text{рвс}}^2 \quad (1)$$

где $S_{\text{об}}$ – относительное стандартное отклонение (OCO), характеризующее воспроизводимость результатов анализа, которая зависит от стабильности работы аппаратуры и однозначности установки образца в спектрометр; $S_{\text{отв}}$ – OCO, характеризующее стабильность приготовления излучателей, которая обусловлена точностью нанесения аликвоты раствора на кварцевый отражатель; $S_{\text{рвс}}$ – OCO, характеризующее погрешность растворения проб и введения в раствор внутреннего стандарта.

Результаты дисперсионного анализа, приведенные в табл. 1, показывают, что погрешность растворения проб $S_{\text{рвс}}$ выявилась только для Ca, что может быть связано с загрязнением раство-

Таблица 1
Оценка погрешности подготовки волос к анализу

Элемент	Оценка погрешностей, %			
	$S_{\text{об}}$	$S_{\text{отв}}$	$S_{\text{рвс}}$	S_{Σ}
K	7,7	12,2	н/з	14,4
Ca	2,0	4,1	12,4	13,1
Fe	3,5	26,8	н/з	27,1
Zn	2,4	7,7	н/з	8,1

ров волос Ca из реактивов и посуды. Высокая погрешность $S_{гр}$, полученная для Fe, вероятно, обусловлена присутствием этого элемента в кварцевых отражателях.

Химический состав волос изменяется в широких пределах [7], что может повлиять на результаты анализа. Вместе с тем в литературе вопрос о взаимном влиянии элементов в методе РФА ПВО либо не рассматривается (вероятно, считается, что способ внутреннего стандарта достаточно полно его учитывает [3]), либо указывается только на зависимость интенсивности фона от химического состава излучателя [2]. Последний эффект может внести систематические погрешности в результаты анализа и ухудшить чувствительность методики. Поэтому при разработке методики РФА волос оценивали влияние химического состава на результаты анализа с помощью способа внутреннего стандарта с использованием математического планирования четырехфакторного эксперимента [6]. Откликом (y) служила величина найденного содержания C_i определяемого элемента i , установленная с помощью способа внутреннего стандарта, а факторами (x_j) – содержания компонентов, которые изменяются в волосах в наиболее широких пределах. Натуральные значения уровней факторов выбирали с учетом реальных пределов изменения химического состава волос [7]. Условия проведения эксперимента приведены в табл. 2. Кроме указанных в табл. 2 определяемых элементов K и Fe, получали модели для Zn, Pb и Ca. Для них функцией отклика служило отношение C_i/C_d где C_d – действительное содержание элемента в растворе. Зависимость y_j от химического состава проб задавали в виде многомерного полинома. Для сокращения числа опытов (N) использовали дробную реплику, сделав присвоение $x_4 = x_1 x_2 x_3$ [6].

Таблица 2

Натуральные значения уровней факторов и содержания определяемых элементов в растворах матрицы планирования

Факторы	Уровни факторов, мкг/мл		Определяемый элемент	Содержание определяемого элемента, мкг/мл
	нижний	верхний		
NaCl x_1	8,5	513	Fe	2
Ca x_2	15	300	K	2,45
Zn x_3	8	24		
Pb x_4	0,5	7		

Для приготовления синтетических растворов, состав которых задается матрицей планирова-

ния (назовем их растворами матрицы), вначале готовили 5 исходных (головных) растворов: раствор Ca с концентрацией 1,5 мг/мл готовили растворением $CaCO_3$ (марка чда) в разбавленной HNO_3 (1:9); раствор NaCl с концентрацией 4,1 мг/мл готовили растворением NaCl (марка чда) в дист. H_2O ; раствор Zn с концентрацией 0,4 мг/мл готовили растворением ZnO (марка чда) в разбавленной HNO_3 (1:9); раствор Fe и K с концентрацией соответственно 1 и 1,23 мг/мл готовили растворением Fe_2O_3 (марка осч) и KBr (марка чда) в разбавленной HNO_3 (1:9); раствор Pb с концентрацией 0,05 мг/мл готовили растворением PbO (марка ч) в разбавленной HNO_3 (1:9).

При постановке опытов для получения моделей $y_i = f(x_j)$ аналитические сигналы измеряли в таких условиях (планирование эксперимента по схеме дисперсионного анализа [6]), чтобы иметь возможность суммарную погрешность $S_{гс}$ воспроизводимости опытов разложить на следующие составляющие:

$$S_{гс}^2 = S_{гр}^2 + S_{г,м}^2 + S_{г,р}^2 \quad (2)$$

где $S_{гр}$ – ОСО, характеризующее качество приготовления синтетических растворов матрицы из головных; остальные обозначения известны.

Чтобы выделить указанные составляющие погрешности, каждый раствор матрицы готовили дважды ($l=2$). От каждого из них брали 2 аликвоты ($m=2$), вводили в них внутренний стандарт и после этого из каждой аликвоты готовили один излучатель. От каждого излучателя дважды ($n=2$) измерили величину аналитического параметра при независимой установке образца в спектрометр.

Результаты дисперсионного анализа погрешности, представленные в табл. 3, показывают, что с наименьшей точностью ($S_{гс}$) определяли содержание железа, что связано с большой величиной $S_{гр}$. Причины этого указаны выше. Оценка погрешности $S_{гр}$ приготовления растворов матри-

Таблица 3

Результаты дисперсионного анализа погрешности измерения отклика

Элемент	Оценка погрешностей, %			
	$S_{гр}$	$S_{г,м}$	$S_{г,рмс}$	$S_{г,с}$
Fe	2,6	32	н/з	32
Zn	2	6,9	н/з	7,2
K	8,2	11,9	21	25
Pb	4,4	10,5	н/з	11,4
Ca	3	11,1	н/з	11,5

цы значима только для КК α -линии, что, вероятно, связано с загрязнением этим компонентом синтетических растворов во время их приготовления из-за недостаточной чистоты используемой посуды. Эта гипотеза подтверждается тем, что К вводили в виде соли КВг, но при обработке по схеме дисперсионного анализа результатов определения Вг величина $S_{г,р}$ оказалась незначимой.

При расчете доверительных интервалов Δa коэффициентов модели учитывали число повторений отдельных этапов опыта и данные дисперсионного анализа погрешности:

$$\Delta a_i = t(\alpha, f) \frac{1}{\sqrt{N}} \sqrt{\frac{S_{г,в}^2}{l_{mn}} + \frac{S_{г,ли}^2}{l_m} + \frac{S_{г,р}^2}{l}} \quad (3)$$

где $t(\alpha, f)$ - табличное значение критерия Стьюдента, найденное для $\alpha=0,05$ и $f=16$; $N=8$.

Чтобы упростить сопоставление моделей зависимости аналитического параметра y_i от химического состава растворов, их коэффициенты нормировали относительно свободного члена. Ниже приведены нормированные модели с учетом значимости коэффициентов и доверительные интервалы Δa_i :

$$y_K = 1 + 0,21 Ca, \quad \Delta a = 0,12 \quad (4)$$

$$y_{Ca} = 1 - 0,076 Ca, \quad \Delta a = 0,040 \quad (5)$$

$$y_{Pb} = 1 - 0,107 Pb, \quad \Delta a = 0,055 \quad (6)$$

Для Zn и Fe все коэффициенты оказались незначимыми. Критическое рассмотрение полученных моделей показывает, что при анализе волос, если в качестве внутреннего стандарта используется GaK α -линия, эффекты взаимного влияния элементов достаточно полно учитываются. Отсутствие значимых коэффициентов для Zn обусловлено тем, что Ga является оптимальным внутренним стандартом при его определении ($\Delta a_{Zn} = 0,027$), а для Fe - низкой воспроизводимостью величины y_{Fe} в повторных опытах матрицы планирования ($\Delta a_{Fe} = 0,17$). Влияние Ca на результаты определения К обусловлено избирательным возбуждением излучением К-серии Ca ($\lambda_{K_{II}} = 0,308$ нм и $\lambda_{K_{IV}} = 0,335$ нм) атомов К ($\lambda_K = 0,343$ нм). Отме-

тим, что это самый сильный эффект в нашем эксперименте, он достигает 21% отн.

Влияние Ca на отношение C_{Ca}/C_A обусловлено нелинейностью градуировочной зависимости $I_{Ca}/I_{Ca} = f(C_{Ca})$. Аналогичный эффект имеет место и для PbL α -линии. Содержание Ca и Pb в синтетических растворах матрицы планирования изменяется соответственно в 20 и 14 раз (табл. 2).

Таким образом, при анализе растворов волос на рентгеновском спектрометре с полным внешним отражением поправки на взаимное влияние элементов можно не вводить при невысоких ($S_r \geq 20 - 30\%$) требованиях к точности анализа. Если требования к точности более жесткие ($S_r \leq 10 - 15\%$), то целесообразно вводить поправки на содержание отдельных элементов, например, учитывать влияние Ca на величину аналитического параметра для К. При высоких содержаниях определяемых элементов растворы волос следует разбавлять, чтобы исключить возможность искривления зависимости $I_i/I_{Ca} = f(C_i)$.

Оценили метрологические характеристики разработанной методики. Предел обнаружения $C_{пред}$ рассчитали с помощью 3σ -критерия [6], при этом для определения стандартного отклонения σ , характеризующего разброс фоновых значений, использовали несколько холостых излучателей, полученных путем нанесения разбавленной HNO_3 (1:99) на кварцевые отражатели. Значения $C_{пред}$ равны 2; 8; 2; 10; 7 и 3 нг соответственно для Zn, Ca, Cu, K, Fe и Pb. Воспроизводимость ($OCO S_{г,в}$) методики оценили по текущим результатам анализа проб волос: величины $S_{г,в}$ составили 8; 13; 21 и 20% соответственно для Zn, Ca, K и Fe. Свинец в растворах волос не был обнаружен, поэтому значение $S_{г,в}$ для него не определили.

Правильность проверяли с помощью синтетических растворов, имитирующих состав растворов волос. Найденные содержания с учетом доверительных интервалов приведены в табл. 4. Там же указаны действительные содержания элементов в растворах. Как свидетельствуют данные табл. 4, в подавляющем большинстве случаев дей-

Оценка правильности методики анализа

Таблица 4

Элемент	Содержание элемента в образце, мкг/мл							
	1-й образец		2-й образец		3-й образец		4-й образец	
	действ.	найден.	действ.	найден.	действ.	найден.	действ.	найден.
Ca	15	14,0±1,6	300	235±28	64	64±10	32	33±5
Zn	8	7,5±0,6	24	22±2	3,5	3,8±0,4	10,5	8,4±1,2
Pb	7,0	7,6±0,9	0,5	0,6±0,1	-	-	-	-
Fe	2,0	2,5±0,5	2,0	2,1±0,5	-	-	-	-

ствительное содержание входит в доверительный интервал найденного. Занижение содержания Са в образце 2 связано, вероятно, с искривлением градуировочной зависимости. Причины занижения содержания Zn в образце 4 не установлены

С помощью разработанной методики проанализировали группу проб волос, отобранных у больных и здоровых людей, проживающих в Монголии и России (Иркутская обл.).

ЛИТЕРАТУРА

1. Блохин М.А. Физика рентгеновских лучей. М.: ГИТТЛ, 1957. 481 с.
2. Prange A. Total reflection X - ray spectrometry: method and applications // Spectrochim. Acta. 1989. Vol. 44B, № 5. P.437- 452.
3. Лосев Н.Ф., Краснолуцкий В.П., Лосев В.Н. Рентгеноспектральный флуоресцентный анализ с использованием полного внешнего отражения первичного излучения // Заводская лаборатория. 1993. Т.59, №6. С.20-29.
4. Michaelis W. Multielement of environmental samples by total reflection X-ray fluorescence spectrometry, neutron activation analysis and inductively coupled plasma optical emission spectroscopy // Fresenius Z. Anal. Chem.1986. Vol.324, №7. P.662-671.
5. Li Saijn, Zhang Wanbav, Wang Tongwen, Huang Wen. Определение микроколичеств стронция в волосах человека методом пламенной атомно-абсорбционной спектроскопии // Лихуа цзяньянь. Phys.Test Chem. Anal.1990.Vol.26, №2. P.94-95.
6. Смагунова А.Н., Козлов В.А. Примеры применения математической теории эксперимента в рентгенофлуоресцентном анализе. Иркутск: изд-во Иркутского ун-та, 1990. 232 с.
7. Кист А.А. Феноменология биогеохимии и бионеорганической химии. Ташкент: ФАН, 1987. 236 с.