

Определение мышьяка методами пламенной и электротермической атомно-абсорбционной спектрометрии после микроволнового разложения проб. Сравнение методов

И. А. Филенко, к. т. н.¹

УДК 543.544.3

Содержание мышьяка в пищевой продукции строго регламентируется. В статье описано определение мышьяка в современных лабораторных условиях с использованием оборудования и реактивов российского производства методами атомно-абсорбционной спектрометрии с пламенной и электротермической атомизацией. Приведены результаты определения массовой доли мышьяка в образцах морепродуктов, выполнена статистическая обработка результатов и рассчитаны метрологические характеристики. Проведено сравнение методов.

Ключевые слова: мышьяк, атомно-абсорбционная спектрометрия, ААС, ААС ЭТА, микроволновое разложение под давлением

Высокий уровень мышьяка (As) в продуктах питания и питьевой воде может приводить к острым и/или хроническим отравлениям, характеризующимся поражениями кожи, сердечно-сосудистыми симптомами и, в некоторых случаях, полиорганной недостаточностью. В последние годы Китай, Россия и Марокко являются ведущими производителями мышьяка. Границей опасной дозы потребления считается суточная доза 3,0 мкг на кг массы тела [1].

Содержание мышьяка в пищевых продуктах и окружающей среде строго регламентировано. Так, предельное содержание мышьяка в молоке составляет 0,05 мг/кг, мясе – 0,1 мг/кг, хлебе и овощах – 0,2 мг/кг, пресноводной рыбе – 1,0 мг/кг, морской рыбе и морепродуктах – 5,0 мг/кг [2]. ПДК мышьяка в воде – 0,05 мг/дм³ (СанПиН 2.1.4.1074-01),

в воздухе – 0,0003 мг/м³ (ГН 2.1.6.1338-03), в почве – 2 мг/кг (ГН 2.1.7.2041-06 и ГН 2.1.7.2042-06). Мышьяк относится к веществам I класса опасности.

Морепродукты являются основным пищевым источником поступления мышьяка в организм человека [3].

К органическим соединениям мышьяка относятся арсенобетаин (ASB), монометилмышьяк (ММА), диметилмышьяк (DMA), арсенохолин (ASC) [4]. Токсичность As (III) выше, чем As (V).

Считается, что неорганические соединения мышьяка более токсичны, чем органические. Однако недавние исследования показывают, что некоторые мышьякоорганические соединения являются биодоступными и цитотоксичными с доказанной токсичностью, как у трехвалентного неорганического мышьяка [3, 4].

Определению мышьяка посвящено значительное количество исследований, согласно некоторым оценкам, начиная с середины прошлого века, опубликовано не менее нескольких сотен работ [5].

¹ ФГБУН Всероссийский институт научной и технической информации Российской академии наук (ВИНИТИ РАН), Москва, Россия. technologistf@mail.ru.

К основным методам определения мышьяка относят спектрометрические методы, спектрофотометрию и электрохимические методы, главным образом, инверсионную вольтамперометрию. Электрохимические методы считаются удобными в использовании из-за низкой стоимости, высокой скорости анализа, простоты, миниатюризации и портативности. Атомная спектрометрия, включая атомно-флуоресцентную, атомно-абсорбционную (ААС), атомно-эмиссионную спектрометрию, а также масс-спектрометрия, являются часто используемыми и общепризнанными методами определения мышьяка, обладающими высокими селективностью и чувствительностью и широким диапазоном линейности [6, 7]. Методы масс-спектрометрии часто применяются в сочетании с хроматографическими методами разделения форм мышьяка для повышения селективности и чувствительности определения [7–9]. В то же время методы масс-спектрометрии требуют сложного и дорогостоящего оборудования.

В отечественной аналитической практике аккредитованных лабораторий определение мышьяка в пищевом сырье производится, главным образом, методом атомно-абсорбционной спектрометрии с генерацией гидридов. ГОСТ Р 51766-2001 приводит значение предела обнаружения $0,0003 \text{ мкг/см}^3$ ($0,3 \text{ мкг/дм}^3$), границу относительной погрешности метода 35% ($n=2$, $P=0,95$) и рекомендует линейку градуировочных растворов в диапазоне рабочих концентраций от $0,001$ до $0,020 \text{ мкг/см}^3$ ($1\text{--}20 \text{ мг/дм}^3$) [10]. ГОСТ 31707-2012 (EN 14627:2005) приводит пример серии градуировочных растворов в диапазоне от $0,001$ до $0,010 \text{ мкг/см}^3$ ($1\text{--}10 \text{ мг/дм}^3$) с метрологическими характеристиками, определенными на основании результатов межлабораторных испытаний для образцов различной природы [11]. Например, для риса со средним содержанием мышьяка $0,298 \text{ мг/кг}$ приводятся относительные стандартные отклонения повторяемости $6,4\%$ и воспроизводимости 11% (пределы повторяемости и воспроизводимости $r=18\%$ и $R=30\%$).

Метод ААС с электротермической атомизацией (ААС ЭТА) применяется сравнительно реже. В ГОСТ Р 55447-2013 для кормового сырья предусмотрено использование нитратно-палладиевого модификатора в целях снижения матричного влияния. Метрологические характеристики метода составляют: граница относительной погрешности $\pm 26\%$ при вероятности $P=0,95$, для диапазона измерений от $0,05$ до $10,00 \text{ мг/кг}$ включительно [12]. ГОСТ 31870-2012 для определения тяжелых металлов

в воде устанавливает для мышьяка диапазон определений от $0,005$ до $0,3 \text{ мг/дм}^3$ с показателями точности 50% для диапазона $0,005\text{--}0,02 \text{ мг/дм}^3$ и 25% для диапазона свыше $0,02$ до $0,05 \text{ мг/дм}^3$ включительно [13].

Между тем, метод ААС ЭТА постоянно совершенствуется. Исследуются добавки, выравнивающие чувствительность измерений, разрабатываются и исследуются свойства химических модификаторов, а также модификации поверхности атомизатора и газовой фазы графитовой печи [14]. Показано, что добавление при определении мышьяка органических реагентов, содержащих метильные группы (уксусная кислота или метанол), выравнивает чувствительность ААС ЭТА-измерений [14]. Существенным преимуществом данных методов является возможность прямого дозирования пробы в графитовую кювету, без предварительной генерации гидридов. Совершенствуются и технические характеристики приборов, такие как соотношение сигнал/шум, чувствительность, а также программное обеспечение.

В настоящее время можно констатировать повышение интереса к приборам отечественных производителей. Последние так же предлагают методики собственной разработки для определения мышьяка в пробах пищевого сырья и пищевых продуктах. Можно отметить методики М 04-64-2017 (ГК «Льюмэкс») с диапазоном измерений $0,05\text{--}10 \text{ млн}^{-1}$ и относительной расширенной неопределенностью 26% и ФР.1.31.2021.39780 (ООО «Кортэк») с диапазоном измерений от $0,02$ до 10 мг/кг и показателем точности $39,7\%$. Однако эти методики ориентированы на использование только оборудования соответствующего производителя.

Цель работы состояла в реализации и сравнении методов пламенной ААС и ААС ЭТА применительно к образцам пищевого сырья на оборудовании отечественного производства.

Объекты и методы исследования

В качестве объекта исследования отбирали пробы рыбы и морепродуктов. Навеску пробы $0,50 \text{ г}$ помещали в контейнер, добавляли 2 см^3 воды и 5 см^3 азотной кислоты HNO_3 , для жирных продуктов рекомендуется добавка H_2O_2 , и подвергали микроволновому разложению на установке МС-10 (Россия). Микроволновое разложение позволяет количественно окислить все формы мышьяка до As(V) и полностью разложить органическую матрицу. Температура поднималась ступенчато от 100 до $160 \text{ }^\circ\text{C}$ с шагом $20 \text{ }^\circ\text{C}$ и выдержкой 120 с на каждом этапе

разложения. После разложения пробы минерализат количественно переносили в стаканы на 50 см³, выпаривали до остаточного содержания жидкости ≈0,5–1 см³, разбавляли 0,1 М HNO₃ и переносили в мерную колбу на 25 или 50 см³, доводя до метки тем же раствором кислоты.

Анализ минерализатов проводили на атомно-абсорбционных спектрометрах: Квант-2МТ с генератором ртутно-гидридным ГРГ-113, дейтериевой коррекцией фона, (пламенный метод); Квант-Z, Зеемановская коррекция фона (метод ЭТА).

Источники резонансного излучения – спектральная лампа с полым катодом типа ЛТ-6М.

Реактивы: азотная кислота ОСЧ, ГСО мышьяк 7976-2001 (0,1 г/дм³), пероксид водорода 30%, боргидрид натрия NaBH₄. Для метода ААС ЭТА использовался модификатор матрицы, 1%-ный раствор нитрата никеля в 2% растворе азотной кислоты. Модификатор добавлялся в количестве 2 мкл на 1000 мкл минерализата. Для создания инертной атмосферы использовался аргон ВЧ 99,998%. Все реактивы российского производства.

Градуировочная зависимость для электротермического определения построена по пяти точкам: 0,4; 1,0; 5,0; 10; 20 мкг/дм³. Полученный массив точек аппроксимирован линейной зависимостью с RSD 1,04%, R²=0,999.

Для пламенного определения построены две градуировочные зависимости: по четырем точкам 1,0; 2,0; 4,0; 10 мкг/дм³ и по шести точкам 5,0; 10; 20; 40; 50; 100 мкг/дм³. Обработка пиков велась по интегралу. Построение градуировок в двух перекрестных интервалах концентраций позволило улучшить метрологические характеристики зависимостей, а именно: погрешность калибровки (RSD) и R². Полученные массивы точек имеют RSD 0,50%, R²=0,997 и RSD 0,77%, R²=0,9979 соответственно.

Расчет содержания мышьяка проводился по формуле:

$$C = \frac{VC_x}{1000m}, \text{ [мг/кг]} = \text{[млн}^{-1}\text{]}, \quad (1)$$

где V – объем, до которого доведен минерализат (25 или 50 см³); C_x – показания прибора, мкг/дм³; m – навеска пробы, г; 1000 – коэффициент пересчета в мг.

Измерения на пламенном спектрометре проводили с пламенем пропан-воздух с подачей дополнительного окислителя. Измерения с ЭТА проводили с использованием графитовой печи с пиролитическим покрытием, инертная атмосфера – аргон, температурная программа печи представлена в табл. 1. Объем пробы, дозируемой в печь – 10 мкл.

Таблица 1. Температурная программа определения мышьяка

Режим	Наращение, с	Выдержка, с	Температура, °С	Газ
Испарение 1	3	5	110	+
Испарение 2	3	5	130	+
Пиролиз 1	1	1	150	+
Пиролиз 2	3	5	500	+
Пиролиз 3	0	5	1100	+
Атомизация	0	0,5	2550	–
Очистка	0	0,5	2650	+

Результаты исследований и их обсуждение

На основании массивов данных, полученных при построении градуировочных зависимостей, вычислены пределы обнаружения (Limit of Detection, LOD) обоих методов как отношение тройного стандартного отклонения минимального аналитического сигнала к наклону графика, LOD = 3S₀/b (S/N = 3).

Стабильность градуировочных характеристик в обоих случаях контролировалась по стандартному раствору с концентрацией 5,0 мкг/дм³ (0,005 мг/дм³). По набранному в течение двух месяцев массиву данных, составившему 20 пар параллельных измерений, установлены внутрилабораторные метрологические характеристики методов. Результаты приведены в табл. 2.

В целях выявления точек выхода процесса из стабильного состояния построены контрольные карты Шухарта. Пример построения карт Шухарта приведен для метода пламенной спектрометрии (рис. 1). Положение точек на картах позволяет сделать вывод о стабильности аналитического сигнала как аппаратной функции прибора.

В качестве объекта исследования выбраны образцы морепродуктов: омуль, треска, креветки классификации 70/90 и 90/120. После пробоподготовки

Таблица 2. Пределы обнаружения, повторяемости, воспроизводимости и показатель точности

Метод	Предел обнаружения, мкг/дм ³	Показатель точности, %	Предел повторяемости, r, %	Предел воспроизводимости, R, %
ААС ЭТА	0,10	13	13	18
ААС пламя	0,29	15	16	21

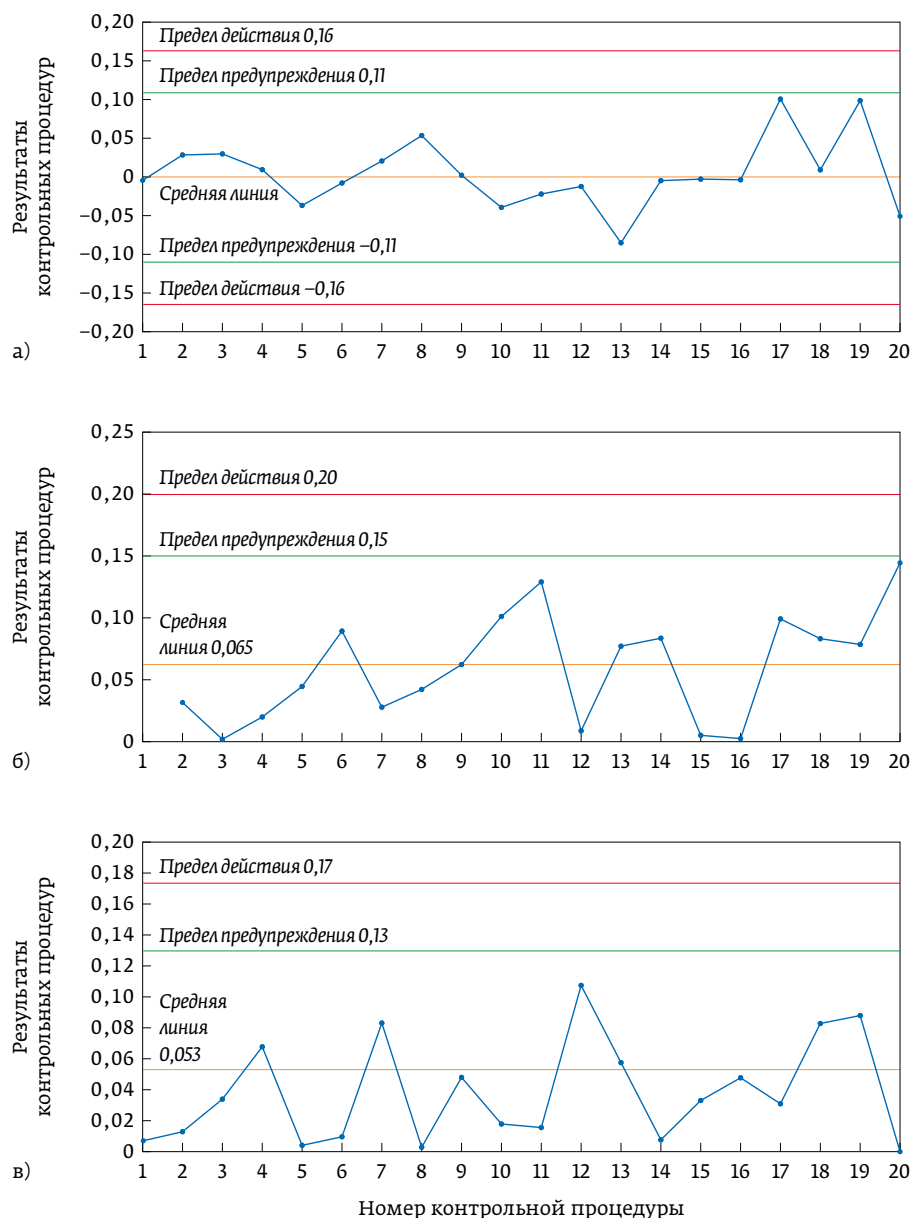


Рис. 1. Контрольные карты Шухарта: а – контроль точности; б – контроль внутрилабораторной прецизионности; в – контроль повторяемости

минерализаты проанализированы обоими методами.

Выполнен расчет неопределенности методов [15, 16], которая составила $U_{отн} = 19\%$ при уровне доверия $P = 0,95$ и коэффициенте охвата $k = 1,96$. Коэффициент охвата установлен на основании вычисления числа степеней свободы по формуле Велча – Саттервейта [15].

Результаты измерений представлены в табл. 3.

Для проверки гипотезы о равенстве средних применен t -критерий для двух независимых выборок (двухвыборочный t -критерий). Определено

средневзвешенное стандартное отклонение s_c по стандартным отклонениям результатов сравниваемых методов, установлено, что различие между двумя средними значениями, полученными по разным методикам, незначимо.

Сопоставимость показателей воспроизводимости двух разных методов может быть связана с техническим совершенствованием метода ААС ЭТА, который в своей современной реализации позволяет прямое дозирование пробы в графитовую кювету, что позволяет избежать потерь и нестабильности на стадии образования гидридов в пламенном методе.

При показаниях прибора менее нижней калибровочной точки, использование формулы (1) позволяет дать одностороннюю оценку содержания мышьяка в пробе. Для колбы 25 см³ и навески 1,0 г для пламенного метода эта оценка составляет $C < 0,025$ млн⁻¹, для метода ЭТА $C < 0,01$ млн⁻¹. Эти значения лежат ниже нормативов содержания мышьяка в пищевом сырье и позволяют дать достоверную оценку безопасности продуктов. Однако такая навеска может создавать неблагоприятный режим микроволнового разложения, создавая избыточное давление в контейнере. Использование навески массой 0,5 г дает

Таблица 3. Результаты измерений содержания мышьяка в морепродуктах методами пламенной и электротермической ААС

Объект	Содержание мышьяка, $C \pm U$, мг / кг [млн ⁻¹]	
	ААС ЭТА	ААС пламя
Омуль	$0,36 \pm 0,07$	$0,32 \pm 0,06$
Треска	$0,15 \pm 0,03$	$0,14 \pm 0,03$
Креветки 70/90	$2,3 \pm 0,4$	$2,1 \pm 0,4$
Креветки 90/120	$1,0 \pm 0,2$	$0,90 \pm 0,17$

односторонние оценки 0,05 и 0,02 млн⁻¹ соответственно, что так же достаточно для большинства продуктов.

Заключение

Выполнено определение мышьяка в морепродуктах на отечественном оборудовании методами атомно-абсорбционной спектроскопии с пламенной и электротермической атомизацией. Установлены внутрилабораторные метрологические характеристики обоих методов и достигаемые ими пределы обнаружения. Показатели точности составили 13 и 15% для методов ЭТА и пламенной ААС соответственно, что не уступает показателю, приведенному в ГОСТ [10, 11] и составляющему 35% для метода пламенной ААС. Вычислена неопределенность результатов измерений. Сравнение результатов по средневзвешенным стандартным отклонениям позволило сделать вывод о незначимости их расхождения.

Литература / References

1. Nurchi V. M. et al. Arsenic Toxicity: Molecular Targets and Therapeutic Agents. *Biomolecules*. 2020. 10(2): 235.
2. ТР ТС 021/2011. Технический регламент Таможенного союза «О безопасности пищевой продукции» (с изменениями на 25 ноября 2022 года). Технический регламент Таможенного союза от 09.12.2011 № 021/2011. 173 с.
TR TS 021/2011. Tekhnicheskii reglament Tamozhennogo sojuza o bezopasnosti pishchevoi produkcii. 173 p.
3. Luvonga C. et al. Organoarsenicals in Seafood: Occurrence, Dietary Exposure, Toxicity, and Risk Assessment Considerations. A Review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2020. 68(4): 943-960.
4. Zhao F. et al. Simultaneous Determination and Distribution Analysis of Eleven Arsenic Species in Vegetables. *Microchemical Journal*. 2023. 193: 109168.
5. Tyson J. The Determination of Arsenic Compounds: a Critical Review. *International Scholarly Research Notices*. 2013. 2013: 835371.
6. Yu H. et al. Recent Developments in Determination and Speciation of Arsenic in Environmental and Biological Samples by Atomic Spectrometry // *Microchemical Journal*. 2020. 152: 104312.
7. Francesconi K. A., Kuehnelt D. Determination of Arsenic Species: a Critical Review of Methods and Applications, 2000-2003. *Analyst*. 2004. 129(5): 373-395.
8. Nawrocka A. et al. Simple and Reliable Determination of Total Arsenic and Its Species in Seafood by ICP-MS and HPLC-ICP-MS. *Food Chemistry*. 2022. 379: 132045.
9. Luvonga C. et al. Determination of Total Arsenic and Hydrophilic Arsenic Species in Seafood. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2021. 96: 103729.
10. ГОСТ Р 51766-2001. Сырье и продукты пищевые. Атомно-абсорбционный метод определения мышьяка. М.: Стандартинформ, 2011. 10 с.
GOST R 51766-2001 Raw Material and Food-stuffs. Atomic Absorption Method for Determination of Arsenic. Moscow: Standartinform Publ., 2011. 10 p.
11. ГОСТ 31707-2012 (EN 14627:2005) Продукты пищевые. Определение следовых элементов. Определение общего мышьяка и селена методом атомно-абсорбционной спектроскопии с генерацией гидридов с предварительной минерализацией пробы под давлением. М.: Стандартинформ, 2014. 13 с.
GOST 31707-2012 Foodstuffs. Determination of Trace Elements. Determination of Total Arsenic and Selenium by Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry (HGAAS) after Pressure Digestion. Moscow: Standartinform Publ., 2014. 13 p.
12. ГОСТ Р 55447-2013. Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Определение содержания кадмия, свинца, мышьяка, ртути, хрома, олова методом атомно-абсорбционной спектроскопии. М.: Стандартинформ, 2014. 17 с.
GOST R 55447-2013 Feedstuffs, Compound Feeds, Feed Raw Materials. Determination of Cadmium, Lead, Arsenic, Mercury, Chromium, Tin by Atomic Absorption Spectroscopy. Moscow: Standartinform Publ., 2014. 17 p.
13. ГОСТ 31870-2012. Вода питьевая. Определение содержания элементов методами атомной спектроскопии. М.: Стандартинформ, 2013. 19 с.
GOST 31870-2012. Drinking water. Determination of elements content by atomic spectrometry methods. Moscow: Standartinform Publ., 2013. 19 p.
14. Бурьлин М. Ю., Пупышев А. А. Развитие метода электротермической атомно-абсорбционной спектроскопии в 2005-2016 гг. *Журнал аналитической химии*. 2017. 72(9): 801-815.
Burylin M. Y., Pupyshv A. A. Development of Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry in 2005-2016. *Journal of Analytical Chemistry*. 2017. 72(9): 935-946.
15. ГОСТ 34100.3-2017/ISO/IEC Guide 98-3:2008. Неопределенность измерения. Часть 3. Руководство по выражению неопределенности измерения. М.: Стандартинформ, 2018. 104 с.
GOST 34100.3-2017/ISO/IEC Guide 98-3:2008. Uncertainty of measurement. Part 3. Guide to the expression of uncertainty in measurement. Moscow: Standartinform Publ., 2018. 104 p.
16. Руководство ЕВРАХИМ / СИТАК СГ 4. Количественное описание неопределенности в аналитических измерениях. Третье издание. 2012. 165 с.
EURACHEM / CITAC Guide. Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement. Third Edition. 2012. 165 p.

Статья поступила в редакцию 11.12.2023

Принята к публикации 29.01.2024

Авторы / Authors

Филенко Игорь Анатольевич, кандидат технических наук, старший научный сотрудник Отдела научной информации по проблемам химии и химической технологии Отделения научной информации по проблемам химии и наук о материалах ФГБУН Всероссийского института научной и технической информации Российской академии наук (ВИНИТИ РАН), Москва. Область научных интересов: получение комплексных удобрений, переработка фосфатного сырья.
Filenko Igor Anatolievich, Ph.D., Senior Researcher at the Department of Scientific Information on Chemistry and Chemical Technology of the Department of Scientific Information on Chemistry and Materials Sciences Russian Institute for Scientific and Technical Information (VINITI RAS), Moscow. Research interests: production of complex fertilizers, processing of phosphate raw materials.
technologistf@mail.ru
ORCID 0000-0002-4204-295X

Конфликт интересов / Conflict of Interest

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
The authors declare no conflict of interest.



Международная выставка и форум по фармацевтике и биотехнологиям



2–4 апреля 2024 | Санкт-Петербург

Поддержка:



Организатор:

