

Bor-bestemmelse i plantemateriale ved hjælp af dianthrimidmetoden

Determination of Boron in plant materials by the dianthrimidmethod

Poul Hansen

Resumé

Det undersøges, om temperaturen ved tørringen af det friske materiale, calciumilte-tilsætning ved foraskningen, reduktion med hydrazinsulfat og tilsætning af nitrat og metaller, samt om stofmængden og opløsningsmidlets mængde og syrestyrke har betydning for analyseresultatet ved bestemmelse af bor i plantemateriale ved hjælp af dianthrimidmetoden. Resultaterne tyder på, at den hidtil anvendte metode stadig kan bruges som rutinemetode, dog bør opløsningsmidlets syrestyrke øges, især ved foraskningen af større stofmængder.

Indledning

Ved bestemmelsen af bor i plantemateriale eller andet materiale anvendes ofte kolorimetrisk metode, der er baseret på dannelsen af et farvet kompleks mellem borsyre og forbindelser afledt af antrakinon, f.eks. dianthrimid (Koch & Koch-Dedic 1964). Denne dianthrimid-metode anvendes således af flere laboratorier under Statens Forsøgsvirksomhed i Plantekultur. Metoden er relativt let, idet den er baseret på en tørforaskning, ekstraktion af asken med saltsyre, til en aliquot heraf sættes konc. svovlsyre og dianthrimidreagens, hvorefter farven efter udvikling ved opvarmning måles. Når vandoptagelse i reagenserne udelukkes og den forskrevne opvarmnings-temperatur og -periode følges, synes reproducerbarheden relativt god.

Visse andre forhold hævdes dog undertiden at være af betydning for opnåelsen af det rigtige analyseresultatet. Der kan være mulighed for, at

bor i form af borsyre kan fordampe ved tørring af materialet ved for høj temperatur. Ved tørring af jord ved 105°C fandt Riehm (1957) dog kun lidt lavere borindhold end efter tørring ved 35 og 70°. Også under foraskningen skulle der kunne forsvinde borsyre, især hvis stoffet er surt. Flere anbefaler derfor tilsætning af calciumilte inden foraskning (Hatcher & Wilcox 1950, Humphries 1956, Jackson 1958). Gupta (1967) finder dog ingen forskel med og uden CaO-tilsætning, og ifølge Koch & Koch-Dedic (1964) forsvinder der intet bor under 600°C. Ved bor-bestemmelse bl.a. i jord reduceres med hydrazinsulfat, bl.a. for at hindre interferens fra nitrat og metaloxider ('Arbejdsmetoder III del', Riehm 1957, Müller 1957). Det synes ikke helt klart, om noget lignende kunne være nødvendigt for planteanalyser, ifølge Koch & Koch-Dedic (1964) er en del metaller uden betydning i så henseende. Det har været hævdet, at analyseresultatet kunne afhænge af den indvejede stofmængde. Der har været interesse for at få belyst, om de ovennævnte forhold spiller en rolle for rutinebestemmelsen af bor i plantemateriale. Dette er søgt klarlagt i nogle undersøgelser udført på statens forsøgsstation, Blangstedgaard.

Metode

Reagenser:

- 1) Svovlsyre, ren konc. H_2SO_4 , vf. 1,84
- 2) Saltsyre, ca. 0,1 N HCl
- 3) Borsyre, H_3BO_3 p.a.
- 4) Dianthrimid, Merck p.a. 0,5 g opløses i 1 liter konc. H_2SO_4 .

Dianthrimidet kan, såfremt det ikke er tilstrækkelig rent, omkrystalliseres (se bortalsbestemmelsen i jord, Arbejdsmetoder, III, del).

Standarder:

Ud fra borsyre fremstilles standardopløsninger af 0,1 N HCl indeholdende de 0,0 - 0,5 - 1,0 - 1,5 - 2,0 - 2,5 og 3,0 μg bor/ml.

Analysens udførelse:

0,5 - 1,0 g tørstof (afhængigt af bor-indholdet) foraskes i el-ovn i mindst 3 timer ved 500-550°C. Efter afkøling tilsættes til asken nøjagtig 10 ml 0,1 N HCl, og der filtreres gennem et tæt filter, f.eks. Munktell nr. 00. 2 ml filtrat eller standardopløsning afpipetteres og overføres til en flaske med glasprop. Der tilsættes 10 ml konc. H_2SO_4 . Efter *fuldstændig* afkøling til stuetemperatur tilsættes nøjagtig 4 ml dianthrimidreagens. Flaskerne henstilles nu i varmeskab ved 70°C i 6 timer (et automatur sættes til at afbryde opvarmningen efter 6 timers forløb). Måles ved 615 $m\mu^*$. Der sammenlignes med standarder for hver serie. Der anvendes bor-frit glas.

Forsøg og resultater

Forsøg 1. Tørringstemperatur og CaO-tilsætning

Prøver à ca. 2 kg friskvægt blev udtaget af henholdsvis æbleblade, æbler (frugter), roeblade, roe (rod) og græs. Materialet i hver prøve blev skåret i småstykker og blandet godt. Der blev af hvert hold udtaget 6 prøver à ca. 250 g, de blev parvis tørret ved følgende temperaturer:

- I 60°C i 3 1/2 døgn
- II 80°C i 2 »
- III 105°C i 2 »

Derpå blev prøverne formalet og holdt i eksikator, herefter analyseret med to fællesanalyser som følger:

- A. Efter omstående analyseforskrift.
- B. Inden foraskning blandes prøven (ca. 0,5 g stof) med 100 mg CaO. Ved opløsning af asken bruges 0,5 N HCl. Ellers som A.

Analyserne er foretaget i hold, så evt. seriefejl ved analysen vil ramme alle behandlinger ens.

Resultater

Det gennemsnitlige indhold af alle prøver var 26,1 ppm B, med en samlet udtagings- og analysefejl på 2,0 ppm, d.v.s. en variationskoefficient pr. analyse i gns. på 7,6%. Ud fra en variansanalyse på materialet (i alt 120 analyser) var der en signifikant vekselvirkning mellem materialeart og tørringstemperatur (tabel 1). Det skyldes især, at det er resultaterne for roeblade, som afviger, formentlig til dels fordi tørringen af de store prøver af roeblade ved 80°C har været mindre fuldstændig end i øvrige tilfælde, som det ses af tørstofprocenterne. Men der er ikke tale om en tydelig, generel forskel som følge af tørringstemperaturen.

Derudover var der som følge af behandlingerne kun en mindre, men signifikant forskel p.gr.a CaO-tilsætning, i gns. 26,6 ppm med CaO mod 25,6 ppm uden CaO.

Tabel 1. Bor-indhold (ppm af tørstof) og tørstof (% af friskvægt) i forskellige materialer efter forskellige tørringstemperatur

	ppm B:			% tørstof		
	60°	80°	105°	60°	80°	105°
Æbler	21,8	21,0	20,7	13,8	13,6	12,1
Æbleblade	25,5	25,4	25,5	35,3	34,2	33,5
Roer	13,2	13,1	13,2	19,1	18,3	18,1
Roeblade	63	56	69	14,0	18,0	14,1
Græs	8,7	7,0	7,2	31,1	28,6	28,4

Forsøg 2. Tilsætning af ammoniumpersulfat og hydrazinsulfat sammen med mulige interfererende stoffer

Af 16 forskellige prøver (5 af æbleblade, 1 af -rod, 1 af -grene, 2 af æbler, 3 af *Asparagus plumosus*, 2 af græs, 2 af roer) afvejedes 3 analyser, der behandlede som følgende:

- I ingen tilsætning.
- II inden foraskning iblandes 20 mg $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$
- III inden foraskning iblandes 10 mg KCl, 10 mg CaCl_2 , 5 mg MgCl_2 , 1 mg af henholdsvis FeCl_3 , CaSO_4 , ZnSO_4 , MnSO_4 .

*) er ved Bt-bestemmelse i jord ændret til 620 $m\mu$.

Efter foraskning og HCl-tilsætning udtages af hver ekstrakt to prøver:

- A. analyseres efter omstående forskrift;
 B. der tilsættes 400-500 mg ammoniumpersulfat inden de 10 ml konc. H_2SO_4 , og prøven står 1 time ved $105^\circ C$. Derpå tilsættes 150 mg hydrazinsulfat, prøven omrystes, og står 1 time ved 105° (som Bt i jordbundsanalyser). Efter afkøling tilsættes 4 ml dianthrimid-reagens, herpå fortsættes der sammen med og som A.

Der er sørget for ens temperatur i prøverne ved dianthrimid-tilsætning.

Resultater

I alt 96 analyser. Gns. indhold 21,5 ppm, analysefejl 1,45 ppm. cV pr. analyse 6,7%.

Eneste signifikante forskelle: A i gns. 22,0 ppm, B 20,9 ppm. Behandling med persulfat og hydrazinsulfat giver altså en smule lavere værdier, der var ingen interferens fra tilsat nitrat eller metaller hverken med eller uden denne behandling.

3. Mængden af stof og opløsningsmiddel

Det har undertiden været hævdet, at analyseresultatet kan afhænge af den stofmængde, der er for-

asket. Derfor blev følgende forsøg på materiale af æbleblade gennemført, kombineret faktorielt:

- I Forasket ca. 0,5 g stof
 II » » 1,0 » »
 III » » 1,5 » »
 IV » » 2,0 » »

A. 10 ml 0,1 N HCl sat til asken, filtreret, derpå udtagning til den ønskede endelige fortynding.

B. Hele væskemængden til opnåelse af den ønskede fortyndingsgrad sat til asken inden filtrering.

1. Endelig fortynding ved måling: 20 ml 0,1 N HCl pr. g stof.
 2. Endelig fortynding ved måling: 40 ml 0,1 N HCl pr. g stof.

Endvidere blev der afvejet prøver à 0,1, 0,2, 0,3 og 0,4 g stof, tilsat 10 ml 0,1 N HCl, filtreret og udtaget 2 ml efter sædvanlig procedure.

Alle kombinationer er udført i 5 gentagelser.

Resultater

Ifølge tabel 2 giver 0,1 g stof og et stort fortyndingsforhold et relativt højt analyseresultat. Ind-

Tabel 2. Forskellige stofmængder, samt tilsætning af forskellige mængder 0,1 N HCl før og efter filtrering ppm B af tørstof

g afvejet tørstof	efter filtrering	ml HCl pr. g afvejet tørstof før filtrering										extinkt. ca.	
		100	70	50	40	33	25	20	10	5	2,5		
0,1	100	34,6											0,17
0,1	70		30,5										0,23
0,1	50			29,5									0,28
0,2	50			31,1									0,28
0,3	33				30,1								0,32
0,4	25					29,3							0,38
0,5	20						29,4						0,46
0,5	40				32,2			30,7					0,28
1,0	20							29,3	26,6				0,41-0,46
1,0	40					30,3			26,7				0,24-0,26
1,5	20							29,5		22,0a)			0,34-0,44
1,5	40				30,2					22,7a)			0,20-0,26
2,0	20							31,5			23,1a)		0,35-0,45
2,0	40				29,7						18,9a)		0,18-0,25

a) ofte bundfald i diglen efter HCl-tilsætning.

vejning, aflæsning m.v. bliver da også mere nøjagtigt under disse forhold. Med indvejede stofmængder mellem 0,2 og 2,0 g, og når HCl-tilsætningen sker direkte til asken med 20-50 ml pr. g indvejet stof, er der ikke tydelige forskelle i analyseresultaterne. Men er fortyndingsforholdet inden filtreringen på 10 ml HCl pr. g stof og derunder, her svarende til indvejning af 1 g stof og derover og tilsætning af 10 ml 0,1 N HCl, fås for lave resultater. Der var da også i flere af disse tilfælde et bundfald i diglen, som ikke var opløst inden filtreringen. Aflæsning ved et højt niveau (extinktion 0,35-0,45) giver ikke nogen signifikant forskel fra aflæsning ved et lavere niveau (0,18-0,28).

4. Saltsyrens styrke

Den foregående undersøgelse tyder på, at tilsætning af 10 ml 0,1 N HCl til asken fra større stofmængder er en for ringe syrestyrke til, at al asken opløses. Derfor blev der til asken fra stofmængder på 0,5 til 2,0 g æbleblade anvendt 10 ml HCl af normaliteter på henholdsvis 0,1, 0,5, 1,0 og 2,0. Der var ikke nogen sikker forskel på de forskellige behandlinger (tabel 3) og således heller ikke nogen sikker afvigelse fra anvendelsen af 10 ml 0,1 N HCl til 0,5 g stof, som tidligere har givet et godt resultat. For at undgå risikoen for ufuldstændig opløsning af asken med 10 ml 0,1 N HCl ved større stofmængder, kan det anbefales at gå over til en generel anvendelse af 0,5 N HCl. Kraf-

Tabel 3. Forskellige syrestyrker (HCl) og stofmængder
Gns. af 4 analyser

Spredning pr. analyse 0,6 ppm		
HCl- styrke	g afvejet stof	ppm B
0,1 N	0,5	25,7
0,5 N	0,5	25,5
0,5 N	1,0	25,3
0,5 N	1,5	25,0
0,5 N	2,0	25,3
1,0 N	0,5	25,8
1,0 N	2,0	25,3
2,0 N	0,5	26,5
2,0 N	2,0	25,3

tigere HCl-styrker giver ved sammenblanding med svovlsyren en luftudvikling af tiltagende voldsomhed.

5. Kontrol ved tilsætning af borax-opløsning inden analyse

Til kontrol på metoden er der med mellemrum foretaget analyse af en kendt borax-opløsning, ved afsætning af 100 μ l dels i tomme digler, dels i digler med stof.

Efter tørring foretages analysen efter den anførte metode. Selv om der i enkelte tilfælde er afvigelser fra det teoretiske på over 10% (tabel 4), ser det dog i gns. ud til, at metoden nogenlunde tilfredsstillende gengiver den tilsatte bor. I et enkelt tilfælde stod nogle prøver et par uger eller mere mellem tilsætning af bor og analyse. Hovedparten af den tilsatte bor var da forsvundet.

Tabel 4. Genfundne ug efter tilsætning af 10 ug B inden foraskning

	Tom digel			Digel med stof		
1968	9,4	9,4	9,4	8,4	9,1	9,0
1969	10,2	10,2	9,8	8,9	8,8	8,9
1970	9,9	9,9	10,1	11,4	10,9	10,5
1970	11,8	12,7	11,8	11,6	10,9	9,8
1971	10,1	10,0	10,1	10,5	10,1	10,1

Konklusion

For at sikre mod en ufuldstændig opløsning af asken ved indvejning af større stofmængder, kan det anbefales at øge HCl-styrken fra 0,1 til f.eks. 0,5 N. Herudover synes der ikke at være nogen grund til at ændre på metoden, idet de i undersøgelserne fundne virkninger af forskellige behandlinger synes at være så små eller usikre, at de næppe vil spille nogen større rolle, især når der tages hensyn til uundgåelig variation ved prøveudtagning etc. Kun ved ønske om meget nøjagtige analyser, specielt i materiale af et lavt borindhold, kan der være grund til at underkaste metoden nærmere undersøgelse

Summary

Determination of boron in plant materials by the dianthrimid-method

Drying of fresh plant material by either 60, 80 or 105°C or addition or not of CaO before ashing

showed only slightly different results by boron determination in plant materials performed by dry ashing (500°C), extraction with 0.1 N HCl and colorimetric measurement after addition of sulphuric acid and dianthrimid-reagent. Neither did reduction by hydrazine sulfate or addition of nitrate or metals noteworthy affect the result. Dissolving the ash from 1.0 g dry matter or more of apple leaves by 10 ml 0.1 N HCl was not complete and yielded too low results. This could be counteracted by increasing the normality of HCl to 0.5 or more.

Litteratur

- Arbejdsmetoder III. Del. Fælles arbejdsmetoder for jordbundsanalyser. København 1963.
- Gupta, U. C. The boron determination of some plant materials as determined with and without adding CaO before ashing. - *Plant & Soil* 26: 202-204. 1967.
- Hatcher, J. T. & Wilcox, L. V. Colorimetric determination of boron using carmine. - *Analyt. Chem.* 22: 567-569. 1950.
- Humphries, E. C. - Mineral components and ash analysis. - I 'Paech & Tracey: Moderne Methoden der Pflanzanalyse', Berlin - Göttingen - Heidelberg 1956, p. 468-502.
- Jackson, M. L. Soil chemical analysis. - New York 1958.
- Koch, O. G. & Koch-Dedic, G. A. Handbuch der Spurenanalyse. - 1964.
- Muller, F. W. Serienmässige Borbestimmung in Böden mittels der Heisswasserextraktion nach Berger und Truog. - *Landwirtsch. Forsch.* 10: 32-35. 1957.
- Riehm, H. Untersuchungen über die in Augustenburg ausgearbeitete Methode zur Bestimmung des heisswasserlöslichen Bors im Boden nach Berger und Truog. - *Agrochimica* 1: 91-106. 1957.

Manuskript modtaget den 17. juli 1972