

CHROM. 15,578

Note

Quantitative Dünnschicht-Chromatographie des Bleis von kontaminierten Umweltmaterialien nach Abtrennung als Tetramethyldithiocarbamat und *in-Situ*-Messung als PbS

G. JAHNS, W. SCHUNCK und G. SCHWEDT*

Anorganisch-Chemisches Institut der Universität, Tammannstr. 4, D-3400 Göttingen (B.R.D.)

(Eingegangen am 8. November 1982; geänderte Fassung eingegangen am 29. November 1982)

Quantitative dünnschicht-chromatographische Verfahren ermöglichen die Verbindung von selektiven Trennungen mit selektiven und empfindlichen Bestimmungen. Auch für anorganische Stoffe wie vor allem Schwermetalle sind solche Verfahren für Anwendungen in der Spurenanalyse beschrieben worden¹. Mit zunehmender Belastung der Umwelt durch Schwermetalle hat besonders die Entwicklung jener spurenanalytischer Verfahren und Techniken an Bedeutung gewonnen, die mit geringem apparativer Aufwand und relativ geringen analytischen Erfahrungen durchzuführen und somit für eine breite Anwendung geeignet sind. Für das Blei sind dünnschicht-chromatographische Verfahren bisher überwiegend mit einer Elution von Chelaten verbunden (siehe in Lit. 1) eine Arbeit berichtet über die "*in Situ*" Fluorimetrie in Mineralölen¹⁰. Im folgenden wird daher ein anwendungsorientiertes Verfahren mit photometrischer "*in Situ*" Auswertung vorgestellt, das auf kontaminierter pflanzliche Materialien sowie auf Klärschlämme anwendbar ist. Zur Anreicherung und dünnschicht-chromatographischen Trennung werden Dithiocarbamate eingesetzt, deren spurenanalytische Eignung bereits häufiger gezeigt wurde^{2,3}.

EXPERIMENTELLES

Geräte

TLC-Scanner (Camag, 76500), DC-Laufkammer für 10 × 10 Platten, Tauchkammer (Camag) für 20 × 10 cm Platten, 5- μ l Mikropipetten (Blaubrand), 150-ml Schütteltrichter, graduierte 10-ml Reagenzgläser mit NS 14,5 Schliffstopfen.

Materialien

Fertigfolien Kieselgel N-HR-Polygram SIL G/UV 254, (Macherey, Nagel & Co), HPTLC-Fertigplatten Kieselgel 60 (ohne Fluoreszenzindikator) 10 × 10 cm (Merck Art. 5631), HPTLC-Fertigplatten G 1570/LS 254 Kieselgel —mit Leuchtstoff (Schleicher & Schüll), Faltenfilter (Schleicher & Schüll), Faltenfilter (Schleicher & Schüll Nr. 311 643).

Chemikalien

Blei-Standard-Lösung (1 mg/ml, Tritrisol; Merck), Toluol, Natriumsulfid, Ammoniumpyrrolidindithiocarbamat (= Tetramethyldithiocarbamat: TMDTC),

Methanol, Dithizon, EDTA, Aluminiumnitrat (Merck), Chloroform (Baker), Weinsäure (Serva) —alle Reinheitsgrad p.a.; Aktivkohle reinst (Merck), Hexamethylen-dithiocarbamat (HMDTC)— synthetisiert nach Lit. 4.

Lösungen: Standard-Acetatpuffer pH 4, 0.1 mol/l; TMDTC-Lösung: 0.5%ig in bidest. Wasser, frisch ansetzen; Na₂S-Lösung: 6%ig in Methanol-Wasser (3:1), frisch ansetzen; EDTA-Lösung: 0.05 mol/l in bidest. Wasser und Weinsäure-Lösung: 3%ig in bidest. Wasser (als Elutionslösungen für Blei aus Schlämmen).

Analysenvorschrift

Je 8 g des Pflanzenmaterials werden 24 h in 100 ml bidest. Wasser, von den Schlammproben je 1 g für 2 h in eine der Elutionslösungen (Wasser, EDTA- oder Weinsäure-Lösung) gelegt. Bis zu 100 ml der zu untersuchenden Lösung werden in einen mit Aluminiumfolie umwickelten Schütteltrichter gegeben. Nach dem Zusatz von 2 ml TMDTC-Lösung, 2 g Aluminiumnitrat, 2 ml Standard-Acetatpuffer und 10 ml Chloroform wird drei Minuten extrahiert und anschliessend die organische Phase durch ein trockenes Faltenfilter in ein 10-ml Reagenzglas filtriert. Ist der Bleigehalt sehr niedrig (geringer als 200 µg/100 ml wässriger Lösung), so kann durch Einengen des Chloroformextraktes an einem Vakuumrotationsverdampfer und Wiederauffüllen auf ein Volumen von minimal 0.5 ml eine Anreicherung maximal um den Faktor 200 in bezug auf die Probelösung erreicht werden. Je 5 µl der Extraktionslösung werden auf einer Kieselgelfolie (Polygram) neben 5 µl einer Vergleichslösung (100 µg/ml Blei) aufgetragen, wobei der Abstand der Flecken 1 cm betragen soll. Anschliessend wird in einer DC-Kammer eindimensional mit Toluol bis zu einer Höhe von 7 cm (Laufzeit etwa 20 min) chromatographiert. Zur Umwandlung des Bleidithiocarbamats wird die an der Luft getrocknete Kieselgelfolie 20 min in die Tauchkammer mit der Na₂S-Lösung gestellt. Die quantitative Auswertung erfolgt nach dem Trocknen der Schicht (an der Luft) durch Remissionsmessung des PbS bei 540 nm (Filter) mit Hilfe des TLC-Scanners. Die Höhe der Signale ist von der Bleimenge auf der Schicht linear abhängig.

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Für die quantitative Dünnschicht-Chromatographie des Bleis wurde ausser dem Tetramethylen- auch das Hexamethylen-dithiocarbamat (HMDTC, nach der Vorschrift von Busev *et al.*⁴ dargestellt) eingesetzt. Schwermetall-HMDTC-Komplexe besitzen im allgemeinen in organischen Extraktionslösungen eine höhere Stabilität als die des TMDTC⁵. Auf der Kieselgelschicht wurde jedoch bei Eichmessungen im Bereich von 50–500 ng Pb auf der Schicht und Messungen der Fluoreszenzminderung (ohne Umwandlung, HPTLC-Fertigplatten mit Leuchtstoff, UV-254 nm) für den TMDTC-Komplex eine niedrigere Grenze der Linearität mit 100 ng gegenüber 300 ng Pb auf der Schicht für den HMDTC-Komplex ermittelt. Als mobile Phasen wurden Benzol, Toluol sowie Gemische aus Cyclohexan-Chloroform eingesetzt. Eine Auswertung der Dünnschichtplatte nach der Chromatographie mit Toluol und Benzol ist im UV-Bereich (Absorptionsbereich des Carbamats bzw. Fluoreszenzminderung) nicht möglich. Mit dem optimierten Gemisch Cyclohexan-Chloroform (5:7) ist keine vollständige Trennung des Bleicarbamats von den organischen Substanzen aus pflanzlichen Materialien möglich (Fig. 1).

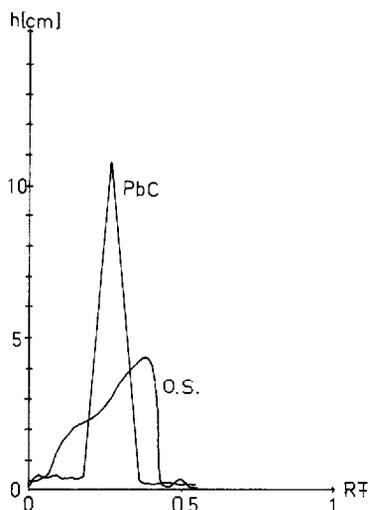
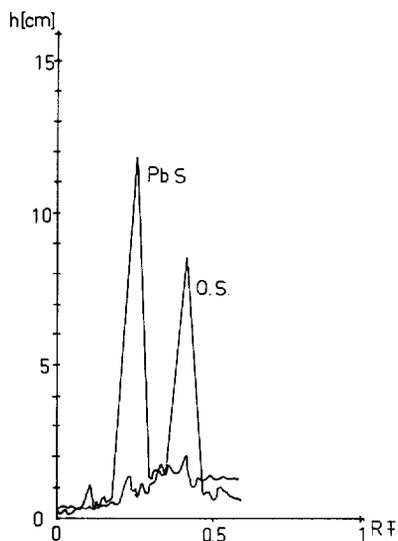


Fig. 1. Dünnschicht-Chromatographie des Bleitetramethyldithiocarbamats (PbC) nach Extraktion aus einer Waschlösung des Knaulgrases. Kieselgelfertigfolie Polygram SIL G/UV 254, Messung der Fluoreszenzminderung (254 nm), mobile Phase: Cyclohexan-Chloroform (5:7). O.S. = Chromatogramm der organischen Stoffe im Chloroform-Extrakt.

Fig. 2. Dünnschicht-Chromatographie des Bleitetramethyldithiocarbamats nach Extraktion aus einer Waschlösung des Knaulgrases und Umwandlung in PbS. Kieselgelfertigfolie Polygram SIL G/UV 254, Messung in Remission (Filter 540 nm), mobile Phase: Toluol. O.S. = Chromatogramm der organischen Stoffe im Chloroform-Extrakt, 500 ng Pb auf der Schicht.

Daher war eine Umwandlung des Bleikomplexes in eine Verbindung mit einem Absorptionsmaximum höherer Wellenlänge erforderlich. Die bereits für die qualitative Analyse beschriebene Umsetzung mit Dithizon^o zeigt auf HPTLC-Fertigplatten ohne Fluoreszenzindikator bei Remissionsmessungen unsymmetrische Signale (Filter 620 nm), die Höhen der Signale sind niedriger als die Bleisulfidsignale. Die 20-minütige Umwandlung des Bleicarbamats zu PbS in einer 6%igen Na₂S-Methanol-Wasser (3:1) Lösung erwies sich als geeigneter (Fig. 2). Die Optimierungsbereiche für die einzelnen Parameter der Umwandlung des Bleicarbamats zum PbS sind in Tabelle I zusammengefasst. In bezug auf die Basislinie wurden mit den nor-

TABELLE I

OPTIMIERUNG DER UMWANDLUNG VON BLEITETRAMETHYLENDITHIOCARBAMAT MIT Na₂S ZU PbS AUF KIESELGELSCHICHTEN

Parameter	Optimierung mit:
Organisches Lösungsmittel	Dioxan, Tetrahydrofuran, Acetonitril, Formamid, Methanol
Wassergehalt des Methanols	0-30%
Na ₂ S-Konzentration	0.5-6%
Reaktionszeit	1-60 min

TABELLE II

REAGENZIIEN ZUM NACHWEIS FUNKTIONELLER GRUPPEN UND STOFFKLASSEN IM CHLOROFORM-EXTRAKT DER WASCHLÖSUNGEN VON GRÄSERN

Detektion auf der Kieselgelschicht nach Chromatographie mit Chloroform-Hexan (5:7).

Reagenz/reagierende Stoffe	Fleckenfarbe (R_F -Wert)
α, α' -Dipyridyl, $FeCl_3$ / Phenole, reduzierende Stoffe	Rot (0.38)
Dragendorffs Reagenz/ Alkaloide u. N-haltige Verb.	Gelb (0.08 und 0.38)
Echtblau B/ Phenole, kupplungsfähige Amine	Braun (0.08)
Ninhydrin, Cadmiumacetat/ Aminosäuren, Amine	Rosaviolett (0.08)

malen Kieselgelfolien bessere Ergebnisse in der quantitativen Auswertung als mit HPTLC-Platten erhalten.

Die relative Standardabweichung der Messwerte nach dem beschriebenen Verfahren beträgt für 200 ng Blei aus reiner Lösung auf der Schicht 6.69% (Remissionsmessungen, $n = 11$). Das Verfahren ist von 100–1000 ng Blei auf der Schicht linear, niedrigere Bleimengen lassen sich nicht mehr umwandeln. Als Untersuchungsobjekte dienten Knaulgras (*Dactylis glomerata*) und Klärschlamm. Die Wiederfindung betrug beim Zusatz von 200–1500 μg Blei pro 100 ml Waschlösung vom Knaulgras durchschnittlich 77.4%. Bei höheren Bleigehalten sinkt die Wiederfindung ohne Reagenz-erhöhung weiterab. Eine Steigerung der Reagenzkonzentration 0.2 auf 0.5% in 2 ml hat nur eine geringfügige Erhöhung der Wiederfindung zur Folge. Da zu vermuten war, dass komplexierende organische Stoffe aus dem Pflanzenmaterial die Wiederfindung beeinträchtigen, wurden dünn-schicht-chromatographische Untersuchungen des Chloroformextraktes mit Hilfe verschiedener Sprühreagentien durchgeführt (siehe auch Lit. 7 und 8 und Tabelle II), die vor allem für N-haltige Verbindungen eine positive Reaktion ergaben. Durch den Zusatz von Aktivkohle zur Waschlösung

TABELLE III

WIEDERFINDUNG DES BLEIS AUS WASCHLÖSUNGEN VON KNAULGRAS NACH EXTRAKTION MIT TETRAMETHYLENDITHIOCARBAMAT

Einwaage an Knaulgras: 2 g.

Zusatz an Pb zu 100 ml Lösung	Wiederfindung in %	
	Direkt	Nach Zusatz von $Al(NO_3)_3^*$
200 μg	81.4	99.0
500 μg	79.0	98.1
1000 μg	75.3	98.6
1500 μg	74.1	101.2
2000 μg	72.7	99.5
4000 μg	56.2	79.9

* 2 g Aluminiumnitrat je 100 ml Waschlösung.

ohne Bleizusatz wurden zwischen 5.3 und 29.3% des gelösten Bleis wahrscheinlich in Form organischer Komplexverbindungen zurückgehalten. Die Wiederfindung konnte durch Zugabe von 2 g Aluminiumnitrat auf 100 ml Lösung (vom Knaulgras) bei der Zugabe von 200 μg Blei reproduzierbar auf nahezu 100% gesteigert werden (Tabelle III). Auch dieses Ergebnis weist auf eine Komplexierung des Bleis durch organische Stoffe in der Waschlösung hin. Durch den Zusatz von Aluminiumionen wird das Blei aus diesen Komplexen freigesetzt. Andere Metallionen (wie Ca^{2+} , Mg^{2+} , Ba^{2+}) zeigen diese Eigenschaft nur in geringem Umfang.

Auf die Elutionslösungen einer Schlammprobe (EDTA- bzw. Weinsäure-Lösungen) liess sich das beschriebene Verfahren in dieser Form ebenfalls ohne Störungen anwenden. Die Richtigkeit der mit dem Dünnschicht-Verfahren auf Gräser gefundenen Bleimengen wurde durch Bestimmungen mit der flammenlosen Atomabsorptions Spektrometrie (AAS)⁹ überprüft (Tabelle IV). Das vorgestellte Verfahren ist z.B. für biologische und pharmazeutische Laboratorien besonders geeignet, die nur vereinzelt Bleibestimmungen durchzuführen haben und aufgrund ihrer sonstigen überwiegend organisch-analytischen Aufgaben über Erfahrungen und die apparative Ausstattung in der Dünnschicht-Chromatographie verfügen. Die in den Pflanzenmaterialien möglicherweise vorhandenen anderen Schwermetalle wie Cu, Hg, Tl, Fe und Bi werden durch die Dünnschicht-Chromatographie abgetrennt² und stören somit die Bestimmung des Bleis nicht.

TABELLE IV

QUANTITATIVE ERGEBNISSE DER DÜNNSCHICHT-CHROMATOGRAPHISCHEN BLEIBESTIMMUNGEN (DC) IN WASCHLÖSUNGEN VON KNAULGRAS* IM VERGLEICH ZUR FLAMMENLOSEN AAS-ANALYSE⁹

Für die Eichgerade für 100–1000 ng Pb auf der Schicht aus synthetischen Lösungen gilt: $r = 0.99907$, $m = 0.022115$, $y_0 = -0.03333$. r = Korrelationskoeffizient der Regressionsgraden; m = Steigung der Regressionsgraden.

Proben-Nr.	Waschlösung		Filtrat durch Aktivkohle		Pb an Aktivkohle (DC-Bestimmung) (%)
	DC ($\mu\text{g/g}$)	AAS ($\mu\text{g/g}$)	DC ($\mu\text{g/g}$)	AAS ($\mu\text{g/g}$)	
1	5.5	5.3	5.3	5.4	5.3
2	5.0	4.9	4.4	3.9	12.4
3	6.7	6.3	5.5	5.8	11.3
4	8.2	8.4	7.6	8.1	7.0
5	6.4	6.6	6.4	5.9	—
6	7.0	6.7	6.4	5.9	8.2
7	8.8	8.0	8.8	8.0	—
8	4.1	3.4	2.9	2.8	29.3
9	5.8	5.9	6.1	5.0	—
10	9.6	9.1	7.6	7.5	21.3
	$r = 0.97876$				
	$m = 0.96998$				
	$r = 0.95736$				
	$m = 0.96360$				
	(x = DC, y = AAS)				

* Mit Wasser abwaschbare Bleimengen auf Blätter im Fahrbahnabstand von 1 m an Autostrassen.

DANK

Die Arbeiten wurden durch eine Sachbeihilfe des Fonds der Chemischen Industrie gefördert. Die AAS-Messungen wurden durch die Unterstützung von Herrn Dr. H. Heinrichs im Geochemischen Institut der Universität Göttingen ermöglicht.

LITERATUR

- 1 G. Schwedt, *Curr. Chem.*, 85 (1979) 160.
- 2 G. Schwedt, *Chromatographia*, 12 (1979) 289.
- 3 C. W. McLeod, A. Otsuki, K. Okamoto, H. Harauchi und K. Fuwa, *Analyst (London)*, 106 (1981) 419.
- 4 A. I. Busev, V. M. Byr'rko, V. P. Terenshchenko, N. N. Novilkova, V. P. Naidina und P. B. Terentev, *J. Anal. Chem. USSR*, 25 (1970) 574.
- 5 R. R. Scharfe, V. S. Sastri und C. L. Chakrabarti, *Anal. Chem.*, 45 (1973) 413.
- 6 G. Schwedt und Ch. Lippmann, *Dtsch. Lebensm. Rundsch.*, 70 (1974) 204.
- 7 G. Jahns, *Diplomarbeit*, Göttingen, 1983.
- 8 G. Weber und G. Schwedt, *Anal. Chim. Acta*, 134 (1982) 81.
- 9 H. Heinrichs, *Fresenius Z. Anal. Chem.*, 295 (1979) 355.
- 10 N. Turina, *J. Chromatogr.*, 93 (1974) 211.