

Bestemmelse af cobolt i afgrøder med flammeløs atomabsorption

Determination of cobalt in plant material by flameless atomic absorption

N. Kr. Sørensen

Resumé

Nærværende undersøgelse har haft til formål at anvise en enklere metode til coboltbestemmelse i plantemateriale end den hidtil anvendte. Den stigende interesse for nævnte analyse samt den nylige fremkomst af grafit-atomizer som supplerende udstyr til atomabsorption har dannet baggrund for undersøgelsen.

Anvendelse af grafit-atomizer (flammeløs atomabsorption) indebærer en betydelig forenkling af coboltbestemmelsen, ikke mindst på grund af denne metodes store følsomhed. Sammenligningsanalyser med den hidtil anvendte kolorimetriske metode viser tillige, at de to metoder giver resultater af samme størrelse og reproducerbarhed.

Summary

Determination of cobalt in plant material by flameless atomic absorption

The purpose of the present investigation was to show a less labourious method for determination of cobalt in plant material. The growing interest for cobalt determinations as well as the recently introduced equipment to flameless atomic absorption (the graphite furnace) formed the background for the investigation.

In comparison with colorimetry the flameless atomic absorption method imply a considerable simplification of the analytical procedure. Comparative determinations showed practically identical results and reproducibility according to the two methods.

Indledning

Cobolt er et essentielt mikromineral for husdyrene, hvorimod dets nødvendighed for plantevæksten ikke er bevist. For væksten af bælgplanter spiller det dog en indirekte men betydelig rolle, idet rodknoldbakteriernes kvælstofbinding kræver medvirken af det coboltholdige vitamin B₁₂.

For praksis knytter interessen for coboltbestemmelser sig udelukkende til bestemmelser af fodermidlernes indhold, som normalt varierer mellem 0,01 og 0,8 ppm i tørstoffet.

Variationen er betinget af såvel fodermidlets art som af voksemediets indhold af plantetilgængeligt cobolt, men som hovedlinje kan anføres, at hjemmeavlede fodermidler er coboltfattige i sammenligning med importerede kraftfodermidler. Med den stigende anvendelse af hjemmeavlede og ofte eensidige fodermidler øges følgelig risikoen for coboltmangel (acoboltose) hos kvæg, hvilket har medført en øget interesse for coboltanalyser.

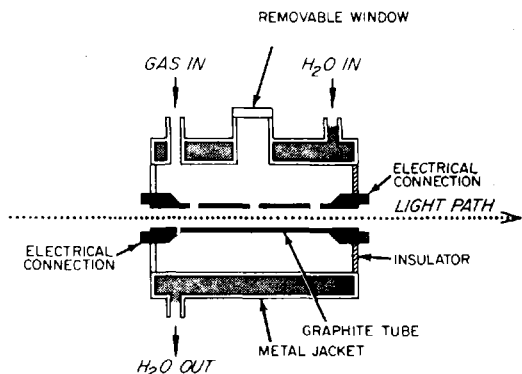
Da koncentrationen af cobolt i afgrøder som nævnt er meget lav, har bestemmelsen hidtil

været forbundet med betydelige vanskeligheder. Det har således været nødvendigt at foraske store stofmængder for at gennemføre analysen med de hidtil kendte kolorimetriske metoder, som tillige er tidskrævende. Anvendelse af atomabsorptions spektrofotometer muliggør en enklere bestemmelse, (Gelmann 1972, Jago m. fl. 1971), men vi har fundet, at følsomheden var for lav til at sikre en rimelig reproducerbarhed ved rutineanalyser.

I den seneste tid er der imidlertid udviklet en grafit-atomizer, der kan erstatte den sædvanlige atomizer, hvor forstøvningen foregår gennem en flamme. Ved anvendelse af denne teknik øges apparaturets følsomhed stærkt; for cobolt således med omkring 75 gange. Dette er tilstrækkeligt til at muliggøre coboltbestemmelser i afgrødeekstrakter efter foraskning af nogle få gram stof. Nærværende undersøgelse har haft til formål at klarlægge, om denne analyseteknik kan erstatte den hidtil anvendte, og betydelig mere arbejdskrævende kolorimetriske metode.

Apparatur

Som grundudstyr anvendtes et Perkin-Elmer atomabsorptions-spektrofotometer, model 303, forsynet med recorder, Hithaci Perkin-Elmer, model 801. Virkemåden heraf er tidligere kort beskrevet (Henriksen, 1965). I det følgende skal der tilsvarende gives en beskrivelse af det supplerende udstyr, grafit-atomizer, model HGA 70.



Figur 1. Skematisk tværsnit af grafit-atomizer.

Figur 1 viser et skematisk tværsnit gennem grafit-atomizeren. Den består af et grafitrør, 5 cm langt og 1 cm i diameter og placeret således, at lysstrålen fra hulkatodelampen passerer gennem røret. Enderne af røret er forbundet med 2 grafit-elektroder, der igen er kredsforbundet med en elektrisk styringsenhed, fra hvilken der kan sendes en strøm på op til 500 amp. og 10 volt gennem røret. Røret og elektroderne er anbragt i et vandkølet metalhus.

For at røret ikke skal bryde i brand under opvarmningen, er det konstant omstrømmet af en inaktiv luftart – enten argon eller kvælstof. Gassen strømmer ind gennem små huller i grafitrøret og ud gennem rørets endeåbninger.

Styringsenheden har 3 trin, kombineret med 7 programmer, hvilket gør det muligt at vælge den optimale indstilling for det enkelte metal. Når de optimale betingelser een gang er fastlagt kører styringsenheden hele processen.

Analysens forløb

Med en mikropipette indføres en passende prøvemængde, normalt 10-20 mikroliter, gennem vinduet i huset og ind i grafitrøret, hvorefter styringsenheden startes.

På 1. trin fordampes prøvens opløsningsmiddel. Dette sker normalt ved 100°C og varer 30-40 sec.

På 2. trin, der normalt varer 45-90 sec. nedbrydes prøvens matrix, dvs. organisk stof foraskes, komplekse forbindelser spaltes og letfordampelige forbindelser afdestilleres. Temperaturen vælges så højt som muligt under hensyntagen til at det stof, der skal bestemmes, bliver i røret. Jo højere temperatur, der kan benyttes, desto bedre nedbrydes prøvens matrix og desto mindre bliver interferensproblemerne.

På 3. trin, der normalt varer 20 sec. atomiseres det metal, der skal bestemmes dvs. metallet bringes på atomform ved fordampning. Temperaturen kan på dette trin varieres op til 2600°C. Atomiceringen sker momentant, og måleresultatet registreres af recorderen.

Følsomhed

På almindeligt atomabsorptionsudstyr sendes den forstøvede prøve gennem en flamme. Ved denne fremgangsmåde opholder de enkelte atomer sig kun i målefeltet en lille brøkdel af et sekund, ligesom kun en lille del af atomerne opholder sig der på samme tidspunkt.

Med grafit-atomizer atomiseres hele prøven på een gang, og de enkelte atomer opholder sig i målefeltet op mod 1 sekund; derfor kan man med grafitudstyr bestemme meget mindre koncentrationer end med flammeudstyr.

Med grafit-atomizer udstyr kan der ved rutineanalyser påvises ned til 2 μg Co pr. liter (1 % absorption), medens der på flamme kræves 150 μg Co pr. liter for et tilsvarende udslag.

Inteferensproblemer

Inteferensen kan deles i non specifik baggrundsabsorption og matrix effekt.

Salte, der fordamper samtidig med det metal, der skal bestemmes, kan absorbere noget af det udsendte lys. Denne effekt benævnes non specifik baggrundsabsorption, og viser sig som et udslag på recorderen. Er denne absorption kraftig umuliggør den bestemmelserne, medens der kan korrigeres for en svag baggrundsabsorption ved hjælp af en deuterium baggrunds-korrektor. Den maksimalt tilladelige saltmængde varierer fra 5 til 20 gram pr. liter afhængig af saltets art og af det metal, der skal bestemmes.

Matrixeffekten viser sig ved, at mange salte påvirker størrelsen af det signal en given mængde af et metal udsender. Det er derfor vigtigt, at standardopløsningerne har samme saltindhold som prøven. Varierer prøvernes saltindhold må der korrigeres ved at arbejde efter additionsmetoden.

Reagenser

- 1) APDC-opløsning: 0,50 g ammoniumpyrrolidindithiocarbamat opløses i 25 ml vand. Opløsningen må fremstilles hver dag.
- 2) Methylenklorid
- 3) Saltsyre, 5 n

- 4) Saltsyre, 0,1 n
- 5) Salpetersyre, konc.

a) Standardopløsninger:

Forrådsopløsning 1 fremstilles ved at opløse 0,476 g $\text{CoSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$, ad 1 liter i 0,1 n HCl. Ud fra denne opløsning, der indeholder 100 ppm Co, fremstilles forrådsopløsning 2 med 1 ppm Co, og herfra igen brugsopløsning med 0,02 ppm Co, begge ved fortynding med 0,1 n HCl.

Analysens udførelse:

1-4 gram tørstof overføres til en kvartsdigel. Tørstoffet forkulles forsigtigt over en el-varmepåse, således at stoffet ikke bryder i brand. Når røgd udviklingen er ophørt overføres diglen til en foraskningsovn, hvor den står ved 500°C i 4 timer.

Efter afkøling fugtes asken med konc. salpetersyre. Diglen anbringes på sandbad indtil asken er tør; overføres derefter til forasknings-ovnen, hvor den står 1 time ved 500°C.

Hvis asken stadig indeholder spor af kulstof gentages behandlingen med salpetersyre indtil asken er kulstoffri.

Efter afkøling opløses asken i 20 ml 5 n saltsyre. Diglen anbringes på sandbad og inddampes til tørhed. Derpå tilsættes 20 ml 0,1 n HCl og koges i 15 minutter på sandbad, idet diglen dækkes af et urglas.

Den varme opløsning filtreres gennem et 9 cm filter ned i en 100 ml skilletragt. Digel og filter skylles flere gange med varm 0,1 n saltsyre, indtil slutrumfang på ca. 50 ml.

Efter afkøling tilsættes 2 ml APDC-opløsning og rystes et øjeblik. Derefter tilsættes 5 ml methylenklorid og rystes i 1 minut.

Methylenkloridfasen filtreres gennem et 7 cm filter ned i en lille kolbe med glasslib.

Standardkurve:

Standardkurven fremstilles ved at overføre 0 – 1 – 5 – 10 – 20 og 50 ml brugsopløsning i 100 ml skilletragte. Der fyldes op til ca. 50 ml med 0,1 n HCl, hvorefter der fortsættes med APDC og methylenklorid som ovenfor angivet.

Måling:

Der blev arbejdet med prøver på 10 mikroliter, og absorptionen målt på det beskrevne apparatur, indstillet i overensstemmelse med fabrikantens opgivelse for bestemmelse af cobolt, dvs. bølgelængde 240,7 nm, slit 3, range UV. Grafit-atomizeren: 30 sec. på trin 1 ved 100°C, 30 sec. på trin 2 ved 1100°C og 20 sec. på trin 3 ved 2600°C.

Forsøg og resultater

Tilsætning af cobolt

For at belyse om der ved den beskrevne fremgangsmåde tabes cobolt undervejs i analysearbejdet, blev en serie på 4×4 græsprøver à 2 gram tilsat 0 – 0,25 – 0,5 og 1,0 µg cobolt i form af 0 – 2,5 – 5 og 10 ml af en 0,1 ppm opløsning. Prøverne blev inddampet til tørhed på sandbad, hvorefter foraskning og analyse gennemførtes som foran beskrevet.

Tabel 1. Tilsætning af cobolt inden foraskning, gns. af 4 bestemmelser

ppm Co		% af tilsat Co genfundet
tilsat	fundet	
0	0,119	
0,125	0,238	95
0,250	0,360	95
0,500	0,619	100

Af tabel 1 fremgår, at der i gennemsnit er genfundet 97% af de tilsatte coboltmængder, hvilket må anses for tilfredsstillende i betragtning af den sikkerhed, hvormed analysen kan gennemføres.

Stofmængdens indflydelse

Ved visse analyser påvirker stofmængden analyseresultaterne. For at se om dette også var tilfældet ved coboltanalysen blev 8 prøver analyseret med to forskellige stofmængder. Resultatet fremgår af tabel 2. Der er fundet samme gennemsnit i de to serier, og de fundne forskelle ligger indenfor den normale variation. Det må således antages, at resultaterne er uafhængige af stofmængden i arbejde.

Tabel 2. Stofmængdens indflydelse på analyse-resultatet, ppm Co af tørstof

Stof	g stof i arbejde	
	2	4
Græs	0,02	0,03
»	0,03	0,03
Sukkerroeffald	0,05	0,05
Græs	0,07	0,07
»	0,08	0,06
»	0,09	0,09
»	0,09	0,10
Solsikkeexpeller	0,56	0,55
Gns.	0,124	0,123

Overensstemmelse og reproducerbarhed

For at få et mål for overensstemmelse og reproducerbarhed blev en serie prøver analyseret for cobolt efter den foran beskrevne metode, samt efter den tidligere anvendte kolorimetrisk metode.

Denne metode er afledt af én af *Dissing Nielsen* (1969) beskrevet metode til bestemmelse af Co i jord og er kort beskrevet følgende: 5-10 gram tørstof vådforaskes. Efter afkøling tilsættes 5 ml Na-citrat stødpude og neutraliseres med NaOH. Der tilsættes 0,25 ml nitrosol opløsning. Efter henstand til næste dag rystes ud i toluol og absorptionen måles på spektrofotometer ved 550 nm.

Tabel 3. Sammenlignende kolorimetrisk og atom-absorptiometriske coboltbestemmelser i 12 foder-middelp prøver (uafhængige dobbeltbestemmelser)

Stof	ppm Co			
	kolorimetrisk		absorptiometrisk	
	1	2	1	2
Havrehalm	0,03	0,02	0,04	0,04
Bederøer, rod	0,03	0,02	0,05	0,03
Græs	0,04	0,06	0,06	0,05
»	0,05	0,04	0,05	0,05
»	0,09	0,11	0,10	0,11
»	0,11	0,11	0,12	0,11
Sukkerroeffald	0,11	0,14	0,13	0,09
Græs	0,12	0,13	0,13	0,13
»	0,17	0,19	0,18	0,14
Sheaexpeller	0,16	0,19	0,18	0,18
Bederøer, top	0,23	0,17	0,25	0,23
Solsikkeexpeller	0,48	0,54	0,49	0,55
Fælles gns.	0,139		0,145	
Standardafv.	± 0,021		± 0,018	

Af tabel 3 fremgår, at det fundne niveau er sammenfaldende for de to metoder. Reproducerbarheden er lidt bedre for atomabsorption, idet standardafvigelsen er fundet til 0,018 ppm mod 0,021 for den kolorimetrisk metode.

Diskussion og konklusion

De gennemførte undersøgelser viser, at det er muligt at bestemme coboltindholdet i plante-materiale med flammeløs atomabsorption.

Det første kritiske punkt i analysen er foraskningen, der skal være fuldstændig. Hvis asken indeholder spor af kulstof, findes for lave værdier, men da denne metode kræver betydelig mindre stofmængde i arbejde end de hidtil kendte metoder er foraskningen nemmere at få komplet.

Ekstraktionen af cobolt over i methylenklorid har to formål, dels at koncentrere coboltindholdet, og dels at bortskaffe interfererende salte. Ekstraktionen sker med ammoniumpyrrolidindithiocarbamat som kompleksdanner. Dette stof har ved det valgte pH på 1,3 den fordel, at det kun kompleksbinder nogle få tunge metaller, og ingen af disse er tilstede i planterne i større mængder. Derved opnås, at den organiske fase bliver relativt saltfattig, således at interferencer på målingen undgår. Der er ikke konstateret interferencer i coboltanalysen, hver-

ken non-specifik baggrundsabsorption eller matrixeffekt. Den beskrevne metode har den fordel fremfor de traditionelle kolorimetrisk metode, at den er relativ enkel og derfor mindre arbejdskrævende. Metoden er velegnet til rutineanalyser og giver sikrere resultater, hvorfor dens indførelse ikke alene har bevirket en forenkling, men tillige en forbedring af coboltbestemmelserne.

Litteratur

- Dissing Nielsen, J.*, 1969. – Coboltindholdet i en række danske jorder. Tidsskr. f. Planteavl, 72, 610-17.
- Fernandez, F. J. and Manning, D. C.*, 1971. – Atomic absorption analyses of metal pollutants in water using a heated graphite atomizer. Atomic Absorption Newsletter, 10 (3), 65-69.
- Gelman, A. L.*, 1972. – Determination of cobalt in plant material by atomic absorption. J. Sci. Fd. Agric., 23, 299-305.
- Henriksen, Aage*, 1965. – Sammenlignende kompleksometriske og atomabsorptiometriske magnesiumbestemmelser i jord. Tidsskr. f. Planteavl, 69, 328-33.
- Jago, J., Wilson, P. E. og Lee, B. M.*, 1971. – Determination of submicrogram amounts of cobalt in plant and animal tissues by extraction and atomicabsorption spectroscopy. The Analyst, 96, 349-53.

Manuskript modtaget den 22. februar 1974