

Speziation von Arsen in Apfelsaft mit LC-ICP-MS

Andrew Ryan, Peio Riss

Analytik Jena AG

Einleitung

Die verschiedenen physikalisch-chemischen Formen der meisten Elemente variieren in Bezug auf Mobilität, Toxizität und Bioverfügbarkeit. So sind beispielsweise Arsenspezies wie das anorganische 3-wertige Arsen (As III) und 5-wertige Arsen (As V) hoch toxisch, während die organischen Formen wie Monomethylarsensäure (MMA) und Dimethylarsinsäure (DMA) deutlich geringere Toxizitäten aufweisen. Die Betrachtung allein der Gesamtkonzentrationen kann oft irreführend sein.

Wenn Flüssigchromatographie (LC) mit Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-MS) kombiniert wird, eluieren die Spezies eine nach der anderen von der LC-Säule direkt in das ICP-MS zur Erkennung durch Elementspeziation. Der Anschluss des LC-Systems an das ICP-MS ist einfach; weder das LC-System noch das ICP-MS benötigen Änderungen der Hardware. Die LC-Säule wird direkt an den Zerstäuber des ICP-MS angeschlossen. Die Kopplung eines LC-Systems mit dem PlasmaQuant® MS Elite bietet zusätzlich den Vorteil der bis zu 5 mal höheren Empfindlichkeit, wodurch der Verlust des Gesamtsignals aufgrund der Trennung der einzelnen Spezies ausgeglichen wird und sehr niedrige Nachweisgrenzen im ppt-Bereich (ng/l) erreicht werden.

Obst kann heutzutage aufgrund des Einsatzes arsenhaltiger Pestizide während des letzten Jahrhunderts stark mit Arsen belastet sein. Das folgende Experiment zeigt die Empfindlichkeit und das Nachweisvermögen des PlasmaQuant® MS Elite für die Arsenpeziation in Apfelsaft.

Instrumentelles

Das verwendete LC-System war ein BRUKER Advance HPLC-System mit 50-µl-Probenschleife und einer Hamilton PRP-X100 (4,6 mm x 150,0 mm, 5 µm) Anionenaustauschersäule. Die ASpect MS-Software ermöglicht die automatische Optimierung der Ionenoptik und der Plasmagasströme. Bevor

das LC-System an das ICP-MS angeschlossen wurde, wurde es für eine maximale Empfindlichkeit für Arsen optimiert. Die ICP-MS- und LC-Bedingungen werden in den Tabellen 1 und 2 zusammengefasst.

Reagenzien und Proben

Zur Vorbereitung der Lösungen (mobile Phasen, Standardlösungen und Proben) wurde deionisiertes Wasser (18,2 MΩ/cm, Millipore MilliQ, Billerica, MA, USA) verwendet.



Abb. 1: PlasmaQuant® MS Elite

Tab. 1: Betriebsbedingungen PlasmaQuant® MS Elite ICP-MS

Parameter	Einstellungen
Plasmagasstrom	9,0 l/min
Hilfsgasstrom	1,00 l/min
Zerstäubergasstrom	1,00 l/min
Sheathgasstrom	0,00 l/min
Plasma HF-Leistung	1,30 kW
Beobachtetes Ion	75As
Scan-Modus	Zeitaufgelöst
Verweilzeit	500 ms
Pumpgeschwindigkeit	25 U/min - schwarz/schwarz PVC-Pumpschlauch
Sprühkammer-Temp.	3 °C
Ionenoptik	Optimiert für 75As-Empfindlichkeit

Tab. 2: LC-Betriebsbedingungen

Parameter	Einstellungen
Mobile Phase	A: 12,5 mM Ammoniumcarbonat, 1 % MeOH B: 60,0 mM Ammoniumcarbonat, 1 % MeOH
Flussrate	1 ml/min
Laufzeit	12 min
Säule	Anionenaustauscher, Hamilton PRP-X100, 4,6 mm x 150,0 mm, 5 µm
Säulentemperatur	40 °C
Probeninjektion	50 µl
Detektion	PlasmaQuant® MS Elite ICP-MS

Mobile Phase (LC)

Ammoniumcarbonat Puratronic® (Alfa Aesar) und Methanol wasserfrei ULC/MS (Biosolve BV, 5555 Valkenswaard) wurden verwendet, um die mobilen Phasen A (12,5 mM Ammoniumcarbonat, 1% MeOH) und B (60 mM Ammoniumcarbonat, 1% MeOH) herzustellen. Die mobilen Phasen wurden täglich hergestellt.

Kalibrierstandards

Die Kalibrierlösungen von Arsenitoxid (AsIII, Acros Organics), Arsenpentoxid (AsV, Sigma-Aldrich), Natriummethylarsenat (MMA, Supelco) und Kakodylsäure (DMA, Fluka) wurden täglich hergestellt. Der Kalibrierbereich betrug bei allen Arsenspezies 0,1 bis 2,5 µg/L.

Probenvorbereitung

Fünf verschiedene Apfelsäfte (Saft 1 bis 5) wurden in einem französischen Supermarkt gekauft, darunter ein Produkt aus ökologischem Anbau (Saft 2). Die Proben wurden mit einem 0,45-µm-Filter (Millipor Millex-HV) gefiltert, um Schwebstoffe zu unterdrücken. Die Filtrate wurden anschließend vor der Analyse zweifach verdünnt.

Interner Standard

Arsenobetain (BCR626, IRMM) wurde in jeder Lösung (Standardlösungen und Proben) bei 1 µg/l aufgestockt, um potenzielle Drift- und Matrixeffekte zu korrigieren.

Ergebnisse und Diskussionen

Elementspeziation

Die Speziation der vier Arsenspezies (As III, DMA, MMA, As V) und des Arsenobetain (interner Standard) wurde mit dem LC-Gradientenverfahren in weniger als 10 Minuten durchgeführt. Exzellente Kalibrierungen für jede der Arsenspezies wurden mit Korrelationskoeffizienten $\geq 0,9999$ erhalten. Die Kalibrierung wurde mit Lösungen im Bereich 0,1 bis 2,5 µg/l erstellt.

Apfelsaft-Analyse

Die Apfelsaft-Analyse ist in Tabelle 3 aufgeführt.

Spike-Wiederfindung

Um die Wiederholbarkeit des Verfahrens zu evaluieren, wurde der unverdünnte Apfelsaft 1 mit 1 µg/l von jeder Spezies aufgestockt. Die aufgestockte Probe wurde zehnmal gemessen, und die durchschnittliche Spike-Wiederfindung für die vier Spezies ist in Tabelle 4 aufgeführt.

Langzeitstabilität

Eine Kalibriertestlösung mit 1 µg/l von jeder As-Spezies wurde periodisch über einen Zeitraum von 8 Stunden gemessen. Die durchschnittliche Wiederfindung lag bei allen Spezies im Bereich von 1,013-1,033 µg/l und mit einer Präzision von 1-2% RSD. Der Langzeittest über 8 Stunden bestätigt die Langzeit-Performance des Verfahrens.

Tab. 3: Konzentration je Spezies bei fünf handelsüblichen Apfelsäften

Konzentration [µg/l]					
	As III	DMA	MMA	As V	As gesamt
Saft 1	0,297	0,088	0,010	1,550	1,945
Saft 2*	0,052	0,037	0,007	0,102	0,198
Saft 3	0,186	0,084	0,007	0,430	0,707
Saft 4	1,172	0,220	0,006	0,197	1,595
Saft 5	0,331	0,051	0,000	1,847	2,229

* Saft 2 war ein Produkt aus ökologischem Anbau und wies die niedrigste Arsenkonzentration auf.

Der Gesamt-As-Gehalt überschreitet bei keinem der fünf Säfte 3 µg/l.

Typische Nachweisgrenzen

Tabelle 5 zeigt die Nachweisgrenzen (NWG) des Verfahrens für die vier häufigen organischen und anorganischen Formen von Arsen in Apfelsaft. Sämtliche Messungen wurden unter klassischen Laborbedingungen durchgeführt.

Die Nachweisgrenzen wurden mithilfe der 3-fachen Standardabweichung von Blindwert-Proben (n=10) berechnet.

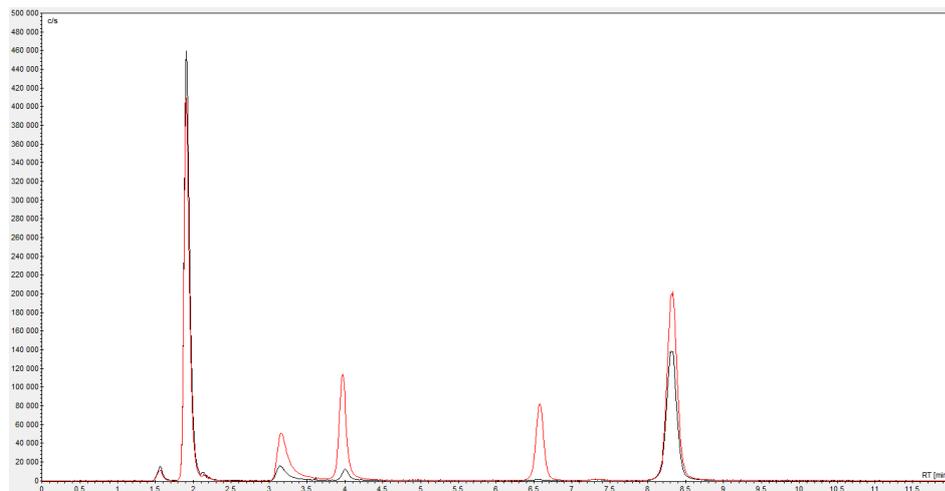


Abb. 2: Überlagerung der Chromatogramme von 1 µg/l aufgestocktem (rot) und nicht aufgestocktem (schwarz) Apfelsaft

Tab. 4: Ergebnisse des Tests zur Spike-Wiederfindung

Apfelsaft 1 + 1 µg/l Aufstockung												
	Durchschnittliche Konzentration in der nicht aufgestockten Probe [µg/l]	Aufgestockte Proben										Durchschnittliche Spike-Wiederfindung
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
As III	0,297	1,254	1,236	1,210	1,244	1,184	1,244	1,228	1,190	1,184	1,210	92 %
DMA	0,088	1,022	1,000	0,966	1,018	0,966	1,018	1,004	0,972	0,962	0,998	90 %
MMA	0,010	0,918	0,900	0,884	0,952	0,884	0,936	0,918	0,884	0,904	0,898	90 %
As V	1,550	2,548	2,538	2,440	2,602	2,448	2,608	2,566	2,480	2,512	2,474	97 %

Schlussfolgerungen

Mit dieser Arbeit wurde gezeigt, dass das PlasmaQuant® MS über ein exzellentes Nachweisvermögen verfügt, wenn es zusammen mit einem BRUKER Advance HPLC-System zur Arsenspeziation in Apfelsaft eingesetzt wird. Die Probenherstellung erfordert nur minimalen Aufwand und besteht aus einer einfachen Filtrierung und einer zweifachen Verdünnung. Die hohe Empfindlichkeit des PlasmaQuant® MS Elite ermöglicht den Routinenachweis von Arsenspezies im niedrigen ppt-Bereich (ng/l).

Tab. 5: Typische Nachweisgrenzen bei Apfelsaft mit dem PlasmaQuant® MS Elite

Arsenspezies	Nachweisgrenze [ng/l]
Arsenit (As III)	2,7
Dimethylarsinsäure (DMA)	2,6
Natriummethylarsenat (MMA)	2,7
Arsenat (As V)	3,3