Papierchromatographischer Nachweis und approximative Bestimmung von Metallspuren in Lebensmittelfarbstoffen

Autor(en): **Sulser, H.**

Objekttyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène**

Band (Jahr): **57 (1966)**

Heft 1

PDF erstellt am: **24.05.2024**

Persistenter Link: https://doi.org/10.5169/seals-983110

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.
Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.
Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Ein Dienst der *ETH-Bibliothek*
ETH Zürich, Rämistrasse 101, 8092 Zürich, Schweiz, www.library.ethz.ch

http://www.e-periodica.ch

Papierchromatographischer Nachweis und approximative Bestimmung von Metallspuren in Lebensmittelfarbstoffen

H. Sulser
Laboratorium des Eidg. Gesundheitsamtes, Bern

Einleitung

Die Schweiz ist eines der Länder, in welchem schon vor vielen Jahren (1926) das Prinzip der sog. «positiven Listen» für Beimischungen fremder Stoffe zu Lebensmitteln eingeführt wurde.

In der Eidg. Lebensmittelverordnung vom 26. Februar 1926 wurde entsprechend bereits auch eine Liste der zur Färbung von Lebensmitteln zulässigen Farbstoffe, die damals gültig war — und dies bis 1957 blieb — aufgestellt. Sie umfaßte 29 sog. «künstliche» organische Farbstoffe, neben weiteren Farbstoffen anorganischer Art und einigen Farbdrogen, d. h. mehr oder weniger konzentrierten Extrakten aus (meist) pflanzlichen Produkten.

Im Jahre 1957 wurde die erwähnte Farbstoffliste vollständig revidiert und wesentlich verändert. Vor allem wurde die Zahl der künstlichen organischen Farbstoffe, die zur direkten Färbung von Lebensmitteln in der Masse oder äußerlich Verwendung finden durfte, stark reduziert, wobei den in der Zwischenzeit erfolgten zahlreichen und sehr eingehenden Untersuchungen auf chronische Toxizität Rechnung getragen wurde (*Hecht* 1957, Eurotox 1954; s. später auch Eurotox 59, FAO 1963, FAO/WHO 1956—64).

Die in der heute geltenden Lebensmittelverordnung aufgeführte Liste «künstlicher» Farbstoffe zur Lebensmittelfärbung umfaßt lediglich 12 Substanzen.

Bereits in der Verordnung vom 26. Februar 1926 wird darauf hingewiesen, daß alle Farbstoffe «genügende Reinheit» aufzuweisen hätten, wenn sie zur Färbung von Lebensmitteln Verwendung finden sollten.

Auch der zur Zeit gültige Text ist ähnlich formuliert. Die Reinheitsanforderungen selber sind in der Verordnung nur für die anorganischen Farbstoffe detailliert (aber nicht zahlenmäßig begrenzt) aufgeführt. Im Schweizerischen Lebensmittelbuch (4. Auflage 1937), d. h. in der zugehörigen offiziellen Sammlung von Untersuchungsmethoden und Beurteilungsgrundsätzen für Lebensmittel finden sich die Nachweismethoden nebst einigen Grenzwerten. Diese Bestimmungen sind vom Standpunkt des Analytikers gesehen und in der entsprechenden Form gegeben. Eine Präzisierung war notwendig. Im neuen Lebensmittelbuch (5. Auflage, spezieller Teil) werden auch die analytischen Methoden und die Beurteilungsgrundsätze über Farbstoffe für Lebensmittel Aufnahme finden. Es stellte sich damit die Aufgabe, Methoden zu suchen und in das Buch aufzunehmen, die

1. die Identifizierung der Farbstoffe selber ermöglichten,
2. die Beurteilung der Reinheit gestatten würden.

In der heute gültigen Lebensmittelverordnung werden, wie oben erwähnt, bei den anorganischen Farbstoffen nachfolgende Elemente als verboten aufgeführt: Antimon, Arsen, Barium, Blei, Chrom, Cadmium, Kupfer, Quecksilber, Selen, Uran, Zink, sowie radioaktive Elemente und Blausäureverbindungen.

Beim Abschnitt über die organischen künstlichen Farbstoffe findet sich nur der Satz: Die in diesem Artikel aufgeführten Farben müssen, nach den Methoden des Schweizerischen Lebensmittelbuches, den dort aufgestellten Forderungen inbezug auf Reinheit und Freiheit von schädlichen Bestandteilen genügen.

In der nachfolgenden Arbeit wird nun versucht, einen Beitrag zur Reinheitsprüfung zu leisten.

Die anfangs erwähnten und weitere Organisationen haben sich mit diesem Problem eingehend befaßt. So sind im Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften (1962) die Reinheitsanforderungen für färbende Stoffe, die in den Lebensmitteln verwendet werden dürfen, allgemein und für jeden einzelnen Farbstoff zusammengestellt.

Danach müssen die färbenden Stoffe folgenden Reinheitskriterien inbezug auf anorganische Verunreinigungen entsprechen:

a) sie dürfen nicht mehr als 5 mg/kg (= 5 µg/g = 5 ppm) Arsen und 20 mg/kg Blei enthalten,
b) sie dürfen nicht mehr als 100 mg/kg folgender Stoffe einzeln, oder 200 mg/kg zusammen enthalten: Antimon, Kupfer, Chrom, Zink, Bariumsulfat,
c) sie dürfen weder Cadmium, noch Quecksilber, noch Selen, noch Tellur, noch Thallium, noch Uran, noch Chromate, noch lösliche Bariumverbindungen in nachweisbaren Mengen enthalten.

Um diese Vorschriften praktisch zu kontrollieren, benötigt man also empfindliche Methoden, es handelt sich um eine Spurenanalyse. Außerdem sollten die Methoden nicht zu kompliziert und zeitraubend und überall anwendbar sein.

Für die Anreicherung von Spurenelementen haben sich u. a. gewisse Extraktionsverfahren (z. B. mit Dithizon) bewährt. Durch Auswahl geeigneter Versuchsbedingungen läßt sich zwar eine hohe Spezifität erreichen; diese Methoden sind aber wenig geeignet, in einem Arbeitsgang gleichzeitig mehrere Bestandteile zu erfassen.

Dagegen läßt sich entsprechend dem üblichen qualitativen Analysengang eine große Anzahl Elemente auf Grund der Schwerlöslichkeit ihrer Sulfide, Hydroxyde und Oxalate aus einer Lösung abscheiden. Die Löslichkeit liegt für die meisten dieser Niederschläge unter 10^{-5} Mol/Liter, so daß auch noch die in der Spurenanalyse interessierenden Konzentrationsbereiche erfaßt werden können (*Ackermann* 1960).

Für den eigentlichen Nachweis schieden Makromethoden ebenfalls aus. Im Hinblick auf die Trennmöglichkeiten und den geringen Substanzbedarf kamen vor allem chromatographische Verfahren in Frage. In dieser Hinsicht hat sich auf dem anorganischen Gebiet die Papierchromatographie schon seit längerer

Zeit bewährt; es steht auch eine größere Literatur zur Verfügung (*Cramer* 1958; *Hais-Macek* 1958; *Merck AG.*).

Es ergab sich also folgendes Vorgehen:

1. Mineralisation des Farbstoffes;
2. Vortrennung der Kationen in Gruppen (Sulfide, Hydroxyde, Oxalate);
3. Papierchromatographische Trennung und Nachweis beziehungsweise approximative Bestimmung.

Praktischer Teil

1. Mineralisation

Im Hinblick auf den Nachweis der Spuren müssen Verluste durch Verflüchtigung im Verlauf der Mineralisation möglichst weitgehend ausgeschaltet werden. Die Mineralisation soll vollständig verlaufen, keinen zu großen Säureüberschuß benötigen und das Material soll sich nachher ohne Schwierigkeit in Lösung bringen lassen.

Die trockene Veraschung in einer flachen Schale bringt wegen der hohen Temperatur eine erhöhte Gefahr der Verflüchtigung mit sich. Diese wird noch dadurch gesteigert, daß die entstehende Kohle reduzierend wirken und gewisse Elemente wie zum Beispiel Arsen und Antimon von der fünfwertigen in die dreiwertige Stufe überführen kann. In dieser Form (Arsentrioxyd zum Beispiel sublimiert bei 193 ° C) sind die Verluste noch größer. Verkohlung und Reduktion können auch bei der Mineralisation mit Schwefelsäure eintreten.

Wir verwenden daher zum Mineralisieren die sofort stark oxydierend wirkende rauchende Salpetersäure und Perchlorsäure. Diese Säuren haben den weitern Vorteil, daß die Nitrate sämtlicher Elemente in Wasser leicht löslich sind und es auch nur ganz wenige schwerer lösliche Perchlorate gibt (Kalium- und Thallium(I)-salz).

Um jede Verluste durch Verflüchtigung auszuschalten, bedienten wir uns anfänglich des Rückflußkühlers. Die Versuche waren aber unbefriedigend, indem keine vollständige Mineralisation erreicht werden konnte. Der Rückflußkühler hält nicht nur die Perchlorsäure und rauchende Salpetersäure, sondern auch die Verbrennungsprodukte, soweit sie nicht gasförmig sind, zurück. Dies hat zur Folge, daß das Verbrennungsvermögen der Perchlorsäure vermindert wird und dann nicht mehr zur restlosen Zerstörung der teilweise ziemlich schwer mineralisierbaren Farbstoffe ausreicht.

Viele Methoden schreiben daher beträchtliche Säureüberschüsse vor, um diesen Verdünnungseffekt zu kompensieren. Besonders für unsere Zwecke eignet sich dieses Vorgehen aber im Hinblick auf den späteren Analysengang nicht, der die Beseitigung dieser Säuren verlangt. Dies kann durch Neutralisieren geschehen, wobei aber viel zu große Salzmengen entstehen, oder durch Abrauchen, was sehr zeitraubend ist und wieder Verluste mit sich bringt. Destilliert man den Säure-

überschuß ab (Apparat nach *Pien),* so gelangt ein Teil der gesuchten Substanzen ins Destillat und es wird sich das Problem der weitern Abtrennung stellen.

Wir nehmen die Zerstörung der organischen Substanz so vor, daß der Farbstoff zuerst in 10 ml rauchender Salpetersäure (KP 86 ° C) gelöst und diese Lösung dann in 5 ml siedende Perchlorsäure (KP 203 ° C) eingetropft wird. Wendet man dabei einen gewöhnlichen Rückflußkühler an, so haben die im System verbleibende rauchende Salpetersäure und die Verbrennungsprodukte eine Herabsetzung des Siedepunktes der Perchlorsäure und damit ihres Oxydationsvermögens zur Folge, wodurch, wie oben erwähnt, eine vollständige Mineralisation in Frage gestellt ist. Sorgt man aber dafür, daß die rauchende Salpetersäure sukzessive entweichen kann, so bleibt das ganze Oxydationsvermögen der Perchlorsäure erhalten. Versuche ergaben, daß nach zwei- bis dreistündigem Kochen einer bestimmten Menge Farbstoff mit obigem Säuregemisch am Rückflußkühler der Kolbeninhalt immer noch deutlich gefärbt, das heißt unvollständig mineralisiert war. Ohne Rückflußkühler und sonst gleichen Bedingungen stellte man dagegen schon nach einer Stunde vollständige Aufhellung des Kolbeninhaltes fest. Anderseits können dabei wieder Verluste eintreten, weil die Temperatur des ganzen Kolbens bis zum Siedepunkt der Perchlorsäure, also 203 ° C, ansteigt.

Daher wählten wir einen mittleren Weg, der darin bestand, den Rückflußkühler zwar im Prinzip beizubehalten, jedoch nicht bei der Temperatur des Leitungswassers, sondern etwa bei 60 bis 70 ° C. Dadurch werden die Perchlorsäure und Stoffe von ähnlichem Siede- beziehungsweise Sublimationspunkt (Metallspuren) zwar zurückgehalten, anderseits vermögen doch rauchende Salpetersäure und Verbrennungsprodukte ständig zu entweichen.

Zu diesem Zweck bringt man am oberen Ende des Verbrennungskolbens einen Mantel an, durch den man Wasser leitet, das thermostatisch auf einer Temperatur von 60 bis 70 ° C gehalten wird (Abbildung 1). Die birnenförmige Erweiterung des Kolbens faßt etwa 10 ml.

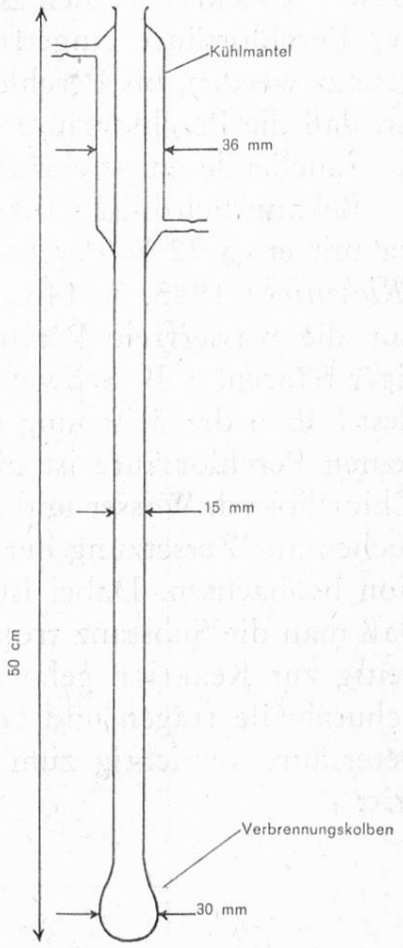


Abbildung 1

Verbrennungskolben für die Mineralisation mit Kühlmantel

Auch mit dieser Anordnung ließen sich angesichts der geringen Mengen Verluste nicht ganz vermeiden, wie Zusatzversuche ergaben (Tabelle 6, S. 86). Wie daraus hervorgeht betreffen diese Verluste vor allem Selen, Quecksilber, Antimon und Arsen. Es besteht allerdings die Möglichkeit, die Resultate noch etwas zu verbessern, indem die Temperatur des Wassermantels weiter herabgesetzt wird,

ohne allerdings in den Bereich zu gelangen, wo schon merkliche Kondensation von rauchender Salpetersäure eintritt.

Die geschilderte Arbeitsweise geht im Prinzip auf *Monk* (1962) zurück, welcher ein Verfahren «zur vollständigen und kontrollierten Oxydation organischer Substanzen mit Perchlorsäure» entwickelt hat, anwendbar auf alle Verbindungen, welche in rauchender Salpetersäure gelöst oder suspendiert werden können. Bei unbekannten Proben empfiehlt er einen Vorversuch mit kleinen Mengen. Er löst Zellulose in rauchender Salpetersäure durch vorsichtiges Erwärmen auf 90 ° C. Von dieser Lösung werden kleine Portionen tropfenweise aus einer Pipette zu siedender Perchlorsäure (ca. 72 %) in einem teilweise bedeckten Becherglas gegeben. Weitere Portionen setzt man jeweils erst wieder zu, wenn die Chlordämpfe ersetzt worden sind durch die weißen der Perchlorsäure. Ebenfalls wenn nitrose Gase entwickelt werden ist dies ein Zeichen, daß eine unerwünschte Verdünnung der Perchlorsäure eingetreten ist. Die Probenlösung darf nicht eher weiter zugesetzt werden, bis Perchlorsäuredämpfe wieder stark entwickelt werden. Wichtig ist, daß die Perchlorsäure siedet, bevor man mit der Mineralisation beginnt, damit die rauchende Salpetersäure sofort entfernt wird.

Bekanntlich bildet sich bei 203 ° C ein konstant siedendes Gemisch von Wasser mit etwa 72 % Perchlorsäure. Diese wässerige Perchlorsäure ist recht haltbar (*Riesenfeld* 1943, S. 146). Unter Umständen explosionsartig zersetzen kann sich nur die wasserfreie Perchlorsäure, welche man durch Einwirkung schwerflüchtiger Säuren, z. B. Schwefelsäure, auf ein Perchlorat, z. B. Kaliumperchlorat, und destillieren der Mischung unter vermindertem Druck, erhält. Der Siedepunkt der reinen Perchlorsäure ist nicht bekannt, da sie bei Temperaturen über 100 ° C in Chlordioxyd, Wasser und Sauerstoff zerfällt (*Riesenfeld* S. 145). Bei unseren Versuchen zur Zersetzung der Farbstoffe konnten wir nie eine explosionsartige Reaktion beobachten. Dabei ist es gerade in dieser Hinsicht von besonderem Vorteil, daß man die Substanz tropfenweise zugibt, so daß nur sehr wenig Material gleichzeitig zur Reaktion gelangt und sofort abgebaut wird. Immerhin wird man eine Schutzbrille tragen und besonders am Anfang beim Auflösen die rauchende Salpetersäure versichtig zum Farbstoff zugeben, da oft eine lebhafte Reaktion eintritt.

2. Chemische Vortrennung

Nach der Mineralisation liegt ein Gemisch vor, das neben Perchlorsäure meistens einen beträchtlichen Salzüberschuß gegenüber den gesuchten Spuren enthält. Befinden sich zum Beispiel in 1 g Farbstoffpräparat 40 % Natriumchlorid-Natriumsulfat, wie es häufig vorkommt, so bedeutet dies in bezug auf 5 µg Arsen einen 80 000fachen Salzüberschuß. Eine solche Mischung würde unbrauchbare Chromatogramme ergeben.

Man bedient sich daher der schon erwähnten Anreicherung und Vortrennung der Kationen in Gruppen. Dazu zentrifugiert man vorerst eventuell vorhandene unlösliche Teile (Bariumsulfat, Bleisulfat, Chromoxyd) ab. Dann fällt man die

II. Gruppe bei pH 2,4 mit Schwefelwasserstoff, trennt den Niederschlag ab und löst ihn zur anschließenden papierchromatographischen Analyse (siehe nächster Abschnitt) in 200 µl Königswasser. Das ammoniakalisch gemachte Filtrat fällt man bei pH 8—8,5 mit Ammoniumsulfid. Diese Gruppe löst man in 200 µl Salpetersäure 1+1. Schließlich scheidet man die in Lösung gebliebenen Erdalkalien mit Ammoniumoxalat bei pH 5,5—6 ab und löst zur Papierchromatographie ebenfalls in 200 µl Salpetersäure 1+1. Die Salzsäuregruppe fällt weg, die betreffenden Metalle (Quecksilber, Blei, Thallium) verteilen sich auf die II. und III. Gruppe.

Es ergibt sich also folgende Gruppeneinteilung:

Tabelle 1 Gruppeneinteilung

Gruppe	Element
Unlösliches (Sulfate, Oxyde)	Pb Ba Cr
II (Schwefelwasserstoffgruppe)	Cu Pb Cd Hg As Sb Se (Te)
III (Ammoniumsulfidgruppe)	Fe* Zn Tl U Cr
IV (Oxalatgruppe)	Ca* Sr Ba

* nicht toxisch

In der Literatur ist meistens diese Gruppierung zu finden (*Pfeil* 1957, *Hais-Macek* 1958, *Cramer* 1958, *Lederer* 1957). Dagegen fällt *Blasius* (1958) 10 Gruppen, um möglichst kleine Fraktionen zu erhalten (je 4—5 Elemente), wobei zwi-

schen Salzsäure und Schwefelwasserstoffgruppe eine Reduktionsgruppe eingeschoben wird (Se, Te u. a.).

Wir nehmen ebenfalls vorgängig der Schwefelwasserstoffällung eine Reduktion mit schwefliger Säure vor, denn im Verlauf der Mineralisation werden die Ionen vollständig in die höchste Wertigkeitsstufe übergeführt. So liegt zum Beispiel Selen als Selensäure, Tellur als Tellursäure, Arsen als Arsensäure vor. In dieser Form lassen sich aber einige Ionen mit Schwefelwasserstoff in saurer Lösung nicht mehr fällen. Dazu gehören Selensäure und Arsensäure, während beispielsweise Tellursäure mit Schwefelwasserstoff aus sauren Lösungen zu Tellur und Schwefel reduziert wird (*W. D. Treadwell* 1932, S. 89). Ohne vorherige Reduktion würden diese Ionen daher in der II. Gruppe nicht oder nur teilweise erfaßt und in die Ammonsulfidgruppe gelangen und dort von eventuell vorhandenen Ionen gefällt. Will man also einer Arsensäurelösung das Arsen rasch mit Schwefelwasserstoff bei Gegenwart von wenig Säure niederschlagen, so reduziert man die Arsensäure zuerst durch Kochen mit schwefliger Säure und leitet, nach verjagen des überschüssigen Schwefeldioxyds durch Kochen, Schwefelwasserstoff ein, wobei sofort die Fällung des Arsen(III)-sulfides entsteht (siehe *F. P. Treadwell* 1935, S. 231).

Eigene Zusatzversuche ergaben ein angesichts der kleinen Mengen ausreichend gutes Wiederfinden (siehe Abschnitt 5, Tabelle 6, S. 86). Bei Selen sind die Verluste am größten. Neben der Flüchtigkeit dieses Elementes wirkt sich ungünstig aus, daß die Reduktion mit schwefliger Säure eine sehr feine Verteilung (teilweise kolloid) des metallischen Selens bewirkt (*Riesenfeld* 1943, S. 206). Durch Zusatz eines Trägers läßt sich die Ausbeute verbessern (siehe Abschnitt 5, S. 85).

Das geeignete pH stellt man durch Einleiten von Ammoniakgas ein, mit Kontrolle durch ein elektrisches pH-Meter mit Glaselektrode. Um jede Verunreinigung zu vermeiden, gewinnt man das Ammoniak durch schwaches Erwärmen von konzentrierter Ammoniaklösung.

Zur Verringerung der Geruchsbelästigung durch Schwefelwasserstoff verwenden wir die «OXYPHEN H_2S-Gastabletten»*. Das Gas ist genügend rein und eine Tablette reicht für mehrere Fällungen, da die Flüssigkeitsmengen jeweils nur 30—40 ml betragen. Daneben kommt auch Thioacetamid in Frage, das man pulverförmig zugibt und die Lösung etwa 5 Minuten nahe beim Siedepunkt hält. Besonders bei der Spurenanalyse muß man aber für einen genügenden Überschuß sorgen, weil die Fällung sonst unvollständig wird (siehe S. 86).

Die Fällungen werden in Zentrifugengläsern von etwa 50 ml mit spitzem Boden ausgeführt. Nach der Fällung läßt man mehrere Stunden, am besten über Nacht, verschlossen stehen. Beim Zentrifugieren sammeln sich dann die oft sehr geringen Niederschläge in der Spitze und werden dort für die Chromatographie in wenig Säure (in der Regel 200 µl) gelöst. Ein Auswaschen der Niederschläge erübrigt sich meistens, da man ohnehin chromatographiert. Außerdem vermeidet man dadurch eventuelle Verluste. So wurde in der Ammonsulfidgruppe bei An-

* Firma L. Schleiffer, Feldmeilen ZH.

wesenheit von viel Eisen beobachtet, daß nach Zugabe von ein wenig ammonsulfidhaltigem Waschwasser das Filtrat trüb durchlief.

Da nach dem Zentrifugieren durch bloßes Abgießen der überstehenden Lösung Verluste durch Mitreißen von Teilchen entstehen können, saugt man die überstehende Lösung mit Hilfe eines Asbestfilterstäbchens ab (siehe Abbildung 2). Das Asbestfilterstäbchen (siehe Abbildung 3) kann man sich durch Ausziehen einer dünnen Glasröhre selbst herstellen. Es ist 6—7 cm lang. Das dickere Ende mißt etwa 2 mm innern Durchmesser, der Schaft etwas mehr als 1 mm (innen). Im dickern Ende befindet sich eine Füllung aus Glaswolle. Ein etwa 2 cm langer Platindraht, der am einen Ende plattgedrückt, beziehungsweise umgebogen wird, verhindert ein Abrutschen dieser Glaswolle in den Schaft beim Filtrieren. Auf die Glaswolle bringt man eine dünne Schicht Asbest (für Goochtiegel), von deren Dicke die Filtriergeschwindigkeit abhängt. Man erhält sie durch kurzes Eintauchen des mit der Glaswolle versehenen Stäbchens in eine wäßrige Aufschlämmung von Goochtiegelasbest, während man mit der Wasserstrahlpumpe schwach saugt.

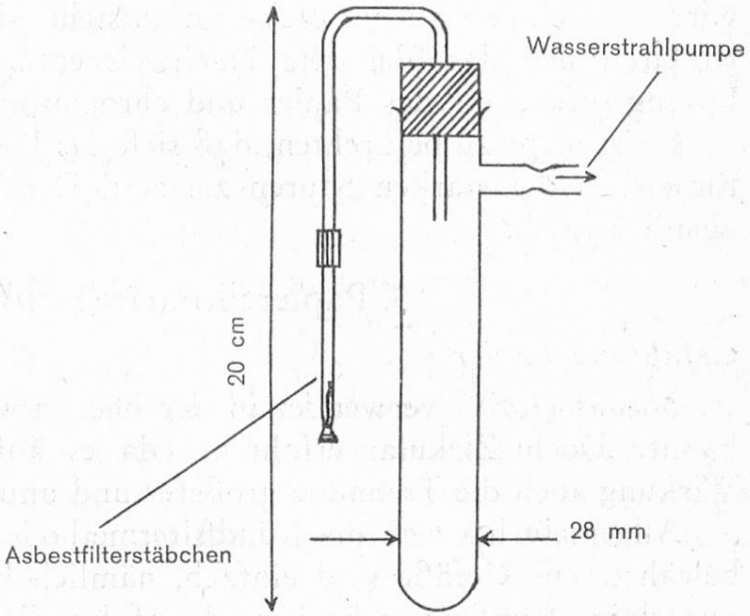


Abbildung 2 Absaugvorrichtung mit Asbestfilterstäbchen

Abbildung 3 Asbestfilterstäbchen

Nach Zugabe der 200 µl Säure ins Zentrifugenglas zum Auflösen der Niederschläge muß auch das Filterstäbchen damit gespült werden. Zu diesem Zweck befestigt man es mit einem kurzen Schlauchstück an der Spitze einer 5 ml Vollpipette, die mit einem Gummiballon verschlossen ist. Mit dem Gummiballon bewirkt man eine Auf- und Abwärtsbewegung der Säure im Filterstäbchen. In der Regel befinden sich jedoch nur geringe Mengen Niederschlag auf dem Asbest-

filter, da es nicht zum filtrieren der Hauptmasse, sondern nur zum Zurückhalten einzelner Partikel dient.
Da sich Quecksilbersulfid nur in Königswasser löst, verwendet man diese Säure zum Auflösen der Schwefelwasserstoffgruppe. Das Bleisulfid löst sich auch ohne weiteres in Königswasser unter Bildung von Bleinitrat und Abscheidung von Schwefel. Beim Aufbewahren dieser Lösung kann aber die Oxydation nach und nach weitergehen, wobei ein Teil des Schwefels in Schwefelsäure übergeführt wird und schwerlösliches Bleisulfat entsteht (siehe *W. D. Treadwell* 1935, S. 206), wodurch sich das Blei dem Nachweis entziehen kann. Daher bringt man die Lösung sofort auf das Papier und chromatographiert (siehe nächster Abschnitt).

Es ist nicht zu befürchten, daß sich das Papier an der Auftragungsstelle durch Einwirken der starken Säuren zersetzt. Der Warmluftstrom (Föhn) entfernt sie ziemlich rasch.

3. Papierchromatographische Analyse

Gefäß und Papier

Blasius (1958) verwendet in der oben erwähnten Arbeit (siehe S. 8) das bekannte Docht-Zirkularverfahren, «da es auf Grund seiner zweidimensionalen Wirkung auch die Trennung größerer und unterschiedlicher Mengen gestattet».

Allgemein hat sich die Rundfiltermethode auf dem anorganischen Gebiet gut bewährt. Die Gefäße sind einfach, nämlich handelsübliche Rundschalen. Da sie nur einige Centimeter hoch sind, erfolgt die Sättigung rasch und gleichmäßig, das Papier muß nicht vorkonditioniert werden. Weil die Substanzen ringförmig auseinandergezogen werden, kann man das gleiche Chromatogramm mit verschiedenen Reagenzien anfärben, indem man einzelne Sektoren herausschneidet oder abdeckt. Mit zunehmender Entfernung vom Startpunkt werden die Bogen nicht verbreitert, sondern infolge des Verdünnungseffektes schmäler. Der Platzbedarf der Substanzen ist geringer, sodaß man mit kleineren Papieren auskommt.

Bei dem erwähnten Docht-Zirkularverfahren besteht allerdings die Gefahr, daß das Fließmittel zu schnell fließt und nicht gut dosiert werden kann, was die Trennschärfe beeinträchtigt. Auch die Art des Auftragens auf einem kleinen Kreis um den Mittelpunkt hat gewisse Nachteile, indem die vorrückende Fließmittelfront sehr ungleichmäßig mit der Substanz in Berührung kommt. Der Fleck wird mehr oder weniger vom Fließmittel umfahren, weil die Partien an den Rändern schneller vorrücken als diejenigen, welche in der Mitte einen Weg bahnen müssen. Dies führt zu einer ungleichmäßigen Konzentrationsverteilung innerhalb der Kreisbogen, oft auch zu Streifenbildung.

Daher benutzt *Matthias* (1954) zum Auftragen einen konischen Papierstreifen, der in eine schmale Brücke übergeht (Keilstreifen). Damit erreicht er eine Herabsetzung der Fließgeschwindigkeit, ferner daß die Substanz gleichmäßig vom Fließmittel erfaßt wird und schließlich eine Homogenisierung beim Durchlaufen der schmalen Brücke. Nachteilig ist, daß mit zunehmender Entfernung vom Auftragungspunkt eine mehr oder weniger starke Verbreiterung der Bänder eintritt, weil die Entwicklung auf einem etwa 4 cm schmalen Papierstreifen vor sich geht

und nicht nach Art des Rundfilters. Auch kann man nicht zwei Proben auf dem gleichen Streifen auftragen und nebeneinander entwickeln.

Wir haben daher vom Keilstreifen nur den sich verengenden Teil zum Auftragen übernommen, behalten aber die Entwicklung nach Art des Rundfilters bei. Außerdem ermöglicht eine etwa 2 mm breite und 30 mm lange Aussparung, zwei Proben ohne vermischen direkt nebeneinander aufzutragen und chromatographisch zu vergleichen (Doppelsektorfilter). Der Ausbreitungswinkel beträgt im ganzen 280 °, für eine Probe also 140 ° (siehe Abbildung 4 und 5).

Sind zwei Komponenten auf beiden Seiten identisch, so stoßen die betreffenden Bogenenden in der Mitte auf *genau gleicher Höhe* aneinander, unabhängig davon, wie groß die Mengen sind. So wurden in Abbildung 4 0,5 µg und 10 µg Eisen (Rf 0,81) aufgetragen (Mengenverhältnis 1 : 20), ferner 1 µg und 10 µg Uran (Rf 0,47).Dadurch wird der Vergleich zweier Proben, einmal in qualitativer Hinsicht, ob es sich um gleiche oder verschiedene Bestandteile handelt, sowie auch quantitativ, wie sich die Intensität der Bänder zueinander verhalten, erleichtert. Denn bei runden Flecken kann man oft infolge Ungleichmäßigkeit des Papiers oder unterschiedlicher Substanzmengen auch bei benachtbarten Proben eine mehr oder weniger starke Streuung im Rf-Wert feststellen, obschon es sich um chemisch gleiche Stoffe handelt. Dadurch entsteht oft eine gewicse Unsicherheit. Geringe Unterschiede in der Lage lassen sich naturgemäß bei schmalen Bändern auch besser feststellen als bei runden Flecken.

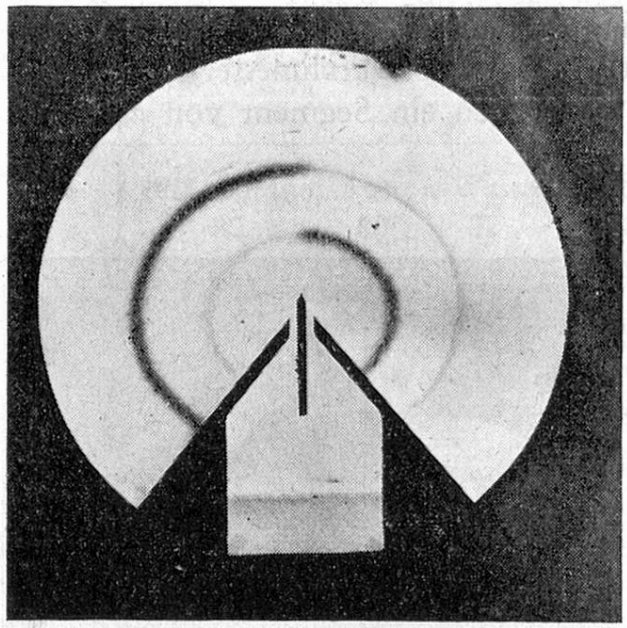


Abbildung 4 Trennung verschiedener Mengen Eisen und Uran auf einem Doppelsektorfilter. Fließmittel Nr. 3. Anfärben mit Kaliumhexacyanoferrat(II)
Links: 1 µg Uran ,10 µg Eisen;
Rechts: 10 µg Uran, 0,5 µg Eisen

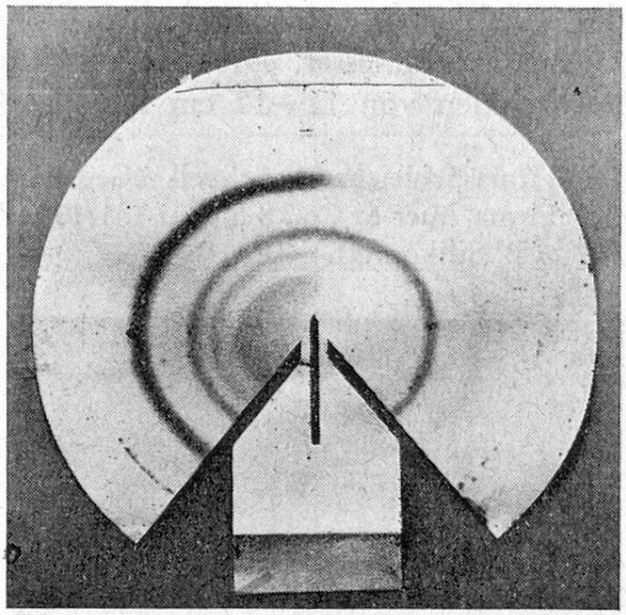


Abbildung 5 Trennung von Eisen, Zink, Uran und Chrom auf einem Doppelsektorfilter. Fließmittel Nr. 3. Anfärben mit Diphenylcarbazid-Ammoniak
Links: 10 µg Chrom, 10 µg Uran, 2 µg Zink, 10 µg Eisen;
Rechts: 2 µg Zink

Die Doppelsektorfilter sind in zwei verschiedenen Größen erhältlich, nämlich mit 13,6 cm und 28 cm Durchmesser*. In der vorliegenden Arbeit benutzen wir fast ausschließlich die kleinen Doppelsektorfilter, weil das Trennvermögen meistens ausreicht. Auch können im gleichen Gefäß 3mal mehr Chromatogramme entwickelt werden, ferner sind die kleinen Doppelsektorfilter leichter zu handhaben. Als Papiersorte eignet sich für das anorganische Gebiet besonders Nr. 2043b ausgewaschen von Schleicher & Schuell.

Obschon diese Papiere säuregewaschen geliefert werden, kann es für gewisse Färbungen (Abbildung 5) vorteilhaft sein, die Doppelsektorfilter vor Gebrauch nochmals einer Reinigung zu unterziehen, wodurch der Papieruntergrund aufgehellt und von gewissen punktförmigen Verunreinigungen befreit werden kann. Dazu legt man je 3 Doppelsektorfilter in eine Waschflüssigkeit, bestehend aus 100 ml Salzsäure (1 : 1) und 50 ml Aceton, welche sich in einer großen Petrischale (Durchmesser 16—17 cm) befindet. Man läßt 45 Minuten stehen, wobei die Schale gelegentlich kreisförmig bewegt wird. Dann spült man mit etwa 1 Liter destilliertem Wasser bis zur neutralen Reaktion und läßt die Papiere an einem Glasstab in staubfreier Luft trocknen.

Als Kammer für die Entwicklung verwendet man große Rundschalen** (Abbildungen 6 und 7), deren innerer Durchmesser mindestens 29 cm betragen soll und die etwa 4 cm hoch sind. Als Deckel dient eine gleiche Schale. Sie wird mit einem Gewicht beschwert. Der Schalenrand (etwa 5 mm breit) muß plangeschliffen und vollständig dicht sein, außerdem wird ein geeignetes Fett*** aufgetragen. Die in die Rundschale passende dreieckförmige Einsatzplatte gemäß Abbildung 6 von 3 mm Dicke wird durch 3 Glasringe (Durchmesser etwa 23 mm, Höhe 10 mm) etwas vom Boden abgehoben. Zur Dampfsättigung gießt man 30—40 ml des Fließmittels beziehungsweise der stationären Phase in die Rundschale von 29 cm Durchmesser. Die Doppelsektorfilter (13,6 cm Durchmesser) liegen auf Petrischalen von 11—12 cm Durchmesser, bei denen ein Segment von ca. 8 cm

* Firma Schleicher & Schuell AG, Feldmeilen ZH.
** Firma Auer & Co., Sihlquai 131/133, Zürich.
*** z. B. Silikonfett.

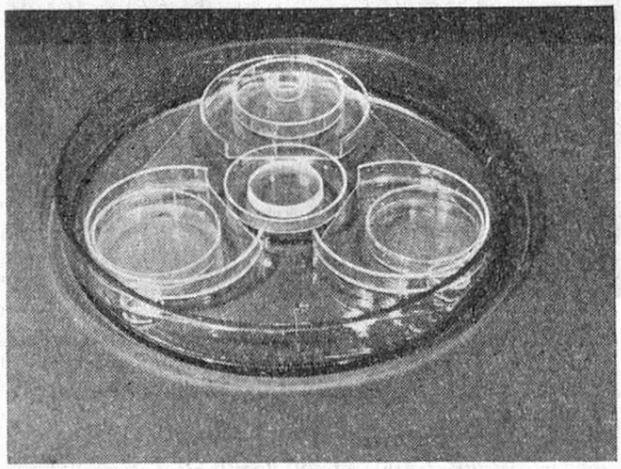


Abbildung 6 Rundschale mit Einsätzen

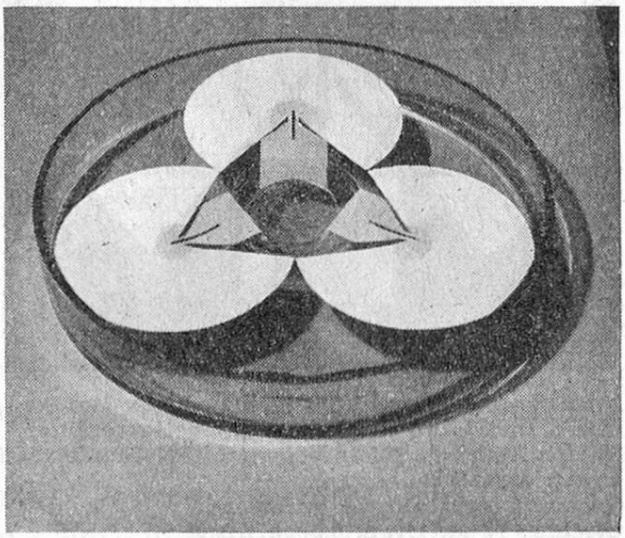


Abbildung 7 Rundschale mit Doppelsektorfilter

Länge abgesprengt wurde, was man mit einem Glasschneider selbst ausführen kann. Damit wird der Papierrand ringsum gestützt. Die zweite kleinere Petrischale (Durchmesser 7,5—8 cm) verhindert ein zu starkes Durchhängen der Papiere in feuchtem Zustand in der Mitte.* Den Ansaugstreifen biegt man 15-20 mm vom Ende rechtwinklig ab. Er taucht 5—8 mm ins Fließmittel, welches sich in der mittleren Petrischale (Durchmesser 7,5—8 cm) befindet (Abbildung 7). Da sich das Papier in feuchtem Zustand an der Falzstelle wieder streckt und damit in der Petrischale verschieben würde, legt man als Widerlager einen Glaszylinder hinein (Durchmesser 5 cm, Höhe 15 mm). In einer Kammer können also gleichzeitig 3 kleine Doppelsektorfilter entwickelt werden. Wenn nötig stellt man zwei oder drei Kammern aufeinander.

Fließmittel und Rf-Werte

Bei der Auswahl eines Fließmittels ist in erster Linie das Trennvermögen maßgebend. Daneben spielt auch eine gewisse Unterschiedlichkeit in der Anfärbbarkeit des Papiers nach Verwendung eines Fließmittels eine Rolle. Dies gilt vor allem für Dithizon und ist darauf zurückzuführen, daß auch nach gründlichem Trocknen immer Spuren des Fließmittels im Papier zurückbleiben. Ferner ist bei einem Fließmittel der Zeitaufwand und die Haltbarkeit zu berücksichtigen.

Praktisch ist es nicht möglich, sämtliche Trennungen mit einem einzigen Fließmittel auszuführen. In Tabelle 3 haben wir neben andern Angaben auch die Rf-Werte aller hier in Frage stehenden Ionen für 4 verschiedene Fließmittel zusammengestellt. Die Zusammensetzung dieser Fließmittel ist folgende:

Tabelle 2 Zusammensetzung der verwendeten Fließmittel (Volumteile)

Nr.	Zusammensetzung	Literatur
1	tert. Butanol-Aceton-Wasser-6n Salpetersäure-Acetylaceton 80 : 80 : 22 : 9 : 9	*Hais-Macek* (1958) S. 708
2	n-Butanol gesättigt mit 3n Salzsäure	*Cramer* (1958) S. 196
3	Essigsäure-5n Salzsäure 80 : 20	*Barnabas* (1957)
4	Methanol-konz. Salzsäure-Wasser 80 : 10 : 10	*Miller* und *Magee* (1951)

* Bei den Doppelsektorfiltern ist der Ansaugstreifen an der Peripherie zunächst noch mit dem übrigen Teil verbunden. Man schneidet dieses schmale Papierband ab und erhält die Form gemäß Abbildung 4 und 5.

Fließmittel Nr. 1 erlaubt, Blei und Kupfer besonders gut zu trennen und mit Acetylaceton-Dithizon anzufärben, wobei sich die Anwesenheit von Acetylaceton im Fließmittel günstig auswirkt (siehe nächster Abschnitt S. 79). Allerdings neigt es bei den Kationen mit höhern Rf-Werten (zum Beispiel Quecksilber und Kadmium) manchmal zu etwas unregelmäßiger Ausbildung der Bogen. Quecksilber und Antimon liegen fast in der Fließfront und können nicht getrennt werden.

Für die Schwefelwasserstoffgruppe eignet sich speziell Fließmittel Nr. 2. Die Rf-Werte sind relativ günstig verteilt und die Färbungen mit Dithizon nach gründlichem Trocknen der Papiere oft empfindlicher als mit Fließmittel Nr. 3. Nachteilig ist der größere Zeitaufwand (bis 7 Stunden) gegenüber den andern Fließmitteln (3—4 Stunden)*.

Als Hauptfließmittel für die Ammonsulfidgruppe (III. Gruppe) kann man Nr. 3 bezeichnen. Es fließt etwas weniger schnell als Nr. 4 und ungefähr gleich wie Nr. 1. Die Bedingungen sind besonders günstig für Eisen, Uran (Abbildung 4) und Chrom. Dagegen lassen sich Zink und Thallium (Rf 0,57) nicht voneinander trennen. Man wird in diesem Fall Fließmittel Nr. 2 verwenden.

In der Ammonsulfidgruppe kann es aber auch vorkommen, daß Zink, Thallium und Blei zusammen anwesend sind und getrennt werden müssen. Dies ist dann der Fall, wenn im Farbstoff viel Natriumchlorid, das heißt eine hohe Chloridionenkonzentration vorhanden ist. (*F. P. Treadwell* 1935, S. 207). Die Rf-Werte von Blei (0,38) und Thallium (0,36) liegen jedoch bei Fließmittel Nr. 2 zu nahe für eine Trennung in angemessener Zeit. In diesem Fall bedient man sich des Fließmittels Nr. 4 (Rf Thallium 0,42, Rf Blei 0,51, Rf Zink 1,00).

Die Rf-Werte des Fließmittels Nr. 4 zeigen, daß dieses Fließmittel für die Erdalkalien speziell gut geeignet ist, für die übrigen Ionen aber nur in besonderen Fällen in Frage kommt, weil die Rf-Werte zu nahe liegen. Es besitzt von allen vier Fließmitteln die größte Fließgeschwindigkeit, so daß für die Entwicklung etwa 3 Stunden ausreichen. Für die Erdalkalien (IV. Gruppe) läßt sich eventuell auch Fließmittel Nr. 1 verwenden. Die Rf-Werte sind allerdings ziemlich niedrig und die zur Verfügung stehende Laufstrecke muß vollständig ausgenützt werden. Ausnahmsweise können hier Doppelsektorfilter von 28 cm Durchmesser verwendet werden oder man läßt das Fließmittel bei den Doppelsektorfiltern von 13,6 cm Durchmesser am Rand verdunsten. Im letzteren Fall nimmt man die Entwicklung in Petrischalen von etwa 12 cm Durchmesser vor (Schalenrand geschliffen), so daß der Papierrand 8—9 mm herausragt.

* Der Rf-Wert von Antimon (0,98) liegt annähernd in der Fließmittelfront. Dies kann eventuell infolge stärkerer Eigenfärbung des Papiers in der Fließmittelfront zu einer Beeinträchtigung der Färbung mit Dithizon bzw. zu Täuschungen führen. Diese Fehlerquelle kann dadurch ausgeschaltet werden, daß man die Papiere vor der Analyse über Nacht leer mit dem Fließmittel Nr. 2 chromatographiert.

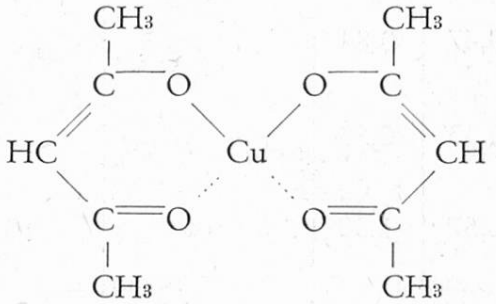
Anfärben der Chromatogramme

Ähnlich wie bei der Wahl der Fließmittel ist auch hier die Beschränkung auf wenige Sprühmittel anzustreben. Obschon kein Reagens bekannt ist, das mit allen fraglichen Elementen gleich gut reagiert, genügen die in der anorganischen Chemie verwendeten organischen Reagenzien noch am ehesten dieser Forderung. Unter ihnen prüften wir besonders Dithizon, Diphenylcarbazid und Tetraoxychinon. Dabei nimmt Dithizon eine Vorzugsstellung ein, nicht weil es sehr viel allgemeiner anwendbar oder empfindlicher wäre, sondern infolge der oft starken Farbunterschiede zwischen den Ionen, abhängig auch vom pH (Tabelle 3). Neben dem Rf-Wert verfügt man dadurch über eine weitere Möglichkeit zur Identifizierung, wie sie etwa bei Diphenylcarbazid oder Tetraoxychinon nicht oder in weit geringerem Maß vorhanden ist.

Der Nachweis mit Dithizon kann, wie wir feststellten, noch verbessert werden, indem man das Papier nach Vertreiben des Fließmittels und bevor man die Dithizonlösung (in Chloroform) anwendet, beidseitig gründlich mit wassergesättigtem Acetylaceton besprüht. Die Färbungen treten dadurch intensiver hervor und sind auch länger sichtbar. Diese Vorbehandlung bewirkt bei vielen Metallen die Bildung innerer Komplexsalze, was die Anfärbung mit Dithizon begünstigt.

Nach *Hollemann* (1940, S. 223) besitzen die Acetylacetonate der mehrwertigen Metalle Eigenschaften, die von denen der gewöhnlichen Salze stark abweichen. Viele von ihnen sind in Benzol, Chloroform und andern organischen Flüssigkeiten löslich, was bei echten Salzen nicht der Fall ist. Ihre wäßrige Lösung leitet den elektrischen Strom nur sehr schwach. Sie zeigen die gewöhnlichen Reaktionen der Kationen nicht oder nur sehr langsam. Auch sind sie in wäßriger Lösung nicht hydrolytisch gespalten.

Kupferacetylacetonat



Wie schon erwähnt hängt die Empfindlichkeit der Anfärbung mit Dithizon stark vom pH ab. So wird die Färbung von Antimon, Quecksilber und Selen durch Behandeln der Papiere mit Essigsäuredämpfen nach besprühen mit Acetylaceton-Dithizon verbessert (Tabelle 3). Kadmium, Blei, Zink und Thallium treten dagegen besser mit Ammoniakdämpfen hervor. Die Empfindlichkeit der Kupferfärbung ist in Essigsäure- und Ammoniakdämpfen ungefähr gleich (Tabelle 3). Es besteht aber bei der Ammoniakbehandlung ein Unterschied zwischen Kupfer einerseits und Kadmium, Blei, Zink und Thallium anderseits. Bei den letzteren Metallen entwickelt sich die volle Farbstärke erst nach dem Heraus-

Tabelle 3 Rf-Werte, Anfärbung und

Kationen	Rf-Werte Fließmittel				Anfärbung und Erfassungsgrenzen* nach Acetylaceton-Dithizon (Fließm. Nr. 2)			
					Essigsäure- und Salzsäuredämpfe		Ammoniakdämpfe	
	Nr. 1	Nr. 2	Nr. 3	Nr. 4	Färbung	Erfassungsgrenze	Färbung	Erfassungsgrenze
Sb^{5+}	0,98	0,98	0,88	1,00	orange	0,5	gelborange	0,6—1
Hg^{2+}	0,96	0,84	0,58	1,00	orange (mit HCl: violettrot)	0,2—0,3	gelborange	0,7—1
As^{5+}	0,80	0,74 Silikat: 0,66	0,74	0,94	nur mit HCl schwach gelb	1—2		bis 10: negativ
Cd^{2+}	0,72	0,74	0,59	1,00	rotviolett	3—4	orange	0,3—0,6
Se^{6+}	0,63	0,71	0,64	0,77	gelb	0,1—0,2	hellviolett	1—2
Cu^{2+}	0,49	0,32	0,50	0,76	rotviolett	0,2	grün-gelbgrün	0,1—0,2
Pb^{2+}	0,27	0,38	0,45	0,51	hellgelb	1—2	orangerot	0,2—0,3
Fe^{3+}	0,68	0,43	0,81	0,88				
UO_2^{2+}	0,66	0,35	0,47	0,84				
Cr^{3+}	0,35	0,32	0,33	0,83				
Zn^{2+}	0,31	0,76	0,57	1,00	rot	10	hellrot	0,1—0,2
Tl^{1+}	0,25	0,36	0,57	0,42		bis 10: negativ	orangerot-orangegelb	0,3—0,4
Ca^{2+}	0,33	0	0,49	0,66				
Sr^{2+}	0,25	0	0,51	0,51				
Ba^{2+}	0,18	0	0,52	0,34				

* Schätzung durch Vergleich der Intensität im Durchlicht.

Erfassungsgrenzen

Chromatographie (in μg Metall pro Startfleck)

Ammoniummolybdat-Zinn(II)chlorid		Kaliumhexacyanoferrat(II)		Natriumperoxyd-Benzidin		Tetrahydroxychinon-Ammoniak	
Färbung	Erfassungsgrenze	Färbung	Erfassungsgrenze	Färbung	Erfassungsgrenze	Färbung	Erfassungsgrenze
	bis 10: negativ						
	bis 10: negativ						
blau (auch Silikat)	0,2—0,3						
	bis 10: negativ						
blau	1—2						
hellgelb	3—4						
	bis 10: negativ						
		blau	0,2	blau	1—2		
		rotbraun	0,5		bis 10: negativ		
			bis 10 negativ	blau (unbeständig	0,3		
			bis 10: negativ		bis 10: negativ		
			bis 10: negativ		bis 10: negativ		
						dunkelviolett	0,3
						dunkelviolett	0,5
						dunkelviolett	0,5

nehmen aus den Ammoniakdämpfen, während die grüne Farbe des Kupfers dann ziemlich schnell verschwindet und nur in direktem Kontakt mit Ammoniakdämpfen beständig ist.

Was Arsen betrifft, läßt es sich zwar auch mit Dithizon anfärben (gelb) (Tabelle 3), verlangt aber zur optimalen Entwicklung der Farbe eine stärkere Acidität als die von Essigsäure, nämlich Salzsäure. Jedoch bringen Salzsäuredämpfe die übrigen Metallfärbungen sowie das unveränderte grüne Dithizon ziemlich schnell zum Verblassen. Praktisch geht man daher so vor, daß das Papier nach dem Besprühen mit Acetylaceton-Dithizon etwa 3 Minuten in Essigsäuredämpfe, dann 1—2 Sekunden in Salzsäuredämpfe gebracht und für weitere 10 Minuten in Essigsäurredämpfen gelassen wird. Dadurch regt man die Arsenfärbung an, ohne die übrigen Färbungen zu stark zu beeinträchtigen. Die Arsenfärbung gehört aber auch dann zu den weniger empfindlichen Dithizonfärbungen im sauren Bereich. (Tabelle 3). Empfindlicher und auch recht spezifisch läßt sich Arsen mit Ammoniummolybdad-Zinn(II)chlorid nachweisen Tabelle 3). Man benötigt dazu nicht ein zweites Chromatogramm, sondern zerschneidet das Doppelsektorfilter entsprechend Abbildung 8 in zwei Teile. Den größern färbt man mit Dithizon, den

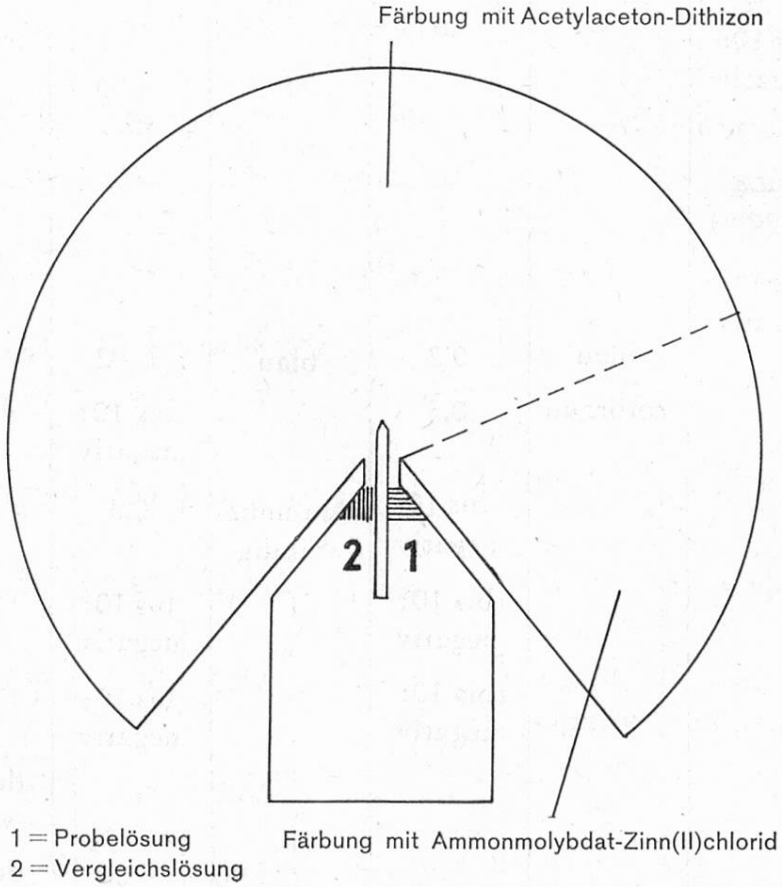


Abbildung 8 Färbung eines Doppelsektorfilters mit zwei Reagenzien

kleinern mit Ammoniummolybdat-Zinn(II)chlorid. Mit dem letzteren Reagens werden auch Silikate angefärbt (Tabelle 3, Fließmittel Nr. 2).

In Tabelle 4 haben wir sämtliche verwendeten Sprühreagenzien angegeben (Zusammensetzung siehe Tabelle 9, S. 93). Den 3 organischen mit weitem Anwendungsbereich stehen 3 anorganische gegenüber, welche nur einzelne Ionen spezifisch sichtbar machen.

Bezüglich des Chloroforms zur Herstellung der Dithizonlösung (Merck, zur Analyse) muß man beachten, daß es zur Stabilisierung während der Lagerung stets etwa 1 % Aethanol enthält. Versuche ergaben, daß die Anfärbung mit Dithizon dadurch beeinträchtigt wird und verbessert werden kann, wenn das Chloroform adsorptionschromatographisch mit Aluminiumoxyd gereinigt wird. Zur Reinigung von 50 ml Chloroform benötigt man etwa 35 g Aluminiumoxyd WOELM basisch (kationotrop), Aktivitätsstufe I, zur Chromatographie (*Woelm* 1961, S. 30). Für diese adsorptive Filtration wird das Aluminiumoxyd aus der gut verschlossen aufbewahrten Flasche trocken in das Chromatographierohr eingefüllt. Dann läßt man das Chloroform durchlaufen. Ein geringer Vorlauf muß verworfen werden. Die mit gereinigtem Chloroform hergestellte Dithizonlösung ist fast unbeschränkt haltbar.

Im weiteren ist es auch notwendig, das Acetylaceton, welches meist eine mehr oder weniger starke orangerote Färbung aufweist, vor Gebrauch zu destillieren (Kp 137 ° C). Dann schüttelt man es gründlich mit ein wenig Wasser und läßt bis zur Klärung stehen.

Die Vorreinigung des Papiers wurde bereits erwähnt (S. 76 und 78). Sie kommt für die Anfärbung mit Diphenylcarbazid, Tetraoxychinon und Dithizon in Frage.

Tabelle 4 Reagenzien zum Anfärben

Reagens	Anfärbung
Acetylaceton-Dithizon	Cu, Pb, Se, As, Cd, Hg, Sb, Zn, Tl
Diphenylcarbazid-Ammoniak	Cd, Pb, Cu, Hg, Fe, U, Zn, Cr
Tetraoxychinon-Ammoniak*	Ca, Sr, Ba, Cd, Se, Pb, Hg, Cu, Fe, Tl, U
Ammoniummolybdat-Zinn(II)-chlorid**	As, Silikat
Kaliumhexacyanoferrat(II)	Fe, U
Natriumperoxyd-Benzidin***	Cr, Fe

* Bock-Werthmann (1963)
** Merck AG, S. 142
*** Merck AG, S. 163

4. Reinheitsanforderungen und Erfassungsgrenzen

Wie verhalten sich nun die am Anfang (S. 67) erwähnten Normen für die Reinheit eines Farbstoffes zu der Leistungsfähigkeit der Methode bezüglich des Nachweises; besitzt die beschriebene Methode eine genügende Empfindlichkeit?

Aus Tabelle 5 geht hervor, daß meistens noch erhebliche Bruchteile der zulässigen Metallspuren nachgewiesen beziehungsweise approximativ bestimmt werden können. Man geht aus von den festgelegten Reinheitsanforderungen in µg pro 1 g Farbstoff. Praktisch heißt das, daß in den 200 µl, wie sie in der Regel durch die chemische Gruppentrennung erhalten werden, höchstens diese Metallmenge vorhanden sein darf. Nun wird man für den Nachweis nicht die ganzen 200 µl, sondern nur einen Bruchteil davon, höchstens $^1/_{10}$, entsprechend 20 µl, auf das Papier auftragen. In Tabelle 5 wurden daher die Erfassungsgrenzen in µg pro Startfleck, wie sie die Methode gemäß Tabelle 3 besitzt, in Beziehung gesetzt zum zehnten Teil der festgelegten Mengen, die nach den Normen in 1 g Farbstoff höchstens vorhanden sein dürfen.

Bei Arsen kommen sich Reinheitsanforderung und Erfassungsgrenze der Methode am nächsten, weil hier eine besonders strenge Reinheitsnorm besteht und die Erfassungsgrenze nicht entsprechend gesteigert werden kann. Schon bei Blei

Tabelle 5 Reinheitsanforderungen und Erfassungsgrenze

Element	Reinheitsanforderung in µg pro 1 g Farbstoff (siehe S. 67)	Erfassungsgrenze in µg pro Startfleck (Tabelle 3)	Verhältnis der Erfassungsgrenze zu $^1/_{10}$ der Reinheitsanforderung	Reagens zum Anfärben
Arsen	5	0,25 (Mittelwert)	$\frac{0,25}{0,5} = 0,5$	Ammonmolybdat-Zinn(II)chlorid
Blei	20	0,3	$\frac{0,3}{2} = 0,15$	Acetylaceton-Dithizon-Ammoniak
Antimon	100	0,5	$\frac{0,5}{10} = 0,05$	Acetylaceton-Dithizon-Essigsäure
Chrom	100	0,3	$\frac{0,3}{10} = 0,03$	Natriumperoxyd-Benzidin
Kupfer	100	0,2	$\frac{0,2}{10} = 0,02$	Acetylaceton-Dithizon-Ammoniak
Zink	100	0,2	$\frac{0,2}{10} = 0,02$	Acetylaceton-Dithizon-Ammoniak

vermag man aber eine fast 7 mal geringere Menge nachzuweisen, als höchstens vorhanden sein darf. Bei Kupfer und Zink ist der Nachweis am empfindlichsten, anderseits die Norm relativ hoch, die Verhältniszahl beträgt hier 1 : 50.

In Wirklichkeit sind die Bedingungen nicht ganz so günstig, weil bei den geringen Mengen im Verlauf des Analysenganges bei der Mineralisation, Fällung usw. mehr oder weniger große Verluste eintreten, wie im nächsten Abschnitt ausgeführt wird.

5. Verluste

Trotz sorgfältigem Arbeiten können kleinere oder größere Verluste nicht vermieden werden. Dies ist hauptsächlich auf folgende Gründe zurückzuführen:

1. Flüchtigkeit infolge Erhitzen beim Mineralisieren;
2. Löslichkeit der Niederschläge (unvollständige Fällung);
3. Bildung kolloider Lösungen (Selen, siehe unten).

Aus Zusatzversuchen (siehe Tabelle 6) geht hervor, daß die Verluste in der Ammonsulfidgruppe praktisch kaum ins Gewicht fallen, die zugesetzten 10 und 20 µg können recht gut wiedergefunden werden. Dies zeigt, daß der Analysengang an sich für diese geringen Mengen geeignet ist. In Abhängigkeit der zugesetzten Mengen sind, wie zu erwarten, die Verluste bei 10 µg etwas größer als bei 20 µg.

Auch in der Schwefelwasserstoffgruppe treten bei Kupfer, Blei und Kadmium noch relativ geringe Verluste ein, größenordnungsgemäß ähnlich wie in der Ammonsulfidgruppe.

Ein deutlich anderes Verhalten zeigen Quecksilber, Arsen, Antimon und Selen. Hier liegen die Ausbeuten manchmal bei 50 % und darunter.

Was Selen betrifft, so kann die Ausbeute nach Tabelle 6 auf 60—70 % ansteigen, wenn, bei sonst gleichen Bedingungen, keine Mineralisation vorgenommen oder 100 µg Kupfer zugegeben werden. Ohne Mineralisation fällt die Fehlerquelle der Flüchtigkeit weg. Daß jetzt nicht annähernd 100 % erreicht werden, wie in der Ammonsulfidgruppe, hängt wohl damit zusammen, daß das Selen nach Reduktion mit schwefliger Säure (die natürlich auch ohne Mineralisation vorgenommen wurde) teilweise in kolloider Form vorliegt, wie früher erwähnt (S. 72). Bezüglich des Zusatzes von 100 µg Kupfer ist anzunehmen, daß diese relativ großen Mengen als Träger wirken und die kolloiden Teilchen auffangen beziehungsweise entladen. Zu beachten ist, daß bei Anwesenheit von nur je 10 µg Kupfer, Blei, Kadmium, Quecksilber, Antimon und Arsen (zusammen auch 60 µg), neben 10 µg Selen, die Trägerwirkung nicht mehr ausreicht und die Ausbeute für Selen bei 30 % bleibt. Sie steigt aber wieder auf 60—70 %, wenn neben 20 µg Selen je 20 µg der genannten Begleitelemente (zusammen 120 µg) vorhanden sind.

Bei Quecksilber, Arsen und Antimon sind die Verluste etwas weniger groß als bei Selen.

Eine Unvollständigkeit der Fällung wurde in der Schwefelwasserstoffgruppe festgestellt, wenn die Konzentration des Schwefelwasserstoffs in der Lösung zu gering war. Wir konnten dies bei einem Versuch mit Thiocetamid an Stelle der OXYPHEN-Tabletten beobachten. Obschon der Überschuß an Thioacetamid mehr als das 10fache der berechneten Menge betrug, wurden auch bei Kupfer, Blei und Kadmium nur 30—40 % wiedergefunden (Zusatz von je 10 µg). Der Überschuß Thioacetamid muß also größer sein und die Gefäße sind auf jeden Fall nach der Fällung mehrere Stunden verschlossen stehen zu lassen.

Nach Tabelle 6 können die zugesetzten Mengen bei den Erdalkalien noch weniger gut wiedergefunden werden. Da hier Flüchtigkeit und kolloide Lösungen kaum in Frage kommen, muß unvollständige Fällung vorliegen. Dies ist dadurch zu erklären, daß gegen Ende der Analyse das Flüssigkeitsvolumen mehr oder weniger stark ansteigt. Man muß verdünnen, um die infolge Neutralisation entstandenen zusätzlichen Salzmengen in Lösung zu halten. Dadurch wird die Empfindlichkeit der Oxalatfällung herabgesetzt und reicht dann für die geringen Mengen nicht mehr aus.

Tabelle 6 Zusatzversuche

Gruppe	Mineralisation	Zusatz	Wiedergefundene Menge nach Schätzung (in %)						
			Cu	Pb	Cd	Hg	As	Sb	Se
II	ohne	10 µg Se	—	—	—	—	—	—	60—70
	mit	10 µg Se	—	—	—	—	—	—	30
	mit	10 µg Se + 100 µg Cu	—	—	—	—	—	—	60—70
	mit	je 10 µg Se, Sb, Hg, Cd, Pb, Cu + 5 µg As	90	80	80	40	50	50	30
	mit	je 10 µg Se, Sb, Hg, Cd, Pb, Cu, As	90	80	80	40	50—60	50	30
	mit	je 20 µg Se, Sb, Hg, Cd, Pb, Cu, As	90	80	80—90	50	60	50	60—70
			Fe	Zn	U	Tl	Cr		
III	mit	je 10 µg Fe, Zn, U, Tl, Cr	90	90	80	80	90		
	mit	je 20 µg Fe, Zn, U, Tl, Cr	100	100	80—90	80—90	90		
			Ba	Sr	Ca				
IV	mit	je 10 µg Ba, Sr, Ca	10	20	10				
	mit	je 20 µg Ba, Sr, Ca	20	30	20				

Es wurden ferner die bei einigen Farbstoffen erhaltenen papierchromatographischen Bleigehalte mit denjenigen nach einer modifizierten kolorimetrischen Methode (Sandell 1959; FAO 1963) verglichen. Wie aus der folgenden Tabelle 7 hervorgeht, ergibt sich eine befriedigende Übereinstimmung, die bei kleinen Werten eher noch besser ist als bei größern.

Tabelle 7 Bleigehalte mit zwei verschiedenen Methoden

Farbstoff	µg Blei pro 1 g Farbstoff	
	papierchromatographisch	colorimetrisch
Sonnenorange A = Gelborange S, Nr. 4 10. 9. 57	50	47
Indigotin Extra A = Indigocarmin 6. 8. 56	1350	1705
Tartrazin XX bes. rein 10. 9. 56	30	28
Brillantschwarz BN, bes. rein 1956/57	400	465

6. Ergebnisse

In Tabelle 8 sind die Analysen von 16 Farbstoffpräparaten zusammengestellt. Man untersuchte alle 12 nach Lebensmittelverordnung (1964) zugelassenen künstlichen organischen Lebensmittelfarbstoffe. Die Bestimmungen wurden bei einigen Farbstoffen an zwei Mustern vorgenommen, einem älteren aus den Jahren 1956/57 und einem von 1962. Man prüfte auf 15 Ionen und bestimmte deren Menge approximativ durch Vergleich mit bekannten Testproben. Die Genauigkeit hängt, nach den vorangehenden Ausführungen, von der Art des Elementes und dessen Menge ab. Sie beträgt im Durchschnitt ± 10—20 %.

In fast allen Farbstoffen wurden mehr oder weniger große Mengen Kupfer, Blei, Eisen und Calcium gefunden. Dabei geht in den meisten Fällen der Gehalt an Blei und Eisen parallel. Ganz negativ verlief die Prüfung auf Selen, Kadmium, Quecksilber, Chrom, Uran, Thallium und Strontium. Nur Kupfer und Calcium konnte ohne Ausnahme in jedem Präparat festgestellt werden.

Betrachtet man die Gehalte einzeln, so erweisen sich die Unterschiede bei

Tabelle 8 Metallspuren in Lebensmittelfarben (in µg pro 1 g Farbstoff)

Nr.	Farbstoff	Cu^{2+}	Pb^{2+}	Fe^{3+}	Ca^{2+}	Cd^{2+} Hg^{2+} As^{5+} Sb^{5+} Se^{6+} $UO^{2}_{2}{}^{+}$ Zn^{2+} Tl^{1+} Cr^{3+} Sr^{2+} Ba^{2+}
1	Azorubin S bes. rein 27. 7. 56	12—14	20	15	500—600	alle negativ
1a	Azorubin = 362-Fruchtrot A extra gelblich 8. 9. 62	40	5—7	20	100	alle negativ
2	Echtrot E bes. rein 27. 7. 56	10	neg	neg	40	alle negativ
2a	Echtrot = 310-Kirschrot A 2. 8. 62	23—25	20	30	100	Zn^{2+} 3 µg, sonst negativ
3	Amaranth = Naphtholrot S konz. bes. rein 27. 7. 56	6—7	2	10	40	Zn^{2+} 8 µg, sonst negativ
3a	Amaranth = 317-Fruchtrot A 8. 9. 62	10	neg	10	100	Zn^{2+} 1—2 µg, sonst negativ
4	Ponceau 4 R (307-Erdbeerrot A) 8. 9. 62	10	6	10	80	Zn^{2+} 20 µg, sonst negativ
5	Erythrosin (= 323 Neurosa bläulich) 8. 9. 62	6	4	10	10	alle negativ
6	Scharlach GN bes. rein 27. 7. 56	4	8	80	160	As^{5+} 8 µg, Zn 8 µg, sonst negativ
7	Gelborange S, Nr. 4 = Sonnenorange A 10. 9. 57	28	48	40	200	alle negativ
8	Säuregelb R 10. 9. 57	40	160	1000	120	As^{5+} 10 µg, sonst negativ
9	Tartrazin XX bes. rein 10. 9. 56	2	30	20	600	Zn^{2+} 6 µg, Ba^{2+} 2 µg, sonst negativ
10	Chinolingelb (= 101-Kanariengelb A) 8. 9. 62	16	neg	40	40	Zn^{2+} 6 µg, Ba^{2+} 2 µg,
11	Indigotin Extra A = Indigocarmin 6. 8. 56	20	1350	2120	150	Sb^{5+} 2 µg, sonst negativ
12	Brillantschwarz BN, bes. rein 1956/57	50	400	800	600	As^{5+} 2 µg, sonst negativ
12a	Brillantschwarz BN, bes. rein 13. 7. 62	20	7	800	200	Zn^{2+} 20 µg, sonst negativ

Kupfer im allgemeinen nicht sehr groß. Bezüglich der am Anfang (S. 67) erwähnten Reinheitsanforderung (100 µg/1 g Farbstoff) wird sie in keinem Fall überschritten. Auch der Wert von zusammen 200 µg Kupfer, Antimon, Chrom, Zink und Bariumsulfat pro 1 g Farbstoff wird nirgends erreicht. Der Blei- und Eisengehalt dagegen zeigt große Unterschiede. Der Grenzwert von 20 µg Blei / 1 g Farbstoff wird in einigen Fällen sehr stark überschritten (Nr. 8, 11, 12). Dabei handelt es sich aber immer um ältere Präparate aus den Jahren 1956/57. Die Farbstoffe neueren Datums erfüllen dagegen sämtliche die strenger gewordenen Reinheitsnormen bezüglich Blei. Was Arsen betrifft, so liegen die Werte nur bei zwei älteren Farbstoffen (Nr. 6 und 8) etwas über 5 µg pro 1 g Farbstoff, in allen andern Fällen (Nr. 12 ausgenommen) unter der Nachweisgrenze.

7. Methodik

Prinzip: Der Farbstoff wird mit rauchender Salpetersäure und Perchlorsäure mineralisiert. Das Ungelöste wird aufgeschlossen und für sich untersucht. Nach dem üblichen qualitativen Analysengang trennt man die Metalle in 3 Gruppen. Innerhalb jeder Gruppe werden die Kationen papierchromatographisch weitergetrennt, nachgewiesen und approximativ bestimmt.

I. Mineralisation und chemische Vortrennung

Reagenzien:

Salpetersäure, rauchend, d = 1,52, p. a.
Salpetersäure, 65 %, d = 1,40 mit Dithizon geprüft, p. a.
Salzsäure, rauchend, 37 %, d = 1,19, p. a.
Ammoniaklösung, 25 %, d = 0,91, p. a.
Perchlorsäure, ca. 70 %, d = 1,67, p. a.
Schwefelsäure, 1+1, reinst
Natriumbisulfidlösung, 38 %, reinst
OXYPHEN-H_2S-Gas Tabletten
Ammoniumsulfidlösung, 1 L = 1,00 kg, p. a.
Ammoniumoxalat, p. a.

Geräte:

Spezialverbrennungskolben mit Wassermantel (Abbildung 1, S. 69)
Zentrifugengläser mit Spitzboden (50 ml)
Elektrisches pH-Meter mit Glaselektrode
Asbestfilterstäbchen (Abbildung 3, S. 73) mit Platindraht, Glaswolle und Asbest für Goochtiegel
Kleine Glasröhrchen mit Schliffstopfen

Arbeitsvorschrift

a) Mineralisation

1 g Farbstoff werden in ein 25 ml Becherglas eingewogen. Man bedeckt mit einem Urglas und gibt mit einer Pipette tropfenweise 10 ml rauchende Salpeter-

säure hinzu, wobei das Urglas etwas seitlich verschoben wird. Man mischt mit einem Glasstab bis die letzten Partikel verschwunden sind und spült das Urglas mit etwas rauchender Salpetersäure ab. Dann überführt man tropfenweise in den Spezialverbrennungskolben (Pipette mit Quetschhahn oder Tropftrichter). Vorher hat man 5 ml Perchlorsäure in den Verbrennungskolben gegeben und sie mit starker Flamme zum Sieden erhitzt (Siedestäbchen aus Glas). Zum Eintropfen der Farblösung in die Perchlorsäure benötigt man 1—1$^1/_2$ Stunden, wobei die Perchlorsäure dauernd im Sieden gehalten wird und sich nach jeder Zugabe rasch wieder aufhellen muß. Die Temperatur des Wassermantels soll dauernd 60 bis 70 ° C betragen. Nach dem Eintragen läßt man noch weitere 1—1$^1/_2$ Stunden weiter sieden bzw. solange, bis die Perchlorsäure farblos geworden ist.

Nach dem Abkühlen spült man den Inhalt des Verbrennungskolbens mit etwa 30 ml Wasser in ein 50 ml Zentrifugenglas mit Spitzboden. Man mischt gut, zentrifugiert und gießt die klare überstehende Lösung in ein 50 ml Becherglas.

Variante für Farbstoffe, die sich nur teilweise in rauchender Salpetersäure lösen:

Man wägt 1 g in ein 50 ml Zentrifugenglas mit Spitzboden und gibt die 10 ml rauchende Salpetersäure tropfenweise zu. Als Deckel dient ebenfalls ein Urglas. Nach gutem Mischen mit einem Glasstab zentrifugiert man, gießt in ein 25 ml Becherglas ab und verfährt weiter mit Eintropfen in den Vebrennungskolben wie oben beschrieben. In den Verbrennungskolben hat man jedoch nur 3 statt 5 ml Perchlorsäure gegeben. Weitere 2 oder 3 ml Perchlorsäure gibt man zum ungelösten Teil im Zentrifugenglas und erhitzt in einem Wärmebad (Silikonöl) auf etwa 130—140 ° C, worauf eine weitgehende Lösung eintritt. Darauf fügt man die Perchlorsäure zum übrigen Teil im Verbrennungskolben und kocht bis zur vollständigen Aufhellung.

b) Aufschluß des eventuell Unlöslichen

Das eventuell vorhandene Unlösliche (Bleisulfat, Bariumsulfat) wäscht man zweimal mit wenig Wasser unter zentrifugieren. Dann gibt man 1—2 ml konzentrierte Natriumkarbonatlösung und ein Siedestäbchen dazu und kocht 10—15 Minuten. Nach dem Abkühlen zentrifugiert man, saugt die überstehende Flüssigkeit ab und wäscht mit kleinen Mengen Wasser bis dieses nicht mehr alkalisch reagiert. Nachdem die Waschflüssigkeit möglichst vollständig abgesaugt wurde, gibt man 200 µl Salpetersäure 1+1 dazu, erwärmt etwas, zentrifugiert und verbringt die überstehende Lösung mit einer Kapillare in ein Glasröhrchen mit Schliffstopfen = *Lösung I.*

Bariumsulfat wird sich so nur teilweise in Lösung bringen lassen und muß durch Schmelzen mit Soda im Platintiegel aufgeschlossen werden.

c) Einstellung auf pH 2,4

Man stellt das 50 ml Becherglas (siehe Abschnitt a) auf die Platte eines Magnetrührers, taucht eine Glaselektrode ein und leitet unter rühren einen mäßigen Strom von Ammoniakgas ein bis pH 2,4 erreicht ist. Das Ammoniakgas gewinnt man durch schwaches Erwärmen von 30—40 ml konzentriertem Ammoniak,

welcher sich in einem 100 ml Stehkolben befindet, der mit einem zweimal rechtwinklig gebogenen Ableitungsrohr versehen ist.

d) SO_2-Behandlung

Man leitet während 4 Minuten einen mäßigen Schwefeldioxydstrom in das Becherglas ein, gibt ein Siedestäbchen hinein und kocht einige Minuten, bis der Schwefeldioxydgeruch verschwunden ist.

e) Nachkontrolle des pH

Man kühlt ab, überführt in ein 50 ml Zentrifugenglas mit Spitzboden, taucht die Glaselektrode ein und leitet vorsichtig unter Mischen von Hand mit einem dünnen Glasstab Ammoniakgas ein bis pH 2,4 wieder erreicht ist.

f) Schwefelwasserstoffällung der II. Gruppe

Nun stellt man das Zentrifugenglas während etwa 10 Minuten in ein 150 ml Becherglas mit schwach siedendem Wasser und leitet dann 6 Minuten lang Schwefelwasserstoffgas ein (etwa eine Blase pro Sekunde), das man durch vorsichtiges Erhitzen eines Reagensglases mit 1 oder 2 OXYPHEN-Gastabletten entwickelt. Das Reagensglas ist mit einem Gummistopfen verschlossen, durch dessen Bohrung man ein doppelt rechtwinklig gebogenes dünnes Glasrohr steckt und dessen längeres Ende in die Lösung taucht. Dann verschließt man das Zentrifugenglas und läßt einige Stunden stehen, am besten über Nacht.

Hierauf zentrifugiert man und saugt die überstehende Lösung mit dem Asbestfilterstäbchen (Abbildungen 2 und 3, S. 73) möglichst vollständig ab. Von einem Auswaschen des Niederschlages kann abgesehen werden.

Dann gibt man mit der Kapillarpipette 150 µl konz. Salzsäure und 50 µl konz. Salpetersäure (= 200 µl Königswasser) ins Zentrifugenglas, erwärmt ganz schwach, mischt mit einem Glasstäbchen und zentrifugiert. Die Fraktion bringt man in ein Glasröhrchen = *Lösung II.*

g) Ammonsulfidfällung der III. Gruppe

Das Filtrat von Gruppe II gießt man aus dem Absaugröhrchen in ein 50 ml Zentrifugenglas mit Spitzboden und stellt etwa 10 Minuten in siedendes Wasser. Dann leitet man Ammoniakgas ein bis zur ammoniakalischen Reaktion (pH 8 bis 8,5), gibt tropfenweise Ammoniumsulfidlösung zu bis die Fällung vollständig ist, verschließt das Zentrifugenglas und läßt es mehrere Stunden bzw. über Nacht stehen.

Nach dem Zentrifugieren und Absaugen der überstehenden Lösung mit dem Asbestfilterstäbchen gibt man 200 µl Salpetersäure 1+1 zum Rückstand im Zentrifugenglas, erwärmt etwas und zentrifugiert wieder. Die klare überstehende Lösung bringt man in ein Glasröhrchen = *Lösung III.*

h) Oxalatfällung

Das Filtrat der III. Gruppe überführt man aus dem Absaugröhrchen in ein Becherglas und fügt tropfenweise unter ständigem Rühren konz. Salzsäure bis zur

sauren Reaktion zu. Dann kocht man 1—2 Minuten zur Abscheidung des Schwefels (Siedestäbchen). Man kühlt etwas ab und zentrifugiert. Nach überführen in ein Becherglas bringt man die Lösung durch vorsichtiges Einleiten von Ammoniak auf pH 5,5—6, erhitzt zum Sieden, fügt 0,5—0,6 g festes Ammonoxolat zu und kocht etwa 5 Minuten. Nach Überführen in ein Zentrifugenglas verschließt man es und läßt einige Stunden bzw. über Nacht stehen.

Nach dem darauffolgenden zentrifugieren und absaugen mit dem Filterstäbchen setzt man 200 µl Salpetersäure 1+1 zu, erwärmt etwas und zentrifugiert wieder. Die klare überstehende Lösung sammelt man in einem Glasröhrchen = *Lösung IV*.

II. Chromatographie

Reagenzien (alle Lösungsmittel und Reagenzien «für Chromatographie», bzw. p. a.)

a) Bestandteile der Fließmittel

Butylalkohol, tertiär
Aceton
Salpetersäure, 6n
Acetylaceton, destilliert
Butylalkohol, normal
Salzsäure, 3n
Eisessig
Salzsäure, 5n
Methanol

Für die Zusammensetzung siehe Tabelle 2 (S. 77)

b) Reagenzien zum Anfärben nach Tabelle 9

Chloroform, mit Aluminiumoxyd gereinigt
Aluminiumoxyd WOELM, basisch (kationotrop), Akt.-Stufe I
Dithizon
Diphenylcarbazid
Tetraoxychinon, zur maßanalyt. Sulfatbestimmung
Aethanol, 96 Vol.%
Ammoniummolybdat, krist.
Perchlorsäure, 70 %
Salzsäure, rauchend, d = 1,19
Zinn(II)-chlorid
Kaliumhexacyanoferrat(II)
Natriumperoxyd,gekörnt
Benzidin

Tabelle 9 Reagenzien zum Anfärben

Reagens	Sprühlösung I	Sprühlösung II bzw. Dämpfe
Acetylaceton-Dithizon	Acetylaceton (destilliert) gesätt. mit Wasser	0,05%ige Lösung von Dithizon in Chloroform (gereinigt), Essigsäure- und Ammoniakdämpfe
Diphenylcarbacid-Ammoniak	1%ige Lösung von Diphenylcarbazid in 96 vol%igem Aethylalkohol	Ammoniakdämpfe
Tetraoxychinon-Ammoniak	50 mg Tetraoxychinon lösen in 25 ml 96%igem Aethylalkohol	Ammoniakdämpfe
Ammoniummolybdat-Zinn(II)chlorid	Lösung 1: 3 g Ammoniummolybdat gelöst in 255 ml dest. Wasser Lösung 2: 2,5 ml konz. Salzsäure + 13 ml 70%ige Perchlorsäure + 30 ml dest. Wasser Lösung 1 und 2 werden getrennt aufbewahrt. Herstellung der Sprühlösung: 12,8 ml Lösung 1 + 2,3 ml Lösung 2	0,2 g Zinn(II)-chlorid lösen in 5 ml rauch. Salzsäure und verdünnen mit Wasser auf 250 ml. Jedesmal frisch herstellen
Kaliumhexacyanoferrat(II)	2%ige wäßrige Lösung von Kaliumhexacyanoferrat (II)	—
Natriumperoxyd-Benzidin	5%ige wäßrige Lösung von Natriumperoxyd (gekörnt). Jedesmal frisch herstellen	1%ige Lösung von Benzidin in Eisessig

Geräte und Chromatographiepapier

Rundschalen, 29 cm innerer Durchmesser, Höhe 4 cm, Wandstärke 5 mm
Glasplatte als Einsatz, dreieckig, mit abgeschnittenen Ecken, 3 mm dick
Glasringe (3 Stück pro Rundschale), Durchmesser ca. 24 mm, Höhe 10 mm
Petrischalen, Durchmesser 11—12 cm, mit abgsprengtem Segment
Petrischalen, Durchmesser $7^1/_2$-8 cm
Glaszylinder, Durchmesser 5 cm, Höhe 20 mm
Doppelsektorfilter, kleines Format, ⌀ 13,6 cm, Schleicher & Schuell Nr. 2043b ausgewaschen, schon gestanzt
Kapillarpipetten, Inhalt 1 bis 20 µl

Arbeitsvorschrift

a) Chromatographie von Lösung I (Blei und Barium)

Für den Nachweis von Blei und Barium verwendet man je ein Doppelsektorfilter. Mit einer Kapillarpipette trägt man 10 µl der Lösung auf den Ansaugstreifen des Doppelsektorfilters auf, unmittelbar vor der brückenartigen Verengung, rechts des Spaltes. Durch sofortiges Trocknen mit dem Fön nach dem Auftragen verhindert man ein zu starkes Ausbreiten des Fleckens. Auf der linken Seite des Ansaugstreifens wird auf gleicher Höhe die Testlösung deponiert.

Zur Herstellung der Testlösungen hält man sich Stammlösungen vorrätig, die 1 % des Metallions enthalten. Für Blei also 80 mg $Pb(NO_3)_2$, gelöst in 5 ml Salpetersäure 1+1, für Barium 89 mg $BaCl_2 \cdot 2\ H_2O$, gelöst in 5 ml Wasser mit 3 Tropfen Salpetersäure 1+1. Zum Auftragen stellt man davon 10mal verdünntere Lösungen her (0,1%ig), die dann 1 µg Metall pro 1 µl enthalten.

Für Blei bedient man sich am besten des Fließmittels Nr. 1 (Tabelle 2, S. 77) und entwickelt 3—4 Stunden. Dann läßt man 30 Minuten an der Luft trocknen, ohne zu erwärmen. Hierauf besprüht man zuerst die Vorderseite des Doppelsektorfilters reichlich mit wassergesättigtem Acetylaceton, bis das Papier feucht, jedoch nicht naß ist, dann mit einer 0,05%igen Lösung von Dithizon in Chloroform. Jetzt dreht man das Papier um und behandelt in gleicher Weise die Rückseite. Nun wird das Doppelsektorfilter für $^1/_2$—1 Minute in ein Glasgefäß gehängt, auf dessen Boden sich eine Schale mit konz. Ammoniak befindet. Der vorher grüne Untergrund wird jetzt hellorange und das Blei beginnt schwach violettrot zu erscheinen. Die volle orangerote Färbung erscheint jedoch erst einige Minuten nach dem Herausnehmen und Hängenlassen bei Zimmertemperatur.

Für Barium (und die übrigen Erdalkalien) eignet sich speziell Fließmittel Nr. 4 und Tetraoxychinon zum Anfärben. Nach 3—4 Stunden entwickeln hat daß Fließmittel den Papierrand fast erreicht. Man trocknet $^3/_4$—1 Stunde bei 40—50 ° C im Trockenschrank mit Ventilator zum Absaugen der Luft oder läßt über Nacht bei Zimmertemperatur trocknen. Dann besprüht man das Doppelsektorfilter auf der Vorder- und Rückseite mit einer frisch hergestellten Lösung von 50 mg Tetraoxychinon in 25 ml 96%igem Alkohol und läßt es mindestens 30 Minuten bei Zimmertemperatur an der Luft vollständig trocknen. Dann legt man es über eine Porzellanschale (Durchmesser ca. 12 cm), in welche man einige ml konz. Ammoniak gegeben hat. Ist Barium anwesend, erscheint innerhalb einiger Sekunden ein dunkelvioletter Bogen auf hellgelbem bis hellbraunem Grund. Die Stärke der Färbung ist unmittelbar nach dem Kontakt mit den Ammoniakdämpfen am stärksten, weil der Untergrund nach und nach dunkler wird.

Eine halbquantitative Bestimmung ist möglich durch visuellen Vergleich der Intensität der Anfärbung von unbekannter Probe und Standardprobe (1. Annäherung). Sind die Gehaltsunterschiede zu groß, muß mit entsprechend abgeänderten Mengen nochmals chromatographiert werden (2. Annäherung).

b) Chromatographie von Lösung II (Quecksilber, Blei, Kupfer, Kadmium, Arsen, Antimon, Selen)

Als Fließmittel dient Nr. 2. Entwicklungszeit: 4—7 Stunden. Man trocknet 15 Minuten im Ventilatortrockenschrank, beginnend bei Zimmertemperatur und bis 40—50 ° C steigend. Dann läßt man das Papier über Nacht hängen. Will man sofort nach dem Entwickeln besprühen, muß länger getrocknet werden, etwa 30—45 Minuten bei 40—50 ° C.

Am andern Morgen schneidet man das Doppelsektorfilter gemäß Abbildung 8, S. 82 in einen größern und kleinern Teil. Den größern färbt man mit Acetylaceton-Dithizon, den kleinern (für Arsen) mit Ammonmolybdat-Zinn(II)-chlorid.

Nach dm Besprühen mit Acetylaceton-Dithizon bringt man das Papier etwa 10 Minuten in ein Glasgefäß, auf dessen Boden sich eine Schale mit Eisessig befindet. Antimon, Selen, Quecksilber und Kupfer reagieren jetzt. Die Färbung verstärkt sich nach dem Herausnehmen aus dem Gefäß. Nach etwa einer Stunde an der Luft (eventuell kann nochmals kurz mit Acetylaceton-Dithizon besprüht werden) bringt man das Doppelsektorfilter einige Minuten in ein Gefäß mit Ammoniakdämpfen. Nun verblaßt die Färbung von Antimon, Selen und Quecksilber. Kadmium und Blei treten stärker hervor (Tabelle 3, S. 80), besonders nach Herausnehmen aus dem Gefäß. Die Empfindlichkeit für Kupfer ist ungefähr gleich in Essigsäure- und Ammoniakdämpfen, vermindert sich aber nach Herausnehmen aus den Ammoniakdämpfen.

Zum separaten Nachweis von Arsen auf dem abgetrennten Sektor geht man wie folgt vor (siehe auch Tabelle 9): In einem kleinen Erlenmeyer mischt man 12,8 ml von Lösung 1 (3 g Ammoniummolybdat gelöst in 255 ml dest. Wasser) und 2,3 ml von Lösung 2 (2,5 ml konz. Salzsäure + 13 ml 70%ige Perchlorsäure + 30 ml dest. Wasser), besprüht damit die Vorderseite des Papierstückes und bringt es hierauf 6 Minuten in einen Trockenschrank (ohne Luftstrom) von 100 ° C. Dabei färbt es sich gelbbraun. Dann besprüht man es auf beiden Seiten mit der Zinn(II)-chloridlösung. Diese wird so hergestellt, daß man zunächst 0,2 g Zinn(II)-chlorid in 5 ml rauchender Salzsäure löst bzw. suspendiert und einige Zeit stehen läßt. Dann gießt man diese Lösung unter gutem Mischen in 250 ml dest. Wasser. Das Arsen erscheint als blauer Bogen auf graugelbem Untergrund. Die Färbung ist sehr beständig.

c) Chromatographie von Lösung III (Zink, Thallium, Eisen, Uran, Chrom)

Die chromatographische Trennung dieser Gruppe erfolgt mit Fließmittel Nr. 3 (für Fe, Zn, U, Cr), ferner Nr. 2 (für Zn und Tl) bzw. Nr. 4 (für Zn, Tl, Pb). Die Dauer der Entwicklung beträgt 3—4 Stunden für Fließmittel Nr. 3 und 4 und 4—5 Stunden für Fließmittel Nr. 2. Dann trocknet man im Trockenschrank mit Ventilator etwa 45 Minuten bei höchstens 40—50 ° C.

Zum Anfärben besteht die Möglichkeit, Zink, Eisen, Chrom und Uran gemeinsam mit Diphenylcarbazid anzufärben (Abbildung 5, S. 75). Dazu besprüht man das Papier auf beiden Seiten mit einer 1%igen Lösung von Diphenylcarbazid in 96%igem Alkohol (Tabelle 9), läßt etwa 30 Minuten bei Zimmertemperatur

trocknen und hängt 1—2 Minuten in Ammoniakdämpfe. Chrom und Uran werden aber nur schwach angefärbt und es dauert 1—2 Tage, bis die volle Farbstärke erreicht ist.

Am besten führt man daher drei verschiedene Färbungen durch, sei es mit dem gleichen Doppelsektorfilter nach zerschneiden in Sektoren, sei es mit verschiedenen Chromatogrammen (notwendig für quantitativen Vergleich mit bekannten Mengen).

Zink und Thallium (Fließmittel Nr. 2) reagieren empfindlich mit Acetylaceton-Dithizon-Ammoniak (Tabelle 3).

Eisen und Uran färbt man mit Kaliumhexacyanoferrat(II). Fließmittel Nr. 3.

Für Chrom (Fließmittel Nr. 3) dient der Nachweis mit Natriumperoxyd-Benzidin, der wie folgt ausgeführt wird: Man gibt ungefähr 1 g festes, gekörntes Natriumperoxyd in das Sprühgefäß, dann 20 ml dest. Wasser und besprüht sofort das Papier auf beiden Seiten. Es soll dabei feucht aber nicht naß werden. Anschließend besprüht man ebenfalls beide Seiten mit der 1%igen Benzidinlösung in Eisessig. Das Chrom (und Chromate) färbt sich dunkelblau auf fast farblosem Grund, jedoch nur für sehr kurze Zeit (1—2 Minuten) und wird dann graubraun.

d) Chromatographie von Lösung IV (Calcium, Strontium, Barium)

ur Trennung der Erdalkalien verwendet man Fließmittel Nr. 4. Zum gemeinsamen Anfärben von Calcium, Strontium und Barium eignet sich Tetraoxychinon-Ammoniak. Das Vorgehen wurde beim Nachweis von Barium in Lösung I beschrieben (S. 94).

Zusammenfassung

Es wird eine Methode beschrieben, um Metallspuren in organischen Farbstoffen nachzuweisen und approximativ zu bestimmen. Man mineralisiert mit rauchender Salpetersäure und Perchlorsäure. Entsprechend dem üblichen qualitativen Analysengang trennt man die Metalle in 4 Gruppen. Die Fällung jeder Gruppe wird in wenig Säure gelöst. Dann erfolgt die papierchromatographische Analyse (Doppelsektorfilter-Radialmethode).

Man prüft 16 künstliche organische Lebensmittelfarben auf 15 Kationen, ermittelt approximativ deren Menge und vergleicht mit den Reinheitsanforderungen. Es wird eine genaue Arbeitsvorschrift angegeben.

Résumé

Description d'une méthode de détection et de dosage approximatif des traces de métaux dans les colorants organiques. Le colorant est minéralisé par l'acide nitrique fumant et l'acide perchlorique, puis les métaux sont séparés en 4 groupes, selon les procédés classiques de l'analyse minérale. Le précipité, obtenu pour chaque groupe, est dissout dans une faible quantité d'acide et la solution qui en résulte est soumise à la chromatographie sur papier.

On a examiné ainsi 15 cations dans 16 colorants organiques artificiels et fait des comparaisons avec les critères de pureté établis.

Summary

Detection and approximate determination of 15 cations in 16 organic synthetic dyes, and comparison of the results with the purity criteria already known.

The dye is treated with fuming nitric acid and perchloric acid; the metals are then separated in the 4 usual groups and each group is examined by means of paper chromatography.

Literatur

Ackermann G.: Mikrochim. Acta 1960, S. 771.
Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften Nr. **115**, 11. 10. 1962, Anhang III, S. 2645.
Barnabas T.: Naturwissenschaften **44**, 61 (1957).
Bock-Werthmann W.: Analytica Chimica Acta **28**, 519 (1963).
Blasius E. und *Göttling W.:* Z. anal. Chem. 162, 423 (1958).
Cramer F.: Papierchromatographie, Verlag Chemie, Weinheim (1958).
Eurotox, Europ. Forschungskomitee für den Schutz der Bevölkerung vor chemisch-toxischen Umweltsschädigungen, Konferenzen 1954—59.
FAO, Normes d'identié et de pureté pour les additifs alimentaires, Vol II, Colorants alimentaires, publié sous les auspices de la FAO, Rome 1963.
FAO/WHO, Comité mixte FAO/OMS d'experts des additifs alimentaires,
Rome, 3—10 décembre 1956, Rapport No 15 (1957),
Genève, 17—24 juin 1957, OMS Rapp. techn. 144 (1958).
Genève, 12—19 décembre 1960, OMS Rapp. techn. 220 (1961),
Genève, 5—12 juin 1961, OMS Rapp. techn. 228 (1962), Rapport No 35, Rome 1964.
Hais I. M. und *Macek K.:* Handbuch der Papierchromatographie, Gustav Fischer Verlag, Jena, Band I (1958).
Hecht G.: Mitteilung 6, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Steiner, Wiesbaden (1957).
Hollemann A. F. und *Richter F.:* Lehrbuch der organischen Chemie, Verlag Walter de Gruyter, Berlin (1940).
Lederer E. und *Lederer M.:* Chromatography, Elsevier Publ. Comp., New York (1957).
Matthias W.: Naturwissenschaften **41**, 17 (1954).
Merck E., AG: Chromatographie unter bes. Berücksichtigung der Papierchromatographie, Darmstadt.
Miller C. C. und *Magee R. T.:* J. chem. Soc. (1951) S. 3183.
Monk R. G.: Analyst 87, 64 (1962).
Pfeil E., Friedrich A. und *Wachsmann Th.:* Z. anal Chem. **158**, 429 (1957).
Sandell E. B.: Colorimetric determination of traces of metals, Interscience Publishers, Inc. New York (1959).
Riesenfeld E. H.: Lehrbuch der anorganischen Chemie, Verlag Franz Deuticke, Wien (1943).
Treadwell F. P.: Lehrbuch der analytischen Chemie, Verlag Franz Deuticke, Leipzig und Wien, Band I (1935).
Traedwell W. D.: Tabellen zur qualitativen Analyse, Verlag Franz Deuticke, Leipzig und Wien (1932).
Woelm-Mitteilungen, Al 9, M. Woelm, Eschwege (1961).