

ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN—POLONIA

VOL. XXI, 7

SECTIO DD

1966

Z Katedry Chemii Fizjologicznej Wydziału Weterynaryjnego WSR w Lublinie
Kierownik: prof. dr Józef Skulmowski

Józef SKULMOWSKI, Janusz WIERCIŃSKI

**Oznaczanie mikroelementów w paszach metodą polarograficzną.
Cz. IV. Chromatograficzno-polarograficzna metoda oznaczania
pierwiastków śladowych Cd, Pb i Bi obok innych,
ekstrahowanych ditizonem (Co, Cu, Ni i Zn)**

Stosunki ilościowe, w jakich występują mikroelementy Co, Cu, Ni, Zn, Cd, Pb i Bi w paszach oraz zbliżone potencjały półfali niektórych z tych pierwiastków, nie pozwalają na oznaczenie ich wszystkich obok siebie na drodze polarograficznej. Stosowanie różnych roztworów podstawowych, mające na celu rozdzielenie fal, nie daje pożądaných rezultatów, bądź znacznie obniża dokładność oznaczania.

Polarograficzna analiza tych mikroelementów w paszach wymaga oddzielenia ich od siebie tak, aby w analizowanym roztworze nie znalazły się obok te pierwiastki, których fale zlewają się ze sobą, lub pierwiastki mające bardziej dodatnie potencjały, a występujące w olbrzymiej przewadze ilościowej.

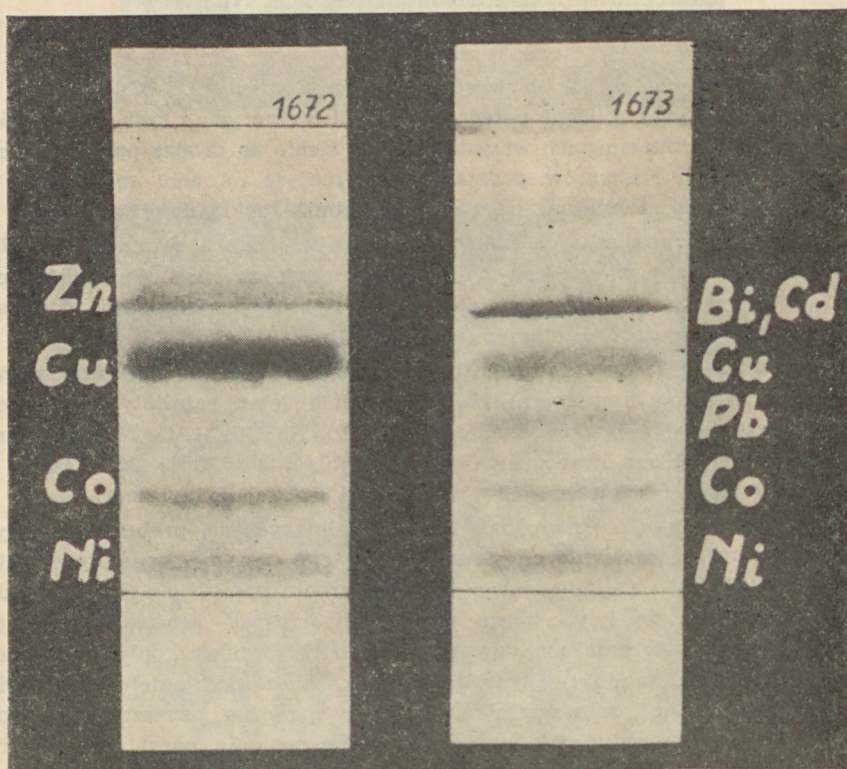
Wysoką dokładność rozdziału można uzyskać na drodze chromatograficznej. Zastosowana metoda chromatografii bibułowej dała dobre rezultaty przy rozdzielaniu i oznaczaniu pierwiastków śladowych Co, Cu, Ni i Zn (1, 2). Na otrzymanych chromatogramach obserwowano również oddzielanie Pb od Cd i Bi, a także tych pierwiastków od innych, mogących przeszkodzić w analizie polarograficznej.

Początkowo jednak, w przypadku trudno spalających się próbek, nie odzyskiwano całej wartości dodawanych standardów. Straty spowodowane były ulatnianiem się Cd, Pb, Bi podczas suchego spalania próbki paszy, jak również podczas podobnego spalania wyciętych pasm chromatograficznych. Eluowanie tych pierwiastków z chromatogramu nie dawało pożądaných wyników, gdyż jednocześnie wymywane z nich produkty hydrolizy bibuły, bądź pochłonięte przez bibułę połączenia organiczne rozpuszczalnika, zakłócały przebieg oznaczania polarograficznego. Takie same zakłócenia otrzymywano po spaleniu pasm chromatogramu za pomocą tylko HClO_4 . Wycięte skrawki bibuły, podobnie jak próbkę paszy, należało mineralizować za pomocą mieszaniny kwasów HClO_4 , HNO_3 i H_2SO_4 .

Celem pracy jest analiza Cd, Pb i Bi oraz określenie warunków dla jednoczesnego oznaczania w jednej próbce paszy siedmiu pierwiastków śladowych — Cd, Pb, Bi, Co, Cu, Ni i Zn.

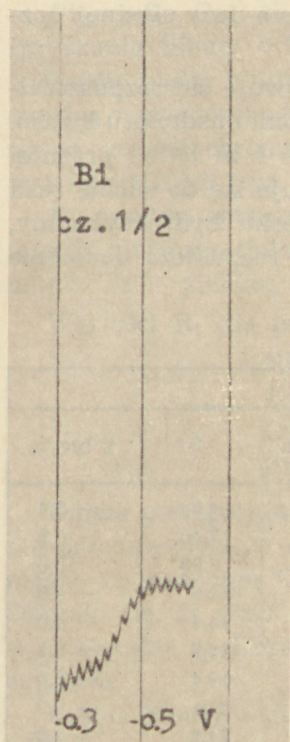
PRZEBIEG OZNACZANIA

10 g próbkę paszy, uprzednio rozdrobnioną i wysuszoną do stałej wagi, umieszcza się w kolbie Kjeldahla, dodaje 2 ml stęż. H_2SO_4 , 4 ml 60% $HClO_4$ i 70 ml stęż. HNO_3 . Kolbę odstawia się aż do uspokojenia początkowo bardzo żywej reakcji, a następnie umieszcza nad grzejnikiem. Ogrzewa się początkowo ostrożnie do momentu zaprzestania pienienia, potem silniej, aż do odbarwienia roztworu. Kolbę ostudza się, dodaje dwukrotnie 10 ml HCl (1 : 1) i odparowuje, w celu zupełnego odpędzenia HNO_3 . Po rozpoczęciu wydzielania się białych dymów, zawartość kolby ogrzewa się dalej przez kilkanaście minut. Ma to na celu zupełne usunięcie krzemionki, która w tych warunkach ulega odwodnieniu i staje się łatwa do odsączenia. Pozostałość w kolbie rozpuszcza się w ok. 100 ml wody, ogrzewa do wrzenia i po ostudzeniu sączy przez twardy sączonek.



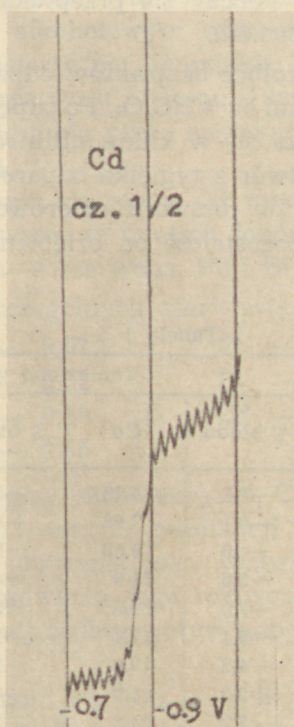
Ryc. 1. Chromatogramy oznaczanych pierwiastków śladowych po wywołaniu rubeanowodorem i ditizonem (1672) oraz siarczkami amonu (1673)

Chromatograms of trace elements studied, after development with rubeanic acid and dithizone (1672) and with ammonia sulphide (1673)



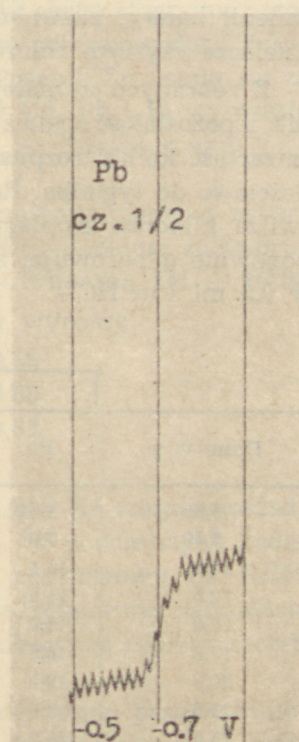
Ryc. 2. Polarogram bizmutu zarejestrowany od $-0,3$ do $-0,7$ V wzgl. dna przy wartości kompensacji 4,0

Polarogram of bismuth obtained within the range from $-0,3$ to $-0,7$ V (vs. Hg), compensation = 4,0



Ryc. 3. Polarogram kadmu zarejestrowany od $-0,7$ do $-1,1$ V wzgl. dna przy wartości kompensacji 2,5

Polarogram of cadmium obtained within the range from $-0,7$ to $-1,1$ V (vs. Hg.), compensation = 2,5



Ryc. 4. Polarogram ołowiu zarejestrowany od $-0,5$ do $-0,9$ V wzgl. dna przy wartości kompensacji 4,3

Polarogram of lead obtained within the range from $-0,5$ to $-0,9$ V (vs. Hg.), compensation = 4,3

Otrzymany roztwór przenosi się do rozdzielacza o poj. 750 ml, dodaje 10 ml 20% cytrynianu amonu i kilka kryształków chlorowodoru hydroksylaminy, po czym zobojętnia rozcieńczonym NH_3 (1 : 20) wobec czerwieni fenolowej do $\text{pH} = 8,4$. Następnie dodaje się porcjami po 10 ml 0,1% roztwór ditizonu w chloroformie i wytrząsa tak długo, aż nowa porcja (po zlanu poprzedniej) przestanie zmieniać barwę. Mieszaninę przepłukuje się w dalszym ciągu 10 ml chloroformu, dodaje 5 ml HNO_3 (1 : 1) i powtórnie zobojętnia amoniakiem do $\text{pH} 8,4$. Zawartość wytrząsa się jeszcze raz ok. 2 min. z 10 ml roztworu ditizonu i, jeżeli roztwór ten nie

zmienił barwy, ekstrakcję kończy się przepłukaniem fazy wodnej rozdzielacza czystym chloroformem.

Z zebranych w małej kolbce ekstraktów odparowuje się rozpuszczalnik, a pozostałość spala z 1 ml 60 % HClO_4 . Po odpędzeniu nadmiaru kwasu, zawartość kolbki rozpuszcza się w kilku mililitrach 1 m HCl i przenosi ilościowo do tygielka. Roztwór z tygielka odparowuje się do sucha, osad zwilża kilkoma kroplami 5% roztworu chlorowodoru hydroksylaminy, ponownie odparowuje, a pozostałość po oziębieniu rozpuszcza dokładnie w 0,5 ml 1 m HCl .

Tabela 1

Dano w γ	Znaleziono w γ					
	Pb	% błędu	Cd	% błędu	Bi	% błędu
5,00	4,62	-7,6	4,78	-5,4	4,58	- 8,4
7,50	7,04	-6,1	7,68	-4,3	7,00	- 6,6
10,0	10,4	+4,0	9,50	-5,0	9,00	-10,0
12,5	11,8	-5,6	11,9	-4,8	11,9	- 4,8
15,0	14,0	-7,0	14,5	-3,3	14,4	- 4,0
17,5	16,6	-5,1	17,1	-2,3	16,6	- 5,1
20,0	19,2	-4,2	19,6	-2,0	19,4	- 3,0
22,5	23,0	+2,2	21,9	-2,7	21,1	- 6,2
25,0	24,2	-3,2	24,3	-2,8	24,2	- 3,2

Tab. 2. Ołów

Znaleziono w 10 g paszy w γ	Dodano w γ	Powinno być razem	Znaleziono razem w γ	Odzyskano	% błędu
7,04	2,00	9,04	9,14	2,10	+5,0
7,04	3,00	10,04	9,85	2,81	- 6,3
7,04	4,00	11,04	10,05	3,71	-7,2
7,04	5,00	12,04	11,60	4,56	-8,8
7,04	6,00	13,04	12,80	5,76	-4,0
7,04	7,00	14,04	13,70	6,66	-4,9
7,04	8,00	15,04	14,75	7,71	-3,6
7,04	9,00	16,04	15,80	8,76	-2,7
7,04	10,0	17,04	16,90	9,86	-1,4

0,1 lub 0,2 ml tego roztworu nanosi się w postaci wąskiego pasma na paski bibuły Whatmana nr 3 o wymiarach 6×16 cm w odległości 4 cm od zakończenia paska. Chromatogram rozwija się na 10–12 cm drogą techniką wstępującą w rozpuszczalniku o składzie: metylo-etylo-keton: HCl c. wł. 1,19 : H_2O : HNO_3 c. wł. 1,4 (75 : 12 : 10 : 5).

Plamy Co, Cu i Ni wywołuje się po wysuszeniu chromatogramu przez spryskanie bibuły 0,1% alkoholowym roztworem rubeanowodoru i zawieszenie paska w atmosferze par amoniaku. Położenie Zn ustala się za pomocą rozcieńczonego roztworu ditizonu. Plamy Cd, Pb i Bi wywołuje się na drugim chromatogramie przez spryskanie go rozcieńczonym roztworem $(\text{NH}_4)_2\text{S}$ (ryc. 1).

W miejscu zatrzymania się jonów Ni otrzymujemy plamę o zabarwieniu niebiesko-fioletowym, w miejscu jonów Co — plamę żółto-brunatną, Cu — zieloną, Zn — czerwoną, Pb i Bi — brunatną, Cd — żółtą.

Wartości R_f dla poszczególnych pierwiastków wynoszą:

Ni — 0,07	Pb — 0,36
Co — 0,22	Bi — 0,60
Cu — 0,50	Cd — 0,61
Zn — 0,65	

Dalsze postępowanie przy oznaczaniu Co, Cu, Ni i Zn zostało dokładnie przedstawione w cz. I naszych publikacji (1). W późniejszych badaniach do oznaczeń Co używano jako roztwór podstawowy 1m KCN. Okazało się, że przy stosowaniu tego roztworu eliminowano całkowicie w ostatecznie analizowanej próbce wpływ przypadkowych zanieczyszczeń cynkiem.

Pasma bibuły z plamami Pb oraz Cd i Bi (jako jedno pasmo) mineralizuje się na mokro w małych kolbkach o poj. 25 ml za pomocą mieszaniny: 0,2 ml stęż. H_2SO_4 , 1 ml stęż. HNO_3 i 1 ml 60% HClO_4 . Po zupełnym spaleniu (roztwór musi być bezwzględnie bezbarwny) odpędza się nadmiar kwasów, a zawartość rozpuszcza się w 1 m HCl, przenosi do tygielków, po czym odparowuje do sucha nad grzejnikiem elektrycznym.

Pozostałość w tygielku rozpuszcza się w 1 ml roztworu podstawowego o składzie: 0,42 m winianu sodu + 0,08 m kwaśnego winianu

Tab. 3. Kadm

Znaleziono w 10 g paszy w γ	Dodano w γ	Powinno być razem	Znaleziono razem w γ	Odzyskano	% błędu
8,40	2,00	10,40	10,55	2,15	+7,5
8,40	3,00	11,40	11,50	3,10	+3,3
8,40	4,00	12,40	12,30	3,90	-2,5
8,40	5,00	13,40	13,20	4,80	-4,0
8,40	6,00	14,40	14,05	5,65	-5,9
8,40	7,00	15,40	15,10	6,70	-4,3
8,40	8,00	16,40	15,90	7,50	-6,3
8,40	9,00	17,40	17,30	8,90	-1,1
8,40	10,0	18,4	17,9	9,5	-5,0

Tab. 4. Bizmut

Znaleziono w 10 g paszy w γ	Dano w γ	Powinno być razem	Znaleziono razem w γ	Odzyskano	% błędu
4,72	2,00	6,72	6,52	1,80	—10,0
4,72	3,00	7,72	7,34	2,62	—12,7
4,72	4,00	8,72	8,38	3,66	— 8,5
4,72	5,00	9,72	9,84	5,12	+ 2,4
4,72	6,00	10,72	10,40	5,70	— 5,0
4,72	7,00	11,72	11,45	6,75	— 3,6
4,72	8,00	12,72	12,20	7,50	— 6,3
4,72	9,00	13,72	13,40	8,70	— 3,3

sodu + 0,05 g żelatyny rozpuszczone w 1 l wody. Krzywe polarograficzne rejestruje się po odpędzeniu tlenu w zakresie potencjałów:

dla Bi i Cd od $-0,3$ do $-1,2$ V

dla Pb od $-0,5$ do $-1,0$ V (ryc. 2—4).

Potencjały półfali, mierzone względem nasyconej elektrody kalomelowej (NEK), wynoszą dla: Pb = $-0,48$, Bi = $-0,32$ i Cd = $-0,65$ V.

W tab. 1 podano wyniki oznaczeń standardów Cd, Pb i Bi po ekstrakowaniu ich z roztworu i rozdzieleniu na bibule. W tab. 2, 3 i 4 zestawiono rezultaty oznaczeń tych pierwiastków w roślinnej mieszance paszowej, wzbogacanej odpowiednio wzrastającymi wartościami standardów. Otrzymane różnice określają błąd metody, który nie przekracza 12,7% dla bizmutu, 8,8% dla ołowiu i 7,5% dla kadmu.

WNIOSKI

Opisana metoda pozwala na stosunkowo dokładne w porównaniu z innymi metodami oznaczenie mikroelementów Cd, Pb i Bi w paszach. Uzyskane wyniki podczas analizowania standardów oraz sian wzbogaczanych w znane ilości mikroelementów Cd, Pb i Bi wykazują w przeważającej ilości przypadków straty tych pierwiastków. Błąd oznaczenia dla dodawanych wartości w zakresie od 0,2 do 1 γ na gram suchej masy paszy waha się w granicach: od 1,4 do 8,8% dla Pb, od 1,1 do 7,5% dla Cd i od 2,4 do 12,7% dla Bi.

Postępowanie analityczne różni się od przebiegu analizy Co, Cu, Ni i Zn, opisaney w cz. I naszych publikacji (1), zasadniczo tylko sposobem mineralizacji próby. Ponieważ doświadczalnie stwierdzono, że po spalaniu próbki na sucho, jak i na mokro, w opisanych warunkach ekstrakcja zachodzi w sposób ilościowy, metoda ta może służyć do oznaczania 7 pier-

wiastków — Co, Cu, Ni, Zn, Cd, Pb i Bi. W tym przypadku upraszcza ona postępowanie do jednej procedury i może być stosowana do oznaczeń masowych w pracowniach wyposażonych w polarograf.

PIŚMIENNICTWO

1. Skulmowski J., Wierciński J.: Oznaczanie mikroelementów w paszach metodą polarograficzną. Cz. I. Metodyka oznaczania Co, Cu, Ni i Zn w sianie. Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska, sectio DD, vol. XIV (1959), 12, Lublin 1960.
2. Skulmowski J., Wierciński J.: Oznaczanie mikroelementów w paszach metodą polarograficzną. Cz. II. Zawartość mikroelementów Co, Cu, Zn i Mn w sianie łąkowym woj. lubelskiego. Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska, sectio DD, vol. XVIII (1963), 1, Lublin 1964.
3. Skulmowski J., Wierciński J.: Oznaczanie mikroelementów w paszach metodą polarograficzną. Cz. III. Zawartość molibdenu w sianach łąkowych woj. lubelskiego. Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska, sectio DD, XX (1965), 15, Lublin 1966.

Определение микроэлементов в кормах полярографическим методом. Часть IV. Определение микроэлементов Cd, Pb и Bi и микроэлементов Co, Cu, Ni и Zn, экстрагированных дитизоном, хромато-полярографическим методом

Резюме

Авторы представили разработанный хромато-полярографический метод одновременного определения в одной пробе корма микроэлементов Cd, Pb и Bi и других микроэлементов, экстрагированных дитизоном (Co, Cu, Ni, Zn). Перед определением проводилась минерализация высушенной пробы со смесью кислот HNO_3 , HClO_4 и H_2SO_4 , экстракция микроэлементов дитизоном в среде цитрата при $\text{pH}=8,4$ и разделение этих элементов хроматографией на бумаге с помощью растворителя в составе метилэтилкетон: $\text{HCl}:\text{H}_2\text{O}:\text{HNO}_3$ (75:12:10:5).

Полученные отдельные полосы бумаги с Ni ($R_f=0,07$), Co ($R_f=0,22$), Pb ($R_f=0,36$), Cu ($R_f=0,50$), Bi, Cd, Zn ($R_f=0,60-0,65$) были превращены в пепел, а микроэлементы анализировались полярографически. Для обозначения Cd, Pb и Bi был применен основной раствор состава: 0,42 м виннокислого натрия + 0,8 м кислого виннокислого натрия + 0,005% желатина.

Ошибка определения в границах от 0,2 до 1 γ на грамм сухой массы корма колеблется в пределах от 1,4 до 8,8% для Pb, от 1,1 до 7,5% для Cd и от 2,4 до 12,7% для Bi.

В настоящей работе обстоятельно обсуждаются условия определения Cd, Pb и Bi. Условия определения остальных элементов были представлены в части I.

**Determination of Microelements in Feeds by the Polarographic Method.
Part IV. Chromatographic-Polarographic Method of Determining Trace
Elements Cd, Pb and Bi besides Others, Extracted with Dithizone
(Co, Cu, Ni and Zn)**

Summary

The authors developed a chromatographic-polarographic method of determining simultaneously in one feed sample the trace elements Cd, Pb and Bi besides others, extracted with dithizone (Co, Cu, Ni and Zn). The desiccated sample is mineralized with a mixture of the acids HNO_3 , HClO_4 and H_2SO_4 , the trace elements are extracted with dithizone in citrate environment at $\text{pH} = 8.4$ and partitioned on filter paper by means of the following solvent: methylo-ethylo-ketone : HCl : H_2O : HNO_3 (75 : 12 : 10 : 5).

The separate filter paper strips with Ni ($R_f = 0.07$), Co ($R_f = 0.22$), Pb ($R_f = 0.36$), Cu ($R_f = 0.50$) and Bi, Cd, Zn ($R_f = 0.60$ — 0.65) are ashed, and the elements are analysed polarographically. To determine Cd, Pb and Bi, the following supporting electrolyte was used: 0.42 m sodium tartrate + 0.08 m sodium hydrogen tartrate + 0.005% gelatin.

The error of determination within the range from 0.2 to 1 γ per one gram of dry mass of feed varies from 1.4 to 8.8% for Pb, from 1.1 to 7.5% for Cd, and from 2.4 to 12.7% for Bi.

The paper discusses in detail the determination of Cd, Pb and Bi. The conditions for determining the remaining elements were presented in Part I.