

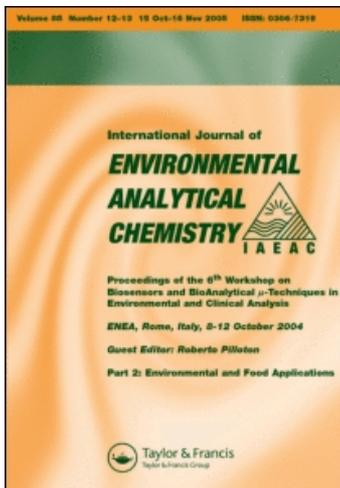
This article was downloaded by:

On: 19 January 2011

Access details: *Access Details: Free Access*

Publisher *Taylor & Francis*

Informa Ltd Registered in England and Wales Registered Number: 1072954 Registered office: Mortimer House, 37-41 Mortimer Street, London W1T 3JH, UK



International Journal of Environmental Analytical Chemistry

Publication details, including instructions for authors and subscription information:

<http://www.informaworld.com/smpp/title~content=t713640455>

Zur Mikrobestimmung des Gesamtschwefels in Pflanzengewebe

H. Schwager^a; Th. Keller^a

^a Eidg. Anstalt für das forstl. Versuchswesen, Birmensdorf ZH, Switzerland

To cite this Article Schwager, H. and Keller, Th. (1976) 'Zur Mikrobestimmung des Gesamtschwefels in Pflanzengewebe', *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 4: 4, 275 – 284

To link to this Article: DOI: 10.1080/03067317608071123

URL: <http://dx.doi.org/10.1080/03067317608071123>

PLEASE SCROLL DOWN FOR ARTICLE

Full terms and conditions of use: <http://www.informaworld.com/terms-and-conditions-of-access.pdf>

This article may be used for research, teaching and private study purposes. Any substantial or systematic reproduction, re-distribution, re-selling, loan or sub-licensing, systematic supply or distribution in any form to anyone is expressly forbidden.

The publisher does not give any warranty express or implied or make any representation that the contents will be complete or accurate or up to date. The accuracy of any instructions, formulae and drug doses should be independently verified with primary sources. The publisher shall not be liable for any loss, actions, claims, proceedings, demand or costs or damages whatsoever or howsoever caused arising directly or indirectly in connection with or arising out of the use of this material.

Zur Mikrobestimmung des Gesamtschwefels in Pflanzengewebe

H. SCHWAGER und TH. KELLER

*Eidg. Anstalt für das forstl. Versuchswesen,
CH 8903 Birmensdorf ZH, Switzerland*

SO₂ is one of the most important air pollutants. Plants, particularly forest trees, are more sensitive to it than is man. SO₂ enters the plants via stomates of assimilatory tissue and is stored in the latter. Foliar analysis for S is therefore an important method to detect air pollution by SO₂ even at low concentrations. Plants thus may be utilized as bioindicators of SO₂-pollution.

The present paper examines the suitability of colorimetric S-determination in plant tissue with barium chloranilate in connection with tissue ashing in the Schöniger flask. Due to controversial opinions expressed in literature particularly the influence of the following potential sources of analytical error is checked:

- removal of interfering cations by exchange resin in the presence or after destruction of peroxide (added to the Schöniger flask);
- pH-dependence of color intensity;
- duration of reaction to form the colored acid chloranilate ion.

Reproducible results are obtained only if excess peroxide is destroyed, if interfering cations are removed from the ash solution, if prescribed pH-value is maintained by efficient buffering, and if timing of formation of the chloranilate ion is standardized. If these precautions are considered, the method is suitable for determining S-contents in plant tissue accurately.

KEY WORDS: bioindicators, tissue analysis, sulfur analysis, barium chloranilate, SO₂-pollution.

SO₂ gehört nach wie vor zu den wichtigsten Luftverunreinigungen. Da dieses phytotoxisch wirkende Gas durch die Stomata der pflanzlichen Assimilationsorgane aufgenommen und in letzteren gespeichert wird, bildet die Schwefelgehaltsbestimmung in Pflanzengewebe eine wichtige Methode für den Nachweis von SO₂-Immissionen.

Die vorliegende Arbeit prüft die Eignung der kolorimetrischen Schwefelbestimmung mit Barium-Chloranilat in Verbindung mit der Verbrennung der Gewebeprobe im Schönigerkolben. Insbesondere wird dem Einfluss folgender Quellen von möglichen Analysen-

fehlern nachgegangen:

- Entfernung störender Kationen durch Ionenaustauscher bei Anwesenheit bzw. nach Zerstörung von Peroxyd;
- pH-Abhängigkeit der Farbintensität;
- Reaktionszeit zur Bildung des farbigen Chloranilat-Ions.

Erst nach Zerstörung des Peroxyd-Ueberschusses und Absorption der störenden Kationen sowie bei genauer Einhaltung des vorgeschriebenen pH-Wertes und Standardisierung der Reaktionszeit des Chloranilates ergeben sich reproduzierbare Ergebnisse. Bei Beachtung dieser Punkte erlaubt die Methode den genauen und empfindlichen Nachweis des S-Gehaltes in pflanzlichem Gewebe.

1. EINLEITUNG

Trotz beachtlicher Anstrengungen zur Reduktion der SO_2 -Emissionen gehört das SO_2 nach wie vor weltweit zu den wichtigsten Luftverunreinigungen. Da Pflanzen auf niedrige SO_2 -Konzentrationen empfindlicher reagieren als der Mensch, sind vor allem die aus langlebigen Bäumen bestehenden Wälder überall dort gefährdet, wo die zulässigen SO_2 -Grenzwerte oder Kriterien nur den Schutz der menschlichen Gesundheit als Massstab nehmen. Besonders in der Umgebung von Grossemittenten ist daher die Vegetation nach wie vor geringen SO_2 -Immissionen ausgesetzt, welche auf lange Sicht schädigend wirken können. Zum Immissionsnachweis wird man daher trotz der Immissionsmessnetze, welche die Luftqualität zu überwachen trachten, immer wieder zur Blattanalyse auf Schwefel greifen müssen.

Auch wenn sich die Schwefelanalyse nach Grote und Krekeler¹ bzw. Seuthe² bewährt und in spezialisierten Laboratorien eingebürgert hat, so sucht man vielerorts noch immer nach Alternativmethoden, welche nicht eine spezielle Apparatur verlangen. In letzter Zeit wird in vermehrtem Masse der Schoeniger-Kolben³ zur Pflanzenveraschung verwendet, welcher z.B. auch bei der F-Mikrobestimmung Anwendung findet.⁴ Denn wo Genauigkeit und Vergleichbarkeit angestrebt werden, wird man nicht um eine Verbrennung im geschlossenen System herumkommen.^{5,6}

Obwohl die Trennung in eine organische und eine anorganische S-Fraktion, wie sie z.B. von Jaeger und Steubing⁷ vorgeschlagen wurde, mehr Information liefert als nur eine Totschwefelbestimmung,⁸ so wird man sich doch in gewissen Fällen mit der Bestimmung des Totschwefelgehaltes begnügen müssen.

2. FRAGESTELLUNG

Auf Grund der apparativen Ausstattung unseres Laboratoriums haben wir uns daher folgende Frage gestellt: Lässt sich durch Kombination der

Verbrennung im Schoeniger-Kolben³ mit der kolorimetrischen Bariumchloranilat-Bestimmung⁹ eine relativ rasche, zuverlässige Routine-Methode erarbeiten?

3. METHODISCHE DETAILUNTERSUCHUNGEN

Bei unserer Fragestellung, welche übrigens kürzlich auch von Raber *et al.*¹⁰ bearbeitet wurde, ist davon auszugehen, dass die Bariumchloranilat-Methode⁹ für die S-Bestimmung in Erdölprodukten und Wasser entwickelt worden war. Bei der Bestimmung des Schwefelgehaltes von Pflanzengeweben ist dagegen der Schwefel zuerst durch Verbrennung in die für die Reaktion mit Chloranilat geeignete Sulfat-Form zu überführen. Dabei gehen auch die in der Asche vorhandenen Kationen in die Peroxyd-Lösung über.

3.1. Die Beseitigung der störenden Kationen

Bereits Bertolacini und Barney⁹ weisen darauf hin, dass die Kationen die Chloranilat-Reaktion stören und daher entfernt werden müssen, z.B. durch Perkolation durch eine Kunstharz-Ionenaustauscher-Säule. Da bei Verwendung eines 1 l-Schöniger-Kolbens nur etwa 100 mg Pflanzenmaterial verascht werden können, ist diese Perkolation wenig geeignet, weil bei geringen Schwefelgehalten des Pflanzenmaterials die Lösung viel zu stark verdünnt wird. Aus diesem Grunde schlagen daher Raber *et al.*¹⁰ vor, etwas Kunstharz-Kationenaustauscher in den Schönigerkolben zu geben und durch kurzes Aufschütteln der Lösung die Kationen an den Kunstharz zu binden.

Calcium ist in der Aschenlösung wohl das am stärksten vertretene Kation. Da nach Thomas und Chamberlin¹¹ Calcium die Bariumanilat-Reaktion nicht stören soll, könnte ein kurzes Aufschütteln möglicherweise wirklich genügen. Eine Ueberprüfung dieses Vorschlages ergab jedoch keine Reproduzierbarkeit der Ergebnisse. Aus diesem Grunde wurde das Schütteln standardisiert, indem die Lösung während 5 Minuten in einem Kippschüttelapparat geschüttelt wurde. Leider war jedoch die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse noch immer unbefriedigend (vgl. Tabelle 1). Da der Schönigerkolben mit 3% H₂O₂-Lösung beschickt wird, um die Oxidation aller Schwefelverbindungen zu Sulfat zu gewährleisten,^{12,13} wurde vermutet, diese Peroxydlösung könnte die Wirkung des Kunstharzes beeinträchtigen.¹⁴ Als wir vom Entwicklungslabor der Dowex in Zürich erfuhren, dass unter Umständen sogar eine teilweise Zerstörung der austauschaktiven Sulfonsäuregruppen möglich sei, wurde versucht, das überschüssige Peroxyd zu zerstören. Weil das alleinige Aufkochen der Peroxydlösung nur eine geringe H₂O₂-Spaltung bewirkte, wurde der Lösung zur Peroxyd-Zerstörung eine

Spatelspitze MnO_2 (wasserunlöslich) zugesetzt, wobei Erwärmen die Reaktion beschleunigt. Nach abgeschlossener Reaktion (Blasenbildung) wurde die Lösung zentrifugiert, mit 2 g Kunstharz versetzt und im Kippschüttelapparat geschüttelt. In Abhängigkeit von der Schüttelzeit wurden die in Abb. 1 zusammengefassten Resultate erzielt. Auf Grund der oberen Kurve wurde in der Folge die Einwirkungszeit der Kationenaustauscher auf 15 Minuten ständigen Schüttelns mit dem Kippschüttelapparat standardisiert. Dadurch wurde eine sehr gute Reproduzierbarkeit der Analysenresultate erreicht. Demgegenüber lieferte gelegentliches Schütteln im Verlaufe von 30 Minuten immer noch tiefere Werte als kontinuierliches Schütteln während 5 Minuten.

Die Störung des Analysenresultates durch Kationen, welche zufolge des Peroxyds nicht an das Kunstharz gebunden werden, geht aus Tabelle I hervor. Die Depression des gefundenen S-Gehaltes ist am grössten bei den an Asche (Kationen) reichsten Proben von Ulme und Buche.

TABELLE I

Störeinfluss der Kationen bei Anwesenheit von Peroxyd auf die Schwefelgehaltsbestimmung (% der Trockensubstanz, Mittelwerte von je 4 Wiederholungen)

Art	H_2O_2 zerstört	H_2O_2 vorhanden	Δ
Tanne	0.125	0.108	0.017
Fichte	0.107	0.081	0.026
Eiche	0.152	0.138	0.014
Buche	0.164	0.108	0.056
Ulme	0.193	0.101	0.092

3.2. Der Einfluss des pH-Wertes

Bereits Bertolacini und Barney⁹ weisen auf die pH-Abhängigkeit der Farbintensität hin und puffern bei $pH = 4.0$. Demgegenüber soll nach Thomas und Chamberlin¹¹ nur darauf geachtet werden, dass die Lösung im pH-Bereich 3.0–3.5 bleibt. Da je nach Gehalt des Pflanzenmaterials an Basenbildern der pH-Wert der Aschenlösung schwanken kann, ist genügend Puffer beizugeben, um den empfohlenen pH-Wert von 4.0 genau einzuhalten. Aus Abb. 2 geht nämlich hervor, dass nur schon eine geringe pH-Verschiebung eine sehr starke Veränderung der Extinktion bewirkt. Es ist daher unbedingt notwendig, den pH-Wert genau einzuhalten, um reproduzierbare und damit vergleichbare Resultate zu erhalten. Besonders in aschereichen Proben besteht die Gefahr, dass nach der Behandlung mit dem Kationenaustauscher der pH-Wert unter 4.0 abfällt.

3.3. Der Einfluss der Reaktionszeit des Barium-Chloranilates

Nach Zugabe des Bariumchloranilates ist die Lösung kräftig zu rühren oder zu schütteln, um eine vollständige Reaktion zu erzielen. Diese ist nach ca. 10 Min. abgeschlossen (vgl. Abb. 3), wobei es scheint, dass reine Lösungen (z.B. Eichlösungen E4, E8) rascher reagieren als die Proben (Fi, Bu), welche u.a. ja noch Anionen enthalten.

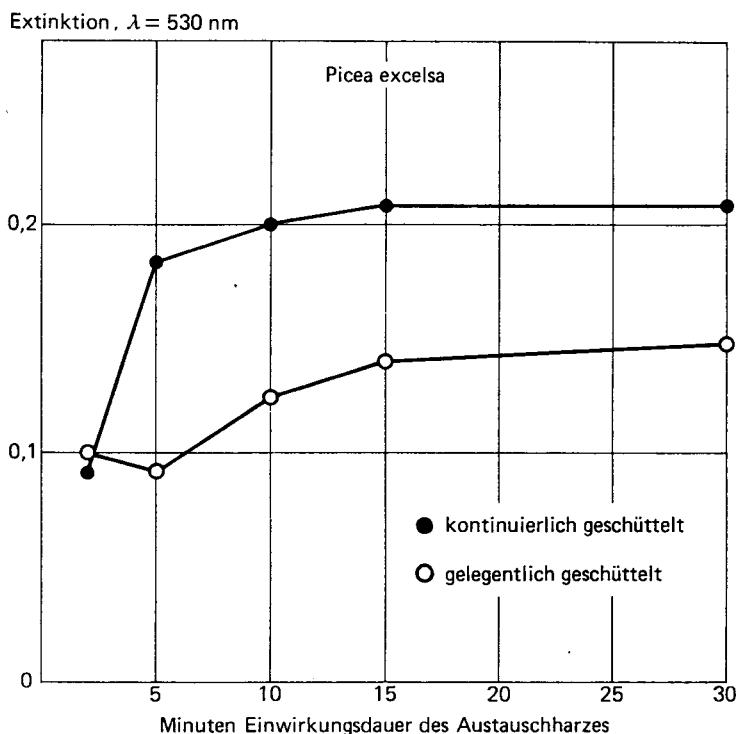


ABBILDUNG 1 Einfluss von Dauer und Intensität des Schüttelns des Austauscherharzes in der Lösung auf die Extinktion.

In Abb. 3 fällt auf, dass die Probelösungen selbst nach 60 Minuten noch keinen Endwert erreicht haben. Da dieser Effekt nur bei den Pflanzenproben, nicht aber bei den chemisch reinen Eichlösungen, auftrat, wird er möglicherweise durch irgendwelche Inhaltsstoffe der Assimilationsorgane verursacht, welche langsam mit dem Anilatüberschuss reagieren. Aus diesem Grunde empfehlen wir, das überschüssige Chloranilat nach 15 minütigem Schütteln

durch Zentrifugation aus der Lösung zu entfernen. Durch diese Massnahme lässt sich der Wert stabilisieren.

3.4. Reproduzierbarkeit

Zur Ueberprüfung der Reproduzierbarkeit der Analysenresultate wurden zwei Fichtennadel-Proben je achtmal von zwei verschiedenen Laboranten

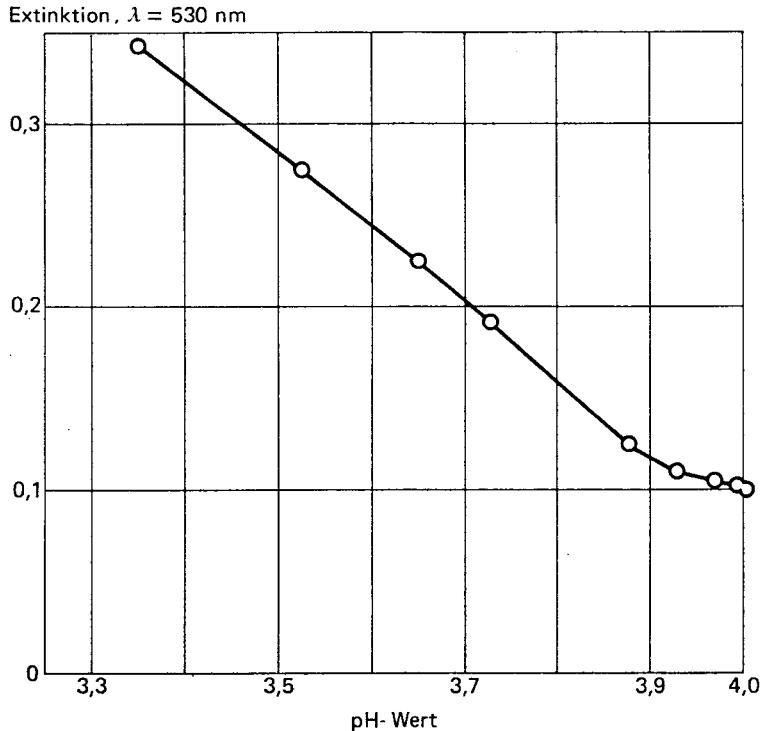


ABBILDUNG 2 Einfluss des pH-Wertes auf die Extinktion der Chloranilat-haltigen Lösung.

untersucht. Dabei ergaben sich die in Tabelle II zusammengestellten Resultate (Total-S in % der Trockensubstanz). Die relativ grosse Streuung der Werte von Wiederholungen ist hauptsächlich auf die geringe Homogenität des Fichtennadelpulvers zurückzuführen (Sklerenchymfasern).

Es zeigte sich somit eine recht gute Uebereinstimmung und Reproduzierbarkeit, im Gegensatz zu den Analysen, bei welchen der H_2O_2 -Ueberschuss vor der Kationenentfernung nicht zerstört wurde (vgl. Tabelle I).

4. RESULTIERENDE ANALYSENVORSCHRIFT

4.1. Analysendurchführung

Ein 1 l-Schönigerkolben (mit Platinnetz als Probenhalter) wird mit Sauerstoff gespült und gefüllt, nach Zugabe von 10 ml 3% H_2O_2 . Ca. 70 mg fein

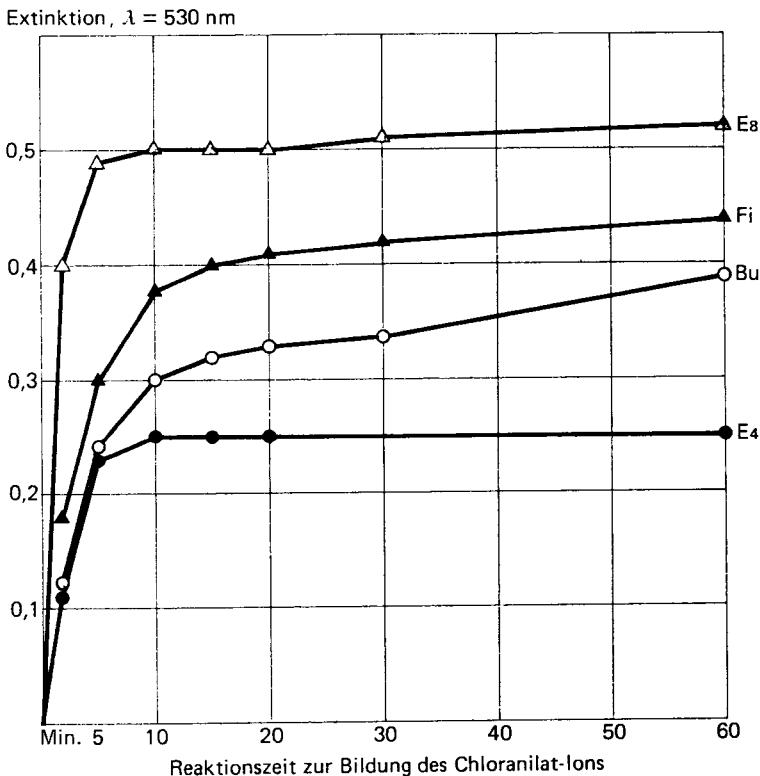


ABBILDUNG 3 Einfluss der Reaktionszeit zur Bildung des Chloranilat-Ions auf die Extinktion. E4: Eichlösung (H_2SO_4) 4 ppm; E8: Eichlösung (H_2SO_4) 8 ppm; Fi: Fichtennadelprobe; Bu: Buchenlaubprobe.

gemahlenes, trockenes Pflanzenpulver wird in aschefreies "Schöniger"-Filterpapier (mit Docht) eingewickelt, ins Pt-Netz gesteckt, angezündet und der Kolben verschlossen. Nach der Verbrennung wird der Kolben gut geschüttelt, wobei darauf geachtet wird, dass die H_2O_2 -Lösung allfällige Aschenreste aus dem Pt-Netz völlig herauspült. Nachher lässt man den Kolben 30 Minuten bei 4°C stehen,¹³ um eine vollständige Absorption der

Schwefeloxide zu erreichen. Während dieser Zeit wird der Kolben 3–4 mal kräftig geschüttelt.

Neun ml der Lösung werden in ein Zentrifugenglas pipettiert. Mit einer Spatelspitze MnO_2 wird das H_2O_2 (evt. unter Erwärmung) zersetzt. Nach abgeschlossener Blasenbildung wird zentrifugiert (5 Minuten, 5000 U/min.). Die überstehende Lösung wird in ein verschliessbares Reagenzglas dekantiert, welches 2 g Austauscherharz (Kationenaustauscher) enthält. Das Reagenzglas wird 15 Minuten in einem Kippschüttelapparat geschüttelt, um eine vollständige Absorption störender Kationen zu erreichen.

TABELLE II
Reproduzierbarkeit der Analysenresultate

	Laborant 1			Laborant 2		
	\bar{x}	$s_{\bar{x}}$	σ	\bar{x}	$s_{\bar{x}}$	σ
Probe 1	0.088	0.0046	0.013	0.087	0.0042	0.012
Probe 2	0.382	0.0064	0.018	0.386	0.0145	0.041

Fünf ml der überstehenden Lösung werden in ein Reagenzglas pipettiert, mit 1 ml Kaliumhydrogenphthalatpuffer (pH 4.0) und 4 ml Aethanol versetzt und gemischt (Vortex-Mischer). Nach Zugabe von ca. 0.05 g Barium-Chloranilat wird 15 Minuten lang geschüttelt (Kippschüttelapparat), anschliessend 15 Minuten zentrifugiert (5000 U/min.) Die überstehende Lösung wird dekantiert und durch nochmaliges kräftiges Schütteln homogenisiert. Nach ca. 15 Minuten (die durch das Schütteln verursachte Trübung durch feine Luftbläschen muss jedenfalls verschwunden sein) wird im Spektrofotometer die Extinktion bei $\lambda = 530$ nm gemessen.

Die Messung im UV-Bereich, wie gelegentlich empfohlen,^{10,15} erwies sich in unseren Versuchen als unvorteilhaft, da bereits die Extinktion der Nullprobe relativ hoch war.

Mit verdünnter Schwefelsäure wird für den Bereich bis 40 ppm S (in der Endlösung) eine Eichkurve erstellt, wobei die Eichlösungen ebenfalls dem ganzen Analysenvorgang unterworfen werden.

4.2. Material und Apparaturen

Spektrofotometer

Zentrifuge

Kipp-Schüttelapparat

Schönigerkolben (mit Platinnetz als Probenhalter)

Reagenzgläser mit Stopfen

“Schöniger” Filterpapier, aschefrei, Schleicher-Schüll 589² H₂O₂, 3% (z.B. Perhydrol Merck 7209 entsprechend verdünnt) Schwefelsäure, Titrisol Merck 0.1 N, entsprechend verdünnt für Eichlösungen.

Mn O₂, p.a. Fisher 75719

0.6 M Kaliumhydrogenphthalat, p.a. Merck 4873

(12.25 g in 100 ml aqua dest. bei 30°C gelöst. Um diese relativ hohe Konzentration beizubehalten, muss die Lösung vor der Zugabe zur Probe wieder auf 30° erwärmt werden.)

Kationenaustauscher Dowex 50 W × 8 20–50 mesh, H⁺-Form, Fluka 44500.

(Das Harz ist vor der Verwendung viermal mit 10% HCl p.a. zu waschen und chloridfrei zu spülen. Es kann auf diese Weise auch regeneriert und wiederholt verwendet werden).

Aethylalkohol, p.a., Merck, 98,3%

Barium-Chloranilat, kristallin, p.a. Merck 2363 (vgl. ^{9,10}).

5. SCHLUSSFOLGERUNGEN

Die Beachtung der hier vorgeschlagenen Modifikationen bzw. Standardisierungen gewisser Analysenschritte macht die Kombination der Barium-Chloranilat-Methode mit der Schöniger-Verbrennung zu einer zuverlässigen und genauen Schwefelgehaltsbestimmung in Pflanzenmaterial. Die Methode ist in der vorgeschlagenen Form ziemlich zeitraubend (aber kaum aufwendiger als andere Methoden), doch führen Vereinfachungen (z.B. Verzicht auf Peroxyd-Zerstörung) zu schwerwiegenden Beeinträchtigungen der Genauigkeit und Reproduzierbarkeit. Auch wenn die Methode nicht als Schnellmethode anzusehen ist, so ist sie dennoch für Routineanalysen geeignet.

Literatur

1. W. Grote und H. Krekeler, *Angew. Chem.* **46** (6), 106–109 (1933).
2. A. Seuthe, *Glückauf* **75**, 409–411 (1939).
3. W. Schöniger, *Mikrochim. Acta.* 123–129 (1955).
4. D. A. Levaggi, W. Oyung, und M. Feldstein, *J. Air Poll. Contr. Assoc.* **21**, 277–279 (1971).
5. M. Buck, *Landwirtschaftl. Forschung* **15** (2), 135–145 (1962).
6. T. Greweling, C. A. Bache, und D. J. Lisk, *J. Agr. Food Chem.* **20** (2), 438–439 (1972).
7. H. J. Jäger und Lore Steubing, *Angew. Bot.* **44**, 209–221 (1970).
8. K. Wentzel, Tag. Ber. IX. Internat. Tag. Luftverunreinig. Forstwirtsch. Marianske Lazne, 15.–18. Okt. 1974. VULHM, Zbraslav; pp. 131–139 (1974).
9. R. J. Bertolacini and J. E. Barney, II, *Anal. Chem.* **29** (2), 281–283 (1957).
10. H. Raber, W. Likussar, und D. Grill, Tag. Ber. IX. Internat. Tag. Luftverunreinig. Forstwirtsch. Marianske Lazne, 15.–18. Okt. 1974. VULHM, Zbraslav; pp. 141–144 (1974).

11. L. C. Thomas and G. J. Chamberlin, *Colorimetric Chemical Analytical Methods*. p. 351. 8. Aufl. Tintometer Ltd. Salisbury, 626 pp. (1974).
12. J. M. Dédenon, *Rapport Ann. Assoc. Forêt-Cellulose*, pp. 393–421 (1972).
13. L. H. Weinstein, D. C. McCune, A. L. Aluisio, and P. van Leuken, *Environ. Pollut.* 9 (2), 145–155 (1975).
14. J. N. Driscoll, A. W. Berger, J. H. Becker, and C. S. Sommers, *Intern J. Environ. Anal. Chem.* 3 (4), 293–305 (1974).
15. G. Beswick and R. M. Johnson, *Talanta* 17, 709–716 (1970).