

546.56{545}.:547.496:2

DE KOPERBEPALING IN PLANTAARDIG
MATERIAAL MET DIAETHYLDITHIO-
CARBAMINAAT

door

J. F. REITH (Pharmaceutisch Laboratorium, Utrecht),
J. Th. L. B. RAMEAU (Landbouwproefstation en Bodem-
kundig Instituut T.N.O., Groningen), E. G. MULDER
(Staatsmijnen, gedetacheerd bij voornoemde instelling),
L. SEEKLES (Laboratorium voor veterinaire chemie,
Utrecht), L. C. E. KNIPHORST (Centraal Instituut voor
Voedingsonderzoek) en W. B. DEIJS (Centraal Instituut
voor Landbouwkundig Onderzoek, Wageningen).

Begin 1944 werd op initiatief van de Organisatie voor Toegepast Natuurwetenschappelijk Onderzoek de „Sporenelementencommissie T.N.O." ingesteld, die zich ten doel stelde de biologische beteekenis van koper en lood voor landbouw en veeteelt te bestuderen. De leiding harer werkzaamheden werd in handen gelegd van Prof. Dr. O. de Vries, voorzitter van de Landbouworganisatie T.N.O. te Den Haag. Al spoedig bleek dat de commissieleden dienden te beschikken over goed-gefundeerde en door alle leden aanvaarde analyse-methodes. Tot dit doel nam een werkgroep uit de genoemde commissie op zich, de methodes in gezamenlijk overleg en op grond van eigen controle-onderzoekingen op te stellen. Daar de door deze werkgroep vastgelegde methode voor de koperbepaling ook buiten de kring der commissieleden van dienst kan zijn, meenen wij goed te doen haar voorzien van een korte toelichting in dit weekblad mede te deelen.

Voor de quantitative bepaling van geringe hoeveelheden koper komen thans voornamelijk twee groepen van colorimetrische methodes in aanmerking, die met diphenylthiocarbazon (meestal „dithizon" genoemd) en die met natriumdiaethylthiocarbaminaat (hier verder te noemen carbaminaat). Beide organische reagentia bezitten hun voordeelen en bezwaren. Het dithizon is iets gevoeliger en, bij goede keuze van pH en toevoeging van maskeerende stof, specifiek dan carbaminaat; het vereischt echter een goede photometer om de meting van de extinctie in een begrensde golflengtegebied te kunnen verrichten („mixed color photometry")¹⁾. Het carbaminaat eischt niet de fijn afgestemde voorzorgen als het dithizon, het wordt minder spoedig gestoord en geeft dus velen een veiliger gevoel, het is echter minder gevoelig. Van groote beteekenis is, dat de carbaminaat-

methode door Bi⁺⁺⁺- en Mn⁺⁺-ionen en in mindere mate ook door Ni⁺⁺- en Co⁺⁺-ionen gestoord kunnen worden.

Indien men volgens de hieronder beschreven werkwijze aan de te onderzoeken alkalische oplossing (pH 9) het reagens carbaminaat toevoegt en met CCl₄ schudt, kan niet alleen het goudgeel gekleurde complex met koper uitgeschud worden, doch ook complexen met kwik (II), zilver, lood, tin, cadmium en zink, die kleurloos zijn en dus niet storen. Andere uitschudbare complexen zijn wel gekleurd nl. van nikkel, cobalt en bismuth die met groengele kleur in CCl₄ oplossen, doch hun kleurintensiteit is slechts 1/20 tot 1/30 van die van het kopercomplex. De storing door nikkel en cobalt zou men kunnen opheffen volgens Butler en Allen²⁾ met behulp van dimethylglyoxim, doch bij vele grondstoffen mag men aannemen dat deze laatste drie metalen in verwaarloosbare hoeveelheid aanwezig zijn.

Anders staat de zaak met het in natuurlijke grondstoffen soms in aanzienlijke concentratie optredende mangaan, dat een paarsachtige tint aan de CCl₄ kan mededeelen. Hoe alkalischer de vloeistof tijdens de extractie is en hoe meer citraat deze bevat, des te minder stoort het Mn. In het hierna volgende voorschrift wordt de storing door mangaan voorkomen of door een wassing met ammonia of door toevoeging van een rijkelijke hoeveelheid citraat.

De citraat-toevoeging heeft nog een andere, even belangrijke beteekenis. Daar het carbaminaat (helaas) een alkalisch milieu vereischt, zullen veelal neerslagen van fosphaten van calcium, ijzer enz., die in den regel in biologisch materiaal optreden, kunnen ontstaan. Deze storende neerslagen kan men voorkomen door de bedoelde kationen complex te binden met citroenzuur. Het Ca⁺⁺-ion vereischt daartoe het 5-voudig gewicht aan citroenzuur.

Eenig neerslag van kiezelzuur, dat tijdens de destructie van plantaardig materiaal ontstaat, bleek de extractie van het koper niet te belemmeren.

Het verband tusschen Cu-gehalte en extinctie van de oplossing in CCl₄ is practisch lineair. Men doet goed, de extinctie met bekende hoeveelheden koper zelf vast te stellen, zoodat in de waarde voor E, die men bij zijn berekeningen toepast de invloeden van persoonlijke uitvoeringsvarianten en van de filters van de photometer verdisconteerd zijn.

Vele voorschriften vermelden één extractie met een organisch oplosmiddel (CCl₄, C₆H₅Br, iso-amylacetaat), waarbij men zoo uniform moet werken en zoo hevig moet schudden, dat geen fouten kunnen

¹⁾ Na de toezending van dit artikel aan de Redactie verscheen in dit blad (blz. 295) het artikel van C. H. Schönk betreffende de koperbepaling met dithizon langs titrimetrische weg. Wij stellen ons voor, op de dithizonmethoden voor snelle serie-bepalingen later terug te komen.

²⁾ L. I. Butler en H. O. Allen, J. Assoc. Official Agr. Chem. 25, 567 (1942).

ontstaan wegens de onvolledige uitschudding. Wij geven er echter de voorkeur aan het kopercomplex volledig aan de waterige laag te onttrekken door herhaalde extracties met CCl_4 , waarbij niet zoo hevig en lang geschud behoeft te worden.

Het is ons gebleken, dat de oplossing van het complex in CCl_4 langen tijd onveranderd blijft in het donker, doch in het daglicht vrij snel verbleekt. Dit is onder meer gebleken uit de volgende 2 series bepalingen van 30 μg Cu volgens het voorschrift:

I. Uitgeschud bij diffuus daglicht:

	gevonden μg Cu.
direct gemeten	27,5
na 1 nacht bewaren in het donker	27,6 en 28,9
na 3 uur bewaren in diffuus daglicht	2,5

II. Uitgeschud bij kunstlicht:

direct gemeten	30,3
na 1 3/4 uur bewaren bij kunstlicht	31,0
na 1 nacht bewaren in het donker	30,5
na 1 nacht bewaren in het donker + 4 uur bij kunstlicht	30,3
na 1 nacht bewaren in het donker + 4 uur bij kunstlicht + 2 uur in diffuus daglicht	15,5
na 8 uur bewaren in diffuus daglicht	ontkleurd

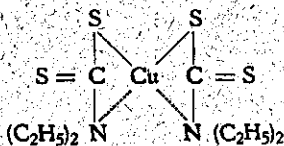
Diffuus daglicht veroorzaakt dus ontleding van het Cu-carbaminaat; bewaring in het donker of bij kunstlicht heeft geen waarneembare ontleding tot gevolg gehad. Het verdient aanbeveling de koperbepaling na de toevoeging van het carbaminaatreagens bij kunstlicht te verrichten.

Voor een verdere toelichting van onze methode mogen wij verwijzen naar het boek van S a n d e l l ³⁾; in het daar gegeven literatuuroverzicht missen wij vermelding van het artikel van D é l é p i n e ⁴⁾, die het reagens voor het eerst heeft aanbevolen, en van de goede studie van N y d a h l ⁵⁾.

Voorschrift voor de koperbepaling met natriumdiaethyldithiocarbaminaat.

Beginsel:

Het Cu^{++} -ion wordt in alkalisch milieu omgezet in koperdiaethyldithiocarbaminaat, waarvan de formule is



Dit inwendige complex wordt met CCl_4 uitgeschud, waarin het met intensief goudgele kleur oplost. Men bepaalt de extinctie van deze oplossing.

Reagentia:

Kopervrij water: uit een geheel glazen toestel gedestilleerd water.

H_2SO_4 96 %; HNO_3 65 %
 NH_4OH 5.6 m = 10 %; NH_4OH 0.5 m; CCl_4 .

Al deze reagentia in zoo zuiver mogelijke handelskwaliteit. Het verdient aanbeveling, HNO_3 en NH_4OH te zuiveren door destillatie. De CCl_4 wordt

³⁾ E. B. Sandell, Colorimetric Determination of traces of metals, New York 1944.

⁴⁾ M. Délepine, Bull. soc. chim. 4e Serie, 3, 643 en 653 (1908).

⁵⁾ F. Nydahl, Z. anal. Chem. 116, 315 (1939).

gezuiverd door schudden met sterk H_2SO_4 , wassen met water, drogen met vast NaOH en destilleeren.

Natriumcitraatoplossing 1 cm^3 = 200 mg citroenzuur: los 37 g natriumcitraat-5 1/2 aq in water tot 100 cm^3 op. Schud deze oplossing in een scheitrechter met overmaat van een oplossing van dithizon in CHCl_3 , laat de onderste laag wegvloeien en wasch met CHCl_3 na tot deze kleurloos afloopt. Laat de opgeloste CHCl_3 verdampen.

Carbaminaat-oplossing: los 0.1 g natriumdiaethyldithiocarbaminaat in 100 cm^3 water op (dagelijks versch bereiden).

Glaswerk, dat nog niet voor micro-koperbepalingen is gebruikt, wordt met verdund HNO_3 uitgespoeld. Alle glaswerk wordt met kopervrij water gereinigd.

Men bepaalt het kopergehalte van de reagentia door dezelfde hoeveelheden van het water en de reagentia volgens voorschrift in bewerking te nemen.

De blanco bedraagt bij gebruik van goede p.a. reagentia 1 à 2 μg . Het verdient aanbeveling de blanco te bepalen van de reagentia, noodig voor de analyse van 1 g organisch materiaal en de blanco voor 5 g organisch materiaal. Door interpolatie vindt men de blanco voor alle voorkomende gevallen.

Hoeveelheid materiaal: Men neemt bij voorkeur zoo veel materiaal in behandeling dat dit 20 tot 100 μg Cu bevat. Van plantaardig materiaal (gedroogd gras, meel enz.) neemt men in verband met zijn inhomogeniteit niet minder dan 1 g droge stof; indien het kopergehalte hoog is, wordt het destruaat met water tot een bekend volume verdund en wordt een bekend gedeelte van deze verdunning aan de verdere analyse onderworpen.

Voorbehandeling: 1—5 g gedroogd materiaal wordt in een droge kookkolf of rondbodemkolf met korte hals (voor 1—2 g een kolf van 150 cm^3 , voor 3—5 g een van 250 cm^3) gebracht en bevochtigd met de driedvoudige hoeveelheid water. Daarna voegt men 5 cm^3 sterk H_2SO_4 en 5 cm^3 HNO_3 65 % toe (of een voorradig mengsel van beide zuren 1 : 1) en verhit, aanvankelijk zeer voorzichtig, tot beginnende verkoling. Vervolgens voegt men eenige druppels HNO_3 65 % bij en verhit weder, tot de oplossing zwart wordt en de nitreuze dampen zijn verdwenen. Men herhaalt dit oxydeeren met HNO_3 tot de oplossing kleurloos of zeer lichtgeel is en na 5 min koken van het H_2SO_4 niet meer van kleur verandert.

Om nitrosylzwavelzuur te verwijderen, voegt men het dubbel volume water toe en damp, men op het waterbad zoo ver mogelijk in.

Koperbepaling: Men voegt aan de vloeistof voldoende citraat toe om het aanwezige Ca in oplossing te houden. Hiertoe is voor 1 tot 5 g plantaardig materiaal 5 tot 15 cm^3 der citraat-oplossing noodig. Daarna wordt de vloeistof met ammonia bijna geneutraliseerd, afgekoeld en met zoo weinig mogelijk water in een scheitrechter overgespoeld. Vervolgens wordt ammonia toegevoegd tot de reactie op phenolphthaleine-papier alkalisch is (totaal ongeveer 28 cm^3 noodig). Voeg 5 cm^3 natriumdiaethyldithiocarbaminaat en 15 cm^3 CCl_4 toe en schud 1 min zeer krachtig. De geelgekleurde CCl_4 -laag wordt in een maatkolfje of schudcylinder van 25 cm^3 afgelaten. Men schudt vervolgens nog 2 maal telkens met 5 cm^3 CCl_4 op de

zelfde wijze uit. De vereenigde extracten worden tot 25 cm³ aangevuld en gemengd. In verband met de lichtgevoeligheid van het Cu-carbamaat worden de extracties bij gedempt daglicht of kunstlicht uitgevoerd.

Ter verwijdering van mogelijk Fe en Mn wordt de verkregen oplossing in een scheitrechter met ongeveer het halve volume ammonia 0.5 m krachtig geschud. Deze wassing met ammonia kan nagelaten worden, indien men de aanvankelijke citraat-toevoeging heeft gesteld op 10 cm³ citraatoplossing per g uitgangsmateriaal. De CCl₄-laag wordt door een droog aschvrij filtertje van 5½ cm snel in een passende cuvet gefiltreerd, die onmiddellijk gesloten wordt en in het donker geplaatst. Vervolgens wordt spoedig, in elk geval binnen eenige uren, de extinctie E bij ongeveer 430 mμ gemeten.

Indien men de Pulfrich-photometer gebruikt, kiest men filter S 43, waarvoor meestal een extinctie gevonden wordt, berekend voor 1 μg Cu per cm³ en cuvet 1 cm $\epsilon = 0.200$. Het is echter steeds noodig, de eigen photometer te ijken, door een bekende hoeveelheid Cu volgens voorschrift te behandelen.

Indien men niet over een photometer beschikt, kan men volstaan met een colorimeter systeem Klett. Men moet dan een bekende hoeveelheid bijv. 50 μg Cu volgens het voorschrift behandelen en de geelkleuring van de verkregen oplossing in CCl₄ vergelijken met die van de „onbekende”.

Berekening: Indien de gevonden extinctie E bedraagt in een cuvet van d cm, dan bedraagt het aantal μg Cu in het onderzochte materiaal.

$$E = d \cdot 25 \cdot \text{kopergehalte reagentia}$$

De uitkomst wordt aangegeven in mg Cu per kg watervrij plantaardig materiaal.

Contrôle-analyses: Volgens dit voorschrift werden tien monsters gedroogd gras en meel in vier laboratoria onderzocht. De uitvoerders der analyses hadden wel gezamenlijk de methodiek opgesteld, doch niet de praktische uitvoering van elkander bezichtigd. Elk

Tabel: Koperbepalingen in 10 monsters plantaardig materiaal door 4 laboratoria. Uitkomsten in mgCu/kg droge stof.

	W.	U.	G.	A.	Var. coeff.
gras	11.9	11.4	11.5	{ 10.6 10.0	3.1
"	—	32.0	33.5	{ 36.2 33.3	2.6
"	11.0	12.0	11.8	{ 10.0 9.2	4.9
"	—	602	565	{ 673 673	4.3
"	12.1	12.4	14.8	{ 10.4 10.1	7.0
"	13.1	11.9	13.4	{ 11.3 11.8	3.3
"	—	193	192	{ 201 202	1.3
tarwekorrel	4.8	5.9	6.6	{ 7.2 6.8	6.7
"	4.0	4.3	5.3	{ 5.7 5.7	7.2
tarwestroo	2.6	2.6	3.2	{ 3.9 3.8	8.8
				Gemiddeld	4.9

laboratorium heeft het watergehalte der monsters vastgesteld door 2 uur te drogen bij 100—105°; de desbetreffende cijfers mogen hier onvermeld blijven. De uitkomsten der koperbepalingen zijn in onderstaande tabel vereenigd. De gegeven cijfers zijn uitkomsten van afzonderlijke bepalingen, behoudens die van laboratorium G, die gemiddelden zijn van op zijn minst 2 analyses. De 1e decimaal is volledigheidshalve aangegeven, hoewel deze niet in de gebruikelijke zin zeker is.

~~De middelbare fouten, uitgedrukt in procenten van het gemiddelde (= de variabiliteitscoëfficiënten) variëren van 1 tot 9. Hun gemiddelde is 4.9 %, hetgeen voor het gestelde doel voldoende wordt geacht.~~

Samenvatting:

De bepaling van sporen koper in plantaardig materiaal met behulp van natriumdiaethylthiocarbamaat wordt kritisch besproken en uitvoerig beschreven.