

109

Sonderdruck aus

Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde

142. Band, Heft 6, Seite 792–798

Verlag Chemie, GmbH, Weinheim (Bergstr.)

Kolorimetrische Bestimmung von Dicyandiamid in Böden

K. Vilsmeier*

Kolorimetrische Bestimmung von Dicyandiamid in Böden

K. Vilsmeier*

Lehrstuhl für Pflanzenernährung der Technischen Universität München–Weihenstephan

* Dr. Klaus Vilsmeier, Lehrstuhl f. Pflanzenernährung der Technischen Universität München, 8050 Freising-Weihenstephan

Eingegangen: 24.4.1978

In der vorliegenden Form angenommen: 27.10.1978

Zusammenfassung – Summary

Es wurde eine kolorimetrische Methode zur Bestimmung von Dicyandiamid in Bodenextrakten entwickelt, abgeleitet von der Diacetylreaktion zur Bestimmung von Kreatin.

Dicyandiamid ergibt mit 1-Naphtol und Diacetyl einen roten Farbkomplex mit einem Absorptionsmaximum zwischen 535 und 540 nm.

Die Nachweisgrenze liegt zwischen 0.1 und 0.3 $\mu\text{g DCD-N}/100\text{g Boden}$. Eine Beeinflussung der Farbreaktion durch natürliche, im Boden vorkommende Substanzen bzw. Metaboliten des Dicyandiamids, war nicht festzustellen.

Nach Zusatz von 1, 5, 10 und 20 mg Dicyandiamid-N zu 100 g verschiedener Böden und anschließender wäßriger Extraktion wurde eine Recoveryquote von im Durchschnitt 95 % ermittelt; die relative Standardabweichung betrug $\pm 1.60\%$.

A colorimetric method for the determination of dicyandiamide in soils

A colorimetric method derived from the diacetyl reaction for the determination of creatine has been developed for the determination of dicyandiamide in soil extracts.

Dicyandiamide reacts with 1-naphtol and diacetyl forming a red colour complex with maximum absorption between 535 and 540 nm.

The detection limit ranges between 0.1 and 0.3 mg dicyandiamide-N/100 g soil.

In soil extracts neither naturally occurring substances nor metabolites of dicyandiamide influenced this colour reaction.

After addition of 1, 5, 10, 20 mg dicyandiamide-N to 100 g soil and immediate extraction by water an average recovery rate of 95 % was found. The relative standard deviation amounted to $\pm 1.60\%$.

Einleitung

Dicyandiamid (DCD), ein Nebenbestandteil des Kalkstickstoffs, entsteht durch Dimerisierung aus zwei Molekülen Cyanamid entweder während des Granulierungsprozesses von Perlkalkstickstoff (ca. 1–2% DCD-N) oder aber unter bestimmten Umsetzungsbedingungen im Boden (Rathsack, 1967; Vilsmeier u.

Amberger, 1978). Dem DCD kommt aufgrund seiner nitrifikationshemmenden Wirkung in letzter Zeit vermehrte Aufmerksamkeit zu (Reddy, 1964; Rath sack, 1967; Prasad et al, 1971; Amberger u. Gutser, 1978; Amberger u. Vilsmeier, wird an anderer Stelle veröffentlicht). Bisher fehlt jedoch eine zufriedenstellende Methode zur exakten Feststellung von Dicyandiamid im Boden. Neben papier- und dünnschichtchromatographischen Verfahren sind zwei weitere quantitative Methoden zur Erfassung von Dicyandiamid bekannt:

a) mit Nickelsulfat nach Überführung in Guanylharnstoffsulfat und Messung bei 385 nm (SKW, 1974),

b) durch Messung im UV-Bereich bei 215 nm (Pawlik, 1960).

Erstere ist nur in einer Konzentration von > 100 ppm DCD erfolgversprechend, was in den meisten Fällen eine vorherige Einengung der Lösung notwendig macht. Dabei entstehen allerdings sehr oft mehr oder minder stark gefärbte Extrakte aus Böden, die eine DCD-Bestimmung unsicher bzw. teilweise sogar unmöglich machen aufgrund sehr starker eigener Extinktion bei dieser Wellenlänge.

Die Messung des DCD aufgrund seiner UV-Absorption bei 215 nm ergibt zwar eine sehr gute Auflösung bis in den Bereich von 1 ppm DCD-N, sie wird jedoch durch Nitrat und verschiedene organische Substanzen (z. B. Phenole, Huminsäuren; (Frömel, 1938)) stark beeinflusst. In sandigen Böden mit geringen Humusgehalten können aber gute Ergebnisse erzielt werden (Pawlik, 1960).

Bestimmung von Dicyandiamid in Böden

Ausgehend von der Diacetylreaktion zur Kreatinbestimmung (Bonas et al., 1963) haben wir in umfangreichen Untersuchungen festgestellt, daß 1-Naphtol und Diacetyl mit DCD einen roten Farbkomplex bilden, der zur kolorimetrischen Bestimmung gut geeignet ist. Sakaguchi (1925) und Feigl (1966) berichten auch über die Ausbildung eines Farbkomplexes von Dicyandiamid sowohl mit Diacetyl als auch mit 1-Naphtol. Wir haben diese Methode so umgestaltet und verfeinert, daß eine optimale Farbentwicklung mit DCD erreicht werden kann.

a) Analysengang

Reagentien:

wäßrige 1-Naphtollösung; sie enthält 0.08 molar 1-Naphtol, 1.8 molar NaOH, 1.2 molar Na_2CO_3 und 0.34 molar Äthanol (absolut) und wird sofort nach der Herstellung zentrifugiert (10 min, 15000 U/min).

wäßrige Diacetylösung (0.005 molar)

Standard: wäßrige Lösung von Dicyandiamid (20 μg DCD-N/l ml)

Herstellung des Bodenauszeuges:

100 g Boden + 200 ml Wasser, 1 h schütteln, zentrifugieren 20 min. bei 2000 G, filtrieren S + S

Farbentwicklung:

2 ml des Bodenausuges, 2 ml des Standards und 2 ml der Lösung ohne DCD (Blindwert) werden mit je 1 ml 1-Naphtollösung und 0.5 ml Diacetylösung gemischt und eine Stunde bei 20°C zur Farbentwicklung stehen gelassen; nach 30 Minuten wird noch einmal umgeschüttelt. Der entstehende rote Farbkomplex wird zwischen 535 und 540 nm in 1 cm Küvetten gemessen. Zur Berechnung der Gehalte wird eine Eichkurve erstellt mit 2, 5, 10, 15, 20, 25 und 30 µg DCD-N/2 ml, die bis 30 µg DCD-N linear verläuft und bei 21.5 µg DCD-N eine Extinktion von 1.0 erreicht. Abb. 1 zeigt das Absorptionsspektrum des 1-Naphtol-Diacetyl-Dicyandiamid-Farbkomplexes.

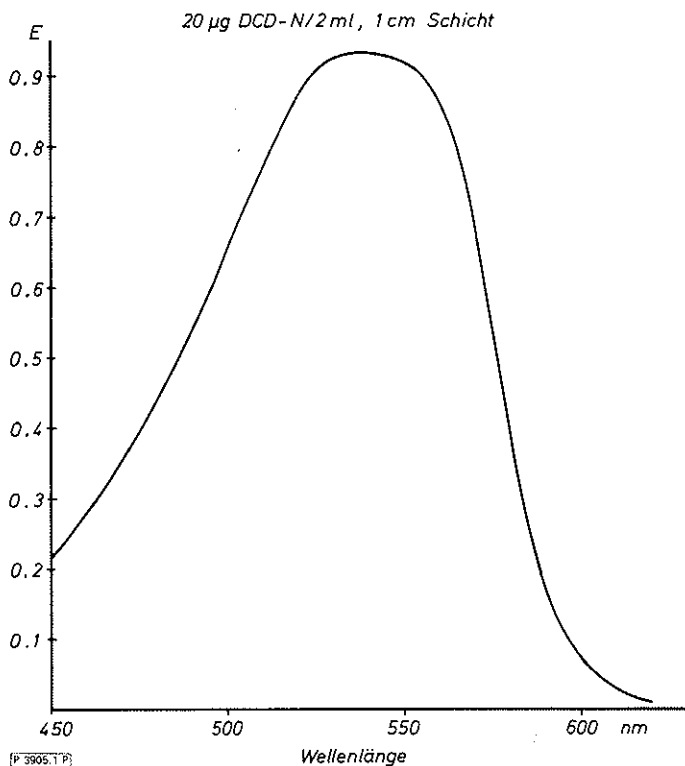


Abbildung 1: Absorptionsspektrum des 1-Naphtol-Diacetyl-Dicyandiamid-Farbkomplexes
Figure 1: Absorption spectrum of 1-naphthol-diacetyl-dicyandiamide colour complex

b) Ermittlung von Störeinflüssen

Wir haben eine Vielzahl, teils mit dem DCD verwandter Substanzen, auf Interferenzwirkung untersucht wie Cyanamid, Guanylharnstoff, Harnstoff, Biuret, Aminoguanidin, Cyanharnstoff, Ammelin, Melamin und keine Beeinflussung des Farbkomplexes durch diese Substanzen gefunden.

Über ein natürliches Vorkommen der auf das Diacetyl-Reagenz ansprechenden Substanzen (Tab. 1) in Böden liegen unseres Wissens keine Angaben in der Literatur vor. Dem Boden zugesetztes Dicyandiamid durchläuft die Stufe des Guanidins, das zu Harnstoff abgebaut wird (Rathsack, 1954/55); somit besteht keine Gefahr einer Guanidinakkumulation. In eigenen Versuchen (Amberger u. Vilsmeier, wird an anderer Stelle veröffentlicht, Vilsmeier u. Amberger 1978) haben wir Guanidin unter natürlichen Temperaturverhältnissen in keinem Fall dünn-schichtchromatographisch sicher nachweisen können. Der Abbau von Guanidylharnstoff zu Guanidin erfolgt langsamer als der von Guanidin zu Harnstoff; das hat zur Folge, daß von dem die Farbreaktion beeinflussenden Guanidin keine Störung zu erwarten ist. Über eine mögliche Störung anderer Verbindungen, wie Biguanid und Guanidinoessigsäure unter natürlichen Bedingungen gibt es keine Hinweise. In beiden Fällen handelt es sich im wesentlichen um aus Cyanamid bzw. Dicyandiamid synthetisch hergestellte Produkte.

Tabelle 1: Interferenzen, Absorptionsmaxima und Farbintensität nach 1-Naphtol und Diacetylreaktion mit verschiedenen Substanzen im Vergleich zu Dicyandiamid

Table 1: Interferences, absorption maxima and colour intensity after diacetyl reaction with different substances compared with dicyandiamide

Substanz	Interferenz	Absorptionsmax. bei nm	Extinktion v. 1.0 $\mu\text{g N}$ bei 540 nm
Dicyandiamid		538	21.5
Guanidin	+	518	46.5
Biguanid	+	555	32.2
Guanidino- essigsäure	+	517	35.8
Arginin	+	515	47.6

Da bekanntlich auch freie Aminosäuren in wäßrigen Bodenextrakten auftreten, haben wir folgende Aminosäuren im Hinblick auf eine mögliche Beeinflussung der Farbreaktion untersucht: Asparaginsäure, Threonin, Glutaminsäure, Glycin, Alanin, Valin, Cystin, Methionin, Isoleucin, Leucin, Phenylalanin, Lysin, Arginin.

Nur Arginin hat eine positive Reaktion gezeigt (Extinktion 1.0 = 47.6 $\mu\text{g N}$).

Literaturangaben zufolge liegen die Gehalte an freien Aminosäuren zwischen 0.2 und 0.4 mg/100 g Boden (Paul u. Schmidt, 1961). Freie Aminosäuren sind also nur in geringen Konzentrationen anzutreffen und können zudem mit Wasser nur zu einem geringen Prozentsatz extrahiert werden (Stevenson, 1965). Somit ist eine Beeinflussung der Farbreaktion durch Arginin nahezu völlig auszuschalten. Durch die jeweilige Bestimmung der Blindwerte können zudem derartige vom Boden stammende Interferenzen ausgeschaltet werden.

c) *Dicyandiamid* – Recovery

Zur Feststellung der Wiederfindungsraten haben wir zu vier verschiedenen Böden (Tab. 2) steigende Mengen einer Dicyandiamidlösung zugegeben und anschließend mit entionisiertem Wasser extrahiert (Boden: Wasser = 1:2, Extraktionszeit 1 h).

Tabelle 2: Physikalische und chemische Eigenschaften der verwendeten Böden**Table 2:** Physical and chemical characteristics of soils used in experiment

Boden	Bodenart	pH KCl	CaCO ₃ %	Ges. C %	Ges. N %	Sand (20–2000 μ) %	Schluff (2–20 μ) %	Ton (< 2 μ) %
Mühlfeld Braunerde	suL	6.2	0	1.1	0.12	54	27	19
Kreithof Braunerde	S	6.3	0	0.9	0.11	71	22*	7
Pettenbrunn Pseudogley	uL	5.2	0	1.2	0.13	10	65	25
Versuchsfeld II humoser Kalkgley	sL	7.2	40	3.5	0.50	40	40	20

* = 2–63 μ **Tabelle 3:** Recovery Quote und Standardabweichung zu verschiedenen Böden zugesetzter Dicyandiamidmengen (Mittelwert aus 5 Parallelen in % der zugegebenen Dicyandiamidmenge); Ansatz: 100 g Boden + 1, 5, 10, 20 mg Dicyandiamid-N**Table 3:** Recovery rate and standard deviation (s) of dicyandiamide added to different soils

Boden		mg Dicyandiamid-N zu 100 g Boden			
		1	5	10	20
Mühlfeld	%	93.0	98.6	99.4	97.2
Braunerde	s	± 0.041	± 0.062	± 0.067	± 0.094
	s (%)	4.41	1.26	0.67	0.48
Kreithof	%	101.0	98.2	93.6	96.5
Braunerde	s	± 0.032	± 0.092	± 0.064	± 0.092
	s (%)	3.17	1.87	0.68	0.48
Pettenbrunn	%	90.0	88.6	93.3	89.7
Pseudogley	s	± 0.032	± 0.063	± 0.095	± 0.040
	s (%)	3.55	1.42	1.02	0.22
Versuchsfeld II	%	91.0	92.8	96.1	98.8
humoser Kalkgley	s	± 0.024	± 0.108	± 0.098	± 0.088
	s (%)	2.64	2.32	1.02	0.45

Die Versuche sind mit 5 Parallelen durchgeführt worden (Tab. 3). Dicyandiamid ist aus dem Boden mit Wasser nahezu vollständig zu extrahieren; die Filtrate können sowohl zur Papier- als auch Dünnschichtchromatographie verwendet werden. Die zugesetzten Dicyandiamidmengen werden in allen 4 Böden zu 89–101 % wiedergefunden. Am geringsten ist die Extraktion aus dem Boden Pettenbrunn (\emptyset 90 %), wohl aufgrund seines hohen Tonanteiles. Dagegen betragen die Recovery-Raten für die Böden Mühlfeld 97 %, Kreithof 97 %, Versuchsfeld II 95 %. Die Standardabweichung liegt zwischen ± 0.024 und ± 0.108 , die relative Standardabweichung beträgt ± 1.60 % mit höchsten Werten in dem humosen Boden (Versuchsfeld II). Trotzdem ist auch in diesem Boden (hoher Gehalt an organischer Substanz und somit stark gefärbte Filtrate) die DCD-Bestimmung noch sehr gut.

Die Nachweisgrenze liegt nach unseren Erfahrungen je nach Färbung der Filtrate zwischen 0.1 und 0.3 mg DCD-N/100 g Boden.

Literatur

- Amberger, A., und Gutser, R. (1978): Umsatz und Wirkung von Harnstoff-Dicyandiamid sowie Ammonsulfat-Dicyandiamid-Produkten zu Weidelgras und Reis. Z. Pflanzenern., Bodenkd. **141**, 553
- Bonas, J.E., Cohen, B.D., and Natelson, S. (1963): Separation and estimation of certain guanidino compounds. Application to human urine. Microchem. J. **7**, 63–77
- Feigl, F. (1966): In M.R.F. Ashworth Analytical Methods For Organic Cyano Groups, Pergamon Press 1971
- Frömel, W. (1938): Über Absorptionsspektren von Huminsäuren in Lösungen. Bodenkd., Pflanzenern. **6**, 93–119
- Paul, E.A., und Schmidt, E.L. (1961): Formation of free amino acids in rhizosphere and nonrhizosphere soil. Proc. Soil. Sci. Soc. Am. **25**, 359–362
- Pawlik, A. (1960): Spektralphotometrische Untersuchungen über Dicyandiamid im Boden. Z. Pflanzenern., Bodenkd. **89**, 181–187
- Prasad, R., Rajale, G.B., and Lakhdive, B.A. (1971): Nitrification retarders and slow release nitrogen fertilizers. Adv. in Agron. **23**, 337–383
- Rathsack, K. (1954/55): Die Umsetzungsprodukte des Cyanamids im Boden. Landw. Forsch., Sh. **6**, 116–123
- Rathsack, K. (1967): Das Wesen der langanhaltenden Wirkung des Kalkstickstoffs. Vortrag – Jahreshauptversammlung der Forschungsgemeinschaft der Kalkstickstoffherzeuger am 22.9.67 in Frankfurt
- Reddy, G.R. (1964): Effect of mixing varying quantities of dicyandiamide with ammonium fertilizers on nitrification of ammonia in soils. Canad. J. Soil Sci. **44**, 254–259

Sakaguchi, S. (1925): In M.R.F. Ashworth Analytical Methods For Organic Cyano Groups, Pergamon Press 1971

SKW (1974): Produktstudie Dicyandiamid der Süddeutschen Kalkstickstoffwerke Trostberg

Stevenson, F.J. (1965): In C.A. Black Methods of Soil Analysis Part 2, American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin

Vilsmeier, K., und Amberger, A. (1978): Modellversuche zum Umsatz von gemahlenem Kalkstickstoff und Perlkalkstickstoff in Abhängigkeit von Bodenfeuchtigkeit und Applikationsform. Z. Acker- u. Pflanzenbau **147**, 68-77

[P 3905 P]