

BARBARA BRZOWSKA, TERESA ZAWADZKA

METODA ATOMOWEJ SPEKTROFOTOMETRII ABSORPCYJNEJ OZNACZANIA OŁOWIU, KADMU, CYNKU I MIEDZI W NIEKTÓRYCH PRODUKTACH WARZYWNYCH

Z Zakładu Badania Żywności i Przedmiotów Użytku
Państwowego Zakładu Higieny w Warszawie
Kierownik: prof. dr M. Nikonorow

Porównano wyniki oznaczania zawartości ołowiu, cynku i miedzi w niektórych produktach warzywnych metodami atomowej spektrofotometrii absorpcyjnej i kolorymetrycznymi (wg PN) oraz dokonano statystycznej oceny otrzymanych wyników.

Ze względu na coraz szerzej wprowadzane w analityce metali w żywności i zalecane dla celów normalizacji międzynarodowej [5] metody atomowej spektrofotometrii absorpcyjnej (dalej określanej skrótem ASA) konieczne jest porównanie wyników otrzymanych tą metodą z wynikami uzyskiwanymi metodami kolorymetrycznymi wg Polskich Norm.

Ponadto badania arbitrażowe wymagają również ustalenia wzajemnej relacji między metodami ASA i kolorymetrycznymi. Łączy się to głównie z zagadnieniem, w jakim stopniu możliwa jest ocena dotychczas ustalonych, w oparciu o metody kolorymetryczne, wymagań, na podstawie wyników uzyskanych metodą ASA.

Piśmiennictwo w zakresie zastosowań ASA wprowadza szereg wersji tej metody jak np. techniki ekstrakcyjne z użyciem różnych związków chelatujących i różnych rozpuszczalników, techniki jonowymienne oraz inne [1]. Wobec powyższego zastosowano na podstawie dotychczasowych własnych doświadczeń [2] metodę oznaczania ołowiu w roztworach wodnych wobec krzywej wzorcowej z wprowadzeniem tzw. sztucznego popiołu. Cynk i miedź oznaczano wobec rutynowej krzywej wzorcowej bez dodatków.

Metody kolorymetryczne opierały się na Polskich Normach [4] i ich uzupełnieniach zawartych w Wydawnictwach Metodycznych PZH [3, 6].

CZEŚĆ DOŚWIADCZALNA

Metody ASA

Odczynniki:

1. Woda dwukrotnie destylowana, używana do sporządzania wszystkich roztworów odczynników i do rozcieńczeń.
2. Kwas azotowy cz. d. a., stęż. (c. wł. 1,4)
3. Kwas azotowy cz. d. a., roztwory 0,1 N i 1 N.
4. Roztwór „sztucznego popiołu”, zawierający w 1 dm³ następujące sole cz. d. a.: 4,2 g CaO; 21,3 g Mg(NO₃)₂ · 6 H₂O; 6,5 g Na₃PO₄ · 12 H₂O i 60,0 g KCl. Należy go przyrządzić przez rozpuszczenie CaO w około 20 cm³ kwasu azotowego 1:1, a następnie przez kolejne dodawanie pozostałych soli do objętości 1 dm³.

5. Wzorcowe roztwory ołowiu: A) podstawowy, sporządzony przez rozpuszczenie w 1 N kwasie azotowym 0,1598 g azotanu ołowiawego $Pb(NO_3)_2$ cz. d.a., uprzednio przekrystalizowanego, wysuszonego do stałej masy w temp. $105^\circ C$ i uzupełnienie do kreski w kolbie miarowej pojemności 100 cm^3 0,1 N kwasem azotowym. Roztwór ten zawiera 1 mg Pb w 1 cm^3 ; B) rozcieńczony, sporządzony przez rozcieńczenie 2 cm^3 roztworu podstawowego A) w kolbie miarowej pojemności 200 cm^3 za pomocą 0,1 N kwasu azotowego. Roztwór ten zawiera $10\mu\text{g}$ Pb w 1 cm^3 .

6. Wzorcowe roztwory kadmu: A) podstawowy, sporządzony przez rozpuszczenie 0,2282 g siarczanu kadmowego $CdSO_4 \cdot 8\text{ H}_2O$ cz. d. a. w 1 N kwasie azotowym, w kolbie miarowej pojemności 100 cm^3 . Roztwór ten zawiera 1 mg Cd w 1 cm^3 . B) pośredni, sporządzony przez rozcieńczenie 5 cm^3 roztworu A) w kolbie miarowej pojemności 100 cm^3 za pomocą 0,1 N kwasu azotowego. C) rozcieńczony, sporządzony przez rozcieńczenie 1 cm^3 roztworu B) w kolbie miarowej pojemności 200 cm^3 0,1 N kwasem azotowym. 1 cm^3 otrzymanego roztworu C) zawiera $0,25\ \mu\text{g}$ Cd.

7. Wzorcowe roztwory miedzi: A) podstawowy, sporządzony przez rozpuszczenie w 1 N kwasie azotowym 0,3928 g siarczanu miedziowego $CuSO_4 \cdot 5\text{ H}_2O$ cz. d. a. świeżo przekrystalizowanego i wysuszonego w ekzykatorze do stałej masy w kolbie miarowej pojemności 100 cm^3 . Roztwór ten zawiera 1 mg Cu w 1 cm^3 . B) rozcieńczony, sporządzony przez rozcieńczenie 5 cm^3 roztworu wzorcowego A) w kolbie miarowej pojemności 500 cm^3 0,1 N kwasem azotowym. Roztwór ten zawiera $10\ \mu\text{g}$ Cu w 1 cm^3 .

8. Wzorcowe roztwory cynku: A) podstawowy, sporządzony z 0,1245 g tlenku ZnO cz. d. a. uprzednio wysuszonego do stałej masy przez ostrożne rozpuszczenie w 15 cm^3 kwasu azotowego 1:1 i uzupełnienie do kreski wodą w kolbie miarowej, pojemności 100 cm^3 . Roztwór ten zawiera 1 mg Zn w 1 cm^3 . B) rozcieńczony, sporządzony przez rozcieńczenie 2,5 cm^3 roztworu wzorcowego A) w kolbie miarowej pojemności 100 cm^3 i uzupełnienie do kreski 0,1 N kwasem azotowym. Roztwór ten zawiera $25\ \mu\text{g}$ Zn w 1 cm^3 .

Aparatura i sprzęt

1. Spektrofotometr atomowo-absorpcyjny SP 90 A, Seria 2, z zastosowaniem płomienia powietrze-acetylen, wyposażony w lampy: ołowiową, kadmową, miedziową i cynkową. 2. Homogenizator.

Szkló

Szklany sprzęt laboratoryjny, jak parownice kwarcowe, kolby miarowe, pipety itp. ze szkła odpowiedniego dla oznaczania metali.

Materiał do badań

Materiałem do badań były następujące warzywa i przetwory warzywne: 1. Sok pomidorowy 2. Fasolka konserwowa cięta 3. Groszek konserwowy 4. Ogórki konserwowe 5. Marchew 6. Kapusta 7. Ziemiaki.

Mineralizacja

Z jednorodnego materiału średniej próbki laboratoryjnej (ok. 2 kg) odważano z dokładnością do 0,01 g po 50 g każdego produktu. Próbki w zależności od konsystencji odparowywano prawie do sucha na łożni wodnej lub podsuszano w suszarce w temperaturze $105^\circ C$. Następnie próbki ostrożnie spalano ogrzewając bardzo małym płomieniem palnika. Po ustaniu wydzielania się dymów do każdej parownicy dodawano po 4 cm^3 stężonego kwasu azotowego i dalej ogrzewano ostrożnie w ciągu 1/2 h. Próbki wstawiano do pieca, początkowo na 1 h w temperaturze $300^\circ C$, a następnie $480^\circ C$, aż do całkowitego spopielenia, stosując w razie potrzeby zwilżanie ostudzonych próbek 4 cm^3 kwasu azotowego 1:1. Po spaleniu otrzymany popiół mieszano z 10 cm^3 kwasu azotowego 1:1 i ogrzewano na siatce azbestowej do ukazania się pierwszych par. Po dodaniu 20 cm^3 wody ogrzewano jeszcze w ciągu 1/2 h. Końcowy roztwór przesączało ilościowo do kolby miarowej pojemności 25 cm^3 , używając do przenoszenia i uzupełniania 0,1 N kwas azotowy. W mineralizatach tych oznaczano ołów i kadm, natomiast dla oznaczenia miedzi i cynku rozcieńczano je w stosunku 1:1 za pomocą 0,1 N kwasu azotowego. Uprzednio cynk i miedź oznaczano wprost w mineralizatach, oraz w ich rozcieńczeniach w stosunku 1:1 i 1:2, w celu sprawdzenia czy w przypadku produktów warzywnych konieczne jest rozcieńczenie mineralizatów (tab. I).

Słepą próbę przygotowywano równolegle z próbkami badanymi używając tych samych rozcieńczeń kwasu azotowego.

Przygotowanie krzywych wzorcowych

Ołów i kadm. Do 6 kolb miarowych pojemności 50 cm³ odmierzoneo 0,0; 2,5; 4,6; 5,0; 7,5 i 10,0 cm³ rozcieńczonego wzorcowego roztworu ołowiu B), co odpowiada następującym stężeniom ołowiu: 0,0; 0,5; 0,8; 1,0; 1,5 i 2,0 μg/cm³. Następnie do tych samych kolb odmierzoneo 0,0; 2,0; 4,0; 10,0; 16,0 i 20,0 cm³ rozcieńczonego wzorcowego roztworu kadmu C), co odpowiada następującym stężeniom kadmu: 0,0; 0,01; 0,02; 0,05; 0,08 i 0,10 μg/cm³. Następnie do każdej z powyższych kolb dodano po 5,4 cm³ „sztucznego popiołu”, co stanowiło odpowiednik zawartości popiołu w badanych próbkach, tzn. średnio około 0,5%. Kolbki uzupełniono do kreski za pomocą 0,1 N kwasu azotowego.

Miedź i cynk. Do kolb miarowych pojemności 50 cm³ odmierzoneo 0,0; 1,0; 2,5; 4,0; 5,0 i 7,5 cm³ rozcieńczonego wzorcowego roztworu miedzi B), co odpowiada następującym stężeniom miedzi: 0,0; 0,2; 0,5; 0,8; 1,0 i 1,5 μg/cm³. Następnie odmierzoneo 0,0; 1,0; 2,0; 4,0; 6,0; i 10,0 cm³ rozcieńczonego wzorcowego roztworu cynku B), co odpowiada następującym stężeniom cynku: 0,0; 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; i 5,0 μg/cm³. Kolby uzupełniono 0,1 N kwasem azotowym.

Wykonanie oznaczenia

Po ustaleniu optymalnych warunków pomiaru za pomocą spektrofotometru atomowo-absorpcyjnego zgodnie z instrukcją aparatu, wyznaczono absorbancje w seriach roztworów wzorcowych i mineralizatów. Wykreślono krzywą wzorcową dla każdego z badanych metali w układzie absorbancja — stężenie.

Odczytywano z odpowiednich krzywych stężenie każdego pierwiastka w poszczególnych roztworach mineralizatów, uwzględniając wartość ślepej próby.

Zawartość pierwiastka w badanym produkcie (w mg/kg) obliczano wg wzoru:

$$x = \frac{a}{2},$$

w którym a oznacza odczyt z krzywej wzorcowej w μg/cm³. W przypadku zmiany warunków podanych w opisie metody, np. rozcieńczenia mineralizatów, uwzględniono to w obliczeniach.

Metody kolorymetryczne

W oznaczeniach ołowiu i miedzi zastosowano modyfikacje (3, 6) metod obecnie obowiązujących Polskich Norm. Modyfikacje te zostały zaproponowane w projektach nowelizowanych norm. Cynk oznaczano wg PN (4).

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Wyniki tabeli I wskazują, że po rozcieńczeniu mineralizatów badanych produktów warzywnych otrzymano nieco wyższe wartości, a zwłaszcza w odniesieniu do cynku. Wydaje się, że za wystarczające można uznać rozcieńczenie 1:1.

W tabelach II — IV przedstawiono wyniki oznaczania zawartości ołowiu, cynku i miedzi dwiema metodami w badanych produktach warzywnych. Podano zakresy otrzymanych wyników oznaczeń dla każdego produktu i dla każdej metody oraz wartości średnie dla 6 powtórzeń równoległych. W tabelach podano również oszacowanie istotności różnic między średnimi na podstawie testu t Studenta dla poszczególnych produktów oraz wartości różnic między średnimi, wyrażone w procentach w stosunku do wyniku większego.

Te ostatnie wartości są szczególnie przydatne w ocenie merytorycznej zgodności metod, gdyż wnioskowanie statystyczne na podstawie istotności różnic może być zamaskowane niejednakową precyzją oznaczeń dla poszczególnych produktów. Np. w oznaczeniu miedzi w kapuście wykazano statystycznie istotność różnicy między średnimi $\bar{x}_1 = 1,95$ i $\bar{x}_2 = 2,15$, natomiast na podstawie różnicy względnej między nimi 7,5%

Tabela I. Wyniki oznaczenia zawartości cynku i miedzi metodą ASA w mineralizatach* produktów warzywnych

Produkt		Cynk		Miedź	
		średnia mg/kg	zakres mg/kg	średnia mg/kg	zakres mg/kg
Sok pomidorowy:	a)	1,48	1,37—1,55	0,71	0,66—0,76
	b)	1,79	1,70—1,95	0,79	0,75—0,82
	c)	1,71	1,50—1,97	0,76	0,61—0,79
Fasolka konserwowa:	a)	1,65	1,55—1,80	0,34	0,33—0,35
	b)	2,06	1,95—2,25	0,39	0,35—0,44
	c)	2,13	1,80—2,25	0,36	0,33—0,46
Groszek konserwowy:	a)	5,34	5,25—5,50	0,67	0,65—0,72
	b)	6,60	6,40—6,80	0,74	0,71—0,76
	c)	5,93	5,80—6,20	0,69	0,64—0,75
Ogórki konserwowe:	a)	1,88	1,82—2,07	0,49	0,48—0,52
	b)	2,51	2,25—2,75	0,52	0,50—0,63
	c)	2,48	2,32—2,65	0,44	0,40—0,56

* — bez rozcieńczenia (a)

— po rozcieńczeniu w stosunku 1 : 1 (b)

— po rozcieńczeniu w stosunku 1 : 2 (c)

Tabela II. Porównanie wyników oznaczania zawartości ołowiu metodą ASA i kolorymetryczną

Produkt	Metoda ASA		Metoda kolorymetryczna		Istotność różnic $t_{0,05}$ przy $v = 10$ $t_{tabl.} = 2,23$	Różnice między średnimi %
	zakres mg/kg	średnia mg/kg	zakres mg/kg	średnia mg/kg		
Sok pomidorowy	0,36—0,66	0,45	0,40—0,73	0,49	nieistotna	8,2
Fasolka konserwowa	0,26—0,42	0,33	0,18—0,46	0,35	nieistotna	5,7
Groszek konserwowy	0,42—0,66	0,52	0,20—0,55	0,34	istotna $t_{obl.} = 2,57$	34,6
Ogórki konserwowe	0,26—0,42	0,34	0,40—0,66	0,48	istotna $t_{obl.} = 2,8$	29,2
Marchew	0,41—0,50	0,45	0,24—0,51	0,39	nieistotna	13,3
Kapusta	0,62—0,65	0,63	0,55—0,63	0,59	nieistotna	6,3
Ziemniaki	0,45—0,50	0,47	0,40—0,48	0,46	nieistotna	2,1

można uznać obie metody oznaczania za równorzędne. Należy zwrócić uwagę, że w oznaczeniach miedzi na poziomie zawartości ok. 2 mg/kg precyzja jest bardzo dobra dla obydwu metod.

Podana w tabelach II—IV istotność różnic może zatem być spowodowana w znacznym stopniu wahaniami precyzji, a nie istnieniem jakiegoś błędu stałego, różniącego obie metody, gdyż jak wynika z obserwacji średnich dla wszystkich produktów nie występuje tu zjawisko otrzymywania stale wyższych (lub niższych) wyników jedną z metod.

Tabela III. Porównanie wyników oznaczania zawartości cynku metodą ASA i kolorymetryczną

Produkt	Metoda ASA		Metoda kolorymetryczna		Istotność różnic $t_{0,05}$ przy $v = 10$ $t_{tabl.} = 2,23$	Różnice między średnimi %
	zakres mg/kg	średnia mg/kg	zakres mg/kg	średnia mg/kg		
Sok pomidorowy	1,70—1,95	1,79	1,40—1,92	1,62	nieistotna	9,5
Fasolka konserwowa	1,95—2,25	2,06	1,76—2,28	1,99	nieistotna	3,4
Groszek konserwowy	6,40—6,80	6,60	6,42—6,80	6,56	nieistotna	1,0
Ogórki konserwowe	2,25—2,75	2,51	2,64—3,00	2,81	istotna $t_{obl.} = 3,0$	10,7
Marchew	1,90—2,20	2,08	1,76—2,68	2,33	nieistotna	10,7
Kapusta	3,10—3,35	3,21	3,52—3,84	3,70	istotna $t_{obl.} = 4,0$	13,3
Ziemniaki	2,50—2,80	2,70	2,44—3,16	2,74	nieistotna	1,5

Tabela IV. Porównanie wyników oznaczania zawartości miedzi metodą ASA i kolorymetryczną

Produkt	Metoda ASA		Metoda kolorymetryczna		Istotność różnic $t_{0,05}$ przy $v = 10$ $t_{tabl.} = 2,23$	Różnice między średnimi %
	zakres mg/kg	średnia mg/kg	zakres mg/kg	średnia mg/kg		
Sok pomidorowy	0,75—0,82	0,79	0,55—0,71	0,63	istotna $t_{obl.} = 5,8$	20,2
Fasolka konserwowa	0,35—0,44	0,39	0,25—0,42	0,30	istotna $t_{obl.} = 2,9$	23,1
Groszek konserwowy	0,71—0,76	0,74	0,49—0,75	0,60	istotna $t_{obl.} = 3,2$	18,9
Ogórki konserwowe	0,50—0,53	0,52	0,47—0,60	0,52	nieistotna	0
Marchew	0,31—0,33	0,31	0,35—0,38	0,37	istotna $t_{obl.} = 10,4$	16,2
Kapusta	1,92—1,98	1,95	2,06—2,21	2,15	istotna $t_{obl.} = 6,0$	7,5
Ziemniaki	0,61—0,64	0,62	0,59—0,63	0,61	nieistotna	1,6

Tabela V przedstawia wyniki oznaczania kadmu metodą ASA. Podano zakres wyników, średnią z 6 powtórzeń oraz współczynnik zmienności, który zawarty jest w granicach 6,0 — 12,4%.

Tabela V. Zestawienie wyników oznaczania kadmu metodą ASA

Produkt	Zakres mg/kg	Średnia mg/kg	Współczynnik zmienności %
Sok pomidorowy	0,021—0,027	0,024	10,0
Fasolka konserwowa	0,018—0,024	0,021	11,4
Groszek konserwowy	0,024—0,033	0,029	12,4
Ogórki konserwowe	0,018—0,024	0,022	10,9
Marchew	0,014—0,018	0,016	10,1
Kapusta	0,024—0,028	0,026	6,0
Ziemniaki	0,029—0,035	0,032	7,5

WNIOSKI

1. Wyniki oznaczania metali w produktach warzywnych metodą ASA i metodą kolorymetryczną wykazują zgodność w większości oznaczanych produktów.

2. Gdy przyjmie się różnicę względną, np. 20% jako graniczną w oszacowaniu badanych metod jako równorzędne, wówczas przekroczenie tej wartości wystąpi, przy oznaczaniu ołowiu, w 2 przypadkach, miedzi — w jednym, a cynku w żadnym z 7 zbadanych produktów.

B. Б жозовска, Т. Завадзка

МЕТОД АТОМНОЙ АБСОРБЦИОННОЙ СПЕКТРОФОТОМЕТРИИ
ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СВИНЦА, КАДМИЯ, ЦИНКА И МЕДИ
В ОВОЩНЫХ ПРОДУКТАХ

Резюме

Сравнивался метод ААС с колориметрическими методами, установленными польскими стандартами, для определения вышеуказанных металлов в выбранных овощных продуктах. Проводилось по 6 параллельных определений в одной и той-же средней лабораторной пробе. С помощью метода ААС определения велись в кислых водных растворах после сухой минерализации. Свинец и кадмий определяли с использованием стандартной кривой полученной после добавления набора макроэлементов содержащихся в подобного рода продуктах, в то время как цинк и медь — в минерализатах после их разбавления, с помощью обычной стандартной кривой без каких-либо добавок. Параллельно проводили определения тех-же металлов, за исключением кадмия, методами рекомендованными Польскими стандартами. Статистический анализ показал, что в большинстве исследуемых продуктов полученные результаты были сходные. Учитывая также анализ результатов на основании оценки относительных разниц между средними можно сказать, что в случае определения свинца имели место два случая неравноценности методов, в случае определения меди — один, а цинка — случаев таких не обнаружено для всех 7 исследуемых продуктов.

B. Brzozowska, T. Zawadzka

A METHOD OF ATOMIC ABSORPTION SPECTROPHOTOMETRY FOR
DETERMINATION OF LEAD, CADMIUM, ZINC AND COPPER IN VEGETABLE
FOOD PRODUCTS

Summary

The ASA method was compared with the colorimetric methods accepted as obligatory in the Polish norms for testing selected vegetable food products. The determinations by each method were carried six times parallelly in the same mean laboratory sample. The ASA method was used for determination in acid aqueous solutions after dry mineralization. Lead and cadmium were determined in relation to a standard curve with addition of a set of macroelements present in these food products, while zinc and copper were determined in mineralisates after their dilution against a routine standard curve without additions. Parallelly these metals were determined, with the exception of cadmium, by the methods accepted in Polish Norms. Statistical analysis showed absence of significant differences in most tested products. In connection with an analysis of the results based on evaluation of relative differences between the mean values it may be assumed that in the determinations of lead in two cases the methods were not equivalent, in copper determinations this occurred in one case, and in zinc determinations in none among 7 tested products.

PIŚMIENNICTWO

1. Brzozowska B.: Wpływ niektórych czynników analitycznych na wyniki równoczesnego oznaczania ołowiu, cynku, miedzi i kadmu metodą absorpcyjnej spektrofotometrii atomowej w wybranych produktach spożywczych. Cz. I. Charaktery-

styka metody. Roczn. PZH, 1977, 28, 275. — 2. *Brzozowska B.*: j. w. Cz. II. Badanie wpływu pierwiastków towarzyszących, prostoliniowości krzywych wzorcowych oraz sposobów kalibracji. Roczn. PZH 1977, 28, 355. — 3. *Brzozowska B., Sokotowska R.*: Oznaczanie zawartości ołowiu. Wydawnictwa Metodyczne PZH, 1974, Nr 8. — 4. Polska Norma PN-59/A-04013. Artykuły żywnościowe. Oznaczanie zawartości cynku. — 5. Report of the Ninth Session of the Codex Committee on Methods of Analysis and Sampling. Budapest, 27—31. October 1975. — 6. *Sokotowska R.*: Metoda oznaczania zawartości miedzi. Wydawnictwa Metodyczne PZH, 1972, Nr 4.

Dn. 21.VIII.1980 r.

00-791 Warszawa, ul. Chocimska 24