

Projekt: Utvärdering av en elektrokemisk metod för bestämning av kadmium i mjöl och jord.”

Det finns ett ökat intresse för mätsystem av tungmetaller i omgivningen. Detta beror på den utökande kunskapen och medvetenheten om hälsorisker vid exponering för tungmetaller. Dessa kan absorberas i kroppen, antingen via maten eller direkt via lungorna vid inandning av aerosola partiklar. Förekomsten av tungmetaller är vanlig i den naturliga omgivningen, och finns närvarande både i fri form eller som lösta salter. Källor till detta är bl.a. genom vittring från berggrunden, via nedfall från atmosfären eller från mineralgödsling [1,2]. Många åkrar i Sverige har höga halter av tungmetaller, speciellt bly och kadmium har visat sig förekomma på stora åkerarealer. Mätningar i spannmål på dessa jordar har visat så höga kadmiumhalter att de ligger två till tre gånger högre än det hygieniska gränsvärdet. Orsaken till att just kadmium anses speciellt hälsofarlig anses vara att höga halter kan ge benskörhet och störa njurfunktionen och kan dessutom lagras i fett, lever och njurvävnad. Kadmium anses kunna utgöra en hälsorisk även vid de låga koncentrationer som denna metall förekommer i svensk mat.

Ett antal olika metoder för bestämning av kadmium och bly har utvecklats, som induktiv plasma-mass spektroskopi, atom adsorption spektroskopi [3,4]. Dessa metoder är dock dyrbara, i storleksordningen 400 – 500 kr/analys. För närvarande finns det ingen metod med potential att bli tillräckligt snabb och känslig för att kunna bli användbar för att bestämma kadmium ”on-the-go”. Det finns även ett behov av billigare och snabbare analyser av kadmium (och andra tungmetaller) på analyslaboratorier.

Med ny teknik i jordbruket är det möjligt att effektivt variera tillförsel av växtnäring och växtskydd och ta hänsyn till inomfältvariation även vid skörd. För detta är det av största vikt att kunna mäta många parametrar och få snabba svar helst redan ute på fältet. Det skulle möjliggöra åtgärder ”on-the-go” ute på fältet, till exempelvis kalkning. Eftersom jordens egenskaper, jonsammansättning, pH, etc. kan skifta avsevärt under vegetationsperioden och bero av bl.a. olika väderleksförhållanden, kan det dessutom vara viktigt att kunna mäta vid upprepade tillfällen.

En intressant metod med stor potential för analys av kadmium och andra tungmetaller har utvecklats vid S-SENCE, Linköpings Universitet, och visat sig kunna vara snabb, robust och enkel. Den är baserad på voltammetri, och genom att använda sig av den så kallade stripping-tekniken, där metaller först koncentreras på en elektrodyta och därefter ”strippas” ut, kan metoden även göras mycket känslig [5]. De komplicerade, överlagrade spänningsspektra som dock genereras vid analyser av mer komplexa prover (bl.a. jordextrakt) är svåra (om inte omöjliga) att analysera. Det visade sig emellertid, att detta kunde lösas genom att behandla spänningsspektra med multivariat data analys.

Metodens potential för svenskt lantbruk insågs, och medel söktes från SLF för att under två år vidareutveckla och utvärdera metoden. Medel beviljades (projekt 0333049, *Metod för snabbdiagnostisering av pH och tungmetaller som kadmium i jord*) och projektet kom att innebära att optimera mättekniken samt konstruktion av prototyper för olika mätsituationer.

Det visade sig vid initiala förberedande försök på jordextrakt att elektrodbeläggning orsakade försämrad känslighet och reproducerbarhet, vilket var motiveringen till att ett automatiskt polersystem utvecklades.

Två olika mätsystem utvecklades inom projektet. Det första baserades på en probe som användes direkt i den undersökta lösningen. Proben hade tre arbetselektroder av resp. guld, platina och rhodium, och var även försedd med ett automatiskt slipsystem. Det andra systemet var ett helautomatiskt genomflödessystem som möjliggör mätningar av fem olika prover och var även det försett med ett automatiskt slipsystem.

För probesystemet mättes ammoniumlaktat (AL)-extrakt av olika jordtyper vid två olika tillfällen, med kadmiumkoncentrationer i området $0.5\mu\text{g/L}$ till $5\mu\text{g/L}$. Vid modellering med PLS för korsvaliderade värden blev $\text{RMSEP} = 0.5\mu\text{M}$ och kadmium kunde detekteras ner till en koncentration av $0.5\mu\text{g/L}$. Även modeller för prediktion av andra metaller utfördes, och det är intressant att notera att ”bra” prediktioner (med ett RMSEP större än 0.8) erhöles för metallerna koppar, järn, aluminium och bly.

För genomflödessystemet analyserades AL-extrakt från jordtyperna mull, lera och sand samt ren AL lösning, samt ”spikade” (en bestämd mängd kadmium har tillsatts provet), och känsligheten beräknades ligga kring $0.2\mu\text{g/L}$.

I detta tidigare projekt utfördes även preliminära mätningar på jord och mjöl, med lovande och intressanta resultat.

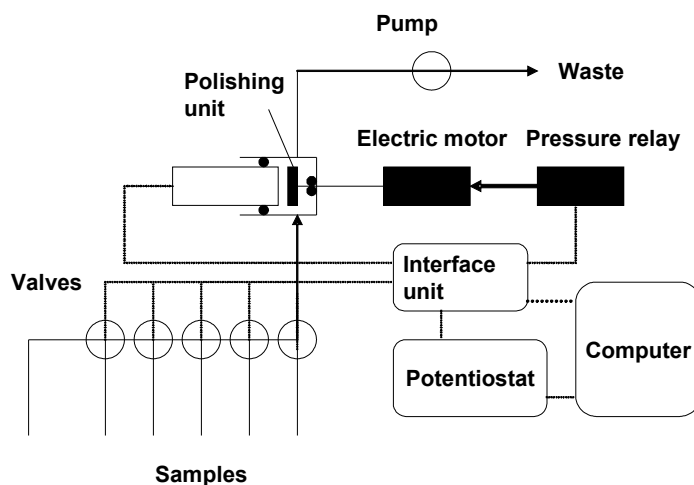
Projektbeskrivning Resultat och diskussion

Mätningar på AL-extrakt

Det helautomatiska genomflödessystemet möjliggör mätningar från fem olika prover och är försett med ett automatiskt slipsystem, se figur 1. Provlösning pumpas kontinuerligt över en probe som har en enda arbetselektrod av guld, och olika provlösningar introduceras genom att olika ventiler öppnas.

Vid tidigare mätningar har AL-extrakt från jordtyperna mull, lera och sand samt ren AL lösning, samt ”spikade”, dvs. en bestämd mängd kadmium har tillsatts provet, analyserats. Resultaten visade på en klar skillnad mellan dels jordtyperna, samt de spikade proverna och känsligheten för systemet har beräknats ligga kring koncentrationen $0.2\mu\text{g/L}$.

Systemet har nu ytterligare utvecklats, dels genom att utöka antal prov från fem till åtta, dels genom differentiell analys. Detta innebär att två mätningar genomförs på samma prov, den första med en kort (3skunder) deponeringstid (den fas i mätningarna då fritt kadmium elektrokemiskt reduceras vid en låg potential och deponeras på elektrodytan), därefter upprepas mätningen med en lång deponeringstid (180 sek). Därefter beräknas differensen mellan mätningarna, vilken enbart är beroende av de olika deponeringstiderna (och därmed deponerad kadmium). Detta medför mindre påverkan av ex. drift samt att mätnoggrannheten (och därmed även känsligheten) förbättras. Genom att införa referenslösningar (standard) i systemet kunde drift och reproducerbarhet kontrolleras, vilka gav stabila resultat. Ett prov tar c:a fem minuter att analysera.



Figur 1. Det helautomatiska genomflödessystemet

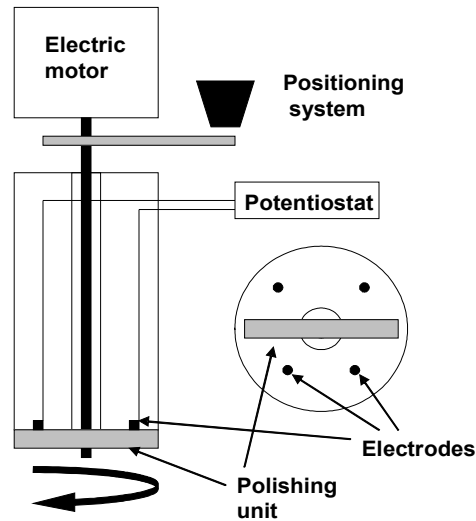
Ett antal mätningar på AL-extrakt (erhållna från AnalyCen, Kristianstad) har genomförts. För dessa prov finns även analysresultat för koncentrationen av metallerna järn, aluminium, kadmium, zink, koppar, bly, krom, mangan, kobolt, nickel, strontium, och barium bestämts genom ICP-MS.

Mätförfarandet bygger på att data delas upp i två omgångar, en omgång bestod av 2/3 av de först erhållna värdena, den andra omgången av återstående data. Träningen med PLS utfördes på den första omgången, och predikteringen på den andra. Denna metod innebär ett noggrannare sätt att validera mätresultaten, då träningsdata och valideringsdata är separerade i tiden, vilket efterliknar verkliga förhållanden bättre. Prediktioner av kadmium korrelerade nöjaktigt, RMSEP i storleksordningen $0.2\mu\text{M}$ samt RPD i storleksordningen kring 2.2 – 2.5. Koncentrationer bestämdes i intervallet $0.5 - 5.0\mu\text{M}$.

På dessa extrakt prov finns även analysresultat för koncentrationen av metallerna järn, aluminium, kadmium, zink, koppar, bly, krom, mangan, kobolt, nickel, strontium, och barium. Olika PLSmodeller, en för varje metall, utvecklades även, och predikteringar evaluerades genom korsvalidering. Det var då intressant att notera att RPD värden större än 2.0 erhöles för metallerna koppar, järn, aluminium och bly. De övriga metallerna erhöles lägre RPD värden. Detta innebär att även koppar, järn, aluminium och bly kan predikteras ur samma prov samtidigt med kadmiumanalysen.

Direkta mätningar på jordprover:

För dessa prover användes den tidigare utvecklade slippuben, se figur nedan.



Figur 2. Slippuben

Denna probe placerades i en salpetersyralösning och mätningar (enl. tidigare förfarande) utfördes varannan minut. Efter en given tid tillsattes en bestämd mängd jordprov och efter ytterligare en tid spikades provet med kadmium. Både torkade och "färska" jordprover har analyserats. Mätningarna visade att efter provtillsatsen åtgår en ganska lång tid (i storleksordningen många minuter) för att jämvikt skall ställa in sig. Denna tid är mycket beroende av jordtyp samt om provet är torkat eller ej. Däremot inställer sig jämvikt mycket snabbare efter spikningstillsatser.

Torr jord tar lång tid till jämviktning (upp till 20 minuter). Spikade prover ger även olika recovery beroende på jordtyp. Detta är speciellt markant för "färska" jordprover. Ytterligare störmoment om metoden skall utvecklas till ett "on the go" instrument är att olika vattenhalt i jordproverna påverkar.

Mätningar på mjöl:

Det finns ett stort intresse av att kunna göra kadmiumanalyser på mjöl, antingen direkt eller i samband med falltalsmätning på ”fallvätskan”. Svårigheten är att kadmium är i olika grader komplexbundet till proteiner i mjölet, och därför till stor del oåtkomligt vid vanlig stripping analys. En intressant och möjlig framkomlig väg har varit att använda sig av komplexbindare, dvs. molekyler som kan komplexbinda en metalljon. En känd och pålitlig komplexbindare är etylendiamintetraättiksyra, EDTA, där dessutom komplexbindningsstyrkan är pH-beroende. Vid pH 7 binder EDTA mycket starkt till kadmium, vid pH 2 (då EDTA är protoniserad) är bindningen betydligt mindre.

Strategin för mjölanalys byggde då på att extrahera mjölet med 50 mM EDTA vid pH 7, filtrera bort fasta partiklar, sedan sänka pH till omkring 1.5 med salpetersyra och mäta med proben. Tidigare försök med spikade prover visade sig vara lovande.

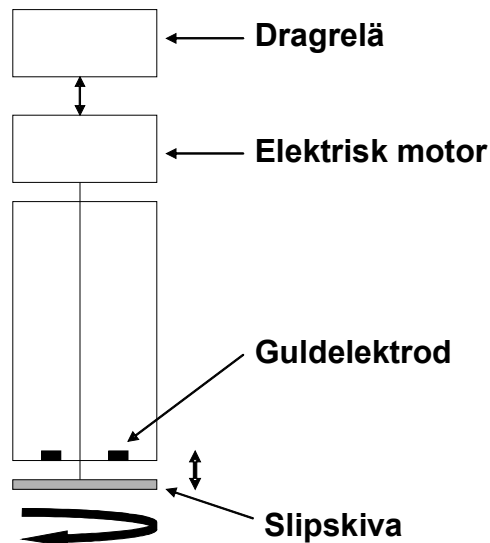
För den nya försöksserien utvecklades en ny slippprobe, se figur 3. Denna probe har en slipskiva placerad 2 mm från elektrodytan, och slipskivan roteras med en hastighet av 10 varv per sekund. Detta medför att en vätskeström kontinuerligt strömmar förbi elektrodytan, och eventuella bildade gasbubblor sveps snabbt iväg och stör ej mätningarna. Detta innebär att en deponeringspotential ner till -1.5 Volt kan användas.

Vid jämna mellanrum trycks slipskivan mot elektrodytan och slipar denna. En serie nya mätförsök har utförts med detta system. Metodutvecklingen har inneburit optimering av EDTA-steget (koncentration, inkubationstid). I den preliminärt utvecklade metoden blandas 2g mjöl i 20 ml EDTA (50mM under 5 minuter. Lösningen filtreras och 1 ml 10M HNO₃ tillsätts, mätning sker sedan direkt med proben, med samma depositionstider som för FIA-systemet. En preliminär försöksserie med 15 spikade prover ger hyfsade prediktioner vid korsvalideriad PLS modellering. (0.3µM RMSEP).

Metoden är dock inte färdigoptimerad och innebär en hel del manuell hantering. Det anses dock visat att metoden erbjuder en framkomlig väg, även om användbarheten (nyttan) är osäker.

Mätningar på falltalsvätska:

Vid falltalsanalys värms en blandning av 7g mjöl i 25 mL vatten till 70°C och kommer då att tjockna. Målsättningen för mätningarna var att de skulle ske direkt i ”falltalsvätskan”, och ske direkt efter den vanliga falltalsmätningen. Försökuppställningen bestod av två 70°C uppvärmda bägare, den första för förtjockningssteget, den andra för kadmiumanalysen. Efter förtjockningssteget blir lösningen svår att analysera, detta löstes



Figur 3. En nyutvecklad slippprobe med kontinuerlig strömmande vätskeflöde över arbetselektroden.

genom att tillsätta termstabil amylas, och efter en inkubationstid på 1 minut blev blandningen lättflytande. Efter detta steg tillsattes EDTA, och efter 3 minuter överfördes lösningen till analysbägaren som även hade en slippprobe enligt figur 3. HNO₃ tillsattes till ett pH 1.0 och kadmium analysen började.

Resultaten visade att mycket dåliga recovery på spikade prover erhöles, vilket innebar att kadmium till stor del fortfarande var bundet till proteiner i lösningen. En annan strategi som har utprovats är att tillsätta ett kraftigt oxidationsmedel (H₂O₂) och därigenom oxidera svavelbryggor, detta kunde förbättra recovery. Det visade sig även att ursprungstyp på mjölprovet även har stor betydelse för recovery. En strategi som för närvarande utreds är att använda proteaser, dvs enzymer som bryter ner proteiner.

Företaget Perten som tillverkar falltalsanalys utrustning är intresserad av projektet och har ställt en utrustning till förfogande. Denna ankom strax före jul, så mätningar har ännu inte hunnit starta.

Vidare arbeten

Projektets del för SLF och VL är finansiellt avslutat. Emellertid kommer projektet att drivas vidare med medel från S-SENCE, då det anses ha stor framtida potential och på

grund av intresset från Partens sida. Projektet kommer då att drivas med halvfart och helt rikta in sig på falltalsanalyser.

Resultatspridning

Artikeln "Measurement of cadmium in soil extracts using multivariate data analysis and electrochemical sensors" är i princip accepterad för publikation i tidskriften Journal of Precision Agriculture, efter att en del spörsmål från referees sida (ej alvarliga) har besvarats.

Referenser

- [1] Lindqvist O., "Environmental impact of mercury and other heavy metals", J. of Power Sources, 57 (1995), 3-7
- [2] Granero S., Domingo J.L., "Levels of metals in soils of Alcalá de Henares, Spain: Human health risks", Environ. International, 28 (2002), 159-164
- [3] Sedin R., "Åkermarkens kvalitet-Naturvårdverket" (in Swedish), www.environ.se
- [4] www.svensksigill.se
- [5] Eriksson J., Ledin S., "Changes in phytoavailability and concentration of cadmium in soil following long term salix cropping", Water, Air, and Soil Pollution, 114 (1999), 171-184