

Оценка аналитических возможностей рентгенофлуоресцентной спектрометрии с полным внешним отражением при анализе напитков с матрицей сахарозы

***А.С. Мальцев^{1,2}, А. фон Болен³, Р.А. Юсупов², С.А. Бахтеев²**

¹Институт земной коры СО РАН, Российская Федерация, 664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 128

²Казанский национальный исследовательский технологический университет,
Российская Федерация, 420012, г. Казань, ул. К. Маркса, 68

³Институт аналитических наук Лейбница, Германия, 44139, г. Дортмунд, ул. Бунзена-Кирхгоффа, 11

*Адрес для переписки: Мальцев Артем Сергеевич, E-mail: artemmaltsev1@gmail.com

Поступила в редакцию – 16 октября 2019 г., после исправления – 09 ноября 2019 г.

Многоэлементный анализ пищевой продукции, в т.ч. напитков, важен при оценке содержания полезных и токсичных для организма элементов. В данной работе рассмотрены основные проблемы и их решения при анализе сахаросодержащих напитков методом рентгенофлуоресцентной спектрометрии с полным внешним отражением (TXRF). Органическая матрица сахарозы вызывает определенные сложности как при подготовке проб, так и при обработке данных измерений для TXRF. Рассмотрены наиболее распространенные для TXRF способы подготовки проб: прямой, заключающийся в анализе исходного образца, разбавление водой и кислотное разложение. Для оценки выполнения критерия тонкого слоя определены физические характеристики высушенных проб на подложках после применения каждого из способов подготовки и установлены значения поверхностной плотности. Полученные значения сравнили с теоретическими, исходя из расчета массовых коэффициентов поглощения для матрицы $C_{12}H_{22}O_{11}$, и установили, что для количественного определения легких ($14 < Z < 20$) элементов подходит способ кислотного разложения. При анализе образца без предварительной подготовки или после разбавления образца водой отмечено влияние эффектов поглощения, обусловленные несоответствием поверхностной плотности критерию тонкого слоя. Это несоответствие проб при прямом анализе подтвердили с помощью измерений с использованием способа, основанного на сканировании угла падения первичного излучения на образец, установив нарушение условий эффекта полного внешнего отражения. Для рассмотренных вариантов пробоподготовки рассчитаны пределы обнаружения, и сделан вывод о том, что при кислотном разложении возможна количественная идентификация микроэлементов Fe, Ni, Cu, Zn, Rb, Sr, Pb на уровне десятков мкг/л. Применение способа добавок, используемого для контроля правильности определения элементов, позволило заключить о возможности использования прямого способа анализа сахаросодержащих напитков для элементов с $Z \geq 24$ в диапазонах концентраций 0.5-10 мг/л.

Ключевые слова: рентгенофлуоресцентный анализ, РФА ПВО, напитки, матричные эффекты, эффекты поглощения, сахароза, многоэлементный анализ, способ добавок

For citation: *Analitika i kontrol'* [Analytics and Control], 2019, vol. 23, no. 4, pp. 483-493

DOI: 10.15826/analitika.2019.23.4.009

Evaluation of analytical capabilities of Total Reflection X-ray Fluorescence Spectrometry for the analysis of drinks with sucrose matrix

***A.S. Maltsev^{1,2}, A. von Bohlen³, R.A. Yusupov², S.A. Bakhteev²**

¹Institute of the Earth's Crust, SB RAS, Lermontov st., 128, Irkutsk, 664033, Russian Federation

²Kazan National Research Technological University, Marksa st., 68, Kazan, 420012, Russian Federation

³Leibniz-Institut für Analytische Wissenschaften ISAS, Bunsen-Kirchhoff-Str. 11, Dortmund, 44139, Germany

*Corresponding author: Artem S. Maltsev, E-mail: artemmaltsev1@gmail.com

Submitted – 16 October 2019, received in revised form – 09 November 2019

Multielement analysis of food products, including drinks, is important for an assessment of the content of the useful and toxic elements for the human body. In this paper, the main problems and their solutions in the analysis of sugar-containing drinks by Total Reflection X-ray Fluorescence Spectrometry (TXRF) method have been considered. The organic sucrose matrix causes certain difficulties both in the preparation of the samples and in the processing of measurement data for TXRF. The following most common sample preparation procedures for TXRF were considered: direct, based on the analysis of initial sample, dilution with water and acid digestion. In order to assess the fulfillment of the thin layer criterion, the physical characteristics of dried samples on the carriers were determined after applying each of the above-mentioned preparation procedures, and the corresponding surface density values were established. The obtained values were compared with the theoretical ones. Based on the calculation of mass absorption coefficients for $C_{12}H_{22}O_{11}$ matrix, it was found that the method of acid digestion was suitable for the quantitative determination of light ($14 < Z < 20$) elements. When analyzing the sample without the preliminary preparation or after diluting the sample with water, the influence of absorption effects was noted due to the mismatch of the surface density with the thin layer criterion. This mismatch of the samples in the direct analysis was confirmed by the measurements using a method based on an angle incidence scanning of the primary radiation on the sample, establishing a violation of the conditions for the effect of total external reflection. The detection limits were calculated for the considered sample preparation procedures, and it was concluded that the quantitative identification of Fe, Ni, Cu, Zn, Rb, Sr, and Pb trace elements at the level of tens of $\mu\text{g/l}$ was possible by the acid digestion procedure. The application of the addition method to assess the trueness of elemental determination led to the conclusion that it was possible to use the direct analysis of sugar-containing drinks for the elements with $Z \geq 24$ in the concentration ranges of 0.5–10 mg/l.

Key words: X-ray fluorescence, TXRF, soft drinks, matrix effects, absorption effects, sucrose, multielement analysis, addition method.

ВВЕДЕНИЕ

Элементный количественный анализ углеводсодержащих объектов является довольно распространенной практикой в аналитической химии, поскольку в эту категорию входит множество продуктов питания и напитков. Для пищевых продуктов такой анализ чаще всего проводится с целью контроля качества продукции и соблюдения безопасности ее потребления, что регулируется Всемирной организацией здравоохранения (WHO) посредством кодекса Алиментариус [1]. В основном, химические элементы в пищевой продукции классифицируют следующим образом: эссенциальные с высоким содержанием более ppm (Ca, Cl, C, H, Mg, N, O, P, K, Na, S), на уровне ppb–ppm (F, I, Fe, Si, Zn) и ppb (Co, Cu, Mn, Mo, Ni, Se); неэссенциальные элементы (B, Ti, Ba, Ce, Ge, Rb, Sr); токсичные элементы (Al, As, Sb, Cd, Cr, Pb, Hg, Th, Sn, U) [2]. Подробное описание влияния химических элементов на организм человека описано в книге WHO [3].

Для элементного анализа пищевой продукции, в т.ч. напитков, получили широкое распространение спектральные методы. Среди них: атомно-абсорбционная спектрометрия (AAS), атомно-эмиссионная (ICP-AES) и масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой (ICP-MS). Последний метод зарекомендовал себя как высокочувствительный и точный, и на данный момент может считаться рутинным методом для элементного анализа пищевой продукции. Подтверждением этому может служить большое количество новых европейских стандартов ISO, в т.ч. адаптированных на территории

РФ в качестве межгосударственных стандартов (ГОСТ 56219-2014, 15111-2015, 34141-2017). Среди недостатков этого метода следует выделить длительную подготовку к анализу, высокие капитальные и эксплуатационные расходы и сложность проведения анализа (выбор правильной градуировки, трудность количественной обработки из-за существенных матричных эффектов и эффектов памяти) и др. [4]. Поэтому в настоящее время для многоэлементного анализа пищевой продукции все более широкое применение имеет метод рентгенофлуоресцентной спектрометрии с полным внешним отражением (TXRF), который зарекомендовал себя как быстрый и экономически эффективный метод определения множества элементов в различных объектах [5].

В данной работе рассмотрены возможности метода TXRF для анализа сахаросодержащих безалкогольных напитков. Уже имеется достаточное количество публикаций по анализу пищевых объектов с различным содержанием сахара методом TXRF. Объекты анализа можно классифицировать следующим образом: вина (с содержанием сахара, 0.5–3 %) [6–13], газированные напитки (около 10 %) [14, 15], алкогольные напитки «Кашаса» (до 0.6 %) [16, 17], конфеты (не менее 25 %) [18], мед (не менее 80 %) [19–23]. В большинстве работ отмечена высокая эффективность метода TXRF благодаря быстрому анализу проб напрямую без специальной подготовки либо после простого разбавления водой. К сожалению, «эффективность» в таком виде может сопровождаться потерей чувствительности и ограниченным кругом анализируемых элементов [14].

TXRF обладает такими преимуществами, как малое количество требуемого образца (10-20 мг), простая пробоподготовка и количественная оценка содержаний способом внутреннего стандарта, а также относительно низкая стоимость инструментальных систем. В отличие от классического рентгенофлуоресцентного анализа (XRF), опция полного внешнего отражения при соблюдении критерия тонкого слоя позволяет достичь пределов обнаружения на уровне пикограмм элемента. Для соблюдения этого критерия, необходимо, чтобы образцы были подготовлены в форме растворов, суспензий или тонких срезов с ограниченными значениями толщины и массы слоя образца на поверхности отражателя [5]. Приготовление тонких слоев трудно реализовать на практике для многих объектов, включая объекты органического происхождения. В работах [24, 25] рассчитаны теоретические показатели критической толщины (d) и максимальной поверхностной плотности (P_s^{\max}) для тонкого слоя образца трех типов матриц (органическая, металлическая и минеральная), при выполнении которых эффектами поглощения можно пренебречь. Для органической матрицы эти значения составили: $d \leq 4$ мкм, $P_s \leq 80$ мкг/см². Однако для матрицы сахарозы $C_{12}H_{22}O_{11}$ в слое толщиной равной 4 мкм поглощение флуоресценции K-линий элементов с атомным номером $12 < Z < 17$ может достигать 50 %. Для этой матрицы, согласно расчетам, доступным в базе данных [26, 27], более 90 % пропускания излучения обеспечивает толщина слоя не более 1 мкм (рис. 1).

Для изучения аналитических возможностей метода TXRF применительно к количественному анализу объектов с матрицей $C_{12}H_{22}O_{11}$ на примере безалкогольных газированных напитков (около 10 % сахара) поставлены следующие задачи:

- проведение анализа с использованием разных способов пробоподготовки (прямой анализ, разбавление

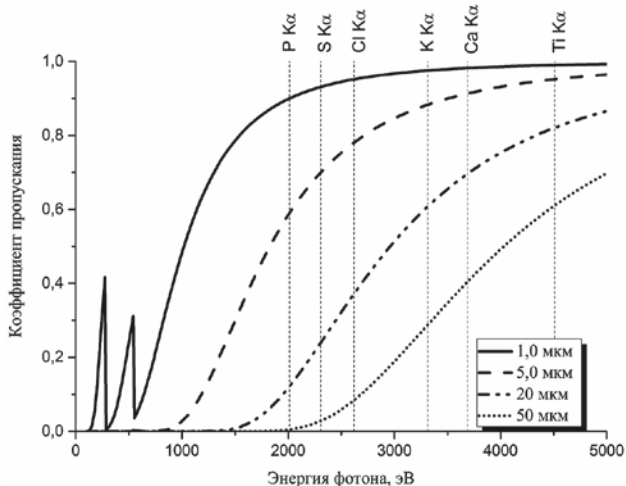


Рис. 1. Коэффициент пропускания излучения при взаимодействии со слоем вещества $C_{12}H_{22}O_{11}$ при различной толщине анализируемой пробы [26, 27].

Fig. 1. Transmission of radiation when interacting with a layer of $C_{12}H_{22}O_{11}$ substance at various thicknesses of the analyzed sample [26, 27].

водой и кислотное разложение) для нахождения оптимальной техники и описания аналитических возможностей при каждом способе;

- оценка влияния матричных эффектов, в т.ч. эффектов поглощения, на точность результатов анализа;
- использование углового сканирования методом РФА скользящих углов падения (GI-XRF) с целью изучения образования стоячих волн и их влияния на изменение интенсивности сигнала при разных способах подготовки проб;
- применение способа добавок для контроля правильности и оценки круга определяемых элементов и диапазона их концентраций вследствие отсутствия стандартных образцов напитков с аттестованным содержанием элементов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Реагенты и материалы

Азотная кислота особой чистоты (Merck) и пероксид водорода применялись для открытого разложения анализируемых проб. Стандартный многоэлементный раствор (CertiPUR® №111355, Merck, C = 1000 мг/л) использован для реализации способа добавок, стандартный раствор Ga (CertiPUR® №170319, Merck, C = 1000 мг/л) – в качестве внутреннего стандарта. Вода особой чистоты (Mili-Q) применялась для разбавления образцов.

В качестве объекта анализа был взят коммерчески доступный безалкогольный напиток с содержанием сахара 10.7 г на 100 мл.

Аппаратура

Анализ методом TXRF проводили с использованием настольного спектрометра S2 PICOFOX (Bruker, Берлин, Германия), оснащенного маломощной рентгеновской трубкой (37.5 Вт) с Mo-анодом, многослойным монохроматором и кремниевым дрейфовым детектором XFlash® 30 мм² (энергетическое разрешение менее 149 эВ при 5.895 кэВ). Время измерений составило 500 с. Подложки из кварцевого стекла использовались в качестве отражателей.

Угловое сканирование проводили с использованием настольного TXRF спектрометра NANOHUNTER (Rigaku, Токио, Япония), оснащенного рентгеновской трубкой с воздушным охлаждением с Cu/Mo-анодом (50 кВ и 0.6 мА), многослойным монохроматором и кремниевым дрейфовым детектором охлаждающего типа (чувствительная область 7 мм² и энергетическое разрешение 165 эВ при 5.895 кэВ). Время измерения с шагом изменения угла 0.02 градуса ($-0.1^\circ - 0.8^\circ$) составляло 50 с.

Сканирующий электронный микроскоп SEM Quanta 200 FEG (Thermo Fisher Scientific, Массачусетс, США) и лазерный интерферометр Verifire™ (Zygo, Огайо, США) использовались для определения геометрических размеров проб, оценки однородности распределения пробы на поверхности отражателя.

Программное обеспечение OriginPro2015 (OriginLab Corporation, Массачусетс, США) использовалось для расчета параметров экспоненциальной функции, описывающих поглощение излучения слоем образца.

Пробоподготовка

Для подготовки проб использовали следующие способы:

1. «Прямой» способ. Этот способ подготовки проб заключается в нанесении исходного раствора образца, смешанного с раствором внутреннего стандарта Ga, на подложку и высушивании. Для обеспечения максимально тонкого слоя и минимальной площади распределения по подложке пробы оптимальный объем нанесения капли образца составил 2 мкл. Высушивание пробы выполняли на электрической плитке.

2. Разбавление в водной среде. Для снижения матричных эффектов и достижения критерия тонкого слоя на подложке использовали разбавление водой особой чистоты. В качестве оптимального разбавления использовали отношение 1:5, что обеспечивало наилучшую воспроизводимость результатов анализа. Разбавленный раствор образца, смешанный с раствором внутреннего стандарта Ga, объемом 6 мкл наносили на подложку и высушивали на электрической плитке.

3. Кислотное разложение в открытой системе. 200 мкл образца смешивали с раствором внутреннего стандарта Ga и реагентами – 1 мл концентрированной азотной кислоты, 100 мкл пероксида водорода в стеклянной пробирке и нагревали на плитке (100-130 °С). По мере испарения добавляли одинаковый объем реагентов и повторяли процесс до возможно полного разложения и испарения жидкости. После этого к сухому остатку добавляли 200 мкл раствора 10% азотной кислоты, перемешивали и наносили 10 мкл на кварцевую подложку и высушивали на плитке.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Количественный анализ проб после различной подготовки

На рис. 2 представлены изображения, полученные на электронном сканирующем микроскопе, для образцов, приготовленных прямым способом после сушки проб при температуре 170 (рис. 2б) и 220 °С (рис. 2а). На рис. 2а можно отметить более четкую

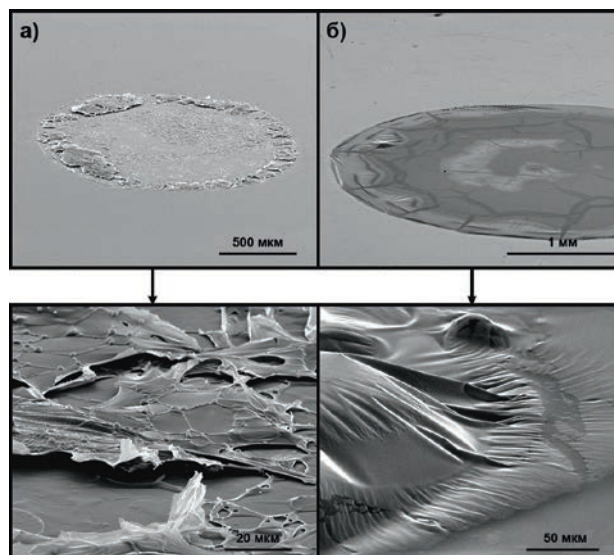


Рис 2. SEM – изображения проб при прямом способе подготовки, нанесенных на подложки и высушенных при температуре: а) 220 °С, б) 170 °С.

Fig. 2. SEM – images of samples prepared for the direct analysis, dried at the temperatures: a) 220 °C, b) 170 °C.

форму кристаллизации, нагревание проходило при температуре 220 °С. При меньших температурах сушки агрегатное состояние пробы имеет дифференциацию, а именно: верхний слой пробы затвердевает, нижний остается жидким (эффект карамелизации), поэтому проба является неоднородной (см. рис. 2б). Неоднородность пробы может являться причиной увеличения погрешности измерений, а как следствие способствовать ухудшению точности определения содержания элементов.

В табл. 1 приведены физические характеристики высушенных проб на подложке. Масса пробы ($m_{\text{пробы}}$) определялась после нанесения объема (V) анализируемого раствора на кварцевую подложку, высушивания и взвешивания. Толщина (d) и площадь поверхности ($S_{\text{пов}}$) пробы на подложке определялись с помощью лазерной интерферометрии. Поверхностная плотность пробы на подложке рассчитывалась по формуле $P_s = m_{\text{пробы}}/S_{\text{пов}}$. Для разбавленной пробы не удалось получить надежную оценку толщины d .

Как видно из табл. 1, способ разложения обеспечивает наименьшую поверхностную плотность. Для определения соответствия проб критерию тонкого слоя при разных способах подготовки проведен расчет критической поверхностной плотности (P_s^{max})

Таблица 1

Физические характеристики высушенных проб на подложках при разных способах подготовки

Table 1

Physical characteristics of dried samples on the carriers after the different preparation techniques

Пробоподготовка	$m_{\text{пробы}}$, мкг	V , мкл	$S_{\text{пов}}$, см ²	d , мкм	P_s , мкг/см ²
Прямой	152	2	0.0616	30	2471
Разбавление	96	6	0.1452	-	661
Разложение	32	10	0.2407	1,5	133

Таблица 2

Массовые коэффициенты поглощения характеристического излучения элемента в пробе μ_{Σ} и значения критической поверхностной плотности P_s^{max} для матрицы $C_{12}H_{22}O_{11}$

Table 2
Mass-absorption coefficients of characteristic X-rays of an element of the sample μ_{Σ} and the critical area density P_s^{max} for the $C_{12}H_{22}O_{11}$ matrix

Аналитическая линия элемента	μ_{Σ} , см ² /г	P_s^{max} , мкг/см ²
P K α	454	111
S K α	307	166
Cl K α	212	242
K K α	107	493
Ca K α	78	690
Fe K α	15	4981
Ni K α	9.6	11231
Cu K α	7.7	19334
Zn K α	6.2	44006
Ga (is*) K α	5.2	-
Sr K α	1.5	13941
Rb K α	1.8	14994
Pb L α	3.5	30591

Примечание: *is – внутренний стандарт.

в соответствии с формулой, рекомендуемой в работе [24] для образцов с внутренним стандартом:

$$P_s^{max} = \rho d \leq \frac{0.1}{|\mu_{\Sigma i} - \mu_{\Sigma is}|}, \quad (1)$$

где ρ – плотность нанесенной пробы (г/см³), d – толщина пробы (см), $\mu_{\Sigma i}$ – массовый коэффициент поглощения характеристического излучения элемента i в матрице сахарозы (см²/г), $\mu_{\Sigma is}$ – массовый коэффициент поглощения характеристического излучения элемента внутреннего стандарта (далее индекс is относится к внутреннему стандарту) в матрице сахарозы (см²/г).

В табл. 2 приведены рассчитанные коэффициенты μ_{Σ} и значения критической поверхностной плотности P_s^{max} , удовлетворяющей критерию тонкого слоя. Диапазон значений P_s^{max} при использовании внутреннего стандарта Ga для элементов с атомными номерами $15 \leq Z \leq 20$ равен 111 – 690 мкг/см², а для $Z \geq 26$ значения превышают 5000 мкг/см². С приближением значения атомного номера определяемого элемента к атомному номеру внутреннего стандарта значения P_s^{max} возрастают. Из сравнения измеренных и рассчитанных P_s^{max} следует вывод о том, что образец для анализа без предварительной подготовки проб не удовлетворяет критерию тонкого слоя для элементов $Z \leq 20$. Также об этом

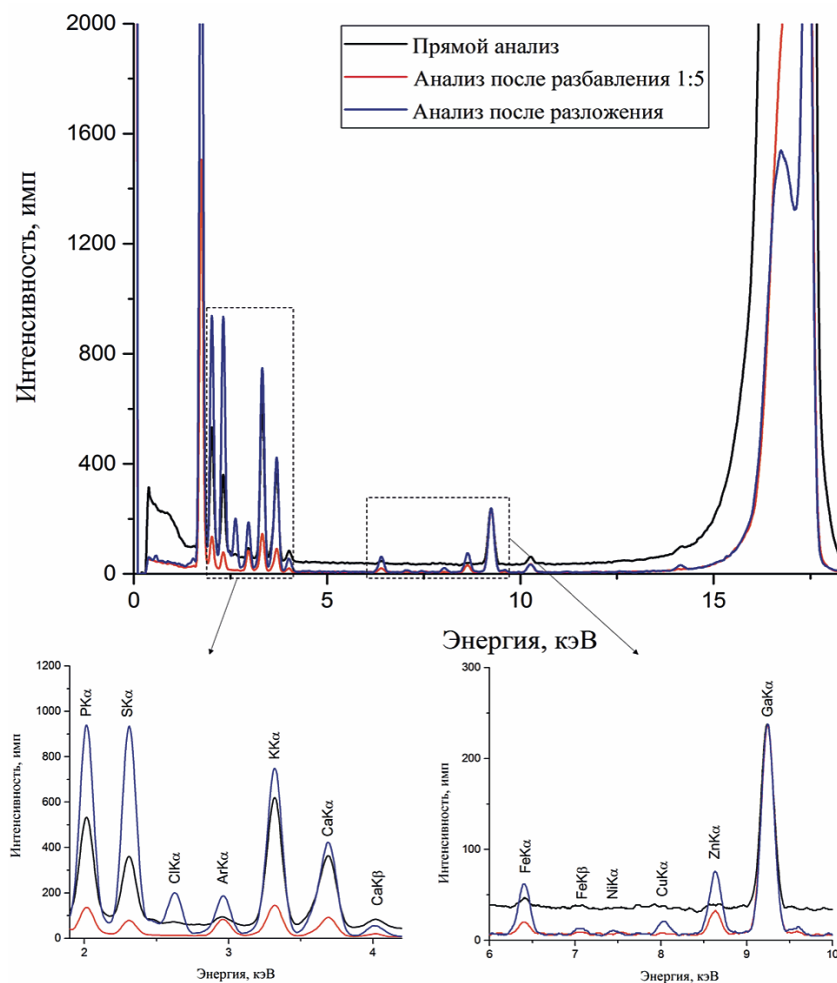


Рис. 3. Спектры, полученные после прямого способа пробоподготовки, разбавления водой и кислотного разложения.
Fig. 3. Spectra obtained after the direct analysis, dilution with water and acid digestion procedures.

свидетельствует и полученное значение толщины пробы (d , табл. 1). Процедура разбавления позволяет существенно снизить значения поверхностной плотности и обеспечить тонкий слой для Ca и более тяжелых элементов. Способ разложения образца позволяет обеспечить значения поверхностной плотности и толщины пробы, соответствующей критерию тонкого слоя, для всех элементов.

На рис. 3 представлены спектры, измеренные на спектрометре S2 Picofox, для проб, приготовленных тремя различными способами. Спектры были нормированы на максимум интенсивности пика $K\alpha$ -линии элемента внутреннего стандарта Ga с одинаковой концентрацией в образцах, равной 1.0 мг/л. Наблюдается существенное различие в интенсивности сигналов определяемых элементов при разной пробоподготовке и снижение сигнала в области энергий 16.5-17.0 кэВ для анализируемых проб после разложения органической матрицы. Эта область соответствует пику комптоновского рассеяния первичного излучения. Высокий фон, наблюдаемый в случае прямого анализа, не позволяет идентифицировать микроэлементы Ni, Cu, Zn, Sr, Rb, Pb. Контрасты пиков существенно выше при анализе растворов после разложения, особенно в низкоэнергетической области. Пик Si идентифицирован только при анализе раствора после разложения, хотя, как правило, при взаимодействии с HNO_3 этот элемент улетучивается в соединении HCl. В данном случае, этот процесс происходит не полностью.

Анализ способом углового сканирования (метод **GI-XRF**) позволяет регистрировать сигнал флуоресценции при изменении угла падения первичных рентгеновских лучей [28]. На рис. 4 показано изменение интенсивности сигнала Mo после изменения угла падения рентгеновского излучения, благодаря чему становится возможным идентифицировать эффект полного отражения, заключающийся в резком возрастании интенсивности в области критического угла $\sim 0.1^\circ$, отмеченной на рисунке штриховыми линиями. Точки на графике, характеризующие измерения интенсивностей при соответствующем угле падения рентгеновских лучей, соединены с помощью сглаживающих линий для визуальной оценки изменения данных. Монотонно возрастающий вид кривой на графике для образца, приготовленного прямым способом, свидетельствует о нарушении когерентности падающих рентгеновских лучей, как следствие, отсутствию образования стоячих волн на поверхности и внутри слоя при прямом анализе.

На рис. 5 представлены аналогичные графики зависимости интенсивностей сигнала различных элементов (P, Ca, Zn, Rb) от угла падения рентгеновского излучения. Максимумы интенсивностей флуоресцентных сигналов регистрируются при угле полного внешнего отражения, область которого отмечена на рисунках. Для элементов P, Zn, Rb кривые выглядят подобными друг другу. На графике

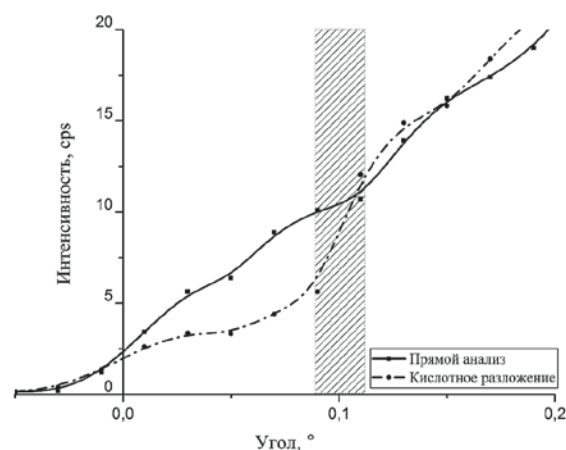


Рис. 4. Зависимость интенсивности сигнала молибдена от угла падения первичного рентгеновского излучения, полученная при анализе образца после различной пробоподготовки.

Fig. 4. Dependence between the molybdenum signal intensity and the angle of X-rays incidence obtained in the sample analysis after the different preparation procedures.

кривой Ca наблюдаются отличия в осцилляционной картине значений, что вероятно объясняется принадлежностью к разным химическим соединениям, содержащим элементы.

Благодаря использованию GI-XRF становится ясным, почему прямой анализ неуместен для матрицы сахарозы. Неровная поверхность с превышением критической толщины и плотности пробы при прямом способе анализа не позволяет обеспечить эффект полного внешнего отражения. Это сопровождается потерей интенсивности сигналов, вследствие чего утрачиваются преимущества TXRF, а именно высокая чувствительность и низкие пределы обнаружения. В случаях же использования способа разложения образца мы видим возрастание интенсивности для всех элементов в областях, близких к критическому углу падения рентгеновского излучения.

В табл. 3 представлен химический состав анализируемых проб, средние значения концентраций элементов и стандартные отклонения от средних, и значения пределов обнаружения после обработки полученных спектров. Значения предела количественного обнаружения (C_{LOQ}) были рассчитаны с помощью формулы [5]:

$$C_{LOQ} = 10C_i\sqrt{N_{BG}}/N_i, \quad (2)$$

где C_i – концентрация определяемого элемента i (мг/л), N_i – площадь пика флуоресценции аналитической линии элемента i (cps), N_{BG} – площадь фона под пиком флуоресценции аналитической линии элемента i (cps).

Различия в значениях концентраций для P и S между прямым анализом и после разложения достигают 104 мг/л и 38 мг/л, соответственно. Для K и Ca такие же различия уже не существенны и равны 2.4 мг/л и 1.0 мг/л, соответственно. При анализе

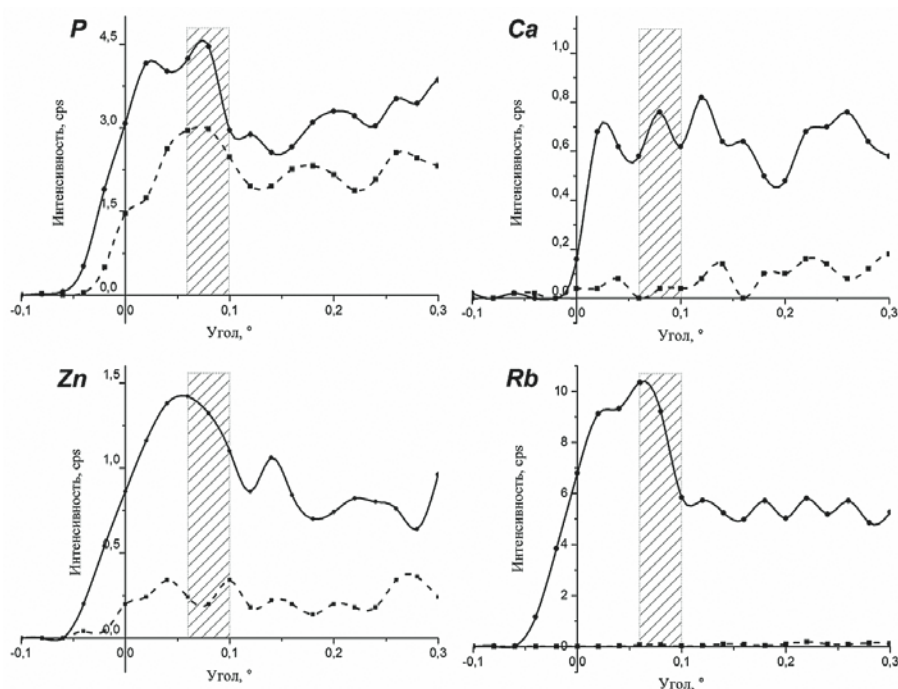


Рис. 5. Зависимость интенсивности сигнала элементов от угла падения первичного рентгеновского излучения: после прямого анализа пробы (---■---) и после кислотного разложения (—•—).

Fig. 5. Dependence between the elements signal intensity and the angle of X-rays incidence: after direct (---■---) and acid digestion analyses (—•—) of the sample.

после разбавления концентрации этих элементов также занижены по сравнению с данными после разложения, но относительно меньше. Определение микроэлементов при прямом анализе, кроме Fe, затруднено из-за высоких пределов количественного обнаружения. При разбавлении C_{LOQ} снижаются незначительно, возможно определение Fe и Zn. Определение Cl оказалось возможным только после разложения. Пределы обнаружения (C_{LOQ}) для микроэлементов после прямого анализа и анализа

после разбавления рассчитывались на основании данных примененного способа добавок, описанного ниже. При сравнении значений C_{LOQ} способ пробоподготовки, заключающийся в разложении, имеет преимущество перед двумя другими на порядок. Из чего следует, что предварительное разложение образца необходимо для получения достоверных результатов элементного анализа, в том числе, и для улучшения аналитических характеристик методики измерения.

Таблица 3

Значения концентраций (C_{cp}), стандартных отклонений (STD , $n = 3$) и пределов количественного обнаружения (C_{LOQ}), выраженные в мг/л, для анализируемого образца напитка после различных способов пробоподготовки

Table 3

Values of concentrations (C_{cp}), standard deviations (STD , $n = 3$) and limits of quantification (C_{LOQ}), expressed in mg / l, for the analyzed drink sample after the various techniques of sample preparation

Элемент	Прямой		Разбавление		Разложение	
	$C_{cp} \pm STD$	C_{LOQ}	$C_{cp} \pm STD$	C_{LOQ}	$C_{cp} \pm STD$	C_{LOQ}
P	133 ± 9	7.2	169 ± 12	6.1	237 ± 5	1.5
S	26 ± 2	2.9	35 ± 2	2.4	64 ± 2	0.61
Cl	<LOQ	н/о*	<LOQ	н/о	13 ± 1	0.29
K	28 ± 1	0.76	28 ± 3	0.62	30 ± 1	0.06
Ca	11 ± 0.3	0.51	12 ± 0.5	0.41	12 ± 0.3	0.05
Fe	0.30 ± 0.001	0.11	0.47 ± 0.01	0.09	0.46 ± 0.08	0.02
Ni	<LOQ	0.10	<LOQ	0.07	0.02 ± 0.004	0.01
Cu	<LOQ	0.07	<LOQ	0.05	0.07 ± 0.007	0.007
Zn	<LOQ	0.06	0.37 ± 0.05	0.05	0.30 ± 0.01	0.006
Rb	<LOQ	н/о	<LOQ	н/о	0.004 ± 0.0005	0.003
Sr	<LOQ	0.06	<LOQ	0.05	0.03 ± 0.002	0.003
Pb	<LOQ	0.07	<LOQ	0.06	0.02 ± 0.002	0.004

Примечание: *н/о – не оценивалось.

Оценка эффектов поглощения

Отмеченные ранее отклонения значений концентраций при разных способах пробоподготовки для элементов Р и S возникают вследствие эффекта поглощения излучения этих элементов в матрице пробы, толщина которой не удовлетворяет критерию тонкого слоя. Были рассчитаны расхождения между значениями концентраций, полученных при анализе пробы после разложения и прямого анализа $\Delta C_1 = C_{\text{разл}} - C_{\text{прям}}$, а также между значениями концентраций, полученных при анализе пробы после разложения и пробы после разбавления в воде $\Delta C_2 = C_{\text{разл}} - C_{\text{разб}}$. На рис. 6 приведены графики зависимостей величин $\Delta C_{1,2}$ от энергий края поглощения рентгеновских лучей (кэВ) элементов. Сплошные линии на рис. 6 аппроксимируют зависимости экспоненциальной функцией: $\Delta C = C_0 + A \cdot \exp(R_0 \cdot E)$. Коэффициенты корреляции для полученных зависимостей: $r^2 = 0.95$ для ΔC_1 и $r^2 = 0.99$ для ΔC_2 . Кривые с экспоненциальной зависимостью демонстрирует наличие эффектов поглощения, которые описываются законом Ламберта-Бера [5]. Таким образом, определено, что при одинаковых концентрациях элемента в одном и том же образце изменяется величина аналитического сигнала из-за матричного эффекта поглощения. Это выражается в потере интенсивности при поглощении, следствием чего является занижение концентраций элементов. Полученные результаты также демонстрируют, что эффекты поглощения для матрицы ($C_{12}H_{22}O_{11}$) незначимы при определении элементов с атомными номерами $Z >$

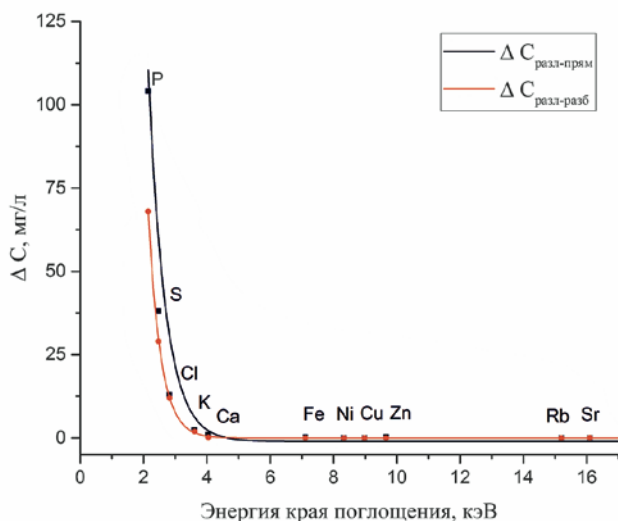


Рис. 6. Зависимость разностей концентраций элементов $\Delta C = C_{\text{разл}} - C_{\text{прям}}$ и $\Delta C = C_{\text{разл}} - C_{\text{разб}}$ от энергии края поглощения рентгеновских лучей элементов при анализе образцов после различной пробоподготовки.

Fig. 6. Dependence between the differences in the elements concentrations $\Delta C = C_{\text{разл}} - C_{\text{прям}}$ and $\Delta C = C_{\text{разл}} - C_{\text{разб}}$ and the X-ray absorption edge energy of the elements in the sample analysis after the different preparation procedures.

20, что согласуется с общим выводом, следующим из обсуждения рис.1.

Способ добавок

Для оценки правильности определения при количественном TXRF анализе напитка с матрицей $C_{12}H_{22}O_{11}$ для элементов Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, Sr и Pb использовался способ добавок. Данный способ также позволяет оценить возможности одновременного количественного определения круга элементов и диапазонов их концентраций. Для его реализации в анализируемый объект добавляли стандартный многоэлементный раствор с известной концентрацией в разных пропорциях. Итого было приготовлено 5 растворов со следующими концентрациями: добавка № 1 – 0.50 мг/л, № 2 – 1.0 мг/л, № 3 – 1.5 мг/л, № 4 – 3.0 мг/л, № 5 – 10 мг/л.

В табл. 4 приведены значения концентраций соответствующих элементов после измерения проб без специальной подготовки и после кислотного разложения. Также для каждой добавки рассчитаны показатели точности (R - recovery) определения концентрации элемента i по формуле $R = \sum_i (C_{\text{изм},i} / C_{\text{доб},i} \cdot 100)$. Для двух способов пробоподготовки значения показателя точности R не выходили за пределы диапазона 80-120 %, а в среднем отклонение между значениями R (STD) составило не более 10 %. С помощью теста Груббса идентифицированы явные промахи, значения которых выделены цветом в таблице. Исходя из полученных данных можно заключить, что оба способа подготовки проб подходят для определения элементов с атомными номерами $Z \geq 24$ в диапазонах концентраций 0.5 – 10 мг/л. В этих условиях прямой способ анализа может быть использован для надежного количественного определения элементов. При меньших диапазонах концентраций прямой анализ не может применяться из-за невыполнения условия полного внешнего отражения и, как следствие, низкой чувствительности (пределы количественного определения в табл. 3).

Выводы

Многоэлементный анализ пищевых объектов с содержанием сахара методом TXRF может быть осложнен влиянием матричных эффектов при неправильной подготовке пробы. Так, при использовании прямого анализа образца или его предварительного разбавления водой, обнаружили наличие эффектов поглощения для легких элементов с атомным номером $Z < 20$. Основной вывод: разложение матрицы – необходимая процедура для TXRF анализа сахаросодержащих напитков. Данные, полученные при использовании способа углового сканирования, также подтверждают этот вывод, так как установлено, что при прямом анализе пробы не обеспечивается полное внешнее отражение. Поэтому, применение метода TXRF с использованием пробоподготовки образца без разложения матрицы приводит к утрате

Таблица 4

Измеренные концентрации элементов в пробах при прямом анализе и кислотном разложении с использованием способа добавок и показатели точности R (%): среднее значение (R_{cp}), стандартное отклонение (STD), минимальное и максимальное значения (мин-макс), критерий g для проверки наличия промахов при $\alpha = 0,99$

Table 4

Measured element concentrations after the direct and acid digestion analyses of samples using the addition method, and accuracy values R (%): average (R_{cp}), standard deviation (STD), minimum and maximum values (мин-макс), criterion g of outliers' test at $\alpha = 0.99$

	Элемент	Прямой анализ						Кислотное разложение					
		Концентрация добавки, мг/л											
		0	0.50	1.00	1.50	3.00	10.0	0	0.50	1.00	1.50	3.00	10.0
Измеренные концентрации, мг/л	Cr	0	0.47	1.20	1.38	2.94	9.90	0	0.50	0.98	1.48	2.97	10.0
	Mn	0	0.49	0.97	1.50	2.95	10.1	0.02	0.50	0.99	1.43	2.68	10.5
	Co	0	0.45	0.92	1.42	2.79	9.70	0	0.53	1.05	1.60	3.04	9.82
	Ni	0	0.52	1.00	1.46	2.89	9.70	0.02	0.54	1.13	1.63	2.97	9.66
	Cu	0	0.53	1.10	1.44	2.88	9.80	0.07	0.65	1.12	1.63	3.00	9.44
	Zn	0	0.50	0.95	1.43	3.00	9.80	0.30	0.87	1.17	1.76	3.49	10.4
	Sr	0	0.50	0.99	1.38	2.76	9.00	0.03	0.54	1.07	1.80	2.88	9.49
	Pb	0	0.49	0.95	1.47	2.82	9.70	0.02	0.55	1.08	1.41	3.03	9.72
Показатели точности (Recovery), %	R_{cp}	-	99	101	96	96	97	-	105	102	102	98	98
	STD	-	5.1	9.2	2.8	2.8	3.2	-	5.5	6.5	8.2	5.0	3.6
	Мин	-	90	92	92	92	90	-	96	90	93	89	94
	Макс	-	106	120	100	100	101	-	114	111	118	106	105
	g	-	1.71	2.04	1.31	1.42	2.24	-	1.73	1.83	1.86	1.93	1.79
	$g_{крит}$ (0.99)	1.75											

преимуществ метода, заключающиеся в высокой чувствительности и одновременном определении широкого круга элементов.

Проведенное исследование свидетельствует о том, что метод TXRF может успешно применяться при анализе напитков с содержанием сахара около 10 % после разложения матрицы. Предложенные методические подходы могут в перспективе использоваться для анализа других пищевых продуктов и напитков с подобной матрицей.

БЛАГОДАРНОСТИ

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-33-90192. Исследования выполнены с использованием оборудования ЦКП «Геодинамика и геохронология» ИЗК СО РАН.

ACKNOWLEDGEMENT

Current study was funded by RFBR, project number 19-33-90192. The research was performed using the equipment of "Geodynamics and Geochronology" SB RAS joint use center.

ЛИТЕРАТУРА

1. Stankovic I. Codex Alimentarius. Encyclopedia of Food and Health 1st edition. Academic Press. 2016. P. 191-196.
2. De La Guardia M., Garrigues S. Handbook of mineral elements in food. John Wiley & Sons Inc. 2015. 803 p.
3. WHO. Trace elements in human nutrition and health. World Health Organization. 1996. 361 p.
4. Nelms S.M. Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry Handbook. Blackwell Publishing Ltd. 2005. 485 p.
5. Klockenkämper R., von Bohlen A. Total-Reflection X-Ray Fluorescence Analysis and Related Methods: Second Edition. N.J.: John Wiley & Sons Inc. 2015. 519 p.
6. Analytical performance of benchtop total reflection X-ray fluorescence instrumentation for multielemental analysis of wine samples / R. Dalipi [et al.] // Spectrochim. Acta - Part B. 2016. V. 120. P. 37–43.
7. Determination of trace elements in Italian wines by means of total reflection X-ray fluorescence spectroscopy / R. Dalipi [et al.] // Int. J. Environ. Anal. Chem. 2015. V. 95, № 13. P. 1208–1218.
8. Study of Heavy Metals in Madeira Wine by Total Reflection X-Ray Fluorescence Analysis / M.L. Carvalho [et al.] // X-Ray Spectrom. 1996. V. 25. № 1. P. 29-32.
9. Haswell S.J., Walmsley A.D. Multivariate data visualisation methods based on multi-elemental analysis of wines and coffees using total reflection X-ray fluorescence analysis // J. Anal. At. Spectrom. 1998. V. 13. № 2. P. 131-134
10. Development of a procedure for the multi-element determination of trace elements in wine by ICP-MS / M.M. Castiñeira [et al.] // Fresenius. J. Anal. Chem. 2002. V.370. № 5. P. 553-558.
11. Total-reflection X-ray fluorescence analysis of Austrian wine / X. Gruber [et al.] // Spectrochim. Acta - Part B. 2006. V. 61. № 10-11. P. 1214–1218.
12. Trace elements determination in red and white wines using total-reflection X-ray fluorescence / M.J. Anjos [et al.] // Spectrochim. Acta - Part B. 2003. V. 58, № 12. P. 2227–2232.

13. Quantitative determination on heavy metals in different stages of wine production by Total Reflection X-Ray Fluorescence and Energy Dispersive X-Ray Fluorescence: Comparison on two vineyards / S. Pessanha [et al.] // *Spectrochim. Acta - Part B*. 2010. Vol. 65, № 6. P. 504–507.

14. Analysis of coke beverages by total-reflection X-ray fluorescence / R. Fernández-Ruiz [et al.] // *Spectrochim. Acta - Part B*. 2018. V. 145. P. 99–106.

15. Yap C.T., Gunawardena K.V.R. Analysis of trace elements in soft drinks using total reflection X-Ray fluorescence spectrometry // *Int. J. Environ. Stud.* 1989. V. 32. № 4. P. 297–302.

16. Determination of copper, iron and zinc in spirituous beverages by total reflection X-ray fluorescence spectrometry / T. Capote [et al.] // *Spectrochim. Acta - Part B*. 1999. V. 54. № 10. P. 1463–1468.

17. Determination of Fe, Cu and Zn in sugar-cane spirits commercialized in Southeastern Brazil by TXRF / R.M. Cunha E Silva [et al.] // *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 2004. V. 260. № 1. P. 3–7.

18. Total reflection X-ray fluorescence analysis of trace-elements in candies marketed in Mexico / T. Martinez [et al.] // *Spectrochim. Acta - Part B*. 2010. V. 65, № 6. P. 499–503.

19. Determination of Trace Elements in Honey from Different Regions in Rio de Janeiro State (Brazil) by Total Reflection X-Ray Fluorescence / R. de O.R. Ribeiro [et al.] // *J. Food Sci.* 2014. V. 79. № 4. P. 738–742.

20. Application of total reflection X-ray spectrometry in combination with chemometric methods for determination of the botanical origin of slovenian honey / M. Nečemer [et al.] // *J. Agric. Food Chem.* 2009. V. 57. № 10. P. 4409–4414.

21. Determination of the geographical origin of Slovenian black locust, lime and chestnut honey / U. Kropf [et al.] // *Food Chem.* 2010. Vol. 121. № 3. P. 839–846.

22. Seasonal variation in trace and minor elements in Brazilian honey by total reflection X-ray fluorescence / R. de Oliveira Resende Ribeiro [et al.] // *Environ. Monit. Assess.* 2015. V. 187, № 3. P. 96.

23. Research review trends of food analysis in Latvia: Major and trace element content / Z. Vincevica-Gaile [et al.] // *Environ. Geochem. Health.* 2013. V. 35, № 5. P. 693–703.

24. Klockenkämper R., von Bohlen A. Determination of the critical thickness and the sensitivity for thin-film analysis by total reflection X-ray fluorescence spectrometry // *Spectrochim. Acta - Part B*. 1989. V. 44. № 5. P. 461–469.

25. de Boer D.K.G. X-ray Standing Waves and the critical sample thickness for Total-reflection X-Ray Fluorescence analysis // *Spectrochim. Acta - Part B*. 1991. Vol. 46, № 10. P. 1433–1436.

26. [Электронный ресурс]: http://henke.lbl.gov/optical_constants/CXRO-Database (дата обращения: 14.10.2019).

27. Henke B.L., Gullikson E.M., Davis J.C. X-ray interactions: Photoabsorption, scattering, transmission, and reflection at E = 50–30, 000 eV, Z = 1–92 // *At. Data Nucl. Data Tables.* 1993. V. 54. № 2. P. 181–342.

28. von Bohlen A. Total reflection X-ray fluorescence and grazing incidence X-ray spectrometry - Tools for micro- and surface analysis. A review // *Spectrochim. Acta - Part B*. 2009. V. 64, № 9. P. 821–832.

REFERENCES

1. Stankovic I. *Codex Alimentarius. Encyclopedia of Food and Health 1st edition*. Academic Press. 2015, pp. 191–196. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00180-X>
2. De La Guardia M., Garrigues S. *Handbook of mineral elements in food*. John Wiley & Sons Inc. 2015. 803 p. <https://doi.org/10.1002/9781118654316>
3. WHO. *Trace elements in human nutrition and health*. World Health Organization. 1996, 361 p.
4. Nelms S.M. *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry Handbook* // Blackwell Publishing Ltd. 2005, 485 p. <https://doi.org/10.1002/9781444305463>
5. Klockenkämper R., von Bohlen A. *Total-Reflection X-Ray Fluorescence Analysis and Related Methods: Second Edition*. N.J.: John Wiley & Sons Inc. 2015. 519 p.
6. Dalipi R., Marguí E., Borgese L., Bilo F., Depero L. E. Analytical performance of benchtop total reflection X-ray fluorescence instrumentation for multielemental analysis of wine samples. *Spectrochim. Acta - Part B*, 2016, vol. 120, pp. 37–43. <https://doi.org/10.1016/j.sab.2016.04.001>
7. Dalipi R., Borgese L., Zacco A., Tsuji K., Sangiorgi E., Piro R., Bontempi E., Depero L. E. Determination of trace elements in Italian wines by means of total reflection X-ray fluorescence spectroscopy. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 2015, vol. 95, no. 13, pp. 1208–1218. <https://doi.org/10.1080/03067319.2015.1036861>
8. Carvalho M. L., Barreiros M. A., Costa M. M., Ramos M. T., Marques M. I. (). Study of heavy metals in Madeira wine by total reflection X-ray fluorescence analysis. *X-Ray Spectrometry*, 1996, vol. 25, no. 1, pp. 29–32. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4539\(199601\)25:1<29::AID-XRS134>3.0.CO;2-Z](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4539(199601)25:1<29::AID-XRS134>3.0.CO;2-Z)
9. Haswell S. J., Walmsley A. D. Multivariate data visualisation methods based on multi-elemental analysis of wines and coffees using total reflection X-ray fluorescence analysis. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 1998, vol. 13, no. 2, pp. 131–134. <https://doi.org/10.1039/a705317g>
10. Castiñeira M. M., Brandt R., von Bohlen A., Jakubowski N. Development of a procedure for the multi-element determination of trace elements in wine by ICP-MS. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, 2001, vol. 370, no. 5, pp. 553–558. <https://doi.org/10.1007/s002160100862>
11. Gruber X., Kregsamer P., Wobrauschek P., Strelci C. Total-reflection X-ray fluorescence analysis of Austrian wine. *Spectrochim. Acta - Part B*, 2006, vol. 61, no. 10–11, pp. 1214–1218. <https://doi.org/10.1016/j.sab.2006.08.006>
12. Anjos M., Lopes R., de Jesus E. F., Moreira S., Barroso R., Castro C. R. Trace elements determination in red and white wines using total-reflection X-ray fluorescence. *Spectrochim. Acta - Part B*, 2003, vol. 58, no. 12, pp. 2227–2232. <https://doi.org/10.1016/j.sab.2003.07.004>
13. Pessanha S., Carvalho M. L., Becker M., von Bohlen A. Quantitative determination on heavy metals in different stages of wine production by Total Reflection X-ray Fluorescence and Energy Dispersive X-ray Fluorescence: Comparison on two vineyards. *Spectrochim. Acta - Part B*, 2010, vol. 65, no. 6, pp. 504–507. <https://doi.org/10.1016/j.sab.2010.04.003>
14. Fernández-Ruiz R., von Bohlen A., Friedrich K. E. J., Redrejo M. J. Analysis of coke beverages by total-reflection X-ray fluorescence. *Spectrochim. Acta - Part B* 2018, vol. 145, pp. 99–106. <https://doi.org/10.1016/j.sab.2018.04.013>
15. Yap C.T., Gunawardena K.V.R. Analysis of trace elements in soft drinks using total reflection X-Ray fluorescence spectrometry. *Int. J. Environ. Stud.* 1989, vol. 32, no. 4, pp. 297–302. <https://doi.org/10.1080/00207238908710470>
16. Capote T., Marcó L., Alvarado J., Greaves, E. Determination of copper, iron and zinc in spirituous beverages by total reflection X-ray fluorescence spectrometry. *Spectrochim. Acta - Part B*, 1999, vol. 54, no. 10, pp. 1463–1468. [https://doi.org/10.1016/s0584-8547\(99\)00082-8](https://doi.org/10.1016/s0584-8547(99)00082-8)

17. Cunha e Silva R. M., Almeida E., Valencia E. P. E., Filho V. F. N. Determination of Fe, Cu and Zn in sugar-cane spirits commercialized in Southeastern Brazil by TXRF. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 2004, vol. 260, no. 1, pp. 3–7. <https://doi.org/10.1023/b:jrncl.0000027053.80091.7c>
18. Martinez T., Lartigue J., Zarazua G., Avila-Perez P., Navarrete M., Tejada S. Total reflection X-ray fluorescence analysis of trace-elements in candies marketed in Mexico. *Spectrochim. Acta - Part B*, 2010, vol. 65, no. 6, pp. 499–503. <https://doi.org/10.1016/j.sab.2010.04.002>
19. Ribeiro R. de O. R., Mársico E. T., de Jesus E. F. O., da Silva Carneiro C., Júnior C. A. C., de Almeida E., Filho V. F. do N. Determination of Trace Elements in Honey from Different Regions in Rio de Janeiro State (Brazil) by Total Reflection X-Ray Fluorescence. *Journal of Food Science*, 2014, vol. 79, no. 4, pp. 738–742. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12363>
20. Nečemer, M., Košir, I. J., Kump, P., Kropf, U., Jamnik, M., Bertoneclj, J., Ogrinc, N., Golob, T. Application of Total Reflection X-ray Spectrometry in Combination with Chemometric Methods for Determination of the Botanical Origin of Slovenian Honey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009, vol. 57, no. 10, pp. 4409–4414. <https://doi.org/10.1021/jf900930b>
21. Kropf U., Korošec M., Bertoneclj J., Ogrinc N., Nečemer M., Kump P., Golob T. Determination of the geographical origin of Slovenian black locust, lime and chestnut honey. *Food Chemistry*, 2010, vol. 121, no. 3, pp. 839–846. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.12.094>
22. De Oliveira Resende Ribeiro R., Mársico E. T., da Silva Carneiro C., Simoes J. S., da Silva Ferreira M., de Jesus E. F. O., Almeida E., Junior C. A. C. Seasonal variation in trace and minor elements in Brazilian honey by total reflection X-ray fluorescence. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2015, vol. 187, no. 3, pp. 96 <https://doi.org/10.1007/s10661-015-4284-1>
23. Vincevica-Gaile Z., Klavins M., Rudovica V., Viksna A. Research review trends of food analysis in Latvia: major and trace element content. *Environmental Geochemistry and Health*, 2013, vol. 35, no. 5, pp. 693–703. <https://doi.org/10.1007/s10653-013-9549-4>
24. Klockenkämper R., von Bohlen A. Determination of the critical thickness and the sensitivity for thin-film analysis by total reflection X-ray fluorescence spectrometry. *Spectrochim. Acta - Part B*, 1989, vol. 44, no. 5, pp. 461–469. [https://doi.org/10.1016/0584-8547\(89\)80051-5](https://doi.org/10.1016/0584-8547(89)80051-5)
25. de Boer D.K.G. X-ray Standing Waves and the critical sample thickness for Total-reflection X-Ray Fluorescence analysis. *Spectrochim. Acta - Part B*, 1991, vol. 46, no. 10, pp. 1433–1436. [https://doi.org/10.1016/0584-8547\(91\)80194-8](https://doi.org/10.1016/0584-8547(91)80194-8)
26. *CXRO-Database (2019)*. Available at: http://henke.lbl.gov/optical_constants/ (accessed 14 October 2019).
27. Henke B.L., Gullikson E.M., Davis J.C. X-ray interactions: Photoabsorption, scattering, transmission, and reflection at E = 50–30, 000 eV, Z = 1–92. *At. Data Nucl. Data Tables*, 1993, vol. 54, no. 2, pp. 181–342. <https://doi.org/10.1006/adnd.1993.1013>
28. von Bohlen A. Total reflection X-ray fluorescence and grazing incidence X-ray spectrometry - Tools for micro- and surface analysis. A review. *Spectrochim. Acta - Part B*, 2009, vol. 64, no. 9, pp. 821–832. <https://doi.org/10.1016/j.sab.2009.06.012>