

ИЗУЧЕНИЕ ИСТОЧНИКОВ ПОГРЕШНОСТЕЙ ПРИ ПОДГОТОВКЕ МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ К НЕДЕСТРУКТИВНОМУ РЕНТГЕНОФЛУОРЕСЦЕНТНОМУ АНАЛИЗУ

Г.В. Пашкова¹, А.Н. Смагунова²

¹Институт земной коры СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 128
²Иркутский государственный университет,
664003, Иркутск, ул. Карла-Маркса, 1
pashkova.gv@yandex.ru

Поступила в редакцию 28.12.2010

С помощью математического планирования эксперимента изучены источники погрешностей при приготовлении излучателей из молочных продуктов к рентгенофлуоресцентному анализу (РФА) на кристалл-дифракционном спектрометре (РФА ВД) и спектрометре с геометрией полного внешнего отражения (РФА ПВО). Для РФА ВД исследованы модели зависимости интенсивности флуоресценции от давления прессования и массы излучателя, а также жирности сухих молочных продуктов; для РФА ПВО - модели зависимости погрешности подготовки жидких проб от степени разбавления их водой и объема аликвоты, наносимой на подложку. Дана физическая интерпретация этих моделей, на основе которой сформулированы рекомендации для приготовления молочных продуктов разной жирности к РФА.

Ключевые слова: рентгенофлуоресцентный анализ (РФА), РФА с полным внешним отражением (РФА ПВО), молоко, молочные продукты, моделирование эксперимента

Пашкова Галина Валерьевна – инженер Аналитического центра Института земной коры СО РАН.

Область научных интересов - рентгенофлуоресцентный анализ природных объектов.

Автор 24 публикаций.

Смагунова Антонина Никоновна - доктор технических наук, Заслуженный деятель науки РФ, профессор Иркутского государственного университета.

Область научных интересов: метрология аналитической химии, рентгенофлуоресцентный анализ.

Автор более 400 публикаций.

Введение

Элементный состав молока изменяется в широких пределах, что обусловлено влиянием эндогенных (вида, породы, периода лактации и состояния здоровья млекопитающего) и экзогенных (состава кормов, почвы и воды, условий содержания) факторов. Этому способствует добавление минеральных веществ при переработке молока в молочные продукты. Результаты количественного анализа указанных продуктов применяются для оценки их пищевой ценности, контроля технологических процессов, а также для решения задач в области ветеринарии, экологии и медицины [1]. Важнейшим этапом анализа является пробоподготовка, так как она во многом определяет величину погреш-

ности полученного результата [2]. Применение неdestructивных методов, в том числе и рентгенофлуоресцентного анализа (РФА), позволяет исключить стадию химического разложения пробы, что снижает вероятность потерь аналитов и загрязнения образца, а также существенно сокращает время анализа [1, 3].

При РФА жидкие пробы молочных продуктов обычно высушивают, а затем из порошка прессуют излучатели. Условия прессования, приведенные в литературе, весьма разнообразны: прилагаемая нагрузка изменяется от 160 [4] до 3000 кг/см² [5], масса навески - от 0,1 [6] до 10 г [4]. В отдельных работах [4, 7-9] отмечается зависимость прессуемости излучателей от состава проб, в частности, от содержания в них молочного жира.

При использовании рентгенофлуоресцентных спектрометров с геометрией полного внешнего отражения (**РФА ПВО**) аликвоту жидкости (исходной или разбавленной) в виде тонкого слоя наносят на подложку, которая после высушивания используется в качестве излучателя [10]. Содержания элементов определяют, как правило, по способу внутреннего стандарта, роль которого часто выполняет Ga. Этот метод не получил распространения при определении элементов в молоке, но довольно часто встречается при анализе биологических жидкостей [11], условия подготовки проб которых варьируют в широких пределах: объем наносимой на подложку аликвоты изменяется от 3 [12] до 22 мкл [13], степень разбавления пробы - от 1:1 до 1:10 [10]. Причины столь широких вариаций условий приготовления излучателей обычно не рассматриваются, поэтому цель работы состояла в изучении источников погрешностей при подготовке молочных продуктов к РФА на спектрометрах с традиционной геометрией и геометрией ПВО. В первом случае (рентгенофлуоресцентный анализ с волновой дисперсией - **РФА ВД**) исследования выполняли на кристалл-дифракционном спектрометре S4 Pioneer (Bruker AXS), который работает в вакуумном режиме и оснащен рентгеновской трубкой (Rh – анод, Ве-окно 75 мкм) мощностью 4 кВт, набором кристаллов-анализаторов (OVO-55, PET и LiF(200)), проточно-пропорциональным и сцинтилляционным счетчиками. Во втором случае (РФА ПВО) - на спектрометре S2 Picofox (Bruker AXS), который оснащен металлокерамической рентгеновской трубкой (Mo-анод, воздушное охлаждение) мощностью 37 Вт, многослойным Ni/C-монохроматором для выделения MoK α -излучения рентгеновской трубки и полупроводниковым детектором (Silicon Drift Detector). В качестве методологии исследований выбрали математическое планирование эксперимента [14, 15].

Приготовление прессованных излучателей из сухих молочных продуктов к РФА ВД

Планировали полный трехфакторный эксперимент, когда откликом (Y) служила интенсивность (I_i) рентгеновской флуоресценции K α -линии аналита ($Y = I_i$); а факторами - давление прессования (X_1), масса излучателя (X_2) и жирность молока (X_3). Области определения факторов X_1 и X_2 , при которых удалось получить излучатель диаметром 4 см, составили для нижнего уровня - $X_1^I = 2$ т (160 г/см 2) и $X_2^I = 3$ г; для верхнего уровня - $X_1^{II} = 8$ т (640 г/см 2) и $X_2^{II} = 6$ г. Среднее значение содержания молочного жира ($C_{ж}$) в сухом молоке составляет 25-30 % [16], поэтому

значение фактора X_3 для нижнего уровня - $X_3^I = 15$ %, для верхнего уровня - $X_3^{II} = 40$ %. Отметим, что эти образцы отличаются не только жирностью, но и содержанием минеральных веществ. При увеличении $C_{ж}$ в сухой пробе снижаются содержания других компонентов, входящих в состав обезжиренного остатка, вследствие «разбавления» его жиром, что обуславливает корреляции между содержаниями жира ($x = C_{ж}$) и аналитов ($y = C_i$). Коэффициенты корреляции r_{xy} , рассчитанные по результатам, приведенным в работах [3, 8] и справочниках [16, 17], для Na, Mg, P, Ca, Zn и Sr составили: -0.616, -0.499, -0.487, -0.550, -0.350 и -0.490 соответственно при табличном значении $r_{xy}(0.05; 38) = 0.315$.

Для каждого опыта матрицы планирования (число опытов $N = 8$) готовили по 4 излучателя, а затем от каждого излучателя дважды измеряли интенсивности K α -линий и фона. Функцию отклика аппроксимировали полиномом:

$$Y = a_0 + a_1X_1 + a_2X_2 + a_3X_3 + a_{12}X_1X_2 + a_{13}X_1X_3 + a_{23}X_2X_3 + a_{123}X_1X_2X_3. \quad (1)$$

Исследования выполняли для K α -линий нескольких аналитов - Na, P, Ca, Zn, Br и Sr, длины волн (λ_i) характеристического излучения которых охватывают анализируемый диапазон длин волн. Используя среднее значение отклика, полученное для каждого опыта матрицы планирования, рассчитали коэффициенты регрессии моделей. По результатам повторных опытов оценили коэффициент вариации (V_B), характеризующий воспроизводимость измерения отклика, и доверительные интервалы (Δa) коэффициентов моделей. В табл. 1 приведены действительные и нормированные относительно a_0 модели, включающие только значимые коэффициенты. Также построена модель для интенсивности некогерентно рассеянного образцом первичного рентгеновского излучения Rh K α -линии ($Y = I^{нк}$). Оценка с помощью F -критерия показала, что для всех элементов модели адекватно описывают процесс приготовления излучателя.

Как видно из табл. 1, интенсивность длинноволновых линий спектра (K α -линии Na, P и Ca) зависит от давления прессования (X_1) и содержания жира в образце (X_3): она уменьшается с ростом указанных факторов. С увеличением X_1 происходит выдавливание молочного жира к поверхности излучателя, и образовавшийся слой жира не только ухудшает качество поверхности таблетки, но и экранирует возбуждающее и флуоресцентное рентгеновское излучение. Отметим, что толщина эффективно излучающего слоя в этой области спектра очень мала и составляет менее 500 мкм [18]. Из сопоставления нормированных моделей (2)-(4) видно, что с уменьшением λ_i значение коэффициента a_1 снижается, так как указанные эффекты с ростом атомного номера (Z) аналита проявляются сла-

Таблица 1

Математические модели ($Y = I_i$) для трехфакторного эксперимента

Кα-линия	Модели	Δa	№ модели
Na	$Y = 2.083 - 0.140X_1 - 0.327X_3 - 0.152X_1X_3$	0.062	(2a)
	$Y = 1 - 0.067X_1 - 0.157X_3 - 0.073X_1X_3$	0.030	(2)
P	$Y = 18.10 - 0.767X_1 - 3.213X_3 - 0.719X_1X_3 + 0.383X_2X_3$	0.294	(3a)
	$Y = 1 - 0.042X_1 - 0.177X_3 - 0.040X_1X_3 + 0.021X_2X_3$	0.016	(3)
Ca	$Y = 38.25 - 0.421X_1 - 7.466X_3 - 0.344X_1X_3 + 0.371X_2X_3$	0.202	(4a)
	$Y = 1 - 0.011X_1 - 0.195X_3 - 0.009X_1X_3 + 0.010X_2X_3$	0.005	(4)
Zn	$Y = 1.733 + 0.024X_2 - 0.342X_3$	0.006	(5a)
	$Y = 1 + 0.014X_2 - 0.197X_3$	0.007	(5)
Br	$Y = 4.178 + 0.361X_2 - 0.642X_3 - 0.019X_2X_3$	0.014	(6a)
	$Y = 1 + 0.086X_2 - 0.154X_3 - 0.005X_2X_3$	0.003	(6)
Sr	$Y = 0.623 + 0.089X_2 - 0.196X_3 - 0.018X_2X_3$	0.005	(7a)
	$Y = 1 + 0.143X_2 - 0.317X_3 - 0.029X_2X_3$	0.008	(7)
Rh	$Y = 103 - 0.511X_1 + 21.20X_2 + 2.987X_3 - 0.344X_1X_3 + 1.74X_2X_3 + 0.661X_1X_2X_3$	0.248	(8a)
	$Y = 1 - 0.005X_1 + 0.207X_2 + 0.029X_3 - 0.003X_1X_3 + 0.017X_2X_3 + 0.006X_1X_2X_3$	0.002	(8)

бее за счет увеличения количества материала, участвующего в образовании флуоресценции. Отрицательный знак коэффициента a_3 обусловлен тем, что «жирное» сухое молоко, как отмечено выше, отличается более низкими содержаниями аналитов. Рассматриваемые модели (2)-(4) включают также член парного взаимодействия факторов X_1X_3 ; знаки коэффициентов a_1 и a_{13} совпадают. При увеличении X_1 и X_3 толщина экранирующего слоя жира, выдавленного на поверхности излучателя, будет расти, что снижает величину I_i ; с уменьшением λ_i этот эффект проявляется слабее. В этой области длин волн масса излучателя (X_2) не влияет на I_i , поскольку таблетка массой 3 г обеспечивает «насыщенный» излучающий слой, однако для Кα-линий P и Ca значим положительный коэффициент парного взаимодействия a_{23} . При прессовании таблетки большей массы жир распределяется в объеме излучателя более равномерно, поэтому указанные эффекты («экранирование» поверхности жиром и ее шероховатость) несколько снижаются. Незначимость коэффициента a_{23} для NaKα-линии, вероятно, связана с более низкой воспроизводимостью измерения отклика ($\Delta a_{Na} = 0.030$, а $\Delta a_P = 0.016$ и $\Delta a_{Ca} = 0.005$).

В коротковолновой области спектра (Кα-линии Zn, Br и Sr) влияние X_1 на величину I_i уже незначимо, но значимым фактором становится масса излучателя (X_2). В этой области спектра излучатель массой 3 г уже не удовлетворяет критерию «насыщенного» слоя [18], поэтому с увеличением X_2 растет толщина излучающего

слоя, что приводит к росту I_i . Из сопоставления нормированных моделей (5)-(7) видно, что с уменьшением λ_i значение коэффициента a_2 также увеличивается. Отрицательный знак коэффициента a_3 обусловлен теми же причинами, что для Кα-линий Na, P и Ca. Причина отрицательного знака коэффициента a_{23} в моделях (6) и (7) состоит в том, что при увеличении $C_{ж}$ снижаются ослабляющие характеристики (μ_m) излучателя, что усиливает эффект его «ненасыщенности»; с уменьшением λ_i этот эффект проявляется сильнее, поэтому абсолютное значение коэффициента a_{23} растет; в частности, для Кα-линий Br и Sr значения μ_m для жира составляют 1.6 и 1.0 см²/г, для обезжиренного молока - 4.5 и 2.8 см²/г соответственно.

Высокая воспроизводимость измерения интенсивности некогерентно рассеянных образцов квантов характеристической линии первичного спектра обусловила сложность полученной модели (8): выявилось действие всех линейных членов, а также членов парного (X_1X_3 , X_2X_3) и тройного взаимодействия ($X_1X_2X_3$). Причина отрицательных знаков коэффициентов a_1 и a_{13} , вероятно, состоит в том, что при высоком давлении (8 т) имеют место потери молочного жира (пресс-форма с внутренней стороны покрывается тонким слоем жира), что приводит к незначительному уменьшению массы ненасыщенного излучателя и увеличению его ослабляющих характеристик (μ_m для RhKα-линии в жире составляет 0.18 см²/г, в обезжиренном молоке - 1.1 см²/г).

Вклад факторов X_1 и X_1X_3 в величину I_i составляет не более 0.5 %. Положительный знак коэффициента a_2 связан с тем, что с ростом X_2 увеличивается число атомов, рассеивающих первичное излучение, так как излучатель ненасыщенный. Положительный знак коэффициента a_3 обусловлен тем, что при увеличении содержания жира уменьшается ослабляющая способность излучателя, и как следствие, возрастает значение I^{HK} . С ростом массы «жирного» молока этот эффект усиливается, что приводит к значимости положительного коэффициента a_{23} .

Для подтверждения правильности интерпретации математических моделей считали целесообразным сопоставить модели, полученные на основе теоретических и экспериментальных интенсивностей аналитических линий и фона. Влияние давления прессования на интенсивности I_i и I^{HK} теоретически смоделировать невозможно, поэтому поставили двухфакторный эксперимент: X_2 - масса излучателя; X_3 - содержание жира в молоке. Интервалы варьирования факторов остались прежними. Функцию отклика аппроксимировали полиномом:

$$Y = a_0 + a_2X_2 + a_3X_3 + a_{23}X_2X_3. \quad (9)$$

Расчеты интенсивностей выполнены в монохроматическом приближении по известному выражению для ненасыщенного излучателя

[19]. При этом органическую матрицу моделировали молочным жиром ($C_H = 12\%$, $C_C = 74\%$, $C_O = 14\%$), лактозой ($C_H = 6\%$, $C_C = 42\%$, $C_O = 52\%$) и казеином ($C_H = 7\%$, $C_C = 54\%$, $C_N = 16\%$, $C_O = 23\%$). Плотность образцов при $C_{ж1} = 15\%$ и $C_{ж2} = 40\%$ равна 1.41 и 1.26 г/см³ соответственно.

В табл. 2 приведены нормированные относительно свободного члена теоретические модели (Y_T), а также экспериментальные модели, для построения которых использовали интенсивности, измеренные от излучателей, спрессованных при давлении $p = 2$ т (Y_{32}) и $p = 8$ т (Y_{38}). Как видно из табл. 2, теоретические модели подтверждают экспериментальные. В длинноволновой области спектра значимое влияние на аналитический сигнал оказывает отличие концентраций аналитов в сухом молоке разной жирности. Величина коэффициента a_3 экспериментальных моделей также зависит от давления, используемого при прессовании излучателей. При $p = 8$ т указанные выше эффекты «экранирования» и шероховатости поверхности излучателя проявляются сильнее, что приводит к росту коэффициента a_3 . С уменьшением λ_i различие между значениями коэффициентов a_3 в уравнениях для Y_{32} и Y_{38} снижается, так как влияние качества поверхности становится менее значимым.

Экспериментальные модели, полученные для излучателей, спрессованных при разном

Таблица 2

Сопоставление теоретических и экспериментальных моделей

Ка- линия	Нормированные модели	Δa
Na	$Y_T = 1 - 0.127X_3$ $Y_{32} = 1 - 0.079X_3$ $Y_{38} = 1 - 0.246X_3$	0.008 0.066
P	$Y_T = 1 - 0.112X_3$ $Y_{32} = 1 - 0.132X_3 + 0.005X_2X_3$ $Y_{38} = 1 - 0.227X_3 + 0.039X_2X_3$	0.004 0.036
Ca	$Y_T = 1 - 0.099X_3$ $Y_{32} = 1 - 0.184X_3 + 0.009X_2X_3$ $Y_{38} = 1 - 0.207X_3 + 0.011X_2X_3$	0.005 0.010
Zn	$Y_T = 1 + 0.018X_2 - 0.143X_3 + 0.0005X_2X_3$ $Y_{32} = 1 + 0.012X_2 - 0.200X_3$ $Y_{38} = 1 + 0.017X_2 - 0.194X_3$	0.004 0.004
Br	$Y_T = 1 + 0.106X_2 - 0.171X_3 - 0.002X_2X_3$ $Y_{32} = 1 + 0.085X_2 - 0.153X_3 - 0.011X_2X_3$ $Y_{38} = 1 + 0.088X_2 - 0.154X_3$	0.005 0.005
Sr	$Y_T = 1 + 0.170X_2 - 0.273X_3 - 0.014X_2X_3$ $Y_{32} = 1 + 0.141X_2 - 0.313X_3 - 0.034X_2X_3$ $Y_{38} = 1 + 0.146X_2 - 0.321X_3 - 0.024X_2X_3$	0.011 0.012
Rh	$Y_T = 1 + 0.212X_2 + 0.045X_3 + 0.019X_2X_3$ $Y_{32} = 1 + 0.206X_2 + 0.032X_3 + 0.010X_2X_3$ $Y_{38} = 1 + 0.205X_2 + 0.026X_3 + 0.023X_2X_3$	0.003 0.004

давлении, также подтверждают интерпретацию, данную при трехфакторном эксперименте.

Из сравнения моделей в коротковолновой области спектра видно, что теоретические и экспериментальные коэффициенты a_2 одного порядка величины, что подтверждает сделанные ранее выводы о влиянии массы излучателя на величину I_1 в этой области. Увеличение массы «жирного» молока приводит к более медленному росту интенсивности флуоресценции, поэтому знак коэффициента a_{23} отрицательный.

При $Y = I^{нк}$ теоретические и экспериментальные модели содержат одинаковое число коэффициентов, величина и знаки которых хорошо согласуются.

Экспериментальное и теоретическое моделирование по изучению процессов приготовления излучателей из сухих молочных продуктов дало возможность сформулировать обоснованные рекомендации по выбору условий подготовки проб к РФА.

Для прессования излучателей из порошков молока и молочных продуктов разной жирности рекомендуется использовать навеску массой 4 г, что позволит получить прочный излучатель и несколько снизить эффект давления на величину аналитического сигнала. Масса излучателя должна быть постоянной, чтобы исключить влияние неопределенности толщины излучающего слоя на результаты анализа при определении элементов в коротковолновой области спектра.

Сухое молоко или порошки, полученные при высушивании жидких проб молочных про-

дуктов жирностью 0.1-6 %, в сухом остатке которых $C_{ж} = 1-44$ %, следует прессовать в излучатели под давлением 4 т. При использовании меньшей нагрузки излучатели, приготовленные из сухого обезжиренного молока, не получают прочными. Применение давления, превышающего 4 т, значительно увеличит погрешности определения содержаний элементов с $Z \leq 20$.

При прессовании излучателей из высушенных сливок ($C_{ж} = 50-80$ %), рекомендуется использовать давление 2 т, а поверхность пресс-формы и пуансон оборачивать пищевой пленкой, чтобы избежать разрушения таблетки из-за налипания материала.

Для оценки влияния выбранных условий приготовления излучателей из сухих молочных продуктов на результаты РФА спланировали эксперимент по схеме однофакторного дисперсионного анализа. Для этого пробы разбили на 2 группы: с содержанием молочного жира 1-30 % (1 группа) и 35-50 % (2 группа). Из материала каждой пробы взяли по 2 навески массой 4 г и спрессовали по 2 излучателя, от которых дважды измеряли интенсивности аналитических линий при независимой установке образца в спектрометр. Такое планирование эксперимента позволило суммарную погрешность (коэффициент вариации V_{Σ}) разложить на составляющие:

$$V_{\Sigma}^2 = V_{ТЭ}^2 + V_{пп}^2, \quad (10)$$

где $V_{ТЭ}$ – коэффициент вариации, характеризующий воспроизводимость измерения аналитического сигнала от одного излучателя; он зависит от статистической погрешности счета и кратко-

Таблица 3

Результаты дисперсионного анализа погрешности, %

Аналит	Содержание жира в пробах					
	1-30 %			35-50 %		
	$V_{ТЭ}$	$V_{пп}$	V_s	$V_{ТЭ}$	$V_{пп}$	V_s
Na	2.0	н/з	2.0	1.7	5.6	5.9
Mg	1.8	н/з	1.8	2.2	4.3	4.8
P	1.4	н/з	1.4	1.0	2.0	2.2
S	1.2	н/з	1.2	1.0	1.5	1.8
Cl	1.4	н/з	1.4	1.3	1.5	2.0
K	0.88	н/з	0.88	0.96	1.3	1.6
Ca	1.0	н/з	1.0	0.95	1.3	1.9
Mn	23.0	н/з	23.0	25.0	н/з	25.0
Fe	2.8	н/з	2.8	2.1	н/з	2.1
Ni	6.7	н/з	6.7	8.6	н/з	8.6
Cu	2.2	н/з	2.2	2.3	н/з	2.3
Zn	0.86	н/з	0.86	1.2	н/з	1.2
Br	1.3	н/з	1.3	1.4	н/з	1.4
Rb	2.2	н/з	2.2	2.0	н/з	2.0
Sr	5.0	н/з	5.0	6.3	н/з	6.3

Примечание: н/з – погрешность незначима.

временной стабильности работы аппаратуры; $V_{\text{пп}}$ - коэффициент вариации, характеризующий нестабильность условий приготовления излучателей, который определяется качеством его поверхности и непостоянством количества выдавившегося жира при прессовании.

Результаты дисперсионного анализа, приведенные в табл. 3, показывают, что для первой группы проб ($C_{\text{ж}} = 1-30\%$) погрешности $V_{\text{пп}}$ незначимы на фоне погрешностей $V_{\text{тэ}}$ измерения. Для проб с высоким содержанием жира ($C_{\text{ж}} = 35-50\%$) значимость $V_{\text{пп}}$ в длинноволновой области спектра (для Na, Mg, P, S, Cl, K и Ca) обусловлена нестабильностью количества выдавившегося жира. Значения $V_{\text{тэ}}$ в обеих группах проб, за исключением Mn, Ni и Sr, изменяются от 0.86 до 2.8%. Большие значения $V_{\text{тэ}}$ для Kα-линий Mn, Ni и Sr обусловлены статистической погрешностью счета квантов (распределение Пуассона) вследствие низких содержаний этих элементов в молоке. По нашим оценкам с использованием закона накопления погрешностей статистическая погрешность счета для Mn, Ni и Sr изменяется в диапазоне, %: 50-10; 10-6 и 10-2 соответственно в зависимости от содержания аналита.

Приготовление излучателей из жидких молочных продуктов к РФА ПВО

Поставили двухфакторный эксперимент, когда откликом Y служил коэффициент вариации ($Y = V_{\text{пп}}$), характеризующий погрешность приготовления излучателей. В качестве факторов выбрали степень разбавления исход-

ного молока бидистиллированной водой (X_1) и объем пробы, наносимой на отражатель (X_2). Натуральные значения уровней факторов составили: нижний уровень - $X_1' = 1$ (без разбавления) и $X_2' = 5$ мкл; верхний уровень - $X_1'' = 3$ (разбавление 1:2) и $X_2'' = 11$ мкл. Зависимость отклика от действия изучаемых факторов аппроксимировали полиномом, аналогичным (9). Исследования выполняли с помощью образцов жидкого молока с низким ($C_{\text{ж}} = 1.5\%$) и средним ($C_{\text{ж}} = 4\%$) содержанием жира. В пробу (неразбавленную и разбавленную в 3 раза) объемом 500 мкл добавляли 5 мкл стандартного раствора Ga ($C_{\text{Ga}} = 1$ 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 аналитических линий и рассчитывали значения $V_{\text{пп}}$, характеризующие нестабильность параметра I_i/I_{Ga} . Доверительный интервал коэффициентов моделей (Δa) оценивали, опираясь на величину аппаратной погрешности (коэффициент вариации), значения которой изменялись от 0.4 до 2.7% в зависимости от содержания элемента в пробе. Модели, полученные для молока с содержанием $C_{\text{ж}} = 1.5\%$ и $C_{\text{ж}} = 4\%$, для элементов P, S, Cl, K, Ca, Zn и Sr приведены в табл. 4.

Как видно из табл. 4, в длинноволновой области спектра (Kα-линии P, S, Cl, K и Ca) разбавление пробы водой (фактор X_1) приводит к уменьшению погрешностей приготовления излучателей. Для молока средней жирности ($C_{\text{ж}} =$

Таблица 4

Модели ($Y = V_{\text{пп}}$) для двухфакторного эксперимента

Аналит	$C_{\text{ж}} = 4\%$		$C_{\text{ж}} = 1.5\%$	
P	$Y = 16.3 - 12.1X_1 + 2.3X_2 - 2.3X_1X_2$ $Y = 1 - 0.741X_1 + 0.137X_2 - 0.138X_1X_2$	$\Delta a = 0.59$ $\Delta a = 0.036$	$Y = 6.3 - 3.5X_1$ $Y = 1 - 0.516X_1$	$\Delta a = 1.1$ $\Delta a = 0.20$
S	$Y = 9.2 - 6.7X_1 + 1.1X_2 - 0.93X_1X_2$ $Y = 1 - 0.727X_1 + 0.124X_2 - 0.101X_1X_2$	$\Delta a = 0.77$ $\Delta a = 0.081$	$Y = 4.8 - 2.4X_1$ $Y = 1 - 0.512X_1$	$\Delta a = 1.1$ $\Delta a = 0.25$
Cl	$Y = 10 - 6.5X_1 + 1.7X_2 - 1.2X_1X_2$ $Y = 1 - 0.606X_1 + 0.156X_2 - 0.112X_1X_2$	$\Delta a = 0.48$ $\Delta a = 0.045$	$Y = 6.0 - 2.9X_1$ $Y = 1 - 0.485X_1$	$\Delta a = 1.7$ $\Delta a = 0.18$
K	$Y = 6.7 - 3.4X_1 + 0.77X_2 - 0.44X_1X_2$ $Y = 1 - 0.508X_1 + 0.116X_2 - 0.066X_1X_2$	$\Delta a = 0.40$ $\Delta a = 0.059$	$Y = 4.6 - 2.2X_1$ $Y = 1 - 0.479X_1$	$\Delta a = 1.3$ $\Delta a = 0.26$
Ca	$Y = 5.3 - 3.5X_1 + 0.85X_2$ $Y = 1 - 0.656X_1 + 0.162X_2$	$\Delta a = 0.34$ $\Delta a = 0.065$	$Y = 3.4 - 1.7X_1$ $Y = 1 - 0.496X_1$	$\Delta a = 0.69$ $\Delta a = 0.19$
Zn	$Y = 3.2$ $Y = 1.0$	$\Delta a = 0.37$ $\Delta a = 0.12$	$Y = 2.5$ $Y = 1.0$	$\Delta a = 0.86$ $\Delta a = 0.13$
Sr	$Y = 2.0$ $Y = 1.0$	$\Delta a = 2.3$ $\Delta a = 0.94$	$Y = 3.0$ $Y = 1.0$	$\Delta a = 2.7$ $\Delta a = 0.66$

4 %) величина $V_{\text{пп}}$ (%) снижалась: для Р - от 28 до 4, S – от 16 до 3, Cl – от 17 до 4, К – от 10 до 3, Са – от 8 до 2. Это обусловлено более равномерным распределением высушенной разбавленной пробы по поверхности подложки. В этой области спектра способ внутреннего стандарта не обеспечивает полного учета эффекта неравномерности распределения сухого остатка молока по подложке вследствие различия энергий излучения (E_i) K α -линий аналита и Ga. По мере увеличения E_i (переход от Р к К) значение коэффициента a_1 уменьшается. Некоторое нарушение этой зависимости для K α -линии Са можно связать с ростом поглощающей характеристики пробы из-за присутствия значительных количеств атомов К.

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

В коротковолновой области спектра (K α -линии Zn, Вг и Sr) действие факторов X_1 и X_2 не проявилось, так как излучатель приближается к «тонкому слою» и, кроме того, эффект неравномерности распределения пробы по подложке более полно учитывается внутренним стандартом вследствие уменьшения различия энергий сравниваемых линий.

Из сопоставления ненормированных моделей видно, что для элементов Р, S, Cl, К и Са для молока средней жирности ($C_{\text{ж}} = 4 \%$) значения $V_{\text{пп}}$ в 1.5-3 раза выше, чем для низкожирного молока ($C_{\text{ж}} = 1.5 \%$), но при разбавлении молока водой значения $V_{\text{пп}}$ существенно сближаются.

Большие погрешности подготовки проб, полученные для молока средней жирности, позволили сделать вывод, что анализировать без разбавления молоко с высоким содержанием жира нецелесообразно. При проведении двухфакторного эксперимента для высокожирного молока ($C_{\text{ж}} = 6 \%$) изменили значения уровней фактора X_1 : нижний уровень X_1^I = разбавление 1:1, верхний уровень X_1^{II} = разбавление 1:4; значения фактора X_2 остались прежними. Полученные модели приведены в табл. 5. Как видно, коэффициенты моделей, построенных для разбавленного жирного молока ($C_{\text{ж}} = 6 \%$), сопоставимы с коэффициентами моделей, полученными для низкожирного молока ($C_{\text{ж}} = 1.5 \%$). Вероятно, это связано с тем, что при выбранных

условиях разбавления поверхностная плотность нанесенного на подложку разбавленного 1:1 высокожирного молока ($C_{\text{ж}} = 6 \%$) близка к поверхностной плотности неразбавленного низкожирного молока ($C_{\text{ж}} = 1.5 \%$). При $C_{\text{ж}} = 6 \%$ массовая доля сухого остатка ($\omega_{\text{сух}}$) после разбавления 1:1 равна 7 %, при разбавлении 1:4 - $\omega_{\text{сух}} = 2.8 \%$; при $C_{\text{ж}} = 1.5 \%$ без разбавления - $\omega_{\text{сух}} = 9.6 \%$, при разбавлении 1:2 - $\omega_{\text{сух}} = 3.2 \%$.

Таким образом, погрешность пробоподготовки при РФА ПВО молока зависит не только от содержания молочного жира, но и от массовой доли сухого вещества в пробе. Это хорошо иллюстрируется зависимостью коэффициента вариации $V_{\text{пп}}$ от содержания сухого вещества в молоке для элементов Р, S, Cl, К, Са и Zn (рисунк). Значения $V_{\text{пп}}$ рассчитаны для излучателей, приготовленных нанесением 5 мкл неразбавленного и разбавленного молока разной жирности.

Проведенные исследования позволяют сформулировать следующие рекомендации по приготовлению излучателей к РФА ПВО.

Жидкие пробы молока и молочных продуктов перед анализом следует разбавлять бидистиллированной водой 1:2. Такая степень разбавления позволит снизить неравномерность распределения жидких проб разной жирности по поверхности подложки.

Объем аликвоты, наносимой на подложку, не должен превышать 5 мкл: нанесение большего объема приводит к увеличению погрешности анализа.

Таблица 5

Модели ($Y = V_{\text{пп}}$) для двухфакторного эксперимента

Аналит	$C_{\text{ж}} = 6 \%$	
	Р	$Y = 5.4 - 3.1X_1$, $Y = 1 - 0.564X_1$
S	$Y = 3.9 - 2.2X_1$, $Y = 1 - 0.550X_1$	$\Delta a = 1.1$ $\Delta a = 0.245$
Cl	$Y = 1.8 - 0.65X_1$, $Y = 1 - 0.368X_1$	$\Delta a = 1.7$ $\Delta a = 0.183$
К	$Y = 1.4 - 0.49X_1$, $Y = 1 - 0.362X_1$	$\Delta a = 1.3$ $\Delta a = 0.259$
Са	$Y = 2.0 - 1.2X_1$, $Y = 1 - 0.596X_1$	$\Delta a = 0.69$ $\Delta a = 0.193$
Zn	$Y = 1.5$, $Y = 1.0$	$\Delta a = 0.86$ $\Delta a = 0.134$
Sr	$Y = 3.9$, $Y = 1.0$	$\Delta a = 2.7$ $\Delta a = 0.655$

Заключение

Получены модели зависимости интенсивностей аналитических линий от условий приготовления излучателей из молочных продуктов. Интерпретация моделей позволила установить причины, которые влияют на погрешность результатов РФА, выполненных на спектрометрах с традиционной геометрией и геометрией полного внешнего отражения. Даны рекомендации для подготовки молочных продуктов к РФА.

ЛИТЕРАТУРА

1. Пашкова Г.В. Рентгенофлуоресцентный анализ молока и основанных на нем продуктов // Аналитика и контроль. 2010. Т. 14, № 1. С. 4-15.
2. Экспериандова Л.П. Пробоподготовка в рентгенофлуоресцентном анализе жидких сред // Украинский химический журнал. 2005. Т. 71, № 9. С. 31-38.
3. Пашкова Г.В., Гуничева Т.Н. Определение содержания макро- и микроэлементов в порошках сухого молока рентгенофлуоресцентным методом // Аналитика и контроль. 2006. Т. 10, № 3-4. С. 313-320.
4. Perring L., Blank J. Faster measurement of minerals in milk powders: comparison of a high powder wavelength dispersive XRF system with ICP-AES and potentiometry reference method // Food. Anal. Methods. 2008. V. 1. P. 205-213.
5. Alvarez M., Mazo-Gray V. Determination of potassium and calcium in milk powder by EDXRF

- spectrometry // X-Ray Spectrom. 1990. V. 19. P. 285-287.
6. Khan A.H, Tarafdar S.A, Ali M., Biswas S.K., Akhter S., Saha D.K., Islam A., Billah M., Hadi D.A., Maroof F.B.A. The status of trace and minor elements in some Bangladeshi foodstuffs // J. Radional. Nucl. Chem. 1989. V. 134, № 2. P. 367-381.
7. Perring L., Andrey D. ED-XRF as a tool for rapid minerals control in milk-based products // J. Agric. Food. Chem. 2003. V. 51, № 15. P. 4207-4212.
8. Pashkova G.V. X-ray fluorescence determination of element contents in milk and dairy products // Food Anal. Methods. 2009. V. 2. P. 303-310.
9. Nielson K.K., Mahoney A.W., Williams L.S., Rogerst V.C. Mineral concentrations and variations in fast-food samples analyzed by X-ray fluorescence // J. Agric. Food. Chem. 1991. V. 39. P. 887-892.
10. 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]: http://www.bruker-axs.de/uploads/tx_linkselectorforpdfpool/LR_XRF_434_Biological_Matrices_low_res.pdf (дата обращения 10.12.2010).
11. Szoboszlai N., Polgári Z., Mihucz V.G., Záray G. Recent trends in total reflection X-ray fluorescence spectrometry for biological applications // Anal. Chim. Acta. 2009. V. 633. P. 1-18.
12. Ostachowicz B., Lankosz M., Tomik B., Adamek D., Wobrauschek P., Strelci C., Kregsamer P. Analysis of some chosen elements of cerebrospinal fluid and serum in amyotrophic lateral sclerosis

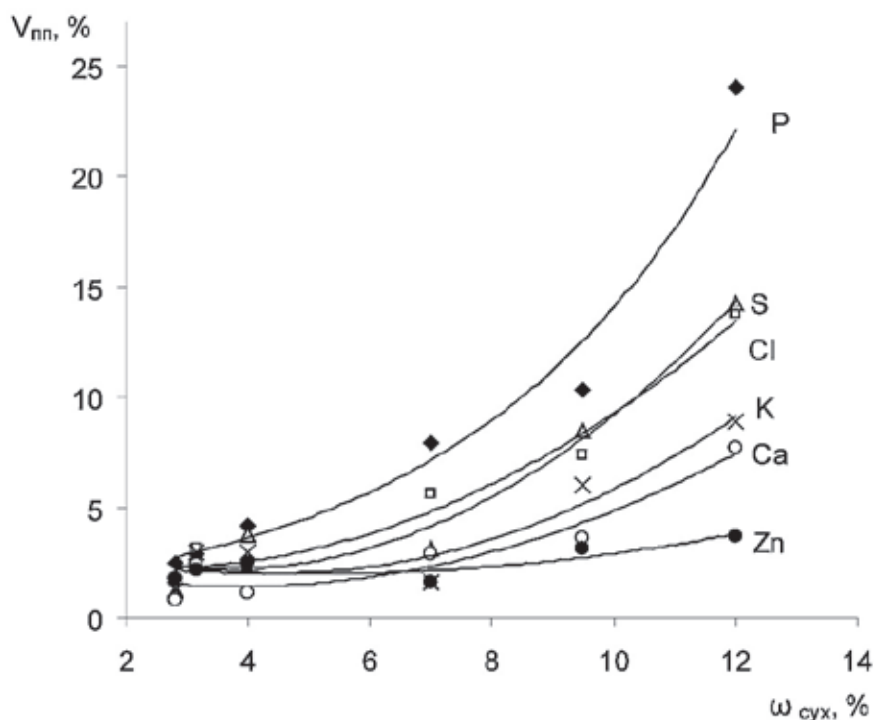


Рис. Зависимость погрешности подготовки пробы V_{nn} от массовой доли сухого вещества в молоке ω_{cyx} для P, S, Cl, K, Ca и Zn

patients by total reflection X-ray fluorescence // *Spectrochimica Acta Part B*. 2006. V. 61. P. 1210–1213.

13. Steinmeyer S., Kolbesen B.O. Capability and limitations of the determination of sulfur in inorganic and biological matrices by total reflection X-ray fluorescence spectrometry // *Spectrochimica Acta Part B*. 2001. V. 56. P. 2165-2173.

14. Адлер Ю.П., Маркова Е.В., Грановский Ю.А. Планирование эксперимента при поиске оптимальных условий. М.: Наука, 1971. 284 с.

15. Смагунова А.Н., Козлов В.А. Примеры применения математической теории эксперимента в рентгенофлуоресцентном анализе. Иркутск: Изд-во Иркут. ун-та, 1990. 232 с.

16. Химический состав пищевых продуктов. Кн. 2: Справочные таблицы содержания ами-

нокислот, жирных кислот, витаминов, микро- и макроэлементов, органических кислот и углеводов / Под ред. И.М. Скурихина и М.Н. Волгарева. Изд. 2-ое. М.: Агропромиздат, 1987. 360 с.

17. Химический состав российских продуктов питания: справочник / Институт питания РАМН, под ред. И.М. Скурихина, В.А. Тутельяна. М.: ДеЛи принт, 2002. 236 с.

18. Пашкова Г.В., Гуничева Т.Н. Оценка результатов неdestructивного РФА проб сухого молока ограниченной массы // *Аналитика и контроль*. 2005. Т. 9, № 4. С. 433-439.

19. Лосев Н.Ф. Количественный рентгеноспектральный флуоресцентный анализ. М.: Наука, 1969. 336 с.

STUDY OF SOURCES OF ERRORS IN THE PREPARATION OF MILK PRODUCTS FOR NON-DICTRUCTIVE X-RAY FLUORESCENCE ANALYSIS

G.V. Pashkova, A.N. Smagunova

The sources of errors in the sample preparation of milk products for X-ray fluorescence analysis (XRF) were studied using of the mathematical planning. Measurements were performed using XRF spectrometers with the wave dispersion (WDXRF) and the total reflection (TXRF). The dependence of x-ray fluorescence intensity on compacting pressure, mass of tablet and milk fat content in samples was obtained for WDXRF. In case of TXRF the dependence of the sample preparation error on the degree of dilution with water and the aliquot of milk pipetted onto sample carrier was studied. A physical interpretation of these dependences was proposed. On this base the recommendations for the sample preparation were worked out.

Key words: X-ray fluorescence analysis (XRF), total reflection x-ray fluorescence analysis (TXRF), milk, dairy products,