Inversvoltammetrische Bestimmung von Metallionen in mit Hilfe von Nährlösungen kultivierten Solanaceen

D. Riße, H. Lahl* und B. Unterhalt

Institut für Pharmazeutische und Medizinische Chemie der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster, Hittorfstr. 58-62, D-48149 Münster, Bundesrepublik Deutschland

Inversvoltammetry of metals in Solanaceae, grown in nutrient solutions

The uptake of Pb, Cd, Cu, Zn into the leaves and roots of *Datura stramonium* and *Hyoscyamus niger*, grown in nutrient solutions, is measured by Differential Pulse Anodic Stripping Voltammetry (DPASV). In the leaves of the plants only the contents of Cd and Zn, not those of Pb and Cu, increase by adding these ions to the medium.

(Keywords: *Datura stramonium*, *Hyoscyamus niger*, uptake of metals from nutrient solutions, DPASV)

Einleitung

In den letzten Jahren wurde verstärkt nach Verfahren zur Entgiftung schwermetallbelasteter Böden gesucht. Eine mögliche Strategie stellt die Dekontaminierung mit Hilfe von Pflanzen, die sogenannte Phytoremediation [1,2], dar. Wirtschaftlichkeitsaspekte erfordern Pflanzen, die leicht keimen, schnell wachsen und Schwermetalle in ihren oberirdischen Organen, welche der Ernte leichter zugänglich sind als Rhizome oder Wurzeln, anreichern. Von Solanaceen ist bekannt, daß sie diese Bedingungen erfüllen [3]. Deshalb soll die Aufnahme von Schwermetallionen sowie deren Verteilung in den Pflanzen anhand von *Datura stramonium* und *Hyoscyamus niger*, insbesondere auch wegen deren arzneilicher Verwendung, exemplarisch in Nährlösungen studiert werden.

Untersuchungen und Ergebnisse

Als Methode für die geplanten Untersuchungen bot sich die differentielle Pulsinversvoltammetrie (DPIV; englisch: DPASV) an, mit der die Elemente Blei, Cadmium, Kupfer und Zink nach dem Druckaufschluß der Pflanzenmatrix mit $\text{HNO}_3/\text{HClO}_4/\text{H}_2\text{F}_2$ zu bestimmen waren. Die Anzuchtexperimente erfolgten in Klimaschränken, indem 5 cm hohe, aus Samen

gezogene Jungpflanzen in Blähton enthaltenden Kunststoffgefäßen mit dotierten Nährlösungen behandelt wurden. Diese enthielten je 2 mg/l der o. a. Elemente einzeln bzw. in Mischung. Höhere Konzentrationen schädigten dem Wachstum der Pflanzen. Die Ergebnisse an Blättern und Wurzeln sind in Tab.1 festgehalten.

Tab. 1: Elementgehalte (mg/kg Trockenmasse) in Blättern und Wurzeln von *D. stramonium* und *H. niger* (Mittelwert der Konzentration zweier Exemplare $\pm$ absol. Abweichung der Einzelwerte vom Mittelwert)

Dotierung je 2 mg/l	Pb		Cd		Cu		Zn	
	<i>Datura</i>	<i>Hyoscyamus</i>	<i>Datura</i>	<i>Hyoscyamus</i>	<i>Datura</i>	<i>Hyoscyamus</i>	<i>Datura</i>	<i>Hyoscyamus</i>
Blätter								
Kontrolle	0,6 $\pm$ 0,2	0,9 $\pm$ 0,1	1,2 $\pm$ 0,1	0,9 $\pm$ 0,0	13,0 $\pm$ 2,0	13,8 $\pm$ 0,4	71,3 $\pm$ 9,2	112 $\pm$ 6
Pb	< 0,3	1,4$\pm$0,5	1,6 $\pm$ 0,6	1,9 $\pm$ 0,4	8,9 $\pm$ 0,9	20,3 $\pm$ 1,9	57,5 $\pm$ 7,5	281 $\pm$ 124
Cd	0,3	1,7 $\pm$ 0,7	50,3$\pm$4,4	60,6$\pm$41,4	8,6 $\pm$ 0,1	17,9 $\pm$ 2,5	61,1 $\pm$ 4,2	182 $\pm$ 79
Cu	0,3 $\pm$ 0,1	0,6 $\pm$ 0,1	1,1 $\pm$ 0,1	0,9 $\pm$ 0,2	10,9$\pm$0,2	13,0$\pm$0,5	87,6 $\pm$ 7,5	174 $\pm$ 0,0
Zn	2,2 $\pm$ 1,8	0,5 $\pm$ 0,1	1,7 $\pm$ 0,7	0,9 $\pm$ 0,1	17,9 $\pm$ 8,6	14,5 $\pm$ 3,8	149$\pm$71	171$\pm$45
Cd,Cu	0,3 $\pm$ 0,1	0,5 $\pm$ 0,0	29,0 $\pm$ 3,2	79,2 $\pm$ 7,7	10,9 $\pm$ 1,4	20,5 $\pm$ 7,1	64,7 $\pm$ 10,0	295 $\pm$ 85
Pb,Cu	0,5 $\pm$ 0,1	0,7 $\pm$ 0,0	1,0 $\pm$ 0,1	0,6 $\pm$ 0,0	9,7 $\pm$ 1,7	17,8 $\pm$ 0,0	65,1 $\pm$ 2,2	58,7 $\pm$ 0,0
Cd,Pb,Cu,Zn	1,2 $\pm$ 0,4	0,8 $\pm$ 0,0	45,6 $\pm$ 4,4	34,6 $\pm$ 15,7	15,8 $\pm$ 3,0	29,2 $\pm$ 5,1	98,8 $\pm$ 4,2	182 $\pm$ 73
Wurzeln								
Kontrolle	1,5 $\pm$ 0,5	3,5 $\pm$ 1,1	0,7 $\pm$ 0,1	1,1 $\pm$ 0,3	27,8 $\pm$ 5,6	28,3 $\pm$ 5,0	107 $\pm$ 13	233 $\pm$ 57
Pb	11,1$\pm$0,6	23,4$\pm$1,3	1,2 $\pm$ 0,8	0,9 $\pm$ 0,4	29,7 $\pm$ 2,4	27,2 $\pm$ 0,6	105 $\pm$ 14	313 $\pm$ 130
Cd	1,6 $\pm$ 0,2	2,6 $\pm$ 0,4	163$\pm$1	213$\pm$31	37,6 $\pm$ 7,7	28,6 $\pm$ 4,3	116 $\pm$ 12	307 $\pm$ 47
Cu	2,0 $\pm$ 0,2	2,0 $\pm$ 0,1	0,8 $\pm$ 0,2	0,9 $\pm$ 0,2	104$\pm$17	117$\pm$20	139 $\pm$ 16	207 $\pm$ 16
Zn	2,2 $\pm$ 0,5	2,0 $\pm$ 0,4	1,6 $\pm$ 0,6	0,9 $\pm$ 0,3	36,1 $\pm$ 8,6	22,8 $\pm$ 0,1	204$\pm$14	298$\pm$51
Cd,Cu	3,2 $\pm$ 0,0	2,6 $\pm$ 0,1	141 $\pm$ 8	221 $\pm$ 13	116 $\pm$ 2	124 $\pm$ 12	187 $\pm$ 14	497 $\pm$ 150
Pb,Cu	22,7 $\pm$ 13,4	53,9 $\pm$ 0,0	0,8 $\pm$ 0,4	0,2 $\pm$ 0,0	150 $\pm$ 38	151 $\pm$ 0,0	135 $\pm$ 4	176 $\pm$ 0,0
Cd,Pb,Cu,Zn	28,9 $\pm$ 19,3	21,2 $\pm$ 14,6	122 $\pm$ 3	164 $\pm$ 110	92,5 $\pm$ 18,5	167 $\pm$ 35	264 $\pm$ 33	614 $\pm$ 216

Angaben in mg/kg Trockenmasse

Diskussion

In den Blättern von *Datura stramonium* und *Hyoscyamus niger* ist nach der Dotierung der Nährlösung mit 2 mg/l der o. a. Elemente der Cd- und Zn-Gehalt deutlich erhöht, nicht jedoch der von Pb und Cu, während in den Wurzeln alle vier Elemente angereichert sind. Bei einfacher Dotierung bleiben die drei anderen Metallionen gegenüber dem Kontrollversuch praktisch unverändert bis auf die Blätter von *Hyoscyamus niger*. Bei diesen fällt auf, daß nach

der Gabe von Pb, Cd und Cu die Zn-Werte ansteigen, also die Zn-Aufnahme gefördert ist. Um die gegenseitige Beeinflussung der Metallionen zu studieren, wurden auch Zweierkombinationen gewählt - es sind die Paare Cd, Cu und Pb, Cu tabelliert -. Dabei ergab sich in den Blättern fast kein Einfluß auf den Pb- und Cu-Gehalt, auch wenn diese beiden Elemente zugesetzt waren. Ergänzend sei die Viererkombination dargestellt, welche die bisherigen Erfahrungen bestätigt.

Nach dem Auspflanzen der in der Nährlösung gekeimten, 5 cm hohen Pflanzen in Torf-Sand-Gemische und 14 tägiger Behandlung im Klimaschrank mit Hakaphos[®]-blau-Lösung zeigten diese nach der Überführung in mit Pb, Cu und Zn kontaminierte Böden das in den Nährlösungen beobachtete Verhalten [4]. Cd war in *Datura stramonium* schon früher bestimmt worden [5].

Es ergibt sich, daß die Blätter von *Datura stramonium* und *Hyoscyamus niger* insbesondere Cd anreichern, eine Eigenschaft, die auch von *Nicotiana tabacum* bekannt ist [6] und u. U. zur Dekontamination genutzt werden kann.

Experimenteller Teil

Geräte und Methoden

Der Druckaufschluß des Pflanzenmaterials erfolgt nach [4,6]. Die DPASV (DPIV) wird mit dem VA Computrace 757 einschließlich der Software Version 1,0 der Fa. Metrohm, Herisau (Schweiz), durchgeführt. Das Gerät ist ausgerüstet mit einer Multi-Mode-Elektrode (MME), Glaskapillaren-Innendurchmesser 0,05 mm. Zum Betrieb der MME und zur Probenentlüftung wird nachgereinigter Stickstoff der Qualität 99,996 verwendet. Als Bezugselektrode dient das System $\text{Ag}/\text{AgCl}/\text{c}(\text{KCl})=3 \text{ mol/l}$ mit Diaphragma, als Hilfelektrode eine Glassy-Carbon-Elektrode. Die Auswertung erfolgt mit Hilfe von Bezugsgeraden, da die generelle Anwendung des üblichen Standardadditions-Verfahrens in Verbindung mit der hohen Probenzahl einen zu großen Aufwand bedeuten würde [4]. Zur Absicherung des Verfahrens wurden zunächst die Referenzsubstanzen BCR No 062-Olivenblätter und SRM 1573a-Tomatenblätter sowohl mit den ermittelten Bezugsgeraden als auch mit dem Standard-Additions-Verfahren analysiert (Tab. 2).

Parameteroptimierung und Kalibrierung fanden statt mit Bezugslösungen der Konzentrationen 1000, 500, 200, 50, 10, 2,5, 1,0 µg/l für Cu und Zn sowie 200, 100, 40, 10, 2,0, 0,5, 0,25 µg/l für Cd und Pb, die aus Einzelement-Standardlösungen durch Verdünnen hergestellt worden waren. Das Meßvolumen betrug 16,0 ml: 15,0 ml Aqua-Milli-Q und 1,0 ml Probe (Standard- oder Aufschlußlösung in 1 proz. HNO₃). Nach Doppelbestimmungen erfolgte die Auswertung mit Hilfe der Bezugsgeraden. Soweit möglich, wurden alle Arbeiten zur Probenvorbereitung in Reinräumen ausgeführt. Die Meßparameter sind Tab. 3 zu entnehmen.

Tab. 2: Inversvoltammetrische Bestimmung von Pb, Cd, Cu und Zn in BCR Nr. 062 Oliven- und SRM 1573a-Tomatenblättern mit Hilfe von Bezugsgeraden (BG) und des Standard-Additionsverfahrens (Stdadd) nach dem Druckaufschluß, n = 4 und n = 5.

		Pb		Cd		Cu		Zn	
		BG	Stdadd	BG	Stdadd	BG	Stdadd	BG	Stdadd
Oliven- blätter	zertifi- ziert	25,0±1,5		0,10±0,02		46,6±1,8		16,0±0,7	
	Ergebnis	24,2±2,7	24,7±2,7	n.n.	n.n.	47,3±4,9	47,1±3,8	15,9±1,6	16,3±1,5
	Median								
	WFR (%)	97	99	--	--	102	101	99	102
To- maten- blätter	zertifi- ziert	--		1,52±0,04		4,70±0,14		30,9±0,7	
	Ergebnis	0,50±0,1	0,55±0,1	1,56±0,1	1,60±0,1	4,74±0,3	4,71±0,4	29,9±1,6	30,2±0,8
	Median								
	WFR (%)	--	--	103	105	101	100	97	98

Angaben in mg/kg Trockenmasse, Vertrauensbereich 95%

Tab. 3: Analysenbedingungen zur DPASV von Pb, Cd, Cu und Zn in Pflanzenmatrixen nach dem Druckaufschluß

Meßmodus	Differential Pulse
Elektrode / Tropfengröße	HMDE / 9
Zellvolumen	16 ml
Entlüftungszeit	180 s
Anreicherungspotential / -zeit	-1,2 V / 60 s
Rührer-Umdrehungen	2000 U/min
Wartezeit vor dem Sweep-Start	15 s
Start- / Endpotential	-1,15 V / 0,18 V
Spannungsschritt-Weite / -Zeit	0,006 V / 0,4 s
Pulsamplitude / -zeit	0,05 V / 0,04 s
Sweep-Rate	0,015 V/s

Chemikalien und Standards

Es werden verwendet: Aqua Milli Q Waters, 65 proz. HNO₃ Suprapur. Standardlösungen mit 1 g/l Pb, Cd, Cu und Zn, Merck. Nährlösungen: Kontrolle: Zn 0,3 mg/l, Cu 0,075 mg/l; Proben 1-4: Kontrolle + Zusatz von je 2 mg/l Pb, Cd, Cu, Zn. Probe 5-6: Kontrolle + Zusatz von je 2 mg Cd + Cu sowie Pb + Cu. Probe 7: Kontrolle + Zusatz von 2 mg/l Pb, Cd, Cu und Zn.

Probenvorbereitung und Probennahme

Zur Aussaat gelangten Samen, deren Mutterpflanzen im Institutsgarten gezogen worden waren*. Datura-Samen enthielten, inversvoltammetrisch bestimmt: Pb n. n.; Cd 0,6; Cu 13,0; Zn 70,0 mg/kg; Hyoscyamus-Samen: Pb 0,8; Cd 0,4; Cu 4,9; Zn 54,3 mg/kg. Das Saatgut wurde auf in Tonschalen ausgelegtes Torf-Sand-Gemisch (1:2) gestreut, mit Hakaphos®-blau-Nährlg. (0,025%) befeuchtet und im Vermehrungskasten bei 28°C und 80% rel. Luftfeuchtigkeit zur Keimung gebracht. Die Keimungsrate betrug 80%. Nach 14 Tagen wurden die etwa 5 cm großen Pflanzen in mit Blähton (Körnung 4-6 mm) gefüllte Kunststoffbehälter pikiert, diese in Kunststoffschalen gestellt und mit 100 ml Nährlg. (Datura) bzw. 200ml Nährlg. (Hyoscyamus) beschickt. Die Nährlg. enthielt 4,0 mM/l Ca(NO₃)₂ x 4 H₂O, 3,0 mM/l KNO₃, 0,75 mM/l KH₂PO₄, 0,75mM/l MgSO₄ x 7 H₂O und 0,3 Zn, 1,5 Mn, 0,075 Cu, 2,25 Fe, 0,75 B sowie 0,075 Mo (mg/l). Die Herstellung erfolgte bei Bedarf. Zur Gewöhnung an die Nährlg. wurden die Pflanzen zunächst 8 Tage lang mit der halbkonz. Kontroll-Nährlg., dann mit vollkonz. Lsg. versorgt und schließlich mit schwermetalldotierter Lsg. versetzt: 100 und 150 ml für Datura in der ersten bzw. zweiten Woche, 50 und 75 ml für Hyoscyamus.

Die Simulation des Tag- und Nachtrhythmus fand in Klimaschränken der Fa. Karl Weiss, Gießen, statt. Die Tagzeit betrug 16 h, die Lichtstärke 18000-20000 lx, die Temp. 27°C, in den 8 h Dunkelphase 22°C. Die Pflanzen wurden kontinuierlich mit Hilfe eines Drehtellers bewegt, die Möglichkeit der Aufkonzentrierung der Nährlg. durch Verdunsten aufgrund der starken Luftumwälzung war bautechnisch minimiert.

Die Probennahme erfolgte wegen des überaus starken Wachstums bereits nach 2 Wochen. Blätter und Wurzeln wurden in vorbereiteten Polyethylenbeuteln gesammelt und, wie früher beschrieben, aufgearbeitet [7,8], Stengel, Blüten und Früchte verworfen. Die einzelnen Proben lagerten bis zu ihrer Verwendung dunkel und trocken bei 20°C in Polyethylen-schraubgefäßen.

- *Wir danken Herrn Prof. Dr. A. Nahrstedt für seine Unterstützung*

Literatur

- 1 <http://www.ecological-engineering.com/phytoem.html>
- 2 Huang, J. W., Chen, J, Berti, W. R., Cunningham, S. D. (1997), Environ. Sci. Technol. **31**, 800.
- 3 Kuboi, T., Noguchi, A., Yazaki, J. (1986), Plant Soil **92**, 405; Chem. Abstr. (1986), **104**, 181.359.
- 4 Riße, D. (2000), Diss., Universität Münster.
- 5 Unterhalt, B., Fritsch, D. (1996), Sci. Pharm. **64**, 31.
- 6 Fritsch, D. (1989), Diss., Universität Münster.
- 7 Lahl, H., Riße, D., Unterhalt, B. (2000), Sci. Pharm. **68**, 435.
- 8 Riße, D., Lahl, H., Unterhalt, B. (2001), Sci. Pharm. **69**, 375.

8 D. R i ß e et al.: Inversvoltammetrische Bestimmung von Metallionen in mit Hilfe von ...

Eingelangt am 21. Oktober 2002
Angenommen am 18. November 2002