

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЫШЬЯКА В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ И СЫРЬЕ АТОМНЫМ ЭМИССИОННЫМ СПЕКТРАЛЬНЫМ МЕТОДОМ

*Б.И. Игнатов, А.Г. Непокойчицкий, С.Г. Астащенко,
К.В. Францкевич*

Выполнены исследования и разработана методика выполнения измерений по количественному определению концентрации мышьяка в биологических материалах, продуктах питания и сырье с применением атомного эмиссионного спектрального метода. Разработан способ минерализации образцов, позволяющий предотвратить потери мышьяка в процессе подготовки образцов к измерению. Предложен метод статистической обработки результатов измерений концентрации мышьяка в образцах сравнения и построения на их основе регрессивного уравнения и градуировочного графика повышенной точности. Повышение точности определения мышьяка достигнуто также применением инструментального метода измерения с использованием автоматизированного программно-аппаратного комплекса ПАК-02, что позволило исключить влияние человеческого фактора на результаты измерений.

Введение

Постоянное повышение требований к качеству пищевых продуктов и сырью потребовало разработки экспрессного метода контроля содержания в них токсичных элементов. Для организации широкомасштабного экспресс-контроля содержания токсичных элементов в пищевых продуктах, сырье и различных биологических материалах необходим инструментальный метод анализа, обеспечивающий требуемую точность определения концентрации контролируемого элемента, отличающийся простотой и производительностью, не требующий большого количества исследуемого материала. Этим требованиям отвечает атомный эмиссионный спектральный метод (АЭСМ) с фотоэлектрической регистрацией спектра и компьютерной обработкой результатов измерений, обеспечивающий требуемую точность анализа, воспроизводимость, экспрессность и предел обнаружения [1, 2].

Аналитическая задача определения микроколичеств токсичных элементов в биологических материалах, пищевых продуктах и сырье спектральным методом представляет определенную сложность. На результаты определения микроколичеств токсичных элементов оказывают влияние как разнообразие биологических материалов, сырья и пищевых продуктов, наличие сопутствующих элементов, особенности испарения и возбуждения атомов в источнике света, так и способ подготовки образцов анализируемого материала к анализу. Результаты определения микроколичеств элементов зависят также от качества градуировочных образцов сравнения и их метрологических характеристик. Особую сложность представляет определение в биологических материалах, в том числе и в пищевых продуктах, микроколичеств мышьяка ввиду большой летучести этого элемента и его соединений [2].

В данной работе рассмотрены результаты исследований по определению концентрации микроколичеств мышьяка в биологических материалах, сырье и пищевых продуктах АЭСМ, методика подготовки образцов к анализу, порядок статистической обработки результатов измерения концентрации мышьяка в градуировочных образцах сравнения (ГОС) и построения градуировочного графика.

Результаты исследований и их обсуждение

Точность определения концентрации мышьяка в биологических объектах АЭСМ во многом определяется качеством подготовки образцов биологических веществ к анализу. Спектральный анализ биологических веществ выполняется чаще всего после минерализации органической составляющей. В процессе минерализации биологических веществ происходит концентрирование анализируемых элементов. В практике подготовки образцов к спектральному анализу нашли применение сухой и мокрый способы минерализации.

Достоинством способа сухой минерализации является его простота, удобство, доступность. Этот способ не требует применения реактивов, которые могут внести загрязнения в образец в процессе минерализации. Однако в процессе минерализации при температуре 675–725 К происходят ощутимые потери некоторых химических элементов и их соединений, которые имеют повышенное давление пара при данной температуре. В частности, к таким элементам относится мышьяк, оксид мышьяка и его другие соединения, давление пара которых уже при температуре 373 К достигает больших значений.

При мокром способе минерализации разложение органического вещества производится кислотами или перекисью водорода при нагревании до температуры, не превышающей температуры 373 К. Этот способ нашел применение при подготовке образцов для определения содержания легколетучих элементов. Изучение методов мокрой минерализации показало, что хорошие результаты для определения концентрации мышьяка дает применение смеси азотной HNO_3 и хлорной HClO_4 кислот. Недостатком метода мокрой минерализации является возможность загрязнения образцов анализируемого вещества нежелательными элементами за счет относительно большого количества применяемых кислот [2]. Поэтому необходимо применение особо чистых кислот. При использовании этого метода минерализации затраты больше, чем при применении способа сухой минерализации. В настоящее время способ мокрого разрушения органического вещества для определения содержания мышьяка и других легколетучих элементов в биологических материалах является предпочтительным.

При выполнении данных исследований был разработан способ мокрой минерализации, позволяющий исключить потери мышьяка в анализируемом образце в процессе его подготовке к измерению и избежать загрязнения другими элементами [3]. Особенностью предложенного способа является применение в процессе минерализации соли лития. Образцы продукта предварительно обрабатывают азотной кислотой при температуре 300–360 К, выдерживают в течение 30–60 мин и добавляют раствор соли лития. После выдержки в течение 20–30 мин. продолжают минерализацию сначала при температуре 400–450 К, затем температуру плавно повышают до 700 К и продолжают минерализацию до получения золы серого цвета. В процессе такой обработки происходит диссоциация легколетучих соединений мышьяка, содержащихся в образце продукта, и взаимодействие его с солью лития с образованием ортоарсенида лития, стабильного до температуры 1423 К [4].

Для выбора оптимального способа проведения пробоподготовки проводилась серия экспериментальных исследований. Они выполнялись с использованием автоматизированного спектрального программно-аппаратного комплекса ПАК-02, в состав которого входят спектрограф ДФС-452, источник возбуждения спектра ИВС-29, персональный компьютер с принтером, фотоэлектрический регистратор спектра. Для управления работой ПАК-02 в диалоговом режиме разработано специальное программное обеспечение на языках Паскаль и Ассемблер [1]. Аналитические режимы в процессе проведения измерений: ток дугового разряда 5 А, межэлектродный промежуток 3 мм, продолжительность регистрации спектра 45 с, аналитическая линия мышьяка As 234,984 нм.

Для испарения навесок минерализованных образцов исследуемых материалов применялись камерные графитовые электроды (рис. 1а). Внутренний объем такого электрода заполнялся навеской исследуемого продукта. Особенностью применения камерного электрода предложенной формы заключается в том, что ток дуги, проходящий по тонкой стенке, нагревает электрод и исследуемую навеску образца до температуры 1300–1500 К. При такой температуре соединения мышьяка разлагаются и его пары через малое отверстие в верхней части электрода поступают в плазму дугового разряда. Соединения других элементов, содержащиеся в образце, температура испарения которых выше, остаются в камерном электроде и не оказывают негативного влияния на результаты измерений. Применение камерных электродов позволило устранить влияние третьих элементов на результаты определения концентрации мышьяка в биологических материалах и продуктах питания. Использование камерных электродов является одним из факторов, позволяющих повысить точность измерений. Взвешивание навесок образцов выполнялось на аналитических весах ВЛР-20 и

ВЛР-200, пределы погрешности которых $\pm 0,0001$ и $\pm 0,00075$ ε соответственно.

Средний результат пяти параллельных измерений интенсивности аналитической линии мышьяка в образце программно обеспечен ПАС-02 с помощью заранее построенного градуировочного графика переводит в концентрацию мышьяка в анализируемом продукте. Полученный результат выводится на экран монитора компьютера, а также при необходимости может быть распечатан на принтере. Метрологическая оценка предлагаемого способа измерения концентрации мышьяка в биологических материалах и пищевых продуктах выполнялась методом добавок (внесено-найденно). Для этого в образец с известной концентрацией мышьяка добавляется дозированное количество этого элемента. Результирующая концентрация мышьяка определялась АЭСМ. Внесенное количество мышьяка определяется как разность между экспериментально измеренным и известным содержанием мышьяка в образце. Выполнялось пять параллельных измерений. Среднеквадратическая погрешность отдельного измерения определялась по формуле [5]:

$$\Delta S_n = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (C_i - C_{cp})^2}{n-1}}, \quad (1)$$

где n – количество параллельных измерений (в наших экспериментах $n=5$);
 C_i – концентрация мышьяка при i -ом измерении;
 C_{cp} – среднее значение концентрации мышьяка при n измерениях.

Погрешность определения концентрации мышьяка в продуктах питания при доверительной вероятности $\alpha = 0,95$ находилась с использованием коэффициента Стьюдента t_α по формуле $\Delta C = t_\alpha \Delta S_n$. Результаты расчетов показали, что погрешность определения концентрации мышьяка зависит от его концентрации в исходном образце контролируемого продукта. При концентрации мышьяка в продукте $0,008$ мг/кг погрешность определения составила 17,6%, при концентрации $0,7$ мг/кг – 11,4%. Экспериментальными исследованиями установлено, что при предложенном способе подготовки образцов с использованием солей лития потери мышьяка в процессе минерализации незначительны. Для определения оптимального способа пробоподготовки сравнивались результаты контроля мышьяка в биологических объектах, минерализованных различными способами с введением специальных добавок и без каких-либо добавок (таблица 1).

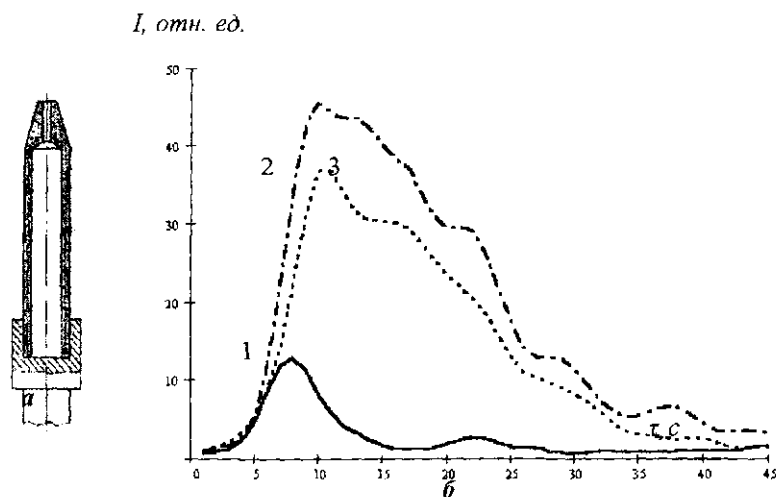
Таблица 1– Результаты определения содержания мышьяка в пробах, подготовленных с использованием различных способов минерализации

Способ проведения минерализации	Введенное в исходный образец количество мышьяка, мг/кг	Определенное количество мышьяка, мг/кг
Сухая минерализация	1,0	0,24
Минерализация с использованием оксида магния и азотнокислого магния по ГОСТ26929-86	1,0	0,74
Минерализация с использованием ацетата магния по методике МВИ-МН261	1,0	0,88
Минерализация с использованием соли лития	1,0	0,96

Сравнение зависимостей интенсивности спектральной линии мышьяка от времени в процессе проведения спектрального анализа проб, подготовленных различными способами, показывает преимущество разработанного способа минерализации образцов биологических объектов с применением соли лития (рисунок 1б).

Количественный атомный эмиссионный спектральный анализ является относительным методом и основывается на использовании взаимно однозначной связи между содержанием элемента в анализируемом образце и интенсивностью используемой аналитической спектральной линии этого элемента. Эта связь в виде градуировочного графика устанавливается с помощью специально изготовленных и аттестованных комплектов градуировочных образцов

сравнения (ГОС) или стандартных образцов, которые содержат дозированное количество контролируемого элемента в требуемом диапазоне концентраций. В наших исследованиях использовался комплект из восьми ГОС, в котором имеются образцы с концентрацией мышьяка от 0,5 до 100 мг/кг.



a – Графитовый камерный электрод;
b – Минерализации образцов с концентрацией мышьяка 10 мг/кг при температуре 740 К:
 1 – обычная минерализация; 2 – минерализация с использованием азотнокислого магния;
 3 – минерализация с использованием солей лития.

Рисунок 1 – Кривые испарения мышьяка из камерного электрода

Интенсивность спектральной линии зависит не только от количественного содержания элемента в ГОС, но и от условий возбуждения спектра, равномерности распределения атомов анализируемого элемента в ГОС, стабильности поступления атомов в облако плазменного разряда, аппаратных «шумов» и от ряда других факторов, в том числе случайных. Поэтому однозначная функциональная связь между интенсивностью спектральной линии и содержанием элемента в ГОС имеет место между математическим ожиданием показания измерительного устройства и истинным содержанием. Реальные градуировочные зависимости представляют собой регрессионные зависимости, в которых независимой детерминированной переменной x является содержание химического элемента C (или $\lg C$) в ГОС, а зависимой случайной величиной y – показание измерительного устройства. В зависимости от выбора того или иного вида уравнения регрессии последнее описывает исследуемый процесс с большей или меньшей точностью. Регрессионный анализ позволяет оценить адекватность каждой модели и выбрать в качестве оптимального такое уравнение регрессии, которое обладает минимальной остаточной дисперсией адекватности. При построении регрессионных уравнений связи интенсивности спектральной линии и количественного содержания анализируемого элемента в ГОС целесообразно использовать полиномиальные модели градуировочных зависимостей, которые хорошо согласуются с экспериментальными данными [6,7]. Регрессивное уравнение в виде полинома степени m имеет вид [7]:

$$y = a_0 + a_1x + a_2x^2 + \dots + a_mx^m, \quad (2)$$

где y – логарифм интенсивности спектральной линии, x – логарифм содержания элемента,

a_i – коэффициент регрессии.

Коэффициенты регрессии a_i удобно определять способом ортогонализации Чебышева. Выражение (2) при этом заменяется линейной комбинацией ортогональных многочленов Чебышева в виде [7]:

$$y = b_0P_0(x) + b_1P_1(x) + b_2P_2(x) + \dots + b_nP_n(x), \quad (3)$$

где ортогональные полиномы $P_j(x) = \sum_{k=0}^j \alpha_{kj} x^k$ удовлетворяют условию $\sum_{i=1}^n \omega_i P_l(x_i) P_j(x_i) = 0$ при $l \neq j$, ω_i – известные веса измерений.

Рекуррентная формула, с помощью которой строится любой из многочленов Чебышева, если известны предыдущие, имеет вид:

$$P_{n+1}(x) = (x + \beta_{n+1})P_n(x) + \gamma_{n+1}P_{n-1}(x), \quad (4)$$

$$\text{где } \beta_{n+1} = -\sum_1^n x_i [P_n(x_i)]^2 / \sum_1^n [P_n(x_i)]^2, \quad \gamma_{n+1} = -\sum_1^n x_i P_{n-1}(x_i) P_n(x_i) / \sum_1^n [P_{n-1}(x_i)]^2,$$

n – количество экспериментальных наблюдений величин y_i и x_i .

Построенный полином проверяется на наличие немонотонной зависимости логарифма интенсивности спектральной линии от логарифма концентрации элемента. В дальнейшем рассматривается только монотонно изменяющийся полином.

Регрессионное уравнение для построения градуировочного графика рассчитывалось на основании выражения (2) с использованием рекуррентных формул (4) по результатам пяти параллельных измерений концентрации мышьяка в каждом образце из комплекта ГОС. Регрессионное уравнение получено в виде:

$$y = 2,6548 + 0,6168x + 0,1157x^2. \quad (5)$$

Все полученные результаты по измерению концентрации мышьяка в ГОС и градуировочный график, построенный по уравнению (5), хранятся в специальной базе данных на жестком диске компьютера.

На рис.2 представлен градуировочный график для определения содержания мышьяка, построенный по уравнению [5].

$\lg I$, отн. ед.

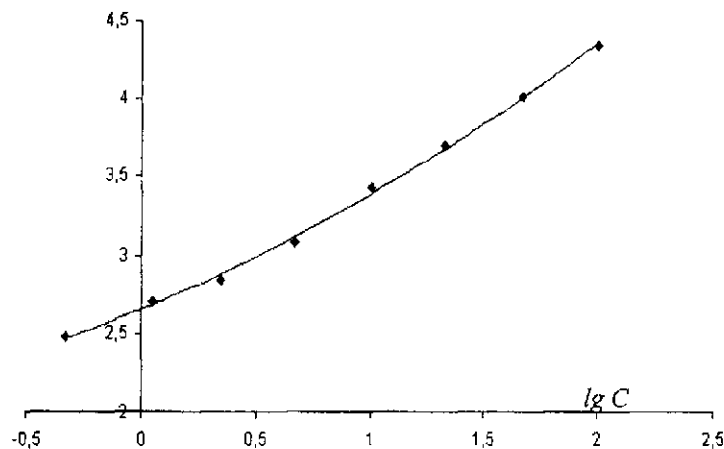


Рисунок 2 – Градуировочный график для определения концентрации мышьяка в биологических материалах, сырье и пищевых продуктах

Дисперсию адекватности регрессионного уравнения (5) оцениваем по формуле:

$$S_r^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \tilde{y}_i)^2}{n - m - 1}, \quad (6)$$

где y_i – среднее арифметическое значение логарифма интенсивности спектральной линии i -ого образца, \tilde{y}_i – логарифм интенсивности спектральной линии, рассчитанный по регрессионному уравнению (5), соответствующий известному значению логарифма \tilde{x}_i в использованном ГОС.

Среднюю дисперсию измерения логарифма интенсивности спектральной линии для всех

n образцов комплекта, использующихся для построения градуировочного графика для контролируемого элемента определяем по формуле:

$$S_e^2 = \frac{\sum_{j=1}^n \omega_j \sum_{i=1}^n (y_{ij} - y_i)^2}{(k-1)kn}, \quad (7)$$

где y_{ij} – интенсивность аналитической спектральной линии при i -ом параллельном измерении j -ого образца,

k – число параллельных измерений одного образца.

Адекватность построенного градуировочного графика данным спектрального анализа ГОС проверяется по критерию Фишера $F = S_r^2 / S_e^2$. Оптимальная степень полинома определяется по минимуму объединенной дисперсии [7]:

$$S^2 = \frac{S_r^2(n-m-1) + S_e^2(k-1)n}{kn-m-1}, \quad (8)$$

Заключение

Преимуществом инструментального метода измерения концентрации мышьяка в биологических материалах с использованием спектрального программно-аппаратного комплекса ПАК-02 является его простота и производительность, использование небольшого количества контролируемого материала, низкий предел обнаружения, экспрессность и уменьшение влияния человеческого фактора на результаты измерения. Точность определения концентрации мышьяка в биологических материалах, сырье и пищевых продуктах с использованием атомного эмиссионного спектрального метода достигается:

- применением оригинальной методики минерализации образцов биологических материалов, позволяющей исключить потери мышьяка в процессе подготовки образцов к измерению;
- применением камерных графитовых электродов специальной конструкции, позволяющих исключить влияние третьих элементов на результаты измерений;
- использованием статистического метода обработки результатов измерения концентрации мышьяка в градуировочных (или стандартных) образцах сравнения и построения на основе этих результатов регрессионного уравнения и градуировочного графика повышенной точности. Погрешность определения концентрации мышьяка при использовании предлагаемой методики не превышает 12%.

Литература

1. Игнатов, Б.И. Автоматизированный спектральный комплекс для анализа пищевых продуктов. / Б.И. Игнатов, А.Г. Непокойчицкий, К.В. Францкевич, С.Г. Асташенко, Н.С. Гриднев. // Журнал прикладной спектроскопии. 1994.– Т.61, № 3–4. – С. 291–296.
2. Карякин, А.В. Эмиссионный спектральный анализ объектов биосферы. / А.В.Карякин, И.Ф. Грибовская. – М.: Химия, 1979. – С. 208.
3. Способ количественного определения содержания мышьяка в биологических объектах, почвах, сырье и пищевых продуктах: пат. 6711 Респ. Беларусь, МПК 7 G01J3/443, G01N1/28, 33/02, 33/48. / Непокойчицкий А.Г., Игнатов Б.И., Францкевич К.В. и др.; № а20010015; заявл. 2001.01.05; опубл. 2004.08.30 // Афіцыйны бюл. Нац. цэнтра інтэлектуал. уласнасці.– 2004.– № 4.– С. 180–181.
4. Свойства неорганических соединений. Справочник. / А.И. Ефимов, Л.П. Белорукова, И.В. Василькова, В.П. Чечев.– Л.: Химия, 1983. – С. 392.
5. Румшинский Л.З. Математическая обработка результатов эксперимента. / Л.З. Румшинский.– М.: Наука, 1971.– С. 192.
6. Львовский, Е.Н. Статистические методы построения эмпирических формул. / Е.Н. Львовский.– М.: Наука, 1988.– С. 285.
7. Морозов, Н.А. Регрессивные уравнения связи в атомно-эмиссионном спектральном анализе легких сплавов. / Н.А. Морозов. // Журнал прикладной спектроскопии.–1991.– Т.55, №1.– С. 31–42.

Поступила в редакцию 19.01.2009