

Analytik von Blei, Selen und Iod mittels ICP-MS: Probleme und ihre Lösung Analysis of lead, selenium and iodine by ICP-MS: Problems and the answers

H. WAGNER

Zusammenfassung

Es werden analytische Probleme und ihre Lösung auf drei unterschiedlichen Ebenen vorgestellt: (1) ein für die ICP-MS-Technik typisches Interferenzproblem, das durch eine von den Instrumentenentwicklern bereit gestellte Methode gelöst wird; (2) ein für die Spurenanalytik typisches Blindwertproblem, das durch Einsatz geeigneter Laborgeräte, Arbeitstechniken und Analysenmaterialien gelöst wird; (3) ein elementspezifisches Problem der Probenaufarbeitung, das mit Hilfe der Kenntnisse bezüglich elementtypischer Reaktionen und der Radiotracer-Technik gelöst wird.

Summary

Analytical problems and their answers at three different levels are presented: (1) an interference problem, typical for ICP-MS analytical techniques, which is solved by a method provided by the instrumental designers; (2) a blank problem, typical for trace analysis, which is solved by the use of suitable laboratory equipment, laboratory techniques and reagents; (3) an element specific problem of sample preparation, which is solved by the knowledge about element specific reactions and by radiotracer techniques.

Schlüsselwörter ICP-MS – Blei – Selen – Iod

Key Words ICP-MS – lead – selenium – iodine

Einleitung

Die Möglichkeit, ein induktiv gekoppeltes Plasma (ICP, inductively coupled plasma) als Ionenquelle für die Massenspektrometrie (MS) einzusetzen, wurde erstmals 1981 beschrieben. Entsprechende Geräte sind seit 1983 kommerziell verfügbar.

Bei der hier eingesetzten Variante dieser Technik wird die gelöste Probe mittels eines Argongasstroms feinst zerstäubt und gelangt in die sog. Fackel (Torch). Dort erzeugt ein hochfrequentes elektromagnetisches Feld in diesem Aerosol induktiv bei ca. 7000 °C das so genannte Plasma, das zu einem beträchtlichen Anteil aus Elektronen und geladenen Atomen besteht. Die geladenen Teilchen gelangen durch zwei feine Blenden (Cones) in den Vakuumteil des Systems, werden durch ein elektromagnetisches Linsensystem gebündelt,

den analytischen Vorgaben entsprechend nach ihrer Masse getrennt und bei der Detektion in einem Elektronenvervielfacher einzeln oder als Strom gemessen. Als Massensfilter wird vorwiegend ein aus vier Metallstäben bestehendes so genanntes Quadrupol eingesetzt, an dem eine Gleichspannung und eine Hochfrequenzspannung anliegen. Abhängig von deren Frequenz und Amplitude können nur Ionen mit einem bestimmten Verhältnis von Masse zu Ladung die Quadrupolanordnung passieren.

Quadrupolgeräte sind kompakter, preiswerter und leichter handhabbar als Sektorfeldgeräte. In letzteren werden zur Filterung elektrische und magnetische Felder eingesetzt, sie besitzen eine wesentlich bessere Massenauflösung als Quadrupolgeräte. Im Allgemeinen reicht es im Rahmen der anorganischen Analytik jedoch

aus, wenn atomare Masseneinheiten aufgelöst werden können. Auf eine der Ausnahmen wird unten eingegangen.

Die Vorteile der ICP-MS sind:

- Sie besitzt sehr gute Nachweisgrenzen, resultierend aus großer Empfindlichkeit bei geringem Untergrund.
- Sie ist multielementfähig, mehrere Isotope können nahezu gleichzeitig bestimmt werden. Lediglich die leichteren Elemente (wie Kohlenstoff, Stickstoff, Sauerstoff) eignen sich nicht für die Analytik mit ICP-MS.
- Sie besitzt einen großen Messbereich zwischen ca. 1 ng/kg und 100 mg/kg.
- Die Messung von Isotopenverhältnissen ist möglich, was z.B. für die Identitätsprüfung oder Herkunftsbestimmung genutzt werden kann.
- Die Spektren sind vergleichsweise einfach.
- Der Zeitbedarf je Einzelmessung ist gering (ca. 0,01 sec bis 1 sec, je nach Konzentration des zu quantifizierenden Stoffes).
- Es existieren vielfältige Kopplungsmöglichkeiten (auch mit chromatografischen Verfahren).

Als Nachteile sind zu nennen:

- Es treten Überlagerungen mit anderen Plasmaspezies (geladenen Teilchen) auf. Dies können sein:
 - Einzelionen gleicher Masse
 - Molekülionen gleicher Masse
 - doppelt geladene Ionen mit doppelter Masse, da für die Filterung im Quadrupol das Verhältnis von Masse zu Ladung ausschlaggebend ist.
- Man erhält keine Information über die Bindungsform der Analyten. Hierfür müssen zusätzliche Selektionsverfahren wie z. B. ein vorgeschaltetes chromatografisches Verfahren angewendet werden.
- Der Einfluss der Probenmatrix ist wegen der Variation von Oberflächen-

spannung, Viskosität und Ionisationsgrad merklich und muss ggf. durch spezielle Verfahren korrigiert werden.

- Die Messungen sind nur quasisimultan, die zu analysierenden Isotope werden sequentiell abgefragt, was wegen der längeren Messzeiten speziell bei sich zeitlich verändernden Analytenströmen unerwünscht sein kann.

An drei Beispielen aus der Praxis werden im Folgenden bei der ICP-MS-Analytik auftretende Probleme und ihre Lösung dargestellt.

Untersuchungen zum Selentransfer Pflanze-Schaf in Bergregionen Bulgariens

Diese Untersuchungen wurden in Zusammenarbeit mit Wissenschaftlern aus Bulgarien durchgeführt, um Informationen über den Selenstatus der Bevölkerung aus einer bestimmten Region Bulgariens zu gewinnen, die sich primär von regional erzeugten Lebensmitteln ernährt (WAGNER *et al.* 2004). Fleisch (insbesondere Organe) ist die Hauptquelle des essentiellen Elements Selen in der menschlichen Ernährung. Aufgrund der geologischen Verhältnisse ist von einem relativ geringen Selentransfer vom Boden in die Futterpflanzen der Schafe auszugehen. Deshalb wurde die Nahrungskette Boden-Pflanze-Tier auf ihren Selenstatus untersucht. In der Tat konnte an den zwei Beprobungsorten in den Futterpflanzen ein deutliches Selendefizit festgestellt werden, wobei von einem erforderlichen Selengehalt von minimal 100 µg/kg Trockenmasse ausgegangen wird (Abb. 1). Dieser Befund trifft auch auf die Tiere zu, deren Selenkonzentration in Muskeln und Organen unter den entsprechenden Literaturwerten liegt (Tab. 1). Eine entsprechende Supplementierung der Ernährung von Mensch und Tier sollte daher vorgesehen werden.

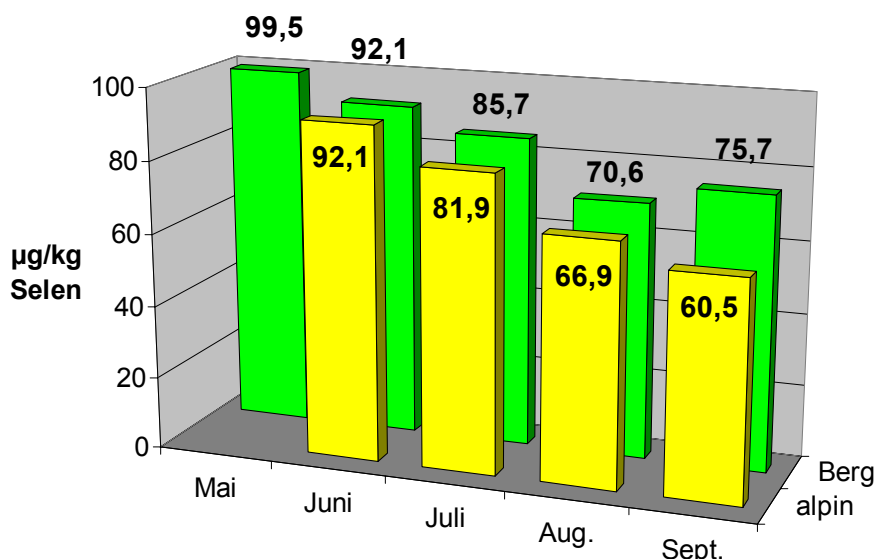


Abb. 1: Selengehalt in Weidegras in Abhängigkeit von der Jahreszeit und der Höhe des Beprobungsorts über dem Meeresspiegel ($\mu\text{g Se/kg Pflanzenmaterial (TG)}$)

Tab. 1: Selenstatus von Schafen aus einem Selenmangelgebiet mit Vergleichswerten

Indikorgewebe (n=6)	Se-Konzentration ($\mu\text{g/kg TS}$)	Referenzwert ($\mu\text{g/kg TS}$)
Herzmuskel	279 ± 34	900 - 1000
Muskel- <i>semimembranosus</i>	129 ± 23	200 - 250
Muskel- <i>long. dorsi</i>	119 ± 17	200 - 250
Leber	255 ± 44	500 - 1000
Niere	984 ± 80	2000 - 5000
Milz	384 ± 64	500 - 900

Referenzwerte von ANKE *et al.* (1994, 1997); ULLREY (1987)

Tab. 2: Isotopenhäufigkeit des Elements Selen

Isotopenmasse	74	76	77	78	80	82
Se-Isotope, Häufigkeit %	0,89	9,36	7,63	23,78	49,61	8,73
Interferenz		$^{36}\text{Ar}^{40}\text{Ar}^+$	$^{37}\text{Cl}^{40}\text{Ar}^+$	$^{38}\text{Ar}^{40}\text{Ar}^+$	$^{40}\text{Ar}_2^+$	$^{40}\text{Ar}^{42}\text{Ca}^+$

Zur quantitativen Bestimmung des Selen werden die tierischen und pflanzlichen Proben in einem Mikrowellengerät mit Salpetersäure verascht und die Lösung in der ICP-MS gemessen. Hierbei besteht das Problem, dass die Massen der für die Auswertung relevanten Se-Isotope übereinstimmen mit denjenigen von Molekülionen, die Argonate enthalten (Tab. 2). Ungünstigerweise interferieren gerade die

beiden häufigsten und daher hinsichtlich der Bestimmung unter diesem Aspekt am besten geeigneten Se-Isotope mit den Molekülpeaks von Argon-Dimeren. Der Quadrupol-Massenfilter erlaubt mangels entsprechenden Auflösungsvermögens keine Differenzierung zwischen den Se-Isotopen und den Molekülpeaks. Um dieses auch bei anderen Elementen auftretende Problem auszugleichen, wurde

von den ICP-MS Entwicklern – in diesem Fall handelt es sich um ein AGILENT 7500C – eine so genannte Kollisions- bzw. Reaktionszelle vorgesehen, die sich zwischen dem elektrostatischen Linsensystem und dem Massenfilter befindet und als zusätzliches Fokussierungselement einen Octopol enthält, ein System aus 8 Metallstäben, an dem eine Hochfrequenzspannung anliegt. Die Argondimere reagieren mit den Molekülen eines sehr schwachen Wasserstoffstroms zu dem Molekülion Ar_2H^+ , das aufgrund der Massenänderung vom Octopol abgetrennt wird, während die Se-Ionen weitgehend ungestört zum Quadrupolfilter gelangen, wenn Gasstrom und Octopolparameter korrekt eingestellt werden. Falls bei anderen Elementen keine spezifische Reaktion genutzt werden kann, besteht die Möglichkeit des Betriebs als Kollisionszelle mit Helium, da bei Dimeren aufgrund ihres Volumens die Wahrscheinlichkeit eines Zusammenstoßes und damit einer Energieveränderung größer ist.

Blei in Rohmilch

Diese Untersuchungen werden in Zusammenarbeit mit dem Standort Kiel der BfEL durchgeführt. Sie ergeben sich durch die Notwendigkeit der Milchuntersuchung nach §§ 16, 16a der Milchverordnung (betriebseigene Kontrollen und Nachweise

bzw. Rückstandsuntersuchungen) und nach §§ 50-52 des Lebensmittel- und Futtermittelgesetzbuches (Monitoring). Fallweise ist für den Export eine Zertifizierung des Gehalts an Pb, As und Hg erforderlich. Eine EU-Verordnung gibt einen Grenzwert von 20 $\mu\text{g Pb/kg}$ Milch (FG) vor. Untersucht wurde Vorstapelmilch aus Molkereien der Milcherzeugervereinigung Schleswig-Holstein e.V. Die Milch gelangt vom Erzeuger über Tankwagen in die Vorstapelbehälter, das Untersuchungsmaterial ist also hochgradig vermischt. Die Bleikonzentration bewegt sich bei einem Median von 0,66 $\mu\text{g/kg}$ mit einer Ausnahme deutlich unter dem Grenzwert (Abb. 2). Die Analytik umfasst das Entfetten und Lyophilisieren der Milch (wird in Kiel durchgeführt), die Mikrowellenveraschung mit Salpetersäure und die Messung mittels ICP-MS. Ein Problem stellen die Bleibindwerte dar, die sich in der Größenordnung der Bleiwerte in den Messlösungen bewegen. Hierfür können folgende Ursachen ausgemacht werden:

1. Die Oberfläche von Glasgefäßen wirkt wie ein Ionenaustauscher. Hydroxid- bzw. Silanolgruppen können Kationen aus Lösungen binden und bei Kontakt mit Säuren wieder abgeben. Abhilfe bietet das Ersetzen der Glasgefäße und -geräte durch entsprechende Kunststoffartikel.

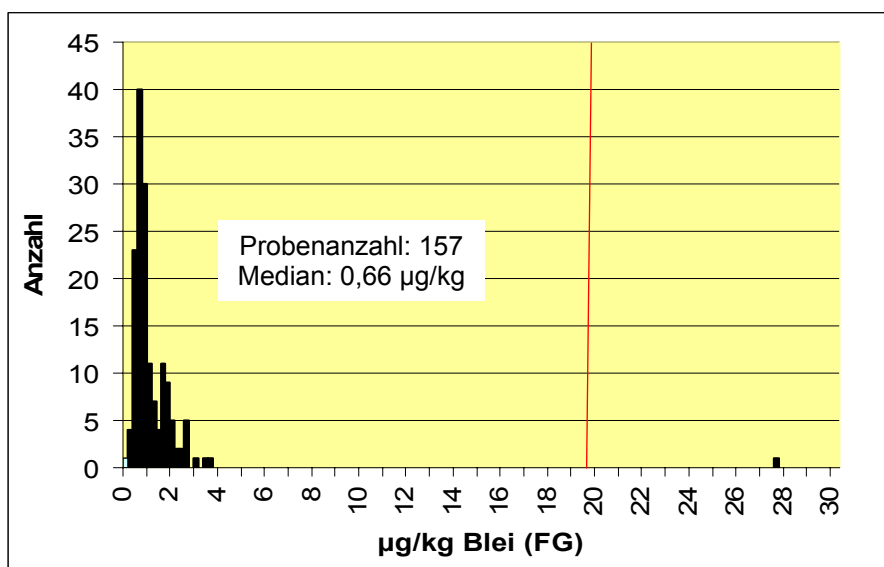


Abb. 2: Bleikonzentration in Milchproben ($\mu\text{g Pb/kg}$ Milch (FG))

2. Partikel aus der Luft verursachen Sekundärkontaminationen. Dieser Effekt ist, wie auch der von Ursache 1. bedingte, nicht reproduzierbar. Eine optimale Gegenmaßnahme wäre das Arbeiten in einem Reinraum. Falls dieser nicht vorhanden ist, muss auf weitestgehende Vermeidung der Staubexposition von Messlösungen und offenen Gefäßvolumina durch Abdecken und Verschließen von Gefäßen geachtet werden.
3. Der Chemikalienblindwert kann zu hoch sein. Es ist darauf zu achten, dass Chemikalien (in diesem Fall Salpetersäure) entsprechenden Reinheitsgrades eingesetzt werden. Durch herkömmliche Destillation beim Siedepunkt gereinigte Säuren weisen um einen Faktor von ca. 100 höhere Konzentrationen von Verunreinigungen auf als durch „subboiling“ gereinigte. Bei letzterem Verfahren werden die Reagenzien unterhalb ihres Siedepunktes verdampft und kondensiert, so dass die Entstehung eines Verunreinigungen enthaltenden Aerosols vermieden wird. Für Blei in konzentrierter Salpetersäure bedeutet dies gemäß Analysenzertifikat eine Reduktion von 0,3 µg Pb/kg Säure auf 1 ng Pb/kg.

Im vorliegenden Fall bedeutet dies, dass einem Medianwert der Proben von 0,33 µg Pb/kg Messlösung ohne Gegenmaßnahmen ein Blindwert von etwa 0,5 µg Pb/kg Messlösung (nicht reproduzierbar) gegenübersteht. Werden die Maßnahmen unter 1. und 2. konsequent durchgeführt, kommt der (zumindest innerhalb einer Charge) reproduzierbare Chemikalienblindwert zum Tragen, das sind bei der vorliegenden Konzentration der destillierten Säure 0,15 µg Pb/kg Messlösung. Falls der Blindwert weiter reduziert werden soll, muss die destillierte Säure durch ein entsprechendes Produkt vom Reinheitsgrad „subboiled“ ersetzt werden. Wenn auch die Kontaminationsquellen nach 1. und 2. entsprechend ausgeschaltet werden, ist damit ein Blindwert von 0,5 ng Pb/kg Messlösung erreichbar.

Der Beitrag von Fleischprodukten zur Iodversorgung der Bevölkerung

Deutschland ist geologisch bedingt ein Iodmangelland. Auf Grund des dadurch bedingten Mangels an Schilddrüsenhormonen früher relativ häufig auftretende Stoffwechselstörungen bzw. Erkrankungen wurden durch die Einführung iodierten Kochsalzes deutlich reduziert. Hierfür wird Kaliumiodat (KIO_3) zugefügt, so dass im Salz eine Konzentration von ca. 20 mg Iod/kg vorliegt. Seit 1991 ist zusätzlich die Verwendung von iodiertem Pökelsalz erlaubt. Um die Effizienz letzterer Maßnahme zu kontrollieren und den Beitrag iodierter Fleischerzeugnisse zur Iodversorgung der Bevölkerung zu ermitteln, wurde die Iodkonzentration in einer Reihe von Fleischprodukten (Brühwurst, Kochwurst, Rohwurst, Kochschinken, Rohschinken) quantitativ bestimmt (WAGNER, 2006). Aus diesen Werten und der Verzehrshäufigkeit der Produkte kann eine Zufuhr von 33 µg Iod/Tag durch Fleisch (Produkte) abgeschätzt werden. Dies muss in Relation zur von der Deutschen Gesellschaft für Ernährung empfohlenen Zufuhr von 180-200 µg/Tag für Erwachsene und 260 µg/Tag für Schwangere und Stillende gesehen werden. Derzeit kann dementsprechend von einem Beitrag des Fleischwarenverzehrs von ca. 15 % zur empfohlenen Iodzufuhr und einer Anwendungshäufigkeit von Iodsalz im Fleischwarenssektor von 60-80 % ausgegangen werden. Der Beitrag des natürlichen Iodgehalts von Fleisch zur Iodversorgung ist gering, auch wenn mit Iod angereicherte Futtermittel eingesetzt werden.

Die Flüchtigkeit von Iod und in saurer Lösung auch von Iodwasserstoff verursachen Probleme bei der Aufarbeitung bzw. Vorbereitung der Proben für die Messung mit der ICP-MS. Drei Aufschlussvarianten wurden überprüft:

1. Der Aufschluss mit konzentrierter Salpetersäure im Mikrowellengerät führte zu nicht reproduzierbaren Ergebnissen, da bei der Oxidation neben dem nicht flüchtigen erwünschten Iodat auch flüchtiges elementares Iod entsteht, das sich dem Nachweis entzieht.

Die beiden weiteren Aufschlüsse basieren auf der Hydrolyse organischer Bestandteile mittels der organischen Base Tetramethylammoniumhydroxid (TMAH).

2. Aufschluss mit TMAH bei 90 °C (3 h, nach § 35 LMBG, bzw. § 64 LFGB)
3. Aufschluss mit TMAH im Mikrowellengerät bei ca. 140 °C (1/2 h)

Im hierbei vorliegenden alkalischen Medium entstehen keine flüchtigen Komponenten. Die organische Matrix wird zwar modifiziert, bleibt jedoch im Gegensatz zum einem oxidativen Aufschluss erhalten. Die Proteinkomponente wird hierbei komplett hydrolysiert und wird Bestandteil der wässrigen Phase, die Fettkomponente bleibt jedoch, insbesondere bei relativ fettreichen Produkten als separate Phase vorhanden, die nicht in die Messung mittels ICP-MS einbezogen werden kann. Soll der Gesamtgehalt an Iod bestimmt werden, stellt sich deshalb die Frage, wie sich die iodorganischen Verbindungen, die durch Reaktionen von Iodat mit Fett entstehen (WAGNER, 1995), in den beiden Varianten des Aufschlusses verhalten. An ungesättigte Fettsäuren eines aus Fleisch gewonnenen Fettextrakts wurde daher radioaktives Iod angelagert, das Fett nach den beiden Methoden aufgeschlossen und die Verteilung des Iods auf die Fett- und die für die ICP-MS-Messung verwendete wässrige Phase anhand der Radioaktivitätsverteilung ermittelt. Es zeigte sich, dass nur beim Mikrowellenaufschluss bei 140 °C eine nahezu vollständige Ab-

spaltung des Iods von den Fettsäuren erfolgte, bei 90 °C im Trockenschrank verblieb ca. die Hälfte der radioaktiven Iods in der Fettphase. Für fettreichere Produkte sollte daher die Variante des Mikrowellenaufschlusses angewendet werden. Eine detailliertere Beschreibung dieser Forschungsarbeiten findet sich bei WAGNER (2006).

Literatur

Anke M., Groppe B., Angelow L. (1994): Der Einfluß des Mangan-, Zink-, Kupfer-, Jod- und Selenmangels auf die Fortpflanzungsleistung des Wiederkäuers. *REKASAN-Journal*, 1, 23-26

Anke M., Angelow L., Drobner C., Neagoe A., Gleis M. (1997): Die Bedeutung des Selen in der Nahrungskette von Pflanze, Tier und Mensch. *REKASAN-Journal* 4 (7-8), 41-45

Wagner H., Petrova I., Angelov L. (2004): Distribution of selenium along the food chain of sheep reared in mountain pasture areas. *Proceedings of 22nd Workshop Mengen- und Spurenelemente*. 24. und 25. September 2004, Jena, Germany

Wagner H. (2006): Der Beitrag von Fleischprodukten zur Iodversorgung der Bevölkerung. *Mitteilungsblatt der Fleischforschung Kulmbach*, 45, 119-123

Wagner H. (1995): Iodiertes Pökelsalz: Reaktionen mit Fleischinhaltsstoffen. *Mitteilungsblatt der Bundesanstalt für Fleischforschung, Kulmbach* 34, 213-219

Ullrey D.E. (1987): Biochemical and physiological indicators of selenium status. *J. Anim Sci.* 65, 1712-1718