

T. FILIPAN,
I. MUŠAC,
V. KOVAČEVIĆ

**PRILOG POZNAVANJU ODREĐIVANJA BIOELEMENATA U BILJNOM
MATERIJALU I TLU ATOMSKOM APSORPCIONOM
SPEKTROFOTOMETRIJOM***

S A Ž E T A K

U ovom članku opisan je osnovni princip primijenjene atomske apsorpcione spektromaterije (»AAS«) kod određivanja bioelemenata (metala) u biljnom materijalu i tlu.

Iznijete su prednosti i nedostaci u »AAS« u usporedbi s ostalim analitičkim metodama pri određivanju tragova metala.

Grafički i tabelarno prikazani su rezultati analize tla i biljnog materijala lista kukuruza uzgojenog na tlu različitih pretkultura.

Prikazani rezultati u tabeli broj 4 i 5 odnose se na makroelemente Ca i Mg, te na mikroelemente Mn, Cu, Fe i Zn.

U V O D

Mikroelementi imaju važnu ulogu u razvoju biljke. Oni su takođe nezamjenljivi kao i makroelementi. U suvremenoj proizvodnji mikroelementi su često licitirajući faktor prinosa jer se gnojdbom obično unose makroelementi a prinosom iznose svi biogeni elementi.

Određivanje tragova metalnih primjesa uvijek je za analitičare predstavljalo izvjestan problem. Napretkom industrijske tehnologije i svih disciplina nauke taj je problem postao neobično važan. Utrošeno je mnogo tehničkog napora da se poboljšaju dobro poznate instrumentalne tehnike: spektrografija, polarografija, ionoforeza, te ostale kemijske metode. Međutim, značajniji prodor na tom polju analitike postignut je razvojem nove tehnike — spektromaterijes atomskom apsorpcijom.

Prema tome analitički pristup određivanja mikro i makroelemenata u posljednjih 10 godina je bitno izmijenjen. U tu svrhu u širokoj praksi sve više se koristi atomska apsorpcija.

Dr Tugomir Filipan, dipl. inž. kemije
Tehnološki fakultet Zagreb (INZUR—Zagreb)

Dr Ivan Mušac, dipl. inž. agronomije

Inž. Vlado Kovačević

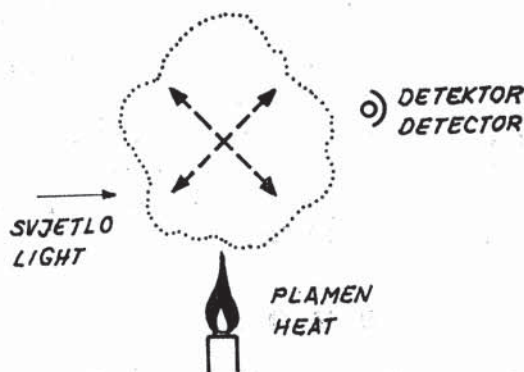
Poljoprivredni institut, Osijek

* Rad je stručno-znanstvenog značenja

Godine 1955. A. Walsh i suradnici upozorili su na to, da bi se fenomen koji izaziva Frauehofferove linije mogao koristiti za analizu tragova elemenata. Od tog vremena do danas mnogi autori usavršavali su pionirski rad, A. Walsh, te danas na tržištu postoje različiti komercijalni uređaji za taj rad.

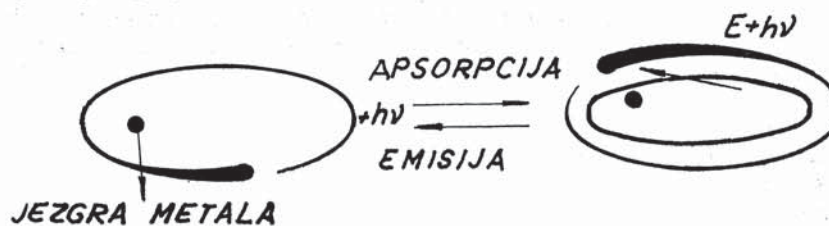
PRINCIP RADA »AAS«

Analitička primjena bazira se na činjenici da metali u atomarnom stanju jako apsorbiraju karakteristične valne dužine koje se podudaraju s linijama emisionih spektara određenog metala. Pojednostavljeni prikaz tog procesa prikazuje slika 1.



Slika 1 Princip rada atomske apsorpcione spektrometrije
Fig 1 Principle of work atomic absorption spectrom

Za atomsku apsorpcionu spektrometriju potrebno je uzorak provesti u tekuće stanje. Tekući uzorak se spaljuje u plameniku pomoću gorivih plinova (vodika, acetilena i dr.), pri čemu metalni ioni prelaze u atomarno stanje. Kroz raspršeni oblak atoma metala prolaze zrake iz šuplje katode koja emitira spektar metala kojeg želimo odrediti. Slika 2 prikazuje princip atomske emisije i apsorpcije.

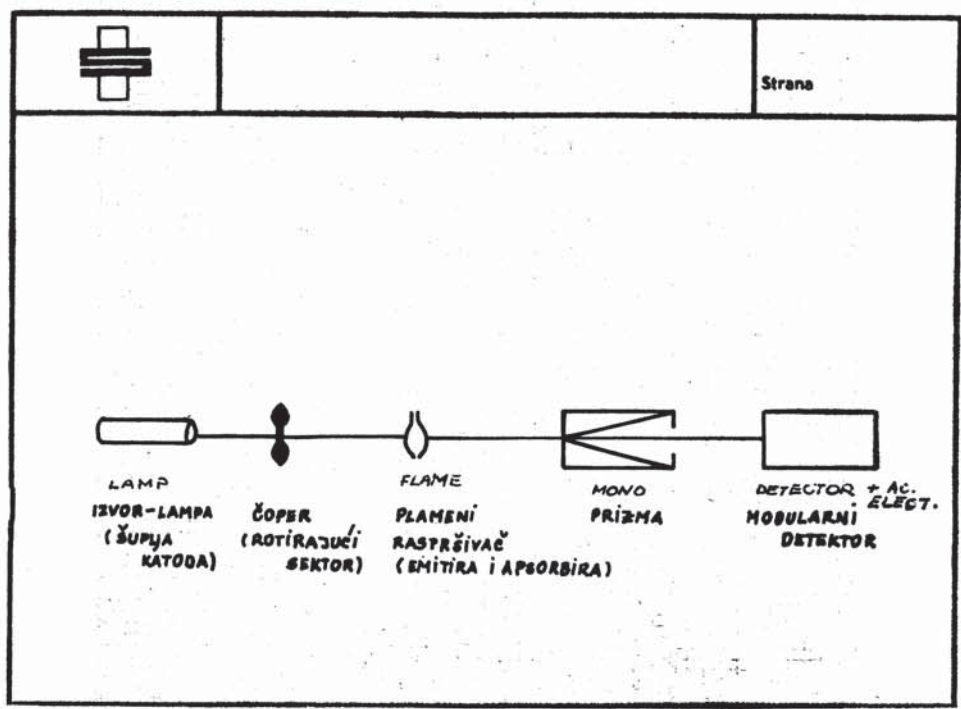


Slika 2 Princip atomske emisije i apsorpcije
Fig 2 The principles of atomic emission and absorption

Atomi metala u plamenu apsorbiraju fotone svjetla koji se emitiraju sa šuplje katode. Dakle, intezitet svjetla opada kada u plamen stavimo koncentriraniju otopinu, odnosno, stupanj apsorpcije je funkcija koncentracije metala uzorku.

Proces emitiranja spektra, kao što je to slučaj u plamenoj fotometriji i emisionoj spektrofografiji, suprotan je procesu apsorpcije. Taj proces emisije i apsorpcije ukazuje na područja gdje će fenomeni biti slični po svojem ponašanju, kao i na faktore koji će izazvati suprotne efekte na ta dva fenomena. Proces kojim se povećava broj atoma iz neke otopine morao bi poboljšati obje metode. Nasuprot tome, svaka metoda kojom se povećava postotak prisutnih pobuđenik (ekscitiranih) atoma postići će to na račun broja prisutnih nepobuđenih atoma.

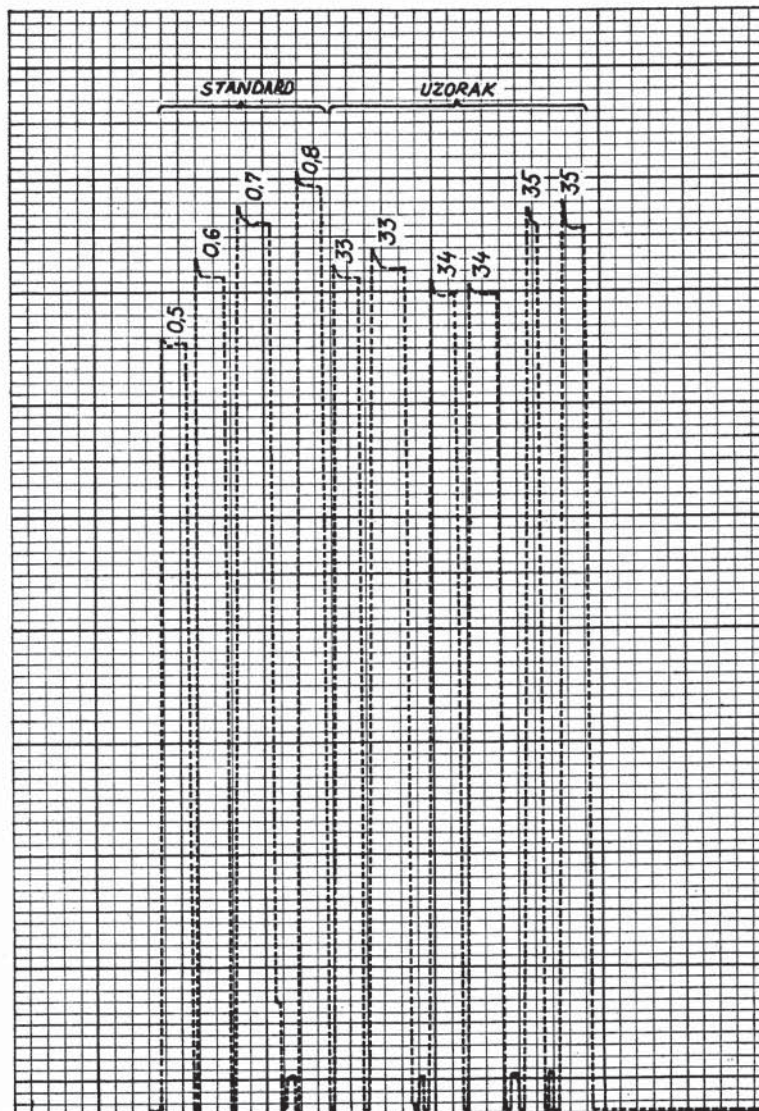
Manjina atoma u pobuđenom stanju emitira svjetlo. U praksi se pokazalo potrebnim da se taj izvor svjetla prekine, a to se postiglo ugradnjom rotirajućeg sektora između izvora svjetla i plamena. Rotirajući sektor povezan je spektrofotometrom tako, da on registrira samo valnu dužinu koju emitira šuplja katoda, a ne i pobuđeni atomi u plamenu. Na taj je način uklonjena interferencija svjetla što ga emitira plamen.



Slika 3 Shematski prikazuje uređaj za atomsku apsorpcionu spektrometriju
Fig 3 Atomic absorption system

SLIKA 4. GRAFIČKI PRIKAZ POSTOTKA APSORPCIJE Mg U UZORKU I STANDARDU

FIGURE 4. GRAPH OF PER CENT ABSORPTION OF Mg IN SAMPLING AND STANDARD



Mg 2852 A LC 10mA slit 20, triple elv 1,1 " zrak 21psi
H₂ 7psi

PREDNOSTI I NEDOSTACI »AAS«

Prva i osnovna prednost atomske apsorpcije u odnosu na druge postupke sastoji se u tome da ima vrlo malo interferencije okoline. Laboratorijski je rad pokazao da na točnost postupka tek vrlo rijetko utječe prisutnost drugih elemenata, vjerojatno stoga jer operiramo s fizikalnim osobinama atoma. Na taj su način uklonjeni brojni kemijski problemi. Osim toga sasvim je neuobičajeno, da bi dva metala apsorbirala na istoj valnoj dužini, direktna interferencijacija drugih prisutnih metala sasvim je nevjerojatna. Na samu metodu praktički uopće ne utječe temperatura raspršivača. Ovo će se lakše shvatiti, ako se podsjeti, da se obično radi s atomima koji nisu u

Tablica 1 Koncentracija metala koji se mogu odrediti atomskom apsorpcijom
Tables 1 Analytical sensitivities

Kationi	Grami
Ag	2×10^{-11}
Al	2×10^{-10}
As	1×10^{-8}
Au	5×10^{-11}
Be	2×10^{-11}
Bi	2×10^{-10}
Ca	1×10^{-10}
Cd	1×10^{-12}
Co	2×10^{-10}
Cr	1×10^{-10}
Cs	1×10^{-10}
Cu	1×10^{-10}
Eu	1×10^{-7}
Fe	5×10^{-11}
Hg	2×10^{-8}
K	2×10^{-12}
Li	1×10^{-10}
Mg	1×10^{-12}
Mn	2×10^{-11}
Na	1×10^{-11}
Ni	1×10^{-9}
Pb	1×10^{-10}
Pd	5×10^{-10}
Pt	1×10^{-9}
Rb	5×10^{-11}
Sb	1×10^{-9}
Sr	1×10^{-9}
Ti	1×10^{-10}
V	3×10^{-9}
Zn	5×10^{-11}

ekscitiranom stanju. U plamenu broj ekscitiranih atoma rijetko kada prelazi 1⁰/₆ ukupnog broja atoma. Svaki parametar koji bi utjecao na taj postotak, kao što je otapalo ili temperatura plamena, istodobno će uvelike promijeniti intenzitet emisije. Na primjer, ako se broj ekscitiranih atoma poveća za 1⁰/₆ na 1,1⁰/₆ intenzitet emisije morat će se povećati za oko 10⁰/₆. Međutim, pri apsorpciji se operira s onih 99⁰/₆ atoma, pa će isti parametar promijeniti broj atoma u osnovnom stanju sa 99⁰/₆ na 98,9⁰/₆.

Taj je utjecaj minimalan i u praksi se često može zanemariti. Jednako važna karakteristika je mogućnost određivanja velikog broja atoma metala i visoki stupanj osjetljivosti (tablica 1 i 2).

Jedini nedostatak »AAS« je u tome, što se ne mogu otkriti svi metali. Za sada se kao najvjerojatnije razjašnjenje može prihvatiti da bimetali u plamenu stvaraju okside. To stvaranje oksida sprečava formiranje atomskog stanja koje je bitno za njihovo određivanje.

MATERIJAL I METODE

Iako je taj postupak vrlo dobar, on zahtijeva kao i ostale analitičke metode izvjesni pripremni rad, odnosno, potrebno je pripremiti otopine poznate koncentracije za svaki traženi element. Svaki element ima područje koncentracije najveće osjetljivosti. Razređivanjem otopina — uzoraka — dolazimo u to područje. Pojedine standardne otopine mogu sadržavati i više raznih metalnih iona. To je zbog toga što lampa — šuplja katoda — emitira svjetlost dužine onog metala iz kojeg je katoda napravljena, a atomi iz uzorka apsorbirat će fotone pri čemu se smanjuje intenzitet svjetla naprijed određene valne dužine.

Ipak metoda je podložna nekim kemijskim utjecajima: npr. kalcij (Ca) se veže u prisutnosti fosfora i ne prelazi u potpunosti u atomsko stanje. Iz navedenog razloga u otopinu standarda kao i u uzroke dodaje se otopina stroncijum klorida. Stroncij veže fosfat i time potisne kalcij ione koji sada prelaze u atomsko stanje.

U našim ispitivanjima koristili smo atomsku apsorpciju za određivanje bioelemenata u tlu i biljnom materijalu. Uzroci tla uzimani su s dubine 0 — 20 cm na smeđem tlu u Osijeku i Boboti i na lesiviranom tlu u Lacićima.

Analiza biljnog materijala vršena je u listu kukuruza zasijanog nakon prethodnog plodoreda šećerne repe. Odvaga od 5,000 g uzoraka spaljena je u mufolnoj peći na temperaturi od 550°C kroz 4 sata. Pepeo je otopljen u 10 ml razrijeđene NH_3 (1:1). U filtrat je dodano 5 ml 10⁰/₆-tne otopine SrCl_2 . Direktno iz filtrata određen je atomskom apsorpcijom mangan, bakar, željezo i cink, a razrjeđenjem filtrata 1:100 kalcij i magnezij.

Prije svakog mjerenja na aparatu se podese radni uvjeti, a na spektrotometru se namjesti valna dužina rezonantne linije. Postotak apsorpcije bilježi pislač.

Valna dužina rezonantnih linija, te radni uvjeti za ispitivane metode prikazani su u tabeli 3.

Tabela 3 Fizikalne veličine za određivanje mikroemenata »AAS«
 Tables 3 Physical property for determinaton of microelements »AAS«

Elementi	Valna dužina (A)	Jakost struje LC u A	Otvor zasuna SLIT
Ca	4227	10	20
Mg	2852	10	20
Zn	2132	10	20
Cu	3247	8	7
Fe	2483	10	2
Mu	2795	10	7

Pritisak zraka od 21 PSI, a vodika H₂ = 7 PSI

REZULTATI I DISKUSIJA

Tabela 4 U tabeli 4 prikazani su rezultati analize bioelemenata u tlu
 Tables 4 Results of analysis bioelements in soil

	Ca ‰	Mg ppm	Zn ppm	Cu ppm	Fe ‰	Mn ppm ukupni	zamjenjivi
Osijek	0,6567	311	0,87	8,7	4,42	311	9,8
Bobota	0,8516	329	1,5	8,1	2,82	545	7
Lacići	0,2530	118	2,5	2,4	2,60	498	7

Sadržaj zamjenjivog Ca u ispitivanim tlima varira od 0,235‰ do 0,851 ‰. Prema očekivanju najbogatije zamjenjivim Ca je tlo iz Bobote. Na smeđem tlu u Osijeku taj je sadržaj nešto manji (0,655) dok je pseudoglej u Lacićima znatno ispod nivoa ostalih ispitivanih tala (0,252‰).

Smeđe tlo u Osijeku i Boboti (PIK Vukovar) pokazuje jednakomjernu zastupljenost magnezija (311 odnosno 329 ppm). Tlo u Lacićima je znatno siromašnije (118 ppm).

U sadržaju zamjenjivog cinka ispitivanog tla, također se razlikuju. Najbogatije je tlo u Lacićima (2,5), a najsiromašnije tlo iz Osijeka (0,87 ppm).

Nasuprot tome tlo iz Osijeka je bogato zamjenjivim bakrom (8,7 ppm) dok je u Lacićima taj iznos znatno manji (2,4 ppm).

Po sadržaju ukupnog željeza najbogatije je tlo u Osijeku (4,42‰) dok je tlo iz Vukovara i Lacića siromašnije (2,82 odnosno 2,6‰).

Ukupnog mangana najviše sadrži tlo iz Bobote (545 ppm) zatim slijedi tlo iz Lacića (498 ppm) i tlo iz Osijeka (311 ppm). Vrijednosti zamjenjive frekvencije mangana su za sva ispitivana tla približne (Osijek 9,8 ppm, Vukovar, Lacići 7 ppm).

Tabela 5 Koncentracija mikroelemenata u biljnom materijalu lista kukuruza
 Tables 5 Concentracion of microelements in biomass the corn leaf

Pretkultura kukuruz	Mn ppm	Cu ppm	Fe ppm	Zn ppm	Ca %	Mg ‰
Uzorak 1.	60	7,2	275	38,8	0,60	0,34
Uzorak 2.	68	5,8	252	29,0	0,59	0,25
Uzorak 3.	70	7,3	338	27,6	0,64	0,27
\bar{x}	66	6,8	288	31,8	0,61	0,29
Pretkultura šećerna repa						
Uzorak 1.	100,2	5,6	342	33,5	1,21	0,44
Uzorak 2.	97,8	4,4	317	29,5	1,35	0,53
Uzorak 3.	93,6	6,1	332	29,5	1,29	0,39
\bar{x}	97,2	5,4	330	28,4	1,28	0,45

Iz tabele 5 vidi se da je list kukuruza uzgajanog u monokulturi siromašniji na manganu, željezu, kalciju i magneziju, a nešto bogatiji na bakru i cinku.

Iz ovog kratkog prikaza uočljive su niske vrijednosti pojedinih mikroelemenata, ali mjerljive zahvaljujući »AAS«. No zahvaljujući ovoj tehnici mjerenja moguće je odrediti i ostale mikroelemente a koji imaju važnu ulogu u razvoju i unapređenju poljoprivredne proizvodnje.

ZAKLJUČAK

Na temelju dobivenih rezultata doneseni su slijedeći zaključci:

Sadržaj zamjenjivog Ca u ispitivanim tlima varira od 0,235‰ do 0,851‰. Prema očekivanju najbogatije zamjenjivim Ca je tlo iz Bobote. Na smeđem tlu u Osijeku taj je sadržaj nešto manji (0,655) dok je pseudoglej u Lacićima znatno ispod nivoa ostalih ispitivanih tala (0,252‰).

Smeđe tlo u Osijeku i Boboti (PIK Vukovar) pokazuje jednakomjernu zastupljenost magnezija (311 odnosno 329 ppm). Tlo u Lacićima je znatno siromašnije (118 ppm).

U sadržaju zamjenjivog cinka ispitivanog tla također se razlikuju. Najbogatije je tlo u Lacićima (2,5) a najsiromašnije tlo iz Osijeka (0,87 ppm).

Nasuprot tome tlo iz Osijeka je bogato zamjenjivim bakrom (8,7 ppm) dok je u Lacićima taj iznos znatno manji (2,4 ppm).

Po sadržaju ukupnog željeza najbogatije je tlo u Osijeku (4,42‰) dok je tlo u Vukovaru i Lacićima siromašnije (2,82 odnosno 2,6‰).

Ukupnog mangana najviše sadrži tlo iz Bobote (545 ppm) zatim slijedi tlo iz Lacića (498 ppm) i tlo iz Osijeka (311 ppm). Vrijednosti zamjenjive frekvencije mangana su za sva ispitivana tla približne (Osijek 9,8 ppm, Vukovar, Lacići 7 ppm).

Iz tabele 5 vidi se da je list kukuruza uzgajanog u monokulturi siromašniji na manganu, željezu, kalciju i magneziju, a nešto bogatiji na bakru i cinku.

Iz ovog kratkog prikaza uočljive su niske vrijednosti pojedinih mikroelemenata, ali mjerljive zahvaljujući »AAS«. No zahvaljujući ovoj tehnici mjerenja, moguće je odrediti i ostale mikroelemente a koji imaju važnu ulogu u razvoju i unapređenju poljoprivredne proizvodnje.

LITERATURA

1. **W. Robinson:** Analytical chemistry, Vol. 32 Page 17 A, July 1960.
2. **D. U. David:** Nature, September 24, 1960 str. 1109
3. **W. N. Harrison:** Analytical chemistry, Vol. 37, No 9, Aug. 1965.
4. **R. A. Mostyn and A. F. Cunningham:** Analytical chemistry, Vol. 38, No 1, January 1966.
5. **D. J. David:** Reprinted from the analyst, Vol. 93, No 1103, Pages 79 — 82, February 1968.
6. **Slavin:** Atomic absorption spectroscopy, Interscience publishers, a division of John Wiley and Sons, New York — London — Sydney 1968.
7. **M. Beyer:** At. absorp. Newsl. 8, 23, 1969.
8. **R. J. Thompson, G. B. Morgan and L. J. Purdue:** At. absorp. Newsl. 9, 53, 1970.
9. **B. G. Thomas:** At. absorp. str. 73, Vol. 10, No 3, May — June 1971.
10. **F. J. Fernandez and D. C. Manning:** At. absorp. Str. 65, Vol. 10, No 3, May — June 1971.
11. **P. E. Paus:** At. absorp. str. 69, Vol. 10, No 3, May — June 1971.
12. **J. W. Gambrell:** At. absorp. Str. 81, Vol. 10, No 4, July — August 1971.
13. **T. N. Newland and R. A. Mostyn:** At. absorp. Str. 89. Vol 10 No 4, July — August 1971.
14. **K. Kuwata, K. Hisatomi and T. Hasegawa:** At. absorp. Str. 111, Vol. 10, No 5. September — october 1971.
15. **U. Stresko and E. Martiny:** At. Absorp. St. 4, Vol, 11, No 1, January — February 1972.
16. **J. W. Robinson:** At. absorption Spetrosi, Marcel Dekker, Inc. N. Y. 1966.
17. **E. E. Angino and G. K. Billings:** Atomic absorption Spectrometry in geology elsevier publishing company, Amsterdam — London — N. Y. 1967.

Dr. sc. chem. TUGOMIR FILIPAN, eng.
Dr. sc. agr. IVAN MUŠAC
VLADO KOVAČEVIĆ

INSTITUTE FOR DEVELOPING COUNTRIES
8. Maj 82/II Zagreb
INSTITUT FOR AGRICULTURE, Južno predgrađe 17 OSIJEK

CONTRIBUTION TO THE KNOWLEDGE OF BIOELEMENTS IN
VEGETATION AND SOIL BY ATOMIC ABSORPTION
SPECTROPHOTOMETRY

SUMMARY

In this article the fundamental principle of the applied atomic absorption spectrometry (AAS) for the determination of bioelements (metals) in vegetation and soil is treated.

Advantages and imperfections in »AAS« compared to other analytical methods for the determination of metal traces are given.

Graphs and tables with the results of soil analysis as well as of the corn leaf analysis, the corn being raised on the soil where various plants were raised before, are presented.

The results given in tables 4 and 5 refer to macroelement Ca and Mg and to microelements Mn, Cu, Fe and Zn.