

CHROM. 12,131

Note

Automatische Messung von Kohlenstoff in wässrigen Säuleneluaten

O. H. DANNEBERG

Institut für Landwirtschaft der Österreichischen Studiengesellschaft für Atomenergie GmbH, Lenau-gasse 10, A-1082 Wien (Österreich)

(Eingegangen am 19. Juni 1979)

Nur wenige der in der Flüssigkeitschromatographie eingesetzten Detektoren sind allgemein anwendbar. Eine universelle Möglichkeit zur Detektion organischer Stoffe bietet die Messung von organischem Kohlenstoff durch Verbrennung, wenn das Elutionsmittel entweder kohlenstofffrei ist oder aber vor der Verbrennung vollständig entfernt werden kann. Auf letzterem Prinzip beruht der Transport-Detektor¹. Verwendet man dagegen Wasser oder ein wässriges, kohlenstofffreies Puffersystem zur Elution, so lassen sich Geräte zur Messung von organischem Kohlenstoff in Trinkwasser vorteilhaft als allgemein verwendbare Detektoren einsetzen. Dies ist insbesondere dann der Fall, wenn diese Geräte geeignet sind, aus einem ständig fließenden Strom von Untersuchungswasser in regelmässigem Zyklus Proben automatisch zu entnehmen und zu messen und wenn das Volumen der entnommenen Einzelprobe im Verhältnis zum Inneren Volumen der Säule klein genug ist.

Zur Untersuchung der im Ackerboden vorkommenden, organischen Substanzen, insbesondere der Huminstoffe², wenden wir seit einiger Zeit die Chromatographie an porenkontrolliertem Glas an^{3,4}. Die Huminstoffe werden dabei als Farbstoffe über ihre Lichtabsorption nachgewiesen. Eine gleichzeitige Registrierung von organischem Kohlenstoff im Säuleneluat würde auch die Feststellung von ungefärbten Nichthuminstoffen² erlauben.

Zur automatischen Messung von Kohlenstoff in solchen Säuleneluaten schien der zur Trinkwasseruntersuchung konzipierte Total Carbon Monitor TCM 400/P der Fa. Carlo Erba (Mailand, Italien) geeignet, da das Gerät den oben erwähnten Anforderungen entspricht⁵. Hier soll über Testmessungen berichtet werden, die die Brauchbarkeit der Gerätekombination zeigen.

EXPERIMENTELLES

Geräte und Messmethodik

Die chromatographische Methodik wurde bereits ausführlich beschrieben⁴. Sie stellt eine Niederdruck-Chromatographie im halb-präparativen Massstab dar. Die verwendete Säule besitzt ein Inneres Volumen von etwa 70 ml. Das Elutionsmittel ist eine wässrige Lösung, die im Liter 0.02 Mol Natriumtetraborat und 0.05 Mol Natriumchlorid enthält. Es soll möglichst frei von Kohlendioxid, Carbonaten und organischen Verunreinigungen sein. Die Durchflussrate des Puffers muss an die Probenzykluszeit des TCM-Gerätes angepasst werden; sie beträgt 0.5 ml/min.

Der TCM 400/P entnimmt einem ständigen Fluss von Wasser in regelmässigem Zyklus von 5 min ein Probenvolumen von etwa 200 μ l und spritzt es in ein mit Kupferoxid gefülltes und auf 880° temperiertes Verbrennungsrohr ein. Die Verbrennungsprodukte werden durch einen gleichmässigen Fluss von Trägergas zunächst einer Silicagel-Säule zugeführt, wo Wasserdampf abgetrennt wird. Dann wird das Kohlendioxid katalytisch zu Methan umgesetzt und einem Flammenionisationsdetektor (FID) zugeleitet, wo es als scharfer Peak registriert wird⁵. Als Trägergas wird nach der Originalvorschrift Stickstoff verwendet. Bei Direktmessung in der Chromatographie muss jedoch das den Verbrennungsteil durchströmende Gas durch synthetische Luft ersetzt werden, um ein dauerndes Regenerieren des Kupferoxids zu erreichen. Dies kann durch eine einfache Umstellung in der Gaszuführung des Gerätes geschehen.

Das die Säule verlassende Eluat wird zunächst einem Spektralphotometerdetektor zugeführt. Der Ausgang der Photometerzelle kann mit einem Plastik-Kapillarschlauch direkt an das Einspritzventil des TCM angeschlossen werden. Dieses Ventil ist an der Oberseite des Gerätes gut zugänglich montiert. Das überschüssige Eluat verlässt den TCM über das serienmässig dafür vorgesehene Schlauchsystem.

Die Signale der beiden Detektoren, die Extinktion und die laufende Kohlenstoffmessung, werden auf einem Zweikanal-Potentiometerschreiber (Vollausschlag 10 mV, Papiervorschub 120 mm/h) registriert. Die weitere Auswertung erfolgt mit Hilfe eines geeigneten Computerprogrammes⁴.

Testsubstanzen

Zur Kalibrierung des FID-Signals wurden Standardlösungen von Natriumcarbonat und von Kaliumhydrogenphthalat in destilliertem Wasser und in Elutionspuffer verwendet. Die Standardlösungen wurden mit einer Schlauchpumpe direkt dem Einspritzventil des TCM zugeführt. Zur Prüfung der Chromatographie dienten Blue Dextran 2000 (Pharmacia, Uppsala, Schweden) und Benzylalkohol (Merck, Darmstadt, B.R.D.). Eine Testlösung mit 0.5% Blue Dextran 2000 und 1% Benzylalkohol in Puffer wurde in Mengen von 1 ml mit einer Injektionsspritze auf die Säule gebracht und mit Puffer eluiert. Beide Substanzen können durch ihre UV-Absorption bei 260 nm nachgewiesen werden. Blue Dextran 2000 erscheint im Ausschlussvolumen, Benzylalkohol im Salzvolumen der Säule⁴.

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Kalibrierung des FID-Signals

Die Höhe der Messpeaks ist in einem weiten Bereich der Kohlenstoffkonzentration proportional. Die Eichgerade ist, wie erwartet, von der Bindungsform des Kohlenstoffs unabhängig; Carbonat-C und organisch gebundener Kohlenstoff (als Kaliumhydrogenphthalat) ergeben identische Gerade. Ebenso ist der Salzgehalt der Lösung ohne Einfluss auf die Eichung. Bei Konzentrationen über 300 ppm flacht die Eichkurve sehr schnell ab und verläuft ab 360 ppm horizontal. Die höchste, für die Chromatographie noch brauchbare Signalabschwächung beträgt 1:256; dabei zeigen die Leerwertpeaks bei sauberer Säule und CO₂-freiem Elutionsmittel Höhen von etwa 1 mm (Fig. 1). Die höchste noch sicher messbare Kohlenstoffkonzentration von 300 ppm C bringt hier Peakhöhen von 120 mm. Die Empfindlichkeit kann jedoch

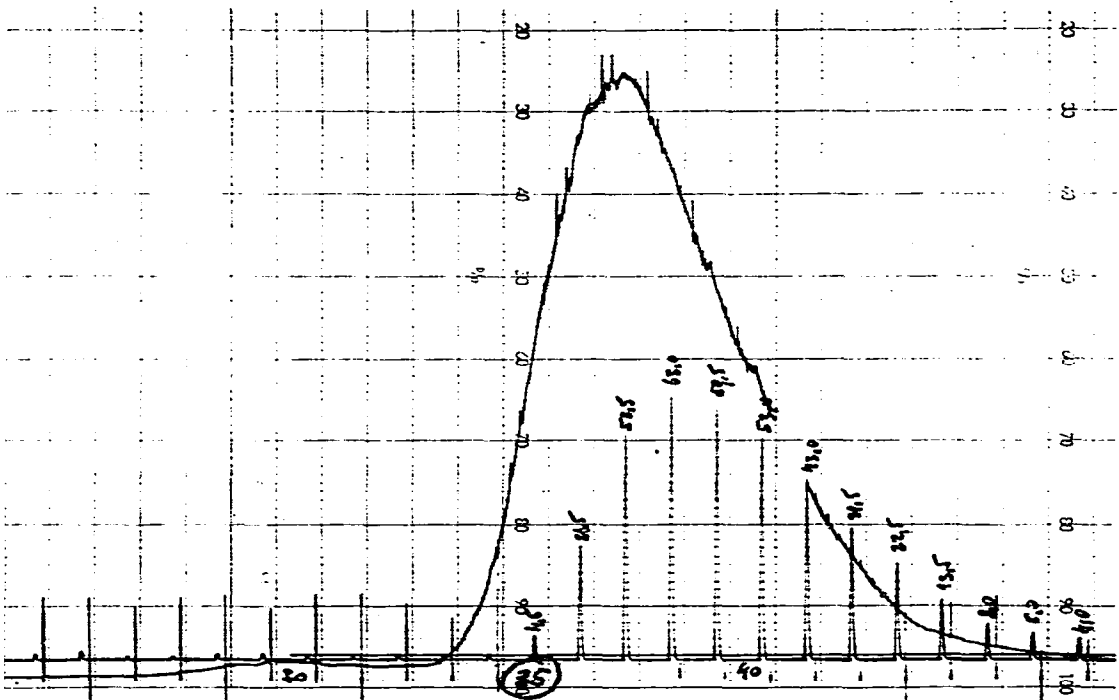


Fig. 1. Ausschnitt aus einem Original-Schreiberprotokoll. 2-Kanal-Potentiometerschreiber mit 10 mV Vollausschlag und 120 mm/h Papiervorschub. Der Ausschnitt zeigt den ersten im Chromatogramm erscheinenden Peak, Blue Dextran 2000. Durchgehende Linie: Extinktion bei 260 nm. Einzelpeaks: Laufende Messung von Kohlenstoff im Eluat. TCM-Signalabschwächung: 1:256.

ohne weiteres um das 16-fache (Abschwächung 1:16) gesteigert werden; 1 mm Peakhöhe entspricht dann einer Konzentration von 0.15 ppm C.

Vergleich der C-Messung mit optischer Detektion

Gemische von Blue Dextran 2000 und Benzylalkohol wurden in mehreren Einzelexperimenten chromatographisch analysiert. Fig. 1 zeigt einen Ausschnitt eines typischen Schreiberprotokolls. Die Ergebnisse von drei Parallelexperimenten und den daraus errechneten Mittelwert gibt die Fig. 2 wieder; sie erlaubt so eine Beurteilung der Reproduzierbarkeit der Kohlenstoffmessung in der Chromatographie. Fig. 3 zeigt die Übereinstimmung der optischen Detektion mit der Kohlenstoffmessung.

Wiederfindung der Testsubstanzen nach Chromatographie

Wie Tabelle I zeigt, entspricht 1 ml des Testgemisches 10.5 mg C. Durch Integration der chromatographischen Peaks wurden in vier Einzelexperimenten im Mittel 10.8 mg C erhalten. Die Standardabweichung beträgt etwa 10%. Diese Abweichungen sind sicherlich zum Teil eine Folge der Dosierung, die lediglich mit Hilfe einer einfachen Injektionsspritze erfolgte. Sie liegen jedoch insgesamt durchaus im Rahmen dessen, was von einer solchen chromatographischen Methodik erwartet werden darf. Für den gegebenen Zweck ist eine solche Genauigkeit jedenfalls ausreichend.

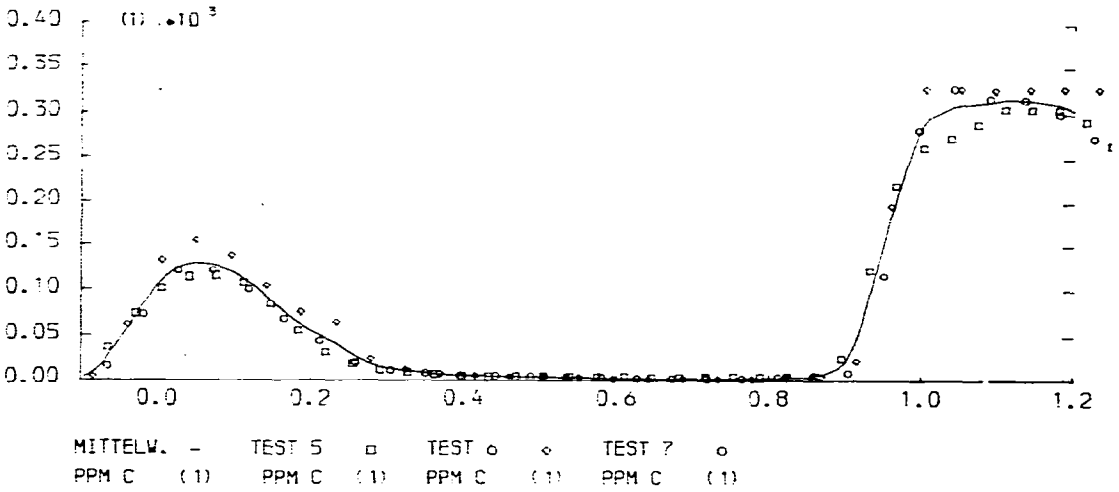


Fig. 2. Reproduzierbarkeit der Kohlenstoffmessung. Drei Einzelexperimente (mit Symbol punktiert) und die gerechnete Mittelwertskurve (ausgezogene Linie). Abszisse: K_d -Wert. Ordinate: C-Konzentration (0–400 ppm C).

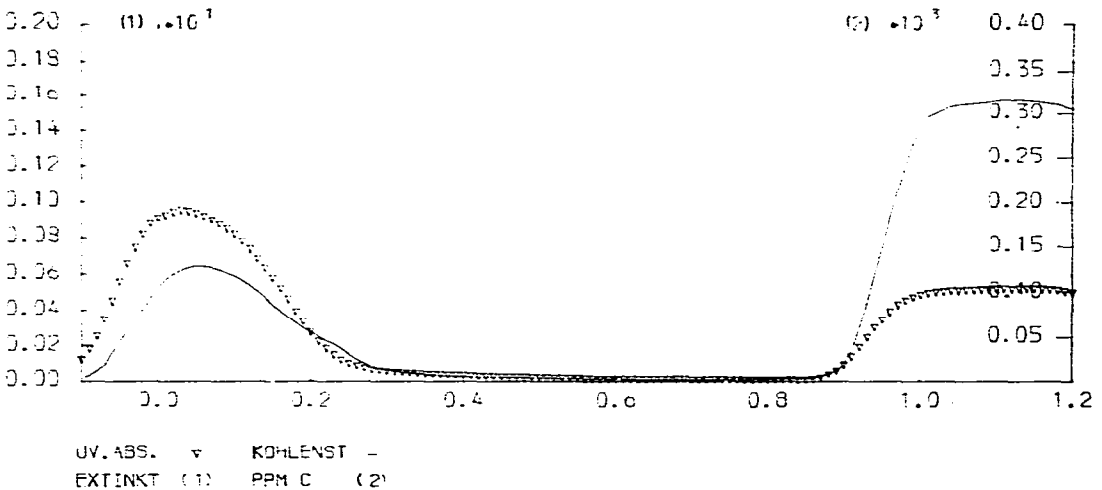


Fig. 3. Vergleich der Kohlenstoffmessung mit der optischen Detektion. Abszisse: K_d -Wert. Ordinate 1: Extinktion bei 260 nm (0–2.0), zugehörige Linie mit Symbol punktiert. Ordinate 2: Kohlenstoffkonzentration (0–400 ppm C), zugehörige Linie ausgezogen.

TABELLE I

WIEDERFINDUNG DER TESTSUBSTANZEN NACH DER CHROMATOGRAPHIE

	Eingesetzt (mg C)	Gefunden durch Integration (mg C)
Blue Dextran 2000	2.1	2.11 ± 0.29
Benzylalkohol	8.4	8.70 ± 0.61
Summe	10.5	10.80 ± 0.89

LITERATUR

- 1 H. Engelhardt, *Hochdruckflüssigkeitschromatographie*, Springer, Berlin, Heidelberg, New York, 1975, S. 54ff.
- 2 M. Schnitzer und S. U. Khan, *Humic Substances in the Environment*, Marcel Dekker, New York, 1972, S. 2.
- 3 O. H. Danneberg, *Soil Organic Matter Studies*, Vol. II, International Atomic Energy Agency, Wien, 1977, S. 221.
- 4 O. H. Danneberg und J. Schmidt, *Bodenkultur*, 29 (1978) 1.
- 5 N. Pierini, M. Lonigro, G. Paguozzi, C. De Sena und V. Quercia, *Boll. Chim. Farm.*, 117 (1978) 391.