

## 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.