

Simultane Bestimmung von Arsen-, Selen-, Antimon- und Tellur-Spezies
mit einer neu entwickelten HPLC/ICP-MS-Kopplung
sowie vergleichende Untersuchungen mittels CE/ICP-MS

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
des Fachbereichs Chemie
der Universität Hamburg

vorgelegt von

Torsten Lindemann
aus Hamburg

Hamburg 2000

1. Gutachter: Prof. Dr. W. Dannecker

2. Gutachter: Prof. Dr. B. Neidhart

Tag der letzten mündlichen Prüfung: 10. Juli 2000

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Februar 1997 bis Juni 2000 am Institut für Physikalische und Chemische Analytik der GKSS-Forschungszentrum Geesthacht GmbH in Zusammenarbeit mit dem Institut für Anorganische und Angewandte Chemie der Universität Hamburg angefertigt.

Herrn Prof. Dr. W. Dannecker danke ich sehr herzlich für die freie Gestaltungsmöglichkeit der Arbeit ebenso wie für seine immer wohlwollende Unterstützung und Förderung.

Ich danke Herrn Prof. Dr. B. Neidhart für die Überlassung des interessanten Themas sowie für das Engagement und Interesse am Fortgang der Arbeit.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Priv.-Doz. Dr. A. Prange, Herrn Dr. D. Schaumlöffel und Herrn Dr. R. Pepelnik für die vielfältigen Diskussionen und Anregungen sowie für die Durchsicht der Arbeit. Herrn Dr. P. Beaven danke ich für die Korrektur englischsprachiger Manuskripte.

Allen nicht namentlich genannten Mitarbeitern der Abteilung Elementspurenanalytik von Herrn Dr. Prange und den Mitarbeitern des Arbeitskreises von Herrn Prof. Dannecker danke ich für die gute Zusammenarbeit und zahlreiche Diskussionen.

Herrn Dr. M. Hempel und Herrn Dr. H. Wunsch von der Fa. GALAB GmbH danke ich für die Überlassung einiger Spezies-Standards.

Für die geduldige Begleitung und Unterstützung während der gesamten Studienzeit danke ich herzlich meinen Eltern und Freunden.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung und Problemstellung	1
2	Spezies der Elemente Arsen, Selen, Antimon und Tellur	3
2.1	Arsen	3
2.2	Selen	5
2.3	Antimon	7
2.4	Tellur	7
3	Stand der Technik zur Bestimmung von Elementspezies	8
3.1	Probenlagerung	8
3.2	Probenvorbereitung	9
3.3	Überblick über Analysetechniken zur Bestimmung von Elementspezies	10
3.3.1	Detektion mittels Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma	12
3.3.2	Trennung mittels Gaschromatographie	13
3.3.3	Trennung mittels Kapillarelektrophorese	14
3.3.4	Trennung mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie	16
3.3.4.1	HPLC als Trennmodul bei der Analyse von Elementspezies	17
3.3.4.2	Anwendungen der HPLC/ICP-MS zur Analyse von Elementspezies	19
4	Methodische Entwicklungen zur Bestimmung von Elementspezies	21
4.1	Technische Realisierung des gekoppelten Systems HPLC/ICP-QMS	21
4.2	Optimierung des chromatographischen Systems zur Trennung von Spezies der Elemente Arsen, Selen, Antimon und Tellur	23
4.2.1	Optimierung der mobilen Phase	24
4.2.1.1	Optimierung der mobilen Phase A	26
4.2.1.2	Optimierung der mobilen Phase B	28
4.2.2	Zusammenfassung der Parameter des chromatographischen Systems	30
4.3	Parameter der ICP-MS zur Bestimmung von Spezies der Elemente Arsen, Selen, Antimon und Tellur	31
4.4	CE/ICP-MS als unabhängige Referenzmethode	33
5	Ergebnisse	36
5.1	Stabilität der Standards	36
5.1.1	Statistische Datenauswertung	36
5.1.2	Stabilität der einzelnen Spezies-Standards	37
5.1.3	Stabilität von Spezies-Mischungen	38
5.2	Validierung der Methode zur Elementspeziesbestimmung	41
5.2.1	Nachweisgrenzen	41
5.2.2	Bestimmungsgrenzen	43
5.2.3	Arbeitsbereich, Linearität und Empfindlichkeit	44

5.2.4	Wiederholpräzision der Retentionszeiten, Signalhöhen und Signalflächen.....	47
5.2.5	Spezifität.....	48
5.2.6	Richtigkeit.....	49
5.3	Methodenvergleich HPLC/ICP-QMS, CE/ICP-QMS und CE/ICP-SFMS	50
5.3.1	Vergleich der mittels HPLC/ICP-QMS, CE/ICP-QMS und CE/ICP-SFMS erhaltenen Chromatogramme und Elektropherogramme.....	50
5.3.2	Vergleich der Nachweisgrenzen von HPLC/ICP-QMS, CE/ICP-QMS und CE/ICP-SFMS.....	52
5.4	Anwendungen der HPLC/ICP-QMS zur Bestimmung von Speziesgehalten der Elemente Arsen, Selen, Antimon und Tellur in unterschiedlichen Matrices.....	55
5.5	Bestimmung der Gehalte von Elementspezies in Fischproben	55
5.5.1	Probenvorbereitung zur Untersuchung von Elementspezies in Fischproben.....	56
5.5.2	Bestimmung von Elementspeziesgehalten in dem Fisch-Referenzmaterial BCR 627.....	56
5.5.2.1	Wiederfindungsraten der zum Extrakt aus BCR 627 zugegebenen Spezies	57
5.5.2.2	Wiederfindungsraten der vor der Extraktion zu BCR 627 zugefügten Spezies	59
5.5.2.3	Stabilität der zum Extrakt aus BCR 627 zugefügten Spezies.....	61
5.5.3	Bestimmung von Elementspeziesgehalten in dem Fisch-Referenzmaterial DORM-2.....	62
5.5.3.1	Wiederfindungsraten der zum Extrakt aus DORM-2 zugefügten Spezies.....	64
5.5.3.2	Wiederfindungsraten der vor der Extraktion zu DORM-2 zugefügten Spezies.....	66
5.5.3.3	Stabilität der zum Extrakt aus DORM-2 zugefügten Spezies.....	68
5.5.4	Zusammengefasste Ergebnisse der Untersuchung von Extrakten aus den Fisch-Referenzmaterialien BCR 627 und DORM-2.....	69
5.6	Bestimmung der Gehalte von Elementspezies in Urinproben.....	70
5.6.1	Elementspezies in dem Urin-Standardreferenzmaterial NIST 2670n.....	70
5.6.2	Wiederfindungsraten der untersuchten Spezies in NIST 2670n.....	72
5.6.3	Stabilität der zu NIST 2670n zugefügten Spezies.....	73
5.6.4	Elementspezies in dem Urin-Standardreferenzmaterial NIST 2670e.....	75
5.6.5	Wiederfindungsraten der Spezies in NIST 2670e.....	76
5.6.6	Zusammengefasste Ergebnisse der Untersuchung von Urin-Standardreferenzmaterialien	78
5.7	Bestimmung der Gehalte von Elementspezies in Bodeneluaten	78
5.7.1	Probenvorbereitung bei der Untersuchung von Elementspezies in Bodenproben.....	79
5.7.2	Wässriges Eluat des Boden-Standardreferenzmaterials NIST 2710.....	80
5.7.2.1	Wiederfindungsraten der zum wässrigen Eluat aus NIST 2710 zugegebenen Spezies.....	81
5.7.2.2	Stabilität der Spezies in dem dotierten wässrigen Eluat.....	82
5.7.2.3	Wiederfindungsraten der vor der wässrigen Elution zu NIST 2710 zugefügten Spezies	83
5.7.3	Schwefelsäureeluat des Boden-Standardreferenzmaterials NIST 2710.....	85
5.7.3.1	Wiederfindungsraten der zum Schwefelsäureeluat aus NIST 2710 zugefügten Spezies	86
5.7.3.2	Stabilität der zum schwefelsauren Eluat aus NIST 2710 zugefügten Spezies.....	88
5.7.3.3	Wiederfindungsraten der vor der Schwefelsäureelution zu NIST 2710 zugefügten Spezies	89
5.7.4	Zusammengefasste Ergebnisse der Untersuchung von dem Boden-Standardreferenzmaterial NIST 2710.....	90

6	Zusammenfassende Diskussion und Bewertung der Ergebnisse	91
6.1	Analytische Kenngrößen	91
6.2	Spezifität	92
6.3	Robustheit.....	92
6.4	Richtigkeit.....	93
6.5	Wiederfindungsraten	94
6.6	Stabilität der Spezies.....	96
6.7	Vergleichende Bewertung der Kopplungen HPLC/ICP-QMS, CE/ICP-QMS und CE/ICP-SFMS	97
6.8	Vorkommen von Arsenobetain in Bodeneluat.....	98
6.9	Ausblick	98
7	Zusammenfassung.....	100
8	Summary	103
9	Literatur.....	105
10	Anhang.....	121
10.1	Chemikalien	121
10.2	Herstellung von Lösungen.....	122
10.3	Geräte.....	124
10.4	Probenvorbereitungen.....	125
10.5	Gefahrenhinweise und Sicherheitsratschläge	126

Abkürzungsverzeichnis

AAS	Atomabsorptionsspektrometrie
AFS	Atomfluoreszenzspektrometrie
As(III)	Arsenige Säure und deren Salze
As(V)	Arsensäure und deren Salze
AsB	Arsenobetain
AsC	Arsenocholin
CE	Kapillarelektrophorese
CE/ICP-QMS	gekoppeltes System, bestehend aus CE und ICP-QMS
CE/ICP-SFMS	gekoppeltes System, bestehend aus CE und ICP-SFMS
CEM	Kanalelektronenvervielfacher
CGE	Kapillargelelektrophorese
CZE	Kapillarzonenelektrophorese
DMA	Dimethylarsinsäure und deren Salze
DNA	Desoxyribonucleinsäure
EOF	elektroosmotischer Fluss
ET-AAS	elektrothermische Atomabsorptionsspektrometrie
F-AAS	Flammen-Atomabsorptionsspektrometrie
GC	Gaschromatographie
HG-AAS	Hydrid-Atomabsorptionsspektrometrie
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
HPLC/ICP-MS	gekoppeltes System, bestehend aus HPLC und ICP-QMS
ICP	induktiv gekoppeltes Plasma
ICP-MS	Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma
ICP-OES	optische Emissionsspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma
ICP-QMS	Quadrupol-Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma
ICP-SFMS	Sektorfeld-Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma
IEF	isoelektrische Fokussierung
LD ₅₀	zu 50 % tödliche Dosis
m	Masse
m/Δm	Auflösung des Massenspektrometers
MEKC	mizellarelektrokinetische Kapillarchromatographie
MIP-AED	Atomemissionsdetektion mit Mikrowellen-induziertem Plasma
MMA	Monomethylarsonsäure und deren Salze
MS	Massenspektrometrie
p. o.	per os
PAA	Phenylarsonsäure und deren Salze
PEEK	Polyetheretherketon
PTFE	Polytetrafluorethylen
Sb(III)	Anorganisches dreiwertiges Antimon, z. B. Antimonige Säure oder Antimontartrat
Sb(V)	Hexahydroxyantimonsäure und deren Salze
Se(IV)	Selenige Säure und deren Salze
Se(VI)	Selensäure und deren Salze
SeMet	Selenomethionin
Te(IV)	Tellurige Säure und deren Salze
Te(VI)	Tellursäure und deren Salze

1 Einleitung und Problemstellung

Als Elementspezies werden verschiedene Zustands- und Bindungsformen von Elementen bezeichnet. Spezies eines Elements besitzen unterschiedliche Eigenschaften wie Toxizitäten, Mobilitäten oder biologische Verfügbarkeiten. Aufgrund dieser unterschiedlichen Eigenschaften gewinnt die Bestimmung von Elementspeziesgehalten anstelle von Gesamtelementgehalten zur Abschätzung von Gefährdungspotentialen und zur Bewertung von Stoffkreisläufen zunehmend an Bedeutung.

Zur Analyse von Spezies können gekoppelte Systeme eingesetzt werden, welche aus einem Trennmodul und einem element- oder molekülselektiven Detektor bestehen. Mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) ist die Trennung insbesondere auch nicht flüchtiger ionischer und hochmolekularer Spezies ohne thermische Beanspruchung und ohne Derivatisierung möglich. Die Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-MS) ist ein idealer Detektor dieser gekoppelten Systeme zur Analyse von Spezies, weil sie die Vorteile der hohen Empfindlichkeit, der Multielementfähigkeit und des weiten linearen Arbeitsbereichs in sich vereinigt. Obwohl aufgrund der Multielementfähigkeit der ICP-MS die simultane Analyse von Spezies mehrerer Elemente möglich ist, wurden gekoppelte Systeme, bei denen die Detektion mittels ICP-MS erfolgte, bislang fast ausschließlich zur Bestimmung von Spezies eines Elements eingesetzt.

Das Ziel dieser Arbeit war die Entwicklung eines gekoppelten Systems, welches es ermöglicht, umweltrelevante Spezies mehrerer Elemente simultan zu bestimmen. Aufgrund der genannten Vorteile der HPLC zur Trennung auch nicht flüchtiger Substanzen und der Fähigkeit der ICP-MS zur empfindlichen Multielementdetektion sollte ein gekoppeltes System, bestehend aus HPLC und ICP-MS (genauer: Quadrupol-Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma, ICP-QMS), realisiert werden. Da die ICP-MS eine kostenintensive Detektionsmethode ist, führt eine simultane Erfassung von Spezies mehrerer Elemente nicht nur zu einer Zeit-, sondern auch zu einer Kostenersparnis, falls Spezies mehrerer Elemente in den zu untersuchenden Proben vorliegen und bestimmt werden sollen. Mit dem zu entwickelnden System sollten die folgenden Arsen-, Selen-, Antimon- und Tellurspezies analysiert werden: As(III), As(V), Monomethylarsonsäure, Dimethylarsinsäure, Phenylarsonsäure, Arsenobetain, Se(IV), Se(VI), Selenomethionin, Sb(III), Sb(V) und Te(VI).

Das System sollte hinsichtlich der Trennleistung und der Empfindlichkeit optimiert, validiert und analytisch charakterisiert werden. Die Einsatzfähigkeit des Systems sollte zur Bestimmung der

Spezies in unterschiedlichen Matrices wie zertifizierten Fisch- und Urin-Referenzmaterialien und Eluaten aus einem Boden-Referenzmaterial überprüft werden. Durch einen Vergleich der erhaltenen Ergebnisse mit zertifizierten Gehalten sollte ermittelt werden, ob mit dem entwickelten System HPLC/ICP-QMS richtige Ergebnisse erzielt werden können. Da bislang nur die Gehalte von zwei der untersuchten Spezies in einem Referenzmaterial zertifiziert wurden, sollten die ermittelten Speziesgehalte weiterer Materialien mit den Resultaten einer unabhängigen Vergleichsmethode und mit den Ergebnissen anderer Arbeitsgruppen verglichen werden. Die Vergleichsmessungen wurden mit einem gekoppelten System, bestehend aus Kapillarelektrophorese und Sektorfeld-Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-SFMS), durchgeführt.

Zur Qualitätssicherung sollten ferner Wiederfindungsraten von zu den matrixhaltigen Lösungen zugegebenen Spezies bestimmt werden, um zu überprüfen, ob die einzelnen Matrices die Bestimmung der Elementspeziesgehalte stören. Durch eine Zugabe von Spezies vor der Extraktion sollte ermittelt werden, ob die Spezies quantitativ extrahiert werden, inwieweit Reaktionen der Spezies mit Substanzen aus den Feststoffen stattfinden, und ob während der Extraktion Speziesveränderungen auftreten. Da bislang nur wenige und widersprüchliche Informationen über die Stabilität von Speziesmischungen in Matrices wie Wasser, Urin und Fisch- und Bodenextrakten vorliegen, sollten auch Untersuchungen zur Stabilität der untersuchten Spezies durchgeführt werden.

2 Spezies der Elemente Arsen, Selen, Antimon und Tellur

Elemente können in unterschiedlichen Zustands- und Bindungsformen, die als Spezies bezeichnet werden, vorliegen. Die Analyse von Elementspezies umfasst sowohl die Differenzierung eines Elements nach unterschiedlichen Oxidationsstufen als auch die Untersuchung der Art der Bindung eines Elements an anorganische oder organische Bindungspartner. Metalloproteine und Metallothioneine sind Beispiele für höhermolekulare Spezies, während Alkylverbindungen von Metallen und Halbmetallen zu den niedermolekularen Spezies zählen [1].

Toxikologische Eigenschaften, Mobilitäten, biologische Verfügbarkeiten, Bioakkumulation und physiologische Wirkungen von Elementen hängen von den Spezies ab, in denen die Elemente vorliegen. Daher ist die quantitative Erfassung von Elementgesamtgehalten zur Beschreibung und Bewertung von Stoffkreisläufen in der Umwelt und zur Abschätzung von Gefährdungspotentialen nicht ausreichend. Stattdessen besteht ein erhöhter Bedarf, analytisch-chemische Methoden zu entwickeln, welche die Bestimmung von Elementspezies erlauben. In den folgenden Abschnitten werden unter anderem die in dieser Arbeit untersuchten Spezies der Elemente Arsen, Selen, Antimon und Tellur insbesondere in Hinblick auf unterschiedliche Eigenschaften vorgestellt.

2.1 Arsen

Arsen kommt in der Natur vor allem in Form sulfidischer Erze wie z. B. Arsenkies ($\text{Fe}[\text{AsS}]$), Realgar (As_4S_4) und Auripigment (As_2S_3) vor [2], und seine Verbindungen werden unter anderem in der Glas- und Halbleiterindustrie sowie als Unkraut- und Schädlingsbekämpfungsmittel eingesetzt [3]. Arsen wird anthropogen durch Verhüttungsprozesse und Kohleverbrennung sowie natürlich durch Vulkanismus und Gesteinserosion in die Atmosphäre emittiert [4, 5, 6].

Arsen kann von marinen Organismen angereichert werden und ist in der marinen Nahrungskette überwiegend als Arsenobetain, Arsenocholin und in Form von Arsenozuckern vorhanden [1, 7, 8]. In Urin werden die Arsenspezies As(III) (Arsenige Säure und ihre Salze), As(V) (Arsensäure und ihre Salze), MMA (Monomethylarsonsäure und ihre Salze), DMA (Dimethylarsinsäure und ihre Salze) und nach dem Verzehr von Meerestieren auch Arsenobetain ausgeschieden [1]. In Gewässern, Sedimenten und Böden wurden die Arsenspezies As(III), As(V), DMA und MMA nachgewiesen [9, 10, 11, 12]. PONGRATZ et al. [13] detektierten Arsenobetain in einem wässrigen Bodeneluat. Arsen liegt in Mikroorganismen und in suspendierten Partikeln ($< 5 \mu\text{m}$)

biologischen Ursprungs vor allem als Arsenobetain vor [14, 15]. Die Strukturen und pK_S -Werte einiger dieser Verbindungen sind in Tab. 1 aufgeführt.

Der natürliche Kreislauf des Arsens ist durch Methylierungen von Arsenit und Arsenat über organische Arsensäuren bis zu Dimethyl- und Trimethylarsan charakterisiert [16]. As(III) kann durch Niederschläge aus der Atmosphäre gewaschen und im Boden zu Arsensäure und deren Salzen oxidiert werden. As(V) kann durch Bakterien und Pilze zu Monomethylarsonsäure, Dimethylarsinsäure und Trimethylarsanoxid methyliert werden. Die beiden letztgenannten Spezies können in flüchtiges Di- und Trimethylarsan umgewandelt werden. Diese flüchtigen Spezies gelangen in die Atmosphäre und können mit Sauerstoff zu As(III) oxidiert werden. Über diese Reaktionen wird der Kreislauf wieder geschlossen. Arsenspezies werden in der Nahrungskette, insbesondere in Fischen, angereichert. Etwa 80 % des Arsens liegt in Fischen als Arsenobetain vor.

Tab. 1: Strukturen und pK_S -Werte einiger Arsen-, Selen-, Antimon- und Tellurspezies

Spezies	Abkürzung	Struktur	pK_{S1}	pK_{S2}	pK_{S3}
Arsenige Säure	As(III)	As(OH) ₃	9,4 [17]	13,5 [17]	
Arsensäure	As(V)	AsO(OH) ₃	2,2 [17]	6,8 [17]	11,2 [17]
Monomethylarsonsäure	MMA	CH ₃ AsO(OH) ₂	4,2 [18]	8,8 [18]	
Dimethylarsinsäure	DMA	(CH ₃) ₂ AsOOH	6,2 [19]		
Phenylarsonsäure	PAA	C ₆ H ₅ AsO(OH) ₂	3,6 [19]		
Arsenobetain	AsB	(CH ₃) ₃ As ⁺ CH ₂ COO ⁻	2,2 [20]		
Arsenocholin	AsC	(CH ₃) ₃ As ⁺ CH ₂ CH ₂ OH			
Selenige Säure	Se(IV)	SeO(OH) ₂	2,62 [2]	8,32 [2]	
Selensäure	Se(VI)	SeOO(OH) ₂	< 0 [18]	1,7 [18]	
Selenomethionin	SeMet	CH ₃ SeCH ₂ CH ₂ CH(NH ₂)COOH	2,6 [21]	8,9 [21]	
Antimonige Säure	Sb(III)	Sb(OH) ₃	11,0 [2]		
Antimontartrat	Sb(III)	C ₄ H ₂ O ₆ Sb(OH ₂) ⁻			
Hexahydroxyantimonsäure	Sb(V)	Sb(OH) ₆ ⁻	2,55 [2]		
Tellurige Säure	Te(IV)	TeO(OH) ₂	2,48 [2]	7,7 [2]	
Tellursäure	Te(VI)	Te(OH) ₆	7,7 [2]	10,95 [2]	

Da Arsen in der Nahrungskette angereichert werden kann, besitzt es eine große toxikologische Relevanz. Entscheidend für die Toxizität ist sowohl die Konzentration als auch die Verbindung, in der das Arsen vorliegt. Die organischen Arsenverbindungen MMA und DMA sind in vergleichbaren Konzentrationen deutlich weniger giftig als anorganisches As(III), welches wiederum giftiger als As(V) ist [11, 22]. Das häufig in Fischen und Meeresfrüchten vorkommende Arsenobetain ist

für den Menschen ungiftig und wird ohne Metabolisierung im Urin wieder ausgeschieden [22, 23]. Toxikologische Daten dieser Verbindungen werden in Tab. 2 zusammengefasst. Arsenige Säure, Arsensäure und deren Salze sowie die Oxide As_2O_3 und As_2O_5 sind eindeutig als krebserzeugend ausgewiesene Arbeitsstoffe, die erfahrungsgemäß beim Menschen bösartige Geschwülste verursachen können [24]. Das kanzerogene Potential dieser Verbindungen ist vermutlich auf eine genotoxische Wirkung oder auf eine Hemmung von DNA-Reparatur-Enzymen zurückzuführen [25, 26, 27]. Akute Vergiftungen mit anorganischem Arsen äußern sich vor allem durch Übelkeit, Bauchschmerzen, Erbrechen, Kopfschmerzen und Beeinträchtigungen des Nervensystems. Beim Menschen wirkt eine einmalige Dosis von 1 - 3 mg As(III)/kg Körpergewicht tödlich [22]. Als Folgen von chronischen Vergiftungen mit anorganischem Arsen können bei inhalativer Aufnahme an Industriearbeitsplätzen Karzinome der Atmungsorgane [3] oder durch verunreinigtes Trinkwasser Hautkarzinome [3, 28] entstehen. Es wird vermutet, dass die toxische Wirkung des Arsens darauf beruht, dass es kovalente Bindungen mit Thiolgruppen von Enzymen bilden kann. Der deutsche Grenzwert für Arsen im Trinkwasser beträgt 10 $\mu\text{g/L}$ [29].

Tab. 2: Toxikologische Daten einiger Arsenspezies (nach [22])

Spezies	Tier	Toxizitätsparameter LD_{50} (mg As/kg Körpergewicht)
As(III)	Maus	25 - 45; p. o.
	Ratte	15 - 110; p. o.
As(V)	Maus	55; p. o.
	Ratte	110; p. o.
Monomethylarsonsäure	Maus	970; p. o.
Dimethylarsinsäure	Maus	650; p. o.

p. o. = per os

2.2 Selen

Selen kommt spurenweise als Begleiter von sulfidischen Erzen in Form von Seleniden vor [2]; es findet u. a. in der Elektronik- und Glasindustrie Verwendung und wird durch Kohleverbrennung und Kupferraffination in die Atmosphäre emittiert [6, 30]. Zu den in Organismen vorkommenden Selenpezies gehören Se(IV) (Selenige Säure und ihre Salze), Se(VI) (Selensäure und ihre Salze) und selenanaloge Aminosäuren (z. B. Selenomethionin oder Selenocystein) [31]. In Hefe und

Knoblauch konnten weitere organische Selenverbindungen wie Adenosylhomoselenocystein, Methylselenocystein und eine Vielzahl bislang noch nicht identifizierter Selenspezies nachgewiesen werden [32, 33, 34]. In Böden und Gewässern liegt Selen vor allem als Se(IV) oder Se(VI) vor [35]. AONO et al. [36] konnten nachweisen, dass in Seewasser ebenfalls selenanaloge Aminosäuren vorliegen. Einige der genannten Selenspezies sind in Tab. 1 (Seite 4) aufgeführt.

Das Element Selen besitzt sowohl toxische als auch essentielle Eigenschaften. Vergiftungssymptome und Mangelerscheinungen liegen dicht beieinander [37]. Typisch für eine Selenvergiftung ist der knoblauchartige Geruch der Atemluft und des Schweißes, der auf eine Dimethylselenid-Bildung zurückzuführen ist [31]. Akute Vergiftungen äußern sich u. a. durch einen metallischen Geschmack und Übelkeit. Chronische Vergiftungssymptome sind Kopfschmerz, Reizbarkeit und Schlaflosigkeit [30]. Die zu 50 % tödliche Dosis LD₅₀ beträgt bei Ratten 3 mg Selen/kg Körpergewicht (als Natriumselenat oder -selenit, intravenös) [31]. Der deutsche Grenzwert für Selen im Trinkwasser beträgt 10 µg/L [29].

Dass Selen ein für den Menschen essentielles Element ist, wird daraus deutlich, dass durch Selenmangel einige Krankheiten, wie z. B. die „Keshan-Krankheit“, eine zum Tode führende Herzschwäche bei Jugendlichen aus chinesischen Regionen mit selenarmen Böden, verursacht werden können [31, 37, 35]. Das Enzym Glutathionperoxidase, das Peroxide abbaut, enthält Selen. Der Tagesbedarf eines Menschen liegt zwischen 60 und 120 µg Selen [30]. In Tierexperimenten konnte gezeigt werden, dass Selenverbindungen die chemisch induzierte Kanzerogenese in der Brust, dem Dickdarm und der Haut hemmen. Knoblauch, der auf einem Boden mit hohem Selengehalt gewachsen war, zeigte bei Menschen eine die chemisch induzierte Kanzerogenese hemmende Wirkung. Diese Wirkung wurde auf den erhöhten Gehalt an Selen zurückgeführt [38]. KOTREBAI et al. [34] zeigten, dass Selen in solchem Knoblauch vor allem als γ -Glutamylmethylselenocystein und als γ -Glutamylselenomethionin vorliegt. CASIOT et al. [32] identifizierten Adenosylhomoselenocystein als diejenige Selenspezies, die in selenreicher Hefe hauptsächlich vorliegt.

In der Literatur wird beschrieben, dass sich unterschiedliche Selenspezies als verschieden effektiv beim Schutz vor einigen Krankheiten erweisen und eine unterschiedliche Bioverfügbarkeit besitzen [30, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46]. Die Ergebnisse sind bislang jedoch widersprüchlich. In Hinblick auf den Zusatz von Selen in Gesundheitsprodukten wird dieser Themenbereich und die Bestimmung von Selenspezies zunehmend an Bedeutung gewinnen.

2.3 Antimon

Antimon findet in der Glas- und Halbleiterindustrie, in Legierungen, als Flammenschutzmittel, bei der Gummivulkanisierung und in Therapeutika gegen einige tropische Krankheiten Verwendung und wird durch Verhüttung, Müll- und Kohleverbrennung, Kfz-Verkehr und durch Vulkanismus in die Umwelt emittiert [6, 47, 48]. Das verbreitetste Antimon enthaltende Erz ist der Grauspießglanz, Sb_2S_3 [2]. In Lösung können anorganisches dreiwertiges Antimon (Sb(III)), Hexahydroxyantimonsäure und ihre Salze (Sb(V)) sowie organische Antimonspezies wie das Trimethylantimon-Kation ($(\text{CH}_3)_3\text{Sb}^{2+}$) vorliegen. Sb(III) kann z. B. als Antimonige Säure (Sb(OH)_3) oder komplexiert als Antimontartrat vorliegen. In Gewässern, Sedimenten und Klärschlamm konnten die Spezies Sb(III) , Sb(V) und das Trimethylantimon-Kation nachgewiesen werden [49, 50, 51]. Einige der genannten Antimonspezies sind in Tab. 1 (Seite 4) aufgeführt.

Die toxischen Eigenschaften der Antimonverbindungen ähneln denjenigen der Arsenverbindungen und hängen von der vorliegenden Spezies ab. Sb(III) ist in vergleichbaren Konzentrationen giftiger als Sb(V) [47, 52]. Dreiwertiges anorganisches Antimon (Sb_2O_3) erwies sich im Tierversuch unter Bedingungen, die der möglichen Exposition am Arbeitsplatz vergleichbar sind, als eindeutig krebserzeugend [24]. Der deutsche Grenzwert für Antimon im Trinkwasser beträgt $10 \mu\text{g/L}$ [29].

2.4 Tellur

Tellur kommt in der Natur z. B. gediegen oder als Tellurobismutit, Bi_2Te_3 , vor [2]; es findet als Legierungsbestandteil und in der Gummi- und Elektronikindustrie Verwendung und wird unter anderem durch Kohleverbrennung emittiert. Bei Tierversuchen äußerten sich akute Tellurvergiftungen durch Ruhelosigkeit, Lähmungserscheinungen und Krämpfe. Tellurite sind in vergleichbarer Konzentration toxischer als Tellurate [53]. Bislang existieren nur wenige Arbeiten, in welchen die Bestimmung von Tellurspezies beschrieben wird [54].

3 Stand der Technik zur Bestimmung von Elementspezies

In diesem Kapitel wird der derzeitige Stand der Technik zur Bestimmung von Elementspezies dargestellt. Die Art der Probenlagerung, Probenvorbereitung und die Analysetechnik haben einen grundlegenden Einfluss auf die Richtigkeit der Analysenergebnisse und darauf, ob mit einem Analysenverfahren die Problemstellung, die mit dem Analysenverfahren gelöst werden soll, beantwortet werden kann. Insbesondere müssen Speziesumwandlungen während des analytischen Prozesses vermieden werden, falls während dieser Umwandlungen die Speziesinformationen nicht erhalten werden. In den folgenden Abschnitten werden die von anderen Arbeitsgruppen bisher beschriebenen Strategien und Probleme der Probenlagerung und -vorbereitung und bislang eingesetzte Analysetechniken zur Bestimmung von Elementspezies vorgestellt.

3.1 Probenlagerung

In Realproben sind häufig Mikroorganismen wie z. B. Bakterien und Pilze vorhanden. Um die Reaktionsgeschwindigkeit von Umwandlungsprozessen und die Aktivität der Mikroorganismen, die Elementspezies metabolisieren können, zu minimieren, werden Proben in der Regel gekühlt gelagert. Bislang gibt es nur wenige und widersprüchliche Informationen über die Stabilität von Spezies-Mischungen in Matrices wie z. B. Wasser, Urin und Bodeneluat. Während PALACIOS et al. [55] und CHANA und SMITH [56] wässrige Proben, die Arsenspezies enthalten, bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ einfrieren, empfehlen JOKAI et al. [57], HALL et al. [58] und DAUS [59] Lagertemperaturen zwischen $+3\text{ }^{\circ}\text{C}$ und $+6\text{ }^{\circ}\text{C}$. Nach FELDMANN et al. [60] sollten Urinproben zur Bestimmung von Arsenspezies entweder gekühlt ($4\text{ }^{\circ}\text{C}$) oder gefroren ($-20\text{ }^{\circ}\text{C}$) gelagert werden. Das Einfrieren führte jedoch gegenüber einer Lagerung bei $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ nicht zu weniger Speziesumwandlungen. Die Autoren beobachteten nach einer Lagerung einer mit Arsenspezies dotierten Urinprobe bei einer Lagertemperatur von $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ nach 8 Monaten einen vollständigen Verlust an As(V) , Abnahmen von MMA und DMA, eine Zunahme von As(III) und das Entstehen einer unbekanntes Arsenspezies. HALL et al. [58] zeigten, dass die Konzentrationen von As(III) und As(V) in Wasserproben bei einer Lagertemperatur von $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ über einen Zeitraum von etwa 30 Tagen nicht verändert wurden.

AGGETT und KRIEGMAN [61] erzielten die beste Stabilität von As(III) und As(V) in Porenwässern aus Sedimenten bei einer Lagertemperatur nahe $0\text{ }^{\circ}\text{C}$, ohne dass die Proben eingefroren wurden. Während COBO et al. [62] bei wässrigen Lösungen von Selenit und Selenat

eine Lagertemperatur von -20 °C empfehlen, erzielten MUNOZ OLIVAS et al. [63] beste Haltbarkeiten von organischen Selenspezies im Dunkeln bei 4 °C und 20 °C.

Die Analyse von Urinproben sollte an frischen Proben durchgeführt werden, um eine Zersetzung zu vermeiden. Bis zu 48 Stunden kann eine Kühlung von Urinproben bei 2 bis 8 °C die Zersetzung von Bestandteilen des Urins verhindern [55]. FELDMANN et al. [60] zeigten, dass die Zugabe von konservierenden Substanzen (Natriumazid, Benzoesäure, Benzyltrimethylammoniumchlorid, Cetylpyridiniumchlorid) die Stabilität von Arsenverbindungen in Urin nicht verbessert.

3.2 Probenvorbereitung

Um Elementspezies flüssigkeits- oder gaschromatographisch zu trennen, müssen sie gelöst oder gasförmig vorliegen. Probenvorbereitungsschritte, welche die Spezies unter Erhalt der Speziesinformation möglichst quantitativ aus festen Proben in die gelöste oder gasförmige Form überführen, sind für die Analyse von Elementspezies von großer Bedeutung. Bei einer Vielzahl der veröffentlichten Arbeiten wurde keine quantitative Extraktion von Elementspezies aus festen Proben erreicht.

Zur Extraktion von Arsenspezies aus marinen Proben wie Fischen und Muscheln wurden bisher überwiegend Mischungen aus Methanol und Wasser eingesetzt [64, 65, 66, 67, 68, 69, 70]. Die erzielten Extraktionsausbeuten sind von dem untersuchten Material und der Probenvorbereitung abhängig. ALBERTI et al. [66] extrahierten mit Hilfe von Methanol/Wasser (50/50, v/v) 54 % des Arsens aus dem zertifizierten Muschel-Referenzmaterial BCR CRM 278 und 96 bis 97 % des Arsens aus den zertifizierten Fisch-Referenzmaterialien BCR CRM 422 und NRC DORM-1. LONDESBOROUGH et al. [71] verwendeten deionisiertes Wasser zur Extraktion von Arsen aus Fischproben.

Heißes Wasser wurde von BIRD et al. [72] und CASIOT et al. [32, 73] zur Extraktion von Selenspezies aus Hefe eingesetzt. Es wurden nur etwa 10 % des gesamten Selens extrahiert. Selenspezies wurden mit Methanol/Wasser (50/50, v/v) von LE et al. [74] aus Fisch und von EMTEBORG et al. [75] aus weißem Klee extrahiert. Die letztgenannten Autoren erzielten Extraktionsausbeuten von 30 %.

Die nach der Extraktion erhaltenen Lösungen wurden durch Zentrifugation von den Feststoffen getrennt. Die eingesetzten organischen Lösungsmittel wurden in den meisten Fällen am Rotationsverdampfer oder mit einem Inertgasstrom verdampft, bevor der Rückstand mit Wasser aufgenommen, filtriert und analysiert wurde.

Arsen und Antimon konnten bislang nicht quantitativ aus Boden-, Flugasche- und Sedimentproben extrahiert werden. Es wurden unterschiedliche Extraktionsmittel eingesetzt. Oftmals wurde Energie in Form von Ultraschall- oder Mikrowellen zugeführt. Wasser wurde von PONGRATZ [13] zur Extraktion von Arsenspezies aus Bodenproben, von MOK und WAI [49] zur Extraktion von Arsen- und Antimonspezies aus Sedimenten und von JACKSON und MILLER [76] zur Extraktion von Arsen- und Selenspezies aus Flugasche eingesetzt. Die letzteren Autoren geben Extraktionsausbeuten von 0,3 bis 19 % für Arsen und 1 bis 63 % für Selen an. SILBERMAN und HARRIS [77] extrahierten Arsenspezies aus Flugasche mit Natriumcitrat und weitere Arsenspezies aus dem Rückstand mit Schwefelsäure (0,25 mol/L). Phosphorsäure wurde von THOMAS et al. [10] zur Extraktion von Arsenspezies aus Boden- und Sedimentproben eingesetzt. Die Extraktionsausbeuten lagen zwischen 41 und 77 %. Mit einer phosphathaltigen Lösung extrahierten MANNING und MARTENS [78] Arsenspezies aus den zertifizierten Referenzmaterialien NRC MESS-1 und NRC PACS-1. Es wurden Extraktionsausbeuten von 0,5 und 2,2 % erzielt. Die Autoren folgerten, dass der größte Teil des Arsens stark an die feste Phase gebunden war. BISSEN und FRIMMEL [79] extrahierten Arsenspezies aus zwei kontaminierten Bodenproben mit Wasser und Lösungen aus Ammoniumoxalat, Natriumhydrogencarbonat und Natriumcarbonat. Aus einer Probe wurden nur maximal 0,04 %, aus der zweiten Probe maximal 20 % des gesamten Arsens extrahiert. TYSON [9] merkte an, dass die Extraktion von Arsenspezies aus Böden ohne Veränderung der Spezies schwierig ist.

3.3 Überblick über Analysetechniken zur Bestimmung von Elementspezies

Zur Bestimmung von Elementspezies in einer aus vielen Verbindungen bestehenden Matrix sind Kopplungstechniken geeignet. Diese Techniken sind aus eigenständigen, hintereinander geschalteten analytischen Modulen bestehende Systeme [1]. Mit ihrer Hilfe können Informationen erhalten werden, die über die Informationen der eigenständig angewandten Techniken hinausgehen. Die direkte Kopplung der Module, die auch als „on-line“-Kopplung bezeichnet wird, erfolgt über ein Interface. Speziesinformationen können zwar auch mit Hilfe eines nicht gekoppelten molekülselektiven Detektors wie z. B. der Massenspektrometrie erhalten

werden. Ohne ein vorgeschaltetes Trennmodul sind die Spektren, die bei der Analyse von Elementspezies in einer aus vielen Verbindungen bestehenden Matrix mit einem molekülselektiven Detektor erhalten werden, jedoch in der Regel sehr komplex und wenig aussagekräftig.

Für die Analyse von Spezies sind „on-line“-Kopplungstechniken, die aus einem Trennmodul und einem element- oder molekülselektiven Detektor bestehen, besonders geeignet, weil diese Techniken gegenüber „off-line“-Systemen die Vorteile von höheren Signalaufösungen und weniger Kontaminations- und Verlustgefahren besitzen [1, 80]. Zur Trennung kann u. a. die Gaschromatographie (GC), die Kapillarelektrophorese (CE) oder die Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) eingesetzt werden. Die zu trennenden Verbindungen, ihre Konzentration, die Probenmenge und die erforderliche chromatographische Auflösung bestimmen die Wahl des Trennmoduls.

Als elementselektiver Detektor kann z. B. die Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-MS [81, 82]), die optische Emissionsspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-OES [83]), die Atomemissionsdetektion mit Mikrowellen-induziertem Plasma (MIP-AED [84, 85]), die Atomabsorptionsspektrometrie (AAS [86, 87]) oder die Atomfluoreszenzspektrometrie (AFS [88]) verwendet werden. Während die ersteren drei Detektoren eine Multielementanalyse erlauben, ist mit den letzteren beiden nur eine Einzelelementdetektion möglich. Da bei diesen elementselektiven Detektoren die Strukturinformationen infolge der Atomisierung verloren gehen, muss die Identifizierung der Spezies über die Retentionszeiten erfolgen. Um Retentionszeiten vergleichen zu können, müssen Referenzstandards vorhanden sein. Während mit den elementselektiven Detektoren eine Identifizierung bisher unbekannter Spezies nicht möglich ist, kann diese mittels molekülselektiver Detektoren wie z. B. der Massenspektrometrie (MS [89, 90]) erfolgen, bei der Strukturinformationen erhalten bleiben. Die Empfindlichkeit molekülselektiver Detektoren ist jedoch in der Regel kleiner als diejenige von elementselektiven Detektoren.

Eine Trennung und Bestimmung von Spezies, die in unterschiedlichem Maße Hydride bilden können, ist mit einem gekoppelten System aus Fließinjektionsanalyse, elektrochemischer Hydriderzeugung und Atomabsorptionsspektrometrie möglich [91, 92]. In den folgenden Abschnitten wird die ICP-MS sowie die zur Trennung einsetzbaren Techniken wie die GC, CE und HPLC kurz vorgestellt.

3.3.1 Detektion mittels Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma

Die Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-MS) ist eine Analysenmethode, welche die Vorteile der hohen Empfindlichkeit, der Multielementfähigkeit, des weiten linearen Arbeitsbereichs und der Möglichkeit zur Bestimmung von Isotopenverhältnissen in sich vereinigt; sie stellt daher einen idealen Detektor bei gekoppelten Systemen zur Analyse von Elementspezies dar. Einzelheiten zu dieser Methode, deren prinzipiellem Aufbau und Einsatzmöglichkeiten werden u. a. von HOUK [93], KUB [94], VANDECASTEELE und BLOCK [95], KRAUSE [96], HAMESTER [97], ULRICH [98] und KERL [99] beschrieben, so dass im Folgenden nur einige grundlegende Aspekte genannt werden. Ein ICP-MS besteht aus einer Ionenquelle und einem Massenspektrometer, das eine Ionenoptik, einen Massenfilter und eine Detektionseinheit enthält.

Zur Erzeugung von Ionen wird bei der ICP-MS ein induktiv gekoppeltes Plasma (ICP) verwendet. Das Prinzip dieser Technik beruht auf der elektrodenlosen Erzeugung eines Plasmas durch induktive Energieeinkopplung eines hochfrequenten Wechselfeldes auf ein kontinuierlich strömendes Gas in einer Plasmafackel. Die Fackel besteht aus drei konzentrischen Rohren. Durch das innere, aus Aluminiumoxid oder Glas bestehende Rohr wird der Analyt als Aerosol in das Plasma transportiert. Durch die äußeren, aus Quarz bestehenden Rohre strömt Argon als „Hilfsgas“ und „Kühlgas“. Der äußere Gasstrom schützt die Rohrwand vor zu starker Erwärmung. Die um die Fackel liegende Spule erzeugt ein Hochfrequenzfeld, in dem sich nach dem Zünden Ladungsträger bewegen, die Energie aus dem Wechselfeld aufnehmen und bei Zusammenstoßen mit Atomen Energie auf diese übertragen. Die durch diese Prozesse entstehende Aufheizung des Gases auf 6000 bis 10000 K bewirkt eine Atomisierung und Ionisierung der Probenbestandteile.

Die Ionen gelangen aus dem bei Atmosphärendruck betriebenen Plasma über ein Interface, bestehend aus zwei hinter einander angeordneten Konen („Sampler“ mit ca. 1 mm \varnothing Öffnung und „Skimmer“ mit ca. 0,8 mm \varnothing Öffnung), in das Hochvakuum (etwa 10^{-3} Pa) des Massenspektrometers. Der Raum zwischen den Konen wird mit Hilfe einer mechanischen Pumpe evakuiert. Der durch den Skimmer eintretende Ionenstrahl wird mit einem aus koaxialen Zylindern bestehenden System aus elektrostatischen Linsen (Ionenoptik) fokussiert, beschleunigt und von Atomen und Photonen getrennt. In einem Massenspektrometer werden die fokussierten Ionen entsprechend ihrem Verhältnis Masse/Ladung aufgetrennt. Es können sowohl Quadrupol-Massenspektrometer als auch Sektorfeld-Massenspektrometer eingesetzt werden.

In einem Quadrupol-Massenspektrometer befindet sich ein Massenfilter, der aus vier zylindrischen Metall-Stäben besteht, die symmetrisch um die Hauptachse angeordnet sind. An diese Stäbe werden überlagerte Gleich- und Wechselspannungen derart angelegt, dass gegenüberliegende Stäbe die gleiche und benachbarte Stäbe die entgegengesetzte Polung aufweisen. Bei einer bestimmten Kombination der Gleich- und Wechselspannungen können nur Ionen mit einem bestimmten Verhältnis Masse/Ladung das entstehende elektrostatische Wechselfeld passieren. Alle anderen Ionen werden stark abgelenkt und gelangen nicht zur Detektionseinheit. In einem Sektorfeld-Massenspektrometer werden die Ionen in einem magnetischen und elektrischen Sektorfeld entsprechend den Masse/Ladungs-Verhältnissen aufgetrennt. Mit Sektorfeld-Massenspektrometern (ICP-SFMS) kann gegenüber Quadrupol-Geräten entweder im Betrieb mit kleiner Auflösung ($m/\Delta m \approx 300$) eine weitere Verbesserung der Nachweisgrenzen oder im höheraufgelösten Betrieb ($m/\Delta m \approx 3000$ oder $m/\Delta m \approx 9000$) eine weitgehende Beseitigung von spektralen Interferenzen erzielt werden.

Die Ionen, die den Massenfilter passiert haben, können mit einem Deflektor, an dem eine Spannung anliegt, rechtwinklig zur Detektionseinheit umgelenkt werden. Die Detektion erfolgt mit einem Kanal-Elektronenvervielfacher (Channel Electron Multiplier, CEM). Die auf den CEM auftreffenden Ionen schlagen aus der Oberfläche mehrere Ionen heraus, welche in dem am CEM anliegenden elektrischen Feld beschleunigt werden und beim Auftreffen auf die Oberfläche wiederum Elektronen herausschlagen. Durch diesen sich wiederholenden Prozess können pro Ion bis zu 10^7 Elektronen freigesetzt werden. Der entstehende Spannungsimpuls wird elektronisch erfasst und ausgewertet.

Störungen können bei der ICP-MS durch spektrale und nicht spektrale Interferenzen entstehen. Zu den spektralen Interferenzen gehören isobare Interferenzen, die durch Überlagerungen unterschiedlicher Isotope gleicher Masse entstehen und durch geeignete Software korrigierbar sind, sowie Störungen durch die Bildung von Molekülionen oder doppelt geladenen Ionen. Durch die Probenmatrix verursachte nichtspektrale Interferenzen führen zu verminderten oder erhöhten Analytsignalen.

3.3.2 Trennung mittels Gaschromatographie

Durch „on-line“-Kopplungen zwischen Gaschromatographie (GC) und element- und molekülselektiven Detektoren können flüchtige, thermisch stabile Verbindungen bestimmt werden. Das grundlegende Prinzip der GC beruht auf der Verteilung des Analyten zwischen einer in der Regel flüssigen stationären Phase und der mobilen Phase. Als mobile Phase dient ein Inertgas mit einer

kleinen Viskosität, welches die Analytmoleküle transportiert, aber nicht mit ihnen wechselwirkt. Um die chromatographische Auflösung zu verbessern, können Temperaturgradienten für die GC-Säule programmiert werden [100, 101]. Mittels GC ist eine bessere Auflösung bei der Trennung von Molekülen als mit der HPLC möglich.

Ein prinzipieller Nachteil der GC liegt darin, dass nur flüchtige und thermisch stabile Spezies oder Analyte, die durch Derivatisierung in solche überführbar sind, untersucht werden können. Zur Derivatisierung können z. B. die Hydridbildung oder die Alkylierung mit Tetraalkylboraten oder Grignard-Reagenzien eingesetzt werden [1, 100]. Bei einer Derivatisierung ist es notwendig, dass die Speziesinformationen eindeutig erhalten bleiben, dass keine Speziesumwandlungen - außer der gewünschten Derivatisierung - erfolgen und dass keine Kontaminationen auftreten.

Die Verbindung zwischen GC und dem „on-line“-gekoppelten Detektor besteht aus einer Transferlinie, die beheizt wird, um Kondensation zu vermeiden. Die Trennung und Bestimmung niedermolekularer organischer Elementspezies kann wegen der hohen Flüchtigkeit in vielen Fällen direkt erfolgen. Viele anorganische Spezies müssen jedoch vor der Trennung derivatisiert werden.

Mit einer Kopplung zwischen Niedertemperatur-GC und ICP-MS wurden leichtflüchtige Arsen-, Selen-, Zinn-, Antimon-, Tellur-, Quecksilber- und Bleispezies in Luft bestimmt, nachdem die Spezies in einer Kühlfalle angereichert wurden. Zu den untersuchten Spezies zählten u. a. Arsan, Monomethylarsan, Dimethylarsan, Trimethylarsan, Dimethylethylarsan, Triethylarsan, Dimethylselen, Stiban, Trimethylstiban, Dimethyltellur, Dimethylquecksilber, Zinn(IV)-hydrid, Tetramethylzinn, Methyl-, Dimethyl- und Trimethylzinnhydrid, Butyl- und Dibutylzinnhydrid sowie einige Tetraalkylbleispezies. Es wurden Gase einer Mülldeponie und eines Klärwerkes sowie Atemluft untersucht [81, 102, 103]. In Sedimenten und Kondensaten einer Mülldeponie konnten nach einer Hydridbildung mit Natriumborant Verbindungen bestimmt werden, die durch diese Derivatisierung in leichtflüchtige Spezies umgewandelt werden konnten [81, 104].

3.3.3 Trennung mittels Kapillarelektrophorese

Mit Hilfe der Kapillarelektrophorese (CE) können wie mit der HPLC auch nicht flüchtige ionische und hochmolekulare Verbindungen getrennt werden, die sich der Untersuchung mittels Gaschromatographie weitgehend entziehen. Zu den kapillarelektrophoretischen Trenntechniken zählen die Kapillaronenelektrophorese (CZE), die isoelektrische Fokussierung (IEF), die Kapillargelelektrophorese (CGE) und die Mizellarelektrokinetische Kapillarchromatographie

(MEKC). Während die Trennung geladener Teilchen bei der CZE nach der Ladung, bei der IEF nach dem isoelektrischen Punkt und bei der CGE im wesentlichen nach der Größe erfolgt, werden bei der MEKC auch neutrale Teilchen nach ihren hydrophoben Eigenschaften getrennt [105]. Die Darstellung der detektierten Signale als Funktion der Zeit wird nicht wie bei der HPLC als Chromatogramm, sondern als Elektropherogramm bezeichnet. Die Zeiten, bei denen die Signale detektiert werden, heißen - im Gegensatz zu den Retentionszeiten der HPLC - Migrationszeiten.

Der elektrophoretische Prozess wird durch zwei, sich überlagernde Effekte bestimmt, nämlich den elektroosmotischen Fluss (EOF) und die elektrophoretische Mobilität [106]. Die Ursache des elektroosmotischen Flusses liegt in einer Ionisierung der Silanolgruppen an der inneren Oberfläche der Quarzkapillaren. Ein resultierender Überschuss an Kationen im Inneren der Kapillare wandert mit seinen Hydrathüllen zur Kathode, die in das Auslasspuffergefäß eintaucht. Durch diese Bewegung entsteht der elektroosmotische Fluss, der beim normalen Betrieb des Systems vom Einlasspuffer- zum Auslasspuffergefäß gerichtet ist. Während das durch Druckdifferenzen entstehende hydrodynamische Flussprofil eine parabolische Form besitzt, ist das Profil des elektroosmotischen Flusses stempelförmig. Dieses Strömungsprofil minimiert eine Verbreiterung der Analytzone und ist eine Ursache für die hohe Trennleistung der Kapillarelektrophorese. Bei der CZE erfolgt die Trennung der Analytmoleküle im elektrischen Feld aufgrund ihrer unterschiedlichen elektrophoretischen Mobilitäten, die durch die Ladung und Größe der Moleküle bestimmt wird. Während neutrale Moleküle mit dem elektroosmotischen Fluss durch die Kapillare wandern, bewegen sich Anionen langsamer und Kationen schneller durch die Kapillare.

Neben dem Vorteil der hohen Trennschärfe besitzt die CE jedoch aufgrund kleinerer Injektionsvolumina (im nL-Bereich) als wesentlichen Nachteil gegenüber der HPLC geringere Empfindlichkeiten [107]. Durch eine Kopplung der CE mit der nachweisstarken ICP-MS, insbesondere der Sektorfeld-Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-SFMS) kann dieser Nachteil z. T. kompensiert werden. Bei diesen Kopplungen wird das Ende der Kapillare in ein Interface eingeführt, in dem eine Zerstäubung der austretenden Flüssigkeit und ein Transport dieser Flüssigkeit zum Plasma erfolgt. In diesem Interface muss der elektrische Stromkreis geschlossen werden.

Um eine effektive Zerstäubung der Flüssigkeit zu erzielen und um den Stromkreis zu schließen, wird in der Regel ein Hilfelektrolyt im Interface zugeführt. In der Literatur beschriebene Interfaces basieren auf einem Meinhard-Zerstäuber [108, 109, 110, 111, 112, 113], einem Direktinjektions-Zerstäuber [114], einem Ultraschallzerstäuber [115, 116] oder einem Mikro-konzentrischen Zerstäuber [117, 118, 119, 120]. Bislang konnten mit gekoppelten Systemen von CE und ICP-MS u. a. die folgenden Spezies der Elemente Chrom, Eisen, Arsen, Selen, Antimon,

Tellur und Platin getrennt und detektiert werden: Cr(III), Cr(VI), Fe(II), Fe(III), As(III), As(V), DMA, MMA, Se(IV), Se(VI), Sb(V), Te(IV), Te(VI), Pt(IV), Pt(VI). Es wurden Nachweisgrenzen erzielt, die zwischen 0,02 und 1000 µg Element/L lagen.

3.3.4 Trennung mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie

Das Prinzip der Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC), die auch als Hochdruckflüssigkeitschromatographie bezeichnet wird, beruht auf der Verteilung des Analyten zwischen einer stationären Phase und der kontinuierlich strömenden flüssigen mobilen Phase. Die mobile Phase wird auch als Eluent bezeichnet. Einzelheiten dieser Methode werden unter anderem von SKOOG und LEARY [121], UNGER und WEBER [122] und MEYER [123] beschrieben; daher wird im Folgenden nur auf einige grundlegende Aspekte eingegangen.

Die HPLC ermöglicht Trennungen unter sehr schonenden physikalischen und chemischen Bedingungen. Im Gegensatz zur Gaschromatographie können Probenaufgabe und Trennung bei Raumtemperatur oder darunter erfolgen, so dass eine thermische Beanspruchung der Verbindungen vermieden wird. Es können insbesondere auch nicht flüchtige ionische und hochmolekulare Verbindungen getrennt werden, die sich einer gaschromatographischen Trennung weitgehend entziehen. Es sind keine Derivatisierungen nötig. Ein Nachteil der HPLC liegt jedoch darin, dass die Signalbreiten deutlich größer als bei der Gaschromatographie oder Kapillarelektrophorese sind. Um die chromatographische Auflösung zu erhöhen, kann die mobile Phase in Form eines Gradienten während des chromatographischen Laufs verändert werden. Die eingesetzten Probenvolumina liegen in der Regel zwischen 10 und 100 µL.

HPLC-Pumpen und stationäre Phasen, bei denen alle mit der mobilen Phase in Berührung kommenden Teile aus metallfreien Werkstoffen gefertigt wurden, sind kommerziell erhältlich. Bei diesen Systemen ist die Kontaminationsgefahr durch Metalle gegenüber herkömmlichen Systemen minimiert. Während der chromatographischen Trennung müssen Speziesumwandlungen vermieden werden, die durch Wechselwirkungen zwischen Analyt und stationärer oder mobiler Phase verursacht werden und zu einem Verlust der Speziesinformation führen. Je nach dem Trennproblem können unterschiedliche Arten wie die Ionenaustausch-, Umkehrphasen-, Ionenpaar- oder Größenausschluss-Chromatographie eingesetzt werden. Aufgrund der genannten Vorteile ist die HPLC ein geeignetes Trennmodul für die Analyse von insbesondere schwerflüchtigen und ionischen Elementspezies.

3.3.4.1 HPLC als Trennmodul bei der Analyse von Elementspezies

Ein gekoppeltes System zur Analyse von Elementspezies, welches die HPLC als Trennmodul verwendet, besteht aus einer HPLC-Pumpe, einem Probenaufgabeeventil, einer Vorsäule, der Trennsäule, dem Interface und einem element- oder molekülselektiven Detektor. Als elementselektiver Detektor kann z. B. die Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-MS), die Atomabsorptionsspektrometrie (AAS), Atomfluoreszenzspektrometrie (AFS) oder die optische Emissionsspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-OES) eingesetzt werden. Zwischen HPLC und dem Detektor muss eine optimale Kompatibilität hergestellt werden, indem u. a. die Flussrate, die Zusammensetzung der mobilen Phase, der pH-Wert und die Ionenstärke der mobilen Phase so gewählt werden, dass ein Kompromiss zwischen optimaler Trennung und empfindlicher Detektion, d. h. hoher Aerosolausbeute, gefunden wird.

Mit atomabsorptionsspektrometrischen Detektionsmethoden kann in der Regel nur Einzel-elementanalytik betrieben werden. Kopplungstechniken mit der Flammen-AAS (F-AAS) besitzen gegenüber denjenigen mit der elektrothermischen AAS (ET-AAS) den Nachteil höherer Nachweisgrenzen. Quecksilber und hydridbildende Elemente wie Arsen, Selen und Antimon können mittels Hydrid-AAS (HG-AAS) detektiert werden. Im Gegensatz zur F-AAS und ET-AAS können jedoch bei der Hydridtechnik unterschiedliche Signalempfindlichkeiten für verschiedene Spezies eines Elements erhalten werden. Zum Teil können organisch gebundene Elemente nicht oder nur schlecht erfasst werden, weil sie keine Hydride bilden oder deren Bildung nur sehr langsam erfolgt [1]. Die AFS ist eine Monoelementmethode, die insbesondere für Quecksilber sehr empfindlich ist. HINTELMANN und WILKEN [88] beschreiben eine Kopplung zwischen HPLC und AFS zur Bestimmung von Quecksilberspezies.

Die ICP-OES besitzt den Vorteil der Multielementfähigkeit, ist jedoch gegenüber der ICP-MS weniger empfindlich. Vorteile der ICP-MS wie die hohe Empfindlichkeit, die Multielementfähigkeit, der weite lineare Arbeitsbereich und die Möglichkeit zu Isotopenverhältnisbestimmungen machen sie zu einem idealen Detektor bei der Kopplung mit der HPLC.

Als Verbindung zwischen HPLC und ICP-MS dient ein Interface, das die Analytmoleküle aus dem Eluat in das induktiv gekoppelte Plasma überführt. Dieses Interface sollte möglichst totvolumenarm sein, um Signalverbreiterungen zu minimieren. Es besteht aus einem möglichst dünnen und kurzen Schlauch aus Polytetrafluorethylen (PTFE) oder Polyetheretherketon (PEEK) und aus einem geeignetem Zerstäuber. Pneumatische Zerstäuber wie z. B. „Cross-Flow“-, Meinhard-, oder V-Spalt-Zerstäuber arbeiten wie Ultraschallzerstäuber [124] oder hydraulische Hochdruckzerstäuber [125] bei optimalen Flussraten um ca. 1 mL/min. Sie ermöglichen daher den

Einsatz von Standard-HPLC-Säulen mit einem Innendurchmesser von etwa 4 mm. Dagegen können Direkt-Injektions-Zerstäuber [126] oder Mikrokonzentrische Zerstäuber [127] als Zerstäuber bei der Verwendung von „Microbore“-HPLC-Säulen, die einen Innendurchmesser von etwa 1 mm besitzen und bei Flussraten von etwa 0,01 bis 0,1 mL/min betrieben werden, eingesetzt werden. Während herkömmliche pneumatische Zerstäuber nur kleine Aerosolausbeuten (1 bis 3 %) liefern, erfolgt bei einem Ultraschallzerstäuber, Direkt-Injektions-Zerstäuber oder hydraulischen Hochdruckzerstäuber eine effektivere Zerstäubung (10 bis 100 %); die drei letztgenannten Zerstäuber sind jedoch störanfälliger und teurer als pneumatische Zerstäuber [1]. Der schematische Aufbau einer HPLC/ICP-MS-Kopplung ist in Abb. 1 dargestellt.

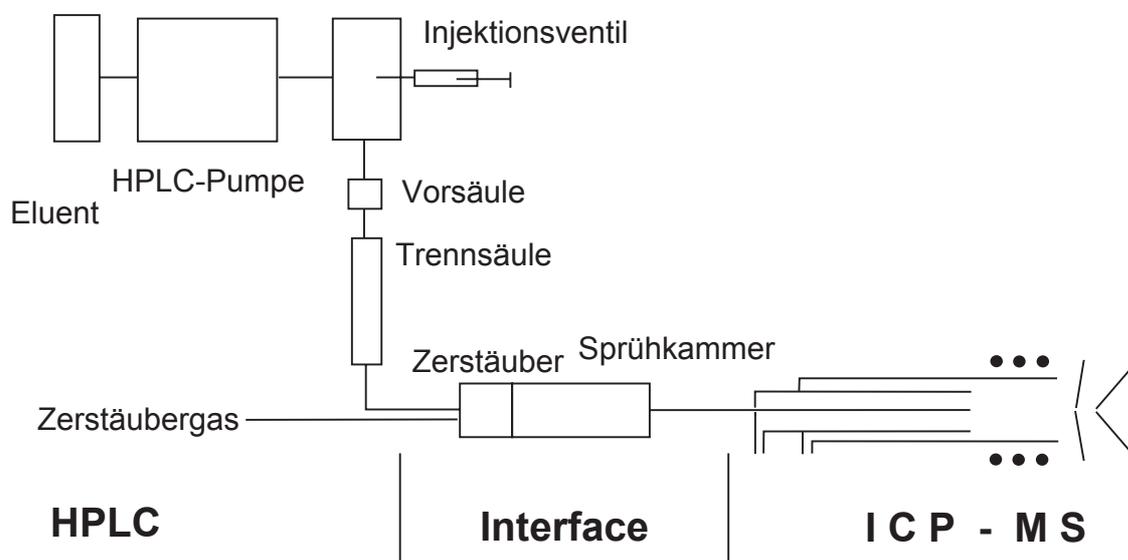


Abb. 1: Schematischer Aufbau einer HPLC/ICP-MS-Kopplung

Molekülselektive Detektoren wie z. B. die MS besitzen gegenüber elementselektiven Detektoren den Vorteil, dass in Realproben auch unbekannte Spezies identifiziert werden können. Ein wesentlicher Nachteil einer HPLC/MS-Kopplung liegt jedoch in der kleineren Empfindlichkeit gegenüber einer Detektion mittels ICP-MS. PERGANTIS et al. [128] erreichten bei einer HPLC/MS-Kopplung in Verbindung mit Elektrospray-Ionisierung Nachweisgrenzen für 10 Arsenspezies, die je nach Ionisierbarkeit zwischen 2 und 300 µg Arsen/L lagen.

3.3.4.2 Anwendungen der HPLC/ICP-MS zur Analyse von Elementspezies

Gekoppelte Systeme aus HPLC und ICP-MS wurden sowohl im Umwelt- als auch im klinischen Bereich und in der Pharmazie angewendet. Im Bereich der Umweltanalytik wurden bislang Spezies der Elemente Arsen, Selen, Chrom, Zinn, Antimon, Quecksilber und Blei untersucht. An Huminstoffe gebundene Schwermetalle konnten ebenfalls analysiert werden [129, 130, 131, 132, 133]. KERL et al. [134] bestimmten die Gehalte von Lanthanoiden mittels HPLC/ICP-MS, um durch die chromatographische Trennung isobare Interferenzen bei der massenspektrometrischen Detektion zu vermeiden. Zu den klinischen Anwendungsmöglichkeiten gehört die Untersuchung von Metallen wie Fe, Cu, Zn, Se, Cd, Pb, die an unterschiedliche Proteine im Plasma, Serum oder Urin gebunden sind [135, 136, 137, 138, 139]. In der analytisch-chemischen Forschung werden einige Anwendungen von HPLC/ICP-MS-Kopplungen zur Untersuchung von metallhaltigen Pharmaka und deren Metaboliten beschrieben [140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149].

Obwohl die Multielementfähigkeit der ICP-MS die Analyse von Spezies mehrerer Elemente ermöglicht, wurde die HPLC/ICP-MS bislang fast ausschließlich zur Bestimmung von Spezies eines Elements eingesetzt. Erst in jüngster Zeit gewinnt die gleichzeitige Bestimmung von Spezies mehrerer Elemente wie z. B. Arsen und Selen [54, 150, 151, 152] zunehmend an Bedeutung.

Zu den in Wässern, Urin, Wein und Fischextrakten mittels HPLC/ICP-MS untersuchten Arsenspezies gehören u. a. As(III), As(V), Monomethylarsensäure, Dimethylarsinsäure, Arsenobetain und Arsenocholin [126, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161]. Zur Trennung dieser Verbindungen wurde die HPLC in der Regel mit Anionenaustauschsäulen oder im Ionenpaarmodus betrieben. Bei der Anionenchromatographie wurden phosphat- oder carbonathaltige Puffer eingesetzt. Als Anionenpaarreagenzien wurden Tetrabutylammonium-, Heptyltriethylammonium- oder Cetyltrimethylammoniumsalze verwendet. Die angegebenen Nachweisgrenzen lagen zwischen 0,01 und 25 µg Arsen/L. Da die Bestimmung von Arsen in einer Chlorid-Ionen enthaltenden Matrix wie Seewasser, Serum oder Urin durch das Molekülion ArCl^+ gestört wird, sollte eine gleichzeitige Elution von Chlorid-Ionen und den Arsenspezies vermieden werden.

In Wässern, Serum, Urin und Extrakten aus Fischen und Hefe wurden bisher u. a. die Selenpezies Selenit, Selenat, Selenomethionin und Selenocystin untersucht [72, 125, 139, 162, 163, 164, 165]. Sowohl Anionenaustauschsäulen mit einem Puffersystem, das Salicylat-, Carbonat- oder Phosphat-Ionen enthielt, als auch Umkehrphasen mit einem Tetrabutylammoniumsalz in der mobilen Phase wurden eingesetzt. Die angegebenen Nachweisgrenzen liegen zwischen 0,1 und

10 µg Selen/L. Selenomethionin, -cystin und das Trimethylselenonium-Kation wurden mit Natriumpentylsulfonat als Ionenpaarreagenz chromatographisch getrennt [166].

Bislang existieren nur wenige Arbeiten, welche die Untersuchung von Antimonspezies beschreiben. Die Trennung und Bestimmung von zwei der drei Spezies Sb(III), Sb(V) und $(\text{CH}_3)_3\text{Sb}^{2+}$ erfolgte mittels Anionenchromatographie [50, 167, 168, 169]. Alle drei Spezies wurden von ULRICH [51] bestimmt.

4 Methodische Entwicklungen zur Bestimmung von Elementspezies

In diesem Kapitel werden die methodischen Entwicklungen dargestellt, die in dieser Arbeit durchgeführt wurden, um eine simultane Bestimmung von Spezies der Elemente Arsen, Selen, Antimon und Tellur zu ermöglichen. Zur Trennung der ionischen und nicht flüchtigen Spezies wurde die HPLC (Waters 626 der Fa. WATERS) eingesetzt. Die Detektion erfolgte „on-line“ mittels ICP-QMS (Elan 5000 der Fa. PERKIN-ELMER SCIEX) als elementselektivem Detektor, da mit dieser Technik die zu untersuchenden Elemente quasi-simultan mit hoher Empfindlichkeit detektiert werden können. Im Folgenden wird beschrieben, wie die Kopplung zwischen diesen beiden Systemen realisiert wurde, und wie die Parameter der HPLC und ICP-MS optimiert wurden.

4.1 Technische Realisierung des gekoppelten Systems HPLC/ICP-QMS

Die Kopplung zwischen HPLC und ICP-QMS wurde realisiert, indem die Chromatographie-Säule der HPLC über eine kurze Kapillare aus Polytetrafluorethylen (PTFE, 15 cm lang, 0,3 mm innerer Durchmesser, 1,6 mm äußerer Durchmesser) mit einem „Cross-Flow“-Zerstäuber verbunden wurde. Das mit dem Zerstäuber aus der mobilen Phase erzeugte Aerosol wurde über eine kühlbare Sprühkammer in das Plasma der ICP-MS eingebracht. Um Signalverbreiterungen zu vermeiden, wurde eine Kapillare mit einem kleinen Totvolumen verwendet. Durch den Einsatz des „Cross-Flow“-Zerstäubers konnten mobile Phasen mit einem hohen Salzgehalt (bis zu 2 % m/v) für die HPLC verwendet werden, ohne dass Verstopfungseffekte am Zerstäuber auftraten, welche die Stabilität des Systems negativ beeinflussen würden.

Eine kühlbare Sprühkammer wurde eingesetzt, um auch mobile Phasen verwenden zu können, die ein organisches Lösungsmittel enthielten. Störungen der ICP-MS, die durch organische Lösungsmittel verursacht werden, liegen in Kohlenstoffablagerungen an den Konen, Störungen durch kohlenstoffhaltige Molekülen und in Plasmainstabilitäten, welche bis hin zu einem Verlöschen des Plasmas führen können. Durch eine Kühlung der Sprühkammer wird der Dampfdruck des organischen Lösungsmittels vermindert und der Eintrag des Lösungsmittels in das Plasma reduziert.

Beim Betrieb der ICP-MS ohne Kopplung an die HPLC wird Argon als Zerstäubergas eingesetzt. Um die genannten Probleme organischer Lösungsmittel verhindern zu können, wurde in die Zerstäubergas-Leitung ein „T-Stück“ eingebaut, über das dem Argon mit Hilfe eines Massendurchflussreglers 0 - 20 % (v/v) Sauerstoff zudosiert werden konnte. Der Sauerstoff bewirkt eine Oxidation des Lösungsmittels und eine Vermeidung der beschriebenen Probleme. Falls Sauerstoff zugefügt wird, ist es zur Verhinderung von Korrosion notwendig, am ICP-MS Konen (Sampler und Skimmer) aus Platin zu verwenden. Eine Verbesserung der Plasmastabilität konnte durch eine Erhöhung der Plasmaleistung auf 1200 W erzielt werden. Bei dieser Leistung wurde durch die Kühlung der Sprühkammer auf $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$ und das Zumischen von 7 % (v/v) Sauerstoff zum Zerstäubergas die Verwendung von bis zu 100 % Methanol oder 70 % Acetonitril (v/v) ermöglicht, ohne dass Plasmainstabilitäten oder störende Rußablagerungen auftraten. Ein schematisches Bild des gekoppelten Systems ist in Abb. 2 dargestellt. Abb. 3 (Seite 23) zeigt das System im Einsatz.

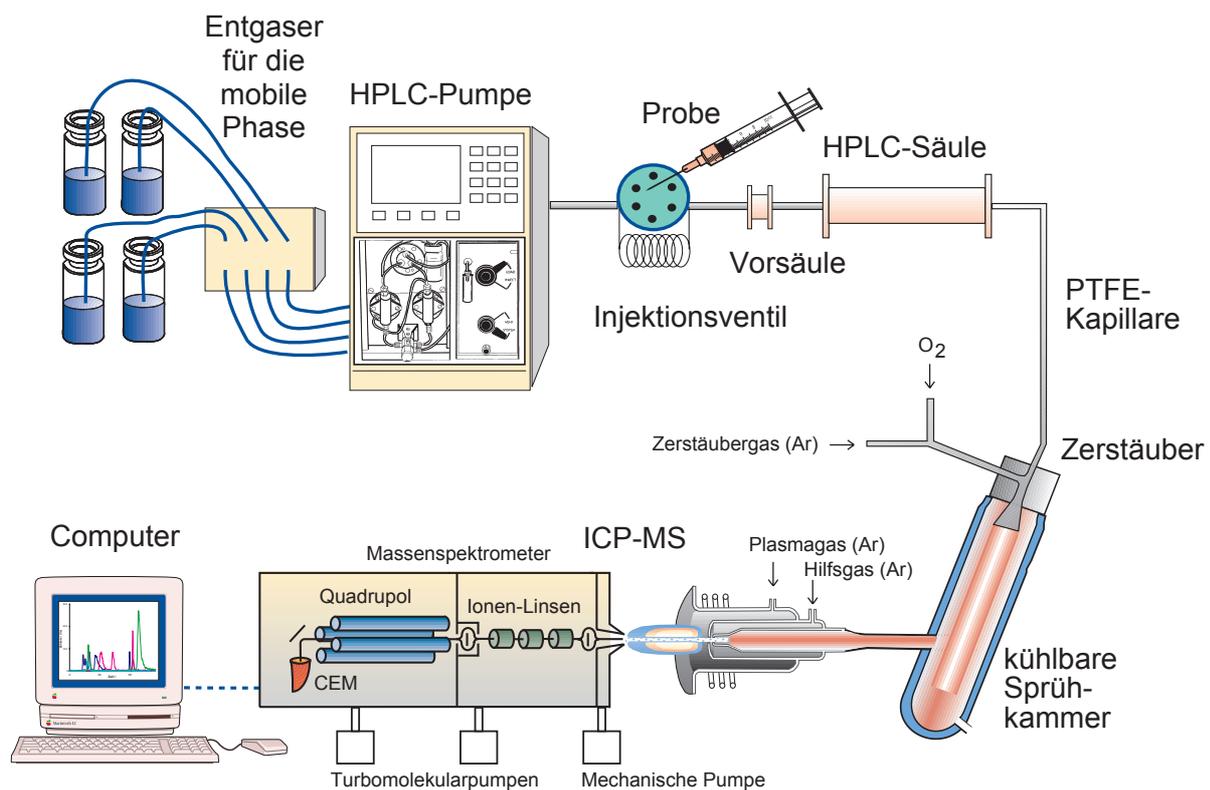


Abb. 2: Schematischer Aufbau des gekoppelten Systems HPLC/ICP-MS

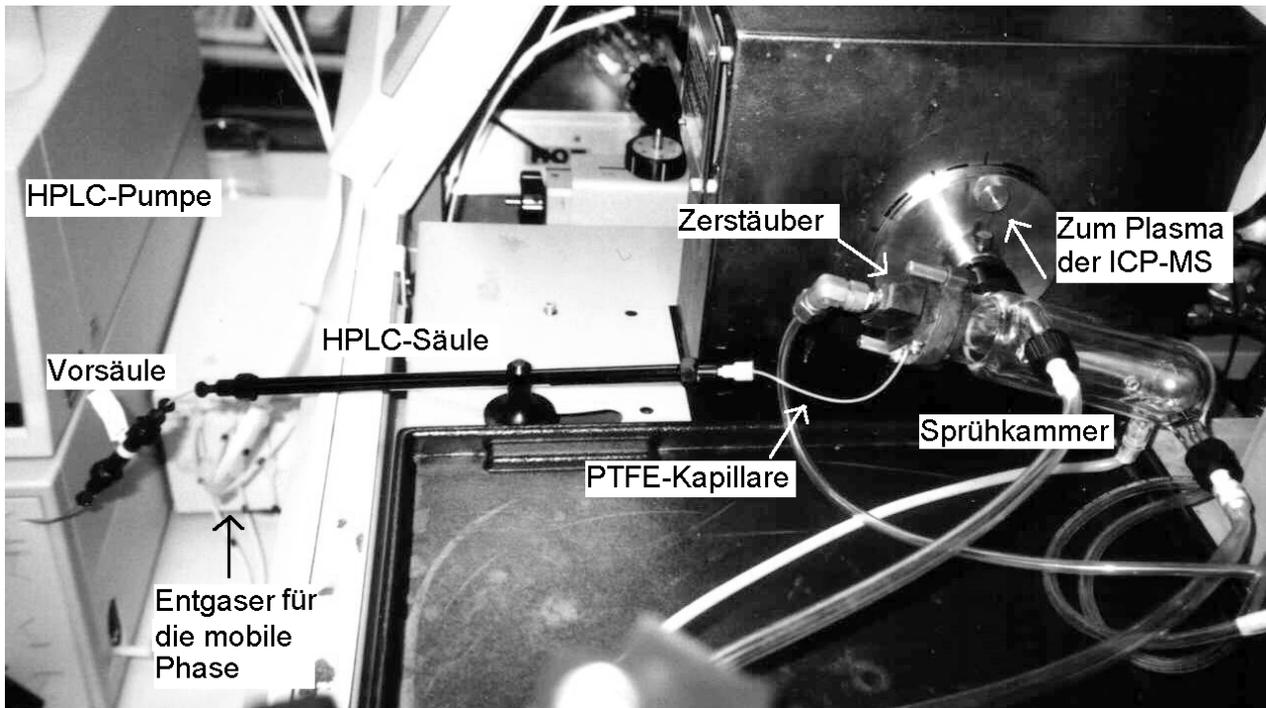


Abb. 3: Apparativer Aufbau des gekoppelten Systems HPLC/ICP-MS

4.2 Optimierung des chromatographischen Systems zur Trennung von Spezies der Elemente Arsen, Selen, Antimon und Tellur

Um Spezies der Elemente Arsen, Selen, Antimon und Tellur zu trennen, wurde ein HPLC-System eingesetzt. Alle mit der mobilen Phase in Berührung kommenden Teile des Systems waren zur Vermeidung von Kontaminationen aus metallfreien Werkstoffen gefertigt. Mit der verwendeten HPLC-Pumpe konnten veränderbare Mischungen aus bis zu vier Lösungen niederdruckseitig gemischt und gefördert werden. Die untersuchten Proben wurden über ein Injektionsventil in das System eingebracht. Die als mobile Phasen verwendeten Lösungen wurden durch einen Entgaser geleitet, um gelöste Gase zu entfernen.

In Vorversuchen wurde der Einsatz sowohl der Ionenpaarchromatographie als auch der Ionenaustauschchromatographie getestet. Für die Ionenpaarchromatographie wurde eine RP-18-Umkehrphase (Chromspher 5, 400 x 3 mm, Fa. CHROMPACK) als stationäre Phase verwendet. Als mobile Phase wurden Mischungen aus Wasser, Methanol und Tetrabutylammoniumhydrogensulfat als Anionenpaarreagenz eingesetzt. Um Störungen durch das organische Lösungsmittel zu vermeiden, musste die Sprühkammer auf 0 °C gekühlt, 2 % Sauerstoff zum

Zerstäubergas zugefügt, die Plasmaleistung auf 1200 W erhöht und Sampler- und Skimmerkonen aus Platin verwendet werden (siehe Abschnitt 4.1, Seite 21).

Da die Trennung der untersuchten Elementspezies bei dem Einsatz der Ionenpaarchromatographie stark von der Matrix abhängig war, wurde in weiteren Versuchen die Einsatzfähigkeit der Ionenchromatographie mit unterschiedlichen Anionenaustauschchromatographie-Säulen („IonPak AS 14“ und „IonPak AS 4A-SC“ der Fa. DIONEX und „IC-PAK Anion Column“ der Fa. WATERS) untersucht. Bei diesen Säulen war der Einsatz von organischen Lösungsmitteln in der mobilen Phase nicht erforderlich. Die HPLC-Säulen von DIONEX besitzen gegenüber den Säulen anderer Hersteller den Vorteil, dass die mit der mobilen Phase in Berührung kommende Säulenummantelung aus Polyetheretherketon (PEEK) besteht. Eine Kontamination durch Metallionen wird bei diesem Material vermieden.

Da mit der IonPak AS 14 insbesondere bei kleinen Retentionszeiten, bei denen die Arsenspezies Arsenobetain, As(III), DMA und MMA eluiert wurden, bessere Signalaufösungen als mit den anderen untersuchten HPLC-Säulen erzielt werden konnten, wurden die weiteren System-Optimierungen mit dieser Säule durchgeführt. Die Säule besteht aus einem oberflächensulfoziierten Substrat auf Basis von Ethylvinylbenzol/Divinylbenzol mit einem Teilchendurchmesser von 9 µm und porösen, als „Latex-Teilchen“ bezeichneten Polymer-Teilchen, die einen Durchmesser von ca. 0,1 µm aufweisen und als funktionelle Gruppen quartäre Ammoniumgruppen besitzen. Die Latex-Teilchen sind durch elektrostatische Wechselwirkungen an die Oberfläche des Substrats gebunden. Aufgrund des kleinen Durchmessers der Latex-Teilchen erfolgen die Austauschprozesse mit den Analytmolekülen schnell.

Eine Flussrate der mobilen Phase von 1,0 mL/min war sowohl für eine optimale Trennleistung der Säule als auch für eine effektive Zerstäubung am „Cross-Flow-Zerstäuber“ zum Probeneintrag am ICP-MS geeignet. An der Säule entstand bei dieser Flussrate ein Gegendruck von etwa 10 MPa.

4.2.1 Optimierung der mobilen Phase

Die Wahl der mobilen Phase ist entscheidend für eine Trennung der Spezies innerhalb möglichst kurzer Zeiten mit hoher Auflösung. Mehrere Arbeitsgruppen berichteten über eine starke Rückhaltung von Sb(III) auf HPLC-Säulen [50, 167, 168]. SMICHOWSKI et al. [168] beobachteten, dass das chromatographische Verhalten von Sb(III) von dem Salz abhängig war, aus dem die Standardlösungen hergestellt wurden, falls mobile Phasen verwendet wurden, die

Phosphat oder *p*-Hydroxybenzoesäure enthielten. Während bei diesen mobilen Phasen Antimonige Säure zusammen mit Sb(V) eluierte, wurde Sb(III) in Form von Kaliumantimontartrat stark von der Säule zurückgehalten. Derartige Effekte müssen berücksichtigt werden, um mögliche Fehler erkennen zu können, die durch unterschiedliche Formen von Sb(III) in Proben und Standards verursacht werden.

Als mobile Phase wurde in dieser Arbeit eine wässrige Lösung aus Ammoniumhydrogencarbonat verwendet, deren pH-Wert mit wässrigem Ammoniak eingestellt wurde. Diese Lösung besitzt gegenüber anderen mobilen Phasen, die z. B. aus einem Phosphat-Puffersystem bestehen, den Vorteil, dass unter den Bedingungen im Plasma eine Umsetzung in gasförmiges Ammoniak, Kohlendioxid und Wasser erfolgt, so dass die Konen der ICP-MS keiner starken Partikeleinwirkung ausgesetzt werden. Ein hoher Partikeleintrag kann zu Salzablagerungen, Erosion und Korrosion an den Sampler- und Skimmer-Konen führen. Solche Effekte wurden in dieser Arbeit selbst nach mehrtägigem Betrieb nicht beobachtet. Die Vermeidung von Salzablagerungen ist erforderlich, um eine Langzeitstabilität des Systems zu erzielen.

Durch Veränderungen der Konzentration der Hydrogencarbonat-Ionen und des pH-Werts konnte eine starke Rückhaltung von Sb(III) auf der Säule nicht vermieden werden. Um diesen Effekt zu verhindern, wurde der Zusatz von komplexierenden Reagenzien wie Weinsäure, Ethylendiamintetraacetat (EDTA), Phthalsäure und Malonsäure bei unterschiedlichen Konzentrationen und pH-Werten untersucht. Durch die Zugabe von EDTA zur mobilen Phase konnte die Elution von Sb(III) aus der Säule verbessert werden; es trat aber weiterhin eine starke Signalverbreiterung auf. Bei einer Zugabe von Phthalsäure oder Malonsäure konnte zwar die Retentionszeit von Sb(III) verkürzt werden, aber bei kleinen Konzentrationen (0,5 mmol/L) dieser Reagenzien trat eine starke Signalverbreiterung auf, während bei höheren Konzentrationen (2 bis 5 mmol/L) keine Trennung von Sb(III) und Sb(V) möglich war.

Die besten Resultate wurden durch die Zugabe von Weinsäure erzielt. Bei einer Konzentration von 3 mmol/L lag die Retentionszeit von Sb(III) bei etwa 19 min. Durch eine Erhöhung der Konzentration auf 10 mmol/L konnte diese Zeit auf 12 min verkürzt und die Halbwertsbreite von Sb(III) auf etwa 3 min halbiert werden. Da unter isokratischen Bedingungen bei dieser höheren Konzentration jedoch die Arsenspezies mit kleineren Retentionszeiten (Arsenobetain, As(III) und DMA) gemeinsam eluierten, wurde die Zusammensetzung der mobilen Phase während des chromatographischen Laufs von einer Lösung mit einer kleinen Tartrat-Ionen-Konzentration (mobile Phase A) zu einer höheren Tartrat-Ionen-Konzentration (mobile Phase B) verändert.

4.2.1.1 Optimierung der mobilen Phase A

Um optimale chromatographische Bedingungen zu erzielen, wurde zunächst untersucht, welchen Einfluss die Konzentrationen der Carbonat- und Tartrat-Ionen und der pH-Wert der mobilen Phase A auf die Retentionszeiten hat. Der Effekt einer von 0 auf 20 mmol/L steigenden Konzentration an Carbonat-Ionen bei konstanter Konzentration von Tartrat-Ionen (2,2 mmol/L) ist in Abb. 4 dargestellt. Die optimale Konzentration von 2 mmol Carbonat/L wurde ausgewählt. Konzentrationen unterhalb von 1,5 mmol/L führten dazu, dass MMA zusammen mit Chlorid-Ionen eluierte. Aufgrund der spektralen Störung von ^{75}As durch $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}$ kann durch eine gemeinsame Elution die Bestimmung von MMA gestört werden (s. Abschnitt 5.2.5, Seite 48). Konzentrationen von Carbonat-Ionen, die oberhalb von 3,5 mmol/L lagen, verminderten die Auflösung der Signale von Se(IV) und Selenomethionin. Da die Retentionszeiten im Bereich zwischen 1,5 und 3,5 mmol Carbonat/L bei kleinen Veränderungen der Konzentration der Carbonat-Ionen nur wenig geändert wurden, war das System gegenüber kleinen Schwankungen der Konzentration von Carbonat-Ionen robust.

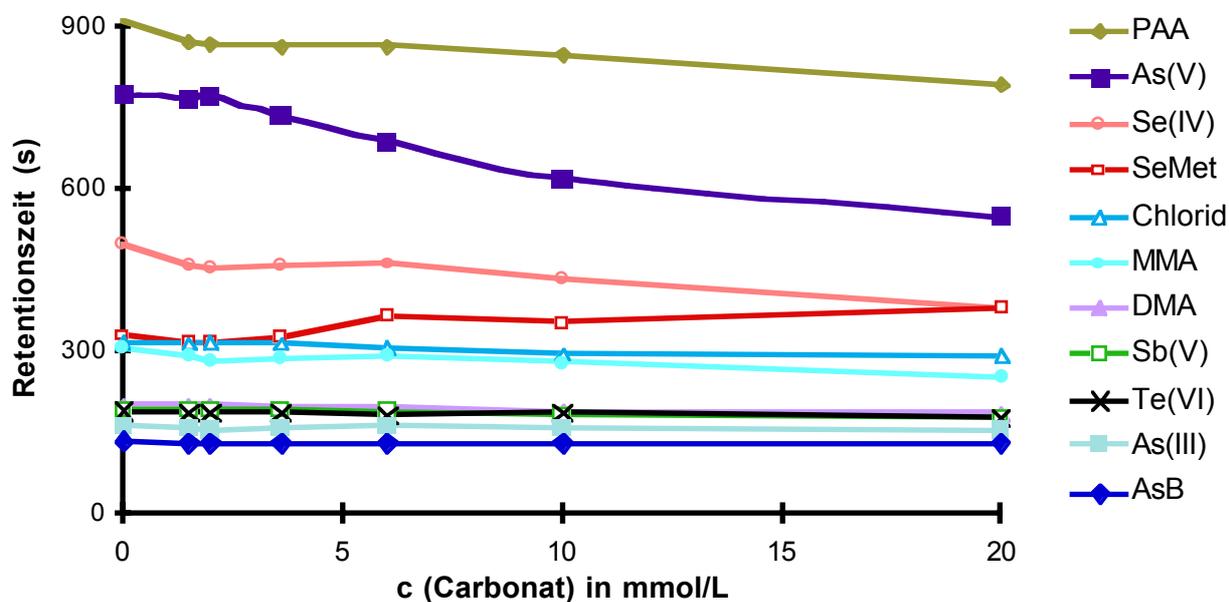


Abb. 4: Einfluss der Konzentration von Carbonat-Ionen in der mobilen Phase A auf die Retentionszeiten (Tartrat-Ionen-Konzentration: 2,2 mmol/L, pH 8,2)

Um den Einfluss der Konzentration von Tartrat-Ionen auf die Retentionszeiten zu untersuchen, wurde diese Konzentration zwischen 0 und 10 mmol/L verändert, während die Konzentration von Carbonat-Ionen bei 2 mmol/L konstant gehalten wurde (Abb. 5). Die Konzentration von 2,2 mmol Tartrat/L wurde gewählt, weil bei Konzentrationen unterhalb von 1 mmol/L die Retentionszeiten von MMA und Se(IV) unnötig anstiegen und Konzentrationen über 3 mmol/L zu einer verminderten Auflösung der Signale von Arsenobetain, As(III) und DMA führten. Im Bereich zwischen 1,8 und 3 mmol Tartrat/L wurden die Retentionszeiten der Spezies bei kleinen Änderungen der Konzentration an Tartrat-Ionen nur wenig verändert, so dass das System gegenüber kleinen Schwankungen der Konzentration an Tartrat-Ionen robust war.

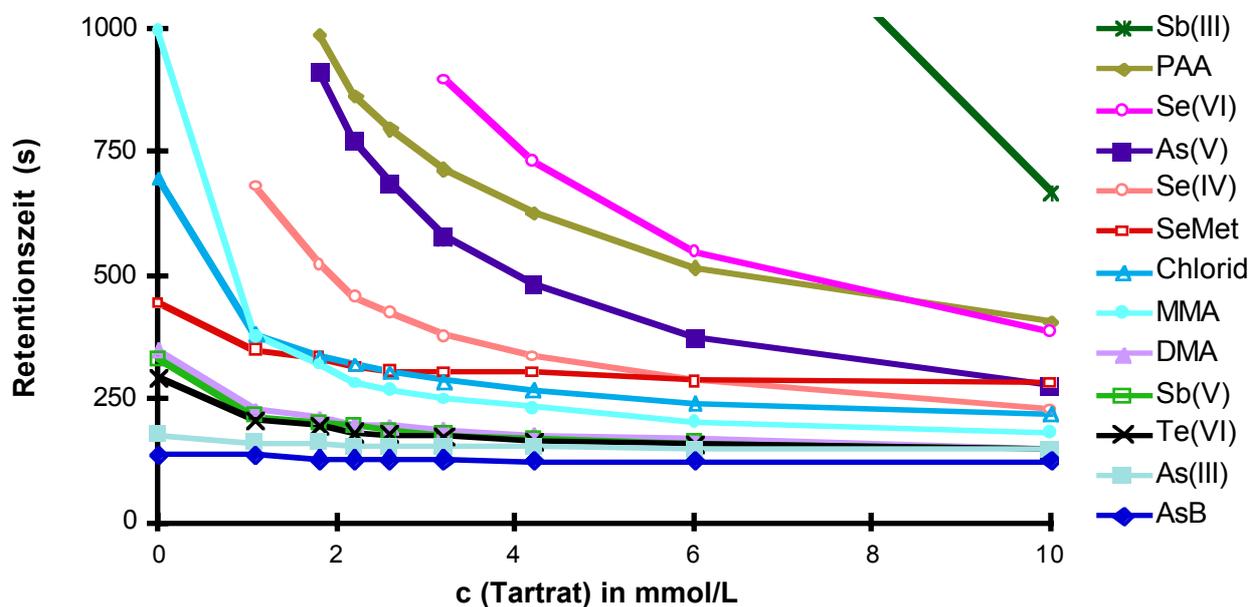


Abb. 5: Einfluss der Konzentration von Tartrat-Ionen in der mobilen Phase A auf die Retentionszeiten (Carbonat-Ionen-Konzentration: 2 mmol/L, pH 8,2)

Zur weiteren Optimierung der chromatographischen Trennung wurde der Effekt des pH-Werts der mobilen Phase auf die Retentionszeiten untersucht. Die Konzentrationen von Carbonat-Ionen (2 mmol/L) und von Tartrat-Ionen (2,2 mmol/L) wurden konstant gehalten. Ein pH-Wert von 8,2 war optimal, weil bei pH-Werten unterhalb von 8,0 die Signalauflösung von Arsenobetain und As(III) und bei Werten oberhalb von 8,4 die Auflösung von As(III) und DMA verschlechtert wurde (Abb. 6, Seite 28). Das System war innerhalb des Bereichs zwischen pH 8,0 und 8,4 gegenüber pH-Wert-Schwankungen der mobilen Phase robust.

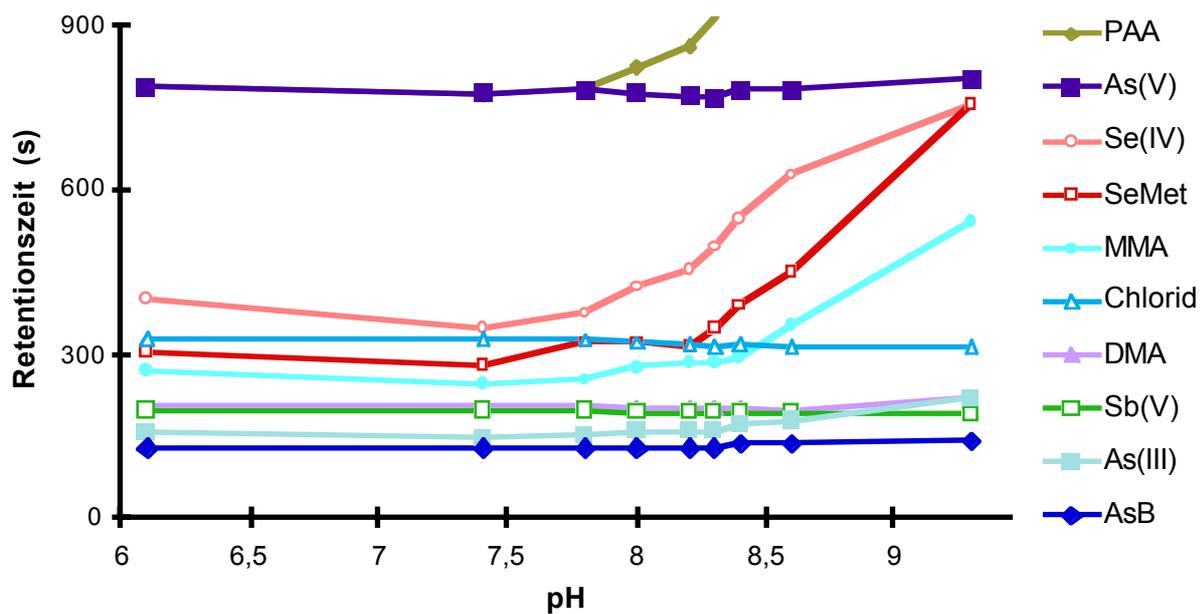


Abb. 6: Einfluss des pH-Werts der mobilen Phase A auf die Retentionszeiten (Carbonat-Ionen-Konzentration: 2 mmol/L, Tartrat-Ionen-Konzentration: 2,2 mmol/L)

4.2.1.2 Optimierung der mobilen Phase B

Da unter den optimierten Bedingungen (mobile Phase A: 2 mmol Carbonat/L, 2,2 mmol Tartrat/L, pH 8,2) die Retentionszeiten der Spezies As(V), PAA und Sb(III) über 12 min lagen und die Signale breiter als die der früher eluierenden Spezies waren, wurde zur Elution dieser Spezies die Zusammensetzung der mobilen Phase nach 6 min geändert. Innerhalb von einer Minute wurde die Zusammensetzung linear von der mobilen Phase A zur mobilen Phase B verändert. Diese Zeiten wurden so gewählt, dass die Änderung der mobilen Phase innerhalb einer Zeitspanne stattfand, in der keine Signale detektiert wurden.

Um die optimale Zusammensetzung der mobilen Phase B zu ermitteln, wurde der Einfluss der Konzentration von Tartrat-Ionen in dieser mobilen Phase auf die Halbwertsbreite des Signals von Sb(III) untersucht. Dieses Signal ist das breiteste im Chromatogramm; seine Form wird am stärksten bei einer Variation der Tartrat-Ionen-Konzentration verändert. Die Halbwertsbreite eines Signals ist die Breite zwischen denjenigen Punkten des Signals, an denen die Intensität genau die Hälfte der maximalen Intensität ist. In Abb. 7 (Seite 29) ist dargestellt, wie die Halbwertsbreite

des Signals von Sb(III) mit zunehmender Konzentration von Tartrat-Ionen vermindert wird. Eine höhere Konzentration führt jedoch auch zu einem erhöhten Salzeintrag in das Plasma. Um Salzablagerungen im Zerstäuber und an den Konen zu vermeiden, sollte der Salzgehalt der mobilen Phase unter 2 % (m/v) liegen [170]. Als Kompromiss zwischen einer kleineren Halbwertsbreite und der Gefahr von Salzablagerungen wurde eine Konzentration von 45 mmol Tartrat/L (entsprechend 0,7 %, m/v) in der mobilen Phase B gewählt. As(V) konnte von PAA bei Konzentrationen von Tartrat-Ionen unterhalb von 70 mmol/L getrennt werden.

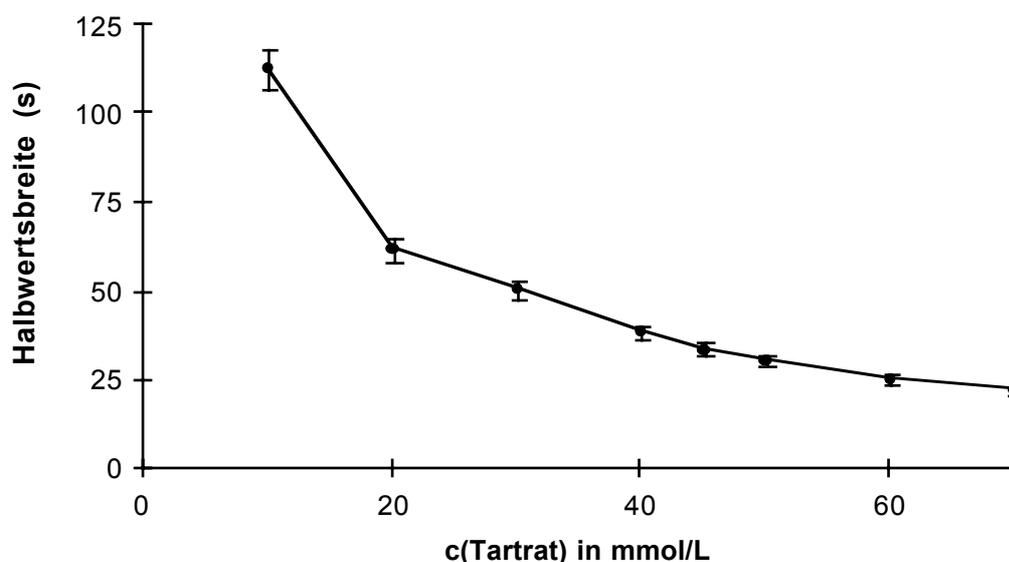


Abb. 7: Einfluss der Konzentration von Tartrat-Ionen in der mobilen Phase B auf die Halbwertsbreite des Signals von Sb(III)

Um den optimalen pH-Wert der mobilen Phase B zu ermitteln, wurde auch der Einfluss des pH-Werts auf die Halbwertsbreite des Signals von Sb(III) untersucht. Die Konzentrationen von Carbonat-Ionen (2 mmol/L) und von Tartrat-Ionen (45 mmol/L) wurden nicht verändert. Abb. 8 (Seite 30) zeigt, dass die kleinste Halbwertsbreite bei einem pH-Wert von 8,2 erzielt wird. Da dieser pH-Wert demjenigen der mobilen Phase A entspricht, wurde im Verlauf der Änderung der mobilen Phase nur die Tartrat-Ionen-Konzentration verändert. Eine Gleichgewichtseinstellung des pH-Werts auf der HPLC-Säule nach jeder Messung war daher nicht erforderlich. Das System war gegenüber kleinen Schwankungen der Konzentration von Tartrat-Ionen und des pH-Werts der mobilen Phase B robust, da die Änderungen der Retentionszeiten von As(V), PAA, Se(VI) und Sb(III) bei kleinen Änderungen dieser Parameter ebenfalls klein waren.

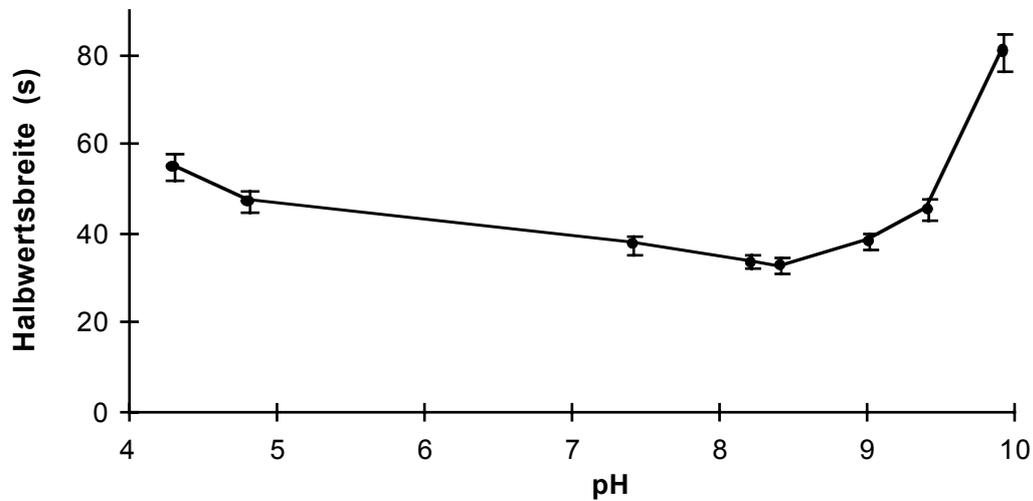


Abb. 8: Einfluss des pH-Werts der mobilen Phase B auf die Halbwertsbreite des Signals von Sb(III)

4.2.2 Zusammenfassung der Parameter des chromatographischen Systems

Die optimierten chromatographischen Parameter der HPLC zur Trennung von Spezies der Elemente Arsen, Selen, Antimon und Tellur sind in Tab. 3 (Seite 31) zusammengefasst. Dadurch, dass die Zusammensetzung der mobilen Phase während des chromatographischen Laufs geändert wurde, konnten sowohl die früh eluierenden Spezies wie AsB, As(III), DMA, MMA, Selenomethionin, Se(IV), Sb(V) als auch die stärker zurückgehaltenen Spezies wie As(V), PAA, Se(VI) und Sb(III) erfasst werden. Ein Chromatogramm, welches nach Injektion einer Mischung der einzelnen Spezies erhalten wurde, ist in Abb. 9 (Seite 32) dargestellt. Mit Ausnahme der Signale von Arsenobetain und As(III) wurden alle Signale bis auf die Grundlinie getrennt. Das Signal von Sb(III) wurde mit der gleichen Retentionszeit und der gleichen Signalfäche erhalten, wenn Sb(III) als Antimon(III)-chlorid oder als Kaliumantimon(III)-tartrat eingesetzt wurde. Die Ursache für dieses Verhalten liegt darin, dass Sb(III) der Probe mit Tartrat-Ionen aus der mobilen Phase zu Kaliumantimon(III)-tartrat reagiert. Aufgrund dieses gleichen chromatographischen Verhaltens werden die von SMICHOWSKI et al. [168] beschriebenen Probleme vermieden, die entstehen können, wenn als Standards z. B. andere Sb(III)-Salze verwendet werden als in der Probe vorliegen (vgl. Abschnitt 4.2.1, Seite 24).

Tab. 3: Optimierte Parameter der HPLC zur Trennung von Spezies der Elemente As, Se, Sb, Te

HPLC	Waters 626 der Fa. WATERS
Stationäre Phase	Anionenaustauschsäule Dionex IonPak AS 14, 250 x 4 mm mit IonPak AG 14, 50 x 4 mm
Mobile Phasen	A: 2 mmol Ammoniumhydrogencarbonat/L, 2,2 mmol Tartrat-Ionen/L in Wasser, pH 8,2 (mit Ammoniak-Lösung, 3 % (m/v)) B: 2 mmol Ammoniumhydrogencarbonat/L, 45 mmol Tartrat-Ionen/L in Wasser, pH 8,2 (mit Ammoniak-Lösung, 3 % (m/v))
Gradient (linear)	t = 0-6 min: 100 % mobile Phase A t = 6-7 min: lineare Veränderung zu 100 % der mobilen Phase B t = 7-12 min: 100 % mobile Phase B t = 12-13 min: lineare Veränderung zu 100 % der mobilen Phase A
Injektionsvolumen	50 µL; Probenschleife aus Polyetheretherketon (PEEK)
Flussrate	1,0 mL/min

4.3 Parameter der ICP-MS zur Bestimmung von Spezies der Elemente Arsen, Selen, Antimon und Tellur

Um die Spezies der Elemente Arsen, Selen, Antimon und Tellur zu bestimmen, wurden an der ICP-MS die Signale der Isotope ^{75}As , ^{82}Se , ^{121}Sb und ^{130}Te detektiert. Der Modus „Peak-Hop“ wurde eingesetzt, bei dem die Messungen an den Maxima der Signale durchgeführt wurden.

Um eine mögliche Störung des Signals von ^{75}As durch die $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}$ -Interferenz zu erkennen (vgl. Abschnitt 5.2.5, Seite 48), wurde auch das Isotop ^{35}Cl detektiert. Zur Detektion von Selen wurde das Isotop ^{82}Se gewählt, da bei diesem Isotop ein etwa um den Faktor 30 kleinerer Untergrund als bei dem durch $^{38}\text{Ar}^{40}\text{Ar}$ gestörten Isotop ^{78}Se auftrat und ^{80}Se aufgrund der $^{40}\text{Ar}^{40}\text{Ar}$ -Interferenz nicht detektiert werden konnte. Um die Volumenströme des Kühl-, Hilfs- und Zerstäubergases sowie die Plasmaleistung zu optimieren, wurden diese Parameter verändert, während eine Lösung, die je 10 µg/L Arsen, Selen, Antimon und Tellur enthielt, mit einer Flussrate von 1 mL/min dem Zerstäuber zugeführt wurde. Die optimierten Parameter sind in Tab. 4 (Seite 32) aufgelistet. Ein Chromatogramm eines Standards, das mit diesen und den in Tab. 3 aufgeführten Parametern erhalten wurde, ist in Abb. 9 (Seite 32) dargestellt. Die Standardlösung enthielt je 10 µg Element/L als Arsenobetain, As(III), DMA, As(V), PAA, Te(VI), Sb(V), je 20 µg Element/L MMA und Sb(III), 180 µg Se/L als Selenomethionin, je 80 µg/L Se(IV) und Se(VI) sowie 2 mg Chlorid/L.

Tab. 4: Optimierte Parameter der ICP-MS zur Bestimmung von Spezies der Elemente Arsen, Selen, Antimon und Tellur

ICP-MS	Elan 5000 der Fa. PERKIN-ELMER SCIEX
Plasmaleistung	1150 W
Kühlgas	Argon, 15 L/min
Hilfsgas	Argon, 0,8 L/min
Zerstäubergas	Argon, 1,15 L/min, 0 % Sauerstoff
Zerstäuber	„Cross-Flow“
Sprühkammer	Scott-Typ, kühlbar
Sampler- und Skimmer-Konen	Nickel
Verweildauer an jeder Masse („Dwell Time“)	75 ms
Messung der Signale	„Peak Hop“
detektierte Isotope	^{35}Cl , ^{75}As , ^{82}Se , ^{121}Sb , ^{130}Te

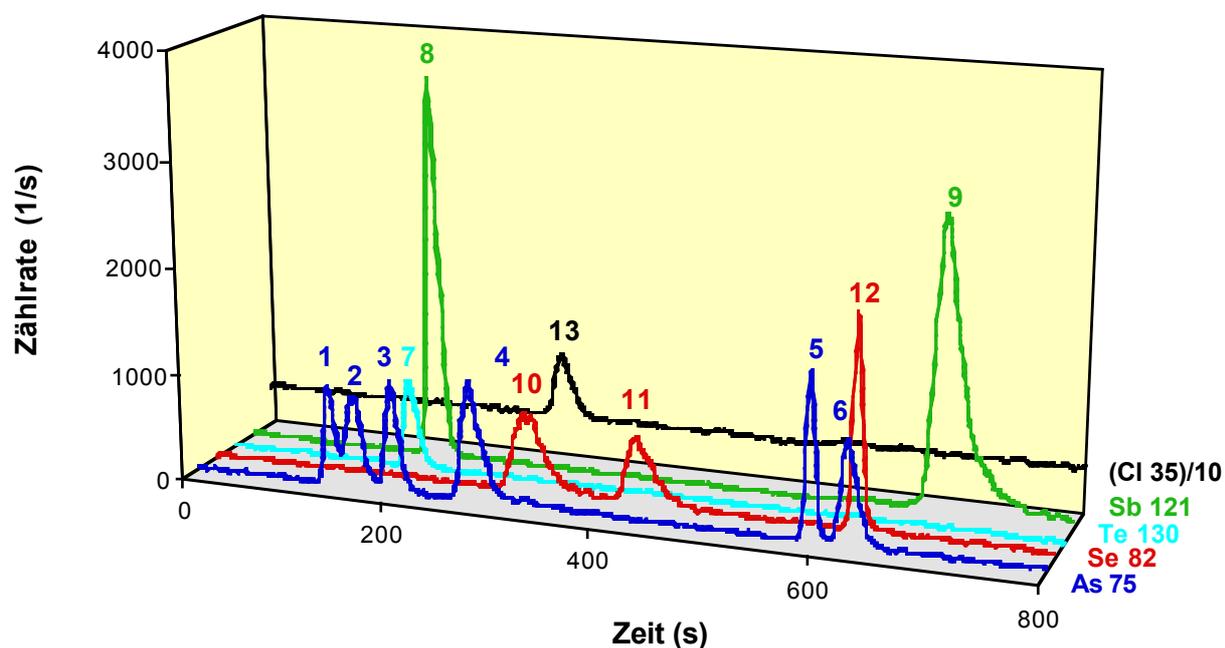


Abb. 9: Chromatogramm (HPLC/ICP-QMS) einer wässrigen Lösung von Arsenobetain (1), As(III) (2), DMA (3), MMA (4), As(V) (5), PAA (6), Te(VI) (7), Sb(V) (8), Sb(III) (9), Selenomethionin (10), Se(IV) (11), Se(VI) (12) und Chlorid-Ionen (13)

4.4 CE/ICP-MS als unabhängige Referenzmethode

Da bislang nur wenige Referenzmaterialien mit zertifizierten Speziesgehalten existieren, ist es zur Qualitätssicherung wichtig, Vergleichsmessungen mit einer unabhängigen Methode durchzuführen. Für diese Vergleichsmessungen wurde ein gekoppeltes System eingesetzt, bei dem die Trennung der Elementspezies mit der Kapillarelektrophorese (CE) und die Detektion mittels ICP-MS erfolgte. CE und HPLC stellen zwei unabhängige, auf unterschiedlichen physikalischen Prinzipien beruhende Trenntechniken dar. Während bei der HPLC die Trennung aufgrund von unterschiedlichen Wechselwirkungen der Analytmoleküle mit der stationären Phase in Gegenwart der mobilen Phase erfolgt, beruht das Prinzip der Kapillarelektrophorese auf unterschiedlichen Mobilitäten der Analytmoleküle im elektrischen Feld. Beide Methoden sind zur Trennung von ionischen Verbindungen geeignet (vgl. Abschnitt 3.3.3, Seite 14 und Abschnitt 3.3.4, Seite 16).

Als Detektoreinheit wurde sowohl ein *Quadrupol*-Massenspektrometer mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-QMS) als auch ein *Sektorfeld*-Massenspektrometer mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-SFMS) eingesetzt. Sowohl die Messungen mittels CE/ICP-QMS als auch diejenigen mit der CE/ICP-SFMS wurden mit einem von SCHAUMLÖFFEL und PRANGE [119] entwickelten Interface durchgeführt. In Abb. 10 (Seite 34) ist der schematische Aufbau des gekoppelten Systems von CE und ICP-MS dargestellt. Der elektrische Stromkreis wird über eine Platin-Elektrode und einen Hilfselektrolyten geschlossen. Der Hilfselektrolyt wird von dem im Interface integrierten Zerstäuber angesaugt, zusammen mit der aus der CE-Kapillare austretenden Flüssigkeit zerstäubt und gelangt über die Sprühkammer zum ICP-MS. Das Interface ist derart dimensioniert, dass auf die Kapillare der CE kein Unterdruck wirkt, dass keine Kondensation von Flüssigkeit in der Sprühkammer auftritt und dass eine kontinuierliche Zerstäubung ermöglicht wird [171]. Ein auf die Kapillare der CE wirkender Unterdruck würde in der Kapillare zu einer Veränderung des stempelförmigen elektroosmotischen Flussprofils hin zu einem parabolischen hydrodynamischen Profil führen. Diese Veränderung würde eine Signalverbreiterung zur Folge haben. Ferner könnte ein Unterdruck dazu führen, dass beim Probenwechsel Luft angesaugt und ein konstanter Stromfluss verhindert wird. Eine Vermeidung von Kondensation in der Sprühkammer bewirkt, dass die gesamte Flüssigkeit in das Plasma gelangt und dass keine Verluste des Analyten auftreten.

Bei den Messungen mittels CE/ICP-SFMS wurden die von PRANGE und SCHAUMLÖFFEL [120] beschriebenen und in Tab. 5 (Seite 34) und Tab. 6 (Seite 35) zusammengefassten Parameter verwendet. Bei diesen Messungen wurde zur Detektion das ELEMENT der Fa. FINNIGAN MAT mit einer geerdeten Elektrode aus Platin (Guard-

Electrode[®]), die zwischen der Quarz-Fackel und der Hochfrequenz-Spule eingefügt wurde, betrieben. Um die Migrationszeiten von As(V), Se(IV) und Se(VI) zu verkürzen, wurde nach 320 s an das Puffergefäß, in das die Kapillare eintaucht, ein Druck von 5 kPa angelegt.

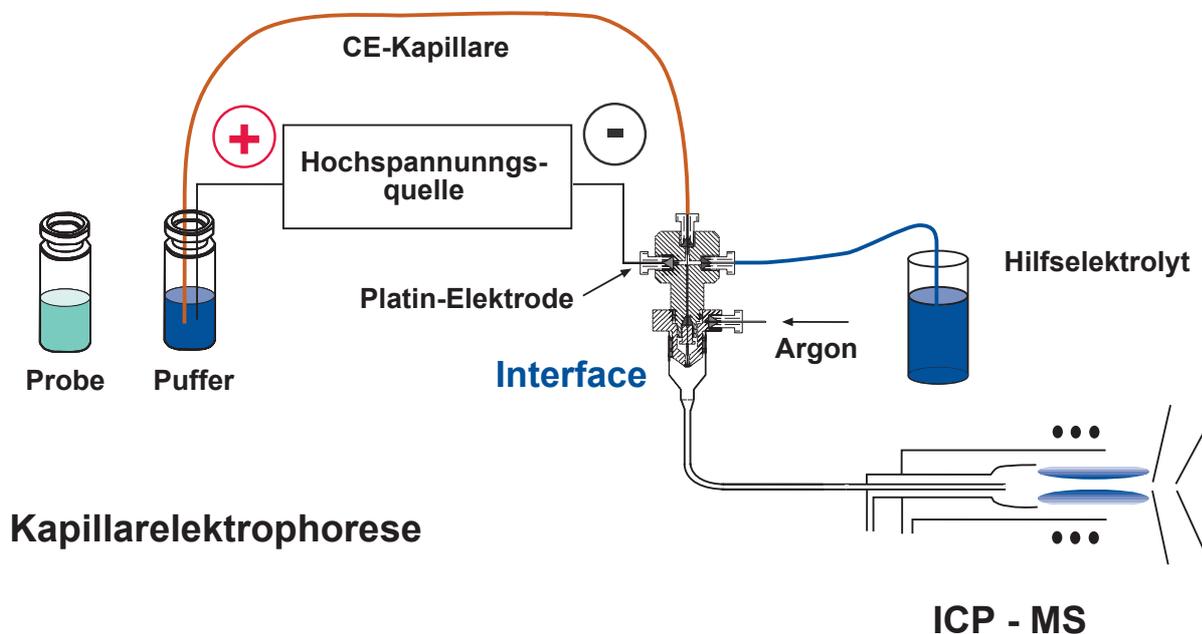


Abb. 10: Schematischer Aufbau des gekoppelten Systems zwischen CE und ICP-MS nach PRANGE UND SCHAUMLÖFFEL [120]

Tab. 5: Parameter der Kapillarelektrophorese

Kapillarelektrophorese	3D der Fa. HEWLETT-PACKARD
Pufferlösung	3-(Cyclohexylamino)propan-1-sulfonsäure (CAPS), 20 mmol/L, β -Cyclodextrin, 40 mmol/L, pH 10 4 $\mu\text{g Cs/L}$ (zur Beobachtung des elektroosmotischen Flusses)
Kapillare	55 cm lang, 75 μm Innendurchmesser
Spannung	0 kV - 30 kV, innerhalb der ersten 30 s linear ansteigend, dann 30 kV konstant
Injektion	hydrodynamisch, 30 000 Pa s
Hilfselektrolyt	1,5 % (m/v) Salpetersäure, 1 $\mu\text{g In/L}$
Druck	5 kPa nach 320 s

Tab. 6: Parameter der ICP-SFMS bei der Kopplung an die CE

ICP-SFMS	ELEMENT der Fa. FINNIGAN MAT mit GuardElectrode®
Kühlgas	Argon, 14 L/min
Hilfsgas	Argon, 0,95 L/min
Zerstäubergas	Argon, 0,92 - 0,96 L/min
Plasmaleistung	1075 W
interner Standard	20 µg Rb/L
detektierte Isotope	⁷⁵ As, ⁸² Se, ⁸⁵ Rb, ¹¹⁵ In, ¹²¹ Sb, ¹³⁰ Te, ¹³³ Cs

Für einen Vergleich der Nachweisgrenzen wurde die Kapillarelektrophorese über das Interface ebenfalls an ein ICP-QMS gekoppelt. In Tab. 7 sind die in dieser Arbeit zur Erzielung einer größten Empfindlichkeit optimierten Parameter der ICP-QMS aufgeführt.

Tab. 7: Parameter der ICP-QMS bei der Kopplung an die CE

ICP-QMS	ELAN 5000 der Fa. PERKIN ELMER SCIEX
Kühlgas	Argon, 15 L/min
Hilfsgas	Argon, 0,8 L/min
Zerstäubergas	Argon, 1,3 L/min
Plasmaleistung	1060 W
interner Standard	100 µg Rb/L
detektierte Isotope	⁷⁵ As, ⁸² Se, ⁸⁵ Rb, ¹¹⁵ In, ¹²¹ Sb, ¹³⁰ Te, ¹³³ Cs

5 Ergebnisse

In diesem Kapitel werden die Ergebnisse dargestellt, die mit dem entwickelten gekoppelten System zwischen HPLC und ICP-QMS und mit der für Vergleichsmessungen eingesetzten CE/ICP-SFMS erzielt wurden. Im folgenden Abschnitt wird über die Stabilität der Speziesstandards, in Abschnitt 5.2 (Seite 41) über die Validierung der HPLC/ICP-QMS-Methode, insbesondere hinsichtlich der Nachweisgrenzen, Bestimmungsgrenzen, Arbeitsbereiche, Linearitäten, Empfindlichkeiten, Wiederholpräzisionen und der Spezifität berichtet. Um die Richtigkeit der erzielbaren Messergebnisse und um Anwendungsmöglichkeiten des entwickelten Systems zu überprüfen, wurden mehrere Fisch-, Urin- und Boden-Standardreferenzmaterialien untersucht (Abschnitt 5.4, Seite 55, bis Abschnitt 5.7, Seite 78).

5.1 Stabilität der Standards

Da ein Teil der untersuchten Spezies hochtoxische Eigenschaften besitzt, ist es wichtig, die Stabilität der Standards richtig einzuschätzen, um eventuell unnötiges Erzeugen von toxischen Abfällen durch zu häufiges Neuansetzen der hochkonzentrierten Standardlösungen im g/L-Bereich zu vermeiden. In dieser Arbeit wurde sowohl die Stabilität der einzelnen Spezies-Standards als auch diejenige von Speziesmischungen untersucht. Veränderungen der Speziesmischungen wurden mit Hilfe einer statistischen Datenauswertung charakterisiert.

5.1.1 Statistische Datenauswertung

Um Unterschiede zwischen Mittelwerten mehrerer Messreihen statistisch auszuwerten, kann der STUDENTsche t -Test durchgeführt werden. Aus den Mittelwerten \bar{x}_1 und \bar{x}_2 , den dazugehörigen Standardabweichungen s_1 und s_2 und der Anzahl der jeweils durchgeführten Messungen n_1 und n_2 kann der dazugehörige t -Wert nach Gleichung 1 berechnet werden [172]:

$$t = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{s_d} \sqrt{\frac{n_1 n_2}{n_1 + n_2}} \quad \text{Gl. 1}$$

Die gewichtete Durchschnittsstandardabweichung s_d kann nach Gleichung 2 berechnet werden:

$$s_d = \frac{(n_1 - 1)s_1^2 + (n_2 - 1)s_2^2}{n_1 + n_2 - 2} \quad \text{Gl. 2}$$

Mit Hilfe der STUDENTschen t -Verteilung kann aus t und der Anzahl der Freiheitsgrade f ($f = n_1 + n_2 - 2$) das Signifikanzniveau $p(t, f)$ ermittelt werden. Die Wahrscheinlichkeit, dass sich die beiden Mittelwerte nicht nur zufällig unterscheiden, beträgt $(1 - p) * 100$ %. Bei einer festgelegten Irrtumswahrscheinlichkeit von weniger als 5 % unterscheiden sich die Mittelwerte signifikant, falls $p < 0,05$.

5.1.2 Stabilität der einzelnen Spezies-Standards

Um die Stabilität der einzelnen Spezies-Standards zu untersuchen, wurden Standards mit einer Konzentration von je 1 g Element/L hergestellt. Die Gesamtelementkonzentrationen der einzelnen Standards wurden mit Hilfe der ICP-QMS (Elan 5000 der Fa. PERKIN-ELMER SCIEX) nach unterschiedlichen Lagerzeiten untersucht und auf die Konzentrationen zu Beginn der Messreihe bezogen. Die Lagertemperatur betrug 10 °C. Die aus dreifachen Messungen gemittelten Wiederfindungsraten sind in Abb. 11 (Seite 38) dargestellt. Innerhalb eines Zeitraums von 45 Wochen wurde keine über 7 % hinausgehende Veränderung der Gesamtelementgehalte beobachtet. Daneben wurde die Reinheit der Spezies mit dem entwickelten gekoppelten System zwischen HPLC und ICP-QMS untersucht. Innerhalb von 45 Wochen wurden keine unbekannt Signale beobachtet. Die Resultate zeigen, dass die einzelnen Standards über einen Zeitraum von mehreren Monaten bei 10 °C ohne Speziesumwandlungen und -verluste gelagert werden können.

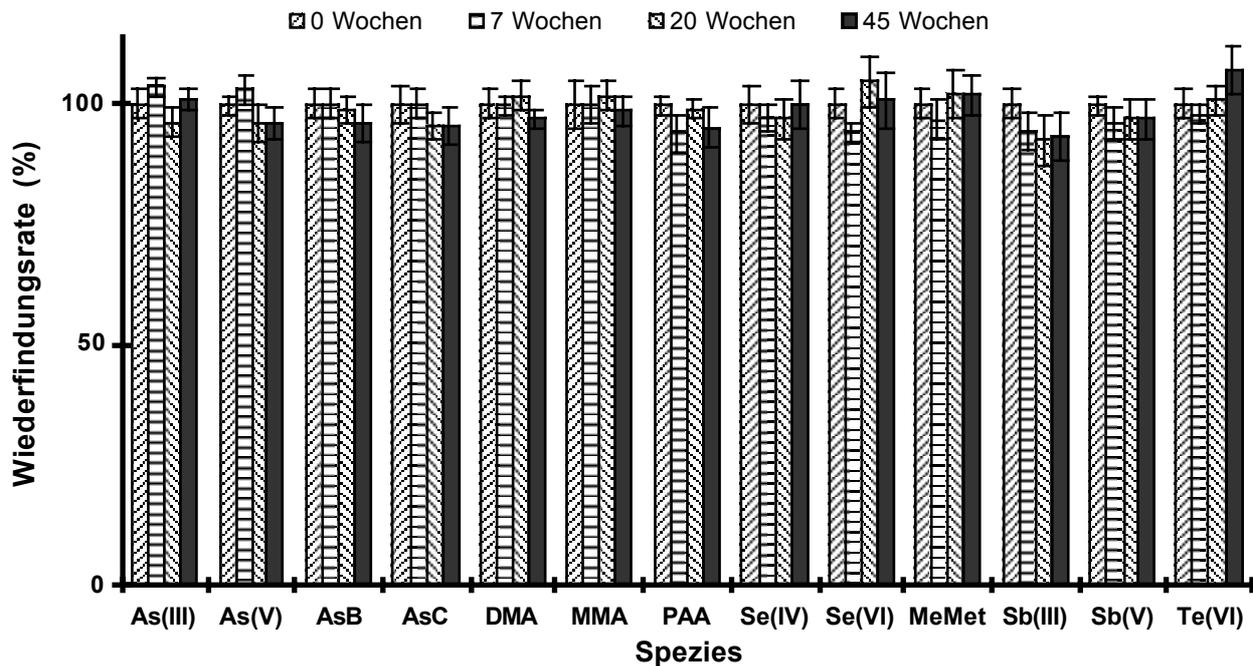


Abb. 11: Wiederfindungsraten der Gesamtelementgehalte der einzelnen Speziesstandards nach unterschiedlichen Lagerzeiten (10 °C)

5.1.3 Stabilität von Spezies-Mischungen

Bislang existieren nur wenige und widersprüchliche Informationen darüber, wie Mischungen mehrerer Spezies in wässrigen Lösungen gelagert werden sollten (siehe Abschnitt 3.2, Seite 9). Um einen Beitrag zur Aufklärung der Stabilität von Arsen-, Selen-, Antimon- und Tellurspezies zu leisten, und um die besten Lagerbedingungen für wässrige Mischungen der Spezies zu ermitteln, wurden Haltbarkeitsstudien bei Raumtemperatur (20 °C), bei 3 °C und bei -20 °C durchgeführt. Polypropylen-Röhrchen wurden an mehreren Tagen mit frisch hergestellten Lösungen gefüllt, die je 20 µg Element/L als As(III), As(V), AsB, DMA, MMA, PAA, Sb(V), Te(VI) und je 50 µg Element/L als Se(IV), Se(VI), SeMet und Sb(III) enthielten. Die Gefäße wurden bis fast zur Oberkante befüllt, um einen Kontakt der Lösung mit Luft zu minimieren. Die Gehalte der Spezies in diesen Lösungen wurden an einem Tag bestimmt, um die Wiederfindungsraten zu ermitteln. Dieses Vorgehen gewährleistete, dass die Gefäße nur einmal geöffnet wurden und dass gefrorene Proben nur einmal aufgetaut wurden.

In Abb. 12 (Seite 40) sind die aus Doppelbestimmungen erhaltenen Wiederfindungsraten bei unterschiedlichen Lagerbedingungen graphisch dargestellt. Während bei der Bestimmung von Gesamtelementgehalten das Einfrieren der Proben als optimal angesehen wird, war bei den Elementspezies eine Lagerung bei -20 °C am ungeeignetsten. Eine statistische Datenauswertung (vgl. Abschnitt 5.1.1, Seite 36) zeigte nach 30 Tagen signifikante Abnahmen der Konzentrationen von Se(IV) ($p = 0,01$), Selenomethionin ($p = 0,01$), Sb(III) ($p = 0,02$) und von As(III) ($p = 0,04$). Nach dieser Zeit nahmen die Konzentrationen von Se(IV), SeMet und Sb(III) um 35 bis 50 % ab, während eine nicht identifizierte Selenspezies mit einer Retentionszeit von 145 s entstand (vgl. Abb. 12a). Der Gehalt der unbekanntes Selenspezies wurde aus der mittleren Empfindlichkeit der übrigen drei untersuchten Selenspezies nach Gleichung 3 abgeschätzt:

$$x_u \approx y_u / \bar{b} \quad \text{Gl. 3}$$

Mit: x_u Konzentration der unbekanntes Spezies
 \bar{b} mittlere Empfindlichkeit (Steigung der Kalibriergeraden) bekannter Spezies
 y_u Signal (Fläche) der unbekanntes Spezies

Aus der Tatsache, dass die unbekanntes Selenspezies mit der Retentionszeit von 145 s nahe dem Totvolumen von 130 s eluierte, folgt, dass diese Spezies unter den durch die mobile Phase gegebenen Bedingungen nur sehr wenig mit der stationären Phase wechselwirkt. Diese kleine Wechselwirkung ist ein Indiz dafür, dass diese Spezies bei dem gegebenen pH-Wert neutral, positiv geladen oder höchstens eine negative Ladung aufweist. Eine genauere Aussage ist jedoch nicht möglich, weil bei der Ionenchromatographie neben ionischen Wechselwirkungen in kleinem Umfang auch andere Wechselwirkungen auftreten.

Nach einer Lagerung bei 20 °C wurden weniger Veränderungen der Konzentrationen von den Spezies als bei -20 °C beobachtet. Nach 14 und nach 30 Tagen wurde jedoch auch unter diesen Bedingungen die Bildung der nicht identifizierten Selenspezies beobachtet (Abb. 12c), jedoch in kleinerem Umfang.

Die beste Stabilität wurde bei einer Lagertemperatur von 3 °C erzielt (Abb. 12b). Die Wiederfindungsraten lagen nach 14 und 30 Tagen zwischen 92 und 107 %. Nach 14 Tagen konnte die unbekanntes Selenspezies nicht nachgewiesen werden, und nach 30 Tagen war die Konzentration dieser Spezies um mehr als den Faktor 2 kleiner als unter den anderen Lagerbedingungen. Bei allen folgenden Messungen wurden daher Lösungen, die Mischungen der einzelnen Spezies enthielten, bei 3 °C gelagert, falls sie nicht sofort analysiert wurden.

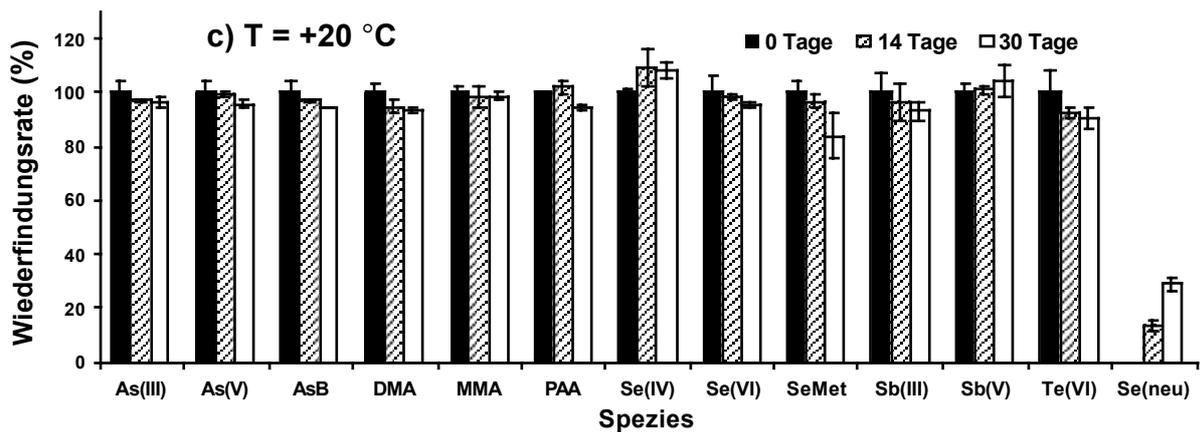
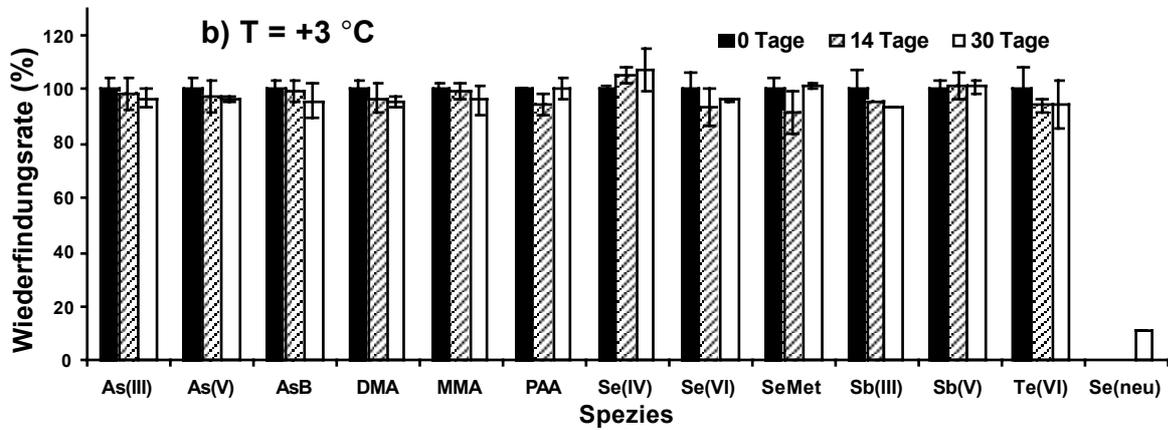
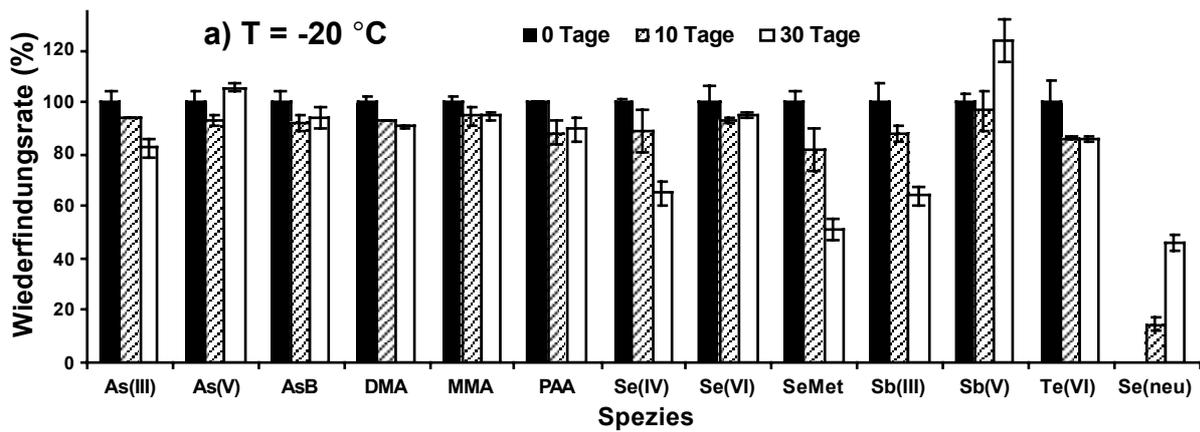


Abb. 12: Wiederfindungsraten von Spezies in wässrigen Mischungen nach unterschiedlichen Lagerzeiten in Abhängigkeit von der Lagertemperatur: a) -20 °C, b) +3 °C, c) +20 °C

Möglicherweise wurden die größeren Verluste und die Speziesumwandlung bei der Lagerung im gefrorenen Zustand u. a. durch den Gefrier- und Tauprozess verursacht, bei denen die flüssige und die feste Phase nebeneinander vorliegen. FELDMANN et al. [60] beobachteten ebenfalls unerwartete Veränderungen von Arsenspezies in gefrorenen Urinproben. Weitere Untersuchungen zur Stabilität der Elementspezies in Urin und Extrakten aus Fisch- und Bodenmaterialien werden in den Abschnitten 5.5 (Seite 55) bis 5.7 (Seite 78) beschrieben, in denen näher auf diese Realproben eingegangen wird.

5.2 Validierung der Methode zur Elementspeziesbestimmung

Die entwickelte Methode zur Bestimmung der Arsen-, Selen-, Antimon- und Tellurspezies mittels HPLC/ICP-QMS wurde validiert und analytisch charakterisiert. Um dies zu erreichen, wurden Nachweisgrenzen, Bestimmungsgrenzen, Arbeitsbereiche, Empfindlichkeiten, Linearitäten sowie die Wiederholpräzision bezüglich der Retentionszeiten, Signalhöhen und Signalflächen ermittelt. Diese Kenngrößen werden in den Abschnitten 5.2.1 bis 5.2.5 (Seite 48) dargestellt. Da bei der Signalflächenauswertung eine bessere Wiederholpräzision als bei der Signalhöhenauswertung erzielt wurde (Abschnitt 5.2.4, Seite 47), erfolgte die Auswertung generell über die Fläche. Die Signale wurden mit Hilfe des Softwareprogramms Origin 4.1 der Fa. MICROCAL integriert.

Da bislang nur wenige Standardreferenzmaterialien, deren Speziesgehalte zertifiziert sind, existieren, wurden zur Überprüfung der Richtigkeit neben der Untersuchung von Referenzmaterialien im Rahmen der Qualitätssicherung auch Vergleichsmessungen von Urin und Extrakten aus Fisch- und Bodenmaterialien mit einem gekoppelten System zwischen CE und ICP-SFMS durchgeführt (Abschnitt 5.4, Seite 55, bis Abschnitt 5.7, Seite 78).

5.2.1 Nachweisgrenzen

Die Nachweisgrenze ist die kleinste Menge eines Analyten in einer Probe, die nachgewiesen, aber nicht notwendigerweise als genauer Wert quantifiziert werden kann [173]. Gemäß DIN 32645 (Kalibriergeradenmethode) kann die Nachweisgrenze mit Hilfe der Regressionsdaten einer Kalibriergeraden bei sehr kleinen Gehalten in der unmittelbaren Nähe der Nachweisgrenze ermittelt werden [174]. Das Verhältnis von der errechneten Nachweisgrenze zu dem höchsten

Kalibrierwert soll dabei den Faktor 10 nicht überschreiten. Die Nachweisgrenze x_{NG} kann mit Hilfe von Gleichung 4 ermittelt werden:

$$x_{NG} = s_{x0} \times t_{f,\alpha} \times \sqrt{\frac{1}{m} + \frac{1}{n} + \frac{\bar{x}^2}{Q_x}} \quad \text{Gl. 4}$$

Mit: $t_{f,\alpha}$ Quantil der t-Verteilung bei dem Signifikanzniveau α (einseitig) und $f = n - 2$ Freiheitsgraden
 m Anzahl der Messungen an der Analysenprobe
 n Anzahl der Kalibrierproben
 \bar{x} Arithmetisches Mittel der Gehalte aller Kalibrierproben
 Q_x Summe der Abweichungsquadrate der Gehalte bei der Kalibrierung
 s_{x0} Verfahrensstandardabweichung: $s_{x0} = s_{y,x} / b$,
mit der nach Gleichung 5 berechenbaren Reststandardabweichung der Messwerte der Kalibrierung $s_{y,x}$:

$$s_{y,x} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\hat{y}_i - y_i)^2}{n - 2}} \quad \text{Gl. 5}$$

\hat{y}_i Geschätzter Funktionswert : $\hat{y}_i = a + b \times x_i$
 y_i Messwert der Kalibrierprobe
 x_i Gehaltsgröße
 a Ordinatenabschnitt der Kalibriergeraden
 b Steigung der Kalibriergeraden (Empfindlichkeit)

In Tab. 8 (Seite 43) sind die nach dieser Kalibriergeradenmethode ermittelten relativen Nachweisgrenzen für die mittels HPLC/ICP-QMS untersuchten Arsen-, Selen-, Antimon- und Tellurspezies aufgeführt. Die Werte beziehen sich auf ein Signifikanzniveau von $\alpha = 0,05$, entsprechend einer statistischen Sicherheit von 95 %. Bei den Arsenspezies sowie bei Sb(V) und Te(VI) liegen die Nachweisgrenzen unterhalb von 1 μg Element/L. Die Nachweisgrenzen der Selenpezies liegen etwas höher, da bei der Detektion am ICP-MS wegen der Störung durch $^{40}\text{Ar}^{40}\text{Ar}^+$ auf das Isotop ^{82}Se (9 % natürliche Isotopenhäufigkeit) ausgewichen wurde. Die ebenfalls höhere Nachweisgrenze von Sb(III) resultiert daraus, dass das Signal dieser Spezies im Chromatogramm eine höhere Halbwertsbreite als diejenigen der übrigen Signale aufweist. Die absoluten Nachweisgrenzen, die durch Multiplikation der relativen Nachweisgrenzen mit dem Injektionsvolumen (50 μL) erhalten werden, sind ebenfalls in Tab. 8 aufgelistet.

Tab. 8: Nachweisgrenzen (relativ und absolut) der mittels HPLC/ICP-QMS untersuchten Spezies (Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$)

	As(III)	As(V)	AsB	DMA	MMA	PAA	Se(IV)	Se(VI)	SeMet	Sb(III)	Sb(V)	Te(VI)
Nachweisgrenze, relativ ($\mu\text{g Element/L}$)	0,43	0,61	0,46	0,49	0,66	0,69	3,1	4,3	5,1	1,5	0,43	0,83
Nachweisgrenze, absolut (pg Element)	22	31	23	25	33	35	160	210	250	77	22	42

5.2.2 Bestimmungsgrenzen

Die Bestimmungsgrenze x_{BG} ist die kleinste Menge eines Analyten in einer Probe, die noch als genauer Wert quantifiziert werden kann [175]. Nach DIN 32645 [174] wird die Bestimmungsgrenze mittels der Regressionsdaten einer Kalibriergeraden mit Hilfe von Gleichung 6 ermittelt:

$$x_{BG} = k \times s_{x0} \times t_{f;\alpha} \times \sqrt{\frac{1}{m} + \frac{1}{n} + \frac{(k \times x_{NG} - \bar{x})^2}{Q_x}} \quad \text{Gl. 6}$$

Mit: k Numerischer Faktor, $k > 1$, frei wählbar, Empfehlung nach DIN 32645 [174]: $k = 3$
 $t_{f;\alpha}$ Quantil der t-Verteilung bei dem Signifikanzniveau α (zweiseitig)
 und $f = n - 2$ Freiheitsgraden

Die übrigen Variablen entsprechen denen aus Gleichung 4 (Seite 42). In Tab. 9 (Seite 44) sind die nach Gleichung 6 berechneten relativen und absoluten Bestimmungsgrenzen bei einem Signifikanzniveau von $\alpha = 0,05$ zusammengestellt. Zur Veranschaulichung ist in Abb. 13 (Seite 44) ein Chromatogramm eines Standards mit Konzentrationen nahe der Bestimmungsgrenzen dargestellt. Eingesetzt wurden je 1 $\mu\text{g Element/L}$ Arsenobetain, As(III), DMA, MMA, As(V), PAA, Te(VI), Sb(V), 2,5 $\mu\text{g Sb(III)/L}$, 45 $\mu\text{g Se/L}$ als Selenomethionin sowie je 10 $\mu\text{g/L Se(IV)}$ und Se(VI).

Tab. 9: Bestimmungsgrenzen (relativ und absolut) der mittels HPLC/ICP-QMS untersuchten Spezies (Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$)

	As(III)	As(V)	AsB	DMA	MMA	PAA	Se(IV)	Se(VI)	SeMet	Sb(III)	Sb(V)	Te(VI)
Bestimmungsgrenze, relativ ($\mu\text{g Element/L}$)	1,5	2,1	1,6	1,7	2,3	2,4	11	15	18	5,3	1,5	2,9
Bestimmungsgrenze, absolut (pg Element)	75	110	80	85	120	120	550	750	900	270	75	150

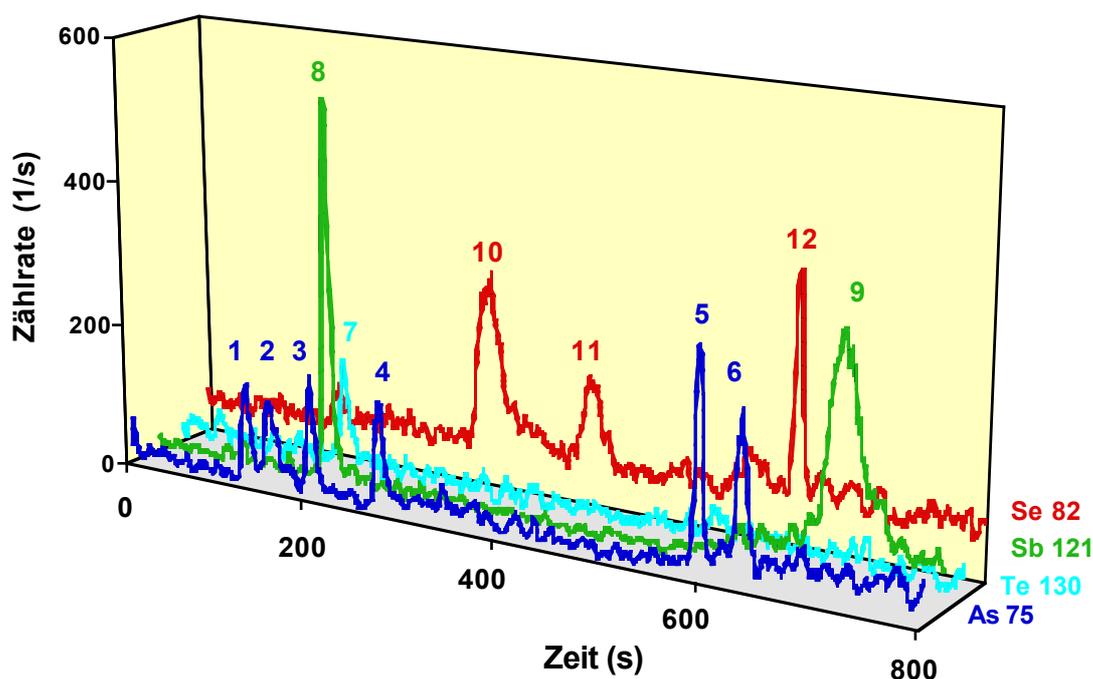


Abb. 13: Chromatogramm einer wässrigen Lösung aus Arsenobetain (1), As(III) (2), DMA (3), MMA (4), As(V) (5), PAA (6), Te(VI) (7), Sb(V) (8), Sb(III) (9), Selenomethionin (10), Se(IV) (11) und Se(VI) (12) mit Konzentrationen nahe der Bestimmungsgrenzen

5.2.3 Arbeitsbereich, Linearität und Empfindlichkeit

Um bei der entwickelten Methode den Arbeitsbereich, die Linearität und die Empfindlichkeit für die einzelnen Spezies zu ermitteln, wurde eine Kalibrierung mit unterschiedlich verdünnten Standardlösungen durchgeführt. An jedem der mindestens 6 Kalibrierpunkte wurden jeweils 10 Wiederholmessungen durchgeführt. Tab. 10 (Seite 45) enthält die Konzentrationen der für die

Kalibrierung eingesetzten Standardlösungen. In Abb. 14 (Seite 46) sind die erhaltenen Kalibriergeraden dargestellt.

Die erhaltenen linearen Arbeitsbereiche, die Korrelationskoeffizienten r sowie die Empfindlichkeiten (Steigungen der Kalibriergeraden) sind in Tab. 11 zusammengefasst. Bei höheren als den angegebenen Konzentrationen können Probleme durch Artefakte und Blindwertprobleme auftreten, welche die Bestimmung der Speziesgehalte im unteren Konzentrationsbereich stören. Die Korrelationskoeffizienten zwischen 0,99981 und 0,99999 belegen die Linearität innerhalb der angegebenen Konzentrationsbereiche.

Tab. 10: Konzentrationen der für die Kalibrierung verwendeten Standardlösungen

Spezies	Eingesetzte Konzentrationen ($\mu\text{g Element L}^{-1}$)							
As(III), As(V), AsB, DMA, MMA, PAA, Te(VI)	0	2,5	5	10	40	70	100	250
Se(IV), Se(VI)	0	20	80	140	200	500		
SeMet	0	45	90	360	630	900	2300	
Sb(III)	0	10	40	70	100	250		
Sb(V)	0	2,5	5	10	40	70	100	

Tab. 11 Kenngrößen der Kalibrierung (HPLC/ICP-QMS)

Spezies	Linearer Bereich ($\mu\text{g Element L}^{-1}$)	Korrelationskoeffizient r	Empfindlichkeit (Impulse / ($\mu\text{g Element L}^{-1}$))
As(III)	2,5 - 250	0,99992	1780
As(V)	2,5 - 250	0,99995	1740
AsB	2,5 - 250	0,99982	1550
DMA	2,5 - 250	0,99999	1630
MMA	2,5 - 250	0,99999	1570
PAA	2,5 - 250	0,99981	1790
Se(IV)	20 - 500	0,99998	240
Se(VI)	20 - 500	0,99999	250
SeMet	45 - 2300	0,99988	200
Sb(III)	10 - 250	0,99975	2900
Sb(V)	2,5 - 100	0,99993	4100
Te(VI)	2,5 - 250	0,99998	1220

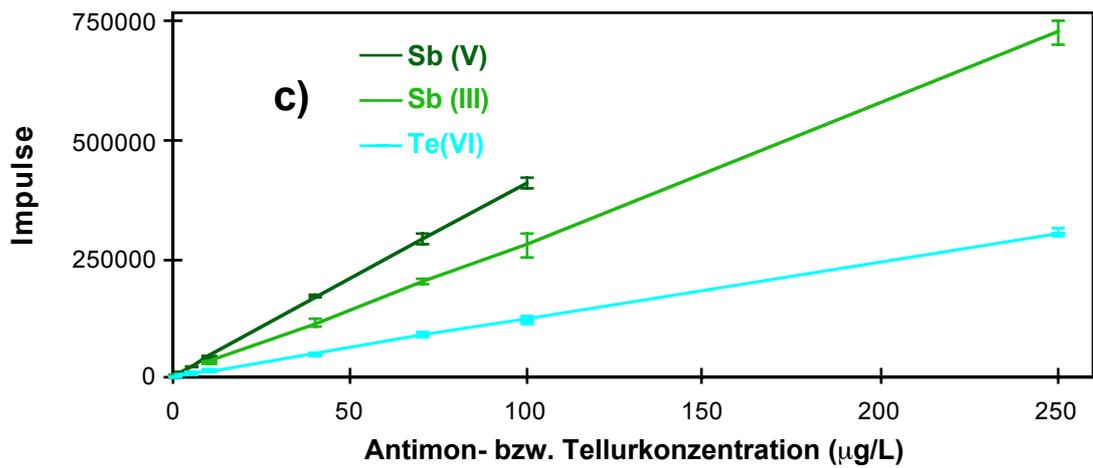
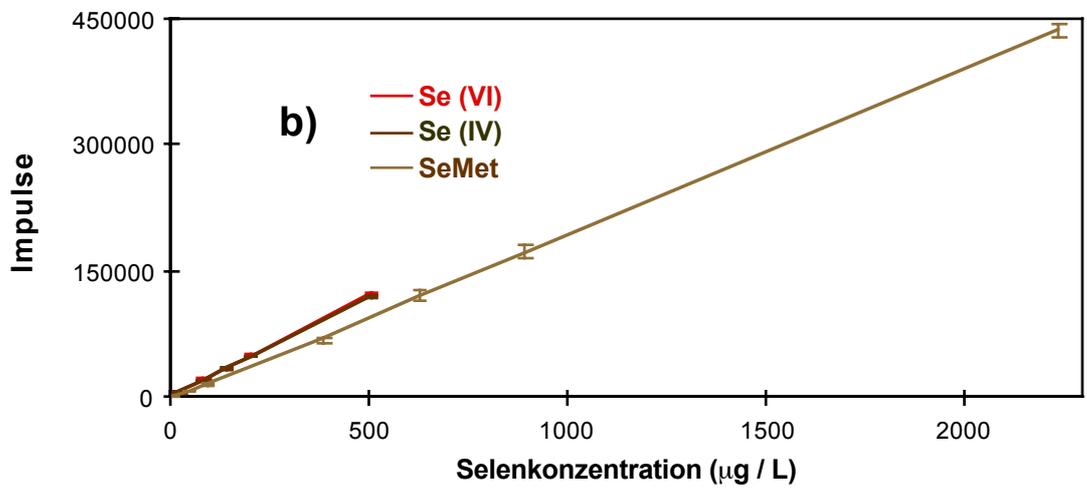
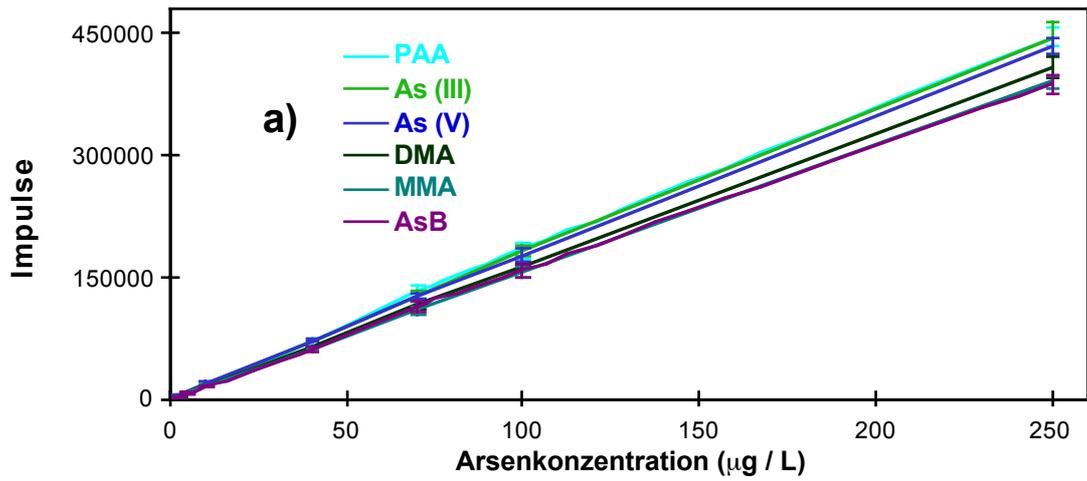


Abb. 14: Kalibriergeraden der Bestimmung der Spezies von a) Arsen, b) Selen, c) Antimon und Tellur mittels HPLC/ICP-QMS

5.2.4 Wiederholpräzision der Retentionszeiten, Signalhöhen und Signalflächen

Für die entwickelte Methode wurde die Wiederholpräzision der Retentionszeiten, der Signalhöhen und Signalflächen bestimmt. Die Werte wurden bei 10 Wiederholmessungen am Kalibrierpunkt 10 µg Element/L (außer Se(IV) und Se(VI): 20 µg/L, SeMet: 45 µg Se/L, Sb(III): 40 µg/L) ermittelt und sind zusammen mit den gemittelten Retentionszeiten in Tab. 12 aufgeführt. Eine konstante Lage der Signale wird durch die unter 2 % liegende Wiederholpräzision der Retentionszeiten belegt. Da die Wiederholpräzision der Signalflächen (3,3 bis 7,5 %) kleiner als die der Signalhöhen (3,7 bis 10,3 %) ist, wird die Bestimmung der Speziesgehalte über die Signalflächen durchgeführt. Die Langzeitstabilität des Systems wird durch die Tatsache belegt, dass diese Resultate während einer Messzeit von insgesamt etwa 20 Stunden an zwei aufeinander folgenden Tagen erhalten wurden.

Tab. 12: Retentionszeiten und Wiederholpräzision der Retentionszeiten, Signalhöhen und Signalflächen (HPLC/ICP-QMS)

Spezies	Retentionszeit (s)	Wiederholpräzision (%)		
		Retentionszeit	Signalthöhe	Signalfläche
AsB	135	0,6	5,5	5,2
As(III)	160	1,9	4,9	3,3
DMA	200	1,2	4,7	3,6
MMA	270	1,8	6,1	5,3
As(V)	590	0,4	6,7	6,4
PAA	630	0,4	6,5	6,3
SeMet	310	1,8	10,3	7,5
Se(IV)	420	1,4	8,3	7,0
Se(VI)	625	0,4	7,0	6,9
Sb(V)	190	1,3	3,7	3,3
Sb(III)	700	0,4	7,0	5,5
Te(VI)	180	0,9	6,1	5,0

5.2.5 Spezifität

Spezifität ist die Fähigkeit, den Gehalt eines Analyten auch in Anwesenheit von Komponenten, von welchen erwartet werden kann, dass sie vorhanden sind, eindeutig bestimmen zu können [173].

In vielen Matrices, wie z. B. Extrakten aus biologischen Materialien oder Urin, sind Chlorid-Ionen vorhanden. Aufgrund der spektralen Störung von ^{75}As durch $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}$ können Chlorid-Ionen am ICP-MS die Detektion von Arsen stören. Eine Möglichkeit, um diese Störung zu verhindern, liegt darin, die Arsenspezies chemisch von Chlorid-Ionen abzutrennen, indem durch Hydridbildung flüchtige Arsane gebildet werden [155]. Ein Nachteil dieser Methode liegt jedoch darin, dass z. B. Arsenobetain nicht mit dem zur Hydridbildung eingesetzten Natriumborant (NaBH₄) reagiert und daher nicht erfasst wird. Eine weitere Möglichkeit, um die $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}$ -Störung zu vermeiden, besteht darin, dem Plasmagas der ICP-MS einige Prozent Stickstoff zuzumischen [176].

Eine dritte Möglichkeit, welche in dieser Arbeit realisiert wurde, liegt darin, die Arsenspezies chromatographisch von Chlorid-Ionen zu trennen [54, 154, 177, 178, 179, 180, 181, 182]. In Abb. 15 (Seite 49) ist das Chromatogramm einer Mischung dargestellt, die je 10 µg Element/L als As(III), DMA, MMA, As(V), Sb(V), je 40 µg/L Sb(III), Se(IV), Se(VI), 90 µg Se/L als Selenomethionin und 400 mg Chlorid/L enthielt. Bei den eingesetzten chromatographischen Bedingungen eluieren Chlorid-Ionen nicht gleichzeitig mit einer anderen Arsenspezies. Das Signal der Chlorid-Ionen liegt bei einer höheren Retentionszeit als dasjenige von MMA (Abb. 9, Seite 32 und Abb. 15). Im Vergleich zu denjenigen Signalen, die bei der Injektion von 10 µg Arsen/L entstehen, ist die Erhöhung des Untergrundsignals von Arsen zwischen 300 und 400 s, die durch 400 mg Chlorid/L verursacht wird, klein (Abb. 15). Mit der Methode ist es möglich, die Arsenspezies eindeutig zu bestimmen, selbst wenn Chlorid-Ionen in der Probe vorhanden sind.

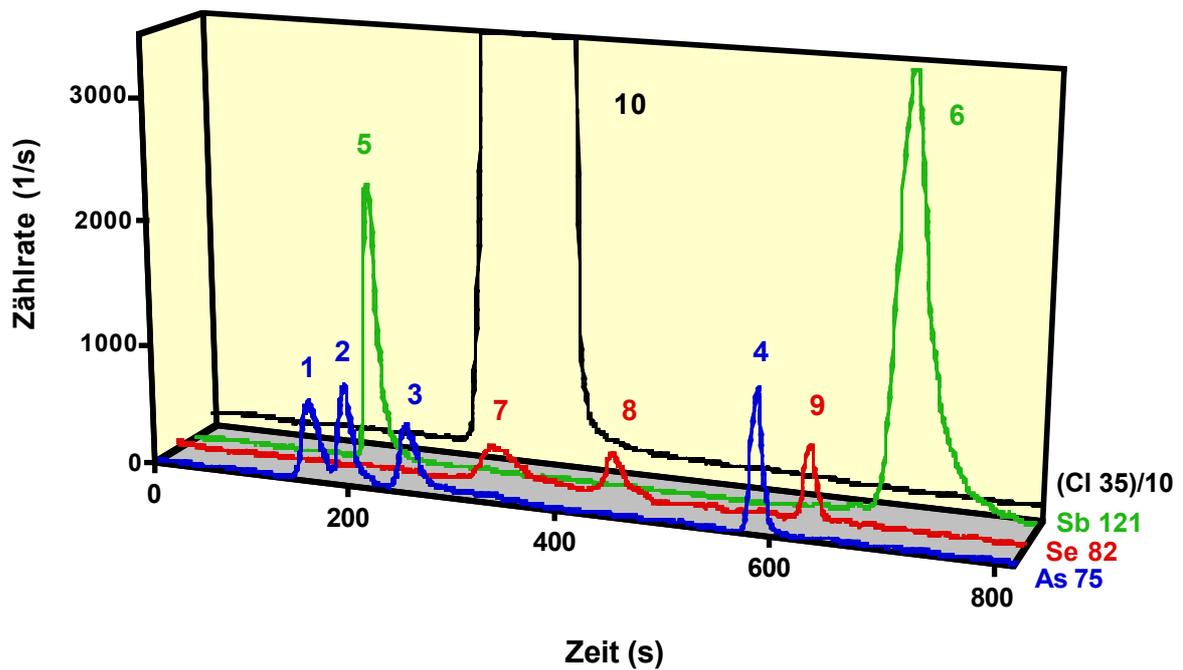


Abb. 15: Chromatogramm (HPLC/ICP-QMS) einer wässrigen Lösung aus As(III) (1), DMA (2), MMA (3), As(V) (4), Sb(V) (5), Sb(III) (6), Selenomethionin (7), Se(IV) (8), Se(VI) (9) in einer Chlorid-Ionen (10) enthaltenden Matrix

5.2.6 Richtigkeit

Richtigkeit ist das Ausmaß der Übereinstimmung zwischen dem Mittelwert einer Serie von Messergebnissen und einem akzeptierten Referenzwert [183]. Um die Richtigkeit der Bestimmung von Elementspezies in mehreren Matrices zu überprüfen, wurden zertifizierte Referenzmaterialien untersucht. Da jedoch nur für wenige der untersuchten Spezies zertifizierte Gehalte vorliegen, wurden Vergleichsmessungen mit einem gekoppelten System zwischen CE und ICP-SFMS durchgeführt und Wiederfindungen in dotierten Proben ermittelt. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen werden in den Abschnitten 5.4 (Seite 55) bis 5.7 (Seite 78) vorgestellt und belegen die Eignung der HPLC/ICP-QMS zur Bestimmung von Elementspezies in Urin und Extrakten aus Fisch- und Boden-Standardreferenzmaterialien.

5.3 Methodenvergleich HPLC/ICP-QMS, CE/ICP-QMS und CE/ICP-SFMS

In den folgenden Abschnitten wird das entwickelte gekoppelte System HPLC/ICP-QMS mit gekoppelten Systemen, die aus Kapillarelektrophorese und ICP-MS bestehen, verglichen. Sowohl ein Quadrupol- als auch ein Sektorfeld-ICP-MS wurden eingesetzt (vgl. Abschnitt 4.4, Seite 33). Das nach Injektion einer Mischung der Standards mittels HPLC/ICP-QMS erhaltene Chromatogramm wird mit den mit CE/ICP-QMS und CE/ICP-SFMS erhaltenen Elektropherogrammen verglichen. Ein Vergleich der erzielten Nachweis- und Bestimmungsgrenzen erfolgt in Abschnitt 5.3.2 (Seite 52).

5.3.1 Vergleich der mittels HPLC/ICP-QMS, CE/ICP-QMS und CE/ICP-SFMS erhaltenen Chromatogramme und Elektropherogramme

Ein Elektropherogramm, welches nach Injektion einer Mischung der Standards mittels CE/ICP-QMS erhalten wurde, ist in Abb. 16 (Seite 51) dargestellt. Der eingesetzte Standard enthielt je 100 µg Element/L als Arsenocholin, Arsenobetain, As(III), DMA, PAA, MMA, As(V), Sb(V), Te(IV), Te(VI) und je 1000 µg Selen/L als Selenomethionin, Se(IV) und Se(VI). Im Vergleich zu dem Chromatogramm eines Standards, das mittels HPLC/ICP-QMS aufgezeichnet wurde (Abb. 9, Seite 32), wurden mit der CE/ICP-QMS schmalere Signale erhalten. Diese schmalere Signale (Halbwertsbreiten 1 s bis 10 s) werden durch eine bessere Trennleistung der CE im Vergleich zur HPLC (Halbwertsbreiten 10 s bis 60 s) hervorgerufen.

Während bei der HPLC/ICP-QMS das letzte Signal nach etwa 700 s detektiert wird, liegen die Migrationszeiten bei der CE/ICP-QMS unterhalb von 450 s. Unter Berücksichtigung der Zeiten, die bei der HPLC zum Spülen der Säule mit der weniger konzentrierten mobilen Phase A und bei der CE zum Spülen der Kapillaren mit Natronlauge (0,1 mol/L), Wasser und Pufferlösung nötig sind, kann bei der HPLC nach 16 min, bei der CE nach etwa 13 min die nächste Probe analysiert werden.

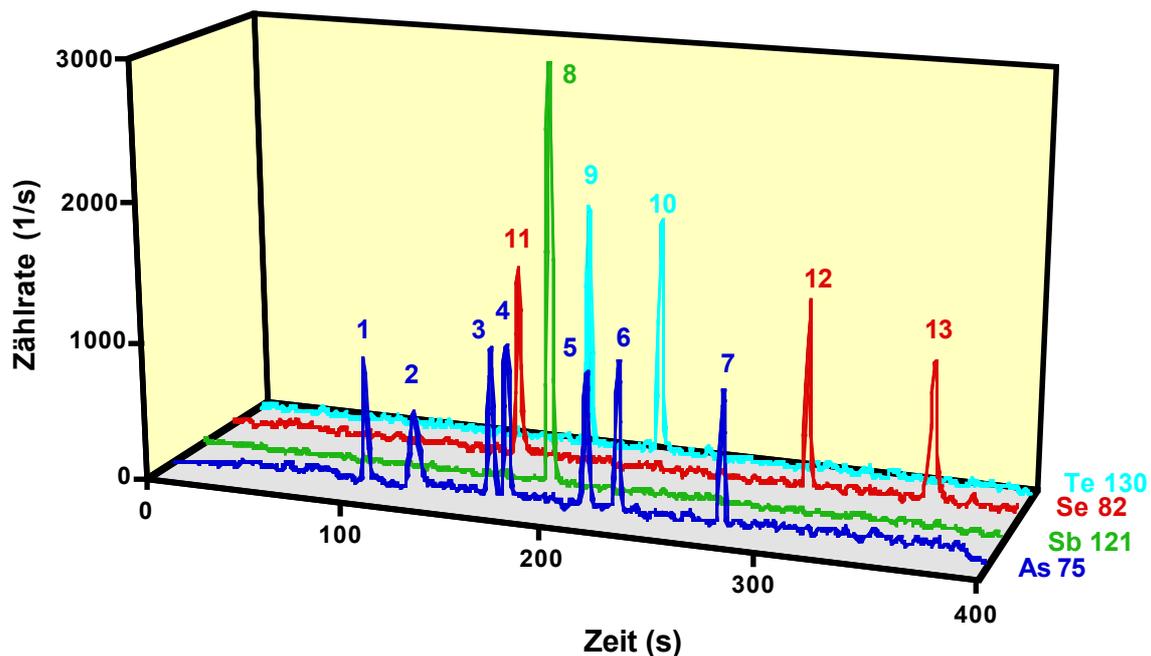


Abb. 16: Elektropherogramm (CE/ICP-QMS) einer Lösung von Arsenocholin (1), Arsenobetain (2), As(III) (3), DMA (4), PAA (5), MMA (6), As(V) (7), Sb(V) (8), Te(IV) (9), Te(VI) (10) (je 100 μg Element/L) und Selenomethionin (11), Se(IV) (12) und Se(VI) (13) (je 1000 μg Selen/L)

Um bei der CE/ICP-QMS vergleichbare Signalhöhen wie bei der HPLC/ICP-QMS zu erzielen, ist es erforderlich, Standards zu verwenden, deren Konzentrationen um eine Größenordnung höher als bei der HPLC/ICP-QMS liegen. Die geringere Empfindlichkeit der CE/ICP-QMS führt zu höheren Nachweisgrenzen im Vergleich zur HPLC/ICP-QMS (siehe Abschnitt 5.3.2, Seite 52).

Um den Nachteil höherer Nachweisgrenzen zu vermeiden, kann bei der CE zur Detektion ein ICP-SFMS eingesetzt werden, welches bei der Auflösung $m/\Delta m = 300$ eine höhere Empfindlichkeit als die ICP-QMS besitzt. Ein Elektropherogramm, das mittels CE/ICP-SFMS erhalten wurde, ist in Abb. 17 (Seite 52) dargestellt. Der eingesetzte Standard enthielt je 25 μg Element/L als Arsenocholin, Arsenobetain, As(III), DMA, PAA, MMA, As(V), Sb(V), Te(IV), Te(VI) und je 250 μg Selen/L als Selenomethionin, Se(IV) und Se(VI). Auch dieses Elektropherogramm zeigt die für die CE typischen Signale mit kleiner Halbwertsbreite.

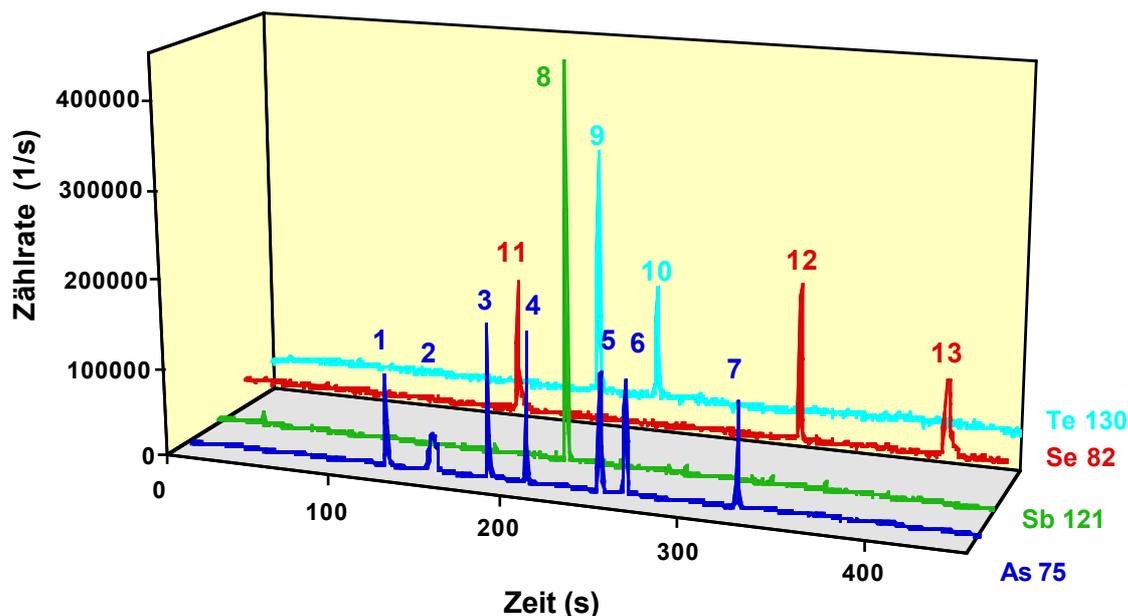


Abb. 17: Elektropherogramm (CE/ICP-SFMS) einer Lösung von Arsenocholin (1), Arsenobetain (2), As(III) (3), DMA (4), PAA (5), MMA (6), As(V) (7), Sb(V) (8), Te(IV) (9), Te(VI) (10) (je 25 µg Element/L) und Selenomethionin (11), Se(IV) (12) und Se(VI) (13) (je 250 µg Selen/L)

5.3.2 Vergleich der Nachweisgrenzen von HPLC/ICP-QMS, CE/ICP-QMS und CE/ICP-SFMS

Die mittels CE/ICP-QMS erzielten relativen Nachweisgrenzen bei der Bestimmung von Spezies der Elemente Arsen, Selen, Antimon und Tellur werden in Tab. 13 mit den Nachweisgrenzen der HPLC/ICP-QMS (vgl. Abschnitt 5.2.1, Seite 41) und mit den Nachweisgrenzen, die PRANGE und SCHAUMLÖFFEL [120] mittels CE/ICP-SFMS erreichten, verglichen. Die Nachweisgrenzen wurden jeweils mit der Kalibriergeradenmethode (vgl. Abschnitt 5.2.1, Seite 41) ermittelt.

Tab. 13: Relative Nachweisgrenzen der HPLC/ICP-QMS, CE/ICP-QMS und CE/ICP-SFMS in µg Element/L

	As(III)	As(V)	AsB	DMA	MMA	PAA	Se(IV)	Se(VI)	SeMet	Sb(III)	Sb(V)	Te(IV)	Te(VI)
HPLC/ICP-QMS, diese Arbeit	0,43	0,61	0,46	0,49	0,66	0,69	3,1	4,3	5,1	1,5	0,43	n.b.	0,83
CE/ICP-QMS, diese Arbeit	4,9	8,0	12	7,3	8,7	12	80	78	69	n.b.	4,3	7,1	9,2
CE/ICP-SFMS, [120]	1,3	0,3	6,0	1,7	0,6	0,5	4,2	9,5	n.a.	n.b.	0,5	1,0	0,8

n.b.: unter den eingesetzten Bedingungen sind diese Spezies mit den jeweiligen Methoden nicht bestimmbar

n.a.: nicht angegeben

Tab. 14: Absolute Nachweisgrenzen der HPLC/ICP-QMS, CE/ICP-QMS und CE/ICP-SFMS in pg Element

	As(III)	As(V)	AsB	DMA	MMA	PAA	Se(IV)	Se(VI)	SeMet	Sb(III)	Sb(V)	Te(IV)	Te(VI)
HPLC/ICP-QMS, diese Arbeit	22	31	23	25	33	35	160	210	250	77	22	n.b.	42
CE/ICP-QMS, diese Arbeit	0,20	0,33	0,49	0,30	0,36	0,49	3,3	3,2	2,8	n.b.	0,18	0,29	0,38
CE/ICP-SFMS, [120]	0,054	0,014	0,25	0,079	0,024	0,019	0,17	0,40	n.a.	n.b.	0,019	0,039	0,034

n.b.: unter den eingesetzten Bedingungen sind diese Spezies mit den jeweiligen Methoden nicht bestimmbar
n.a.: nicht angegeben

Die relativen Nachweisgrenzen, die mittels CE/ICP-QMS erzielt werden, liegen etwa um eine Größenordnung über denjenigen, die mittels HPLC/ICP-QMS erreicht werden. Die durch Multiplikation der relativen Nachweisgrenzen mit dem Injektionsvolumen (HPLC: 50 µL, CE: etwa 41 nL) erhaltenen absoluten Nachweisgrenzen liegen bei der CE/ICP-QMS um etwa zwei Größenordnungen unter denen der HPLC/ICP-QMS (Tab. 14). Da bei der CE ein deutlich über dem Injektionsvolumen liegendes Probenvolumen von mindestens etwa 30 µL vorgelegt werden muss, ist der Vorteil der CE von kleinen absoluten Nachweisgrenzen in der Praxis nicht bedeutsam.

Das Ergebnis, dass die mittels HPLC/ICP-QMS erzielten relativen Nachweisgrenzen kleiner als diejenigen der CE/ICP-QMS sind, ist auf mehrere entgegengesetzt wirkende Faktoren zurückzuführen:

- 1) Da bei der HPLC ein größeres Volumen als bei der CE injiziert wird, gelangen bei der Kopplung mit der HPLC mehr Analytmoleküle in das gekoppelte System.
- 2) Aufgrund von Verlusten in der Sprühkammer gelangt bei der HPLC jedoch nur etwa 1 bis 3 % des Analyten (bei einer Flussrate von 1 mL/min) in das Plasma [101], während bei der Kopplung mit der CE ein nahezu vollständiger Probentransport erfolgt, da keine Kondensation in der Sprühkammer auftritt.
- 3) Die bei der Kopplung mit der CE im Vergleich zur HPLC schmalere Signale verbessern das Signal/Rausch-Verhältnis.

Wenn anstelle der ICP-QMS die empfindlichere ICP-SFMS zur Detektion verwendet wird, werden relative Nachweisgrenzen erreicht, die in der Größenordnung liegen, die mit der Kopplung HPLC/ICP-QMS erzielt werden. Die in den Abschnitten 5.4 (Seite 55) bis 5.7 (Seite 78) vorgestellten Vergleichsmessungen wurden mit der CE/ICP-SFMS durchgeführt, weil die Nachweisgrenzen der CE/ICP-QMS für viele der untersuchten Elementspezies nicht ausreichten.

5.4 Anwendungen der HPLC/ICP-QMS zur Bestimmung von Speziesgehalten der Elemente Arsen, Selen, Antimon und Tellur in unterschiedlichen Matrices

Um Anwendungsmöglichkeiten der entwickelten Kopplung von HPLC und Quadrupol-Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-QMS) in Umweltproben zu untersuchen, und um die Richtigkeit zu überprüfen, wurden mehrere Fisch-, Urin- und Boden-Standardreferenzmaterialien untersucht. Bislang existieren jedoch nur wenige Referenzmaterialien mit zertifizierten Speziesgehalten. Von den in dieser Arbeit untersuchten Spezies wurden bis jetzt nur zwei in einem einzigen Referenzmaterial zertifiziert. Daher wurden im Rahmen der Qualitätssicherung zur Überprüfung der Richtigkeit der HPLC/ICP-QMS-Untersuchungen auch Vergleichsmessungen mit einer Kopplung von Kapillarelektrophorese und ICP-Sektorfeld-Massenspektrometrie (CE/ICP-SFMS) durchgeführt und die erhaltenen Messwerte mit Literaturangaben anderer Autoren verglichen sowie Wiederfindungsraten zugefügter Spezies bestimmt.

5.5 Bestimmung der Gehalte von Elementspezies in Fischproben

Das bisher einzige Referenzmaterial, für das zertifizierte Gehalte von zwei in dieser Arbeit untersuchten Spezies vorliegen, ist das Fisch-Referenzmaterial BCR CRM 627, das im Folgenden als BCR 627 abgekürzt wird. Dieses Material besteht aus Muskelgewebe von Thunfischen, das getrocknet, homogenisiert und sterilisiert worden war [184].

Daneben wurde auch das zertifizierte Referenzmaterial NRC DORM-2, das im Folgenden als DORM-2 bezeichnet wird, untersucht. Für das Material liegen zwar keine zertifizierten Speziesgehalten vor, die Gehalte von Arsenobetain, DMA, MMA und As(V) wurden jedoch von anderen Arbeitsgruppen ermittelt. Dieses Material besteht aus Muskelgewebe von Hundshaien, welches homogenisiert und zur teilweisen Entfettung mit Aceton extrahiert worden war [185].

In den nachfolgenden Abschnitten wird über die durchgeführte Probenvorbereitung, über Ergebnisse, die sowohl mittels HPLC/ICP-QMS als auch mit der CE/ICP-SFMS erhalten wurden, über Wiederfindungsraten zugefügter Spezies und über die Stabilität der Spezies in Extrakten beider Referenzmaterialien berichtet.

5.5.1 Probenvorbereitung zur Untersuchung von Elementspezies in Fischproben

Probenvorbereitungsschritte, mit denen Selen-, Antimon- oder Tellurspezies aus biologischen Proben herausgelöst werden konnten, wurden in der Literatur bisher nur wenig beschrieben. Zur Extraktion von Arsenspezies wurden Mischungen aus Methanol und Wasser verwendet [64 - 70]. Eine derartige Mischung wurde in dieser Arbeit auch zur Extraktion der übrigen Spezies eingesetzt. Die Extraktion wird im Anhang (Abschnitt 10.4, Seite 125) detailliert beschrieben. Für die Untersuchungen mittels HPLC/ICP-QMS wurden die Extrakte 1+4 verdünnt; für die CE/ICP-SFMS war eine Verdünnung 1+9 (DORM-2) bzw. 1+19 (BCR 627) erforderlich, um Matrixeinflüsse auf die Speziestrennung zu vermeiden.

5.5.2 Bestimmung von Elementspeziesgehalten in dem Fisch-Referenzmaterial BCR 627

Im Folgenden werden die Ergebnisse, die bei der Untersuchung des zertifizierten Fisch-Referenzmaterials BCR 627 erzielt wurden, vorgestellt. Abb. 18 (Seite 57) zeigt das Chromatogramm, das mit der HPLC/ICP-QMS bei einer Injektion des 1+4 verdünnten Fischextraktes erhalten wurde. In dieser Abbildung ist daneben das zum Vergleich mittels CE/ICP-SFMS erhaltene Elektropherogramm des 1+19 verdünnten Extraktes dargestellt. Das erhöhte Untergrundsignal bei der Massenzahl 82(Se) ist auf eine isobare Störung durch ^{82}Kr zurückzuführen. Diese Störung wird bei der eingesetzten ICP-SFMS im Gegensatz zur ICP-QMS nicht automatisch durch die Software korrigiert. Das erhöhte Untergrundsignal bei der Massenzahl 130(Te) wird durch eine isobare Störung von ^{130}Xe verursacht. Der auf dieser Masse höhere Untergrund im Vergleich zur HPLC/ICP-QMS kann durch eine höhere Ionisierung von Xenon infolge anderer gerätespezifischer Bedingungen (Hilfselektrode, Geometrie, Plasmaleistung, Gasflüsse, weniger Wassereintrag durch die Kapillarelektrophorese) erklärt werden. Sowohl Krypton als auch Xenon sind als Verunreinigungen in dem Argon (99,996 %), mit dem die ICP-MS betrieben wird, enthalten.

Bei beiden Methoden wurde neben einem Signal von Arsenobetain ein kleineres von DMA erhalten. Bei der HPLC-Methode war ein nahe dem Untergrund liegendes Signal von MMA und bei der CE-Methode ein kleines Signal von As(V) vorhanden. Die Signalflächen der beiden letztgenannten Spezies streuten stark, weil die Gehalte nahe an den Nachweisgrenzen lagen. Die aus Doppelbestimmungen ermittelten Gehalte der Spezies sind in Tab. 15 (Seite 57) zusammengestellt. Die ermittelten Werte stimmen innerhalb der durch die Standardabweichungen charakterisierten statistischen Unsicherheiten mit den zertifizierten Werten von Arsenobetain und DMA überein.

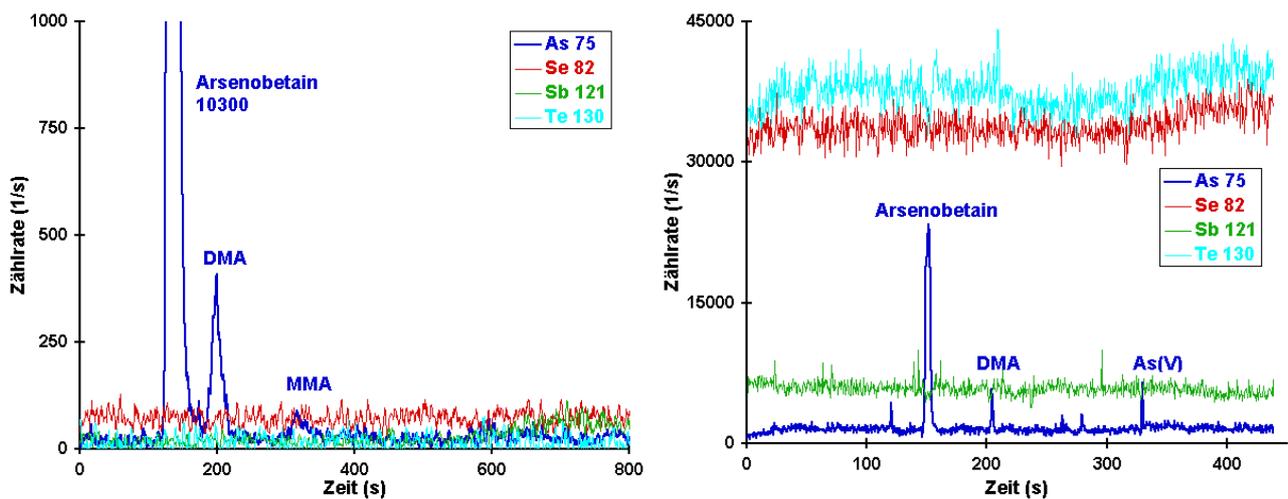


Abb. 18: Chromatogramm des 1+4 verdünnten Extraktes (links) und Elektropherogramm des 1+19 verdünnten Extraktes (rechts) aus dem zertifizierten Fisch-Referenzmaterial BCR 626

Tab. 15: Vergleich der mit HPLC/ICP-QMS und der mittels CE/ICP-SFMS ermittelten Speziesgehalte in dem Fisch-Referenzmaterial BCR 627 mit den zertifizierten Werten (Angaben in μg Arsen/g ± 1 SD; n=2)

	Arsenobetain	DMA	MMA	As (V)	Summe Arsen
diese Arbeit, HPLC/ICP-QMS	3,9 \pm 0,8	0,19 \pm 0,03	0,09 \pm 0,05	< 0,04	4,2 \pm 0,8
diese Arbeit, CE/ICP-SFMS	3,1 \pm 0,6	0,17 \pm 0,03	< 0,12	0,13 \pm 0,08	3,4 \pm 0,6
zertifiziert [184]	3,9 \pm 0,2	0,15 \pm 0,02			4,8 \pm 0,3 *

* = nach Aufschluss ermittelt

5.5.2.1 Wiederfindungsraten der zum Extrakt aus BCR 627 zugegebenen Spezies

Um nachzuweisen, dass neben Arsenobetain und DMA auch die übrigen Spezies in dem Extrakt des Fisch-Referenzmaterials BCR 627 richtig bestimmt werden können, wurden Dotierungsexperimente durchgeführt. Den 1+4 (HPLC-Methode) und 1+19 (CE-Methode) verdünnten Extrakten wurden die in Tab. 16 und Tab. 17 (Seite 58) aufgeführten Gehalte an Spezies zugefügt. Die in Gegenwart der Matrix mit Doppelbestimmungen ermittelten Wiederfindungsraten lagen bei der HPLC/ICP-QMS zwischen 94 % und 112 % und bei der CE/ICP-SFMS zwischen 85 % und 109 %.

Tab. 16: Wiederfindungsraten (HPLC/ICP-QMS) der zum Extrakt aus BCR 627 (1+4 verdünnt) zugegebenen Spezies

	AsB	As(III)	DMA	MMA	As(V)	PAA	SeMet	Se(IV)	Se(VI)	Sb(V)	Sb(III)	Te(VI)
Zugabe (µg Element/L)	150	20	20	20	20	20	200	200	200	20	20	20
entsprechend (µg Element/g)	7,5	1	1	1	1	1	10	10	10	1	1	1
Wiederfindungsrate (%)	112	97	94	107	103	101	101	95	95	94	109	106

Tab. 17: Wiederfindungsraten (CE/ICP-SFMS) der zum Extrakt aus BCR 627 (1+19 verdünnt) zugegebenen Spezies

	AsB	As(III)	DMA	MMA	As(V)	AsC	PAA	SeMet	Se(IV)	Se(VI)	Sb(V)	Te(IV)	Te(VI)
Zugabe (µg Element/L)	40	40	40	40	40	40	40	400	400	400	40	40	40
entsprechend (µg Element/g)	8	8	8	8	8	8	8	80	80	80	8	8	8
Wiederfindungsrate (%)	107	108	99	93	100	101	108	103	109	105	85	106	97

Das nach der Dotierung mit den in Tab. 16 und Tab. 17 angegebenen Spezies (außer Arsenobetain: bei der HPLC nicht zugefügt) mittels HPLC/ICP-QMS erhaltene Chromatogramm und das mit der CE/ICP-SFMS aufgenommene Elektropherogramm sind in Abb. 19 dargestellt.

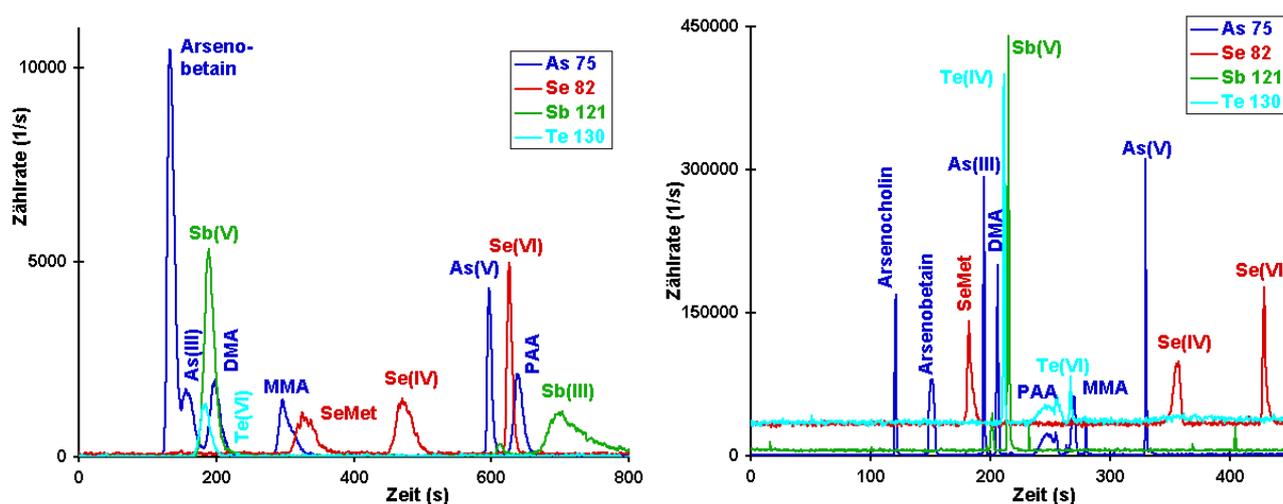


Abb. 19: Chromatogramm des 1+4 verdünnten Extraktes (links) und Elektropherogramm des 1+19 verdünnten Extraktes (rechts) aus BCR 627 nach Dotierung

5.5.2.2 Wiederfindungsraten der vor der Extraktion zu BCR 627 zugefügten Spezies

Nicht nur die Wiederfindungsraten der zum Extrakt zugegebenen Spezies, sondern auch die Wiederfindungsraten von vor dem Extraktionsschritt zum zertifizierten Fisch-Referenzmaterial BCR 627 zugefügten Spezies wurden bestimmt. Diese Messungen wurden durchgeführt, um zu überprüfen, ob durch die Probenvorbereitung Speziesveränderungen verursacht wurden.

Das Chromatogramm des 1+4 verdünnten Extraktes, das mittels HPLC/ICP-QMS erhalten wurde, nachdem die in Tab. 18 (Seite 60) aufgeführten Spezies (außer Arsenobetain) vor dem Extraktionsschritt zugefügt wurden, ist in Abb. 20 dargestellt. Die ermittelten Wiederfindungsraten sind in Tab. 18 aufgelistet. Während der Extraktion traten signifikante Veränderungen der Konzentrationen der Spezies Selenomethionin (Signifikanzniveau $p = 0,001$), Sb(III) ($p = 0,002$) und Sb(V) ($p = 0,01$) auf (vgl. Abschnitt 5.1.1, Seite 36). Vom zugefügten Selenomethionin wurde nichts, vom Sb(III) etwa 40 % und vom Sb(V) etwa 30 % wiedergefunden. Ein Signal einer bislang nicht identifizierten Selenspezies trat bei einer Retentionszeit von 145 s auf (im Chromatogramm als Se(1) bezeichnet). Zwei ebenfalls nicht identifizierte Antimonsignale wurden bei Retentionszeiten von 220 s und 490 s (als Sb(1) und Sb(2) bezeichnet) detektiert.

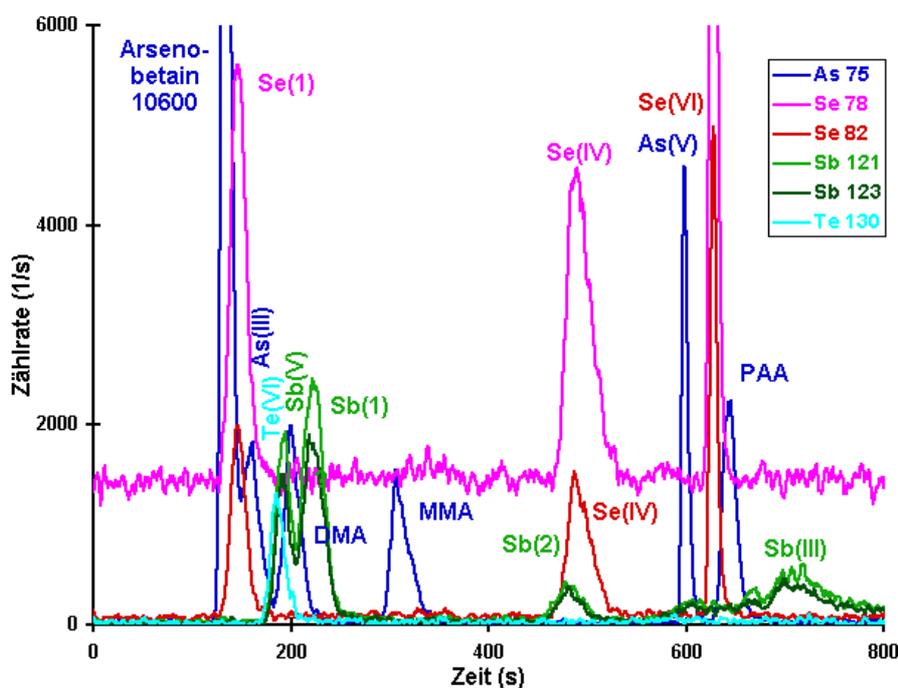


Abb. 20: Chromatogramm eines 1+4 verdünnten Extraktes aus dotiertem BCR 627

Tab. 18: Wiederfindungsraten der vor der Extraktion zu BCR 627 zugegebenen Spezies und Bildungsraten unbekannter Spezies

Spezies	AsB	As(III)	DMA	MMA	As(V)	PAA	SeMet	Se*	Se(IV)	Se(VI)	Sb(V)	Sb(III)	Sb(1)**	Sb(2)**	Te(VI)
Zugabe (μg Element/g)	7,5	1	1	1	1	1	10	0	10	10	1	1	0	0	1
Wiederfindungsrate (%)	92	97	99	111	109	107	0		97	98	27	43			99
Bildungsrate*** (%)								97					70	10	

* : unbekannte Selenpezies mit der Retentionszeit 145 s

** : unbekannte Antimonpezies mit den Retentionszeiten 220 s und 490 s

***: Bildungsrate bezogen auf die zugefügten Konzentrationen von Selenomethionin bzw. von den Antimonpezies

Nicht nur die Isotope ^{82}Se und ^{121}Sb , sondern auch ^{78}Se und ^{123}Se wurden detektiert, um zu überprüfen, ob die drei nicht identifizierten Signale von Selen- und Antimonpezies, und nicht durch spektrale Störungen auf diesen Massenzahlen verursacht wurden. Da auch bei diesen Isotopen Signale mit den Retentionszeiten 145 s, 220 s und 490 s auftraten, entstanden bei der Extraktion nicht identifizierte Selen- und Antimonpezies. Der höhere Untergrund des Signals auf der Masse 78 ist auf eine Störung durch $^{38}\text{Ar}^{40}\text{Ar}^+$ aus dem für die ICP-MS verwendeten Argon zurückzuführen.

Der Gehalt der nicht identifizierten Antimonpezies wurde aus der Empfindlichkeit von Sb(V) und der Gehalt der Selenpezies aus der mittleren Empfindlichkeit der übrigen drei untersuchten Selenpezies nach Gleichung 3 (Seite 39) abgeschätzt. In Tab. 18 werden diese Gehalte auf die Konzentrationen der zugegebenen Antimonpezies bzw. auf diejenige von Selenomethionin bezogen und als Bildungsrate bezeichnet. Aus den erhaltenen Werten wurde ermittelt, dass Selenomethionin vollständig in die nicht identifizierte Selenpezies umgewandelt wurde, während die Abnahme der Konzentration von Sb(III) und Sb(V) nicht vollständig durch die Entstehung der beiden unbekanntenen Antimonpezies ausgeglichen wurde.

Die Wiederfindungsraten von Se(IV), Se(VI), Te(VI) und von den Arsenspezies lagen nach dem Extraktionsschritt zwischen 92 % und 111 %. Aufgrund dieser Werte kann geschlossen werden, dass bei diesen Spezies keine Veränderungen durch die Probenvorbereitung verursacht wurden.

5.5.2.3 Stabilität der zum Extrakt aus BCR 627 zugefügten Spezies

In diesem Abschnitt werden die Ergebnisse von Stabilitätsuntersuchungen der Spezies, die dem Extrakt aus dem Fisch-Referenzmaterial BCR 627 zugefügt wurden, dargestellt. Da bei einer Lagerung wässriger Speziesmischungen bei 3 °C eine Stabilität über einen längeren Zeitraum als bei Raumtemperatur oder bei -20 °C erzielt wurde (vgl. Abschnitt 5.1.3, Seite 38), wurde auch in dieser Arbeit die Stabilität der Extrakte nach einer Lagerung bei 3 °C geprüft. Um auch die Stabilität der Spezies, die in mittels HPLC/ICP-QMS nicht nachweisbaren Konzentrationen in dem Extrakt enthalten waren, untersuchen zu können, wurden vor der Lagerung die in Tab. 19 (Seite 62) angegebenen Speziesgehalte zugefügt.

Das Chromatogramm, das mittels HPLC/ICP-QMS bei der Injektion des dotierten Extraktes nach einer dreitägigen Lagerung (3 °C) erhalten wurde, ist in Abb. 21 dargestellt. Im Vergleich zu dem Chromatogramm, das unmittelbar nach der Spezieszugabe erhalten wurde (Abb. 19, Seite 58), trat nach drei Tagen eine signifikante Abnahme der Konzentration von Selenomethionin ($p = 0,04$) um etwa 30 % und der Konzentration von Sb(V) ($p = 0,02$) um ca. 60 % auf (Tab. 19). Gleichzeitig entstand ein Signal einer nicht identifizierten Selenpezies mit einer Retentionszeit von 145 s und ein Signal einer nicht identifizierten Antimonspezies mit einer Retentionszeit von 220 s.

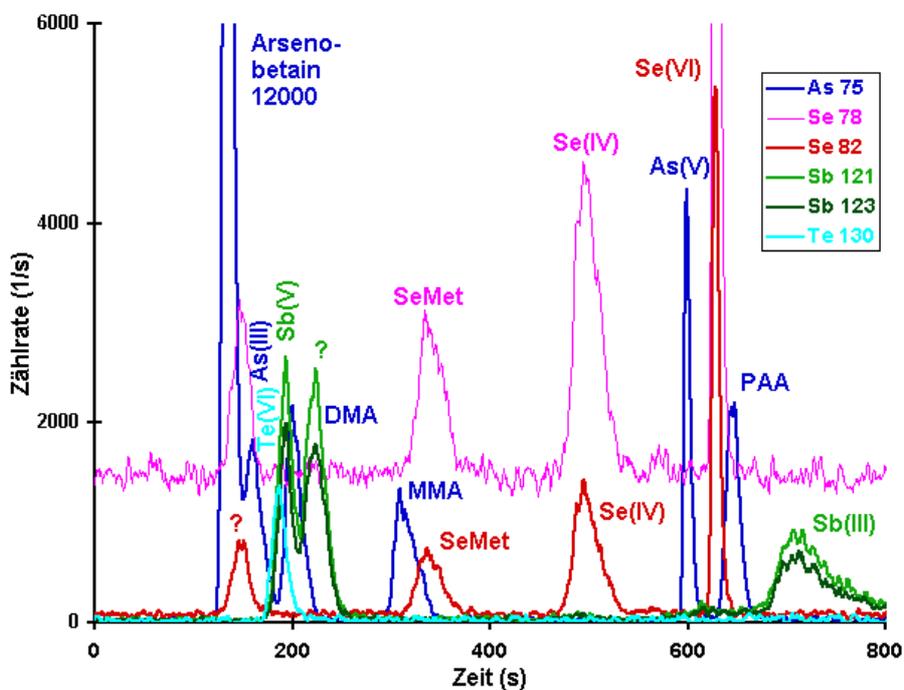


Abb. 21: Chromatogramm des dotierten 1+4 verdünnten Extraktes aus BCR 627 nach einer dreitägigen Lagerung bei 3 °C.

Tab. 19: Veränderungen des dotierten Extraktes aus BCR 627 nach einer dreitägigen Lagerung bei 3 °C

	AsB	As(III)	DMA	MMA	As(V)	PAA	SeMet	Se*	Se(IV)	Se(VI)	Sb(V)	Sb**	Sb(III)	Te(VI)
Zugabe (µg Element/L)	0	20	20	20	20	20	200	0	200	200	20	0	20	20
Veränderung (%)	+12	0	+12	+8	+4	+6	-27	+35	+1	+3	-59	+65	-7	+2

* : unbekannte Selenspezies mit der Retentionszeit 145 s; Veränderung bezogen auf die anfänglich vorhandene Konzentration von Selenomethionin

** : unbekannte Antimonspezies mit der Retentionszeit 220 s; Veränderung bezogen auf die anfänglich vorhandene Konzentration von Sb(V)

Um zu überprüfen, ob spektrale Störungen auf diesen Massenzahlen die zwei nicht identifizierten Signale verursachten, wurden wie in Abschnitt 5.5.2.2 (Seite 59) ebenfalls die Isotope ^{78}Se und ^{123}Sb detektiert. Da auch bei diesen Isotopen Signale mit den Retentionszeiten 145 s bzw. 220 s auftraten, lagen keine Störungen, sondern nicht identifizierte Selen- und Antimonspezies vor.

Der Gehalt der unbekanntes Antimonspezies wurde aus der Empfindlichkeit von Sb(V) und der Gehalt der Selenspezies aus der mittleren Empfindlichkeit der übrigen drei untersuchten Selenspezies abgeschätzt (vgl. Gleichung 3, Seite 39). Die Abnahme der Konzentration von Selenomethionin und Sb(V) wurde durch die Zunahme der Konzentrationen der beiden unbekanntes Spezies ausgeglichen (Tab. 19). Bei den übrigen Spezies traten keine über $\pm 12\%$ hinausgehenden Speziesumwandlungen während der Lagerung auf.

5.5.3 Bestimmung von Elementspeziesgehalten in dem Fisch-Referenzmaterial DORM-2

In diesem Abschnitt werden die Ergebnisse vorgestellt, die bei der Untersuchung des Fisch-Referenzmaterials DORM-2 erhalten wurden. Das Chromatogramm, das mittels HPLC/ICP-QMS bei einer Injektion des 1+4 verdünnten Extraktes aus diesem Material erhalten wurde, ist in Abb. 22 (Seite 63) dargestellt. Der größte Teil des Arsens lag in dem Extrakt als Arsenobetain vor. Daneben wurden kleinere Signale von DMA und MMA detektiert. Da für dieses untersuchte Material keine zertifizierten Speziesgehalte vorliegen, wurden Vergleichsmessungen mit der CE/ICP-SFMS durchgeführt. Die mit beiden Methoden aus Doppelbestimmungen erhaltenen Speziesgehalte werden in Tab. 20 (Seite 64) mit den Werten, die von anderen Arbeitsgruppen

bereits veröffentlicht wurden, und mit dem zertifizierten Gesamtarsengehalt verglichen. Die mittels HPLC/ICP-QMS erhaltenen Konzentrationen von Arsenobetain, DMA und MMA liegen in dem Bereich, der von den kleinsten und größten, von anderen Arbeitsgruppen oder mittels CE/ICP-SFMS erhaltenen Werten - einschließlich der durch die Standardabweichungen charakterisierten Fehlerbereiche - begrenzt wird. Die Summe der bestimmten Spezieskonzentrationen stimmt mit dem zertifizierten Gesamtarsengehalt überein. Die Unterschiede der Konzentrationen von As(V) und Arsenocholin, die von GOESSLER et al. [64] und LONDESBOROUGH et al. [71] und in dieser Arbeit mittels HPLC/ICP-QMS und CE/ICP-SFMS ermittelt wurden, verdeutlichen, dass Referenzmaterialien mit zertifizierten Gehalten dieser Spezies dringend erforderlich sind.

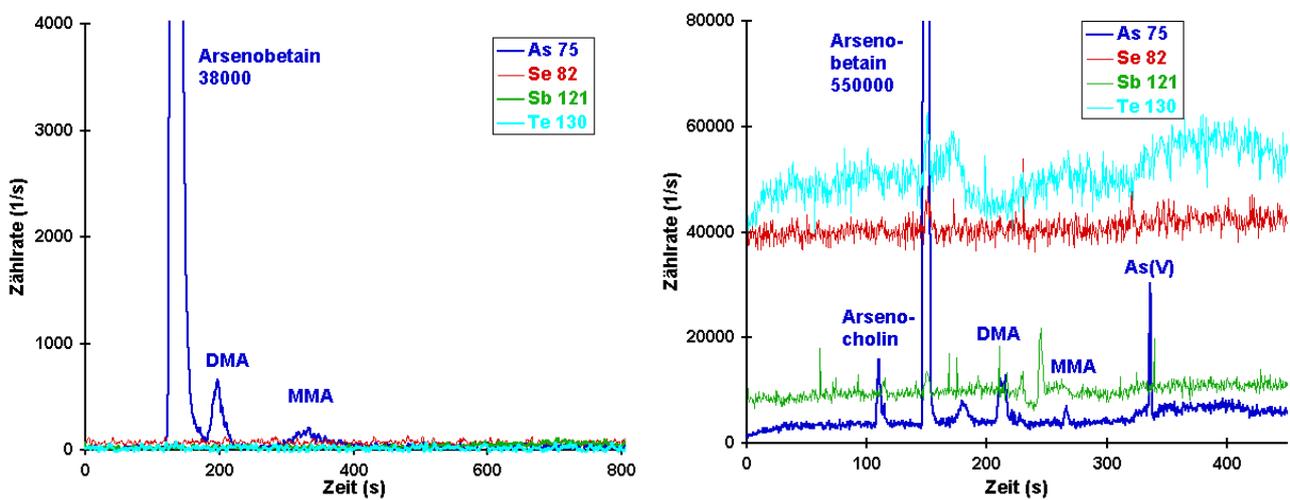


Abb. 22: Chromatogramm des 1+4 verdünnten Extraktes (links) und Elektropherogramm des 1+9 verdünnten Extraktes (rechts) aus dem Fisch-Referenzmaterial DORM-2

Tab. 20: Vergleich der mittels HPLC/ICP-QMS und CE/ICP-SFMS ermittelten Speziesgehalte in dem Fisch-Referenzmaterial DORM-2 mit den Werten anderer Arbeitsgruppen (Angaben in $\mu\text{g Asen/g} \pm 1 \text{ SD}$)

	AsB	DMA	MMA	As (V)	AsC	Summe As
diese Arbeit, HPLC/ICP-QMS	16,3 \pm 1,3	0,36 \pm 0,04	0,24 \pm 0,05	< 0,04	n.b.	16,9 \pm 1,3
diese Arbeit, CE/ICP-SFMS	16,5 \pm 2,6	0,42 \pm 0,09	0,14 \pm 0,08	0,23 \pm 0,07	0,51 \pm 0,17	17,8 \pm 2,6
zertifiziert [185]						18,0 \pm 1,1 *
GOESSLER et al., 1998 [64]	16,0 \pm 0,7	0,28 \pm 0,01	< 0,03	< 0,03	0,024 \pm 0,01	17,7 \pm 0,6 *
LONDESBOROUGH et al., 1999 [71]	13,5 \pm 0,3	0,3 \pm 0,06	0,1 \pm 0,01 **	0,4 \pm 0,09	0,02 \pm 0,002	

n.b. = nicht bestimmt; * = nach Aufschluss ermittelt; ** = Summe aus MMA und As(III)

5.5.3.1 Wiederfindungsraten der zum Extrakt aus DORM-2 zugefügten Spezies

Die Wiederfindungsraten von zum Extrakt aus dem Fisch-Referenzmaterial DORM-2 zugefügten Spezies wurden bestimmt, um zu erkennen, ob mit beiden Methoden auch die nicht in dem Extrakt vorliegenden Spezies in dieser Matrix richtig bestimmt werden können. In Abb. 23 (Seite 65) ist das Chromatogramm, das nach Zugabe der in Tab. 21 (Seite 65) aufgeführten Spezies (außer Arsenobetain, das nicht zugegeben wurde) mittels HPLC/ICP-QMS erhalten wurde, dargestellt. Diese Abbildung enthält ebenfalls das mit der CE/ICP-SFMS aufgenommene Elektropherogramm des mit den in Tab. 22 (Seite 65) aufgelisteten Spezies (außer Arsenobetain) dotierten Extraktes. Die aus Doppelbestimmungen ermittelten Wiederfindungsraten (Tab. 21 und Tab. 22) lagen bei der HPLC/ICP-QMS zwischen 96 % und 115 % und bei der CE/ICP-SFMS zwischen 86 % und 115 %.

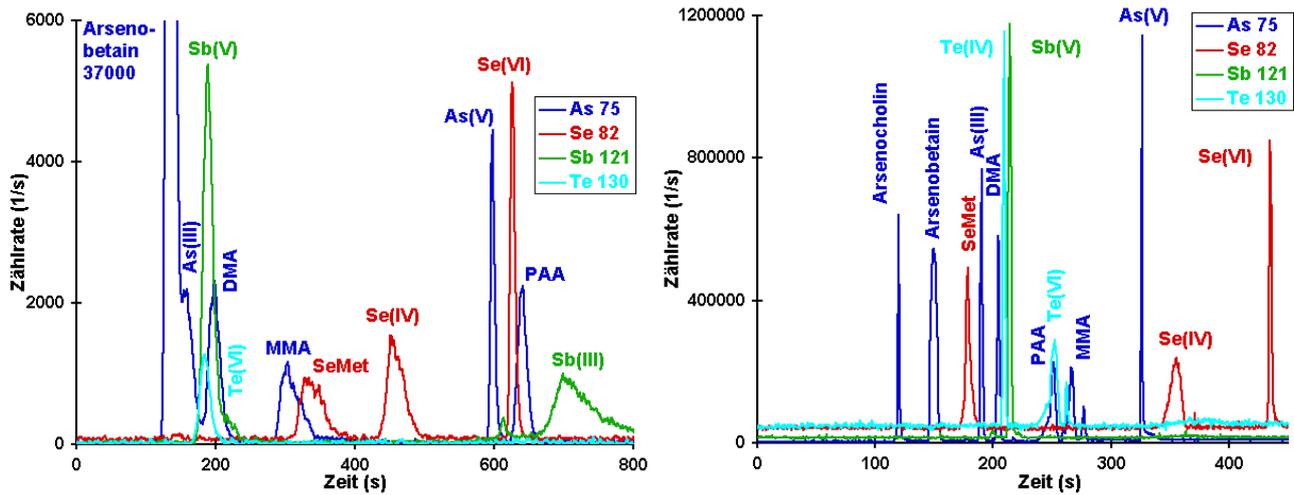


Abb. 23: Chromatogramm des 1+4 verdünnten Extraktes (links) und Elektropherogramm des 1+9 verdünnten Extraktes (rechts) aus DORM-2, nach Zugabe der Spezies

Tab. 21: Wiederfindungsraten (HPLC/ICP-MS) der zum 1+4 verdünnten Extrakt aus DORM-2 zugefügten Spezies

Spezies	AsB	As(III)	DMA	MMA	As(V)	PAA	SeMet	Se(IV)	Se(VI)	Sb(V)	Sb(III)	Te(VI)
Zugabe (μg Element/L)	300	20	20	20	20	20	200	200	200	20	20	20
entsprechend (μg Element/g)	15	1	1	1	1	1	10	10	10	1	1	1
Wiederfindungsrate (%)	97	107	96	103	107	106	115	103	100	97	101	107

Tab. 22: Wiederfindungsraten (CE/ICP-SFMS) der zum 1+9 verdünnten Extrakt aus DORM-2 zugefügten Spezies

Spezies	AsB	As(III)	DMA	MMA	As(V)	AsC	PAA	SeMet	Se(IV)	Se(VI)	Sb(V)	Te(IV)	Te(VI)
Zugabe (μg Element/L)	100	100	100	100	100	100	100	1000	1000	1000	100	100	100
entsprechend (μg Element/g)	10	10	10	10	10	10	10	100	100	100	10	10	10
Wiederfindungsrate (%)	87	107	98	96	96	98	86	102	89	94	93	115	93

5.5.3.2 Wiederfindungsraten der vor der Extraktion zu DORM-2 zugefügten Spezies

Um zu erkennen, ob durch die Probenvorbereitung Speziesveränderungen hervorgerufen werden, wurden die Wiederfindungsraten von Spezies bestimmt, die vor dem Extraktionsschritt zu dem zertifizierten Fisch-Referenzmaterial DORM-2 zugegeben wurden. Die zugefügten Speziesgehalte sind in Tab. 23 (Seite 67) aufgeführt. Das Chromatogramm, das nach Zugabe der Spezies und nachfolgender Extraktion erhalten wurde, ist in Abb. 24 (Seite 67) dargestellt. Wie auch bei BCR 627 traten durch den Extraktionsschritt signifikante Speziesveränderungen bei Selenomethionin ($p = 0,008$), Sb(III) ($p = 0,02$) und Sb(V) ($p = 0,001$) auf. Die Wiederfindungsraten dieser drei Spezies lagen unter 60 % (Tab. 23). Umwandlungen in eine unbekannte Selenspezies mit der Retentionszeit 145 s (als Se(1) bezeichnet) und in zwei nicht identifizierte Antimonspezies mit den Retentionszeiten 220 s und 490 s (als Sb(1) und Sb(2) bezeichnet) wurden beobachtet.

Die Absicherung, dass tatsächlich Selen- und Antimonspezies (und keine spektrale Störungen) vorlagen, gelang dadurch, dass nicht nur bei den Isotopen ^{82}Se und ^{121}Sb , sondern auch bei den Isotopen ^{78}Se und ^{123}Sb die entsprechenden Signale detektiert wurden. Die erhaltenen Signalverhältnisse $^{78}\text{Se}/^{82}\text{Se}$ (2,31) und $^{121}\text{Sb}/^{123}\text{Sb}$ (1,29 bzw. 1,37) der unbekanntes Spezies entsprechen den natürlichen Isotopenverhältnissen (2,57 der Selen- und 1,34 der Antimonisotope).

Aus der Steigung der Kalibriergeraden von Sb(V) und den gemittelten Steigungen der Geraden für die Selenspezies wurden die Konzentrationen der unbekanntes Spezies abgeschätzt (vgl. Gleichung 3, Seite 39). Während nach der Extraktion die Summe der Konzentrationen von Selenomethionin und von der nicht identifizierten Selenspezies genau der ursprünglich zugefügten Konzentration an Selenomethionin entsprach, wurde die Abnahme der Konzentrationen von Sb(III) und Sb(V) nicht vollständig durch die Zunahme der Konzentrationen der nicht identifizierten Antimonspezies ausgeglichen (Tab. 23).

Alle Arsenspezies, Se(IV), Se(VI) und Te(VI) wurden nach dem Extraktionsschritt jedoch vollständig (89 - 102 %) wiedergefunden. Aufgrund dieser Wiederfindungsraten kann geschlossen werden, dass bei diesen Spezies keine Umwandlungen auftraten.

Tab. 23: Wiederfindungsraten der vor der Extraktion zu DORM-2 zugegebenen Spezies und Bildungsraten unbekannter Spezies

Spezies	AsB	As(III)	DMA	MMA	As(V)	PAA	SeMet	Se**	Se(IV)	Se(VI)	Sb(V)	Sb(III)	Sb(1)***	Sb(2)***	Te(VI)
Zugabe (μg Element/g)	15	1	1	1	1	1	10	0	10	10	1	1	0	0	1
Wiederfindungsrate (%)	89	92	90	96	102	97	40		92	90	31	59			95
Bildungsrate* (%)								60					45	15	

- * : Bildungsrate bezogen auf die zugefügten Konzentrationen von Selenomethionin bzw. von den Antimonspezies
 ** : unbekannte Selenspezies mit der Retentionszeit 145 s
 ***: unbekannte Antimonspezies mit den Retentionszeiten 220 s und 490 s

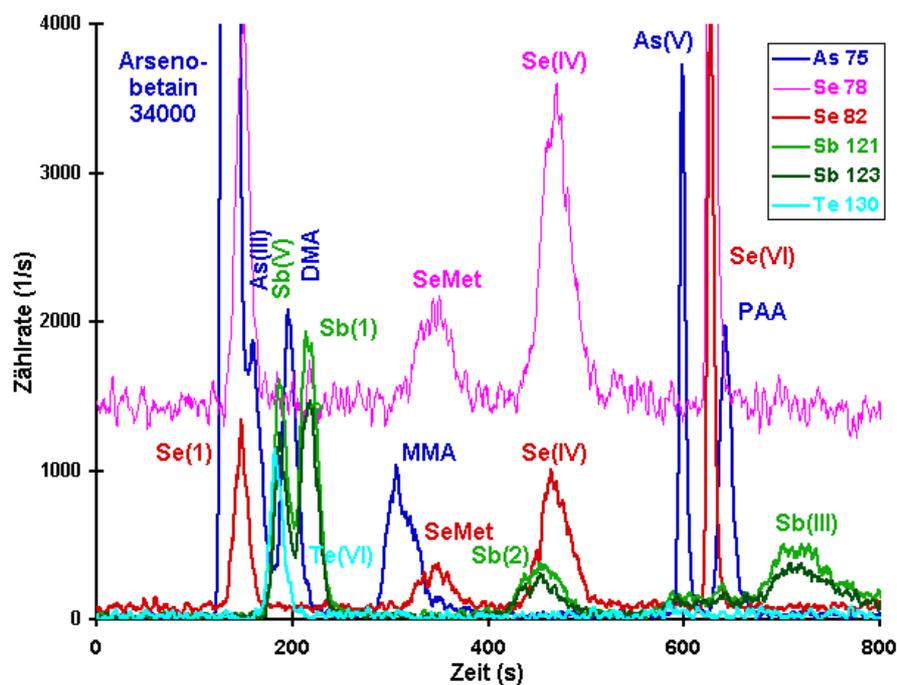


Abb. 24: Chromatogramm eines 1+4 verdünnten Extraktes aus dotiertem DORM-2

Tab. 24: Veränderungen des dotierten Extraktes aus DORM-2 nach einer dreitägigen Lagerung (3 °C)

Spezies	AsB	As(III)	DMA	MMA	As(V)	PAA	SeMet	Se*	Se(IV)	Se(VI)	Sb(V)	Sb**	Sb(III)	Te(VI)
Zugabe (µg Element/L)	0	20	20	20	20	20	200	0	200	200	20	0	20	20
Veränderung (%)	+10	0	+7	+7	+8	+1	-5	+12	-3	0	-42	+47	-12	0

* : unbekannte Selenspezies mit der Retentionszeit 145 s; Veränderung bezogen auf die anfänglich vorhandene Konzentration von Selenomethionin.

** : unbekannte Antimonspezies mit der Retentionszeit von 220 s; Veränderung bezogen auf die anfänglich vorhandene Konzentration von Sb(V)

5.5.4 Zusammengefasste Ergebnisse der Untersuchung von Extrakten aus den Fisch-Referenzmaterialien BCR 627 und DORM-2

Die entwickelte HPLC/ICP-QMS-Kopplung konnte zur Bestimmung von Speziesgehalten der Elemente Arsen, Selen, Antimon und Tellur in den zertifizierten Fisch-Referenzmaterialien BCR 627 und DORM-2 eingesetzt werden. Die Spezies wurden mit einer Mischung aus Methanol und Wasser extrahiert. Die Gehalte der in höheren Konzentrationen vorliegenden Spezies Arsenobetain und DMA stimmen innerhalb der statistischen Unsicherheiten mit den Gehalten, die mittels CE/ICP-SFMS erhalten wurden, mit Ergebnissen anderer Arbeitsgruppen und mit den zertifizierten Werten überein.

Mit Dotierungsexperimenten konnte gezeigt werden, dass alle untersuchten Spezies in den Extrakten sowohl mittels HPLC/ICP-QMS als auch mit der CE/ICP-SFMS richtig bestimmt werden können. Die erzielten Wiederfindungsraten liegen bei der HPLC/ICP-QMS zwischen 94 und 115 % und bei der CE/ICP-SF-MS zwischen 85 und 115 %.

Versuche, bei denen Spezies vor der Extraktion zu dem Fisch-Referenzmaterial zugefügt wurden, führten zu Speziesveränderungen von Selenomethionin, Sb(III) und Sb(V), die durch die Extraktion hervorgerufen wurden. Zwei bislang nicht identifizierte Antimonspezies mit Retentionszeiten von 220 s und 490 s sowie eine nicht identifizierte Selenspezies mit der Retentionszeit 145 s wurden gebildet. Alle Arsenspezies, Se(IV), Se(VI) und Te(VI) wurden vollständig (89 - 111 %) wiedergefunden.

Bei der Untersuchung der Speziesstabilitäten in den Extrakten wurde eine beginnende Umwandlung von Sb(V) und von Selenomethionin während einer dreitägigen Lagerung bei 3 °C beobachtet. Die Konzentrationsveränderungen der übrigen Spezies waren nicht größer als ±12 %.

5.6 Bestimmung der Gehalte von Elementspezies in Urinproben

Die Urin-Standardreferenzmaterialien NIST SRM 2670n und NIST SRM 2670e, die im Folgenden als NIST 2670n und NIST 2670e bezeichnet werden, wurden untersucht, um die Einsatzfähigkeit der HPLC/ICP-QMS für diese Proben zu überprüfen. Während das Material NIST 2670n „normale“ im Urin vorkommende Gehalte der Elemente enthält, liegen in NIST 2670e „erhöhte“ Konzentrationen vor. Diese Standardreferenzmaterialien bestehen aus gefriergetrocknetem Urin, welcher durch Zugabe von Wasser wieder in die flüssige Form überführt wird [186].

Diese Referenzmaterialien wurden gewählt, weil bereits einige Literaturangaben über die in ihnen enthaltenen Arsenspezies vorhanden sind. Zertifizierte Werte der untersuchten Elementspezies liegen, wie für andere Urin-Referenzmaterialien, nicht vor. Um die Richtigkeit der ermittelten Gehalte zu überprüfen, wurden die Werte mit den Literaturangaben und mit den Ergebnissen, die mit einer Kopplung von Kapillarelektrophorese und ICP-SFMS erhalten wurden, verglichen. Dotierungsexperimente wurden durchgeführt und die Stabilität der dotierten Proben untersucht. Die Urinproben konnten, nachdem sie 1+9 verdünnt und filtriert wurden, direkt mittels HPLC/ICP-QMS und CE/ICP-SFMS analysiert werden (vgl. Anhang, Abschnitt 10.4).

5.6.1 Elementspezies in dem Urin-Standardreferenzmaterial NIST 2670n

Das Chromatogramm, das mittels HPLC/ICP-QMS bei der Untersuchung des Urin-Standardreferenzmaterials NIST 2670n erhalten wurde, ist in Abb. 26 (Seite 71) dargestellt. Neben Arsenobetain und DMA lagen MMA und As(V) in kleineren Konzentrationen vor. Um die ermittelten Speziesgehalte abzusichern, wurden Vergleichsmessungen der Probe mit der CE/ICP-SFMS durchgeführt. Das erhaltene Elektropherogramm ist ebenfalls in Abb. 26 (rechts) dargestellt. Neben den vier genannten Arsenspezies konnte zusätzlich Te(IV) detektiert werden, welches generell nicht mittels HPLC/ICP-QMS erfasst werden konnte.

Die mit beiden Verfahren bei Doppelbestimmungen ermittelten Speziesgehalte liegen in dem Bereich, der von den kleinsten und größten, von anderen Arbeitsgruppen veröffentlichten Werten - einschließlich der durch die Standardabweichungen charakterisierten Fehlerbereiche - begrenzt wird (Tab. 25, Seite 71). Während GOESSLER et al. [187] eine Konzentration von 15 µg As(III)/L bestimmten, wurde von RITSEMA et al. [188] und TSALEV et al. [189] sowie in dieser Arbeit mittels HPLC/ICP-QMS und CE/ICP-SFMS kein As(III) nachgewiesen. Diese unter-

schiedlichen Ergebnisse belegen den dringenden Bedarf an Referenzmaterialien mit zertifizierten Speziesgehalten.

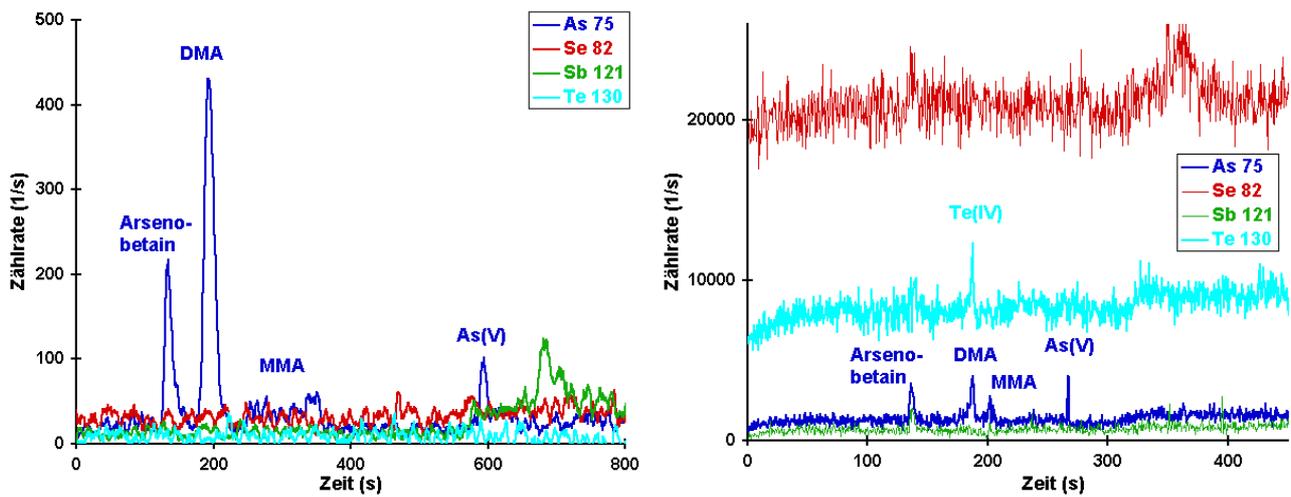


Abb. 26: Chromatogramm (links) und Elektropherogramm (rechts) des 1+9 verdünnten Urin-Standardreferenzmaterials NIST 2670n

Tab. 25: Vergleich der in dem Urin-Standardreferenzmaterial NIST 2670n mittels HPLC/ICP-QMS und CE/ICP-SFMS bestimmten Speziesgehalte mit Literaturwerten (Werte in $\mu\text{g Element/L} \pm 1 \text{ SD}$)

	AsB	As(III)	DMA	MMA	As (V)	Summe As	Te (IV)
diese Arbeit, HPLC/ICP-QMS	22 \pm 3	< 4,3	45 \pm 3	8 \pm 1	5 \pm 3	80 \pm 5	
diese Arbeit, CE/ICP-SFMS	33 \pm 5	< 13	40 \pm 5	13 \pm 1	6 \pm 2	92 \pm 8	16 \pm 2
GOESSLER et al., 1997 [187]	21,2 \pm 3,7	15,0 \pm 3,3	48,2 \pm 2,4	9,5 \pm 3,0	2,9 \pm 0,7	96,8 \pm 6,9	
RITSEMA et al., 1998 [188]	16,0 \pm 1,1	< 0,4	47,5 \pm 1,6	9,4 \pm 0,9	6,9 \pm 0,8	79,8 \pm 1,7	
TSALEV et al., 1998 [189]	35,6 \pm 7,8	< 4	48,3 \pm 2,8	18,4 \pm 4,4	< 4	102 \pm 9	

5.6.2 Wiederfindungsraten der untersuchten Spezies in NIST 2670n

Da in dem Standardreferenzmaterial NIST 2670n nur die fünf genannten Spezies mittels HPLC/ICP-QMS und CE/ICP-SFMS nachweisbar waren, wurde mit Dotierungsexperimenten überprüft, ob die auf der HPLC und auf der CE beruhenden Verfahren in der Lage sind, auch die übrigen Spezies in dieser Matrix richtig zu bestimmen. Dazu wurden zu der Probe die in Tab. 26 und Tab. 27 (Seite 73) aufgelisteten Gehalte der Elementspezies zugefügt. Die berechneten Wiederfindungsraten liegen zwischen 85 % und 115 %.

In Abb. 27 ist das mittels HPLC/ICP-QMS erhaltene Chromatogramm und das mit der CE/ICP-SFMS aufgenommene Elektropherogramm des Urins nach Zugabe der untersuchten Spezies dargestellt. Die Matrix bewirkt bei der CE/ICP-SFMS, dass das Signal von Se(IV), im Unterschied zum Elektropherogramm einer wässrigen Standardlösung (Abb. 17, Seite 52), neben einem erhöhten Untergrundsignal liegt.

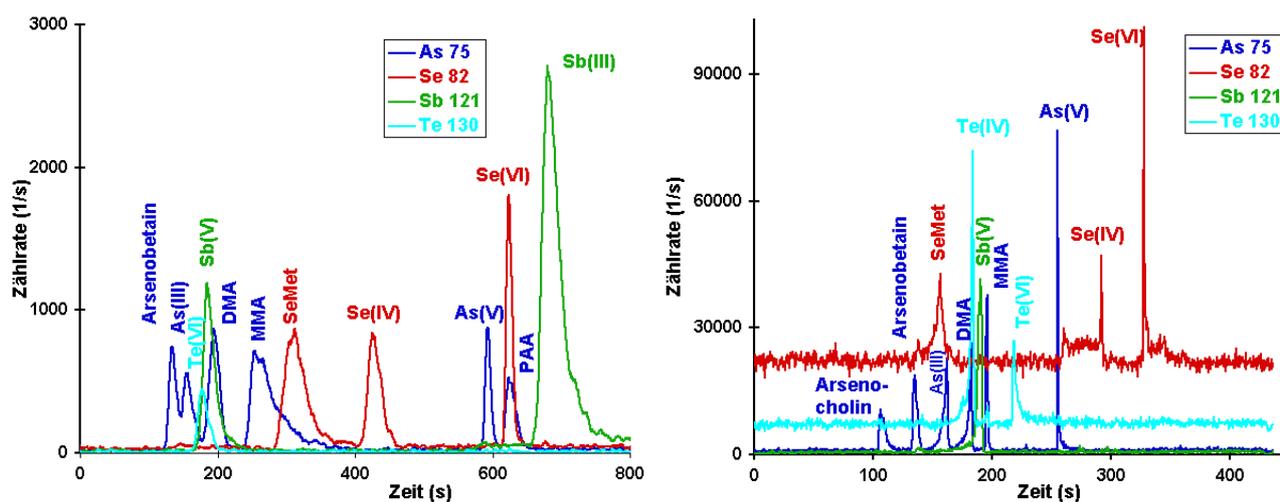


Abb. 27: Chromatogramm (links) und Elektropherogramm (rechts) des dotierten Urin-Standardreferenzmaterials NIST 2670n (1+9 verdünnt)

Tab. 26: Wiederfindungsraten (HPLC/ICP-QMS) der zu NIST 2670n (1+9 verdünnt) zugefügten Spezies

Spezies	AsB	As(III)	DMA	MMA	As(V)	PAA	SeMet	Se(IV)	Se(VI)	Sb(V)	Sb(III)	Te(VI)
Zugabe (µg Element/L)	5	5	5	20	5	5	180	80	80	5	20	5
Wiederfindungs- rate (%)	115	103	104	109	95	103	114	107	96	86	100	108

Tab. 27: Wiederfindungsraten (CE/ICP-SFMS) der zu NIST 2670n (1+9 verdünnt) zugefügten Spezies

Spezies	AsB	As(III)	DMA	MMA	As(V)	AsC	SeMet	Se(IV)	Se(VI)	Sb(V)	Te(IV)	Te(VI)
Zugabe ($\mu\text{g Element/L}$)	25	25	25	25	25	25	250	250	250	25	25	25
Wiederfindungsrate (%)	110	114	94	96	98	115	110	94	98	88	94	85

5.6.3 Stabilität der zu NIST 2670n zugefügten Spezies

In diesem Abschnitt wird beschrieben, in wie weit in dem untersuchten Urin Speziesumwandlungen während einer Lagerung auftraten. Um auch die nicht in dem Standardreferenzmaterial NIST 2670n enthaltenen Spezies untersuchen zu können, wurde die dotierte Probe (vgl. Abschnitt 5.6.2, Seite 72) verwendet. Da bei einer Lagerung wässriger Speziesmischungen bei 3 °C eine Stabilität über einen längeren Zeitraum als bei Raumtemperatur oder bei -20 °C erzielt wurde (vgl. Abschnitt 5.1.3, Seite 38), und da beim Auftauen gefrorener Urinproben ein Niederschlag beobachtet werden konnte, wurde in dieser Arbeit die Stabilität des Urins nach einer Lagerung bei 3 °C geprüft.

Die Chromatogramme, die mittels HPLC/ICP-QMS bei einer Injektion der dotierten Urinprobe nach einem und nach fünf Tagen erhalten wurden, sind in Abb. 28 (Seite 74) dargestellt. Gegenüber dem Chromatogramm, das direkt nach der Spezieszugabe aufgenommen wurde (Abb. 27, links, Seite 72), nahm nach einer eintägigen Lagerung die Signalfläche von Sb(V) signifikant ($p = 0,03$) ab. Daneben wurde bei dem Signal von Sb(III) - unter Beibehaltung der Gesamtsignalfläche - eine Schulter gebildet. Dies deutet auf die Entstehung einer unbekanntes Spezies hin. Bei dem nach fünf Tagen aufgenommenen Chromatogramm war neben einer signifikanten ($p = 0,005$) Abnahme der Konzentration von Sb(V) auf die Hälfte auch eine signifikante ($p = 0,01$) Abnahme der Konzentration von Selenomethionin um etwa 60 % zu beobachten (Tab. 28, Seite 74). Gleichzeitig entstand eine unbekanntes Selenspezies mit einer Retentionszeit von 145 s.

Tab. 28: Veränderungen des dotierten Urins NIST 2670n (1+9 verdünnt) nach einem und nach fünf Tagen (3°C)

Spezies	AsB	As(III)	DMA	MMA	As(V)	PAA	SeMet	Se(IV)	Se(VI)	Sb(V)	Sb(III)	Te(VI)
Zugabe (µg Element/L)	5	5	5	20	5	5	180	80	80	5	20	5
Veränderung nach 1 Tag (%)	+8	-2	+1	-7	+9	+7	-9	0	+6	-43	+13	-7
Veränderung nach 5 Tagen (%)	-3	-8	-1	-13	+7	-8	-59	-15	+1	-52	+11	+11

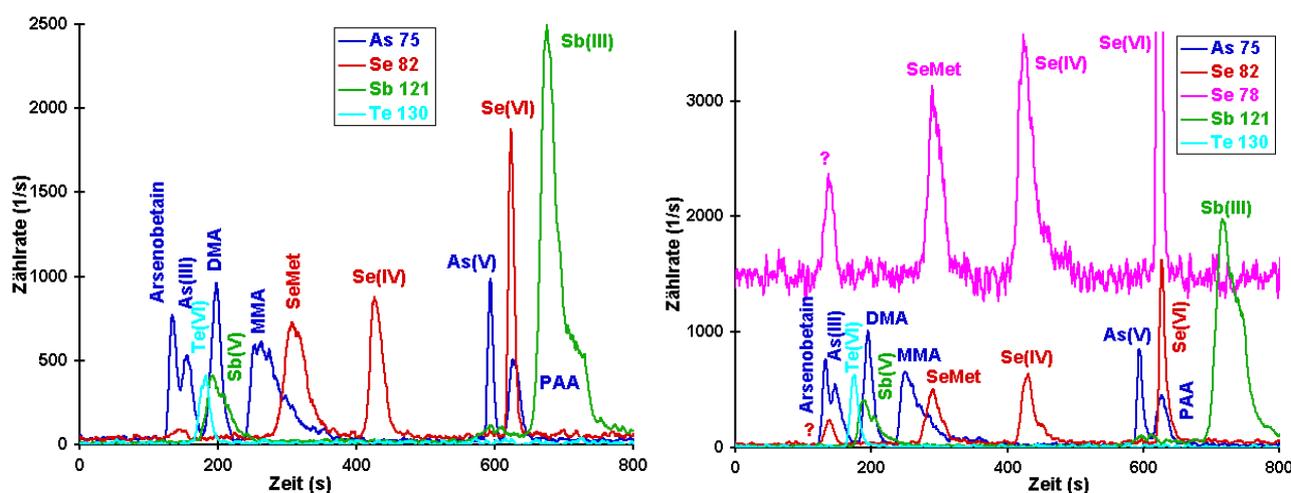


Abb. 28: Chromatogramm von dotiertem NIST 2670n (1+9 verdünnt) nach einem Tag (links) und nach fünf Tagen (rechts) bei einer Lagertemperatur von 3°C

Um abzuschließen, dass das nicht identifizierte Signal tatsächlich von einer unbekanntes Selenpezies und nicht von einer spektralen Störung auf der gleichen Massenzahl herrührt, wurde nicht nur das Isotop ^{82}Se , sondern auch das Isotop ^{78}Se detektiert. Der höhere Untergrund dieses Signals ist auf eine Störung durch $^{38}\text{Ar}^{40}\text{Ar}^+$ zurückzuführen. Da auch bei diesem Selen-Isotop bei 145 s ein Signal auftrat, lag tatsächlich eine unbekanntes Selenpezies vor.

Die Konzentrationen der Spezies außer von Selenomethionin und Sb(V) wurden innerhalb der fünf Tage kaum ($\pm 15\%$) verändert. Aus diesen Ergebnissen geht hervor, dass die Bestimmung der Spezies in Urinproben möglichst am selben Tag erfolgen sollte. Wenn die Spezies Sb(V) und Selenomethionin nicht bestimmt werden müssen, ist eine Lagerung über mehrere Tage bei 3 °C möglich.

5.6.4 Elementspezies in dem Urin-Standardreferenzmaterial NIST 2670e

Nicht nur NIST 2670n, sondern auch das Urin-Standardreferenzmaterial NIST 2670e, welches höhere Konzentrationen mehrerer Elemente enthält, wurde in dieser Arbeit untersucht. Das mittels HPLC/ICP-QMS erhaltene Chromatogramm enthält, wie auch das zum Vergleich mit der CE/ICP-SFMS aufgenommene Elektropherogramm ein Signal von As(V), das größer als die übrigen Signale von Arsenobetain, DMA und MMA ist (Abb. 29).

Die sowohl mit der HPLC-Methode als auch mit der CE-Methode in Doppelbestimmungen ermittelten Gehalte liegen unter Berücksichtigung der Standardabweichungen in dem Bereich, der von den kleinsten und größten, von anderen Arbeitsgruppen veröffentlichten Werten - einschließlich der durch die Standardabweichungen charakterisierten Fehlerbereiche - begrenzt wird (Tab. 29, Seite 76). Die Summe der bestimmten Arsenspezies stimmt bei beiden Verfahren innerhalb der statistischen Unsicherheit mit dem zertifizierten Gesamtarsengehalt überein. Weil die Messungen, die den zitierten Literaturangaben und dieser Arbeit zugrunde liegen, in unterschiedlichen Jahren durchgeführt wurden, und kein Trend der ermittelten Konzentrationen festzustellen ist, kann angenommen werden, dass in dem gefriergetrockneten Material im Laufe der Jahre keine Speziesumwandlungen erfolgten.

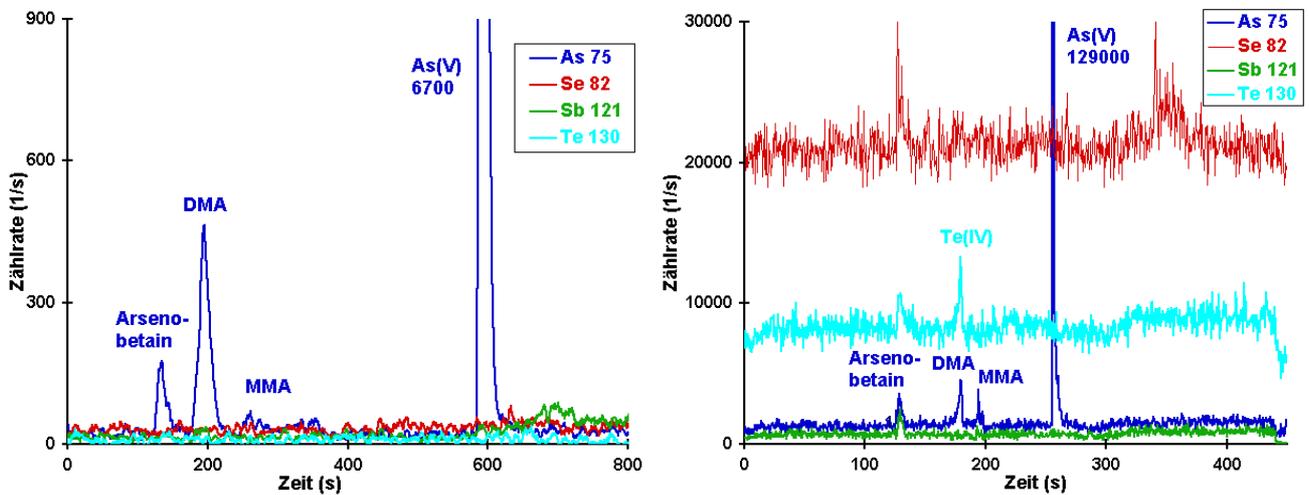


Abb. 29: Chromatogramm (links) und Elektropherogramm (rechts) des 1+9 verdünnten Urin-Standardreferenzmaterials NIST 2670e

Der von HEITKEMPER et al. [190] ermittelte höhere Gehalt an As(III) von 44 µg/L konnte weder in dieser Arbeit mittels HPLC/ICP-QMS und CE/ICP-SFMS noch von anderen Autoren bestätigt werden und ist vermutlich auf eine Koelution mit Arsenobetain zurückzuführen. Für diese Vermutung spricht, dass die Retentionszeiten von As(III) und Arsenobetain oft ähnlich sind. Von HEITKEMPER wurden jedoch keine Untersuchungen unter Zugabe von Arsenobetain durchgeführt.

Tab. 29: Vergleich der in dem Urin-Standardreferenzmaterial NIST 2670e mittels HPLC/ICP-QMS und CE/ICP-SFMS bestimmten Speziesgehalte mit Literaturwerten (Angaben in µg Element/L ±1 SD)

	AsB	As(III)	DMA	MMA	As (V)	Summe As	Te (IV)
diese Arbeit, HPLC/ICP-QMS	22 ±3	< 4,3	48 ±4	10 ±1	466 ±26	546 ±27	
diese Arbeit, CE/ICP-SFMS	27 ±4	< 13	41 ±11	15 ±10	373 ±50	456 ±52	18 ±3
zertifiziert [186]						480 ±100	
HEITKEMPER et al., 1989 [190]		43,8 ±9,1	34,8 ±9,1	5,0 ±3,6	406 ±153	489 ±154	
CRECELIUS et al., 1997 [191]	30	<1	52,2 ±11,5	15,5 ±4,3	430 ±56 *	502 ±50	
GOESSLER et al., 1997 [187]	24,7 ±0,7	13,1 ±4,5	51,6 ±3,4	10,9 ±2,1	386 ±51	490,3 ±52,4	
RITSEMA et al., 1998 [188]	16,2 ±1,1	< 0,4	50,7 ±1,8	9,2 ±0,9	354 ±17		
TSALEV et al., 1998 [189]	32,0 ±8,4	< 4	48,9 ±2,0	15,9 ±4,2	416 ±40	513	
ZHENG et al., 1998 [177]	15,6 ±0,4	< 2,5	54,0 ±1,9	15,9 ±0,8	428 ±12	514 ±14	
FELDMANN et al., 1999 [60]	15 ±3	n.n.	49 ±3	7 ±1,3	443 ±20	514 ±23	

n.n.: unterhalb der Nachweisgrenze;

* : Summe aus As(V) und As(III)

5.6.5 Wiederfindungsraten der Spezies in NIST 2670e

Um zu überprüfen, ob auch die nicht in dem Urin-Standardreferenzmaterial NIST 2670e vorkommenden Spezies richtig bestimmt werden können und keine Störungen durch die Matrix auftreten, wurden auch mit diesem Material Dotierungsexperimente durchgeführt. Die zugefügten Gehalte sind in Tab. 30 und Tab. 31 (Seite 77) aufgeführt. Das mittels HPLC/ICP-QMS erhaltene

Chromatogramm ist zusammen mit dem entsprechenden Elektropherogramm in Abb. 30 dargestellt. Wie bei NIST 2670n trat auch bei der Untersuchung mittels CE/ICP-SFMS ein erhöhter Untergrund neben dem Signal von Se(IV) auf.

Die mit der HPLC/ICP-QMS ermittelten Wiederfindungsraten sind in Tab. 30, die mit der CE/ICP-SFMS erhaltenen Werte in Tab. 31 aufgeführt und liegen in beiden Fällen zwischen 85 und 115 %.

Tab. 30: Wiederfindungsraten (HPLC/ICP-QMS) der zu NIST 2670e (1+9 verdünnt) zugegebenen Spezies

Spezies	AsB	As(III)	DMA	MMA	As(V)	PAA	SeMet	Se(IV)	Se(VI)	Sb(V)	Sb(III)	Te(VI)
Zugabe (µg Element/L)	5	5	5	15	60	5	180	120	120	5	40	15
Wiederfindungs- rate (%)	96	85	89	88	91	111	113	99	91	85	99	103

Tab. 31: Wiederfindungsraten (CE/ICP-SFMS) der zu NIST 2670e (1+9 verdünnt) zugegebenen Spezies

Spezies	AsB	As(III)	DMA	MMA	As(V)	AsC	SeMet	Se(IV)	Se(VI)	Sb(V)	Te(IV)	Te(VI)
Zugabe (µg Element/L)	25	25	25	25	25	25	250	250	250	25	25	25
Wiederfindungs- rate (%)	108	113	104	103	115	107	88	96	87	86	100	90

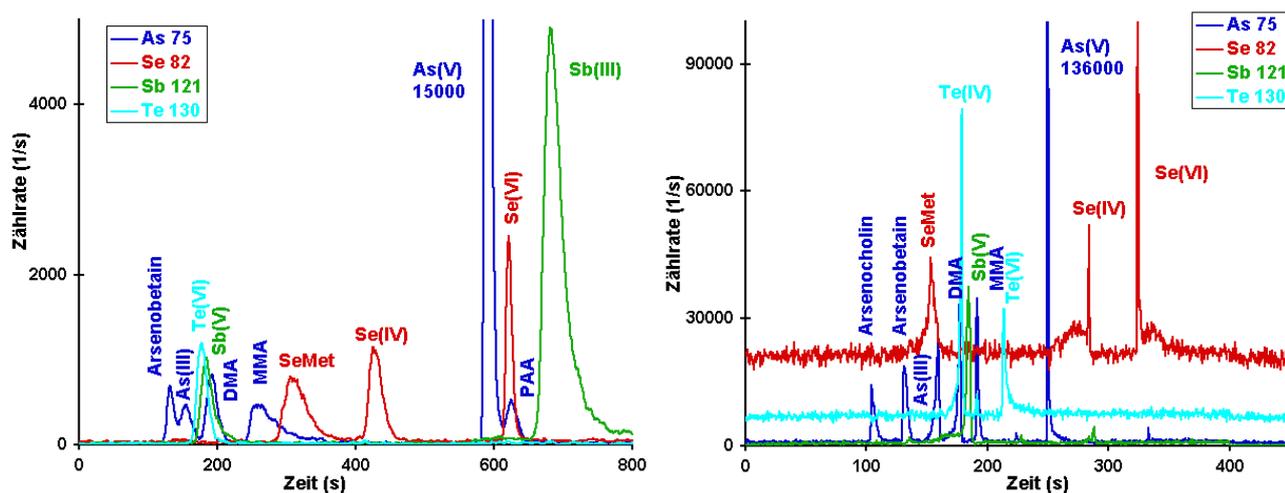


Abb. 30: Chromatogramm (links) und Elektropherogramm (rechts) des dotierten Urin-Standardreferenzmaterials NIST 2670e (1+9 verdünnt)

5.6.6 Zusammengefasste Ergebnisse der Untersuchung von Urin-Standardreferenzmaterialien

Mit den durchgeführten Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass die Kopplung von HPLC und ICP-QMS geeignet ist, Speziesgehalte der Elemente Arsen, Selen, Antimon und Tellur in Urinproben zu bestimmen. In den Standardreferenzmaterialien NIST 2670n und NIST 2670e konnten die Gehalte der Spezies Arsenobetain, DMA, MMA, As(V) und Te(IV) quantifiziert werden. Die mittels HPLC/ICP-QMS und CE/ICP-SFMS ermittelten Gehalte liegen unter Berücksichtigung der Standardabweichungen in dem Konzentrationsbereich, der durch die kleinsten und größten, von anderen Arbeitsgruppen ermittelten Elementspeziesgehalte begrenzt wird. Die Werte stimmen innerhalb der statistischen Unsicherheit mit dem für NIST 2670e zertifizierten Gesamtarsengehalt überein.

Bei einer Lagerung des dotierten Urins im Kühlschrank bei 3°C nahm nach einem Tag die Konzentration von Sb(V) und nach fünf Tagen auch eine diejenige von Selenomethionin ab. Die übrigen Spezies blieben auch nach fünf Tagen stabil. Sowohl HPLC/ICP-QMS als auch CE/ICP-SFMS lieferten Wiederfindungsraten zwischen 85 % und 115 %. Aus diesen Ergebnissen kann gefolgert werden, dass beide Methoden zur Bestimmung von Elementspezies in den 1+9 verdünnten Urinproben geeignet sind.

5.7 Bestimmung der Gehalte von Elementspezies in Bodeneluaten

Das gekoppelte System HPLC/ICP-QMS wurde zur Bestimmung von Elementspeziesgehalten in Bodeneluaten eingesetzt. Die Ergebnisse, die bei der Untersuchung des Boden-Standardreferenzmaterials NIST SRM 2710, das im Folgenden als NIST 2710 bezeichnet wird, erzielt wurden, werden in den folgenden Abschnitten beschrieben. Dieses Material wurde aus den obersten 10 cm eines Weidelandes entnommen, das von einem kleinen Fluss periodisch überflutet wurde. Nach einer Lufttrocknung bei Raumtemperatur wurde der Boden gemahlen ($\leq 74 \mu\text{m}$) und abgefüllt [192].

Da dieses Material, wie auch andere zertifizierte Boden- und Sediment-Referenzmaterialien, nicht auf lösliche Elementspezies, sondern nur auf Gesamtelementgehalte hin zertifiziert wurde, erfolgt in den nachfolgenden Abschnitten ein Vergleich mit den Resultaten, die mittels CE/ICP-SFMS

erzielt wurden. Ferner wurden Dotierungsexperimente durchgeführt und die Stabilität der dotierten Eluate untersucht. Die vorhandenen Spezies mussten vor der Messung durch eine Probenvorbereitung in Lösung gebracht werden.

5.7.1 Probenvorbereitung bei der Untersuchung von Elementspezies in Bodenproben

Da die mit Wasser eluierbaren Spezies am mobilsten und daher am meisten für Pflanzen und Tiere verfügbar sind, wurde bei der Untersuchung des Bodens primär das wasserlösliche Eluat betrachtet. Dieses Eluat kann Hinweise darauf geben, welche Beeinträchtigungen oder Gefährdungen eintreten können, wenn das untersuchte Material mit Wasser in Berührung kommt. Die Elution wurde in Anlehnung an DIN 38414, Teil 4 [193] mit Wasser durchgeführt und ist im Anhang (Abschnitt 10.4) näher beschrieben.

Um zu überprüfen, welche Mengen der einzelnen Spezies unter sauren Bedingungen herausgelöst werden können, wurde auch eine Elution mit verdünnter Schwefelsäure (0,01 mol/L) durchgeführt. Dieser Säurezusatz bewirkte bei einer Mischung der einzelnen Speziesstandards keine Veränderung der mittels HPLC/ICP-QMS erhaltenen Chromatogramme. Um die sauren Eluate mit der CE/ICP-SFMS zu analysieren, wurden sie mit wässriger Ammoniak-Lösung neutralisiert, um Veränderungen der Migrationszeiten zu vermeiden.

Eine direkte Injektion der Bodeneluate führte bei der HPLC zu einer schnellen Veränderung der Ionenaustausch-Säule, die eine Verkürzung der Retentionszeiten und Verminderungen der Signalaufösungen bewirkte. Durch ein Spülen der Säule mit einer Mischung (50/50, v/v) aus Tetrahydrofuran und Weinsäure (0,1 mol/L) konnte der ursprüngliche Zustand wieder erreicht werden. Die Ursache für diesen Effekt lag in den aus dem Boden eluierten Huminstoffen, die eine Veränderung der Eigenschaften der HPLC-Säule bewirkten. Um die Huminstoffe abzutrennen, wurden die Proben nach der Filtration einem Ultrafiltrationsschritt unterworfen, indem sie durch eine Ultrafiltrationsmembran gepresst wurden. Die Injektion dieser Proben führte zu keiner Veränderung der HPLC-Säule. In dem Abschnitt 5.7.2 sind die Ergebnisse, die bei der wässrigen Elution, und im Abschnitt 5.7.3 diejenigen, die bei der Elution mit verdünnter Schwefelsäure erhalten wurden, näher beschrieben. Während die Proben bei der HPLC direkt injiziert werden konnten, mussten sie für die Kapillarelektrophorese 1+4 verdünnt werden, um störende Matrixeinflüsse zu vermeiden.

5.7.2 Wässriges Eluat des Boden-Standardreferenzmaterials NIST 2710

Das Chromatogramm, das nach der Injektion des wässrigen Eluats aus dem Boden-Standardreferenzmaterial NIST 2710 mittels HPLC/ICP-QMS erhalten wurde, ist in Abb. 31 (Seite 81) dargestellt. Die Spezies As(V), Sb(V), Arsenobetain und DMA wurden nachgewiesen. Das Vorkommen von Arsenobetain in dem Eluat wird in Abschnitt 6.8 (Seite 98) diskutiert. Da nur Gesamtelementgehalte, nicht aber Elementspezies oder eluierbare Elementspezies in diesem Standardreferenzmaterial zertifiziert sind, wurden zur Absicherung der Ergebnisse Vergleichsmessungen mit dem gekoppelten System aus Kapillarelektrophorese und ICP-SFMS durchgeführt (Abb. 31, rechts). Die erzielten Übereinstimmungen lagen innerhalb der durch die Standardabweichungen charakterisierten Messunsicherheiten (Tab. 32). Durch die Elution wurden insgesamt nur $0,57 \pm 0,08$ mg As/kg und $0,12 \pm 0,01$ mg Sb/kg (bestimmt mittels HPLC/ICP-QMS) herausgelöst. Diese Werte entsprechen 0,09 % und 0,31 % der zertifizierten Gesamtarsen- und Gesamtantimonengehalte.

Tab. 32: Vergleich der in dem wässrigen Eluat aus NIST 2710 mittels HPLC/ICP-QMS und CE/ICP-SFMS ermittelten Speziesgehalte (in mg Element/kg Boden ± 1 SD; n=2)

	AsB	DMA	As(V)	As (gesamt)	Sb(V)
HPLC/ICP-QMS	$0,12 \pm 0,01$	$0,033 \pm 0,005$	$0,42 \pm 0,08$	$0,57 \pm 0,08$	$0,12 \pm 0,01$
CE/ICP-SFMS	$0,11 \pm 0,01$	$0,05 \pm 0,02$	$0,53 \pm 0,07$	$0,69 \pm 0,08$	$0,14 \pm 0,01$
zertifiziert				626 ± 30 mg As/kg (gesamt)	
				$38,4 \pm 3$ mg Sb/kg (gesamt)	

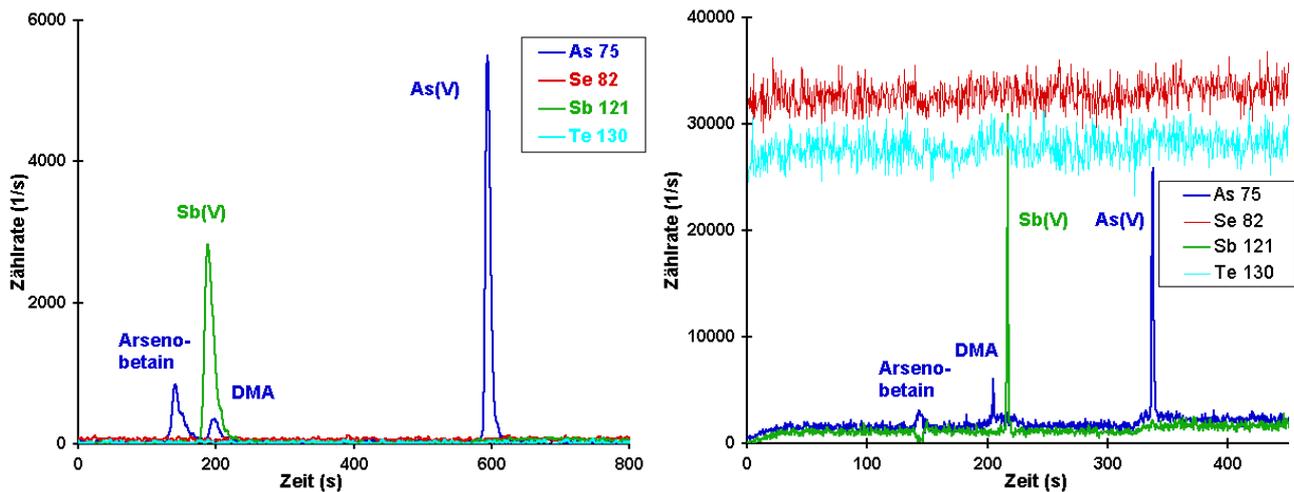


Abb. 31: Chromatogramm (links) und Elektropherogramm (rechts) des wässrigen Eluats aus NIST 2710

5.7.2.1 Wiederfindungsraten der zum wässrigen Eluat aus NIST 2710 zugegebenen Spezies

Zur Überprüfung eines eventuell störenden Einflusses von Matrixbestandteilen des wässrigen Eluats aus NIST 2710 auf die Bestimmung von Speziesgehalten wurden die Wiederfindungsraten der einzelnen Spezies bei einer Zugabe zum Eluat bestimmt. Die zugefügten Gehalte sind in Tab. 33 und Tab. 34 (Seite 82) aufgelistet. In Abb. 32 (Seite 82) ist das nach der Spezieszugabe mittels HPLC/ICP-QMS erhaltene Chromatogramm und das mit der CE/ICP-SFMS erhaltene Elektropherogramm dargestellt. Nur die Tellurspezies wurden bei der Untersuchung mittels CE/ICP-SFMS nicht vollständig wiedergefunden. Die Wiederfindungsraten der übrigen Spezies lagen zwischen 89 und 106 % (Tab. 33 u. Tab. 34). Aus diesen Ergebnissen kann gefolgert werden, dass die Matrix keine Störungen der Bestimmung der Elementspezies (außer der Tellurspezies bei der CE/ICP-SFMS) verursacht.

Tab. 33: Wiederfindungsraten (HPLC/ICP-QMS) der zu dem wässrigen Eluat des Boden-Standardreferenzmaterials zugegebenen Spezies

Spezies	AsB	As(III)	DMA	MMA	As(V)	PAA	SeMet	Se(IV)	Se(VI)	Sb(V)	Sb(III)	Te(VI)
Zugabe ($\mu\text{g Element/L}$)	50	50	50	50	50	50	500	500	500	50	50	50
entsprechend ($\mu\text{g Element/g}$)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	5	5	5	0,5	0,5	0,5
Wiederfindungsrate (%)	92	105	91	98	93	104	99	92	100	89	96	101

Tab. 34: Wiederfindungsraten (CE/ICP-SFMS) der zu dem wässrigen Eluat des Boden-Standardreferenzmaterials zugegebenen Spezies

Spezies	AsB	As(III)	DMA	MMA	As(V)	AsC	PAA	SeMet	Se(IV)	Se(VI)	Sb(V)	Te(IV)	Te(VI)
Zugabe (μg Element/L)	50	50	50	50	50	50	50	500	500	500	50	50	50
entsprechend (μg Element/g)	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	25	25	25	2,5	2,5	2,5
Wiederfindungs- rate (%)	102	98	101	99	106	99	99	111	105	92	99	0	<10

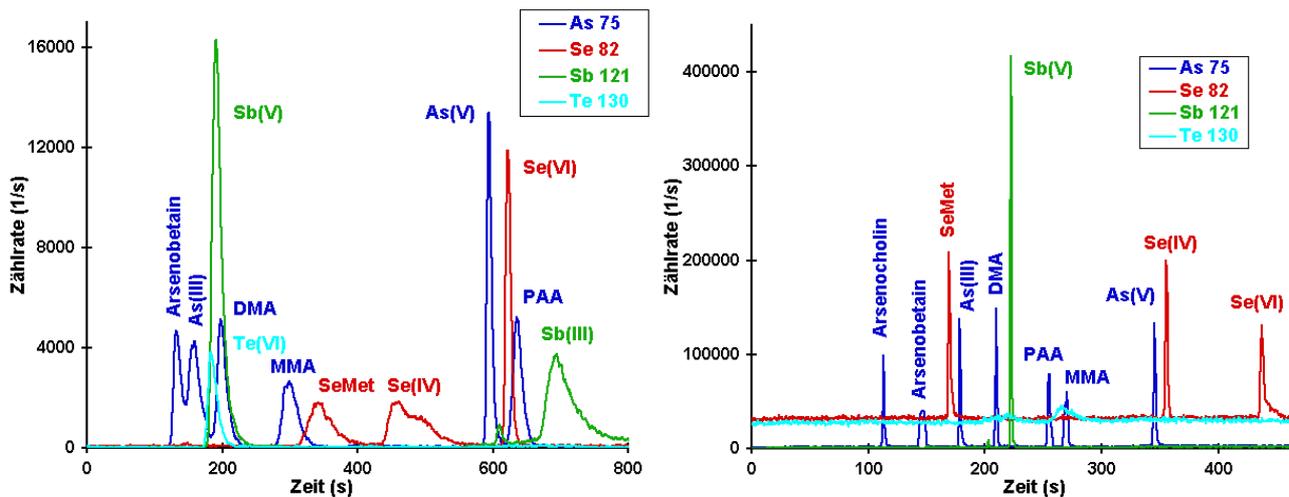


Abb. 32: Chromatogramm (links) und Elektropherogramm (rechts) des dotierten wässrigen Eluats aus dem Boden-Standardreferenzmaterial NIST 2710

5.7.2.2 Stabilität der Spezies in dem dotierten wässrigen Eluat

Die Stabilität der Spezies wurde in dem wässrigen Eluat bestimmt, dem die einzelnen Spezies zugefügt wurden. Das nach einer Lagerung über drei Tage im Kühlschrank (3 °C) mittels HPLC/ICP-QMS erhaltene Chromatogramm ist in Abb. 33 (Seite 83) dargestellt. Die Veränderungen gegenüber dem Chromatogramm, das unmittelbar nach der Dotierung aufgenommen wurde (Abb. 32, links), sind in Tab. 35 (Seite 83) zusammengefasst. Die Veränderungen sind nicht größer als $\pm 15\%$.

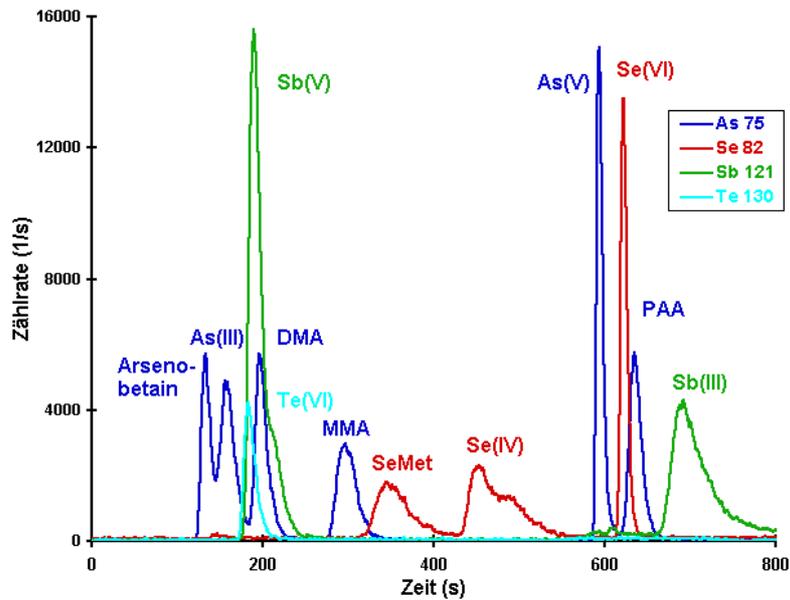


Abb. 33: Chromatogramm des dotierten wässrigen Bodeneluats nach einer dreitägigen Lagerung bei 3 °C

Tab. 35: Veränderungen des dotierten wässrigen Bodeneluats nach einer dreitägigen Lagerung bei 3 °C

Spezies	AsB	As(III)	DMA	MMA	As(V)	PAA	SeMet	Se(IV)	Se(VI)	Sb(V)	Sb(III)	Te(VI)
Zugabe (µg Element/L)	50	50	50	50	50	50	500	500	500	50	50	50
Veränderung (%)	-12	-7	+1	0	-10	+4	-14	+8	+1	+5	+15	-5

5.7.2.3 Wiederfindungsraten der vor der wässrigen Elution zu NIST 2710 zugefügten Spezies

Mit der entwickelten Methode wurde untersucht, ob die Spezies mit Substanzen im Boden reagieren, und ob Adsorptionsprozesse an dem Material zu Verbindungen führen, die nicht durch den wässrigen Elutionsschritt herausgelöst werden. Um dies zu prüfen, wurden die Spezies vor der Elution dem Boden zugegeben. Die zugegebenen Speziesgehalte und die Wiederfindungsraten sind in Tab. 36 (Seite 84) zusammengefasst. Das erhaltene Chromatogramm ist in Abb. 34 (Seite 84) wiedergegeben.

Tab. 36: Wiederfindungsraten der vor der wässrigen Elution zum Boden zugegebenen Spezies

Spezies	AsB	As(III)	DMA	MMA	As(V)	PAA	SeMet	Se(IV)	Se(VI)	Sb(V)	Sb(III)	Te(VI)
Zugabe (μg Element/g)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	5	5	5	0,5	0,5	0,5
entsprechend (μg Element/L)	50	50	50	50	50	50	500	500	500	50	50	50
Wiederfindungs- rate (%)	110	37	40	7	82	15	35	3	97	49	3	15

Während die Wiederfindungsraten der Spezies Arsenobetain, As(V), und Se(VI) zwischen 82 % und 110 % lagen, trat bei As(III), DMA, Selenomethionin und Sb(V) eine Abnahme der Konzentrationen um 50 % bis 65 % auf. Dagegen wurden die Spezies MMA, PAA, Se(IV), Sb(III) und Te(VI) so stark an den Boden gebunden, dass die Wiederfindungsraten bei der wässrigen Elution kleiner oder gleich 15 % waren. Daneben wurde ein Teil der Selenpezies in eine bisher nicht identifizierte Selenpezies umgewandelt. Um zu überprüfen, ob das entstehende Signal mit der Retentionszeit 145 s auf eine Selenpezies und nicht auf eine spektrale Störung zurückzuführen ist, wurde nicht nur das Isotop ^{82}Se , sondern auch das Isotop ^{78}Se detektiert. Auch bei dieser Massenzahl trat das Signal auf, so dass in der Tat eine unbekannte Selenpezies gebildet wurde.

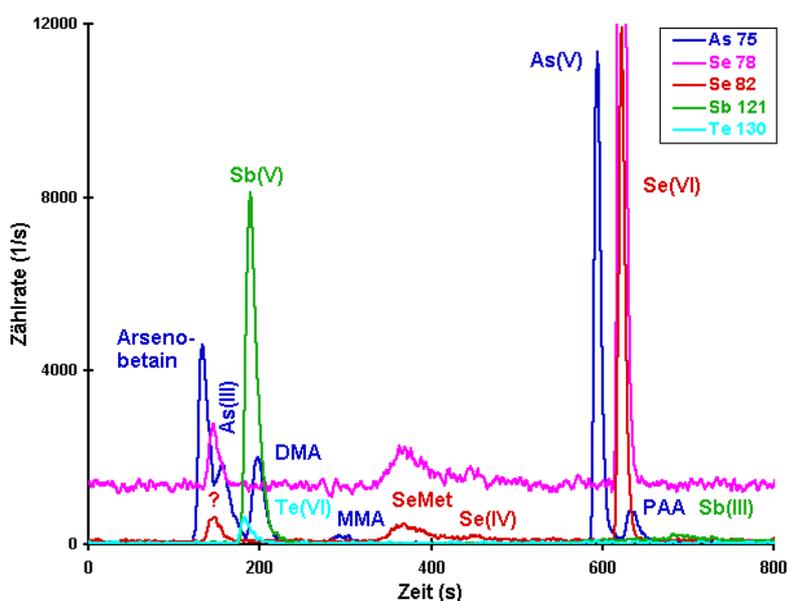


Abb. 34: Chromatogramm des wässrigen Eluats von dotiertem NIST 2710

5.7.3 Schwefelsäureeluat des Boden-Standardreferenzmaterials NIST 2710

Die Elution des Boden-Standardreferenzmaterials NIST 2710 wurde nicht nur mit Wasser, sondern auch mit verdünnter (0,01 mol/L) Schwefelsäure durchgeführt. In Abb. 35 (Seite 86) ist das Chromatogramm dargestellt, das nach einer Injektion des schwefelsauren Eluats vom Boden-Standardreferenzmaterial NIST 2710 in das HPLC/ICP-QMS-System erhalten wurde. Neben den auch in dem wässrigen Eluat (vgl. Abschnitt 5.7.2, Seite 80) gefundenen Spezies Arsenobetain, DMA, As(V) und Sb(V) konnten in dem schwefelsauren Eluat auch As(III), Sb(III) und Te(VI) nachgewiesen werden. Die Elemente Arsen und Antimon lagen überwiegend als Arsenat und Antimonat vor.

Zur Absicherung der Ergebnisse wurden Vergleichsmessungen mit dem gekoppelten System von Kapillarelektrophorese und ICP-SFMS durchgeführt. Das erhaltene Elektropherogramm ist ebenfalls in Abb. 35 dargestellt. Da die Bestimmung von Gehalten der Tellurspezies mit der CE/ICP-SFMS in dieser Matrix gestört ist (vgl. nächster Abschnitt, Seite 86), konnte in diesem Elektropherogramm kein Signal von Te(VI) erhalten werden. Sb(III) konnte generell nicht mit dieser Methode erfasst werden.

Die mit beiden Methoden erzielten Ergebnisse werden in Tab. 37 (Seite 86) miteinander verglichen und stimmen innerhalb der durch die Standardabweichungen gekennzeichneten Fehlerbereiche überein. Insgesamt wurden mit der HPLC-Methode $2,1 \pm 0,2$ mg As/kg und $0,18 \pm 0,02$ mg Sb/kg nachgewiesen. Diese Mengen entsprechen 0,33 % und 0,47 % der zertifizierten Gesamtarsen- und Gesamtantimongehalte. Durch die Schwefelsäureelution wurde demnach die 3,5-fache Menge an Arsen und die 1,5-fache Menge an Antimon gegenüber der wässrigen Elution herausgelöst (vgl. Abschnitt 5.7.2, Seite 80).

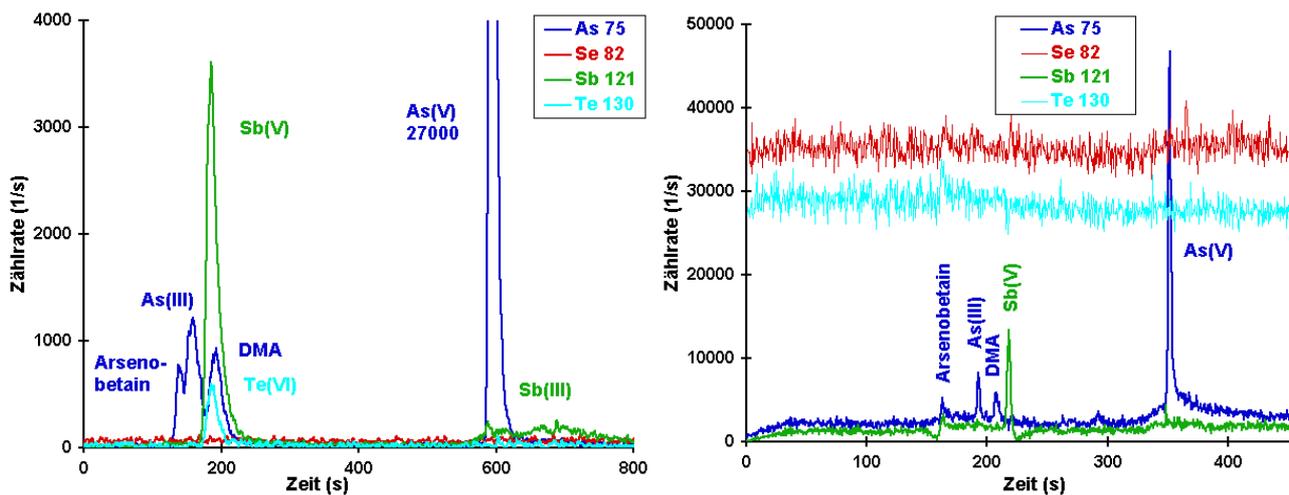


Abb. 35: Chromatogramm (links) und Elektropherogramm (rechts) des schwefelsauren Eluats aus dem Boden-Standardreferenzmaterial NIST 2710

Tab. 37: Vergleich der in dem schwefelsauren Eluat des Boden-Standardreferenzmaterials NIST 2710 mittels HPLC/ICP-QMS und CE/ICP-SFMS ermittelten Speziesgehalte in mg Element/kg Boden (± 1 SD; $n = 2$)

	AsB	As(III)	DMA	As(V)	As (gesamt)	Sb(V)	Sb(III)	Te(VI)
HPLC/ICP-QMS	0,10 $\pm 0,03$	0,15 $\pm 0,02$	0,09 $\pm 0,02$	1,7 $\pm 0,2$	2,1 $\pm 0,2$	0,16 $\pm 0,02$	0,016 $\pm 0,002$	0,09 $\pm 0,02$
CE/ICP-SFMS	0,12 $\pm 0,03$	0,15 $\pm 0,01$	0,11 $\pm 0,03$	1,6 $\pm 0,2$	2,0 $\pm 0,2$	0,17 $\pm 0,02$	n.b.	n.b.
zertifiziert					626 \pm 38 mg As/kg (gesamt)			
					38,4 \pm 3 mg Sb/kg (gesamt)			

n.b. = nicht bestimmt

5.7.3.1 Wiederfindungsraten der zum Schwefelsäureeluat aus NIST 2710 zugefügten Spezies

Um zu überprüfen, ob die Probenzusammensetzung nach der Schwefelsäureelution die Bestimmungen mittels HPLC/ICP-QMS oder CE/ICP-SFMS stört, wurde das Eluat mit den einzelnen Spezies dotiert. Die zugefügten Speziesgehalte sind in Tab. 38 und Tab. 39 (Seite 87) aufgelistet. In Abb. 36 (Seite 87) ist das nach der Zugabe erhaltene Chromatogramm und das entsprechende Elektropherogramm dargestellt. Wie bei dem wässrigen Eluat wurden nur die Tellurspezies bei der Untersuchung mit der CE nicht wiedergefunden. Die Wiederfindungsraten

der übrigen Spezies lagen zwischen 87 % und 115 % (Tab. 38 und Tab. 39). Durch die Matrix wurden, abgesehen von der Bestimmung der Tellurspezies mittels CE/ICP-SFMS, keine Störungen verursacht.

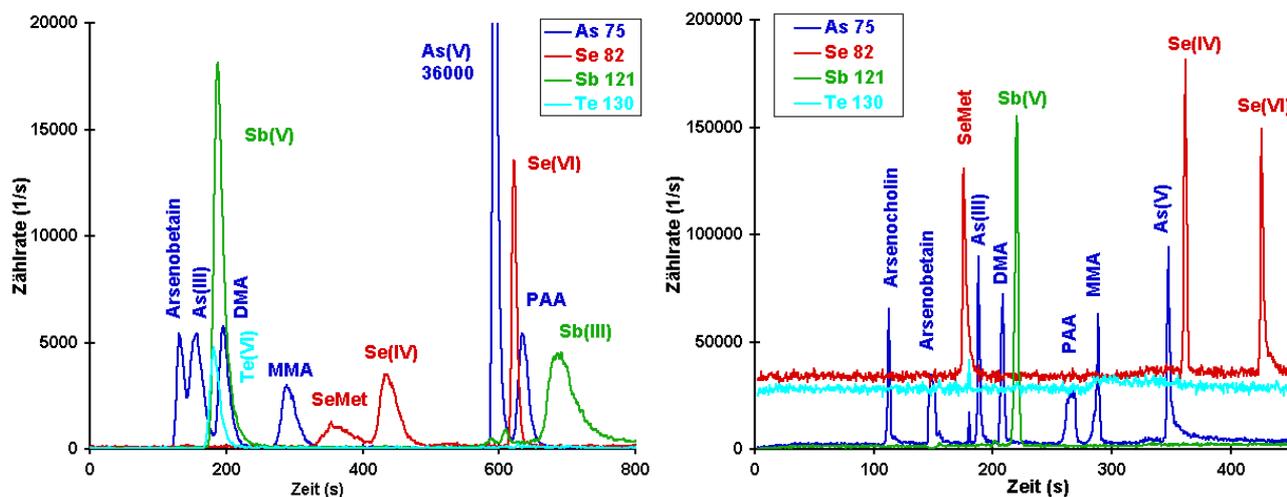


Abb. 36: Chromatogramm (links) und Elektropherogramm (rechts) des dotierten schwefelsauren Eluats aus NIST 2710

Tab. 38: Wiederfindungsraten (HPLC/ICP-QMS) der zu dem schwefelsauren Eluat aus NIST 2710 zugefügten Spezies

Spezies	AsB	As(III)	DMA	MMA	As(V)	PAA	SeMet	Se(IV)	Se(VI)	Sb(V)	Sb(III)	Te(VI)
Zugabe ($\mu\text{g Element/L}$)	50	50	50	50	50	50	500	500	500	50	50	50
entsprechend ($\mu\text{g Element/g}$)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	5	5	5	0,5	0,5	0,5
Wiederfindungs- rate (%)	105	113	100	106	115	114	87	109	113	99	114	109

Tab. 39: Wiederfindungsraten (CE/ICP-SFMS) der zu dem schwefelsauren Eluat aus NIST 2710 zugefügten Spezies

Spezies	AsB	As(III)	DMA	MMA	As(V)	AsC	PAA	SeMet	Se(IV)	Se(VI)	Sb(V)	Te(IV)	Te(VI)
Zugabe ($\mu\text{g Element/L}$)	50	50	50	50	50	50	50	500	500	500	50	50	50
entsprechend ($\mu\text{g Element/g}$)	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	25	25	25	2,5	2,5	2,5
Wiederfindungs- rate (%)	102	94	102	95	92	100	95	113	104	99	97	0	0

5.7.3.2 Stabilität der zum schwefelsauren Eluat aus NIST 2710 zugefügten Spezies

Die Speziesgehalte in den dotierten Eluaten wurden nach einer dreitägigen Lagerung im Kühlschrank (3 °C) bestimmt, um zu testen, ob innerhalb dieses Zeitraums Speziesumwandlungen auftreten. Das mit der HPLC/ICP-MS erhaltene Chromatogramm ist in Abb. 37 dargestellt. Die Veränderungen gegenüber dem Chromatogramm vor der Lagerung (Abb. 36, links, Seite 87) sind in Tab. 40 quantifiziert. Die nach 3 Tagen beobachteten Veränderungen lagen zwischen -6 und +11 %.

Tab. 40: Veränderungen des dotierten Schwefelsäureeluats nach einer dreitägigen Lagerung bei 3 °C

Spezies	AsB	As(III)	DMA	MMA	As(V)	PAA	SeMet	Se(IV)	Se(VI)	Sb(V)	Sb(III)	Te(VI)
Zugabe (µg Element/L)	50	50	50	50	50	50	500	500	500	50	50	50
Veränderung (%)	+7	+4	+2	+9	0	+6	+5	+11	+4	-6	+3	+11

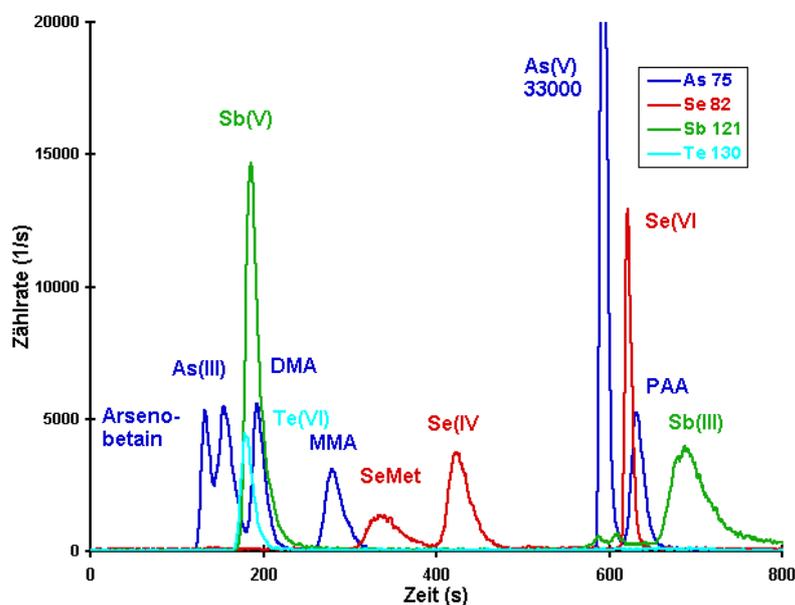


Abb. 37: Chromatogramm des dotierten schwefelsauren Bodeneluats nach einer dreitägigen Lagerung bei 3 °C

5.7.3.3 Wiederfindungsraten der vor der Schwefelsäureelution zu NIST 2710 zugefügten Spezies

Auch bei der Elution mit verdünnter Schwefelsäure wurde untersucht, ob Adsorptionsprozesse bzw. Reaktionen der Spezies mit Substanzen im Boden auftraten, die nicht durch die Schwefelsäurezugabe reversibel waren. Um dies zu prüfen, wurden die Spezies vor der Elution zum Boden zugegeben. Das Chromatogramm, das nach Zugabe der in Tab. 41 (Seite 90) aufgeführten Speziesgehalte erhalten wurde, ist in Abb. 38 dargestellt. Die berechneten Wiederfindungsraten sind in Tab. 41 zusammengefasst.

Arsenobetain, As(V) und Se(VI) wurden wie bei der Elution mit Wasser nahezu vollständig (91 - 95 %) wiedergefunden. Bei As(III), DMA und Te(VI) trat eine Abnahme der Konzentrationen um 20 % bis 50 % und beim Selenomethionin und Sb(V) eine Abnahme um über 50 % auf. Wie bei der Elution mit Wasser lagen die Wiederfindungsraten der Spezies MMA, PAA, Se(IV) und Sb(III) unter 15 %. Der größte Unterschied gegenüber der wässrigen Elution trat bei der Spezies Te(VI) auf, bei der 80 % (bei der wässrigen Elution 15 %) wiedergefunden wurde. Wie nach der wässrigen Elution wurde auch nach dieser Elution eine bisher nicht identifizierte Selenpezies mit einer Retentionszeit von 145 s detektiert.

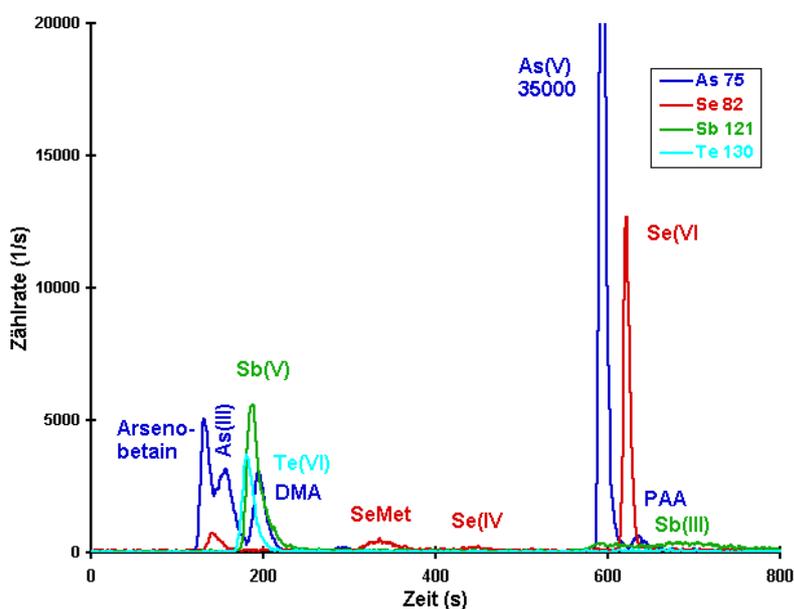


Abb. 38: Chromatogramm des schwefelsauren Eluats von dotiertem NIST 2710

Tab. 41: Wiederfindungsraten der vor der Schwefelsäureelution zum Boden zugegebenen Spezies

Spezies	AsB	As(III)	DMA	MMA	As(V)	PAA	SeMet	Se(IV)	Se(VI)	Sb(V)	Sb(III)	Te(VI)
Zugabe (µg Element/g)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	5	5	5	0,5	0,5	0,5
entsprechend (µg Element/L)	50	50	50	50	50	50	500	500	500	50	50	50
Wiederfindungs- rate (%)	95	57	49	0	91	10	21	2	92	35	7	81

5.7.4 Zusammengefasste Ergebnisse der Untersuchung von dem Boden-Standardreferenzmaterial NIST 2710

Mittels HPLC/ICP-QMS wurden die mit Wasser und verdünnter Schwefelsäure eluierbaren Speziesgehalte der Elemente Arsen, Selen, Antimon und Tellur in dem Boden-Standardreferenzmaterial NIST 2710 bestimmt. Da für dieses Standardreferenzmaterial keine zertifizierten Werte über lösliche Spezies vorliegen, wurden zur Absicherung der Richtigkeit Vergleichsmessungen mit der CE/ICP-SFMS durchgeführt. Die erzielten Übereinstimmungen lagen innerhalb der durch die Standardabweichungen charakterisierten Messunsicherheiten. Im wässrigen Eluat konnte neben As(V) auch Arsenobetain, DMA und Sb(V) nachgewiesen werden. Im schwefelsauren Eluat lagen daneben auch As(III), Sb(III) und Te(VI) vor. Mit beiden Elutionsarten wurden weniger als 1 % der zertifizierten Gesamtarsen- und Gesamtantimonergehalte eluiert.

Zur Überprüfung von möglichen Störeinflüssen durch die Matrix wurden Wiederfindungsraten bei einer Zugabe der Spezies zu den Eluaten bestimmt. Mit Ausnahme der Tellurspezies bei der Untersuchung mittels CE/ICP-SFMS lagen die erhaltenen Werte zwischen 87 und 115 %.

Die Stabilität der Spezies in den dotierten Eluaten wurde bei einer Lagerung über drei Tage bei einer Lagertemperatur von 3 °C untersucht. Innerhalb dieses Zeitraumes traten keine über ±15 % hinausgehende Veränderungen der Konzentrationen auf. Aus diesen Ergebnissen kann gefolgert werden, dass die entwickelte Methode zur Bestimmung der genannten Spezies in wässrigen und in schwefelsauren Bodeneluaten geeignet ist.

Durch eine Zugabe der Spezies zum Boden vor der Elution konnte gezeigt werden, dass insbesondere bei den Spezies MMA, PAA, Se(IV) und Sb(III) starke Sorptionsprozesse bzw. Reaktionen der Spezies mit Substanzen im Boden auftraten.

6 Zusammenfassende Diskussion und Bewertung der Ergebnisse

In diesem Kapitel werden die erzielten Ergebnisse insbesondere in Hinblick auf die analytische Qualitätssicherung zusammenfassend diskutiert. Diese beinhaltet alle Maßnahmen, die vorgenommen werden, um Aussagen über die Qualität und Fehler von Untersuchungsergebnissen zu ermöglichen [194, 195, 196]. Die Qualitätssicherung umfasst unter anderem die Ermittlung von Wiederfindungsraten, die Überprüfung der eingesetzten Analysemethoden mit zertifizierten Referenzmaterialien, die Überprüfung mit einer zweiten unabhängigen Analysemethode und bei neu entwickelten Analysemethoden deren Validierung [197]. Die Validierung bezeichnet den Prozess der Sicherstellung, dass eine analytisch-chemische Methode oder ein entsprechendes Verfahren geeignet ist, den angestrebten Zweck zu erfüllen. Durch die Validierung einer Methode wird mit Hilfe von Laboruntersuchungen nachgewiesen, dass die entsprechenden Arbeitskenngrößen eines Verfahrens die Anforderungen erfüllen, die an die angestrebte analytisch-chemische Anwendung zu stellen sind. Die Arbeitskenngrößen umfassen unter anderem Nachweis- und Bestimmungsgrenzen, den Arbeitsbereich, die Empfindlichkeit, Linearität, Präzision, Spezifität und Robustheit [198].

6.1 Analytische Kenngrößen

Die mittels HPLC/ICP-QMS erzielten Nachweisgrenzen von Sb(V), Te(VI) und den Arsenspezies lagen unterhalb von 1 µg Element/L. Die Nachweisgrenzen der Selenspezies lagen zwischen 3 und 5 µg/L, weil bei der Detektion am ICP-QMS wegen der Störung durch $^{40}\text{Ar}^{40}\text{Ar}^+$ auf das Isotop ^{82}Se mit der natürlichen Isotopenhäufigkeit von 9 % ausgewichen wurde. Die etwas höhere Nachweisgrenze von Sb(III) (1,5 µg/L) als von Sb(V) (0,43 µg/L) kann dadurch erklärt werden, dass das Signal von Sb(III) im Chromatogramm breiter als das der übrigen Signale ist. Die erzielten Bestimmungsgrenzen lagen für die Arsenspezies, Sb(V) und Te(VI) zwischen 1 und 3 µg Element/L, für Sb(III) bei 5 µg/L und für die Selenspezies zwischen 10 und 20 µg Se/L. Diese Werte belegen, dass das gekoppelte System HPLC/ICP-QMS geeignet ist, um die Konzentrationen von Arsen- und Antimonspezies zu bestimmen, selbst wenn die Gehalte der Spezies unterhalb der deutschen Trinkwassergrenzwerte von 10 µg/L bei Arsen (gesamt) und 10 µg/L bei Antimon (gesamt) liegen.

Die erzielte, unterhalb von 2 % liegende Wiederholpräzision der Retentionszeiten belegt, dass die Signale bei sehr konstanten Retentionszeiten detektiert wurden. Da die Wiederholpräzision der

Signalflächen (3,3 bis 7,5 %) kleiner als die der Signalthöhen (3,7 bis 10,3 %) war, wurde die Bestimmung der Speziesgehalte über die Signalflächen durchgeführt. Die Langzeitstabilität des Systems wurde dadurch belegt, dass die erzielte Wiederholpräzision während einer Messzeit von etwa 20 Stunden an zwei aufeinander folgenden Tagen erhalten wurde.

6.2 Spezifität

Die in vielen Matrices vorhandenen Chlorid-Ionen können bei der ICP-QMS aufgrund der spektralen Störung durch $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}^+$ die Detektion von Arsen stören. In dieser Arbeit gelang es, die Arsenspezies chromatographisch von Chlorid-Ionen zu trennen. Es konnte gezeigt werden, dass ein 40.000-facher Überschuss (m/m) von Chlorid-Ionen die Bestimmung der Arsenspezies nicht stört.

6.3 Robustheit

Die Arsen-, Selen-, Antimon- und Tellurspezies konnten mit der Anionenaustauschchromatographie-Säule „DIONEX IonPak AS 14“ bei einer Zusammensetzung der mobilen Phase A, die 2 mmol Ammoniumhydrogencarbonat/L und 2,2 mmol Tartrat-Ionen/L (in Wasser, pH 8,2) enthielt, optimal getrennt werden. Das System war gegenüber kleinen Schwankungen der Konzentration von Carbonat-Ionen zwischen 1,5 und 3,5 mmol/L und der Konzentration von Tartrat-Ionen zwischen 1,8 und 3 mmol/L und des pH-Werts zwischen 8,0 und 8,4 robust. Kleine Änderungen dieser Parameter bewirkten nur kleine Veränderungen der Retentionszeiten und führten in den angegebenen Bereichen nicht dazu, dass Spezies des gleichen Elements bei gleichen Retentionszeiten eluierten. Zur Elution der stärker von der stationären Phase zurückgehaltenen Spezies Sb(III), As(V), PAA, Se(VI) wurde die Zusammensetzung der mobilen Phase nach 6 Minuten von der mobilen Phase A zur mobilen Phase B geändert, welche 2 mmol Ammoniumhydrogencarbonat/L und 45 mmol Tartrat-Ionen/L (in Wasser, pH 8,2) enthielt. Dieses System war ebenfalls gegenüber kleinen Schwankungen der Konzentrationen und des pH-Werts stabil (vgl. Abschnitt 4.2.1, Seite 24).

6.4 Richtigkeit

Zur Überprüfung der Richtigkeit von Analysenergebnissen wurden zertifizierte Referenzmaterialien eingesetzt. Ein grundsätzliches Problem der Analytik von Elementspezies liegt darin, dass bislang nur wenige zertifizierte Referenzmaterialien vorliegen, deren Gehalte an Elementspezies zertifiziert wurden. Von den in dieser Arbeit untersuchten Spezies wurden bis jetzt nur Arsenobetain und DMA in einem einzigen Referenzmaterial, BCR CRM 627, zertifiziert. Die Elementspezies wurden aus diesem Fisch-Referenzmaterial mit Methanol/Wasser (50/50, v/v) extrahiert. Sowohl die Ergebnisse, die mittels HPLC/ICP-QMS für dieses Referenzmaterial erzielt wurden, als auch diejenigen, die mit einer unabhängigen Vergleichsmethode erhalten wurden, stimmten innerhalb der durch die Standardabweichungen gegebenen Meßunsicherheit mit den zertifizierten Werten von Arsenobetain und DMA überein.

Um zu überprüfen, ob mit dem entwickelten gekoppelten System HPLC/ICP-QMS auch Elementspezies in anderen Proben richtig bestimmt werden können, wurden die für weitere Proben erzielten Messergebnisse mit Gehalten, die von anderen Arbeitsgruppen veröffentlicht wurden, und mit Messergebnissen, die mit Hilfe einer unabhängigen Vergleichsmethode ermittelt wurden, verglichen. Ein weiteres Fisch-Referenzmaterial, NRC DORM-2, sowie die Urin-Standardreferenzmaterialien NIST SRM 2670n und NIST SRM 2670e und Eluate aus dem Boden-Referenzmaterial NIST SRM 2710 wurden untersucht. Für die Vergleichsmessungen wurde in dieser Arbeit ein gekoppeltes System aus Kapillarelektrophorese und ICP-SFMS mit einem von SCHAUMLÖFFEL und PRANGE [119] entwickelten Interface eingesetzt. Die mittels HPLC/ICP-QMS ermittelten, in dem zertifizierten Fisch-Referenzmaterial NRC DORM-2 vorliegenden Speziesgehalte von Arsenobetain und DMA stimmten innerhalb der durch die Standardabweichungen charakterisierten statistischen Unsicherheit mit den Werten der CE/ICP-SFMS und den Ergebnissen anderer Arbeitsgruppen sowie mit dem zertifizierten Gesamtarsengehalt überein. Die Signale der Spezies MMA, As(V) und Arsenocholin lagen nahe am Untergrundrauschen und streuten stark. Aus diesen, für die beiden zertifizierten Fisch-Referenzmaterialien erhaltenen Ergebnissen folgt, dass die Extraktion mit Methanol/Wasser nahezu quantitativ erfolgte und dass die entwickelte Methode zur Bestimmung von Elementspeziesgehalten in diesen Materialien geeignet ist.

Die nach Filtration in den Urin-Referenzmaterialien NIST SRM 2670n und NIST SRM 2670e mittels HPLC/ICP-QMS ermittelten Konzentrationen von Arsenobetain, DMA, MMA und As(V) lagen in dem Bereich, der von den kleinsten und größten, von anderen Arbeitsgruppen veröffentlichten Werten einschließlich der durch die Standardabweichungen charakterisierten

Fehlerbereiche begrenzt wird. Die mit der HPLC/ICP-QMS erhaltenen Gehalte stimmten ebenfalls innerhalb der Standardabweichungen mit den mittels CE/ICP-SFMS erhaltenen Werten und dem zertifizierten Gesamtarsengehalt von NIST SRM 2670e überein. Aus diesen Ergebnissen kann geschlossen werden, dass das System HPLC/ICP-QMS geeignet ist, um Elementspeziesgehalte in Urinproben zu bestimmen.

In dem wässrigen Eluat des Boden-Standardreferenzmaterials NIST SRM 2710 konnten die Spezies As(V), Sb(V), Arsenobetain und DMA nachgewiesen werden. Durch die Elution waren jedoch nur etwa 0,1 und 0,3 % der zertifizierten Gesamtarsen- und Gesamtantimongehalte eluiert worden. In der Lösung, die durch Elution von NIST SRM 2710 mit verdünnter Schwefelsäure (0,01 mol/L) erhalten worden ist, konnten die Spezies As(V), Sb(V), Sb(III), As(III), Arsenobetain, DMA und Te(VI) nachgewiesen werden. Durch die Elution mit verdünnter Schwefelsäure wurden nur etwa 0,3 und 0,5 % der zertifizierten Gesamtarsen- und Gesamtantimongehalte aus dem Material herausgelöst. Diese Ergebnisse bestätigen die auch von anderen Arbeitsgruppen beschriebene Beobachtung, dass Elementspezies nicht quantitativ aus Bodenproben herausgelöst werden. Die mittels HPLC/ICP-QMS erhaltenen Konzentrationen von Spezies in beiden Eluaten stimmten innerhalb der durch die Standardabweichungen gekennzeichneten Fehlerbereiche mit den Werten überein, die mit der CE/ICP-SFMS ermittelt wurden. Diese Ergebnisse machen deutlich, dass es sowohl mittels HPLC/ICP-QMS als auch mit der CE/ICP-SFMS gelingt, die in beiden Eluaten vorliegenden löslichen Spezies zu bestimmen.

6.5 Wiederfindungsraten

Im Rahmen der Qualitätssicherung wurden Wiederfindungsraten von Spezies bestimmt, die zu den untersuchten Lösungen und Feststoffen zugefügt wurden. Nahe bei 100 % liegende Wiederfindungsraten sind eine notwendige Bedingung zur Erzielung von richtigen Analyseergebnissen. Die Wiederfindungsraten der zu den Extrakten aus den Fisch-Referenzmaterialien BCR CRM 627 und NRC DORM-2 zugefügten Spezies lagen bei der HPLC/ICP-QMS zwischen 94 und 115 % und bei der CE/ICP-SFMS zwischen 85 und 115 %.

Wenn die Zugabe der Spezies nicht nach der Extraktion zu den Lösungen, sondern vor der Extraktion zu den Feststoffen erfolgte, konnten durch die Probenvorbereitung verursachte signifikante Abnahmen der Gehalte von zugefügtem Selenomethion, Sb(III) und Sb(V) um 40 bis 100 % beobachtet werden. Während der Extraktion traten offensichtlich Speziesumwandlungen auf: Es entstand eine bislang nicht identifizierte Selenspezies (Retentionszeit 145 s) und zwei

unbekannte Antimon-Spezies (Retentionszeiten 220 s und 490 s). Die Absicherung, dass tatsächlich Selen- und Antimon-Spezies gebildet worden sind, gelang dadurch, dass nicht nur bei den Isotopen ^{82}Se und ^{121}Sb , sondern auch bei den Isotopen ^{78}Se und ^{123}Sb die entsprechenden Signale mit Signalverhältnissen, die den natürlichen Isotopenverhältnissen entsprachen, detektiert wurden. Alle Arsenspezies sowie Se(IV), Se(VI) und Te(VI) wurden nach der Extraktion vollständig (89 bis 111 %) wiedergefunden.

Die Wiederfindungsraten von Spezies, die zu den zertifizierten Urin-Standardreferenzmaterialien NIST SRM 2670n und NIST SRM 2670e zugefügt wurden, lagen sowohl bei der HPLC/ICP-QMS als auch bei der CE/ICP-SFMS zwischen 85 und 115 %.

Die Wiederfindungsraten von zum wässrigen und schwefelsauren Eluat des zertifizierten Boden-Referenzmaterials NIST SRM 2710 zugefügten Spezies wurden ermittelt. Mit Ausnahme der Tellurspezies, die bei der Untersuchung mittels CE/ICP-SFMS nicht vollständig wiedergefunden wurden, lagen die Wiederfindungsraten der Spezies, die sowohl mit der HPLC/ICP-QMS als auch mittels CE/ICP-SFMS erhalten wurden, bei den wässrigen Eluaten zwischen 89 und 106 % und bei den schwefelsauren Eluaten zwischen 87 und 115 %.

Um zu überprüfen, ob Adsorptionsprozesse oder Reaktionen der Spezies mit Substanzen in dem Boden-Referenzmaterial auftraten, wurden die Wiederfindungsraten von Spezies bestimmt, die vor den Extraktionsschritten zum Boden zugefügt wurden. Sowohl nach der Elution mit Wasser als auch nach derjenigen mit verdünnter Schwefelsäure wurden von den Spezies MMA, PAA, Se(IV), Sb(III) und Selenomethionin nach der Elution weniger als 40 % der zugefügten Gehalte wiedergefunden. In beiden Eluaten konnte eine nicht identifizierte Selenspezies mit der Retentionszeit 145 s nachgewiesen werden. Aus diesen Ergebnissen kann gefolgert werden, dass insbesondere die zuletzt genannten Spezies stark sorbiert wurden oder mit Substanzen im Boden reagierten. Da diese Veränderungen nicht bei der Zugabe der Spezies zu den Eluaten beobachtet wurden, handelte es sich bei den Reaktionspartnern der Spezies um Feststoffe des Bodens, die nicht mit Wasser oder verdünnter Schwefelsäure eluiert worden sind.

Aufgrund der Wiederfindungsraten, die erzielt wurden, nachdem die Spezies zu den einzelnen Lösungen oder Extrakten zugefügt worden sind, kann geschlossen werden, dass sowohl das in dieser Arbeit entwickelte gekoppelte System zwischen HPLC und ICP-QMS als auch die für Vergleichsmessungen eingesetzte CE/ICP-SFMS in der Lage sind, die Arsen-, Selen-, Antimon- und Tellurspezies in den Lösungen ohne störende Matrixeffekte zu bestimmen. Wie gezeigt wurde, können jedoch während der Extraktion von Feststoffen Speziesumwandlungen auftreten.

Die Entwicklung von Extraktionsschritten, welche die Speziesinformationen nicht verändern, wird in der Zukunft ein wichtiges Aufgabengebiet der Speziesanalytik darstellen.

6.6 Stabilität der Spezies

Da bislang nur wenige und widersprüchliche Informationen darüber vorliegen, unter welchen Bedingungen Mischungen unterschiedlicher Spezies am längsten ohne Speziesveränderungen gelagert werden können, wurden in dieser Arbeit Stabilitätsuntersuchungen von wässrigen Speziesmischungen bei Lagertemperaturen von -20 °C , $+3\text{ °C}$ und $+20\text{ °C}$ durchgeführt. Bei einer Lagerung bei 3 °C wurde die beste Stabilität erzielt: Nach 30 Tagen lagen die Wiederfindungsraten zwischen 92 und 107 %. Am meisten Speziesveränderungen traten nach einer Lagerung im gefrorenen Zustand auf. Eine bislang nicht identifizierte Selenspezies wurde gebildet. Dieses für die untersuchten Elementspezies erhaltene Ergebnis ist überraschend, weil in der Regel angenommen wird, dass bei kleineren Temperaturen die Reaktionsgeschwindigkeiten kleiner sind. Eine mögliche Ursache für die höheren Verluste und die höhere Speziesumwandlung nach der Lagerung im gefrorenen Zustand kann in den Gefrier- und Tauprozessen liegen, bei denen die flüssige und die feste Phase nebeneinander vorliegen und Reaktionen an den Phasengrenzflächen stattfinden können. Eine genaue Untersuchung dieser Beobachtung steht aber noch aus. Unerwartete Veränderungen von Arsenspezies in gefrorenen Urinproben wurden auch von FELDMANN et al. [60] beobachtet.

Bei den Extrakten aus den Fisch-Referenzmaterialien BCR CRM 627 und NRC DORM-2 wurde nach einer dreitägigen Lagerung (3 °C) eine beginnende Umwandlung von Sb(III) in eine nicht identifizierte Antimonspezies und bei BCR CRM 627 eine beginnende Umwandlung von Selenomethionin in eine nicht identifizierte Selenspezies beobachtet. Die Konzentrationsveränderungen der übrigen Spezies waren nicht größer als $\pm 12\%$.

Bei einer Lagerung (3 °C) des dotierten Urin-Standardreferenzmaterials NIST SRM 2670n nahm nach einem Tag die Konzentration von Sb(V) und nach fünf Tagen auch diejenige von Selenomethionin ab. Bei den anderen Spezies wurden keine signifikanten Abnahmen beobachtet.

In dem wässrigen und dem schwefelsauren Eluat des Boden-Standardreferenzmaterials NIST SRM 2710 wurde ebenfalls die Stabilität von zugefügten Spezies untersucht. Bei einer Lagertemperatur von 3 °C traten nach 5 Tagen keine über $\pm 15\%$ hinausgehende Speziesveränderungen auf.

Aus den dargestellten Ergebnissen folgt, dass die Elementspezies in den untersuchten Lösungen, mit Ausnahme von Selenomethionin, Sb(III) und Sb(V), ohne signifikante Speziesveränderungen mehrere Tage bei einer Temperatur von 3 °C gelagert werden können. Eine zukünftige Aufgabe wird die Verbesserung der Speziesstabilitäten insbesondere von Selenomethionin, Sb(III) und Sb(V) darstellen.

6.7 Vergleichende Bewertung der Kopplungen HPLC/ICP-QMS, CE/ICP-QMS und CE/ICP-SFMS

Die gekoppelten Systeme der HPLC und der CE mit der ICP-MS stellen vielseitige, sich ergänzende Methoden zur Analyse von Elementspezies dar, mit denen unter anderem ionische und nicht-flüchtige Verbindungen ohne Derivatisierung bestimmt werden können. Einen Vorteil von gekoppelten Systemen mit der CE stellt die höhere Trennleistung im Vergleich zu Systemen mit der HPLC dar. Aufgrund dieser höheren Trennleistung können schmalere Signale (Halbwertsbreite etwa 1 bis 10 s gegenüber 10 bis 60 s bei der HPLC) erhalten werden. Weitere Vorteile des CE-Systems liegen in einem nahezu vollständigen Transport der Analytmoleküle in das Plasma und in gegenüber dem HPLC-System um etwa 20 % kürzeren Analysenzeiten. Das Injektionsvolumen bei der HPLC/ICP-QMS (50 µL) liegt in der gleichen Größenordnung wie das bei der CE/ICP-SFMS mindestens vorzuziehende Probenvolumen von etwa 30 µL.

Der größte Vorteil der HPLC/ICP-QMS liegt gegenüber der CE/ICP-QMS darin, dass trotz der kleineren Transporteffizienz ins Plasma aufgrund des höheren Probenvolumens relative Nachweisgrenzen erzielt werden, die um etwa eine Größenordnung unter denjenigen der CE/ICP-QMS liegen. Um mittels eines gekoppelten Systems mit der CE ähnliche Nachweisgrenzen wie mit der HPLC/ICP-QMS zu erreichen, ist es nötig, statt der ICP-QMS ein empfindlicheres, aber auch teureres ICP-SFMS zur Detektion einzusetzen.

Von den untersuchten Arsen-, Selen-, Antimon- und Tellurspezies konnte Sb(III) mit der CE/ICP-QMS und der CE/ICP-SFMS nicht erfasst werden, während mittels HPLC/ICP-QMS Te(IV) nicht bestimmt werden konnte.

6.8 Vorkommen von Arsenobetain in Bodeneluaten

Da in Boden- und Sedimentproben bisher überwiegend nur die Spezies As(III), As(V), DMA und MMA nachgewiesen wurden, war die Detektion von Arsenobetain in dem wässrigen und schwefelsauren Eluat des Boden-Referenzmaterials NIST SRM 2710 zunächst überraschend. Arsenobetain wurde bislang vor allem in Fischen und anderen Meerestieren nachgewiesen. Das Ergebnis, dass Arsenobetain in Eluaten von Bodenproben vorkommen kann, wird in der Arbeit von PONGRATZ [13] bestätigt. Eine mögliche Erklärung dieses Ergebnisses ist, dass das Arsenobetain aus Mikroorganismen stammte, welche in dem Boden vorhanden waren. Für diese Annahme spricht, dass HANAOKA et al. [14] festgestellt haben, dass Arsen in Mikroorganismen vor allem in Form von Arsenobetain vorliegt. Eine zweite Quelle von dem Arsenobetain in dem untersuchten Boden können aber auch suspendierte Partikel biologischen Ursprungs darstellen. Da das Weideland, aus dem das Referenzmaterial entnommen wurde, periodisch von einem kleinen Fluss überflutet worden war [192], konnten suspendierte Partikel bei den Überflutungen auf den Boden gelangen. HANAOKA et al. [15] zeigten, dass der größte Teil des Arsens in suspendierten Partikeln ($< 5 \mu\text{m}$) als Arsenobetain vorliegt. Die Autoren vermuten, dass Meerestiere diese Partikel als Teil ihrer Nahrung aufnehmen und das darin enthaltene Arsenobetain in ihrem Gewebe und Organen anreichern.

6.9 Ausblick

Da bislang nur wenige Referenzmaterialien mit zertifizierten Gehalten an Elementspezies vorliegen, gibt es derzeit einen dringenden Bedarf an diesen Materialien, um im Rahmen der Qualitätssicherung die Richtigkeit von Analyseergebnissen zu überprüfen. Ein wichtiges Aufgabengebiet der Speziesanalytik wird in Zukunft darin liegen, geeignete Probenvorbereitungsschritte zu entwickeln, mit denen eine möglichst quantitative Extraktion von Elementspezies aus festen Proben ohne Verlust der Speziesinformationen möglich ist. Um die genannten Aufgabengebiete zu bearbeiten, ist es nötig, geeignete Analysentechniken zu entwickeln, welche es ermöglichen, die Gehalte der zu untersuchenden Spezies zu bestimmen. In dieser Arbeit wurde ein derartiges System HPLC/ICP-QMS entwickelt und erprobt, mit dem Arsen-, Selen-, Antimon- und Tellurspezies simultan analysiert werden können.

Ein weiteres Aufgabengebiet liegt in der Identifizierung bislang unbekannter Spezies wie z. B. der während der Extraktionsschritte oder der nach einer Probenlagerung entstehenden, nicht identifizierten Selen- und Antimonspezies. Mittels HPLC/ICP-QMS ist eine direkte

Identifizierung unbekannter Spezies nicht möglich, weil die ICP-MS ein element- und kein molekülselektiver Detektor ist und daher die Speziesinformationen bei der Detektion verloren gehen. Informationen über die Identität von Spezies können bei diesem gekoppelten System nur aus den Retentionszeiten der Spezies erhalten werden. Um unbekannte Spezies genauer zu identifizieren, ist es nötig, gekoppelte Systeme wie z. B. HPLC/MS einzusetzen, die einen molekülselektiven Detektor enthalten. Der Einsatz dieser, wenn auch weniger empfindlichen Systeme wird in Zukunft eine größere Bedeutung zur Identifizierung unbekannter Spezies erlangen.

7 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde ein gekoppeltes System HPLC/ICP-QMS entwickelt, um Spezies der Elemente Arsen, Selen, Antimon und Tellur simultan zu bestimmen. Die Kopplung wurde realisiert, indem die Chromatographie-Säule über eine kurze Kapillare aus Polytetrafluorethylen mit einem Zerstäuber verbunden wurde. Das entstehende Aerosol wurde über eine kühlbare Sprühkammer in das Plasma der ICP-QMS transportiert. Durch eine Erhöhung der Plasmaleistung auf 1200 W, eine Kühlung der Sprühkammer auf -12 °C und das Zumischen von 7 % (v/v) Sauerstoff zum Zerstäubergas kann bis zu 100 % Methanol oder 70 % (v/v) Acetonitril als mobile Phase der HPLC verwendet werden, ohne dass Plasmainstabilitäten oder Kohlenstoffablagerungen an den Konen auftreten.

Während bislang gekoppelte Systeme, die aus HPLC und ICP-MS bestanden, überwiegend eingesetzt wurden, um Spezies eines einzigen Elements zu trennen, wird in dieser Arbeit auf die Multielementfähigkeit der ICP-MS zurückgegriffen. Mit Hilfe des entwickelten Systems HPLC/ICP-QMS gelingt es in dieser Arbeit erstmals, die folgenden umweltrelevanten Arsen-, Selen-, Antimon- und Tellurspezies simultan zu bestimmen: As(III), As(V), Arsenobetain, Monomethylarsensäure, Dimethylarsinsäure, Phenylarsensäure, Se(IV), Se(VI), Selenomethionin, Sb(III), Sb(V) und Te(VI).

Das chromatographische System wurde bezüglich der stationären Phase und der Zusammensetzung sowie des pH-Werts der mobilen Phase zur Trennung der zu bestimmenden Spezies optimiert. Die Untersuchungen ergaben, dass mit Hilfe der Ionenchromatographie im Vergleich zur Ionenpaarchromatographie eine bessere Trennleistung, die weniger von der Matrix abhängig ist, erzielt werden kann.

Dadurch, dass als mobile Phase eine wässrige Lösung aus Ammoniumhydrogencarbonat verwendet wird, kann eine Langzeitstabilität des Systems über 20 Stunden erreicht werden. Die eingesetzte Lösung wird unter den Bedingungen im Plasma zu gasförmigem Ammoniak, Kohlendioxid und Wasser umgesetzt, und die Konen der ICP-MS werden keiner starken Partikeleinwirkung ausgesetzt. Um die auch von anderen Arbeitsgruppen beobachtete starke Rückhaltung von Sb(III) auf HPLC-Säulen zu vermeiden, wurde der Einfluss von zur mobilen Phase zugefügten komplexierenden Reagenzien untersucht. Die erzielten Ergebnisse zeigen, dass die Zugabe von Weinsäure besser als diejenige von Ethylendiamintetraacetat, Phthalsäure oder Malonsäure geeignet ist, um Sb(III) aus der HPLC-Säule zu eluieren. Indem die Zusammensetzung der mobilen Phase während des chromatographischen Laufs von einer kleinen Tartrat-Ionen-

Konzentration zu einer höheren Tartrat-Ionen-Konzentration verändert wird, kann es erreicht werden, dass sowohl die früh eluierenden Spezies mit ausreichender Auflösung getrennt als auch die stärker zurückgehaltenen Spezies innerhalb eines Zeitraums von weniger als 13 Minuten detektiert werden. Die Zusammensetzungen der beiden mobilen Phasen wurden optimiert, um eine bestmögliche Auflösung der Signale gleicher Elemente zu erzielen. Die Parameter der ICP-QMS wurden optimiert, um eine maximale Empfindlichkeit der Signale von Arsen, Selen, Antimon und Tellur zu erreichen.

Das System HPLC/ICP-QMS wurde hinsichtlich Nachweisgrenzen, Bestimmungsgrenzen, Arbeitsbereiche, Empfindlichkeit, Linearität, Spezifität, Robustheit sowie der Wiederholpräzision der Retentionszeiten, Signalhöhen und Signalflächen validiert. Die erzielten Nachweisgrenzen von Sb(III) und den Selenspezies liegen zwischen 1 und 5 µg Element/L; die der übrigen Spezies liegen unterhalb von 1 µg Element/L. Für die Elementspezies werden innerhalb von Arbeitsbereichen, die sich über etwa zwei Größenordnungen erstrecken, lineare Kalibriergeraden mit Korrelationskoeffizienten zwischen 0,99981 und 0,99999 erhalten. Die Wiederholpräzision bei einer Auswertung der Signale über die Fläche liegt zwischen 3,3 und 7,5 %. Mit dem System kann eine Analysenfrequenz von etwa vier Analysen pro Stunde erzielt werden. Ein 40.000-facher Überschuss von Chlorid-Ionen (m/m) stört die Bestimmung der Elementspezies, insbesondere der Arsenspezies, nicht. Das System ist gegenüber kleinen Schwankungen der Zusammensetzung und des pH-Werts der mobilen Phase robust.

Da bislang widersprüchliche Informationen über die Stabilität von wässrigen Speziesmischungen vorliegen, wurde in dieser Arbeit überprüft, unter welchen Lagerbedingungen am wenigsten Speziesveränderungen auftreten. Die Untersuchungen ergeben, dass eine optimale Lagerung bei 3 °C erzielt werden kann. Die Wiederfindungsraten der untersuchten Spezies in wässrigen Lösungen liegen nach 30 Tagen zwischen 92 und 107 %. Bei einer Lagertemperatur von -20 °C treten nach 30 Tagen Speziesveränderungen insbesondere von Selenomethionin und Sb(V) auf, und eine bislang nicht identifizierte Selenspezies wird detektiert. Die Untersuchung der Stabilität von Spezies in dotierten Extrakten und Urinproben ergibt, dass die Elementspezies in den Lösungen, mit Ausnahme von Selenomethionin, Sb(III) und Sb(V), ohne signifikante Speziesveränderungen mehrere Tage bei einer Temperatur von 3 °C gelagert werden können.

Die Einsatzfähigkeit des entwickelten Systems HPLC/ICP-QMS wurde durch die Untersuchung von zertifizierten Urin- und Fisch-Referenzmaterialien (NIST SRM 2670n, NIST 2670e, BCR CRM 627 und NRC DORM-2) und von Eluaten des Boden-Referenzmaterials NIST SRM 2710 überprüft. Die erzielten Ergebnisse stimmen innerhalb der Standardabweichungen mit den - soweit vorhandenen - zertifizierten Speziesgehalten, mit den Ergebnissen anderer Arbeitsgruppen und

mit den mittels einer unabhängigen Vergleichsmethode ermittelten Gehalten überein. Die Vergleichsmessungen wurden mit einem gekoppelten System aus Kapillarelektrophorese und Sektorfeld-Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (CE/ICP-SFMS) durchgeführt.

Die erzielten Ergebnisse belegen, dass HPLC/ICP-QMS und CE/ICP-SFMS vielseitige und sich ergänzende Methoden zur Bestimmung von Elementspezies darstellen, mit denen auch nicht flüchtige ionische und höhermolekulare Spezies erfasst werden können. Um mittels gekoppelter Systeme, welche die CE als Trennmodul enthalten, relative Nachweisgrenzen zu erzielen, die denen der HPLC/ICP-QMS entsprechen, muss anstelle der ICP-QMS die empfindlichere ICP-SFMS zur Detektion eingesetzt werden. Aufgrund der kleineren Injektionsvolumina liegen die relativen Nachweisgrenzen der CE/ICP-QMS etwa um eine Größenordnung höher als diejenigen der HPLC/ICP-QMS. Es wurde gezeigt, dass Vorteile von gekoppelten Systemen, bei denen die Trennung mittels CE erfolgt, die um etwa 20 % kürzeren Analysenzeiten und eine höhere Trennleistung sind, während die höheren Nachweisgrenzen einen Nachteil darstellen.

Während durch eine Extraktion mit Methanol/Wasser die Arsenspezies nahezu quantitativ aus Fisch-Referenzmaterialien extrahiert werden, kann mit Wasser oder verdünnter Schwefelsäure nur weniger als 1 % der zertifizierten Gesamtgehalte von Arsen und Antimon aus dem Boden-Referenzmaterial eluiert werden. Mit experimentellen Untersuchungen, bei denen vor der Extraktion Spezies zu den festen Fisch- und Bodenmaterialien zugefügt wurden, konnte gezeigt werden, dass einige Spezies nahezu quantitativ nach der Extraktion wiedergefunden werden, während bei anderen Spezies signifikante Verluste und Speziesveränderungen auftreten. Insbesondere bei dem Bodenmaterial können starke Sorptionen oder Reaktionen einiger Spezies mit Substanzen aus dem Feststoff festgestellt werden.

Die Wiederfindungsraten, die erzielt wurden, nachdem Spezies zu den Lösungen oder Extrakten zugefügt wurden, zeigen, dass sowohl das in dieser Arbeit entwickelte gekoppelte System HPLC/ICP-QMS als auch das für Vergleichsmessungen eingesetzte System CE/ICP-SFMS in der Lage sind, die untersuchten Arsen-, Selen-, Antimon- und Tellurspezies in den Lösungen ohne störende Matrixeffekte zu bestimmen. Diese Ergebnisse belegen, dass das entwickelte System zur Anwendung auf reale Proben geeignet ist und eine leistungsfähige Methode zur simultanen Bestimmung von Spezies mehrerer Elemente in verschiedenen Matrices darstellt.

8 Summary

Simultaneous determination of arsenic, selenium, antimony and tellurium species
with a newly developed coupled HPLC/ICP-MS system
as well as comparative studies by CE/ICP-MS

The toxicological and biological properties as well as mobilities and the accumulation of elements mainly depend on the species in which these elements occur. The determination of element species instead of total element contents is therefore gaining increasing significance. In this work a coupled system employing high-performance liquid chromatography and inductively coupled plasma quadrupole mass spectrometry (HPLC/ICP-QMS) was developed for the simultaneous analysis of arsenic, selenium, antimony and tellurium species. The HPLC column was connected via a PTFE capillary with the nebulizer of the ICP-QMS. By cooling the ICP-QMS spray chamber to -12 °C, increasing the ICP power to 1200 W and mixing 7 % (v/v) oxygen to the nebulizer gas, it is possible to use up to 100 % methanol or 70 % acetonitrile (v/v) as mobile HPLC phases without plasma instabilities or carbon deposition on the ICP-QMS cones.

Up to now HPLC/ICP-MS has mainly been used to analyse the species of only one single element. In this work the multi-elemental capability of ICP-MS was utilised to determine the concentrations of the environmentally-relevant species As(III), As(V), arsenobetaine, monomethylarsonic acid, dimethylarsinic acid, phenylarsonic acid, Se(IV), Se(VI), selenomethionine, Sb(III), Sb(V) and Te(VI) simultaneously by HPLC/ICP-QMS for the first time.

The limits of detection obtained lie below 5 µg element/L for Sb(III) and the selenium species and range from 0.4 to 1 µg element/L for the other species. Correlation coefficients for the calibration curves lie between 0.99981 and 0.99999. The repeatability of peak area measurements ranges from 3.3 to 7.5 % RSD. All peaks are detected within 13 minutes. A 40,000-fold excess (m/m) of chloride ions does not interfere with the determination of species concentrations. The system is robust against small deviations in the composition and pH of the mobile phase.

Since the information available on the stability of aqueous species mixtures is rather contradictory, tests were carried out in this work to ascertain which storage conditions lead to a minimum of species transformation. The results showed that best storage can be achieved at 3 °C. Recovery rates of the species investigated in aqueous solutions range from 92 to 107 % after a storage period of 30 days. At a storage temperature of -20 °C, species transformations, especially

of selenomethionine and Sb(V) occur and an unidentified selenium species is detected after 30 days. The investigation of spiked urine samples and fish and soil extracts showed that the elemental species investigated - except for selenomethionine, Sb(III) and Sb(V) - can be stored without significant species transformation for several days at 3 °C.

The system HPLC/ICP-QMS developed was tested with certified urine and fish reference materials (NIST SRM 2670n, NIST SRM 2670e, BCR CRM 627 and NRC DORM-2) and eluates of soil standard reference material NIST SRM 2710. The results agree within statistical uncertainty with the rarely available, up to now, certified values, with the results of other research groups and with concentrations obtained from an independent comparative technique. Comparative studies were performed with a coupled system of capillary electrophoresis and inductively coupled plasma sector field mass spectrometry (CE/ICP-SFMS).

The results obtained show that HPLC/ICP-QMS and CE/ICP-SFMS are versatile techniques for speciation analysis. Non volatile ionic and high molecular mass species can be analysed with both techniques. Because of the smaller injection volume of CE compared to HPLC, and the higher sensitivity of ICP-SFMS compared to ICP-QMS, the limits of detection of CE/ICP-QMS are one order of magnitude higher than those of HPLC/ICP-QMS and CE/ICP-SFMS. The advantages of coupled systems with CE are higher separation efficiencies and analysis times which are about 20 % shorter, while the advantages of HPLC coupled systems are the lower limits of detection.

While the arsenic species were extracted almost quantitatively from fish certified reference materials with methanol/water, only less than 1 % of the certified total amounts of arsenic and antimony were eluted from the soil reference material with water or dilute sulphuric acid. Spiking of elemental species to the solid fish and soil reference material led to almost quantitative recovery rates of some species after the extraction procedure while other species were not extracted quantitatively and species transformation took place.

The recovery rates obtained when species were spiked to the extracts or liquids show that HPLC/ICP-QMS as well as CE/ICP-SFMS enable the determination of arsenic, selenium, antimony and tellurium species in these liquids without interfering matrix effects. These results prove that the system developed is suitable for real samples and is an efficient method for the simultaneous determination of species of several elements in different matrices.

9 Literatur

- [1] **Dunemann, L., Begerow, J.:** Kopplungstechniken zur Elementspeziesanalytik. VCH, Weinheim (1995).
- [2] **Holleman, A.F., Wiberg, E.:** Lehrbuch der Anorganischen Chemie. Walter de Gruyter, 101. Aufl., Berlin · New York (1995).
- [3] **Savory, J., Wills, M.R.:** Arsen. In: Merian, E. (Hrsg.): Metalle in der Umwelt: Verteilung, Analytik und biologische Relevanz. Verlag Chemie, Weinheim · Deerfield Beach · Basel (1984).
- [4] **Leonard, A.:** Arsenic. In: Merian, E. (Hrsg.): Metals and their compounds in the environment. VCH, Weinheim · New York · Basel · Cambridge (1991).
- [5] **Sarx, B., Bächmann, K.:** Speciation von As-Verbindungen durch Verflüchtigung aus Festproben. Fresenius J. Anal. Chem. **316** (1983), 621-626.
- [6] **Steiger, M., Naumann, K., Schulz, M., Schwikowski, M., Dannecker, W.:** Quantitative determination of sources in urban aerosols using chemical receptor models. J. Aerosol Sci. **21** (1990), 271-274.
- [7] **McSheehy, S., Szpunar, J.:** Speciation of arsenic in edible algae by bi-dimensional size-exclusion anion exchange HPLC with dual ICP-MS and electrospray MS/MS detection. J. Anal. At. Spectrom. **15** (2000), 79-88.
- [8] **McSheehy, S., Marcinek, M., Chassaigne, H., Szpunar, J.:** Identification of dimethylarsinoyl-riboside derivatives in seaweeds by pneumatically assisted electrospray tandem mass spectrometry. Anal. Chim. Acta **410** (2000), 71-84.
- [9] **Tyson, J.F.:** High-performance, flow-based, sample pre-treatment and introduction procedures for analytical atomic spectrometry. J. Anal. At. Spectrom. **14** (1999), 169-178.
- [10] **Thomas, P., Finnie, J.K., Williams, J.G.:** Feasibility of identification and monitoring of arsenic species in soil and sediment samples by coupled high-performance liquid chromatography - inductively coupled plasma mass spectrometry. J. Anal. At. Spectrom. **12** (1997), 1367-1372.
- [11] **Cullen, W.R., Reimer, K.J.:** Arsenic speciation in the environment. Chem. Rev. **89** (1989), 713-764.
- [12] **Gomez-Ariza, J.L., Sanchez-Rodas, D., Giraldez, I.:** Selective extraction of iron oxide associated arsenic species from sediments for speciation with coupled HPLC-HG-AAS. J. Anal. At. Spectrom. **13** (1998), 1375-1379.
- [13] **Pongratz, R.:** Arsenic speciation in environmental samples of contaminated soil. Sci. Tot. Environm. **224** (1998), 133-141.

- [14] **Hanaoka, K., Dote, Y., Yosida, K., Kaise, T., Kuroiwa, T., Maeda, S.:** Arsenic compounds accumulated in sedimentary microorganisms cultivated in media containing several arsenicals. *Appl. Organomet. Chem.* **10** (1996), 683-688.
- [15] **Hanaoka, K., Gössler, W., Irgolic, K.J., Ueno, S., Kaise, T.:** Occurrence of arsenobetaine and arsenocholine in microsuspended particles. *Chemosphere* **35** (1997), 2463-2469.
- [16] **Schwedt, G.:** Elementspeziesanalytik. *Chemie in unserer Zeit* **31** (1997), 183-189.
- [17] **Rauscher, R., Voigt, J., Wilke, I., Wilke, K.T.:** Chemische Tabellen und Rechentafeln für die analytische Praxis. VEB Deutscher Verlag für Grundstoffindustrie, Leipzig, 7. Aufl. (1982).
- [18] **Smith, R.M., Martell, A.E.:** Critical stability constants. Plenum Press, New York (1982).
- [19] **Braman, R.S., Johnson, D.L., Foreback, C.C., Ammons, J.M., Bricker, J.L.:** Separation and determination of nanogram amounts of inorganic arsenic and methylarsenic compounds. *Anal. Chem.* **49** (1977), 621-625.
- [20] **van Elteren, J.T., Slejkovec, Z.:** Ion-exchange separation of eight arsenic compounds by high-performance liquid chromatography - UV decomposition - hydride generation - atomic fluorescence spectrometry and stability tests for food treatment procedures. *J. Chromatogr. A* **789** (1997), 339-348.
- [21] **Li, F., Goessler, W., Irgolic, K.J.:** Determination of trimethylselenonium iodide, selenomethionine, selenious acid and selenic acid using high-performance liquid chromatography with on-line detection by inductively coupled plasma mass spectrometry or flame atomic absorption spectrometry. *J. Chromatogr. A* **830** (1999), 337-344.
- [22] **Schäfer, S.G., Elsenhans, B., Forth, W., Schümann, K.:** Metalle. In: Marquardt, H., Schäfer, S.G. (Hrsg.): *Lehrbuch der Toxikologie*. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg · Berlin (1997).
- [23] **Chatterjee, A., Das, D., Mandal, B.K., Chowdhury, T., Samanta, G., Chakraborti, D.:** Arsenic in ground water in six districts of West Bengal, India: the biggest arsenic calamity in the world. Part I. Arsenic species in drinking water and urine of affected people. *Analyst* **120** (1995), 643-650.
- [24] **Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe in der DFG:** MAK- und BAT-Werte-Liste. Wiley-VCH, Weinheim (1999).
- [25] **Szinicz, L.:** Chemische Kampfstoffe. In: Marquardt, H., Schäfer, S.G. (Hrsg.): *Lehrbuch der Toxikologie*. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg · Berlin (1997).
- [26] **Marquardt, H.:** Chemische Kanzerogenese. In: Marquardt, H., Schäfer, S.G. (Hrsg.): *Lehrbuch der Toxikologie*. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg · Berlin (1997).

- [27] **Gebel, T.:** Arsenic and antimony: comparative approach on mechanistic toxicology. *Chem.-Biol. Interact.* **107** (1997), 131-144.
- [28] **Luo, Z.D., Zhang, Y.M., Ma, L., Zhang, G.Y., He, X., Wilson, R., Byrd, D.M., Griffiths, J.G., Lai, S., He, L., Grumski, K., Lamm, S.H.:** Chronic arsenicism and cancer in Inner Mongolia - consequences of well-water arsenic levels greater than 50 µg/l. In: Abernathy, C.O., Calderon, R.L., Chappell, W.R. (Hrsg.): *Arsenic – Exposure and health effects*, Chapman & Hall, London (1997).
- [29] **Ollroge, I.:** Grenzwerte, Richtwerte, Empfehlungen. In: Marquardt, H., Schäfer, S.G. (Hrsg.): *Lehrbuch der Toxikologie*. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg · Berlin (1997).
- [30] **Fishbein, L.:** Selenium. In: Merian, E. (Hrsg.): *Metals and their compounds in the environment*. VCH, Weinheim · New York · Basel · Cambridge (1991).
- [31] **Einbrodt, H.J., Michels, S.:** Selen. In: Merian, E. (Hrsg.): *Metalle in der Umwelt: Verteilung, Analytik und biologische Relevanz*. Verlag Chemie, Weinheim · Deerfield Beach · Basel (1984).
- [32] **Casiot, C., Vacchina, V., Chassaigne, H., Szpunar, J., Potin-Gautier, M., Lobinski, R.:** An approach to the identification of selenium species in yeast extracts using pneumatically-assisted electrospray tandem mass spectrometry. *Anal. Commun.* **36** (1999), 77-80.
- [33] **Ge, H., Cai, X.J., Tyson, J.F., Uden, P.C., Denoyer, E.R., Block, E.:** Identification of selenium species in selenium-enriched garlic, onion and broccoli using high-performance ion chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometry detection. *Anal. Commun.* **33** (1996), 279-281.
- [34] **Kotrebai, M., Biringer, M., Tyson, M., Block, J.F., Uden, P.C.:** Identification of the principal selenium compounds in selenium-enriched natural sample extracts by ion-pair liquid chromatography with inductively coupled plasma- and electrospray ionization-mass spectrometric detection. *Anal. Commun.* **36** (1999), 249-252.
- [35] **Barceloux, D.G.:** Selenium. *Clin. Tox* **37** (1999), 145-172.
- [36] **Aono, T., Nakaguchi, Y., Hiraki, K., Nagai, T.:** Determination of seleno-amino acid in natural water samples. *Geochem. J.* **24** (1990), 255-261.
- [37] **Kaim, W., Schwederski, B.:** *Bioanorganische Chemie*. Teubner, Stuttgart (1991).
- [38] **Ip, C., Lisk, D.J.:** Efficacy of cancer prevention by high-selenium garlic is primarily dependent on the action of selenium. *Carcinogenesis* **16** (1995), 2649-2652.
- [39] **Levander, O.A.:** Selenium: biochemical actions, interactions, and some human health implications. In: Prasad, A.S. (Hrsg.): *Clinical, biochemical, and nutritional aspects of trace elements*. Liss, New York (1982).

- [40] **Ip, C., Hayes, C., Budnick, R.M., Ganther, H.E.:** Chemical form of selenium, critical metabolites, and cancer prevention. *Cancer Res.* **51** (1991), 595-600.
- [41] **Ip, C., Ganther, H. E.:** Relationship between the chemical form of selenium and anticarcinogenic activity. In: Wattenberg, L., Lipkin, M., Boone, C.W., Kelloff, G.J. (Hrsg.): *Cancer chemoprevention.* CRC Press, Boca Raton (1992).
- [42] **Sanz Alaejos, M., Romero, C.D.:** Analysis of selenium in body fluids: a review. *Chem. Rev.* **95** (1995), 227-257.
- [43] **Reilly, C.:** *Selenium in food and health.* Blackie, London (1996).
- [44] **Heinz, G.H., Hoffmann, D.J., LeCaptain, L.J.:** Toxicity of seleno-L-methionine, seleno-DL-methionine, high selenium wheat, and selenized yeast to mallard ducklings. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **30** (1996), 93-99.
- [45] **Thomson, C.D.:** Selenium speciation in human body fluids. *Analyst* **123** (1998), 827-831.
- [46] **Szpunar, J.:** Bio-inorganic speciation analysis by hyphenated techniques. *Analyst* **125** (2000), 963-988.
- [47] **Fowler, N.A., Goering, P.L.:** Antimony. In: Merian, E. (Hrsg.): *Metals and their compounds in the environment.* VCH, Weinheim · New York · Basel · Cambridge (1991).
- [48] **Dannecker, W., Schröder, B., Stechmann, H.:** Organic and inorganic substances in highway tunnel exhaust air. *Sci. Total Environ.* **93** (1990), 293-300.
- [49] **Mok, W.M., Wai, C.M.:** Distribution and mobilization of arsenic and antimony species in the Coeur D'Alene River, Idaho. *Environ. Sci. Technol.* **24** (1990), 102-108.
- [50] **Lintschinger, J., Schramel, O., Kettrup, A.:** The analysis of antimony species by using ESI-MS and HPLC-ICP-MS. *Fresenius J. Anal. Chem.* **361** (1998), 96-102.
- [51] **Ulrich, N.:** Speciation of antimony(III), antimony(V) and trimethylstiboxide by ion chromatography with inductively coupled plasma atomic emission spectrometric and mass spectrometric detection. *Anal. Chim. Acta* **359** (1998) 245-253.
- [52] **Winship, K.A.:** Toxicity of antimony and its compounds. *Adv. Drug React. Ac. Pois. Rev.* **6** (1987), 67-90.
- [53] **Einbrodt, H.J., Michels, S.:** Tellur. In: Merian, E. (Hrsg.): *Metalle in der Umwelt: Verteilung, Analytik und biologische Relevanz.* Verlag Chemie, Weinheim · Deerfield Beach · Basel (1984).
- [54] **Guerin, T., Astruc, M., Batel, A., Borsier, M.:** Multielemental speciation of As, Se, Sb and Te by HPLC-ICP-MS. *Talanta* **44** (1997), 2201-2208.

- [55] **Palacios, M.A., Gomez, M., Camara, C., Lopez, M.A.:** Stability studies of arsenate, monomethylarsonate, dimethylarsinate, arsenobetaine and arsenocholine in deionized water, urine and clean-up dry residue from urine samples and determination by liquid chromatography with microwave-assisted oxidation-hydride generation atomic absorption spectrometric detection. *Anal. Chim. Acta* **340** (1997), 209-220.
- [56] **Chana, B.S., Smith, N.J.:** Urinary arsenic speciation by high-performance liquid chromatography / atomic absorption spectrometry for monitoring occupational exposure to inorganic arsenic. *Anal. Chim. Acta* **197** (1987), 177-186.
- [57] **Jokai, Z., Hegoczki, J., Fodor, P.:** Stability and optimization of extraction of four arsenic species. *Microchem. J.* **59** (1998), 117-186.
- [58] **Hall, G.E.M., Pelchat, J.C., Gauthier, G.:** Stability of inorganic arsenic(III) and arsenic(V) in water samples. *J. Anal. At. Spectrom.* **14** (1999), 205-213.
- [59] **Daus, B.,** UFZ Leipzig-Halle GmbH, Leipzig, Persönliche Mitteilung (1999).
- [60] **Feldmann, J., Lai, V.W.M., Cullen, W.R., Ma, M., Lu, X., Le, X.C.:** Sample preparation and storage can change arsenic speciation in human urine. *Clin. Chem.* **45** (1999), 1988-1997.
- [61] **Aggett, J., Kriegman, M.R.:** Preservation of arsenic(III) and arsenic(V) in samples of sediment interstitial water. *Analyst* **112** (1987), 153-157.
- [62] **Cobo, M.G., Palacios, M.A., Camara, C., Reis, F., Quevauviller, Ph.:** Effect of physicochemical parameters on trace inorganic selenium stability. *Anal. Chim. Acta* **286** (1994), 371-379.
- [63] **Munos Olivas, R., Quevauviller, Ph., Donard, O.F.X.:** Long term stability of organic selenium species in aqueous solutions. *Fresenius J. Anal. Chem.* **360** (1998), 512-519.
- [64] **Goessler, W., Kuehnelt, D., Schlagenhaufen, C., Slejkovec, Z., Irgolic, K.J.:** Arsenobetaine and other arsenic compounds in the National Research Council of Canada Certified Reference Materials DORM 1 and DORM 2. *J. Anal. At. Spectrom.* **13** (1998), 183-187.
- [65] **Goessler, W., Maher, W., Irgolic, K.J., Kuehnelt, D., Schlagenhaufen, C., Kaise, T.:** Arsenic compounds in a marine food chain. *Fresenius J. Anal. Chem.* **359** (1997), 434-437.
- [66] **Alberti, J., Rubio, R., Rauret, G.:** Arsenic speciation in marine biological materials by LC-UV-HG-ICP/OES. *Fresenius J. Anal. Chem.* **351** (1995), 415-419.
- [67] **Alberti, J., Rubio, R., Rauret, G.:** Extraction method for arsenic speciation in marine organisms. *Fresenius J. Anal. Chem.* **351** (1995), 420-425.
- [68] **Slejkovec, Z., Byrne, A.R., Smodis, B., Rossbach, M.:** Preliminary studies on arsenic species in some environmental samples. *Fresenius J. Anal. Chem.* **354** (1996), 592-595.

- [69] **Thomas, P., Sniatecki, K.:** Inductively coupled plasma mass spectrometry: Application to the determination of arsenic species. *Fresenius J. Anal. Chem.* **351** (1995), 410-414.
- [70] **El Moll, A., Heimbürger, R., Lagarde, F., Leroy, M.J.F., Maier, E.:** Arsenic speciation in marine organisms: from the analytical methodology to the constitution of reference materials. *Fresenius J. Anal. Chem.* **354** (1996), 550-556.
- [71] **Londesborough, S., Mattusch, J., Wennrich, R.:** Separation of organic and inorganic arsenic species by HPLC-ICP-MS. *Fresenius J. Anal. Chem.* **363** (1999), 577-581.
- [72] **Bird, S.M., Uden, P.C., Tyson, J.F., Block, E., Denoyer, E.:** Speciation of selenoamino acids and organoselenium compounds in selenium-enriched yeast using high-performance liquid chromatography - inductively coupled plasma mass spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.* **12** (1997), 785-788.
- [73] **Casiot, C., Szpunar, J., Lobinsky, R., Potin-Gautier, M.:** Sample preparation and HPLC separation approaches to speciation analysis of selenium in yeast by ICP-MS. *J. Anal. At. Spectrom.* **14** (1999), 645-650.
- [74] **Le, X.C., Li, X.F., Lai, V., Ma, M., Yalcin, S., Feldmann, J.:** Simultaneous speciation of selenium and arsenic using elevated temperature liquid chromatography separation with inductively coupled plasma mass spectrometry detection. *Spectrochim. Acta B* **53** (1998), 899-909.
- [75] **Emteborg, H., Bordin, G., Rodriguez, A.R.:** Speciation of organic and inorganic selenium in a biological certified reference material based on microbore ion-exchange chromatography coupled to inductively coupled plasma atomic emission spectrometry via a direct injection nebulizer or coupled to electrothermal atomic absorption spectrometry. *Analyst* **123** (1998), 245-253.
- [76] **Jackson, B.P., Miller, W.P.:** Arsenic and selenium speciation in coal fly ash extracts by ion chromatography - inductively coupled plasma mass spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.* **13** (1998), 1107-1112.
- [77] **Silberman, D., Harris, W.R.:** Determination of arsenic(III) and arsenic(V) in coal and oil fly ashes. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* **17** (1984), 73-83.
- [78] **Manning, B.A., Martens, D.A.:** Speciation of arsenic(III) and arsenic(V) in sediment extracts by high-performance liquid chromatography - hydride generation atomic absorption spectrophotometry. *Environ. Sci. Technol.* **31** (1997), 171-177.
- [79] **Bissen, M., Frimmel, F.H.:** Speciation of As(III), As(V), MMA and DMA in contaminated soil extracts by HPLC-ICP/MS. *Fresenius J. Anal. Chem.* **367** (2000), 51-55.
- [80] **Jantzen, E., Prange, A., Schaumlöffel, D., Lindemann, T.:** Einsatz und Möglichkeiten von Kopplungstechniken für die Multielementspeziation. 13. ICP-MS Anwendertreffen, 7.-9. September 1997, Geesthacht, Diskussionsvortrag.

- [81] **Feldmann, J., Grümping, R., Hirner, A.V.:** Determination of volatile metal and metalloid compounds in gases from domestic waste deposits with GC/ICP-MS. *Fresenius J. Anal. Chem.* **350** (1994), 228-234.
- [82] **Prange, A., Jantzen, E.:** Determination of organometallic species by gas chromatography inductively coupled plasma mass spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.* **10** (1995), 105-109.
- [83] **Schlegel, D., Mattusch, J., Dittrich, K.:** Speciation of arsenic and selenium compounds by ion chromatography with inductively coupled plasma atomic emission spectrometry detection using the hydride technique. *J. Chromatogr. A* **683** (1994), 261-267.
- [84] **Szpunar, J., Schmitt, V.O., Lobinski, R.:** Rapid speciation of butyltin compounds in sediments and biomaterials by capillary gas chromatography - microwave-induced plasma atomic emission spectrometry after microwave-assisted leaching/digestion. *J. Anal. At. Spectrom.* **11** (1996), 193-199.
- [85] **Gerbersmann, C., Heisterkamp, M., Adams, F.C., Broekaert, J.A.C.:** Two methods for the speciation analysis of mercury in fish involving microwave-assisted digestion and gas chromatography-atomic emission spectrometry. *Anal. Chim. Acta* **350** (1997), 273-285.
- [86] **Kuballa, J., Wilken, R.-D., Jantzen, E., Kwan, K.K., Chau, Y.K.:** Speciation and genotoxicity of butyltin compounds. *Analyst* **120** (1995), 667-673.
- [87] **Bergmann, K., Neidhart, B.:** Speciation of organolead compounds in water samples by GC-AAS after in situ butylation with tetrabutylammonium tetrabutylborate. *Fresenius J. Anal. Chem.* **356** (1996), 57-61.
- [88] **Hintelmann, H., Wilken, R.-D.:** The analysis of organic mercury compounds using liquid chromatography with on-line atomic fluorescence spectrometric detection. *Applied Organomet. Chem.* **7** (1993), 173-180.
- [89] **Bergmann, K., Röhr, U., Neidhart, B.:** Examination of the different procedural steps in the determination of organotin compounds in water samples. *Fresenius J. Anal. Chem.* **349** (1994), 815-819.
- [90] **Nerin, C., Pons, B., Zufiaurre, R.:** Extraction, clean-up and determination of ionic alkyllead compounds in road dust by gas chromatography-mass spectrometry. *Analyst* **120** (1995), 751-754.
- [91] **Schaumlöffel, D., Neidhart, B.:** A FIA-system for As(III) / As(V)-determination with electrochemical hydride generation and AAS-detection. *Fresenius J. Anal. Chem.* **354** (1996), 866-869.
- [92] **Pyell, U., Dworschak, A., Nitschke, F., Neidhart, B.:** Flow injection electrochemical hydride generation atomic absorption spectrometry (FI-EHG-AAS) as a simple device for the speciation of inorganic arsenic and selenium. *Fresenius J. Anal. Chem.* **363** (1999), 495-498.

- [93] **Houk, R.S.:** Mass spectrometry of inductively coupled plasmas. *Anal. Chem.* **58** (1986), 97A-105A.
- [94] **Kuß, H.-M.:** Spurenelementbestimmung mit der induktiv gekoppelten Plasma-Massenspektrometrie - ICP-MS. *Chemie in Labor und Biotech.* **42** (1991), 130-134.
- [95] **Vandecasteele, C., Block, C.B.:** Modern methods for trace element determination. John Wiley & Sons, Chichester (1993).
- [96] **Krause, P.:** Entwicklung von Anwendungsmöglichkeiten der ICP-MS und der Laser-ICP-MS in der Umweltanalytik. Dissertation, FB Chemie, Universität Hamburg. In: Dannecker, W. (Hrsg): Schriftenreihe Angewandte Analytik, Bd. 18, Institut für Anorganische und Angewandte Chemie der Universität Hamburg (1993).
- [97] **Hamester, M.:** Minimierung von Störeinflüssen bei der Anwendung der ICP-Atommassenspektrometrie in der Spurenanalytik. Dissertation, FB Chemie, Universität Hamburg. In: Dannecker, W. (Hrsg): Schriftenreihe Angewandte Analytik, Bd. 19, Institut für Anorganische und Angewandte Chemie der Universität Hamburg (1993).
- [98] **Ulrich, A.:** Elektrothermische Verflüchtigungseinheit zur Analyse flüssiger und fester Stoffe mit der ICP-MS. Dissertation, FB Chemie, Universität Hamburg. In: Dannecker, W. (Hrsg): Schriftenreihe Angewandte Analytik, Bd. 25, Institut für Anorganische und Angewandte Chemie der Universität Hamburg (1994).
- [99] **Kerl, W.:** Ultraspuren- und Isotopenanalyse langlebiger Radionuklide mittels doppelfokussierender Sektorfeld-ICP-Massenspektrometrie. Dissertation, FB Chemie, Universität Hamburg. In: Dannecker, W. (Hrsg): Schriftenreihe Angewandte Analytik, Bd. 32, Institut für Anorganische und Angewandte Chemie der Universität Hamburg (1998).
- [100] **Szpunar-Lobinska, J., Witte, C., Lobinski, R., Adams, F.C.:** Separation techniques in speciation analysis for organometallic species. *Fresenius J. Anal. Chem.* **351** (1995), 351-377.
- [101] **Sutton, K., Sutton, R.M.C., Caruso, J.A.:** Inductively coupled plasma mass spectrometric detection for chromatography and capillary electrophoresis. *J Chromatogr. A* **789** (1997), 85-126.
- [102] **Feldmann, J., Hirner, A.V.:** Occurrence of volatile metal and metalloid species in landfill and sewage gases. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* **60** (1995), 339-359.
- [103] **Feldmann, J., Riechmann, T., Hirner, A.V.:** Determination of organometallics in intra-oral air by LT-GC/ICP-MS. *Fresenius J. Anal. Chem.* **354** (1996), 620-623.
- [104] **Krupp, E.M., Grümping, R., Furchtbar, U.R.R., Hirner, A.V.:** Speciation of metals and metalloids in sediments with LTGC/ICP-MS. *Fresenius J. Anal. Chem.* **354** (1996), 546-549.

- [105] **Engelhardt, H., Beck, W., Schmitt, T.:** Kapillarelektrophorese - Methoden und Möglichkeiten. Vieweg, Braunschweig (1994).
- [106] **Landers, J.P.:** Handbook of capillary electrophoresis. CRC Press, Boca Raton · New York · London · Tokyo, 2. Aufl. (1997).
- [107] **Schaumlöffel, D., Lindemann, T., Prange, A., Neidhart, B.:** Optimierung der Parameter zur Trennung und Bestimmung von Metallspezies mit der Kapillarelektrophorese. Analytica Conference, GDCh, München, 21.-24. April 1998, Poster P 133.
- [108] **Olesik, J.W., Kinzer, J.A., Olesik, S.V.:** Capillary electrophoresis inductively coupled plasma spectrometry for rapid elemental speciation. *Anal. Chem.* **67** (1995) 1-12.
- [109] **Lu, Q., Bird, S.M., Barnes, R.:** Interface for capillary electrophoresis and inductively coupled plasma mass spectrometry. *Anal. Chem.* **67** (1995), 2949-2956.
- [110] **Michalke, B., Schramel, P.:** Hyphenation of capillary electrophoresis to inductively coupled plasma mass spectrometry as an element-specific detection method for metal speciation. *J. Chromatogr. A* **750** (1996), 51-62.
- [111] **Lustig, S., Michalke, B., Beck, W., Schramel, P.:** Platinum speciation with hyphenated techniques: high performance liquid chromatography and capillary electrophoresis on-line coupled to an inductively coupled plasma-mass spectrometer - application to aqueous extracts from platinum treated soil. *Fresenius J. Anal. Chem.* **360** (1998), 18-25.
- [112] **Michalke, B., Schramel, P.:** Coupling of capillary electrophoresis with ICP-MS for speciation investigations. *Fresenius J. Anal. Chem.* **357** (1997), 594-599.
- [113] **Michalke, B., Lustig, S., Schramel, P.:** Analysis for the stability of platinum-containing species in soil samples using capillary electrophoresis interfaced on-line with inductively coupled plasma mass spectrometry. *Electrophoresis* **18** (1997), 196-201.
- [114] **Liu, Y., Lopez-Avila, V., Zhu, J.J., Wiederin, D.R., Beckert, W.F.:** Capillary electrophoresis coupled on-line with inductively coupled plasma mass spectrometry for elemental speciation. *Anal. Chem.* **67** (1995), 2020-2025.
- [115] **Lu, Q., Barnes, R.M.:** Evaluation of an ultrasonic nebulizer interface for capillary electrophoresis and inductively coupled plasma mass spectrometry. *Microchem. J.* **54** (1996), 129-143.
- [116] **Kirlew, P.W., Castellano, M.T.M., Caruso, J.A.:** An evaluation of ultrasonic nebulizers as interfaces for capillary electrophoresis of inorganic anions and cations with inductively coupled plasma mass spectrometry. *Spectrochim. Acta B* **53** (1998), 221-237.
- [117] **Taylor, K.A., Sharp, B.L., Lewis, J., Crews, H.M.:** Design and characterisation of a microconcentric nebuliser interface for capillary electrophoresis - inductively coupled plasma mass spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.* **13** (1998), 1095-1100.

- [118] **Van Holderbeke, M., Zhao, Y., Vanhaecke, F., Moens, L., Dams, R., Sandra, P.:** Speciation of six arsenic compounds using capillary electrophoresis - inductively coupled plasma mass spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.* **14** (1999), 229-234.
- [119] **Schaumlöffel, D., Prange, A.:** A new interface for combining capillary electrophoresis with inductively coupled plasma-mass spectrometry. *Fresenius J. Anal. Chem.* **364** (1999), 452-456.
- [120] **Prange, A., Schaumlöffel, D.:** Determination of element species at trace levels using capillary electrophoresis-inductively coupled plasma sector field mass spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.* **14** (1999), 1329-1332.
- [121] **Skoog, D.A., Leary, J.J.:** *Instrumentelle Analytik - Grundlagen, Geräte, Anwendungen* Springer, Berlin · Heidelberg (1996).
- [122] **Unger, K.K., Weber, E.:** *Handbuch der HPLC*. GIT, Darmstadt, 2. Aufl. (1995).
- [123] **Meyer, V.R.:** *Fallstricke und Fehlerquellen der HPLC in Bildern*. Hütig, Heidelberg (1996).
- [124] **Huang, C.-W., Jiang, S.-J.:** Speciation of mercury by reversed-phase liquid chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometric detection. *J. Anal. At. Spectrom.* **8** (1993), 681-686.
- [125] **Jakubowski, N., Thomas, C., Stuewer, D., Dettlaff, I., Schram, J.:** Speciation of inorganic selenium by inductively coupled plasma mass spectrometry with hydraulic high pressure nebulization. *J. Anal. At. Spectrom.* **11** (1996), 1023-1029.
- [126] **Shum, S.C.K., Nedderson, R., Houk, R.S.:** Elemental speciation by liquid chromatography - inductively coupled plasma mass spectrometry with direct injection nebulization. *Analyst* **117** (1992), 577-582.
- [127] **Woller, A., Garraud, H., Boisson, J., Dorthe A.M., Fodor, P., Donard, O.F.X.:** Simultaneous speciation of redox species of arsenic and selenium using anion-exchange microbore column coupled with a microconcentric nebulizer and an inductively coupled plasma mass spectrometer as detector. *J. Anal. At. Spectrom.* **13** (1998), 141-149.
- [128] **Pergantis, S.A., Winnik, W., Betowski, D.:** Determination of ten organoarsenic compounds using microbore high-performance liquid chromatography coupled with electrospray mass spectrometry-mass spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.* **12** (1997), 531-536.
- [129] **Rottmann, L., Heumann, K.G.:** Development of an on-line isotope dilution technique with HPLC/ICP-MS for the accurate determination of elemental species. *Fresenius J. Anal. Chem.* **350** (1994), 221-227.
- [130] **Vogl, J., Heumann, K.G.:** Determination of heavy metal complexes with humic substances by HPLC/ICP-MS coupling using on-line isotope dilution technique. *Fresenius J. Anal. Chem.* **359** (1997), 438-441.

- [131] **Rottmann, L., Heumann, K.G.:** Determination of heavy metal interactions with dissolved organic materials in natural aquatic systems by coupling a high-performance liquid chromatography system with an inductively coupled plasma mass spectrometer. *Anal. Chem.* **66** (1994), 3709-3715.
- [132] **Vogl, J., Heumann, K.G.:** Development of an ICP-IDMS method for dissolved organic carbon determinations and its application to chromatographic fractions of heavy metal complexes with humic substances. *Anal. Chem.* **70** (1998), 2038-2043.
- [133] **Heumann, K.G., Rottmann, L., Vogl, J.:** Elemental speciation with liquid chromatography-inductively coupled plasma isotope dilution mass spectrometry. *J. Anal. Atom. Spectrom.* **9** (1994), 1351-1355.
- [134] **Kerl, W., Becker, J.S., Dannecker, W., Dietze, H.J.:** Application of on-line HPLC-ICP-MS for the determination of the nuclide abundances of lanthanides produced via spallation reactions in an irradiated tantalum target of a spallation neutron source. *Fresenius J. Anal. Chem.* **362** (1998), 433-439.
- [135] **Bergdahl, I.A., Schütz, A., Grubb, A.:** Application of liquid chromatography - inductively coupled plasma mass spectrometry to the study of protein - bound lead in human erythrocytes. *J. Anal. At. Spectrom.* **11** (1996), 735-738.
- [136] **Shum, S.C.K., Houk, R.S.:** Elemental speciation by anion exchange and size exclusion chromatography with detection by inductively coupled plasma mass spectrometry with direct injection nebulization. *Anal. Chem.* **65** (1993), 2972-2976.
- [137] **Owen, L.M.W., Rauscher, A.M., Fairweather-Tait, S.J., Crews, H.M.:** Use of HPLC with inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) for trace element speciation studies in biological materials. *Transact. Biochem. Society* **24** (1996), 947-952.
- [138] **Owen, L.M.W., Crews, H.M., Hutton, R.C., Walsh, A.:** Preliminary study of metals in proteins by high-performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry using multi-element time-resolved analysis. *Analyst* **117** (1992), 649-655.
- [139] **Suzuki, K., T.:** Simultaneous speciation of endogenous and exogenous elements by HPLC/ICP-MS with enriched stable isotopes. *Tohoku J. Exp. Med.* **178** (1996), 27-35.
- [140] **Cairns, W.R.L., Ebdon, L., Hill, S.J.:** Development of an HPLC-ICP-MS method for the determination of platinum species from new anti-tumor drugs. *Analytical Proceedings Including Anal. Commun.* **31** (1994), 295-297.
- [141] **Heudi, O., Cailleux, A., Allain, P.:** Interactions between cisplatin derivatives and mobile phase during chromatographic separation. *Chromatographia* **44** (1997), 19-24.
- [142] **Zhao, Z., Tepperman, K., Dorsey, J.G., Elder, R.C.:** Determination of cisplatin and some possible metabolites by ion-pairing chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometric detection. *J. Chromatogr.* **615** (1993), 83-89.

- [143] **Cairns, W.R.L., Ebdon, L., Hill, S.J.:** A high performance liquid chromatography - inductively coupled plasma - mass spectrometry interface employing desolvation for speciation studies of platinum in chemotherapy drugs. *Fresenius J. Anal. Chem.* **355** (1996), 202-208.
- [144] **Zhao, Z., Jones, W.B., Tepperman, K., Dorsey, J.G., Elder, R.C.:** Determination of gold-based antiarthritis drugs and their metabolites in urine by reversed-phase ion-pair chromatography with ICP-MS detection. *J. Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **10** (1992), 279-287.
- [145] **Elder, R.C., Jones, W.B., Tepperman, K.:** Element-specific detection of metallodrugs and their metabolites. High-performance liquid chromatography - inductively coupled plasma mass spectrometry. In: Uden, P.C. (Hrsg.): *Element-specific chromatographic detection by atomic emission spectroscopy. ACS Symposium Series* **479** (1992), 309-325.
- [146] **Elder, R.C., Tepperman, K., Tarver, M.L., Matz, S., Jones, W.B., Hess, E.V.:** Chromatography with metal specific detection of urine samples from an arthritis patient on auranofin therapy. *J. Liq. Chromatogr.* **13** (1990), 1191-1202.
- [147] **Matz, S.G., Elder, R.C., Tepperman, K.:** Liquid chromatography with an inductively coupled plasma mass spectrometric detector for simultaneous determination of gold drug metabolites and related metals in human blood. *J. Anal. At. Spectrom.* **4** (1989), 767-771.
- [148] **Lindemann, T., Schaumlöffel, D., Peti, W., Prange, A., Neidhart, B.:** HPLC/ICP-MS-Kopplung zur Untersuchung neuer tumorhemmender Ruthenium-Komplexe. *Analytica Conference, GDCh, München, 21.-24. April 1998, Poster P 70.*
- [149] **Szpunar, J., Makarov, A., Pieper, T., Keppler, B.K., Lobinski, R.:** Investigation of metallodrug-protein interactions by size-exclusion chromatography coupled with inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). *Anal. Chim. Acta* **387** (1999), 135-144.
- [150] **Feldmann, J.:** Ion chromatography coupled with inductively-coupled argon plasma mass spectrometry: multielement speciation as well as on-line matrix separation technique. *Anal. Commun.* **33** (1996), 11-13.
- [151] **Guerin, T., Astruc, A., Astruc, M., Batel, A., Borsier, M.:** Chromatographic ion-exchange simultaneous separation of arsenic and selenium species with inductively coupled plasma-mass spectrometry on-line detection. *J. Chromatogr. Science* **35** (1997), 213-220.
- [152] **Lindemann, T., Prange, A., Dannecker, W., Neidhart, B.:** Simultaneous determination of arsenic, selenium and antimony species using HPLC/ICP-MS. *Fresenius J. Anal. Chem.* **364** (1999), 462-466.

- [153] **Saverwyns, S., Zhang, X., Vanhaecke, F., Cornelis, R., Moens, L., Dams, R.:** Speciation of six arsenic compounds using high-performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry with sample introduction by thermospray nebulization. *J. Anal. At. Spectrom.* **12** (1997), 1047-1052.
- [154] **Sheppard, B.S., Caruso, J.A., Heitkemper, D.T., Wolnik, K.A.:** Arsenic speciation by ion chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometric detection. *Analyst* **117** (1992), 971-975.
- [155] **Magnuson, M.L., Creed, J.T., Brockhoff, C.A.:** Speciation of arsenic compounds by ion chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometry detection utilizing hydride generation with a membrane separator. *J. Anal. At. Spectrom.* **11** (1996), 893-898.
- [156] **Ding, H., Wang, J., Dorsey, J.G., Caruso, J.A.:** Arsenic speciation by micellar liquid chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometric detection. *J. Chromatogr. A* **694** (1995), 425-431.
- [157] **Beauchemin, D., Siu, K.W.M., McLaren, J.W., Berman, S.S.:** Determination of arsenic species by high-performance liquid chromatography - inductively coupled plasma mass spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.* **4** (1989), 285-289.
- [158] **Pergantis, S.A., Heithmar, E.M., Hinnert, T.A.:** Speciation of arsenic animal feed additives by microbore high-performance liquid chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometry. *Analyst* **122** (1997), 1063-1068.
- [159] **Demesmay, C., Olle, M., Porthault, M.:** Arsenic speciation by coupling high-performance liquid chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometry. *Fresenius J. Anal. Chem.* **348** (1994), 205-210.
- [160] **Thomas, P., Sniatecki, K.:** Determination of trace amounts of arsenic species in natural waters by high-performance liquid chromatography - inductively coupled plasma mass spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.* **10** (1995), 615-618.
- [161] **Larsen, E.H.:** Speciation of dimethylarsinyl-riboside derivatives (arsenosugars) in marine reference materials by HPLC-ICP-MS. *Fresenius J. Anal. Chem.* **352** (1995), 582-588.
- [162] **Pedersen, G.A., Larsen, E.H.:** Speciation of four selenium compounds using high performance liquid chromatography with on-line detection by inductively coupled plasma mass spectrometry or flame atomic absorption spectrometry. *Fresenius J. Anal. Chem.* **358** (1997), 591-598.
- [163] **Lindemann, T., Prange, A., Dannecker, W., Neidhart, B.:** Bestimmung von Arsen-, Selen-, Antimon- und Tellurspezies in Urin und Fischextrakten mittels HPLC/ICP-MS. 15. ICP-MS Anwendertreffen, Dresden, 19.-21. September 1999, Diskussionsvortrag DV 9.

- [164] **Crews, H.M., Clarke, P.A., Lewis, D.J., Owen, L.M., Strutt, P.R., Izquierdo, A.:** Investigation of selenium speciation in in-vitro gastrointestinal extracts of cooked cod by high-performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry and electro spray mass spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.* **11** (1996), 1177-1182.
- [165] **Wang, L., May, S.W., Browner, R.F.:** Low-flow interface for liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry speciation using an oscillating capillary nebulizer. *J. Anal. At. Spectrom.* **11** (1996), 1137-1146.
- [166] **Munos Olivas, R.M., Donard, O.F.X., Gilon, N., Potin-Gautier, M.:** Speciation of organic selenium compounds by high-performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry in natural samples. *J. Anal. At. Spectrom.* **11** (1996), 1171-1176.
- [167] **Lintschinger, J., Koch, I., Serves, S., Feldmann, J., Cullen, W.R.:** Determination of antimony species with high-performance liquid chromatography using element specific detection. *Fresenius J. Anal. Chem.* **359** (1997), 484-491.
- [168] **Smichowski, P., Madrid, Y., De La Calle Guntinas, M.B., Camara, C.:** Separation and determination of antimony(III) and antimony(V) species by high-performance liquid chromatography with hydride generation atomic absorption spectrometric and inductively coupled plasma mass spectrometric detection. *J. Anal. At. Spectrom.* **10** (1995), 815-821.
- [169] **Zhang, X., Cornelis, R., Mees, L.:** Speciation of antimony(III) and antimony(V) species by using high-performance liquid chromatography coupled to hydride generation atomic absorption spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.* **13** (1998), 205-207.
- [170] **Zoorob, G.K., McKiernan, J.W., Caruso, J.A.:** ICP-MS for elemental speciation studies. *Mikrochim. Acta* **128** (1998), 145-168.
- [171] **Schaumlöffel, D., Prange, A.:** Patent Nr. 198 41 288.6 (1998).
- [172] **Otto, M.:** Chemometrie. VCH, Weinheim (1997).
- [173] **Draft International Harmonisation of Pharmacopoeias:** Text on validation of analytical procedures. *Pharmaeuropa* **5** (1993), 341.
- [174] **DIN 32645.** Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze. Beuth, Berlin (1994).
- [175] **Fleming, J., Albus, H., Neidhart, B., Wegscheider, W.:** Glossary of analytical terms (VII). *Accred. Qual. Assur.* **2** (1997), 51-52.
- [176] **Branch, S., Ebdon, L., O'Neill, P.:** Determination of arsenic species in fish by directly coupled high-performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.* **9** (1994) 33-37.
- [177] **Zheng, J., Goessler, W., Kosmus, W.:** Speciation of arsenic compounds by coupling high-performance liquid chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometry. *Mikrochim. Acta* **130** (1998) 71-79.

- [178] **Lindemann, T., Prange, A., Dannecker, W., Neidhart, B.:** Stability studies of arsenic, selenium, antimony and tellurium species in water, urine, fish and soil extracts using HPLC/ICP-MS. *Fresenius J. Anal. Chem.* Im Druck (2000).
- [179] **Lindemann, T., Prange, A., Dannecker, W., Neidhart, B.:** Simultane Bestimmung von Arsen-, Selen- und Antimonspezies mit der HPLC/ICP-MS. 4. Symposium Massenspektrometrische Verfahren der Elementspurenanalyse zusammen mit dem 14. ICP-MS Anwendertreffen, Mainz, 28.9.-1.10. 1998, Diskussionsvortrag DV16.
- [180] **Lindemann, T., Prange, A., Dannecker, W., Neidhart, B.:** Speziation von Arsen, Selen, Antimon und Tellur mittels HPLC/ICP-MS. Colloquium Analytische Atomspektroskopie, Konstanz, 14.-19. März 1999, Poster DI-03.
- [181] **Lindemann, T., Prange, A., Dannecker, W., Neidhart, B.:** HPLC/ICP-MS zur simultanen Bestimmung von Arsen-, Selen-, Antimon- und Tellurspezies. ANAKON, GDCh, Konstanz, 7.-10. April 1999, Poster S 36.
- [182] **Lindemann, T., Prange, A., Dannecker, W., Neidhart, B.:** Determination of arsenic, selenium, antimony and tellurium species in urine and extracts of soils, sediments and fish by HPLC/ICP-MS. Winter Conference on Plasma Spectrochemistry, ICP Information Newsletter Inc., Fort Lauderdale, Florida, 10.-15. Januar 2000, Poster TP 50.
- [183] **ISO 3534-1.** Statistics, vocabulary and symbols; Part 1: Probability and General Statistical Terms. Beuth, Berlin · Wien · Zürich (1993).
- [184] **Community Bureau of Reference – BCR:** Certificate of analysis, BCR CRM 627, Brüssel (1998).
- [185] **National Research Council Canada:** Certified Reference Materials for Environmental Analyses, Ottawa (1997).
- [186] **National Institute of Standards & Technology:** Certificate of analysis, Standard Reference Material 2670, Gaithersburg (1994).
- [187] **Goessler, W., Kuehnelt, D., Irgolic, K.J.:** Determination of arsenic compounds in human urine by HPLC-ICP-MS. In: Abernathy, C.O., Calderon, R.L., Chappell, W.R. (Hrsg.): Arsenic – Exposure and health effects. Chapman & Hall, London (1997).
- [188] **Ritsema, R., Dukan, L., Lavarro, T.R., van Leeuwen, W., Oliveira, N., Wolfs, P., Lebret, E.:** Speciation of arsenic compounds in urine by LC-ICP MS. *Appl. Organometal. Chem.* **12** (1998), 591-599.
- [189] **Tsalev, D.L., Sperling, M., Welz, B.:** Speciation determination of arsenic in urine by high-performance liquid chromatography – hydride generation atomic absorption spectrometry with on-line ultraviolet photooxidation. *Analyst* **123** (1998), 1703-1710.

- [190] **Heitkemper, D., Creed, J., Caruso, J., Fricke, F.:** Speciation of arsenic in urine using high-performance liquid chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometric detection. *J. Anal. At. Spectrom.* **4** (1989), 279-284.
- [191] **Crecelius, E., Yager, J.:** Intercomparison of analytical methods for arsenic speciation in human urine. *Environmental Health Perspectives* **105** (1997), 650-653.
- [192] **National Institute of Standards & Technology:** Certificate of analysis, Standard Reference Material 2710, Gaithersburg (1997).
- [193] **DIN 38414 Teil 4.** Schlamm und Sedimente (Gruppe S), Bestimmung der Eluierbarkeit mit Wasser (S4). In:
Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung. Verlag Chemie, Weinheim (1984).
- [194] **DIN EN ISO 9000-1.** Normen zum Qualitätsmanagement und zur Qualitätssicherung/QM-Darlegung - Teil 1: Leitfaden zur Auswahl und Anwendung. Beuth, Berlin (1994).
- [195] **DIN EN ISO 9001.** Qualitätsmanagementsysteme - Modell zur Qualitätssicherung/QM-Darlegung in Design/Entwicklung, Produktion, Montage und Wartung. Beuth, Berlin (1994).
- [196] **DIN 58936-1.** Qualitätssicherung in der Laboratoriumsmedizin; Grundbegriffe. Beuth, Berlin (1989).
- [197] **Schwedt, G.:** Analytische Chemie. Grundlagen, Methoden und Praxis. Georg Thieme, Stuttgart · New York (1995).
- [198] **Fleming, J., Albus, H., Neidhart, B., Wegscheider, W.:** Glossary of analytical terms (II). *Accred. Qual. Assur.* **1** (1996), 87-88.

10 Anhang

10.1 Chemikalien

Ammoniak-Lösung, 25 %, suprapur[®], Fa. MERCK, Darmstadt
Ammoniumhydrogencarbonat, > 99,5 %, Fa. FLUKA, Deisenhofen
Argon 4.6 (99,996 %), Fa. MESSER GRIESHEIM, Krefeld
Arsenobetain, Fa. ARGUS CHEMICALS, Vernio, Italien
Arsentrioxid, p.a., Fa. MERCK, Darmstadt
As(V)-Standardlösung, 1000 ±2 mg As/L, 0,5 mol HNO₃/L, Fa. MERCK, Darmstadt
di-Natrium-ethylendiamintetraacetat-dihydrat, p.a., Fa. MERCK, Darmstadt
di-Natrium-monomethylarsonat-hexahydrat, Fa. ARGUS CHEMICALS, Vernio, Italien
Kaliumantimonat, > 98 %, Fa. ALFA, Karlsruhe
Kalium-antimontartrat-hemihydrat, > 99 %, Fa. MERCK, Darmstadt
Kalium-hexahydroxyantimonat, > 99 %, Fa. RIEDEL DE HAEN, Deisenhofen
L(+)-Weinsäure, p.a., Fa. MERCK, Darmstadt
Malonsäure, > 99 %, Fa. MERCK, Darmstadt
Natrium-dimethylarsinat-trihydrat, zur Synthese, Fa. MERCK, Darmstadt
Natriumhydroxid, suprapur[®], Fa. MERCK, Darmstadt
Natriumselenat-decahydrat, > 98 %, Fa. SIGMA-ALDRICH, Seelze
NIST SRM 2670e, National Institute of Standards & Technology, Gaithersburg, MD, USA
NIST SRM 2670n, National Institute of Standards & Technology, Gaithersburg, MD, USA
NIST SRM 2710, National Institute of Standards & Technology, Gaithersburg, MD, USA
NRC DORM-2, National Research Council Canada, Halifax, Canada
Phenylarsonsäure, p.a., Fa. MERCK, Darmstadt
Phthalsäure, p.a., Fa. MERCK, Darmstadt
Salzsäure, 30 %, suprapur[®], Fa. MERCK, Darmstadt
Sb(III)-Standardlösung, SbCl₃, 1000 ±2 mg Sb/L, 5 mol HCl/L, Fa. MERCK, Darmstadt
Se(IV)-Standardlösung, 1000 ±2 mg Se/L, 0,5 mol HNO₃/L, Fa. MERCK, Darmstadt
Seleno-L-methionin, Fa. SIGMA-ALDRICH, Seelze
Tellursäure, > 99 %, Fa. FLUKA, Deisenhofen
Wasser, 18 MΩ * cm, aus einer Deionisierungs-Anlage der Fa. BARNSTEAD, Boston, MA, USA

10.2 Herstellung von Lösungen

Ammoniumhydrogencarbonat-Lösung

3,95 g Ammoniumhydrogencarbonat wurden in 500 mL Wasser gelöst. Die Lösung enthält Ammoniumhydrogencarbonat der Konzentration 100 mmol/L.

Arsenobetain-Standardlösung

119 mg Arsenobetain, $(\text{CH}_3)_3\text{AsCH}_2\text{COO}$, wurden in 50 mL Wasser gelöst. Die Stammlösung enthält Arsenobetain der Konzentration 1,0 g/L.

As(III)-Standardlösung

132 mg Arsentrioxid, As_2O_3 , wurden in 4 mL Natronlauge (20 %, m/v) gelöst. Nach der Neutralisation mit Salzsäure (6 mol/L) wurde mit Wasser auf 100 mL aufgefüllt. Die Stammlösung enthält As(III) der Konzentration 1,0 g/L.

DMA-Standardlösung

148 mg Natrium-dimethylarsinat-trihydrat, $(\text{CH}_3)_2\text{AsOONa} \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$, wurden in 50 mL Wasser gelöst. Die Stammlösung enthält DMA der Konzentration 1,0 g/L.

MMA-Standardlösung

195 mg di-Natrium-monomethylarsonat-hexahydrat, $\text{CH}_3\text{AsO}_3\text{Na}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$, wurden in 50 mL Wasser gelöst. Die Stammlösung enthält MMA der Konzentration 1,0 g/L.

Mobile Phase A

20 mL der Ammoniumhydrogencarbonat-Lösung (100 mmol/L) und 22 mL der Weinsäure-Lösung (100 mmol/L) wurden auf 1 L aufgefüllt. Mit Ammoniak-Lösung (2,5 %) wurde der pH-Wert auf 8,2 eingestellt. Die Lösung enthält 2 mmol Carbonat-Ionen/L und 2,2 mmol Tartrat-Ionen/L.

Mobile Phase B

20 mL der Ammoniumhydrogencarbonat-Lösung (100 mmol/L) und 450 mL der Weinsäure-Lösung (100 mmol/L) wurden auf 1 L aufgefüllt. Mit Ammoniak-Lösung (25 % und 2,5 %) wurde der pH-Wert auf 8,2 eingestellt. Die Lösung enthält 2 mmol Carbonat-Ionen/L und 45 mmol Tartrat-Ionen/L.

PAA-Standardlösung

135 mg Phenylarsonsäure, $\text{C}_6\text{H}_5\text{AsO}(\text{OH})_2$, wurden in 50 mL Wasser gelöst. Die Stammlösung enthält PAA der Konzentration 1,0 g/L.

Sb(V)-Standardlösung

108 mg Kaliumhexahydroxyantimonat, KSb(OH)_6 , wurden in 50 mL Wasser gelöst. Die Stammlösung enthält Sb(V) der Konzentration 1,0 g/L.

Se(VI)-Standardlösung

234 mg Natriumselenat-decahydrat, $\text{Na}_2\text{SeO}_4 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$, wurden in 50 mL Wasser gelöst. Die Stammlösung enthält Se(VI) der Konzentration 1 g/L.

Selenomethionin-Standardlösung

12 mg Selenomethionin, $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{NO}_2\text{Se}$, wurden in 50 mL Wasser gelöst. Die Stammlösung enthält Selenomethionin der Konzentration 100 mg/L.

Te(VI)-Standardlösung

90 mg Tellursäure, Te(OH)_6 , wurden in 50 mL Wasser gelöst. Die Stammlösung enthält Te(VI) der Konzentration 1,0 g/L.

Weinsäure-Lösung

7,50 g L(+)-Weinsäure wurden in 500 mL Wasser gelöst. Die Lösung enthält Weinsäure der Konzentration 100 mmol/L.

10.3 Geräte

HPLC-Pumpe	„Waters 626“ der Fa. WATERS, Milford, MA, USA, Niederdruckgradientensystem für bis zu 4 Lösungen, mit Kontrolleinheit „600 S Controller“ (WATERS)
Lösungsmittelentgaser	„Waters In-Line Degasser“ der Fa. WATERS
Injektionsventil	„Rheodyne 9725I“ der Fa. RHEODYNE, CA, USA
Stationäre Phasen	„Chromspher 5“, 400 x 3 mm (Umkehrphase), Fa. CHROMPACK, Middelburg, Niederlande „IonPak AS 14“ und „IonPak AS 4A-SC“ (Anionenaustausch- Säule) der Fa. DIONEX, Sunnyvale, CA, USA „IC-PAK Anion Column“ der Fa. WATERS
ICP-QMS	Elan 5000 der Fa. PERKIN-ELMER SCIEX, Norwalk, CT, USA
ICP-SFMS	ELEMENT der Fa. FINNIGAN MAT, Bremen mit GuardElectrode [®]
„Cross-Flow“-Zerstäuber	GemTip [®] der Fa. PERKIN-ELMER SCIEX
Kapillare aus Polytetrafluorethylen	15 cm lang, 0,3 mm innerer Durchmesser, 1,6 mm äußerer Durchmesser, Fa. BESTA, Wilhelmsfeld

10.4 Probenvorbereitungen

Fischproben

1 g der Probe wurde mit 3,5 mL einer Mischung aus Methanol und Wasser (50/50, v/v) im Ultraschallbad (20 min) extrahiert. Nachfolgend wurde zentrifugiert (25 min mit 5400 U/min, Rotorradius: 16 cm, entsprechend 5200 g) und der Extraktionsschritt zweimal wiederholt. Da der Methanolgehalt des Extraktes eine Auftrennung der Spezies über die HPLC-Säule stört, wurde aus den vereinigten Extrakten am Rotationsverdampfer bei 30 °C das Lösungsmittel entfernt. Nach einer Aufnahme des Rückstandes in 10 mL deionisiertem Wasser wurde die Lösung filtriert (PTFE-Membran, 25 mm Durchmesser, 0,45 µm Porengröße, Fa. SUPELCO, Bellefonte, PA, USA).

Urinproben

Die Urinproben wurden verdünnt (1+9) und filtriert (PTFE-Membran, 25 mm Durchmesser, 0,45 µm Porengröße, Fa. SUPELCO). Die entstehenden Filtrate konnten direkt mittels HPLC/ICP-QMS und CE/ICP-SFMS analysiert werden.

Bodenproben

Bodenproben wurden sowohl in Anlehnung an DIN 38414, Teil 4 [193] mit Wasser als auch mit verdünnter Schwefelsäure (0,01 mol/L) eluiert. Um jedoch Speziesumwandlungen während einer 24-stündigen Elution zu vermeiden, wurde der lösliche Anteil der Spezies in 1 g Boden durch dreimalige Elution mit je 3 mL Eluens im Ultraschallbad (je 20 min) mit nachfolgender Zentrifugation (25 min mit 5400 U/min, Rotorradius: 16 cm, entsprechend 5200 g) gelöst. Die vereinigten Überstände wurden auf 10 mL aufgefüllt und filtriert (PTFE-Membran, 25 mm Durchmesser, 0,45 µm Porengröße, Fa. SUPELCO). Um Huminstoffe abzutrennen, wurden die Proben nach der Filtration einem Ultrafiltrationsschritt unterworfen, indem sie durch eine Ultrafiltrationsmembran („HV3/T“ aus Polyacrylnitril, 90 % Abscheidung bei 20 kD, 100 % Abscheidung bei 95 kD, bei GKSS hergestellt) gepresst wurden. Um die schwefelsauren Eluate mittels CE/ICP-SFMS zu analysieren, wurden sie mit wässriger Ammoniak-Lösung neutralisiert, um Veränderungen der Migrationszeiten zu vermeiden.

10.5 Gefahrenhinweise und Sicherheitsratschläge

Ammoniak-Lösung, 25 %

Ätzend, umweltgefährlich

- R34: Verursacht Verätzungen.
- R50: Sehr giftig für Wasserorganismen.
- S26: Bei Berührung mit den Augen sofort gründlich mit Wasser abspülen und Arzt konsultieren.
- S36/37/39: Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung, Schutzhandschuhe und Schutzbrille/Gesichtsschutz tragen.
- S45: Bei Unfall oder Unwohlsein sofort Arzt zuziehen.
- S61: Freisetzung in die Umwelt vermeiden.

Ammoniumhydrogencarbonat

Gesundheitsschädlich

- R22: Gesundheitsschädlich beim Verschlucken.

Arsentrioxid

Krebserzeugend, sehr giftig, ätzend

- R45: Kann Krebs erzeugen.
- E28: Auch sehr giftig beim Verschlucken.
- R34: Verursacht Verätzungen.
- S53: Exposition vermeiden. Vor Gebrauch besondere Anweisungen einholen. Nur für den berufsmäßigen Verwender.
- S45: Bei Unfall oder Unwohlsein sofort Arzt zuziehen.

As(V)-Standardlösung, 1000 mg As/L, 0,5 mol HNO₃/L

Krebserzeugend

- R45: Kann Krebs erzeugen.
- E20/22: Auch gesundheitsschädlich beim Einatmen und Verschlucken.
- S53: Exposition vermeiden. Vor Gebrauch besondere Anweisungen einholen. Nur für den berufsmäßigen Verwender.
- S37: Geeignete Schutzhandschuhe tragen.
- S45: Bei Unfall oder Unwohlsein sofort Arzt zuziehen.

di-Natrium-ethylendiamintetraacetat-dihydrat

Gesundheitsschädlich

R22: Gesundheitsschädlich beim Verschlucken.

Kalium-antimontartrat-hemihydrat

Gesundheitsschädlich

R20/22: Gesundheitsschädlich beim Einatmen und Verschlucken.

S22: Staub nicht einatmen.

Kalium-hexahydroxyantimonat

Gesundheitsschädlich

R20/22: Gesundheitsschädlich beim Einatmen und Verschlucken.

S22: Staub nicht einatmen.

L(+)-Weinsäure.

Reizend

R36: Reizt die Augen.

S24/25: Berührung mit den Augen und der Haut vermeiden.

Malonsäure

Gesundheitsschädlich

R22: Gesundheitsschädlich beim Verschlucken

R36: Reizt die Augen.

S22: Staub nicht einatmen.

S24: Berührung mit der Haut vermeiden.

Natrium-dimethylarsinat-trihydrat

Giftig

R23/25: Giftig beim Einatmen und Verschlucken.

S20/21: Bei der Arbeit nicht essen, trinken, rauchen.

S28.1: Bei Berührung mit der Haut sofort abwaschen mit viel Wasser.

S45: Bei Unfall oder Unwohlsein sofort Arzt zuziehen.

Natriumhydroxid

Ätzend

- R35: Verursacht schwere Verätzungen.
S26: Bei Berührung mit den Augen sofort gründlich mit Wasser abspülen und Arzt konsultieren.
S37/39: Bei der Arbeit geeignete Schutzhandschuhe und Schutzbrille/Gesichtsschutz tragen.
S45: Bei Unfall oder Unwohlsein sofort Arzt zuziehen.

Natriumselenat-decahydrat

Giftig

- R23/25: Giftig beim Einatmen und Verschlucken.
R33: Gefahr kumulativer Wirkungen.
S20/21: Bei der Arbeit nicht essen, trinken, rauchen.
S28: Bei Berührung mit der Haut sofort abwaschen mit viel Wasser.
S45: Bei Unfall oder Unwohlsein sofort Arzt zuziehen.

Phenylarsonsäure

Giftig

- R23/25: Giftig beim Einatmen und Verschlucken.
S20/21: Bei der Arbeit nicht essen, trinken, rauchen.
S28.1: Bei Berührung mit der Haut sofort abwaschen mit viel Wasser.
S45: Bei Unfall oder Unwohlsein sofort Arzt zuziehen.

Phthalsäure

Reizend

- R36/37/38: Reizt die Augen, Atmungsorgane und die Haut.

Salzsäure, 30 %

Ätzend

- R34: Verursacht Verätzungen.
R37: Reizt die Atmungsorgane.
S26: Bei Berührung mit den Augen sofort gründlich mit Wasser abspülen und Arzt konsultieren.
S36/37/39: Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung, Schutzhandschuhe und Schutzbrille/Gesichtsschutz tragen.
S45: Bei Unfall oder Unwohlsein sofort Arzt zuziehen.

Sb(III)-Standardlösung, SbCl_3 , 1000 mg Sb/L, 5 mol HCl/L

Ätzend

- R34: Verursacht Verätzungen.
R37: Reizt die Atmungsorgane.
S26: Bei Berührung mit den Augen sofort gründlich mit Wasser abspülen und Arzt konsultieren.
S36/37/39: Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung, Schutzhandschuhe und Schutzbrille/Gesichtsschutz tragen.
S45: Bei Unfall oder Unwohlsein sofort Arzt zuziehen.

Se(IV)-Standardlösung, 1000 mg Se/L, 0,5 mol HNO_3 /L

Ätzend

- R33: Gefahr kumulativer Wirkungen.
R34: Verursacht Verätzungen.
S26: Bei Berührung mit den Augen sofort gründlich mit Wasser abspülen und Arzt konsultieren.
S36/37/39: Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung, Schutzhandschuhe und Schutzbrille/Gesichtsschutz tragen.
S45: Bei Unfall oder Unwohlsein sofort Arzt zuziehen.

Seleno-L-methionin

Giftig

- R23/25: Giftig beim Einatmen und Verschlucken.
R33: Gefahr kumulativer Wirkungen.
S20/21: Bei der Arbeit nicht essen, trinken, rauchen.
S28: Bei Berührung mit der Haut sofort abwaschen mit viel Wasser.
S45: Bei Unfall oder Unwohlsein sofort Arzt zuziehen.

Tellursäure

Gesundheitsschädlich

- R20: Gesundheitsschädlich beim Einatmen.
S22: Staub nicht einatmen.
S36/37/39: Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung, Schutzhandschuhe und Schutzbrille/Gesichtsschutz tragen.
S38: Bei unzureichender Belüftung Atemschutzgerät anlegen.

LEBENS LAUF

Torsten Lindemann
Osterkampstieg 4
22395 Hamburg
(0 40) 6 04 77 78

Persönliche Angaben

Geburtstag, Ort 9. Mai 1971, Hamburg
Familienstand ledig

Schulbildung

1977 bis 1981 Grundschule in Hamburg
1981 bis 1990 Gymnasium in Hamburg, Abitur

Studium

Okt. 1990 bis Nov. 1996 Chemiestudium an der Universität Hamburg.
Diplomarbeit am Institut für Anorganische und Angewandte Chemie
in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. W. Dannecker mit dem Titel:
„Untersuchungen zur Messung von gasförmigem Quecksilber mit
dem Amalgamverfahren in Außen- und Laborluft“

Berufstätigkeit

Jan. 1995 bis Juli 1995 Studentische Hilfskraft am Institut für Anorganische
und Angewandte Chemie, Universität Hamburg

Dez. 1995 bis Dez. 1996 Diplomand und Werkstudent bei der
ERGO Forschungsgesellschaft mbH, Hamburg

Seit Feb. 1997 Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut
für Physikalische und Chemische Analytik,
GKSS-Forschungszentrum Geesthacht GmbH, Geesthacht

