

Ewelina KLEM¹, Marta HUCULAK-MAŁCZKA¹, Krystyna HOFFMANN¹
i Józef HOFFMANN¹

OKREŚLENIE STOPNIA SKOMPLEKSOWANIA CYNKU PRZEZ AMINOKWAS *L*-LIZYNĘ ORAZ SUBSTANCJĘ SYNTETYCZNA - *S,S*-EDDS

DETERMINING THE DEGREE OF COMPLEXATION ZINC BY AN AMINO ACID *L*-LYSINE AND SYNTHETIC CHELATING AGENT - *S,S*-EDDS

Abstrakt: Intensyfikacja upraw doprowadziła do zubożenia gleb w mikroelementy oraz substancje odżywcze. Istotnym komponentem w produkcji nawozów płynnych są chelaty. Chelaty to kompleksy kleszczowe, które cechują się dużą trwałością. Substancją chelatującą jest związek mineralno-organiczny zawierający co najmniej dwa miejsca koordynacyjne. Połączenia takie charakteryzują się swoistą inertnością wobec wodorotlenków, fosforanów, węglanów oraz tlenków. Stosowanie mikroelementów w takiej postaci pozwala na ich stopniowe uwalnianie, tym samym zapewniając optymalną przyswajalność. Jako dodatki do nawozów stosuje się chelaty mikroelementów z substancjami syntetycznymi, które w krajach Unii Europejskiej określone są w Rozporządzeniu Parlamentu Europejskiego i Rady WE nr 2003/2003 z dnia 13 października 2003 roku. Wymagania środowiskowe stawiane produkcji i stosowaniu nawozów, związane z ochroną gleby oraz produkcją tzw. zdrowej żywności, określają ocenę biodegradowalności jako jeden z czynników mających znaczenie przy doborze substancji kompleksującej. Stopień skompleksowania mikroelementu (Cu, Fe, Mn, Zn), zgodnie z wymogami formalnymi, powinien wynosić przynajmniej 80% deklarowanej, rozpuszczalnej w wodzie, całkowitej zawartości metalu. Czas pobierania mikroelementu przez roślinę w środowisku glebowym powinien odpowiadać okresowi degradowalności użytego związku, co stanowi istotny problem w przypadku substancji syntetycznych. Rozwiązaniem może być stosowanie, jako czynnika kompleksującego, substancji pochodzenia naturalnego. W Rozporządzeniu Nawozowym znajduje się tylko jedna taka substancja: ligninosulfoniany. Wydaje się, że użycie aminokwasów pochodzących z hydrolizy białek może być alternatywą dla stosowanych syntetycznych pochodnych związków aminopolikarboksylowych ze względu na ich działanie stymulujące i antystresowe. Celem badań było określenie stopnia skompleksowania cynku oraz stosunku metal:ligand dwóch substancji chelatujących: aminokwasu oraz syntetycznej pochodnej aminopolikarboksylowej. Pomiaru prowadzono z wykorzystaniem voltamperometrii pulsowo różnicowej w pH obojętnym w środowisku wodnym. Zastosowanym aminokwasem była *L*-lizynę, natomiast substancją syntetyczną, znajdującą się w Rozporządzeniu Nawozowym, była sól trisodowa kwasu *S,S*-etylenodiaminodibursztynowego.

Słowa kluczowe: chelaty, mikroelementy, nawozy płynne

Stosowanie intensywnych upraw oraz wprowadzenie nowych gatunków roślin przyczyniło się do wyczerpania naturalnych źródeł mikroelementów, co wpłynęło w ostatnich latach na poszukiwania nowych i rozwój rynku chelatów stosowanych w rolnictwie. Chelaty to kompleksy cechujące się większą trwałością niż kompleksy monodentne. Znalazły one wiele zastosowań w różnych gałęziach przemysłu, takich jak: przemysł farmaceutyczny, nawozowy, paszowy. W substancjach nawozowych oraz dodatkach paszowych istotny jest stopień przyswajalności makro- i mikroelementów przez organizmy żywe oraz rośliny, ich trwałość, a także toksyczność. Chelaty charakteryzują się swoistą inertnością wobec związków występujących w glebie, takich jak wodorotlenki, fosforany, węglany oraz tlenki [1].

¹ Instytut Technologii Nieorganicznej i Nawozów Mineralnych, Wydział Chemiczny, Politechnika Wrocławska, ul. M. Smoluchowskiego 25, 50-372 Wrocław, tel. 71 320 39 30, email: jozef.hoffmann@pwr.wroc.pl

²Praca była prezentowana podczas konferencji ECOpole'13, Jarnołtówek, 23-26.10.2013

Chelaty wykorzystywane jako substancje nawozowe składają się z mikroelementu oraz, najczęściej stosowanego, syntetycznego, organicznego liganda posiadającego co najmniej dwa miejsca koordynacji. W przemyśle nawozowym stosuje się takie ligandy, jak: kwas nitrylotrioctowy (NTA), kwas etylenodiaminotetraoctowy (EDTA), kwas dietylenotriaminopentaoctowy (DTPA), kwas $[o,o]$: etylenodiamino-di [(orto-hydroksyfenilo)octowy] ($[o,o]$ EDDHA), kwas $[o,o]$: etylenodiamino-*N,N'*-di[(orto-hydroksy-metylofenilo)octowy] ($[o,o]$ EDDHMA), kwas iminodibursztynowy (IDHA), kwas *N*-hydroksyetyloetylenodiaminotrioctowy (HEEDTA) i inne [2, 3]. Wszystkie te substancje tworzą kompleksy z metalem z stosunku 1:1 oraz charakteryzują się dużą wartością stałej trwałości w szerokim zakresie pH. Najczęściej wykorzystywana jest sól disodowa kwasu etylenodiaminotetraoctowego (EDTA). Jednak badania wykazały, że czas biodegradacji tego związku jest stosunkowo długi, co może prowadzić do eutrofizacji wód oraz wprowadzenia metali ciężkich do łańcucha pokarmowego [4-7]. Ciągłe poszukuje się nowych pochodnych, które charakteryzowałyby się krótszym czasem biodegradacji, dużą stabilnością w szerokim zakresie pH, dobrą rozpuszczalnością oraz umożliwiałby roślinie jak największą przyswajalność mikroelementu [8, 9].

Nowym rozwiązaniem w rolnictwie są nawozy dolistne zawierające chelaty, w których ligandem jest aminokwas. Związki te nazywane są stymulatorami lub środkami antystresowymi. W Polsce takie preparaty stosuje się po okresie zimowym, suszy czy powodziach w celu zniwelowania skutków stresu rośliny. W krajach zachodnioeuropejskich stosowane są w normalnym cyklu upraw. Tak jak w przypadku dodatków paszowych, stosuje się aminokwasy bioaktywne, pochodzące z hydrolizy białek (forma L). Przeważalność chelatów aminokwasowych w nawożeniu dolistnym jest bliska 100%. Zastosowanie ich pozwala korzystnie wpłynąć na procesy biochemiczne (prekursory do syntezy fitohormonów) i metaboliczne roślin. Jako ligandy aminokwasowe najczęściej stosuje się: tryptofan, metioninę, glicynę, kwas glutaminowy, prolinę oraz lizynę [9].

W przemyśle dodatków paszowych najczęściej stosuje się chelaty mikroelementów z egzogennymi aminokwasami. Należą do nich: leucyna, izoleucyna, lizyna, fenyloalanina, metionina, walina, treonina, tryptofan, histydyna oraz arginina. Aminokwasy stosowane jako ligandy wpływają na przyswajalność metalu, a także stanowią materiał budulcowy białek, pełnią funkcję metaboliczną, a także zmniejszają ilość substancji toksycznych w odchodach [10, 11]. Mała masa cząsteczkowa, niższa niż 1500 Da, ułatwia przenikanie przez błonę jelitową, dzięki czemu wydajnie dostarczają substancji pokarmowych. Chelaty, w skład których wchodzi aminokwasy, charakteryzują się inertynością, ponieważ nie reagują z wodorotlenkami, fosforanami, węglanami i tlenkami [12].

Materiały i metody

Celem badań było porównanie stopnia skompleksowania cynku(II) przez substancję syntetyczną oraz substancję naturalną. Kompleksującą substancją syntetyczną był związek aminopolikarboksylowy: sól trisodowa kwasu *S,S*-etylenodiaminodibursztynowego (*S,S*-EDDS), substancją naturalną był egzogeny aminokwas: *L*-lizyna. Stopień skompleksowania został wyznaczony z wykorzystaniem woltamperometrii pulsowo różnicowej z zastosowaniem elektrody rtęciowej pracującej w trybie SMDE (*Statistic Mercury Drop Electrode*). Elektroda pomocnicza wykonana była z węgla szklatego,

a elektrodą odniesienia była elektroda chlorosrebrowa. Pomiary zostały wykonane na aparacie holenderskim firmy Eco Chemie: AUTOLAB PGSTST 12. Metoda ta polega na pomiarze natężenia prądu płynącego przez roztwór z oznaczaną substancją podczas elektrolizy w zależności od liniowo zmieniającego się potencjału.

Badania prowadzono w środowisku elektrolitu podstawowego 0,1 M KCl. Stosowano różne stężenia ligandu, odpowiadające stosunkowi molowemu metal-ligand 1:1, 1:2 oraz 1:3. Badania prowadzono przy najmniejszym rozmiarze kropli rtęci równym 0,25 mm². Potencjał skokowy wynosił 0,00495 V, a amplituda modulacji 0,00255 V przy czasie modulacji 0,05 s. Czas ustalania równowagi wynosił 5 s, a liczba powtórzeń wynosiła 2. Potencjał depozycji wynosił -1,3 V przy czasie depozycji 60 s. Odpowiednie próbki o pojemności 25 cm³ zawierające elektrolit podstawowy, mikroelement (0,001 mol/dm³) oraz ligand umieszczano w naczyniu elektrolitycznym, umieszczano w nim elektrody i przepuszczano przez układ azot w celu usunięcia tlenu. Z woltamperogramu odczytano potencjał redukcji jonów metalu [V] oraz wysokość piku [A].

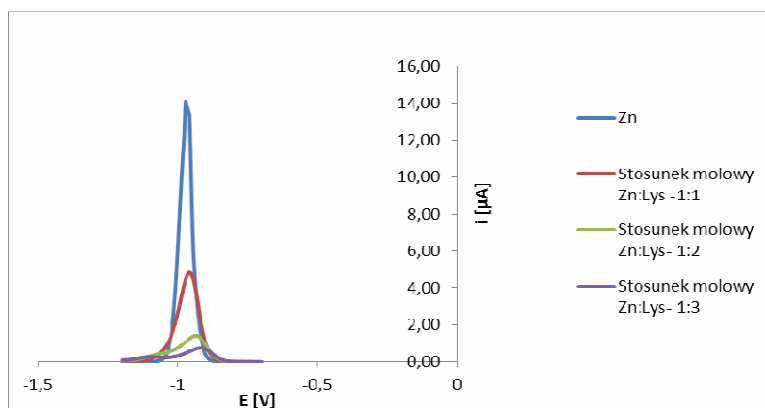
Stopień skompleksowania mikroelementów został wyznaczony na podstawie wysokości sygnału natężenia prądu, który jest wprost proporcjonalny do stężenia niezwiązanego mikroelementu w roztworze. Różnica wysokości sygnału samego kationu oraz kationu z ligandem pozwoliła obliczyć stopień skompleksowania cynku:

$$X = ((C_0 - C)/C_0) \cdot 100\%$$

gdzie: X - stopień skompleksowania [%], C_0 - stężenie jonów cynku [mol/dm³], C - stężenie niezwiązanych jonów cynku [mol/dm³]

Wyniki

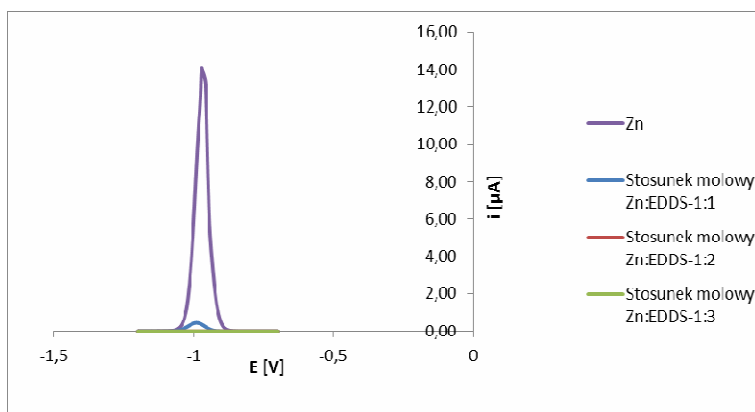
Rysunek 1 przedstawia woltamperogram jonów cynku z naturalną substancją chelatującą *L*-lizyną w różnych stosunkach molowych metal ligand, a także sygnał odpowiadający układowi, który zawiera tylko jony cynku. Na podstawie wysokości sygnału określono stężenie jonów cynku w każdym z układów, a także obliczono stopień skompleksowania.



Rys. 1. Woltamperogram jonów cynku z *L*-lizyną w stosunku molowym równym 1:1, 1:2 oraz 1:3

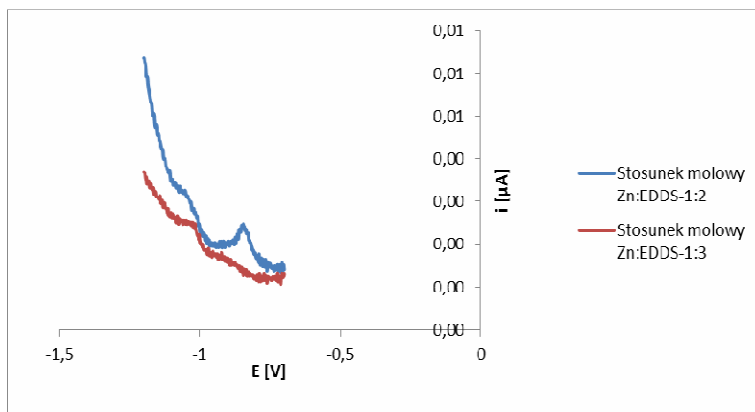
Fig. 1. Voltammogram of zinc with *L*-lysine in a molar ratio of 1:1, 1:2 and 1:3

Na rysunku 2 przedstawiono woltamperogram jonów cynku dla układów, w których znajdują się jony cynku lub jony cynku i substancja chelatująca *S,S*-EDDS w stosunku molowym metal-ligand równym 1:1, 1:2 oraz 1:3. Na rysunku 3 pokazano powiększenie dla układów zawierających cynk oraz *S,S*-EDDS w stosunku molowym 1:2 oraz 1:3.



Rys. 2. Woltamperogram jonów cynku z *S,S*-EDDS w stosunku molowym równym 1:1, 1:2, 1:3

Fig. 2. Voltammogram of zinc with *S,S*-EDDS in a molar ratio of 1:1, 1:2 and 1:3



Rys. 3. Powiększenie woltamperogramu dla jonów cynku z *S,S*-EDDS w stosunku molowym 1:2 oraz 1:3

Fig. 3. Magnification voltammogram of zinc ions from *S,S*-EDDS in a molar ratio of 1:2 and 1:3

Stopień skompleksowania jonów cynku przez substancje chelatujące w stosunku molowym metal-ligand równym 1:1, 1:2 oraz 1:3

Tabela 1

The degree of complexation of zinc ions by the chelating agents in metal-ligand molar ratio equal to 1:1, 1:2 and 1:3

Table 1

Stosunek molowy metal ligand	1:1	1:2	1:3
<i>S,S</i> -EDDS	88,98%	99,99%	100%
<i>L</i> -lizyna	33,33%	65,87%	84,67%

Przeprowadzone pomiary pozwoliły na obliczenie stopnia skompleksowania dla obu substancji chelatujących; wyniki przedstawiono w tabeli 1.

Wnioski

Woltamperometria pulsowa różnicowa pozwoliła na określenie stopnia skompleksowania cynku przez *L*-lizynę oraz *S,S*-EDDS. W Rozporządzeniu Parlamentu Europejskiego i Rady WE nr 2003/2003 z dnia 13 października 2003 roku znajdują się wymogi dotyczące chelatów nawozowych. Stopień skompleksowania mikroelementu przez substancję chelatującą powinien wynosić co najmniej 80% deklarowanej, rozpuszczalnej w wodzie całkowitej zawartości metalu. Z przedstawionych analiz wynika, że syntetyczna substancja chelatująca reaguje z cynkiem w stosunku molowym 1:1, a stopień skompleksowania wynosi około 89%, co odpowiada parametrom określonym w Rozporządzeniu nawozowym. W przypadku substancji naturalnej stopień skompleksowania mikroelementu wyższy niż 80% uzyskano przy stosunku molowym 1:3. Prawdopodobnie dłuższy czas reakcji w przypadku lizyny pozwoliłby na otrzymanie wyższego stopnia skompleksowania. Można zatem wnioskować, że zastosowanie substancji syntetycznej pozwala na skompleksowanie większej ilości cynku niż zastosowanie aminokwasu.

Podziękowania

Praca finansowana z dotacji Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego na działalność statutową Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej. Nr zlec. S40647.

Literatura

- [1] Czuba R. Nawożenie mineralne roślin uprawnych. Police: Zakłady Chemiczne „POLICE” S.A.; 1996.
- [2] Hoffmann J, Hoffmann K. Liquid multicomponent fertilizers with micronutrients. Chem Agricul, Prague-Brussels, Czech-Pol-Trade. 2002;3:54-57.
- [3] Clemens DF, Whitehurst MB, Whitehurst GB. Chelates in agriculture. Fert Res. 1990;25:127-131.
- [4] Alxerez JM, Obrador A, Rico MI. Effects of chelated zinc, soluble and coated fertilizers, on soil zinc status and zinc nutrition of maize. Communications in Soil Science and Plant Analysis. 1996;27:7-19. DOI: 10.1080/001103629609369539.
- [5] Meers E, Ruttens A, Hopgood MJ, Samson D, Tac FMG. Comparison of EDTA and EDDS as potential soil amendments for enhanced phytoextraction of heavy metals. Chemosphere. 2005;58:1011-1022. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2004.09.047.
- [6] Borowiec M, Hoffmann J, Hoffmann K. Ocena właściwości kompleksujących chelatów nawozowych. Przem. Chem. 2010;4:312-316.
- [7] Borowiec M, Huculak-Mączka M, Hoffmann K, Hoffmann J. Biodegradation of selected substances used in liquid fertilizers as an element of Life Cycle Assessment. Pol J Chem Technol. 2009;11:1-3. DOI: 10.2478/v10026-009-0001-6.
- [8] Xue HB, Sigg L. Zinc speciation in lake waters and its determination by ligand exchange with EDTA and differential pulse anodic stripping voltammetry. Analyt Chem Acta. 1994;284:505-515. DOI: 10.1016/0003-2670(94)85057-7.
- [9] Villen M, Garcia-Arsuaga A, Lucena JJ. Potential use of biodegradable chelate N-(1,2-Dicarboxyethyl)-d,l-aspartic acid/Fe³⁺ as an Fe fertilizer. J Agric Food Chem. 2007;55:402-407. DOI: 10.1021/jf062471w.
- [10] Babik J. Ocena przydatności nawozów do produkcji warzywniczej. Puławy: Raporty PIB, Instytut Uprawy Nawożenia, Gleboznawstwa - Państwowy Instytut Badawczy; 2006.
- [11] Czech A, Grela E. Wpływ dodatków chelatów mineralnych w mieszankach dla rosnących świń na wzrost i składniki krwi, Sectio EE. Lublin: Akademia Rolnicza w Lublinie; 2006.

[12] Kołodziejczyk A. Przemysłowa produkcja aminokwasów. *Przem Chem.* 2005;2:84-91.

[13] Jamróz D. *Żywnienie zwierząt i paszoznawstwo*. Warszawa: Wyd Nauk PWN; 2001.

DETERMINING THE DEGREE OF COMPLEXATION ZINC BY AN AMINO ACID *L*-LYSINE AND SYNTHETIC CHELATING AGENT - *S,S*-EDDS

Institute of Inorganic Technology and Mineral Fertilizers, Chemistry Faculty, Wrocław University of Technology

Abstract: Intensification of crop led to the impoverishment of the soil with trace elements and nutrients. Important components in the production of liquid fertilizers are chelates. Chelate complexes forcepts, which are characterized by high durability. Chelating substance is a mineral-organic compound containing at least two coordination sites. These connections are characterized by a specific indifferent to hydroxides, phosphates, carbonates and oxides. The use of trace elements in a form allows for a gradual release thereof, thereby ensuring optimal availability. As an additive to fertilizers used chelated micronutrients with synthetic chemicals that in the European Union are set out in the Regulation of the European Parliament and Council Regulation EC No 2003/2003 of 13th October 2003. Environmental requirements placed on the production and use of fertilizers, associated with soil conservation and production of so-called. Healthy food determine the biodegradability assessment as one of the relevant factors in the selection of complexing substances. The degree of complexation trace element (Cu, Fe, Mn, Zn) in accordance with the formal requirements should be at least 80% of the declared, soluble in water, the total metal content. Download time micronutrient in the plant in the soil environment should correspond to what degradable compound used as an important problem in the case of synthetic substances. The solution may be the use of substances of natural origin as a complexing agent. The Regulation of Fertilizers is only one such substance: ligninosulfonates. It appears that the use of amino acids derived from the hydrolysis of proteins, can be an alternative to use, synthetic derivatives of aminopolycarboxylic, due to their stimulating effect and stress. The aim of this study was to determine the degree of complexation of zinc and the ratio of metal: ligand two chelating agents: an amino acid and a synthetic derivative of aminopolycarboxylic. Measurements performed using differential pulse voltammetry at neutral pH in aqueous medium. Used the amino acid *L*-lysine was but a synthetic substance, which is located in the Regulation of fertilizer was trisodium salt of acid *S,S*-ethylenodiaminodisuccinic.

Keywords: chelate, micronutrients, liquid fertilizers