Project 505.0500
Ontwikkeling methoden voor het aantonen en bepalen van diverse zware metalen en spoorelementen
Projectleider: ir L.G.M.Th. Tuinstra

Rapport 91.19 April 1991

Bepaling van cadmium en lood in dierlijk materiaal met grafietoven atoomabsorptie spectrometrie in vergelijking met differentiële puls heroplossingsvoltametrie

ing. Th.C. Wolters

Afdeling: Anorganische Contaminanten

Goedgekeurd door: ir L.G.M.Th. Tuinstra

Rijks-Kwaliteitsinstituut voor land- en tuinbouwprodukten (RIKILT)
Bornsesteeg 45, 6708 PD Wageningen
Postbus 230, 6700 AE Wageningen
Telefoon 08370-75400
Telex 75180 RIKIL
Telefax 08370-17717

Copyright 1991, Rijks-Kwaliteitsinstituut voor land- en tuinbouwprodukten.
Overname van de inhoud is toegestaan mits met duidelijke bronvermelding.

VERZENDLIJST

INTERN:
directeur
sectorhoofden
afdelingshoofden
afdeling Anorganische Contaminanten (5x)
programmabeheer en informatieverzorging (2x)
circulatie
bibliotheek

EXTERN:
Dienst Landbouwkundig Onderzoek
Directie Wetenschap en Technologie
Directie Voedings- en Kwaliteitsaangelegenheden
DLO-Staring Centrum
Agralin

ABSTRACT

Bepaling van cadmium en lood in dierlijk materiaal met grafietoven atoomabsorptie spectrometrie in vergelijking met differentiële puls heroplossingsvoltametrie.

Determination of Cadmium and Lead in Animal Tissue using Graphite Furnace Atomic Absorption Spectroscopy as Compared with Differential Pulse Anodic Stripping Voltametry.

Report 91.19 April 1991

Th.C. Wolters

State Institute for Quality Control of Agricultural Products (RIKILT)
PO Box 230, 6700 AE Wageningen, the Netherlands

8 figures, 10 tables, 16 references

Low concentrations of Cadmium an Lead may be present in animal tissue. Sensitive methods are needed to analyse at low concentrations. Graphite furnace atomic absorption spectroscopy (GFAAS) can be a good alternative. Experiments were carried out with microwave nitric acid destruction using GFAAS with stabilized temperature platform furnace and Zeeman background correction.
Optimizations were preformed on thermal pretreatment and atomisation temperatures for Cadmium and Lead in standard solution, bovine liver and pig kidney. Analysis were carried out using reference samples of bovine muscle, bovine liver and pig kidney using microwave-GFAAS method as compared with dry ashing-differential pulse anodic stripping voltametry (DPASV) method.
Results showed that optimization of GFAAS using sample matrix is needed.
Analysis with reference samples confirmed certified values. Analysis with different animal tissue samples showed good compatibility with DPASV method.
Detection limit (x + 3s) of Cadmium was 0.007 mg/kg and of Lead 0.015 mg/kg. Determination limit (x + 6s) of Cadmium was 0.010 mg/kg and of Lead 0.030 mg/kg.

Key words: Graphite Furnace Atomic Absorption Spectroscopy, Stabilized Temperature Platform Furnace, Zeeman Background Correction, Differential Pulse Anodic Stripping Voltametry, Analytical Method, Cadmium, Lead, Cd, Pb, Animal Tissue, DPASV, GFAAS.

INHOUD blz

ABSTRACT 1

1 INLEIDING 5

2 MATERIALEN EN METHODEN 10
2.1 Analyse met magnetron ontsluiting en GFAAS 10
2.1.1 Reagentia 10
2.1.2 Apparatuur 10
2.1.3 Monstervoorbehandeling en ontsluiting 10
2.1.4 Meting met GFAAS 11
2.2 Analyse met droge verassing en DPASV 13
2.2.1 Reagentia 13
2.2.2 Apparatuur 14
2.2.3 Monstervoorbehandeling en verassing 14
2.2.4 Meting met DPASV 15
2.3 Toetsing GFAAS met monstermatrix 15
2.4 Optimalisering GFAAS met verschillende matrices 15
2.5 Toetsing GFAAS methode met referentiemonsters 16
2.6 Bepaling aantoonbaarheids- en bepaalbaarheidsgrenzen 17
2.7 Vergelijking GFAAS v.s. DPASV methode 17

3 RESULTATEN EN DISCUSSIE 18
3.1 Toetsing GFAAS met monstermatrix 18
3.2 Optimalisering GFAAS met verschillende matrices 18
3.3 Toetsing GFAAS methode met referentiemonsters 20
3.4 Bepaling aantoonbaarheids- en bepaalbaarheidsgrenzen 21
3.5 Vergelijking GFAAS v.s. DPASV methode 21

4 CONCLUSIES 26

REFERENTIES 27

1 INLEIDING

Reeds bij lage concentraties vormen verschillende metalen een potentiële bedreiging voor het milieu en de kwaliteit van voedingsmiddelen. Dit betekent dat gevoelige analyse methoden nodig zijn voor de bepaling van kritische concentraties. De maximaal toelaatbare concentraties van verschillende metalen in voedingsmiddelen liggen op het niveau van µg/kg.
Voor veel elementen wordt door het RIKILT vlam atomaire absorptie spectrometrie als detectie methode toegepast. Een betrouwbare techniek, echter niet geschikt voor zeer lage concentraties (Horstman et al. 1988).
Voor de bepaling van cadmium en lood wordt door het RIKILT de differentiële puls heroplossingsvoltametrie (DPASV) als detectie methode toegepast. Dit is een gevoelige en meestal betrouwbare methode. De toegepaste voltametrische methode is niet geschikt voor de bepaling van lage cadmium niveau's in aanwezigheid van hoge loodconcentraties en lage lood niveau's in aanwezigheid van hoge cadmiumconcentraties. Een alternatief voor de bepaling van verschillende elementen bij zeer lage concentraties is grafietoven atoomabsorptie spectrometrie (GFAAS). De grafietoventechniek is echter gevoelig voor zowel chemische, spectrale als fysische storingen.

Chemische storingen kunnen worden veroorzaakt door de reactie van het te bepalen element met de hete grafietovenwand, waarbij carbides worden gevormd. Door toepassing van een pyrolitisch gecoat buisje of door een buisje te coaten met een carbide-vormer (b.v. molybdeen, zirkonium, lanthaan, tantaal) kunnen deze storingen voorkomen worden. (Pyrolytisch) gecoate buisjes zijn tevens beter bestand tegen zuren.

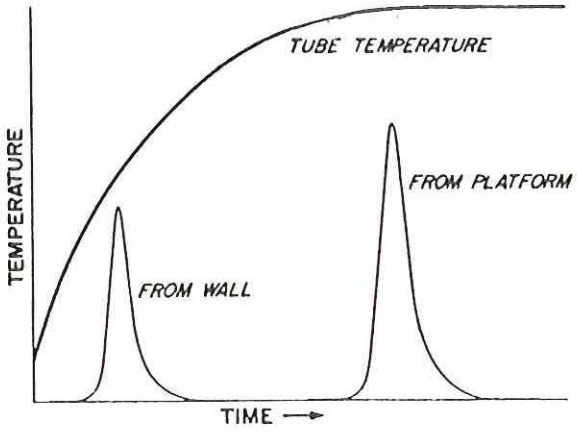
Spectrale storingen worden veelal veroorzaakt door moleculaire absorptie en/of verstrooiing van de straling van de elementlamp.
Tot ca 0,7 atomaire absorptie eenheden kan voor deze effecten worden gecorrigeerd m.b.v. een continue stralingsbron (deuterium-achtergrond correctie) (Slavin en Garnrick 1986). Met deuterium-achtergrond correctie wordt de achtergrond gemiddeld over de gehele bandbreedte. Het systeem voldoet voor niet-specifieke absorptie wanneer deze constant is binnen de bandbreedte van de monochromator. Bij een gestructureerd achtergrondsignaal wordt foutief gecorrigeerd.

Achtergrondcorrectie m.b.v. het Zeeman-achtergrondcorrectiesysteem verdient dan de voorkeur. Bij de Zeeman-techniek is de grafietoven in een pulserend magneetveld geplaatst. Wanneer dit veld uitgeschakeld is, wordt een signaal inclusief achtergrond gemeten. Met ingeschakeld magneetveld absorberen atomen uitsluitend straling, waarvan de polarisatierichting loodrecht staat of evenwijdig loopt met de richting van het magneetveld. Met behulp van een polarisator wordt het atoomabsorptiesignaal uitgefilterd en de achtergrond gemeten (Slavin et al. 1983).
Zowel de totale absorptie (atoomabsorptie + achtergrond) als het achtergrondsignaal worden bij dezelfde golflengte gemeten, waardoor het mogelijk is te corrigeren voor een gestructureerde achtergrond. Met het Zeeman-systeem kan tot ca 2,0 atomaire absorptie eenheden gecorrigeerd worden. Het systeem kan dus voor ca 3 maal zoveel achtergrondsignaal corrigeren als het deuterium-achtergrond correctiesysteem.

Fysische storingen neigen de vorm van het absorptiesignaal te veranderen. De meting met grafietoven atoomabsorptie spectrometrie kan op verschillende manieren uitgevoerd worden. Parameters die de meting beinvloeden zijn bijvoorbeeld het soort grafietbuisje, atomisatie vanaf de wand of vanaf een platform, de matrix van de meetoplossing, toepassing van matrixmodificatie etc. (Desaulniers et al. 1985, Massmann, 1968).

Afhankelijk van de samenstelling van de meetoplossing kan tijdens de atomisatiestap het te bepalen element op verschillende tijdstippen, dus bij verschillende temperaturen, geatomiseerd worden. Als gevolg hiervan het absorptiesignaal uit meerdere pieken bestaan.
De respons op basis van zowel piekoppervlak als piekhoogte verandert met de atomisatie temperatuur.
In het oorspronkelijk ontwerp van de grafietbuis van L'vov (1961) wordt een electrisch verhitte buis gebruikt, waarin het monster wordt geatomiseerd vanaf een onafhankelijk verhitte electrode, nadat de oven een constante temperatuur heeft bereikt. Dergelijke ontwerpen bleken veel minder gevoelig voor fysische storingen dan het commercieel beter toepasbare Massmann ontwerp, waarbij het monster direct op de wand van het buisje geïnjecteerd wordt voor het verwarmen van het buisje.

Echter op deze manier kunnen de temperatuur van het buisje en die van de gassen in de damp fase (verdampte monster in inert gas) niet onafhankelijk gecontroleerd worden.
In 1978 stelde L'vov voor het monster te injecteren op een platform dat in een Massmann grafietoven is geplaatst. Het platform wordt hoofdzakelijk verhit door stralingswarmte van het grafietbuisje (zie figuur 1).



Figuur 1: Atomisatie van de wand en van een platform

Verdamping en atomisatie vinden dan plaats vanaf het relatief koelere platform naar de hetere gasfase (verdampte monster + inert gas). Moleculaire deeltjes dissociëren daardoor makkelijker en recombinatiereacties worden voorkomen. De atomen komen in de gasfase, waar de temperatuursomstandigheden vrijwel isotherm zijn. Dit leidt tot een meer éénduidig atomisatie gedrag.

Om tot atomisatie onder min of meer isotherme condities te komen is het van belang dat de temperatuur van het grafietbuisje zo snel mogelijk constant is. Dit wordt bereikt door het toepassen van "maximum power heating" bij de overgang van de verassings- naar de atomisatietemperatuur en door het streven naar een zo klein mogelijk verschil tussen verassings- en atomisatietemperatuur.

Fysische storingen kunnen zich uiten in de vorm van vervluchtigen van het te bepalen element als moleculair deeltje voordat de atomisatie-temperatuur bereikt wordt. De omvang van fysische storingen kan verder gereduceerd c.q. geëlimineerd worden door gebruik te maken van matrix-modificatie. Matrixmodificatie werd door Ediger et al. (1974) geïntro-duceerd. Zij pasten ammoniumnitraat toe bij de bepaling van onder meer lood in zeewater.
Het te analyseren element wordt omgezet in een eenduidige verbinding. Wordt een stabiele verbinding gevormd dan kan bij hogere temperaturen worden verast, waardoor matrixinterferenties gereduceerd worden.
Wanneer sprake is van de vorming van een vluchtige verbinding, dan kan een lagere atomisatietemperatuur worden toegepast, storende verbin-dingen met een hogere dissociatietemperatuur komen dan op een later tijdstip in de lichtweg dan het te analyseren element.
Matrixmodificatie kan zowel bij off-wall als bij platform-atomisatie worden toegepast. Het principe van matrixmodificatie is voor beide atomisatiemethoden analoog. De effectiviteit kan echter verschillen.
Een veel toegepaste matrixmodifier is ammoniumdiwaterstoffosfaat. Toe-voeging hiervan leidt tot omzetting van cadmium, en lood in een één-duidige, stabiele verbinding. Daarnaast worden storende zouten (m.n. chlorides) omgezet in vluchtige verbindingen (Hinderberger et al. 1981, Schindler 1983, Schmidt en Dietl 1979).
Manning en Slavin (1983) pasten ammoniumdiwaterstoffosfaat toe bij de bepaling ven cadmium in rivierwater met behulp van platform atomisatie en deuterium-achtergrond correctie. Toevoegen van 10 μg magnesium-nitraat, maakte het mogelijk om een hogere verassingstemperatuur toe te passen (1000 ^{o}C tegen 800 ^{o}C). Grotere hoeveelheden van dit zout geven aanleiding tot extra achtergrond.
Slavin (1984) beveelt deze combinatie eveneens aan. Desaulniers et al. (1985) gebruikten ook ammoniumdiwaterstoffosfaat in combinatie met magnesiumnitraat voor de bepaling van cadmium in vismonsters. Volgens Narres et al. (1985) werkt het in melk aanwezige fosfaat als matrix modifier bij grafietoven AAS-analyses.

Een van de nadelen van de GFAAS is dat het toepasbare concentratiegebied beperkt is. Het verschil tussen laagste en hoogste meetbare concentratie is slecht één decade. Dit heeft als consequentie dat een analyse precies binnen dit meetgebied moet vallen. Extrapoleren buiten dit concentratiegebied is onbetrouwbaar.
Het toepasbare concentratiegebied van de GFAAS kan beïnvloed worden door de hoeveelheid te injecteren monsterextract te variëren. In een grafietbuisje met platform kan theoretisch 5 tot 100 μl geïnjecteerd worden. De herhaalbaarheid van het injectievolume is beter dan 1% bij injectievolumina van 10 tot 50 μl wanneer injectievolumina kleiner dan 10 of groter dan 50 μl toegepast worden dient rekening gehouden te worden met een slechtere herhaalbaarheid (Wolters 1991).
Een andere optie is de mogelijkheid om de meetoplossing meerdere malen te injecteren en tussentijds te drogen.

Doel van het onderzoek was het toepasbaar maken van de ontsluiting van dierlijk materiaal met salpeterzuur in een magnetronoven gevolgd door detectie met GFAAS. Om het gestelde doel te bereiken zijn verassings- en atomisatiecurven opgenomen van cadmium en lood met verschillende matrices. Hierna zijn gecertificeerde referentie monsters geanalyseerd met de GFAAS methode. Voor de analyse van lood is geëxperimenteerd met meervoudige injecties bij de GFAAS methode om een grotere gevoeligheid te verkrijgen. Tenslotte zijn 60 monsters dierlijk materiaal met zowel de GFAAS- als met de DPASV-methode geanalyseerd waarna de analyse resultaten vergeleken zijn.

2 MATERIALEN EN METHODEN

2.1 Analyse met magnetron ontsluiting en GFAAS

2.1.1 Reagentia

- Salpeterzuur 65% (m/m) suprapur Merck art 441;
- Salpeterzuur 0,65% (m/v);
- Matrixmodifier 200 µg $(NH_4)H_2PO_4$ + 10 µg $Mg(NO_3)_2$ (10 µl injectie);
- Standaardreeks cadmium en lood bestaande uit 20 µg/l Pb + 4 µg/l Cd, 15 µg/l Pb + 3 µg/l Cd, 10 µg/l Pb + 2 µg/l Cd, 5 µg/l Pb + 1 µg/l Cd en 1 µg/l Pb + 0,2 µg/l Cd.

2.1.2 Apparatuur

- Magnetronoven MDS 81D, vermogen 600 W met de mogelijkheid om temperatuur en tijdsduur in 3 stappen te programmeren en voorzien van draaischijf;
- Teflon PFA vaten 120 ml met bijbehorende schroefdeksels, veiligheidsventielen en monster carrousel en open/sluitmachine voor deze vaten (CEM capping station);
- Perkin Elmer Zeeman/3030 grafietoven atoomabsorptie spectrometer voorzien van STPF en voorzien van Zeeman achtergrondcorrectie systeem;
- Elementlampen voor Pb en Cd (EDL, Perkin Elmer nr 303.6216 en 303.6239);
- Voeding voor gasontladingslampen (Perkin Elmer power supply).

2.1.3 Monstervoorbehandeling en ontsluiting

De monsters worden gevriesdroogd, gemalen en gehomogeniseerd. Van het monstermateriaal worden 0,5 tot 1,0 g tot op 1 mg nauwkeurig afgewogen op een weegschuitje en overgebracht in een teflon PFA vat. Er worden 5 ml water toegevoegd waarna het monster gemengd wordt met het water. Er worden 5 ml salpeterzur 65% toegevoegd waarna opnieuw gemengd wordt. De teflonvaten worden met de open/sluitmachine gesloten en in de monster carrousel geplaatst.

De overdrukslangen worden aangesloten op het zuuropvangvat. De monstercarrousel wordt in de magnetronoven geplaatst. De magnetronoven wordt 1 min met 30% vermogen, 4 min met 80% vermogen en 40 min met 100% vermogen verwarmd. De carrousel met teflonvaten wordt afgekoeld met water tot kamertemperatuur.
De overdruk wordt van de teflon vaten afgelaten door het veiligheidsventiel te openen waarna de teflonvaten geopend worden met de open/sluitmachine. Het monsterextract wordt met water overgebracht in maatkolven van 50 ml, aangevuld met water en gehomogeniseerd.

2.1.4 Meting met GFAAS

Ca 2 ml van het monster extract worden overgebracht in een monstervaatje en in de monsterwisselaar geplaatst. De monsters worden geanalyseerd en berekend aan de hand van een ijkreeks. Voor cadmium bevat deze ijkreeks 0,2, 1, 2, 3 en 4 μg/l Cd. Voor lood bevat deze ijkreeks 1, 5, 10, 15 en 20 μg/l Pb.
De GFAAS wordt verder ingesteld conform de handleiding en met de instellingen als gegeven in tabel 1 t/m 3 voor cadmium en tabel 4 t/m 6 voor lood. Voor cadmium worden een golflengte van 228,8 nm en een lampvermogen van 5 W ingesteld. Voor lood worden een golflengte van 283,3 nm en een lampvermogen van 10 W ingesteld.

Tabel 1: Instellingen in de "PROGRAMMING MODE INSTRUMENT" voor cadmium

1. TECHNIQUE: ZEEMAN	2. LAMP CURRENT (MA): 0
3. SIGNAL PROCESSING: PEAK AREA	4. CALIBRATION: AUTO SELECT
5. TIME (SEONDS): 5.0	6. READ DELAY (SECONDS): 0.0
7. SCREEN FORMAT: 1.0 GRAPHICS	8. PRINTER: MAIN SUPPL PEAK
9. RECORDER SIGNAL: 0.2 CONT ABS	10. RECORDER EXP: 1000
11. STATISTICS: SINGLE READING	12. NOMINAL WEIGHT 1.0
13. ROLLOVER(ABS): 1.200	14. BG SCALE: 1.0

15. S1: 4.000	16. S2: 3.000	17. S3: 2.000
18. S4: 1.000	19. S5: 0.200	20. S6:
21. S7:	22. S8:	23. RSLP:

Tabel 2: Instellingen in de "PROGRAMMING MODE HGA 600" voor cadmium

STEP NUMBER	FURNACE TEMPERATURE	TIME RAMP	TIME HOLD	INTERNAL GASFLOW	READ	RECORDER
1	100	1	60	300	-	-
2	130	20	30	300	-	-
3	750	30	30	300A	-	-
4	750	1	2	0	-	-
5	1250	0	5	0	*	*
6	2650	1	5	300A	-	-
7	20	1	10	300	-	-
8	----	1	--	300	-	-
9	----	1	--	300	-	-

Stap 3 en 4 zijn de verassingsstappen en stap 5 is de atomisatie stap.

Tabel 3:Instellingen in de "PROGRAMMING MODE AUTOSAMPLER" voor cadmium

SOLUTIONS	LOCATION	VOLUME	BLANK VOLUME
BLANK	36		20
STANDARD 1	31	20	--
STANDARD 2	32	20	--
STANDARD 3	33	20	--
STANDARD 4	34	20	--
STANDARD 5	35	20	--
STANDARD 6	--	20	--
STANDARD 7	--	20	--
STANDARD 8	--	20	--
RESLOPE	--	20	--
MATRIX MODIFIER 1	37	10	--
MATRIX MODIFIER 2	00	10	--
SAMPLE 01 TO 30 WITH MODIFIER 1 + -		20	--
SAMPLE -- TO -- WITH MODIFIER - + -		20	--
RECAL LOCATIONS: -- : -- : -- : -- : --		NUMBER OF INJECTIONS: 01	

Tabel 4: Instellingen in de "PROGRAMMING MODE INSTRUMENT" voor lood.

1. TECHNIQUE: ZEEMAN	2. LAMP CURRENT (MA): 0
3. SIGNAL PROCESSING: PEAK AREA	4. CALIBRATION: AUTO SELECT
5. TIME (SEONDS): 4.0	6. READ DELAY (SECONDS): 0.0
7. SCREEN FORMAT: 1.0 GRAPHICS	8. PRINTER: MAIN SUPPL PEAK
9. RECORDER SIGNAL: 0.2 CONT ABS	10. RECORDER EXP: 1000
11. STATISTICS: SINGLE READING	12. NOMINAL WEIGHT 1.0
13. ROLLOVER(ABS): 1.500	14. BG SCALE: 1.0

15. S1: 20.00	16. S2: 15.00	17. S3: 10.00
18. S4: 5.00	19. S5: 1.00	20. S6:
21. S7:	22. S8:	23. RSLP:

Tabel 5: Instellingen in de "PROGRAMMING MODE HGA 600" voor lood

STEP NUMBER	FURNACE TEMPERATURE	TIME RAMP	TIME HOLD	INTERNAL GASFLOW	READ	RECORDER
1*	100	1	60	300	-	-
2*	130	20	30	300	-	-
3	750	30	60	300A	-	-
4	750	1	2	0	-	-
5	1450	0	4	0	*	*
6	2650	1	4	300A	-	-
7	20	1	10	300	-	-
8	----	1	--	300	-	-
9	----	1	--	300	-	-

Stap 1 en 2 worden herhaald bij meervoudige injecties.
Stap 3 en 4 zijn de verassingsstappen en stap 5 is de atomisatie stap.

Tabel 6: Instellingen in de "PROGRAMMING MODE AUTOSAMPLER" voor lood

SOLUTIONS	LOCATION	VOLUME	BLANK VOLUME
BLANK	36		30
STANDARD 1	31	30	--
STANDARD 2	32	30	--
STANDARD 3	33	30	--
STANDARD 4	34	30	--
STANDARD 5	35	30	--
STANDARD 6	--	20	--
STANDARD 7	--	20	--
STANDARD 8	--	20	--
RESLOPE	--	20	--
MATRIX MODIFIER 1	37	05	--
MATRIX MODIFIER 2	00	05	--
SAMPLE 01 TO 30 WITH MODIFIER 1 + -		30	--
SAMPLE -- TO -- WITH MODIFIER - + -		20	--
RECAL LOCATIONS: -- : -- : -- : -- : --		NUMBER OF INJECTIONS: 02	

2.2 Analyse met droge verassing en DPASV

2.2.1 Reagentia

- Salpeterzuur 65% (m/m) Suprapur Merck art 441;
- Zoutzuur 30% (m/m) Suprapur Merck art 318;
- Ammonia 25% (m/m) Suprapur Merck art 5428;
- Azijnzuur 96% (m/m) Suprapur Merck art 55;
- Acetaat/azijnzuur buffer (102,5 g Natrium acetaat + 7,5 g dinatrium tartraat dihydraat + 96 ml azijnzur 96% /l, pH = 4,7 $\pm$ 0,1);
- Magnesiumnitraat 10% (m/v);
- Cadmiumstandaardoplossing 10 μg/l;
- Lood standaardoplossing 20 μg/l;
- Zoutzuur 6,6% (m/m).

2.2.2 Apparatuur

- Kwartskroezen, 50 ml met kwartsdeksel;
- Verwarmingsplaten met regelbare temperatuursinstelling;
- Moffeloven, voorzien van kwarts binnenbekleding. De temperatuursinstelling gradueel instelbaar, te programmeren tussen 20 en 500 °C; (Carbolite GPB 2 in combinatie met Gulton QG West Gardian controller);
- Geautomatiseerd voltametrisch systeem van Metrohm bestaande uit:
  Processor VA 646 met ingebouwde printer,
  Monsterwisselaar VA 675,
  Drive Unit E677,
  2 Dosimats E665 met wisseleenheid (cylindervolume 1,0 ml),
  2 Spoeleenheden E683,
  Meetvaatjes nr 6.1415.210,
- PH meter.

2.2.3 Monstervoorbehandeling en verassing

De verse monsters worden gevriesdroogd, gemalen en gehomogeniseerd. Van het droge monstermateriaal wordt 1 g tot op 1 mg nauwkeurig afgewogen in een kwartskroes. Hieraan worden 2,5 ml magnesium nitraat 10% (m/v) en 2,5 ml salpeterzuur 65% (m/m) toegevoegd. De kwartskroezen worden op een kookplaat geplaatst en de inhoud wordt voorzichtig drooggedampt. Hierna wordt de kroes afgedekt met een kwartsdeksel.

Het geheel wordt overgebracht in een moffeloven. De oven wordt opgewarmd met ca 50 °C/h tot 450 °C. Deze temperatuur wordt gedurende 8 à 9 uur gehandhaafd.

Na deze periode worden de kroezen uit de moffeloven gehaald. Na afkoelen worden 2 ml salpeterzuur 65% (m/m) toegevoegd. De kroesinhoud wordt drooggedampt op een kookplaat. De kroezen worden afgedekt met een kwartsdeksel en overgebracht in de moffeloven die afgekoeld wordt tot ca 300 °C. De moffeloven wordt ingesteld en opgewarmd tot 450 °C. Deze temperatuur wordt 30 min. gehandhaafd. De kroezen worden uit de moffeloven gehaald. Na afkoelen wordt gecontroleerd of er nog koolstof deeltjes in de as voorkomen. Wanneer nog koolstof deeltjes aangetroffen zijn wordt de procedure met salpeterzuur herhaald.

Aan de kroezen worden 5 ml zoutzuur 6,6% toegevoegd. De kroezen worden geplaatst op een kookplaat met roermagneten waarna de as opgelost wordt door roeren en licht verwarmen (50 °C).

De oplossingen worden overgebracht in meetvaatjes terwijl de kroezen tweemaal met 5 ml natriumacetaat/azijnzuur buffer worden nagespoeld. De pH van de meetoplossingen wordt gecontroleerd en op pH 3 tot 3,5 gebracht. Wanneer een van de oplossingen troebeling vertoont wordt deze oplossing aangezuurd totdat de troebeling verdwenen is.

2.2.4 Meting met DPASV

In de dosimats 1 en 2 worden de standaardoplossingen cadmium (10 μg/l) respectievelijk lood (20 μg/l) gedaan. Eén meetvaatje wordt gevuld met blanco oplossing. De overige meetvaatjes worden gevuld met monsteroplossing. De meetvaatjes worden in de monsterwisselaar geplaatst waarna de monsters gemeten worden met de standaardadditie methode.

2.3 Toetsing GFAAS met monstermatrix

Om te controleren of een monster zonder probleem geanalyseerd kan worden met dezelfde verassings- en atomisatietemperatuur als voor standaardoplossingen is een referentiemonster geanalyseerd. Gekozen is voor een BCR referentiemonster varkenslever (CRM185) welke in 12-voud geanalyseerd is.

De analyse van cadmium is uitgevoerd met een enkelvoudige injectie van 20 μl. De analyse van lood is uitgevoerd met enkelvoudige, tweevoudig en drievoudige injecties van 30 μl. Er is niet gekozen voor het variëren van injectievolume omdat bij injectievolumina van 50 μl en meer de herhaalbaarheid van het injectiesysteem slechter wordt met het injectievolume.

2.4 Optimalisering GFAAS met verschillende matrices

Om te controleren of de instelling van verassings- en atomisatietemperatuur geschikt zijn voor de analyse met dierlijk materiaal zijn verassings- en atomisatiecurven opgenomen van standaardoplossing en extracten van nier en lever. Voor beide elementen is een enkelvoudige injectie van 20 μl toegepast.

Eerst zijn de verassingscurven opgenomen. Hiertoe is de atomisatietemperatuur ingesteld op 1200 ^{o}C voor cadmium en 1400 ^{o}C voor lood. De verassingstemperatuur is ingesteld op 500 ^{o}C. De verassingstemperatuur is telkens met 100 ^{o}C verhoogd.

Bij elke temperatuur is de respons bepaald op basis van piekoppervlak. Het verhogen van de verassingstemperatuur is voortgezet totdat een duidelijk afname van de respons op basis van piekoppervlak waarneembaar was.
Uit de responscurven is de meest geschikte verassingstemperatuur bepaald voor alle matrices, zodanig dat alle matrices bij eenzelfde verassingstemperatur geanalyseerd kunnen worden.

Na de verassingscurven zijn de atomisatiecurven opgenomen. Daartoe is de verassingstemperatuur ingesteld op de waarde die als meest geschikte is bepaald. De atomisatietemperatuur is ingesteld op 2000 ^{o}C. De atomisatietemperatuur is telkens met 100 ^{o}C verlaagd. Bij elke atomisatietemperatuur is de respons bepaald op basis van piekoppervlak. Het verlagen van de atomisatietemperatuur is voortgezet totdat een duidelijke afname van de respons op basis van piekoppervlak waarneembaar was. Uit de responscurven is de meest geschikte atomisatietemperatuur bepaald voor alle matrices, zodanig dat alle matrices bij eenzelfde atomisatietemperatuur geanalyseerd kunnen worden.

2.5 Toetsing GFAAS methode met referentiemonsters.
Om informatie te verkrijgen omtrent de juistheid van de GFAAS methode zijn referentie monsters geanalyseerd waarvan de cadmium en lood gehalten gecertificeerd zijn. De referentiemonsters zijn in 12-voud geanalyseerd volgens de hiervoor beschreven GFAAS methode.
De gebruikte referentiemonsters, afkomstig van de BCR, zijn rundvlees (CRM 184), runderlever (CRM 185) en varkensnier (CMR 186).

Voor cadmium is een enkelvoudige injectie van 20 μl gebruikt. Voor lood zijn enkelvoudige, tweevoudig en drievoudige injecties van 30 μl toegepast.
De resultaten zijn uitgedrukt als gemiddelde $\pm$ t.SE, waarbij t de students-t waarde is behorende bij het aantal vrijheidsgraden van het gemiddelde, met een betrouwbaarheid van 95%. SE is de standaard afwijking van het gemiddelde (s/ n). De teflon PFA vaten worden uitgekookt met 5 ml water en 5 ml salpterzuur volgens hetzelfde magnetronovenprogramma als de monsters. Een experiment is uitgevoerd, met een referentiemonster rundvlees, waarbij dit uitkoken weggelaten is.

2.6 Bepaling aantoonbaarheids- en bepaalbaarheidsgrenzen

Voor de bepaling van de aantoonbaarheids- en bepaalbaarheidsgrenzen van cadmium en lood zijn 12 blancobepalingen geanalyseerd.
In het RIKILT is de aantoonbaarheidsgrens gedefinieerd als de gemiddelde blancobepaling + 3 maal de standaarddeviatie. De bepaalbaarheidsgrens is gedefinieerd als de gemiddelde blancobepaling + 6 maal de standaarddeviatie.
De aantoonbaarheids- en bepaalbaarheidsgrenzen zijn uitgedrukt in mg/kg van het in bewerking genomen materiaal en gebaseerd op 1 gram inweeg. Bij terugrekenen naar productbasis en bij een andere inweeg moeten de aantoonbaarheids- en bepaalbaarheidsgrenzen dus aangepast worden.

2.7 Vergelijking GFAAS v.s. DPASV methode

Om de resultaten van de GFAAS methode te vergelijken met de thans gangbare DPASV methode zijn analysen uitgevoerd met 60 monsters waarvan de cadmium en lood gehalten reeds bepaald waren met de DPASV methode. De 60 monsters zijn samengesteld uit 27 monsters nier, 27 monsters lever en 6 monsters vlees.
De GFAAS analyses zijn uitgevoerd met de hiervoor beschreven methode waarbij verassings- en atomisatietemperatuur ingesteld zijn op de waarden gevonden na optimalisering.
De gevonden GFAAS resultaten zijn uitgezet tegen de corresponderende DPASV resultaten waarna door de punten de best passende rechte is getrokken. Uit de ontstane grafiek zijn de hellingshoek en correlatiecoëfficiënt (R) berekend.

3 RESULTATEN EN DISCUSSIE

3.1 Toetsing GFAAS met monstermatrix

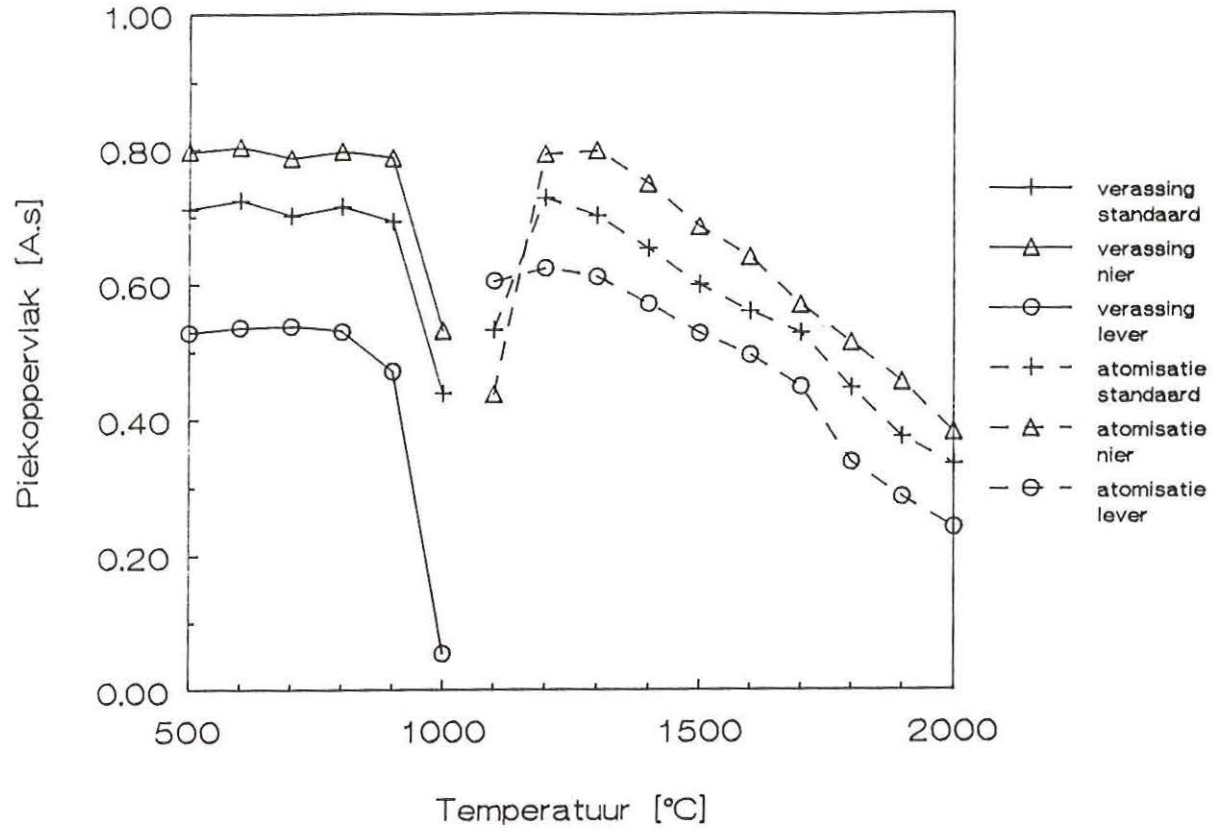
De resultaten van de toetsing van de GFAAS methode met een monstermatrix van runderlever zijn weergegeven in tabel 7.
Uit de resultaten blijkt, dat de gevonden cadmium gehalten goed overeenkomen met de opgegeven waarde. Uit de resultaten blijkt tevens dat bij een toenemend aantal injecties lagere lood gehalten gevonden worden, in het geval van een drievoudige injectie is dit significant lager. Deze lagere gehalten werden mogelijk veroorzaakt door een te krap (= te hoog) gekozen verassingstemperatuur. Optimalisatie van de verassingstemperatuur bij verschillende matrices is noodzakelijk.

Tabel 7: Gemiddelde gehalte aan cadmium en lood (mg/kg) ± t.SE van 12 referentie monsters runderlever.

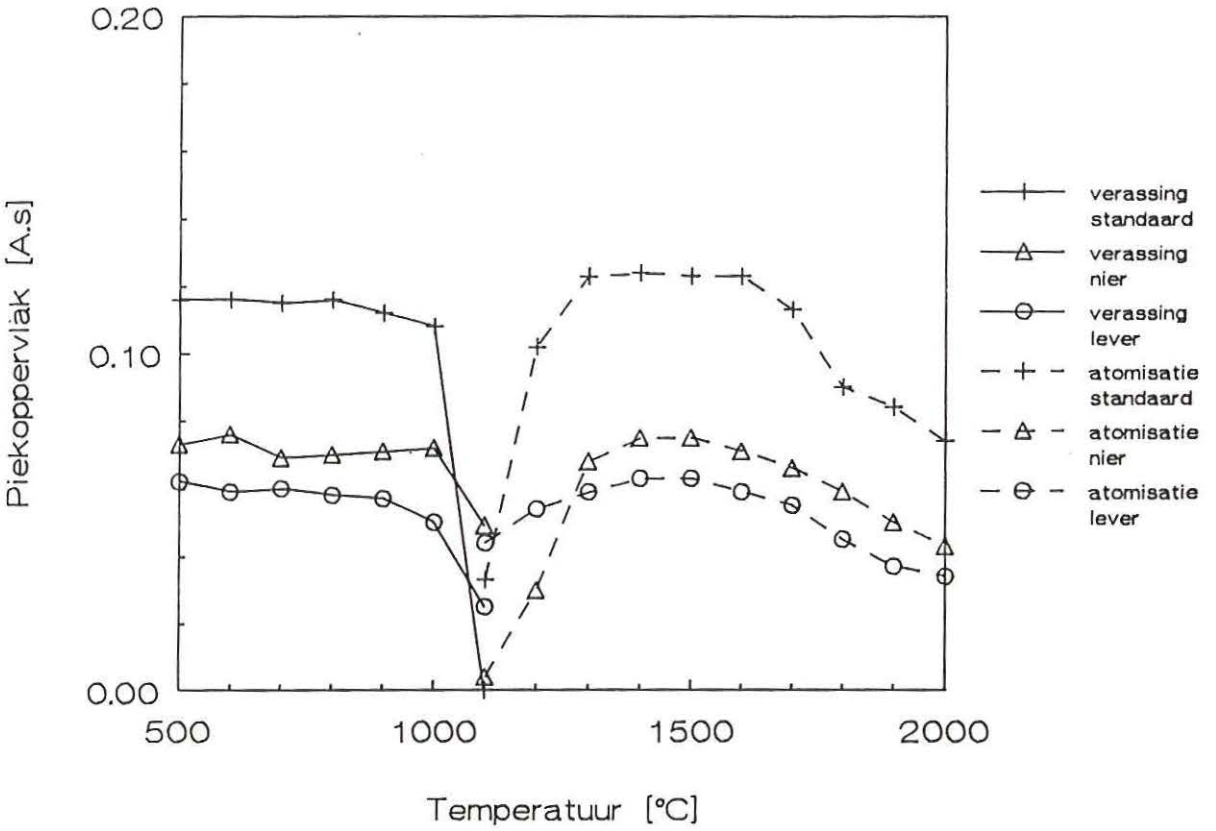
aantal	cadmium		lood	
injecties	opgegeven	gevonden	opgegeven	gevonden
1	0.298±0.025	0.287±0.012	0.501±0.027	0.521±0.030
2	-	-	0.501±0.027	0.470±0.026
3	-	-	0.501±0.027	0.399±0.027

3.2 Optimalisering GFAAS met verschillende matrices

De resultaten van de optimalisering van de GFAAS met verschillende matrices zijn weergegeven in de figuren 1 en 2.
Figuur 1 geeft de optimalisering van verassings- en atomisatietemperatuur voor cadmium en figuur 2 geeft de optimalisering voor lood.
Uit de resultaten blijkt, dat de verassingstemperatuur voor cadmium en lood waarbij geen verliezen optreden ligt bij 750 °C.
De atomisatietemperatuur kan voor cadmium het beste op 1250 en voor lood op 1450 °C ingesteld worden.
De optimale verassingstemperatuur is dus voor beide elementen 50 °C lager in de matrices als voor zuivere standaardoplossing.
De optimale atomisatietemperatuur is voor beide elementen 50 °C, hoger in de matrices als voor zuivere standaardoplossing.
Optimalisatie met matrix van monsteroplossingen is noodzakelijk.



Figuur 1. Verassings- en atomisatiecurven van cadmium in verschillende matrices in vergelijking met standaardoplossing.



Figuur 2. Verassings- en atomisatiecurven van lood in verschillende matrices in vergelijking met standaardoplossing.

3.3 Toetsing GFAAS methode met referentiemonsters

De resultaten van de toetsing van de GFAAS methode met verschillende soorten referentiemonsters na optimalisatie van verassings- en atomisatietemperatuur met monstermatrix zijn weergegeven in tabel 8.
Uit de resultaten in tabel 8 blijkt dat het gehalte aan cadmium gevonden voor en na optimalisatie geen wezenlijke verschillen oplevert. Uit de resultaten blijkt ook dat toepassing van meervoudige injecties bij de analyse van lood, na optimalisatie van de verassingstemperatuur, geen significante verschillen levert.
De resultaten van de meervoudige injecties vertonen een tendens om bij toenemend aantal injecties hogere waarden te leveren. Mogelijk spelen matrixinvloeden een rol bij deze tendens. Deze matrixinvloeden zijn niet verder onderzocht.
Gekozen is voor een tweevoudige injectie omdat dit voldoende respons (piekoppervlak) levert terwijl de analysetijd niet onnodig verlengd wordt.

Tabel 8: Gemiddelde gehalte aan cadmium en lood (mg/kg) ± t.SE van 12 referentie monsters runderlever.

aantal	cadmium		lood	
injecties	opgegeven	gevonden	opgegeven	gevonden
1	0.298±0.025	0.289±0.005	0.501±0.027	0.476±0.027
2	-	-	0.501±0.027	0.498±0.027
3	-	-	0.501±0.027	0.511±0.027

Uit de resultaten in tabel 9 blijkt dat de analyse van referentiemonsters rundvlees en varkensnier voor de bepaling van cadmium en lood geen significante verschillen oplevert ten opzichte van de gecertificeerde gehalten.

Tabel 9: Gemiddelde gehalte aan cadmium en lood ± t.SE (mg/kg) van 12 referentiemonsters rundvlees en 12 referentiemonsters varkensnier.

referentie-	cadmium		lood	
monster	opgegeven	gevonden	opgegeven	gevonden
rundvlees	0.013±0.002	0.014±0.002	0.239±0.011	0.261±0.015
varkensnier	2.71 ±0.15	2.67 ±0.02	0.306±0.011	0.299±0.011

Zoals bij de methode is beschreven, dienen de buizen voor gebruik uitgekookt te worden. Een experiment waarbij dit uitkoken weggelaten was leverde voor het referentiemonster een cadmiumgehalte van 0.029±0.006 wat twee keer zo hoog is als de gecertificeerde waarde (0.013±0.002). Ook de spreiding is duidelijk groter wanneer de buizen niet uitgekookt zijn. Uitkoken van de buizen voor gebruik is dus noodzakelijk.

3.4 Bepaling aantoonbaarheids- en bepaalbaarheidsgrenzen

Voor de blancobepaling van cadmium is gevonden een waarde van 0.004±0.001 mg/kg op basis van 1 g inweeg monstermateriaal.
De aantoonbaarheidsgrens, gedefinieerd als gemiddelde blanco + 3 maal de standaarddeviatie, is 0.007 mg/kg (n=12). De bepaalbaarheidsgrens, gedefinieerd als gemiddelde blanco + 6 maal de standaarddeviatie, is 0.010 mg/kg. Voor de blancobepaling van lood is gevonden een waarde van 0.000±0.005 mg/kg. Hieruit volgt een aantoonbaarheidsgrens van 0.015 mg/kg en een bepaalbaarheidsgrens van 0.030 mg/kg.

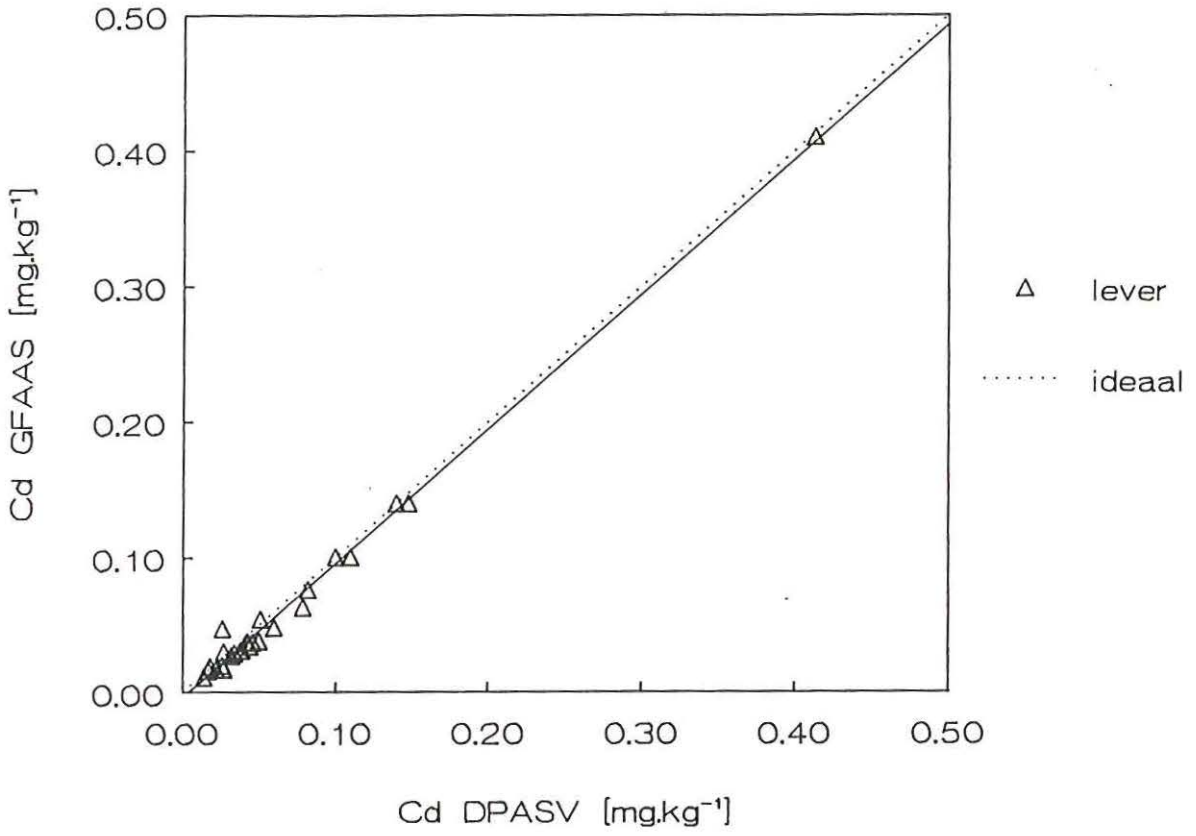
3.5 Vergelijking GFAAS v.s. DPASV methode

De analyse resultaten van de bepaling van cadmium en lood in verschillende monsters dierlijk materiaal met de GFAAS methode v.s. DPASV methode zijn weergegeven in tabel 10 en figuur 3 t/m 8. Uit de resultaten blijkt dat er een goede correlatie bestaat tussen de resultaten gevonden met magnetronontsluiting en GFAAS in vergelijking met droge verassing en DPASV. De uitsplitsing naar matrix (nier of lever) levert geen noemenswaardige verschillen op.
De spreiding rond de lijnen is waarschijnlijk veroorzaakt doordat zowel de GFAAS als de DPASV analyses in enkelvoud zijn uitgevoerd.

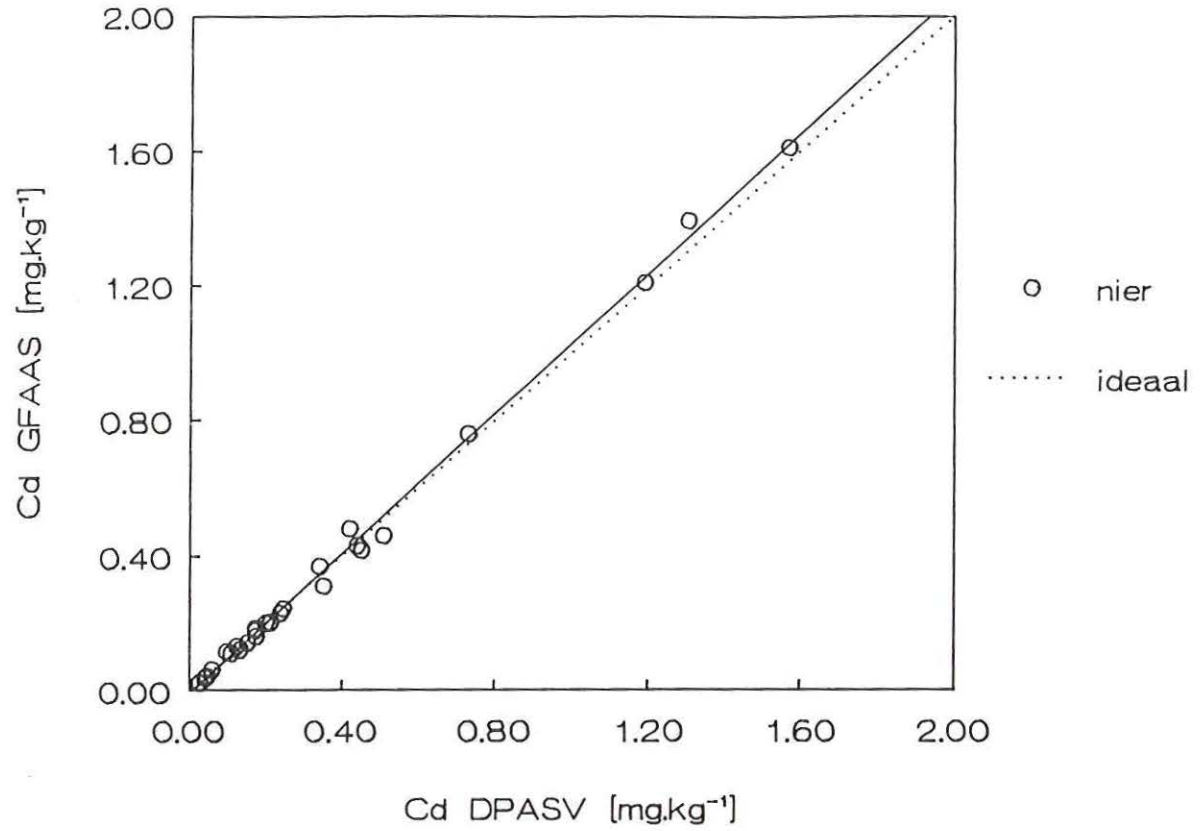
Tabel 10: Resultaten van de lineaire regressie van GFAAS v.s. DPASV methode

referentie monster	cadmium helling	as-afsnede	correlatie coëfficiënt	lood helling	as-afsnede	correlatie coëfficeënt
runderlever	0,993	-0,004	0,9960	0,984	0,004	0,9902
varkensnier	1,038	-0,010	0,9983	1,002	-0,001	0,9849
totaal *	1,032	-0,007	0,9984	0,988	0,002	0,9889

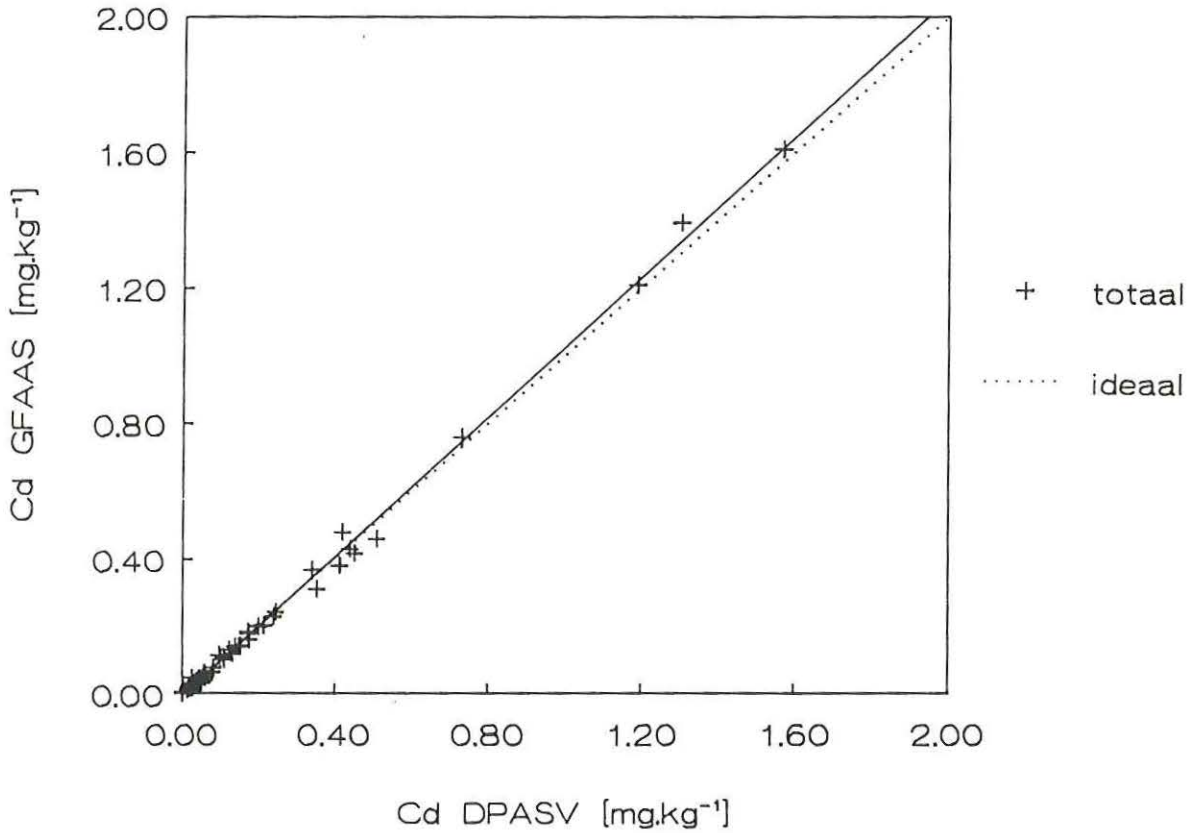
* totaal = 27 monsters runderlever + 27 monsters varkensnier + 6 monsters rundvlees



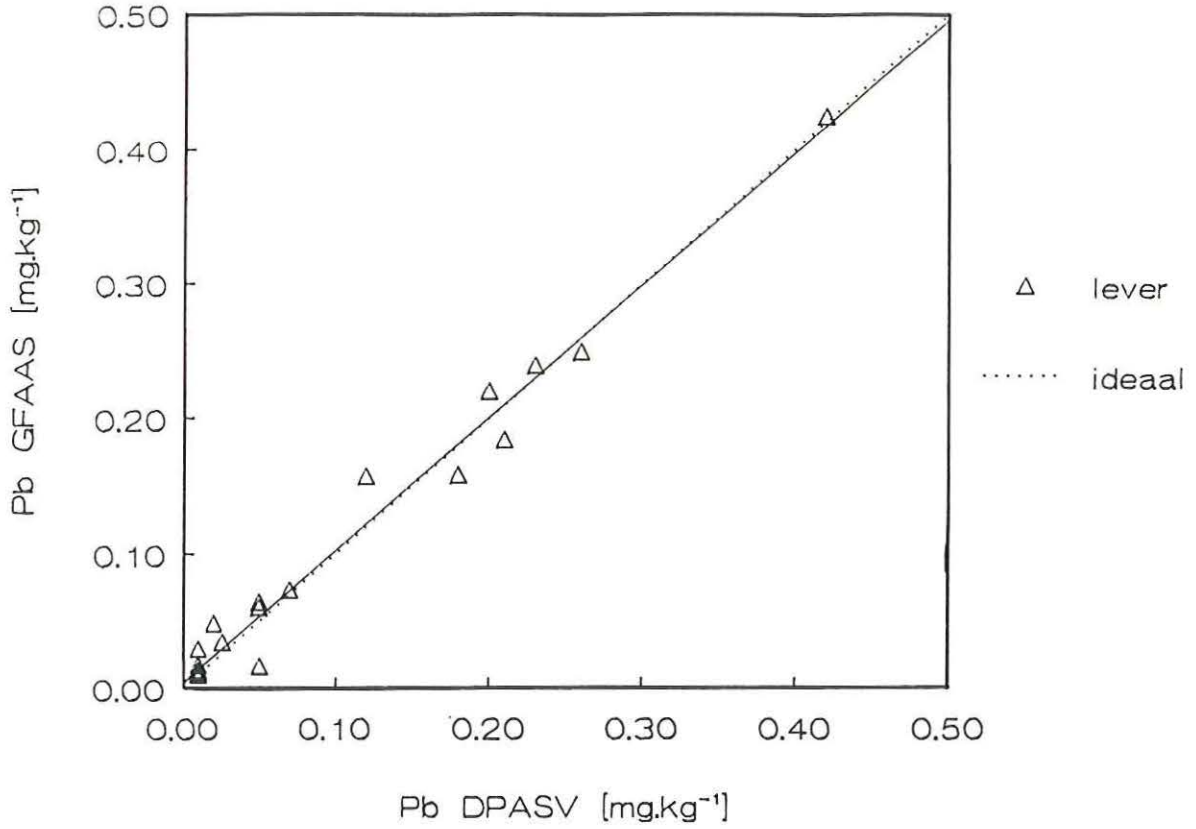
Figuur 3: Cadmium gehalten van 27 monsters runderlever bepaald met GFAAS v.s. DPASV methode (enkelvoud analyse)



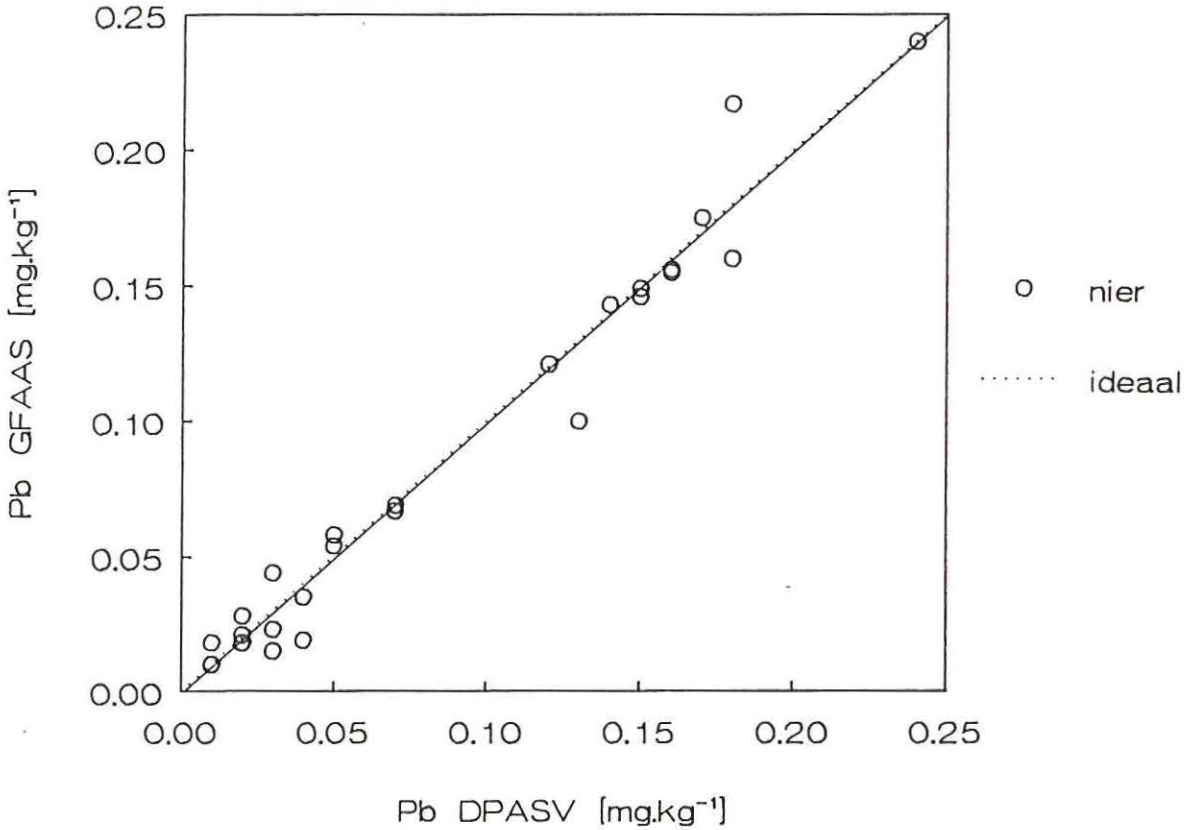
Figuur 4: Cadmium gehalten van 27 monsters varkensnier bepaald met GFAAS v.s. DPASV methode (enkelvoud)



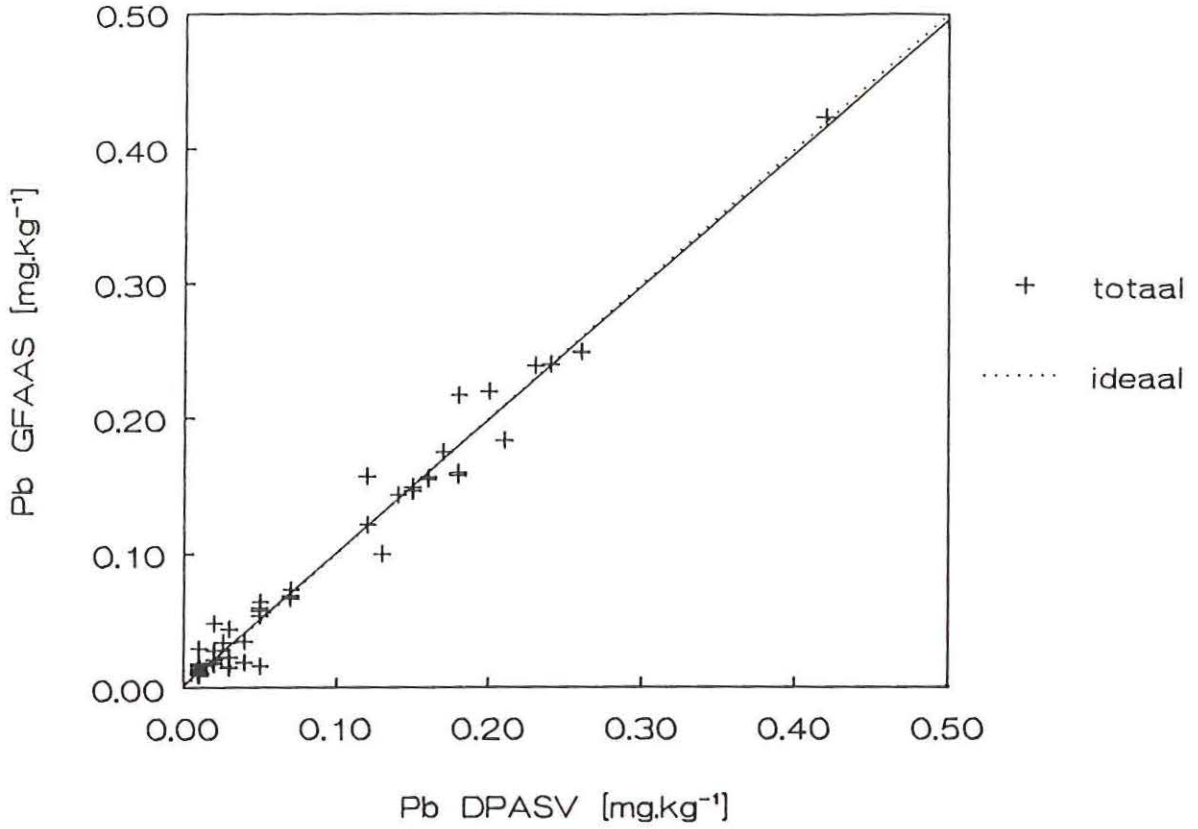
Figuur 5: Cadmium gehalten van 60 monsters dierlijk materiaal bepaald met GFAAS v.s. DPASV methode (enkelvoud)



Figuur 6: Lood gehalten van 27 monsters runderlever bepaald met GFAAS v.s. DPASV methode (enkelvoud analyse)



Figuur 7: Lood gehalten van 27 monsters varkensnier bepaald met GFAAS v.s. DPASV methode (enkelvoud analyse)



Figuur 8: Lood gehalten van 60 monsters dierlijk materiaal bepaald met GFAAS v.s. DPASV methode (enkelvoud analyse)

4 CONCLUSIES

Uit de onderzoeks resultaten kunnen de volgende conclusies getrokken worden:

- Optimalisatie van de verassings- en atomisatietemperatuur met de matrix van het te analyseren type monstermateriaal is noodzakelijk;
- Analyses met referentiematerialen bewijzen dat goede resultaten verkregen kunnen worden met de GFAAS methode;
- De aantoonbaarheidsgrens voor cadmium is 0.007 mg/kg en voor lood 0.015 mg/kg op basis van 1 g inweeg;
- De bepaalbaarheidsgrens voor cadmium is 0.010 mg/kg en voor lood 0.030 mg/kg op basis van 1 g inweeg;
- De analyse van dierlijk materiaal met de GFAAS methode levert resultaten die vergelijkbaar zijn met de DPASV methoden.

REFERENTIES

Desaulniers, J.A.H.; Sturgeon, R.E.; Berman, S.S.
Atomic Absorption Determination of Trace Metals in Marin Sediments and Biological Tissues Using a Stabilized Temperature Platform Furnace.
Atomic Spectroscopy 6 (5), 1985, P 125-127.

Ediger, R.D.; Peterson, G.E.; Kerber, J.D.
Application of the Graphite Furnace to Saline Water Analysis.
Atomic Absorption Newsletter 13 (3), 1974, P 61-64.

Hinderberger, E.J.; Kaiser, M.L.; Koityohann, S.R.
Furnace Atomic Absorption Analysis of Biological Samples Using the L'vov Platform and Matrix Modification.
Atomic Spectroscopy 2 (1), 1981, P 1-7.

Horstman, H.J.; Delft W. van; Beek, H. van; Baars, A.J.; Vos, G.; Werdmuller, G.A.
De bepaling van cadmium in plantaardige en dierlijke producten met behulp van grafietoven atomaire absorptie spectrometrie.
RIKILT rapport 88.59, PO Box 230, 6700 AE Wageningen, the Netherlands, 1988.

L'vov, B.V.
The Analytical use of AA spectra
Spectrochim. Acta 17, 1961, P 761-770

L'vov, B.V.
Electrothermal Atomization - the Way Toward Absolute Methods of AAS.
Spectrochim. Acta 33 B, 1978, P 153-193

Manning, D.C.; Slavin, W.
The Determination of Trace Elements in Natural Waters
Using the Stabilized Temperature Platform Furnace.
Applied Spectroscopy 37 (1), 1983, P 1-11.

Massmann, H.
The Comparison of AA and AF in the Graphite Cuvette.
Spectrochim Acta 23 B, 1968, P 215-226.

Narres, H-D.; Mohl, C.; Stoeppler, M.
Metal Analysis in Difficult Materials with Platform Furnace.
Zeeman-Atomic Absorption Spectroscopy.
Z. Levensmittel Unters. Forsch. 181, 1985, P 111-116.

Schindler, E.
Verbundverfahren zur Bestimming von Blei, Cadmium und Kupfer im Getreide und Mehl.
Deutsche Lebensmittel-Rundschau 79 (10), 1983, P 334-337.

Schmidt, W.; Dietl, F.
Bestimmung von Cadmium in Boden - und Sedimentaufschlüssen und extrakten mit der flammenlosen Atomabsorption in Zirkoniumbeschichteten Graphitrohren.
Fresenius Z. Anal. Chemie 295, 1979, P 110-115.

Slavin, W.; Carnrick, G.R.; Manning, D.C.
$Mg(NO_3)_2$ as a Matrix Modifier in the Stabilized Temperature Platform Furnace.
Anal. Chem. 54, 1982, P 621-624

Slavin, W.; Carnrick, G.R.; Manning, D.C.; Pruszkowska, E.
Recent Experience with the Stabilized Temperature Platform Furnace and Zeeman Background Correction.
Atomic Spectroscopy 4, 1983, P 69-86.

Slavin, W.
Graphite Furnace AAS; A Source Book.
The Perkin Elmer Corporation, Ridgefield, 1984.

Slavin, W.; Carnrick, G.R.
Interferences in Graphite Furnace AAS Continuum Background Correction; A Survey
Atomic Spectroscopy 7 (1), 1986, P 9-13.

Wolters, T.C.
Detectie van verschillende metalen met grafietoven atoom absorptie-spectrometrie en Zeeman achtergrond correctie.
RIKILT rapport 91.13, PO Box 230, 6700 AE Wageningen, the Netherlands, 1991.