



Quecksilber und Arsen

Speziesanalytik mit der IC-ICP/MS

Mit Hilfe der IC-ICP/MS können verschiedene Valenzzustände von Arsen und Quecksilber in Form anorganischer und organischer Spezies in einem einzigen Durchgang sensitiv und schnell bestimmt werden.

Einleitung

Unterschiedliche Oxidationstufen und Bindungsformen ein und desselben Elements haben unterschiedliche Toxizitäten, weshalb die Konzentration der einzelnen Elementspezies wichtiger ist als deren Gesamtkonzentration. Während der Probenvorbereitung sind die zu bestimmenden Arsenspezies stabil. Ihre Bestimmung in biologischen und ökologischen Matrices ist unkompliziert und kann durch traditionelle Speziesanalytik bis in den subppb-Bereich hinein durchgeführt werden. Im Ge-

gensatz dazu machen Umwandlungen von Quecksilberspezies, die während der Probenvorbereitung auftreten, eine massenspektrometrische Isotopenverdünnungsanalysen (MSIVA; speciated isotope dilution mass spectrometry SIDMS) erforderlich. Die Methode 6800 der US-Umweltbehörde EPA (Environmental Protection Agency) ermöglicht es, die während der Probenvorbereitung auftretenden Umwandlungen zu verfolgen. Die Kopplung der IC mit multidimensionalen Detektoren wie Elektrospray-Ionisations-Massenspektrometern (ESI-MS) oder induktiv gekoppelten Plasma-Massenspektrometern (ICP/MS) löst komplexe Trennprobleme bei einer hohen Sensitivität und Selektivität mit eindeutiger Peakidentifizierung.

Vor dem Hintergrund der „Null-Toleranz“-Politik hinsichtlich Chrom-, Arsen- und Selen-Verbindungen im Trinkwasser und Quecksilber in Lebensmittelproben haben ICP/MS-Detektoren an Bedeutung gewonnen. IC-ICP/MS kann zwischen verschiedenen Oxidationszuständen und

chemischen Formen eines bestimmten Elements unterscheiden. Dieser Ansatz nennt sich Speziesanalytik.

Arsen

Anorganische Arsenderivate gelten als karzinogen und möglicherweise teratogen. Daher schlägt die US-Umweltbehörde EPA eine maximal zulässige Konzentration im Trinkwasser von 10 µg/l (Teile pro Milliarde) vor. Basierend auf Strukturdaten ermöglicht die IC-ICP/MS die Trennung und eindeutige Bestimmung verschiedener anorganischer und organischer Arsenspezies.

Quecksilber

Quecksilber kommt insbesondere als elementares (Hg^0), anorganisches (Hg^{2+}) und alkyliertes Quecksilber (CH_3Hg^+) vor. Methylquecksilber gilt als die giftigste Spezies; sie wird als Neurotoxin mit rascher Bioakkumulation eingestuft. Die US-Um-



Abb. 1: IC-ICP/MS-System mit 858 Professional Sample Processor, 850 Professional IC Anion-MCS (Metrohm) und 7500 ICP/MS (Agilent Technologies)

weltbehörde EPA hat eine Referenzdosis für Methylquecksilber (R_f) von $0,1 \mu\text{g}/\text{kg}$ Körpergewicht pro Tag festgelegt, während die Weltgesundheitsorganisation (WHO) eine zulässige Dosis von $1,6 \mu\text{g}/\text{kg}$ Körpergewicht pro Woche vorsieht [1].

Problematisch ist die während der Probenvorbereitung auftretende wechselseitige Umwandlung der Quecksilberspezies Hg^{2+} und des toxischen Methylquecksilbers.

Die Massenspektrometrische Isotopenverdünnungsanalyse (MSIVA) ist entwickelt worden, um Umwandlungen der Schwermetallspezies während der Bestimmung zu korrigieren. Dazu werden zu der zu bestimmenden Probe mit meist natürlicher Isotopenzusammensetzung eine bekannte Menge an Quecksilberisotopen mit nicht natürlicher Isotopenzusammensetzung gegeben. Durch Messung des Isotopenverhältnisses der versetzten und unversetzten Probe und durch Kenntnis des Isotopenverhältnisses der Addition können Umwandlungen zwischen den Spezies quantifiziert werden.

Experimenteller Teil

Externe Kalibrierung

Die Trennung der Quecksilberspezies erfolgte mittels Probenwechsler 858 Professional Sample Processor und des Ionenchromatographie-Systems 850 Professional IC (Metrohm) in Verbindung mit dem ICP/MS Modell HP 4500 (Agilent Technologies, und Yokogawa Analytical System). Zur Bestimmung der Arsenpezies wurde das IC-System an eine 7500 ICP/MS (Agilent) gekoppelt (Abb. 1). Die Bedingungen sind in den Tabellen 1 und 2 (online unter: <http://goo.gl/bwp2x>) angegeben. Jede Probe wurde dreimal analysiert. Die Quantifizierung erfolgte durch Peakflächenauswertung mittels Kalibrierung unter Verwendung des Arsenisotops m/z 75 und des am häufigsten vorkommenden Quecksilberisotops m/z 202. Die Quantifizierung unter Verwendung der Quecksilberisotope m/z 199, 200 und 201 lieferte ähnliche Ergebnisse. Für die Bestimmung der Gesamtquecksilberkonzentrationen wurden die Aufschluss- und Extraktionslösungen mittels ICP/MS analysiert.

MSIVA

Die Bestimmung der Konzentrationen der Quecksilberspezies erfolgte gemäss der EPA 6800 [2]. Die Reagenzien mit den Isotopengemischen (Indikator) und eine Kalkulationssoftware sind im SPC-M-Kit (Applied Isotope Technologies) enthalten. Nach Zugabe des „Isotopen“- (mit nicht natürlicher Isotopenzusammensetzung) und nach Bestimmung des neuen sich eingestellten Isotopenverhältnisses ermittelt die Software die Methylierungs- beziehungsweise Demethylierungsrate der einzelnen Probenvorbereitungsschritte.

Extraktionsmethoden

Die zu evaluierenden Extraktionsmethoden beruhen auf in der Literatur beschriebenen Methoden (Tab. 3) [3]. Als zertifiziertes Referenz-

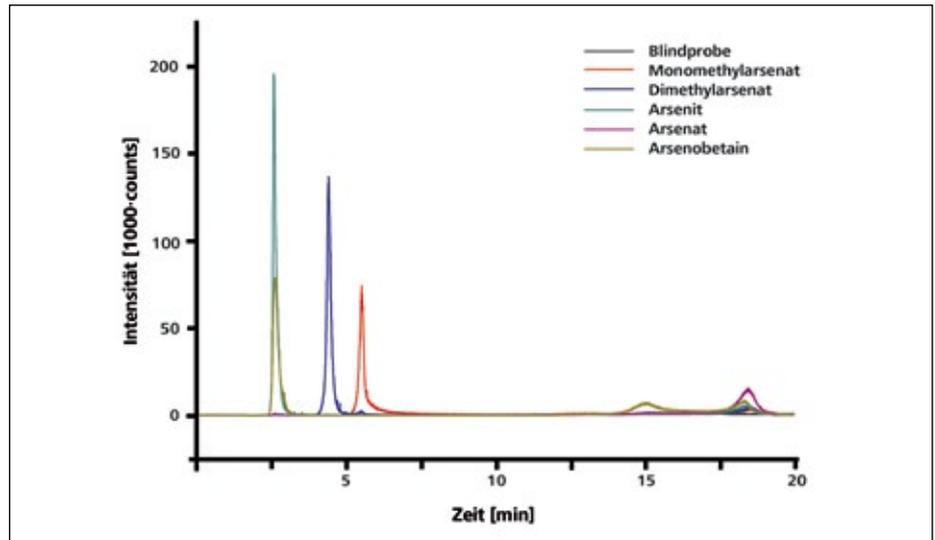


Abb. 2: Trennung und Detektion von Arsenit, Dimethylarsenat, Monomethylarsenat und Arsenat.

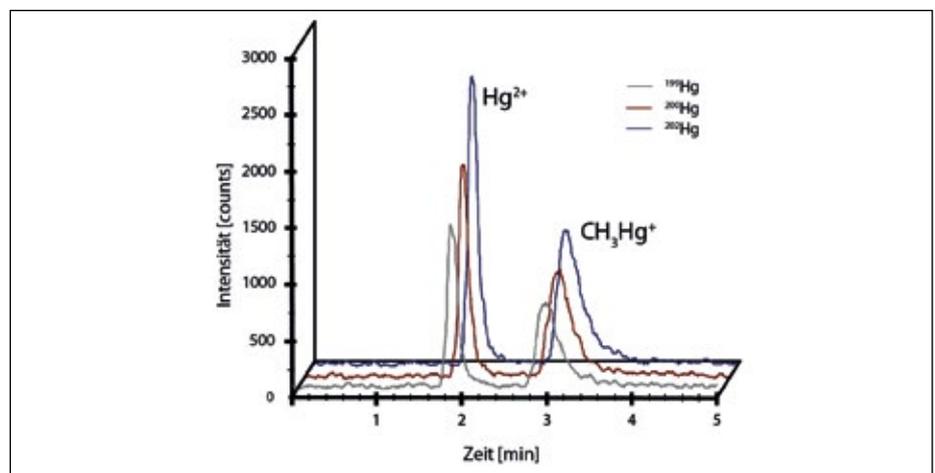


Abb. 3: IC-ICP/MS-Chromatogramm für $10 \mu\text{g}/\text{l}$ Hg^{2+} und CH_3Hg^+ . Bei unterschiedlichen Massen erhaltene Chromatogramme wurden der Deutlichkeit halber verschoben. Die Gerätebetriebsbedingungen sind in Tabelle 2 angegeben.

material wurde Thunfischgewebe ERM-CE464 (IRMM) verwendet.

Ergebnisse und Diskussion

a) Arsen

Die IC-ICP/MS ermöglicht die Trennung und eindeutige Identifizierung unterschiedlicher Arsenpezies in anorganischer und organischer Form. Abbildung 2 zeigt die Peaks einer $10 \mu\text{g}/\text{l}$ Standardlösung, die Monomethylarsenat, Dimethylarsenat, Arsenit, Arsenat und Arsenobetain (ASB) enthält. Unter den gegebenen Analysenbedingungen (Tab. 1, online unter: <http://goo.gl/bwp2x>) wird ASB nicht von der trivalenten Arsenpezies getrennt. Dies kann jedoch durch Veränderung der chromatographischen Parameter umgangen werden.

b) Quecksilber

Abbildung 3 zeigt das Chromatogramm des divalenten Quecksilberions und des Methylquecksilbers [3]. Die Trennung erfolgte auf einer polymerbasierten C18-Umkehrphase innerhalb von

weniger als fünf Minuten; die Retentionszeiten betragen $1,87 \pm 0,02$ und $2,98 \pm 0,03$ Minuten. Die linearen Kalibrierkurven für Hg^{2+} und CH_3Hg^+ lagen im Bereich von $1 \dots 20 \mu\text{g}/\text{l}$. Die Nachweisgrenzen betragen jeweils $0,46 \pm 0,02$ und $0,78 \pm 0,08 \mu\text{g}/\text{l}$ für Hg^{2+} und CH_3Hg^+ .

Tabelle 3 zeigt die Genauigkeit der Extraktionsverfahren, die sowohl mit externer Kalibrierung als auch mittels MSIVA mit zertifiziertem Referenzmaterial (ERM-CE464) getestet wurden. Bei sieben der acht evaluierten Extraktionsverfahren stimmten die unter Verwendung von MSIVA berechneten CH_3Hg^+ -Werte weitgehend mit dem zertifizierten Referenzwert überein. Lediglich für das Extraktionsverfahren E war der nachgewiesene Methylquecksilbergehalt zu hoch. Umwandlungen und Verluste von Hg^{2+} und CH_3Hg^+ können direkt mit den Probenvorbereitungsschritten korreliert werden.

Durch externe Kalibrierung erhaltene Ergebnisse

Basierend auf den in den Tabellen 3 und 4 (online unter: <http://goo.gl/bwp2x>) gezeigten Daten,

Tab. 3: Konzentrationen der Quecksilberspezies (in mg Thunfischgewebe-Referenzmaterial (ERM-CE464) durch Bestimmung mittels externer Kalibrierung und gemäß EPA-Methode 6800 (MSIVA). Dargestellt sind Mittelwerte innerhalb des Konfidenzintervalls von $\pm 95\%$ ($n = 3$). Die prozentuale Gesamtausbeute an Hg und CH_3Hg^+ ist in Klammern angegeben.

Extraktionsverfahren				Externe Kalibrierung			EPA Method 6800 (MSIVA)		
	Extraktionstechnik, Extraktionsreagenz	Temp. [°C]	Zeit [min]	Hg ²⁺ 0,12 ^B mg/kg Hg	CH ₃ Hg ⁺ 5,12 \pm 0,16 ^A mg/kg Hg	Summe 5,24 \pm 0,10 ^A mg/kg Hg	Hg ²⁺ 0,12 ^B mg/kg Hg	CH ₃ Hg ⁺ 5,12 \pm 0,16 ^A mg/kg Hg	Summe 5,24 \pm 0,10 ^A mg/kg Hg
A	Ultraschall/Wasserbad, 25 % (w/v) KOH in Methanol	70	180	0,06 \pm 0,02 ^B	5,05 \pm 0,13 (99 \pm 3)	5,11 \pm 0,13 (98 \pm 3)	0,07 \pm 0,02b ^B	5,22 \pm 0,31 (102 \pm 6)	5,29 \pm 0,31 (101 \pm 6)
B	Ultraschall/Wasserbad, 25 % (w/v) TMAH ^C in Methanol	70	180	0,12 \pm 0,03 ^B	5,05 \pm 0,18 (99 \pm 4)	5,17 \pm 0,18 (99 \pm 3)	0,07 \pm 0,03 ^B	5,20 \pm 0,18 (102 \pm 4)	5,27 \pm 0,18 (101 \pm 6)
C	Mikrowelle, 5 % (w/v) TMAH ^C in Methanol	180	20	0,18 \pm 0,05 ^B	4,88 \pm 0,17 (95 \pm 3)	5,06 \pm 0,18 (97 \pm 3)	0,30 \pm 0,07 ^B	5,18 \pm 0,13 (101 \pm 3)	5,48 \pm 0,15 (105 \pm 3)
D	Ultraschall, 5 mol/L HCL	25	5	0,07 \pm 0,02 ^B	4,29 \pm 0,39 (84 \pm 8)	4,36 \pm 0,39 (83 \pm 7)	0,13 \pm 0,05 ^B	5,11 \pm 0,38 (100 \pm 7)	5,24 \pm 0,38 (100 \pm 7)
E	Mikrowelle, 4 mol/L HNO ₃ (EPA 3200)	180	20	0,06 \pm 0,04 ^B	3,94 \pm 0,12 (77 \pm 2)	4,00 \pm 0,13 (76 \pm 2)	0,11 \pm 0,07 ^B	5,60 \pm 0,33 (109 \pm 6)	5,71 \pm 0,34 (109 \pm 6)
F	Mikrowelle, Eisessig	165	10	0,35 \pm 0,08 ^B	3,29 \pm 0,14 (64 \pm 3)	3,64 \pm 0,16 (69 \pm 3)	0,27 \pm 0,12 ^B	5,12 \pm 0,19 (100 \pm 4)	5,39 \pm 0,22 (103 \pm 4)
G	Wasserbad, 1 % L-Cystein Hydrochlorid	60	120	0,45 \pm 0,10 ^B	4,87 \pm 0,20 (95 \pm 4)	5,32 \pm 0,22 (102 \pm 4)	1,05 \pm 0,14 ^B	5,08 \pm 0,25 (99 \pm 5)	6,13 \pm 0,29 (117 \pm 5)
H	Hybridisierungs-ofen, Enzymatischer Aufschluss mit Protease XIV	37	120	0,16 \pm 0,07 ^B	4,42 \pm 0,14 (86 \pm 3)	4,58 \pm 0,16 (87 \pm 3)	0,07 \pm 0,02 ^B	5,09 \pm 0,24 (99 \pm 5)	5,29 \pm 0,31 (100 \pm 5)

^A zertifiziertes Methylquecksilber und Gesamtgehalt an Quecksilber im Thunfischgewebe des zertifizierten Referenzmaterials (ERM-CE464), geliefert von IRMM (Geel, Belgium)

^B anorganische Quecksilberkonzentration wurde als Differenz zwischen zertifiziertem Gesamtquecksilber- und Methylquecksilbergehalt berechnet

^C TMAH: Tetramethylammoniumhydroxid

stimmten die Konzentrationen für Methylquecksilber in den alkalischen

Extraktionsverfahren, entweder unter Verwendung des ultraschallassistierten Systems (Verfahren A und B) oder des Mikrowellengerätes (Verfahren C) weitgehend mit den zertifizierten Werten überein. Diese Verfahren erbrachten ähnliche Methylierungs- und Demethylierungsraten (~ 6%). Obwohl Verfahren G für die CH_3Hg^+ -Bestimmung geeignet war, wurde im Extraktionsreagens eine anorganische Quecksilberverunreinigung von 0,45 mg/kg Hg²⁺ beobachtet (Referenzwert: 0,12 mg/kg).

Bei den Extraktionsverfahren D, E, F und H waren die CH_3Hg^+ -Ausbeuten (64–86 %) zu niedrig. Trotz des häufigen Einsatzes von Säuren für die Extraktion von Quecksilberspezies aus Thunfischproben ergaben sich die niedrigste Konzentration von Methylquecksilber im Referenzmaterial ERM-CE464 und die höchste Quecksilberspeziesumwandlung beim Einsatz von mikrowellenassistierter Extraktion mit Eisessig (Verfahren F) und Extraktion mit 4 mol/l HNO₃ (Verfahren E). Durch das relativ niedrige Verhältnis von Hg²⁺ zu CH_3Hg^+ verursachte die hohe Methylierungsrate von 18 % beim Verfahren E keinen signifikanten Fehler bezüglich der CH_3Hg^+ -Konzentration. Im Gegenteil: Eine ausgeprägte Demethylierungsrate hat eine beträchtliche Wirkung, wenn, wie in Verfahren F, ein hohes Verhältnis von CH_3Hg^+

zu Hg²⁺ vorherrscht. Offensichtlich ist die erhöhte Hg²⁺-Konzentration von 0,27 mg/kg auf die ausgeprägte Demethylierungsrate zurückzuführen. MSIVA ist ein unverzichtbares Werkzeug, wenn es darum geht, Transformationen von Schwermetallspezies zu verfolgen, die während der Probenvorbereitung auftreten.

Fazit

Ionenchromatographie gekoppelt mit einer ICP/MS ist ein leistungsstarkes Instrument zur eindeutigen Bestimmung verschiedener organischer und anorganischer Spezies in einem einzigen Analysengang. In Abwesenheit von Speziesumwandlungen liefert die traditionelle Speziesanalytik exakte Ergebnisse bis in den sub-ppb-Bereich. Speziesumwandlungen erfordern jedoch Korrekturen. Die SIDMS gemäß US-EPA-Methode 6800 ist in der Lage, jegliche nach der Isotopenzugabe auftretenden Speziesumwandlungen festzustellen.

Wegen der einzigartigen Eigenschaften und unbestrittenen Vorzüge der EPA-Methode 6800 ist zu erwarten, dass der Einsatz der MSIVA zunehmen wird und dass dieses wertvolle Instrument zur Optimierung und Validierung von Probenaufbereitungsverfahren im Spurenbereich der Schwermetallspeziation, zunehmend größere Akzeptanz in der Analytik finden wird.

Danksagung

Wir danken Milestone Inc. für die finanzielle Unterstützung von Laura H. Reyes und für die Geräteunterstützung. Wir bedanken uns auch bei Agilent Technologies, Applied Isotope Technologies, Inc. und bei der Duquesne University für die instrumentelle und materielle Unterstützung.

Literatur sowie die Tabellen 1, 2 und 4 können online unter: <http://goo.gl/bwp2x> eingesehen werden.

Autoren

Laura H. Reyes

Facultad de Ciencias Químicas Universidad Autónoma de Nuevo León, México

H. M. Skip Kingston

Duquesne University, Pittsburgh, USA

Andrea Wille, Alfred Steinbach,

Metrohm International Headquarters, Herisau, Schweiz

► KONTAKT

Dr. Alfred Steinbach
Metrohm Schweiz AG
Herisau, Schweiz
ast@metrohm.com
www.metrohm.com

Zufrieden mit Ihrem IC-System?

**Jetzt wechseln und
auf Dauer sparen –
garantiert!**

**Demo-Termin
vereinbaren und
bis zu 5'000 Euro
Wechselprämie
sichern!**

**Ionenchromatographie
mit Metrohm:**

- kein teures Verbrauchsmaterial (Filterkartuschen, Spritzenfilter)
- 10 Jahre Garantie auf den Anionensuppressor
- integrierte, vollautomatische Probenvorbereitung
- Applikationsgarantie: wechseln ohne Risiko!

ic.metrohm.de

 **Metrohm**
Deutschland

