

KfK 5266
Januar 1994

**Bestimmung der
Komplexierungsaktivität
in Oberflächengewässern
mit der Bismut-
Brenzkatechinviolett-Methode**

T. K. Wanke
Institut für Radiochemie

Kernforschungszentrum Karlsruhe

Kernforschungszentrum Karlsruhe

Institut für Radiochemie

KfK 5266

**BESTIMMUNG DER KOMPLEXIERUNGSAKTIVITÄT IN OBERFLÄCHENGE-
WÄSSERN
MIT DER BISMUT-BRENNKATECHINVIOLETT-METHODE**

Thomas Kristjan Wanke

Kernforschungszentrum Karlsruhe GmbH, Karlsruhe

Von der Fakultät für Chemie der Universität Karlsruhe (TH)
genehmigte Dissertation

Als Manuskript gedruckt
Für diesen Bericht behalten wir uns alle Rechte vor

Kernforschungszentrum Karlsruhe GmbH
Postfach 3640, 76021 Karlsruhe

ISSN 0303-4003

mein Dank gilt:

Herrn Prof. Dr. S. H. Eberle für die Stellung
des Themas und die Betreuung der Arbeit,

allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der Abteilung
Wassertechnologie, insbesondere Konstanze Grohmann
und Peter Kollenz, für ihre freundliche
Unterstützung,

dem Kernforschungszentrum Karlsruhe für die
Förderung der Arbeit durch ein Doktorandenstipendium

Zusammenfassung

Es wurde ein Verfahren ausgearbeitet, mit dem sich eine Komplexierungsaktivität in Oberflächenwasser messen läßt. Die chemische Grundlage ist die Farbschwächung bei 580 nm des rotgefärbten Bismut-Brenzkatechinviolett-Komplexes durch in den untersuchten Wasserproben vorhandene Komplexbildner. Ermittelt wird so die "Bismut-Komplexierungsaktivität", kurz BiCA genannt, die der Menge an Bismut-Farbkomplex entspricht, die durch die komplexbildenden Inhaltsstoffe der Wasserprobe umgesetzt wird. Um die Komplexbildner anzureichern sowie störende Anteile der Wasserprobe zu entfernen, ist ein Vorbehandlungsschritt mit einem stark basischen Anionenaustauscher notwendig. Das Verfahren ist geeignet zur Bestimmung einer BiCA zwischen $0.02 \mu\text{mol/l}$ und $1.20 \mu\text{mol/l}$.

Hauptzweck des Verfahrens ist die Erfassung starker synthetischer Komplexbildner, insbesondere der Aminopolycarbonsäuren NTA und EDTA. Durch Zugabe von Yttrium wird erreicht, daß der Beitrag schwacher Komplexbildner zur BiCA zurückgedrängt wird. Die Meßgrößen mit und ohne Yttrium werden als BiCA/mY und BiCA/oY bezeichnet.

Es zeigte sich, daß starke Komplexbildner wie NTA und EDTA eine dem Verhältnis 1:1 entsprechende Umsetzung erreichen, das heißt, deren BiCA entspricht quantitativ der vorliegenden Stoffmenge. Schwächere Komplexbildner, dazu gehören insbesondere natürlich vorkommende organische Säuren, ergeben keinen stöchiometrischen Stoffumsatz. Zum Beispiel führen Oxalsäure, Citronensäure und Weinsäure zu einer 50%-igen, 5%-igen und 0.2%-igen Umsetzung. Durch Zugabe von Yttrium verringert sich deren Beitrag weiter auf 0.3%, 2% und 0.1%. Ganz schwache Komplexbildner wie Glycin sind praktisch ohne Einfluß. Als Grenze, um überhaupt in praxisnahen Konzentrationen zur BiCA beizutragen, kann für den bei der Umsetzung maßgeblichen pH-Wert von 2.2 eine effektive Bildungskonstante mit Bismut von $\log \beta_{\text{ML}}^{\text{eff}} = 5$ angegeben werden; für eine vollständige Umsetzung ist eine $\log \beta_{\text{ML}}^{\text{eff}}$ von mindestens 9.5 notwendig.

Die Anwendung der Methode auf Fließgewässer der Bundesrepublik Deutschland ergab für die BiCA/oY Komplexierungsaktivitäten zwischen $0.16 \mu\text{mol/l}$ (Rheinfelden/Rhein) und $0.54 \mu\text{mol/l}$ (Düsseldorf/Rhein). Die BiCA/mY erreichte Werte zwischen $0.03 \mu\text{mol/l}$ (Rheinfelden/Rhein) und $0.20 \mu\text{mol/l}$ (Gaggenau/Murg). Der Anteil der BiCA/mY an der BiCA/oY lag zwischen 20% und 70%. Berechnungen zur chemischen Speciation von Schwermetallen haben gezeigt, daß vor allem Kupfer durch starke Komplexbildner weitgehend komplexiert wird. Eine für den Rhein typische Kupfer-Konzentration sind $5 \mu\text{g/l}$. Eine BiCA/mY von $0.08 \mu\text{mol/l}$ wäre dann schon ausreichend, daß Cu vollständig komplex gebunden ist.

Gleichzeitig wurde untersucht, welchen Anteil die Komplexbildner NTA und EDTA an der BiCA/mY haben. Dazu wurden die Konzentrationen von NTA und EDTA in den Wasserproben gaschromatographisch nach Derivatisierung zum Ester bestimmt.

Es zeigte sich, daß diese an vielen Probenahmestellen einen Anteil von weit über 50% haben. Im Gegensatz zu diesem Befund waren die Ergebnisse aus Messungen in Wasserproben der Murg, bei denen NTA und EDTA nur einen Anteil von 20% ergaben. Die

Inspektion des Gaschromatogramms zeigte, daß bei höherer Retentionszeit ein weiteres Signal auftritt, das sich im Massenspektrum als Diethylentriaminpentaessigsäure (DTPA) identifizieren ließ. DTPA ist ein starker Komplexbildner vom Typ der Aminopolycarbonsäuren, der bisher noch nie in Oberflächenwasser gefunden worden war. Die quantitative Auswertung ergab in der Murg DTPA-Konzentrationen bis 40 µg/l. In der Vermutung, daß möglicherweise noch andere Aminopolycarbonsäuren vorliegen, deren Auftreten in Oberflächengewässern nicht bekannt ist, wurde das gaschromatographische Verfahren dahingehend entwickelt, daß neben NTA und EDTA noch weitere Komplexbildner simultan erfaßt werden. Dies konnte für die Aminopolycarbonsäuren NTA, EDTA, CDTA, EGTA und DTPA erreicht werden. Die Nachweisgrenze liegt bei 1 µg/l. Die wesentlichen Unterschiede in der Derivatisierung zur bisherigen NTA/EDTA-Bestimmung liegen in der Verwendung von n-Propanol anstelle von n-Butanol und in der Verlängerung der Veresterungszeit auf drei Stunden.

Die Untersuchung der Fließgewässer Rhein, Main, Neckar, Murg und Elbe auf die Aminopolycarbonsäuren ergab für CDTA und EGTA keine nachweisbaren Konzentrationen. Sie scheinen keine breitere Anwendung in Industrie und Haushalt zu finden. Dagegen war EDTA ausnahmslos in allen fünf Fließgewässern mit Konzentrationen zwischen 1 µg/l und 21 µg/l zu messen. NTA war bis auf die Probenahmestellen der Murg auch überall nachweisbar. Die Konzentrationen lagen bei höchstens 8 µg/l und waren stets geringer wie die EDTA-Konzentrationen. Für DTPA gibt es kein so ubiquitäres Vorkommen wie für NTA und EDTA. Es wurde an allen Probenahmestellen der Murg, sonst aber nur noch an Meßstellen an Neckar und Rhein gefunden. Der Eintrag beschränkt sich vermutlich auf industrielle Abwässer, in die DTPA wegen seiner Verwendung als beispielsweise "Bleichmittelstabilisator" gelangt.

Die Anwendung des Kontrollverfahrens zeigt, daß sich die BiCA/mY zwischen durchschnittlich 55% und 80% aus den Komplexbildnern NTA, EDTA und DTPA zusammensetzt. Die Differenz zwischen BiCA/mY und der Summe der Konzentrationen der bestimmten Aminopolycarbonsäuren kann auf größere Mengen schwacher Komplexbildner zurückzuführen sein, die durch Yttrium nicht vollständig maskiert werden. Das sind zum Beispiel niedermolekulare Carbonsäuren oder Huminstoffe. An Probenahmepunkten, an denen eine große Differenz auftritt, muß man die Anwesenheit weiterer, bisher nicht identifizierter, starker synthetischer Komplexbildner in Betracht ziehen.

Determination of the Complexing Activity in Surface Waters with the Bismuth-Pyrocatechol-Violet-Method

Summary

A method for the determination of a complexation activity in natural water was developed. The chemical basis is the decrease in the absorbance at 580 nm of the red-coloured bismuth pyrocatechol violet complex caused by chelating agents. Determined was the 'bismuth complexing activity', called BiCA, which is equivalent to the quantity of bismuth-complex, which was converted by the chelating agents in the water sample. The complex-forming substances are first concentrated on an anion exchange resin. The method is suitable for the determination of a BiCA between $0.02 \mu\text{mol/l}$ and $1.2 \mu\text{mol/l}$. In the interest of the method is the registration of strong synthetic chelating agents such as the aminopolycarboxylic acids NTA and EDTA. For masking weak chelating agents Yttrium is added. In order to distinguish these two measured values, the one without Yttrium is called BiCA/oY, the one with Yttrium is called BiCA/mY.

It was shown, that strong chelating agents like NTA and EDTA were converted stoichiometrically. The BiCA is equivalent to the amount of substance. Natural complex-forming substances such as oxalic acid, citric acid and tartaric acid only lead to a conversion of 50, 5 and 0.2 per cent. By adding Yttrium the influence is reduced to 0.3, 2 and 0.1 per cent. The complex-forming substances affect the results, if their conditional stability constant with bismuth is at least 5 and their reaction is complete at a stability constant of 9.5.

The method was used to examine river water in the federal republic of Germany. The measurements showed a BiCA/oY between $0.16 \mu\text{mol/l}$ (Rheinfelden/Rhine) and $0.54 \mu\text{mol/l}$ (Düsseldorf/Rhine). The BiCA/mY reached values between $0.03 \mu\text{mol/l}$ (Rheinfelden/Rhine) and $0.2 \mu\text{mol/l}$ (Gaggenau/Murg). The BiCA/mY amounted to a value between 20 and 70 per cent of the BiCA/oY.

It was aimed to measure selective the aminopolycarboxylic acids nitrilotriacetic acid (NTA), ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), cyclohexanediaminetetraacetic acid (CDTA), ethyleneglykolbis-(2-aminoethylether)-N,N,N',N'-tetraacetic acid (EGTA) and diethylenetriaminepentaacetic acid (DTPA) selectively and to compare their concentrations with the measured value of the BiCA/mY. This determination is based on the preconcentration on a strong base anion exchange resin, esterification with n-propanol, followed by a gaschromatographic separation using a N-selective detector. The sensitivity of the method, including enrichment, is $1 \mu\text{g/l}$ in river water. The identity was proved by mass spectrometry. The investigation of these chelating agents in the rivers Rhine, Main, Neckar, Murg and Elbe showed, that NTA, EDTA and DTPA are present in most of the samples with concentrations between 1 and $40 \mu\text{g/l}$. CDTA and EGTA were not found. It seems, that there is no broader application existing for CDTA and EGTA.

NTA, EDTA and DTPA amount to values between 55 and 80 per cent of the BiCA/mY. The difference is due to large amounts of weak chelating agents such as carboxylic acids or

humic acids, which were not completely masked by Yttrium. If a big difference is observed, other strong synthetic chelating agents must be taken into consideration.

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
2. Synthetische organische Komplexbildner	4
2.1 Beispiele, Verwendung und Einsatzmengen	4
2.2 Bestimmungsmethoden für Komplexbildner	6
2.2.1 Stoffspezifische Bestimmungsmethoden	6
2.2.2 Summarische Bestimmungsmethoden	8
3. Photometrische Bestimmung von Komplexbildnern auf der Basis von Liganden- austauschreaktionen	10
3.1 Bedingungen für den Metall-Farbkomplex	10
3.1.1 Das Kation	11
3.1.2 Der Farbstoff	12
3.2 Der Bismut-Xylenolorange und Bismut-Brenzkatechinviolett-Komplex	14
3.2.1 Eichkurven und Empfindlichkeit	16
3.3 Stoffumsatz von Bi mit starken synthetischen Komplexbildnern	19
3.4 Einflüsse von Wasserinhaltsstoffen auf die Komplexierungsaktivität	21
3.4.1 Einfluß schwacher natürlicher Komplexbildner	21
3.4.1.1 Maskierung schwacher Komplexbildner mit Yttrium	24
3.4.2 Einfluß anorganischer Wasserinhaltsstoffe	27
3.4.2.1 Kationen	27
3.4.2.2 Anionen	29
3.5 Zusammenfassung	29
4. Anreicherung von Komplexbildnern	31
4.1 Einführung	31
4.2 Sorption der Komplexbildner	33
4.2.1 Berechnung der Speciesverteilung mit AWASA	34
4.3 Elution der Komplexbildner	36
4.4 Einfluß von Schwermetallen	39
4.5 Zusammenfassung	42
5. Durchführung und Arbeitsvorschrift	45
6. Untersuchungen zur stoffspezifischen Bestimmung von Komplexbildnern	47
6.1 Gaschromatographische Bestimmungsmethoden	47
6.1.1 Optimierung der Veresterungszeit der Propylester von NTA, EDTA, CDTA, EGTA und DTPA	48
6.1.2 Identifizierung der Komplexbildner-Derivate mit GC-MS	51
6.1.3 Allgemeine Anwendbarkeit des Verfahrens auf organische Säuren	54
6.1.4 Empfindlichkeit und Genauigkeit	56
6.2 Durchführung und Arbeitsvorschrift	58

7. Messung der Bismut-Komplexierungsaktivität in Fließgewässern der Bundesrepublik Deutschland	60
7.1 Meßprogramm	60
7.2 Messung der BiCA mit und ohne Maskierung schwacher Komplexbildner	60
7.3 Entdeckung des DTPA	63
7.3.1 Untersuchungen an der Murg	63
7.3.2 Sonderuntersuchung zum DTPA in anderen Gewässern	65
7.4 Vergleich der gaschromatographisch bestimmten Aminopolycarbonsäuren-Konzentrationen mit der BiCA	68
7.4.1 Aminopolycarbonsäuren in Fließgewässern	68
7.4.2 Anteil von NTA, EDTA und DTPA an der Bismut-Komplexierungsaktivität ...	70
8. Bewertung	77
9. Anhang	81
9.1 ARBEITSVORSCHRIFTEN	81
9.1.1 Arbeitsvorschrift zur Bestimmung der Komplexierungsaktivität nach der Bismut-Brenzkatechinviolett-Methode	81
9.1.2 Arbeitsvorschrift zur simultanen gaschromatographischen Bestimmung von NTA, EDTA, CDTA, EGTA und DTPA	86
9.2 TABELLEN	92
10. Literaturverzeichnis	101

Abkürzungsverzeichnis

Komplexbildner

ADA	Alanindiessigsäure
ATMP	Amino-tris-methylenphosphonsäure
CDTA	Cyclohexandiamintetraessigsäure
DETMP	Diethylentriaminpentamethylenphosphonsäure
DTPA	Diethylentriaminpentaessigsäure
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EDTP	Ethylendiamintetramethylenphosphonsäure
EGTA	Bis(aminoethyl)-glykoether-N,N,N',N'-tetraessigsäure
HEDP	Hydroxyethan-1,1-diphosphonsäure
HEEDTA	N-(2-Hydroxyethyl)-ethylendiamin-N,N,N'-triessigsäure
ISDA	Isoserindiessigsäure
NTA	Nitrilotriessigsäure
PBTC	2-Phosphono-butan-1,2,4-tricarbonsäure
THPED	N,N,N',N'-Tetrakis(2-hydroxypropyl)-ethylendiamin
TPP	Tripolyphosphat

Probenahmepunkte

BAD	Bad Wimpfen
BIN	Bingen
BON	Bonn
DRE	Dresden
DUE	Düsseldorf
FOR	Forbach
GAA	Gaggenau-Anfang
GAE	Gaggenau-Ende
GEA	Gernsbach-Anfang
GEE	Gernsbach-Ende
HOR	Horb
KAP	Kappel
KRE	Kreuzwertheim
LAD	Ladenburg
LEO	Leopoldshafen
MAG	Magdeburg
MUE	Müllheim
NEG	Neckargemünd
NEU	Neckarsulm
PLE	Pleidelsheim
RAS	Rastatt
RHE	Rheinfelden
ROT	Rottweil
SCH	Schwarzach
WIT	Wittenberg

WOE	Wörth
WOR	Worms

Sonstiges

A_i	Kurvenparameter
B_i	Kurvenparameter
BiCA	Bismut-Komplexierungsaktivität
BiCA/mY	Bismut-Komplexierungsaktivität mit Yttrium
BiCA/oY	Bismut-Komplexierungsaktivität ohne Yttrium
BP	Basispeak, Fragment höchster Masse
BV	Brenzkatechinviolett
c_i	Konzentration
D_i	Kurvenparameter
DOC	dissolved organic carbon
d	Schichtdicke
E	Extinktion
Fs	Farbstoff
FQ	Flächenquotient
F_w	Wiederfindungsgrad
I	Ionenstärke
IS	interner Standard
I_X^Y	Zahl der Atome Y im Molekül X
K	individuelle Bildungskonstante
L	Ligand, Komplexbildner
M	Metall
m	stöchiometrischer Koeffizient
ML_n	einkerniger Komplex
MP	Molekülionen-Peak
MTB	Methylthymolblau
$[M + 1]^{\oplus}$	Molekülionen-Peak mit angelagertem Proton
m/z	Quotient aus Masse und Ladung
n	stöchiometrischer Koeffizient
n_i	Stoffmenge
PAR	Pyridin-(2-azo-4)-resorcin
pK_1	negativer Zehnerlogarithmus der Dissoziationskonstante
U	Umsatz
V_i	Volumen
XO	Xylenolorange
α_H	Verteilungsfunktion bei einem bestimmten pH-Wert
β	Bruttobildungskonstante
β^{eff}	effektive Bildungskonstante, gültig für bestimmten pH-Wert
ϵ^{λ}	Extinktionskoeffizient bei der Wellenlänge λ
λ	Wellenlänge
σ	Standardabweichung

1. Einleitung

In Oberflächengewässern kommt eine Vielzahl "natürlicher" komplexbildender Stoffe vor. Dazu gehören anorganische Anionen (Cl^- , OH^- , CO_3^{2-} , SO_4^{2-} , S^{2-} , usw.) beziehungsweise Neutalmoleküle wie NH_3 , sowie im besonderen organische Stoffe wie Huminstoffe (Huminsäuren, Fulvinsäuren), Aminosäuren und Polycarbonsäuren.

In anthropogen belasteten Gewässern kommt eine weitere Komplexbildnergruppe hinzu, welche in der Regel die komplexierende Wirkung der genannten natürlichen Komplexbildner bei weitem übertrifft: die synthetischen organischen Komplexbildner. Zwei typische Beispiele sind die Nitrilotriessigsäure (NTA) und die Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA). Durch die Verwendung in der Industrie und in an sich kleinen Anteilen in industriellen Produkten für den Haushalt, zum Beispiel in Wasch- und Reinigungsmitteln, kommt es zu erheblichen Frachten in den Gewässern. Diese im allgemeinen schwer abbaubaren Substanzen können tiefgreifende Störungen der aquatischen Ökosysteme hervorrufen. Dabei liegt die Gefahr weniger in der akuten und chronischen Toxizität der Stoffe selbst, als vielmehr in ihrer komplexierenden Wirkung. Wenn solche Stoffe in ein Gewässer gelangen, kann es zu einer Remobilisierung von Schwermetallen aus dem Sediment kommen. Andererseits können auch Schwermetalle in Anwesenheit von Komplexbildnern am Ausfallen gehindert werden und in gelöster Form Kläranlagen passieren. Das chemische Verhalten der komplexierten Metalle ist in vieler Hinsicht anders als das der "freien" Ionen, sie sind allgemein gesehen wesentlich "mobiler" und wirken deswegen sehr häufig schneller und oft intensiver.

Wie Modellrechnungen für ein Rheinwasser zeigen, ist die chemische Speciation der im Wasser gelösten Kationen bereits durch NTA-Konzentrationen von $100 \mu\text{g/l}$ wesentlich verändert. Zum Beispiel liegt 50% des Zink und nahezu vollständig Blei, Nickel und Kupfer als NTA-Komplexe vor (29). Laboruntersuchungen mit verschiedenen Sedimenten ergaben, daß bei dieser NTA-Konzentration (bei vollständiger Durchmischung mit dem Sediment) bereits auch Remobilisierungseffekte für Nickel, Kupfer, Cadmium und Blei beobachtet werden. (12).

Der Einsatz starker synthetischer Komplexbildner wird in der Bundesrepublik Deutschland besonders seit der Phosphathöchstmengenverordnung vom 4. Juni 1980 kritisch untersucht. Die Begrenzung des Phosphatanteils in Wasch- und Reinigungsmitteln machte die Zugabe von Phosphatersatzstoffen notwendig. Das Phosphat übt in den Waschmitteln verschiedene Wirkungen aus. Es dient zur Härtestabilisierung, komplexiert Schwermetalle und besitzt zudem eine gewisse Waschaktivität. Das anfänglich verwendete Zeolith A hat nur Ca- und Mg-bindende Wirkung. Als weiterer Ersatzstoff stand vor allem NTA zur Diskussion, das in der Schweiz und Kanada schon seit den 70er Jahren in Wasch- und Reinigungsmitteln verwendet wird. Es erwies sich als geeignet, weil es alle Funktionen des Phosphats übernehmen kann. Zur Klärung der eventuellen Auswirkungen von NTA auf die aquatische Umwelt wurde 1981 von der Fachgruppe Wasserchemie - beauftragt durch den Bundesminister des Innern - eine Studie über "Die aquatische Umweltverträglichkeit von NTA" durchgeführt (50). Die Studie kam zu dem Schluß, daß ein begrenzter Einsatz von NTA tolerierbar ist. Eine Menge von 25000 t/Jahr, was einem Anteil in Waschmitteln von ca. 3% entspricht, sollte allerdings nicht überschritten werden.

Tatsächlich zeigte sich aber, daß die Industrie erheblich weniger NTA einsetzte und Zeolith A in Kombination mit Phosphonsäuren und Polycarboxylaten den Vorzug gab.

Die 1983 eingeleiteten Monitoring-Programme für NTA führten zur Entdeckung des EDTA, das mittlerweile mit Konzentrationen zwischen 5 und 100 µg/l als die organische Einzelsubstanz mit der höchsten Konzentration in deutschen Oberflächengewässern bezeichnet wird (21), (42). Die über das Jahr gemittelte EDTA-Fracht im Rhein an der Meßstelle Lobith an der holländischen Grenze ergab für 1991 900 t. Das heißt, täglich verlassen im Durchschnitt fast 3 t EDTA im Rheinwasser die Bundesrepublik Deutschland (17). EDTA ist im Vergleich zu NTA ein noch stärkerer Komplexbildner und sehr schlecht biologisch abbaubar. Wegen der Bedenklichkeit des EDTA hat das Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit (BMU) eine Erklärung am 31.7.1991 herausgegeben (18), mittelfristig (ca. 5 Jahre) in Zusammenarbeit mit der Industrie eine Halbierung der EDTA-Belastung in oberirdischen Gewässern anzustreben. Dazu ist die Industrie aufgefordert, Ersatzprodukte für EDTA, die aus ökologischer Sicht günstiger zu bewerten sind, zum Beispiel im Hinblick der Abbaubarkeit, zu entwickeln.

Das macht den Wunsch auf Seite der Wasseruntersuchungsämter verständlich, Bestimmungsmethoden für Komplexbildner in Oberflächengewässern zu haben, mit denen diese gruppenspezifisch bestimmt werden. Mit solchen summarischen Methoden lassen sich Gewässer bzgl. ihrer Komplexbildneraktivität bewerten, ohne die Komplexbildner explizit kennen zu müssen.

Summenparameter sind in der Charakterisierung der Qualität eines Wassers von großer Bedeutung (16). Man denke zum Beispiel an den Gehalt an Kohlenstoff entweder als gesamter organischer Kohlenstoff (TOC: total organic carbon) oder gelöster organischer Kohlenstoff (DOC: dissolved organic carbon), den biochemischen Sauerstoffbedarf (BSB_n) oder an die Konzentration an adsorbierbaren organischen Halogenverbindungen (AOX).

Eine stoffgruppenspezifische Nachweismethode muß eine Eigenschaft der Substanzklasse ausnutzen, die allen Vertretern gemeinsam ist. Bei Komplexbildnern ist das die Fähigkeit, mit Kationen Komplexe zu bilden. Eine summarische Bestimmung für Komplexbildner wird also die komplexierende Wirkung auf ein Kation messen. Die bis jetzt bekannten Methoden verwenden weitgehend dasselbe analytische Prinzip: Die Probe wird mit einem Überschuß eines Kations versetzt und der Grad der Umsetzung ermittelt (31). Methodenunterschiede bestehen lediglich in der Bindungsform des angebotenen Kations und in der analytischen Endbestimmung. Es war allerdings noch kein Verfahren bekannt, daß die Messung einer Komplexbildneraktivität im µg/l - Bereich zuließ.

Ziel vorliegender Arbeit war es daher, eine Methode auszuarbeiten, mit der sich eine Komplexbildneraktivität in diesem Konzentrationsbereich in Oberflächengewässern messen läßt. Bei der Entwicklung war von besonderer Bedeutung, daß sich die Komplexbildneraktivität maßgeblich aus den Anteilen starker synthetischer Komplexbildner zusammensetzt. Vor allem die bekannten Komplexbildner NTA und EDTA sollten vollständig erfaßt werden. Eine weitere Forderung an das Verfahren war es, einfach zu sein, damit der experimentelle Aufwand möglichst gering blieb. Es wurde daher nach photometri-

schen Meßverfahren gesucht, wie zum Beispiel die für Abwasser bekannte Bismut-Xylenorange-Methode, deren Empfindlichkeit aber eine Größenordnung zu klein ist.

Die ausgearbeitete Methode beruht auf einem Bismut-Farbkomplex, der durch anwesende Komplexbildner umgesetzt wird. Die analytische Bestimmung des Bismuts erfolgt photometrisch. Zur Anreicherung werden die Komplexbildner vorher auf einem Anionenaustauscher sorbiert. Das Verfahren wurde an Fließgewässern der BRD angewendet und mit einem Kontrollverfahren, das mehrere Komplexbildner substanzspezifisch bestimmt, verglichen.

2. Synthetische organische Komplexbildner

2.1 Beispiele, Verwendung und Einsatzmengen

Eine kaum quantifizierbare Menge chemischer Produkte, die in der Industrie, im Gewerbe und zum Teil auch im Haushalt verwendet werden, enthalten starke synthetische organische Komplexbildner. In Tabelle 1 sind einige Beispiele zusammengestellt. Diese technisch genutzten Chelatbildner lassen sich nach ihren Ligandgruppen in die Stoffklasse der Amine (z.B. Quadrol), der Aminopolycarbonsäuren (z.B. NTA) und Phosphonsäuren (z.B. ATMP) einteilen. Die koordinative Bindung wird über O- und N-Atome eingegangen. Die Amine besitzen nur N als Ligandatome, während die Aminopolycarbonsäuren N- und O-Atome in Form der $-N-CH_2-COOH$ -Gruppierung tragen. Die Ligandgruppe bei den Phosphonsäuren ist die PO_3H_2 -Gruppe (HEDP), bei der auch das O-Atom als Ligandatom fungiert. In der PBTC sind Phosphonsäuregruppe und Carboxylgruppen kombiniert. Häufiger sind aber stickstoffhaltige Aminophosphonsäuren (z.B. ATMP) mit der $-N-CH_2-PO_3H_2$ -Gruppierung.

Die genannten Komplexbildner haben bei ihrer Verwendung im wesentlichen die Aufgabe, in wässrigen Lösungen Ausfällungen von Ca-, Mg- und Schwermetallsalzen zu verhindern oder störende Schwermetallkationen zu maskieren. Sie unterscheiden sich in ihrer Wirkung durch unterschiedliche Stabilitätskonstanten der Metallkomplexe. Darüberhinaus verfügen sie oftmals über zusätzliche Wirkungen und sind deswegen in vielen Produkten nicht beliebig austauschbar. Zum Beispiel zeigen Phosphonsäuren (ATMP, HEDP) im Gegensatz zu Aminopolycarbonsäuren (NTA, EDTA) den Thresholdeffekt (4), (61). Das heißt, sie können selbst bei unterstöchiometrischem Einsatz ein Ausfallen von Ca- und Mg-Salzen verzögern. Diese Wirkung beruht auf ihrer Adsorption an den Kristallkeimen, was ein weiteres Kristallwachstum verlangsamt. Phosphonsäuren werden daher oft zur Härtestabilisierung in Kühlkreisläufen verwendet.

Adsorptive Effekte bestimmter Komplexbildner verbessern auch die Schmutzablösung an Grenzflächen und verhindern Ablagerungen auf Textilien. Komplexierende und adsorptive Eigenschaften verbindet in idealer Weise das Pentanatriumtriphosphat (anorganischer Komplexbildner). Wegen der Phosphathöchstmengenverordnung wird es heute in den meisten Waschmitteln nicht mehr verwendet. Als ein Ersatzstoff wird heute in der BRD meistens Zeolith A verwendet (35), (42), (4), (5), ein Natrium-Aluminium-Silikat, welches Ca und Mg durch Ionenaustausch eliminiert. Da Zeolith A aber keine Waschaktivität besitzt, müssen noch weitere Komponenten, wie Phosphonsäuren und Polycarboxylate (keine Komplexbildner!), dem Waschmittel zugegeben werden (35), (42).

Von allen Aminopolycarbonsäuren wird EDTA wohl die breiteste Verwendung haben (61), (35), (39). Von der Industrie wird für 1991 allein für die BRD eine Absatzmenge von 5089 t angegeben (67). Davon wird nach deren Angaben ca. die Hälfte exportiert, der Rest gelangt in deutsche Abwässer.

Tabelle 1. Typenbeispiele für starke synthetische Komplexbildner:

Chemische Bezeichnung	Kurzbezeichnung	Handelsname	Ligandgruppe
Nitrilotriessigsäure	NTA	Titriplex I, Idrenal I, Trilon B	$N - CH_2 - COOH$
Ethylendiamintetraessigsäure	EDTA	Titriplex II, Idrenal II	$N - CH_2 - COOH$
Cyclohexandiamintetraessigsäure	CDTA	Titriplex IV, Idrenal IV	$N - CH_2 - COOH$
Bis(aminoethyl)glykolether-N,N,N',N'-tetraessigsäure	EGTA	Titriplex VI, Idrenal VI	$N - CH_2 - COOH$
Diethylentriaminpentaessigsäure	DTPA	Titriplex V, Idrenal V	$N - CH_2 - COOH$
N-(2-Hydroxyethyl)ethylendiamin-N,N,N'-triessigsäure	HEEDTA	Titriplex VII	$N - CH_2 - COOH$
Amino-tris-methylenphosphonsäure	ATMP	Dequest 2000	$N - CH_2 - PO_3H_2$
Hydroxyethan-1,1-diphosphonsäure	HEDP	Dequest 2010, Turpinal SL	$- PO_3H_2$
Ethylendiamintetramethylenphosphonsäure	EDTP	Dequest 2041, Turpinal SL	$N - CH_2 - PO_3H_2$
Diethylentriaminpentamethylenphosphonsäure	DETMP		$N - CH_2 - PO_3H_2$
N,N,N',N'-Tetrakis(2-hydroxypropyl)-ethylendiamin	THPED	Quadrol	$N - CH_2 - CHOH -$
2-Phosphonobutan-1,2,4-tricarbon-säure	PBTC	Bayhibit AM	$- PO_3H_2, - COOH$
*) Alanindiessigsäure	ADA		$N - CH_2 - COOH$
*) Isoserindiessigsäure	ISDA		$N - CH_2 - COOH$
Anmerkung: *) nicht käuflich, in der Erprobung als Phosphatersatzstoff			

Die mengenmäßig größte Verwendung findet EDTA in Wasch- und Reinigungsmitteln und in der Photoindustrie (Tabelle 2). Entgegen einer weit verbreiteten Ansicht wird es in Wasch- und Reinigungsmitteln nicht zum Binden von Ca und Mg verwendet, sondern zur Stabilisierung von Natriumperborat (35). Durch Spuren von Schwermetallen wie Fe, Mn und Cu, die sich sowohl im Waschmittel selbst als auch in der Waschlösung befinden, würde sonst eine frühzeitige katalytische Zersetzung hervorgerufen. In der Photoindu-

strie wird EDTA in Entwickler- und Fixierbädern eingesetzt und dient auch zur Vermeidung des Grauschleiers auf Bildern. In der Textilindustrie werden große Mengen EDTA zur Komplexbildung der Härtebildner aus der Rohbaumwolle eingesetzt. Bei Färbeprozessen von synthetischen und natürlichen Fasern werden bei Anwesenheit von EDTA Farbfehler vermieden. Die Papierindustrie benutzt Komplexbildner bei der reduktiven (Bisulfit) und oxidativen (Peroxid) Bleiche. In der Metallindustrie wird EDTA bei Galvanikbetrieben, Leiterplattenherstellern, Gleitschleifereien, Beizereien und Härtereien benutzt. Bei der Anwendung in Pharmazeutika, Kosmetika und Nahrungsmitteln konserviert EDTA die Erzeugnisse durch Verhinderung der metallkatalytischen Oxidation von olefinischen Doppelbindungen. In der Landwirtschaft wird durch Zugabe von EDTA in Düngemitteln die Verfügbarkeit von Eisen für Pflanzen verbessert.

Tabelle 2. Verteilung der Absatzmenge von EDTA im Jahre 1991: Die Angaben beziehen sich auf die BRD. Die Absatzmenge betrug nach Angaben der chemischen Industrie 5089 t (67).

Anwendungsgebiet	Anteil in %
Wasch- und Reinigungsmittel für den Haushalt	4
Reinigungsmittel für Industrie und Gewerbe	16
Fotochemikalien	32
Textilindustrie	3
Papierindustrie	3
Galvanoindustrie	10
Landwirtschaft	2
Kosmetik	4
Wasserbehandlung	0.2
Sonstiges	25.8

2.2 Bestimmungsmethoden für Komplexbildner

Die Analytik von Komplexbildnern läßt sich in zwei Klassen einteilen:

1. **Stoffspezifische** Bestimmung des einzelnen Komplexbildners
2. **Summarische** Bestimmung über die Komplexbildungsfähigkeit

2.2.1 Stoffspezifische Bestimmungsmethoden

Für die Einzelbestimmung sind eine Reihe analytischer Methoden bekannt: Hochdruckflüssigkeitschromatographie (36), (43), Ionenchromatographie (64), (57), potentiometrische Titration (30), Polarographie (1), Gaschromatographie (42), (48), (54), (52), (19), (41).

Die meisten Methoden beschränken sich auf die Bestimmung von NTA und EDTA. Hier konnten vor allem Frimmel et al. (21) zeigen, daß für die Bestimmung dieser Komplexbildner in Oberflächengewässern gaschromatographische Techniken am geeignetsten

sind. Dazu werden die Komplexbildner verestert und die Derivate nach gaschromatographischer Trennung mit Flammenionisationsdetektoren, stickstoffselektiver Detektion oder Massenspektrometrie bestimmt. Die Nachweisgrenze liegt bei ca. $1 \mu\text{g/l}$ in Oberflächenwasser. Frimmel et al. (21) haben nach dieser Methode in einigen wichtigen Fließgewässern der Bundesrepublik Deutschland NTA und EDTA gemessen. Die Konzentrationen lagen zum Beispiel im Rhein (Abbildung 1) für NTA zwischen ca. 1 und $3 \mu\text{g/l}$, für EDTA zwischen ca. 10 und $30 \mu\text{g/l}$.

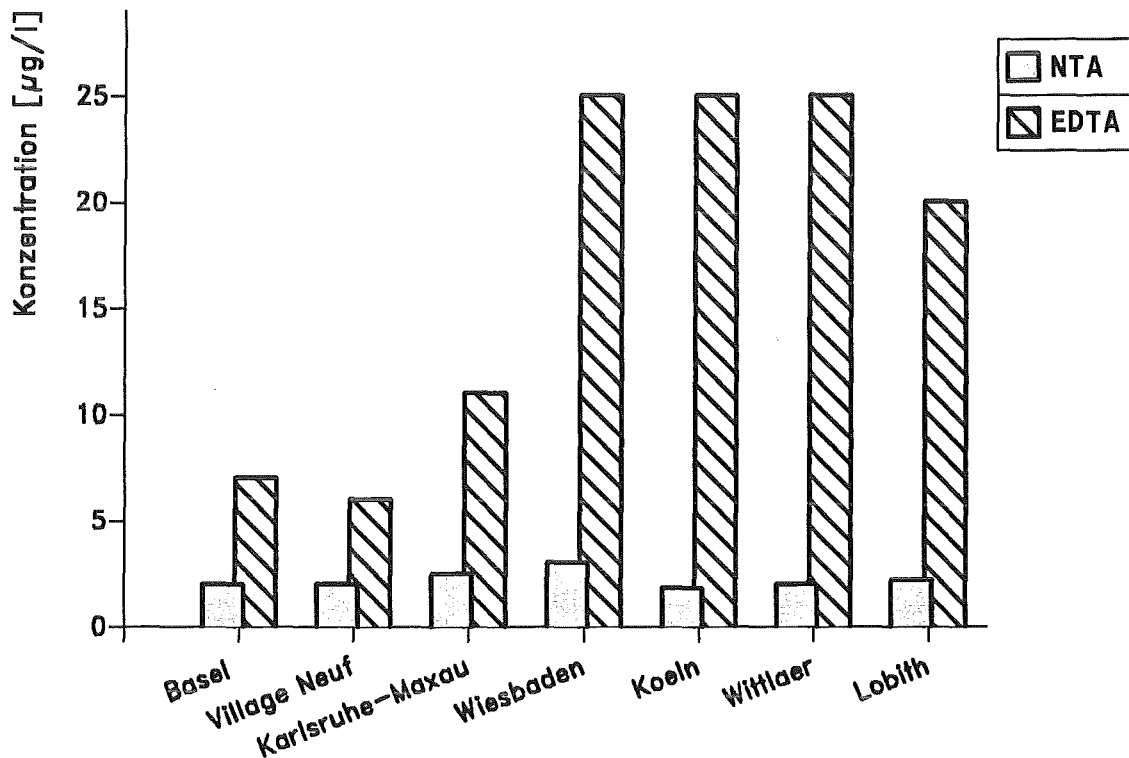


Abbildung 1. Konzentrationsverlauf für NTA und EDTA im Rhein: Die Werte beruhen auf Messungen von Frimmel et al. (21) im Oktober 1986.

Über die Methode der Polarographie können Metall-NTA, -EDTA-Komplexe oberhalb etwa $25 \mu\text{g/l}$ bestimmt werden, in denen Cadmium, Bismut, Blei oder Indium als Komplexkerne fungieren. Der Vorteil der polarographischen Methode im Vergleich zur Gaschromatographie liegt in der raschen Durchführbarkeit.

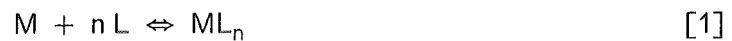
Die umfassendste Bestimmungsmethode für Komplexbildner ist die Ionenchromatographie. Hiermit lassen sich bei den geeigneten Bedingungen praktisch alle Vertreter der Aminopolycarbonsäuren und Phosphonsäuren spezifisch bestimmen. Benutzt wird dazu ein speziell von Dionex entwickeltes Anionenaustauschermaterial (64). Detektiert werden die Komplexbildner über "post column derivatization" mit Fe^{3+} und Messung der UV-Komplexabsorption. Speziell bei Phosphonsäuren ist die "post column oxidation" zu Orthophosphat und dessen Detektion als Molybdatophosphorsäure beschrieben (69). Einziger aber entscheidender Nachteil ist die geringe Sensitivität. Wegen der unemp-

findlichen Detektorsysteme liegt die Nachweisgrenze bei 1 mg/l der Wasserprobe. Zur Bestimmung von Komplexbildnern in Oberflächengewässern ist die Methode daher ungeeignet.

Zusammenfassend läßt sich also sagen, daß zur Bestimmung von Komplexbildnern im $\mu\text{g/l}$ -Bereich nur gaschromatographische Techniken existieren. Diese beschränken sich aber auf die Komplexbildner NTA und EDTA.

2.2.2 Summarische Bestimmungsmethoden

Grundlage aller summarischen Bestimmungsmethoden für Komplexbildner ist die Komplexbildungsfähigkeit (14), (31), (49), (32), (21), (13), (38). Dazu wird die Probe mit einem Überschuß eines Kations versetzt und dessen Umsetzungsgrad gemessen:



M = Kation
L = Komplexbildner

Die Methoden unterscheiden sich in der Art des Kations, in seiner Bindungsform, den äußeren Reaktionsbedingungen (vor allem pH-Wert) und der analytischen Endbestimmung.

Grundsätzlich lassen sich folgende Fälle unterscheiden:

1. Polarographische Methoden, Ionenspezifische Elektroden

Das Kation wird in freier Form zugegeben und die Konzentration an unkomplexiertem Metall neben komplexiertem Metall bestimmt. Als Kation wird meistens Cu^{2+} verwendet (58), (25).

2. Schwerlösliche Bodenkörper

Das Kation wird der Wasserprobe als schwerlöslicher Bodenkörper zugegeben. Als Bodenkörper werden $\text{Cu}_3(\text{PO}_4)_2$ und $\text{Cu}(\text{OH})_2$ verwendet. Die Komplexbildungsaktivität entspricht der Zunahme an Cu^{2+} und wird durch Atomabsorption gemessen (38), (21), (32), (31), (14).

3. Ligandenaustauschreaktion

Bei Ligandenaustauschreaktionen wird das Kation in Form eines Farbkomplexes eingesetzt, der durch Reaktion des Kations mit den zu bestimmenden Komplexbildnern zerlegt wird. Der Umsetzungsgrad wird durch eine photometrische Messung ermittelt. Zu nennen ist hier der Zink-Zincon-Komplex (63) und der Bismut-Xylenolorange-Komplex (6).

4. Ionenaustauschreaktionen

Es werden natürliche oder synthetische Kationenaustauscher benutzt, bei denen sich ein Gleichgewicht zwischen den komplexierten Kationen in der Lösung und den auf dem Austauscher sorbierten Kationen einstellt. Die analytische Bestimmung der

gelösten Kationen erfolgt mit Atomabsorption, Polarographie oder Atomemission und ist proportional der Komplexbildneraktivität (66), (13).

5. **Biologische Methoden**

Das Kation wird in freier Form zugesetzt und der Komplexbildungsgrad am Wachstum von Bakterien oder Algen verfolgt (26). Die Anwesenheit von Komplexbildnern kann dieses Wachstum beschleunigen oder verlangsamen. Um eine Aussage zum Komplexbildungsgrad machen zu können, müssen daher parallel Versuche mit Referenzsubstanzen ausgeführt werden.

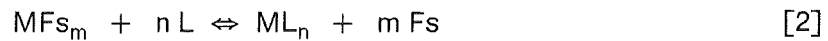
Die beschriebenen summarischen Bestimmungsmethoden kann man in zwei grundsätzlich verschiedene Arten einteilen: Zum einen die reine Wirkungsmessung, bei der kein durch eine Reaktionsgleichung beschreibbarer Zusammenhang zwischen der zu ermittelnden Stoffkonzentration und der Meßgröße besteht. Hierzu gehören praktisch alle biologischen Methoden. Die andere Art ist, daß die Meßgröße mittels einer Reaktionsgleichung zustande kommt und man eine definierte chemische Species mißt. Das trifft auf die restlichen oben genannten Methoden zu. In diesem Fall kann der Stoffumsatz 100% sein und es liegt dann eine normale chemische Stoffmengenanalyse vor. Die gemessene Konzentration ist gleich oder mit einem festen ganzzahligen Verhältnis proportional zur vorliegenden Konzentration des Komplexbildners. In vielen Fällen wird es jedoch so sein, daß der Umsatz nicht 100% ist, so daß die Konzentration des meßbaren Reaktionsprodukts kleiner als die Gesamtkonzentration des zu messenden Komplexbildners ist. Der Umsatzgrad wird dann durch die Reaktionsbedingungen bestimmt. In dieser Hinsicht sind die summarischen Methoden grundsätzlich anders zu beurteilen, als die normalen chemischen Analysenmethoden, die darauf optimiert sind, die Gesamtkonzentration der zu bestimmenden Species zu erfassen.

Das besondere an den summarischen Methoden ist nun, daß sie nicht nur für einen Stoff ein Signal geben, sondern für eine Gruppe von Stoffen, die zwar in Bezug auf die Meßreaktion chemisch verwandt sind, aber deren Zusammensetzung man nicht kennt. Man kann dann nur die Menge der Indikatorsubstanz, zum Beispiel das Kation, angeben. Wenn der Umsatz 100% ist, und alle Reaktionen die Stöchiometrie 1:1 hätten, dann wäre eine Angabe in "mol Stoffe, die mit dem Indikator in der Stöchiometrie 1:1 reagieren" möglich. Diese Voraussetzung ist bei Komplexbildnermischungen vermutlich nie gegeben. Daher liefern alle diese Methoden Meßgrößen, die nur selten mit ausreichender Sicherheit der Gesamtkomplexbildnerkonzentration entsprechen. Sie stellen einen Reagenzverbrauch dar, also eine Wirkungsgröße.

Ziel der Ausarbeitung von solchen summarischen Methoden ist es natürlich, daß diejenigen Konzentrationen der Stoffe, die ermittelt werden sollen, einen 100%-igen Umsatz ergeben. Dann ist das Ergebnis die Obergrenze der zu bestimmenden Komplexbildner. Das ist für das Gewässer-Monitoring eine tragbare Einschränkung der Aussagekraft.

3. Photometrische Bestimmung von Komplexbildnern auf der Basis von Ligandenaustauschreaktionen

Das Prinzip ist, daß ein Metall-Farbkomplex durch anwesende Komplexbildner umgesetzt wird und sich dadurch die Färbung der Lösung ändert:



M = Kation
Fs = Farbstoff
L = Komplexbildner

Die Konzentration des Farbkomplexes wird photometrisch bestimmt. Die Differenz zur Anfangskonzentration des Metall-Farbkomplexes, das heißt die bei der Reaktion "umkomplexierte" Stoffmenge des Metallkations wird als Komplexierungsaktivität definiert.

3.1 Bedingungen für den Metall-Farbkomplex

Grundlage für eine photometrische summarische Bestimmungsmethode starker Komplexbildner ist der Metall-Farbkomplex. Zusammen mit der Anreicherungsmethode wird die Wahl des Metall-Farbkomplexes maßgeblich bestimmen, welches "Fenster" komplexierender Wasserinhaltsstoffe erfaßt wird. Ein weiterer Faktor sind die Reaktionsbedingungen, im besonderen der pH-Wert, die aber oftmals mit der Wahl des Farbkomplexes eingegrenzt sind.

Der Metall-Farbkomplex wird durch einen in der Regel farbigen Komplexbildner (Ligand, Chelatbildner) und ein Kation gebildet. Zur Abgrenzung von den Komplexbildnern, die bestimmt werden sollen, wird er ab jetzt einfach als Farbstoff (Fs) bezeichnet.

Im folgenden sind die Bedingungen aufgeführt, an denen sich die Auswahl des Kations und des Farbstoffs orientierte. Das Ziel war, mit dem Farbkomplex starke synthetische Komplexbildner in einer Wasserprobe möglichst quantitativ zu erfassen und schwache natürliche Komplexbildner möglichst von der Komplexierungsaktivität auszuschließen. Man muß sich allerdings von vornherein darüber klar sein, daß es den "idealen" Farbkomplex nicht gibt. Zwischen den beiden Extremfällen, nämlich den starken Komplexbildnern, die einen Stoffumsatz im Verhältnis 1:1 erreichen und den ganz schwachen Komplexbildnern, die selbst bei hoher Konzentration keine Umsetzung bewirken, wird es immer ein ausgeprägtes Übergangsbereich geben.

1. Das Kation muß starke Komplexe bilden. Damit ist gewährleistet, daß Komplexbildner in einer Wasserprobe, die bereits an anderen Metallen M^* gebunden sind, auch erfaßt werden.

$$\beta_{ML} > \beta_{M^*L}$$

2. Das Metall darf nicht in störenden Konzentrationen in natürlichen Wasserproben vorkommen.
3. Um den Metall-Farbkomplex umsetzen zu können, muß die Bildungskonstante zwischen Metall M und Farbstoff Fs kleiner sein, als die Bildungskonstante der zu bestimmenden Komplexbildner L mit dem Metall.

$$\beta_{MFs} \ll \beta_{ML}$$

4. Der Farbstoff muß unter den Arbeitsbedingungen selektiv für das Metall sein, um eine Interferenz durch andere in der Wasserprobe vorhandene Kationen auszuschließen.
5. Für eine niedrige Nachweisgrenze sollte der Metall-Farbkomplex einen großen Extinktionskoeffizienten besitzen.

3.1.1 Das Kation

Die Eignung des Kations richtet sich nach den Bedingungen 1 und 2. Es kommen also nur Metalle in Frage, die in natürlichen Gewässern geochemisch bedingt nicht in störenden Konzentrationen vorkommen und weiterhin eine so starke Komplexbildungstendenz besitzen, daß sie andere Kationen aus ihren Komplexen verdrängen können. Die Berechnung der Speciation von NTA in einem Rheinwasser ergab, daß NTA bis ca. 100 µg/l hauptsächlich als Schwermetall-Komplex vorliegt; bei 100 µg/l zu mehr als 75%. Darüber nimmt der Anteil des Ca(NTA)⁻-Komplexes an der Komplexbildnerkonzentration zu; er beträgt bei 1 mg/l NTA ca. 85% (29). Um diese NTA-Speciation zu erfassen, muß das "Nachweisreagenz" um einige Größenordnungen stabilere Komplexe bilden.

In der Regel bilden drei- und vierwertige Kationen stärkere Komplexe als ein- und zweiwertige. Das ist aber nur eine grobe Richtlinie, weil es auch Ausnahmen gibt, also Komplexbildner, die gerade mit zweiwertigen Kationen stabilere Komplexe bilden als mit dreiwertigen. Ein Beispiel dafür ist das 1,10-Phenanthrolin, welches zweiwertiges Eisen stärker komplexiert als dreiwertiges. Aber gerade für die Aminopolycarbonsäuren oder auch Phosphonsäuren, deren Bestimmung mit dem Verfahren von Interesse ist, trifft die Regel zu. In Tabelle 3 sind die Bildungskonstanten einer ganzen Reihe von Metallen mit EDTA angegeben. Während die ein- und zweiwertigen Alkali- und Erdalkali- EDTA-Komplexe Bildungskonstanten von höchstens 10¹⁰ aufweisen, besitzen zweiwertige Übergangsmetalle Bildungskonstanten von 10²⁰. Sehr hohe Bildungskonstanten von bis zu 10³⁰ haben drei- und vierwertige Kationen, wie Fe³⁺, Bi³⁺ und Zr⁴⁺. Diese Tendenz der Komplexstabilitäten zeigen auch andere Aminopolycarbonsäuren oder auch Phosphonsäuren.

Von den Metallen mit den höchsten Bildungskonstanten schien das dreiwertige Bi-Kation am besten geeignet. Gegenüber Fe³⁺ hat es den Vorteil, nicht oder zumindest nur in sehr geringen Konzentrationen in natürlichen Gewässern vorzukommen. Eisen ist als viert häufigstes Element der Erdkruste, das am weitesten verbreitete Schwermetall. Zr⁴⁺ hat den Nachteil, außerordentlich leicht Hydrolyseprodukte zu bilden, so daß man bei noch niedrigeren pH-Werten als im Falle des Bi³⁺ arbeiten muß. Die effektiven Bildungskon-

stanten vieler schwächerer Komplexbildner sind dann so klein, daß sie nicht mehr in der Lage sind, mit Zr^{4+} stabile Komplexe zu bilden.

Die Verwendung von Bi als "Nachweisreagenz" für Komplexbildner ist bereits in einer summarischen Bestimmungsmethode, dem Bismut-Xylenorange-Verfahren (6) und in der polarographischen NTA- und EDTA-Bestimmung (1) realisiert. Es ist anzunehmen, daß die Autoren aus den gleichen Gründen Bismut als Kation wählten.

Tabelle 3. Bildungskonstanten für EDTA: Sie sind (45) entnommen und gelten für $I = 0.1$ mol/l und $T = 25^{\circ}C$ bezogen auf das Gleichgewicht ML/M.L

Kation	$\log \beta$	Kation	$\log \beta$	Kation	$\log \beta$
K^{+}	0.8	Zn^{2+}	16.44	Ga^{3+}	20.3
Na^{+}	1.64	Al^{3+}	16.50	Hg^{2+}	21.5
Ba^{2+}	7.80	Pb^{2+}	17.88	In^{3+}	24.9
Mg^{2+}	8.83	Y^{3+}	18.08	Fe^{3+}	25.0
Ca^{2+}	10.61	Ni^{2+}	18.52	Bi^{3+}	27.8
Fe^{2+}	14.27	Cu^{2+}	18.70	Zr^{4+}	29.4

3.1.2 Der Farbstoff

Es war nun die Aufgabe einen Farbstoff für Bismut zu finden, der die Bedingungen aus Abschnitt 3.1 erfüllte. Bismut-selektive Farbstoffe werden bei Schwarzenbach (59), Pribil (51), Fries (20) und Umland (65) beschrieben. Vor allem Umland gibt einen guten Überblick für analytische Aufgaben am besten geeignete Farbstoffe und hat ihre Verwendung kritisch untersucht.

Als B-Kation (s. auch Abschnitt 3.4.1.1) reagiert Bismut bevorzugt mit Komplexbildnern, die Schwefel als Ligandatom enthalten (65). Dazu gehören das Dithizon und Diethyldithiocarbamidat. Besonders das Dithizon ist ein sehr empfindliches Reagenz für Bismut (Tabelle 4).

In der Arbeitsvorschrift zur Bestimmung von Bismut mit Dithizon und Diethyldithiocarbamidat wird ein Überschuß an EDTA zur Maskierung anderer Metalle eingesetzt. Daraus läßt sich schließen, daß selbst so ein starker Komplexbildner wie EDTA in Gegenwart von Dithizon oder Diethyldithiocarbamidat nur in untergeordnetem Maße Bismut komplexieren kann, womit sie als Reagenzien zur indirekten Bestimmung von Komplexbildnern ausschieden.

Wegen der Bedingung 3 war es daher sinnvoll, nach Farbstoffen zu suchen, die sowohl in der Photometrie als auch in der Komplexometrie als Farbindikatoren für die Bismut-Bestimmung benutzt werden, denn die stärkere Komplexbildung mit EDTA ist in der Komplexometrie eine zwingende Voraussetzung für den Indikator. Dazu gehören Pyri-

din-(2-azo-4)-resorcin (PAR), Methylthymolblau (MTB), Brenzkatechinviolett (BV) und Xylenolorange (XO).

Zur Beurteilung dieser vier Farbstoffe wurde der Umsatz des Farbkomplexes mit EDTA experimentell ermittelt. Der Farbstoff gilt als geeignet, wenn gleiche Stoffmengen EDTA gleiche Stoffmengen Bismut umsetzen. Als Komplexbildner wurde EDTA gewählt, weil es ein außerordentlich starker Komplexbildner ist, dessen vollständige Erfassung ($U = 100\%$) als Voraussetzung zur Bestimmung einer Komplexierungsaktivität gelten muß. Außerdem bildet es bevorzugt 1:1-Komplexe. Bei der Bildung mehrkerniger Komplexe (zum Beispiel Bi_2L) könnte es sonst formal zu mehr als 100-%igem Umsatz führen und bei der Bildung höherer Komplexe (zum Beispiel BiL_2) formal zu kleineren Umsätzen.

Tabelle 4. Eigenschaften von bismutselektiven Farbstoffen

	pH Bereich	ϵ_λ [l/mol cm]	λ [nm]	Lit.
Dithizon	10-10.5	80 000	495	(65), (20)
Diethyldithiocarbamidat	11-12	8620	366	(65), (20)
Brenzkatechinviolett	2.1-2.5	15000	580	(65), (20), (44)
Xylenolorange	1.3	11000	555	(65), (20), (9)
Pyridin-(2-azo-4)-resorcin	1.6	keine Ang.	510	(59), (51), (23)
Methylthymolblau	1.1	keine Ang.	605	(59), (51), (23)

Eine rechnerische Abschätzung des Umsatzes, ausgehend von den Stabilitätskonstanten der Bismut-Komplexe, war wegen fehlender Bildungskonstanten der Bismut-Farbkomplexe in der Literatur nicht möglich. Daher mußte der Umsatz experimentell ermittelt werden. Er wurde nach folgender Formel berechnet:

$$U = \frac{c_{\text{Bi}}^0 - c_{\text{Bi}}}{c_{\text{L}}^0} \times 100 \quad [3]$$

Darin bedeuten:

- U = Umsatz in %
- c_{Bi}^0 = Konzentration des Bi – Farbkomplexes vor Zugabe des EDTA
- c_{Bi} = Konzentration des Bi – Farbkomplexes nach Zugabe des EDTA
- c_{L}^0 = zugegebene EDTA – Konzentration

Die vorgelegte Bismutkonzentration c_{Bi}^0 betrug $12 \mu\text{mol/l}$ mit 5-fachem Überschuß an Farbstoff. Die zugegebene EDTA-Konzentration betrug $2.4 \mu\text{mol/l}$. Gemessen wurde bei den in Tabelle 4 angegebenen Werten für Wellenlänge und pH-Wert.

Es zeigte sich, daß nur mit Xylenolorange und Brenzkatechinviolett ein Umsatz von 100% erreicht wird. Die Komplexe des Bi mit PAR und MTB sind stärker, so daß eine kleinere Stoffmenge Bi, als sie der eingesetzten Komplexbildner-Stoffmenge entspricht, an EDTA gebunden wurde. Die Umsetzung von Bi mit EDTA in Gegenwart von PAR erreichte nur 85%, in Gegenwart von MTB nur 70%. Diese schieden daher aus, während XO und BV als geeignet befunden und eingehender untersucht wurden.

3.2 Der Bismut-Xylenolorange und Bismut-Brenzkatechinviolett-Komplex

Xylenolorange und Brenzkatechinviolett bilden mit sehr vielen Metallen Farbchelate und werden häufig für photometrische Bestimmungen oder als Indikatoren für die komplexometrische Titration eingesetzt. Im sauren Bereich sind sie selektive Farbstoffe für Bi^{3+} und andere drei- oder höherwertige Kationen wie Fe^{3+} und Zr^{4+} .

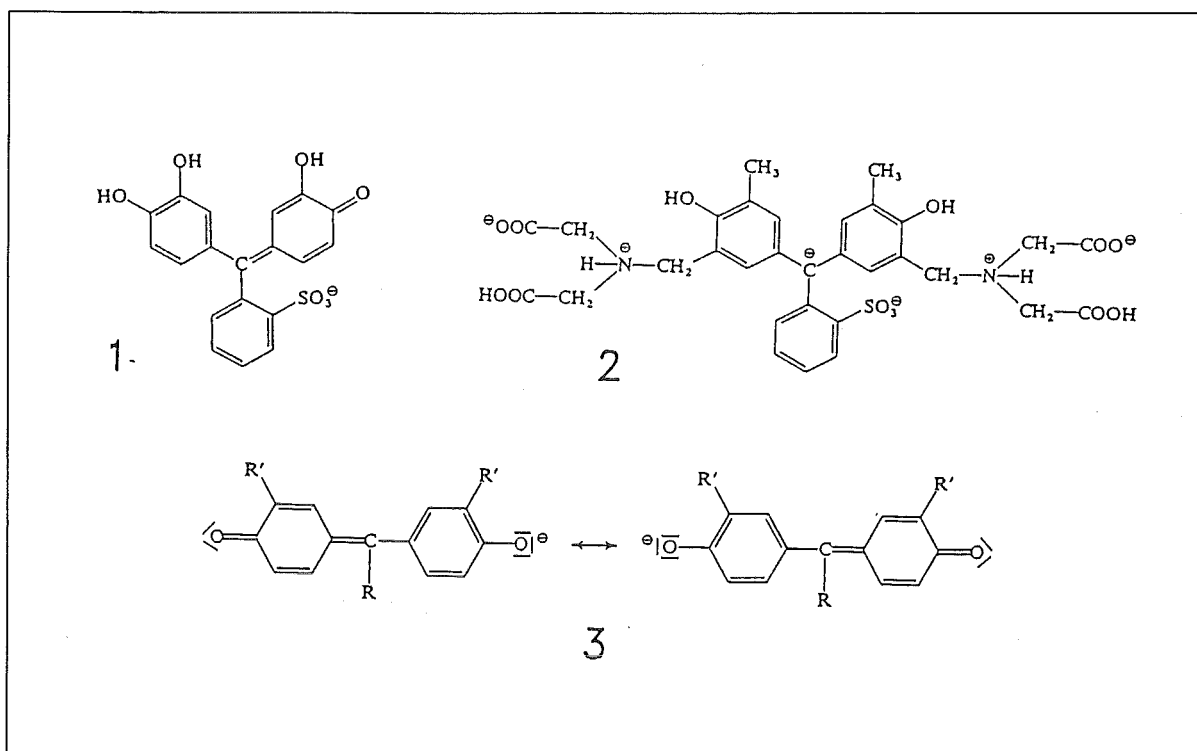


Abbildung 2. Strukturformeln: (1) Brenzkatechinviolett; (2) Xylenolorange; (3) chromophores System

Xylenolorange und Brenzkatechinviolett gehören beide zur Gruppe der Triphenylmethanfarbstoffe. Das chromophore System ist für beide das gleiche. Es ist durch die mesomeren Grenzformeln in Abbildung 2 wiedergegeben. Zur chelatbildenden Gruppe gehört die in para-Stellung zum zentralen C-Atom stehende phenolische OH-Gruppe und der in

meta-Stellung angeordnete Substituent. Dieser ist beim Brenzkatechinviolett eine weitere OH-Gruppe und beim Xylenolorange die $\text{CH}_2 - \text{N}(\text{CH}_2 - \text{COOH})_2$ -Gruppe.

Der Bismut-Xylenolorange-Komplex wird bereits in einer Vorschrift in den deutschen Einheitsverfahren zur Wasseruntersuchung verwendet (6) und dient zur Bestimmung von Komplexbildnern im Abwasser. Die Nachweisgrenze des Verfahrens liegt bei 0.6 mg/l Bi, was ca. 3 $\mu\text{mol/l}$ Komplexbildner entspricht.

Untersuchungen zur Komplexzusammensetzung wurden zuerst von Cheng (9) durchgeführt. Danach bildet sich ein rotgefärbter 1:1-Komplex, der sein Absorptionsmaximum bei 555 nm hat. Spätere Untersuchungen zeigten (70), daß sich bei Überschuß des Farbstoffs zwei Komplexe der Stöchiometrie 1:1 und 1:2 bilden. Aus dem in Abbildung 3 dargestellten Absorptionsspektrum wird dies nicht deutlich, zeigt sich aber ohne Zweifel bei Anwendung der "Methode des molaren Verhältnisses" und der "Methode der kontinuierlichen Variationen (JOB's Methode)", wie sie in (70) zur Aufklärung der Komplexzusammensetzung benutzt wurde. Danach bildet sich ein 1:1-Komplex mit Absorptionsmaximum bei 555 nm und ein 1:2-Komplex mit Absorptionsmaximum bei etwa 530 nm.

Deutlich ist in Abbildung 3 der im Wellenlängenbereich zwischen 500 und 580 nm für eine Komplexbildnerbestimmung nutzbare Effekt der Farbschwächung bei Anwesenheit von EDTA (Vergleich Kurve 2 und 3) zu sehen.

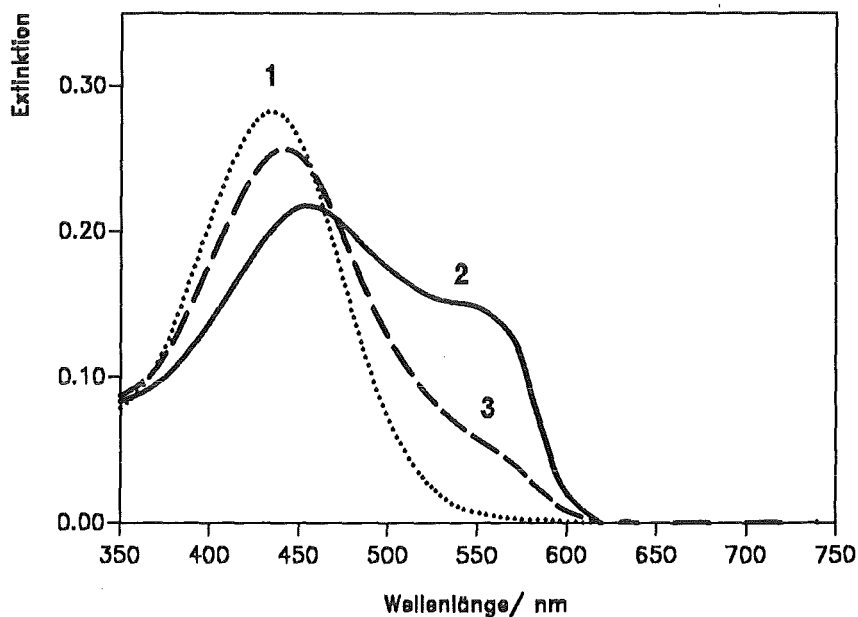


Abbildung 3. Absorptionsspektrum des Bi^{3+} -Xylenolorange: (1) Xylenolorange, (2) Xylenolorange mit Bi^{3+} , (3) Xylenolorange mit Bi^{3+} und EDTA; $c_{\text{XO}} = 22 \mu\text{mol/l}$, $c_{\text{Bi}^{3+}} = 12 \mu\text{mol/l}$, $c_{\text{EDTA}} = 7.8 \mu\text{mol/l}$; $\text{pH} = 1.3$, $d = 1 \text{ cm}$, Gegenküvette H_2O

Brenzkatechinviolett bildet nach Malat (44) mit Bismut einen rotgefärbten 1:1-Komplex mit einem Absorptionsmaximum bei 580 nm. Dieser ist für die photometrische Bestim-

mung von Bedeutung. Ein weiterer blaugefärbter Komplex aus zwei Kationen und einem Ligand bildet sich nur bei einem Überschuß an Bismut und ist daher bei der photometrischen Bestimmung des Bismuts bedeutungslos.

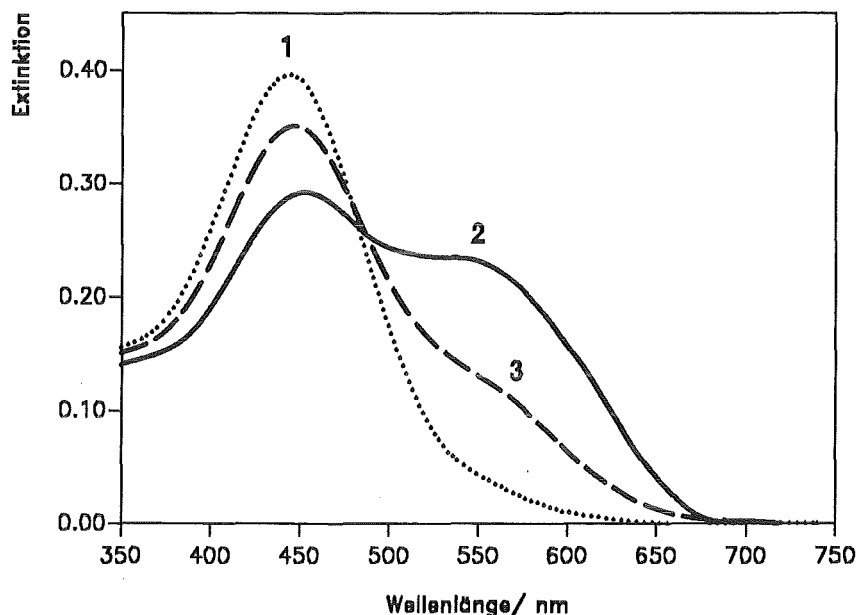


Abbildung 4. Absorptionsspektrum des Bi^{3+} -Brenzkatechinviolett: (1) Brenzkatechinviolett, (2) Brenzkatechinviolett mit Bi^{3+} , (3) Brenzkatechinviolett mit Bi^{3+} und EDTA; $c_{\text{BV}} = 22 \mu\text{mol/l}$, $c_{\text{Bi}^{3+}} = 12 \mu\text{mol/l}$, $c_{\text{EDTA}} = 7.8 \mu\text{mol/l}$; $\text{pH} = 2.2$, $d = 1 \text{ cm}$, Gegenküvette H_2O

Abbildung 4 zeigt das Absorptionsspektrum des Brenzkatechinviolett-Systems, sowohl mit als auch ohne Bi^{3+} sowie auch bei Anwesenheit von EDTA. Brenzkatechinviolett absorbiert am stärksten bei etwa 450 nm (Kurve 1). Wird Bi^{3+} hinzugegeben (im Überschuß), bildet sich ein weiteres Absorptionsmaximum bei 580 nm (Kurve 2). Anwesendes EDTA kann den Farbkomplex umsetzen, was sich in einer Extinktionsabnahme (Kurve 3) bemerkbar macht.

3.2.1 Eichkurven und Empfindlichkeit

Die Eichkurven wurden ermittelt, indem zu einer konstanten Konzentration an Xylenolorange bzw. Brenzkatechinviolett steigende Mengen Bi^{3+} gegeben wurden und die Extinktion der Lösungen bei eingestellten Werten für Wellenlänge und pH gemessen wurden (Abbildung 5).

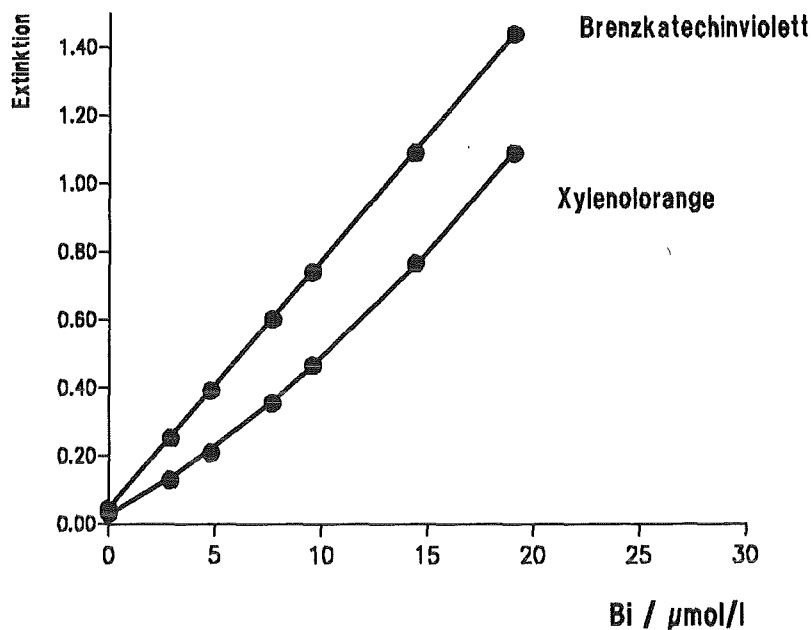


Abbildung 5. Eichkurve zur photometrischen Bestimmung des Bi^{3+} mit Xylenolorange und Brenzkatechinviolett: $c_{\text{XO}} = c_{\text{BV}} = 53 \mu\text{mol/l}$; $\text{pH} = 1.3$, $\lambda = 555 \text{ nm}$ für Xylenolorange und $\text{pH} = 2.2$, $\lambda = 580 \text{ nm}$ für Brenzkatechinviolett; $d = 5 \text{ cm}$; Gegenküvette H_2O

Man sieht, daß die Eichkurve mit Brenzkatechinviolett zwischen 0 und 20 $\mu\text{mol/l}$ linear ist, beim Xylenolorange aber eher einen parabelförmigen Verlauf nimmt. Diese Abweichung von einer Geraden hängt damit zusammen, daß Bismut mit Xylenolorange einen 1:1- und einen 1:2-Komplex bildet, die unter den gewählten Bedingungen im Gleichgewicht nebeneinander vorliegen. Da die Konzentration des 1:1-Komplexes mit steigender Bi-Konzentration zunimmt und der 1:1-Komplex bei 555 nm ca. 8 mal stärker absorbiert wie der 1:2-Komplex, nimmt die Gesamtextinktion überproportional mit der Bi-Konzentration zu. Die ausführliche Beschreibung dieser Zusammenhänge ist in (70) zu finden.

Bei einem Überschuß an Brenzkatechinviolett setzt sich die Extinktion im Bismut-Brenzkatechinviolett-System aus dem Beitrag des 1:1-Komplexes und dem Beitrag von freiem Brenzkatechinviolett zusammen:

$$E = d (\epsilon_{\text{BiBV}}^{580} c_{\text{BiBV}} + \epsilon_{\text{BV}}^{580} c_{\text{BV}}) \quad [4]$$

Die Gleichgewichtskonzentration des Bismut-Brenzkatechinviolett-Komplexes ist nicht unmittelbar bekannt. Wegen der großen Stabilität des Komplexes und dem erheblichen Überschuß an Komplexbildner kann man von einer praktisch 100%-igen Komplexierung des Bi ausgehen sowie von einer konstanten Konzentration an Farbstoff und in Gleichung 4 statt c_{BiBV} die Gesamtkonzentration des Bismut c_{Bi} einsetzen. Für eine analytische Auswertung läßt sich dann folgende Geradengleichung verwenden:

$$E = A_1 c_{\text{Bi}} + A_0 \quad [5]$$

Die Empfindlichkeit ist durch die Steigung A_1 der Ausgleichsgeraden gegeben. A_1 beträgt für die in Abbildung 5 dargestellte Ausgleichsgerade $0.0728 \text{ l}/\mu\text{mol}$ mit einer Standardabweichung von $\sigma = 0.4\%$. Die im Lauf der Experimente aufgenommenen Eichkurven hatten meistens dieselbe Steigung (Tabelle 5). Unterschiede bestanden lediglich im Achsenabschnitt A_0 , weil die Extinktionen bei Verwendung älterer Brenzkatechinviolett-Lösungen insgesamt niedriger ausfielen. A_0 muß aber bei der Auswertung nicht verwendet werden, da man nur die Differenz der Extinktionen als Meßgröße dient, deren Betrag unabhängig von einer Parallelverschiebung der Geraden ist.

Tabelle 5. Ausgleichsgerade im Bismut-Brenzkatechinviolett-System: Im Lauf der Experimente ermittelte Steigungen A_1 und Achsenabschnitte A_0 der Eichgeraden.

Eichung Nr.	A_1	rel. Standardabw. σ in %	A_0	rel. Standardabw. σ in %
1	0.0732	0.9	0.035	18
2	0.0718	1.0	0.034	21
3	0.0728	0.4	0.046	9
4	0.0725	0.2	0.048	3
5	0.0732	0.6	0.034	13
6	0.0731	0.6	0.019	24

Im Bismut-Xylenolorange-System setzt sich die Extinktion aus zwei Komplexen und freiem Xylenolorange zusammen:

$$E = d (\epsilon_{\text{BIXO}_2}^{555} c_{\text{BIXO}_2} + \epsilon_{\text{BIXO}}^{555} c_{\text{BIXO}} + \epsilon_{\text{XO}}^{555} c_{\text{XO}}) \quad [6]$$

Der Zusammenhang zwischen Konzentration und Extinktion läßt sich für eine analytische Auswertung durch eine Funktion 2. Grades beschreiben:

$$E = D_2 c_{\text{Bi}}^2 + D_1 c_{\text{Bi}} + D_0 \quad [7]$$

$$D_2 = 0.0011 \text{ l}^2/\mu\text{mol}^2 \quad (\sigma = 8\%)$$

$$D_1 = 0.035 \text{ l}/\mu\text{mol} \quad (\sigma = 5\%)$$

$$D_0 = 0.025 \quad (\sigma = 28\%)$$

Die Standardabweichungen zeigen, daß eine Auswertung über das Bismut-Brenzkatechinviolett-System erheblich genauer ist.

3.3 Stoffumsatz von Bi mit starken synthetischen Komplexbildnern

Die Umsetzung verschiedener Komplexbildner mit dem Bismut-Brenzkatechinviolett-Komplex und dem Bismut-Xylenolorange-Komplex sollte zeigen, welcher Farbkomplex zur Bestimmung starker Komplexbildner besser geeignet ist. Dazu wurden steigende Mengen eines Komplexbildners dem Meßansatz mit dem Bismut-Farbkomplex zugegeben und die umgesetzte Bi-Konzentration $c_{\text{Bi}}^0 - c_{\text{Bi}}$ photometrisch bestimmt. Der Umsatz läßt sich dann nach Gleichung 3 ermitteln.

Die Differenz $c_{\text{Bi}}^0 - c_{\text{Bi}}$ wird ab jetzt als **Bismut-Komplexierungsaktivität**, kurz **BiCA** bezeichnet.

Untersucht wurden die Aminopolycarbonsäuren EDTA, CDTA, EGTA, DTPA, HEEDTA, NTA, die Phosphonsäuren HEDP, ATMP, EDTP und ein kondensiertes Phosphat, das TPP. Es sind alles starke synthetische Komplexbildner, von denen bekannt ist, daß sie im technischen Maßstab produziert werden und in Oberflächengewässer gelangen können. Eine vollständige Erfassung dieser Komplexbildner wäre also im Sinne dieses Verfahrens.

Die Ergebnisse sind in den Abbildungen 6 und 7 zusammengestellt.

Sie lassen sich in drei Gruppen einteilen:

1. Eine vollständige, dem Verhältnis 1:1 folgende Umsetzung, bei der 1 mol BiCA 1 mol Komplexbildner entspricht. Der Umsatz nach Gl. 3 ist hier konzentrationsunabhängig und entspricht immer 100%. In den Abbildungen 6 und 7 liegen diese Meßwerte auf der durchgezogenen Geraden. Im Bismut-Xylenolorange-System zeigen dieses Verhalten die Komplexbildner EDTA, CDTA, EGTA, DTPA, EDTP und HEEDTA. Im Bismut-Brenzkatechinviolett-System sind es die gleichen Komplexbildner, aber zusätzlich erreichen hier auch NTA, ATMP und ISDA auch einen Stoffumsatz im Verhältnis 1:1.
2. Keine vollständige Umsetzung, bei der die ermittelte BiCA kleiner als die eingesetzte Komplexbildnerkonzentration ist. Der Umsatzgrad nimmt mit der eingesetzten Komplexbildnerkonzentration ab. Im Bismut-Xylenolorange-System zeigen dieses Verhalten die Komplexbildner NTA, ATMP, ISDA, HEDP, ADA und TPP. Die BiCA entspricht bei NTA und ISDA zwischen 50 und 80%, bei ATMP zwischen 20 und 40%, bei ADA und HEDP zwischen 5 und 10% der eingesetzten Komplexbildnerkonzentration. Im Bismut-Brenzkatechinviolett-System zeigen dieses Verhalten nur die Komplexbildner ADA und TPP. Die Umsätze sind hier durchweg größer. Die BiCA entspricht bei ADA zwischen 60 und 80%, bei TPP zwischen 40 und 80% der eingesetzten Komplexbildnerkonzentration.
3. Eine Umsetzung, bei der die ermittelte BiCA größer als die eingesetzte Komplexbildnerkonzentration ist, was formal einem scheinbar größeren Umsatz als 100% entspricht. Dieser Fall kann eintreten, wenn es zur Bildung von mehrkernigen Komplexen (zum Beispiel Bi_2L) kommt. Von den untersuchten Komplexbildnern zeigt

dieses Verhalten HEDP im Bismut-Brenzkatechinviolett-System. Bei kleinen Konzentrationen (bis 5 $\mu\text{mol/l}$) erreicht der Umsatz zwischen 100 und 120%.

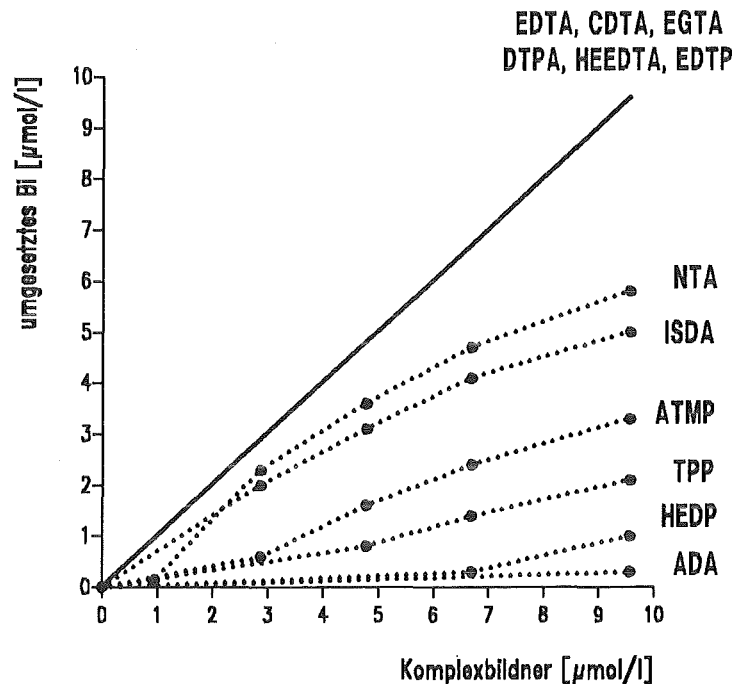


Abbildung 6. Umsetzung verschiedener Komplexbildner mit dem Bismut-Xylenolorange-Komplex: $c_{\text{Bi}}^0 = 9.6 \mu\text{mol/l}$; $c_{\text{XO}} = 53 \mu\text{mol/l}$; $\text{pH} = 1.3$; $\lambda = 555 \text{ nm}$; $d = 5 \text{ cm}$; Gegenküvette H_2O

Die Ergebnisse zeigen, daß mit dem Bismut-Brenzkatechinviolett-Komplex ein System zur Verfügung steht, mit dem sich eine größere Zahl an Gewässer-relevanten Komplexbildnern quantitativ erfassen läßt, als mit dem Bismut-Xylenolorange-Komplex. Ein maßgeblicher Faktor scheint die "Zähigkeit" des Komplexbildners zu sein. Man kann die Faustregel aufstellen, daß alle fünf- und höherzähligen Liganden sowohl mit dem Bismut-Brenzkatechinviolett-Komplex als auch mit dem Bismut-Xylenolorange-Komplex einen Stoffumsatz im Verhältnis 1:1 erreichen. Dazu gehören EDTA, CDTA, EGTA, HEEDTA, DTPA und EDTP. Vierzählige Liganden wie NTA, ISDA und ATMP vermögen nur noch den Bismut-Brenzkatechinviolett-Komplex vollständig umzusetzen. Drei- und kleinerzählige Komplexbildner wie HEDP erreichen bei beiden Farbsystemen keinen stöchiometrischen Umsatz. Eine Ausnahme machen TPP und ADA, welche über fünf und vier mögliche Ligandgruppen im Molekül verfügen, aber keine vollständige Umsetzung mit dem Bismut-Brenzkatechinviolett-Komplex erreichen. Man muß hier aber bedenken, daß die Zähigkeit eines Komplexbildners nicht unbedingt eine Aussage über die Besetzung der Koordinationsstellen eines Kations zuläßt. Wenn eine sterische Hinderung vorliegt, wie das zum Beispiel bei ADA wegen der im Vergleich zum NTA zusätzlichen Methylgruppe denkbar wäre, kann das dazu führen, daß nicht alle zur Komplexbildung fähigen Atome benutzt werden.

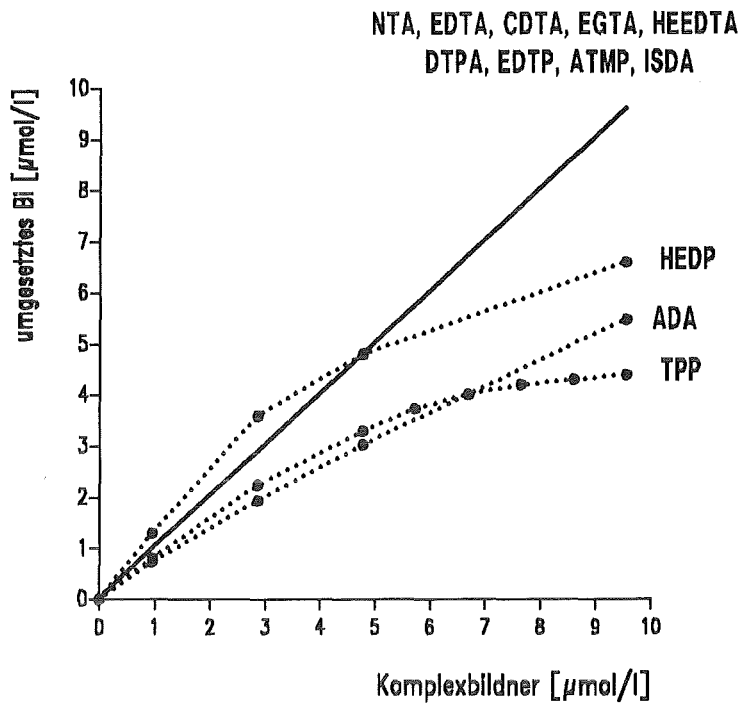


Abbildung 7. Umsetzung verschiedener Komplexbildner mit dem Bismut-Brenzkatechiviolett-Komplex: $c_{\text{Bi}}^0 = 9.6 \mu\text{mol/l}$; $c_{\text{BV}} = 53 \mu\text{mol/l}$; $\text{pH} = 2.2$; $\lambda = 580 \text{ nm}$; $d = 5 \text{ cm}$; Gegenküvette H_2O

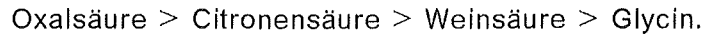
Da gerade die quantitative Erfassung von NTA, einem starken synthetischen Komplexbildner, als wichtig angesehen wird, ist Brenzkatechiviolett der bessere Farbstoff zur Bestimmung einer Komplexierungsaktivität. Hinzu kommt die größere Empfindlichkeit und Genauigkeit. Die vollständige Erfassung des NTA ist natürlich mit dem Nachteil verbunden, auch schwache Komplexbildner wie Oxalsäure und Citronensäure in einem stärkeren Maße mitzuerfassen, als das mit Xylenorange der Fall wäre. In Abschnitt 3.4.1.1 wird jedoch gezeigt, daß durch Zugabe eines geeigneten Maskierungsreagenzes für schwache Komplexbildner, deren Einfluß auf die Komplexierungsaktivität stark zurückgedrängt werden kann.

3.4 Einflüsse von Wasserinhaltsstoffen auf die Komplexierungsaktivität

3.4.1 Einfluß schwacher natürlicher Komplexbildner

Die Untersuchung aller Stoffe auf ihren Beitrag zur BiCA, die in Gewässern vorhanden sein können, ist bei der Vielzahl der Wasserinhaltsstoffe hoffnungslos. Wichtige Stoffklassen sind die Huminstoffe, Polycarbonsäuren, Polyhydroxylierte Verbindungen und Aminosäuren. Als relativ starke natürliche Komplexbildner wurde der Einfluß der Polycarbonsäuren Oxalsäure, Citronensäure, Weinsäure und der Aminosäure Glycin untersucht.

Tabelle 6 zeigt die BiCA der vier Säuren. Wie zu erwarten, sind diese natürlich vorhandenen Komplexbildner nicht stark genug, den Farbkomplex stöchiometrisch umzusetzen. Ihr Beitrag zur BiCA fällt in der Reihe



Während Oxalsäure zu ca. 50%, Citronensäure zu ca. 5%, Weinsäure zu ca. 0.2% den Farbkomplex umsetzen, ist Glycin praktisch ohne Einfluß.

Die Nachweisgrenze der BiCA (ohne Anreicherung) liegt bei 0.2 $\mu\text{mol/l}$. Es wurde die Konzentration des Komplexbildners ermittelt, bei der gerade noch eine Komplexbildungsaktivität meßbar war.

Tabelle 6. Einfluß schwacher natürlicher Komplexbildner auf die BiCA:

	Konzentration [$\mu\text{mol/l}$]	BiCA [$\mu\text{mol/l}$]	Umsatz [%]	Grenzkonzentration BiCA < 0.2 $\mu\text{mol/l}$
Oxalsäure	0.96	0.60	63	0.2
	2.87	1.57	55	
	4.79	2.32	48	
	9.57	4.06	42	
Citronensäure	4.78	0.29	6	3
	9.56	0.40	4	
	33.50	1.20	4	
	95.60	2.39	3	
Weinsäure	120	0.15	0.1	150
	240	0.58	0.2	
	1200	3.9	0.3	
	2400	6.2	0.3	
Glycin	50 000	0.2	0.0004	50 000

Es zeigte sich, daß schon kleine Mengen Oxalsäure (0.2 $\mu\text{mol/l}$) und Citronensäure (3 $\mu\text{mol/l}$) zur BiCA beitragen, während Weinsäure erst ab 150 $\mu\text{mol/l}$, Glycin sogar erst ab 50 000 $\mu\text{mol/l}$ einen meßbaren Einfluß hat.

Dieses unterschiedliche Verhalten der vier Komplexbildner auf die BiCA sollte mit der Stabilitätskonstante korrelieren. Bei Kenntnis der Stabilitätskonstante mit Bi eines beliebigen Komplexbildners wäre dann eine Abschätzung des Beitrags zur BiCA möglich.

In Tabelle 7 sind die Bruttobildungskonstanten β_{MLn} der vier Säuren mit Bi angegeben. Auf den ersten Blick verwundert es, daß der experimentelle Befund nicht im Einklang mit $\log \beta_{MLn}$ steht. Das liegt daran, daß in der Literatur für Weinsäure ein 1:2- und Glycin ein 1:3-Komplex angegeben sind, die bei gleicher Stärke auf Grund ihrer Definition größere Bildungskonstanten als 1:1 Komplexe haben. Direkt vergleichbar müßte aber Oxalsäure und Citronensäure sein, die beide einen 1:1 Komplex bilden. Aber auch hier würde eine Abschätzung über die Bildungskonstanten einen größeren Einfluß von Citronensäure als von Oxalsäure auf die BiCA erwarten lassen. Die Erklärung ist, daß zur Abschätzung der Stabilität eines Komplexes die effektive Bildungskonstante β_{MLn}^{eff} notwendig ist. Sie

beschreibt die Stabilität bei einem bestimmten pH-Wert, indem sie die effektive Konzentration des zur Komplexbildung relevanten Species berücksichtigt. Da Komplexbildner in der Regel schwache Säuren sind, bei denen die unprotonierte Form mit sinkendem pH-Wert abnimmt, wird die effektive Bildungskonstante auch kleiner.

Tabelle 7. Bildungskonstanten von schwachen natürlichen Komplexbildnern mit Bismut:

$\log \beta_{ML_n}$ gilt für $I = 0.1 \text{ mol/l}$ und $T = 25^\circ\text{C}$. Sie sind für Oxalsäure aus (53), für Citronensäure und Weinsäure aus (7) und für Glycin aus (56) entnommen. Die Umrechnung auf effektive Bildungskonstanten $\log \beta_{ML_n}^{\text{eff}}$ erfolgte mit Hilfe der α_H -Funktion aus den Dissoziationskonstanten (45) des Komplexbildners.

	Gleichgewicht	$\log \beta_{ML_n}$	$\log \beta_{ML_n}^{\text{eff}}$ pH = 2.2	$\log \beta_{ML_n}^{\text{eff}}$ pH = 1.5	$\log \beta_{ML_n}^{\text{eff}}$ pH = 3.0
Oxalsäure	ML/M.L	7.65	6.01	5.20	6.75
Citronensäure	ML/M.L	11.80	5.4	3.40	7.51
Weinsäure	ML ₂ /M.L ²	11.70	n. ber.	n. ber.	n. ber.
Glycin	ML ₃ /M.L ³	5.7	n. ber.	n. ber.	n. ber.

Individuelle Bildungskonstanten K_{ML_n} lassen sich nach Schwarzenbach (59) leicht für einen bestimmten pH-Wert in die effektive individuelle Bildungskonstante $K_{ML_n}^{\text{eff}}$ mit Hilfe der α_H -Funktion umrechnen:

$$\log K_{ML_n}^{\text{eff}} = \log K_{ML_n} - \log \alpha_H \quad [8]$$

Die α_H -Funktion läßt sich wiederum aus den Dissoziationskonstanten des Liganden berechnen:

$$\alpha_H = 1 + \beta_{HL}[H] + \beta_{H_2L}[H]^2 + \beta_{H_3L}[H]^3 + \dots \quad [9]$$

Darin bedeuten:

$$\beta_{HL} = HL/H.L$$

$$\beta_{H_2L} = H_2L/H^2.L$$

$$\beta_{H_3L} = H_3L/H^3.L$$

Da für Komplexe der Zusammensetzung 1:1 die Bruttobildungskonstante auch gleich der individuellen Bildungskonstante ist, läßt sich für Citronensäure und Oxalsäure die effektive Bildungskonstante angeben.

Die Berechnung von $\beta_{ML_n}^{\text{eff}}$ (pH=2.2) in Tabelle 7 zeigt, daß der Bi-Citronensäure-Komplex jetzt den experimentellen Befunden entsprechend in der Stabilität hinter der Oxalsäure liegt. Das liegt daran, daß Oxalsäure in beiden Dissoziationsstufen eine stärkere Säure als die Citronensäure ist und daher bei pH = 2.2 zu einem größerem Anteil unprotoniert ist als Citronensäure.

Ein Grenzbereich scheint bei $\log \beta_{MLn}^{eff}(pH=2.2) = 5 - 6$ zu liegen. Oberhalb dieses Bereichs trägt der Komplexbildner merklich zur BiCA bei, unterhalb kaum. Während Oxalsäure mit einer effektiven Bildungskonstanten von 6.0 den Bismut-Farbkomplex bereits zu ca. 50% umsetzt, erreicht Citronensäure mit einer Konstanten von 5.4 nur etwa eine 5-%ige Umsetzung.

Die deutlich stärkere pH-Abhängigkeit der Citronensäure zeigt sich bei kleinen pH-Sprüngen, wie zum Beispiel in Tabelle 7 für $pH = 3$ und 1.5 berechnet. Bei $pH = 1.5$ ist der Unterschied in der Komplexbildungsstärke zu Gunsten der Oxalsäure noch ausgeprägter als bei $pH = 2.2$. Bei $pH = 3$ drehen sich die Verhältnisse um. Citronensäure hat jetzt eine größere effektive Bildungskonstante als Oxalsäure, würde also eine höhere Umsetzung erreichen.

Bei den starken Komplexbildnern sind nur für die Aminopolycarbonsäuren Bildungskonstanten mit Bismut in der Literatur zu finden. Von diesen hat NTA mit $\log \beta = 17.5$ die kleinste Bildungskonstante (45). Die Umrechnung in die effektive Bildungskonstante für $pH = 2.2$ ergibt $\log \beta_{ML}^{eff} = 9.5$. Sie kann als sichere untere Grenze angegeben werden, oberhalb der eine vollständige Umsetzung des Bismut-Brenzkatechinviolett-Komplex erreicht wird.

3.4.1.1 Maskierung schwacher Komplexbildner mit Yttrium

Wie die Ausführungen im vorangehenden Kapitel gezeigt haben, tragen schon kleine Konzentrationen von mehrbasigen Säuren wie zum Beispiel Citronensäure oder Oxalsäure zu einer Komplexbildungsaktivität bei. Um diesen Beitrag zu eliminieren oder zumindest zurückzudrängen, ist eine Maskierung dieser Säuren erforderlich. Man versteht darunter die komplexe Bindung der "störenden" Anteile, so daß sie mit dem eigentlichen Nachweisreagenz, in diesem Fall also mit Bismut, nicht reagieren. Die wichtigste Forderung an das Maskierungsmittel ist, daß es die Bestimmung der starken Komplexbildner nicht beeinflußt. In Frage kommen also Kationen, die von Citronensäure stärker komplexiert werden, als von Bismut, aber gleichzeitig mit NTA weniger stabile Komplexe bilden als dieses mit Bismut. Außerdem darf das Kation nicht oder zumindest nur in einem geringen Ausmaß mit Brenzkatechinviolett reagieren.

Betrachtet man die Kationen als Lewis-Säuren und die Komplexbildner als Lewis-Basen, ist zur Abschätzung von Komplexstabilitäten die Klassifizierung von Säuren und Basen als "hart" und "weich" nach Pearson (34), (65) sehr nützlich. Zu den harten Lewis-Säuren zählen alle Kationen mit der Elektronenzahl eines Edelgases, die sogenannten A-Kationen. Dazu gehören die einwertigen Kationen der Alkalimetalle (Na^+ , K^+), die zweiwertigen Kationen der Erdalkalimetalle (Ca^{2+} , Mg^{2+}) und die dreiwertigen Seltenerdmetalle (Sc^{3+} , Y^{3+} , Lanthanoide). Man kann sie als "harte" starre Kugeln betrachten, die nur wenig deformierbar sind. Weiche Lewis-Säuren sind die B-Kationen, die keine abgeschlossene Elektronenschale besitzen und leicht polarisierbar sind. Dazu zählen Sn^{2+} , Pb^{2+} , As^{3+} , Sb^{3+} , Bi^{3+} , Se^{4+} , Te^{4+} . Das Konzept von Pearson besagt nun, daß sich harte Lewis-Säuren bevorzugt mit harten Lewis-Basen und weiche Lewis-Säuren bevorzugt mit weichen Lewis-Basen verbinden. Harte Lewis-Basen besitzen stark elektronegative Atome wie Sauerstoff und Fluor und weiche Lewis-Basen die größeren, leicht polarisierbaren Atome wie Stickstoff und Schwefel. Als Ligandatome der gebräuchlichen Chelatbildner kommen im

wesentlichen O und N in Frage. Für das Verhältnis der Bildungskonstanten läßt sich dann in der Regel vorhersagen, daß der Quotient aus den Konstanten eines N-Liganden mit einem B- und A-Kation größer als der Quotient aus den Konstanten für einen O-Liganden ist:

$$\frac{\beta(B - N)}{\beta(A - N)} > \frac{\beta(B - O)}{\beta(A - O)}$$

Für ein wirkungsvolles Maskierungskation für Polycarbonsäuren muß man also bei den A-Kationen suchen. Dabei scheiden ein- und zweiwertige Kationen (Na^+ , Ca^{2+}) aus, weil diese wegen der kleineren Ladung mit Bi^{3+} nicht in Konkurrenz treten können. Geeignet sind die Seltenerdmetalle wie Sc^{3+} , Y^{3+} und die Lanthanoiden. Besonders geeignet ist Y^{3+} wegen seiner guten Löslichkeit (bei dem relevanten pH-Wert von 2.2) und der geringen Komplexbildung mit Brenzkatechinviolett.

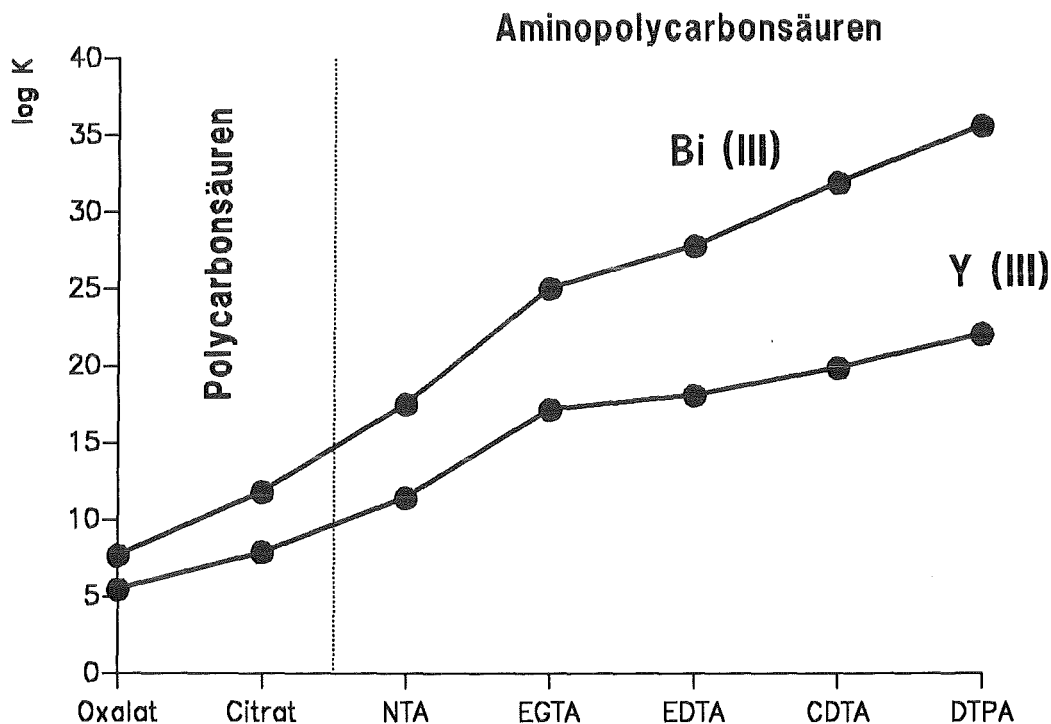


Abbildung 8. Bildungskonstanten von Poly- und Aminopolycarbonsäuren mit Bi^{3+} und Y^{3+} : Die Bildungskonstanten beziehen sich auf den 1:1-Komplex und gelten für $I = 0.1 \text{ mol/l}$ und $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$; die Bismut-Konstanten sind für Oxalsäure und Citronensäure aus (7), für EGTA aus (37), der Rest aus (45) entnommen.

In Abbildung 8 sind Bildungskonstanten für Bi^{3+} und Y^{3+} mit Poly- und Aminopolycarbonsäuren dargestellt. Mit Citronensäure und Oxalsäure bildet Bi^{3+} um 2 - 3 Zehnerpotenzen stärkere Komplexe wie Y^{3+} . Beim Übergang zum NTA nimmt die Komplexstabilität

zu, was durch die größere Zahl der Liganden im Molekül (Chelateffekt) bedingt ist. Entscheidend ist aber, daß die Zunahme beim Bismut als einer weichen Lewis-Säure ausgeprägter ist, weil NTA einen N-Liganden pro Molekül hat. Noch deutlicher wird die Differenz der Bildungskonstanten bei EDTA, CDTA und EGTA, weil hier 2 N-Liganden je Molekül vorliegen. Der Unterschied zwischen Bi^{3+} und Y^{3+} beträgt zehn Zehnerpotenzen. Beim DTPA steigt die Zahl der Stickstoffatome auf 3, was noch einen weiteren Stabilitätsunterschied bewirkt.

Durch eine geeignete Yttrium-Konzentration kann also erreicht werden, daß die Polycarbonsäuren Y^{3+} und die Aminopolycarbonsäuren Bi^{3+} komplexieren. Die Y^{3+} -Konzentration muß aber deutlich höher wie die Bismut-Konzentration sein, weil Bi^{3+} auch mit Polycarbonsäuren in der Regel höhere Bildungskonstanten aufweist.

Zur experimentellen Überprüfung wurde wieder die BiCA von allen bisher untersuchten Komplexbildnern in Gegenwart von Yttrium bestimmt. Die Yttrium-Konzentration betrug ca. das 5000-fache der Bismut-Konzentration.

Es zeigte sich, daß entsprechend der theoretischen Voraussage alle Komplexbildner mit N-Liganden durch Yttrium unbeeinflusst blieben. Sie ergaben in Gegenwart von Yttrium die gleiche Stoffumsetzung mit Bismut wie ohne Yttrium. Dazu gehören die Komplexbildner NTA, EDTA, CDTA, EGTA, HEEDTA, DTPA, ISDA, ADA, EDTP und ATMP. Die Komplexbildner, bei denen die Anwesenheit von Yttrium zu einer niedrigeren Stoffumsetzung mit Bi führte, sind in Tabelle 8 aufgeführt. Allen ist gemeinsam, daß sie nur O-Liganden im Molekül tragen. Besonders deutlich ist der Einfluß bei Oxalsäure, TPP und HEDP. Während ohne Yttrium schon kleinste Mengen Komplexbildner zu einer BiCA führen, steigt mit Yttrium die Grenzkonzentration, mit der sich gerade noch eine Komplexbildneraktivität nachweisen läßt, bei HEDP auf $4 \mu\text{mol/l}$, bei TPP und Oxalsäure auf $70 \mu\text{mol/l}$. Bei Citronensäure und Weinsäure ist der Einfluß geringer.

Tabelle 8. Einfluß von Yttrium auf die BiCA: Die Y^{3+} -Konzentration beträgt 55 mmol/l ; das entspricht dem ca. 5000-fachen der Bi^{3+} -Konzentration

	Umsatz [%] ohne Yttrium	Grenzkonzentration [$\mu\text{mol/l}$] ohne Yttrium	Umsatz [%] mit Yttrium	Grenzkonzentration [$\mu\text{mol/l}$] mit Yttrium
Oxalsäure	50	0.4	0.3	70
Citronensäure	5	3	2	10
Weinsäure	0.2	150	0.1	300
HEDP	65 - 117	0.2	2 - 5	4
TPP	40 - 80	0.2	0.3	70

Worin liegt der Vorteil einer teilweisen Maskierung von Komplexbildnern mit Yttrium?

Yttrium scheint gerade auf die Komplexbildner einen maskierenden Einfluß zu haben, die ohnehin mit dem Bismut-Brenzkatechinviolett-Komplex keinen Stoffumsatz im Verhältnis

1:1 erreichen. Unterstöchiometrische Umsätze sind aber im Sinne dieses Verfahrens nicht erwünscht, weil eine große Menge eines schwachen Komplexbildners, den gleichen Effekt wie eine kleine Menge eines starken Komplexbildners haben kann. Die Ausschließung dieser Komplexbildneranteile ist daher sinnvoll. Man muß sich aber darüber klar sein, daß die Zugabe des Maskierungsreagenz die Bestimmung der Komplexbildungsaktivität zwar selektiver aber nicht unbedingt spezifisch für starke Komplexbildner macht. Denn einerseits hängt die Maskierung immer von der Konzentration der schwachen Komplexbildner ab und andererseits gibt es sicherlich schwache Komplexbildner, die sich durch Yttrium nicht effektiv maskieren lassen.

3.4.2 Einfluß anorganischer Wasserinhaltsstoffe

3.4.2.1 Kationen

Grundsätzlich stören alle Kationen, die bei einem pH-Wert von 2.2 einen farbigen Komplex mit Brenzkatechinviolett bilden. Weiterhin stören alle Kationen, die stärkere Komplexe als Bismut bilden.

Malat (44) hat den Einfluß einer ganzen Reihe von Kationen bei der photometrischen Bismut-Bestimmung mit Brenzkatechinviolett untersucht und festgestellt, daß nur Sn^{4+} , Zr^{4+} , Ti^{4+} , Ga^{3+} , In^{3+} , Fe^{3+} , Molybdate und Wolframate schon in kleinen Mengen stören. Alle anderen Kationen stören erst bei höheren Konzentrationen: Ca^{2+} , Mg^{2+} , Ba^{2+} und Cd^{2+} stören nicht bis zu einem molaren Verhältnis Kation/Bismut von 1000. Für Pb^{2+} , Zn^{2+} , und Mn^{2+} ist die Toleranzschwelle 500, für Co^{2+} und Ni^{2+} 300, für Sr^{2+} und Cu^{2+} 200, für Ag^+ und Fe^{2+} 60, Al^{3+} und Cr^{3+} 20.

Da der photometrischen Bestimmung eine Voranreicherung der Komplexbildner auf einem Anionenaustauscher vorausgeht, ist eine Störung durch freie Kationen auszuschließen. Einen Einfluß können nur Metalle haben, die in einer negativ geladenen Komplex-Speciation auf den Anionenaustauscher sorbiert werden. Da dies immer nur ein kleiner Anteil sein wird, kommen nur die Metalle in Betracht, die schon in geringsten Mengen stören. Sn^{4+} , Zr^{4+} , Ti^{4+} , Ga^{3+} und In^{3+} wird man in Gewässern gewöhnlich nicht in relevanten Konzentrationen vorfinden, so daß sich eine mögliche Störung auf dreiwertiges Eisen reduziert. Echt gelöstes dreiwertiges Eisen liegt in natürlichen Gewässern nur in geringen Mengen vor. Ursache dafür ist das außerordentlich kleine Löslichkeitsprodukt des $\text{Fe}(\text{OH})_3$ mit $L \approx 10^{-36} \text{ mol}^4\text{l}^{-4}$. Da aber kolloidales Eisenhydroxid durch einen 0.45 μm -Filter läuft, wie er bei der Probenvorbereitung benutzt wird, und danach die Wasserprobe auf $\text{pH} = 2.5$ angesäuert wird, muß man mit Fe^{3+} -Ionen im Eluat rechnen. Eine weitere Quelle für dreiwertiges Eisen sind die zur Analyse benutzten Chemikalien. Es ist also erforderlich, eine mögliche Störung durch Reduktion zu Fe^{2+} auszuschließen.

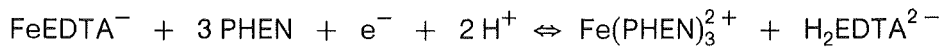
Die analytische Reduktion von Fe^{3+} zu Fe^{2+} ist in der Literatur vielfach beschrieben. Die üblichsten Reduktionsmittel sind Ascorbinsäure, Hydroxylammoniumchlorid, Hydrochinon oder Hypophosphit mit Pd^{2+} (65), (59). Es zeigte sich aber, daß sich dreiwertiges Eisen in Gegenwart von EDTA oder ähnlich starken Komplexbildnern nicht mehr so einfach reduzieren läßt. Das Redoxgleichgewicht ist durch die Komplexbildung des Fe^{3+} mit

EDTA entsprechend der Bildungskonstanten erheblich zu Ungunsten des zweiwertigen Eisens verschoben.

Eine Verschiebung dieses ungünstigen Gleichgewichts läßt sich erreichen, wenn man einen Komplexbildner zusetzt, der einen stabilen Komplex mit zweiwertigem Eisen bildet. Die größte Bedeutung dürfte dabei wohl dem 1,10-Phenanthrolin zukommen, das im pH-Bereich von 2 - 9 mit Fe^{2+} ein orangerotes ($\lambda_{\text{max}} = 512 \text{ nm}$; $\epsilon = 11100$), wasserlösliches Chelat der Zusammensetzung 1:3 bildet (65).

Vydra und Pribil (68) berichten von einer Eisenbestimmung mit Phenanthrolin in Gegenwart von EDTA. Sie stellen fest, daß eine Reduktion des Fe^{3+} mit Hydroxylamin nur bei Einhaltung eines pH-Bereiches zwischen 5 und 8 bei einem 20-fachen Überschuß an Phenanthrolin möglich ist.

Die Reduktion des Fe(III)-EDTA läßt sich dann nach folgender Gleichung beschreiben:



Es wurden nun die Reduktionsbedingungen ermittelt, die eine quantitative Wiederfindung von EDTA in Gegenwart von Fe^{3+} ermöglichten. Dazu wurde von dem sicherlich praxisfremden Extremfall einer äquimolaren Konzentration an Fe^{3+} und EDTA an der oberen Bestimmungsgrenze des Verfahrens ausgegangen.

Zur Eliminierung der Eisenstörung wurden folgende Verfahrensschritte eingeführt:

Nach der Anreicherung der Wasserprobe mit einem Anionenaustauscher, wird evtl. vorhandenes Fe^{3+} im eingedampften Eluat bei einem pH von ungefähr 6 und bei einem im Vergleich zu Bismut 10-fachen Überschuß an 1,10-Phenanthrolin sowie ca. 1000-fachen Überschuß an Hydroxylamin reduziert. Der Verlauf der Reduktion bzw. die Bildung des $\text{Fe}(\text{Phen})_3^{2+}$ -Komplexes geht sehr langsam vor sich. Die Farbentwicklung war bei Zimmertemperatur erst nach ca. 30 min abgeschlossen. Eine wesentliche Beschleunigung wird durch Erwärmen auf ca. 50 °C erreicht.

Die durch die Bildung des $\text{Fe}(\text{Phen})_3^{2+}$ -Komplexes auftretende Färbung der Probelösung, stört im allgemeinen die folgende Extinktionsmessung nach Zugabe des Bismut-Brenzkatechinviolett-Komplexes nicht. Bei den untersuchten Wasserproben war der Extinktionsbeitrag bei der zu messenden Wellenlänge von 580 nm stets < 0.003 und daher vernachlässigbar. Allerdings muß bei der weiteren Reagenzzugabe darauf geachtet werden, daß das Brenzkatechinviolett vor dem Bismut zugegeben wird. Dadurch erniedrigt sich der pH-Wert der Lösung einerseits und andererseits kann Bismut vom Brenzkatechinviolett abgefangen werden, was beides ein Ausfallen von Hydrolyseprodukten des Bismuts verhindert.

Sollten höhere Eisenkonzentrationen auftreten, muß die Eigenextinktion vor Zugabe des Bismut-Brenzkatechinviolett-Komplexes gemessen und bei der Auswertung berücksichtigt werden.

3.4.2.2 Anionen

Im weitesten Sinne gehören anorganische Anionen auch zu den Komplexbildnern. Ihr Beitrag zu einer Komplexbildneraktivität ist daher nicht unbedingt eine "Störung", aber als schwache Komplexbildner im Sinne dieses Verfahrens doch unerwünscht.

Es zeigte sich, daß PO_4^{3-} ab 120 mg/l, SO_4^{2-} ab 250 mg/l und Cl^- ab 300 mg/l einen signifikanten Beitrag zur BiCA haben. Ein durchschnittliches Rheinwasser enthält zum Beispiel 1,3 mg/l PO_4^{3-} , 167 mg/l Cl^- und 78 mg/l SO_4^{2-} (12). Ein Beitrag dieser Anionen zur BiCA ist daher nicht zu erwarten. Die Verhältnisse ändern sich, wenn ein Anreicherungs-schritt der Messung der BiCA vorausgeht, bei der anorganische Anionen in vollem Umfang mitangereichert werden. Ein Anreicherungsverfahren sollte deswegen selektiv für synthetische organische Komplexbildner sein.

3.5 Zusammenfassung

Die Grundlage zur photometrischen Bestimmung von Komplexbildnern über Ligandenaustausch sind Metall-Farbkomplexe. Es konnte gezeigt werden, daß Bismut ein geeignetes Kation ist. Unter den Gesichtspunkten einer niedrigen Nachweisgrenze und der möglichst quantitativen Erfassung von starken synthetischen Komplexbildnern wurde als Farbstoff Brenzkatechinviolett für besser als Xylenolorange befunden. Die Umsetzung des Bismut-Brenzkatechinviolett-Komplexes wird als Bismut-Komplexbildneraktivität, kurz BiCA bezeichnet. Sie wird in $\mu\text{mol/l}$ angegeben und entspricht der Menge an Bismut-Brenzkatechinviolett-Komplex, die durch Komplexbildner umgesetzt wird.

Es zeigte sich, daß die starken synthetischen Komplexbildner

- NTA
- EDTA
- CDTA
- EGTA
- DTPA
- HEEDTA
- EDTP
- ATMP
- ISDA

eine dem Verhältnis 1:1 entsprechende Umsetzung erreichen, das heißt, der Beitrag zur BiCA ist die tatsächlichen Stoffmenge. Schwächere synthetische Komplexbildner wie

- HEDP (Umsatz 65 - 117%)
- ADA (Umsatz 60 - 80%)
- TPP (Umsatz 40 - 80%)

und natürliche Komplexbildner wie

- Oxalsäure (Umsatz 50%)
- Citronensäure (Umsatz 5%)

- Weinsäure (Umsatz 0.2%)

erreichen keinen stöchiometrischen Stoffumsatz. Keinen Beitrag zur BiCA liefert zum Beispiel **Glycin**.

Als Grenze, um überhaupt in praxisnahen Konzentrationen zur BiCA beizutragen, kann für das Gleichgewicht ML/M.L eine effektive Bildungskonstante von mindestens $\log \beta_{ML}^{eff} = 5$ angegeben werden, um eine vollständige Umsetzung zu erreichen, ist eine effektive Bildungskonstante $\log \beta_{ML}^{eff} = 9.5$ notwendig.

Der Einfluß schwacher Komplexbildner, die kein N als Ligand im Molekül tragen, kann durch Zugabe von Yttrium weiter zurückgedrängt werden. Dazu gehören die Komplexbildner

- HEDP (Umsatz 2 - 5%)
- TPP (Umsatz 0.3%)
- Oxalsäure (Umsatz 0.3%)
- Weinsäure (Umsatz 0.1%)
- Citronensäure (Umsatz 2%)

4. Anreicherung von Komplexbildnern

4.1 Einführung

Die Empfindlichkeit des Bismut-Brenzkatechinviolett-Systems ist durch die Steigung der Eichgeraden $A_1 \approx 0.072 \text{ l}/\mu\text{mol}$ gegeben. Die Standardabweichung σ_b des Blindwertes, also die Durchführung des Verfahrens ohne Zugabe von Komplexbildnern, ergibt sich für die Extinktionsmessung zu 0.004 ($n = 7$). Als untere Grenze für die sichere Bestimmung eines Stoffes wird gewöhnlich das 3-fache der Standardabweichung des Blindwertes gefordert, womit eine Sicherheit von 99.7% zugrunde gelegt ist. Das heißt also: Um eine Komplexierungsaktivität sicher nachweisen zu können, muß die Extinktionsdifferenz ΔE mindestens 0.012 betragen. Mit $c = \Delta E / A_1$ ergibt sich für die Nachweisgrenze eine Konzentration von $0.2 \mu\text{mol/l}$ Komplexbildner, was einer Konzentration von $39 \mu\text{g/l}$ NTA entspricht. Wie Untersuchungen zeigen, liegen NTA / EDTA-Konzentrationen in Oberflächenwasser zwischen 1 und $100 \mu\text{g} / \text{l}$ (21). Eine praxisnahe Methode zur Bestimmung einer Komplexierungsaktivität in Oberflächenwasser sollte diesen Konzentrationsbereich erfassen. Zur Bestimmung der Komplexierungsaktivität mit dem Bismut-Brenzkatechinviolett-Komplex muß der photometrischen Messung eine Anreicherung der Komplexbildner aus der Wasserprobe vorausgehen.

Die Wahl der Anreicherungsmethode ist von entscheidender Bedeutung für die Messung der BiCA. Aus der großen Bandbreite komplexierender Wasserinhaltsstoffe werden je nach Methode unterschiedliche Komplexbildner erfaßt. Für die Ausarbeitung des vorliegenden Verfahrens war die Erfassung der starken Komplexbildneranteile von besonderem Interesse. Die Anreicherungsmethode sollte also folgende Bedingungen erfüllen:

1. Starke Komplexbildner, im allgemeinen also Chelatbildner vom Typ der Aminopolycarbonsäuren (NTA, EDTA) oder Phosphonsäuren (HEDP, EDTP) möglichst quantitativ erfassen.
2. Mittelstarke Komplexbildner, wie organische Säuren, Huminstoffe und schwache Komplexbildner wie Chlorid, Phosphat oder Sulfat möglichst ausschließen.
3. Störende Kationen, die mit Brenzkatechinviolett auch farbige Komplexe bilden, entfernen.

Eine Anreicherung von Komplexbildnern aus Wasserproben wird am einfachsten durch Abdampfen des Wassers erreicht. Da es sich durchweg um nicht flüchtige Verbindungen handelt, ist ein Entweichen in die Gasphase auszuschließen. Der entscheidende Nachteil ist aber die damit verbundene Mit-anreicherung schwacher Komplexbildner und Kationen. Zum Beispiel haben 100 mg/l Cl^- (typische Konzentration für Fließgewässer) eine BiCA von $0.07 \mu\text{mol/l}$, was unterhalb der Nachweisgrenze liegt. Eine Anreicherung der Wasserprobe um den Faktor 10 durch Abdampfen des Wassers, erhöht die Cl^- -Konzentration auf 1000 mg/l , was zu einer Chlorid-bedingten BiCA von $0.72 \mu\text{mol/l}$ führt (Tabelle 9) und deutlich über der Nachweisgrenze liegt.

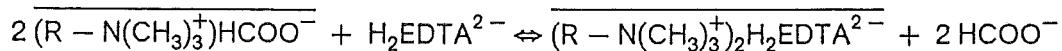
Tabelle 9. Einfluß von Cl^- auf die BICA

Cl^- (mg/l)	BICA. ($\mu\text{mol/l}$)
100	0.07
300	0.24
1000	0.72

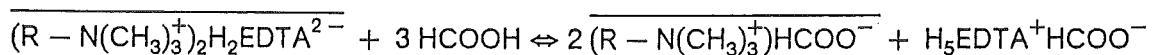
Diese Methode scheidet daher aus. Welche geeignetere Anreicherungsmethode steht zur Wahl ?

Bei einigen gaschromatographischen Bestimmungsmethoden von NTA (24), (41), (2) und EDTA (21) wird eine Voranreicherung der Komplexbildner auf dem stark basischen Austauscher BIORAD AG 1-X2 beschrieben, die auf eine Arbeit von Davies et al. (10) zurückgeht.

Bei dieser Methode wird der Anionenaustauscher in die Formiat-Form gebracht und anschließend der Komplexbildner als Anion sorbiert. Das Austauschgleichgewicht läßt sich zum Beispiel für EDTA als zweiwertiges Anion wie folgt anschreiben:



Damit werden natürlich auch andere Anionen wie zum Beispiel Cl^- mitangereichert, die dann bei der Messung der BICA stören würden. Der Trick besteht nun darin, daß bei der Regeneration durch pH-Wert-Änderung (Elution mit Ameisensäure) bei NTA und EDTA eine Ladungsumkehr eintritt und diese als Kation eluiert werden, während Cl^- seinerseits auf dem Austauscher bleibt. Formal läßt sich die Elution mit Ameisensäure am Beispiel des zweiwertigen EDTA-Anions nach folgender Reaktion beschreiben:



Die Verwendung der Ameisensäure bringt den Vorteil, das Elutionsmittel vollständig abdampfen zu können.

Mit dieser Anreicherungsmethode werden naturgemäß auch Kationen, soweit sie nicht bereits in einer anionischen Form vorliegen, aus der Wasserprobe entfernt.

Es wurde nun untersucht, ob sich die für den Zweck dieser Arbeit maßgeblichen Komplexbildner allgemein nach dieser Methode anreichern lassen und unter welchen Bedingungen möglichst hohe Wiederfindungsgrade für starke Komplexbildner bei gleichzeitig niedrigen Wiederfindungsgraden für schwache Komplexbildner erzielt werden.

4.2 Sorption der Komplexbildner

BIORAD AG 1-X2 ist ein stark basischer Anionenaustauscher mit quartären Amingruppen, der speziell für analytische Zwecke gereinigt wurde. Durch den kleinen Vernetzungsgrad von 2% eignet er sich zur Sorption höher molekularer Anionen. Das Gegenion in der Lieferform ist Chlorid.

Die geometrischen Abmessungen der für folgende Versuche benutzten Säule waren eine Länge von 10 cm und ein Durchmesser von 0.7 cm. Der Austauscher wird ca. 5 cm hoch in die Säule gefüllt. Durch Spülen mit 16-molarer Ameisensäure wird er in die Formiat-Form gebracht und anschließend mit dest. Wasser gewaschen, bis der Ablauf einen pH-Wert von 5 - 6 hat.

Die Ermittlung eines optimalen pH-Wertes zur Sorption der Komplexbildner auf dem Austauscher erfolgte in einem künstlichen Rheinwasser, das auf die pH-Werte 1, 2, 2.5 und 3 gebracht wurde. Das künstliche Rheinwasser enthielt alle anorganischen Hauptkomponenten auf der Basis der Jahresmittel-Meßwerte des Rheins bei Ochten von 1979 (12). Die Zusammensetzung ist in Tabelle 10 enthalten.

Tabelle 10. Zusammensetzung des künstlichen Rheinwassers: Berücksichtigt wurden nur die anorganischen Hauptkomponenten auf der Basis der Jahresmittel-Meßwerte von Ochten (Rhein-km 906; 1979)

Kation / Anion	mg/l	mmol/l
Na ⁺	91.0	3.95
K ⁺	7.0	0.18
Ca ²⁺	80.0	2.00
Mg ²⁺	11.8	0.049
NH ₄ ⁺	0.9	0.05
Cl ⁻	167.0	4.71
HCO ₃ ⁻	153.0	2.51
SO ₄ ²⁻	78.0	0.81
F ⁻	0.3	0.014
NO ₃ ⁻	17.0	0.27
PO ₄ ³⁻	1.3	0.013

100 ml des künstlichen Rheinwassers mit einer Konzentration von jeweils 0.24 $\mu\text{mol/l}$ Komplexbildner wurden über die Säule geschickt. Im Ablauf wurde die nicht sorbierte Komplexbildnerkonzentration für die Aminopolycarbonsäuren NTA, ADA, EDTA, CDTA, EGTA und DTPA gaschromatographisch, für Citronensäure und Oxalsäure mit dem Bismut-Brenzkatechinviolett-Komplex bestimmt. Der Sorptionsgrad entspricht dem Verhältnis aus der gefundenen Konzentration im Ablauf und der aufgegebenen Konzentration.

Wie Tabelle 11 zeigt, sind bei einem pH-Wert von 3.0 alle untersuchten Komplexbildner quantitativ auf dem Austauschsorptionsmittel sorbiert. Bei kleiner werdenden pH-Werten nimmt der Sorptionsgrad ab. Erstaunlich ist das Ergebnis, daß der kleine pH-Sprung von 2 nach 1 über Sorption und Nicht-Sorption entscheidet.

Für ein besseres Verständnis sollte man die Speciesverteilung eines Komplexbildners in Abhängigkeit vom pH-Wert betrachten.

Tabelle 11. Sorption von Komplexbildnern aus künstlichem Rheinwasser auf den Anionenaustauscher BIORAD AG 1-X2: 100 ml künstliches Rheinwasser mit einer Konzentration von jeweils 0.24 $\mu\text{mol/l}$ Komplexbildner (Oxalsäure und Citronensäure in 5-fach höherer Konzentration) wurden über die Säule geschickt und der Sorptionsgrad ermittelt. Der pK_1 -Wert ist die erste Dissoziationskonstante des Komplexbildners.

Komplexbildner	pH = 1	pH = 2	pH = 2.5	pH = 3	pK_1
Citr	< 1%	34%	85%	100%	2.87
CDTA	< 1%	77%	100%	100%	2.42
EDTA	< 1%	84%	100%	100%	2.0
EGTA	< 1%	86%	100%	100%	2.0
DTPA	< 1%	95%	100%	100%	1.82
NTA	< 1%	94%	100%	100%	1.80
ADA	< 1%	96%	100%	100%	1.44
Oxal	< 1%	94%	100%	100%	1.04

4.2.1 Berechnung der Speciesverteilung mit AWASA

Die Gleichgewichtslage des Systems Komplexbildner-künstliches Rheinwasser kann mit Hilfe der Dissoziations- und Bildungskonstanten der verschiedenen Species als Funktion des pH-Wertes berechnet werden. Dazu wurde das Programm AWASA (15) verwendet. Die Berechnung erfolgte für Citronensäure, NTA und EDTA bei den pH-Werten 2.5 und 1.0. Berücksichtigt wurden die verschiedenen Protonierungsstufen der Säuren, wobei für NTA und EDTA auch kationische Species existieren. Die freie Säure liegt bei NTA und EDTA in der Betainstruktur vor. Weiterhin wurde die Komplexbildung mit den Kationen des künstlichen Rheinwassers mit in Betracht bezogen. Abbildung 9 zeigt die Ergebnisse der Rechnung, wobei alle negativ geladenen Speciesanteile grau unterlegt sind.

Deutlich zu sehen ist, daß bei $\text{pH} = 2.5$ NTA und EDTA zu ca. 80% als ein- und zweiwertige Anionen vorliegen; NTA als H_2L^- und HL^{2-} , EDTA als H_2L^{2-} und H_3L^- . Dagegen liegt Citronensäure zu ca. 80% in ungeladener Form als freie Säure H_3L vor.

Das stimmt mit dem experimentellen Befund überein, daß NTA und EDTA quantitativ, Citronensäure aber nur zu 85% bei $\text{pH} = 2.5$ sorbiert werden. Bei $\text{pH} = 1$ sind bei allen

drei Komplexbildnern die ungeladenen bzw. positiv geladenen Species so vorherrschend, daß es eine Sorption praktisch nicht gibt.

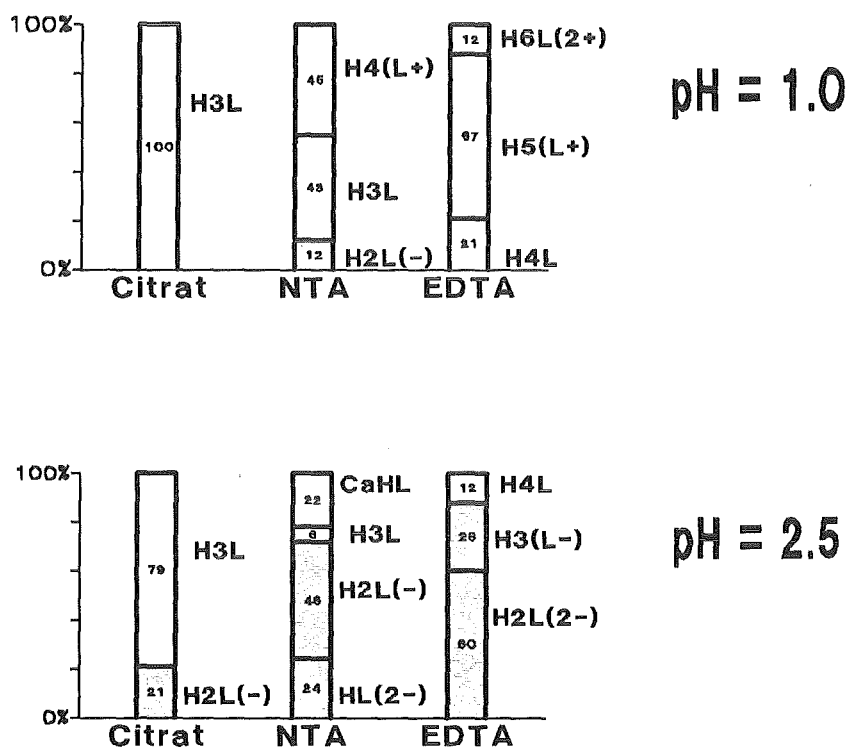


Abbildung 9. Berechnete Speciesverteilung für Citrat, NTA und EDTA: Die Berechnung wurde für ein künstliches Rheinwasser ohne Schwermetalle mit dem Programm AWASA ausgeführt. Es wurden für Citronensäure die Species L^{3-} , HL^{2-} , H_2L^- , H_3L , CaL^- , $CaHL$, für NTA die Species L^{3-} , HL^{2-} , H_2L^- , H_3L , H_4L^+ , CaL^- , $CaHL$, MgL^- , $MgHL$ und für EDTA die Species L^{4-} , HL^{3-} , H_2L^{2-} , H_3L^- , H_4L , H_5L^+ , H_6L^{2+} , CaL^{2-} , $CaHL^-$, MgL^{2-} , $MgHL^-$ berücksichtigt. Speciesanteile von unter 1% wurden nicht ins Diagramm aufgenommen.

Entscheidend für die Sorption des Komplexbildners ist der pK_1 -Wert (Tabelle 11, letzte Spalte), der das Gleichgewicht zwischen freier Säure und einwertigem Anion beschreibt:

$$pK_1 = -\log \frac{[H_{j-1}L^-][H^+]}{[H_jL]} \quad [10]$$

Nach der Henderson-Hasselbach-Gleichung

$$pH = pK_1 + \log \frac{[H_{j-1}L^-]}{[H_jL]} \quad [11]$$

liegt bei $\text{pH} = \text{pK}_1$ freie Säure und konjugierte Base im gleichen Verhältnis vor. Entscheidend scheint zu sein, daß zur vollständigen Sorption die negativ geladenen Species im Überschuß vorliegen müssen. Soll der Komplexbildner angereichert werden, muß der eingestellte pH-Wert der Wasserprobe oberhalb des pK_1 -Wertes liegen; unterhalb dieses pH-Wertes nimmt der Sorptionsgrad ab.

Der pK_1 -Wert der Aminopolycarbonsäuren NTA, ADA, EDTA, CDTA, EGTA und DTPA liegt unterhalb 2.5; zur Erfassung dieser Komplexbildner kann die Wasserprobe daher bis oberhalb $\text{pH} = 2.5$ angesäuert werden. Eine quantitative Sorption der Citronensäure findet dann nicht mehr statt, was eine Selektivität der Anreicherung für Aminopolycarbonsäuren bedeutet. Bei dem kritischen pH-Wert von 2.0 läßt sich eine Korrelation zwischen Sorptionsgrad und pK_1 erkennen: Der pK_1 -Wert nimmt in Tabelle 11 von Citronensäure nach Oxalsäure ab, der Sorptionsgrad bei $\text{pH} = 2$ von Citronensäure nach Oxalsäure zu.

Was läßt sich aus den Betrachtungen folgern? Ein pH von 2.5 scheint zur Sorption von Komplexbildnern aus einer Wasserprobe auf den stark basischen Austauscher BIORAD AG 1-X2 optimal zu sein. Bei diesem pH-Wert lassen sich die untersuchten starken Komplexbildner quantitativ sorbieren. Allgemein läßt sich sagen, daß organische Säuren mit einem $\text{pK}_1 < 2.5$ quantitativ, Säuren mit einem $\text{pK}_1 > 2.5$ dagegen nur unvollständig sorbiert werden. Zu letzteren gehören in der Regel schwache Komplexbildner (niedermolekulare Carbonsäuren, Fettsäuren), so daß dadurch schon eine gewisse Trennung in schwache und starke Komplexbildner erreicht wird.

Die Wahl eines pH-Wertes von 2.5 hat auch den Vorteil, daß beim späteren Eluieren mit Ameisensäure kein aufsteigendes CO_2 zur Blasenbildung im Austauscherbett führt, weil durch den niedrigen pH-Wert bereits vorher alles CO_2 ausgetrieben wird.

4.3 Elution der Komplexbildner

Die Elution organischer Säuren vom Austauscher kann durch Ameisensäure geeigneter Konzentration erreicht werden. Davies et al. (10) eluierten eine Reihe organischer Carbonsäuren vom DOWEX 1-X10 Austauscher mit Ameisensäure und stellten eine gewisse Abhängigkeit von Struktur und Säurestärke der sorbierten Substanzen und der Säurekonzentration des Elutionsmittels fest: Bei Säuren ähnlicher Struktur eluieren die Schwächeren zuerst. Andererseits können langkettige, schwache, aliphatischen Säuren nach kurzkettigen, starken Säuren eluieren, und aromatische Säuren eluieren in der Regel schlechter als aliphatische Säuren.

Die Elution von NTA mit Ameisensäure vom BIORAD AG 1-X2 Austauscher wurde von vielen Autoren beschrieben, wobei eine Ameisensäurekonzentration zwischen 2.5 und 16 mol/l empfohlen wird (24), (41), (2), (21), (11).

Es wurde nun untersucht, welche Komplexbildner vom BIORAD AG 1-X2 mit Ameisensäure eluiert werden können. Es sollte die Ameisensäurekonzentration ermittelt werden, bei der Aminopolycarbonsäuren und Phosphonsäuren möglichst quantitativ eluiert werden.

Zur Untersuchung des Einflusses der Eluentenkonzentration wurden die Aminopolycarbonsäuren NTA, ADA, EDTA, CDTA, EGTA, DTPA und die Phosphonsäuren HEDP, ATMP, EDTP sowie die schwachen Komplexbildner Citronensäure und Oxalsäure mit verschiedenen Ameisensäurekonzentrationen eluiert. Die aus einem künstlichen Rheinwasser vorangegangene Sorption erfolgte mit Ausnahme der Citronensäure bei $\text{pH} = 2.5$. Citronensäure mußte für eine vollständige Sorption bei $\text{pH} = 3$ sorbiert werden.

Der Zusammenhang zwischen dem pK_1 -Wert und der zur Elution nötigen Ameisensäurekonzentration wird in Abbildung 10 deutlich. Die Komplexbildner wurden sukzessive mit jeweils 10 ml Ameisensäure steigender Konzentration vom BIORAD AG 1-X2 eluiert. Der jeweilige Wiederfindungsgrad wurde als Summe im Stabdiagramm dargestellt. Eindeutig erkennbar, verschieben sich die Maxima der Wiederfindungsgrade von der Citronensäure zur Oxalsäure hin zu höheren Ameisensäurekonzentrationen. Citronensäure (mit dem höchsten pK_1 -Wert) beginnt schon mit 0.2-molarer Ameisensäure, merklich zu eluieren. Oxalsäure (mit dem kleinsten pK_1 -Wert) läßt sich nur mit mindestens 6-molarer Ameisensäure eluieren.

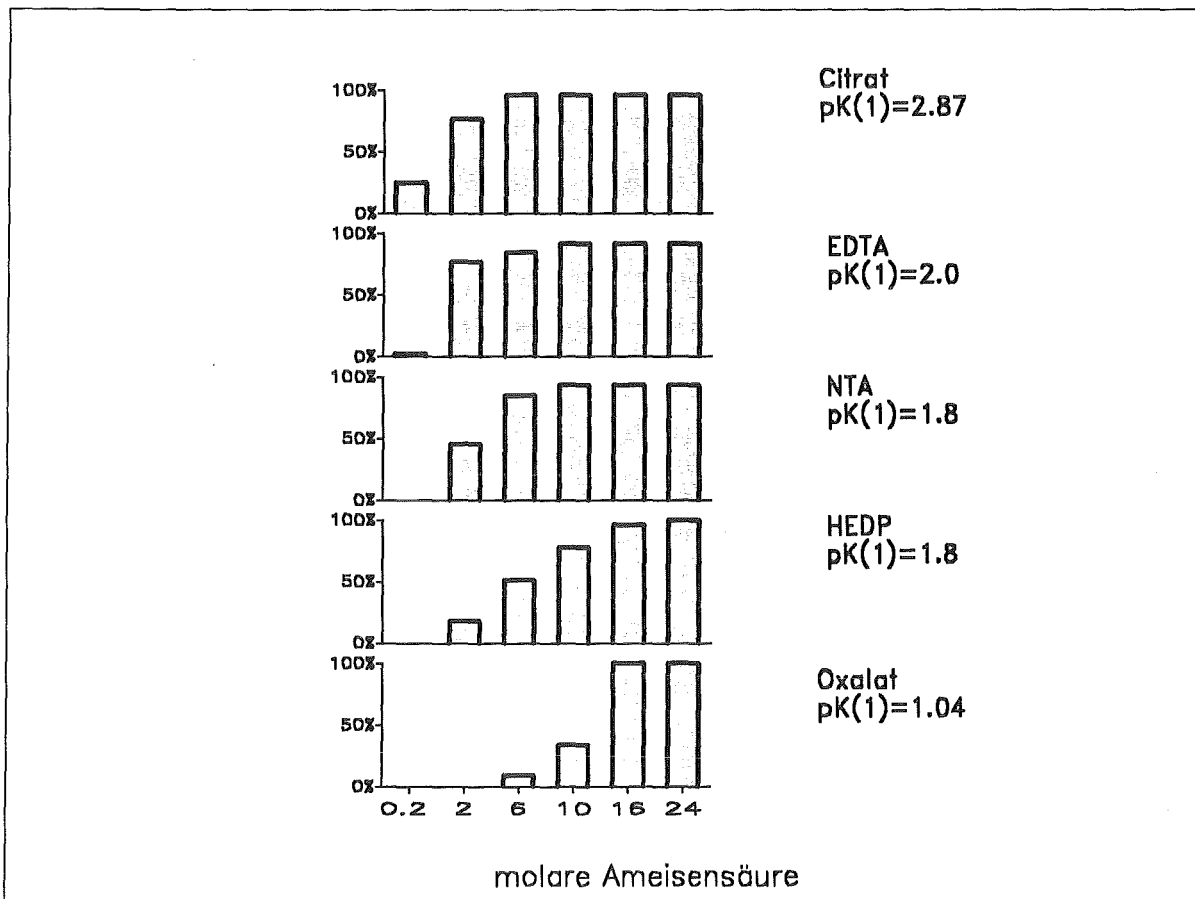


Abbildung 10. Elution von Komplexbildnern mit Ameisensäure: 0.24 $\mu\text{mol/l}$ HEDP, NTA, EDTA und 1.20 $\mu\text{mol/l}$ Oxalat und Citrat wurden jeweils in 100 ml künstlichem Rheinwasser über die Säule geschickt. Anschließend wurde sukzessive mit 10 ml 0.2-, 2-, 6-, 10-, 16- und 24 molarer Ameisensäure eluiert. Die Konzentrationen im Eluat wurden für Citrat, HEDP, und Oxalat photometrisch, für NTA und EDTA gaschromatographisch bestimmt.

Diese Untersuchungen führten aber auch zu der Erkenntnis, daß nicht grundsätzlich alle Komplexbildner mit Ameisensäure eluiert werden können. Zum Beispiel konnte von den drei Phosphonsäuren HEDP, ATMP und EDTP nur HEDP im Eluat nachgewiesen werden. ATMP und EDTP ließen sich mit keiner Ameisensäurekonzentration vom Austauscher verdrängen.

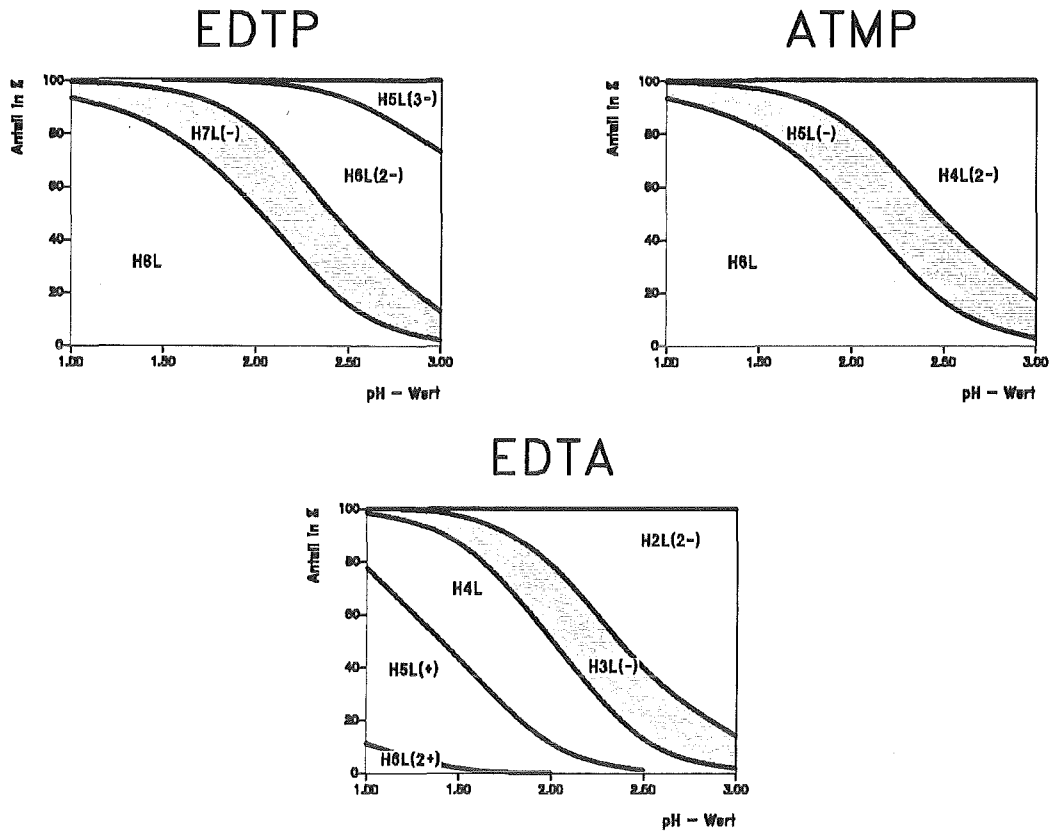


Abbildung 11. Speciesverteilung für EDTP, ATMP sowie EDTA: Die Berechnung wurde mit dem Programm AWASA für 0.1 mmol/l Komplexbildner in Na-Form und 10 mmol/l NaCl durchgeführt und die Summenkurven der Speciesanteile aufgetragen.

Die Erklärung ist, daß bei dem während der Elution maßgeblichen pH-Wert noch negativ geladene Protonierungsstufen im Gleichgewicht vorliegen. Abbildung 11 zeigt die mit AWASA berechnete Speciesverteilung von EDTP, ATMP sowie EDTA im pH-Bereich von 1 bis 3. Die Summenkurven ergeben sich aus dem Anteil des beschrifteten Species und dem Anteil aller höher protonierten Formen. Man sieht, daß bei $\text{pH} = 1$ für EDTA ausschließlich kationische Formen (H_6L^{2+} , H_5L^+) und das ungeladene H_4L existieren, EDTP und ATMP dagegen auch noch zu einem Anteil von 7% als H_7L^- bzw. H_5L^- vorliegen. Der durch die Rechnung aufgezeigte Unterschied ist nicht so dramatisch wie der experimentelle Befund, so daß man noch zusätzlich von einer spezifischen Sorption der Phosphonsäuren ausgehen muß. Das zeigt sich auch bei HEDP, die trotz gleichem pK_1 -Wert wie NTA, zur Erreichung vollständiger Desorption höhere Ameisensäurekonzentrationen benötigt als NTA (siehe Abbildung 10). Hinzu kommt, daß sich die Datensätze der Dissoziationskonstanten von Phosphonsäuren in der Literatur erheblich unterscheiden. Der

Berechnung liegen die von Heiss (28) ermittelten Dissoziationskonstanten zu Grunde (Tabelle 12). Würde man aber auf Datensätze von (46) oder (47) zurückgreifen, wären die Anteile negativer Speziationen erheblich größer. Hier ist der pK_2 -Wert bereits kleiner als der von Heiss (28) ermittelte pK_1 -Wert. Wegen der Unvollständigkeit der Daten war aber eine Berechnung mit diesem Datensatz nicht möglich.

Zur Elution von EDTP wären also bedeutend niedrigere pH-Werte notwendig. Mit Ameisensäure sind aber wegen des relativ hohen pK_1 -wertes ($pK_1 = 3.7$) und dem mit zunehmender Konzentration abnehmenden Dissoziationsgrad sehr niedrige pH-Werte nicht einstellbar. Zur Regeneration von EDTP und ATMP müßte daher ein anderes Elutionsmittel benutzt werden. Dieser Sachverhalt ließe sich zur Anreicherung von Phosphonsäuren mit gleichzeitiger Abtrennung anderer Komplexbildner ausnutzen. Wegen der erfolgreichen Anwendung der Ameisensäure für Aminopolycarbonsäuren, wurde dennoch dieses als Regenerationsmittel beibehalten.

Tabelle 12. Dissoziationskonstanten für EDTP aus verschiedenen Literaturquellen: Sie gelten für $I = 0.1 \text{ mol/l}$ und $T = 25^\circ\text{C}$. Der Datensatz von Heiss (28) diene als Berechnungsgrundlage für Abbildung 11.

Literaturstelle	(28)	(46)	(47)
pK_1	1.99	-	-
pK_2	1.98	1.33	1.37
pK_3	3.06	3.02	3.15
pK_4	5.39	5.17	5.26
pK_5	6.69	6.42	6.57
pK_6	8.14	7.94	8.13
pK_7	10.37	9.78	10.01
pK_8	11.61	12.99	13.14

4.4 Einfluß von Schwermetallen

Die Gegenwart von Schwermetallen kann das Anreicherungsverhalten von Komplexbildnern auf dem Anionenaustauscher entscheidend verändern, weil mit der Komplexbildung eine Verschiebung der Speciesanteile und damit auch der Ladungsformen verbunden ist. Bisher waren nur Alkali- und Erdalkali-Ionen zugegen, die, wie die Rechnung mit AWASA für ein künstliches Rheinwasser zeigt, bei den niedrigen pH-Werten nur wenig komplexiert werden. Bei einem pH-Wert von 2.5 ist die Komplexbildung von Citrat und EDTA mit Calcium und Magnesium vernachlässigbar klein. Allein NTA liegt zu 20% in Form des CaHNTA -Komplexes vor.

In einem Oberflächengewässer können auch gelöste Schwermetalle in einem ähnlichen Konzentrationsbereich wie Komplexbildner vorkommen, die auch bei niedrigen pH-Wer-

ten noch Komplexe bilden. Es wurde daher das Anreicherungsverfahren bei Anwesenheit von einem zwei- und dreiwertigen Schwermetall (Cu^{2+} , Fe^{3+}) untersucht und die Ergebnisse mit der berechneten Speciesverteilung verglichen.

Es zeigte sich, daß die für die Aminopolycarbonsäuren NTA, EDTA, CDTA, EGTA und DTPA experimentell ermittelte Sorption in Gegenwart von Schwermetallen für ausnahmslos alle bereits bei $\text{pH} = 2$ vollständig war (Tabelle 13). Ohne Schwermetalle lagen die Sorptionsgrade bei diesem pH-Wert niedriger (80 - 95%). Erstaunlich war, daß jetzt selbst bei $\text{pH} = 1$ noch Komplexbildner vom Austauscher zurückgehalten wurden. Die Erklärung kann nur sein, daß durch Komplexbildung mit Cu^{2+} und Fe^{3+} negativ geladene Species hinzukommen, die ohne Schwermetall nicht gebildet werden.

Tabelle 13. Experimentell bestimmter Sorptionsgrad auf dem Anionenaustauscher in Gegenwart von Schwermetallen: 0.24 $\mu\text{mol/l}$ Komplexbildner und jeweils die gleiche molare Menge an Cu^{2+} bzw. Fe^{3+} in 100 ml künstlichem Rheinwasser wurden über die Säule geschickt und über die Restkonzentration im Ablauf der Sorptionsgrad ermittelt.

Komplexbildner	pH	ohne Schwermetall	mit Fe^{3+}	mit Cu^{2+}
NTA	1	< 1%	11%	11%
	2	94%	100%	100%
EDTA	1	< 1%	5%	31%
	2	84%	100%	100%
CDTA	1	< 1%	< 1%	27%
	2	77%	100%	100%
EGTA	1	< 1%	39%	64%
	2	86%	100%	100%
DTPA	1	< 1%	59%	74%
	2	95%	100%	100%

Abbildung 12 zeigt die mit AWASA berechneten Speciesverteilungen für Citrat, NTA und EDTA in einem künstlichen Rheinwasser mit Cu^{2+} sowie mit Fe^{3+} . Die Konzentrationen betragen jeweils 0.24 $\mu\text{mol/l}$ Komplexbildner und die gleiche molare Menge Schwermetall.

Citronensäure zeigt als schwacher Komplexbildner mit Cu^{2+} und Fe^{3+} bei beiden pH-Werten keinen Effekt und hat dieselben Speziationen wie ohne Schwermetall. Geringe Komplexbildung mit Cu^{2+} zeigt NTA bei $\text{pH} = 2.5$ durch Bildung des CuL^- -Komplexes mit einem Anteil von 5%, während EDTA bei $\text{pH} = 2.5$ zu 100% als CuHL^- vorliegt, der bei $\text{pH} = 1.0$ auf einen Anteil von 39% abfällt.

Die Bildung dieser Cu^{2+} -Komplexe und ihre scheinbar größere spezifische Sorption erklärt die noch bei $\text{pH} = 2$ experimentell ermittelte vollständige Sorption. Daß selbst noch bei $\text{pH} = 1$ eine Sorption zu beobachten ist, erklärt sich für EDTA durch den mit einem Anteil von 39% noch vorliegenden Cu-Hydrogen-Komplex. Für NTA ergibt die Rechnung

bei pH = 1 keine größeren Anteile an Kupfer-Komplexen. Scheinbar machen aber selbst kleinere Anteile, die, da sie unter 1% liegen, nicht im Diagramm berücksichtigt wurden, eine geringe Sorption möglich.

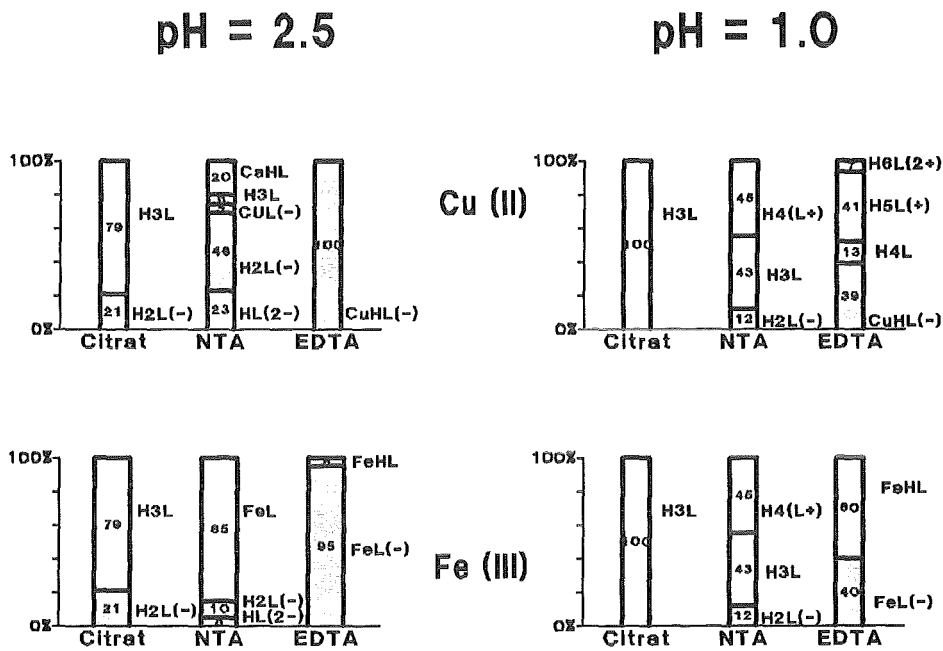


Abbildung 12. Berechnete Speciesverteilung für Citrat, NTA und EDTA: Die Berechnung wurde für ein künstliches Rheinwasser mit Cu^{2+} (oben) und Fe^{3+} (unten) mit dem Programm AWASA ausgeführt. Es wurden für Citronensäure die Species L^{3-} , HL^{2-} , H_2L^- , H_3L , CaL^- , CaHL , CuL^- , CuHL , FeL , für NTA die Species L^{3-} , HL^{2-} , H_2L^- , H_3L , H_4L^+ , CaL^- , CaHL , MgL^- , MgHL , CuL^- , CuHL , FeL , FeL_2^{3-} und für EDTA die Species L^{4-} , HL^{3-} , H_2L^{2-} , H_3L^- , H_4L , H_5L^+ , H_6L^{2+} , CaL^{2-} , CaHL^- , MgL^{2-} , MgHL^- , CuL^{2-} , CuHL^- , FeL^- , FeHL berücksichtigt. Speciesanteile von unter 1% wurden nicht ins Diagramm aufgenommen.

Unerwartet sind die Verhältnisse für NTA bei der Komplexbildung mit Eisen. NTA liegt bei pH = 2.5 hauptsächlich in der FeL-Speciation vor. Trotz des neutralen Komplexes findet eine 100%-ige Sorption am Austauscher statt. Zwei Erklärungen dafür wären, daß das Gleichgewicht beim Durchlaufen der Säule ständig verschoben wird, so daß am Ende ein- und zweiwertige Anionen sorbiert sind oder daß der Austauscher in diesem Fall wie eine Art "Molekularsieb" wirkt und auch ungeladene Species festhalten kann. Für die zweite Begründung spricht auch die Tatsache, daß bei pH = 1 noch eine geringe Sorption beobachtet wird, was auch auf den Fe^{3+} -NTA-Komplex zurückzuführen ist, der an der Speciesverteilung noch einen Anteil von 0.5% hat (nicht im Diagramm berücksichtigt).

Abbildung 13 zeigt die Elution von NTA, EDTA, CDTA, EGTA und DTPA ohne und mit Schwermetallen. Wie bereits in Abbildung 10 illustriert, ist ohne Schwermetallkomplexbildung der pK_1 -Wert für das Verhalten der Säuren maßgeblich. NTA mit dem kleinsten pK_1 -Wert (1.8) erreicht mit 10 ml einer 2-molaren Ameisensäure nur einen Wiederfindungsgrad von knapp 50%, während EDTA, CDTA, EGTA und DTPA mit pK_1 -Werten zwi-

schen 1.9 und 2.4 weitgehend eluiert werden. Enthielt das künstliche Rheinwasser bei der Sorption der Komplexbildner noch zusätzlich die gleiche Menge an Cu^{2+} , waren die Wiederfindungsgrade für alle Aminopolycarbonsäuren mit 2-molarer Ameisensäure kleiner. Für eine weitgehende Elution ist eine 6-molare Ameisensäure notwendig. Verantwortlich dafür sind wieder die negativ geladenen Cu-Komplexe. In Gegenwart von Fe^{3+} ähnelt die Elution eher dem der freien Komplexbildner, was wohl auf die ungeladenen Fe-Hydrogen-Komplexe zurückzuführen ist.

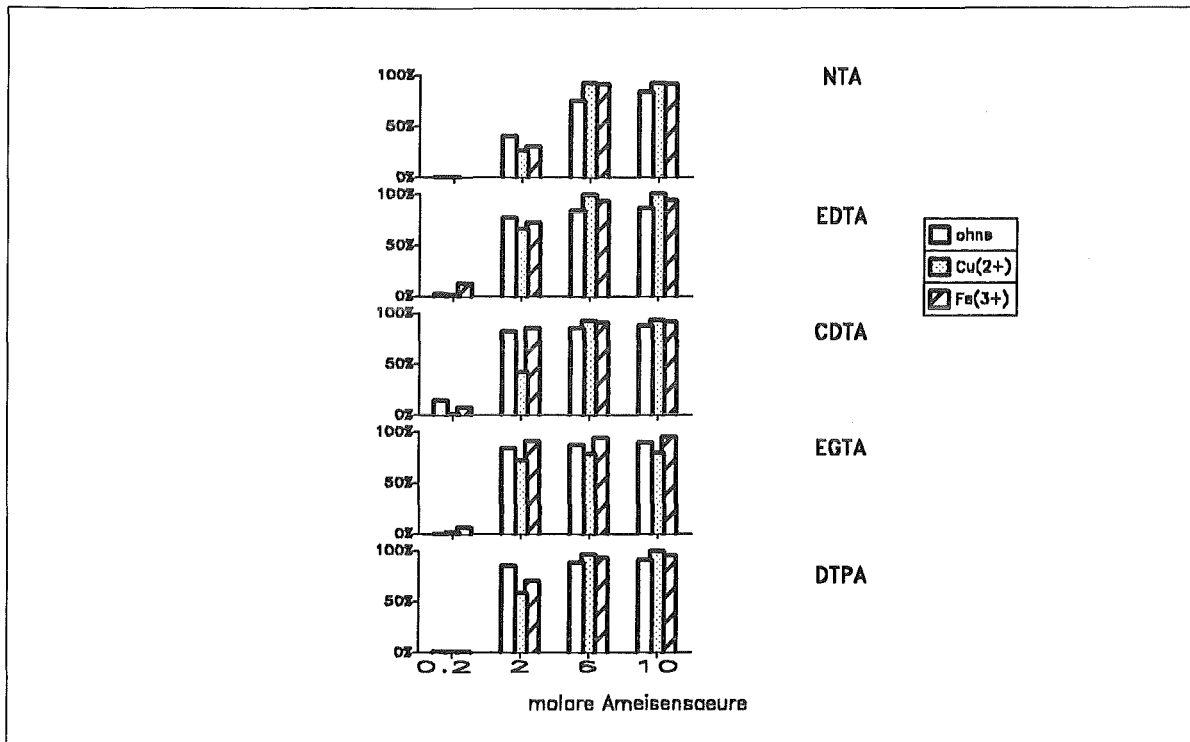


Abbildung 13. Elution von Aminopolycarbonsäuren mit Ameisensäure: 0.24 $\mu\text{mol/l}$ NTA, EDTA, CDTA, EGTA und DTPA wurden jeweils in 100 ml künstlichem Rheinwasser sowohl ohne, als auch mit einer äquimolaren Menge an Cu^{2+} und Fe^{3+} über die Säule geschickt. Anschließend wurde jeder Komplexbildner sukzessive mit 10 ml 0.2-, 2-, 6- und 10 molarer Ameisensäure eluiert. Die Konzentrationen im Eluat wurden gaschromatographisch bestimmt.

Allgemein läßt sich sagen, daß Schwermetalle die Anreicherung von Komplexbildnern mit dem beschriebenen Anionenaustauscher nicht behindern. Die Sorption von Aminopolycarbonsäuren ist dadurch noch bei niedrigeren pH-Werten als bei Systemen ohne Schwermetalle möglich. Die Elution erfordert höhere Ameisensäurekonzentrationen.

4.5 Zusammenfassung

Die Untersuchungen haben gezeigt, daß eine Anreicherung von Komplexbildnern aus einer Wasserprobe mit dem BIORAD AG 1-X2 beschränkt möglich ist. Als Bedingungen wurden zur Sorption ein pH von 2.5 und zur Elution 10 ml einer 10 molaren Ameisensäure gewählt. Von den interessierenden Komplexbildnern lassen sich die Aminopolycarbonsäuren mit Wiederfindungsgraden von durchschnittlich 80% gut anreichern. Durch ein

größeres Elutionsvolumen hätte der Wiederfindungsgrad erhöht werden können, aber praktische Gründe, insbesondere wegen der bei schonender Entfernung der Ameisensäure langen Verdampfungszeit (ca. 1 ml/h), ließen dieses Elutionsvolumen für angemessen erscheinen. Zudem würden bei größeren Volumina im Sinne dieses Verfahrens störende Komplexbildneranteile, wie zum Beispiel die Oxalsäure, in größerem Maße mitangereichert werden. Die Anreicherung von Phosphonsäuren ist nur schlecht oder gar nicht möglich.

Tabelle 14. Wiederfindungsgrade verschiedener Komplexbildner: Die Komplexbildner wurden aus einem künstlichen Rheinwasser (100 ml) bei pH = 2.5 angereichert und mit 10 ml 10-molarer Ameisensäure eluiert.

	Wiederfindung F_w [%]	relative Standardabweichung (aus 5 Messungen)
NTA	92	5%
ADA	79	5%
EDTA	83	5%
CDTA	88	9%
EGTA	79	10%
DTPA	75	6%
HEEDTA	83	4%
HEDP	42	10%
EDTP	0	-
ATMP	0	-
Oxalsäure	49	4%
Citronensäure	79	2%

Folgende allgemeine Aussagen zur Anreicherung von Komplexbildnern auf einem BIO-RAD AG 1-X2 lassen sich machen:

- Es werden alle organischen Säuren mit einem pK_1 -Wert < 2.5 quantitativ sorbiert. Das sind starke Komplexbildner wie Aminopolycarbonsäuren oder Phosphonsäuren, aber auch schwächere Komplexbildner wie die Oxalsäure. Für Komplexbildner mit einem pK_1 -Wert > 2.5 , wie zum Beispiel die Citronensäure, ist die Sorption nicht mehr quantitativ.
- Die Elution mit 10 ml 10-molarer Ameisensäure ergibt bei den gewählten Bedingungen für Aminopolycarbonsäuren Wiederfindungsgrade von ca. 80%. Organische Säuren, die wesentlich saurer sind, wie zum Beispiel Oxalsäure, geben niedrigere Wiederfindungsgrade. Säuren, die zusätzlich eine erhöhte spezifische Sorption für den Austauscher besitzen, wie zum Beispiel EDTP und ATMP, lassen sich nicht mit Ameisensäure vom Austauscher verdrängen.

- Eine weitere zu nennende Einschränkung der Anreicherung ist, daß nur Komplexbildner, die unter den Reaktionsbedingungen beständig sind, vollständig erfaßt werden können. Immerhin werden die Komplexbildner über einen Zeitraum von mehreren Stunden bei 80 °C in konzentrierter Ameisensäure erhitzt. Zum Beispiel zeigte sich für Tripolyphosphat, daß unter den Reaktionsbedingungen 90% der Anfangskonzentration hydrolysiert.

5. Durchführung und Arbeitsvorschrift

Auf Grund der vorangegangenen Untersuchungen wurde eine Arbeitsvorschrift zur Bestimmung einer Bismut-Komplexierungsaktivität ausgearbeitet. Eine ausführliche Form, wie sie zum Beispiel in den Deutschen Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung verwendet werden könnte, findet sich im Anhang. An dieser Stelle wird die Vorgehensweise kurz zusammengefaßt:

- Zur Analyse werden 100 ml Probevolumen benötigt. Diese werden nach der Probenahme mit 1% Formaldehyd stabilisiert und mittels Filtration durch ein 0.45 μm -Membranfilter von suspendierten Stoffen befreit.
- Zur Anreicherung wird die Wasserprobe auf $\text{pH} = 2.5$ angesäuert und durch die vorkonditionierte BIORAD AG 1-X2 Anionenaustauschersäule mit einer Fließgeschwindigkeit von 2 - 3 ml/min geleitet. Die Konditionierung erfolgt mit 16-molarer Ameisensäure und anschließendem Spülen mit dest. Wasser. Die sorbierten Komplexbildner werden mit 10 ml 10-molarer Ameisensäure eluiert und das Regenerationsmittel bei 80 °C auf einem Sandbad unter Überleiten eines Stickstoffstromes abgedampft.
- Zur Reduktion des dreiwertigen Eisens wird der trockene Rückstand mit einer Hydroxylamin / Phenanthrolin-Mischung versetzt.
- Die photometrische Messung erfolgt nach Zugabe des Bismut-Brenzkatechinviolett-Reagenzes. Zu dessen Herstellung wird 2 ml Brenzkatechinviolett- (41.6 mg/l) und 5 ml Bismut-Lösung (5 mg/l) zugegeben und der pH-Wert auf 2.2 eingestellt. Schwache Komplexbildner werden durch Zugabe von 1 ml Yttrium-Lösung (48.7 g/l) maskiert. Die Extinktionsmessung erfolgt frühestens nach 15 min, spätestens nach 30 min bei 580 nm in 5 cm-Küvetten gegen Wasser als Vergleich.

Dieselben Arbeitsschritte werden parallel mit einer Vergleichsprobe (Blindprobe), die keine Wasserprobe enthält, durchgeführt und die Extinktion gemessen.

- Zur Auswertung muß eine Eichkurve erstellt werden. Dazu werden Lösungen mit steigenden Mengen Bismut nach den oben beschriebenen Verfahrensschritten hergestellt (außer Anreicherungsschritt) und die gemessene Extinktion als Funktion der Bismut-Konzentration aufgetragen.
- Zur Auswertung wird die Extinktionsdifferenz $E_v - E_p$ gebildet und nach Gleichung (12) die Bismut-Komplexierungsaktivität BiCA berechnet:

$$\text{BiCA} = \frac{V_V}{V_P} \frac{(E_V - E_P)}{A_1 F_W} \quad [12]$$

BiCA = Komplexierungsaktivität in $\mu\text{mol/l}$
 V_V = Volumen der Farblösung in ml (10ml)
 V_P = Volumen der Wasserprobe in ml (100ml)
 E_V = Extinktion der Vergleichslösung
 E_P = Extinktion der Probelösung
 A_1 = Steigung der Eichgeraden in $l/\mu\text{mol}$
 F_W = Wiederfindungsgrad (0.80)

Die Steigung A_1 erhält man aus der Eichgeraden nach Gleichung 5. Es wurde ein Wiederfindungsgrad F_W von 0.80 angenommen. Dieser ergibt sich als Erfahrungswert aus künstlichem Rheinwasser angereicherten Aminopolycarbonsäuren.

Mit dieser Arbeitsvorschrift wurden die nachfolgenden Untersuchungen durchgeführt.

6. Untersuchungen zur stoffspezifischen Bestimmung von Komplexbildnern

Bei der Untersuchung starker synthetischer Komplexbildner in Oberflächengewässern unter Anwendung der Bismut-Brenzkatechinviolett-Methode war es notwendig, zur Absicherung der Resultate ein Kontrollverfahren anzuwenden, welches stoffspezifisch Komplexbildner bestimmt. Damit ist es möglich, die summarische Größe Bismut-Komplexierungsaktivität (BiCA) in Beiträge von bestimmten Einzelstoffen aufzuschlüsseln. Die Qualität eines Summenparameters steigt in dem Maße, mit dem sich die Einzelbeiträge nachvollziehen lassen.

6.1 Gaschromatographische Bestimmungsmethoden

Ausreichende Empfindlichkeit zur Bestimmung von Komplexbildnern in Umweltproben haben gaschromatographische Methoden. Die hier zur Verfügung stehenden Detektionssysteme erlauben es, Stoffe noch im $\mu\text{g/l}$ -Bereich zu bestimmen. Vor allem selektive Detektoren, wie der thermionische Detektor (TSD; Empfindlichkeit 10^{-13} g/s "N") für N- und P-haltige Stoffe erlauben kleinste Stoffmengen zu erfassen. Der Nachteil der Gaschromatographie liegt in der Beschränkung auf thermisch stabile, verdampfbare Stoffe. Komplexbildner sind als hochmolekulare polare Stoffklasse für GC-Techniken daher nicht direkt erfaßbar. Zum Beispiel gibt es für NTA und EDTA keinen Schmelzpunkt. Der Zersetzungspunkt liegt für EDTA bei 242 °C. Eine gaschromatographische Bestimmung setzt daher eine Derivatisierung voraus.

In den letzten Jahren sind viele Publikationen erschienen, die sich mit der gaschromatographischen Bestimmung von NTA befassen. Das Grundprinzip ist immer dasselbe: Derivatisierung zum Ester und anschließende gaschromatographische Bestimmung mit N-selektiver Detektion. Die gebräuchlichsten Ester sind der Trimethylester (48), (54), der Tripropylester (52), (8), der Tributylester (2), (41), (71), (72), der Trimethylsilylester (62) oder der Tri(2-chloroethyl)ester (55). Als Katalysator dient bei der Veresterung meistens HCl, in Ausnahmen aber auch BF_3 (54). Der Ester wird nach Abdampfen des Reaktionsgemisches in Aceton (2), (41), Chloroform (48) oder Benzol (8) aufgenommen oder aber nach Zugabe von Wasser zum Reaktionsgemisch mit Hexan (11), Chloroform (54) oder Methylcyclohexan (52) extrahiert. Als interner Standard wird bei Verwendung eines TSD häufig Heptadecansäurenitril oder Octadecansäurenitril verwendet (11), (21), (19).

Ein Vorschlag zur NTA-Bestimmung als Butylester ist mittlerweile in den Deutschen Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung als Blaudruck enthalten (11). Es zeigte sich, daß die Bestimmungsmethode für NTA auch auf EDTA übertragbar war. An der Erweiterung des Verfahrens auf EDTA und Standardisierung in den Deutschen Einheitsverfahren wird zur Zeit gearbeitet (19).

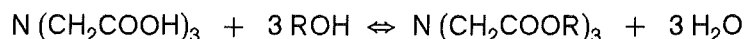
Darüberhinaus sind kaum gaschromatographische Methoden zur Bestimmung weiterer hier interessierender Komplexbildner in der Literatur bekannt. Von Rudling (54) wird noch eine simultane NTA-, EDTA- und DTPA-Bestimmung als Methylester beschrieben. Die Derivatisierung erfolgt mit einer Bortrifluorid / Methanol-Mischung. Die Methode ist

aber recht unempfindlich. Die Nachweisgrenze liegt in Leitungswasser für EDTA und DTPA bei 10 µg/l, für NTA bei 200 µg/l.

Es wurde nun versucht, NTA und EDTA zu bestimmen. Dabei ergab die spätere Anwendung der Bestimmung auf Flußwasserproben bei einigen Probenahmestellen eine auffallend große Differenz zwischen der BiCA und dem Beitrag von NTA und EDTA. In der Vermutung, daß möglicherweise noch andere Aminopolycarbonsäuren vorliegen, deren Auftreten in Oberflächengewässern nicht bekannt ist, wurde das gaschromatographische Verfahren zur Bestimmung von Komplexbildnern dahingehend entwickelt, daß neben NTA und EDTA noch weitere Komplexbildner simultan erfaßt werden. Dies konnte für die Aminopolycarbonsäuren NTA, EDTA, CDTA, EGTA und DTPA erreicht werden.

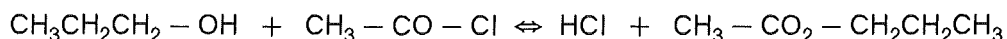
6.1.1 Optimierung der Veresterungszeit der Propylester von NTA, EDTA, CDTA, EGTA und DTPA

Wegen der Nichtflüchtigkeit dieser Komplexbildner setzt der gaschromatographische Nachweis eine vorangehende Veresterung mit einem Alkohol voraus, die für NTA nach dem folgenden Schema abläuft:



Während bisher die n-Butylester von NTA und EDTA als am besten geeignet beschrieben werden (2), (41), (71), (72), zeigte sich bei den Versuchen, daß bei der simultanen Veresterung von NTA, EDTA, CDTA, EGTA und DTPA n-Propanol besser geeignet ist. Mit n-Butanol verschiebt sich dagegen die Retentionszeit von CDTA, EGTA und DTPA in ungünstig hohe Bereiche. Der Molmassenunterschied zwischen n-Propyl- und n-Butylester beträgt beim DTPA immerhin 11%.

Als Katalysator wurde HCl verwendet. Ein HCl-haltiges n-Propanol wird entweder durch Einleiten von HCl-Gas direkt (2), (41), (48), (8) oder aber indirekt durch Reaktion von n-Propanol mit Acetylchlorid (11), (52) erzeugt:



Dazu wird n-Propanol und Acetylchlorid im Verhältnis 10:1 gemischt, sodaß n-Propanol im Überschuß bleibt. Der als Nebenprodukt entstehende Essigsäurepropylester stört die Reaktion nicht und wird nach der Veresterungsreaktion abgedampft.

Die letztere Methode stellte sich als einfachere und zweckmäßigere heraus. Die Veresterungsreaktion wird bei 100°C in einem geschlossenen Rollrandglas im Sandbad durchgeführt und danach die Ester mit Hexan extrahiert. Abbildung 14 zeigt ein Gaschromatogramm der n-Propylester, die in der Reihenfolge ihrer Molmassen aufgetrennt werden.

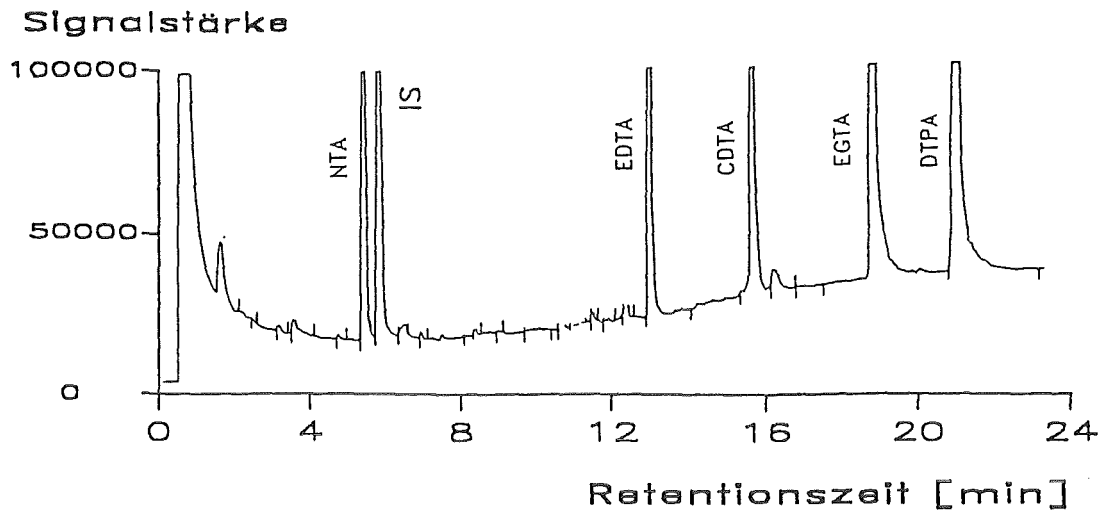


Abbildung 14. Gaschromatogramm der n-Propylester von NTA, EDTA, CDTA, EGTA und DTPA: Heptadecensäurenitril ist interner Standard (IS); Detektor: TSD; GC-Säule: DB 5, 20 m, Filmdicke 0.25 μm ; Temperaturprogramm: 160 $^{\circ}\text{C}$ - 280 $^{\circ}\text{C}$ mit 8 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$, final time: 11 min

Es zeigte sich, daß eine Veresterungszeit von 30 min, wie sie bei der NTA und EDTA-Bestimmung eingehalten wird, für eine quantitative CDTA-, EGTA- und DTPA-Bestimmung nicht ausreicht. In Abbildung 15 ist der Quotient aus der Peakfläche von Komplexbildner und internem Standard über die Veresterungszeit aufgetragen. Die eingespritzten Stoffmengen betragen jeweils 0.16 nmol Komplexbildner und 0.11 nmol interner Standard. NTA hat bereits nach 20 min das Intensitätsmaximum erreicht und eine Verlängerung der Reaktionszeit zeigt keinen Einfluß mehr. EDTA hat nach dieser Zeit ca. 75% seiner beobachtbaren Signalintensität erreicht, während CDTA, EGTA und DTPA höchstens 10% ihrer maximalen Intensität erreicht haben. Erst nach 3 Stunden ändern sich die Flächenquotienten nicht mehr.

Es ist nun von Interesse, welchen Umsetzungsgrad die Veresterungsreaktion erreicht. Dazu wurde jeder einzelne Komplexbildner separat 3 Stunden unter den gleichen Bedingungen verestert und danach in der wässrigen Phase, nachdem die Ester extrahiert waren, die Konzentration an nicht umgesetzten Komplexbildnern bestimmt. Die Bestimmung erfolgte mit der Bismut-Brenzcatechinviolett-Methode. Mit der so ermittelten, nicht umgesetzten Restkomplexbildnerkonzentration läßt sich der Umsetzungsgrad berechnen. Der wahre Gehalt an n-Propylester kann dennoch niedriger liegen, da die Umsetzung sicherlich auch zu Nebenprodukten führt.

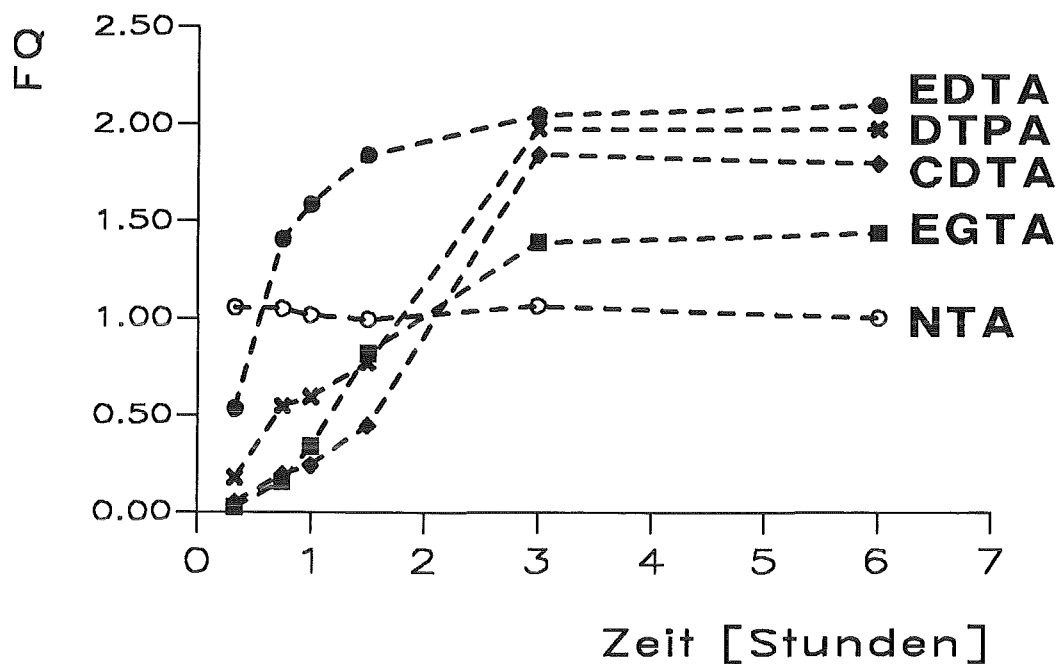


Abbildung 15. Veresterungsrate der Komplexbildner NTA, EDTA, CDTA, EGTA und DTPA mit n-Propanol: Es wurde zu verschiedenen Zeiten die Veresterungsreaktion unterbrochen und die Signalintensität des Komplexbildners im Gaschromatographen gemessen; der ermittelte Flächenquotient aus Peakfläche Komplexbildner und internem Standard wurde gegen die Zeit aufgetragen. Die Einspritzmenge betrug immer 0.16 nmol Komplexbildner (bezogen auf Ausgangskonzentration des unveresterten Komplexbildners) und 0.11 nmol internem Standard.

Wie Tabelle 15 zeigt, liegen alle Umsetzungen mit Ausnahme von EGTA bei ca. 80%; EGTA erreicht nur eine 65%-ige Umsetzung.

Geht man davon aus, daß das Detektorsignal von der Zahl der N-Atome im Molekül abhängt, so gilt folgende Gleichung:

$$FQ_{\text{ber}} = \frac{n_{\text{KB}}^{\circ} U_{\text{Gl}} I_{\text{KB}}^{\text{N}}}{n_{\text{IS}}^{\circ} I_{\text{IS}}^{\text{N}}} \quad [13]$$

mit

- n_{KB}° = zur Veresterung eingesetzte Stoffmenge des Komplexbildners
 U_{GI} = Umsetzungsgrad
 I_{KB}^N = Zahl der N – Atome pro Molekül Komplexbildner
 n_{IS}° = Stoffmenge interner Standard
 I_{IS}^N = Zahl der N – Atome pro Molekül interner Standard

Die berechneten Flächenquotienten FQ_{ber} und die gemessenen Flächenquotienten FQ_{gem} sind in Tabelle 15 eingetragen. Es zeigt sich, daß die Annahme der Proportionalität zwischen Zahl der N-Atome und Signalintensität nicht ganz falsch ist. Zwar liegen die berechneten FQ-Werte FQ_{ber} durchweg höher, doch ist die Abweichung nicht allzu hoch. Die berechneten Flächenquotienten liegen für NTA, EDTA, CDTA und EGTA um ca. 20%, für DTPA um 40% höher als die gemessenen FQ-Werte. Am stärksten ist die Abweichung beim DTPA (40%), das mit 3 N-Atomen pro Molekül und gleichem Umsatz wie EDTA eine dem EDTA entsprechende Signalintensität zeigt.

Die wahrscheinlichste Erklärung für die festgestellten Abweichungen ist, daß die Veresterung nicht nur zum Ester führt, sondern auch Nebenprodukte entstehen. Diese Nebenprodukte tragen dann nicht zum Detektorsignal bei. Es kann auch sein, daß das Verteilungsgleichgewicht bei der Extraktion mit Hexan für den internen Standard günstiger als für die Veresterungsprodukte ist. Auch denkbar ist eine frühzeitige teilweise Zersetzung der Ester im Injektorblock oder in der Kapillarsäule.

Tabelle 15. Umsetzungsgrad der n-Propylester von NTA, EDTA, CDTA, EGTA und DTPA: Der Umsatz wurde aus der Restkonzentration an Komplexbildner in der wässrigen Phase errechnet. Aus dem Gleichgewichtsumsatz und der Zahl der N-Atome pro Molekül Komplexbildner wurde für den TSD-Detektor ein Flächenquotient FQ_{ber} abgeschätzt.

	NTA	EDTA	CDTA	EGTA	DTPA
eingesetzte Stoffmenge n_{KB}° [nmol]	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16
nicht umgesetzte Stoffmenge n_{KB} [nmol]	0.029	0.031	0.029	0.056	0.035
Umsetzungsgrad U_{GI} [%]	81.6	80.8	81.9	64.9	77.9
FQ_{gem}	1.0	2.0	1.9	1.5	1.9
FQ_{ber}	1.2	2.4	2.4	1.9	3.4

6.1.2 Identifizierung der Komplexbildner-Derivate mit GC-MS

Zur Identifizierung der n-Propylester von NTA, EDTA, CDTA, EGTA und DTPA wurden massenspektroskopische Untersuchungen angestellt. Hierzu wurde ein HP 5890 Gaschromatograph mit HP 5970 massensensitivem Detektor (MSD) verwendet. Die Ionisierungsenergie betrug 70eV. Die Massenspektren sind in Abbildung 16 zusammengestellt.

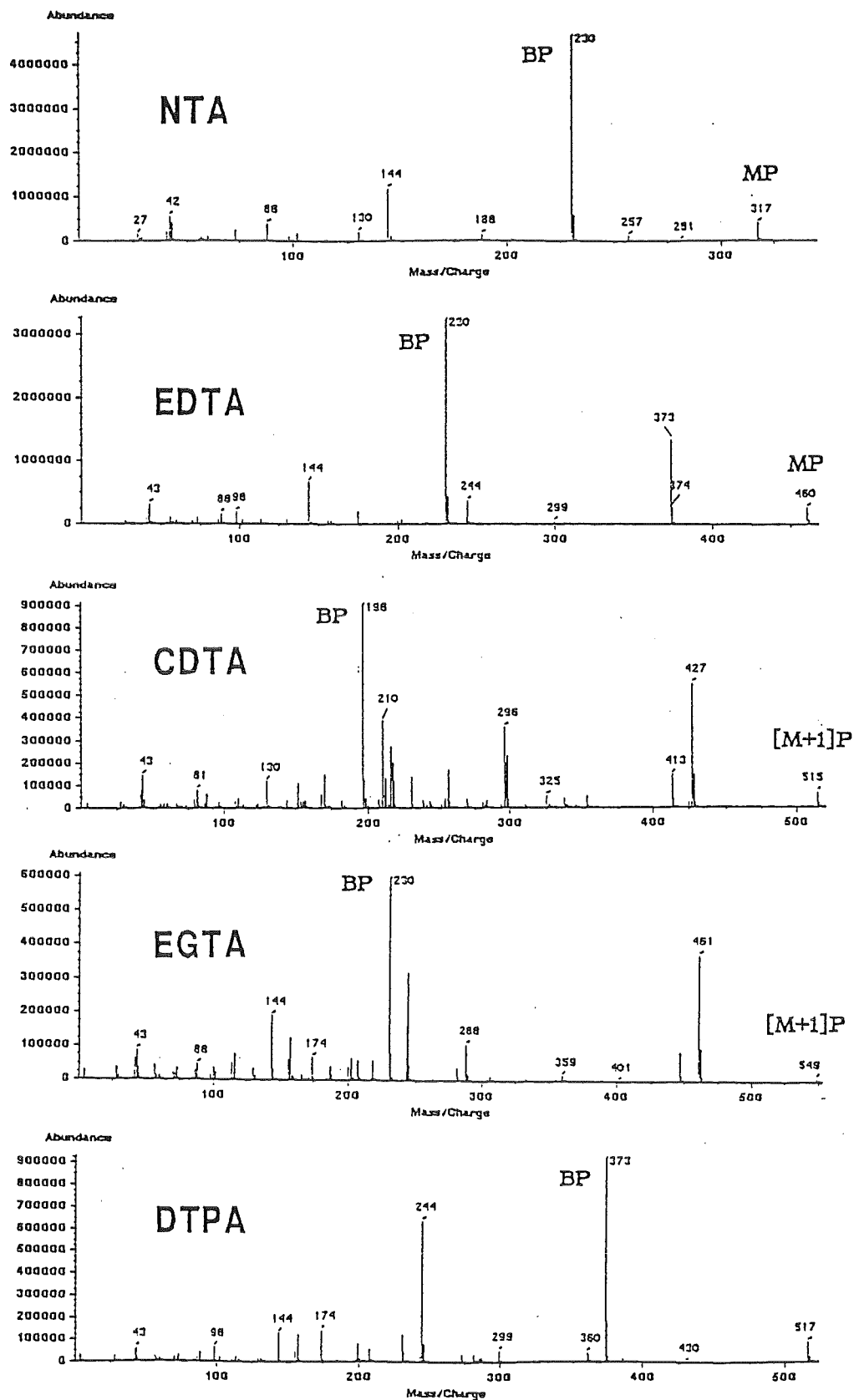


Abbildung 16. Massenspektren der n-Propylester von NTA, EDTA, CDTA, EGTA und DTPA: Die Basis-, Molekülionen- und [M+1]-Peaks sind mit "BP", "MP" und [M+1]P markiert. Der Basispeak entspricht dem Fragment höchster Intensität. Der [M+1]-Peak entsteht durch Anlagerung eines Protons.

Die vollständige Veresterung wird bei NTA, EDTA, CDTA und EGTA durch den Molekülionen-Peak belegt. Das Signal bei größter Masse entspricht bei NTA ($m/z = 317$) und EDTA ($m/z = 460$) der Molmasse des Tri- bzw. Tetrapropylesters. Bei CDTA und EGTA entspricht das Signal größter Masse dem $[M + 1]^+$ -Peak, der durch Anlagerung eines Protons an das Molekül zustande kommt. Eine Erscheinung, die bei Aminen häufig vorkommt.

Bei DTPA fehlt ein Molekülionen-Peak an der Stelle der Molmasse des Pentapropylesters ($m/z = 603$). Das Massenspektrum allein gibt also keine Identifizierung des DTPA, wohl aber die Feststellung eines einzigen Peaks im Gaschromatogramm, der in Abwesenheit von DTPA nicht auftritt. Offen bleibt nur der Veresterungsgrad des DTPA. Das Signal bei größter Masse liegt bei $m/z = 517$. Das könnte ein Fragment-Ion sein, daß durch Abspaltung von CO_2 aus dem Tetrapropylester von DTPA hervorging. Wegen der Voraussetzung der Flüchtigkeit bei der gaschromatographischen Trennung ist aber die Existenz eines Pentapropylesters wahrscheinlicher. Dann würde dieses Signal dem Fragment, das durch Abspaltung der $-\text{CO}_2$ -Propyl-Gruppe aus dem protonierten Pentapropylester hervorgeht, entsprechen. Aus dem Massenspektrum läßt sich der Veresterungsgrad also nicht aufklären. Für die Anwendung der Methode, die ohnehin über eine Eichgerade läuft, ist dieses Ergebnis aber nicht prohibitiv. Außerdem kann das Massenspektrum sehr wohl als "finger print" zur Identifizierung von DTPA in Umweltproben dienen.

Um doch noch einen Hinweis zum Veresterungsgrad des DTPA zu erhalten, wurde versucht, ob sich ein Zusammenhang zwischen molarer Masse und Retentionszeit ergibt. Da sich die untersuchten Komplexbildner strukturell gleichen und beinahe eine homologe Reihe bilden, sollte bei vollständiger Veresterung ein monotoner Verlauf der Kurve Retentionszeit als Funktion der Molmasse bestehen. Abbildung 17 zeigt, daß die n-Propylester sogar erstaunlich gut auf einer Geraden liegen. Das bestärkt die Vermutung, daß auch DTPA vollständig verestert wird und das Ausbleiben des Molekülionen-Peaks im Massenspektrum auf ein sofortiges Zerschlagen des Moleküls bei der Ionisierung zurückzuführen ist. Die Retentionszeit eines DTPA-Esters mit einer noch freien Carboxylgruppe, würde sicherlich nicht auf dieser Geraden liegen.

Zur Identifizierung der Komplexbildner lassen sich auch Signale bei niedrigeren m/z -Verhältnissen heranziehen. Dabei zeigte sich, daß Fragment-Ionen typisch sind, die durch Bruch der dem N benachbarten C-C-Bindungen hervorgehen. Dadurch kann die positive Ladung durch Mesomerie stabilisiert werden:



Das wird zum Beispiel durch Abspalten der $-\text{CO}_2$ -Propyl-Gruppe erreicht (NTA : $m/z = 230$, Basispeak; EDTA : $m/z = 373$; CDTA : $m/z = 427$; EGTA : $m/z = 461$) oder bei der symmetrischen Spaltung des n-Tetrapropylesters von EDTA ($m/z = 230$) oder der Spaltung der C-C-Bindung zwischen O und N im n-Tetrapropylester von EGTA ($m/z = 230$).

Auch der Basispeak des DTPA ($m/z = 373$) erklärt sich durch eine solche Spaltung und entspricht dem Fragment $[\text{CH}_2 - \text{N}(\text{CH}_2\text{CO}_2 - \text{Propyl})(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CO}_2 - \text{Propyl})_2)]^{\oplus}$.

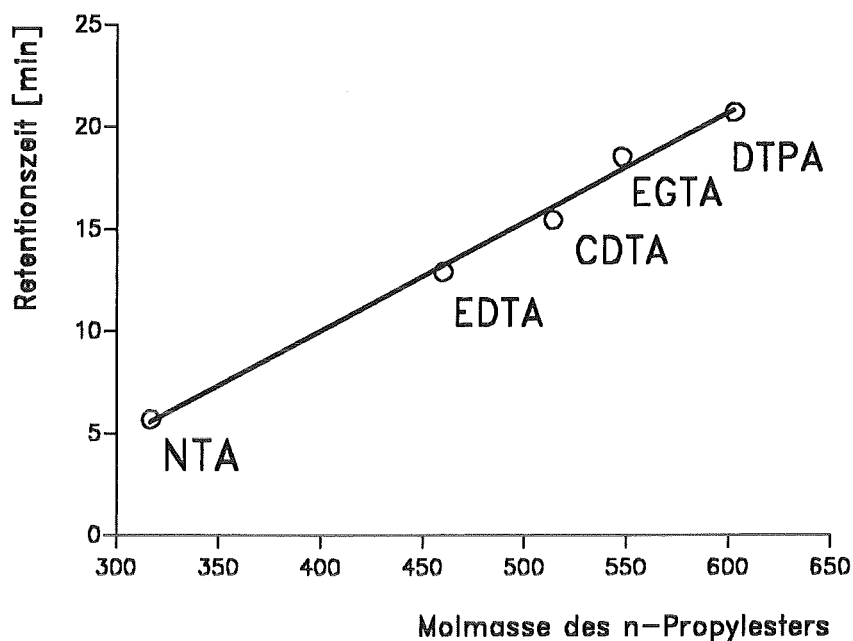


Abbildung 17. Zusammenhang zwischen Retentionszeit und Molmasse der n-Propylester: Die Retentionszeit des DTPA liegt auf der Geraden, wenn die Molmasse bei vollständiger Veresterung angenommen wird.

6.1.3 Allgemeine Anwendbarkeit des Verfahrens auf organische Säuren

Abbildung 18 zeigt ein Gaschromatogramm einer Rheinwasserprobe, das durch die beschriebene Bestimmungsmethode erhalten wurde. Auffallend ist das relativ signalarme Spektrum, welches neben NTA, EDTA und DTPA nur noch einen weiteren signifikanten Peak bei der Retentionszeit von 10 min erkennen läßt.

Das Verfahren scheint also für das Stoffspektrum in natürlichen Wässern recht selektiv für die angegebenen Komplexbildner zu sein. Das ist auch verständlich, da durch die Kombination der Verfahrensschritte die Zahl der erfaßbaren Stoffgruppen stark reduziert wird. Im Prinzip beschränkt sich die Bestimmung auf organische Säuren, die bei $\text{pH} = 2.5$ auf dem Anionenaustauscher sorbiert werden und unter den Reaktionsbedingungen flüchtige Ester bilden. Hinzu kommt, daß Nicht-Stickstoff- oder -Phosphorhaltige Säuren nur bei sehr hoher Konzentration detektiert werden. Die Selektivität des N/C-Verhältnisses liegt bei 50 000 : 1.

Das Verfahren ist also selektiv für Säuren mit Carboxylgruppen, die N- oder P-Atome enthalten. Phosphonsäuren ließen sich aber zum Beispiel nach Anwendung der beschriebenen Derivatisierungsbedingungen nicht detektieren. Von den N-Verbindungen sind auch Aminosäuren auszuschließen, die sich ohne Derivatisierung der Aminogruppe gaschromatographisch nicht trennen lassen. Letztendlich beschränkt sich das Verfahren auf Aminopolycarbonsäuren, bei denen das N-Atom vollständig substituiert ist. Aber selbst hier ist noch eine weitere Einschränkung zu machen:

Der Versuch, mit der ausgearbeiteten Arbeitsvorschrift auch die Aminopolycarbonsäure HEEDTA zu bestimmen, führte nicht zum Erfolg. HEEDTA unterscheidet sich von EDTA nur durch Substitution einer -COOH-Gruppe durch eine -CH₂OH-Gruppe. Da der strukturelle Unterschied nicht zu groß ist, war die erfolglose Inspektion des Chromatogramms auf HEEDTA zunächst nicht einzusehen. Allein folgende Umstände würden eine gaschromatographische Bestimmung verhindern: Der Tripropylester des HEEDTA ist wegen der Hydroxyl-Gruppe nicht genügend flüchtig oder, was es einer gaschromatographischen Bestimmung ganz entziehen würde, es polymerisiert durch intermolekulare Reaktion von Carboxyl- und Hydroxyl-Gruppe. Bei einem Überschuß von n-Propanol (Komplexbildner : n-Propanol = 1 : 1 000 000) kann dieser Reaktionsweg aber nicht zum Hauptprodukt führen. Eine dritte Möglichkeit, die Unlöslichkeit von HEEDTA im Reaktionsgemisch (n-Propanol / HCl / Essigsäurepropylester) ist unrealistisch, weil die OH- Gruppe die Löslichkeit in einem Alkohol eher begünstigt.

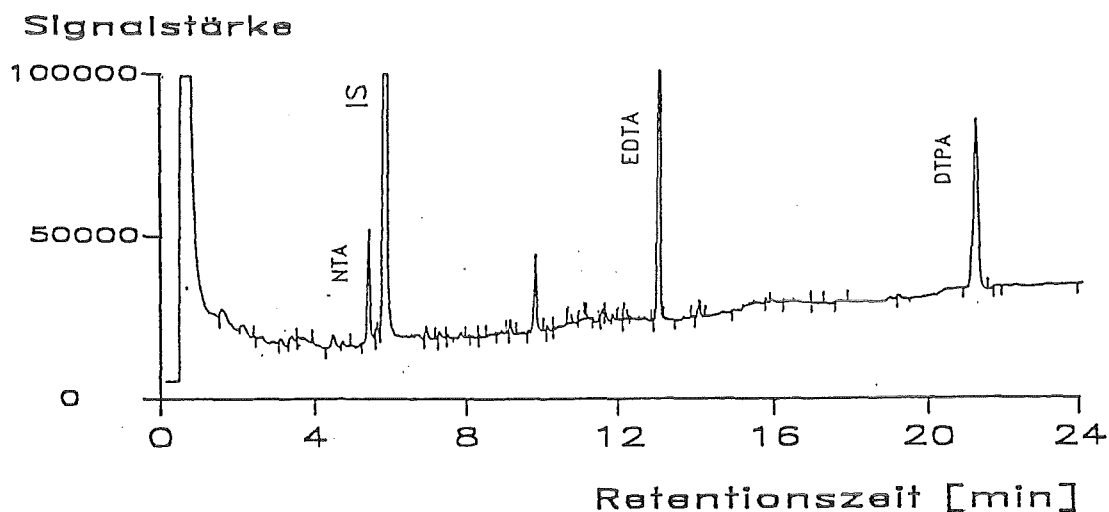


Abbildung 18. Gaschromatogramm einer Rheinwasserprobe: Heptadecansäurenitril ist interner Standard (IS); Detektor: TSD; GC-Säule: DB 5, 20 m, Filmdicke 0.25 μm ; Temperaturprogramm: 160 °C - 280 °C mit 8 °C/min, final time: 11 min

Tatsächlich zeigte sich, daß die Unlöslichkeit des HEEDTA-Derivats im Extraktionsmittel das Fehlen eines entsprechenden Peaks im Gaschromatogramm erklärt. Wird nämlich anstelle der Extraktion der Komplexbildner-Derivate aus der wässrigen Phase mit Hexan, das Reaktionsgemisch schonend über einem Stickstoffstrom abgetrieben und der Rückstand in Ethylacetat aufgenommen, beobachtet man ein Signal im Gaschromatogramm. Das Massenspektrum zeigt Fragmente (Abbildung 19), welche die Hypothese unterstützen, daß eine Ringbildung durch intramolekulare Veresterung eintritt. Diesem Tripropylester entspricht der Molekülionen-Peak bei einem m/z -Verhältnis von 344. Ein Fragment bei $m/z = 257$ entsteht durch Abspalten der -CO₂-Propyl-Gruppe aus dem Ringmolekül. Das auch für das EDTA typische Signal bei $m/z = 230$ entsteht durch Spaltung der

C-C-Bindung zwischen den beiden N-Atomen und entspricht dem Fragment $(\text{Propyl} - \text{OOCCH}_2)_2\text{NCH}_2^{\oplus}$.

Der Befund zeigt, daß kleine Veränderungen im Molekül ausreichen, um nicht mit dem gaschromatographischen Verfahren bestimmt zu werden. Die zur Bestimmung des HEEDTA notwendigen Abänderungen des Verfahrens ergab für NTA, EDTA, CDTA, EGTA und DTPA geringere Empfindlichkeit und Genauigkeit, so daß auf die Bestimmung von HEEDTA im Kontrollverfahren verzichtet wurde.

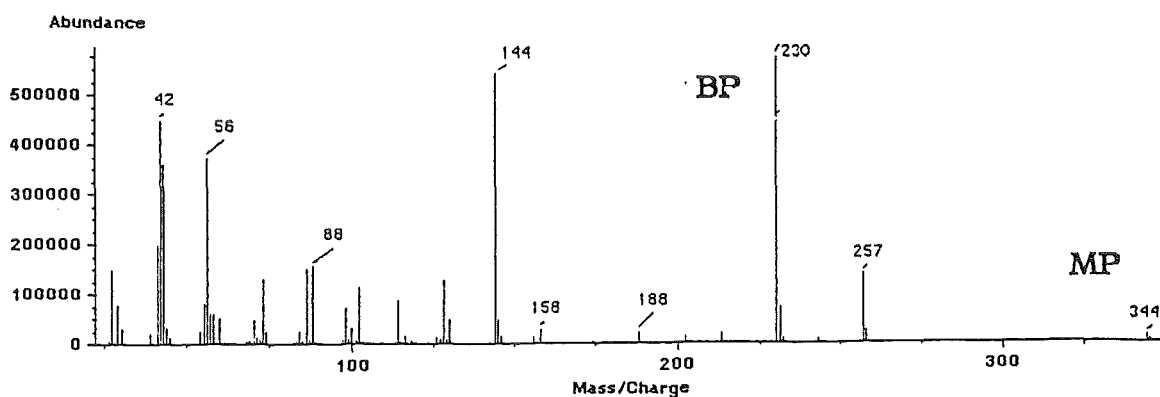


Abbildung 19. Massenspektrum des derivatisierten HEEDTA: Die Derivatisierung mit Acetylchlorid / n-Propanol führt zu einem Tripropylester und Ringbildung durch intramolekulare Veresterung wie der Molekül-Ionenpeak "MP" bei $m/z = 344$ beweist.

6.1.4 Empfindlichkeit und Genauigkeit

Zur Auswertung wird der Quotient "FQ" aus den Peakflächen des Komplexbildner-Peaks und des Peaks des internen Standards "IS" gebildet (die Software des verwendeten Gaschromatographen liefert die Peakflächen direkt). Die Peakflächen sind den in die Säule eingespritzten Stoffmengen " n_x " proportional. Es wird von einer linearen Eichkurve ausgegangen, was nur in einem begrenzten Bereich der eingespritzten Stoff- und Lösungsmittelmenge zutreffen wird. Für die Berechnung der Konzentration werden folgende Beziehungen definiert:

$$\text{FQ} = A_0 + A_1 \frac{n_{\text{APC}}}{n_{\text{IS}}} \quad [14]$$

FQ = Flächenquotient Aminopolycarbonsäure / int. Standard IS
 A_0 = Achsenabschnitt der Eichgeraden
 A_1 = Steigung der Eichgeraden
 n_{APC} = eingespritzte Stoffmenge Aminopolycarbonsäure
 n_{IS} = eingespritzte Stoffmenge int. Standard

$$c_{APC} = \frac{V_o}{V_e V_P F_W} (FQ - A_0) \frac{n_{IS}}{A_1} \quad [15]$$

c_{APC} = Stoffmengenkonzentration der Probe an Aminopolycarbonsäure
 V_P = Volumen der Wasserprobe
 V_o = Volumen der organischen Phase bei der Extraktion
 V_e = Einspritzvolumen der organischen Phase
 F_W = Wiederfindungsgrad

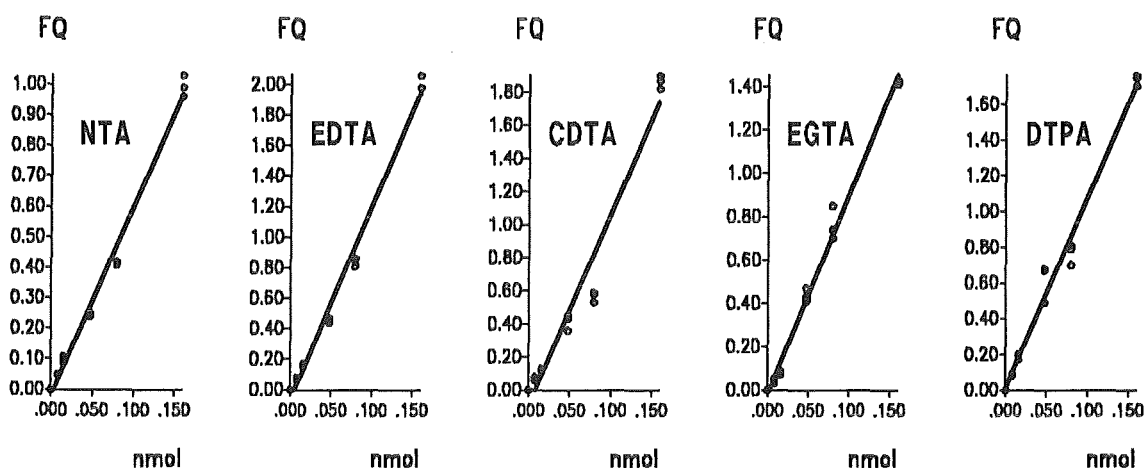


Abbildung 20. Eichung der gaschromatographischen Bestimmungsmethode für NTA, EDTA, CDTA, EGTA und DTPA zwischen 0 und 0.16 nmol: Aufgetragen wurde der Flächenquotient aus der Peakfläche Komplexbildner und internem Standard gegen die eingespritzte Stoffmenge.

In der Praxis eines Untersuchungslaboratoriums wird man die Größen n_{IS} , V_P , V_o und V_e konstant halten und kann entsprechend vereinfachte Gleichungen verwenden:

$$FQ = B_0 + B_1 n_{APC} \quad [16]$$

$$B_0 = A_0$$

$$B_1 = \frac{A_1}{n_{IS}}$$

$$c_{APC} = 1500 \frac{(FQ - B_0)}{F_W B_1} \quad [17]$$

Abbildung 20 zeigt die Daten von drei im Lauf der Experimente ermittelten Eichkurven, für jeden Komplexbildner also 15 Messpunkte. Sie lassen sich in dem untersuchten Bereich von 0.008 - 0.16 nmol recht gut durch eine Gerade verbinden.

Die Auswertung auf Basis der Geradenfunktion 16 ergab beim Anwenden der dort beschriebenen Mengen und Volumina die in Tabelle 16 zusammengestellten Geradensteigungen B_1 . Man sieht, daß die Empfindlichkeit bei NTA etwa nur halb so hoch ist wie bei den übrigen Komplexbildnern, was direkt mit der Zahl der N-Atome pro Molekül korreliert. Die Genauigkeit liegt bei ca. 3%, bei CDTA schlechter. Die Nachweisgrenze liegt bei 0.003 nmol, was bei 100 ml Ausgangsvolumen der Wasserprobe ca. 1 µg/l NTA entspricht. Die Nachweisgrenze läßt sich durch Einengen der organischen Phase oder einem vergrößerten Einspritzvolumen weiter senken.

Tabelle 16. Empfindlichkeit und Genauigkeit der gaschromatographischen Bestimmung:

	Steigung B_1 [1/nmol]	Standardabweichung	relative Standardabweichung
NTA	6.13	0.17	2.8%
EDTA	12.68	0.35	2.8%
CDTA	11.48	0.65	5.7%
EGTA	9.23	0.21	2.3%
DTPA	10.66	0.36	3.4%

Durch die Zugabe des internen Standards können Tagesschwankungen des TSD-Detektors ausgeglichen werden. Außerdem hat die Zugabe vor der Extraktionsoperation den Vorteil, daß bei den nachfolgenden Operationen eintretende Flüssigkeitsverluste den Standard sowie die zu bestimmenden Komplexbildner in gleichem Umfang betreffen und bei der Auswertung nicht berücksichtigt werden müssen.

6.2 Durchführung und Arbeitsvorschrift

Eine ausführliche Arbeitsanleitung im Stil einer DIN-Norm findet sich im Anhang. Hier eine knappe Arbeitsvorschrift der wichtigsten Verfahrensschritte:

Die Proben werden nach der Probenahme mit 1% Formaldehyd stabilisiert (1 ml Formaldehyd auf 100 ml Wasser) und mittels Filtration durch ein 0.45 µm-Membranfilter von suspendierten Stoffen befreit. Zur Analyse werden 100 ml Probevolumen benötigt.

Voranreicherung

Die Voranreicherung erfolgt durch Sorption der Komplexbildner auf einer Anionenaustauschersäule aus schwach saurer Lösung und Elution mit konzentrierter Ameisensäure.

- Ansäuern der Probe mit konzentrierter Ameisensäure auf $\text{pH} = 2.5$ und durch die vorkonditionierte BIORAD AG 1-X2-Anionenaustauschersäule ($d = 0.7 \text{ cm}$; $l = 10 \text{ cm}$) mit einer Fließgeschwindigkeit von $2 - 3 \text{ ml/min}$ leiten. Der Durchlauf wird verworfen. Der Austauscher wird zuvor mit 16-molarer Ameisensäure aufgeschlämmt, 5 cm hoch in die Säule gefüllt und dann solange mit dest. Wasser gespült, bis der Ablauf einen pH von ca. 5 hat.
- Elution der Anionenaustauschersäule mit 10 ml 10-molarer Ameisensäure in ein Rollrandglas (ca. 5 Bettvolumina).
- Eindampfen des Eluates auf einem Sandbad bei $80 \text{ }^\circ\text{C}$ zur Trockene unter Überleiten eines Stickstoffstromes.

Derivatisierung

Die Aminopolycarbonsäuren (und evtl. vorhandene andere Säuren aus der Wasserprobe) werden in die n-Propanol-Ester überführt und diese mit n-Hexan aufgenommen. Dem Hexan-Extrakt wird Heptadecansäurenitril als interner Standard zugesetzt.

- Zugabe von 2 ml Acetylchlorid / n-Propanol-Gemisch (Mischungsverhältnis $1 : 10$) in das Rollrandglas, Verschließen, Verestern durch dreistündiges Erhitzen auf dem Sandbad bei $100 \text{ }^\circ\text{C}$.
- Nach dem Abkühlen der Reaktionsmischung Zugabe von 1 ml Natronlauge (1 mol/l) und 1 ml internem Standard (4 mg/l) und 1 min kräftig schütteln.
- Mit destilliertem Wasser in einen 25 ml Meßkolben überspülen und Auffüllen, bis die organische Phase ganz im Kolbenhals steht, Umschwenken des Kolbens, bis die organische Phase klar erscheint.
- Abpipettieren der organischen Phase in ein 2 ml Rollrandglas, Nachextraktion der wässrigen Phase mit 0.5 ml n-Hexan, dieses ebenfalls in das Rollrandglas überführen.
- Abtreiben des n-Hexan im Stickstoffstrom bei Raumtemperatur, Wiederaufnehmen des trockenen Rückstandes mit 0.3 ml n-Hexan (V_0); dadurch wird u.a. der Essigsäure-n-Propylester entfernt. Verschließen des Rollrandglases mit einem teflonbeschichteten Aluminiumdeckel. Die so vorbereiteten Proben sind in der Tiefkühltruhe mehrere Wochen lang haltbar.

Gaschromatographische Bestimmung

Die Trennung erfolgt temperatur-programmiert in einer Kapillarsäule HP DB 5, 20 m , Filmdicke $0.25 \text{ } \mu\text{m}$.; Trägergas ist Stickstoff; Detektor: TSD; Einspritzvolumen $2 \text{ } \mu\text{l}$; Injektor in "splitless"-Modus; Injektortemperatur $220 \text{ }^\circ\text{C}$; Säulen-Temperaturprogramm: $160 - 280 \text{ }^\circ\text{C}$, $8 \text{ }^\circ\text{C/min}$, danach 11 min bei $280 \text{ }^\circ\text{C}$; Detektortemperatur: $250 \text{ }^\circ\text{C}$; Brenngas: Luft, 180 ml/min ; Wasserstoff, 4 ml/min ; make-up Gas: Reinstickstoff, 15 ml/min .

7. Messung der Bismut-Komplexierungsaktivität in Fließgewässern der Bundesrepublik Deutschland

7.1 Meßprogramm

Im Zeitraum von einem halben Jahr (September 1991 bis Februar 1992) wurden Schöpfproben (Stichproben) an verschiedenen Stellen mehrerer Flüsse der Bundesrepublik Deutschland genommen (Abbildung 21). Die Probenahme erfolgte in der Regel von Brücken aus in der Flußmitte. Ausnahmen waren die Meßpunkte Leopoldshafen, Kappel und Bingen am Rhein sowie Ladenburg am Neckar, wo die Proben ca. 10 m vom rechten Ufer aus geschöpft wurden. Als Probenahmegefäß diente ein Kunststoffeimer mit 10 l Fassungsvermögen. Die Wasserproben wurden den experimentellen Angaben gemäß behandelt, wobei ein Teil des Probevolumens zur Messung von pH-Wert, DOC und Leitfähigkeit nicht konserviert wurde. Dieser Teil wurde bis zur Probenaufarbeitung im Kühlschrank aufbewahrt (maximal 2 Tage).

7.2 Messung der BiCA mit und ohne Maskierung schwacher Komplexbildner

In Abbildung 22 ist die Komplexierungsaktivität für eine Auswahl der untersuchten Meßstellen dargestellt. Gemessen wurde an jedem Meßpunkt die BiCA mit und ohne Yttrium. Zur Unterscheidung werden diese Meßgrößen jetzt als BiCA/mY (mit Maskierungsmittel) und BiCA/oY (ohne Maskierungsmittel) bezeichnet.

Von den dargestellten Probenahmepunkten ist die BiCA/oY an der Meßstelle Rheinfelden (Rhein) mit $0.16 \mu\text{mol/l}$ am geringsten und findet ein Maximum mit $0.54 \mu\text{mol/l}$ bei Düsseldorf (Rhein). Bei der Umrechnung in NTA-Konzentrationen, würde das $31 \mu\text{g/l}$ und $103 \mu\text{g/l}$ entsprechen. Daß sich die BiCA/oY nicht ausschließlich aus NTA oder anderen Aminopolycarbonsäuren zusammensetzt, beweist die Zugabe von Yttrium. Die BiCA/mY entspricht nur noch zwischen 30 und 70 % der BiCA/oY. Ein Minimum mit $0.029 \mu\text{mol/l}$ findet sich wieder im Rhein bei Rheinfelden und die höchste Komplexierungsaktivität jetzt in der Murg am Meßpunkt Gaggenau-Ende mit $0.197 \mu\text{mol/l}$; das entspräche $6 \mu\text{g/l}$ und $38 \mu\text{g/l}$ NTA.

In der Murg nimmt ebenso wie im Rhein die BiCA mit der Fließstrecke insgesamt zu, wobei die BiCA/oY stärker zunimmt. In Main und Elbe wurden alle Proben im Mittellauf des Flusses gemessen, so daß über das Längsprofil keine Aussage gemacht werden kann.

Es fällt auf, daß der Anteil der Komplexierungsaktivität mit Maskierung ganz unterschiedlich zur Gesamtkomplexierungsaktivität sein kann (Tabelle 17). Die BiCA mit Yttrium im Rhein bei Düsseldorf entspricht ungefähr auch dem Wert in der Murg bei Gaggenau-Ende. Doch während das für den Meßpunkt im Rhein nur 30% der Gesamtkomplexierungsaktivität entspricht, sind es in der Murg 70%. Allgemein haben Rheinproben einen größeren Anteil maskierbarer Komplexbildner als die Murgproben (abgesehen vom Meßpunkt Forbach am Oberlauf der Murg). Main und Elbe liegen etwa dazwischen.

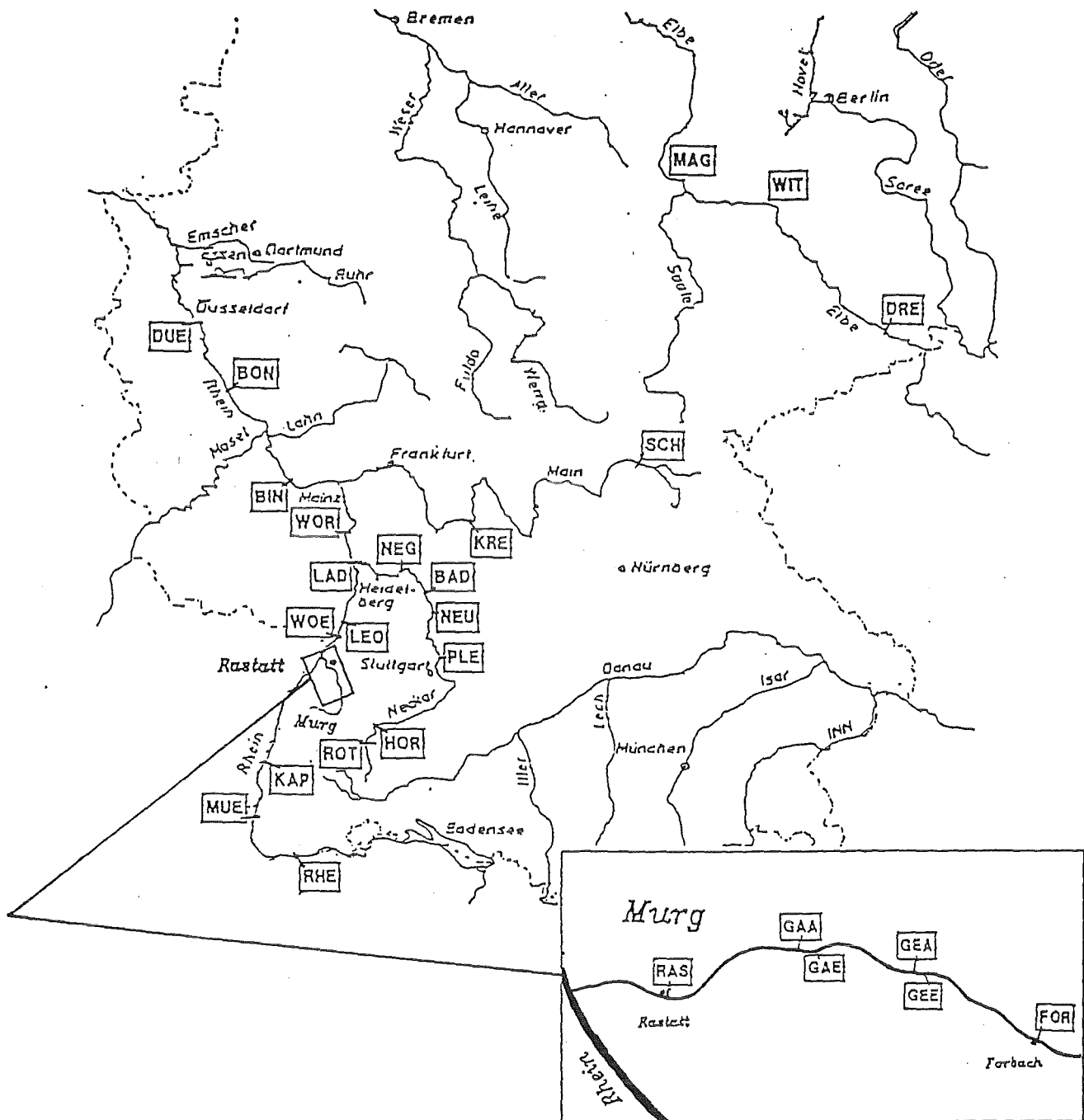


Abbildung 21. Probenahmepunkte an deutschen Fließgewässern: Rhein: RHE = Rheinfelden, MUE = Müllheim, KAP = Kappel, WOE = Wörth, LEO = Leopoldshafen, WOR = Worms, BIN = Bingen, BON = Bonn, DUE = Düsseldorf **Neckar:** ROT = Rottweil, HOR = Horb, PLE = Pleidelsheim, NEU = Neckarsulm, BAD = Bad Wimpfen, NEG = Neckargemünd, LAD = Ladenburg **Murg:** FOR = Forbach, GEA = Gernsbach-Anfang, GEE = Gernsbach-Ende, GAA = Gaggenau-Anfang, GAE = Gaggenau-Ende, RAS = Rastatt **Main:** KRE = Kreuzwertheim, SCH = Schwarzach **Elbe:** DRE = Dresden, WIT = Wittenberg, MAG = Magdeburg

Bei der Betrachtung der Meßergebnisse der Murgwasserproben zeigten sich zwei auffällige Sachverhalte: Erstens ist der Anteil der BiCA/mY an der Meßstelle Forbach sehr klein (20%) und wird innerhalb weniger km sehr groß (bei GAE 67%), und zweitens nimmt die Absolutkonzentration der BiCA/mY um das 3 - 4-fache zu.

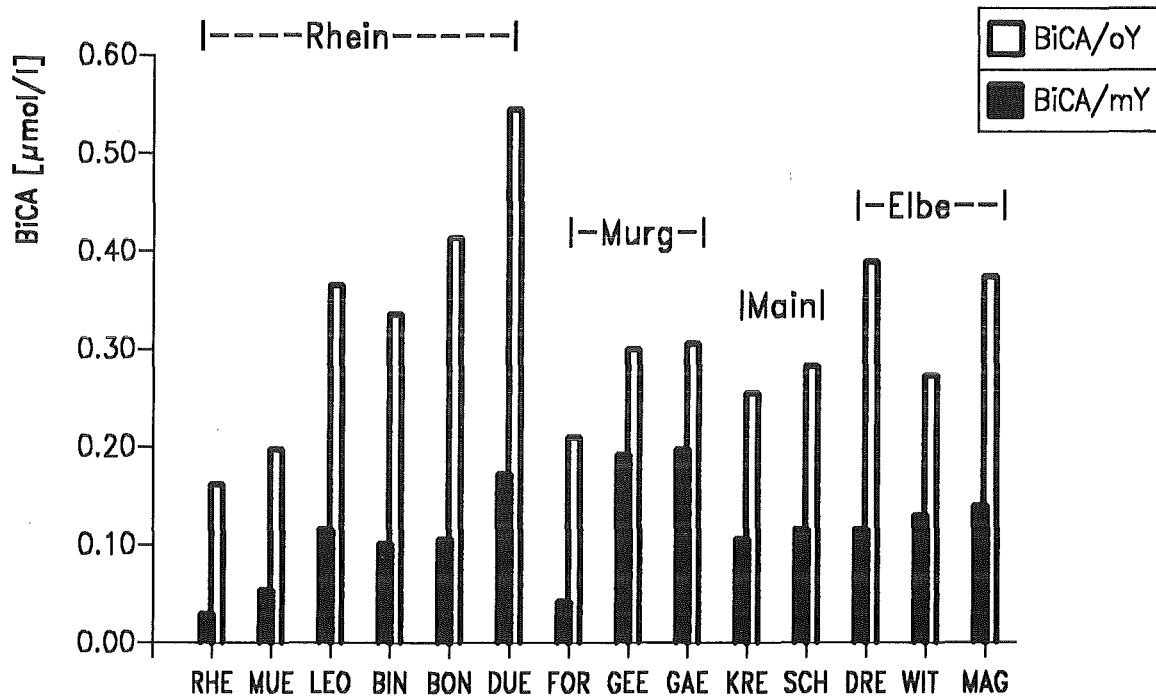


Abbildung 22. Beispiele der Komplexierungsaktivität in deutschen Fließgewässern: Die BiCA wurde mit (BiCA/mY) und ohne Maskierungsmittel (BiCA/oY) bestimmt.

Tabelle 17. Anteil der BiCA/mY an der Gesamtkomplexierungsaktivität BiCA/oY in %: Angegeben für verschiedene Probenahmepunkte der Flüsse Rhein, Murg, Main und Elbe.

Rhein	Anteil	Murg	Anteil	Main	Anteil	Elbe	Anteil
RHE	18	FOR	20	KRE	41	DRE	30
MUE	27	GEA	54	SCH	41	WIT	47
KAP	25	GEE	64			MAG	37
WOE	25	GAA	53				
LEO	31	GAE	67				
WOR	21	RAS	41				
BIN	29						
BON	24						
DUE	31						

7.3 Entdeckung des DTPA

7.3.1 Untersuchungen an der Murg

Das besondere Verhalten der Murgwasserproben zeigte sich auch in anderer Hinsicht. Bei dem Vergleich von NTA- und EDTA-Konzentrationen mit der Komplexbildungsaktivität BICA/mY zeigte sich, daß NTA überhaupt keinen und EDTA einen Anteil von ca. 20% an der BICA mit Yttrium haben. Unterdessen ergaben aber Untersuchungen an anderen Fließwasserproben, daß NTA und EDTA oftmals einen weitaus größeren Anteil von 50 - 90% stellen.

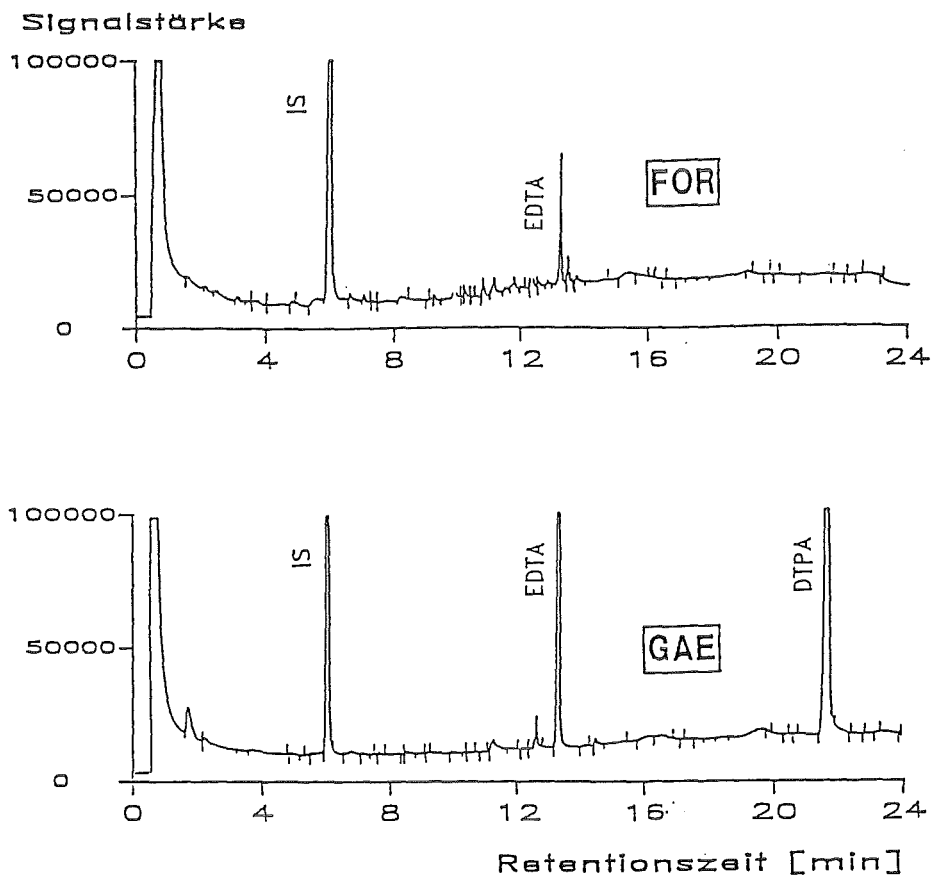


Abbildung 23. Gaschromatogramm zweier Probenahmepunkte in der Murg: Das obere Chromatogramm entstand aus einer Probe im Oberlauf der Murg (Meßstelle Forbach), das Untere wenige km weiter nach Einleitungen der Papierindustrie (Meßstelle Gaggenau-Ende).

Der Anstieg der BICA/mY zwischen Forbach und Gaggenau-Ende läßt sich zum Teil auf die vor den Meßstellen liegenden Einleitungen der Papierfabriken zurückführen. Es wurde nun die Arbeitshypothese aufgestellt, daß bei der Papierherstellung in diesen Werken ein weiterer, bisher nicht identifizierter Komplexbildner in größerer Menge verwendet

wird. Die Inspektion des Gaschromatogramms zeigte, daß bei höherer Retentionszeit tatsächlich ein weiterer GC-Peak auftaucht.

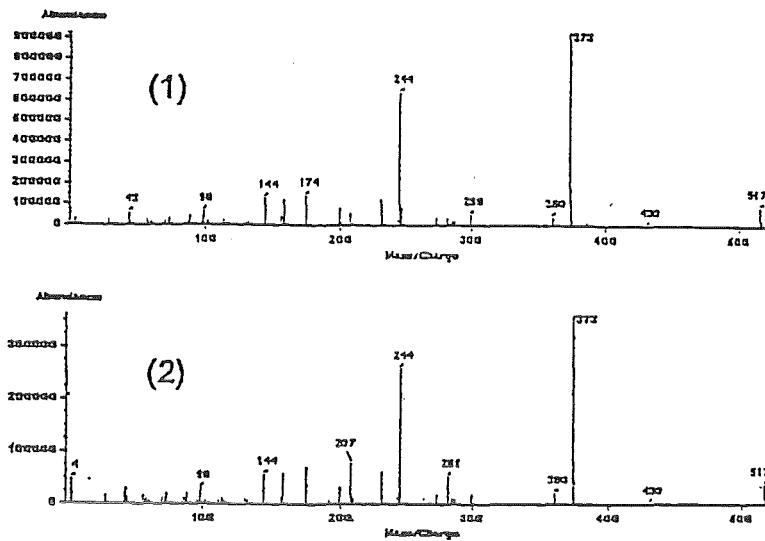


Abbildung 24. Massenspektren von DTPA: Aufgenommene Spektren nach Verestern mit n-Propanol eines Standards (1) und einer Flußwasserprobe (2).

Die Identifizierung dieses bei einer Retentionszeit von etwa 22 min auftretenden Peaks (Abbildung 23) führte auf den Komplexbildner Diethylen-triamin-pentaessigsäure (DTPA).

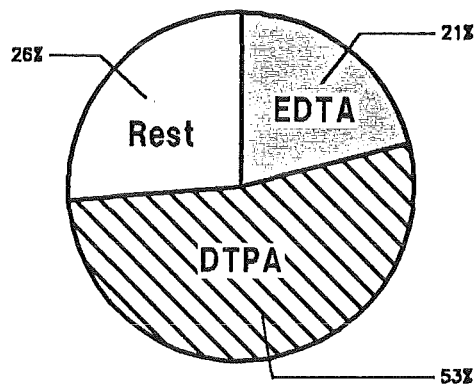


Abbildung 25. Aufschlüsselung der BiCA/mY in der Murg (GAE): Durch die "Entdeckung" des DTPA wurde die Zusammensetzung der Komplexbildungsaktivität erheblich aufgeklärt.

Die Identität des DTPA wurde durch massenspektroskopische Untersuchungen nachgewiesen. Das Massenspektrum des bei Retentionszeiten um 22 min auftretenden Peaks

der Wasserprobe stimmt, wie Abbildung 24 zeigt, sehr gut mit dem einer authentischen DTPA-Probe überein.

Die quantitative Auswertung ergab, daß DTPA in Murgwasserproben in außerordentlich hoher Konzentration vorkommt, zum Beispiel am Meßpunkt Gaggenau-Ende mit 40.9 µg/l. Damit erhöht sich der Anteil identifizierter Komplexbildner an der BiCA/mY bei Berücksichtigung von DTPA in dieser Murgwasserprobe von 21% auf 74% (Abbildung 25).

Ähnlich hohe Konzentrationen fanden sich auch an den anderen Meßstellen der Murg (Abbildung 26), wie zum Beispiel bei Gernsbach (GEA, GEE) und Rastatt (RAS).

7.3.2 Sonderuntersuchung zum DTPA in anderen Gewässern

Aus ökologischer Sicht ist DTPA ebenso bedenklich wie EDTA, weil es für viele Kationen sogar noch höhere Bildungskonstanten hat; zum Bsp. für Cu^{2+} : $\log \beta$ (EDTA) = 18.7, $\log \beta$ (DTPA) = 21.4 und für Fe^{3+} : $\log \beta$ (EDTA) = 25.0, $\log \beta$ (DTPA) = 28.0. Über die biologische Abbaubarkeit sind in der Literatur keine Daten vorhanden; es wird aber eine ähnlich schlechte Abbaubarkeit wie für das EDTA erwartet.

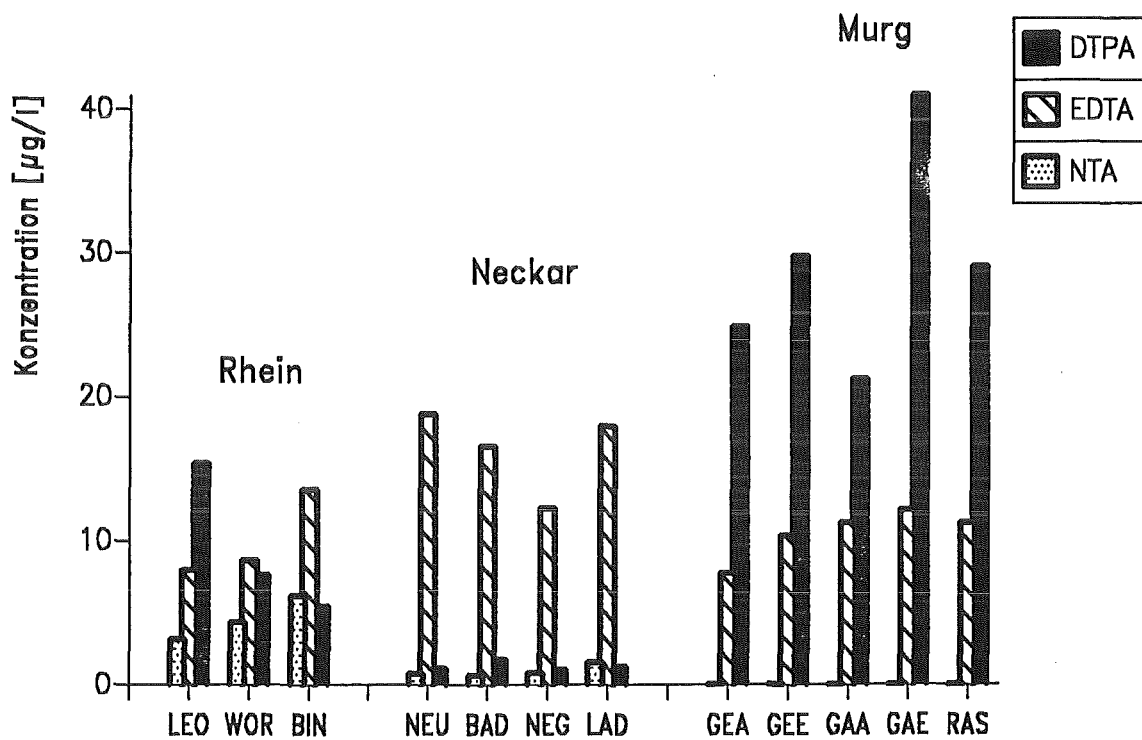


Abbildung 26. Probenahmestellen mit DTPA-Konzentrationen: Alle Probenahmepunkte des durchgeführten Meßprogramms (Abbildung 21), an denen DTPA gemessen wurde.

Die Untersuchung auf DTPA in anderen Gewässern zeigte, daß keine so allgemeine Verbreitung wie bei NTA und EDTA vorliegt, es aber trotzdem auch in anderen Fließgewässern an vielen Meßstellen vorkommt. Wie Abbildung 26 zeigt, an drei Meßstellen im Rhein in recht hohen Konzentrationen und in relativ kleinen Mengen an vier Meßstellen im Neckar; in Main und Elbe war kein DTPA nachweisbar.

Mit einer Absatzmenge von unter 1000 t (Angabe des VCI) in Deutschland beschränkt sich die Anwendung hauptsächlich auf die Papier- und Zellstoffindustrie. Wegen seiner Stabilität in oxidativen Bleichbädern wird es dort zur Bindung von Schwermetallen (Fe^{3+} , Mn^{2+} und Cu^{2+}) verwendet, die eine frühzeitige Zersetzung des H_2O_2 katalysieren würden (3), (27).

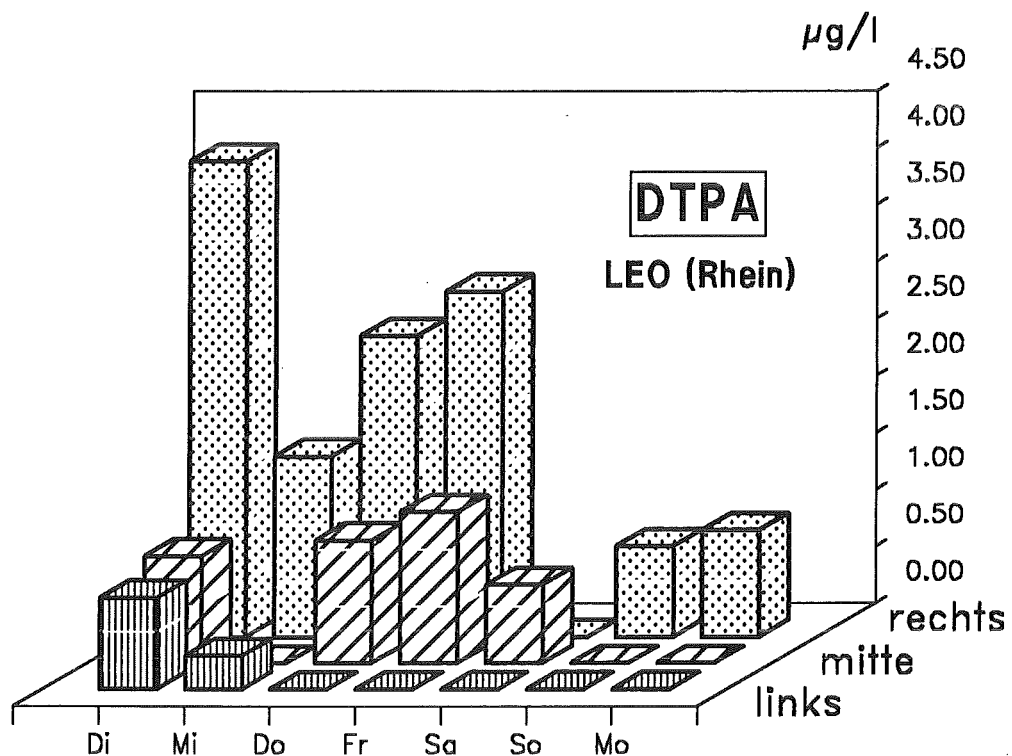


Abbildung 27. Querprofil von DTPA am Meßpunkt (LEO)/Rhein: Die Proben wurden in der Woche vom 28.7.92 - 3.8.92 täglich um 10:00 Uhr in der Mitte sowie 10 m vom linken und rechten Ufer geschöpft.

Diese Angaben werden durch die Ergebnisse des vorliegenden Meßprogramms unterstützt, welches nicht eine ubiquitäre Verteilung des DTPA aufzeigt, sondern nachweisbare Konzentrationen auf Standorte der Papierindustrie beschränkt (Abbildung 26). Zum Beispiel im Industrieraum "mittlerer Neckar" oder in besonders hoher Dichte an der Murg, was dort die extremen DTPA-Konzentrationen erklärt. Im Rhein wird ein Maximum an der Meßstelle Leopoldshafen gefunden, danach nimmt die Konzentration mit der Fließstrecke ab, und unterhalb von Bingen läßt sich kein DTPA mehr nachweisen. Ver-

antwortlich könnte sowohl die Mündung der Murg oberhalb von Karlsruhe als auch die Papierindustrie bei Karlsruhe sein.

Da es sich bei diesen Proben nur um Schöpfproben handelte, wurde im folgenden untersucht, ob ein regelmäßiger DTPA-Eintrag in Oberflächengewässer stattfindet. Dazu wurde als Meßpunkt der Rhein bei Leopoldshafen gewählt und systematisch Proben genommen.

Es wurde ein Querprofil aufgenommen sowie der Wochen- und Tageskonzentrationsgang verfolgt. Zum Beispiel zeigt Abbildung 27 die Ergebnisse der während einer Woche täglich gemessenen Komplexbildnerkonzentrationen. Die Proben wurden jeweils 10 m vom linken und rechten Ufer sowie in der Mitte von einer Fähre aus genommen. Die DTPA-Konzentrationen sind rechtsrheinisch deutlich höher und zudem täglich meßbar. Das Verhalten spricht für die Einleitung eines bestimmten Abwassers auf der rechten Rheinseite. Daß dieses Abwasser nur zeitweise eingeleitet wird, legt das Tagesprofil der Abbildung 28 nahe. Hier wurde am gleichen Meßpunkt wieder 10 m vom rechten Ufer über einen Zeitraum von 24 Stunden in Abständen von 3 Stunden eine Probe gezogen.

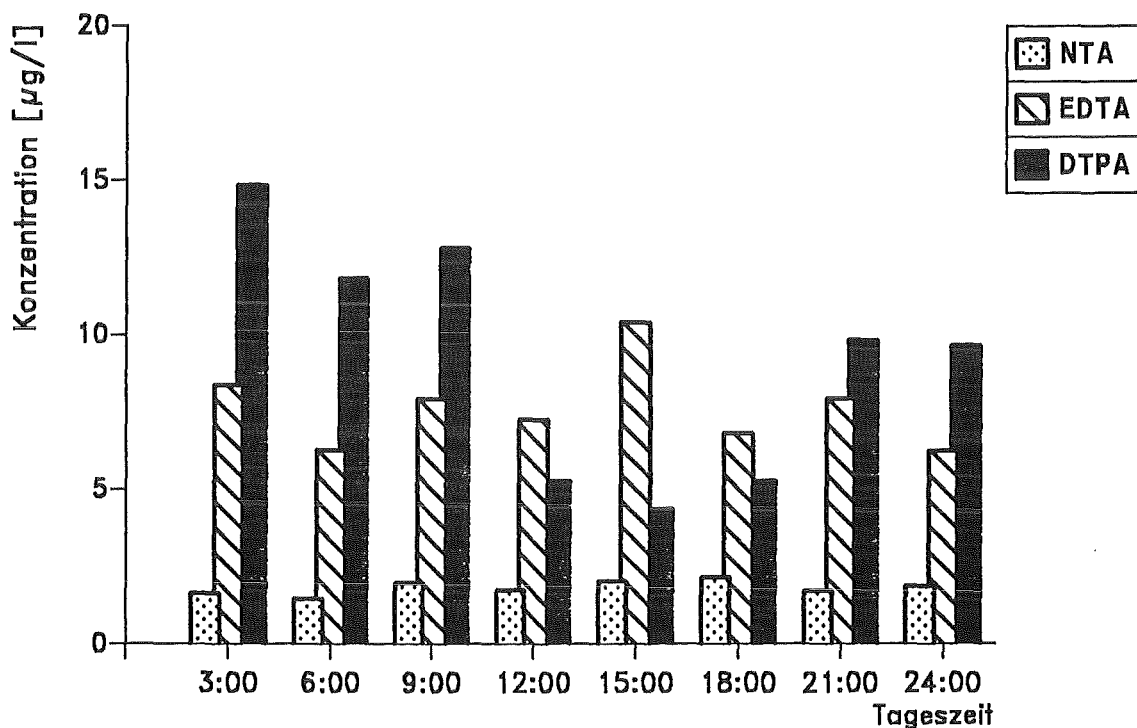


Abbildung 28. Tageskonzentrationsgang von NTA, EDTA und DTPA im Rhein / Leopoldshafen: Die Proben wurden 10 m vom rechten Ufer von einem Landungssteg aus genommen. Probenahmetag: 27.8.1992

Während die NTA- und EDTA-Konzentrationen ungefähr konstant bleiben, zeigt die DTPA-Messung ein Maximum um 3:00 Uhr morgens, durchläuft ein Minimum um 15:00

Uhr nachmittags und steigt dann wieder an. Als Einleiter kommen wieder bei Karlsruhe gelegene Papierfabriken, die vom Meßpunkt ca. 20 km entfernt sind sowie die in ca. 50 km stromaufwärts mit hohen DTPA-Frachten belastete, in den Rhein mündende Murg in Frage. Bei einer Fließgeschwindigkeit des Rheins von 5 km/h ergibt sich zwischen Einleitung und Durchlaufen am Meßpunkt Leopoldshafen eine Zeitspanne zwischen 4 und 10 Stunden. Die hohen Konzentrationen zwischen 3:00 Uhr und 9:00 Uhr deuten also auf eine verstärkte Einleitung des DTPA in den Nachtschichten der Papierbetriebe hin.

Die Entdeckung und Messung des DTPA in bundesdeutschen Fließgewässern läßt sich folgendermaßen beurteilen:

- DTPA wird stellenweise in sehr hohen Konzentrationen gefunden (30 - 40 $\mu\text{g/l}$) und übertrifft nicht selten die NTA- und EDTA- Konzentrationen.
- Es gibt kein ubiquitäres DTPA-Vorkommen in Oberflächengewässern. Der Eintrag beschränkt sich vermutlich auf die Produktion. Es gibt keine Anzeichen, daß DTPA in merklichen Konzentrationen in Abwässer von Haushalten gelangt.

7.4 Vergleich der gaschromatographisch bestimmten Aminopolycarbonsäuren-Konzentrationen mit der BiCA

7.4.1 Aminopolycarbonsäuren in Fließgewässern

An den in Abbildung 21 näher beschriebenen Meßstellen an Rhein, Elbe, Main, Neckar und Murg wurden die genommenen Schöpfproben sowohl gaschromatographisch auf Aminopolycarbonsäuren untersucht als auch die BiCA gemessen. Die Meßergebnisse sind im Anhang in Tabelle 24 - 33 zusammengestellt. Abbildung 29 zeigt repräsentative Ergebnisse der gaschromatographisch bestimmten Aminopolycarbonsäuren-Konzentrationen für die vier Fließgewässer Rhein, Neckar, Main und Elbe.

Die Komplexbildner CDTA und EGTA wurden an keiner Meßstelle nachgewiesen. Sie scheinen im Abwasser nicht in merklichen Konzentrationen aufzutreten, was bedeutet, daß sie keine breitere Anwendung in Industrie und Haushalt haben dürften. NTA war bis auf die Meßpunkte in der Murg (bezüglich der Aminopolycarbonsäure-Konzentrationen in der Murg siehe Abbildung 26) überall nachweisbar. Die Konzentrationen lagen zwischen 1 und 8 $\mu\text{g/l}$ (Maximum im Rhein bei Düsseldorf). DTPA war, wie im vorangehenden Kapitel ausführlich beschrieben, nur stellenweise zu finden; dann aber zum Teil in außerordentlich hohen Konzentrationen (40.9 $\mu\text{g/l}$ in der Murg bei Gaggenau). Ein ubiquitäres Vorkommen ist für EDTA festzustellen, das mit Konzentrationen zwischen 1 und 21 $\mu\text{g/l}$ (Maximum im Neckar bei Pleidelsheim) an allen Meßpunkten zu finden ist.

Ein typisches Konzentrationsmuster für NTA und EDTA zeigt der Rhein, wonach im Oberlauf geringe Konzentrationen auszumachen sind, die mit der Fließstrecke deutlich zunehmen. Bei den anderen untersuchten Gewässern ist diese Abhängigkeit aus den hier dargestellten Messungen nicht eindeutig festzustellen, weil kein vollständiges Meßprofil aufgenommen wurde.

Die NTA-Konzentrationen liegen mit Ausnahme eines Meßpunktes an der Elbe stets unter den EDTA-Konzentrationen. Das spiegelt zum einen den im Vergleich zum NTA höheren EDTA-Verbrauch wieder: Absatzmenge EDTA: 5000 t/a; NTA: 2000 t/a (67). Zum anderen wird nach herrschender Kenntnis sowohl in Fließgewässern, als auch in Kläranlagen NTA besser abgebaut (50), (21). Auf Grund dieser Umstände sollte das Verhältnis EDTA zu NTA stets größer als 5 : 2 sein, wenn die Anwendung in der Bundesrepublik Deutschland gleichmäßig ist. Das Verhältnis von EDTA zu NTA ist aber, wie Abbildung 29 zeigt, an den einzelnen Probenahmestellen sehr unterschiedlich. Es geht vom Verhältnis 20 : 1 an der Meßstelle Pleidelsheim am Neckar bis zum Verhältnis 0.8 : 1 an der Meßstelle Wittenberg an der Elbe. Besonders auffällig ist der Neckar, bei dem ein sehr großer Überschuß EDTA vorliegt. Das dürfte damit zusammenhängen, daß zwar beide Komplexbildner in Produkten eingesetzt werden, die im Haushalt Verwendung finden, EDTA aber in besonderem Maße noch gewerblich genutzt wird. Man kann also die hohe EDTA-Konzentration als Folge industrieller Abwässer erklären, im Neckar bedingt durch die Industrieregion "mittlerer Neckar" mit Textilindustrie, metallverarbeitender Industrie und Fahrzeugbau. In den neuen Bundesländern bzw. Osteuropa scheint der NTA- und EDTA-Verbrauch in etwa gleich zu sein. Bei Berücksichtigung des Aspekts der besseren biologischen Abbaubarkeit des NTA kann man hier sogar von einer im Vergleich zum EDTA stärkeren NTA-Anwendung ausgehen.

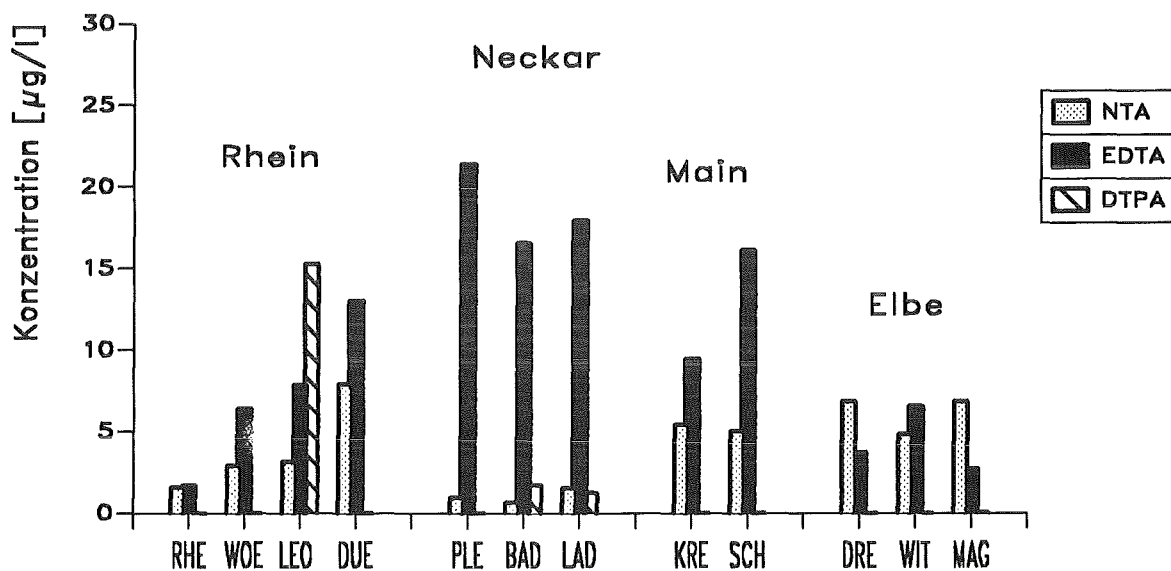


Abbildung 29. NTA, EDTA und DTPA in deutschen Fließgewässern: Beispiele aus vier großen Flüssen.

Die biologische Abbaubarkeit des NTA läßt sich beim Vergleich der NTA / EDTA-Verhältnisse im Rhein aus Messungen, die im Sommer und Winter gemacht wurden, illustrieren. Den in Abbildung 29 dargestellten Messungen im Rhein mit einem EDTA / NTA-Verhältnis von 2 : 1 liegen Proben zu Grunde, die Ende Januar genommen wurden. Die Ende August am Meßpunkt Leopoldshafen gemessenen Rheinproben, dargestellt in Abbildung 28, haben ein EDTA / NTA-Verhältnis von ungefähr 4 : 1. Das läßt sich durch einen verstärkten NTA-Abbau in den warmen Sommermonaten interpretieren. Dagegen wirkt sich bei dem schwer abbaubaren EDTA der Temperatureinfluß nur unbedeutend aus. Wegen des beschränkten Datenmaterials sind hier aber nur unsichere Aussagen möglich. Neben der Temperatur sind hier auch zusätzliche Aspekte wie urlaubsbedingter Rückgang der Anwendung von Waschmitteln oder Ausbleiben von industriellen Einleitungen durch Betriebsferien zu berücksichtigen.

Auf die gemessenen DTPA-Konzentrationen wurde bereits in Abschnitt 7.3 eingegangen.

7.4.2 Anteil von NTA, EDTA und DTPA an der Bismut-Komplexierungsaktivität

Es war nun interessant, die Summe der gaschromatographisch bestimmten Komplexbildnerkonzentrationen an NTA, EDTA und DTPA mit der gemessenen Komplexierungsaktivität zu vergleichen.

Abbildung 30 zeigt am Beispiel des Rheins BiCA/oY, BiCA/mY und die Summe der Konzentrationen an Aminopolycarbonsäuren.

Vergleicht man NTA, EDTA und DTPA mit der BiCA/oY, liegt deren Anteil zwischen 10% und 20%. Weil Aminopolycarbonsäuren aber als starke Komplexbildner gelten, ist nur ein Vergleich mit der BiCA/mY sinnvoll. Wie Abbildung 30 und umfassend für alle Probenahmepunkte Tabelle 18 zeigt, ist die BiCA/mY, mit Ausnahme des Meßpunkts WOR/Rhein stets größer als die Konzentration aus der gaschromatographischen Summenbestimmung, was verfahrensgemäß auch so sein sollte. Der Anteil liegt für die überwiegende Zahl der Meßpunkte mit über 50% recht hoch. Die BiCA/mY ist also eine Meßgröße, die sich häufig zu über der Hälfte aus den Komplexbildnern NTA, EDTA und DTPA zusammensetzt.

Zur Feststellung, an welchen Meßstellen kein signifikanter Unterschied beider Meßgrößen besteht, wurde die Standardabweichung ermittelt. Dazu wurden in der Wasserprobe LEO/Rhein die NTA-, EDTA- und DTPA-Konzentrationen sowie die BiCA/mY fünf mal bestimmt und die durchschnittliche Abweichung der Meßwerte vom Mittelwert ermittelt. Die statistische Prüfung ergab für die photometrische Messung und die gaschromatographisch bestimmten Aminopolycarbonsäuren folgendes:

BiCA/mY:	$\bar{x} = 0.115 \mu\text{mol/l}$	$\sigma = 0.011 \mu\text{mol/l}$
NTA:	$\bar{x} = 0.011 \mu\text{mol/l}$	$\sigma = 0.001 \mu\text{mol/l}$
EDTA:	$\bar{x} = 0.027 \mu\text{mol/l}$	$\sigma = 0.002 \mu\text{mol/l}$
DTPA:	$\bar{x} = 0.039 \mu\text{mol/l}$	$\sigma = 0.004 \mu\text{mol/l}$

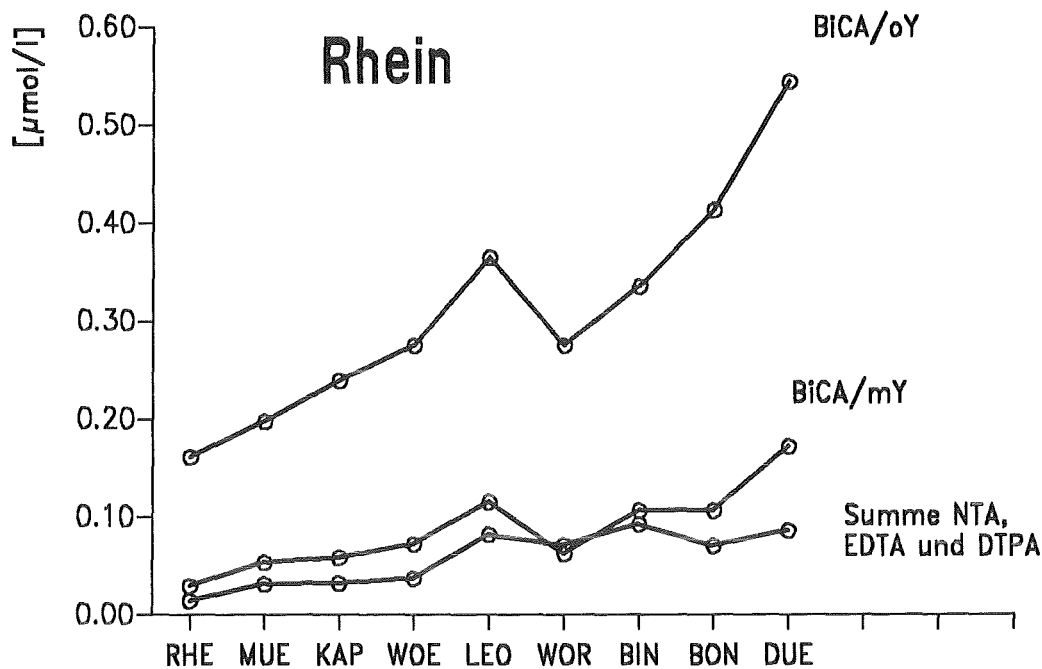


Abbildung 30. Vergleich von BiCA und den Komplexbildnern NTA, EDTA und DTPA im Rhein: Die Aminopolycarbonsäuren NTA, EDTA und DTPA wurden gaschromatographisch bestimmt.

Bei der Summen- und Differenzenbildung der Meßgrößen wurde die Standardabweichung σ aus dem Fehlerfortpflanzungsgesetz in folgender einfachen Form berechnet:

$$\sigma = (\sigma_1^2 + \sigma_2^2 + \dots)^{1/2} \quad [18]$$

In Tabelle 18 sind BiCA/mY und die Summe der Aminopolycarbonsäuren sowie die Differenz mit den Standardabweichungen angegeben. Die Standardabweichung der Differenz beider Verfahren σ_3 wird wegen der quadratischen Summierung im wesentlichen durch die größere Standardabweichung des photometrischen Summenverfahrens bestimmt.

Keinen signifikanten Unterschied der beiden Methoden finden sich an den Meßpunkten WOR/Rhein und PLE/Neckar. Will man allerdings die Aussagesicherheit von 68,3% auf 99,7% steigern, erweitert sich der Streubereich um $\pm 3\sigma$, was, wie Tabelle 17 zeigt, bei einer ganzen Reihe von Meßpunkten zu einer Überschneidung der Fehlerbreite führt. Jetzt ist vor allem der Unterschied beider Meßgrößen an Untersuchungsstellen an Oberläufen der Flüsse nicht mehr signifikant. Der Anteil von ca. 50% täuscht zwar einen bedeutsamen Unterschied vor, da aber die Komplexbildnerkonzentrationen gering sind, und man bereits nahe der Nachweisgrenze der summarischen Methode liegt, führt es

zwangsläufig zu großen Relativabweichungen und damit zu kleinen "Anteilen" der Aminopolycarbonsäuren. Zu diesen Meßpunkten gehören RHE, MUE und KAP im Rhein, ROT und HOR im Neckar sowie FOR in der Murg.

Deutliche Unterschiede beider Verfahren finden sich im Rhein bei WOE und DUE, im Mittellauf des Neckars bei NEU, BAD, NEG, in der Murg zwischen FOR und RAS sowie im Main. Die Anteilquote an Aminopolycarbonsäuren ist dennoch mit ca. 50 - 80% beachtlich hoch. Aus der Reihe fallen die Messungen in der Elbe. Der Anteil an der BiCA/mY beträgt nur 30 bis 40%. An der Meßstelle MAG / Elbe findet sich auch die größte gefundene Absolutabweichung beider Meßgrößen mit $0.094 \mu\text{mol/l}$, was $18 \mu\text{g/l}$ NTA entsprechen würde.

Abgesehen von den Elbe-Meßpunkten liegt also der Anteil der Komplexbildner NTA, EDTA und DTPA an der BiCA/mY zwischen durchschnittlich 55 und 80%.

Die Identifizierung eines so großen Anteils ist für einen Summenparameter recht hoch. Man überlege sich nur einmal, man solle die Zusammensetzung eines gemessenen DOC oder AOX einer Gewässerprobe aufklären! Oder man vergleiche die Methode mit der in der Wasseranalytik üblichen Phenolbestimmung. Hier werden die Phenole summarisch durch Kupplung und photometrischer Messung der gebildeten Azofarbstoffe bestimmt. Huber (31) wies darauf hin, daß starke Extinktionsunterschiede bei den verschiedenen Phenolen festzustellen sind, und da stets auf Phenol umgerechnet wird, können die Werte sowohl zu hoch als auch zu tief ausfallen. Zudem gibt es Phenole, die überhaupt nicht kuppeln, und umgekehrt kuppelnde Substanzen, die keine Phenole sind. Verglichen mit dieser Methode, ist die Bestimmung der Komplexbildungsaktivität mit der Bismut-Brenzkatechinviolett-Methode ganz gut.

Andererseits fragt man sich doch, auf welche komplexbildenden Wasserinhaltsstoffe die Differenz beider Methoden zurückzuführen ist. Interessant wäre auch, den durch Yttrium maskierbaren Komplexbildneranteil näher beschreiben zu können.

Der durch Yttrium maskierbare Komplexbildneranteil kann nach den Ausführungen in den vorangehenden Kapiteln auf synthetische Komplexbildner wie zum Bsp. HEDP und TPP oder aber natürliche Komplexbildner wie Citronensäure, Oxalsäure oder Weinsäure zurückzuführen sein; weiterhin auf die nicht exakt definierbaren Huminsäuren und Fulvinsäuren. Entspricht die Komplexbildungsaktivität diesen Komplexbildnern, ist die Aussagekraft des Meßwerts begrenzt, weil er weder ein Maß für die Stoffmenge noch ein Maß für die komplexierende Wirkung der Wasserprobe darstellt. Denn schwache Komplexbildner setzen den Bismut-Farbkomplex nicht vollständig um, das heißt eine hohe Konzentration eines schwachen Komplexbildners kann zur gleichen BiCA führen, wie eine kleine Menge eines stärkeren Komplexbildners. Weiterhin ist die gemessene BiCA wegen der unterschiedlichen Wiederfindung bei der Anreicherung nicht unbedingt proportional zur komplexierenden Wirkung der Probe. Die Komplexbildner haben unterschiedliche Wiederfindungsgrade, die eher von der Säurestärke als von der komplexierenden Wirkung abhängen.

Tabelle 18. Vergleich der BiCA/mY und der Konzentration an Aminopolycarbonsäuren: Für die Summe der Konzentrationen an Aminopolycarbonsäuren (Σ APC) sind die Standardabweichungen σ_1 , für BiCA/mY σ_2 sowie für die Differenz Δ beider Meßgrößen σ_3 angegeben. Eine Sicherheit S von 68.3% ergibt sich durch $\pm\sigma$, von 99.7% durch $\pm 3\sigma$.

Ort	Σ APC in $\mu\text{mol/l}$	σ_1	BiCA mit Y in $\mu\text{mol/l}$	σ_2	Diffe- renz Δ in $\mu\text{mol/l}$	σ_3	Anteil in %	S 68.3%	S 99.7%
Rhein									
RHE	0.014	0.002	0.029	0.011	0.015	0.011	48	-	+
MUE	0.031	"	0.053	"	0.022	"	58	-	+
KAP	0.032	"	0.058	"	0.026	"	55	-	+
WOE	0.037	"	0.072	"	0.035	"	51	-	-
LEO	0.082	0.005	0.072	"	0.033	0.012	71	-	+
WOR	0.071	"	0.062	"	-0.009	"	115	+	+
BIN	0.092	"	0.106	"	0.014	"	87	-	+
BON	0.07	"	0.106	"	0.036	"	66	-	+
DUE	0.086	"	0.172	"	0.086	"	50	-	-
Nek- kar									
ROT	0.015	0.002	0.043	"	0.028	0.011	35	-	+
HOR	0.010	"	0.033	"	0.023	"	30	-	+
PLE	0.073	"	0.080	"	0.007	"	91	+	+
NEU	0.064	0.005	0.120	"	0.056	0.012	53	-	-
BAD	0.056	"	0.105	"	0.049	"	53	-	-
NEG	0.041	"	0.100	"	0.059	"	41	-	-
LAD	0.062	"	0.096	"	0.034	"	65	-	+
Murg									
FOR	0.004	0.002	0.042	"	0.038	0.011	10	-	-
GEA	0.089	0.005	0.173	"	0.084	0.012	51	-	-
GEE	0.11	"	0.191	"	0.081	"	58	-	-
GAA	0.101	"	0.156	"	0.055	"	65	-	-
GAE	0.150	"	0.197	"	0.047	"	74	-	-
RAS	0.112	"	0.126	"	0.014	"	89	-	+
Main									
KRE	0.060	0.002	0.105	"	0.045	0.011	57	-	-
SCH	0.081	"	0.115	"	0.034	"	70	-	-
Elbe									
DRE	0.048	"	0.115	"	0.067	"	42	-	-
WIT	0.047	"	0.129	"	0.082	"	36	-	-
MAG	0.045	"	0.139	"	0.094	"	32	-	-

In Abbildung 31 wurde am Beispiel des Rheins die BiCA/oY und die BiCA/mY mit weiteren in der Wasserprobe gemessenen Wasserparametern verglichen. Das Profil von DOC und Leitfähigkeit sollte zeigen, ob ein Zusammenhang zwischen diesen Summenparametern und der Komplexierungsaktivität besteht. Um die Meßgrößen vergleichen zu können, wurde jeweils durch den kleinsten gemessenen Wert des DOC, Leitfähigkeit sowie BiCA/oY und BiCA/mY, die entlang des Längsprofils auftraten, dividiert. Das war für alle Summenparameter ausnahmslos der Meßpunkt Rheinfelden.

Der Vergleich zwischen BiCA und Leitfähigkeit läßt eine Interpretation des Zusammenhangs von Salzkonzentration und Komplexierungsaktivität zu. Für viele Fließgewässer ist die Leitfähigkeit in erster Näherung proportional zur Ionenstärke und daher ein grobes Maß für mögliche anorganische Komplexbildner. Wie Abbildung 31 zeigt, ist eine Korrelation zwischen BiCA mit und ohne Y einerseits und Leitfähigkeit nicht zu erkennen. Zum Beispiel nimmt die Leitfähigkeit zwischen den Probenahmestellen Müllheim und Kappel, bedingt durch Abwässer aus dem Kalibergbau im Elsaß südlich von Colmar, um das Vierfache zu, ohne daß dem eine ähnliche Zunahme der Komplexierungsaktivität folgt. Ab Worms fällt die Leitfähigkeit leicht, während die Komplexierungsaktivität zunimmt, die BiCA/mY sogar um das Dreifache. Ein direkter Einfluß der Salzkonzentration ist also nicht vorhanden.

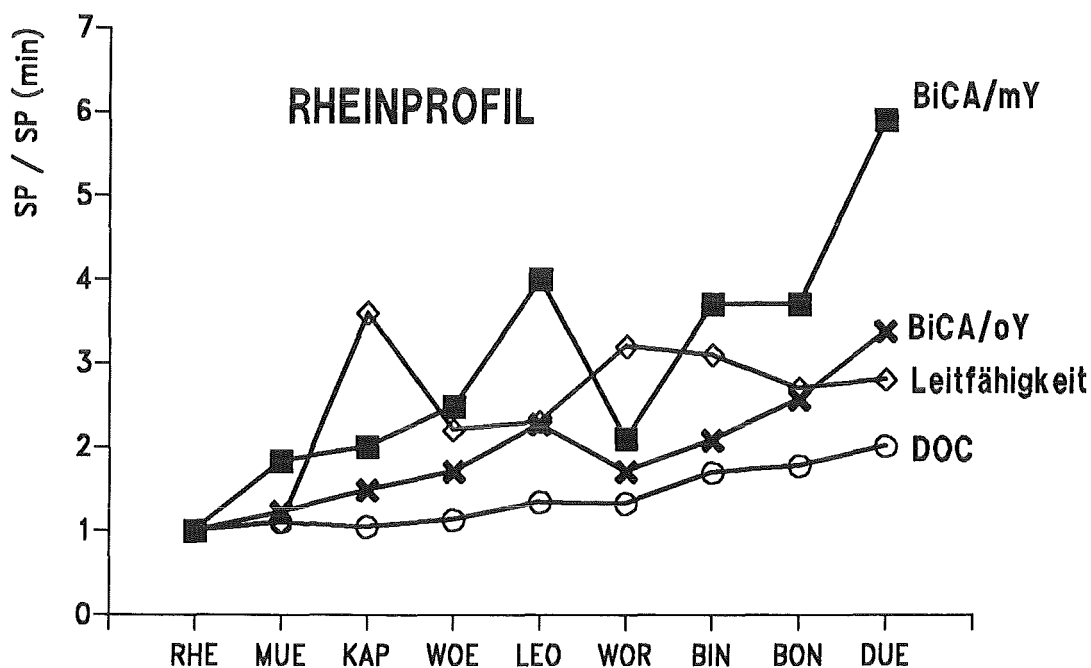


Abbildung 31. Verlauf verschiedener Summenparameter im Rhein zwischen Rheinfelden und Düsseldorf: Jeder Summenparameter (SP) wurde jeweils durch den am Probenahmepunkt RHE gemessenen Wert SP_{min} dividiert. Die Absolutwerte finden sich im Anhang.

Der DOC in Fließgewässern liegt nach Sontheimer (60) überwiegend in Form organischer Säuren vor, die im wesentlichen Molmassen kleiner 1000 g/mol aufweisen. Der DOC ist daher ein Maß für den Einfluß dieser in der Regel schwach komplexierenden Wasserinhaltsstoffe. Er nimmt, wie Abbildung 31 zeigt, mit der Fließstrecke ziemlich kontinuierlich zu. Die BiCA/oY verläuft ähnlich, während die BiCA/mY erheblich stärker zunimmt. Während sich der DOC über die gesamte Fließstrecke nicht einmal um Faktor 2 ändert, ist es bei der BiCA/mY der Faktor 6. Ein Einfluß des "organischen Untergrunds" läßt sich nicht ausschließen, muß aber vor allem bei der BiCA/mY gering sein. Die Komplexierungsaktivität ohne Maskierungsmittel ähnelt eher dem DOC-Verlauf, so daß man eine Maskierung gerade dieser, dem DOC zu Grunde liegenden organischen Säuren annehmen kann.

Diese Vermutung wurde auch noch durch eine andere Untersuchung bestätigt: Um den Einfluß von Huminstoffen auf die BiCA zu prüfen, wurde die Komplexierungsaktivität einer Moorwasserprobe gemessen. Die Probe wurde aus einem im Schwarzwald gelegenen Hochmoor-See (Hohlohsee) genommen, der frei von anthropogenen Einflüssen ist. Der DOC der durch 0.45 μm filtrierten Probe betrug 26 mg/l. Durch Verdünnen der Probe mit dest. Wasser wurde der DOC eingestellt. Bei der Anwendung des Verfahrens auf die Wasserprobe zeigte sich, daß bis zu einem DOC von 0.5 mg/l keine Bismut-Komplexierungsaktivität meßbar ist. Bei einem DOC von 2.6 mg/l beträgt die BiCA/oY 0.12 $\mu\text{mol/l}$, die BiCA/mY 0.05 $\mu\text{mol/l}$. Bei diesem für Fließgewässer typischen DOC-Wert ist also ein deutlicher Einfluß organischer Säuren auf die BiCA auszumachen. Durch die Zugabe von Yttrium können ca. 60 % der Komplexierungsaktivität maskiert werden. Das entspricht in etwa auch der Beobachtung in vielen Fließwasserproben.

Es ist also zu vermuten, daß der maskierbare Anteil der gemessenen BiCA überwiegend auf natürliche Komplexbildner zurückzuführen ist, wenngleich man auch bedenken muß, daß die Zusammensetzung eines DOC je nach Herkunft ganz verschieden sein kann. Ein DOC eines Fließgewässers wird eine andere Wirkung auf die BiCA haben als der eines Hochmoorwassers. Die organischen Stoffe des Hochmoorwassers besitzen höhere Molmassen (größer 5000 g/mol) und andere funktionelle Gruppen. Ebenso wird der DOC verschiedener Fließwasserproben in seiner Zusammensetzung unterschiedlich sein.

Letztendlich läßt sich nicht entscheiden, ob der maskierbare Komplexbildneranteil auf der schwach komplexierenden Wirkung der maßgeblich durch den DOC bestimmten organischen Säuren zurückzuführen ist, oder ob es sich um synthetische Komplexbildner handelt, die sich durch Yttrium teilweise maskieren lassen.

Es bleibt noch die Differenz zwischen der BiCA mit Yttrium und den Konzentrationen der Komplexbildner NTA, EDTA und DTPA zu diskutieren. Da sich durch Yttrium der Einfluß schwacher Komplexbildner nicht ganz ausschließen läßt, wird ein Teil der Restkomplexierungsaktivität sicherlich auf schwache Komplexbildner zurückzuführen sein.

Auffällig sind aber Probenahmepunkte, wie zum Beispiel im Rhein bei Düsseldorf, an denen eine große Differenz zwischen BiCA/mY und der Summe der Aminopolycarbonsäuren auftritt, während sich der DOC nur unbedeutend von anderen Meßpunkten unterscheidet, bei denen aber die Differenz zwischen BiCA/mY und Aminopolycarbonsäuren

viel kleiner ist. An solchen Meßpunkten wird man weitere starke synthetische Komplexbildner in Betracht ziehen müssen, die sich zwar dem gaschromatographischen Verfahren entziehen, aber einen Beitrag zur gemessenen BiCA leisten. Diese in Frage kommenden Komplexbildner sind sicherlich in der Gruppe der Aminopolycarbonsäuren zu suchen. Geläufige und bekannte Komplexbildner sind hier zum Beispiel:

- Propylendiamintetraessigsäure (PDTA)
- Hydroxypropylendiamintetraessigsäure (HPDTA)
- Diethylentriamintetraessigsäure
- Hydroxyethyleniminodiessigsäure
- Hydroxyethyl-ethylendiamintriessigsäure (HEEDTA)

Die Liste ist sicherlich verlängerbar; aber grundsätzlich wird jede Auflistung von Komplexbildnern keinen Anspruch auf Vollständigkeit haben. Gerade dieser Umstand macht eine summarische Methode wertvoll.

8. Bewertung

Im folgenden soll nun die Aussagekraft der beschriebenen Methode bewertet und ein Vergleich mit anderen Bestimmungsmethoden angestellt werden.

1. Die Bismut-Brenzkatechinviolett-Methode ist geeignet, über die Umsetzung mit Bi eine Meßgröße, die BiCA/mY, zu liefern, die mindestens der Konzentration an Aminopolycarbonsäuren entspricht.
2. Die untere Nachweisgrenze liegt bei $0.02 \mu\text{mol/l}$, was ca. $5 \mu\text{g/l}$ NTA entspricht.
3. Wird keine Bismut-Komplexierungsaktivität gemessen, läßt sich die Anwesenheit von Aminopolycarbonsäuren in Konzentrationen oberhalb $0.02 \mu\text{mol/l}$ sicher ausschließen.
4. Die Bismut-Komplexierungsaktivität läßt sich auch ohne Maskierungsmittel (Yttrium) für schwache Komplexbildner messen. Diese als BiCA/oY bezeichnete Meßgröße setzt sich aus der BiCA/mY sowie weiteren schwachen Komplexbildneranteilen zusammen. Das können synthetische Komplexbildner, wie zum Beispiel HEDP oder aber Komplexbildner natürlichen Ursprungs, wie niedermolekulare Carbon- oder Humin- bzw. Fulvinsäuren sein. Die durch diese Komplexbildner verursachte Komplexierungsaktivität hängt neben der Konzentration auch maßgeblich vom Wiederfindungsgrad nach Anwendung eines stark basischen Austauschers, und dem Umsetzungsgrad mit Bismut ab. Da der Wiederfindungsgrad nicht zwingend mit der Komplexbildnerstärke korreliert, hat dieser BiCA-Anteil nur begrenzte Aussagekraft.
5. Die Anwendung auf Fließgewässer zeigte, daß die Aminopolycarbonsäuren CDTA und EGTA keinen, NTA, EDTA und DTPA aber oftmals einen Anteil an der BiCA/mY von mehr als der Hälfte haben. Die Differenz können schwache Komplexbildner sein, die durch Yttrium nicht vollständig maskiert wurden, oder aber starke synthetische Komplexbildner vom Typ der Aminopolycarbonsäuren, die bisher noch nicht identifiziert wurden.

Es stellt sich die Frage, welche Aussagekraft die Bismut-Komplexierungsaktivität in Bezug auf die Schwermetallkomplexierung eines Gewässers hat. Man muß sich darüber klar sein, daß die BiCA keine Absolutbestimmung für die komplexierende Wirkung eines Wassers auf beliebige Schwermetalle ist. Die BiCA ist eine durch die Arbeitsvorschrift bedingte Meßgröße und erlaubt zunächst keine Aussage, in welchem Ausmaß ein bestimmtes Kation durch Komplexbildner in komplexierter Form vorliegt. Die BiCA ist eine typische wasserchemische Wirkungsgröße, die durch die zu ihrer Ermittlung verwendete Arbeitsvorschrift definiert ist. Die sicherlich größte Einschränkung der Übertragbarkeit auf gewässerrelevante Schwermetalle liegt darin, daß sie bei einem pH-Wert mißt, der weit vom üblichen Gewässer-pH-Wert (5 - 8) entfernt ist. Es ist daher interessant, die BiCA mit anderen Methoden zur Messung einer Komplexierungsaktivität zu vergleichen.

Von besonderer Bedeutung in dieser Hinsicht ist die Kupferphosphat-Methode, die zur Umsetzung einen schwerlöslichen Bodenkörper ($\text{Cu}_3(\text{PO}_4)_2$) benutzt. Die durch Komplex-

bildung erhöhte Konzentration an Cu wird mittels AAS oder Polarographie gemessen. Die Umsätze mit starken Komplexbildnern wie NTA und EDTA liegen bei 100%, während sie für schwächere Komplexbildner wie Citronensäure und Glycin bei 87% und 10% liegen. Hier zeigt sich schon der erste Unterschied zur BiCA. Während die BiCA auch quantitativ NTA und EDTA erfaßt, erreicht Citronensäure nur einen Umsatz von 5%, in Gegenwart von Yttrium sind es nur 2%. Praktisch ohne Einfluß ist Glycin. Die Kupferphosphat-Methode wird also wegen des höheren pH-Wertes (4.4), des anderen Kations und dessen Bindungsform bei derselben Wasserprobe zu einer im Vergleich zur BiCA höheren Komplexbildungsaktivität führen. Hinzu kommt, daß die BiCA wegen des Anreicherungsstschritts selektiv für bestimmte Komplexbildner ist und somit nur eine Auswahl komplexbildender Wasserinhaltsstoffe zur BiCA beitragen können. Zum Beispiel würde EDTP sicherlich vollständig mit der Kupferphosphat-Methode erfaßt werden, während auch noch so große Stoffmengen EDTP der Bismut-Brenzcatechiviolett-Methode verborgen bleiben.

Andererseits wird bei Anwendung der Kupferphosphat-Methode auf ein Flußwasser, die Komplexbildungsaktivität, bedingt durch die relativ hohe Nachweisgrenze von $1 \mu\text{mol/l}$, kaum auf starke synthetische Komplexbildner zurückzuführen sein. Sie wird sich im wesentlichen aus schwachen, natürlichen, organischen Komplexbildnern zusammensetzen.

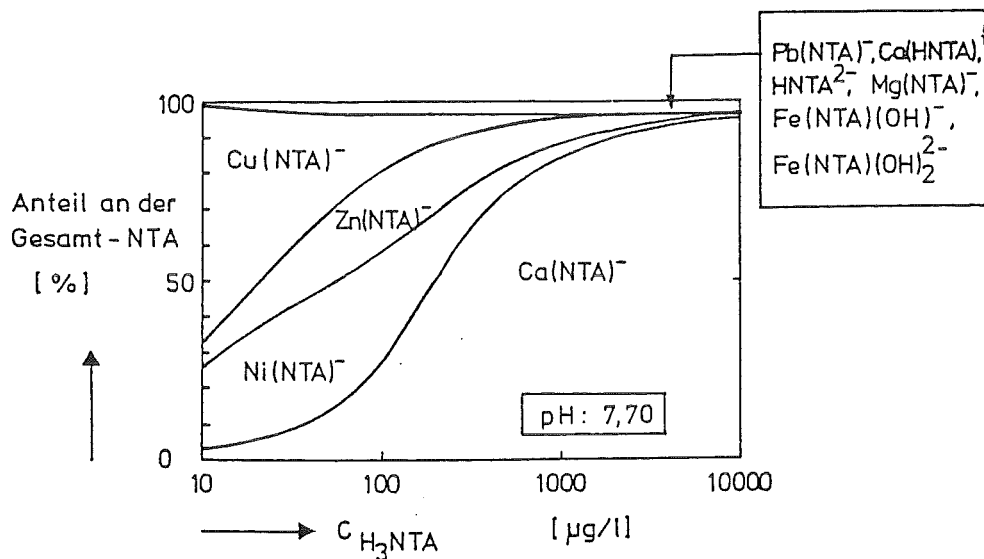


Abbildung 32. Chemische Speciation von NTA im Rheinwasser: Das Bild wurde (29) entnommen. Der Rechnung liegen Mittelwerte der Konzentrationen an Kationen und Anionen aus Messungen an verschiedenen Probenahmestellen des Rheins zu Grunde.

Unzweifelhaft erfaßt dagegen die BiCA starke synthetische Komplexbildner vom Typ der Aminopolycarbonsäuren. Eine Anzahl von Autoren (50), (29) hat durch Modellrechnungen gezeigt, daß Schwermetallionen wie Cu^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} und auch dreiwertiges Eisen bei

Vorliegen von NTA oder EDTA sich weitgehend zu Komplexen verbinden. Die Auftragung der NTA-Verbindungen in einem künstlichen Rheinwasser, das alle anorganischen Hauptkomponenten enthält, in Abhängigkeit von der NTA-Konzentration zeigt Abbildung 32. Es ist aus (29) entnommen und zeigt, daß bei pH = 7.70 und dem betrachteten NTA-Konzentrationsbereich zwischen 10 µg/l und 10 mg/l, das NTA weitgehend als Komplex vorliegt. Es ist zu 95% an den Kationen Calcium, Nickel, Zink und Kupfer gebunden. Bei kleinen NTA-Konzentrationen ist vor allem der Cu-Komplex vorherrschend. Mit zunehmender NTA-Konzentration wird der an Calcium gebundene Anteil größer, weil die Schwermetalle dann bereits "verbraucht" sind.

Diese Rechnung läßt erkennen, daß schon kleinste Mengen einer Aminopolycarbonsäure genügen, um die Metallspeziation eines Gewässersystems zu verändern und damit deren Verfügbarkeit für Organismen entscheidend zu beeinflussen. In der Regel sind die Aminopolycarbonsäuren so stark, daß sie andere Komplexbildner vollständig aus Ihren Komplexen verdrängen. In Abbildung 33 wurde die Komplexierungskapazität eines künstlichen Rheinwassers, das alle anorganischen Hauptkomponenten und Huminsäuren enthält, für Kupfer berechnet. Die Rechnung zeigt, daß 40% des Kupfers als Huminkomplexe vorliegen, der Rest ist an anorganische Liganden gebunden. Ist aber EDTA vorhanden, ist das gesamte Cu²⁺ allein vom EDTA komplexiert.

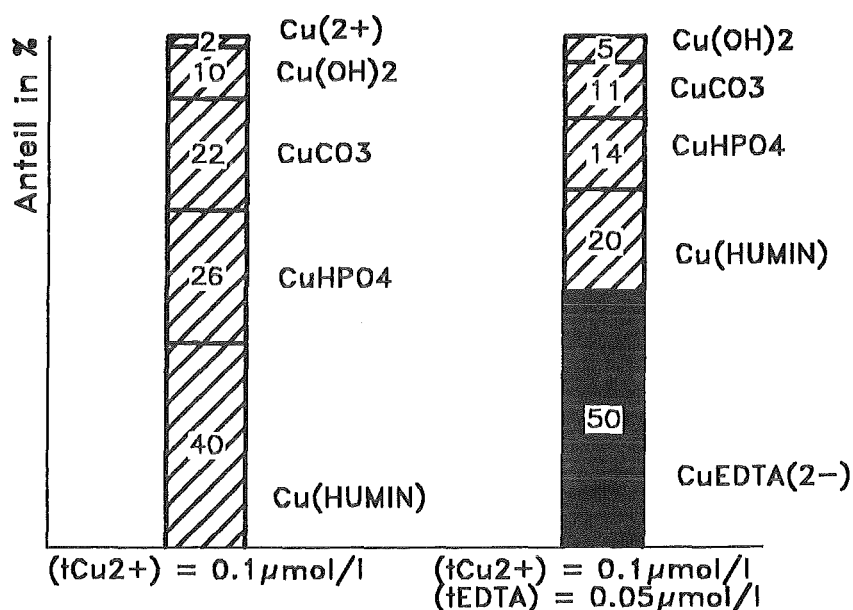


Abbildung 33. Berechnung der Cu²⁺-Komplexierung in einem Rheinwasser: Die Rechnung wurde mit dem Programm AWASA für ein Rheinwasser unter Berücksichtigung anorganischer Hauptkomponenten und Huminsäuren ausgeführt (links). Bei Zugabe von EDTA (rechts) ist dieses vollständig an Cu²⁺ gebunden.

Die BiCA/mY kann daher ein nützliche Meßgröße sein, um eine Abschätzung der Bindungsform von Schwermetallkationen zu machen: In vielen Fließgewässern entspricht

mindestens die Hälfte der BiCA/mY einer an Aminopolycarbonsäuren gebundenen Schwermetallkonzentration.

An dieser Stelle ist auch ein Vergleich mit der gaschromatographischen Bestimmungsmethode für Aminopolycarbonsäuren angebracht.

Während natürlich der summarischen Methode die Substanzspezifität einer gaschromatographischen Bestimmung fehlt, ist sie jedoch als Summenparameter für Aminopolycarbonsäuren geeignet. Unter Umständen ist sie für die Bilanzierung dieser Stoffklasse auch vollständiger, wie das Beispiel HEEDTA zeigte, welches nach der beschriebenen gaschromatographischen Bestimmung nicht erfaßt werden kann, sehr wohl aber summarisch.

Ein Vergleich beider Methoden kann zum Auffinden weiterer Komplexbildner führen, wie dies am Beispiel des DTPA gezeigt werden konnte.

Ein zeitlicher Vorteil liegt eindeutig bei der summarischen Methode. Während der Anreicherungs-schritt für beide Verfahren die gleiche Zeit in Anspruch nimmt (10 h; hauptsächlich bedingt durch das Abdampfen der Ameisensäure), nehmen die darauf folgenden Arbeitsschritte bei der gaschromatographischen Methode mehr Zeit in Anspruch. Bei kleinen Probenzahlen wird der zeitliche Aufwand bei der gaschromatographischen Bestimmung hauptsächlich durch die dreistündige Veresterungszeit bestimmt. Bei hohen Probenzahlen wird bei paralleler Veresterung die Retentionszeit maßgeblich. Zwischen zwei Probenaufgaben liegen ca. 35 min. Bei der summarischen Methode benötigt man für die Messung einer Probe ca. 30 Minuten. Bei paralleler Arbeitsweise wird die Meßzeit je Probe immer günstiger.

Hinzu kommt, daß der apparative Aufwand bei der photometrischen Methode erheblich kleiner ist und damit die Durchführung einfacher und billiger.

9. Anhang

9.1 ARBEITSVORSCHRIFTEN

9.1.1 Arbeitsvorschrift zur Bestimmung der Komplexbildungsaktivität nach der Bismut-Brenzkatechinviolett-Methode

A. Allgemeine Angaben

Das vorliegende Verfahren ermöglicht die summarische Bestimmung starker Komplexbildner in Oberflächenwasser. Starke Komplexbildner sind meist synthetische organische Verbindungen, wie zum Beispiel Nitrilotriessigsäure (NTA) und Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA). Komplexbildner werden in großen Mengen in Industrie und Haushalt eingesetzt und gelangen über das Abwasser in Oberflächengewässer. Die ökologische Bedenklichkeit liegt in ihrem Vermögen Schwermetalle in Lösung zu halten oder aus Sedimenten remobilisieren zu können.

Die Anwendung auf Schöpfproben einiger Fließgewässer der BRD zeigte, daß die unter den Bedingungen dieses Verfahrens ermittelte Komplexbildungsaktivität häufig zwischen 60 und 90% auf die Komplexbildner Nitrilotriessigsäure (NTA), Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA) und Diethylentriaminpentaessigsäure (DTPA) zurückgeht.

B. Grundlage des Verfahrens

Grundlage des Verfahrens ist der Bismut-Brenzkatechinviolett-Komplex. Anwesende Komplexbildner setzen den Farbkomplex um. Die Farbschwächung wird bei 580 nm photometrisch gemessen und ist proportional zur Komplexbildnerkonzentration der Probe. Ermittelt wird die Bismut-Komplexbildungsaktivität BiCA in $\mu\text{mol/l}$, die der Menge an Farbkomplex entspricht, die durch die komplexbildenden Inhaltsstoffe der Wasserprobe umgesetzt wird. Als untere Grenze, bei der noch eine vollständige Umsetzung mit dem Bismut-Farbkomplex möglich ist, kann eine effektive Bildungskonstante von $\log \beta^{\text{eff}} = 9.5$ (für NTA bei $\text{pH} = 2.2$) angegeben werden. Schwache Komplexbildner werden mit Yttrium maskiert. Der photometrischen Messung geht ein Anreicherungsschritt voraus. Dazu werden die Komplexbildner auf einem Anionenaustauscher sorbiert und mit konzentrierter Ameisensäure wieder eluiert.

C. Anwendungsbereich

Das Verfahren ist geeignet zur Bestimmung einer Bismut-Komplexbildungsaktivität BiCA zwischen 0.02 und 1.20 $\mu\text{mol/l}$, was zum Beispiel einer Konzentration zwischen 5 und 200 $\mu\text{g/l}$ NTA entspricht. Anwendbar ist das Verfahren auf Oberflächengewässer. Erfasst werden Komplexbildner vom Typ der Aminopolycarbonsäuren, wie zum Beispiel Nitrilotriessigsäure (NTA), Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA), Cyclohexandiamintetraessigsäure (CDTA), Ethylenglycol-bis(β -aminoethylether)-N,N-tetraessigsäure (EGTA), Diethylentriaminpentaessigsäure (DTPA), N-(2-Hydroxyethyl)-ethylendiamin-N,N,N'-triessigsäure (HEEDTA).

D. Geräte

- Photometer, geeignet für Messungen bei $\lambda = 580 \text{ nm}$
- Küvetten, Schichtdicke $d = 5 \text{ cm}$
- Stickstoff-Apparatur zum Überleiten von Stickstoff über verdampfende Flüssigkeiten
- Sandbad, regelbar auf $100 \text{ }^\circ\text{C}$
- Glassäule für Ionenaustauscher, $h = 10 \text{ cm}$, $d = 0.7 \text{ cm}$, mit einem Vorratsgefäß, Volumen 150 ml ; Auslauf mit Schliiffhahn und Glaswolle
- pH-Meßgerät; Genauigkeit ± 0.02
- Bechergläser, 25 ml , 100 ml
- Vollpipetten, $1, 2, 3, 5$ und 10 ml

E. Chemikalien

- Bismut-Standard, 1000 mg/l in 5% -iger HNO_3
- Salpetersäure, HNO_3 , $\rho = 1.40 \text{ g/ml}$
- Ameisensäure, HCOOH , Volumenkonzentration = $98 - 100\%$
- Anionenaustauscherharz, 50 bis 100 mesh , stark basisch, Chlorid- Form (BIORAD AG 1-X2)
- Formaldehydlösung, HCHO , Volumenkonzentration = 37%
- Yttriumnitrat, $\text{Y}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5 \text{ H}_2\text{O}$
- Brenzkatechinviolett, $\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{O}_7\text{S}$
- 1,10-Phenanthrolin, $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$
- Hydroxylammoniumchlorid, NH_4OCl

F. Herstellen der benötigten Lösungen

- Ameisensäure: 10 mol/l ; 16 mol/l
 378 ml und 604 ml konzentrierte Ameisensäure jeweils in einen 1000 ml - Meßkolben geben und bis zur Marke auffüllen.

- Bismut-Stammlösung: 1000 mg/l
Eine Ampulle Bismut-Standardlösung in 1 l Meßkolben geben, mit 75 ml HNO₃ ($\rho = 1.40 \text{ g/ml}$) versetzen und mit Wasser bis zur Marke auffüllen.
- Bismut-Eichlösung: 5 mg/l
5 ml Bismut-Stammlösung in 1000 ml - Kolben pipettieren, 3 ml HNO₃ ($\rho = 1.40 \text{ g/ml}$) zugeben und mit dest. Wasser bis zur Marke auffüllen.
- Yttrium-Stammlösung: 48.7 g/l
20 g Y(NO₃)₃ • 5 H₂O in 100 ml H₂O lösen
- Reduktionsmittel: 5 ml einer 10%-igen Hydroxylammoniumchloridlösung (10 g NH₄OCl in 100 ml H₂O; 1.44 mol/l) und 15 ml einer 0.1%-igen Phenanthrolinlösung (100 mg in 100 ml H₂O; 5.0 mmol/l) und 80 ml H₂O zusammengeben und pH-Wert auf 6.10 einstellen (ca. 3 Tage haltbar)
- Brenzkatechinviolett-Lösung: 41.6 mg (0.108 mmol/l) Brenzkatechinviolett in einen 1 l Meßkolben geben und mit Wasser bis zur Marke auffüllen. Lösung ca. 3 Monate haltbar.

G. Probenbehandlung

Die Proben werden nach der Probenahme mit 1% Formaldehyd stabilisiert (1 ml Formaldehydlösung auf 100 ml Wasser) und durch ein 0.45 μm - Membranfilter von suspendierten Stoffen befreit.

H. Vorbereitung der Anionenaustauschersäule

Der Anionenaustauscher BIORAD AG 1-X2 wird in 16-molarer Ameisensäure aufgeschlämmt, 5 cm hoch in die Säule gefüllt (ca. 2 ml Austauscherbett), zuerst mit 50 ml der Säure und dann solange mit destilliertem Wasser gespült, bis der Ablauf einen pH von ca. 5 hat.

I. Arbeitsvorschrift

I.a. Voranreicherung

Die Voranreicherung erfolgt durch Sorption der Komplexbildner auf einer Anionenaustauschersäule aus schwach saurer Lösung und Elution mit konzentrierter Ameisensäure.

- Ansäuern der mit Formaldehyd stabilisierten Wasserprobe mit konzentrierter Ameisensäure auf pH = 2.5
- 100 ml der angesäuerten Wasserprobe werden mit einer Fließgeschwindigkeit von 2 - 3 ml/min durch die vorkonditionierte BIORAD AG-1 X2-Anionenaustauschersäule geleitet. Der Durchlauf wird verworfen
- Elution der Anionenaustauschersäule mit 10 ml 10-molarer Ameisensäure in ein 25 ml Becherglas (ca. 5 Bettvolumina)

- Eindampfen des Eluates auf einem Sandbad bei 80 °C zur Trockene unter Überleiten eines Stickstoffstromes
- Zur vollständigen Entfernung der Ameisensäure Rückstand in wenig dest. Wasser erneut aufnehmen und wieder eindampfen

I.b. Photometrische Messung

Die photometrische Messung der Komplexbildungsaktivität beruht auf der Extinktionsabnahme des Bismut-Brenzkatechinviolett-Komplexes bei 580 nm. Eventuell vorhandenes dreiwertiges Eisen wird vorher mit einer Hydroxylamin / Phenanthrolin-Mischung zu zweiwertigem Eisen reduziert. Schwache Komplexbildner werden mit Yttrium maskiert.

- Versetzen des trockenen Rückstandes mit 2 ml der Reduktionslösung
- 30 Minuten zur vollen Farbentwicklung des Fe(II)-Phenanthrolin-Komplexes stehen lassen. Bei schwacher Färbung ($E_{\lambda=580\text{nm}} < 0.003$ der Probe gegen Wasser) kann die Eigenextinktion vernachlässigt werden, ansonsten $E_{\lambda=580\text{nm}}$ in 1 cm-Küvetten gegen Wasser messen und bei der Auswertung berücksichtigen
- Zugabe von 2 ml Brenzkatechinviolett-Lösung und 5 ml Bismut-Eichlösung (in der angegebenen Reihenfolge])
- Einstellen des pH-Wertes auf 2.20 mit verdünnter HNO_3 und verdünnter NaOH
- Zugabe von 1 ml der Yttrium-Stammlösung
- Messen der Extinktion E_p frühestens nach 15 min, spätestens nach 30 min bei 580 nm in 5 cm-Küvetten gegen Wasser als Vergleich

Dieselben Arbeitsschritte parallel mit einer Vergleichsprobe (Blindprobe), die keine Wasserprobe enthält, durchführen und die Extinktion E_v messen.

J. Auswertung

Zur Auswertung wird die Extinktionsdifferenz $E_v - E_p$ gebildet und nach folgender Gleichung die Bismut-Komplexbildungsaktivität BiCA berechnet:

$$\text{BiCA} = \frac{V_v}{V_p} \frac{(E_v - E_p)}{A_1 F_w}$$

- BiCA = Komplexbildungsaktivität in $\mu\text{mol/l}$
- V_v = Volumen der Farblösung in ml (10ml)
- V_p = Volumen der Wasserprobe in ml (100ml)
- E_v = Extinktion der Vergleichslösung
- E_p = Extinktion der Probelösung
- A_1 = Steigung der Eichgeraden in $1/\mu\text{mol}$
- F_w = Wiederfindungsgrad (0.80)

Die Steigung A_1 erhält man aus der Eichgeraden nach der Gleichung in Abschnitt K. Der Wiederfindungsgrad ergibt sich aus Untersuchungen mit Aminopolycarbonsäuren. Als Mittel ergab sich für die Aminopolycarbonsäuren ein Wiederfindungsgrad von $F_w = 0.80$.

K. Eichkurve

Zur Erstellung der Eichkurve werden Lösungen mit steigenden Mengen Bismut photometrisch bestimmt. Die Extinktion wird gegen Wasser bei 580 nm gemessen und als Funktion der Bismut-Konzentration aufgetragen.

- In 6 Bechergläser (Volumen 25 ml) 2 ml Reduktionslösung und 2 ml Brenzkatechinviolett-Lösung pipettieren
- Abpipettieren von 0, 1, 2, 3, 4, 5 ml Bismut-Eichlösung in die Bechergläser
- Volumendifferenz auf 10 ml (6, 5, 4, 3, 2 und 1 ml) mit destilliertem Wasser ausgleichen
- Einstellen des pH-Wertes auf 2.20 mit verdünnter HNO_3 und verdünnter NaOH
- Zugabe von 1 ml der Yttrium-Stammlösung
- Messen der Extinktion E_p frühestens nach 15 min, spätestens nach 30 min bei 580 nm in 5 cm-Küvetten gegen Wasser als Vergleich
- Auftragen der Extinktion in einem Koordinatensystem über der Bismut-Konzentration: 2.4, 4.8, 7.2, 9.6 und 12 $\mu\text{mol/l}$

$$E = A_1 c_{\text{Bi}} + A_0$$

E = Extinktion
 c_{Bi} = Bismut – Konzentration in $\mu\text{mol/l}$
 A_1 = Steigung der Eichgeraden in $l/\mu\text{mol}$
 A_0 = Achsenabschnitt der Eichgeraden

9.1.2 Arbeitsvorschrift zur simultanen gaschromatographischen Bestimmung von NTA, EDTA, CDTA, EGTA und DTPA

A. Allgemeine Angaben

Nitrilotriessigsäure (NTA), Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA), Cyclohexandiamintetraessigsäure (CDTA), Ethylenglycol-bis(β -aminoethylether)-N,N-tetraessigsäure (EGTA), Diethylentriaminpentaessigsäure (DTPA) sind starke organische Komplexbildner, die zur Stoffgruppe der Aminopolycarbonsäuren gehören. Durch die Verwendung in Industrie und Haushalt gelangen sie über das Abwasser in Oberflächengewässer. Die ökologische Bedenklichkeit liegt in ihrem Vermögen Schwermetalle in Lösung zu halten oder aus Sedimenten remobilisieren zu können.

Das vorliegende Verfahren wurde u.a. auf Rheinwasserproben angewandt. Am Meßpunkt Leopoldshafen (Rhein - km 372) zeigte sich, daß NTA, EDTA und DTPA regelmäßig gemessen werden können.

B. Grundlage des Verfahrens

Die Komplexbildner werden aus der Wasserprobe auf einem stark basischen Anionenaustauscher angereichert und mit konzentrierter Ameisensäure eluiert. Danach erfolgt Veresterung mit n-Propanol und gaschromatographischer Trennung mit stickstoffsensitiver Detektion.

C. Anwendungsbereich

Das Verfahren eignet sich für Oberflächengewässer im Konzentrationsbereich von 5 - 250 nmol/l, was z.B. 1 - 50 μ g/l NTA entspricht.

D. Geräte

- Stickstoff - Apparatur zum Überleiten von Stickstoff über verdampfende Flüssigkeiten
- Sandbad, regelbar auf 100 °C
- Glassäule für Ionenaustauscher, h = 10 cm, d = 0.7 cm, mit einem Vorratsgefäß, Volumen 150 ml; Auslauf mit Schliffhahn und Glaswolle
- pH - Meßgerät; Genauigkeit ± 0.02
- Rollrandglas, 10 ml, 2 ml; mit teflonbeschichtetem Deckel
- Pipetten
- Gaschromatograph mit stickstoffsensitivem Detektor (Varian 3700 Gaschromatograph mit TSD)
- Zur massenspektroskopischen Kontrolle ein GC - MS (HP 5890 Gaschromatograph mit HP 5970 massensensitivem Detektor)

E. Chemikalien

- Ameisensäure, HCOOH, Volumenkonzentration = 98 - 100%
- Anionenaustauscherharz, 50 bis 100 mesh, stark basisch, Chlorid - Form (BIO - RAD AG 1 X-2)
- Formaldehydlösung, HCHO, Volumenkonzentration = 37%
- Stickstoff, Volumenkonzentration = 99.996%
- n-Propanol, CH₃(CH₂)₃OH
- Acetylchlorid, CH₃COCl
- NTA, C₆H₉NO₆
- EDTA, C₁₀H₁₆N₂O₈
- CDTA, C₁₄H₂₂N₂O₈ • H₂O
- EGTA, C₁₄H₂₄N₂O₁₀
- DTPA, C₁₄H₂₃N₃O₁₀
- Heptadecansäurenitril, C₁₇H₃₃N
- n-Hexan, CH₃(CH₂)₄CH₃
- Natronlauge, NaOH (1 mol/l)

F. Herstellen der benötigten Lösungen

- Ameisensäure: 10 mol/l; 16 mol/l
378 ml und 604 ml konzentrierte Ameisensäure jeweils in einen 1000 ml-Meßkolben geben und bis zur Marke auffüllen.
- Komplexbildner-Stammlösung: 0.24 mmol/l
Je 0.24 mmol/l Komplexbildner in 1 l Meßkolben geben, mit etwas Natronlauge (1 mol/l) lösen und bis zur Marke mit Wasser auffüllen
- Komplexbildner-Eichlösung: 0.0024 mmol/l
Von der Komplexbildner-Stammlösung 10 ml in 1 l-Meßkolben abpipettieren und bis zur Marke auffüllen
- Veresterungsmittel: n-Propanol / Acetylchlorid im Verhältnis 10 : 1

2 ml Acetylchlorid zu 20 ml n-Propanol vorsichtig zutropfen und mischen (die HCl-Konzentration beträgt danach 1.4 mol/l)

- Interner Standard: 4 mg/l (15.9 mmol/l)
100 mg Heptadecansäurenitril in 100 ml n-Hexan lösen, davon 0.4 ml abpipettieren und in 100 ml n-Hexan lösen

G. Probenahme

Die Proben werden nach der Probenahme mit 1% Formaldehyd stabilisiert (1 ml Formaldehydlösung auf 100 ml Wasser) und durch ein 0.45 μ m-Membranfilter von suspendierten Stoffen befreit.

H Vorbereitung der Anionenaustauschersäule

Der Anionenaustauscher BIORAD AG 1-X2 wird in 16-molarer Ameisensäure aufgeschlämmt, 5 cm hoch in die Säule gefüllt (ca. 2 ml Austauscherbett), zuerst mit 50 ml der Säure und dann solange mit destilliertem Wasser gespült, bis der Ablauf einen pH von ca. 5 hat.

I Arbeitsvorschrift

I.a. Voranreicherung

Die Voranreicherung erfolgt durch Sorption der Komplexbildner auf einer Anionenaustauschersäule aus schwach saurer Lösung und Elution mit konzentrierter Ameisensäure.

- Ansäuern der mit Formaldehyd stabilisierten Wasserprobe mit konzentrierter Ameisensäure auf pH = 2.5
- 100 ml der angesäuerten Wasserprobe werden mit einer Fließgeschwindigkeit von 2 - 3 ml/min durch die vorkonditionierte BIORAD AG-1 X2-Anionenaustauschersäule geleitet. Der Durchlauf wird verworfen
- Elution der Anionenaustauschersäule mit 10 ml 10-molarer Ameisensäure in ein 25 ml Becherglas (ca. 5 Bettvolumina)
- Eindampfen des Eluates auf einem Sandbad bei 80 °C zur Trockene unter Überleiten eines Stickstoffstromes
- Zur vollständigen Entfernung der Ameisensäure Rückstand in wenig dest. Wasser erneut aufnehmen und wieder eindampfen

I.b. Derivatisierung

Die Aminopolycarbonsäuren (und evtl. vorhandene andere Säuren aus der Wasserprobe) werden in die n-Propanol-Ester überführt und diese mit n-Hexan aufgenommen. Dem Hexan-Extrakt wird Heptadecansäurenitril als interner Standard zugesetzt.

- Zugabe von 2 ml Acetylchlorid / n-Propanol-Gemisch in das Rollrandglas, Verschießen, Verestern durch 3-stündiges Erhitzen auf dem Sandbad bei 100 °C
- Nach dem Abkühlen der Reaktionsmischung Zugabe von 1 ml Natronlauge (1 mol/l) und 1 ml interner Standard (das zugegebene Volumen entspricht 4 µg Verbindung), 1 min kräftig schütteln
- Mit destilliertem Wasser in einen 25 ml Messkolben überspülen und Auffüllen bis die organische Phase ganz im Kolbenhals steht, Umschwenken des Kolbens bis die organische Phase klar erscheint
- Abpipettieren der organischen Phase in ein 2 ml Rollrandglas, Nachextraktion der wässrigen Phase mit 0.5 ml n-Hexan, dieses ebenfalls in das Rollrandglas überführen
- Abtreiben des n-Hexan im Stickstoffstrom bei Raumtemperatur, Wiederaufnehmen des trockenen Rückstandes mit 0.3 ml n-Hexan (V_0); dadurch wird u.a. der Essigsäure-n-Propylester entfernt. Verschießen des Rollrandglases mit einem teflonbeschichteten Aluminiumdeckel. Die so vorbereiteten Proben sind in der Tiefkühltruhe mehrere Wochen lang haltbar

I.c. Gaschromatographische Bestimmung

Die Trennung erfolgt Temperatur-programmiert in einer Kapillarsäule (5% Diphenyl-95% Methylpolysiloxan). Trägergas ist Stickstoff; Detektor: TSD.

- Einspritzvolumen 2 µl (V_0 ; 0.027 µg (0.11 nmol) internen Standard enthaltend)
- Injektor in "splitless"-Modus, Injektortemperatur 220 °C
- GC-Säule HP DB 5, 20 m, Filmdicke 0.25 µm, Trägergas Stickstoff
- Säulen-Temperaturprogramm: 160 -280 °C, 8 °C/min, danach 11 min bei 280 °C
- Detektor: Varian TSD bead probe 03-906074-00, betrieben bei 250 °C; Brenngas: Luft, 180 ml/min; Wasserstoff, 4 ml/min; make-up Gas: Reinstickstoff, 15 ml/min

J. Auswertung

Zur Auswertung wird der Quotient "FQ" aus den Peakflächen des Komplexbildner-Peaks und des Peaks des internen Standards "IS" gebildet (die Software des verwendeten

Gaschromatographen liefert die Peakflächen direkt). Die Peakflächen sind den in die Säule eingespritzten Stoffmengen "n_x" proportional. Es wird von einer linearen Eichkurve ausgegangen, was nur in einem begrenzten Bereich der eingespritzten Stoff- und Lösungsmittelmenge zutreffen wird. Für die Berechnung der Konzentration werden folgende Beziehungen definiert:

$$FQ = A_0 + A_1 \frac{n_{APC}}{n_{IS}}$$

FQ = Flächenquotient Aminopolycarbonsäure / int. Standard

A₀ = Achsenabschnitt der Eichgeraden

A₁ = Steigung der Eichgeraden

n_{APC} = eingespritzte Stoffmenge Aminopolycarbonsäure

n_{IS} = eingespritzte Stoffmenge int. Standard

$$c_{APC} = \frac{V_o}{V_e V_p F_W} (FQ - A_0) \frac{n_{IS}}{A_1}$$

c_{APC} = Stoffmengenkonzentration der Probe an Aminopolycarbonsäure

V_p = Volumen der Wasserprobe

V_o = Volumen der organischen Phase bei der Extraktion

V_e = Einspritzvolumen der organischen Phase

F_w = Wiederfindungsgrad

In der Praxis eines Untersuchungslaboratoriums wird man die Größen n_{IS}, V_p, V_o und V_e konstant halten und kann entsprechend vereinfachte Gleichungen verwenden:

$$FQ = B_0 + B_1 n_{APC}$$

$$B_0 = A_0$$

$$B_1 = \frac{A_1}{n_{IS}}$$

$$c_{APC} = 1500 \frac{(FQ - B_0)}{F_w B_1}$$

K. Eichkurve und Wiederfindungsgrad

K.a. Eichkurve

Zur Erstellung der Eichkurve werden Lösungen mit steigenden Konzentrationen Aminopolycarbonsäuren und konstanter Konzentration an internem Standard analysiert. Die Quotienten aus den gemessenen Peakflächen der Aminopolycarbonsäuren und denen des internen Standards werden gegen die eingesetzten Mengen an Aminopolycarbonsäuren aufgetragen.

- Abpipettieren von 0.5, 1.0, 3.0, 5.0 und 10 ml Eichlösung in fünf 10 ml Rollrandgläser. Die Rollrandgläser enthalten dann 1.2, 2.4, 7.2, 12.0 und 24.0 nmol Aminopolycarbonsäuren
- Eindampfen der Lösungen auf einem Sandbad bei 80 °C zur Trockene unter Überleiten eines Stickstoffstroms. Verestern und gaschromatographische Bestimmung wie unter 7.9 beschrieben
- Bilden des Quotienten aus der Peakfläche von Aminopolycarbonsäure und internem Standard und Auftragen in einem Koordinatensystem über der absoluten Menge Aminopolycarbonsäure. Bei 2 µl Einspritzvolumen sind das 0.008, 0.016, 0.048, 0.08 und 0.16 nmol Komplexbildner
- Errechnen der Eichfunktion

K.b. Wiederfindungsgrad

Zur Ermittlung des Wiederfindungsgrades wird die Probe mit und ohne Aminopolycarbonsäure analysiert. Der Wiederfindungsgrad ergibt sich dann nach:

$$F_W = \frac{c_{APC}^Z - c_{APC}}{c_Z}$$

F_W = Wiederfindungsgrad in %

c_{APC}^Z = Meßergebnis der Probe mit Zusatz

c_{APC} = Meßergebnis der Probe

c_Z = Konzentration an zugesetzter Aminopolycarbonsäure

9.2 TABELLEN

Tabelle 19. Stoffumsatz verschiedener Komplexbildner mit dem Bismut-Xylenorange-Komplex: Gemessen wurde die Extinktionsdifferenz zwischen einer Lösung mit $9.6 \mu\text{mol/l Bi}^{3+}$ und einem Überschuß an Xylenorange und einer Lösung, die zusätzlich noch verschiedene Komplexbildnerkonzentrationen enthielt. Die Auswertung erfolgte über die Gleichung $c_{\text{Bi}} = 11.83\sqrt{\Delta E} + 8.4 \Delta E - 2.41$. Sie folgt aus Gleichung 7 in Abschnitt 3.2.1.

zugegebene Komplexbildnerkonzentration [$\mu\text{mol/l}$]		1.0	2.9	4.8	6.7	9.6
		EDTA	ΔE c_{Bi}	0.052 0.7	0.152 3.5	0.243 5.4
CDTA	ΔE c_{Bi}	0.055 0.8	0.150 3.4	0.238 5.3	0.318 6.9	0.410 8.6
EGTA	ΔE c_{Bi}	0.054 0.8	0.145 3.3	0.234 5.3	0.327 7.1	0.413 8.7
DTPA	ΔE c_{Bi}	0.053 0.8	0.154 3.5	0.238 5.4	0.327 7.1	0.419 8.8
EDTP	ΔE c_{Bi}	0.049 0.6	0.131 3.0	0.235 5.3	0.305 6.7	0.404 8.5
NTA	ΔE c_{Bi}	0.036 0.14	0.104 2.3	0.158 3.6	0.205 4.7	0.258 5.8
ATMP	ΔE c_{Bi}	0.015 -	0.049 0.6	0.081 1.6	0.110 2.4	0.145 3.3
ISDA	ΔE c_{Bi}	0.029 -	0.092 2.0	0.138 3.1	0.179 4.1	0.219 5.0
TPP	ΔE c_{Bi}	0.007 -	0.031 -	0.054 0.8	0.073 1.4	0.098 2.1
HEDP	ΔE c_{Bi}	0 -	0.017 -	0.029 -	0.041 0.3	0.059 1.0
ADA	ΔE c_{Bi}	0 -	0.015 -	0.020 -	0.031 -	0.041 0.3

Tabelle 20. Stoffumsatz verschiedener Komplexbildner mit dem Bismut-Brenzkatechiviolett-Komplex: Gemessen wurde die Extinktionsdifferenz zwischen einer Lösung mit $9.6 \mu\text{mol/l Bi}^{3+}$ und einem Überschuß an Brenzkatechiviolett und einer Lösung, die zusätzlich noch verschiedene Komplexbildnerkonzentrationen enthält. Die Auswertung erfolgte über die Gleichung $c_{\text{Bi}} = \Delta E / 0.073$.

zugegebene Komplexbildnerkonzentration [$\mu\text{mol/l}$]		1.0	2.9	4.8	9.6
EDTA	ΔE	0.076	0.212	0.373	0.705
	c_{Bi}	1.0	2.9	5.1	9.7
CDTA	ΔE	0.072	0.218	0.364	0.726
	c_{Bi}	1.0	2.9	5.0	9.9
EGTA	ΔE	0.068	0.220	0.357	0.722
	c_{Bi}	0.9	3.0	4.9	9.9
DTPA	ΔE	0.070	0.211	0.355	0.716
	c_{Bi}	1.0	2.9	4.9	9.8
EDTP	ΔE	0.068	0.230	0.340	0.725
	c_{Bi}	0.9	3.2	4.7	9.9
NTA	ΔE	0.080	0.226	0.331	0.717
	c_{Bi}	1.1	3.1	4.5	9.8
ATMP	ΔE	0.063	0.208	0.354	0.702
	c_{Bi}	0.9	2.9	4.8	9.6
ISDA	ΔE	0.061	0.212	0.358	0.708
	c_{Bi}	0.8	2.9	4.9	9.7
TPP	ΔE	0.059	0.164	0.240	0.321
	c_{Bi}	0.8	2.2	3.3	4.4
HEDP	ΔE	0.094	0.251	0.352	0.482
	c_{Bi}	1.3	3.6	4.8	6.6
ADA	ΔE	0.054	0.141	0.221	0.400
	c_{Bi}	0.7	1.9	3.0	5.5

Tabelle 21. Eichung der gaschromatographischen Bestimmung von NTA, EDTA, CDTA, EGTA und DTPA: Der FQ-Wert ist der Quotient aus Peakfläche Komplexbildner und internem Standard.

Konzentration [nmol]	Messreihe	FQ (NTA)	FQ (EDTA)	FQ (CDTA)	FQ (EGTA)	FQ (DTPA)
0.008	1	0.05	0.08	0.08	0.03	0.08
	2	0.05	0.08	0.06	0.05	0.09
	3	0.05	0.07	0.08	0.03	0.08
0.016	1	0.11	0.17	0.12	0.07	0.20
	2	0.10	0.16	0.13	0.09	0.17
	3	0.09	0.17	0.13	0.08	0.17
0.048	1	0.24	0.44	0.36	0.41	0.49
	2	0.25	0.46	0.43	0.43	0.67
	3	0.25	0.47	0.45	0.47	0.68
0.08	1	0.42	0.84	0.59	0.74	0.79
	2	0.41	0.85	0.58	0.85	0.81
	3	0.42	0.86	0.53	0.70	0.70
0.16	1	1.03	2.10	1.82	1.41	1.70
	2	0.99	1.98	1.90	1.43	1.76
	3	0.96	1.98	1.87	1.43	1.75

Tabelle 22. Statistische Prüfung der photometrischen und gaschromatographischen Methode: Es wurde die Standardabweichung σ der Messwerte vom Mittelwert aus 5 Messungen einer Probe am Meßpunkt LEO / Rhein ermittelt.

	Messreihe	FQ (ΔE)	$\overline{FQ} (\overline{\Delta E})$	σ	rel. Stand. in %	\bar{c}_i [$\mu\text{mol/l}$]
NTA	1	0.06	0.06	0.006	10	0.011 ± 0.001
	2	0.05				
	3	0.06				
	4	0.06				
	5	0.05				
EDTA	1	0.18	0.19	0.015	7.9	0.027 ± 0.002
	2	0.20				
	3	0.19				
	4	0.22				
	5	0.18				
DTPA	1	0.20	0.21	0.023	11	0.039 ± 0.004
	2	0.23				
	3	0.24				
	4	0.19				
	5	0.19				
BiCA	1	0.060	0.060	0.006	10	0.115 ± 0.011
	2	0.055				
	3	0.066				
	4	0.065				
	5	0.053				

Tabelle 23. Bestimmung der BiCA einer Wasserprobe aus einem Hochmoor-See (Hohlohsee): Der DOC wurde durch Verdünnen der Ausgangsprobe (DOC = 26 mg/l) eingestellt.

DOC [mg/l]	ohne Anreicherung BiCA/oY [$\mu\text{mol/l}$]	ohne Anreicherung BiCA/mY [$\mu\text{mol/l}$]	DOC nach Anreicherung [mg/l]	mit Anreicherung BiCA/oY [$\mu\text{mol/l}$]	mit Anreicherung BiCA/mY [$\mu\text{mol/l}$]
0.1	0.24	0.14	n.gem.	0	0
0.3	0.25	0.18	0.10	0	0
0.5	0.66	0.39	0.10	0	0
2.6	2.73	1.67	0.30	0.12	0.05
5.1	n.gem.	n.gem.	0.40	0.29	0.10

Tabelle 24. Summenparameter Rhein: Probenahmetag: Rheinfelden-Leopoldshafen am 31.1.92; Worms-Düsseldorf am 5.2.92; Probenahme erfolgte von Brücken in Flußmitte (mit Ausnahme Leopoldshafen: 10 m vom rechten Ufer auf Landungssteg).

Probenahmeort	BiCA ohne Yttrium [$\mu\text{mol/l}$]	BiCA mit Yttrium [$\mu\text{mol/l}$]	pH	DOC [mg/l]	Leitfähigkeit [$\mu\text{S/cm}$]
Rheinfelden	0.161	0.029	8.07	1.77	345
Müllheim	0.197	0.053	8.02	1.96	367
Kappel	0.239	0.058	8.01	1.86	1236
Wörth	0.275	0.072	7.93	2.00	754
Leopoldshafen	0.365	0.115	7.81	2.38	789
Worms	0.275	0.062	7.82	2.35	1107
Bingen	0.335	0.106	7.89	3.00	1060
Bonn	0.413	0.106	7.97	3.14	0.938
Düsseldorf	0.544	0.172	7.86	3.56	950

Tabelle 25. Komplexbildner im Rhein: Probenahmetag: Rheinfelden-Leopoldshafen am 31.1.92; Worms-Düsseldorf am 5.2.92; Probenahme erfolgte von Brücken in Flußmitte (mit Ausnahme Leopoldshafen: 10 m vom rechten Ufer auf Landungssteg).

Probenahmeort	NTA [$\mu\text{g/l}$]	EDTA [$\mu\text{g/l}$]	DTPA [$\mu\text{g/l}$]	Summe [$\mu\text{mol/l}$]
Rheinfelden	1.6	1.6	0	0.014
Müllheim	3.1	4.4	0	0.031
Kappel	3.9	3.4	0	0.032
Wörth	2.9	6.4	0	0.037
Leopoldshafen	3.1	7.9	15.3	0.082
Worms	4.3	8.6	7.6	0.071
Bingen	6.1	13.5	5.4	0.092
Bonn	5.1	11.6	1.8	0.07
Düsseldorf	7.9	13.0	0	0.086

Tabelle 26. Summenparameter Neckar: Probenahmetag: 27.9.1991; Probenahme erfolgte von Brücken in Flußmitte (mit Ausnahme Ladenburg; 5m vom rechten Ufer).

Probenahmeort	BiCA ohne Yttrium [$\mu\text{mol/l}$]	BiCA mit Yttrium [$\mu\text{mol/l}$]	pH	DOC [mg/l]	Leitfähigkeit [$\mu\text{S/cm}$]
Rottweil	n.gem.	0.043	8.06	n.gem.	775
Horb	n.gem.	0.033	8.17	n.gem.	766
Pleidelsheim	n.gem.	0.080	8.14	n.gem.	1013
Neckarsulm	n.gem.	0.120	8.12	n.gem.	1033
Bad Wimpfen	n.gem.	0.105	8.12	n.gem.	1038
Neckarmünd	n.gem.	0.100	8.01	n.gem.	901
Ladenburg	n.gem.	0.096	8.13	n.gem.	807

Tabelle 27. Komplexbildner im Neckar: Probenahmetag: Rheinfelden-Leopoldshafen am 31.1.92; Worms-Düsseldorf am 5.2.92; Probenahme erfolgte von Brücken in Flußmitte (mit Ausnahme Leopoldshafen: 10m vom rechten Ufer auf Landungssteg).

Probenahmeort	NTA [$\mu\text{g/l}$]	EDTA [$\mu\text{g/l}$]	DTPA [$\mu\text{g/l}$]	Summe [$\mu\text{mol/l}$]
Rottweil	1.5	4.3	0	0.015
Horb	2.2	3.0	0	0.010
Pleidelsheim	0.9	21.4	0	0.073
Neckarsulm	0.7	18.7	1.1	0.064
Bad Wimpfen	0.6	16.5	1.7	0.056
Neckarmünd	0.8	12.2	1.0	0.041
Ladenburg	1.5	17.9	1.2	0.062

Tabelle 28. Summenparameter Murg: Probenahmetag: 26.11.1991; Probenahme erfolgte von Brücken in Flußmitte

Probenahmeort	BiCA ohne Yttrium [$\mu\text{mol/l}$]	BiCA mit Yttrium [$\mu\text{mol/l}$]	pH	DOC [mg/l]	Leitfähigkeit [$\mu\text{S/cm}$]
Forbach	0.209	0.042	7.03	4.19	55
Gernsbach Anfang	0.323	0.173	7.35	3.45	70
Gernsbach Ende	0.299	0.191	7.52	2.91	93
Gaggenau Anfang	0.293	0.156	7.22	3.55	96
Gaggenau Ende	0.305	0.197	7.35	4.39	98
Rastatt	0.305	0.126	7.30	2.97	103

Tabelle 29. Komplexbildner in der Murg: Probenahmetag: 26.11.1991; Probenahme erfolgte von Brücken in Flußmitte

Probenahmeort	NTA [$\mu\text{g/l}$]	EDTA [$\mu\text{g/l}$]	DTPA [$\mu\text{g/l}$]	Summe [$\mu\text{mol/l}$]
Forbach	0	1.0	0	0.004
Gernsbach Anfang	0	7.7	24.8	0.089
Gernsbach Ende	0	10.3	29.7	0.11
Gaggenau Anfang	0	11.2	21.2	0.101
Gaggenau Ende	0	12.1	40.9	0.15
Rastatt	0.8	11.2	29.0	0.112

Tabelle 30. Summenparameter Main: Probenahmetag: 11.2.1992; Probenahme erfolgte von Brücken in Flußmitte

Probenahmeort	BiCA ohne Yttrium [$\mu\text{mol/l}$]	BiCA mit Yttrium [$\mu\text{mol/l}$]	pH	DOC [mg/l]	Leitfähigkeit [$\mu\text{S/cm}$]
Kreuzwertheim	0.254	0.105	8.06	3.05	728
Schwarzach	0.282	0.115	8.05	2.98	751

Tabelle 31. Komplexbildner im Main: Probenahmetag: 11.2.1992; Probenahme erfolgte von Brücken in Flußmitte

Probenah- meort	NTA [$\mu\text{g/l}$]	EDTA [$\mu\text{g/l}$]	DTPA [$\mu\text{g/l}$]	Summe [$\mu\text{mol/l}$]
Kreuzwert- heim	5.4	9.4	0	0.060
Schwarzach	5.0	16.1	0	0.081

Tabelle 32. Summenparameter Elbe: Probenahmetag: 12.2.1992; Probenahme erfolgte von Brücken in Flußmitte

Probenah- meort	BiCA ohne Yttrium [$\mu\text{mol/l}$]	BiCA mit Yttrium [$\mu\text{mol/l}$]	pH	DOC [mg/l]	Leitfähig- keit [$\mu\text{S/cm}$]
Dresden	0.388	0.115	7.62	5.59	516
Wittenberg	0.272	0.129	7.65	6.17	551
Magdeburg	0.373	0.139	7.78	5.35	753

Tabelle 33. Komplexbildner in der Elbe: Probenahmetag: 12.2.1992; Probenahme erfolgte von Brücken in Flußmitte

Probenah- meort	NTA [$\mu\text{g/l}$]	EDTA [$\mu\text{g/l}$]	DTPA [$\mu\text{g/l}$]	Summe [$\mu\text{mol/l}$]
Dresden	6.8	3.7	0	0.048
Wittenberg	4.8	6.5	0	0.047
Magdeburg	6.8	2.7	0	0.045

Tabelle 34. Wochenkonzentrationsgang von NTA, EDTA, DTPA an der Meßstelle Leopoldshafen (Rhein-km 372): Die Proben wurden 10 m vom linken und rechten Ufer sowie in der Mitte von einer Fähre aus genommen.

Wochentag	Meßpunkt	NTA [$\mu\text{g/l}$]	EDTA [$\mu\text{g/l}$]	DTPA [$\mu\text{g/l}$]
28.7.92	links	0.4	1.9	0.8
	mitte	0.4	1.1	0.9
	rechts	0.5	3.7	4.7
29.7.92	links	0.7	1.7	0.3
	mitte	0.7	1.9	0
	rechts	1.3	2.2	1.6
30.7.92	links	0.4	0.5	0
	mitte	0.4	0.7	1.1
	rechts	0.5	1.4	2.7
31.7.92	links	1.5	0.7	0
	mitte	1.5	0.6	1.3
	rechts	1.1	1.6	3.0
1.8.92	links	0.6	0	0
	mitte	0.6	0.7	0.7
	rechts	0.5	0.3	0
2.8.92	links	0.3	0.2	0
	mitte	0.3	0.8	0
	rechts	0.8	0.7	0.8
3.8.92	links	0.4	0.3	0
	mitte	0.4	0.4	0
	rechts	0.5	0.5	0.9

Tabelle 35. Tageskonzentrationsgang von NTA, EDTA, DTPA an der Meßstelle Leopoldshafen (Rhein-km 372): Die Proben wurden 10 m vom rechten Ufer von einem Landungssteg aus genommen. Probenahmetag: 27.8.1992

Uhrzeit	NTA [$\mu\text{g/l}$]	EDTA [$\mu\text{g/l}$]	DTPA [$\mu\text{g/l}$]
3:00	1.6	8.3	14.8
6:00	1.4	6.2	11.8
9:00	2.0	7.9	13.0
12:00	1.7	7.2	5.3
15:00	2.0	7.2	4.3
18:00	2.1	6.8	5.3
21:00	2.0	8.0	9.1
24:00	1.8	5.5	9.7

10. Literaturverzeichnis

- (1) Afghan B. K., Goulden P. D., Ryan J. F. : Automated Method for determination of Nitrilotriacetic Acid in Natural Water Detergents and Sewage Samples
Annal. Chem. 44 (1972) 354-359
- (2) Aue W. A., Hastings C. R., Gerhardt K., Pierce J., Hill M. and Moseman R. F. : The Determination of Part-Per-Billion levels of Citric and Nitrilotriacetic Acids in Tap Water and Sewage Effluents
J. Chromatogr. 72 (1972) 259-267
- (3) Bambrick D. R. : The effect of DTPA on reducing peroxide decomposition
Tappi Journal 68 (1985) 96-100
- (4) Berth P., Berg M., Hachman K. : Mehrkomponentensysteme als Waschmittelbuilder
Tenside Detergents 20 (1983) 276-282
- (5) Berth P. : Einfluß der Phosphat-Höchstmengen-Verordnung auf Waschmittel
Henkel-Referate 24 (1988) 86-90
- (6) Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung :
Bestimmung des Bismut-Komplexierungsindex
DIN 38409 (H26) 1989
- (7) Carrazon J. M. P., Andreu R. G., Batanero P.S. : Determination potentiometrique de constantes de stabilite de complexes du bismuth (III)
Analisis 12 (1984) 358-363
- (8) Chau Y. K. and Fox M. E. : A GC Method for the Determination of Nitrilotriacetic Acid in Lake Water
J. Chromatogr. Sci. 9 (1971) 271-275
- (9) Cheng K. L. : Analytical Applications of Xylenolorange - V
Talanta 5 (1960) 254-259
- (10) Davies C., Hartley R. D., Lawson G. J. : Chromatographic Behaviour of Organic Acids on DOWEX 1-X10
J. Chromatog. 18 (1965) 47-52
- (11) de Oude N. T. : Bestimmung von Nitrilotriessigsäure in Wasser und Abwasser
Vom Wasser 64 (1985) 283-292
- (12) Dehnad F., Salecker M., Eberle S. H. : Remobilisierung von Schwermetallen aus Feststoffen von Oberflächengewässern durch Nitrilotriessigsäure
NTA - Studie, Verlag Hans Richarz, St. Augustin, 306-384
- (13) Dietz F., Frank H. D. : Anwendung anorganischer und organischer Austauschermassen als Bodenkörper für Remobilisierungsversuche
Z. f. Wasser- und Abwasser- Forschung 10 (1977) 109-115

- (14) Dietz F., Frank H. D., Koppe P. : Bestimmung des Remobilisierungspotentials von Wässern gegenüber Schwermetallverbindungen
Z. f. Wasser- und Abwasser- Forschung 8 (1975) 104-113
- (15) Eberle S. H. : Die wasserchemische Berechnung der Kohlensäuregleichgewichte unter Berücksichtigung der Komplexbildung von Calcium und Magnesium sowie der Anwesenheit von Phosphat, Ammonium und Borsäure
KfK 3930 UF, 1986
- (16) Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung : Summarische Wirkungs- und Stoffkenngrößen (Gruppe H)
VCH, Weinheim, Loseblattsammlung, aktuelle Ausgabe
- (17) Der Bundesminister für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit
6. EDTA-Gespräch am 30.9.1992 im Bundesumweltministerium, 5300 Bonn 2
- (18) Erklärung zur Reduzierung der Gewässerbelastung durch EDTA
Bekanntmachung d. BMU vom 31.7.1991 - WAI3-23011/15 -
- (19) Fachgruppe Wasserchemie in der Gesellschaft Deutscher Chemiker; DIN - Arbeitsgruppe NAW 14/UA5/AK8
Bestimmung von EDTA und NTA mittels Gaschromatographie
- (20) Fries J., Getrost H. : Organische Reagenzien für die Spurenanalyse
Merck, Darmstadt, 1975
- (21) Frimmel F. H., Grenz R., Kordik E., Dietz F. : Nitrilotriacetat (NTA) und Ethylendinitrilotetraacetat (EDTA) in Fließgewässer der Bundesrepublik Deutschland
Vom Wasser 72 (1989) 175-184
- (22) Frimmel F. H., Dietz F., Ebert J., Huber W., Keck E., Kempf H. T., Meier W. P., Reichert J. K., Schöttler U., Schorer M., Wernet J. : Zur summarischen Bestimmung der Komplexbildungsfähigkeit
Z. Wasser Abwasser Forschung 13 (1980) 12-15
- (23) Gattow G., Schott D. : Zur komplexometrischen Titration von Wismut
Z. anal. Chem. 188 (1962) 10-22
- (24) Games L. M., Staubach J. A., Kappeler T. U. : Analysis of nitrilotriacetic acid in environmental waters
Tenside Detergents 18 (1981) 262-265
- (25) Giesy J. P., Briese L. A. und Leversee G. J. : Metal binding capacity of selected marine surface waters
Envir. Geol. 2 257-268
- (26) Gillespie P. A., Vaccaro R. F. : A bacterial bioassay for measuring the copper chelation capacity of seawater
Limnol. Oceanogr. 23 543-548

- (27) Hart J. R. : Mechanical pulp bleaching costs cut with proper use of chelating agents
Pulp and Paper 55 (1981) 138-140
- (28) Heiss M. : Bestimmung der Dissoziationskonstanten von Ethan-1-Hydroxy-1,1- di-
phosphonsäure, Nitrilo-tris-methylenphosphonsäure und Ethylendiamin-tetra-me-
thylenphosphonsäure
Diplomarbeit, KfK und Universität Karlsruhe, 1985
- (29) Hennes E. C. und Eberle S. H. : Berechnung der Komplexbildung von Schwermetall-
en im Rheinwasser durch Nitrilotriessigsäure
NTA - Studie, Verlag Hans Richarz, St. Augustin, 293-305
- (30) Horacek J., Pribil R. : Potentiometric determination of Nitrilotriacetate in Water and
Sewage
Anal. Litt. 6 (1973) 977-983
- (31) Huber W. : Zur summarischen Bestimmung der Komplexbildungsfähigkeit
Z. Wasser Abwasser Forsch. 13 (1980) 8-11
- (32) Huber W. : Ermittlung des Komplexbildungs- und des Remobilisierungsvermögens
von Wässern gegenüber Schwermetallverbindungen
Wasser- und Abwasser- Forschung 7 (1974) 71-74
- (33) Huber W. : Anwendung von Kupferphosphat als Bodenkörper zur Bestimmung von
Komplexbildnern
Z. f. Wasser- und Abwasser- Forschung 9 (1976) 167-170
- (34) Huheey J. E. : Anorganische Chemie
Walter de Gruyter, Berlin, New York, 1988
- (35) Jakobi G., Löhr A. : Detergents and Textile Washing
Verlag Chemie, Weinheim 1987
- (36) Jones D. R., Manahan S. E. : Aqueous Phase High Speed Liquid Chromatographic
Separation and Atomic Absorption Detection of Amino Carboxylic Acid-Copper
Chelates
Anal. Chem. 48 (1976) 502-505
- (37) Karadak B., Venkova D., Aleksieva A.
Dokl. Bulg. Akad. Nauk. 29 (1976) 1645-1647
- (38) Koppe P. : Theoretische und experimentelle Grundlage zur standardisierten Unter-
suchung der Wechselwirkung von Komplexbildnern in wässriger Lösung mit unge-
lösten Metallverbindungen als Bodenkörper
Z. f. Wasser- und Abwasser-Forschung 9 (1976) 153-160
- (39) Kreuter R. : Unschädlichmachen von Metallionen durch Chelatbildung und Anwen-
dung in der technischen Chemie
Seifen, Öle, Fette, Wachse 102 (1976) 48-49

- (40) Kunkel R., Manahan S. E. : Atomic absorption analysis of strong heavy metal chelating agents in water and waste water
 Analyt. Chem. 45 (1973) 1465-1468
- (41) Larson R. A., Weston J. C. and Howell S. M. : Quantitative Gas Chromatographic Determination of Nitrilotriacetic Acid in the Presence of other Carboxylic Acids
 J. Chrom. 111 (1975) 43-49
- (42) Linckens A. H. M., Reichert J. K. : Nitrilotriessigsäure als Phosphatersatzstoff
 Vom Wasser 58 (1982) 27-33
- (43) Longbottom J. E. : Determination of Nitrilotriacetic Acid by High - Speed Ion - Exchange Chromatography
 Anal. Chem. 44 (1972) 418-420
- (44) Malat M. : Photometrische Wismutbestimmung mit Brenzkatechinviolett
 Z. analyt. Chem. 186 (1962) 418-423
- (45) Martell A. E., Smith R. M. : Critical Stability Constants
 Plenum Press, New York and London, Volume 1-6, 1974
- (46) Motekaites R. J., Murase I., Martell A. E.: Inorganic Nucl. Chem. 7 (1971) 1103-1107
- (47) Motekaites R. J., Murase I., Martell A. E.: Inorganic Chem. 15 (1976) 2303-2306
- (48) Murray D., Povoledo D. : Determination of Nitrilotriacetic Acid in Inland Waters by Gas Chromatography of the Trimethyl Ester
 Journal of Fisheries Research Board of Canada 28 (1971) 1043-1047
- (49) Neubecker T. A., Allen H. E. : The measurement of complexation capacity and conditional stability constants for ligands in natural waters
 Water Res. 17 (1983) 1-14
- (50) NTA : Studie über die Umweltverträglichkeit von Nitrilotriacetat, hrsg. von der NTA - Koordinierungsgruppe im Hauptausschuß Phosphate und Wasser der Fachgruppe Wasserchemie in der Gesellschaft Deutscher Chemiker durch H. Bernhardt u.a.
- (51) Pribil R. : Komplexe in der chemischen Analyse
 Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin 1961
- (52) Reichert J. K. und Linckens A. H. M. : Eine einfache und empfindliche Nachweismethode für Nitrilotriessigsäure in Trink- und Flußwasser
 Environmental Technology Letters 1 (1980) 42-49 1. Aufl., Verlag Hans Richarz, Sankt Augustin 1984
- (53) Rosch F., Tran Kim Hung, Milanov M., Khalkin, V. A. : Electromigration of carrier-free radionuclide ions
 Talanta 34 (1987) 375-380

- (54) Rudling L. : Simultaneous Determination of Nitrilotriacetic Acid, Ethylenediaminetetra-acetic Acid and Diethylenetriaminepentaacetic- Acid as their Methyl Ester Derivatives by GLC
Water Research 6 (1972) 871-876
- (55) Rudling L. : Determination of Nitrilotriacetic Acid
Water Res. 5 (1972) 831-838
- (56) Rumyantseva L. S., Teodorovich I. L. : Complexing of bismuth with glycine
Dok L. Akad. Nank Uzb. SSR 28 (1971) 43-44
- (57) Schiff L. J., Pleva S. G., Sarver E. W.
Ion Chromatogr. Anal. Environ. Pollut.2 (1979) 329-344
- (58) Shuman M. S., Woodward G. P. : Stability Constants of a cooper-organic chelates in aquatic samples
Envir. Sci. Technol. 11 (1977) 809-813
- (59) Schwarzenbach G., Flaschka H. : Die komplexometrische Titration
Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart 1965
- (60) Sontheimer H., Wagner I. : Zur Bestimmung von Huminsäuren und Ligninsulfonsäuren aus den UV-Spektren
Z. Wasser und Abwasser Forsch. 10 (1977) 77-82
- (61) Stehlik G., Morlock G. : Härtestabilisierung in Rückkühlwasser
Chemie-Technik 6 (1977) 167-169
- (62) Stolzberg R. J. and Hume D. N. : Determination of Nitrilotriacetate in Environmental Waters by Gas Chromatography of the Trimethylsilyl Ester
Anal. Chem. 49 (1977) 374-378
- (63) Thompson J. E., Duthie J. R. : Zinc-Zincon Analytical Method for Sequestrant in Water and Sewage
J. Water Pollut. Control Fed. 40 (1968) 306-319
- (64) Tschäbunin G., Fischer P., Schwedt G. : Zur Analytik von Polymethylenphosphonsäuren
Fresenius Z. Anal. Chem. 333 (1989) 111-116
- (65) Umland F. : Theorie und praktische Anwendung von Komplexbildnern
Akademische Verlagsgesellschaft, Frankfurt am Main, 1971
- (66) van den Berg C. M. G., Kramer J. R. : Determination of complexing capacities of ligands in natural waters and conditional stability constants of the cooper complexes by means of manganese dioxide
Analytica chim. Acta 106 (1979) 113-120
- (67) Verband der chemischen Industrie e.V. : Erklärung zur Reduzierung der Gewässerbelastung durch EDTA

Schreiben an das Bundesumweltministerium vom 8.9.92

- (68) Vydra F., Pribil R. : Utilization of Ternary and Ion-Association Complexes in Chemical Analysis-I
Talanta 3 (1959) 72-80
- (69) Waldhoff H., Sladek P. : Autoanalyzer-System zur qualitativen und quantitativen Bestimmung von Phosphonsäuren
Fresenius Z. Anal. Chem. 320 (1985) 163-168
- (70) Wanke T. K. : Summarische Bestimmung von Komplexbildnern im Wasser mit Bis-mut-Xylenolorange-Komplexen
Diplomarbeit, KfK und Universität, 1989
- (71) Warren C. B. and Malec E. J. : Quantitative Determination of Nitrilotriacetic Acid and Related Aminopolycarboxylic Acids in Inland Waters
J. Chrom. 64 (1972) 219-237
- (72) Williams D. T. et al. : Gas chromatographic Determination of Nitrilotriacetic Acid using Nitrogen Selective Detector
J. Chrom. 136 (1977) 423