

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МИКРОКОЛИЧЕСТВ РТУТИ В СЫРЬЕ И ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ АТОМНЫМ ЭМИССИОННЫМ СПЕКТРАЛЬНЫМ МЕТОДОМ

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

Выполнены исследования и разработана методика измерений по количественному определению концентрации ртути в продуктах питания, сырье и биологических материалах с применением атомного эмиссионного спектрального метода. Разработан способ минерализации образцов, позволяющий предотвратить потери ртути в процессе подготовки образцов к измерению. Предложен метод статистической обработки результатов измерений концентрации ртути в образцах сравнения и построения на их основе регрессивного уравнения и градуировочного графика повышенной точности. Повышение точности определения ртути достигнуто также применением инструментального метода измерения с использованием автоматизированного спектрального программно-аппаратного комплекса, что позволило исключить влияние человеческого фактора на результаты измерений. Погрешность определения концентрации ртути данным методом в 1,4–1,8 раза меньше по сравнению с другими методами.

Введение

Определение микроколичеств ртути в продовольственном сырье и пищевых продуктах, а также в различных биологических материалах, представляет определенную сложность ввиду большой летучести этого элемента и его соединений [1,2]. Повышение требований к качеству пищевых продуктов и необходимость широкомасштабного контроля количественного содержания ртути выдвинуло проблему разработки инструментального метода контроля. Одним из высокопроизводительных методов аналитического контроля содержания микроколичеств токсичных элементов в биологических материалах является атомный эмиссионный спектральный анализ с фотоэлектрической регистрацией спектра. Достоинством метода является то, что спектрограф с блоком фотоэлектрической регистрации спектра легко поддается автоматизации с применением ЭВМ [1,3].

Точность определения микроколичеств ртути в продовольственном сырье, пищевых продуктах и других биологических материалах спектральными методами зависит от ряда факторов. К ним относятся особенности испарения и возбуждения атомов в источнике света, выделение искомым элементов, освобождение их от химических связей с основой, наличие сопутствующих элементов и некоторые другие [2,4]. Результаты определения микроколичеств элементов зависят также от качества градуировочных образцов сравнения и их метрологических характеристик.

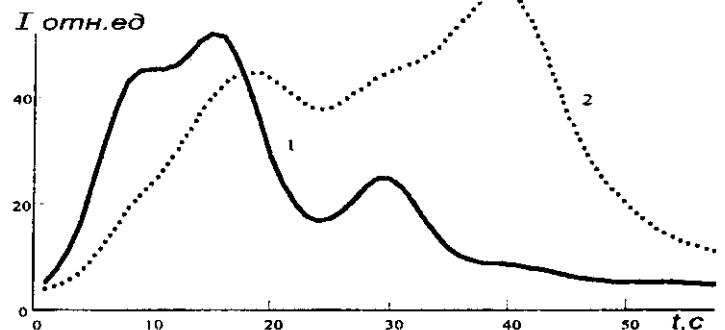
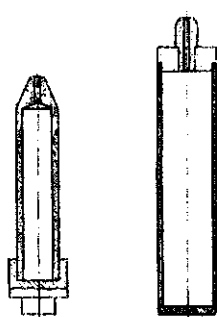
В данной работе рассмотрены результаты исследований по определению концентрации микроколичеств ртути в продовольственном сырье и продуктах питания атомным эмиссионным спектральным методом (АЭСМ), методика подготовки образцов к анализу. Рассмотрен порядок статистической обработки результатов измерений содержания микроколичеств ртути в анализируемых материалах и в градуировочных образцах сравнения (ГОС) и построения градуировочного графика.

Результаты исследований и их обсуждение

Для определения оптимального режима выполнения измерений и процесса подготовки образцов к измерениям выполнена серия экспериментальных исследований. Они выполнялись с использованием автоматизированного спектрального программно-аппаратного комплекса ПАК-02. В состав ПАК-02 входят спектрограф ДФС-452, источник возбуждения спектров ИВС-29, блок фотоэлектрической регистрации спектра, персональный компьютер,

принтер. Обработка спектров выполнялась на компьютере, и результаты выводились на экран монитора. Управление работой ПАК-02 в диалоговом режиме производилось с помощью разработанного программного обеспечения на языках Паскаль и Ассемблер [1]. Аналитический режимы выполнения измерений: ток дугового разряда 4,0–4,5 А, межэлектродный промежуток 3,5 мм, аналитическая линия ртути Hg 253,652 нм, продолжительность регистрации спектра 60 с. Максимальная интенсивность спектральной линии ртути получена при оптимальной ширине щели спектрографа 30–36 мкм.

Для испарения подготовленных для исследования образцов биологических материалов применялись камерные электроды: графитовый (рисунок 1,а) и металлический (рисунок 1,б). Навеска исследуемого образца помещалась во внутреннем объеме камерного электрода. Особенностью применения графитового камерного электрода заключается в том, что ток дуги, проходящий по тонкой стенке, нагревает электрод и навеску образца до температуры 700–1100 К. Металлический камерный электрод с навеской образца нагревается до такой же температуры специальной электропечью, размещенной в штативе источника возбуждения спектров. При такой температуре соединения ртути разлагаются и ее пары через сопло в верхней части электродов поступают в плазму дугового разряда. Соединения других элементов, содержащиеся в образце, температура разложения и испарения которых выше, остаются в камерном электроде и не оказывают негативного влияния на результаты измерения. Применение камерных электродов позволило уменьшить фон, значительно усилить интенсивность аналитической линии ртути и устранить влияние третьих элементов на результаты определения концентрации ртути в продовольственном сырье, продуктах питания и других биологических материалах. Применение камерных электродов является одним из факторов, позволяющих повысить точность измерений. На рисунке 1 показаны кривые поступления паров ртути из камерных электродов при различной подготовке образцов к измерениям.



а, б – Камерные электроды графитовый и металлический

1 – обычная деструкция образцов; 2 – деструкция образцов с добавкой йодида калия

Рисунок 1 – Камерные электроды и кривые поступления паров ртути Hg 253,652 нм в плазму электрического разряда

Метрологическая оценка разработанного способа измерения концентрации ртути в биологических материалах выполнялась методом добавок (внесено–найдено). Для этого в образец с известной концентрацией ртути добавляется дозированное количество этого элемента. Результирующая концентрация ртути определялась АЭСМ. Внесенное количество ртути определялось как разность между измеренным экспериментально и известным содержанием ртути в образце. Выполнялось пять параллельных измерений. Учитывая, что среди полученных результатов возможны аномальные значения, оценивалась пригодность экспериментальных данных. Для этого экспериментальные результаты представляются в виде вариационного ряда C_1, C_2, C_3, C_4, C_5 . Так как аномальными могут быть крайние значения C_1 или C_5 , то от них сильно зависит среднее значение C_{cp} . Поэтому более эффективной статистической оценкой будет медиана $C_3 = C_{мд}$. Резко выделяющиеся результаты можно выявить с использованием Q -критерия [4]:

$$Q = \frac{C_n - C_{n-1}}{R}, \quad (1)$$

где C_n – аномальное значение,
 C_{n-1} – соседнее значение в вариационном ряду,
 $R = C_j - C_l$.

Если $Q_{\text{экср}} > Q_{\text{табл}}$, то результат C_n отклоняется с вероятностью, равной доверительной 0,95 [4, приложение 7].

Доверительные границы определялись по формуле с использованием t - критерия

$$\xi = C_{\text{мд}} \pm \frac{t_{\alpha, f} s}{\sqrt{n}}, \quad (2)$$

где $t_{\alpha, f}$ – критерий Стьюдента,
 n – число параллельных измерений (в нашем случае $n = 5$),
 $\alpha = 0,95$, $f = n - 1$, $s = \sqrt{s^2}$.

Дисперсия при малом объеме выборки определяется по формуле (3):

$$s^2 = \frac{1}{n-1} \left[\sum_{i=1}^n C_i^2 - \frac{1}{n} \left(\sum_{i=1}^n C_i \right)^2 \right]. \quad (3)$$

Среднеквадратическая погрешность отдельного результата измерения определялась по формуле [4]:

$$\Delta S_n = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (C_i - C_{\text{мд}})^2}{n-1}}, \quad (4)$$

где n – количество параллельных измерений;
 C_i – концентрация ртути при i -м измерении;
 $C_{\text{мд}}$ – значение медианы вариационного ряда результатов при n измерениях.

Погрешность определения концентрации ртути в продовольственном сырье и продуктах питания при доверительной вероятности $\alpha = 0,95$ определялась с использованием коэффициента Стьюдента t_α по формуле $\Delta C = t_\alpha \Delta S_n$. Результаты расчетов показали, что погрешность определения концентрации ртути зависит от её концентрации в исходном образце контролируемого продукта. При концентрации ртути в продукте $1,2 \cdot 10^{-3}$ мг/кг максимальная погрешность определения составила 21,5%, а при концентрации $7,5 \cdot 10^{-1}$ мг/кг – 9,2%.

Спектральные измерения биологических веществ выполняются чаще всего после минерализации органической составляющей исследуемого материала. Способ подготовки образцов к измерению спектральным методом является ответственным этапом исследований, так как в процесс минерализации возможна потеря некоторого количества контролируемого элемента. В практике подготовки образцов к спектральным измерениям нашли применение сухой и мокрый способы минерализации.

Сухой способ минерализации отличается простотой, удобством, доступностью и не требует применения реактивов, которые могут внести загрязнения в образец в процессе минерализации. Процесс сухой минерализации осуществляется при температуре выше 675 К. Для подготовки образцов биологических материалов для анализа на содержание ртути сухой способ минерализации не пригоден, так как давление паров ртути и ее соединений уже при температуре 375–400 К достигает больших значений.

При мокром способе минерализации разложение органического вещества производится кислотами или перекисью водорода при нагревании до температуры, не превышающей температуру 350–370 К. Этот способ нашел применение при подготовке образцов биологических материалов для определения спектральным методом содержания легколетучих элементов. Исследование методов мокрой минерализации показало, что хорошие результаты для

определения концентрации ртути дает применение смеси азотной HNO_3 и хлорной $HClO_4$ кислот. Недостатком данного метода минерализации является необходимость применения особо чистых кислот. Это необходимо, чтобы избежать загрязнения образцов нежелательными элементами за счет использования относительно большого количества применяемых кислот [2]. Затраты при использовании мокрого способа минерализации больше по сравнению с применением сухого способа. В настоящее время способ мокрого разрушения органической составляющей образцов для определения ртути, мышьяка и других легколетучих элементов в биологических материалах является предпочтительным [2].

Одной из задач при выполнении данных исследований была разработка способа мокрой минерализации, позволяющего исключить потери ртути в процессе подготовки образцов к исследованию АЭСМ [5]. Экспериментальные исследования показали, что тепловую обработку образцов биологических материалов для определения содержания ртути необходимо выполнять при температуре не выше 375 K . Согласно разработанной методике, органическая составляющая биологических образцов подвергается кислотной деструкции. Образец принятой массы помещают в колбу и обильно смачивается этиловым спиртом, затем добавляется концентрированная азотная кислота. После выдержки в течение $20\text{--}25\text{ мин}$ в колбу вносится дозированное количество концентрированной серной кислоты. Скорость внесения серной кислоты должна обеспечивать реакцию разложения азотной кислоты, не допуская ее бурного течения.

Деструкцию проводят на водяной бане при температуре не выше 370 K до полного просветления придонного слоя раствора в колбе. Время деструкции $45\text{--}60\text{ мин}$. По окончании процесса деструкции горячий деструктат фильтруют в емкость, в которую предварительно наливают раствор мочевины в количестве $3,5\%$ от количества деструктата. Колбу из-под деструктата и фильтр промывают горячей дистиллированной водой. Общий объем деструктата после промывки должен быть не больше 300 см^3 . В охлажденный деструктат добавляется 5% взвеси йодида меди. Содержимое колбы тщательно перемешивается и оставляется до полного осаждения осадка. После осаждения осадка надосадочная жидкость сливается. При этом необходимо не взмутить осадок. К осадку добавляется 5% десятипроцентного раствора сернокислого калия, перемешивается и фильтруется через однослойный беззольный бумажный фильтр (синяя лента). Колбу ополаскивают десятипроцентным раствором сернокислого калия и сливают на тот же фильтр. Весь осадок должен быть перенесен на фильтр. Фильтр с осадком подсушивается. В подготовленный электрод помещают фильтр вместе с осадком, добавляют $0,2\text{--}0,4\text{ см}^3$ спиртового раствора йода и $0,2\text{--}0,3\text{ г}$ йодида калия. Для экспериментальных исследований подготавливались 5 параллельных образцов одного продукта.

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 устанавливается в виде градуировочного графика 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 десяти ГОС с концентрацией ртути от $0,1$ до 100 мкг/кг .

Интенсивность спектральной линии зависит как от количественного содержания анализируемого элемента в ГОС, так и от условий возбуждения спектра, равномерности распределения атомов анализируемого элемента в ГОС, стационарности поступления атомов в облако плазменного разряда, аппаратных «шумов» и от ряда других факторов, в том числе случайных. 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 регрессивные 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 изучаемый процесс с большей или меньшей точностью. Регрессивный анализ позволяет оценить адекватность каждой модели и выбрать в качестве оптимального такое уравнение регрессии, которое обладает минимальной остаточной дисперсией адекватности. При построении регрессивных 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

$$y = a_0 + a_1x + a_2x^2 + \dots + a_mx^m, \quad (5)$$

где y – логарифм интенсивности спектральной линии,
 x – логарифм содержания элемента,
 a_i – коэффициент регрессии.

Коэффициенты регрессии a_i определяются способом ортогонализации Чебышева [6,7].

Для построения регрессивного уравнения выполнялось пять параллельных измерений концентрации ртути в каждом образце из комплекта ГОС. Резко выделяющиеся результаты измерения и доверительные границы определялись по формулам (1) и (2). Регрессивное уравнение для построения градуировочного графика рассчитывалось с использованием рекуррентных формул [6] по результатам определения концентрации ртути в каждом из комплекта ГОС и имеет вид

$$y = 2,7955 + 0,4843x + 0,0242x^2. \quad (6)$$

Все полученные результаты по определению концентрации ртути в ГОС и градуировочный график, построенный по уравнению (6), хранятся в специальной базе данных на жестком диске компьютера.

На рисунке 2 представлен градуировочный для определения концентрации ртути в продовольственном сырье и продуктах питания.

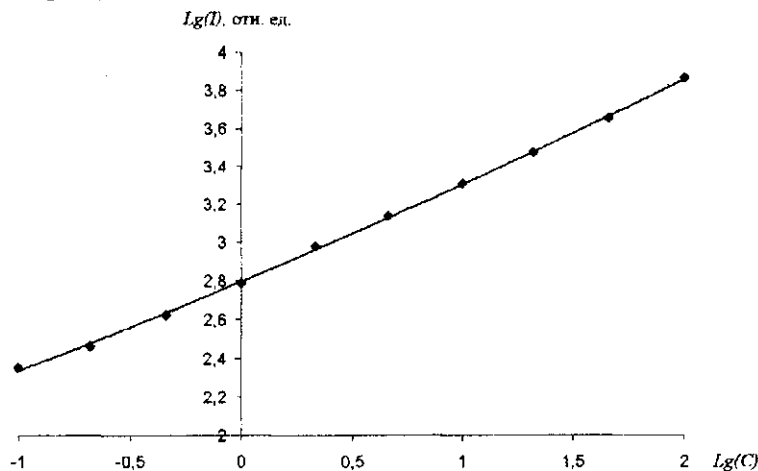


Рисунок 2 – Градуировочный график для определения концентрации ртути в продовольственном сырье и пищевых продуктах

Дисперсия адекватности регрессивного уравнения оценивается по формуле [8]:

$$S_r^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \tilde{y}_i)^2}{n - m - 1}, \quad (7)$$

где y_i – значение логарифма медианы интенсивности спектральной линии i -го образца;
 \tilde{y}_i – значение логарифма интенсивности спектральной линии i -го образца, рассчитанный по регрессивному уравнению (6), соответствующего известному значению логарифма 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, определяется по формуле (8):

$$S_e^2 = \frac{1}{(k-1)kn} \sum_{j=1}^n \omega_j \sum_{i=1}^k (y_{ij} - y_i)^2, \quad (8)$$

где y_{ij} – логарифм интенсивности аналитической линии при i -м параллельном измерении j -го 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 [4,8]:

$$S^2 = \frac{S_r^2(n-m-1) + S_e^2(k-1)kn}{kn-m-1}. \quad (9)$$

Заключение

Разработана методика выполнения измерений концентрации ртути в продовольственном сырье и продуктах питания с использованием атомного эмиссионного спектрального метода. Показано, что повышение точности определения концентрации ртути достигается применением оригинального метода подготовки образцов продовольственного сырья и продуктов питания к измерениям, позволяющего исключить потери ртути в процессе подготовки; применением графитовых и металлических камерных электродов специальной конструкции, позволяющих исключить влияние минеральной основы образцов и «третьих» элементов на результаты измерений; использованием статистического метода для обработки результатов измерений содержания ртути как в градуировочных образцах сравнения и построения на основе этих результатов регрессивного уравнения и градуировочного графика повышенной точности, так и в образцах продовольственного сырья и продуктах питания.

Литература

- 1 Игнатов, Б.И. Автоматизированный спектральный комплекс для анализа пищевых продуктов. / Б.И. Игнатов, А.Г. Непокойчицкий, К.В. Францкевич, С.Г. Астащенко, 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 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.
- 4 Орлов, А.Г. Методы расчета в количественном спектральном анализе. / А.Г. Орлов. – Л.: Недра, 1986. – С. 223.
- 5 Способ количественного определения ртути, мышьяка, кадмия, цинка, свинца, сурьмы в пищевых продуктах, объектах биологического и растительного происхождения, почвах: пат. 4355 Респ. Беларусь, МПК 7 G01N1/44, G01N21/73, //Астащенко С.Г., Игнатов Б.И., Непокойчицкий А.Г., и др.; № 970139; заявл. 1997.03.17; опубл. 2002.03.30 //Афіцыйны бюл. Нац. цэнтра інтэлектуал. уласнасці.– 2002. – № 1. – 152 с.
- 6 Львовский, Е.Н. Статистические методы построения эмпирических формул / Е.Н. Львовский. – М.: Наука, 1988. – 285 с.
- 7 Игнатов, Б.И. Количественное определение мышьяка в пищевых продуктах и сырье атомным эмиссионным спектральным методом. / Б.И. Игнатов, [и др.] // Вестник МГУП./УО «МГУП»; гл. ред. В.А. Шаршунов – Могилев: 2009. – Вып. 1(6). – С. 113–118.
- 8 Румшинский, Л.З. Математическая обработка результатов эксперимента. / Л.З. Румшинский. – М.: Наука, 1971. – С. 192.

Поступила в редакцию 8.12.2009