

УДК 546.422.8

ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ НЕДЕСТРУКТИВНОГО РФА ПРОБ СУХОГО МОЛОКА ОГРАНИЧЕННОЙ МАССЫ

Г.В.Пашкова, Т.Н.Гуничева
Институт геохимии им. А.П. Виноградова СО РАН
664033 Иркутск, ул. Фаворского, 1А.
galinap@igc.irk.ru

Поступила в редакцию 15 марта 2005 г.

Обсуждены результаты неdestructивного рентгенофлуоресцентного определения Na, Mg, Al, Si, P, S, Cl, K, Ca, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Rb, Sr и Zr в порошках сухого молока ограниченной массы при использовании для градуировки стандартных образцов растительных материалов.

Пашкова Галина Валерьевна – студентка химического факультета ИГУ, ст. лаборант-исследователь лаборатории рентгеновских методов анализа Института геохимии им. А.П. Виноградова СО РАН.

Область научных интересов: неdestructивный РФА биологических материалов растительного и животного происхождения.
Автор 3 публикаций.

Гуничева Татьяна Николаевна – доктор химических наук, ведущий научный сотрудник Института геохимии им. А.П. Виноградова СО РАН.

Область научных интересов: неdestructивный РФА компонентов окружающей среды, качество экогеоаналитических данных.

Автор более 170 научных работ.

Среди продуктов питания молоко занимает особое место, как обладающее высокой биологической ценностью, что обусловлено своеобразием биохимического состава и физических свойств. Наличие почти всех основных веществ: воды, белков, жиров, углеводов, минеральных веществ, витаминов, делает молоко незаменимым, прежде всего для детского организма. Средние составы коровьего молока: сырого, сухого обезжиренного и не обезжиренного, представлены в табл. 1. Не удивительно, что компонентный состав молока варьирует в значительных пределах. По данным [1] сумма содержаний неорганических компонентов изменяется в пределах 0,6-0,8 % и напрямую зависит от окружающей среды (состава почвы, воды, атмосферы), времени года, рациона кормления животного, его породы и физиологических особенностей. Поэтому состав молока нередко используется в качестве биомонитора при оценке экологической ситуации и мониторинге окружающей среды.

Относительное содержание химических элементов можно рассчитать на живое (сырое) вещество, на сухое вещество, полученное при высушивании до постоянной массы при температуре 102-105 °С, и на зольный остаток, получаемый после сухого озольнения порошка сухого молока [4].

В последнем случае из-за потерь летучих соединений при температурной обработке порошка сухого молока и отличия соотношений между

минеральными веществами в золе и исходном продукте неопределенность содержания химических элементов резко возрастает.

Таблица 1
Средний состав коровьего молока, сухого обезжиренного и необезжиренного молока, % мас.

Составная часть	Молоко	Сухой остаток	
		необезжиренный	обезжиренный
Вода	87 (85,5-88,3)	-	-
Молочный жир	3,9 (2,8-6)	30	-
Лактоза	4,8 (4,5-5,2)	37	53
Белки	3,3 (2,9-4)	25	36
Минеральные вещества	0,65 (0,6-0,8)	5	7

Примечание: в скобках приведены возможные диапазоны содержаний компонентов в сыром молоке.

Таблица 2
Содержание и формы соединений изучаемых элементов в молоке [1-3]

Элемент	Диапазон содержания в 1 л молока, мг/л	Формы соединений
Ca	1100-1300	Казеинаты (22-25 %); фосфаты, цитраты кальция и магния, в составе оболочек шариков жира.
Mg	90-140	
P	900-1000	Фосфаты металлов (63-66 %); органические соединения (казеин, фосфолипиды, коферменты, нуклеиновые кислоты и т.д.)
S	260-350	Главным образом в составе белков
Na	350-900	Хлориды, фосфаты, цитраты, казеинаты, в составе оболочек шариков жира.
K	1100-1700	
Cl	900-1100	Хлориды металлов
Fe	0,3-0,6	Компонент фермента ксантиноксидазы оболочек шариков жира (28-59 %), казеина, лактоферрина, трансферрина.
Zn	2-6	Компонент казеина, сывороточных белков, оболочек шариков жира, ферментов и гормонов
Cu	0,1-0,6	В составе специфического белка оболочек шариков жира (5-25%), казеина, В-лактоглобулина, лактоферрина
Al	0,5-0,8	В составе казеина и сывороточных белков
Mn	0,02-0,05	В составе ферментов, сывороточных белков

В табл. 2 для ряда элементов приведены взятые из [1-3] диапазоны содержания и данные по формам их соединений в молоке. Видно, что минеральные, комплексные и органоминеральные соединения являются типичными для всех элементов. Связь катионов Ca, Mg, Na, K, Fe, Cu и Zn с отрицательно заряженными группами белков оболочек шариков жира свидетельствует о концентрировании их на поверхности раздела фаз. При таком разнообразии форм соединений ми-

неральных компонентов в молоке методики анализа, в которых исходное состояние проб претерпевает минимальное изменение, становятся особенно ценными. Использование рентгенофлуоресцентного анализа (РФА) в молочной промышленности практически только начинается и имеет большой потенциал [5], поскольку анализ твердых образцов в рамках варианта неструктивного РФА может быть выполнен без какой-либо химической обработки [6, 7]. На данный момент

число публикаций, посвященных решению этой проблемы с привлечением РФА, весьма ограничено. В [6, 7] при определении Na, Mg, P, S, Cl, K, Ca, Fe и Zn в продуктах, основанных на молоке, констатируется, что масса излучателя и давление прессования должны быть постоянными, чтобы стабилизировать часть матричных эффектов. Для всех определяемых элементов непостоянство давления прессования и массы порошка, как обуславливающих изменчивость рентгеновских интенсивностей факторов, приводят к значительной погрешности концентраций вследствие изменения и плотности, и количества порошка, включенного в процесс излучения рентгеновской флуоресценции. Авторы [6, 7] рекомендуют для анализа порошков молока использовать излучатели массой 4 г, для прессования - давление 2 т. Отмечено, что при давлении прессования, превышающем 3 т, наблюдалась миграция жира по поверхности таблеток. Авторами [6, 7] были также изучены влияние на результаты анализа температуры порошка до прессования (20 и 40 °С) и температуры таблетки до анализа (-20, -4, 20, 30 и 40 °С). Констатируется отсутствие значимых различий между результатами, полученными при 20 °С и других температурах. В качестве градуировочных образцов использовали серию коммерческих продуктов, основанных на молоке (30 образцов), проанализированных с помощью методов атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой и потенциометрии (для Cl). В [6] сравниваются аппаратные возможности рентгенофлуоресцентных спектрометров с волновой (ВД) и энергетической (ЕД) дисперсией. Подчеркивается, что содержащиеся в молочных продуктах макроэлементы Na и Mg не могут быть определены с помощью

ЕД анализатора из-за недостаточной чувствительности детектора. Применение ВД спектрометра позволяет значительно снизить пределы определения. В [8] при определении K и Ca порошки молока просушивали до постоянного веса при 85 °С и прессовали излучатель под давлением 3000 кг/см² в течение 10 с. Авторы [8] использовали для градуировки синтетические стандартные образцы (СО) на основе крахмала, смешанного с порошками K₂CO₃ и CaCO₃, а для контроля правильности - СО состава молока А-11 и IAEA-153 (International Atomic Energy Agency). Количество публикаций и решаемые в них задачи наглядно иллюстрируют, что проблема анализа порошков молока является новой для рентгенофлуоресцентного анализа. В настоящем сообщении обсуждаются результаты неdestructивного рентгенофлуоресцентного определения элементов Na, Mg, Al, Si, P, S, Cl, K, Ca, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Rb, Sr и Zr в порошках сухого молока ограниченной массы. Снижение используемой для анализа навески до 2-4 г наиболее актуально при использовании в качестве биомонитора женского грудного молока. Ввиду отсутствия у нас стандартных образцов состава сухого молока для градуировки применялись стандартные образцы биологических материалов растительного происхождения. Хотя молоко и растения являются объектами разной природы, они объединяются общим понятием «биологические материалы». Интенсивности линий измеряли на рентгеновском спектрометре с волновой дисперсией S4PIONEER. Для измерения интенсивностей аналитических линий и фона выбраны следующие условия: ток рентгеновской трубки 40 мА; напряжение 30 и 50 кВ для Na, Mg, Al, Si, P, S, Cl, K, Ca и Cr; Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Rb, Sr и Zr соответственно; время измерения 10-60 с.

Таблица 3

Характеристики компонентов молочного жира [1]

Кислоты		Формула	Температура плавления, °С	Содержание кислоты в жире молока, % мас.
Насыщенные	масляная	C ₃ H ₇ COOH	-7,9	2,5 - 5,0
	капроновая	C ₆ H ₁₁ COOH	-3,4	1,0 - 3,5
	каприловая	C ₇ H ₁₃ COOH	16,7	0,4 - 1,7
	каприновая	C ₉ H ₁₇ COOH	31,6	0,8 - 33,6
	лауриновая	C ₁₁ H ₂₁ COOH	44,2	0,8 - 3,9
	миристиновая	C ₁₃ H ₂₅ COOH	53,9	7,6 - 13,2
	пальмитиновая	C ₁₅ H ₃₁ COOH	62,9	20 - 36
	стеариновая	C ₁₇ H ₃₃ COOH	69,6	5,5 - 13,7
Ненасыщенные	олеиновая	C ₁₇ H ₃₃ COOH	13,4	16,7 - 37,6
	линолевая	C ₁₇ H ₃₁ COOH	-0,5	1,0 - 5,2
	линоленовая	C ₁₇ H ₂₉ COOH	-11,0	0,1 - 2,1

Порошки сухого молока готовились путем медленного просушивания 500 мл молока при $T = 60 \pm 3^\circ\text{C}$ до постоянной массы и дальнейшего тщательного истирания в ступке. Как правило, масса сухого остатка составляла 45–75 г, содержание жира изменялось в пределах 0–50 %. Для приготовления излучателя из порошка сухого молока массой 2 г был апробирован способ горячего прессования [9]. Спрессовать излучатели при температуре 110°C и давлении 15 т не удалось из-за прилипания порошка к поверхности пресс-формы, возникающего вследствие плавления и последующего выдавливания молочного жира. Снижение температуры пресс-формы до 50°C не улучшило ситуацию. Такой отклик порошка молока на изменение температуры в указанном температурном диапазоне (давление оставалось постоянным) можно связать с физическими свойствами жирных кислот, входящих в состав триглицеридов молочного жира, информация о которых приведена в табл. 3 [1]. Видно, что температуры плавления индивидуальных жирных кислот лежат в диапазоне от 11 до 70°C . Однако предельная температура плавления молочного жира не превышает 37°C , так как он состоит из множества триглицеридов, главным образом разнокислотных, которые плавятся при более низкой температуре, по сравнению с однокислотными. Ненасыщенные и низкомолекулярные жирные кислоты придают молочному жиру легкоплавкость. В зависимости от жирнокислотного состава температура плавления молочного жира варьирует в пределах от 28 до 37°C [1]. Этим объясняется, почему излучатели из порошка молока удалось получить прессованием при комнатной температуре ($\sim 23 - 24^\circ\text{C}$). Таким образом, если при горячем прессовании растительных материалов «склеивание» частиц возникает вследствие частичного гидролиза природных полимеров и их производных [9], то в случае порошков сухого молока оно обусловлено частичным плавлением молочного жира.

В табл. 4 приведены величины погрешностей воспроизводимости измерений S_m и пробоподготовки S_{mp} излучателей, спрессованных при комнатной температуре из порошка молока массой 2 г. Оценки получены при обработке результатов измерений, выполненных по схеме однофакторного дисперсионного анализа. Для сравнения в табл. 4 приведены величины среднеквадратических отклонений (СКО), характеризующих погрешность статистики счета. Видно, что для большинства элементов (Na, Mg, P, S, K, Ca, Ni, Rb и Sr) погрешности S_{mp} не выявлены на фоне погреш-

ностей воспроизводимости измерений. Для элементов Al, Cr, Mn, Rb, Sr высокие погрешности воспроизводимости измерений связаны с их низким содержанием, что подтверждают величины СКО. Высокие погрешности пробоподготовки для элементов Fe, Cu, Zn (Al, Si, Mn и Cr) предположительно обусловлены неравномерностью распределения элементов в исходном порошке, что требует тщательного подтверждения.

Таблица 4

Погрешности воспроизводимости измерений и пробоподготовки для излучателей порошка сухого молока, %

Определяемый элемент	СКО	S_m	S_{mp}
Na	0,7	2,5	*
Mg	0,9	1,7	*
Al	6,1	11	41
Si	2,5	4,7	29
P	0,6	1,0	*
S	0,5	1,8	*
Cl	0,3	0,4	1,7
K	0,2	1,5	*
Ca	0,2	1,6	*
Cr	2,0	5,4	6
Mn	3,7	15	21
Fe	0,7	2,0	8,7
Ni	1,2	4,0	*
Cu	0,5	0,9	12
Zn	0,3	0,5	3,9
Rb	0,9	6,7	*
Sr	1,0	7,9	*

* - погрешности S_{mp} для 95 % уровня доверительной вероятности незначимы

Для оценки массы порошка молока, обеспечивающей толстый излучающий слой, предполагали следующие геометрические параметры излучателя: диаметр 4 см, площадь $12,56 \text{ см}^2$ и плотность излучателя молока в зависимости от жирности – $(0,9 - 1,1) \text{ г/см}^3$. Угол падения первичного излучения составлял 63° , угол отбора вторичного излучения – 45° . Значения d_∞ рассчитали для двух предельных составов молока: обезжиренного (I) и с содержанием жира, равным 100 % (II). Матрицу обезжиренного молока (C - 42, O - 52, H - 6 %) моделировали лактозой $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$, содержание которой в сухом обезжиренном остатке не ниже 50 %. Усложнение компонентного состава вмещающей матрицы обезжиренного молока за счет включения в ее состав белков не повлияло на результаты расчета d_∞ . Для

жирного молока матрицу (С - 77, О - 11, Н - 12 %) представили триглицеридами пальмитиновой,

миристиновой, стеариновой и олеиновой кислот.

Таблица 5

Характеристики излучающего слоя для составов обезжиренного молока (I) и с содержанием жира, равным 100 % (II)

Аналитическая линия	d, мкм		Масса толстого излучающего слоя, г	
	I	II	I	II
Na K α	7,3	12	0,010 (0,007)	0,013 (0,010)
Mg K α	12	19	0,016 (0,012)	0,021 (0,015)
Al K α	19	31	0,025 (0,018)	0,034 (0,025)
Si K α	30	49	0,04 (0,03)	0,05 (0,04)
P K α	45	75	0,06 (0,04)	0,08 (0,06)
S K α	66	110	0,09 (0,06)	0,12 (0,09)
Cl K α	95	160	0,13 (0,09)	0,18 (0,13)
K K α	180	310	0,24 (0,17)	0,34 (0,25)
Ca K α	240	410	0,32 (0,23)	0,45 (0,33)
Cr K α	740	1300	0,99 (0,71)	1,44 (1,04)
Mn K α	960	1700	1,28 (0,92)	1,88 (1,36)
Fe K α	1200	2100	1,60 (1,15)	2,33 (1,68)
Ni K α	2000	3400	2,66 (1,92)	3,76 (2,72)
Cu K α	2500	4200	3,33 (2,40)	4,65 (3,36)
Zn K α	3100	5300	4,13 (2,98)	5,87 (4,24)
Rb K α	12000	21000	16,0 (11,5)	23,3 (16,8)
Sr K α	14000	25000	18,6 (13,5)	27,7 (20,0)
Zr K α	20000	34000	26,6 (19,2)	37,6 (27,2)

Примечание: в скобках приведены массы для части образца, ограниченной «рабочей площадью излучателя»

В табл. 5 приведены толщины насыщенных слоев (d_{∞}) и обеспечивающие их массы (в скобках приведены массы для части образца, ограниченной «рабочей площадью излучателя»). Видно, что толщина насыщенного излучающего слоя существенно зависит от жирности молока. Значения d_{∞} , рассчитанные для разных матриц, различаются в 1,6 – 1,8 раз. Различие между d_{∞} для разных аналитических линий существенно больше. Так для Na K α и Zr K α они различаются почти в 3000 раз. В результате, излучатель массой 2 г обеспечивает неопределенно толстый излучающий слой только для аналитических линий элементов Na, Mg, Al, Si, P, S, Cl, K, Ca, Cr, Mn и Fe. Для аналитических линий элементов Cu, Zn, Rb, Sr и Zr он является промежуточным. Для аналитической линии Ni соответствие слоя неопределенно толстому или промежуточному определяется составом молока.

В табл. 6 и 7 представлены результаты рентгенофлуоресцентного анализа порошка сухого молока с содержанием жира, не превышающим 10 % (что соответствует исходному молоку 1,3 % жирности). Полуколичественные определения

(табл. 6) получены с помощью методики измерения без использования стандартов в программе SPECTRA^{plus} (BrukerAXS), позволяющей варьировать состав вмещающей матрицы, и показывают расхождения в результатах РФА порошка сухого молока, возникающие вследствие использования при расчете разных составов вмещающей матрицы.

Таблица 6

Результаты полуколичественного определения элементов в порошке сухого молока, % мас.

Определяемый элемент	Органическая матрица		
	CH ₂	Лактоза (целлюлоза)	Молочный жир
Na	0,047	0,088	0,057
Mg	0,009	0,019	0,011
P	0,052	0,103	0,065
S	0,031	0,058	0,036
K	0,188	0,357	0,223
Ca	0,099	0,198	0,123

Для органических объектов нулевая градуировка выполнена для органической матрицы со-

става CH_7 . Как видно из табл. 6, результаты полуколичественного анализа существенно зависят от выбора компонентного состава биоорганической матрицы порошка молока. Для крайних составов матрицы молока неадекватное представление матрицы может изменить оценку содержания в 1,6-1,8 раза для основных минеральных элементов. Лактоза и целлюлоза ($\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5$), являющиеся основной биоорганической составляющей СО растительных материалов, имеют близкие поглощающие характеристики. Это объясняет близость величин концентраций, полученных при использовании при расчетах этих матриц.

Таблица 7

Результаты количественного рентгенофлуоресцентного анализа ($C_{\text{рФА}}$) порошка сухого молока, мг/кг

Определяемый элемент	$C_{\text{рФА}}$	Диапазон содержаний [6,7]
Na	1070	1160-3640
Mg	550	330-870
Al	50	-
Si	50	-
P	2160	1440-7250
S	1070	1180-2370
Cl	2940	2960-8580
K	6140	4430-12590
Ca	3610	2960-9050
Mn	*	<2
Fe	104	33,0-134,8
Ni	2,6	-
Cu	8,4	<8
Zn	41,5	24,8-72,4
Rb	3,5	-
Sr	2,0	-
Zr	*	-

Данные в табл. 7 получены с помощью программы FQuant на спектрометре S4 PIONEER. При определении элементов Na, Mg, Al, Si, P, S, Cl, K и Ca применяли способ прямого внешнего стандарта, элементов Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Rb, Sr и Zr - способ стандарта-фона. Параметры аналитических графиков находили с помощью излучателей СО листа березы, травосмеси и микрокристаллической целлюлозы, использованной в качестве образца с нулевыми содержаниями элементов. Возможные вариации концентраций элементов в порошках молока не выходят за пределы диапазонов содержаний элементов, представленных данной градуировочной выборкой. Для Cr градуировочный график не удалось построить вслед-

ствие узкого диапазона содержания Cr в СО (5,23-5,87 ppm). Для сравнения, в последнем столбце таблицы приводятся диапазоны содержаний ряда элементов в порошках молочных продуктов, взятые из [6, 7]. Хотя биохимический состав сухого молока отличается от состава вмещающей матрицы использованных для градуировки СО растительных материалов, для всех определяемых элементов оценки концентраций находятся в указанных пределах.

В табл. 8 приведены оцененные по 10σ - критерию границы количественного определения LOQ, рассчитанные нами и взятые из [6]. Авторы [6] рассчитывают LOQ (limits of quantification) по формуле:

$$LOQ = 10 \times \frac{N[\text{analyte}]}{H}$$

где N , H - интенсивности фона и аналитической линии, соответственно; $[\text{analyte}]$ - концентрация определяемого элемента.

Таблица 8

Границы количественного определения элементов LOQ, ppm в порошке сухого молока

Элемент	LOQ	LOQ [6]
Na	19,9	-
Mg	22,2	-
Al	8,1	-
Si	6,6	-
P	9,5	130
S	5,7	44
Cl	20,3	241
K	7,9	122
Ca	8,8	95
Cr	1,2	-
Mn	2,8	-
Fe	2,6	15
Ni	0,8	-
Cu	0,4	-
Zn	1,1	8
Rb	1,6	-
Sr	1,8	-
Zr	0,8	-

Так как детекторы, кристаллы, положения измерения интенсивностей аналитических линий и фона, используемое напряжение на трубке и анод трубки (Rh) совпадают, видимое различие между данными мы объясняем несовпадением формул, использованных для расчета LOQ.

Представленные результаты позволяют зак-

лючить, что неадекватность органической матрицы СО растений составу порошков молока существенно влияет на результаты РФА. При отсутствии СО состава сухого молока градуировки, полученные с помощью СО растительных матери-

алов, могут использоваться только для анализа порошков обезжиренного молока. Распространить эти градуировки на анализ порошков молока любой жирности позволит введение коррекции на содержание жира.

ЛИТЕРАТУРА

1. Горбатова К.К. Биохимия молока и молочных продуктов. М.: Легкая и пищевая промышленность, 1984. 343 с.
2. Goff, D. Dairy Chemistry and Physics // <http://www.foodsci.uoguelph.ca/dairyedu/chem.html>.
3. Hurley W. L. Minerals and vitamins // <http://www.clas-ses.aces.uiuc.edu/AnSci308/mineralvitamin.html>.
4. В. В. Добровольский. Основы биогеохимии. М: Высшая школа, 1998. 413 с.
5. Hughes CG, Fong BY. The rapid determination of iron and calcium in fortified milk powder by XRF // <http://pittcon.omnibooksonline.com/2000/pdffiles/papers/574.pdf>.
6. Perring L. Wavelength-dispersive x-ray fluorescence measurement on organic matrices: application to milk - based products / L.Perring, D.Andrey // X-Ray Spectrom. 2004. V.33. P.128-135.
7. Perring L. ED-XRF as a Tool for Rapid Minerals Control in Milk-Based Products / L. Perring, D.Andrey // J.Agric.Food.Chem.2003. V.51, №15. P.4207-4212.
8. Alvarez M. Determination of potassium and calcium in milk powder by EDXRF spectrometry / M.Alvarez, V.Mazo-Gray // X-Ray Spectrom. 1990. V.19. P.285-287.
9. Пашкова Г.В. Разработка способа горячего пресования для неdestructивного РФА растений / Г.В.Пашкова, Т.Н.Гуничева // Тез. докл. Вестник Иркутского университета. Материалы ежегодной научно - теоретической конференции молодых ученых. - Иркутск: Иркут. ун-т., 2004. С.186.

* * * * *

RESULTS OF EVALUTING NONDESTRUCTIVE X-RAY FLUORESCENCE ANALYSIS OF DRIED MILK SAMPLES OF LIMITED MASS

G.V.Pashkova, T.N.Gunicheva

The results of nondestructive x-ray fluorescence determination of Na, Mg, Al, Si, P, S, Cl, K, Ca, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Rb, Sr, Zr in dried milk powders of limited mass with using plant reference standard sample are discussed in this report.