



Hochschule für Angewandte Wissenschaften Hamburg
Hamburg University of Applied Sciences

Fakultät: Life Sciences

**Methodenentwicklung zur Bestimmung von Arsen
in Lebensmitteln mittels
Atomabsorptionsspektrometrie**

Diplomarbeit im Studiengang Ökotrophologie

Vorgelegt von Nicole Woller im
September 2006

Matrikelnummer: 1705364

Gutachter: Prof. Dr. Michael Häusler
Dr. Zuhair G. Sachde

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	4
Abbildungsverzeichnis	6
Tabellenverzeichnis	7
1 Einleitung	8
2 Problemstellung und Zielsetzung	10
3 Allgemeines zu Arsen	11
3.1 Vorkommen in der Umwelt.....	11
3.2 Arsen in Lebensmittelproben.....	14
3.3 Toxikologische Wirkungsweise des Arsens.....	15
3.4 Verwendung von Arsen	19
4 Atomabsorptionsspektrometrie	20
4.1 Allgemeines zur AAS.....	20
4.2 Flammen-Technik	21
4.3 Graphitrohren-Technik	22
4.4 Hydrid-Technik.....	26
4.5 Ankopplung des Hydridsystems mit der GFAAS	28
4.6 Nachweisempfindlichkeit.....	29
5 Qualitätssicherungssysteme.....	30
5.1 Allgemeines zur Qualitätssicherung	30
5.2 Überprüfung der Wiederfindung.....	30
5.3 Statistische Grundlagen	31

6	Probenvorbehandlung und Aufschluss	33
6.1	Probennahme und -vorbereitung	33
6.2	Probeneinwaage	33
6.3	Probenaufschluss	33
7	Entwicklung einer Methode zur Bestimmung von Arsen.....	36
7.1	Bestimmung von Arsen mittels GFAAS	37
7.1.1	Untersuchung wässriger Standardlösungen	37
7.1.1.1	Optimierung der Atomisierungstemperatur	37
7.1.1.2	Optimierung der GFAAS Messparameter	39
7.1.1.3	Optimierung der Kalibrierung.....	40
7.1.2	Methodenvalidierung anhand zertifizierter Standardreferenz- materialien	42
7.1.3	Bewertung der entwickelten Methode.....	44
7.2	Bestimmung von Arsen mittels FI-HG-GFAAS.....	46
7.2.1	Untersuchung wässriger Standardlösungen	46
7.2.1.1	Optimierung der Vorreduktion von As(V) zu As(III)	46
7.2.1.2	Optimierung FIAS-Verschlauchung.....	49
7.2.1.3	Optimierung der FI-HG-GFAAS Messparameter	49
7.2.1.4	Optimierung der Kalibrierung.....	53
7.2.1.5	Untersuchung auf Analytverschleppung.....	54
7.2.2	Methodenvalidierung anhand zertifizierter Standardreferenz- materialien	55
7.2.3	Bewertung der entwickelten Methoden	56
8	Zusammenfassung.....	60
9	Literaturverzeichnis	65

10 Anhang	69
10.1 Verwendete Referenzmaterialien	69
10.2 Verwendete Chemikalien	70
10.3 Verwendete Geräte	71

Abkürzungsverzeichnis

a	Achsenabschnitt der Kalibrierfunktion
AAS	Atomabsorptionsspektrometrie
AS	Autosampler
As	Arsen
AsH ₃	Arsenwasserstoff
b	Steigung der Kalibrierfunktion
bidest.	bidestilliert
DMA	Dimethylarsonsäure
E	Energie
EDL	<i>Electrodeless Discharge Lamp</i>
FAAS	Flammenatomabsorptionsspektrometrie
FI	Fließinjektion
FI-HG-GFAAS	Fließinjektion-Hydridgenerierung-Graphitofenatomabsorption
FIAS	Fließinjektionsanalysensystem
GFAAS	<i>Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry</i>
HG	Hydridgenerierung
konz.	konzentriert
L	Länge
min	Minute
ml	Milliliter
µl	Mikroliter
mm	Millimeter
n	Anzahl der Messwerte
NaOH	Natriumhydroxid
NaBH ₄	Natriumtetrahydroborat
NS	Nervensystem
P1	Pumpe 1
P2	Pumpe 2
s	Standardabweichung / Sekunde
SRM	Standardreferenzmaterial

V	Volumen
VB	Vertrauensbereich
W	Watt
w/v	<i>weight / volume</i>
WHO	<i>World Health Organization</i>
zert.	zertifiziert
ZNS	Zentrales Nervensystem

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 4-1	<i>Abbildung eines Mischkammerbrenners</i>	21
Abbildung 4-2	<i>Querbeheiztes Graphitrohr mit integrierter L'vov-Plattform</i>	23
Abbildung 4-3	<i>Normale Zeeman-Linienaufspaltung</i>	24
Abbildung 4-4	<i>Typisches Temperaturprogramm</i>	25
Abbildung 4-5	<i>Aufheizphase eines querbeheiztem Graphitrohres</i>	25
Abbildung 4-6	<i>Einfluss der verschiedenen Wertigkeiten am Beispiel Antimon</i>	26
Abbildung 4-7	<i>elektrisch beheizte Quarzzelle mit Quarzküvette bei 1000°C zur Arsenbestimmung</i>	27
Abbildung 7-1	<i>Schema einer Methodenentwicklung</i>	36
Abbildung 7-2	<i>Optimierung der Atomisierungstemperatur</i>	37
Abbildung 7-3	<i>Optimierung der Pyrolysetemperatur</i>	38
Abbildung 7-4	<i>Einfluss der Atomisierungstemperatur auf die Peakform</i>	39
Abbildung 7-5	<i>Kalibriergerade</i>	40
Abbildung 7-6	<i>Wirkungsweise von L-Cystein am Beispiel Antimon</i>	47
Abbildung 7-7	<i>Verschiedene Methoden der Vorreduktion von Referenzmaterialien</i>	48
Abbildung 7-8	<i>Verschlauchung am FIAS</i>	49
Abbildung 7-9	<i>Optimierung der NaBH₄ Konzentration</i>	50
Abbildung 7-10	<i>Systemparameter FI-HG-GFAAS</i>	52
Abbildung 7-11	<i>von WinLab erstellte Kalibrierdaten</i>	53
Abbildung 7-12	<i>Untersuchung einer möglichen Analytverschleppung</i>	54
Abbildung 7-13	<i>Gegenüberstellung der Peaks bei GFAAS und FI-HG-GFAAS bei As-Bestimmung</i>	56
Abbildung 7-14	<i>Aufbau von Arsenobetain und Dimethylarsinsäure</i>	57

Tabellenverzeichnis

Tabelle 3-1	<i>Übersicht über Arsengehalte</i>	11
Tabelle 3-2	<i>Arsengehalte unterschiedlich belasteter Umgebungsluft</i>	12
Tabelle 3-3	<i>Globale Emissionsraten für Arsen in die Umwelt</i>	13
Tabelle 3-4	<i>Arsenkonzentrationen in Nahrungsmitteln</i>	14
Tabelle 3-5	<i>Toxikologisch wichtige Arsenverbindungen</i>	16
Tabelle 3-6	<i>Manifestation chronischer Arsenwirkungen</i>	18
Tabelle 4-1	<i>charakteristische Massen von Elementen bei der HGAAS- Bestimmung</i>	29
Tabelle 6-1	<i>Verwendetes Aufschlussprogramm der Mikrowelle „MARS 5“ von CEM</i>	35
Tabelle 7-1	<i>Verwendetes Heizprogramm am AAnalyst 600</i>	39
Tabelle 7-2	<i>Kalibrierungsdaten</i>	40
Tabelle 7-3	<i>Maximal verwendbare Pyrolysetemperaturen ohne und mit Pg-Mg- Modifier</i>	41
Tabelle 7-4	<i>As-Wiederfindung in verschiedenen Lebensmittelproben</i>	42
Tabelle 7-5	<i>Wiederfindung von Arsen mittels HGAAS</i>	43
Tabelle 7-6	<i>wichtige analytische Parameter</i>	45
Tabelle 7-7	<i>FIAS Programm für die AS(III) Bestimmung</i>	51
Tabelle 7-8	<i>Wichtige FI-HG-GFAAS Parameter</i>	51
Tabelle 7-9	<i>Kalibrierdaten für die FI-HG-GFAAS Bestimmung</i>	53
Tabelle 7-10	<i>As-Wiederfindung verschiedener Lebensmittelproben</i>	55
Tabelle 7-11	<i>gefundene Arsengehalte in Umweltproben</i>	58
Tabelle 7-12	<i>wichtige analytische Parameter</i>	59

1 Einleitung

Metalle sind chemische Elemente und beginnen im Periodensystem links mit dem Element Beryllium (2.Hauptgruppe) und enden rechts unten mit Polonium (4.Hauptgruppe) [27,2709]. Die Grenze ist nicht eindeutig und die Elemente in ihrer Nähe sind weder typische Metalle noch Nichtmetalle, sie werden als Halbmetalle oder Metalloide bezeichnet. Zu ihnen zählen, z.B. Antimon, Arsen, Selen und Tellur [22,71,469]. Mehr als drei Viertel der bisher bekannten Elemente zählen zu den Metallen. Im Organismus üben Metalle vielfältige Funktionen aus, so sind Natrium und Kalium an der Muskelbewegung beteiligt und Magnesium, Zink, Eisen und Kupfer als Metallproteine in prosthetischen Gruppen für viele enzymatische Prozesse verantwortlich. Nach ihrer Dichte werden die Metalle in Leicht- und Schwermetalle unterteilt. Allgemein werden als Schwermetalle solche Elemente bezeichnet, die eine Dichte über 5 g/cm^3 aufweisen. [27,2710,4080] Zu ihnen zählen unter anderem: die Edelmetalle sowie Blei, Eisen, Kupfer, Zink, Zinn, Nickel, Cadmium, Chrom und Quecksilber.

Die Kontamination von Lebensmitteln mit Schwermetallen wird im wesentlichen durch industrielle Verfahren verursacht. Sie gelangen, z. B. über Abgase von Straßenverkehr und Industrie in die Atmosphäre und werden mit der Luftströmung transportiert, bevor sie auf die Erdoberfläche niederregnen. In den Boden gelangen sie über Düngemittel (Klärschlamm) und reichern sich dort an oder sie sickern in tiefere Schichten bis ins Grundwasser. [34]

Arsen ist eines der giftigsten Elemente, die es gibt. Anorganische Arsenverbindungen kommen natürlicherweise in kleinen Mengen vor und können über die Nahrung, das Wasser und die Luft aufgenommen werden. Zu einer Aufnahme von Arsen kann es auch über Hautkontakt mit arsenhaltigen Boden oder Wasser kommen. Gewöhnlich sind die Konzentrationen in der Nahrung gering, doch Fische und Meerestiere können größere Mengen enthalten. Sie nehmen Arsen aus dem Wasser auf. Dabei handelt es sich um die ungefährliche, organische Form des Arsens.

Die Arsenbelastung kann für einen Menschen recht hoch werden. Besonders betroffen sind Personen, die aufgrund ihrer Arbeit mit Arsen hantieren, weiterhin bedeutende Mengen an Wein trinken oder die in der Nähe von Ackerflächen leben, auf denen in der Vergangenheit mit arsenhaltige Pflanzenschutzmittel verteilt worden sind. Die Belastung durch anorganisches Arsen kann verschiedene Auswirkungen auf die Gesundheit haben, wie Reizungen des Magens, verminderte Produktion von roten und weißen Blutkörperchen, Hautveränderungen und Lungenreizungen. Es wird angenommen, dass die Aufnahme bedeutender Mengen von anorganischem Arsen die Chance an Krebs zu erkranken erhöht. Vor allem an Haut-, Lungen-, Leber- und Lymphgefäßkrebs. Des Weiteren können Unfruchtbarkeit, Fehlgeburten, Hautkrankheiten, verringerte Widerstandskraft, Herzstörungen und Hirnschäden auftreten. [20]

Die chemische Analytik hat aus diesen Gründen in den letzten Jahrzehnten stark an Bedeutung zugenommen. Die Ansprüche an die Analysemethoden sind gestiegen. Die Methoden sollen eine hohe Nachweisempfindlichkeit haben und gleichzeitig schnell Ergebnisse liefern. Besonders im Bereich der Lebensmittelüberwachung sind diese Anforderungen sehr bedeutsam. In Zeiten von Globalisierung und steigenden Importzahlen müssen die Lebensmittel schnell untersucht und bei Überschreitung des Höchstgehaltes beanstandet werden.

Für Arsen gibt es noch keine gesetzlich vorgeschriebenen Höchstgehalte. Das liegt zum einem daran, dass es bisher keine Methode gab, um anorganisches Arsen zu messen und zum anderen erweist sich die Festlegung der Verzehrsmengen als problematisch. Eine amtliche Methode für die Bestimmung von anorganischem Arsen in Algen wurde im Januar 2005 veröffentlicht. [9]

2 Problemstellung und Zielsetzung

Im folgenden Kapitel wird auf das Ziel der vorliegenden Arbeit näher eingegangen. Ziel war es, eine Methode zur Bestimmung von Arsen in Lebensmittelproben mittels Atomabsorptionsspektrometrie zu entwickeln. Zur Bestimmung des Gesamtarsens wurde erstens eine bereits bestehende Methode zur Bestimmung von Arsen mittels Graphitofenatomabsorptionsspektrometrie überprüft und optimiert. Weiterhin wurde eine neue Ankopplungstechnik verwendet, die seit einigen Jahren auf dem Markt ist. Dabei wird das gasförmige Hydrid (AsH_3) vollautomatisch aus der flüssigen Probenmatrix abgetrennt. Dies erfolgt in einem Fließinjektionsanalysensystem (FIAS). Das FIAS wird mit der Graphitofenatomabsorptionsspektrometrie (engl. Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry, GFAAS) gekoppelt. Die gebildeten Hydride werden in ein mit Iridium beschichtetes Graphitrohr übertragen. Die Atomisierung erfolgt dann im Graphitrohr. In den nachfolgenden Kapiteln wird die Methodenentwicklung zur Gesamtarsenbestimmung beschrieben.

Für den Einsatz dieser Methode ist es wichtig, dass die Analyten als hydridbildende Spezies vorliegen. In biologischen Materialien ist Arsen in Form von organischen Verbindungen vorhanden. Im Vergleich zu Landtieren und -pflanzen enthalten marine Organismen besonders hohe Arsenwerte. Dabei ist das Arsenobetain eine besonders stabile organische Arsenverbindung. Im Zuge der Methodenentwicklung blieb die Probenaufbereitung mit einem mikrowellenunterstützten Aufschlussverfahren unverändert. Die Probenaufbereitung der Arsenmethode sollte sich nicht von einem Mikrowellenaufschluss für Proben, die zur Bestimmung von Blei oder Cadmium vorgesehen sind, unterscheiden.

Der Schwerpunkt dieser Arbeit wurde auf die Optimierung der Methode zur Bestimmung von Gesamtarsen mittels Graphitofenatomabsorptionsspektrometrie und der Kopplung von einem FIAS mit der GFAAS gelegt. Zur Validierung der entwickelten Methode wurden verschiedene Referenzmaterialien mit bekannten Arsengehalten eingesetzt.

3 Allgemeines zu Arsen

3.1 Vorkommen in der Umwelt

Arsen wird als Nebenprodukt der Kupfer-, Blei- und Goldschmelze gewonnen. Es ist ein ubiquitär vorkommendes Element. In der Erdkruste kommt Arsen vor allem in Form von Sulfiden und Oxiden vor. Durchschnittlich sind 0,1-8,6 mg Arsen/kg im Boden enthalten. Aber in belasteten Gebieten können es bis zu 2500 mg Arsen/kg Boden sein. [13,1]

Unter den Metallarseniden ist das Arsenkies „Arsenpyrit“ Fe[AsS] , das weit verbreitetste. Es ist ein gemischtes Arsenid-Sulfid. Weitere in der Natur vorkommende Arsensulfide sind Realgar „Rauschrot“ As_4S_4 und Auripigment „Rauschgelb“ As_2S_3 . Schwefelfreie Arsenide kommen in der Natur auch vor, z.B. Arsenikalkies „Löllingit“ FeAs_2 . [17,794] Wird Arsen an der Luft erhitzt, so verbrennt es mit bläulicher Flamme. Der dabei entstehende weiße Rauch verbreitet einen „eigentümlichen, knoblauchartigen Geruch“. [17,798] Es entsteht das Verwitterungsprodukt von Arsenerzen, das Arsentrioxid As_2O_3 .

Tabelle 3-1 Übersicht über Arsengehalte [13,1]

Vorkommen in	Arsengehalt
Kohle	5-45 mg/kg
Flugasche	440 mg/kg
Abwasser	0,1-8,6 mg/kg
Erdöl	0,26 mg/L
Benzin	0,0015 mg/L
Meerwasser	1-190 $\mu\text{g/L}$

Die Verbrennung fossiler Brennstoffe und das Schmelzen von Erzen bewirken die Abgabe flüchtiger Arsenverbindungen in die Atmosphäre. Tabelle 3-2 zeigt die verschiedenen Belastungen der Umgebungsluft.

Tabelle 3-2 *Arsengehalte unterschiedlich belasteter Umgebungsluft [28]*

<i>Umgebung</i>	<i>Durchschnittlicher Arsengehalt in der Luft in ng m⁻³</i>
unbelastet	≤ 1
städtisches Gebiet	1-20
Stark urbanisiertes Gebiet mit intensiver Kohleverbrennung	70-500
Nähe zu Kupfer- oder Bleihütten	500-5000

Niederschlag bewirkt ein absetzen der Arsenverbindungen, diese werden dann von der Flora und Fauna aufgenommen. Verschiedene Emissionsraten von Arsen werden in der nachstehenden Tabelle gezeigt. Dabei ist genau ersichtlich, dass die vom Menschen verursachten Emissionsraten dreimal so hoch sind, wie die von natürlichen Quellen.

Tabelle 3-3 Globale Emissionsraten für Arsen in die Umwelt [28]

<i>Quellen</i>	<i>Durchschnittliche Emissionsraten in 10⁶ kg pro Jahr</i>
Natürlich:	
Vulkane	7
Biologische Aktivität	0,26
Verwitterung	0,24
Waldbrände	0,16
Meeresnebel	0,14
Gesamt:	7,8
Anthropogen:	
Kupferproduktion	13
Eisen- und Stahlproduktion	4,2
Blei- und Zinkproduktion	2,2
Agrochemiekalien	1,9
Holzverbrennung	0,60
Verbrennungen in der Landwirtschaft	0,56
Kohleverbrennung	0,55
Müllverbrennung	0,43
Chemische Produktion	0,20
Baumwollegrenierung	0,023
Erzbergbau	0,013
Erdöl	0,004
Gesamt:	23,7

3.2 Arsen in Lebensmittelproben

Arsen kommt biologisch in allen Lebewesen vor. Im menschlichen Körper wird es in Leber, Nieren, Haut, Haaren und Nägeln angereichert. [13,2] Die normale Arsentagesaufnahme mit der Nahrung wird auf 0,05-0,1mg absolut geschätzt. Dabei haben Seefische die höchsten Gehalte. Aber auch Importobst ist nicht immer frei von Arsen, da Bleiarsenat in manchen Ländern noch als Pflanzenschutzmittel eingesetzt wird. [16,846] Die folgende Tabelle zeigt einige Arsenkonzentrationen in Lebensmitteln auf.

Tabelle 3-4 Arsenkonzentrationen in Nahrungsmitteln [13,1]

<i>Nahrungsmittel</i>	<i>Arsengehalt in mg kg⁻¹ (Γ¹)</i>
Gemüse	0,01 - 1,5
Getreide(Trockensubstanz)	0,04
Rote Rüben / Aubergine (Trockensubstanz)	<20
Fleisch	0 - 0,38 *10 ⁻³
Süßwasserfisch	0,15 - 0,380 *10 ⁻³
Muscheln (Trockensubstanz)	14 - 17
Garnelen (Trockensubstanz)	63 - 80
Seefisch (Trockensubstanz)	43 - 188
Milch	0 - 0,152

Hohe Konzentrationen von Arsen sind in Meeresfrüchten. Der Arsengehalt in Algen hängt auch sehr stark von der Spezies ab. Dabei enthalten braune Algen grundsätzlich mehr Arsen als rote oder grüne Algen. In den Braunalgen *Laminaria* sp. und *Hizikia fusiforme* wurden Gesamtarsengehalte von über 100 mg/kg Trockensubstanz gefunden. [23,115] Dabei kann der Gehalt an anorganischem Arsen bis zu 90% des Gesamtarsengehalts ausmachen. [3,2]

3.3 Toxikologische Wirkungsweise des Arsens

Früher wurden Arsenverbindungen häufig als Medikament eingesetzt. Arsen trioxid wurde bei Schuppenflechte (Psoriasis) und anderen chronischen Dermatosen eingesetzt. Es hat eine stärkende, kräftigende Wirkung. Aber auch in der Ernährung von Nutztieren wurde Arsen eingesetzt. Die Tiere bekamen ein glänzenderes Fell und nahmen schneller an Gewicht zu. Arsen trioxid (Arsenik) hingegen war schon früh als Mordgift bekannt. [16,846] Es wirkt in größeren Dosen absolut giftig. Aber in kleineren Mengen wirkt es anregend und wurde daher früher als Dopingmittel eingesetzt. [5,21] Das weiße Pulver ist geschmack- und geruchlos. Heute kann Arsen durch die Marsh'sche Probe im Leichenmaterial nachgewiesen werden. [16,846]

In Bad Dürkheim wurde im Thermalwasser Arsen nachgewiesen. Die „Dürkheimer Maxquelle“ ist eine der stärksten Arsenquellen in Europa. Das Wasser wurde häufig aus therapeutischen Zwecken verabreicht. Es sollte das erythropoetische System und den vermehrten Fettaufbau anregen. Deshalb wurde es als „Mastkur“ bei chronischer Magersucht eingesetzt. [13,1ff] Der Arsengehalt im Thermalwasser soll bis 14 mg/L betragen haben. Manche Trinkwässer enthielten bis zu 2 mg/L und lösten damit chronische Massenvergiftungen aus, z.B. Reichenstein. [16,846] Das „Schweinfurter Grün“ wurde als Schädlingsbekämpfungsmittel im Weinbau eingesetzt. Dies ist heute in Deutschland verboten, nachdem es bei Winzern im Moselgebiet zu zahlreichen Vergiftungen kam. Manche von ihnen starben durch den Konsum eines stark arsenhaltigen „Haustrunk“. Heute wird „Schweinfurter Grün“ noch in manchen Ländern zum Spritzen von Obstbäumen und Weinstöcken eingesetzt, ebenso Bleiarsenat als Pflanzenschutzmittel. [16,846] Die Tabelle 3-5 zeigt eine kurze Aufstellung der toxikologisch wichtigen Arsenverbindungen.

Tabelle 3-5 Toxikologisch wichtige Arsenverbindungen [16,847]

<i>Formel</i>	<i>Bezeichnung</i>	<i>Bedeutung, Toxizität</i>
As	Metall (Scherbenkobalt)	ungiftig, geht leicht in As ₂ O ₃ über
As ₂ S ₂	Erz (Realgar)	ungiftig
As ₂ S ₃	Erz (Auripigment)	meist mit As ₂ O ₅ verunreinigt
As ₂ O ₃	Arsentrioxid, Arsenik	Mord- und Selbstmordgift, geschmack- und geruchlos, hochtoxisch, Medikament (Fowlersche Lösung = 1%; asiatische Pillen u.a.) Rattengift in manchen Trinkwässern
As ₂ O ₅	Arsenpentoxid	wenig giftig, geht aber im Organismus in As ₂ O ₃ über
AsCl ₃	Arsenrichlorid	zur Metalloberflächenbearbeitung; Reizstoff, zerfällt in As ₂ O ₃ und HCl
3Cu(AsO ₂) ₂ • Cu(CH ₃ COO) ₂	Kupferarsenitacetat, Schweinfurter Grün	Schädlingsbekämpfung, u.a. im Weinbau
Cu(AsO ₂) ₂	Kupferarsenit, Scheeles Grün	Insektizid, Fungizid
Pb(AsO ₄)	Bleiarsenat	
AsH ₃	Arsenwasserstoff, Arsin	hochgiftiges Gas mit Knoblauchgeruch

Arsenverbindungen können aus dem Magenkanal (z.B. As₂O₃) resorbiert werden, aber auch nach Inhalation aus der Lunge (z.B. AsH₃), sowie über die Schleimhäute und die äußere Haut. Das aufgenommene Arsen kann an verschiedenen Stellen des Körpers gespeichert werden. Von besonderem Interesse sind dabei die Haare und Nägel, da man hier Rückschlüsse auf die Aufnahme nehmen kann. [37,97] Normalerweise werden weniger toxische Arsenverbindungen rasch ausgeschieden und stärker wirksame im Gewebe eingelagert. Dabei wird fünfwertiges As im Organismus in die stärker toxische dreiwertige Form überführt. [16,847]

Die Wirkungsweise von Arsen besteht darin, dass Sulfhydrylgruppen und SH-abhängige Enzyme blockiert, Substrate und Intermediärprodukte gehemmt werden. Eine wichtige Wirkung ist die Hemmung der Pyruvatoxidation. Arsen ist ein Ätz-, Kapillar- und Zellgift. Die anorganischen Verbindungen wirken mutagen, teratogen, kanzerogen und auch immunsuppressiv. [13,4]

Normalerweise enthalten Haare um 2 µg As/g. Der Wert kann bei Vergiftungen auf 50-100 µg/g ansteigen. Leber und Nieren weisen unter Normalbedingungen einen Wert von unter 10 µg/100g, Blut unter 0,26 µmol/l auf. [37,97] Wird Arsen über den Mund aufgenommen, tritt nach ½ -1 h Übelkeit, Brechreiz und meist auch Erbrechen auf. Nach 2-3 h kommt es zu starken „reiswasserähnlichen“ Durchfällen, die zu einem Schockzustand führen. [16,847] Die Symptome ähneln dem Krankheitsbild der Cholera. [30,57] Denn der Körper verliert lebensnotwendiges Wasser, Elektrolyte und Eiweiß. In diesem Zustand kann der Tod in 2-3 Tagen eintreten. Bei der Resorption sehr hoher Dosen tritt der Tod schon nach wenigen Stunden durch Atemlähmung ein. [16,847]

Eine chronische Vergiftung führt zu Appetitlosigkeit, Gewichtsabnahme, Schwäche, Übelkeit, Erbrechen, Durchfall oder Obstipation. Des Weiteren kommt es zu Veränderungen der Haut und Schleimhaut. Die Arsenaufnahme führt zu Entzündungen im Nasen-Rachen-Raums, Husten, Heiserkeit und Geschwüren im Rachenraum. Die Haut kann von Dermatitis, chronischen Hautausschlag, Verhornungen und Rhagaden befallen sein. Weiterhin kommt es zu Verfärbungen der Haut. [13,7] Die Bildung von Tumoren kann mit zeitlicher Verzögerung erfolgen, dabei können verschiedene Organe betroffen sein, vor allem aber Haut, Lunge, Harnblase und Niere. Es bildet sich der sog. Arsenkrebs. [23,115] Dabei kann die Inkubationszeit zwischen dem Kontakt und dem Auftreten von Krebs zwischen 13 und 40 Jahren betragen. [30,58] Die Tabelle 3-6 zeigt einige auftretende Symptome bei chronischer Arsenvergiftung.

Tabelle 3-6 Manifestation chronischer Arsenwirkungen [16,848]

<i>Angriffsort</i>	<i>Erscheinungen</i>
Kapillaren der Schleimhäute	Nasopharyngealkatarrh („Arsenschnupfen“), Salivation, Diarrhö (im Wechsel mit Obstipation)
ZNS	Allgemeine Schwäche, Mattigkeit, Apathie, Enzephalopathie (selten)
peripheres NS	Polyneuropathie (selten)
Leber	latente Hepatopathie
Haut	Arsenmelanose, Hyperkeratose = Präkanzerose, Haarausfall

Die größte Massenvergiftung fand in Bangladesh statt. Dort war das Brunnenwasser mit natürlich vorkommendem Arsen kontaminiert. Die Ärzte stellten bei ihren Patienten viele krankhafte Veränderungen der Haut fest, dazu gehörten Melanome an Brust und Händen, weiße Hautflecken, schmerzvolle Warzen und Atembeschwerden. Mehr als 30% der Brunnen hatten eine Arsenkonzentration von über 50 µg/l Wasser. Dieser Wert überschreitet den von der WHO festgesetzten Grenzwert um das 5-fache. Bangladesh ist nicht das einzige Land mit einem Arsenproblem im Trinkwasser. Arsen wird auch in Teilen Indiens, Nepals, Vietnams, Chinas, Argentiniens, Mexikos, Chiles, Taiwans, der Mongolei und den USA in beträchtlichen Konzentrationen gefunden. Weltweit sind davon schätzungsweise 50 Millionen Menschen in hohem Maße betroffen. [31]

Aufgrund seiner gesundheitsschädlichen Wirkungsweisen ist die Überwachung der Arsenkonzentration und -verteilung in Umwelt und Nahrung von entscheidender Bedeutung.

3.4 Verwendung von Arsen

Arsen findet in Form von Arsentrioxid Verwendung als Legierungsbestandteil, z.B. bei Blei- und Kupferlegierungen. Durch den Zusatz von Arsentrioxid wird die Härte der Legierung erhöht. In der Glas- und Keramikindustrie werden Arsenverbindungen als Läuterungs- und Entfärbungsmittel eingesetzt. Hochreines Arsen wird in der Halbleiterherstellung eingesetzt. [27,261]

Früher wurden Kupfer-, Blei- und Kalziumarsenate als Schädlingsbekämpfungsmittel im Weinanbau und in der Landwirtschaft eingesetzt, der Grund lag in seiner hohen Toxizität (vgl. Kapitel 2.3). Heute sind sie in der BRD und auch in den meisten anderen Ländern verboten. Arsentrioxid wird als Mäuse- und Rattengift verwendet. Nicht mehr verwendet werden arsenhaltige Arzneimittel. Früher wurden sie zur Therapie von Syphilis, Protozonenerkrankungen, Leukämie und Dermatika eingesetzt. Zur Behandlung der Wurzelkanäle toter Zähne wurde Arsen bis vor einigen Jahren verwendet. Man stellte dann aber fest, dass es in den umliegenden Knochen irreversibel gespeichert wurde. [13,4]

4 Atomabsorptionsspektrometrie

4.1 Allgemeines zur AAS

Laut DIN-Norm ist die „Atomabsorptionsspektrometrie (AAS) (ist) ein spektralanalytisches Verfahren zum qualitativen Nachweis und zur quantitativen Bestimmung von Elementen mit Hilfe der Absorption optischer Strahlung durch freie Atome im Gaszustand“. [15]

Die geschichtliche Entwicklung der Atomabsorption ist eng mit der Beobachtung des Sonnenlichts verbunden. 1802 wurden die schwarzen Linien im Sonnenspektrum von Wollaston entdeckt, *Fraunhofer* untersuchte diese später ausführlicher. Aber die grundlegenden Zusammenhänge kamen von *Kirchhoff und Bunsen* während ihrer Untersuchungen der „Linienumkehr“ in Alkali- und Erdalkali-Spektren. Beide wiesen nach, dass die von Natriumsalzen in einer Flamme emittierte typische gelbe Linie identisch ist mit der schwarzen D-Linie des Sonnenspektrums. *Kirchhoff* formulierte den Zusammenhang zwischen Emission und Absorption in einem allgemein gültigen Gesetz, und zwar kann jeder Stoff die Strahlung der Wellenlänge absorbieren, die er selbst aussendet. [24,308]

Als Strahlungsquellen dienen heute Hohlkathodenlampen (HKL) und elektronenlose Entladungslampen (EDL). Die Lampen emittieren das Spektrum des zu bestimmenden Elements. Die Probe wird in einer Atomarisierungseinrichtung verdampft und so in den atomaren Zustand überführt. Ein Empfänger misst dann die Schwächung der Strahlung auf der Resonanzwellenlänge. Das Ergebnis wird nach einer entsprechenden Verstärkung und elektronischen Umwandlung angezeigt. [24,308 ff]

In den folgenden Kapiteln wird auf die unterschiedlichen Atomarisierungstechniken weiter eingegangen.

4.2 Flammen-Technik

Das Flammenatomarisieren gehört zu den ältesten Varianten der AAS-Techniken. Die Einfachheit und Wirtschaftlichkeit des Verfahrens sind Gründe für seinen Siegeszug. In der Routineanalyse sind Flammen-AAS kaum noch wegzudenken. [35,159]

Bei der FAAS wird die gelöste Probe durch Zerstäuber in ein Aerosol überführt und in eine Flamme eingebracht. Dabei wird die Probe in Atome überführt. Als Ergebnis entsteht ein Messsignal, dessen Peakhöhe proportional zur Konzentration des zu bestimmenden Elements ist. Die Dauer des Messsignals ist abhängig von der gewählten Ansaugzeit der Probelösung. Der Haupteinsatzbereich dieses Verfahrens liegt im mg/l. Da die erhaltenen Signale recht stabil und auch zeitunabhängig sind, können sie gespreizt werden, dadurch lassen sich dann bessere Nachweisgrenzen erzielen. [24,316]

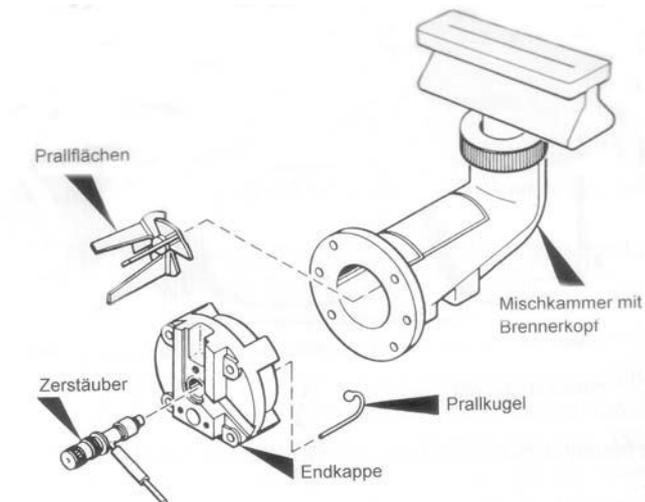


Abbildung 4-1 *Abbildung eines Mischkammerbrenners [35,164]*

Im Ganzen kann man sagen, dass die FAAS nach Festlegung geeigneter Bedingungen, insbesondere der richtigen Flamme, nur sehr geringe Störungen aufweist. Häufig sind diese Probleme bekannt und neue Methoden zur Beseitigung bereits vorhanden. Das Einsatzgebiet liegt in der Routineanalyse von Lebensmitteln, Bodenproben, Wasser, aber auch in der Umweltanalytik. [24,317]

4.3 Graphitrohfen-Technik

Obwohl die Flammenatomabsorption ein vielseitig einsetzbares Instrument zur Bestimmung von Schwermetallen ist, hat sie doch ihre Nachteile, z.B. das hohe Probenvolumen von einigen Millilitern. Deshalb wurde schon früh nach Methoden zur elektrothermischen Atomisierung gesucht. Es entwickelte sich die Graphitofenatomabsorptionsspektrometrie, die GFAAS.

Ein geheiztes Graphitrohr wurde bereits Anfang des 19. Jahrhunderts zur Emissionsmessung verwendet. Der sog. „King-Ofen“ wurde in den darauf folgenden Jahrzehnten für spektralanalytische Messungen eingesetzt. L'vov war aber der erste, der einen elektrisch geheizten Ofen als Atomisator einsetzte. [35,30ff] L'vov stellte verschiedene Anforderungen an einen idealen Graphitrohfen:

- Atomisatorsubstrat und Gasphase sollten die Atomisierung des zu bestimmenden Elements unterstützen, aber nicht mit ihm reagieren
- Empfindlichkeit des Atomisators sollte hoch sein
- schnelle und vollständige Atomisierung des Analyten
- Graphitroh sollte eine möglichst lange Lebensdauer haben
- kurze Messzeit pro Bestimmung und keine Rückstände von Analyt im Atomisator
- zeitlich und räumlich konstante Temperatur der Rohroberfläche und des Gasraums

Diese Forderungen sind Maximalanforderungen. Sie können von keinem Atomisator komplett erfüllt werden. Manche Forderungen widersprechen sich dabei auch, z.B. hohe Empfindlichkeit und geringe Leistungsaufnahme. Jedoch haben diese Forderungen dazu beigetragen, dass die heutigen Graphitöfen dem Ideal entscheidend näher kommen. [35,182ff]

Bei der Graphitrohrfen-AAS wird die Probe mittels einer Mikropipette in das Graphitrohr geleitet. Heutige Graphitrohre sind zwischen 2 und 5 cm lang und haben einen Innendurchmesser von weniger als 1 cm. Die austauschbaren Graphitrohre werden an elektrischen Kontakten eingesetzt. Temperaturen von 20°C bis 3000°C können durch eine Widerstandsheizung erreicht werden. Argon dient als Inertgas. Das Graphitrohr wird von innen und außen mit Argon durchströmt. Der äußere Argonstrom verhindert das Eindringen von Außenluft und das Veraschen des Graphitrohrs. Der innere Argonstrom fließt an beiden Enden in das Rohr und durch die Probeneingabeöffnung raus. Dabei werden die, beim Veraschen der Probe, entstehenden Dämpfe abtransportiert. [6]

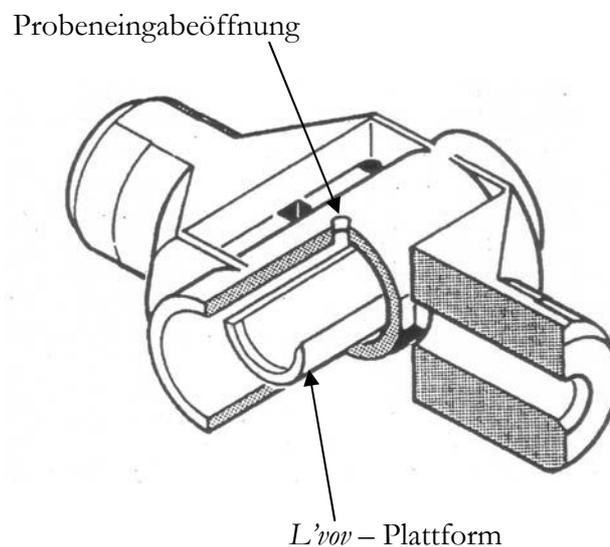


Abbildung 4-2 Querbeheiztes Graphitrohr mit integrierter L'vov-Plattform [6,2-25]

Zu Beginn ihrer Einführung wies die GFASS eine sehr hohe Störanfälligkeit auf. Aber durch apparative Weiterentwicklungen wurden diese weitestgehend beseitigt. Unter spektralen Interferenzen versteht man, die Absorption von Strahlung durch Moleküle gasförmiger Stoffe oder die Strahlungsstreuung. [24,313,317] Spektrale Interferenzen können durch den Einsatz des Zeeman-Effekts ausgeschaltet werden. Der Zeeman-Effekt wurde 1897 vom niederländischen Physiker *Pieter Zeeman* entdeckt, man versteht darunter die Aufspaltung der Energieniveaus von Atome in einem Magnetfeld. Die π -Komponente hat dieselbe Wellenlänge wie die ursprüngliche Absorptionslinie und ist linear parallel zum Magnetfeld polarisiert. Die

σ -Komponenten hingegen sind im Vergleich zur π -Komponente entweder erhöht oder erniedrigt. Sie sind zirkular und senkrecht zum Magnetfeld polarisiert. [35,102ff] Zur Untergrundkompensation werden Magnetfelder von 0,9 Tesla eingesetzt. [6,2-9] Eine weitere Methode zur Untergrundkompensation ist der Kontinuumstrahler. Dies können z.B. Deuterium- oder Halogenglühlampen sein. [24,313]

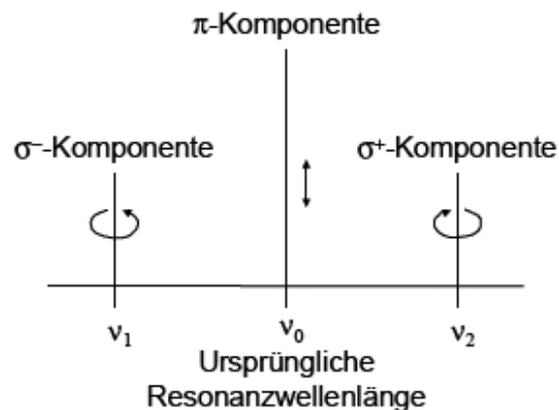


Abbildung 4-3 Normale Zeeman-Liniensplittung [6,2-10]

Im Gegensatz zur Flammenatomabsorption werden bei der GFAAS nur wenige Mikroliter Probe in das Graphitrohr gegeben und bei niedrigen Temperaturen getrocknet. Die elektrische Widerstandheizung sorgt für eine rasche Temperaturerhöhung, die Probe wird mineralisiert. Als nächster Schritt wird die Temperatur auf 2000°C bis 3000°C erhöht, dadurch wird die Probe innerhalb von Millisekunden atomarisiert und die Messung der Absorption findet statt. Während dieses Schritts wird der innere Gasstrom abgestellt. In einem weiteren Schritt wird die Temperatur nochmals erhöht und das Graphitrohr ausgeheizt. Das Graphitrohr wird so gereinigt. Es darf keine Matrix bei nachfolgenden Untersuchungen vorhanden sein, sonst kommt es zum sog. „Memory“ Effekt. Die nachfolgende Abbildung zeigt ein typisches Temperaturprogramm.

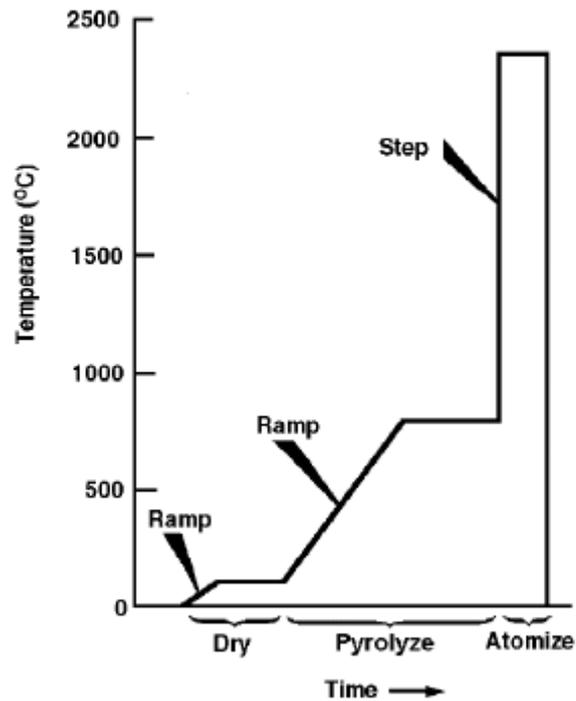


Abbildung 4-4 *Typisches Temperaturprogramm [26]*

Das Temperaturprogramm wird elementspezifisch eingestellt und ermöglicht somit eine optimale Bestimmung. Die folgende Abbildung erwähnt einen Einblick in ein aufheizendes Graphitrohr.

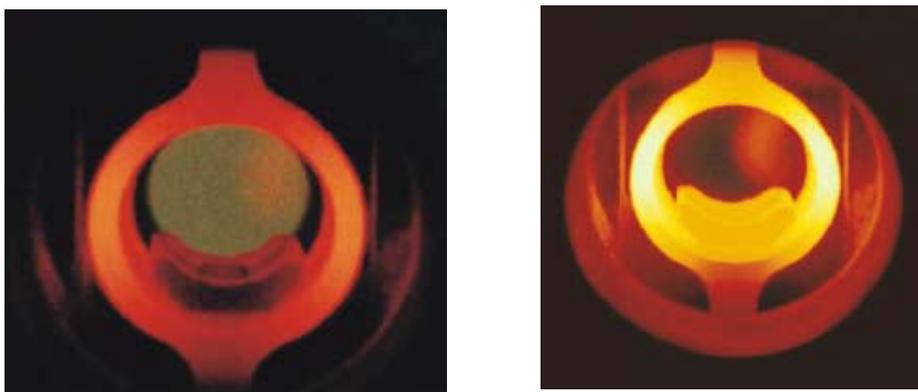


Abbildung 4-5 *Aufheizphase eines querbeheiztem Graphitrohres [4]*

4.4 Hydrid-Technik

Erstmals wurde die Hydridtechnik 1969 von *Holak* zur Bestimmung von Arsen eingesetzt. [35,53] Die angesäuerte Probelösung wird, bei der Hydridtechnik, in einem Reaktionsgefäß mit Natriumtetrahydroborat (NaBH_4) versetzt. Dabei bilden bestimmte Elemente ein gasförmiges Hydrid, z.B. SnH_4 , AsH_3 , SbH_3 , BiH_3 , H_2Se und H_2Te . Das Hydrid wird dann in eine beheizte Quarzküvette geleitet und dort thermisch zersetzt. Genau wie bei der Graphitrohr-AAS ist das beobachtete Signal proportional zur Masse des Analyten. [24,317ff]

Bei der Bestimmung der Hydride muss darauf geachtet werden, dass die Elemente in anorganischer Form vorliegen. Die Oxidationsstufe spielt dabei eine entscheidende Rolle. Abbildung 3-5 zeigt den Einfluss der Oxidationsstufen am Beispiel Antimon. Es ist erkennbar, dass bei Sb(V) eine geringere Extinktion erreicht wird. Dies hat einen Einfluss auf die Empfindlichkeit des Nachweises. Gewöhnlich wird eine Vorreduktion durchgeführt, um diese Fehlerquelle auszuschließen. Die Hydridtechnik bietet aber auch die Chance die einzelnen Elementspezies einzeln zu bestimmen. [24,318]

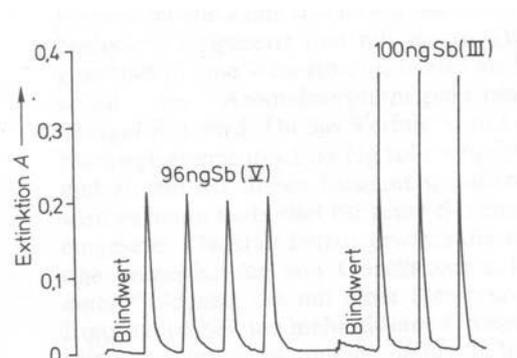
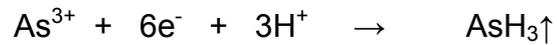


Abbildung 4-6 Einfluss der verschiedenen Wertigkeiten am Beispiel Antimon [24,233]

Die Vorgänge in der Hydrid-AAS am Beispiel von Arsen [18,3-4]:

- Reduktion von As^{3+} zu AsH_3



- Überführung des AsH_3 -Dampfes in die Quarzküvette mit einem Trägergasstrom (Argon)
- Zerfall des Hydrids bei ca. 900°C



- die As-Atome absorbieren die Strahlung der As-Lampe

Eine elektrisch beheizte Quarzzone mit Quarzküvette zur Bestimmung von Arsen wird in der unteren Abbildung gezeigt.

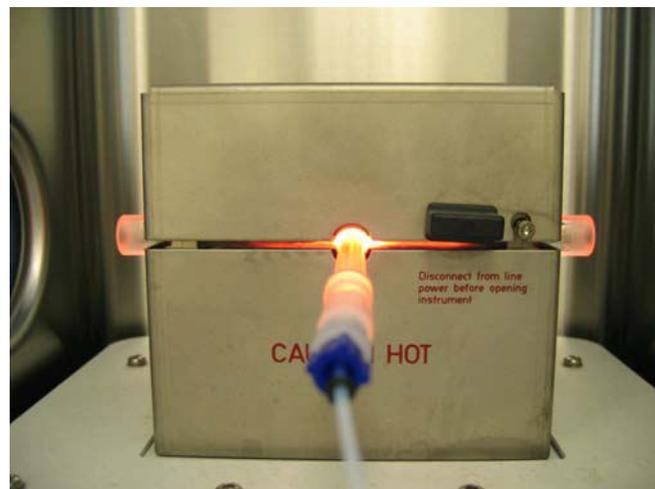


Abbildung 4-7 elektrisch beheizte Quarzzone mit Quarzküvette bei 1000°C zur Arsenbestimmung [36]

4.5 Ankopplung des Hydridsystems mit der GFAAS

Bei der Ankopplung der FIAS (Fließinjektionsanalysensystem) mit der Graphitrohr-AAS, wird das, im FIAS gebildete, Hydrid (z.B. AsH_3) direkt in ein mit Iridium beschichtetes Graphitrohr geleitet. Das Iridium dient als Permanentmodifizier. Die Atomisierung erfolgt dann im Graphitrohr bei 2000°C . [18,3-13]

Weitere Möglichkeiten zur Atomisierung der Hydride können beheizte Quarzrohre, Graphitrohröfen, aber auch Diffusionsflammen sein. Bei der Graphitrohr-AAS können Temperaturen von bis 3000°C erreicht werden. Beheizte Quarzküvetten können nur 1000°C erreichen. Dies hat auch Auswirkungen auf die gasförmigen Atome. *Dédina et al.* hat anhand thermodynamischer Gleichgewichtsbedingungen nachgewiesen, dass Arsen und Selen bei Temperaturen unter 1000°C nicht als gasförmige Atome vorliegen. [35,470, 472]

Wie schon erwähnt hat die Hydridtechnik an sich den Nachteil, dass es zu einer hohen thermische Belastung der Quarzküvette bei der Arsenbestimmung kommt. Die GFAAS hat den Nachteil, dass keine Speziesanalytik möglich ist. [18,3-13]

Die Ankopplung des FIAS mit der GFAAS bietet einige Vorteile: [18,3-13]

- geringe spektrale Störungen, da der Analyt über die Gasphase von der Matrix abgetrennt wird
- niedrige Bestimmungsgrenze
- Spezies-Analytik ist möglich

4.6 Nachweisempfindlichkeit

Die Nachweisempfindlichkeit kann aus der Steigung der Kalibriergeraden berechnet werden. Oft wird in der Atomabsorptionsspektrometrie jedoch die charakteristische Masse als Maß für die Empfindlichkeit des Analyts angegeben. Sie ist definiert als diejenige Masse, die genau 1% des Lichtes absorbiert und 0,0044 Extinktionseinheiten hervorruft. [18,2-42] Die charakteristische Masse wird in $\text{pg Analyt} / 0.0044 \text{ A-s}$ angegeben.

Die folgende Tabelle zeigt eine Übersicht einiger charakteristischer Massen bei der Bestimmung mittels GFAAS.

Tabelle 4-1 *charakteristische Massen von Elementen bei der HGAAS-Bestimmung [6]*

Element	charakteristische Masse in $\text{pg } 0.0044 \text{ A-s}^{-1}$
As	40
Bi	60
Ir	232
Pb	30
Pd	52
Rh	24
Ru	45
Sb	55
Se	45
Sn	90
Te	50

5 Qualitätssicherungssysteme

5.1 Allgemeines zur Qualitätssicherung

Bei jeder bestehenden und neu entwickelten Methode müssen die ermittelten Werte durch Qualitätssicherung sichergestellt werden. Die analytische Qualitätssicherung hat einen hohen Stellenwert. Die Unempfindlichkeit einer Methode unter verschiedenen Matrixeinflüssen und ihre Beständigkeit werden durch sie gewährleistet. Eine wichtige Rolle nimmt dabei die Statistik ein, sie ermöglicht die Feststellung von Fehlern. Denn die Messwerte aus den Untersuchungen sind mit Fehlern behaftet, die sich in konstant- bzw. proportional-systematische und statistische Fehler unterteilen lassen. Dabei wird die Genauigkeit eines Analyseergebnisses durch die Richtigkeit und die Präzision des verwendeten Verfahrens bestimmt.

Die systematischen Fehler entstehen durch Matrix- oder Verfahrenseinflüsse und wirken sich auf die Richtigkeit des Ergebnisses aus. Statistische Fehler hingegen wirken sich auf die Präzision des Analyseergebnisses aus. Systematische Fehler können vermieden werden, aber statistische Fehler treten in jedem Fall auf und können nur verkleinert werden. Für die Bewertung der Präzision eines Analyseergebnisses werden Mehrfachmessungen genutzt, die durch eine statistische Auswertung Rückschlüsse auf die wahre Konzentration des Analyten zulassen. Im Folgenden werden verschiedene Elemente der Qualitätssicherung exemplarisch beschrieben. Zuerst wird auf die Untersuchung der Wiederfindung eingegangen und anschließend auf die einzelnen Verfahrenskenndaten der Kalibrierfunktion.

5.2 Überprüfung der Wiederfindung

Die Wiederfindungsrate (WFR) ist eines der wichtigsten Elemente der Qualitätssicherung, wenn es um die Entwicklung einer neuen Methode geht. Dabei wird jeder einzelner Schritt der Analysenmessung getestet und optimiert. Die

Wiederfindungsrate ergibt sich aus der Steigung der Wiederfindungsfunktion und sollte 100% betragen. Dies hieße, dass die Methode frei von methodischen, systematischen oder zufälligen Fehlern ist. Eine Wiederfindungsrate von 100% wird in der Realität nur selten erreicht, da es selbst bei einer homogenen Probe immer zu Schwankungen der Analytgehalte kommen kann.

Formel 5-1 *Wiederfindungsrate [19]*

$$WFR\% = \frac{x_a - x_{na}}{a} * 100\%$$

WFR%= Wiederfindungsrate des Analyts in Prozent

x_a = ermittelte Masse des Analyten in der aufgestockten Probe

x_{na} = ermittelte Masse des Analyten in der nicht aufgestockten Probe

a = zugesetzte Masse des Analyten

5.3 Statistische Grundlagen

Die entwickelten Methoden benötigen eine Kalibrierung, deshalb können viele wichtige Informationen aus der Kalibrierfunktion abgeleitet werden. Bei der Kalibrierung bekommt jeder Wert einen exakten Partner, z.B. die Standardkonzentration $1 \mu\text{g l}^{-1}$ eine Extinktion von 0,0458. Die erhaltenen Werte werden dann durch eine Gerade miteinander verbunden $y=a+bx$. Die Steigung der Geraden ist ein Maß für die Empfindlichkeit des Analyseverfahrens.

Formel 5-2 *Steigung der Kalibriergeraden [14]*

$$b = \frac{\sum(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sum(x_i - \bar{x})^2}$$

b = Steigung der Kalibriergeraden

x_i = i-ter Konzentrationspunkt

y_i = i-ter Einzelmesswert

Mit Hilfe des Korrelationskoeffizienten kann sichergestellt werden, dass die Kalibriergerade auch gerade ist. Dabei muss unbedingt vorher ein Grenzwert eingelegt werden, falls dieser dann unterschritten wird, muss die Kalibrierung nochmals durchgeführt werden.

Formel 5-3 *Korrelationskoeffizient [33]*

$$r = \sqrt{\frac{[(\sum x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})]^2}{\sum (x_i - \bar{x})^2 \sum (y_i - \bar{y})^2}}$$

r = Korrelationskoeffizient

x_i = i-ter Konzentrationspunkt

y_i = i-ter Einzelmesswert

\bar{y} = Mittelwert der Einzelmessungen

Die Standardabweichung s ist ein Maß für die Streuung der Messwerte um ihren Mittelpunkt. Je enger die Werte um den Mittelwert der Einzelmessung verteilt sind, desto kleiner ist die Standardabweichung. Sie wird nachfolgenden Formel berechnet.

Formel 5-4 *Standardabweichung [33]*

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}{n-1}}$$

s = Standardabweichung

n = Anzahl der Messungen

y_i = i-ter Einzelmesswert

\bar{y} = Mittelwert der Einzelmessungen

6 Probenvorbehandlung und Aufschluss

6.1 Probennahme und -vorbereitung

Die Probennahme hat eine sehr entscheidende Bedeutung für die Analyse. Wichtig ist die richtige Auswahl der Probe (welcher Fisch wird untersucht), dabei spielt auch die Größe der Probe (wird ein kompletter Fisch genommen oder nur das Filet) eine große Rolle. Aber auch die Art der Probennahme ist wichtig, um Kontaminationen zu vermeiden. Wenn es zu Fehlern bei der Probennahme oder der Vorbehandlung kommt, kann dadurch das gesamte Ergebnis falsch sein. Das Ziel des Untersuchungsverfahrens der § 35 LMBG ist es eine repräsentative und homogene Probe zu gewinnen, die frei von Sekundärkontamination ist. Dabei gibt es genaue Vorschriften welche Teile der Probe genommen werden, z.B. müssen bei Krustentieren oder kleinen Fische die Eingeweide noch vorhanden sein, falls diese mitgegessen werden. [1,1ff]

6.2 Probeneinwaage

Die Einwaage der ausgewählten tierischen und pflanzlichen Referenzmaterialien betrug zwischen 300 und 500 mg. Die Pulver wurden mit Wasser versetzt, dabei wurde darauf geachtet das feste Probenpartikel von den Gefäßwänden hinuntergespült wurden. Anschließend folgte der Probenaufschluss.

6.3 Probenaufschluss

Der Aufschluss ist nach der Probenahme und ihrem Homogenisieren der nächste Schritt. Hier werden die Analyten von den restlichen Matrixbestandteilen abgetrennt und in flüssiger Form als Probenlösung dem eigentlichen Bestimmungsschritt (z. B. AAS) zugeführt. [11]

Wichtigstes Ziel des Aufschlusses ist das vollständige Lösen einer Probe, wobei die Aufschlusslösung alle interessierenden Elemente bzw. Verbindungen in unveränderter Menge enthalten muss. Anorganische Substanzen sollen dabei komplett in lösliche Komponenten überführt werden und organische Substanzen vollständig mineralisiert werden. [11] Für die Elementspurenanalyse werden zudem folgende Anforderungen an das Aufschlussverfahren gestellt:

- Aufschluss muss einfach durchzuführen sein, ohne großen komplizierte Apparaturen und Arbeitsaufwand.
- das Aufschlussgerät muss über eine Reihe von Sicherheitseinrichtungen verfügen, damit der Aufschluss sicher erfolgt
- zur Gewährleistung reproduzierbarer Aufschlussbedingungen soll die Erfassung und Steuerung der Aufschlussparameter Druck und Temperatur gegeben sein
- chemisch und thermisch beständige hochreine Materialien, wie Teflon PFA und Quarzglas, sollten als Gefäßmaterialien zur Vermeidung systematischer Fehler eingesetzt werden. [11]

Probenaufschlüsse lassen sich in folgende Aufschlussverfahren unterteilen: Schmelzaufschlüsse, Nassaufschlüsse und Aufschlüsse durch Verbrennung. Auf einzelnen Verfahren wird jetzt noch im Einzelnen eingegangen. [35,659ff]

Die *Schmelzaufschlüsse* werden vorwiegend für mineralische Proben eingesetzt. Bei organischen Proben können die eingesetzten Aufschlussreagenzien (z.B. Lithiummetaborat, Natriumtetraborat) oft störend bei der späteren Bestimmung sein. [35,660]

Die *trockene Veraschung* wurde in den sechziger und siebziger Jahren zum Aufschluss biologischer Materialien verwendet. Dabei werden die organischen Bestandteile rückstandsfrei zerstört. Die Analyten hingegen werden mineralisiert. Diese Art der Aufschlüsse erfolgt bei 450-550°C unter Zusatz von Veraschungshilfen,

wie Magnesiumnitrat oder Salpeter- und Schwefelsäure. Die so gewonnene Asche wurde abgeraucht mit Schwefelsäure und in verdünnter Salzsäure gelöst. Problematisch ist bei diesen Aufschlüssen, dass oft zu niedrige Werte gefunden wurden. Während des Aufschlusses muss es zu Analytverlusten gekommen sein. Weiterhin sind die zugegebenen Veraschungshilfen oft störend bei der Graphitofenatomabsorption gewesen. [35,659ff]

Häufiger als die beiden oben genannten Verfahren wird das oxidative *Nassaufschlussverfahren* bei der Analyse mit FAAS und GFAAS eingesetzt. Dabei kann der Aufschluss in einem offenen oder geschlossenen System erfolgen. Im einem geschlossenen System können auch leicht flüchtige Analyten ohne Verlust aufgeschlossen werden und es kann sich leichter ein Druck aufbauen. Dies geschieht durch Abbau von organischen Bestandteilen zu Kohlendioxid, durch den entstandenen Druck wird die Aufschlusstemperatur gesteigert. Der Siedepunkt der eingesetzten Säuren erhöht sich. [35,660ff] Die von mir ausgewählten Proben wurden mit einem mikrowellenunterstützten Säureaufschluss in Lösung überführt. Dabei wurden die Proben mit 4,6 ml 65%iger HNO₃ versetzt. Die folgende Tabelle zeigt das dazu verwendete Programm.

Tabelle 6-1 *Verwendetes Aufschlussprogramm der Mikrowelle „MARS 5“ von CEM*

<i>Stufe</i>	<i>Energie in Watt</i>	<i>Rampe in min</i>	<i>Max. Druck</i>	<i>Temperatur in °C</i>	<i>Halten in min</i>
1	600	04:00	55,19	080	02:00
2	600	03:00	55,19	120	02:00
3	600	03:00	55,19	160	15:00
Cooling					

Während des Aufschlusses werden die Proben durch eine ständige Drehung gleichmäßig bestrahlt. Nach dem Aufschluss muss die gelöste Probe abkühlen. Für die As-Bestimmung sollte die Temperatur auf 40-50°C runterkühlen. Manche Arsenverbindungen sind leicht flüchtig und könnten bei einer zu schnellen Öffnung des Probenbehälters zu späteren Minderbefunden führen.

7 Entwicklung einer Methode zur Bestimmung von Arsen

Im folgenden Kapitel wird die Methodenentwicklung zur Bestimmung von Arsen in Lebensmitteln zuerst mittels Graphitofenatomabsorptionsspektrometrie und dann mit dem FI-HG-GFAAS Verfahren beschrieben. Hierbei werden alle notwendigen Entwicklungsschritte einer Methode mit den dazugehörigen Optimierungen in der Reihenfolge der Entwicklung dargestellt. Das folgende Schema veranschaulicht die Vorgehensweise bei einer Methodenentwicklung.



Abbildung 7-1 Schema einer Methodenentwicklung

Es ist erkennbar, dass die Methodenentwicklung mit dem letzten Schritt beginnt, und zwar mit der Messung, denn nur diese kann prüfen, ob die davor getanen Schritte richtig waren. Die entwickelte Methode wird als letzter Schritt anhand von Referenzmaterialien validiert.

7.1 Bestimmung von Arsen mittels GFAAS

7.1.1 Untersuchung wässriger Standardlösungen

7.1.1.1 Optimierung der Atomisierungstemperatur

Die Pyrolyse- und Atomisierungskurven sind eines der einfachsten und am längsten verwendeten Verfahren zur Optimierung der Pyrolyse- und Atomisierungstemperatur.

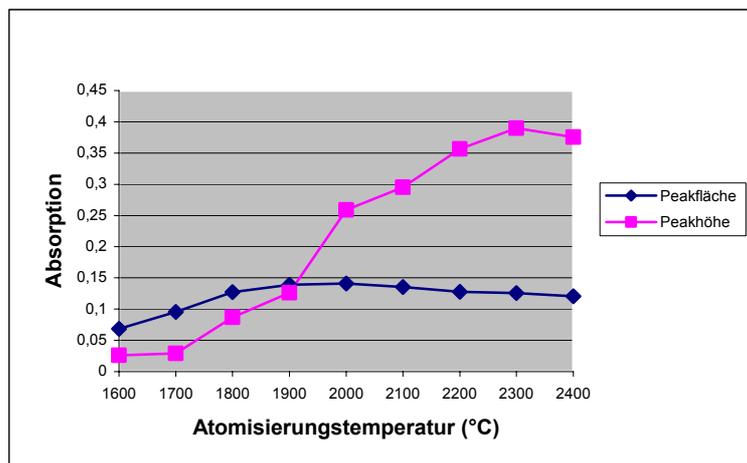


Abbildung 7-2 Optimierung der Atomisierungstemperatur

Zur Ermittlung der optimalen Atomisierungstemperatur wurde die Probe in das Graphitrohr dosiert und es folgte ein Trocknungsschritt. Anschließend wurde die Probe mit einer unbedenklichen Pyrolysetemperatur von 1200°C mineralisiert. Zur Bestimmung der korrekten Atomisierungstemperatur wurde ein Bereich von 1600°C bis 2400°C getestet.

Die Auswertung erfolgt über die Peakfläche. Wie in der Abbildung ersichtlich, durchliefen die Signalflächen bei 1900°C bis 2200°C ein Maximum. Ein Maximum in der Signalfläche ist typisch. Bei niedrigeren Temperaturen findet keine vollständige Atomisierung statt, während bei höheren Temperaturen die Verweildauer im Rohr

aufgrund verstärkter Diffusionsvorgänge verkürzt wird. Da die Belastung des Graphitrohres mit zunehmender Atomisierungstemperatur steigt, sinkt die Lebensdauer folglich immer weiter. Deshalb wurde als optimale Atomisierungstemperatur auf 2000°C festgelegt.

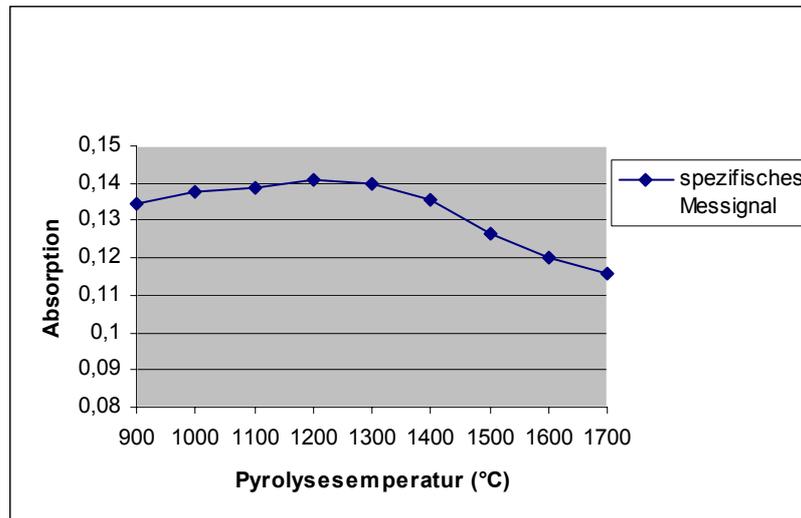


Abbildung 7-3 Optimierung der Pyrolysetemperatur

Zur Bestimmung der geeigneten Pyrolysetemperatur wurde diese in 100°C-Schritten von 900 bis 1700°C erhöht. Die Atomisierungstemperatur wurde währenddessen konstant bei 2000°C belassen. Zur Festlegung der optimalen Pyrolysetemperatur wurde das spezifische Messsignal herangezogen. Wie aus der Abbildung hervorgeht, war das spezifische Analytsignal bis zu einer Pyrolysetemperatur von 1300°C auf einem konstant hohen Niveau. Doch mit steigender Temperatur nimmt die Absorption ab. Die Pyrolysetemperatur wurde deshalb auf 1200°C festgelegt.

Die Atomisierungstemperatur hat einen großen Einfluss auf die Peakform. So kann man daran ableiten, ob die optimale Atomisierungstemperatur eingestellt wurde. Die Abbildung zeigt den Einfluss der Atomisierungstemperatur auf die Peakform am Beispiel von Blei.

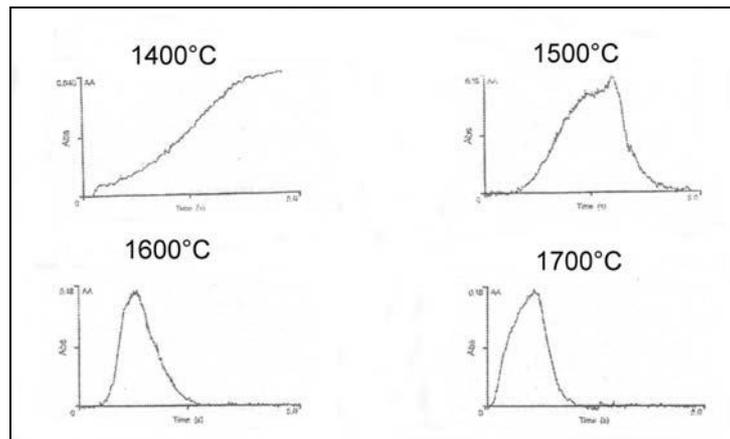


Abbildung 7-4 Einfluss der Atomisierungstemperatur auf die Peakform [18,2-47]

7.1.1.2 Optimierung der GFAAS Messparameter

Nachdem die Pyrolyse- und Atomisierungstemperatur bestimmt wurden, konnte ein optimiertes Heizprogramm für die Arsenbestimmung am Graphitrohr zusammengestellt werden. Zur Entlastung des Graphitrohres wurde längere Rampzeiten festgelegt.

Tabelle 7-1 Verwendetes Heizprogramm am AAnalyst 600

Step	Temperatur	Ramp Time	Hold Time	Internal Gas Flow	Read Step
1	110	5	20	250	
2	130	15	20	250	
3	1200	10	20	250	
4	2000	0	5	0	x
5	2450	1	3	250	

7.1.1.3 Optimierung der Kalibrierung

Da bei der Bestimmung von Arsen mittels Graphitofen keine Vorreduktion durchgeführt werden muss, ist das gesamte Verfahren einfacher und zeitsparender. Der As(V) Standard wird mit der höchsten gewünschten Konzentration für die Kalibrierung angesetzt. In der Methodenbeschreibung des Gerätes werden dann die gewünschten Konzentrationen der Kalibrierung eingegeben und der Autosampler stellt diese zusammen (s. Abb.). Wichtig ist die richtige Wahl der Konzentrationen, ist der Kalibrierbereich zu niedrig, müssen eventuell spätere Proben häufiger verdünnt werden, damit sie bestimmt werden können.

Tabelle 7-2 *Kalibrierungsdaten*

<i>Kalibrierstandard</i>	<i>Konzentration in $\mu\text{g l}^{-1}$</i>
Standard 1	20
Standard 2	50
Standard 3	70
Standard 4	100

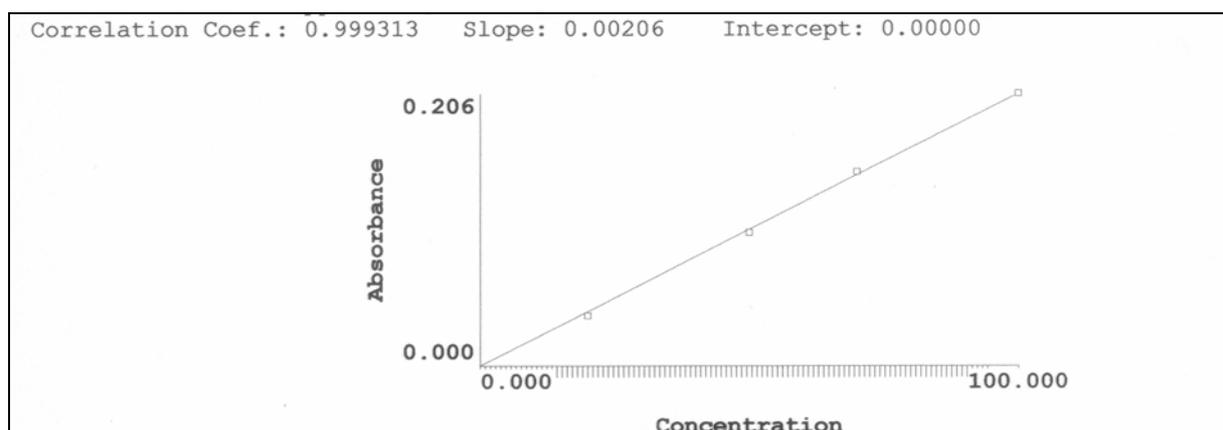


Abbildung 7-5 *Kalibriergerade*

Ein weiterer wichtiger Punkt bei der Bestimmung von Arsen am Graphitofen ist die Wahl des richtigen Modifier. Diese sollen eine Trennung von Analyt und Matrix im Pyrolyseschritt bewirken. Durch einen Einsatz von Modifiern kann die Pyrolysetemperatur erhöht werden und so störende Begleitsubstanzen abgetrennt werden, ohne dass sich der Analyt verflüchtigt. Dabei sollte der Modifier selbst von großer Reinheit sein, damit keine Blindwerte eingeschleppt werden. [35,438] Die nachstehende Tabelle zeigt den Einfluss des Modifier auf die Pyrolysetemperatur verschiedener Elemente.

Tabelle 7-3 *Maximal verwendbare Pyrolysetemperaturen ohne und mit Pg-Mg- Modifier [35,439]*

<i>Element</i>	<i>Maximale Pyrolysetemperatur °C</i>	
	<i>Ohne Modifier</i>	<i>Pg-Mg-Modifier</i>
As	300	1400
Cd	300	900
Hg	<100	250
Mn	1100	1400
Pb	600	1200
Sb	900	1200
Se	200	1000
Sn	800	1200
Te	500	1200
Zn	600	1000

Für die Bestimmung von Arsen wurde auf ein Gemisch aus Palladium und Magnesiumnitrat zurückgegriffen, der sich als besonders wirkungsvoll erwiesen hat. Der Mischmodifier kann ebenfalls zur Bestimmung anderer Elemente eingesetzt werden

7.1.2 Methodvalidierung anhand zertifizierter Standardreferenzmaterialien

Die optimierte Methode wurde anhand von zertifizierten SRM auf ihre Genauigkeit geprüft. Da die Methode in der Routineanalytik vielseitig einsetzbar sein muss, wurden verschiedene Pflanzen- und Tiermaterialien gewählt. Die genauen Handelsnamen der Referenzmaterialien sind in Kapitel 11.1 zu finden. Die Tabelle 7-4 gibt die gefundenen Arsengehalte in mg/kg und die Wiederfindungsraten für die verschiedenen Lebensmittelproben an.

Tabelle 7-4 *As-Wiederfindung in verschiedenen Lebensmittelproben*

<i>Referenzmaterial</i>	<i>zertifizierter Gehalt in mg/kg</i>	<i>gemessener Gehalt in mg/kg</i>	<i>Wieder- findung in %</i>
Muschelgewebe	5,9 ± 1,2	5,33 ± 0,15	94,8 ± 6,3
Rinderleber	0,024 ± 0,008	0,021 ± 0,007	94,0 ± 4,1
Schweineleber	0,044	0,043 ± 0,003	95,5 ± 8,3
Schweinefleisch	0,066 ± 0,011	0,051 ± 0,02	93,0 ± 4,9
Fischmehl	2,6 ± 0,46	2,43 ± 0,01	97,0 ± 3,2
Schweineniere	0,063 ± 0,018	0,055 ± 0,01	94,9 ± 6,4
Spinatpulver	0,102 ± 0,015	0,106 ± 0,003	96,4 ± 5,1
Reismehl	0,17 ± 0,02	0,172 ± 0,01	92,4 ± 4,6
Kohlpulver	0,131 ± 0,101	0,158 ± 0,01	91,7 ± 5,8
Katzenhai Gewebe	18,0	17,04 ± 0,05	97,2 ± 1,3
Austerngewebe	14,0 ± 1,2	13,82 ± 0,04	97,3 ± 3,2

Die Wiederfindungen der ausgewählten Proben liegen im Bereich von 100%, deshalb lassen sich konstant- sowie proportional-systematische Fehler ausschließen.

Die von *Schramel et al.* [28] dokumentierten Wiederfindungen von Arsen mittels HGAAS nach einem einfachen Mikrowellenaufschluss mit Salpetersäure konnten nicht bestätigt werden. Dabei wurden Werte im Bereich von 50% des zertifizierten Gehalts gefunden.

Tabelle 7-5 Wiederfindung von Arsen mittels HGAAS [28]

(* indikativer Referenzwert)

<i>Probenart (Referenzmaterialnummer)</i>	<i>zertifizierter As- Gehalt in $\mu\text{g g}^{-1}$</i>	<i>gefundener As- Gehalt in $\mu\text{g g}^{-1}$</i>
Muschel (BCR 278)	$5,9 \pm 0,2$	$2,3 \pm 0,7$
Muschel (NIES nr. 6)	$9,2 \pm 0,5$	$4,42 \pm 0,77$
Pflanze (BCR 60)	8*	$5,43 \pm 0,19$
Pflanze (BCR 61)	7*	$5,82 \pm 0,41$

Das von ihm untersuchte Referenzmaterial Muschel (BCR 278) wurde zur Validierung der, in dieser Arbeit, optimierten Methode genutzt. Es konnte hier der zertifizierte Gehalt bestätigt werden, obwohl der Mikrowellenaufschluss mit konzentrierter Salpetersäure erfolgte. Die Proben BCR 60 und BCR 61 wurden zur Methodvalidierung nicht verwendet, da es sich bei den vorgegebenen Arsengehalten nicht um zertifizierte Gehalte handelt.

7.1.3 Bewertung der entwickelten Methode

In der vorliegenden Arbeit wurde eine Methode entwickelt, mit der es möglich ist Arsen in verschiedenen Lebensmitteln mittels Graphitofenatomabsorption zu bestimmen. Durch die immer strenger werdenden Grenzwerte war eine Methode erforderlich, die eine Quantifizierung der Arsengehalte im ng g^{-1} Bereich ermöglicht. Dieses stellt hohe Anforderungen an die Effektivität und Robustheit der Methode.

Die Richtigkeit der entwickelten Methode konnte anhand von SRM bestätigt werden. Die zertifizierten Gehalte konnten bestätigt werden. Dabei handelte es sich hauptsächlich um marine Feststoffproben unterschiedlichen Arsengehalts. Die, von *Schramel* dokumentierten, Probleme bei der Bestimmung von Arsen mittels GFAAS konnten nicht bestätigt werden.

Die Methode muss jetzt noch an anderen Lebensmitteln getestet werden, wie Obst und Gemüse. Da in diesen Lebensmitteln aber erwartungsgemäß ein niedriger Arsengehalt und eine einfache Matrix vorkommen, dürfte es bei der Bestimmung zu keinen schwerwiegenden Problemen kommen. Die entwickelte Methode entspricht den an sie gesetzten Erwartungen. Der Probenaufschluss blieb unverändert und der Einsatz im Routinebetrieb eines Labors dürfte keine Schwierigkeiten bereiten. Positiv ist, das durch die volle Automatisierung des Systems eine hohe Durchlauftrate erreicht wird, so benötigt man für die Doppelbestimmung einer Probe etwa 3 Minuten. Dies ist ein sehr wichtiger Punkt in Bezug auf steigende Probenzahlen in der Lebensmittelkontrolle.

Die ermittelten Arsenwiederfindungen wurden in den erhaltenen Aufschlusslösungen bestimmt und waren alle im Bereich von 100%, welches für die Robustheit und Effektivität der Methode spricht. Durch die Teilnahme an Ringversuchen kann dieses überprüft und mit anderen Laboratorien verglichen werden.

Aus der Kalibrierfunktion wurden die wichtigsten analytischen Parameter Nachweisgrenze, relative Verfahrensstandardabweichung und Empfindlichkeit in Form von der charakteristischen Masse bestimmt. Sie wurden in der nachfolgenden Tabelle zusammengestellt, berechnet wurden sie mit Hilfe von Valoo 2.0.

Tabelle 7-6 *wichtige analytische Parameter*

<i>Parameter</i>	<i>Wert</i>
Steigung in A-s	0.0020 $\mu\text{g l}^{-1}$
Achsenabschnitt	0.0001 A-s
Nachweisgrenze	2.26 $\mu\text{g l}^{-1}$
charakteristische Masse	39,2 pg/0.0044 A-s
Relative Verfahrensstandardabweichung	1.6 %

7.2 Bestimmung von Arsen mittels FI-HG-GFAAS

7.2.1 Untersuchung wässriger Standardlösungen

7.2.1.1 Optimierung der Vorreduktion von As(V) zu As(III)

Für die Arsenbestimmung mittels FI-HG-GFAAS müssen alle Proben vorreduziert werden, das Arsen (V) wird zu Arsen (III) überführt. Dabei wurden verschiedene Verfahren erprobt. Der Gerätehersteller empfiehlt zur Vorreduktion eine Lösung aus Kaliumiodid und Ascorbinsäure. Es werden je 5 g Kaliumiodid und 5 g Ascorbinsäure in 100 ml ultrareinem Wasser gelöst. Die Reduktionslösung muss täglich frisch hergestellt werden. Die Vorreduktion ist nach 45 min abgeschlossen.

Die Vorreduktion muss bei den in Lösung gebrachten Proben und der Standardlösung für die Kalibrierung durchgeführt werden. Es ist zu beachten, dass eine Verdünnung vorgenommen wird, und zwar 1:10, da 1ml Probe mit 1ml konzentrierter Salzsäure und 1ml Kaliumiodid-Ascorbinsäure-Lösung versetzt und dann auf 10ml aufgefüllt werden.

Die Untersuchungen zeigten, dass dieses Verfahren sich nicht für Druckaufschlüsse eignet. Es wurden die Kalibrierstandards komplett vorreduziert und auch die charakteristische Masse von 50 pg/0.0044 A-s (+/-10%) wurde erreicht. Verschiedene Möglichkeiten der Vorreduktion wurden bisher publiziert. Dabei wird häufig auf ein Gemisch von Kaliumiodid und Ascorbinsäure zurückgegriffen.

- 3% w/v Kaliumiodid und 5% w/v Ascorbinsäure [2]
- 5% w/v Kaliumiodid und 5% w/v Ascorbinsäure 1h bei 50°C [28,124]
- Lösung aus Kaliumiodid und Ascorbinsäure bei 95°C [12]
- 20%ige Lösung aus Kaliumiodid und Ascorbinsäure [32]
- 20% w/v KI, sowie 20% w/v Ascorbinsäure in 10% w/v HCL, 20h [18]
- 10% w/v L-Cystein in 0,05 mol/L Salzsäure [32]

Viele dieser Methoden sind sehr zeitaufwendig oder haben einen hohen Einsatz an Chemikalien. Die Vorreduktion mit L-Cystein wird von vielen Quellen als schnelles und einfaches Mittel zur Reduktion von As(V) zu As(III) angegeben. [35,519; 21,384] Die folgende Abbildung zeigt am Beispiel von Antimon die Vorreduktion mit L-Cystein. Antimon muss ebenfalls für die Bestimmung mittels FI-HG-GFAAS von Sb(V) zu Sb(III) reduziert werden. Es ist ersichtlich, dass die Vorreduktion schnell abläuft und nach ca. 8 min bei 0.06M abgeschlossen ist.

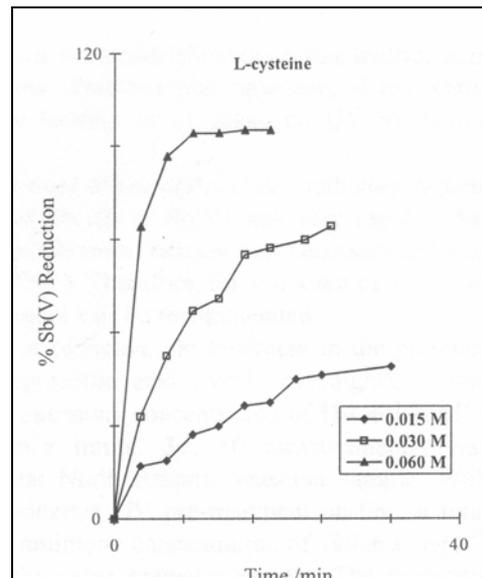


Abbildung 7-6 Wirkungsweise von L-Cystein am Beispiel Antimon [10]

L-Cystein reduziert rascher As(V) zu As(III) und ist für komplexe Matrices gut geeignet, da es in der Lage ist, zahlreiche Störungen zu beseitigen. [29] Weitere Reduktionsmittel, die zur Vorreduktion eingesetzt werden, sind Thioharnstoff, Thiosulfat, Natriumsulfit oder Titan(III)chlorid. Sie eignen sich besonders zur Vorreduktion von mehreren hydridbildenden Elemente, wenn diese simultan bestimmt werden sollen. [35, 519]

Die folgende Abbildung zeigt verschiedene Vorreduktionen und ihren Einfluss auf die Wiederfindungsrate.

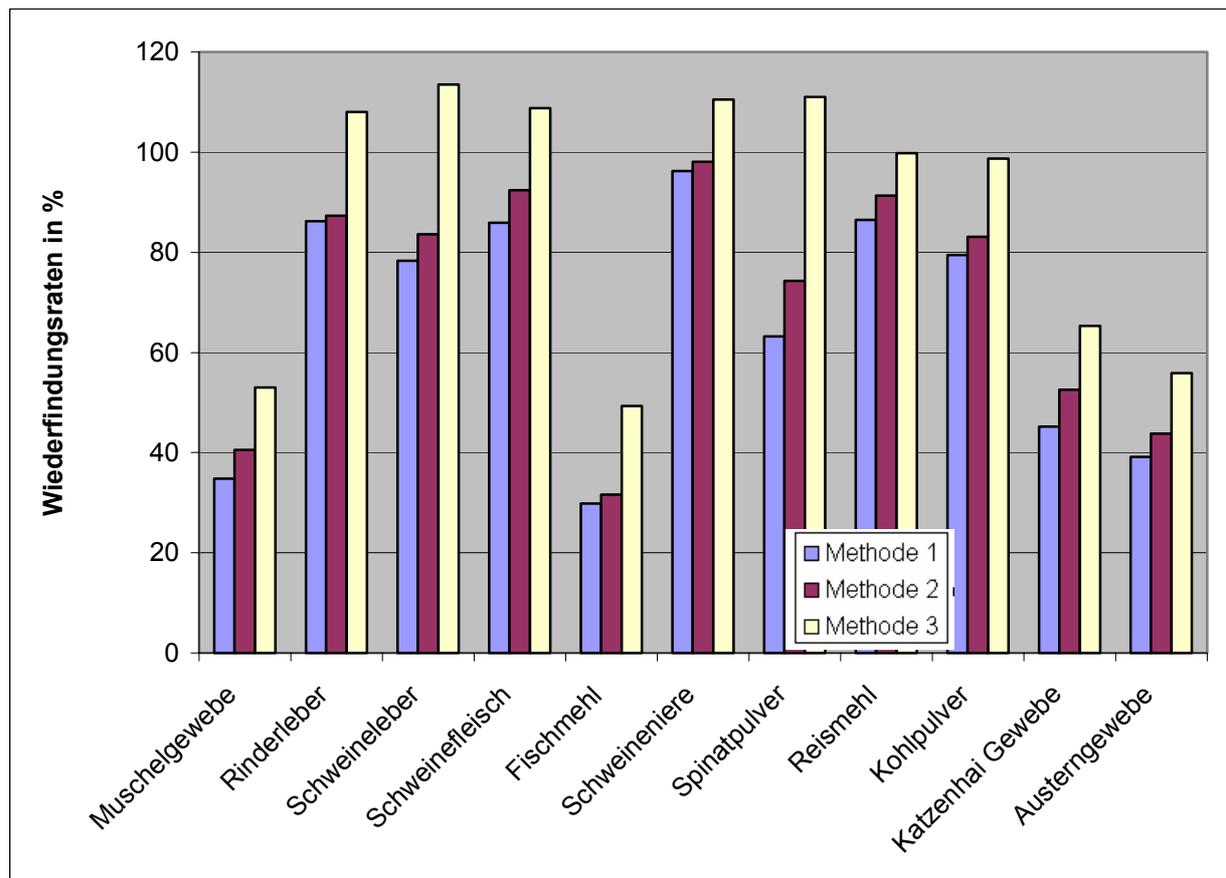


Abbildung 7-7 *Verschiedene Methoden der Vorreduktion von Referenzmaterialien*

Methode 1 = 5% w/v Kaliumiodid und 5% w/v Ascorbinsäure, Vorreduktion 1h

Methode 2 = wie Methode 1, Vorreduktion 1h bei 50°C

Methode 3 = 10% w/v L-Cystein in 0,05 mol/L Salzsäure, Vorreduktion 1h

L-Cystein konnte die Aufschlussproben besser vorreduzieren, als die Kaliumiodid-Ascorbinsäure-Lösung. Die Wiederfindungsraten der dritten Methoden waren höher als die der ersten und zweiten Methode. Aus diesem Grund wurden die Proben in der weiteren Untersuchung mit 10%iger L-Cystein-Lösung vorreduziert.

7.2.1.2 Optimierung FIAS-Verschlauchung

Eine höhere Ausbeute an Arsenhydrid kann durch eine längere Reaktionsschleife erreicht werden. Dafür wurde die Standardschleife von 5cm durch eine 20cm lange Reaktionsschleife ersetzt. Die folgende Abbildung zeigt typische Verschlauchung am FIAS.

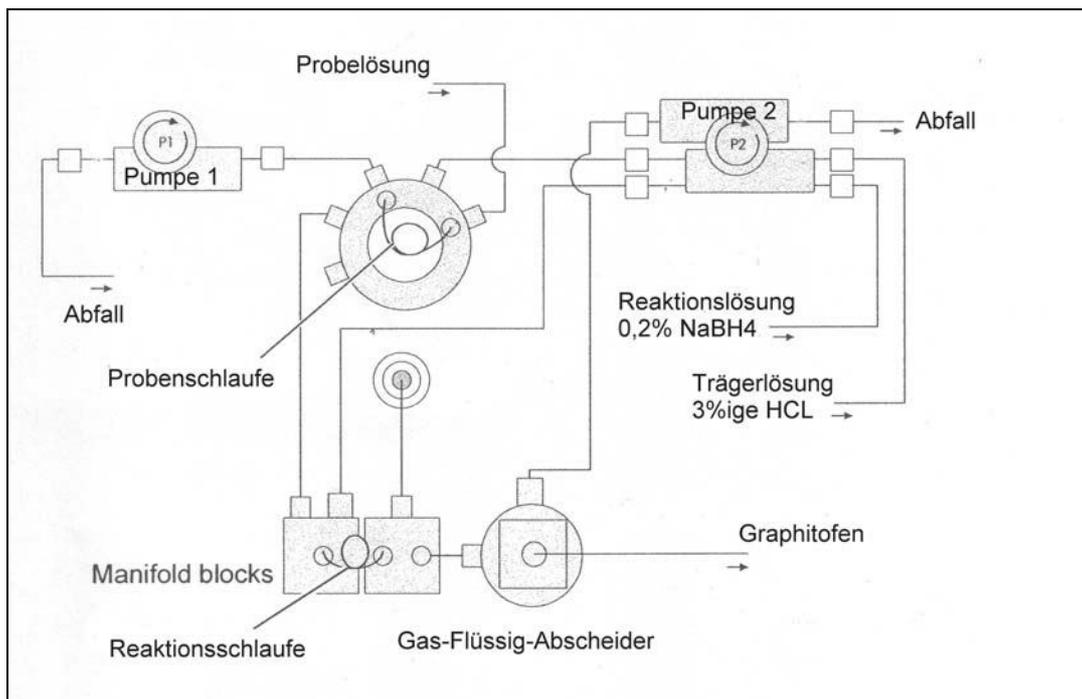


Abbildung 7-8 Verschlauchung am FIAS [7, 2-7]

7.2.1.3 Optimierung der FI-HG-GFAAS Messparameter

Die Hydridgenerierung im FIAS erfolgt mit einer Natriumborhydridlösung und verdünnter Salzsäure. Die Borhydridlösung muss jeweils frisch vor Gebrauch hergestellt werden, indem 1 g NaBH₄ eingewogen wird und mit einer 0,2% w/v NaOH Lösung (lösen von 1 g NaOH in 1 l ultrareinem Wasser) auf 500 ml aufgefüllt wird. Die verdünnte Salzsäure wird aus 100 ml konzentrierter Salzsäure (30%ige HCL) in 1l ultrareinem Wasser hergestellt und einem PE-Behälter aufbewahrt. In Untersuchungen konnte festgestellt werden, dass durch eine höhere

Natriumborhydridkonzentration höhere Extinktionen erzielt werden. Da die Lösungen täglich frisch hergestellt werden müssen, wurde sich aufgrund des höheren Chemikalieneinsatzes gegen eine 0,7%ige NaBH₄ Lösung entschieden. Eine hohe NaBH₄ Konzentration führt zu einer starken Reaktion mit den Proben, dabei kann es passieren das Flüssigkeit nicht komplett abgetrennt wird und in das Graphitrohr gelangt, dies führt zu geringeren Arsenfunden. Das weitere Arbeiten erfolgte mit einer 0,2%igen NaBH₄ Lösung. Die charakteristische Masse von 40 pg/0.0044 A-s wurde erreicht.

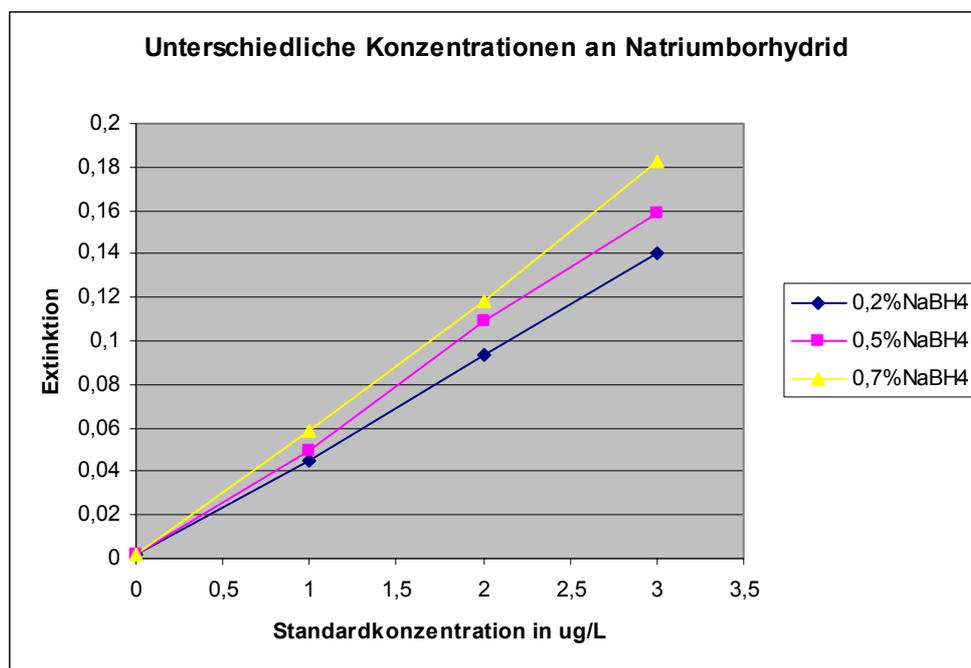


Abbildung 7-9 Optimierung der NaBH₄ Konzentration

Für die FI-HG-GFAAS Bestimmung müssen die Graphitrohre vor dem Gebrauch mit Iridium beschichtet. Iridium dient dabei als Permanentmodifier. Dazu werden 40 µl einer Iridium(III)chloridlösung in das Graphitrohr pipettiert und dann ein Konditionierungstemperaturprogramm gestartet. Dies wird dreimal wiederholt. Wichtig ist, dass die Temperatur nach der Iridiumbeschichtung nicht über 2300°C geht, da sonst der Permanentmodifier zerstört wird [18,3-14] und sich das Arsenhydrid nicht mehr an das Iridium anlagern kann. Durch die Iridiumbeschichtung sind auch höhere Analyt-Blindwerte zu verzeichnen, deshalb sollten vor Beginn der Analyse mehrer Blindmessungen durchgeführt werden.

Das FIAS Programm für die AS(III) Bestimmung wird in Tabelle 7-7 dargestellt.

Tabelle 7-7 FIAS Programm für die AS(III) Bestimmung

Schritt	Zeit in s	Pumprate der Pumpe 1 in $U \text{ min}^{-1}$	Pumprate der Pumpe 2 in $U \text{ min}^{-1}$	Ventil- stellung
Prefill	15	100	0	Fill
1	10	100	0	Fill
2	5	100	80	Fill
3	30	0	80	Inject

Die Tabelle 7-8 zeigt wichtigste Parameter für die FI-HG-GFAAS-Bestimmung.

Tabelle 7-8 Wichtige FI-HG-GFAAS Parameter

Parameter	Einstellung für die As- Bestimmung
Hydridgenerierung im FIAS	
Argonflussrate	120 ml/min
Länge der Reaktionsschleife	20 cm
Konzentration der NaBH_4 - Lösung	2 g/l
Volumen der Probenschleife	500 μl
Konzentration der HCL-Trägerlösung	3 %
GFAAS-Messung	
Lampentyp, -leistung	EDL, 370 mA
Wellenlänge	193,7 nm
Anreicherungstemperatur	400 °C
Atomisierungstemperatur	2100 °C
Schlitzweite	0,7nm (niedrig)
Signalmessung	Peakfläche
Integrationsdauer	5 s
Leseverzögerung	0 s
Untergrundkorrektur	Zeeman

In der Methode wird die Verknüpfung von FIAS und Graphitofen festgelegt. Die Abbildung veranschaulicht die oben genannten Systemparameter genau. Der zeitliche Ablauf ist präzise ersichtlich.

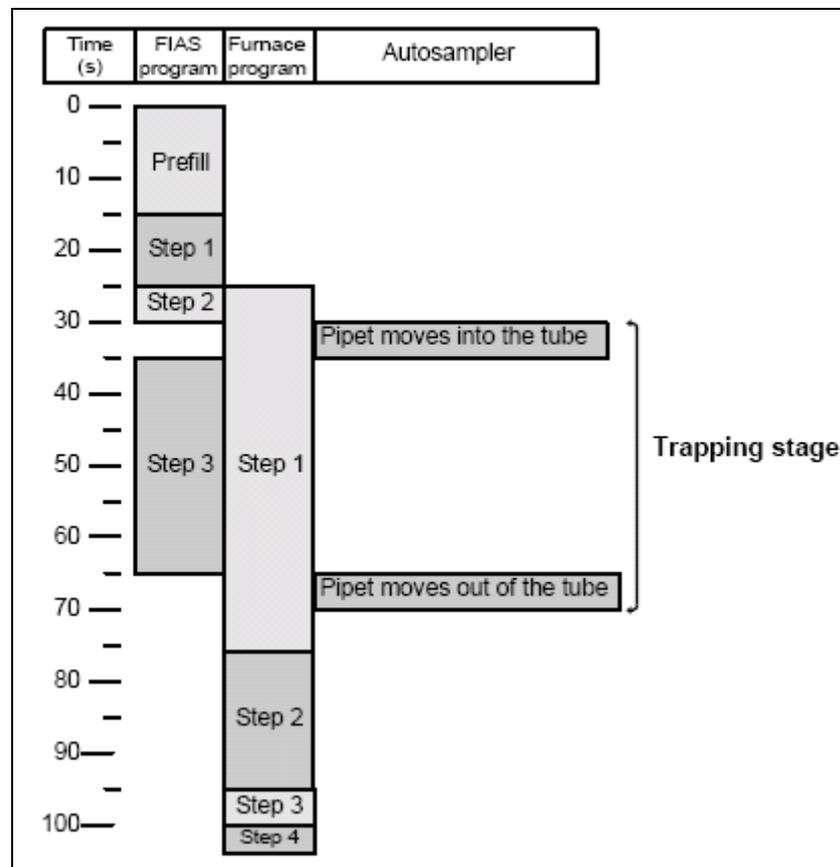


Abbildung 7-10 Systemparameter FI-HG-GFAAS [25]

7.2.1.4 Optimierung der Kalibrierung

Arsenstandardlösungen für die Kalibrierung wurden immer frisch aus einer schrittweisen Verdünnung einer Arsen(V)Stammlösung mit 3%iger Salzsäure hergestellt. Die Vorreduktion erfolgte mit 10%iger L-Cysteinlösung. Wie in Kapitel 7.1.1. schon erwähnt, wurden die Kalibrierlösungen mit der gleichen Menge Vorreduktionslösung und Säure versetzt, wie die Aufschlusslösungen. Der typische Kalibrierbereich ist in Tabelle 7-9 und die exakten Kalibrierdaten der WinLab Software (Firma Perkin Elmer) in der Abbildung 7-11 angegeben.

Tabelle 7-9 Kalibrierdaten für die FI-HG-GFAAS Bestimmung

Kalibrierbereich	Konzentration in $\mu\text{g l}^{-1}$
Standard 1	1
Standard 2	5
Standard 3	7
Standard 4	10

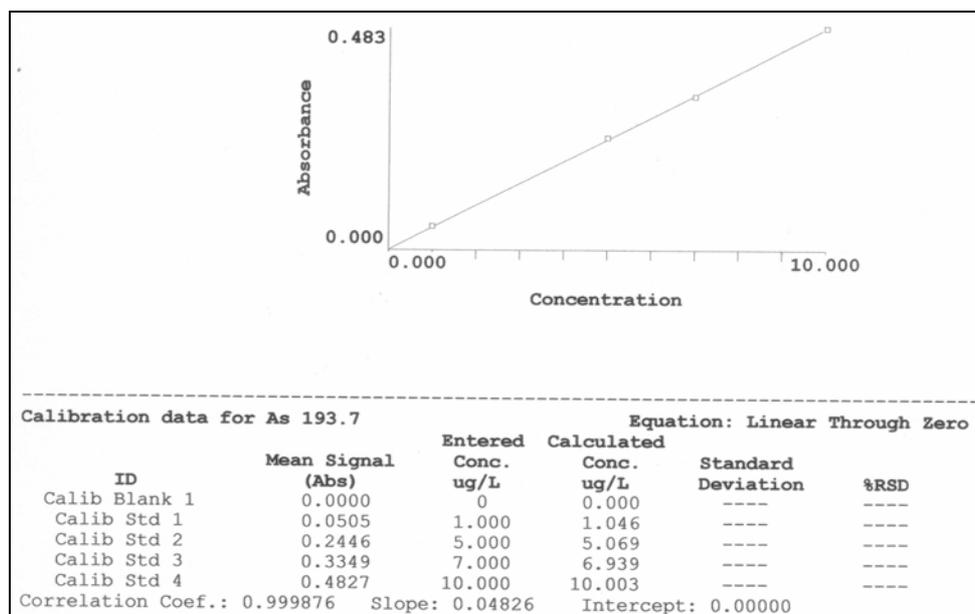


Abbildung 7-11 von WinLab erstellte Kalibrierdaten

7.2.1.5 Untersuchung auf Analytverschleppung

Zur Überprüfung des Systems wurde ein Versuch zur Bestimmung einer möglichen Analytverschleppung durchgeführt. Dabei wurde eine wässrige As(III) Lösung mit der Konzentration von $10 \mu\text{g l}^{-1}$ und eine 3%ige Salzsäurelösung genommen. Die Ergebnisse des Versuches werden in der Abbildung 7-12 gezeigt. Es wird deutlich, dass keine Analytverschleppung stattfindet. Ansonsten kann im FIAS Programm ein zusätzlicher Reinigungsschritt festgelegt werden.

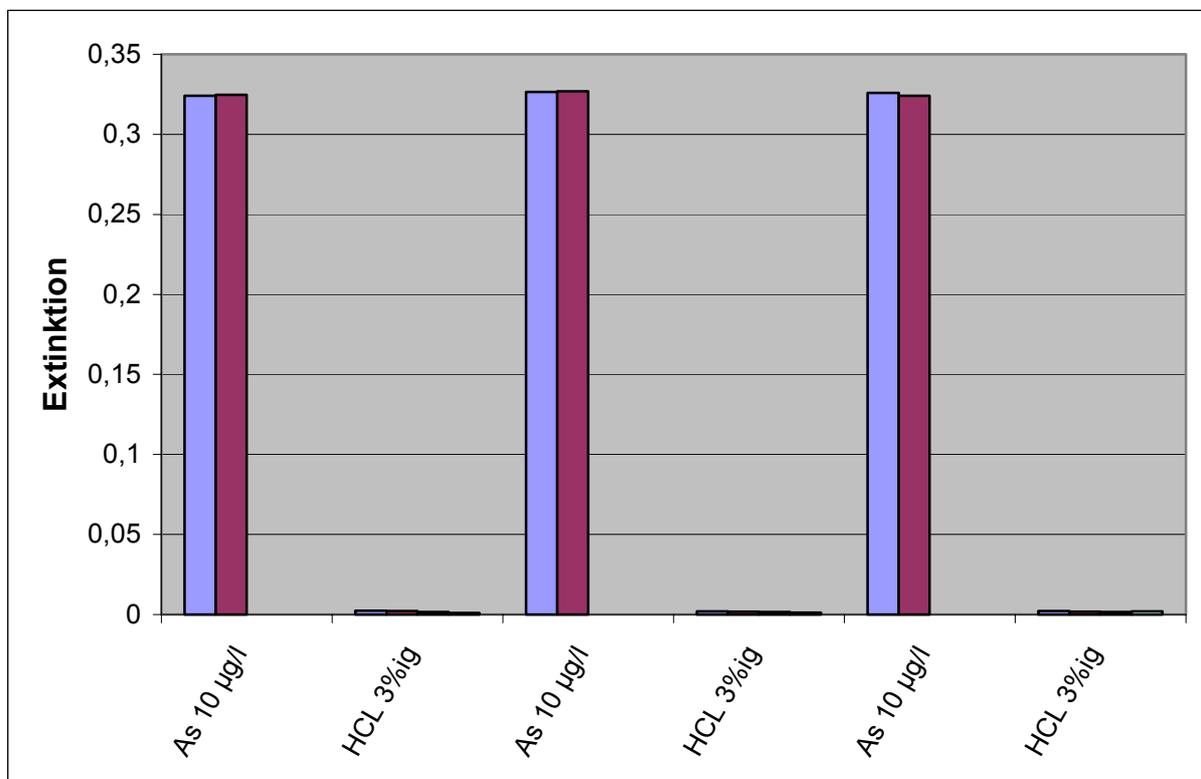


Abbildung 7-12 *Untersuchung einer möglichen Analytverschleppung*

7.2.2 Methodvalidierung anhand zertifizierter Standardreferenzmaterialien

Die Methode wurde anhand von zertifizierten Standardreferenzmaterialien geprüft. Dabei wurden die gleichen Referenzmaterialien gewählt, die auch schon bei der Bestimmung von Arsen mittel HGAAS verwendet wurden. Die Tabelle 7-10 gibt die gefundenen Arsengehalte in mg/kg und die Wiederfindungsraten für die verschiedenen Lebensmittelproben an.

Tabelle 7-10 As-Wiederfindung verschiedener Lebensmittelproben

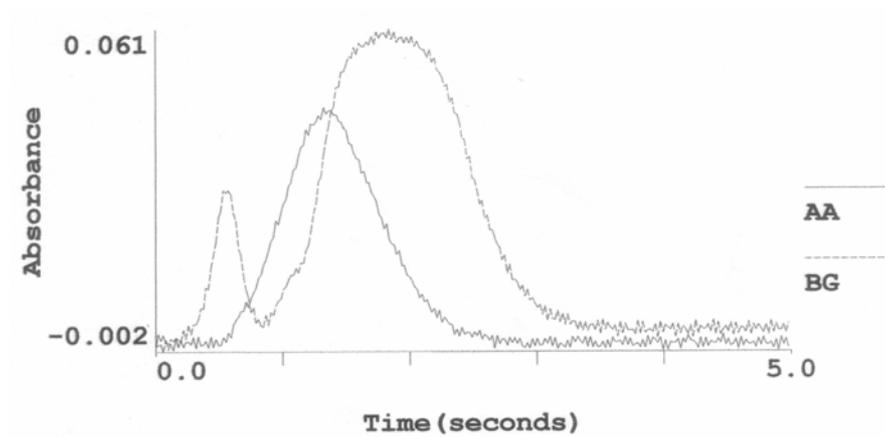
<i>Referenzmaterial</i>	<i>zertifizierter Gehalt in mg/kg</i>	<i>gemessener Gehalt in mg/kg</i>	<i>Wieder- findung in %</i>
Muschelgewebe	5,9 ± 1,2	2,8 ± 0,2	53,0 ± 5,9
Rinderleber	0,024 ± 0,008	0,024 ± 0,01	108,0 ± 9,3
Schweineleber	0,044	0,037 ± 0,01	113,5 ± 2,6
Schweinefleisch	0,066 ± 0,011	0,053 ± 0,02	108,8 ± 4,2
Fischmehl	2,6 ± 0,46	1,9 ± 0,2	49,3 ± 9,6
Schweineniere	0,063 ± 0,018	0,059 ± 0,01	110,5 ± 5,3
Spinatpulver	0,102 ± 0,015	0,096 ± 0,03	111,0 ± 7,4
Reismehl	0,17 ± 0,02	0,169	99,8 ± 1,2
Kohlpulver	0,131 ± 0,101	0,100 ± 0,03	98,7 ± 8,3
Katzenhai	18,0	7,45 ± 0,5	65,3 ± 9,9
Austerngewebe	14,0 ± 1,2	6,39 ± 0,6	55,9 ± 7,9

Zu geringe Arsengehalte wurden bei Muschelgewebe, Fischmehl, Katzenhai und Austerngewebe gefunden. Also solche Proben, die reich an Arsenobetain sind. Hier muss von einem systematischen Fehler ausgegangen werden. Die gefundenen Arsengehalte bei den anderen Referenzmaterialien waren im zertifizierten Streubereich und auch die Wiederfindungsraten lagen bei 100%, hier können konstant- sowie proportional-systematische Fehler ausgeschlossen werden.

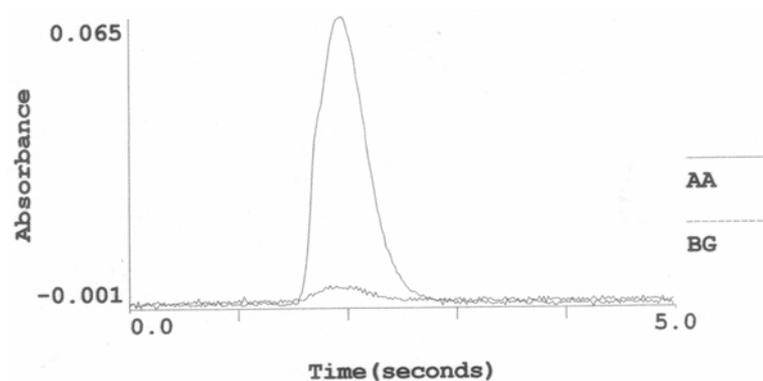
7.2.3 Bewertung der entwickelten Methoden

Die Bestimmung von Arsen mittels FI-HG-GFAAS ist ein aufwendigeres Verfahren als die Bestimmung mittels GFAAS. Aber das Verfahren bietet auch Vorteile, so ist eine Speziesanalytik möglich und auch die Bestimmung von anorganischem Arsen ist durchführbar. Weiterhin gibt es weniger Störungen durch den Untergrund (s. Abb).

AA= Analysesignal
BG= Untergrund



As-Bestimmung mittels GFAAS



As-Bestimmung mittels FI-HG-GFAAS

Abbildung 7-13 *Gegenüberstellung der Peaks bei GFAAS und FI-HG-GFAAS bei As-Bestimmung*

Die Validierung der Methode mittels zertifizierter Referenzmaterialien zeigte die Schwachstellen der entwickelten Methode auf. Sie erwies sich als fehlerhaft und überarbeitungsbedürftig. Vor allem die Lebensmittel mit einem hohen Anteil an Arsenobetain, wie Muscheln, Fisch und Austern haben sich als problematisch erwiesen. Ein Vergleich des Aufbaus dieser Verbindung und Dimethylarsinsäure (DMA), welches in Meerwasser und geringen Spuren in Algen vorkommt, zeigt die kommende Abbildung. Dabei ist der viel komplexere Aufbau des Arsenobetain erkennbar.

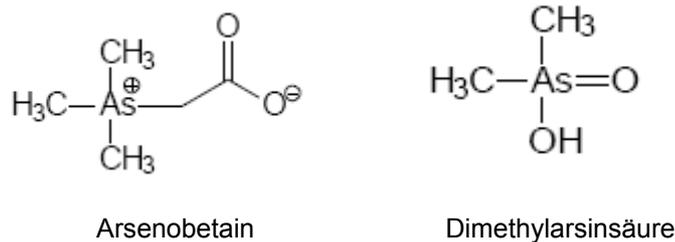


Abbildung 7-14 *Aufbau von Arsenobetain und Dimethylarsinsäure [28]*

Der Grund für den Fund geringere Arsenwerte in den marinen Proben kann am Probenaufschluss liegen, da hier die organischen Arsenverbindungen vollständig zersetzt werden müssen. Erfolgt dies nicht komplett, kommt es bei der Bestimmung zu Minderfunden. Es gibt aber vielversprechende Studien, die einen Mikrowellenaufschluss mit einem Reagenziengemisch aus Salpetersäure, Natriumperoxodisulfat und Natriumfluorid vorschlagen. Das Verfahren hat sich in der Studie als schnelle und einfache Methode bewährt. Dieser Aufschluss ermöglicht auch die direkte Bestimmung von Arsen(V), für eine solche Bestimmung müssen verschiedene Parameter am FIAS geändert werden. Die Validierung erfolgte mit zertifizierten Referenzmaterialien und Abbildung 7-11 zeigt einige Ergebnisse.

Tabelle 7-11 *gefundene Arsengehalte in Umweltproben [8]*

<i>Probe</i>	<i>Zertifiziert mg As kg⁻¹</i>	<i>Gefunden mg As kg⁻¹</i>
Plankton	6,82 ± 0,28	6,7 ± 0,1
Flusssediment	76,7 ± 3,4	73,3 ± 3,1
Seegurke	3,09 ± 0,30	2,9 ± 0,2
Kammmuschel	7,1 ± 2,1	6,7 ± 0,6
Scholle	4,6 ± 1,6	4,5 ± 0,1
Muschelgewebe	5,9 ± 0,2	6,0 ± 0,2
Hummer	25,0 ± 5	24,2 ± 2,4

Die gefundenen Arsengehalte entsprechen den zertifizierten, dieses Aufschlussverfahren könnte hilfreich sein, um die entwickelte Methode zu verbessern. Weitere Studien gehen davon aus, dass bei einem Aufschluss mit Salpetersäure eine Temperatur von 320°C erreicht werden muss, da sonst die stabilen Verbindungen Arsenocholin und Arsenobetain nicht vollständig mineralisiert werden. [29] Das, für den Aufschluss der Referenzmaterialien dieser Arbeit, verwendete Mikrowellenprogramm erwärmte die Proben nur auf 160°C. Die verwendeten Mikrowellengefäße haben eine max. Arbeitstemperatur von 300°C, d.h. es müssten neue Aufschlussgefäße erworben werden, die eine solche Arbeitstemperatur ermöglichen.

Die Vorreduktion mit L-Cystein hat sich als schnelles Verfahren zur Reduzierung von As(V) zu As(III) erwiesen. Ein Gemisch aus Kaliumiodid und Ascorbinsäure erfordert einen hohen Einsatz an Chemikalien und lange Reduktionszeiten von bis zu 24 Stunden, dieses lässt sich im Laboralltag nur schwer umsetzen.

Die wichtigsten analytischen Parameter wurden in der nachfolgenden Tabelle zusammengestellt, berechnet wurden sie mit Hilfe von Valoo 2.0.

Tabelle 7-12 *wichtige analytische Parameter*

<i>Parameter</i>	<i>Wert</i>
Steigung in A-s	0.0020 $\mu\text{g l}^{-1}$
Achsenabschnitt	0.0001 A-s
Nachweisgrenze	2.26 $\mu\text{g l}^{-1}$
charakteristische Masse	39,2 pg/0.0044 A-s
Relative Verfahrensstandardabweichung	1.6 %

Das FI-HG-GFAAS Verfahren ist arbeitsintensiver als die Arsenbestimmung mittels GFAAS. Die Bestimmung des toxischen anorganischen Arsens ist aber nur mit der Fias-Furnace-Kopplung möglich. Die Graphitofenatomabsorption kann nur den Gesamtarsengehalt einer Probe bestimmen. Da im Januar 2005 eine amtliche Methode [3] für die Bestimmung von anorganischem Arsen in Algen veröffentlicht wurde, ist davon auszugehen, dass die Bestimmung von anorganischem Arsen bedeutender wird und auch die Anforderungen an die Laboratorien dahingehen, dass dieses Verfahren eingesetzt wird.

8 Zusammenfassung

Schwermetalle gehören zu den natürlichen Bestandteilen unserer Erdkruste, einige von ihnen sind lebensnotwendige Bestandteile unserer Nahrung, beispielsweise Zink, Eisen und Kupfer. Andere Schwermetalle wie Blei, Cadmium oder Quecksilber können in hohen die menschliche Gesundheit schädigen. Aus diesem Grund ist eine der wichtigsten Aufgaben des Verbraucherschutzes: die Lebensmittelkontrolle. Im Vordergrund steht dabei die Erfassung von toxischen Elementen im Spurenbereich, deren Bestimmung ist dank neuester Technik immer effektiver.

Schwermetalle können durch verschiedene industrielle Verfahren in die Umwelt gelangen. Von dort gelangen sie über die angebauten Pflanzen oder über das Fleisch von Nutztieren in die Lebensmittel. Arsen ist ein ubiquitär vorkommendes Element, dessen Überwachung von Grenzwerten für Lebensmittel und Trinkwasser Analysemethoden erfordern, die eine schnelle und einfache Routinebestimmung erlauben.

In der vorliegenden Arbeit wurde eine Methode zur Bestimmung von Arsen in Lebensmittelproben mittels Atomabsorptionsspektrometrie entwickelt. Es wurde eine bereits bestehende Methode zur Bestimmung von Arsen mittels Graphitofenatomabsorptionsspektrometrie überprüft und optimiert. Weiterhin wurde eine neue Ankopplungstechnik (FI-HG-GFAAS) verwendet, die seit einigen Jahren auf dem Markt ist. Das gasförmige Arsin (AsH_3) wird aus der flüssigen Probenmatrix abgetrennt und in einem mit Iridium beschichteten Graphitrohr atomarisiert. Im Vordergrund stand dabei die Optimierung der technischen Parameter. Vorteile von der Arsenbestimmung mittels FI-HG-GFAAS sind, die Möglichkeit der Speziesanalytik und auch die Bestimmung von anorganischem Arsen. Weiterhin gibt es weniger Störungen durch den Untergrund.

Bei der Bestimmung mittels Graphitofen wurde mit der Optimierung der Atomisierungs- und Pyrolysetemperatur begonnen. Dafür wurden verschiedene Temperaturverläufe getestet und die vielversprechendsten in die Methode aufgenommen. Es wurde darauf geachtet, dass die Temperaturen nicht zu hoch stiegen, um die Lebensdauer des Graphitrohres zu verlängern. Es folgte die Festlegung des richtigen Matrixmodifizier. Ein Gemisch aus Palladium und Magnesiumnitrat hat sich sehr gut bewährt. Die Kalibrierung erfolgte über eine direkte Kalibrierung, dabei ergaben 4 Punkte eine Kalibriergerade. Dieses Verfahren eignet sich nur, wenn die Matrix der Bezugslösung und der Analyseprobe nicht zu verschieden sind.

Die so entwickelte Methode wurde anhand von zertifizierten Referenzmaterialien validiert. Es wurden tierische und pflanzliche Lebensmittel ausgewählt. Die zertifizierten Gehalte konnten durch das Analyseverfahren bestätigt werden. Die Wiederfindungsraten befanden sich im Bereich von 100%, dies lässt auf die Robustheit und Zuverlässigkeit der entwickelten Methode schließen. Die Methode kann jetzt durch Ringversuche mit anderen Laboratorien getestet werden.

Für die Entwicklung der Methode zur Bestimmung von Arsen mittels FI-HG-GFAAS wurden wässrige Versuchslösungen vorreduziert und anschließend gemessen. Es wurden einige Verfahren zur Vorreduktion erprobt und schnell erwies sich die Reduktion von As(V) zu As(III) als problematisch. Viele Verfahren sind sehr zeitaufwendig und in der Routineanalytik nicht einsetzbar. Schließlich erwies sich die Vorreduktion mit L-Cystein als vielversprechend. Es folgte die Optimierung der Verschlauchung am FIAS, eine längere Reaktionsschleife erhöht die Arsenwasserstoffausbeute. Die Erhöhung der Anreicherungszeit führte zu dem gleichen Ergebnis.

Die Validierung der Methode mittels zertifizierter Referenzmaterialien zeigte die Schwachstellen der entwickelten Methode auf. Die Wiederfindungsraten in Proben mit einfachen Matrixen wie Reismehl oder Kohlpulver lagen bei 100%, was auf eine fehlerfreie Methode schließen lässt. Aber die WFR bei komplexen

Lebensmittelproben, wie Muscheln und Austerngewebe lagen nur bei 50%. Diese Proben haben einem hohen Anteil an Arsenobetain. Dieses ist eine sehr stabile Arsenverbindung. Der Grund für den Fund geringerer Arsenwerte in den marinen Proben kann am Probenaufschluss liegen, da hier die organischen Arsenverbindungen vollständig zersetzt werden müssen. Der Probenaufschluss kann mit einem Reagenziengemisch aus Salpetersäure, Natriumperoxodisulfat und Natriumfluorid verbessert werden. Dieses Verfahren hat sich in der Studie als schnelle und einfache Methode bewährt.

Die Bestimmung von Arsen mittels Fias-Furnace-Kopplung ist ein arbeitsintensiveres Verfahren. Die Arsenbestimmung mittels GFAAS ist für die Routinebestimmung schneller und einfacher. Das toxische anorganische Arsen kann aber nur mit der Fias-Furnace-Kopplung bestimmt werden. Die Graphitofenatomabsorption kann nur den Gesamtarsengehalt einer Probe bestimmen.

Abstract

Arsen ist ein ubiquitär vorkommendes Halbmetall. In Lebensmittelproben kann es mit Hilfe von Atomabsorptionsspektrometrie bestimmt werden.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, eine Methode zur Bestimmung von Gesamtarsen in Lebensmittelproben mittels Atomabsorptionsspektrometrie zu entwickeln. Es wurde eine bereits bestehende Methode zur Bestimmung von Arsen mittels Graphitofenatomabsorptionsspektrometrie (GFAAS) überprüft und optimiert. Weiterhin wurde eine neue Ankopplungstechnik verwendet, die seit einigen Jahren auf dem Markt ist. Dabei wird das gasförmige Hydrid (AsH_3) in einem Fließinjektionsanalysensystem (FIAS) aus der flüssigen Probenmatrix abgetrennt. Das FIAS wird mit der Graphitofenatomabsorptionsspektrometrie gekoppelt. Die gebildeten Hydride werden in ein mit Iridium beschichtetes Graphitrohr übertragen. Die Atomisierung erfolgt dann im Graphitrohr.

Der Schwerpunkt dieser Arbeit wurde auf die Optimierung der verschiedenen Parameter, wie Geräteeinstellungen und Vorreduktion zur Bestimmung von Arsen mittels GFAAS und der Kopplung von einem FIAS mit der GFAAS gelegt. Zur Validierung der entwickelten Methode wurden verschiedene Referenzmaterialien mit bekannten Arsengehalten eingesetzt.

Abstract

Arsenic is a ubiquitous metalloid. It can be determined in food samples with atomic absorption spectrometry. The aim of this diploma thesis is the development of a new method to determine arsenic species in food samples.

An existing method to determine arsenic in food samples with GFAAS (Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry) was controlled and optimized. Also a new method was developed. There's a technique available. Arsenic is divided from the rest of the sample. This happens in a FIAS (Flow Injection Analysis System). The FIAS is connected to a GFAAS. The atomization takes place in the graphite tube.

The centre of this diploma thesis is the optimization of the different parameters, like the whole equipment and the pre-reduction of the arsenic samples. This was accomplished for the determination of arsenic with GFAAS and FI-HG-GFAAS. The new developed methods were proved with standardized reference materials.

9 Literaturverzeichnis

- [1] **Amtliche Methode L 00.00-65 (EG):** Untersuchung von Lebensmitteln, Probenvorbereitung und Analysemethoden für die amtliche Kontrolle von Lebensmitteln auf Einhaltung des Gehalts an Blei, Cadmium, Quecksilber und 3-MCPD, Mai 2002
- [2] **Amtliche Methode L 00.00-19/6:** Untersuchung von Lebensmitteln, Bestimmung von Spurenelementen in Lebensmitteln, Teil 6 Bestimmung von Gesamtarsen mit der Atomabsorptionsspektrometrie (AAS)-Hydridtechnik, 2001
- [3] **Amtliche Methode L 00.00-25.06-1:** Untersuchung von Lebensmitteln, Bestimmung von anorganischem Arsen in Algen mit der Atomabsorptionsspektrometrie (AAS)-Hydridtechnik, 2004
- [4] **Analytik Jena AG**, [http://lims.uni-
duisburg.de/Tagungen/UAT2000/Abstracts/Graphitrohr/Graphitrohr.pdf#search=%22
Methodenentwicklung%20aas%22](http://lims.uni-duisburg.de/Tagungen/UAT2000/Abstracts/Graphitrohr/Graphitrohr.pdf#search=%22Methodenentwicklung%20aas%22), Stand 25.08.06
- [5] **Baltes, W.** „Lebensmittelchemie“, 5. Auflage, Springer Verlag Berlin, 2000
- [6] **Benutzerhandbuch** “Atomic Spectrometry- Techniques and Recommended Conditions“, Perkin Elmer, Bodensee, Release 1.0, 1991
- [7] **Benutzerhandbuch**, Fias-Furnace Technique, User’s Guide, 1997
- [8] **Boch, Kerstin**, [http://deposit.ddb.de/cgi-
bin/dokserv?idn=967121795&dok_var=d1&dok_ext=pdf&filename=967121795.pdf](http://deposit.ddb.de/cgi-bin/dokserv?idn=967121795&dok_var=d1&dok_ext=pdf&filename=967121795.pdf),
Stand 25.08.06
- [9] **Bundesministerium für Verbraucherschutz**
[http://www.bvl.bund.de/clin_027/nn_494194/sid_0A04F9A8808DDA30DF4B2DC0E5
1D993D/DE/01__Lebensmittel/03__UnerwStoffeUndOrganismen/05__Schwermetalle
/schwermetalle.html__nnn=true](http://www.bvl.bund.de/clin_027/nn_494194/sid_0A04F9A8808DDA30DF4B2DC0E51D993D/DE/01__Lebensmittel/03__UnerwStoffeUndOrganismen/05__Schwermetalle/schwermetalle.html__nnn=true), Stand 26.08.2006
- [10] **Cabon, J.Y.**, Analytica Chimica Acta 504 (2004) 209-215
- [11] **CEM Mikrowellentechnik**, http://www.cem.de/documents/frameset_prdkt.html,
Stand 26.08.06
- [12] **D’Ulivo et. al.**, Talanta, 45 (1998) 801-806
- [13] **Daunerer** - Handbuch der Umweltgifte- Klinische Umwelttoxikologie für die Praxis, ecomed Medizin, 38. Erg.-Lfg.12/98
- [14] **Deutsches Institut für Normung e.V.:** Nachweis- Erfassungs- und Bestimmungsgrenze, Deutsche Norm DIN 32645 , Beuth-Verlag, Berlin, 1994

- [15] **Deutsches Institut für Normung e.V.:** Normenausschuß Materialprüfung (NMP), Deutsche Norm DIN 51401-1, Beuth-Verlag, Berlin, 1992
- [16] **Forth, Henschler, Rummel, Starke** „Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie“, 7 Auflage, Spektrum Verlag, 1987
- [17] **Holleman-Wiberg** „Lehrbuch der anorganischen Chemie“, 101. Auflage, Walter de Gruyter, 2005
- [18] **Huth, R.** „Schulungsunterlagen Atomabsorptionsspektrometrie“, Analytik Support, 2006
- [19] **Landesumweltamt Nordrhein-Westfalen,**
http://www.lua.nrw.de/veroeffentlichungen/merkbl/merkbl28_web.pdf#search=%22Formel%20WFR%22, Stand 27.08.06
- [20] **Lenntech,** <http://www.lenntech.com/deutsch/Data-PSE/As.htm>, Stand 26.08.2006
- [21] **Matusiewicz, H., Sturgeon R.E.,** Spectrochimica Acta Part B 51 (1996) 377-397
- [22] **Mortimer, C.E.** „Basiswissen der Chemie“, 6. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1996
- [23] **Nau, Steinberg, Kietzmann** „Lebensmitteltoxikologie, Rückstände und Kontaminaten: Risiken und Verbraucherschutz“, Parey im Blackwell Verlag GmbH, Berlin, 2003
- [24] **Naumer, H., Heller, W.** „Untersuchungsmethoden in der Chemie, Einführung in die moderne Analytik“, 3. Auflage, Wiley-VCH Verlag, Weinheim, 1997
- [25] **Perkin Elmer User´s Guide,**
<http://las.perkinelmer.de/content/Manuals/fifu%20user%27s%20guide.pdf>, Stand 28.08.06
- [26] **Perkin Elmer,**
<http://las.perkinelmer.de/content/RelatedMaterials/aa%20concepts%20book.pdf>, Stand 23.08.06
- [27] **Römpp,** Lexikon der Chemie, Hrsg: J. Falbe, M. Regnitz, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1996
- [28] **Schuster, M.** „Aufschlussmethoden zur Bestimmung von As in Lebensmitteln“, 2003 TU München, Foliensammlung
- [29] **Spurenelemente,**
http://www.gastrofacts.ch/support/dokumente/hygiene/slmb/45_spurenelemente.pdf#search=%22vorreduktion%20arsen%22, Stand 25.08.06
- [30] **Strubelt, O.** Gifte in Natur und Umwelt, Pestizide und Schwermetalle, Arzneimittel und Drogen, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin, Oxford, 1996

- [31] **Telepolis:** Bangladesh Arsen im Trinkwasser, Arsen im Reis
<http://www.heise.de/tp/r4/artikel/18/18958/1.html>, Stand: 09.08.06
- [32] **Tsalev et. al.**, Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 11 (1996) 979-988
- [33] **Valoo 2.0** analytik-software, 1999-2005
- [34] **Verbraucherschutzinformationssystem der bayrischen Staatsregierung**
http://www.vis-ernaehrung.bayern.de/de/left/fachinformationen/verbraucherschutz/unerwuenschte_stoffe/schwermetalle.htm, Stand 25.08.06
- [35] **Welz, B., Sperling, M.** „Atomabsorptionsspektrometrie“, 4. Auflage, WILEY-VCH Verlag, Weinheim, 1999
- [36] **Wikipedia**, <http://de.wikipedia.org/wiki/Atomspektroskopie>, Stand 30.08.06
- [37] **Wirth, Gloxhuber** „Toxikologie für Ärzte, Naturwissenschaftler und Apotheker“, 3. Auflage, 1981

Eidesstattliche Erklärung

Ich versichere, dass ich die vorliegende Arbeit ohne fremde Hilfe selbstständig verfasst und nur die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt habe. Wörtlich oder dem Sinn nach aus anderen Werken entnommene Stellen sind unter Angabe der Quelle kenntlich gemacht.

Unterschrift

10 Anhang

10.1 Verwendete Referenzmaterialien

Hier eine Auflistung der, in dieser Arbeit verwendeten, Referenzmaterialien. Bezogen wurden sie von der LGC Prochemo, Wesel. Das Spinatpulver war eine Sonderanfertigung und stammte aus Monitoringversuchen.

<i>Referenzmaterial</i>	<i>Hersteller Name</i>	<i>Handelscode</i>
Muschelgewebe	Mussel tissue	BCR No. 278
Rinderleber	Bovine Liver	BCR No. 185
Schweineleber	Pork Liver	CRM GBW8551
Schweinefleisch	Animal Muscle	T 18
Fischmehl	Fish Homogenat	MA-A-2/TM
Schweineniere	Pig Kidney	BCR No. 186
Spinatpulver	Spinach Leaves	Sonderanfertigung für Monitoring
Reismehl	Rice Flour	10 a Low Lev Cd
Kohlpulver	Bowen's Kale	RM, Juli 1983
Katzenhai Gewebe	Dogfish muscle	NRC DORM-2
Austerngewebe	Oyster Tissue	NBS 1566a

10.2 Verwendete Chemikalien

Chemikalien	Hersteller
Salpetersäure suprapur, 65%	Merck, Darmstadt
Salzsäure suprapur, 30%	Merck, Darmstadt
Ascorbinsäure, Normapur	VWR, Prolab
Kaliumiodid, p.a.	Merck, Darmstadt
Hydroxylammoniumchlorid, p.a.	Merck, Darmstadt
L-Cystein, für biologische Zwecke	Merck, Darmstadt
Palladium-Matrixmodifier (für Graphitofen-AAS)	Merck, Darmstadt
Arsen(V)Standardlösung, certiPUR	Merck, Darmstadt
Magnesiumnitrat	Merck, Darmstadt
Natriumhydroxid, p.a.	Merck, Darmstadt
Natriumborhydrid, p.a.	Merck, Darmstadt

10.3 Verwendete Geräte

AAS-Geräte:

FIAS-400 mit Autosampler As-90, Perkin-Elmer GmbH, Überlingen

GFAAS AAnalyst 600 mit Autosampler AS-800, Perkin-Elmer, Überlingen

Mikrowellengerät:

Mars 5, CEM GmbH , Kamp-Lintfort

Laborgeräte:

Analysenwaage, Sartorius

Trockenschrank, Heraeus

Reinstwasseranlage, Sartorius arium® 611

Ultraschallbad, Bandelin

Labormaterialien:

PE-Flaschen 50ml, Merck

FIAS Probengefäße 15ml und 50ml, Sarstedt

Glaskolben 100ml, Merck

Glaskolben 50 ml, Merck

Messzylinder, Merck

Spatel, Merck

Mikropipetten, Eppendorf