

*Institut für Chemie 4:
Angewandte Physikalische Chemie*

Beiträge zur Umweltprobenbank

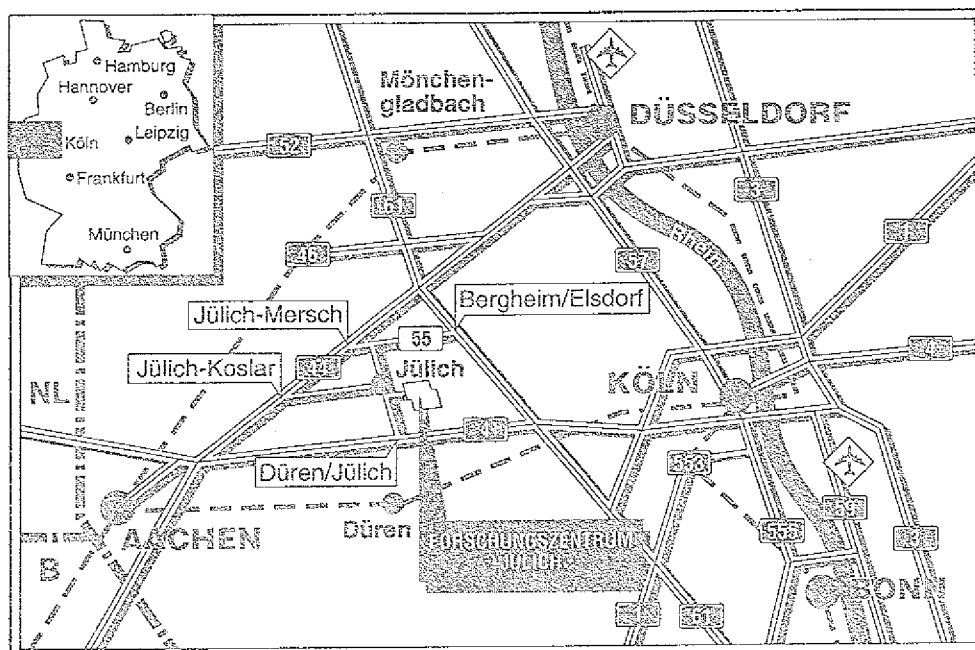
7. Entwicklung und Anwendung einer automatischen
Hydrid-AAS-Methode mit Arsinanreicherung
zur Bestimmung von Arsenverbindungen in
Algen, Muscheln und Meerwasser mit der HPLC

Untersuchung verschiedener Arsenverbindungen
in Meeresorganismen der deutschen Nord-
und Ostseeküste und zum Vergleich in Proben
aus Antofagasta, Chile

Victor J. Arenas C.

Handwritten text at the top of the page, possibly a header or title.

Handwritten text at the bottom of the page, possibly a footer or concluding remarks.



Berichte des Forschungszentrums Jülich ; 2512

ISSN 0366-0885

Institut für Chemie 4: Angewandte Physikalische Chemie Jüli-2512

D 5 (Diss. Universität Bonn)

Zu beziehen durch: Forschungszentrum Jülich GmbH · Zentralbibliothek

Postfach 1913 · D-5170 Jülich · Bundesrepublik Deutschland

Telefon: 02461/61-6102 · Telefax: 02461/61-6103 · Telex: 833556-70 kfa d

1. The first part of the paper discusses the importance of the study of the history of the United States. It is argued that the study of the history of the United States is essential for a full understanding of the country and its people. The author points out that the history of the United States is a complex and multifaceted one, and that it is important to study it from a variety of perspectives. The author also points out that the study of the history of the United States is important for the development of a sense of national identity and pride.

2. The second part of the paper discusses the importance of the study of the history of the United States. It is argued that the study of the history of the United States is essential for a full understanding of the country and its people. The author points out that the history of the United States is a complex and multifaceted one, and that it is important to study it from a variety of perspectives. The author also points out that the study of the history of the United States is important for the development of a sense of national identity and pride.

3. The third part of the paper discusses the importance of the study of the history of the United States. It is argued that the study of the history of the United States is essential for a full understanding of the country and its people. The author points out that the history of the United States is a complex and multifaceted one, and that it is important to study it from a variety of perspectives. The author also points out that the study of the history of the United States is important for the development of a sense of national identity and pride.

Beiträge zur Umweltprobenbank

- 7. Entwicklung und Anwendung einer automatischen Hydrid-AAS-Methode mit Arsinanreicherung zur Bestimmung von Arsenverbindungen in Algen, Muscheln und Meerwasser mit der HPLC**

Untersuchung verschiedener Arsenverbindungen in Meeresorganismen der deutschen Nord- und Ostseeküste und zum Vergleich in Proben aus Antofagasta, Chile

Victor J. Arenas C.

Հանձնարարականները համարվում են

հանձնարարականները համարվում են
հանձնարարականները համարվում են
հանձնարարականները համարվում են
հանձնարարականները համարվում են

հանձնարարականները համարվում են
հանձնարարականները համարվում են
հանձնարարականները համարվում են
հանձնարարականները համարվում են

Հանձնարարականները համարվում են հանձնարարականները համարվում են

Հանձնարարականները համարվում են հանձնարարականները համարվում են
Հանձնարարականները համարվում են հանձնարարականները համարվում են
Հանձնարարականները համարվում են հանձնարարականները համարվում են
Հանձնարարականները համարվում են հանձնարարականները համարվում են

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Ziel und Rahmen der Arbeit	3
THEORETISCHER TEIL		
3	Arsen	
3.1	Natürliche Vorkommen und deren industrielle Nutzung	5
3.2	Arsen in der marinen Umwelt	7
3.3	Marine Organismen: Arsenkonzentration und Transport	8
3.4	Toxizität und Wirkung	10
3.5	Arsen in anderen Umweltbereichen	13
3.6	Nordsee, Ostsee: Belastungszustand	14
4	Proben, Lebensraum und wichtige Parameter	
4.1	Probenarten	17
4.1.1	Mytilus edulis (Miesmuschel)	18
4.1.2	Fucus vesiculosus (Braunalge)	19
4.1.3	Meerwasser	21
4.2	Temperatur	21
4.3	Salinität	22
5	Analytische Methodik	
5.1	Generelle methodische Aspekte der Arsenbestimmung	25
5.2	Auswahl einer Methode	27
5.3	Prinzip der angewandten Analysenverfahren	29
5.3.1	Grundlagen der AAS	29
5.3.1.1	Atomabsorptionsspektrometer	30
5.3.1.2	Flammen-AAS	32
5.3.1.3	Graphitrohr-AAS	33
5.3.1.4	Kaltdampftechnik	34
5.3.2	Grundlagen der HG-AAS	35
5.3.3	Grundlagen der Hochleistungsflüssigchromatographie	37
5.3.4	Grundlagen des Probenaufschlusses	43

PRAKTISCHER TEIL

6	Geräte und Chemikalien	47
6.1	Geräte	47
6.2	Chemikalien	49
6.3	Probenahme, Aufarbeitung und Lagerung	50
6.4	Probenahmestellen	50
6.4.1	Reinigung der Probenahmegeräte und Transportbehälter	51
6.5	Probenahme	55
6.5.1	Muscheln	55
6.5.2	Algen	55
6.5.3	Meerwasser	55
6.5.4	Probenahmeprotokoll	56
6.6	Transport und Lagerung der Proben	56
6.7	Probenaufarbeitung	57
6.7.1	Sezieren, Portionieren	57
6.7.2	Gefriertrocknen, Mahlen	58
7	Optimierung der Methoden	
7.1	Optimierung der HG-AAS	59
7.1.1	Lösungen und Standards	60
7.1.2	Wasserabscheider	61
7.1.3	Anreicherung	63
7.1.4	Zeitraum der Zugabe von Natriumborhydrid	64
7.1.5	Einfluß des Trägergasdurchflusses	65
7.1.5.1	Einfluß eines zusätzlichen Wasserstoffstromes	66
7.1.6	Arsinfalle	67
7.1.6.1	Füllung der Arsinfalle	70
7.1.6.2	Temperatur der Arsinfalle während des Prozesses	70
7.1.6.3	Steuereinheit	72
7.1.7	Arbeitsbedingungen	74
7.1.8	Funktionstest der automatisierten Apparatur	76
7.1.9	Nachweisgrenze und Linearität	76
7.2	Optimierung des Extraktionsverfahrens	77
7.2.1	Allgemeiner Extraktionsverlauf	77
7.2.2	Extraktionsvolumina	78
7.2.3	Extraktionszeit und Art des Mischens	78
7.3	Optimierung des HPLC-Systems	86

7.3.1	Geräte und Grundbedingungen für die Chromatographie	88
7.3.2	Standardlösungen	88
7.3.2.1	Arsenit (Arsen III)	88
7.3.2.2	Arsenat (Arsen V)	88
7.3.2.3	Monomethylarsonsäure (MMAA)	89
7.3.2.4	Dimethylarsinsäure (DMAA)	89
7.3.2.5	Arsenobetain (Asβ)	89
7.3.2.6	Arsenocholin (AsCh)	89
7.3.2.7	Phosphatpuffer	90
7.3.3	Laufmittel	90
7.3.4	pH Wert des Laufmittels	92
7.3.5	Einfluß von Methanol auf das Laufmittel	93
7.3.6	Elutionsordnung der untersuchten Arsenverbindungen	95
7.4	Synthese von Arsenobetainhydrogenbromid (Trimethylcarboximethylarsonium bromid)	95
7.4.1	Identifikation des Arsenobetainhydrogenbromids	96
7.5	Synthese von Arsenocholinbromid (Trimethyl-2hydroxyethylarsoniumbromid)	97
7.5.1	Identifikation des Arsenocholinbromids	97
8	Arsenanalysen	99
8.1	Aufschluß der Proben	99
8.1.1	Aufschluß für Gesamtarsen	99
8.1.2	Aufschluß zur Bestimmung der Arsenspezies	99
8.2	Arsenbestimmung in Meerwasser	100
8.3	Gesamtarsenbestimmung und Ermittlung der Verbindungsform (Speziation) in Muscheln und Algen	100
8.4	Analysenergebnisse und deren Interpretation	101
8.4.1	Gesamtarsen in Algen und Muscheln	101
8.4.2	Arsenspeziation in Algen, Muscheln und Wasser aus Nordstrand	106
9	Zusammenfassung	121
9.1	Entwicklung einer empfindlichen HG-AAS Methode und Optimierung der Meßparameter	121
9.2	Funktionstest der entwickelten Apparatur	123
9.3	Optimierung des Extraktionsverfahrens	124
9.4	Optimierung einer HPLC-Trennmethode	125
9.5	Synthese von Arsenobetain und Arsenocholin	126
9.6	Testanalyse des Systems.	126

10	Literaturverzeichnis	129
11	Datenanhang	137
11.1	Beschreibung der Probenahmeorte	137
11.1.1	Eckwarderhörne	137
11.1.2	Kugelbake (Cuxhaven)	137
11.1.3	Nordstrand (Elisabeth Sophien-Koog)	138
11.1.4	List (Insel Sylt)	138
11.1.5	Kronsgaard	139
11.1.6	Kiel-Strande	139
11.1.7	Antofagasta-I. Lagartos (RCh)	140
11.1.8	Paposo-Caleta El Cobre	140
11.2	Gesamtarsenwerte von Algen, Muscheln und Wasser Allgemeine Probenahmeparameter Tabellen XI bis XVIII	141
11.3	Gesamtarsen in Muscheln, Algen und Wasser (Bilder 48 bis 58), Probenahmeparameter (Bilder 59 bis 64)	150
11.4	Probenahmeprotokoll	164
11.5	Arsenspeziation. Chromatogramme 1 bis 29	168
11.6	Arsenobetainhydrogenbromid	176
11.6.1	^1H -NMR Spektren	176
11.6.2	Massenspektren	177
11.7	Arsenocholinbromid	178
11.7.1	^1H -NMR Spektren	178
11.7.2	Massenspektren	179
11.8	Einige relevante Trennungsarbeiten der letzten Jahre (aus Kap 7.3)	180

1. Einleitung

Wegen seiner uralten Geschichte im Zusammenhang mit Rache und Tod betrachtet man Arsen heute noch als "das Gift", obwohl es schon lange in diesem Sinn nicht mehr gebraucht wird. Immerhin leiden viele Orte der Welt heute an der Kontamination von Trinkwasser oder von Nahrungsmitteln mit Arsen, da dort die einzigen Versorgungsquellen von Natur aus stark belastet sind (z.B. Antofagasta-Chile). Die Toxizität des Arsens hängt von der Verbindungsform ab (Irgolic, 1988), da die verschiedenen Spezies sich erheblich in ihrer Wirkung unterscheiden.

Auf Grund einer Totalarsenanalyse könnten Fische, Muscheln, Krustentiere oder Algen als sehr gefährliche Nahrungsmittel angesehen werden. Es zeigt sich aber, daß ca 90% des aufgenommenen Arsens in einigen Tagen entweder unverändert (organische Arsenverbindungen) oder methyliert (anorganischer Anteil) wieder ausgeschieden wird.

Aus diesem Grund ist die Totalarsenanalyse in der Umweltanalytik nicht ausreichend, um mehr über das Verhalten und die Wirkungen einzelner Arsenverbindungen zu erfahren.

Nur durch die Bestimmung der jeweils vorhandenen Verbindungsformen kann die wahre Toxizität und somit die Gefährdung der Gesundheit bzw. des Lebens durch die Nahrungsaufnahme erfaßt werden.

Durch die in den letzten Jahren verbesserten Analysenmethoden, z.B. Atomabsorption, Atomemission, und Neutronenaktivierung, konnten die Nachweisgrenzen erniedrigt werden. Daher ist es heute möglich, neue Verfahren zu entwickeln, die eine einfachere Ermittlung verschiedener Arsenverbindungen ermöglichen.

Durch die Kopplung der Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC) und der Atomabsorptionsspektrometrie (AAS) entsteht eine hochspezifische Nachweismethode zur Bestimmung der verschiedenen Arsenspezies, sofern die AAS zur Anreicherung mit einer Arsinfalle ausgerüstet ist.

[illegible]

1999, 2000, 2001, 2002, 2003, 2004, 2005, 2006, 2007, 2008, 2009, 2010, 2011, 2012, 2013, 2014, 2015, 2016, 2017, 2018, 2019, 2020, 2021, 2022, 2023, 2024, 2025, 2026, 2027, 2028, 2029, 2030, 2031, 2032, 2033, 2034, 2035, 2036, 2037, 2038, 2039, 2040, 2041, 2042, 2043, 2044, 2045, 2046, 2047, 2048, 2049, 2050, 2051, 2052, 2053, 2054, 2055, 2056, 2057, 2058, 2059, 2060, 2061, 2062, 2063, 2064, 2065, 2066, 2067, 2068, 2069, 2070, 2071, 2072, 2073, 2074, 2075, 2076, 2077, 2078, 2079, 2080, 2081, 2082, 2083, 2084, 2085, 2086, 2087, 2088, 2089, 2090, 2091, 2092, 2093, 2094, 2095, 2096, 2097, 2098, 2099, 2100, 2101, 2102, 2103, 2104, 2105, 2106, 2107, 2108, 2109, 2110, 2111, 2112, 2113, 2114, 2115, 2116, 2117, 2118, 2119, 2120, 2121, 2122, 2123, 2124, 2125, 2126, 2127, 2128, 2129, 2130, 2131, 2132, 2133, 2134, 2135, 2136, 2137, 2138, 2139, 2140, 2141, 2142, 2143, 2144, 2145, 2146, 2147, 2148, 2149, 2150, 2151, 2152, 2153, 2154, 2155, 2156, 2157, 2158, 2159, 2160, 2161, 2162, 2163, 2164, 2165, 2166, 2167, 2168, 2169, 2170, 2171, 2172, 2173, 2174, 2175, 2176, 2177, 2178, 2179, 2180, 2181, 2182, 2183, 2184, 2185, 2186, 2187, 2188, 2189, 2190, 2191, 2192, 2193, 2194, 2195, 2196, 2197, 2198, 2199, 2200, 2201, 2202, 2203, 2204, 2205, 2206, 2207, 2208, 2209, 2210, 2211, 2212, 2213, 2214, 2215, 2216, 2217, 2218, 2219, 2220, 2221, 2222, 2223, 2224, 2225, 2226, 2227, 2228, 2229, 2230, 2231, 2232, 2233, 2234, 2235, 2236, 2237, 2238, 2239, 2240, 2241, 2242, 2243, 2244, 2245, 2246, 2247, 2248, 2249, 2250, 2251, 2252, 2253, 2254, 2255, 2256, 2257, 2258, 2259, 2260, 2261, 2262, 2263, 2264, 2265, 2266, 2267, 2268, 2269, 2270, 2271, 2272, 2273, 2274, 2275, 2276, 2277, 2278, 2279, 2280, 2281, 2282, 2283, 2284, 2285, 2286, 2287, 2288, 2289, 2290, 2291, 2292, 2293, 2294, 2295, 2296, 2297, 2298, 2299, 2300, 2301, 2302, 2303, 2304, 2305, 2306, 2307, 2308, 2309, 2310, 2311, 2312, 2313, 2314, 2315, 2316, 2317, 2318, 2319, 2320, 2321, 2322, 2323, 2324, 2325, 2326, 2327, 2328, 2329, 2330, 2331, 2332, 2333, 2334, 2335, 2336, 2337, 2338, 2339, 2340, 2341, 2342, 2343, 2344, 2345, 2346, 2347, 2348, 2349, 2350, 2351, 2352, 2353, 2354, 2355, 2356, 2357, 2358, 2359, 2360, 2361, 2362, 2363, 2364, 2365, 2366, 2367, 2368, 2369, 2370, 2371, 2372, 2373, 2374, 2375, 2376, 2377, 2378, 2379, 2380, 2381, 2382, 2383, 2384, 2385, 2386, 2387, 2388, 2389, 2390, 2391, 2392, 2393, 2394, 2395, 2396, 2397, 2398, 2399, 2400, 2401, 2402, 2403, 2404, 2405, 2406, 2407, 2408, 2409, 2410, 2411, 2412, 2413, 2414, 2415, 2416, 2417, 2418, 2419, 2420, 2421, 2422, 2423, 2424, 2425, 2426, 2427, 2428, 2429, 2430, 2431, 2432, 2433, 2434, 2435, 2436, 2437, 2438, 2439, 2440, 2441, 2442, 2443, 2444, 2445, 2446, 2447, 2448, 2449, 2450, 2451, 2452, 2453, 2454, 2455, 2456, 2457, 2458, 2459, 2460, 2461, 2462, 2463, 2464, 2465, 2466, 2467, 2468, 2469, 2470, 2471, 2472, 2473, 2474, 2475, 2476, 2477, 2478, 2479, 2480, 2481, 2482, 2483, 2484, 2485, 2486, 2487, 2488, 2489, 2490, 2491, 2492, 2493, 2494, 2495, 2496, 2497, 2498, 2499, 2500, 2501, 2502, 2503, 2504, 2505, 2506, 2507, 2508, 2509, 2510, 2511, 2512, 2513, 2514, 2515, 2516, 2517, 2518, 2519, 2520, 2521, 2522, 2523, 2524, 2525, 2526, 2527, 2528, 2529, 2530, 2531, 2532, 2533, 2534, 2535, 2536, 2537, 2538, 2539, 2540, 2541, 2542, 2543, 2544, 2545, 2546, 2547, 2548, 2549, 2550, 2551, 2552, 2553, 2554, 2555, 2556, 2557, 2558, 2559, 2560, 2561, 2562, 2563, 2564, 2565, 2566, 2567, 2568, 2569, 2570, 2571, 2572, 2573, 2574, 2575, 2576, 2577, 2578, 2579, 2580, 2581, 2582, 2583, 2584, 2585, 2586, 2587, 2588, 2589, 2590, 2591, 2592, 2593, 2594, 2595, 2596, 2597, 2598, 2599, 2600, 2601, 2602, 2603, 2604, 2605, 2606, 2607, 2608, 2609, 2610, 2611, 2612, 2613, 2614, 2615, 2616, 2617, 2618, 2619, 2620, 2621, 2622, 2623, 2624, 2625, 2626, 2627, 2628, 2629, 2630, 2631, 2632, 2633, 2634, 2635, 2636, 2637, 2638, 2639, 2640, 2641, 2642, 2643, 2644, 2645, 2646, 2647, 2648, 2649, 2650, 2651, 2652, 2653, 2654, 2655, 2656, 2657, 2658, 2659, 2660, 2661, 2662, 2663, 2664, 2665, 2666, 2667, 2668, 2669, 2670, 2671, 2672, 2673, 2674, 2675, 2676, 2677, 2678, 2679, 2680, 26

2 Ziel und Rahmen der Arbeit

Im Rahmen der Untersuchungen der Deutschen Umweltprobenbank im Forschungszentrum Jülich (KFA), zur Spurenmetallbilanz in wichtigen Meeresregionen und im Inland (Rhein, Elbe, Weser, Regenwasser) konnte bisher für Blei, Cadmium, Kupfer, Nickel und Cobalt, mit Hilfe voltammetrischer und atomspektroskopischer Verfahren ein guter Überblick über einen relativ weiten Konzentrationsbereich gewonnen werden. Dies gilt auch für Total- und Methylquecksilber im Wasser auf der Basis der Kaltdampf-AAS. Für eine Gesamtbilanz und Nahrungskettenstudien benötigt man aber auch Werte für Arsen im Wasser und in diversen biologischen Materialien. Im Rahmen dieser Aufgabe beschäftigt sich die Umweltprobenbank seit 1982 auch mit der Bestimmung von Totalarsen und der Unterscheidung zwischen den reaktiven Formen des Arsens (Arsen(V), Arsen(III), MMAA (Methylarsonsäure) und DMAA (Dimethylarsinsäure)) besonders in Wasser, als auch mit reaktionsträgen arsenorganischen Verbindungen (Apel und Stoeppler, 1983; Stoeppler und Apel, 1984; Burow und Stoeppler, 1987).

Da Arsen jedoch in einer Reihe verschiedener Verbindungen und Wertigkeitsstufen auftritt, die in teilweise noch nicht eindeutig geklärten Wechselwirkungen miteinander stehen, bzw. deren Art noch nicht bekannt ist, bieten sich vor allem im aquatischen Bereich weitere detaillierte Studien an. Es interessieren vor allem Zusammenhänge zwischen Totalgehalten, dem Vorliegen bestimmter Arsenverbindungen im Wasser und möglichen Verbindungsformen in Organismen (z.B. Algen und Muscheln).

Die für Arsen zur Verfügung stehende Bestimmungsmethode - Hydrid-AAS- bietet eine nicht sehr niedrige Bestimmungsgrenze (500 pg absolut) für die spezifische Arsenanalyse. Dadurch entstand die Notwendigkeit, sie weiter zu entwickeln, um ein besseres Nachweisvermögen zu erzielen. Die so entwickelte Methode sollte in der Lage sein, die geringen Arsengehalte in chromatographischen Fraktionen bestimmen zu können.

Diese Arbeit sollte, beschränkt auf zwei unterschiedlich mit Arsen belastete Meeresregionen (Westliche Ostsee, Raum Kiel und Nordsee, Raum Cuxhaven), Daten zum besseren Verständnis der Spurenchemie des Arsens im marinen Raum liefern.

Für die Durchführung dieser Arbeit, waren folgende Aufgaben zu erfüllen:

- 2 Jahre Probenahme von Muscheln, Algen und Wasser an 6 Standorten der oben genannten Meeresregionen, im Abstand von zwei Monaten.

- Einmalige Probenahme in einem Ort der chilenischen Küste, zum Vergleich der entsprechenden Arsengehalte.

- Bearbeitung und Lagerung ($<-150^{\circ}\text{C}$) der gesammelten Proben zur späteren Analyse auf Totalarsen und Arsenspezies.

- Entwicklung einer empfindlichen Bestimmungsmethode für Arsen im Spurenbereich, basierend auf der Hydrid-Entwicklung-AAS (HG-AAS).

- Optimierung eines Verfahrens zur Extraktion der vorhandenen Arsenverbindungen aus biologischen Proben.

- Optimierung einer chromatographischen Trennung der Extrakte mit Hilfe der HPLC und Messung des Arsens in den erhaltenen Fraktionen mit der neu entwickelten HG-AAS-Methode.

- Suche nach möglichen Korrelationen zwischen den Arsengehalten im Wasser und den in Muscheln und Algen gefundenen Arsenverbindungen und ihren Konzentrationen.

3 Arsen

3.1 Natürliche Vorkommen und deren industrielle Nutzung

Arsen, ein Metalloid der V. Hauptgruppe des Periodensystems, steht zwischen N; P; Sb und Bi. Es hat eine Atommasse von 74,9216 mit einem Atomradius von 1.15 Å. Es ist normalerweise 3- und 5-wertig, aber es kann auch in der Oxidationsstufe -3 Verbindungen bilden. Es kommt wie die anderen Elemente der Stickstoffgruppe in verschiedenen allotropen Modifikationen vor^(Donohue, 1974). Die stabilste Form ist bei Raumtemperatur die rhombohedrische- α Form des metallischen, grauen Arsens (Abb.1).

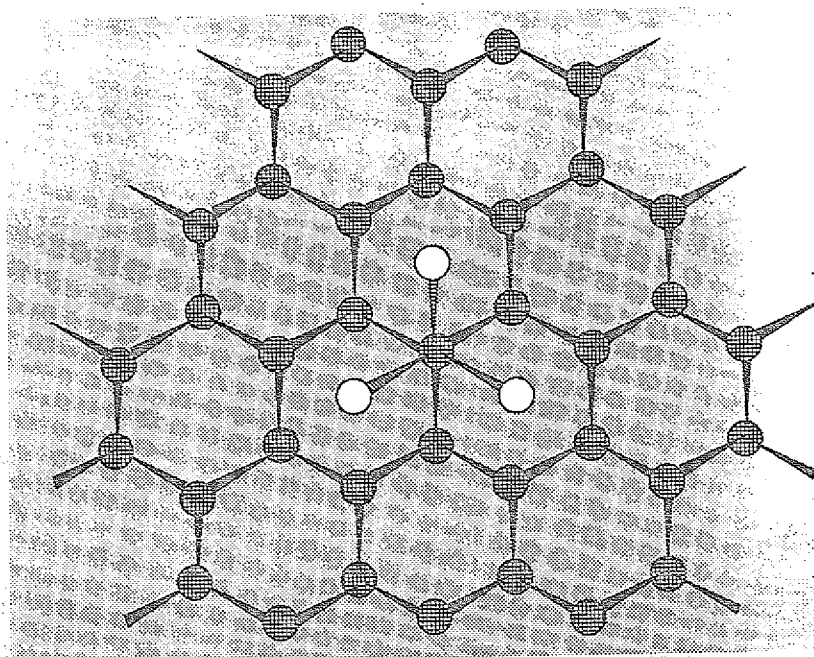


Abb.1: Kristalline Form des grauen Arsens mit Pyramidalkoordination ^(Donohue, 1974)

Mit einer durchschnittlichen Konzentration von etwa 1,7 mg/kg in der Erdkruste^(NAS, 1977) steht das Arsen an 20. Stelle der Elementhäufigkeit.

In der Natur kommt es in verschiedenen Mineralien, hauptsächlich als Kupfer-, Nickel- und Eisenarsenat(III) oder als Arsensulfid bzw. -oxid (As_4O_6) vor. Die wichtigsten Arsenminerale sind in Tabelle I zusammengestellt.

Tabelle I: Wichtigste Arsenminerale (Neumüller 1979;
Greenwood und Earnshaw; Handbook of Geochemistry, 1978)

MINERALNAME	CHEM. VERBINDUNG
Lichtes Rotgültigerz	Ag_3AsS_3
Arsenik (Arsenolith)	As_2O_3
Auripigment (Rauschgelb)	As_2S_3
Realgar (Rauschrot)	AsS
Safflorit	CoAs_2
Cobaltit (Glanzcobalt)	$\text{Co}[\text{AsS}]$
Glaucodot	$[(\text{Co}, \text{Fe})\text{AsS}]$
Enargit	Cu_3AsS_4
Löllingit (Arsenikkalkies)	$\text{Fe}[\text{As}_2]$
Arsenopyrit	FeAsS
Niccolit (Nickelin)	$\text{Ni}[\text{As}]$
Gersdorfit	NiAsS
Chloantit (Rammelsbergit)	$\text{Ni}[\text{As}_2]$

In verunreinigter Form waren Orpiment, Realgar und Arsentrioxid schon seit vielen tausend Jahren bekannt^(Weeks, 1960). Die Ägypter z.B. haben Arsen als Farbpigment für Farben gebraucht^(Michel, 1987).

Die häufigsten Arsenminerale auf der Erde sind die Arsenopyrite^(WHO, 1981). Die Arsenoxide fallen in erster Linie bei der Verhüttung von Kupfer- und Bleierz an^(WHO, 1981). Sie sind die wichtigsten Arsenverbindungen für die Industrie, die zur Herstellung von Pestiziden und Herbiziden (Monomethylarsinsäure, Dimethylarsonsäure), Arboriziden und Entlaubungsmitteln, für Wolle (Dimethylarsonsäure), Holzkonservierungsmitteln (Arsinsäure) und Futtermittelzusätzen (Natriumarsenit) gebraucht werden^(Michel, 1987; Greenwood und Earnshaw, 1983). Das ergibt insgesamt ca. 30.000 Tonnen Arsen im Jahr.^(Fitzgerald, 1983) Ein Großteil davon wird bewußt in der Umwelt eingesetzt. Zusätzlich gelangen ca. 22.000 Tonnen jährlich durch Mineraliengewinnung über die Verbrennung, Bergwerksemissionen und schnelle "Landerosion" in die Umwelt^(Vahter und Edmonds, 1985; Walsh et al, 1979; Neumüller, 1979).

Weitere Verwendung findet das Arsen bei der Herstellung von Glas, Keramik und Halbleitern (Arsenoxide) oder als Additiv zur Erhöhung der Härte bzw. des Wärmewiderstandes von Metallen^(Vahter und Edmonds, 1985; WHO, 1981).

3.2 Arsen in der marinen Umwelt

Arsen gelangt auf natürlichem Wege durch Vulkanausbrüche und Waldbrände in die marine Umwelt^(Vahter und Edmonds, 1985). Allein vulkanische Quellen emittieren 7000 Tonnen Arsen pro Jahr in die Atmosphäre. Davon gelangt ein großer Teil in die Ozeane^(Walsh et al., 1979).

In den Weltmeeren ist die Erhöhung der Arsenkonzentration durch natürliche Quellen trotzdem bedeutungslos^(Ferguson und Gavis, 1972). Es wurde eine jährliche Erhöhung von nur 0.1% festgestellt^(Chilvers und Peterson, 1984).

Die größten punktuellen Arsenkontaminationen in der marinen Umwelt stammen entweder aus Nichteisenerzhütten oder aus Flüssen, die arsenhaltige Böden durchfließen. Auch Flüsse, die große Industriegebiete durchqueren, weisen durch die Abwässer aus Industrie und Haushalt eine erhebliche Arsenkonzentration auf. So wurde z.B. in Rheinwasser 1973 die fünffache Arsenkonzentration des Ozeans gemessen^(Weichert, 1973).

Arsen kommt in den Ozeanen vorwiegend in gelöster Form^(Johnson und Pilson, 1972; Ghoda, 1975), normalerweise als As(V) oder As(III)^(WHO, 1981), in Konzentrationen zwischen 0,1 und 10 µg/L vor^(Martin und Meybeck, 1979). Die dominierende chemische Form von Arsen scheint das thermodynamisch stabile Arsenat-V-Ion zu sein, aber immerhin entfällt auf Arsenat-III oft ein Drittel des Gesamtarsens^(Johnson, 1972; Andreae, 1978).

In Seewasser mit normalem pH-Wert kommt es als Arsensäure vor^(Ferguson und Gavis, 1972).

Die Verteilung des Totalarsens im Meer ist über das gesamte Tiefenprofil konstant. Das Arsen(III) schwankt mit einem Maximum in der euphotischen Zone (in der pflanzliches Leben möglich ist) und einem weiteren auf dem anoxischen Sedimentniveau. Arsen(V) zeigt ein komplementäres Profil. Beide Formen machen 90 bis 95% des Gesamtarsens aus. Sind biologische Aktivitäten vorhanden, so bilden sich auch methylierte Arsenverbindungen wie Methylarson- und Dimethylarsinsäure. Bestimmte Meeresorganismen können aber

auch anorganisches Arsen in komplexere organische Verbindungen wie Arsenobetain, Arsenocholin und Arsenophospholipide umwandeln^(WEO, 1981).

Phytoplanktonische Organismen sind z.B. fähig, Arsen(V) in Methylarsonsäure $pK_1=3.96$; $pK_2=8.55$ oder Dimethylarsinsäure $pK=6.27$ umzuwandeln und dann wieder ins Wasser abzugeben^(Andraee, 1978; Lewis et al, 1976; Martell und Smith, 1982). Diese organischen Arsenverbindungen findet man in der euphotischen Zone; bis 50 m Tiefe sind sie nur in Spuren vorhanden^(Froelich et al, 1985).

Einige Organismen die an der Oberfläche des Meeres leben, können Arsenat zu Arsenit reduzieren^(Johnson, 1972).

3.3 Marine Organismen: Arsenkonzentration und Transport

Einige der bekanntesten Arsenverbindungen, die in marinen Organismen enthalten sind, in deren Umgebung vorkommen und/oder von ihnen adsorbiert werden, sind in Abb. 2 zusammengefaßt.

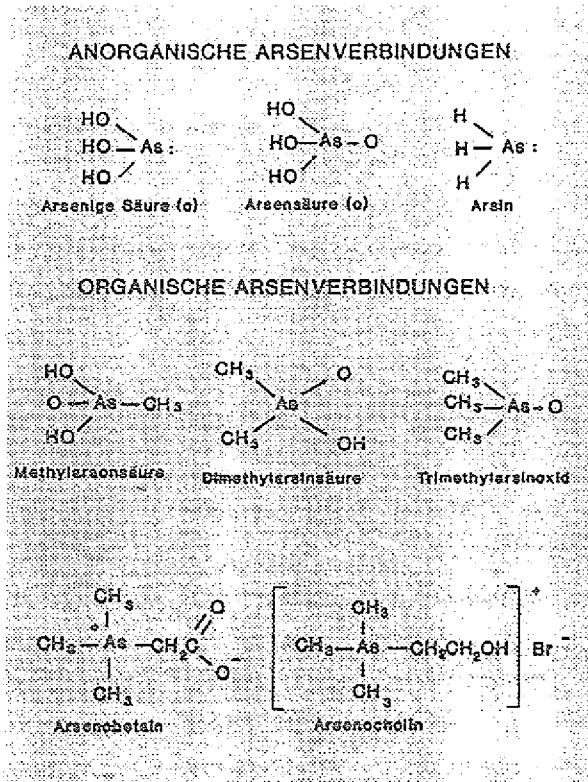


Abb. 2: Einige der bekanntesten Arsenverbindungen im marinen Bereich^(Irgolic, 1988)

Diese Verbindungen sind normalerweise in wäßrigem Medium vorhanden^(Irgolic, 1988).

Arsenige Säure, H_3AsO_3 , mit dreiwertigem Arsen, ist eine schwache Säure $pK_a=9.07$ ^(Martell und Smith, 1982). Man findet sie in der aquatischen Umwelt, und in Zellflüssigkeiten meist als undissoziierte Form zusammen mit dem Dihydrogenarsenit-Ion $H_2AsO_3^-$ ^(Irgolic, 1988). Arsensäure, H_3AsO_4 , mit fünfwertigem Arsen, besitzt eine ähnliche Stärke wie Phosphorsäure ($pK_{a1}=2.2$, $pK_{a2}=6.96$, $pK_{a3}=11.49$)^(Martell und Smith, 1982). Zusammen mit arseniger Säure ist sie die häufigste Arsenverbindung in der Umwelt.

Trimethylarsinoxid findet man in gelöster Form als Trimethylarsin-dihydroxid. Es kommt auch in einigen Ästuar-^(Edmonds und Francesconi, 1987) und Ostseefischen^(Norin et al, 1985) oder als mikrobielles Abbauprodukt der Arsenobetaine vor^(Hanaoka et al, 1988).

Viele marine Organismen enthalten Arsenobetain im mg/kg-Bereich^(Hanaoka et al, 1988; Irgolic, 1986). Das ist wahrscheinlich die am wenigsten toxische Arsenverbindung in diesem Bereich^(Vahter, et al, 1983; Irvin, 1988). Dagegen kommt Arsenocholin nur in einigen marinen Organismen vor^(Norin et al, 1982, 1983; Shlomi et al, 1987). Eine Erklärung dafür wäre, daß Arsenocholin, von Enzymen katalysiert, rasch im Körper zu Arsenobetainen oxidiert wird^(Marafante et al, 1984).

Dimethyl(ribosyl)arsinoxide sind aus Braunalgen *Ecklonia radiata*, Miesmuscheln (*Tridacna maxima*)^(Edmonds und Francesconi, 1981, 1983), Seegras (*Laminaria japonica*)^(Shibata et al, 1987) und *Codium fragile*^(Jin et al, 1988) isoliert worden. Aus diesen Ribosylarsinoxiden könnte Arsenobetain entstehen^(Edmonds et al, 1982). Auch Arsenolipide wurden aus marinen Algen isoliert^(Bottino et al, 1978; Benson und Nissen, 1982).

In Makroalgen schwankt die Totalarsenkonzentration zwischen 5 und 150 $\mu\text{g/g}$ Trockengewicht. Einige Braunalgen weisen einen sehr hohen Arsengehalt auf, der mit einer Anreicherung als Arsenozucker erklärt wird^(Michel, 1987).

In Muscheln liegt die Arsenkonzentration zwischen 10 und 40 $\mu\text{g/g}$. Die Gehalte sind, wahrscheinlich auf Grund unterschiedlicher Ernährungsformen, in gleichen Muschelarten, sehr unterschiedlich^(Michel, 1987).

Fische können bis 360 $\mu\text{g/g}$ Arsen (Trockengewicht) enthalten. Diese Konzentration ist unterschiedlich für verschiedene Spezies^(Michel, 1987).

3.4 Toxizität und Wirkung

Die Toxizität von Arsenerzen war schon den alten Griechen bekannt. Darum wurden diese Lager von Sklaven abgebaut. Auch die Bergleute, die in späterer Zeit arsenreiche Mineralien abbauten, litten unter der Toxizität dieses Elements. Ihre Lebenserwartung war daher erheblich reduziert^(Irgolic, 1988).

Die Chemie des Arsens mit einer großen Zahl von organischen und anorganischen Arsenverbindungen bestimmt das je nach Verbindungsform unterschiedliche Verhalten im biologischen Medium^(Irgolic, 1988). Seine Ähnlichkeit mit Phosphor erlaubt es dem Arsen im Organismus, Phosphor durch Arsen zu ersetzen, wenn Phosphormangel herrscht oder wenn Arsen in höheren Konzentrationen vorliegt^(Michel, 1987). Arsen wirkt dann cancerogen, teratogen und/oder mutagen.

Die toxische Wirkung des Arsens beruht auf der großen Affinität der Arsen(III)-kovalenten Bindungen zu Thiolanionen, was die Inhibition ihrer Aktivitäten zur Folge hat.

Verschiedene Enzyme wie z.B. Monooxidase, Urease, Glucoseoxidase, Cholinoxidase u.a. können durch Arsen gehemmt werden und auf diese Weise die Synthese und Reparatur von DNA behindern^(Michel, 1986).

Arsenationen können auch die oxidative Phosphorylierung verhindern und damit die Mechanismen von ADP-ATP (Adenosindiphosphat-Adenosintriphosphat) stören. Die Folgen dieser Störung verursachen einen Kollaps im Organismus^(Michel, 1987).

Die tägliche Einnahme von 3 mg Arsen über viele Wochen kann bei Erwachsenen Intoxikationssymptome verursachen. 1 mg pro Tag über viele Jahre kann Hautkrebs erzeugen^(WHO, 1981).

Die auch in der Natur vorkommenden organischen Arsenverbindungen unterscheiden sich stark in ihrer Toxizität^(Fielder et al, 1986; Squibb und Fowler, 1983). Deshalb muß man in der Umweltanalytik zwischen diesen Verbindungen unterscheiden können^(WHO, 1981).

Bei Menschen und Tieren hängt die tägliche Aufnahme von Arsen stark vom Anteil an Fisch, Muscheln und Krustentieren in der Nahrung ab. Von 0,2 mg Arsen pro Tag sind nicht mehr als 50 µg anorganisches Arsen^(WHO, 1981). Der organische Anteil an Arsen in diesen Meerestieren ist kaum toxisch, weil es sich vorwiegend um Arsenobetain, Arsenocholin und Trimethyl-arsoniumlactat und seine Derivate handelt^(Edmonds et al, 1977; Luten et al, 1982; Bensons und Summons, 1981).

Arsen, das als Arsenzucker in Algen vorkommt, stellt keine Gefahr für den Konsumenten dar. Innerhalb einer Woche ist bis zu 80% der aufgenommenen Organoarsenverbindung mit dem Urin ausgeschieden^(Apel und Stoeppler, 1983; Stoeppler und Apel, 1984; Brinkman et al, 1977) und selbst Arsenobetain und Arsenocholin werden rasch wieder unverändert ausgeschieden^(Freeman et al, 1979).

Oral und inhalativ aufgenommene anorganische Arsenverbindungen (As(III) und As(V)) werden im menschlichen Organismus größtenteils methyliert, wobei Arsen(V) vermutlich erst zu As(III) reduziert wird. Die Ausscheidung erfolgt mit dem Urin zu 60 - 70% als Dimethylarsinsäure und zu ca 20% als Methylarsonsäure. Sie ist rascher als die Ausscheidung anorganischer Arsenverbindungen^(Michel, 1986; Tam et al, 1979; WHO, 1981).

Abhängig von der Oxidationsstufe, werden 75 - 90% von einmaligen Expositionen von anorganischem Arsen in den ersten zwei Tagen ausgeschieden. Bei fünfwertigem Arsen dauert die Ausscheidung beim Menschen etwas länger^(WHO, 1981).

Erhöhte Arsenwerte im Urin sind auch bei Personen, die in der Umgebung von Arsen emittierenden Punktquellen wohnen, beobachtet worden^(WHO, 1981).

Bei Urin ist ein geeignetes Indikatormedium zur Beurteilung der Exposition mit anorganischem Arsen, da die meisten Untersuchungen zeigen, daß die Ausscheidung von Arsen hauptsächlich über die Nieren erfolgt^(WHO, 1981).

Aus tierexperimentellen Untersuchungen weiß man, daß dreiwertiges Arsen toxischer als fünfwertiges ist. Dabei ist die gelöste Form wegen der besseren Resorption

gefährlicher^(Fielder et al, 1986). Eine Dosis von 10 mg Arsenit pro kg Körpergewicht wirkt z.B. bei Ratten tödlich^(Vahter et al, 1983). Beim Menschen dagegen ist schon eine Oraldosis von 70 bis 180 mg Arsentrioxid tödlich^(Buchanan, 1962).

In der Giftigkeit folgen Arsenate mit 100 mg/kg (bei Ratten), Methylarsonsäure mit 700 mg/kg (in Mäusen), Dimethylarsinsäure und aromatische Arsensäuren. Arsenobetain, das fast in sämtlichen marinen Organismen vorkommt, ist sehr wahrscheinlich harmlos. Mäuse können mit einer Dosis bis zu 400 mg/kg Körpergewicht ohne sichtbaren Effekt gefüttert werden^(Vahter et al, 1983).

Viele Organe können durch die akute und subakute Wirkung von Arsen betroffen werden, z.B. Atmungssystem, Magen-Darm-Trakt, kardiovaskuläres System, Nervensystem und blutbildendes System.

Schädigungen der oberen Atmungsorgane, einschließlich Perforation der Nasenscheidewand, Kehlkopfentzündung, Rachenentzündung und Bronchitis wurden häufig bei Hüttenarbeitern festgestellt, die längere Zeit Luft mit mehreren hundert Mikrogramm Arsen pro Kubikmeter eingeatmet hatten^(WHO, 1981).

Dreiwertiges anorganisches Arsen kann beim Menschen zu Hautschädigungen, besonders in Form der gut sichtbaren palmoplantaren Hyperkeratose führen. Diese Krankheit wurde auch bei Genuß von mit Arsen kontaminiertem Trinkwasser in Argentinien, Taiwan und Mexiko beobachtet. Hyperpigmentierung kann bei Bewohnern dieser Gebiete auch auftreten^(WHO, 1981).

Sowohl beim Menschen, als auch bei Tieren, sind nach chronischer Einwirkung von anorganischem Arsen Störungen der Leberfunktion beobachtet worden^(WHO, 1981).

Bei stärkerer oraler Exposition mit anorganischem Arsen wurde von Schädigungen der peripheren Gefäße z.B. aus Chile, Taiwan und der Bundesrepublik Deutschland berichtet. Die Expositionen reichten von einigen hundert Mikrogramm bis zu mehr als 1 mg täglich von einer Arsenverbindung, deren Wertigkeit nicht bekannt ist.

Funktionsstörungen des zentralen Nervensystems erlitten japanische Jugendliche, die vor 15 Jahren, im Säuglingsalter, einer Tagesdosis von 3,5 mg c.a. 1 Monat lang ausgesetzt waren. Zu den Schäden gehören starker Hörverlust und elektroenzephalographische Anomalien^(WHO, 1981).

Bei einer Untersuchung wurde die orale Aufnahme geringer Mengen anorganischen Arsens (wenige hundert µg täglich) mit dem Trinkwasser in Zusammenhang mit abnormen elektromyographischen Befunden gebracht. Diese Wirkung könnte als empfindlicher Indikator für eine Arsenvergiftung dienen, aber der Zusammenhang muß auch von anderer Seite nachgewiesen und bewertet werden^(WHO, 1981).

Anorganisches Arsen kann Hautkrebs - überwiegend schwach bösartige Tumore - hervorrufen. Dies wurde nach der Aufnahme von Arsen im Trinkwasser oder in Medikamenten (anorganisches dreiwertiges Arsen) in einer Gesamtmenge von mehreren Gramm über mehrere Jahrzehnte beobachtet^(WHO, 1981).

Über die Akkumulierung von Arsen im menschlichen Körper gibt es bisher keine bestätigten Werte. Einige Studien zeigen aber, daß die Arsen-Konzentration in menschlichen Geweben wahrscheinlich einer log-normalen Verteilung unterliegt, mit höchsten Werten in Haar, Haut und Nägeln^(WHO, 1981).

3.5 Arsen in anderen Umweltbereichen

Die Luft in Stadtgebieten kann wenige bis zu einigen 100 ng/m³ Arsen enthalten. In der Nähe von lokalen Emissionsquellen wie Metallhütten, sind Arsenkonzentrationen von über 1 µg/m³ gemessen worden^(WHO, 1981).

In gut durchlüfteten Böden liegt Arsen als Arsen(V), und in solchen mit reduzierenden Bedingungen als Arsen(III) vor.

Im Boden sind auch Biomethylierungen festgestellt worden. Die dabei gebildeten Methylarsine werden dann an die Luft abgegeben. Solche Phänomene sind in Gewächshäusern besonders häufig zu beobachten. Die überwiegende Menge des Arsens liegt in der freien Atmosphäre aber in seiner anorganischen Form vor^(WHO, 1981).

Die Arsenkonzentration in unkontaminiertem Süßwasser beträgt einige Mikrogramm pro Liter. So wurde z.B. über Gehalte von $3\mu\text{g/l}$ Arsen in Flußwasser und $4\mu\text{g/l}$ Arsen im Binnenseewasser für die Bundesrepublik Deutschland berichtet^(Quentin und Winkler, 1974). Mittelwerte in norwegischen Flüssen waren <0.02 bis $1.05\mu\text{g/l}$ ^(Lenvik et al, 1978).

Trinkwasser enthält normalerweise wenige $\mu\text{g/l}$ überwiegend in Form von anorganischem Arsen. Höhere Konzentrationen haben meistens natürliche Ursachen, aber es sind auch Folgen von industrieller Kontamination beschrieben worden^(WHO, 1981).

In den USA ist $50\mu\text{g/l}$ der maximal zulässige Gehalt von Totalarsen in Trinkwasser^(Irgolic, 1988).

Nahrungsmittel enthalten meistens unter 1 mg/kg Arsen; Meeresfische können bis 5 mg/kg Feuchtgewicht aufweisen. Bestimmte Krustentiere und benthische Fische können bis zu mehreren hundert mg/kg Arsen enthalten^(WHO, 1981).

Die Arsenkonzentration in Haaren unbelasteter Erwachsener liegt gewöhnlich unter 1 mg/kg ^(WHO, 1981).

3.6 Nordsee, Ostsee: Belastungszustand

Die Nordsee, die praktisch ein geschlossenes Meer ist, ist von hoch industrialisierten Ländern umgeben. Sie wird seit dem 19. Jahrhundert systematisch durch Schwermetalle und organische Stoffe verschmutzt. Die Einleiter sind die Flüsse, die das Abwasser der anliegenden Industrien und Haushalte mitführen. Daher liegen die am meisten kontaminierten Areale an den Mündungen der Flüsse Rhein, Maas und Schelde (Niederlande/Belgien), Humber, Tyne, Firth of Forth (Großbritannien), Weser und Elbe (Bundesrepublik Deutschland) und am Oslo Fjord (Norwegen).

Etwa 2 Millionen Tonnen Abwasser aus der Produktion von Titanoxiden mit 10% Schwefelsäure und 2-14% Eisensulphat^(Caspers, 1975) werden aus der Deutschen Bucht und der Rhein/Schelde-Mündung jährlich in die See geleitet.

Die Mengen an Blei und Quecksilber, die die Nordsee erreicht haben, wurden zu 30 bis 50% vom Rhein zugefügt. Untersuchungen von Baker in Wasserproben der Nordsee^(Baker, 1977)

ergaben, daß Elbe- und Rhein-Abwassersedimente große Mengen an Quecksilber mitführen. Andererseits wird vermutet, daß der Rest aller anderen Metalle (input) in die Nordsee von Weser und Elbe eingebracht wird (Förstner und Müller, 1974).

Noch ein Bild der Kontamination der sogenannten Deutschen Bucht kann man aus Daten von Cadmium (Mart und Nürnberg, 1986) in Wasser erhalten. Lösliches Cd beträgt 30ng/l und stellt 70 -80% des gesamten Cd dieses Meeres dar. Das heißt, daß 132 Tonnen Cadmium jährlich diese Area überqueren.

Auch von atmosphärischer Belastung ist die Nordsee nicht frei. Schon vor dem zweiten Weltkrieg begann die Produktion organischer Chemikalien und damit ihre Emission ins Meer. Selbst weiter entfernt liegende Städte bzw deren verschmutzte Atmosphäre tragen zur Kontamination der Nordsee bei (Cambray et al. 1975). Kontaminierte Niederschläge verschiedener Art kommen zu 38% aus Großbritannien, zu 20% aus Belgien, 16% aus der BRD, 7% aus Frankreich, 1.5% aus den Niederlanden und 0.6% aus Dänemark (Van Aalst 1988).

Die Nordsee gilt, wegen ihre begrenzten Verdünnungsfähigkeit und dieser konstanten Einträge als eines der am stärksten belasteten Meere der Welt. (Weichart, 1973; Kersten, 1988)

Trotz aller Bemühungen der anliegenden Länder, einen ökologischen Kollaps zu verhindern, werden die Küstengebiete dieser See mit so hohen Konzentrationen an Schadstoffen verseucht, daß die entsprechenden Ökosysteme schon Zeichen von Schäden und Eutrophie zeigen.

Die Ostsee, nur durch eine Halbinsel von der Nordsee getrennt, leidet wegen ihrer Position an ähnlichen Problemen, die sie in den letzten Jahren zu einem der am meisten mit Schadstoffen belasteten Meere der Welt umgewandelt haben (Förstner und Wittmann, 1979).

Die Ursache ist die hohe Populationsdichte in den anliegenden Ländern, die etwa 15% der Industrieprodukte der Welt herstellen. Besonders schwerwiegend sind Beiträge der UdSSR, von Polen, der ehemaligen DDR und der Papierindustrie in Schweden und Finnland, aber auch aus der Landwirtschaft.

Jährlich gelangen 1.2 Millionen Tonnen sauerstoffverbrauchende Substanzen (aus der Papierindustrie) und etwa 14.000 Tonnen Phosphor in die Ostsee. Sogar große Tiefseewasserareale enthalten praktisch keinen Sauerstoff mehr, sondern

Schwefelwasserstoff. Nach vorsichtigen Schätzungen dürften 10% der gesamten Ostsee in ihrem biologischen Teil zerstört sein (Förstner und Wittmann, 1979).

Arsen wird hauptsächlich durch die Atmosphäre in das Meer gelangen (siehe Kap. 3.2). Zusammen mit Pb, Cd, Hg und Se u.a., wird Arsen, das aus menschlichen Aktivitäten stammt, an organischen und anorganischen Komponenten der Atmosphäre adsorbiert. Später erreichen diese das Meer durch Naßdepositionen (siehe Abb.3).

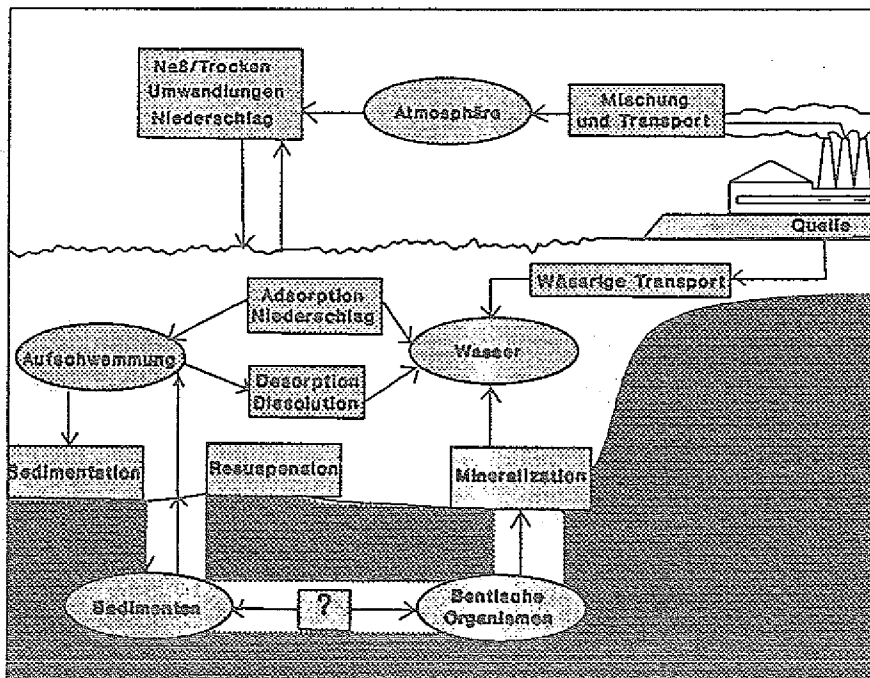


Abb.3: Systematische Zusammenfassung der Schwermetallpfade in marinen Ökosystemen

Wenn man über Meereskontamination spricht, werden meistens nur die echten Schwermetalle erwähnt und Arsen bleibt als separates Problem bestehen, das beim allgemeinen Kontaminationszustand des Meeres nicht berücksichtigt wird.

4 Proben, Lebensraum und wichtige Parameter

4.1 Probenarten

Zur Auswahl der Probenarten und der Standorte wurde auf die Erfahrungen der Deutschen Umweltprobenbank zurückgegriffen. Die Umweltprobenbank ist eine Institution der Bundesrepublik Deutschland; sie ist zum Teil im Forschungszentrum Jülich dem Institut für Angewandte Physikalische Chemie angegliedert (Boehrer et al, 1987; Boehrer, 1988; Stöckler et al, 1990; Schlöter et al, 1990).

Es wurden zwei marine Spezies ausgewählt: eine Muschel und eine Alge. Beide haben eine weite Verbreitung an der Nord- und Ostseeküste. Es handelt sich um:

- die Miesmuschel, *Mytilus edulis*.
- die Braunalge, *Fucus vesiculosus*.
- zur Dokumentation der Lebensbedingungen wurde auch teilweise, das umgebende Meerwasser analysiert.

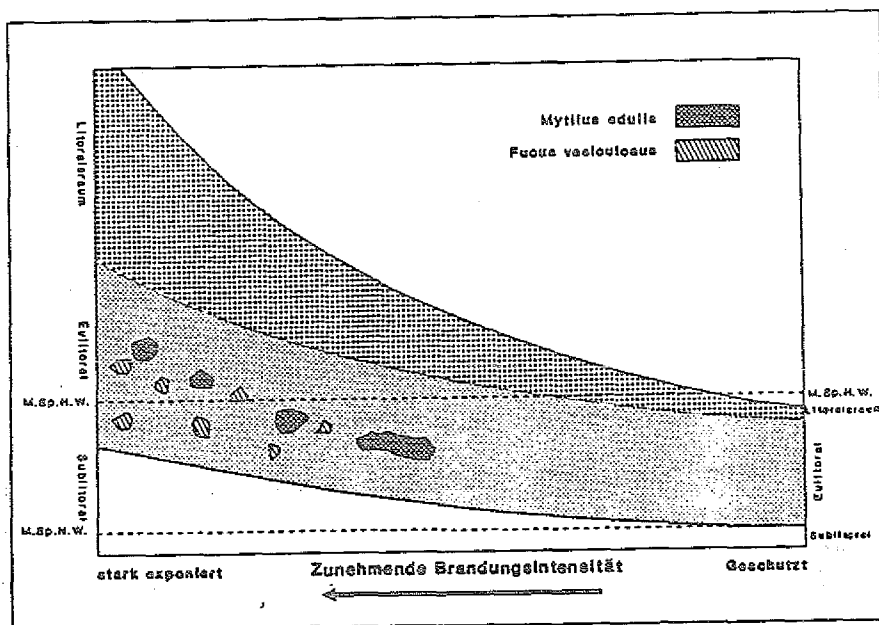


Abb. 4: Verteilung der Proben an einem felsigen Ufer bei wechselnder Wellenenergie (Tait, 1981)

Die ausgewählten Muscheln und Algen kommen oft am gleichen Standort vor und zwar zwischen dem Maximal- und Minimalwert der Gezeiten. Sie leben in engster Beziehung miteinander und mit dem umgebenden Wasser (Abb. 4).

Im allgemeinen haben Muscheln und Algen viele Eigenschaften, die sie für die Probenahme geeignet machen. Einige davon sind:

- a. Sie können Arsen anreichern, ohne daß der Organismus durch die aufgenommene Menge geschädigt wird.
- b. Ihre Langlebigkeit gewährleistet eine ausreichende Probenahmemenge über mehr als ein Jahr.
- c. Ihre Resistenz auf Temperaturunterschiede der Nord- und Ostseeufer ermöglicht zu allen Jahreszeiten die Probenahme lebender Organismen.
- d. Da sie normalerweise am Ufer wachsen, sind sie bei Ebbe immer sichtbar. So sind sie leicht zu erreichen, bzw. zu entnehmen und deswegen ist die Probenahme nicht kostspielig.
- e. Sie haben eine Bedeutung für den Menschen, da sie als Nahrungsmittel und zur Herstellung zahlreicher Produkte gebraucht werden.

4.1.1 *Mytilus edulis*. (Miesmuschel)

Die Miesmuschel *Mytilus edulis* wächst normalerweise auf Felsensubstraten in Nordwesteuropa und in der Ostsee auf dem sogenannten borealen Felsboden des Flachwassers^(Tait, 1981). Sie ist überall auf der Welt weit verbreitet, so daß man sie für das Biomonitoring in Küstengewässern vorgeschlagen hat^(Davies und Pirie, 1980; Murray, 1982; Goldberg, 1983; George, 1980).

Sie ist eine der wenigen marinen Spezies, die sich an die niedrigen Salinitätsbedingungen der Ostsee angepaßt haben. Die Fähigkeit, große Salzgehaltsschwankungen zu überleben, erlaubt es, diese Organismen als Euryhaline zu bezeichnen^(Tait, 1981). Demgegenüber steht die Mehrzahl der Organismen der offenen See, die nur eine sehr beschränkte Resistenz für schwankende Salinität haben.

Die Abwesenheit von Räubern höherer trophischer Stufen und Konkurrenten läßt diese Spezies im benthischen Reich vorherrschen^(Jansson und Kautsky, 1977; Kautsky, 1981). Trotzdem ist die in der

Ostsee lebende Spezies nicht fähig, größer als die der Nordsee zu werden, da die niedrige Salinität des Wassers einen Streß verursachen kann, der einen Großteil der metabolischen Energie verbraucht^(Tedengren und Kautsky, 1986).

Da die Muschel ein Filtrierer ist, ernährt sie sich von dem was im Wasser aufgeschwämmt ist. Dabei nimmt sie wahrscheinlich die gelösten und die an Partikeln adsorbierten Metalle und organometallischen Verbindungen auf und reichert sie an^(Phillipps, 1977; Bryan, 1985; Davies und Pirie, 1980; Murray, 1982; Goldberg und Martin, 1983; George, 1980).

4.1.2. *Fucus vesiculosus* (Braunalge)

Bei *Fucus vesiculosus* handelt es sich - wie bei allen Braunalgen - um eine mehrzellige Phaeophyceae, der Klasse Fucales. Sie lebt festgewachsen auf den Felsküsten in der Gezeitenzone der Meere, wo der Seegang und die Brandung nicht zu heftig sind und in dem Teil felsiger Meeresküsten, in dem das Seewasser von genügend Licht für die Photosynthese durchdrungen wird^(Van den Hoek, 1978). Sie kann aber auch andere feste Substrate wie Deiche, Kaimauern, lose Muscheln, Seegras und andere Meeresalgen besiedeln.

Weil diese Alge wie einige andere Algen des mittleren Eulitoralbereiches außer einer großen Trockenresistenz auch eine Frostresistenz besitzt und bis zu 10 Stunden Temperaturen von -18°C aushalten kann,^(Round, 1975) liegt sie bei Ebbe auf dem Untergrundsubstrat und bildet oft einen dichten Bewuchs, der von kleineren Lebewesen zum Überleben genützt wird.

Die feste fibrilläre Zellwandfraktion besteht vor allem aus unlöslichem Ca-Alginat. Dieses Alginat wird wegen seiner kolloidalen Eigenschaften intensiv industriell genutzt, zum Beispiel bei der Herstellung von Speiseeis, Marmelade, Schlagsahne, Pudding, Mayonnaise, Margarine, Zahnpasta und im Magen löslichen Medikamentenkapseln wie auch von Farbe, Baumaterial und Papier, sowie in der Foto-, Textil- und Erdölindustrie. Weitere Verwendungsmöglichkeiten sind die

direkte menschliche und tierische Ernährung und die Nutzung als organischer oder anorganischer Dünger.

Die Braunalge *Fucus vesiculosus* besitzt einen regelmäßig gabelig verzweigten und bandförmigen Thallus. Er trägt in regelmäßigen Abständen zu beiden Seiten seines Mittelnervs je eine Blase (Van den Hoek, 1978) (siehe. Abb. 5).

Werden die Blasen an einem Verzweigungspunkt des Mittelnervs angelegt, so entsteht direkt über der Verzweigung eine dritte Blase. Diese Blasen geben Auskunft über das Alter der Pflanzen, da normalerweise jeder Ast jährlich ein Blasenpaar anlegt (Van den Hoek, 1978).



Abb. 5: *Fucus vesiculosus*

Braunalgen akkumulieren Spurenelemente, selbst wenn die Konzentration im umgebenden Wasser sehr niedrig ist. (Round, 1975)

Der *Fucus vesiculosus* hat nur einen relativ geringen Bodenkontakt und das enthaltene Arsen wird wahrscheinlich von

den Algen aus dem Wasser in gelöster Form absorbiert (Philippe, 1977) und danach in Form verschiedener Arsenverbindungen angereichert. Bei *Fucus vesiculosus* ist z.B. die Konzentration von Arsen ungefähr 10^4 mal so hoch wie im Meerwasser.

4.1.3 Meerwasser

Das Meerwasser ist Lebensraum für die unterschiedlichsten Organismen. Das Meer dient ihnen zur Atmung und auch als Nahrungsquelle. Das heißt, die marinen Lebewesen sind in starkem Maße von geringen Schwankungen der physikalischen und chemischen Parameter des Wassers abhängig. Sie befinden sich im osmotischen Gleichgewicht mit dem umgebenden Wasser und die Ionenzusammensetzung ihrer Körperflüssigkeit ist im allgemeinen ihrer wässrigen Umwelt sehr ähnlich. Wenn sich deren Zusammensetzung ändert, können die Organismen beim Überschreiten ihrer biologischen Grenzen den Tod finden.

Die wichtigsten Änderungen sind in erheblichem Umfang abhängig von der Zonierung, vom Pol bis zum Äquator, und von der Meerestiefe. Es handelt sich in erster Linie um das Eindringen der Sonnenstrahlen und den Temperaturgradienten und erst in zweiter Linie um Salzgehaltsschwankungen, Änderungen der chemischen Zusammensetzung oder des Druckes. Für diese Arbeit sind die Temperatur und der Salz-, bzw. Arsengehalt am wichtigsten. Da die Probenahme am Ufer durchgeführt wurde, spielten Druckänderungen der Wassersäule keine Rolle. Das gilt auch für die Lichtintensität, da die Algen einen halben Tag trocken liegen und bei normalem Wasserstand nur wenig bedeckt sind.

4.2 Temperatur (Tait, 1981)

Die Temperaturschwankungen im Meer sind, trotz geographischer und jahreszeitlicher Einflüsse, äußerst gering im Vergleich zu denen in Süßwasserseen. In der Nordsee z.B. schwankt die Temperatur gewöhnlich zwischen 6 und 17°C. In sehr flachen Gebieten aber, die Gezeitenbewegung und geringe Wassertiefe haben - wie die Probenahmegebiete -, gilt das nicht. In der

Ostsee z.B., kann die Temperatur innerhalb eines Meters um mehrere Grad Celsius differieren. Die Wassertemperatur hat einen sehr starken Einfluß auf die Verbreitung und Aktivität der Meeresorganismen. Aus diesem Grund können in Flachwasserzonen nur Organismen leben, die als Eurythermen bezeichnet werden, d.h., die diese wechselnden Temperaturbedingungen gut vertragen^(Tait, 1981).

4.3 Salinität^(Tait, 1981)

Das Meerwasser ist eine sehr komplizierte Lösung, die in enger Beziehung mit der Nahrungskette der marinen Organismen und dem geologischen Wasserzyklus steht.

Die wichtigsten Ionen des Meerwassers sind in Tabelle II aufgeführt.

Die Salinität des Meerwassers beträgt im allgemeinen etwa 35 ‰, was der Menge an anorganischem Material, in g/kg Seewasser, das im Wasser gelöst ist, entspricht. Es ist bekannt, daß die Summe der Gehalte an Spurenelementen, außer Silizium und Fluor, 2mg/l nie überschreitet.

Tabelle II: Wichtige Ionen des Meerwassers. (Harvey, 1955)

Element Kationen	[mg/l]	vorherrschende Verbindungsform
<i>Natrium</i>	10500	Na^+
<i>Kalium</i>	380	K^+
<i>Magnesium</i>	1350	$\text{Mg}^{2+}; \text{MgSO}_4$
<i>Kalzium</i>	400	$\text{Ca}^{2+}; \text{CaSO}_4$
<i>Strontium</i>	8	$\text{Sr}^{2+}; \text{SrSO}_4$
Anionen		
<i>Chlorid</i>	19000	Cl^-
<i>Sulfat</i>	885	SO_4^{2-}
<i>Bromid</i>	65	Br^-
<i>Bikarbonat</i>	28	$\text{HCO}_3^-; \text{CO}_3^{2-}$

Der Salzgehalt erhöht sich bei geringem Niederschlag und höherer Verdunstungsrate, besonders wenn die Wasserzirkulation

gering ist. In diesen Fällen werden Salzgehalte bis zu 37 ‰ erreicht. Dagegen sinkt die Salinität bis zu 28 ‰, wenn reiche Niederschläge, Schmelz- und Süßwasserzufuhr wie auch eine geringe Verdunstungsrate die lokalen Bedingungen bestimmen.

In Flachmeeren wie der Nordsee liegen die Salzgehalte je nach Jahreszeit und vorherrschender Windrichtung zwischen 28 und 34 ‰. In der Ostsee schwanken die Werte zwischen 29 ‰ im Kattegat und 5 ‰ im Bottnischen Meerbusen.

Die Ionen, die im Gleichgewicht mit der Körperflüssigkeit mariner Organismen stehen, werden aus dem umgebenden Wasser immer wieder resorbiert. Andere werden aber von einigen Organismen stark angereichert. Algen z.B. reichern Jod, Nickel, Molybdän, Arsen, Zink, Vanadium, Titan, Chrom und Strontium an.

5 Analytische Methodik

5.1 Generelle methodische Aspekte der Arsenbestimmung

Vor 50 Jahren zu Beginn der Arsenanalytik waren mit quantitativen Methoden nur Unterschiede zwischen anorganischen Arsen(III) und Arsen(V) bestimmbar^(Treadwell, 1949). Die Nachweisgrenzen lagen dabei sehr hoch. Eine der empfindlichsten Methoden erlaubte Analysen bis zu 1 µg absolut. Dabei wurde das Arsen mit einem Reduktionsmittel zum Arsin reduziert^(Standard Methods, 1980; Basadre et al, 1978), mit Silber-Diethyldithiocarbamat in Pyridin komplexiert, und die Lösung (rot, von der vermutlichen Zusammensetzung von $\text{As}(\text{DDTC})_3$) spektralphotometrisch bestimmt^(Gastinger, 1972; Kopp, 1973). Diese Bestimmungsmethode war aber nicht in der Lage, eine Differenzierung in biologischen Proben durchzuführen, die normalerweise Arsenspezies im Nanogramm- oder Picogrammbereich enthalten. Daher versuchte man schon seit etwa 20 Jahren, die zur Verfügung stehenden Methoden nachweisstärker zu machen, um auch geringe Mengen noch sicher und spezifisch bestimmen zu können.

Instrumentelle Methoden, wie z.B. Plasma-Atomemissions-spektrometrie, Neutronenaktivierungsanalyse^(Ray, 1972), Graphitrohratomabsorptions-, Flammenemissions- und Flammenatomabsorptionsspektrometrie, sowie Polarographie und Kolorimetrie, haben die Nachweisgrenze mittlerweile erheblich erniedrigt. Das gilt leider nur für Totalarsen.

Die Atomabsorptionsspektrometrie entwickelte sich im Laufe der Zeit zur nachweisstärksten Bestimmungsmethode für Arsen. 1967 wurde die Luft-Acetylen-Flamme durch die Argon-Wasserstoff-Flamme ersetzt, da letztere weniger von der aus der Hohlkathodenlampe emittierten Energie absorbiert. Wollte man jedoch Proben mit geringen Arsenkonzentrationen bestimmen, traten in der Flamme dieser Gasmischung wegen unvollständiger Salzdissoziation und molekularer Absorption viele Interferenzen auf^(Godden und Thomerson, 1980).

Danach wurden Versuche durchgeführt, die Fähigkeit der Elemente der IV, V und VI Hauptgruppe des Periodensystems zur Bildung gasförmiger kovalenter Hydride analytisch zu nutzen. Daraus ergab sich die Möglichkeit, die zu bestimmenden Elemente als Gas in die Flamme einzuleiten, mit dem Vorteil, daß sämtliche Verunreinigungen im Reaktionsgefäß zurückblieben. Holak^(Holak, 1969) schlug dieses Verfahren erstmals 1969 vor, obwohl die Hydridbildung schon seit über 100 Jahren bekannt war^(Pollock und West, 1972). Er entwickelte Wasserstoff mit Hilfe von Zink in der salzsauren Probenlösung und sammelte das entstandene Arsin in einer mit flüssigem Stickstoff gekühlten Falle. Danach erwärmte er die Falle, um die Arsine mittels eines Stickstoffstromes in der Argon-Wasserstoff-Diffusionsflamme eines Atomabsorptionsgerätes zu bestimmen.

Spätere Änderungen des Reduktionsmittels^(Pollock und West, 1972, 1973; Schmidt und Roper, 1973) (Natriumborhydrid statt Zink als Wasserstoffherzeuger), des Atomisierungssystems^(Chu et al, 1972; Goulden und Brootsbank, 1974) (elektrische oder mit Flamme beheizte Quarzküvette anstelle der Flamme und der Lampe)^(Al Ani et al, 1967; Browner et al, 1969; Dagnall und West, 1968; Marks und Welcher, 1970) (elektrodenlose Entladungslampe anstelle einer Hohlkathodenlampe) erlaubten die Entwicklung einer wesentlich empfindlicheren Methode, um Arsen in geringen Konzentrationen bestimmen zu können. Obwohl heute eine ganze Reihe anderer Methoden zur Analyse verfügbar sind^(Irgolic et al, 1983), dürfte die Hydridentwicklung, entweder mit einem AAS-Detektor oder mit der Electron Capture Detection^(Andreae, 1977), die empfindlichste Methode sein, vor allem, wenn sie mit einer Arsinfalle kombiniert ist.

Braman^(Braman et al, 1977) und Andreae^(Andreae, 1977) haben diese Methode von Holak^(Holak, 1969) weiter entwickelt. Sie konzentrierten unterschiedliche Arsenverbindungen in einer Kühlfalle, um sie dann, aufgrund der verschiedenen Siedepunkte, sequentiell in eine Flamme zu leiten und das Arsen durch Emission oder Absorption zu bestimmen.

Später führten Welz et al. Studien zur Erniedrigung der Nachweisgrenze der Hydridmethode durch^(Welz und Melcher, 1981, 1983; Welz und Schubert-Jakobs, 1986). Sie konnten das Nachweisvermögen bei der Arsenbestimmung mit Hilfe einer Arsinfalle um das 20-fache

verbessern^(Welz und Schubert-Jakobs, 1986). Auf diese Weise wurde eine 30-fach niedrigere Nachweisgrenze für Arsen ^(Arenas et al, 1988), und eine bis 1000-fach niedrigere für Se^(Piwonka et al, 1985; Alt et al, 1987) im Vergleich zum normalen Hydridsystem erreicht.

So versuchte man seit vielen Jahren, mittels verschiedener Änderungen der Hydridmethode niedrigere Nachweisgrenzen zu erreichen, wobei Werte zwischen 0.1 und 5 ng absolut realisiert wurden^(Tan und Lacroix, 1982; Howard und Arbab Zavar, 1981; Iverson et al, 1979; Siemer et al, 1976). Nur mit Hilfe einer sehr komplizierten Miniaturisierung der Probenzufuhr konnte Ikeda⁽¹⁹⁸⁵⁾ eine Nachweisgrenze von 24 pg erreichen.

Durch die Einführung der "Flow Injection Analysis"(FIA) Methode in Verbindung mit dem Hydridsystem wurde die Nachweisgrenze 1989 weiter erniedrigt und die Probenmenge gleichzeitig reduziert.

Arsenverbindungen können heute auch durch Gaschromatographie als flüchtige Arsine, oder mit Hochdruckflüssigkeitschromatographie mit einem elementspezifische Detektor bestimmt werden. Auch mit differentieller Pulspolarographie erhält man brauchbare Ergebnisse^(Nichols, 1978; Howe, 1977; Henry et al, 1979).

5.2. Auswahl einer Methode

Die geringen Arsenkonzentrationen in der Umwelt erfordern nachweisstarke Bestimmungsmethoden, die es ermöglichen, rasche Routineanalysen mit niedrigen Nachweisgrenzen in biologischen und Umweltproben durchzuführen. Nur mit solchen Methoden ist es möglich, die verschiedenen Verbindungsformen in der zu analysierenden Probe sicher zu unterscheiden.

Obwohl für die Totalarsenbestimmung viele Methoden zur Verfügung stehen, ist die Auswahl einer Methode für die Arsenspeziation begrenzt. In Tabelle III. sind einige der wichtigsten Bestimmungsmethoden für die Arsenspeziation und deren Nachweisgrenzen dargestellt. Sie läßt erkennen, daß ein Atomabsorptionsgerät mit Hydrid-System wegen seiner Nachweisstärke für den Nachweis der einzelnen Arsenverbindungen mit minimalen Matrixstörungen geeignet ist.

Tabelle III (Irgolic, 1983): Bestimmungsmethoden für Arsenspeziation und deren Nachweisgrenzen.

METHODE	Total Arsen	Arsenit	Arsenat	MMAA	DMAA	Andere	Ref.
Silber Diethyldithiocarbamat	10	10	10	20 ^b			(1)
Diferentielle Pulspolarographie	2	2	6	2 ^b	2 ^b		(2)
Hydrid-Generation mit DC	0.02	0.02	0.02				(3)
Hydrid-Generation mit Flammen AAS		500ng		1µg	1µg		(4)
Hydrid-Generation mit GC-Flammen AAS	0.0005	0.0005	0.0005			(TMAO) 0.0005	(5)
Hydrid-Generation mit GC-FID	0.0005	0.0005	0.0005	0.0005			(5)
Hydrid-Generation geheizte Flamme							
Küvette-AAS nach Ion Chromat. Trennung		10	10	10	10		(6)
Elektrisch geheizte Küvette-AAS	1.0						(7)
GF-AAS	0.5						(8)
HPLC-GF-AAS		100	100	100	100		(9)
HPLC-ICP						(AB) 300pg 7.5ng	(10) (11)

(a) in ppb Arsen

(b) in ppb Arsenverbindung

(1) (Std. Meth., 1980; Stratton und Whitehead, 1962)

(2) (Nichols, 1978; Howe, 1977; Henry et al., 1979)

(3) (Braman et al., 1977), (Feldman, 1979)

(4) (Edmonds und Francesconi, 1976)

(5) (Andreae, 1977)

(6) (Ricci et al., 1981)

(7) (Fishman und Spencer, 1977)

(8) (Owens und Gladney, 1976)

(9) (Brinckman et al., 1980) (Stockton und Irgolic, 1979)

(10) (Beauchemin, 1988)

(11) (Francesconi et al., 1985)

Trotzdem ist die AAS als ausschließliche Methode für eine Arsen-speciation nicht ausreichend. Ihre Möglichkeiten die verschiedenen Arsenverbindungen in einer Messung getrennt bestimmen zu können, ist begrenzt. Die meisten organischen Verbindungen werden im Reduktionsprozeß nicht vollständig reduziert, oder die verschiedenen Verbindungen reagieren zum gleichen Arsin. Deshalb kann man höchstens 2 Verbindungen unterscheiden: Arsen(III) und Arsen(V) durch ihren Reaktions-pH^(Braman et al., 1977; Feldman, 1979). Andere behaupten, auch Monomethylarsensäure und Dimethylarsinsäure gleichzeitig bestimmen zu können^(Braman et al., 1977; Andrae, 1977; Talmi, 1975).

Da die HPLC heute eine Auswahl guter Möglichkeiten zur Trennung der Arsenverbindungen anbietet^(Woolson und Aharonson, 1980; Branch et al., 1989; Tye et al., 1985; Ebdon et al., 1988; Irgolic et al., 1983; Stockton und Irgolic, 1979; Matsuto et al., 1986; Irgolic, 1987; Morita et al., 1981; Kurosawa et al., 1980; Beauchemin, 1988), und dazu für einige Verbindungen gute Nachweisgrenzen berichtet worden sind^(Beauchemin, 1988), ist die Kombination von HPLC und HG-A-AAS (Hydrid System mit Anreicherungs-falle) für die Speziation verschiedener organischer bzw. anorganischer Arsenverbindungen wegen ihrer sehr guten Empfindlichkeit die ideale Kombination.

5.3. Prinzip der angewandten Analysenverfahren

5.3.1. Grundlagen der AAS

Die Atomspektroskopie beruht auf der Erzeugung freier Atome, überwiegend durch Zufuhr thermischer Energie, und der daran anschließenden Absorption oder Emission von Strahlung infolge definierter Übergänge der Valenzelektronen der äußeren Atomshale.

Das Phänomen der Strahlungsabsorption wurde schon Anfang des 18. Jahrhunderts, hauptsächlich an Kristallen und Flüssigkeiten, untersucht. Das klassische Prinzip, daß ein Atom bei der gleichen Wellenlänge, bei der es Strahlung emittiert, auch Strahlung absorbieren kann, wird in größerem Umfang erst seit 1955^(Walsh; Alkemade und Milatz, 1955) für Elementbestimmungen genutzt.

Das Ausmaß der Absorption ist der Anzahl der Atome direkt proportional und wird mathematisch durch das Gesetz von Lambert-Beer beschrieben (1).

$$A = \log \frac{I_0}{I_D} = k \cdot c \cdot d \quad (1)$$

I_0 = ursprüngliche Lichtintensität

I_D = Lichtintensität nach Durchgang durch den Probenraum

Es besagt, daß die Extinktion A (bzw. der Logarithmus der reziproken Durchlässigkeit) der durchstrahlten Schichtdicke d und der Konzentration c des absorbierenden Stoffes proportional ist.

Planck stellte 1900 schließlich das Gesetz der quantenhaften Absorption und Emission der Strahlung auf, nach dem ein Atom nur Strahlung eindeutig gegebener Wellenlänge (Frequenz) absorbieren, d.h. nur bestimmte Energiebeträge ϵ aufnehmen und auch wieder abgeben kann.

$$\epsilon = h\nu = \frac{hc}{\lambda} \quad (2)$$

Darin sind für jede Atomart bestimmte Werte von ϵ und ν charakteristisch.

Da die Resonanzlinien, die bei Atomen im Grundzustand auftreten, weniger häufig sind als die insgesamt emittierten Linien, ist ein Absorptionsspektrum wesentlich einfacher als ein Emissionsspektrum, so daß die Anforderungen an die Auflösung (Monochromator) nicht allzu groß sind. Bedingt durch das Prinzip, sowie die relativ schwachen Lichtquellen ist jedoch der dynamische Bereich begrenzt, d.h. die Eichbeziehungen sind, abhängig vom jeweiligen Element, nur in einem jeweils eingeschränkten unteren Konzentrationsbereich linear und werden bei zunehmender Konzentration mehr oder weniger gekrümmt.

5.3.1.1. Atomabsorptionsspektrometer

Die wesentlichen Komponenten eines Atomabsorptionsspektrometers sind:

- a) eine Strahlungsquelle, die das Spektrum des zu bestimmenden Elementes aussendet;
- b) eine Atomisierungseinrichtung, in der aus der zu untersuchenden Probe Atome gebildet werden;
- c) ein Monochromator zur spektralen Zerlegung der Strahlung, mit einem Austrittsspalt, der die Resonanzlinie aussondert
- d) ein Detektor, der die Messung der Strahlungsintensität ermöglicht
- e) ein Verstärker
- f) ein Anzeigegerät für die Meßwertausgabe.

Ein so einfach aufgebautes Gerät (Abb.6; 1) ist aber nicht in der Lage Emissionen der Atomisierungseinrichtung vom emittierten Licht der Strahlungsquelle zu unterscheiden.

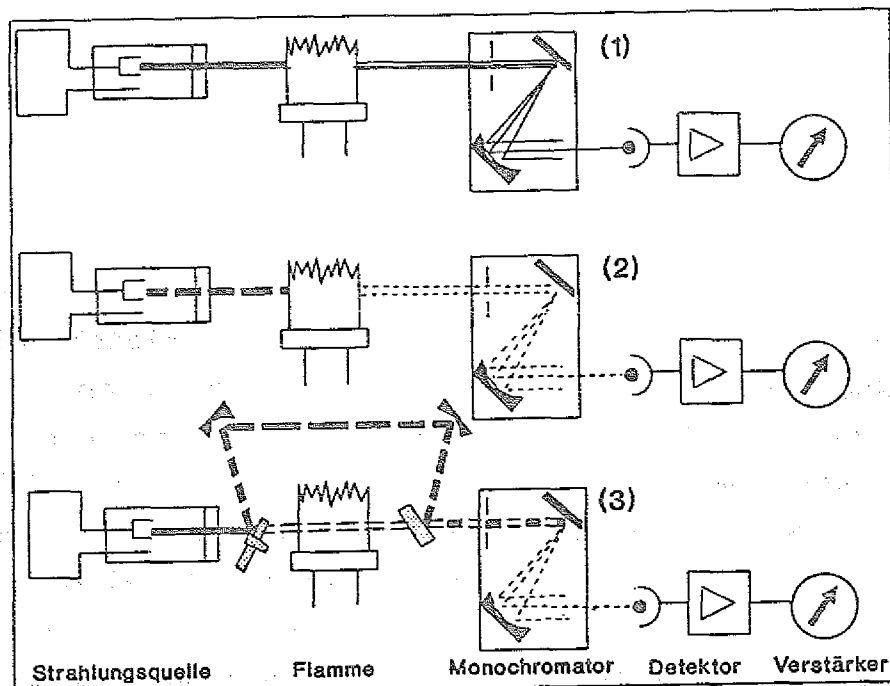


Abb.6: Entwicklung eines Atomabsorptionsspektrometers

1. Grundgerät;
2. mit doppeltem Strahl;
3. mit modulierter Strahlungsquelle

Deshalb wird die Basisliniendrift durch die Aufteilung des Lichtstrahls in einem Meß- und einen Referenzstrahl praktisch eliminiert (Abb.6; 2).

Dabei wird das Licht, das die Strahlungsquelle aussendet, mechanisch oder auch elektronisch so moduliert, daß auch optische Einflüsse der Probenmatrix ausgeschaltet werden (Abb.6; 3).

Weiter ist eine weitgehende Korrektur unspezifischer Lichtverluste möglich, wenn die unspezifische Absorption auf einer benachbarten, nicht absorbierenden Elementlinie gemessen und von der Gesamtaborption subtrahiert, bzw. mit der Untergrundabsorption geeigneter Kontinuumstrahler (Deuterium- oder Wasserstofflampe) verglichen und elektronisch korrigiert wird^(Welz, 1976).

Abhängig von der Atomisierungsart unterscheidet man drei Techniken: Flammentechnik, Graphitofentechnik und Kaltdampftechnik.

5.3.1.2 Flammen-AAS

Zum Atomisieren einer Probe in einer Flamme wird diese in Form einer Lösung mit Hilfe eines pneumatischen Zerstäubers in die Flamme versprüht. So entsteht ein gleichbleibendes, zeitunabhängiges Signal, das in seiner Höhe proportional zu der Konzentration des interessierenden Elements ist, und das so lange besteht wie Probelösung angesaugt und versprüht wird. Die Flammen-AAS entwickelte sich innerhalb von 20 Jahren zur dominierenden spurenanalytischen Methode für Metalle.

Aufgabe einer Flamme ist, die Probe in den atomaren Zustand überzuführen. Da sich die Gase einer Flamme und damit auch die mitgeführten Probenbestandteile stets mit einer mehr oder weniger großen Geschwindigkeit fortbewegen, läßt sich die Zeit, die für das Atomisieren einer Probe erforderlich ist, direkt als Höhe in der Flamme bzw. als Abstand über dem Eintritt der Probe in die Flamme ausdrücken. Es ist daher wünschenswert, daß das Atomisieren möglichst schnell erfolgt. Darüber hinaus sollte die Messung der Extinktion an einer

Stelle in der Flamme erfolgen, an der die Atomisierung vollständig ist, bzw. ein Gleichgewicht erreicht hat.

Generell sollte eine Flamme eine hohe Wirksamkeit in der Produktion von Atomen aufweisen und Folgereaktionen des zu bestimmenden Elements mit anderen Probenbestandteilen und Verbrennungsprodukten der verwendeten Gase vermeiden. Dabei ist die Temperatur der Flamme nur bis zu einem gewissen Grad von Bedeutung, viel wichtiger sind oft ihre oxidierenden oder reduzierenden Eigenschaften.

Obwohl die Flammen-AAS je nach Element recht präzise Messungen (1 % RSD) in einem relativ niedrigen Konzentrationsbereich (0.1 bis 100 mg/L) ermöglicht, hat sie das vorgegebene Ziel einer absoluten analytischen Methode bei weitem nicht erreicht.

Zwar hängt der Absorptionswert nicht allzu sehr von Begleitelementen in der Probe ab, er liegt jedoch unter dem Wert, der nach theoretischen Annahmen von Walsh⁽¹⁹⁵⁵⁾ und Russel⁽¹⁹⁵⁷⁾ zu erwarten wäre. Damit erweist sich die Flamme als eine recht stabile Atomisierungseinrichtung, aber mit einem geringen Gesamtwirkungsgrad (Einbringen und Atomisierung der Probe) und dadurch für die Analyse von Spurenelementen im unteren Konzentrationsbereich als zu unempfindlich.

5.3.1.3 Graphitrohr-AAS

Um bessere Nachweisgrenzen zu erzielen, Nachteile des Zerstäuber-Brenner-Systems zu umgehen oder bessere Absorptionsküvetten zu schaffen, wurden schon frühzeitig elektrisch geheizte Atomisierungseinrichtungen konstruiert und eingesetzt. Basierend auf den Arbeiten von L'Vov⁽¹⁹⁵⁹⁾ und Massmann⁽¹⁹⁶³⁾ wurde 1969 die erste kommerzielle Graphitrohrküvette eingeführt^(Walz, 1976). Sie brachte gegenüber der Flamme erhebliche Verbesserungen des Nachweisvermögens für alle Elemente. Für Arsen z.B. um das 100-fache^(Walz, 1983b). Diese Empfindlichkeitssteigerung wird durch weitgehende Atomisierung, hohe lokale Atomkonzentration und längere Verweilzeiten der Atome im Strahlengang bewirkt. Alle diese Parameter sind bei der Flammen-AAS wesentlich ungünstiger.

Bei der Graphitrohr-AAS (GFAAS) wird die Probe (ca. 5 bis 50 µl), in das Graphitrohr eingegeben und durchläuft

anschließend folgendes, je nach Aufgabenstellung variierbares, Temperaturprogramm: Trocknen, Thermische Zersetzung, Atomisierung (bis maximal 3000°C) und Nachglühen, um störende Matrixreste zu entfernen. Im Prinzip ist die Direkteingabe von Flüssigkeiten und auch von Festproben, ggf. nach Verdünnung, in Graphitküvetten möglich.

Im Vergleich zur Flammen-AAS muß in Kauf genommen werden, daß eine Einzelmessung bei der GFAAS etwa die zehnfache Zeit (im Mittel ca. 120 s) benötigt. Auch die Reproduzierbarkeitschwankungen von Tag zu Tag unterschreiten selbst unter optimalen Bedingungen selten 5%; das gilt auch für die modernsten Systeme^(Stoeppler, 1984). Zusätzliche Schwierigkeiten bestehen bei der Kompensation der unspezifischen Komponenten der sehr raschen Meßsignale sowie durch das Graphitrohr selbst, vor allem durch Karbidbildung, Störreaktionen an Oberflächen und schwankende individuelle Eigenschaften^(Welz, 1976; Volland et al, 1977; Czobik und Matousek, 1978; Sperling und Bahr, 1979; Stoeppler, 1980; Matousek, 1981; Stoeppler und Nürnberg, 1983).

5.3.1.4 Kaltdampftechnik

Die einmaligen Eigenschaften von Quecksilber, das als einziges Metall bereits bei Zimmertemperatur atomar vorkommt und einen beträchtlichen Dampfdruck aufweist, haben dazu geführt, daß sich viele Arbeitskreise schon früh um die Bestimmung dieses Elements bemüht haben. Dazu kommt die relativ schlechte Empfindlichkeit dieses Elements bei einer Messung in der Flamme und die immer stärker zunehmende Notwendigkeit seiner Bestimmung in sehr geringen Spurenkonzentrationen. Da Quecksilber bei 20°C einen Dampfdruck von 0.0016 mbar besitzt, entsprechend einer Konzentration von etwa 14 mg/m³ Luft, besteht die Möglichkeit seiner Bestimmung mit AAS ohne eine eigentliche Atomisierungseinrichtung. Das Element muß lediglich aus seinen Verbindungen zum Metall reduziert und in den Dampfraum überführt werden.

Für die Bestimmung von Quecksilber wird heute weitgehend das gleiche Zubehör eingesetzt wie für die Hydridtechnik (Siehe Kap 5.3.2). Dabei sind jedoch bei Verwendung von Zinn(II)-chlorid als Reduktionsmittel einige Änderungen notwendig, z.B.

Zuschalten einer Umlaufpumpe oder Einschalten eines höheren Gasstroms zum Austreiben des Quecksilbers.

Die Nachweisgrenze dieses Verfahrens liegt noch unter 0.1 ng absolut.

5.3.2 Grundlagen der HG-AAS

Die Hydrid-Technik basiert auf der Fähigkeit einiger Elemente der IV., V. und VI. Hauptgruppe des Periodensystems, mit Wasserstoff gasförmige kovalente Hydride zu bilden. Diese Technik wurde schon 1836 von Marsh und Gutzeit für die qualitative Arsenbestimmung verwendet. Als quantitative Methode hat es die Vorteile der Abtrennung und Anreicherung des interessierenden Elementes sowie auch des vollständigen Ausschaltens von möglichen Störeinflüssen.

Die Apparatur (Siehe Abb 11 Kap. 7.1) besteht aus einem Reaktionsgefäß, in dem die angesäuerte Probe mit dem Reduktionsmittel reagiert, und einer auf 900°C geheizten Quarzküvette, in die die Reaktionsgase durch einen Schlauch gelangen. Hier werden die Hydride atomisiert und mit Hilfe eines Atomabsorptionsgerätes auf das interessierende Element analysiert.

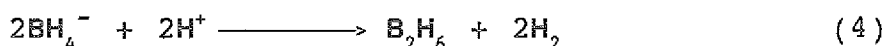
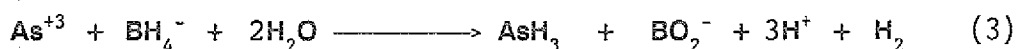
Komplette Geräte zum Anschluß an Atomabsorptionsspektrometer findet man bei vielen Firmen. Eines davon ist das MHS-20 von Perkin Elmer.

Bei Verwendung des MHS-20 wird die Bestimmung von Arsen in 3 Schritten durchgeführt:

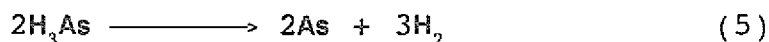
- a) Purge I. Phase: Mit dem Trägergas wird die durch Zugeben einer neuen Probe in das System gelangte Luft ausgespült. Diese Purge Phase vermeidet eine Knallgasreaktion des Wasserstoffs bei der Messung. Die Länge dieser Phase kann von 0 bis 60 s variiert werden.
- b) Zugabe der Reduktionslösung: Nach einer Pause von fünf Sekunden wird durch den Druck des Trägergases auf die Lösung im Reduktionsmittelgefäß die Natriumborhydridlösung über einen Schlauch in das Reaktionsgefäß mit der sauren Probelösung geleitet. Die dabei entstehenden Arsine werden vom Helium in die Meßküvette überführt.

- c) Purge II. Phase: Mit dem Trägergas werden die restlichen gasförmigen Produkte der gemessenen Probe aus dem System entfernt.

Bei der Arsenbestimmung über Arsine bilden sich im Reaktionsgefäß nicht nur das gewünschte Arsin (Gl. 3) sondern auch eine bestimmte Menge Wasserstoff (Gl. 3 und 4) und Boran (Gl. 4)



Dieser Wasserstoff spielt, wahrscheinlich durch die Bildung von $\text{H}^\cdot$ -Radikalen in der heißen Quarzküvette, eine entscheidende Rolle (Welz, 1983; Welz und Melcher, 1984; Welz und Schubert-Jakobs, 1986; Van Cleuvenberger et al., 1988), da diese Radikale zu einer besseren Atomisierung der Arsine führen, nachdem sie aus der Arsinfalle ausgetrieben wurden. (Welz und Melcher, 1981; Welz und Schubert-Jakobs, 1986; Dedina 1984) Obwohl diese noch nicht geprüfte Theorie auf Grund der Thermodynamik nicht ganz akzeptiert ist, (Bax, 1986; Agterdenbos, 1986) kann man eine katalytische Wirkung bei der Atomisierung nicht ausschließen. Nach neueren Studien ist auf jeden Fall eine einfache Zersetzung des Arsins (Gl. 5) nach thermodynamischen Rechnungen und experimentellen Arbeiten, sehr unwahrscheinlich. (Akman, 1982; Welz, 1983; Agterdenbos, 1985; Dittrich, 1986; Bax, 1986; Agterdenbos, 1986; Bax, 1986; Agterdenbos, 1986.)



Die Teilnahme von di- und/oder tetrameren Arsenmolekülen am Atomisierungsprozess gibt auch eine akzeptable Erklärung (Akman, 1982; Welz, 1983; Agterdenbos, 1985; Bax, 1986).

Auf jeden Fall fließt während der Anreicherung der bei der Reaktion gebildete Wasserstoff durch die Falle und kommt vor dem Arsen in die Küvette. Bei zu großer Anreicherungszeit besteht die Möglichkeit, daß die Wasserstoffkonzentration in der Küvette zu gering, oder gar kein Wasserstoff mehr

vorhanden ist. Das führt auf Grund der Küvettentemperatur zu einer thermischen Zersetzung und damit zu einer Erniedrigung der Nachweisgrenze, da dieser Prozeß wahrscheinlich nur As_2 erzeugt^(Welz, 1983).

Daher muß man versuchen, die Reduktionszeit und die Zeit der Purge II - Phase zu optimieren, wobei die Reaktionszeit durch die Menge des in der Probe vorhandenen Arsens festgelegt ist. Es bleibt die Variation der Zeit für Purge II.

Wie bereits erwähnt, nimmt der Wasserstoff an der Atomisierung der Arsine in der beheizten Küvette teil. Eine niedrige Helium-Flußrate und lange Anreicherungszeit vermindern die Atomisierungsrate. Der Effekt verschwindet, wenn ein zusätzlicher Wasserstoffstrom in die Küvette gelangt. Das zuvor schwache Absorptionssignal steigt erheblich an und wird besser reproduzierbar^(Van Cleuvenberger et al, 1988).

5.3.3 Grundlagen der Hochleistungsflüssigchromatographie

Allgemein ist die Chromatographie ein Trennprozeß, in dem ein Probengemisch zwischen einer stationären und einer mobilen Phase verteilt wird. Ist die mobile Phase ein Gas, so spricht man von Gaschromatographie. Ist die Phase flüssig, so handelt es sich um Flüssigchromatographie.

Die Tendenz der verschiedenen Stoffe (oder Verbindungen) mit unterschiedlichen Geschwindigkeiten durch das chromatographische Bett zu laufen, wird von einem spezifischen Kapazitätsfaktor k' (Gl. 6) bestimmt.

$$k' = \frac{n_{\text{stat}}}{n_{\text{mob}}} \quad (6)$$

n_{stat} = Anzahl Mole eines Stoffes in der stationären Phase
 n_{mob} = Anzahl Mole eines Stoffes in der mobilen Phase

Voraussetzung ist, daß zwischen beiden Phasen ein inniger Kontakt erfolgt und die zu trennenden Stoffe verschiedene Kapazitätsfaktoren haben. Die Substanzen unterscheiden sich

nur in ihrer Aufenthaltszeit in oder an der stationären Phase. Das heißt ihre Nettoretentionszeit ist unterschiedlich.

Die Gesamt-Retentionszeit t_r ergibt sich aus der Aufenthaltszeit der Verbindung in der stationären Phase und der Aufenthaltszeit der Verbindung in der mobilen Phase.

$$t_r = t_o + t'_r \quad (7)$$

t_o = Totzeit der Trennsäule, die die mobile Phase benötigt, um durch die Trennsäule zu wandern.

t'_r = Netto Retentionszeit.

Die Totzeit ist vom Stoff unabhängig. Da diese Zeit aber von der Strömungsgeschwindigkeit des Eluenten abhängig ist, verwendet man besser entweder die Retentionsvolumina oder den Kapazitätsfaktor, die beide nur von der Wirkung des Fließmittels abhängig sind.

$$k' = \frac{t'_r}{t_o} = \frac{(t_r - t_o)}{t_o} \quad (8)$$

Danach werden zwei Komponenten einer Mischung nur getrennt, wenn sie sich in ihren k' -Werten unterscheiden. Ein Maß für die Selektivität des Trennsystems ist die relative Retention α .

$$\alpha = \frac{k'_2}{k'_1} = \frac{t_{r2} - t_o}{t_{r1} - t_o} = \frac{K_2}{K_1} \quad (9)$$

mit $k'_2 > k'_1$

α läßt sich durch die Wahl von stationärer und mobiler Phase beeinflussen.

Die Auflösung R zweier nebeneinander liegender Peaks ist durch den Quotienten aus der Differenz der beiden Retentionszeiten t_r , und dem arithmetischen Mittelwert der beiden Basisbreiten festgelegt. Erwünscht sind Auflösungen zwischen 1 und 1,5. So können die Peaks ohne unnötige Verlängerung der Analysenzeit vollständig getrennt werden.

Die Auflösung zweier Peaks läßt sich mit der relativen Retention α , der Trennstufenzahl N , und dem Kapazitätsfaktor k' in Beziehung setzen und zwar über die Formel:

$$R = \frac{1}{4} (\alpha - 1) \sqrt{N} \frac{k'}{1 + k'} \quad (10)$$

mit $k'_1 \approx k'_2$

α = Maß der Selektivität des chromatographischen Systems

Die Trennwirkung der chromatographischen Säulen wird in theoretischen Trennstufen (Böden) ausgedrückt. Der theoretische Boden entspricht der Distanz, in der sich das Gleichgewicht theoretisch neu einstellt. Je länger die chromatographische Säule ist, desto größer ist die erhaltene Bodenzahl und desto besser die Trennung eines Gemisches. Dieser Effekt wird leider durch eine Bandenverbreiterung kompensiert. Das heißt, die Zone, die den getrennten Stoff enthält, wird immer breiter, je größer die zurückgelegte Strecke in der Säule und je länger die Verweilzeit darin ist. Diese Bandenverbreiterung kann folgende Ursachen haben: Eddy Diffusion (Streudiffusion), Strömungsverteilung zwischen den Partikeln des Trägermaterials, Diffusion der Probenmoleküle in der mobilen Phase und Stoffaustausch. Jeder dieser Effekte kann vermindert werden, damit die größtmögliche Bodenzahl ohne zu große Bandenverbreiterung erreicht wird.

Die so chromatographierten Stoffe werden von der mobilen Phase in den Detektor transportiert und vom Schreiber oder Integrator als Gaußkurven (Ideale Peaks) registriert.

Diese Peaks erlauben gleichzeitig sowohl eine qualitative als auch eine quantitative Information über die untersuchte Mischung.

Die Tatsache, daß die Retentionszeit einer Komponente, unter gleichen chromatographischen Bedingungen, gleich groß wird, vermittelt qualitative Informationen über den untersuchten Peak. Andererseits ist die Peakfläche den Konzentrationen der Komponenten proportional, was wichtig zur Berechnung der Gehalte ist.

In der normalen Flüssigchromatographie besteht auch die Möglichkeit, die mobile Phase mit Druck durch die chromatographische Säule zu pumpen. In diesem Fall spricht man von Hochleistungs-Flüssigchromatographie (HPLC), die gewisse Vorteile gegenüber der normalen Chromatographie hat. Es wird eine wesentlich höhere Auflösung bei der Trennung erreicht, das heißt, es können relativ viele Substanzen aus Gemischen getrennt werden, die sich nur wenig in ihren chemischen und physikalischen Eigenschaften unterscheiden. Sie ist rasch. Die Analysenzeit liegt in der Größenordnung von Minuten, anstelle von Stunden in der klassischen Chromatographie. Das Nachweisvermögen beim Nachweis der getrennten Substanzen ist ebenfalls erheblich verbessert.

Um HPLC zu betreiben, benötigt man eine Apparatur (Abb. 33 Kap.7.3.1), bestehend aus Versorgungseinheit, Dosier-
vorrichtung, Trennsäule, Detektor, Fraktionierungseinrichtung und Auswertesystem.

Der wichtigste Teil des HPLC-Systems ist die Trennsäule. Man erhält sie je nach gewünschter Trennungsart mit verschiedenen Füllungen. Silicagel, Aluminiumoxid und Magnesiumsilikat finden häufig Verwendung als stationäre Phasen in der Adsorptionschromatographie. Säulen mit porösen Trägermaterialien (z.B. Kieselgur) benötigt man für die Flüssigflüssig-Verteilungschromatographie und mit chemisch modifiziertem Silicagel für Verfahren, bei denen man ganz spezifische Eigenschaften benötigt. Weiche und harte Gele eignen sich für die Gelchromatographie und makromolekulare Verbindungen, an die geeignete biologisch aktive Gruppen gebunden sind, für die Affinitätschromatographie und schließlich Ionenaustauscher für die Ionenchromatographie.

Die letztgenannte Säulenart ist mit einer stationäre Phase gefüllt, die ionische Gruppen gebunden enthält. Normalerweise handelt es sich um organische Ionenaustauscher auf Styrolbasis, die mit Divinylbenzol vernetzt sind. Im Gerüst sind die aktiven Gruppen eingebaut (Abb. 7).

Diese stationäre Phase kann entweder anionische oder kationische Verbindungen austauschen (Anionen- bzw. Kationenaustauscher). Es gibt zwischen den Ionen in der mobilen Phase und den aktiven Gruppen der stationären Phase,

einen reversiblen Austausch. Die Verzögerung der ionisierten Proben erfolgt durch elektrostatische Wechselwirkung mit der stationären Phase.

Normalerweise werden Sulfonat- oder Carboxylgruppen ($R-SO_3^-H^+$; $R-COO^-$) für starke- bzw schwache Kationenaustauscher verwendet. Die Unterschiede zwischen beiden liegen nur darin, daß bei den ersten die funktionellen Gruppen fast unabhängig vom pH geladen sind. Bei den schwachen Kationenaustauschern dagegen nur in bestimmten pH-Bereichen. Ein Beispiel der Austauschreaktion wird in Gl. (11) und (12) gezeigt (Munson, 1984).

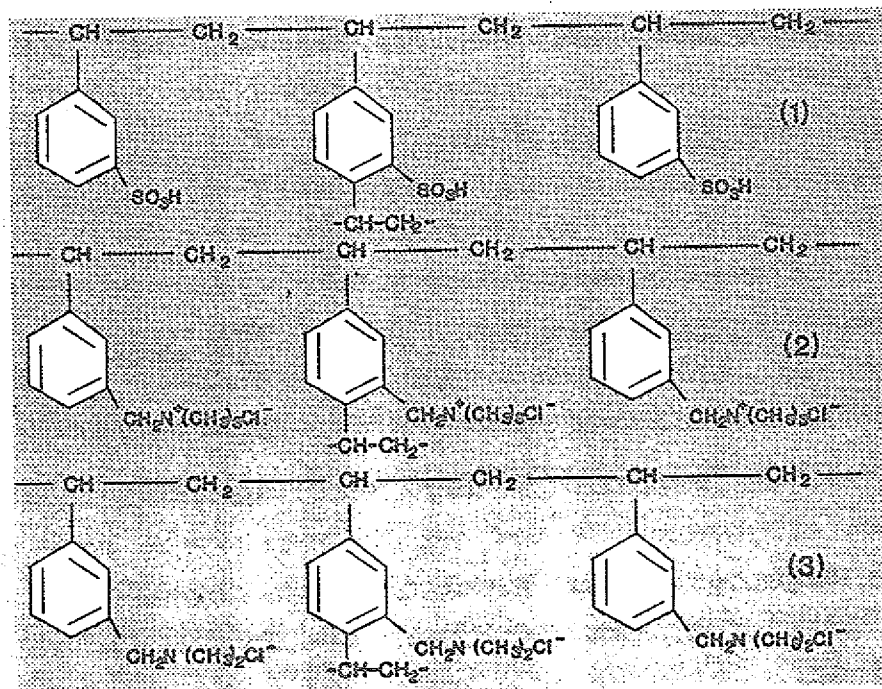
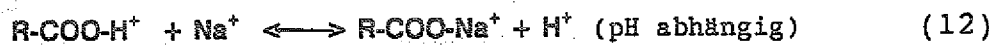
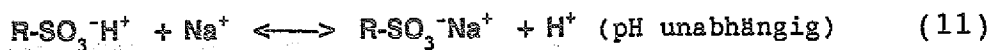
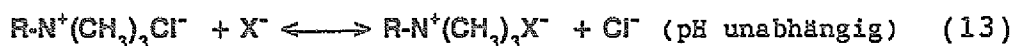


Abb. 7: Ionenaustauschgruppen (Willard et al, 1981)

1: Starker Kationenaustauscher. 2: Starker Anionenaustauscher. 3: Schwacher Anionenaustauscher



Bei Anionenaustauschern sind häufig entweder quaternäre Ammonium-Gruppen (bei starken Anionenaustauschern) oder tertiäre Amine (bei schwachen Anionenaustauschern) vorhanden. Die Art dieser Austauschreaktionen wird durch die Gleichungen (13) und (14) dargestellt.



Im allgemeinen werden in der HPLC konzentrationsabhängige Detektoren eingesetzt. Eines der Kriterien zur Beurteilung der Güte bzw Eignung dieses Detektors ist, neben der Größe des linearen Bereiches, das Rauschen, die Empfindlichkeit und die Selektivität.

Die meisten gängigen HPLC-Detektoren benutzen zur Messung die optischen Eigenschaften der Substanzen. Andere verwenden dagegen elektrische oder chemische Eigenschaften, wie die Oxidier- oder Reduzierbarkeit der zu bestimmenden Spezies.

Ein Brechungsindex(RI)-Detektor mißt nur Unterschiede in der Gesamtbrechung der eluierenden Lösung und kann daher keine Aussagen über die Natur der Peaks machen. Die qualitative Zuordnung erfolgt über die Retentionszeit. Quantitative Auswertung ist nur möglich, wenn man sicher ist, daß der entsprechende Peak einer einzigen Verbindung zugeschrieben werden kann.

Nur etwas besser ist die UV-Detektion bei 254 nm, da dort viele analytisch relevante Substanzen absorbieren. Bedingung ist, daß das Molekül mindestens entweder eine Doppelbindung benachbart zu einem Atom mit einsamen Elektronenpaaren ($X=Y-Z:$), eine Carbonylgruppe($C=O$), zwei konjugierte Doppelbindungen ($X=X-X=X$) einen aromatischen Ring, oder Brom-, Iod- oder Schwefelatome besitzt. Aber diese Gruppen absorbieren nicht alle gleich stark und nicht bei der gleichen Wellenlänge. Die Intensität der Absorption und die Lage des Absorptionsmaximums wird auch von den benachbarten Atomgruppen im Molekül beeinflußt.

Wesentlich selektiver und etwa 20 mal empfindlicher wird die Detektion bei Verwendung langwelliger spektraler Nebenmaxima.

UV-Detektoren die mehrere Substanzen gleichzeitig messen können, liefern noch substanzspezifischere Daten. Ihre weite Verbreitung ist der Tatsache zu verdanken, daß die starke Emissionslinie der Hg-(Niederdruck-)Dampflampe bei 254 nm sich sehr gut für Absorptionsmessungen an organischen Molekülen eignet, sofern sie ein aromatisches System tragen.

Elektrochemische- bzw. Fluoreszenz-Detektoren sind die empfindlichsten Detektoren und haben eine herausragende Selektivität bei Einstellung ganz bestimmter Redox- oder Oxidationspotentiale bzw. bestimmter Anregungs- und Emissionswellenlängen.

Heute erhält man auch sehr gute Ergebnisse bei der Verwendung von atomabsorptiometrischen oder massenspektrometrischen Detektionsmethoden. Der Vorteil solcher spezifischer Detektionmethoden spielt bei der Arsenspeziation eine ganz bedeutende Rolle. Durch die große Empfindlichkeit der HG-A-AAS eignet sie sich sehr gut zur Detektion kleiner Arsenmengen, wie sie nach der HPLC-Trennung in den Fraktionen vorkommen.

Die Nachweisgrenze der kombinierten Systeme (HPLC-HG-A-AAS) wird durch die Nachweisgrenze der HG-A-AAS bestimmt, das bedeutet 50 pg absolut.

5.3.4 Grundlagen des Probenaufschlusses

Zur Abtrennung der in allen biologischen Materialien im Überschuß vorliegenden organischen Matrix wird dem eigentlichen Elementbestimmungsverfahren in der Regel ein Probenaufschluß vorgeschaltet. Dieser ist abhängig von der Natur der Matrix, dem zu bestimmenden Element und der zu verwendenden Bestimmungsmethode. Allgemein hat das Verfahren folgende Aufgaben:

- a. Überführung der vielfach undefiniert gebundenen Spurenelemente in definierte lösliche Verbindungen.
- b. Eliminierung der durch die organische Matrix verursachten Analysenstörungen, die oft eine Quelle systematischer Fehler sind.
- c. Isoformierung von Proben und Kalibriermaterialien.

Wichtig ist, daß die biologische Matrix vollständig aufgelöst und daß das zu bestimmende Element nach dem Aufschluß ohne Verluste in eine homogene Lösung überführt wird (Seiler). Vorzugsweise werden die biologischen Probenmaterialien mit oxidierenden Säuren umgesetzt, wobei der Kohlenstoff der organischen Matrix zu Kohlendioxid oxidiert und so von den interessierenden Elementspuren abgetrennt wird.

Die wichtigsten Aufschlußreagenzien sind Salpetersäure und Perchlorsäure. Sie werden entweder allein, im Gemisch miteinander oder in binären und ternären Mischungen mit Schwefelsäure eingesetzt.

Von diesen Reagenzien ist Perchlorsäure das stärkste Oxidationsmittel für organisches Material. Ohne ihren Einsatz konnte eine vollständige Veraschung in den meisten Fällen bisher nicht erreicht werden. Sie sollte aber nur in Gemischen mit anderen Säuren, vor allem mit Salpetersäure, eingesetzt werden, da Perchlorsäure mit organischen Materialien explosionsartig reagieren kann (Kahane, 1937). Unbedingt zu beachten ist, daß Perchlorsäure erst nach vollständigem Umsatz des aufzuschließenden organischen Materials abgeraucht wird. Um zu verhindern, daß Perchlorsäure ins Abluftsystem gelangt, wo sie mit organischen Dämpfen explosive Gemische bilden kann, dürfen nur spezielle Abzüge verwendet werden, in denen die Luft durch Berieselung mit Wasser von Perchlorsäuredämpfen befreit wird.

Wesentlich sicherer ist das Arbeiten mit Salpetersäure. Eine explosionsartige Reaktion beim Kontakt mit organischen Probenmaterialien tritt nicht auf. Allerdings reicht ihr Oxidationsvermögen nicht aus, um biologische Probenmaterialien im offenen System vollständig zu mineralisieren (Würfels und Jackwerth, 1985; Würfels, 1989). In einigen Fällen reicht sie nicht einmal aus, um biologische Materialien zumindest in lösliche Komponenten zu überführen. Verglichen mit anderen Veraschungsreagenzien weist Salpetersäure die niedrigsten Werte an kontaminierenden Elementen auf, was für Spurenelementbestimmungen sehr bedeutsam ist.

Als Lösungsvermittler wird normalerweise Schwefelsäure eingesetzt. Sie besitzt für viele organische Substanzen ein sehr gutes Lösevermögen und wirkt stark dehydratisierend. Deshalb findet sie häufig Verwendung als Zusatz zu oxidierenden Säuren. Bei hohen Temperaturen weist sie auch gewisse oxidative Eigenschaften auf. Infolge ihres relativ hohen Siedepunktes läßt sie sich jedoch nur schwer aus dem Veraschungsgut entfernen.

Tabelle IV: Übersicht über die gebräuchlichsten Aufschlußmethoden für die Bestimmung von Metallspuren (Stoeppler, 1987)

Methode	Kontaminations-Risiko	Vollständiger Aufschluß	Proben-durchsatz	Anmerkungen
Trockenveraschung bei hohen Temperaturen-	unter Umständen beträchtlich	ja	hoch	Im allgemeinen nicht für geringe Konzentrationen und hohe Präzision geeignet, wenn nicht besondere Maßnahmen ergriffen werden.
Tieftemperaturveraschung im Sauerstoffplasma	gering	ja	mittel	Aufschlußdauer unter Umständen in Abhängigkeit von der Matrix recht lange bis zur kompletten Veraschung
Verbrennung gering im Sauerstoffstrom	gering	meistens	gering	Nicht immer für die Routine geeignet, da nur Einzelproben aufgeschlossen werden können. Nicht in allen Fällen komplette Veraschung.
Naßveraschung, offene Systeme, Glas oder Quarz	gering	ja	hoch	Automatische Systeme mit Preisen bis 20.000 DM erlauben hohen Proben-durchsatz. Auch Rückfluß möglich. Sehr verschiedenartige Aufschluß-mischungen.
Naßveraschung geschlossene Systeme, Teflon (Druckaufschluß)	sehr gering Ausnahme: Quecksilber	nein	mittel bis hoch	Für nachfolgende voltammetrische Verfahren bei niedrigen Metallkonzentrationen. Nachbehandlung z.B. mit HClO_4 , H_2O_2 . UV-Bestrahlung nötig, Temperatur 16 °C, Qualität der Teflongefäße sehr wichtig.
UV-Veraschung, geschlossenes System, Quarz (Druckaufschluß)	sehr gering auch für Quecksilber	ja	mittel	Besonders gut geeignet für Quecksilber und Voltammetrie, da Aufschluß bei Temperaturen bis 300 °C möglich
UV-Aufschluß wäßr. Proben bei Hg usw. ist geschlossenes System nötig.	sehr gering	ja	mittel	Spezielle Methode für wäßr. Proben Sehr vorteilhaft vor der voltammetr. Bestimmung von Metallen

Zur Arsenbestimmung in biologischen Proben mit HG-AAS wird überwiegend ein offener Naßaufschluß angewandt. Dieser wird mit einer Mischung Salpetersäure, Perchlorsäure und Schwefelsäure (30:2:5) durchgeführt.

Wegen der relativen Leichtflüchtigkeit der Salpetersäure, benötigt man beim Naßaufschluß im offenen System relativ große Mengen (z.B. 3 ml für etwa 200 mg Probe). Die Proben werden zuerst nur mit dieser Säure bis zur Auflösung der Matrix behandelt, um gefährliche Reaktionen des Probenmaterials mit Perchlorsäure zu vermeiden. Schwefelsäure ermöglicht wegen ihres hohen Siedepunktes einen Aufschluß bis 350°C. Dies ist zur kompletten Mineralisierung sämtlicher Verbindungsformen, vor allem von Arsenobetain, notwendig. Nach dem Abkühlen ist sie das Lösungsmittel für das zu analysierende Element.

Für diesen Naßaufschluß verwendet man einen Aluminiumblock mit einem elektronisch gesteuerten Temperaturprogramm, der die Quarzgefäße für die aufzuschließenden Proben enthält. Das System erlaubt ein Temperaturprogramm in beliebigen Stufen (siehe Tab.V) und hat Kapazität für 28 15 ml Quarzkolben.

Tabelle V: Temperaturprogramm zum Aufschluß organischer Proben mit dem Aufschlußgerät von Liebisch (Stoeppler et al 1986).

SCHRITT	TEMPERATURE(°C)	DAUER (min)
1	20-140	24
2	140	25
3	140-200	7
4	200	8
5	200-280	11
6	280	15
7	250-310	30
8	310	24

PRAKTISCHER TEIL

6 Geräte und Chemikalien

6.1 Geräte

Probenahme und Probenbearbeitung:

- Kühlschrank, Bosch Modell Kirsch
- Spülmaschine, Miele Typ 7735G.
- 320 l Cryogefäß Chronos 350 Messer Griesheim
- Vorzerkleinerer Mercodor, Typ ZM1, Edelstahl rostfrei, 1.4301
- Fleischwolf, Rewebo Modell RF 80-22
- Kugelmühle "Pulverisette", Fritsch Typ 05.102.,
mit Becher und Kugeln aus Zirkon
- Waage Mettler PC440,
- Mettler LP15/B für die Feuchtigkeitsbestimmung
- Trockenschrank, Heraeus Typ 5042.
- 5 l Edelstahlgefäße "Bain Marie-Einsatz" rostfrei 1.4301,
elektrolytisch poliert, deren Deckel mit einer
Edelstahlzange gesichert werden kann.
- Edelstahldrahtkörbe
- Titan- oder Quarzspatel (Zentrale Glasbläserei der KFA
Jülich)
- Filtrationsgerät (Sartorius SM 16511) aus Polycarbonat für
Druckfiltration, mit Sartorius Filtern (Nr.11306) aus
Celluloseacetat, 47 mm Durchmesser und 0,45 µ Porenweite.
- 100 ml Schott-Duran-Flaschen
- 250 ml Hochdruckpolyethylen-Flaschen
- Szintillationsgefäße der Firma Packard, ca. 22 ml Inhalt
- Sterilisierte Millipore Polyethylen-Filterdöschen
- Filtereinheiten Spartan 13/30 0,2µ von Chromatographie
Service GmbH, Langerwehe
- Polyethylen-Tüten
- Polyethylen Handschuhe
- 11 Polyethylenflaschen

HG-A-AAS:

- Atomabsorptionsgerät Perkin Elmer Modell-4000 mit EDL-
Anregungsgerät,
- MHS-20 Hydrid-System von Perkin-Elmer

- Wasserdampfabscheider aus Quarz, Glasbläserei KFA Jülich mit Kühlbad.
- Arsinfalle aus Quarz, Glasbläserei KFA Jülich
- Transformator Platthaus Typ 108-121 Pr. 220 V $\pm$ 5 % 15 V 10A
- Regulator Schiele MFN
- Schreiber BD-4104, Kipp & Zonen, Holland
- Integrator 3390 A, Hewlett Packard, USA
- Gasmengenstrommesser Flowmet III, von Chrompack.
- Aufschlußblock Coreci Palcor Typ RNS 2R4

Extraktion:

- Automatischer Probenvibrator IKA VIBRAX Typ VXR electronic, Janke & Kunkel GmbH, BRD.
- Waage Precisa 220M Typ 280.933, PAG OERLIKON AG, Zürich.
- Ultraschallbad FRITSCH Laborette Typ 17.002.
- Zentrifuge Labofuge Heraeus Sepatech
- 10 ml PE-Röhrchen mit Schraubverschluß

Synthese:

- Heizhaube mit stufenlos regelbarer Heizkörpertemperatur, Horst Typ HGRT 2/500
- Heizbare Magnetprüher RET-G, Janke & Kunkel GmbH, BRD
- Alle verwendete Glasgeräte waren aus Duranglas (Schott), eine Destillationsapparatur von Normag
- Allihnkühler 40 cm lang, mit 2 NS 29/32, Otto-Fritz
- Claisenbrücke mit 4 NS 14/23, Otto-Fritz
- Tropftrichter mit Gasausgleich
- 250 ml Rundkolben mit 3 Anschlüssen

HPLC:

- 2152 HPLC Controller, LKB Bromma, Schweden
- 2150 HPLC Pump, LKB Bromma, Schweden
- 2156 Solvent-Conditioner, LKB Bromma, Schweden
- 2070 Ultrorac II, LKB Bromma, Schweden
- Mischventil 2040-203, LKB Bromma, Schweden.
- Injektionsventil C6W, VICI AG, Valco, Schweiz

6.2 Chemikalien

- Sämtliche Säuren, die für den Aufschluß und die Behandlung der Probe benötigt wurden, Salpetersäure 65%ig, Schwefelsäure 96%ig, Perchlorsäure 70%ig und Salzsäure 30%ig waren Suprapur^R Qualität von Merck (Darmstadt).
- Die Phosphate und Arsenverbindungen waren p.A. Hersteller Merck Darmstadt und Chem Service Westchester, UK.
- Natriumborhydrid Pulver, Riedel de Häen AG, Seelze
- Natriumarsenat Titrisol, Merck
- Helium 99.9996%ig, Messer-Griesheim
- Wasserstoff 99.999%ig, Messer-Griesheim
- Flüssigstickstoff, Linde

- Natriumdihydrogenphosphat-Monohydrat, pA, Merck
- Di-Natriumhydrogen-phosphat Wasserfrei, pA, Merck
- Trinatriumphosphat Dodecahydrat, pA, Merck
- Phosphat Pufferlösung pH 6.88, Merck
- Trimethylarsin, Strem Chemicals INC, USA, und 2-Bromethanol, Merck, grad zur Synthese. Acetonitril, Aceton und Ethanol absolut, Merck pA und Stickstoff Reinheitsstufe 5.0 von Linde
- Bromessigsäure grad pA, Merck
- Natriumsulfat grad pA, Merck
- Aktivkohle
- Phosphorpentoxid
- Aceton pA, Merck
- Ethanol grad pA, Merck
- Methanol grad pA, Merck
- Ether grad pA, Merck

- Reinigungsmittel Mucapur AF (chlorfreier Intensivreiniger, Hersteller Brand)

6.3 Probenahme, Aufarbeitung und Lagerung

Die Vorbereitung einer Probenahme ist sehr wichtig für das Programm. Dazu gehört die Festlegung der Probenahmestellen und der relevanten Probenarten durch eine einmalige Untersuchung der Region. Die Vorbereitung dieses Teils des Programmes verlangt eine sehr gute Kenntnis der Orte bzw. der Proben und deren physikalischer Parameter. Nur modellmäßige Probenahme und die Ausarbeitung detaillierter Probenahmerichtlinien führt zu einem sinnvollen Umweltmonitoring. Solche Unterlagen existieren bereits für die Probenarten der Umweltprobenbank^(Stoeppeler et al, 1984).

Ein zweiter wesentlicher Punkt ist eine kontaminationsfreie Probenahme und ein verlust- bzw. kontaminationsfreier Transport zum Lagerort.

6.4. Probenahmestellen

Die ausgewählte Probenahmestelle -Nordstrand- im Schleswig-Holsteinischen Wattenmeer- ist eine Stelle der Deutschen Umweltprobenbank des Forschungszentrums Jülich, an der seit 1982 jedes zweite Jahr, in zweimonatigem Abstand, Muscheln, Algen und Meerwasser für die Analyse von Arsen und Schwermetallen entnommen werden. Anorganisch analytische Ergebnisse einer Untersuchungsreihe entlang der deutschen Nordseeküste hatten Schwermetallgehalte belasteter und weniger belasteter Küstengebiete aufgezeigt, die für die Auswahl dieser Stelle als Probenahmeort entscheidend waren.

Zusätzlich wurden für das Monitoring von Totalarsen in den Algen- bzw. Muschel- und Wasserproben noch drei zusätzliche Orte an der Nordseeküste (Eckwarderhörne, Cuxhaven-Kugelbake und List auf der Insel Sylt), sowie zwei weitere an der Ostseeküste (Kronsgaard und Strande; Abb. 8) und zum Vergleich mit anderen Ozeanen, eine einmalige Probenahme an zwei Orten der pazifischen Küste im Norden Chiles (Isla Lagarto und Caleta El Cobre; Abb. 9) ausgewählt.

Die zu sammelnden Proben spielen eine große Rolle im Monitoringprogramm. Sie sollen bestimmte Bedingungen erfüllen, die sie für eine aussagekräftige Probenahme geeignet macht. Unter anderen wurde darauf geachtet, daß:

- die Proben eine Bedeutung für die Umwelt, die Nahrungskette und den Menschen haben.
- die Proben weit verbreitet sind, so daß Vergleiche mit anderen Orten möglich werden.
- die Proben für die Probenahme das ganzen Jahr hindurch in ausreichender Menge vorhanden sind.
- die Proben einfach zu erreichen sind.

Wenn die ausgewählte Probe die oben erwähnten Bedingungen erfüllt und dazu die gewünschten Verbindungen in der Spezies vorhanden sind, erfüllt das Material die für eine Untersuchung notwendigen Voraussetzungen.

6.4.1. Reinigung der Probenahmegeräte und Transportbehälter
Zum Transport der Muschel- und Algenproben wurden Edelstahlgefäße benutzt. Sie wurden in einer Spülmaschine mit einem Intensivreiniger gereinigt und danach mit destilliertem Wasser gespült. Anschließend erfolgte eine Dampfsterilisation bei 95°C. Nach dem Trocknen werden die Gefäße verschlossen und in einem staub- und kontaminationsfreien Raum bis zur Probenahmefahrt gelagert. Für die Wasserproben wurden 1l und 250 ml Hochdruckpolyethylenflaschen verwendet. Zur Entfernung von Fett werden sie einmal mit Spülmittel gereinigt, danach 3 mal mit destilliertem Wasser gespült und anschließend fünf Tage lang in 10% iger Salzsäure, auf ca 70°C gehalten. Die Salzsäure wird in dieser Zeit nur einmal gewechselt. Die so vorbereiteten Flaschen werden danach mit destilliertem Wasser gespült bzw. aufgefüllt und in Polyethylen-Tüten bis zum Gebrauch versiegelt.

Der Zeitraum der anschließenden Lagerung der so behandelten Flaschen bis zur Probenahme liegt bei maximal einer Woche.

Die Wasserproben wurden mittels eines Druckfiltrationsgeräts (Abb.10) und Filtern aus Celluloseacetat filtriert. Das auseinandergeschraubte Gerät wurde wie die Polyethylenflaschen gereinigt. Die Filter dazu wurden in kalter 10%iger Salzsäurelösung 48 Stunden gereinigt und dann mit destilliertem Wasser gespült. Zur Aufbewahrung wurden die Filter bis zum Gebrauch wieder in 10%ige Salzsäure gelegt.

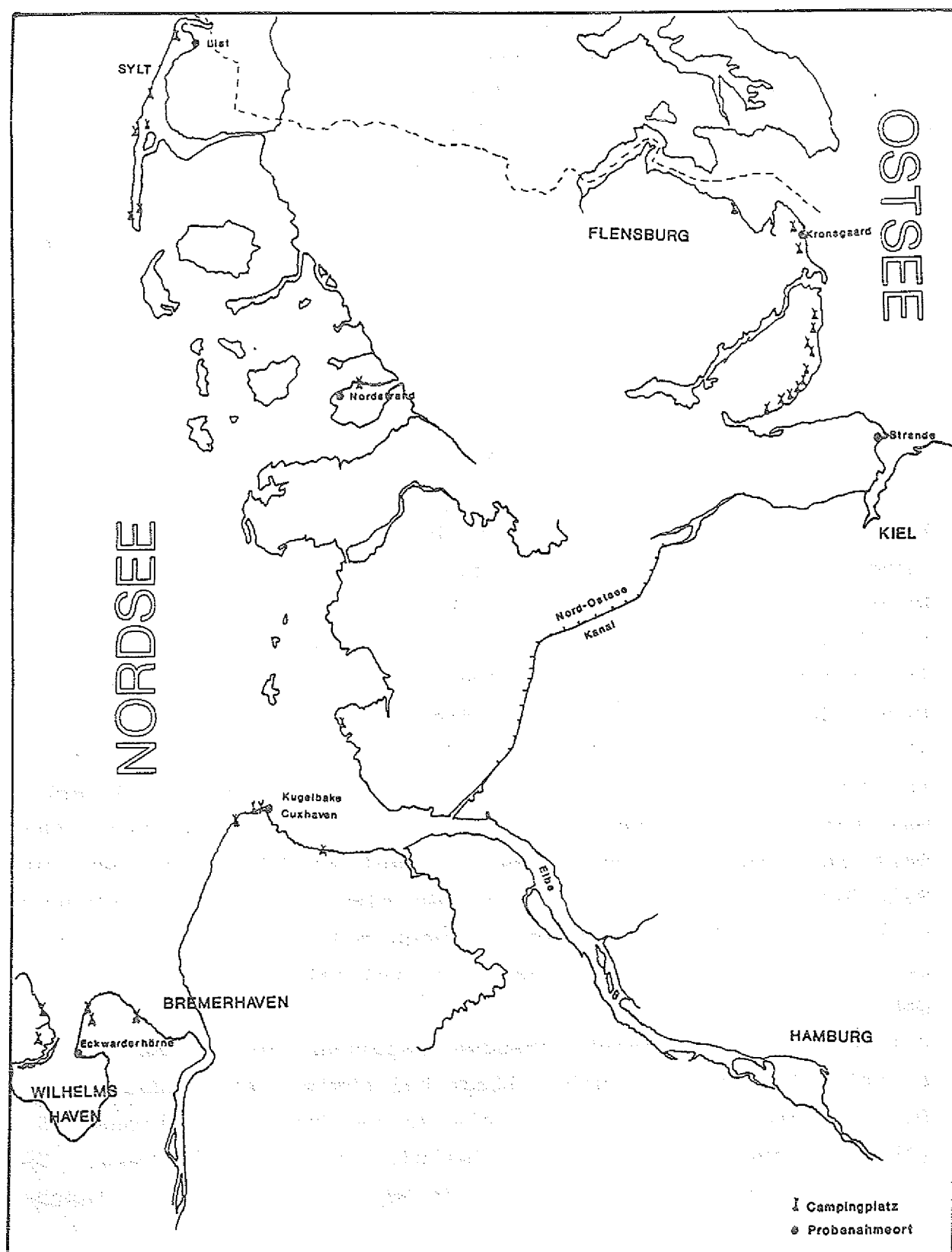


Abb. 8: Probenahmestellen an der deutschen Nord- und Ostseeküste

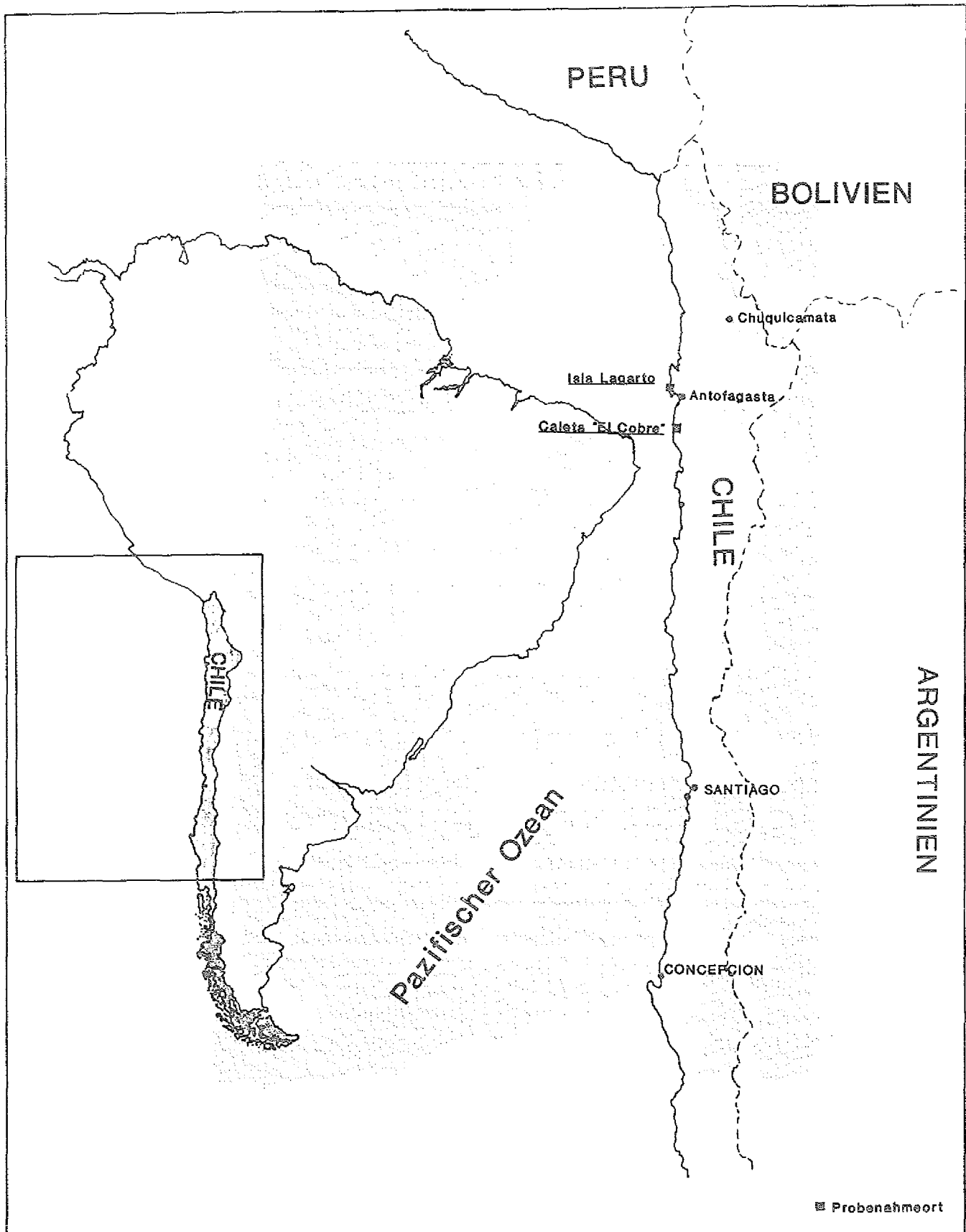


Abb. 9: Die zwei chilenischen Probenahmestellen

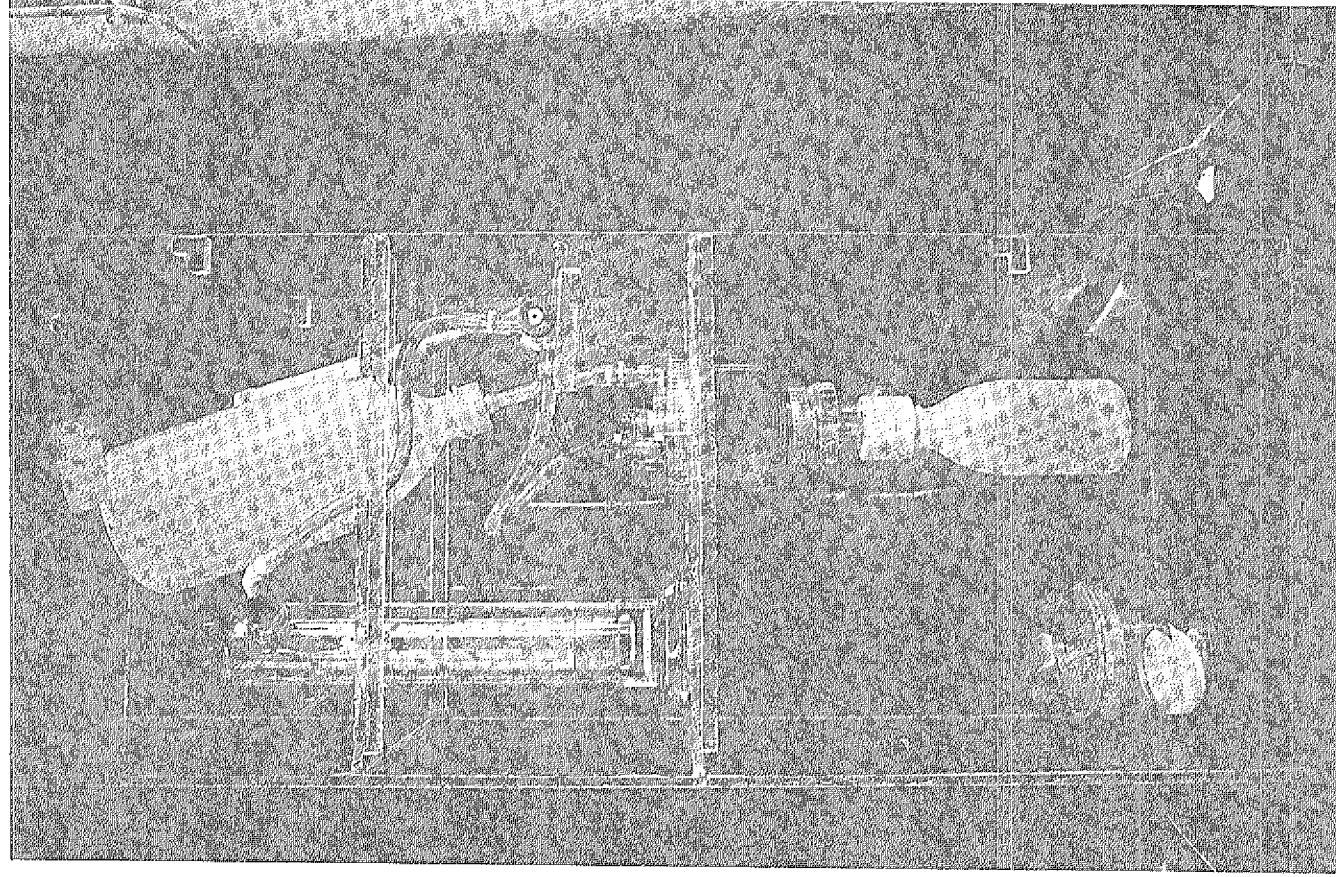


Abb. 10: Apparatur für die Druckfiltration von Wasserproben

Vor der Verwendung wurden die Filter mit 20 ml destilliertem Wasser durchgespült.

Der Transport der beladenen Filter erfolgt in sterilisierten Polyethylen-Filterdöschen. Diese Döschen brauchten keine Vorbehandlung.

6.5. Probenahme

6.5.1. Muscheln

Vor der Probenahme wurden die Hände im Seewasser konditioniert^(Schlador und Backhaus, 1988). Bei Ebbe (Niedrigwasser) wurden pro Probenahme etwa 2.5 kg Muscheln, portionsweise, von Hand und stets aus sämtlichen Sektoren des Probenahmestandorts gesammelt. Normalerweise waren 4 bis 5 cm lange Muscheln vorhanden. Sie wurden in den Edelstahldrahtkörben mit sauberem Meerwasser mehrmals gespült. Dies erfolgte durch kräftiges Drehen des Drahtkorbes im Seewasser. Dabei wurden Pflanzenteile und Fremdkörper entfernt. Das anhaftende Wasser wurde durch etwa eine halbe Stunde Abtropfen entfernt. Im mobilen Labor wurden die Proben dann in kalibrierte Edelstahlessensträger umgeschüttet, gewogen, verschlossen und beschriftet.

6.5.2. Algen

Die Algen wurden von der Steinbühne, im selben Bereich wie die Muscheln, entnommen. Die etwa 2 kg schwere Probe enthielt Algen mit einer durchschnittliche Länge von 35 cm. Das Spülen und Einlagern erfolgte wie bei den Muscheln.

6.5.3. Meerwasser

Für die Wasser-Probenahme wurden Polyethylenhandschuhe benutzt.

Die sauberen 1 l Polyethylenflaschen wurden erst mit Meerwasser 2 mal konditioniert und dann gegen die Windrichtung bzw. den Wasserstrom, langsam, und ohne das Wasser zu stören, eingefüllt. Ein Teil dieser 1 l Wasserprobe wurde, mittels eines Druckfiltrationsgeräts (Abb.10) im mobilen Labor kontaminationsfrei filtriert, ca. 100 ml in zwei 250 ml

Polyethylenflaschen abgefüllt und mit 500 μ l Salzsäure Suprapur angesäuert. Danach wurden die Flaschen sofort in Flüssigstickstoff vorsichtig unter Drehen eingefroren. Die Flaschen dürfen für das Einfrieren nicht hermetisch verschlossen werden, da sie sonst durch die Ausdehnung des Eises platzen könnten.

6.5.4. Probenahmeprotokoll

Bei jeder Probenahme wird ein Probenahmeprotokoll ausgefüllt, in dem die physikalischen Parameter der Proben, sowie auch die klimatischen und technischen Bedingungen notiert werden (Anhang Kap 11.4). Die wichtigsten Daten des gesamten Probenahmezeitraums wie Uhrzeit der Probenahme, Luft- bzw Wasser-Temperatur, pH und Salinität des Wassers und Gezeitenstand, werden in Tabellen und Graphiken zusammengefaßt.

6.6. Transport und Lagerung der Proben

Die gesammelten Proben, einschließlich der Filter in den Filterdöschen, wurden direkt nach dem Abpacken in der Gasphase eines 320 l Cryogefäßes mit ca. 20 l Flüssigstickstoff bei Temperaturen < -140 °C gelagert.

Nach Beendigung der gesamten Probenahme (maximal 3 Tage) wurden sie zum Institut transportiert, wo sie in großen Cryogefäßen bis zur weiteren Verarbeitung bei ≤ 150 °C gelagert wurden.

Die Lagerung dauerte maximal 4 Wochen, ausgenommen die Wasserproben. Diese benötigten keine weitere Verarbeitung und wurden bis zur Analyse gelagert. Ein zeitweiliges Auftauen der Wasserproben mußte vermieden werden, um Änderungen in den Verbindungsformen auszuschließen, vor allem wegen der dann möglichen Oxidation von Arsenit zu Arsenat.

6.7. Probenaufarbeitung

6.7.1. Sezieren, Portionieren

Die zu bearbeitenden tiefgefrorenen Proben, die sich immer noch in den Essensträgern befanden, wurden in einem auf 5°C eingestellten Kühlschrank etwa 8 Stunden lang aufgetaut. Nach dieser Zeit waren die Proben (Algen und Muscheln) immer noch leicht gefroren. Dieser Zustand erlaubte eine bessere Bearbeitung bzw. ein besseres Festhalten der Proben. Die Muscheln konnten besser ausgeschabt werden, da die weichen Teile an der Schale nicht kleben blieben. Die Algen waren noch nicht klebrig und schleimig, was ebenfalls das Zerkleinern erleichterte.

Die Muscheln waren durch das Tieffrieren bereits geöffnet und die weichen Teile ließen sich leicht mit einem Titan- oder Quarzspatel herausnehmen. Von den Schalen wurde stichprobenartig die Länge gemessen und ein Mittelwert der Größe errechnet. Fleisch und Schalen wurden in je einer Edelstahlwanne gesammelt und getrennt gewogen. Die Weichteile wurden mit dem Vorzerkleinerer zu einem Muschelbrei verarbeitet.

Dieses Homogenat wurde mit einem Quarzspatel, in Portionen zu 80 g, in fünf 100 ml Duranglasflaschen bzw., in 16 g Portionen, in sieben 20 ml Szintillationsgefäße abgefüllt, und sofort wieder bis zur späteren Gefriertrocknung, tiefgefroren. Das Leergewicht der Gefäße wurde vorher bestimmt.

Die schon angetauten Algen wurden mit einem Fleischwolf zerkleinert und in einer Edelstahlschüssel gesammelt.

Die Verpackungseinheiten und die anschließende Lagerung entsprachen denen der Muscheln.

Die Probenvorbereitung sollte so wenig Zeit wie möglich beanspruchen, damit sich die Probe nicht zersetzen konnte. Damit war auch sichergestellt, daß sich die interessierenden Arsenverbindungen nicht veränderten. In der Regel wurden ca. 45 min für etwa 2.5 kg Muscheln und 30 min für 1.5 kg Algen benötigt.

6.7.2 Gefriertrocknen, Mahlen

Zu Beginn der Probenaufarbeitung wurden die für die späteren Analysen benötigten Mengen in einer Gefriertrocknungsanlage getrocknet. Da jedes Mal ca 30 Flaschen mit etwa 80 g frischer Probe gefriergetrocknet werden mußten, dauerte dieser Trocknungsprozeß, wegen der großen Menge Wasser, bis zu 10 Tage. Der Wassergehalt der Probe wurde durch Wägung bestimmt. Er lag, je nach Probe, zwischen 80 und 90 %. Danach standen die Flaschen zur Aufbewahrung bis zum Mahlen, in einen dunklen, auf 5°C gekühlten Raum.

Zum Mahlen stand eine Kugelmühle aus Zirkonoxid zur Verfügung (ausreichende Härte und geringer Abrieb). Der Mahlvorgang dauerte pro Probe 5 Minuten, bei einer Geschwindigkeitseinstellung von 4. Die Korngröße sollte anschließend einen Wert von 200 µm nicht übersteigen.

Zwischen jedem Mahlvorgang wurden Becher und Kugeln mit deionisiertem Wasser gespült und mit Hilfe von Aceton und Druckluft getrocknet.

Die Restfeuchte wurde für jede Flasche in einem separaten Aliquot (1 g in 5 ml PTFE-Flaschen) durch Erwärmen in einem auf 60°C eingestellten Trockenschrank bis zur Gewichtskonstanz (etwa 12 Stunden lang) bestimmt. Die Ergebnisse wurden mit dem Wassergehalt aus der Gefriertrocknung summiert und als Totalfeuchte der Probe bezeichnet (Anhang Kap. 11.2).

7 Optimierung der Methoden

7.1 Optimierung des HG-AAS

Die Gehalte der einzelnen Arsenverbindungen liegen in den gesammelten Algen- und Muschelproben im $\mu\text{g/g}$ - und ng/g -Bereich. Da für die Bestimmung der Verbindungsform (Speziation) die angewandte Methode empfindlicher sein muß als für eine Totalarsenbestimmung, wurde die Optimierung folgender Arbeitsparameter am HG-AAS Gerät durchgeführt:

- a) Wasserabscheider
- b) Arsinfalle: Form und Füllung
- c) Anreicherungszeit
- d) Zugabezeit des Reduktionsmittels
- e) Einfluß des Trägergasdurchflusses
- f) Einfluß eines zusätzlichen Wasserstoffstromes
- g) Temperatur der Arsinfalle während des Prozesses.

Anschließend wurde die Methode zur Optimierung der Reproduzierbarkeit automatisiert.

Zu Beginn bestand das System aus einem kommerziell erhältlichen Hydridsystem, bei dem das Probengefäß und die beheizte Quarzküvette durch 2 U-Rohre verbunden sind, die als Wasserdampfabscheider bzw. Anreicherungsfall für Arsin dienen (Abb. 11).

Aufbau des Meßsystems:

- a) Perkin-Elmer MHS-20 Hydrid-System mit elektronischer Kontrolle des Gasstroms ($\text{He} + \text{H}_2$), der Reduktionsmittel-zugabe und der Temperatur der Quarzküvette.
- b) Wasserdampfabscheider. Er besteht aus einem 240 mm langen Quarz U-Rohr ($8 \text{ mm } \phi_1$), in einer Kühlmischung.
- c) Die Arsinfalle ist ein 280 mm langes U-Rohr aus Quarz mit 8 mm Innendurchmesser, das im unteren Teil mit 0.11 g silanisierter Glaswolle gefüllt ist. Das Rohr ist außen mit einem NiCr-Heizdraht ($4.6 \text{ } \Omega/\text{m}$; $0.55 \text{ mm } \phi_1$) umwickelt.

Mit Hilfe eines regulierbaren Transformators kann die

Temperatur des U-Rohres so eingestellt werden, daß man in weniger als 10 s von -180°C auf $+200^{\circ}\text{C}$ aufheizen kann.

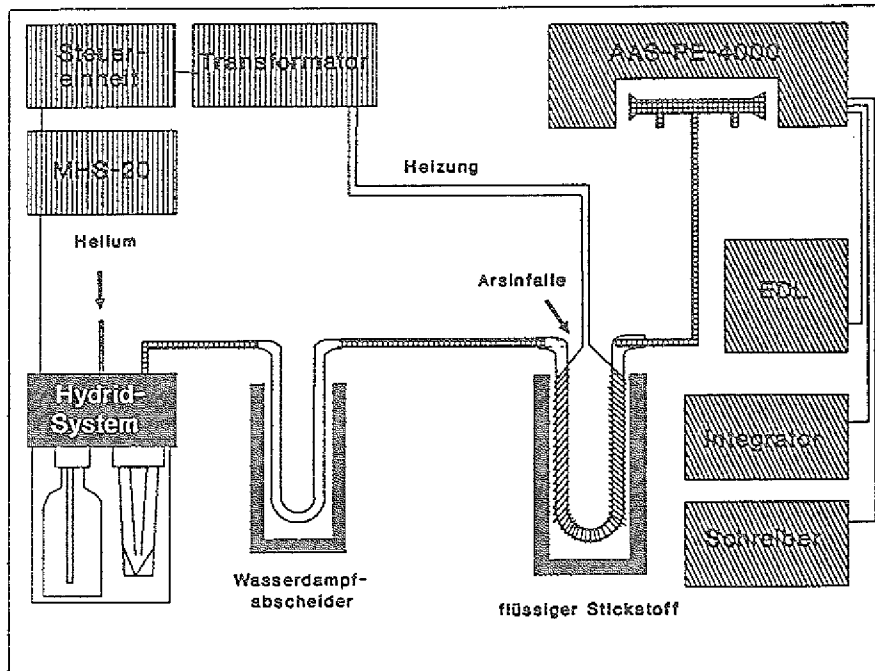


Abb. 11: Erste Apparatur für die Arsenbestimmung mit HG-A-AAS

- d) Gasstrommesser zur Kontrolle der Wasserstoffströmung.
- e) Atomabsorptionsgerät mit EDL-Anregungsgerät.
- f) Schreiber.
- g) Integrator.

7.1.1 Lösungen und Standards

Die 4 %ige Natriumborhydridlösung wird aus NaBH_4 -Pulver wie folgt hergestellt:

Zu 468.5 g destilliertem Wasser werden 16.5 g Suprapur Natriumlauge 30 %ig und 15 g Natriumborhydrid zugefügt. Die so hergestellte Lösung kann, nachdem sie filtriert ist, maximal drei Tage verwendet werden, wenn sie im Kühlschrank aufbewahrt wird.

Die 1.5 %ige Salzsäuremeßlösung ist ein Gemisch aus 50 ml 30 %iger Salzsäure, 4 ml 96 %iger Schwefelsäure und 946 ml destilliertem Wasser.

Die 1 mg/l Arsenstandards sind aus Natriumarsenat-Titrisol Merck präpariert und gleich vor dem Auffüllen bis pH 3 mit Salzsäure angesäuert. Sie werden vor jeder Analysenserie auf 10 ng/ml verdünnt.

Als Trägergas wurden Helium und Wasserstoff verwendet.

Für die Kühlmischung des Wasserdampfabscheiders wurde Flüssigstickstoff und Methanol eingesetzt.

Bei allen Parameteruntersuchungen wurden mindestens 5 vom Parameter abhängige Punkte und die zugehörigen Blindwerte mehrmals gemessen und gegen die erhaltene Absorption aufgetragen. Im allgemeinen ist die Standardabweichung der Messungen $\leq 3\%$. Diese wurden in den Graphiken nicht gezeichnet, weil sie sich innerhalb der Bereiche der dargestellten einzelnen Punkte befinden. Die Ergebnisse wurden dann für den nächsten Optimierungsschritt übernommen.

7.1.2 Wasserabscheider

Während der heftigen Reaktion des Natriumborhydrids mit dem angesäuerten Probenaliquot bildet sich außer dem Arsin auch viel Wasserdampf. Wasser stört die Messung, da es sich mit dem Arsin in der Arsinfalle sammelt und dort aufgrund der niedrigen Temperatur (ca. -190°C) zu Eis gefriert. Während des Aufheizens der Falle wird das rascher verdampfende Arsin vom Eis zurückgehalten. Durch den stetigen Gasfluß entsteht im Raum vor dem Eis ein Druckanstieg. Wenn das Eis verdampft, treten von Messung zu Messung unterschiedliche Strömungsgeschwindigkeiten des Gases auf. Je häufiger gemessen wird, desto mehr Wasser sammelt sich in der Arsinfalle, da dieses beim Aufheizen der Falle nicht vollständig verdampft. Das heißt, das Arsin kommt unter unreproduzierbaren Bedingungen in die Küvette und die Peaks sind dann unterschiedlich hoch.

Zur Abtrennung des Wassers vom Arsin ist ein gekühltes Quarz-U-Rohr am besten geeignet. Seine Form soll so gewählt werden, daß die durchströmenden Gase, trotz Eisbildung und Eisansammlung, freien Durchgang haben.

Drei in der Form unterschiedliche Varianten wurden entwickelt bzw. erprobt. Der plötzliche Temperaturwechsel des strömenden Gases, von Raumtemperatur bis zu den -70°C der Kühlmischung, führte in allen Varianten auf der Höhe des außen stehenden Kühlflüssigkeitsniveaus zu Eisbildung (Abb. 12 Varianten 1-4), da in diesem Punkt das mitgeführte Wasser rasch gefror. Nach einigen Messungen verstopfte der Abscheider und das Arsin konnte nicht weiter bis zur Arsinfalle bzw. Meßküvette gelangen. Dieses Problem war bei dem einfachen U-Rohr besonders ausgeprägt, da sein innerer Durchmesser nur 8 mm betrug. Eine Erweiterung führte in den folgenden Varianten (2-4 in Abb. 12) zu einer längeren Funktionstüchtigkeit des Wasserabscheiders an diesem kritischen Punkt.

Das zu Schnee verwandelte abgeschiedene Wasser sammelte sich jetzt auf dem Grund des U-Rohres und führte dadurch zu einer noch schnelleren Verstopfung (Variante 2 u. 3, Abb. 12).

Die Änderung der Bodenform und des Durchmessers des U-Rohres (Variante 4 Abb. 12) führten zu einer Wasserfalle, die bis zu 80 Messungen ermöglicht, bevor sie gesäubert werden muß.

Die endgültige Form besteht aus einem Quarz-U-Rohr mit 14 cm langen Armen und unterschiedlichen Innendurchmessern (Eingang 15 mm ϕ_1 ; Ausgang 6 mm ϕ_2) die sich in mit flüssigem Stickstoff gekühltem Methanol befindet, wodurch die Temperatur etwa -70°C beträgt. Sammelt sich am oberen Rand nach einigen Messungen etwas Eis an, wird es durch einen kleinen Stoß nach unten befördert. Auf dem breiten Boden dieser Falle sammelt sich das Eis, ohne den normalen Gasfluß zu behindern.

Danach stellte sich die Frage, ob die Effektivität des Wasserabscheiders durch eine Füllung erhöht werden kann. Verglichen wurden die Fälle:

1. Leer
2. mit Glaskugeln von 3 mm Durchmesser
3. mit silanisierter Glaswolle
4. mit chemischen Trockenmitteln

Die Füllung des U-Rohres mit Glaskugeln oder Glaswolle ist nicht ratsam, da sich nach etwa 10 Messungen eine Schicht feiner Eiskristalle auf der Oberfläche dieser Füllung bildet, die eine ausreichend nachweisstarke Bestimmung verhindert.

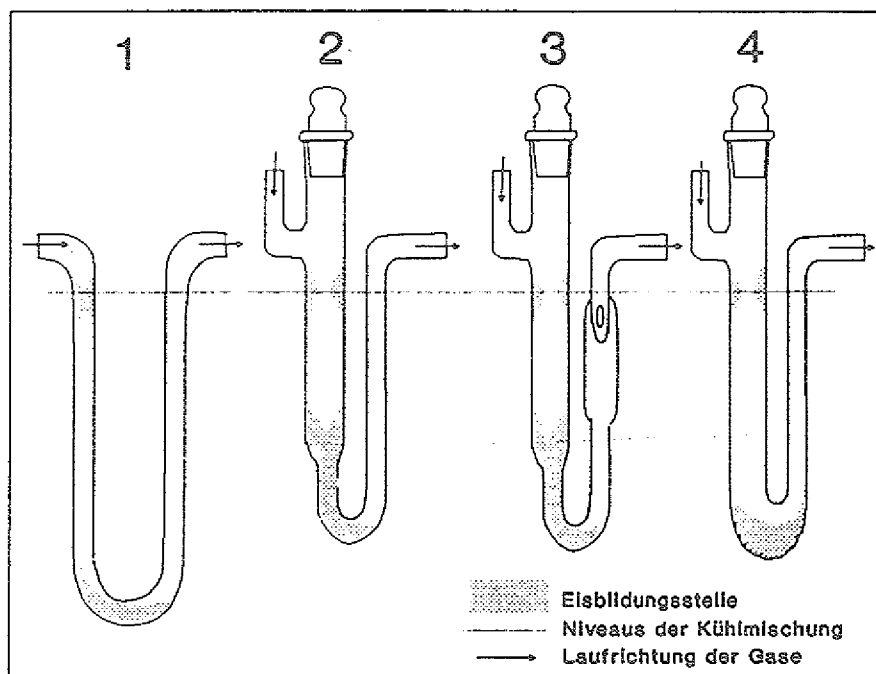


Abb. 12: Verschiedene Varianten von Wasserabscheidern

Diese Schicht wird so dicht und fest, daß das Arsin nach einiger Zeit kaum eine Möglichkeit hat, die Falle zu passieren.

Die Verwendung chemischer Trocknungsmittel ist ebenfalls nicht ratsam, da die großen Volumina, die diese Chemikalien oft einnehmen und die Notwendigkeit zu deren häufigem Austausch wegen rascher Sättigung, die Messung erschweren.

Ein ungefülltes U-Rohr hat die besten Abscheidungs-eigenschaften für diese Falle und muß nach etwa 80 Messungen gesäubert und getrocknet werden.

Die Reinigung dieses leeren U-Rohrs ist sehr einfach, da die gebildeten freien Eiskristalle mit einem Gasstrom ausgeblasen werden können, wodurch die Falle auch gleichzeitig getrocknet wird.

7.1.3 Anreicherung

Die Anreicherung des Arsins erfolgt im 2. U-Rohr (Abb. 11). Wie in Kapitel 5.3.1.4 beschrieben, wird die Purge II Phase so optimiert, daß eine maximale Netto-Absorption erreicht wird. Das ist der Fall wenn die Falle 20 s nach Beendigung der

Natriumborhydridzugabe aufgeheizt wird (Abb.13). Das bedeutet aber nicht nur, daß nach 34 s Anreicherung (14 s Reaktion + 20 s von Purge II) noch Wasserstoff vorhanden ist, sondern auch, daß das Arsin sich erst einige Zeit, nach der Zugabe von Natriumborhydrid, quantitativ gebildet hat.

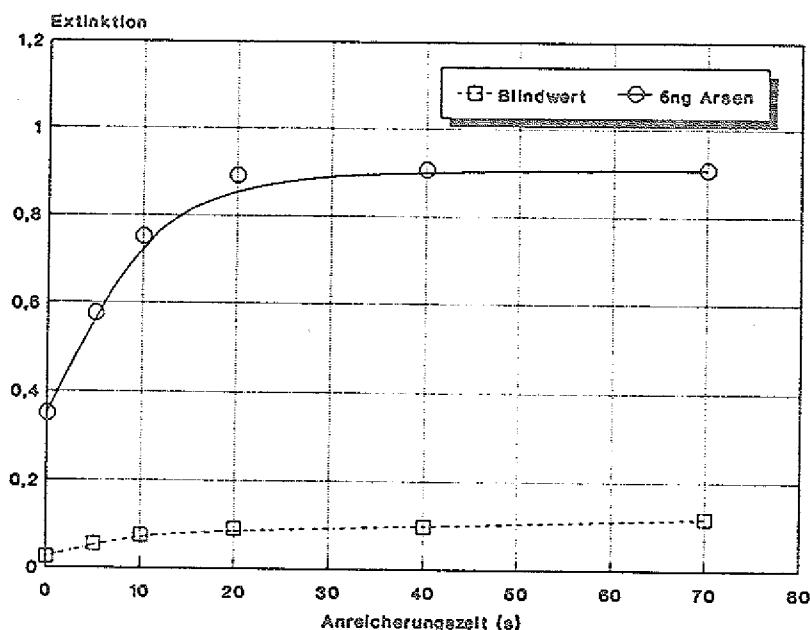


Abb. 13: Anreicherungszeit der Arsenmessungen mit HG-A-AAS

7.1.4 Zeitraum der Zugabe von Natriumborhydrid

Das Reduktionsmittelpulver, (Natriumborhydrid) enthält von der Herstellung Arsen und ist damit vorwiegend für den Blindwert verantwortlich. Diese Arsen-Konzentration ist von Hersteller zu Hersteller, aber auch beim gleichen Hersteller von Charge zu Charge sehr unterschiedlich^(Andreas, 1983). Die Gehalte liegen zwischen 1 und 30 ng/g.

Aus diesem Grund ist bei der Analyse ein Überschuß an Natriumborhydrid nicht zu empfehlen. Hinzu kommt, daß höhere Konzentrationen des Reduktionsmittels die Störung durch Metallionen wie z.B. Zn^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} u.a. erhöhen^(Yamamoto, 1984).

Der Reagenz-Überschuß, der dennoch immer vorhanden ist, wird sehr rasch im sauren Medium oxidiert (siehe Gleichung 4)^(Agterdenbos und Bax, 1986).



Die Untersuchung dieser Parameter ergab (Abb. 14), daß 13 s Additionszeit genug sind, um maximal 6 ng Arsen zu reduzieren. Dies bedeutet eine Zugabe von 3 ml 3 %igem NaBH_4 .

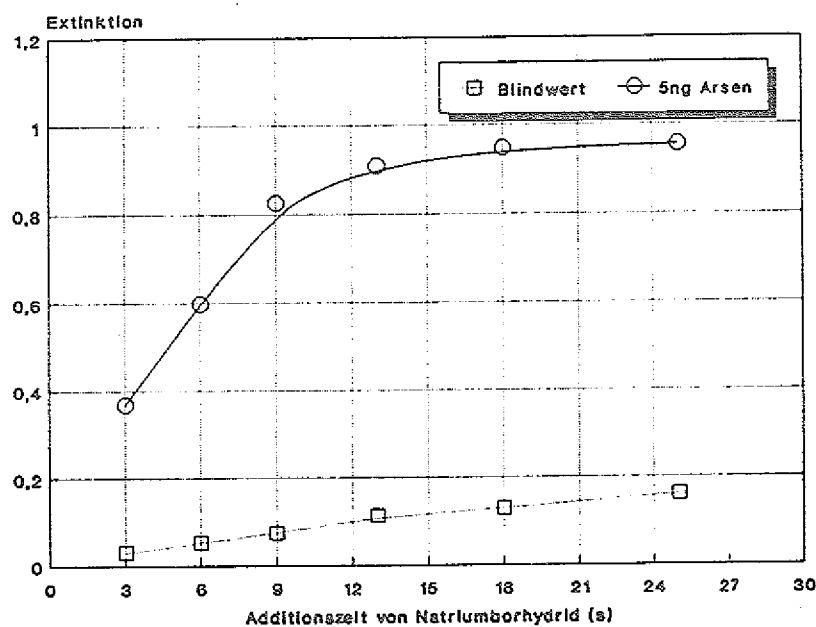


Abb.14: Einfluß der Menge Reduktant bei der Arsenbestimmung mit dem HG-A-AAS

7.1.5 Einfluß des Trägergasdurchflusses

Normalerweise wird bei der Arsenbestimmung mit Hydridgeneration und Atomabsorptionsspektrometrie, Argon (Sdp -189.2°C) als Trägergas verwendet. Da in diesem Fall aber wegen der niedrigen Temperatur in der Arsinfalle (etwa -190°C) Argon kondensiert und damit die Leitung verstopft, muß man ein flüchtigeres Trägergas wie z.B. Helium (Sdp -269.7°C) oder Wasserstoff (Sdp -259.2°C) verwenden. Wasserstoff aber scheidet wegen seiner Gefährlichkeit als Trägergas aus.

Wie aus Abb.15 ersichtlich, beeinflußt der Gasdurchfluß die Empfindlichkeit der Messung. Er steigt solange an, bis der Heliumstrom eine Durchflußrate von 538 ml/min erreicht hat und fällt dann wieder ab.

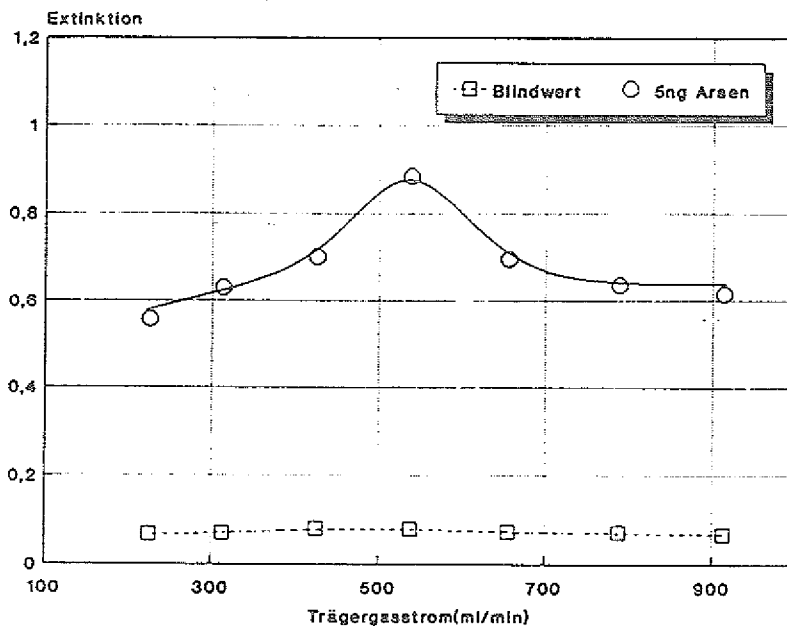


Abb.15: Einfluß des Heliumstroms bei der Arsenbestimmung mit dem HG-A-AAS

Die optimale Durchflußrate liegt daher bei etwa 540 ml He/min. Dieses Verhalten beruht wahrscheinlich auf der Strömungsgeschwindigkeit des Arsins auf dem Weg in die Küvette. Da der Überschuß an Wasserstoff während der Anreicherung abklingt, ist der Heliumstrom für den Transport der Arsine zur Küvette ausschlaggebend. Mit steigendem Helium-Strom werden mehr Arsine gleichzeitig in die Küvette transportiert und die Empfindlichkeit steigt.

Oberhalb des Maximums wird die Geschwindigkeit zu groß, so daß nicht mehr alle Arsinmoleküle atomisiert werden können, ehe sie wieder austreten. Die Empfindlichkeit sinkt daher wieder.

7.1.5.1 Einfluß eines zusätzlichen Wasserstoffstroms

Trotz der kurzen Anreicherungszeit des Verfahrens (Kap.7.1.3) wurde der Einfluß eines zusätzlichen Wasserstoffstroms im Trägersgasstrom untersucht.

Wie zu erwarten, war der Einfluß gering (Abb.16). Zuerst nimmt die Absorption bis 3 ml H_2 /min leicht ab. Danach steigt der gemessene Wert wieder an, um bei 20 ml/min den vorgegebenen ohne Wasserstoff um ca. 2 % zu übertreffen. Zur Erreichung der

größtmöglichen Empfindlichkeit sollten daher dem Heliumstrom 20 ml/min Wasserstoff zugefügt werden.

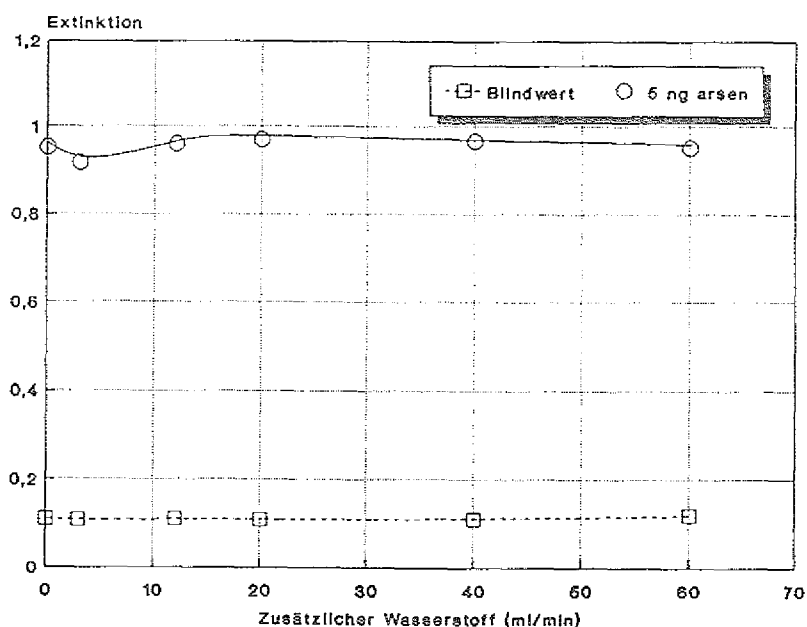


Abb.16.: Einfluß der Zugabe von Wasserstoff zum Trägergasstrom, bei der Arsenbestimmung mit dem HG-A-AAS

7.1.6 Arsinfalle

Wie bereits erwähnt, wird für den manuellen Betrieb ein einfaches Quarz-U-Rohr erfolgreich als Arsinfalle benutzt. Da aber ein exakter Zeitablauf für optimale Reproduzierbarkeit und Empfindlichkeit Voraussetzung ist, ist eine Automatisierung von Vorteil.

Der erste Schritt zur Automatisierung der Methode war die Entwicklung einer geeigneten Arsinfalle, die die Abkühlung und Aufheizung des Quarzrohrs erlaubt. Viele Modelle wurden entwickelt bzw. erprobt (s. Abb.17), bevor die richtige Arsinfalle zufriedenstellende Ergebnisse lieferte.

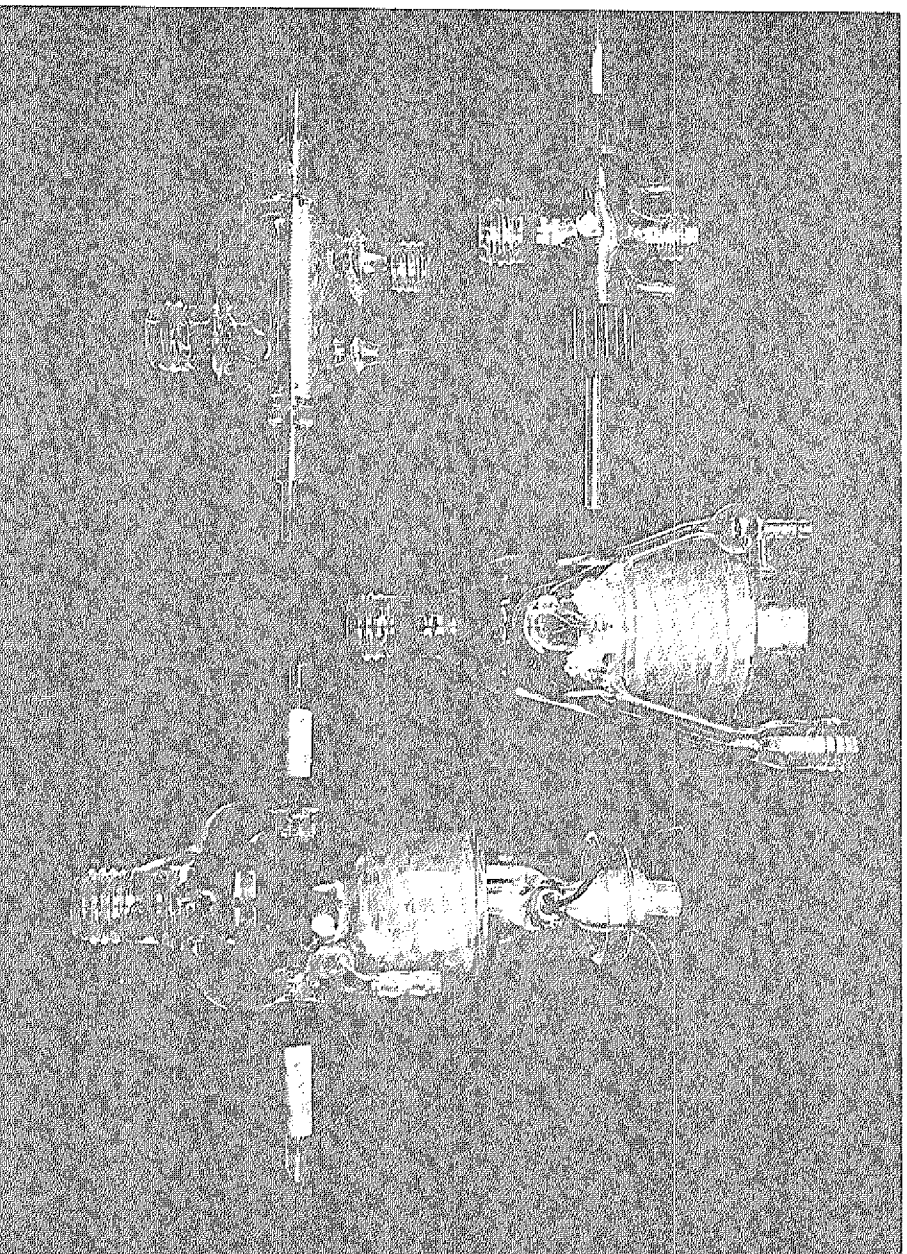


Abb.17: Entwicklung der Arsinfaller

Die Arsinfaller in ihrer endgültigen Form ist ein 150 mm langes Rohr aus Quarz mit 8 mm Innendurchmesser (vgl. Abb.18). Das Rohr ist mit einem NiCr-Heizdraht (4.6 Ω /m; 0.55 mm ϕ) umwickelt. Die gesamte Anordnung befindet sich in einem Pyrexgehäuse, um die Abkühlung mit flüssigem Stickstoff zu ermöglichen.

Die Falle hat folgende Eigenschaften: Sie kann mit flüssigem Stickstoff rasch aufgefüllt werden, um die für die Arsinanreicherung notwendige Temperatur von -170°C in etwa 15s zu erreichen. Die Falle kann, falls nötig, während der Bestimmung nachgefüllt werden; sie erlaubt den Durchfluß des Trägergases und der im Reaktionsgefäß erzeugten Reaktionsgase, adsorbiert jedoch das entwickelte Arsin (AsH_3) in dem abgekühlten Quarzrohr. Nach der Anreicherung kann man das Quarzrohr mittels eines Heizdrahtes in max. 20s, von -195°C bis etwa 280°C aufheizen, um die Arsine rasch wieder freizusetzen.

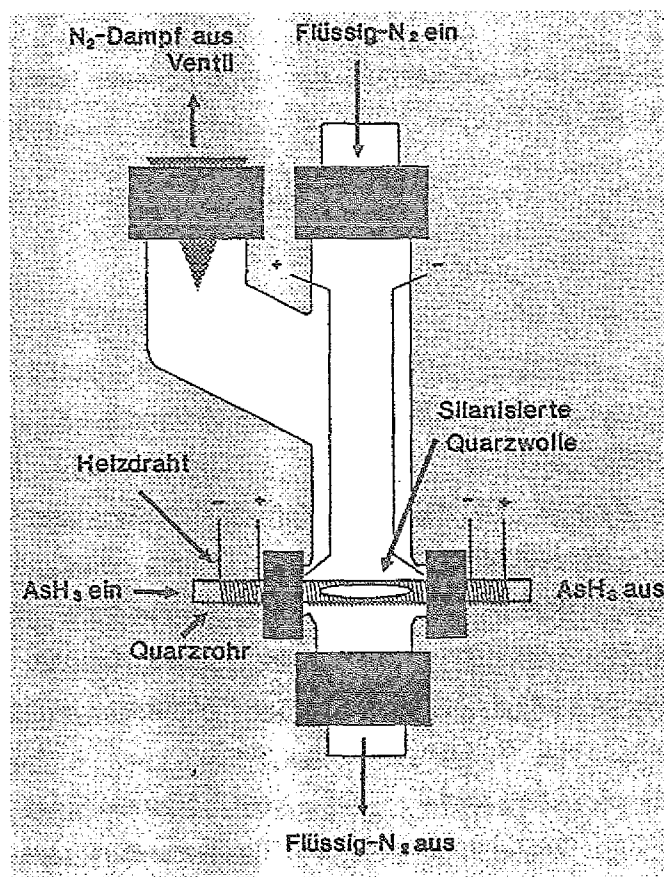


Abb.18: Arsinfalle für die automatisierte Methode

Die Größe des Pyrex-Gehäuses und die Form der Arsinfalle, sowie der exakte zeitliche Ablauf der Anreicherung und des Aufheizens sind für die Messung von großer Bedeutung.

Neben dem Einlaßventil für den flüssigen Stickstoff muß die Arsinfalle eine weitere Öffnung besitzen, aus der der entstehende gasförmige Stickstoff entweichen kann, damit sich kein Überdruck aufbaut, der den Einlauf des Stickstoffs verhindert.

Damit keine Luftfeuchtigkeit in das System eindringen kann, erhält diese Öffnung einen lose aufliegenden Stopfen der sich bei leichtem Überdruck hebt (vgl. Abb.18).

Da der He/H_2 Strom bei der Reaktion des Natriumborhydrids mit der Probe trotz des Wasserdampfabscheiders geringe Anteile an Wasserdampf in die Arsinfalle einbringt, muß auf jeden Fall verhindert werden, daß sich im Quarzrohr der Falle Eiskristalle bilden, da dadurch beim Aufheizen der Transport der Arsine in die beheizte Quarzküvette des MHS-20 gestört wird.

Um diese Störung zu vermeiden, sind an beiden Enden des Quarzrohres der Arsinfalle zusätzliche Heizungen eingebaut.

7.1.6.1 Füllung der Arsinfalle

Um die Anreicherungsaktivität der Falle zu verbessern, wurde an eine zusätzliche Füllung gedacht. Zur Auswahl standen: Glaskugeln $\phi = 3 \text{ mm}$, Chromosorb W, Quarzwolle und silanisierte Glaswolle.

Mit Chromosorb W-NAW 45/60, einem Polymer der Firma Macherey und Nagel für die Gaschromatographie, ist die Kühlfalle nach wenigen Messungen verstopft. Das Chromosorb preßte sich mit Hilfe der Gasströmung und des restlichen Wassers, das trotzdem in die Arsinfalle gelangte, zusammen. Grund dafür ist wohl die Feinheit des Granulats.

Obwohl mit den Glaskugeln und der Glaswolle die Messungen relativ gut waren, wurde der silanisierten Glaswolle auf Grund ihrer größeren Empfindlichkeit der Vorrang gegeben.

Die optimale Füllmenge wurde experimentell ermittelt. Die beste Anreicherung erfolgte bei 0.114 mg (Abb. 19).

7.1.6.2 Temperatur der Arsinfalle während der Anreicherung

Um eine Beziehung zwischen der Aufheiztemperatur in der Arsinfalle und der Empfindlichkeit der Messung zu erkennen, wurde die Temperatur der Falle mit einem Thermofühler gemessen, der durch einen Bypass tief in das Rohr eingeführt wurde.

Da der Thermofühler die Messung stört, sind in Abb. 20 nur relative Meßwerte aufgetragen, um zu zeigen, wie sich die Empfindlichkeit der Bestimmung bei Änderung der Endtemperatur der Arsinfalle verhält. Für eine quantitative Anreicherung muß die Arsinfalle mindestens -170°C erreichen, da sonst ein Teil der Arsine nicht in der Arsinfalle verbleibt, sondern sofort in die Küvette weitergeleitet wird. Dabei sind die Arsenkonzentrationen in der Küvette so gering, daß keine Absorption zu erkennen ist.

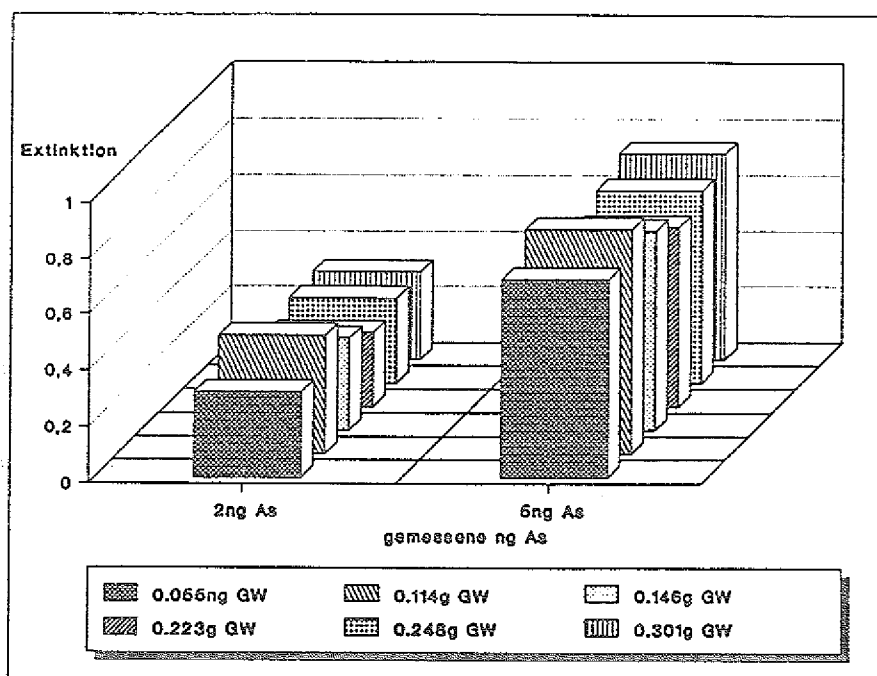


Abb.19: Einfluß der Füllungsmenge der Arsinfalle auf die Empfindlichkeit der Messung bei der Arsenbestimmung mit dem HG-A-AAS

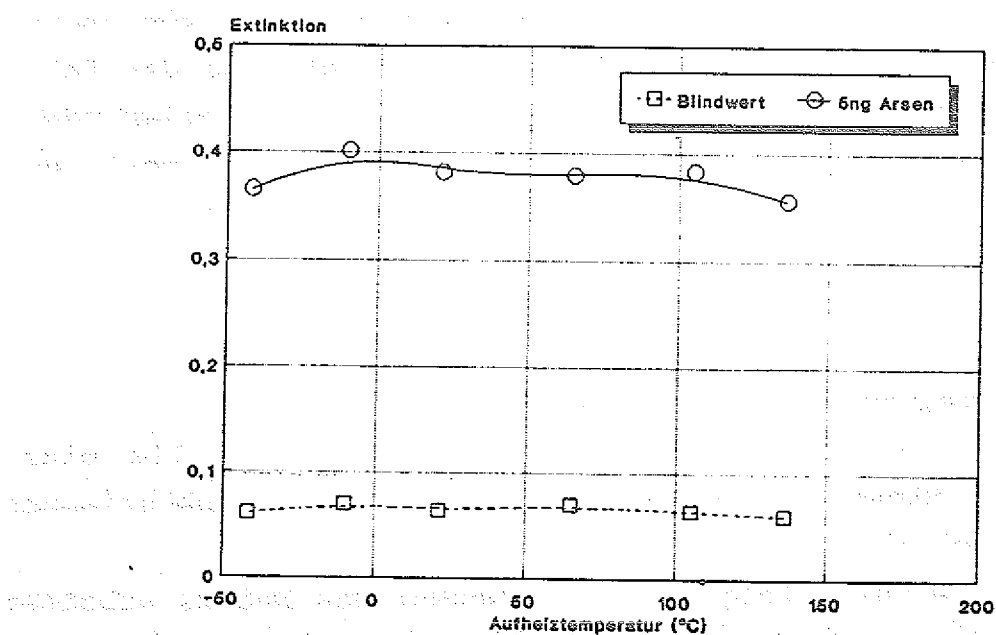


Abb. 20: Relativer Einfluß der Aufheiztemperatur der Arsinfalle bei der Arsenbestimmung mit HG-A-AAS

Den Verlust bemerkt man erst beim anschließenden Aufheizen, wenn der Peak merklich kleiner wird.

Wegen des niedrigen Siedepunktes des Arsins ($Sdp = -116.3\text{ }^{\circ}\text{C}$), ist es sehr leicht aus der Falle auszutreiben. Es existiert kein Unterschied in der Empfindlichkeit der Messung zwischen einer Endtemperatur der Falle von -10°C bis 100°C .

Niedrigere Temperaturen als -10°C sind schwierig zu messen, weil die exakte Endtemperatur nicht gehalten werden kann, da die Raumtemperatur (25°C) ein zwar langsames aber ständiges Ansteigen verursacht. Einen Unterschied sieht man aber deutlich in der Zeit, in der der Peak nach der Aufheizung auftritt. Je höher die Temperatur, desto rascher erscheint der Peak. Aus diesem Grund wurde trotz des geringen Absorptionsunterschieds mit niedrigen Aufheiztemperaturen, 140°C gewählt.

Zur kostengünstigen automatischen Versorgung der Arsinfalle mit flüssigem Stickstoff, werden 2 Cryogegefäße mit einem Volumen von 10 l benötigt.

Eines dient als Vorratsbehälter (oberhalb des Gerätes) und das andere als Sammler (unterhalb). So fließt während der Arsenbestimmung Flüssigstickstoff zu bestimmten Zeiten vom oberen Gefäß in die Falle, und nach der Anreicherungszeit aus der Falle in das untere Gefäß. Der Vorrat reicht für etwa 80 Bestimmungen. Danach kann der Auffangbehälter, der dann einen Teil des Stickstoffs aufgenommen hat, nachgefüllt und als Vorratsbehälter weiterbenutzt werden.

7.1.6.3 Steuereinheit

Das MHS-20 Hydridsystem von Perkin Elmer wird mit Hilfe einer selbstgebauten Steuerung erweitert, um die Arsenbestimmung automatisch durchführen zu können.

Diese Steuerung erfüllt folgende Forderungen: Das MHS-20 arbeitet ohne Veränderungen. Zwei Magnetventile und eine Heizung sind während bestimmter Zustände im Programmablauf des MHS-20 geschaltet. Startzeitpunkte und Einschaltdauer der Magnetventile sowie der Heizung sind vom Benutzer innerhalb vorgegebener Grenzwerte wählbar. In den Abbildungen 21 und 22 ist der Ablauf

einer Messung und der Ablauf der Zeitschaltrelais ZRA bis ZRH in Abhängigkeit vom Programm des MHS-20 dargestellt.

Beim Start des MHS-20 beginnt Purge I und eine einstellbare Wartezeit von 30s, nachdem Ventil A geöffnet wird, um die Falle nachzufüllen. Diese Stickstoffmenge reicht aus, die Falle bis zur Aufheizung kalt zu halten.

Die Anreicherung beginnt mit der Reaktionszeit des MHS-20. Zusammen mit Purge II setzt sich die Anreicherungszeit fort. Sie beträgt 20 sec. Nach 10 sec öffnet sich Ventil B, um den Rest des flüssigen Stickstoffs ablaufen zu lassen bevor die Falle aufgeheizt wird. Zehn Sekunden später beginnt der Aufheizvorgang. Dabei bleibt Ventil B geöffnet.

In dieser Stufe wird das Arsin (AsH_3) freigesetzt und vom Trägergas in die beheizte Quarzküvette gespült. Danach ist die Bestimmung beendet und die Falle wird sofort wieder mit flüssigem Stickstoff aufgefüllt. Das System ist erneut meßbereit. Bevor ein weiterer Zyklus ablaufen kann, muß die Reset-Taste der Steuereinheit betätigt werden.

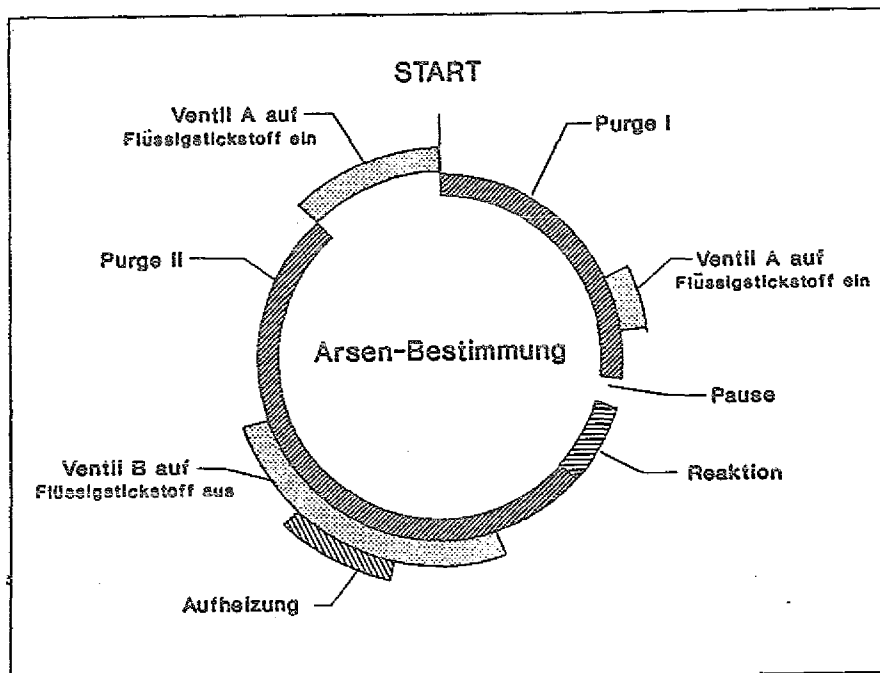


Abb. 21: Schema einer Arsenmessung mit automatisierter HG-AAS und Arsinfalle

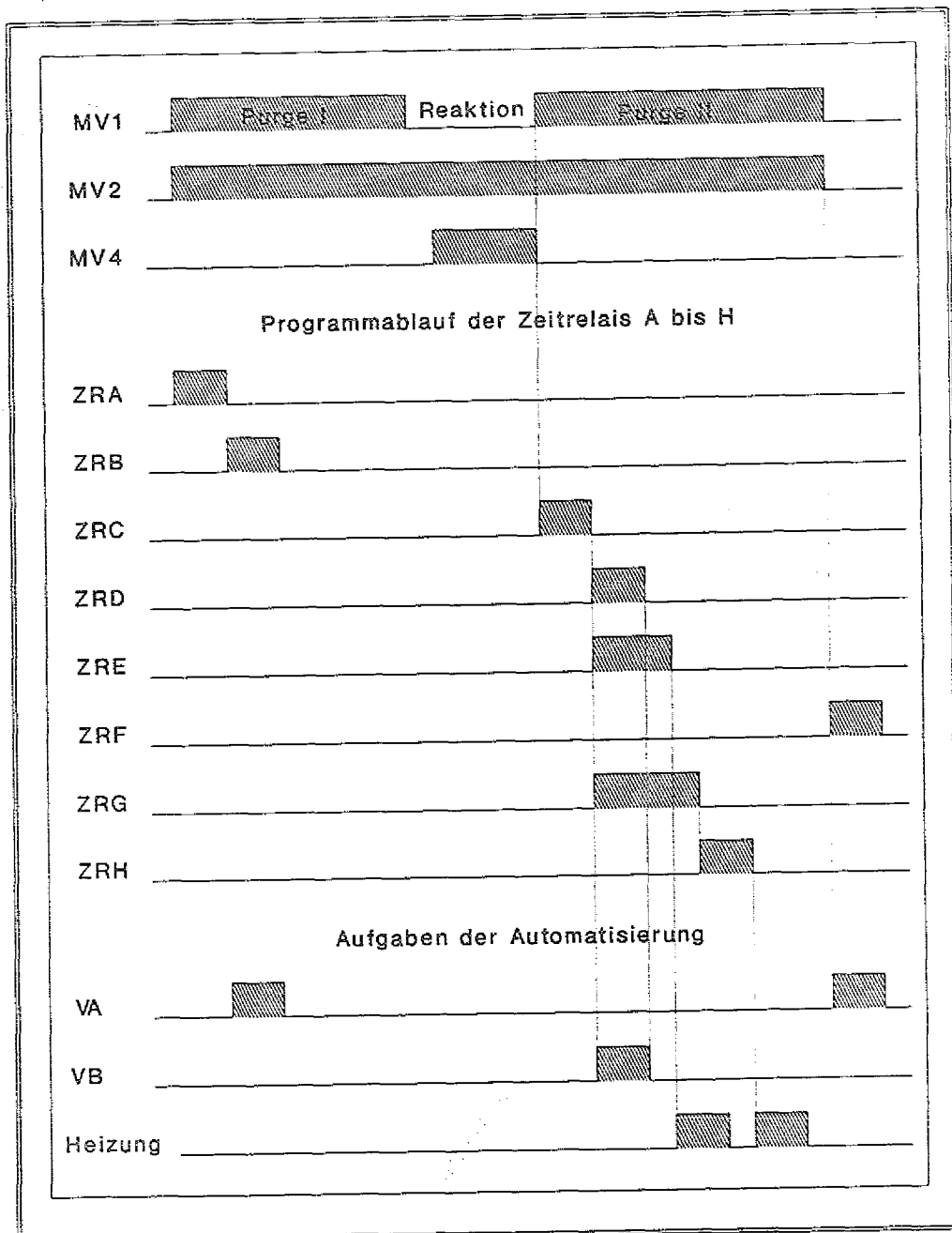


Abb. 22: Programmablauf der Ventile und Zeitrelais bei automatischer Messung. MV = Magnetventil (1 bis 4); ZR = Zeitrelais (A bis H); V = Magnetventil für Flüssigstickstoff (A und B)

7.1.7 Arbeitsbedingungen

Die neue automatisierte Apparatur (Abb. 23, verglichen mit Abb. 11) wird mit den in Tabelle I dargestellten Arbeitsparametern betrieben.

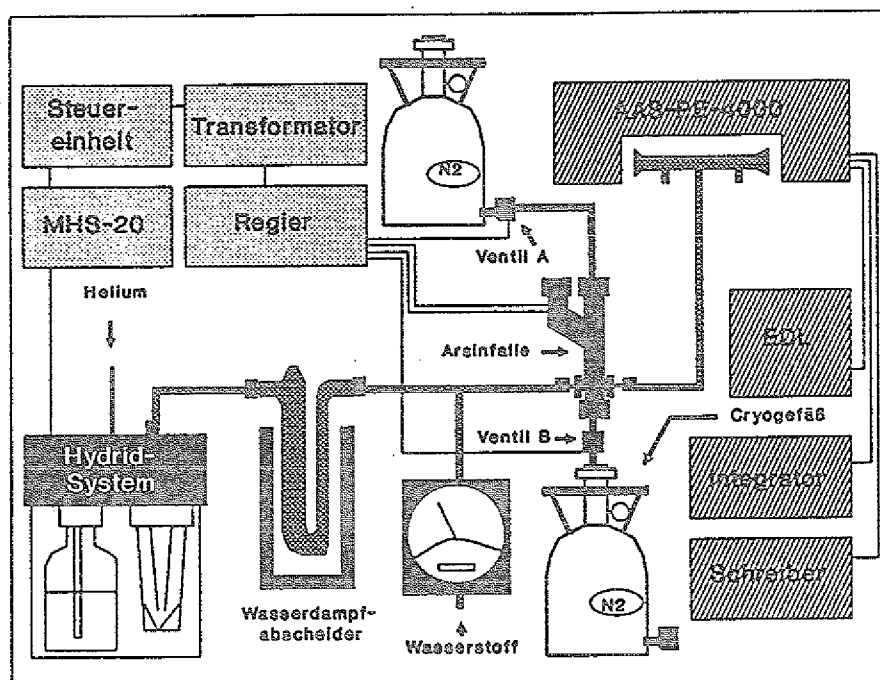


Abb. 23: Automatische Bestimmungsapparatur für Arsen

Tabelle VI: Arbeitsbedingungen der automatisierten Arsenbestimmung mit Anreicherung.

PE-4000	
Wellenlänge	193.7 nm
Spaltbreite	2.0 nm
Lampe	EDL - As
Mode	Cont. 0,5 s
Heliumstrom	538 ml/min
Wasserstoffstrom	20 ml/min
Ohne Untergrundkorrektur	
Wasserfalle	- 60°C
Arsinfalle	-195°C
Aufheiztemperatur	280°C
PE-MHS-20	STEUEREINHEIT
Purge I	40 s
1. Wartezeit	30 s
Ventil A auf	5 s
Reaktion	13 s
Purge II	75 s
Anreicherungszeit	10 s
2. Wartezeit	10 s
Ventil B auf	30 s
Aufheizung	15 s
Ventil A auf	20 s
Temperatur der Küvette:	900°C

7.1.8 Funktionstest der automatisierten Apparatur

Um die Richtigkeit und Reproduzierbarkeit der automatisierten Methode zu prüfen, wurden 11 biologische Referenzmaterialien naß aufgeschlossen^(Arenas et al., 1987) und unter den in Tabelle VI aufgeführten Bedingungen mit der in Abb. 23 gezeigten Apparatur auf Gesamtarsen analysiert (vgl. Tabelle VII).

Tabelle VII: Gemessene Arsenkonzentration in verschiedenen zertifizierten Referenzmaterialien

REFERENZ-MATERIAL	NR.	GEMESSEN [µg/g]	n	ZERTIFIZIERT [µg/g]
NBS:				
Citrus leaves	1572	3,26 ± 0,09	4	3,1 ± 0,3
Rice flour	1568	0,44 ± 0,02	4	0,41 ± 0,05
Oyster tissue	1566	14,0 ± 0,8	12	13,4 ± 1,9
Orchard leaves	1571	10,0 ± 0,3	3	10 ± 2
Bovine liver	1577	0,048 ± 0,002	4	0,047 ± 0,006
Spinach	1570	0,27 ± 0,05	8	0,15 ± 0,05
BCR:				
Sea Lettuce	279	3,0 ± 0,3	6	3,09 ± 0,20
Mytilus edulis	278	5,7 ± 0,4	10	5,9 ± 0,2
NIES:				
Mussel	6	10 ± 1	4	10 ± 1
Pepperbush	1	2,20 ± 0,06	4	2,3 ± 0,3
Sargasso	9	117 ± 10	18	111 ± 4

Die Übereinstimmung der zertifizierten mit den gefundenen Arsenkonzentrationen ist sehr zufriedenstellend und bestätigt, daß es möglich ist, ohne Probleme biologische Matrices mit geringem Arsengehalt zu bestimmen. Die Richtigkeit der Hydridmethode wird durch die automatische Steuerung nicht beeinträchtigt, was auch diese Analysen in zertifizierten Referenzmaterialien bestätigten.

7.1.9 Nachweisgrenze und Linearität

Die Nachweisgrenze der beschriebenen manuellen Methode liegt bei 60 pg Arsen. Sie wurde aus der 3fachen Standardabweichung des Blindwertes berechnet. Zur Ermittlung der Standardabweichung wurden je 10 Blindwerte abwechselnd mit Aliquots von 2 ng Arsen gemessen. Je nach Höhe des Blindwertes erstreckt sich die Linearität der Eichkurve bis 12 ng Arsen. Ohne Anreicherung beträgt die Nachweisgrenze unter den gleichen Bedingungen 310 pg. Die automatisierte Anreicherung erreicht eine Nachweisgrenze von <50 pg absolut. Dadurch wird neben der Gesamtarsenanalyse vor allem auch die Bestimmung der verschiedenen Verbindungsformen ermöglicht.

7.2 Optimierung des Extraktionsverfahrens

Die Extraktion ist der erste Schritt zur Bestimmung der Arsenspezies in Algen und Muscheln. Es mußte ein Extraktionsverfahren entwickelt werden, das nach Möglichkeit sämtliche Arsenverbindungen in den Extrakt überführt.

An Hand der in der Literatur beschriebenen Ergebnisse zur gleichwertigen Erfassung sämtlicher Arsenverbindungen mit verschiedenen Extraktionsmitteln, wurden diejenigen ausgewählt, die auch bei den anschließenden Analysenschritten (HPLC-Trennung und HG-A-AAS Bestimmung) verwendbar waren:

- a. Wasser
- b. Methanol (Francesconi et al, 1985; Edmonds und Francesconi, 1982)
- c. HCl 30% (Münz und Lorenz, 1984; Maher, 1983)
- d. Phosphatpuffer 0.025M (Morita et al, 1981)
- e. Ether (Shinagawa et al, 1983)

7.2.1 Allgemeiner Extraktionsverlauf

Die Optimierung erfolgte sowohl in gefriergetrocknetem als auch in frischem Material. Sie sollte für Muscheln und Algen gleich gut funktionieren.

Für jeden Extraktionsversuch wurden mindestens zwei Proben eingewogen. Die Einwaage betrug zwischen 100 und 300 mg trocken bzw. 2500 mg frisch. Da die Totalarsengehalte meist zwischen 10 und 50 µg/g lagen, reichte die Menge aus, um nach der

Fraktionierung die einzelnen Verbindungen noch exakt analysieren zu können.

Die Einwaage erfolgte in ein 10 ml PE-Röhrchen mit Schraubverschluß. Die Probe wurde mit 3 ml Extraktor versetzt, verschlossen, und sofort in einem Ultraschallbad oder mechanisch eine bestimmte Zeit gerührt und anschließend mit 5000 upm zentrifugiert.

Der Extrakt wurde anschließend durch 0.2 μ filtriert, ein Aliquot davon naß aufgeschlossen und mit der HG-A-AAS das Totalarsen bestimmt.

7.2.2 Extraktionsvolumina

Zuerst wurde überprüft, ob die in der Literatur angegebenen 3 ml Extraktor auch wirklich ausreichen, um eine gute Extraktionsausbeute zu erzielen. Dies wurde exemplarisch mit gefriergetrocknetem Material, im Ultraschallbad nach 60 min Extraktionszeit getestet (Abb. 24 und 25).

Schon bei 2 ml wurde die maximale Ausbeute fast erreicht und auch eine Erhöhung auf mehr als 3 ml brachte keine bedeutende Verbesserung mehr.

3 ml sind somit das optimale Extraktionsvolumen für 4 der 5 ausgewählten Extraktoren.

Ether wurde als Extraktor von Anfang an wegen der extrem geringen Extraktionskapazität für feste Materialien (nur 0.8 % im ersten Schritt) ausgeschlossen.

7.2.3 Extraktionszeit und Art des Mischens

Die Proben wurden jeweils 10, 20, 30, 60 und 120 min extrahiert und wie beschrieben aufgearbeitet. Nur bei den Versuchen mit Methanol wurde der Extrakt wegen der Explosionsgefahr des Alkohol-Perchlorsäure-Gemisches während des Aufschlusses vorher bei Unterdruck komplett eingedampft.

Aus den gefriergetrockneten Muscheln läßt sich das Arsen mit allen 4 Extraktoren etwa gleich gut extrahieren (Abb. 26). Bis 20 min Extraktionszeit steigt die Extraktionsrate auf etwa 60 %. Danach stabilisieren sich die Kurven bei etwa 65 %. Zwei verschiedene Gruppen von Ergebnissen werden ersichtlich:

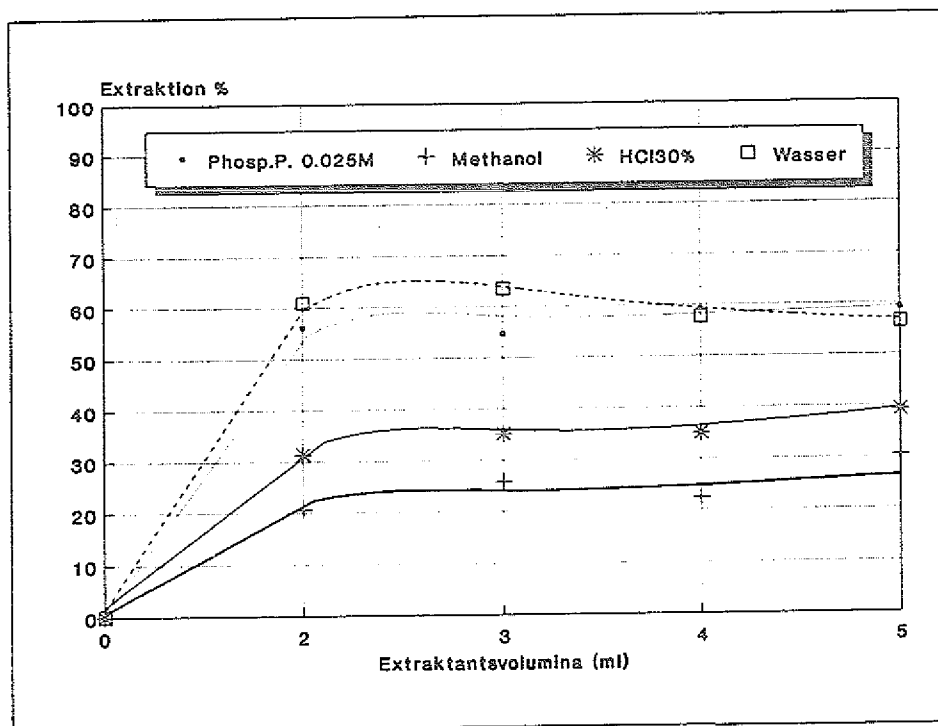


Abb. 24: Einfluß der Extraktorvolumina bei der Extraktion von gefriergetrockneten Algen aus Nordstrand, mit Ultraschallbad und verschiedenen Extraktoren.

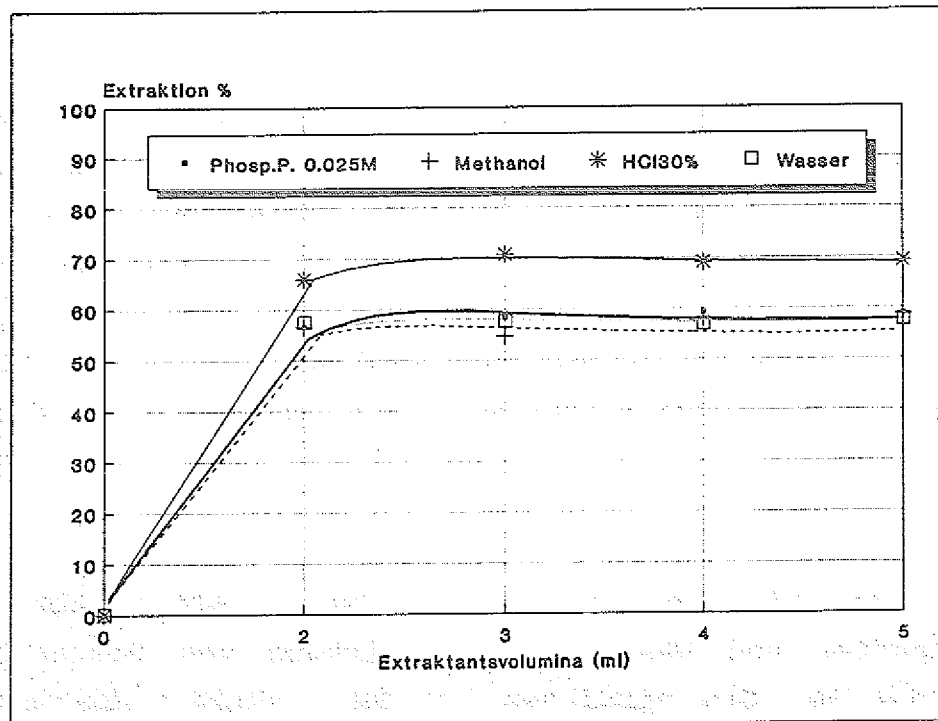


Abb. 25: Einfluß der Extraktorvolumina bei der Extraktion von gefriergetrockneten Muscheln aus Nordstrand, Ultraschallbad und verschiedenen Extraktoren.

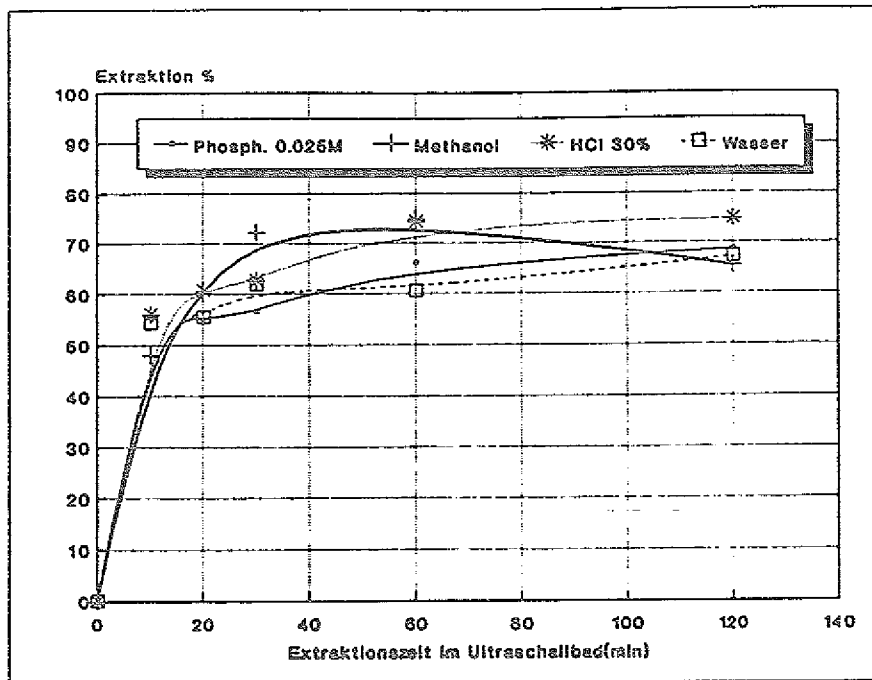


Abb. 26: Arsenextraktion gefriergetrockneter Muscheln aus Nordstrand, Ultraschallbad und verschiedene Extraktoren.

Methanol und Salzsäure auf der einen, Wasser und Phosphatpuffer auf der anderen Seite. Die letzten erreichen nach 45 Minuten Extraktionszeit zwischen 60 und 68 % Ausbeute. Mit Methanol steigt dagegen die Ausbeute zwischen der 20. und der 65. Minute Extraktionszeit an, um danach langsam auf 65% bei einer Extraktionszeit von 120 min abzusinken. Andererseits steigt die Ausbeute mit Salzsäure langsamer. Sie erweist sich oberhalb 65 min Extraktionszeit mit einer Extraktionsrate von 75 % als der beste Extraktor.

Bei der Extraktion von gefriergetrockneten Algen (Abb. 27) sind Phosphatpuffer und Wasser bei Einwirkung von Ultraschall fast gleich wirksam. Sie erreichen bei 90 minütiger Extraktion eine Rate von 73 %. Die Kurvenverläufe zeigen einen raschen Anstieg auf etwa 60 % bei 20 min Extraktionszeit und dann eine langsame Stabilisierung.

Salzsäure und Methanol verhalten sich ganz anders: Bis 20 min Extraktionszeit erfolgt ein relativ starker Anstieg (48 bzw 27 % Extraktionsrate). Bis etwa 80 Minuten Extraktionszeit ist die Ausbeute bei Salzsäure besser. Sie steigt bis auf 52 % bei 10 min und sinkt dann wieder bis auf 36 % bei 120 min ab. Methanol nimmt ab der 30. min langsam und konstant zu. Bei 120 min wird, immer noch steigend, 55 % Extraktion erreicht.

In frischem Muschelhomogenat verhalten sich alle vier Extraktoren gleich (Abb. 28). Nach einem steilen Anstieg stabilisiert sich die Kurve je Extraktor mehr oder weniger ab der 60. min Extraktionszeit. Sie erreicht ein Plateau bei 58 % Extraktionsrate nach einem kleinen Tal nach 30 Minuten.

Bis zur 75. Minute ist Salzsäure das beste Extraktionsmittel. Danach folgen Wasser, Phosphatpuffer und Methanol. Danach extrahiert Wasser mit steigender Tendenz; die restlichen Extraktoren erreichen etwa gleiche Extraktionsausbeuten um 58 %. Die Extraktionsraten liegen zwischen 10 und 20 % unter denen für das gefriergetrocknete Material.

Bei frischen Algen steigen im Ultraschallbad (Abb. 29) die vier Extraktionskurven bis etwa 20 min an, sinken dann bis zur 30. min und steigen wieder an, um sich um die 80. min zu stabilisieren.

Nach 20 min erweist sich Methanol als bester Extraktor mit mehr als 80 % Extraktionsausbeute. Es folgen Phosphatpuffer (ca. 60 %), Salzsäure (mehr als 55 %) und Wasser (ca. 45 %).

Die Extraktion gefriergetrockneter Muscheln mit mechanischer Rührung (Abb. 30) ist der Ultraschallextraktion sehr ähnlich (vgl. Abb. 26). Sämtliche Werte liegen aber um 10 % niedriger.

Die mechanische Rührung ist für gefriergetrocknete Algen (Abb. 31) in den ersten 30 min Extraktionszeit genau so effektiv wie das Ultraschallbad (Abb. 27). Hier kann man aber feststellen, daß Methanol schon ab der 20. Minute (ca. 22 % Extraktion) Konstanz erreicht, gegenüber der mit dem Ultraschallbad durchgeführten Extraktion, die bis zur 120. Minute ansteigt. Die Werten liegen hier auch im allgemeinen etwas niedriger.

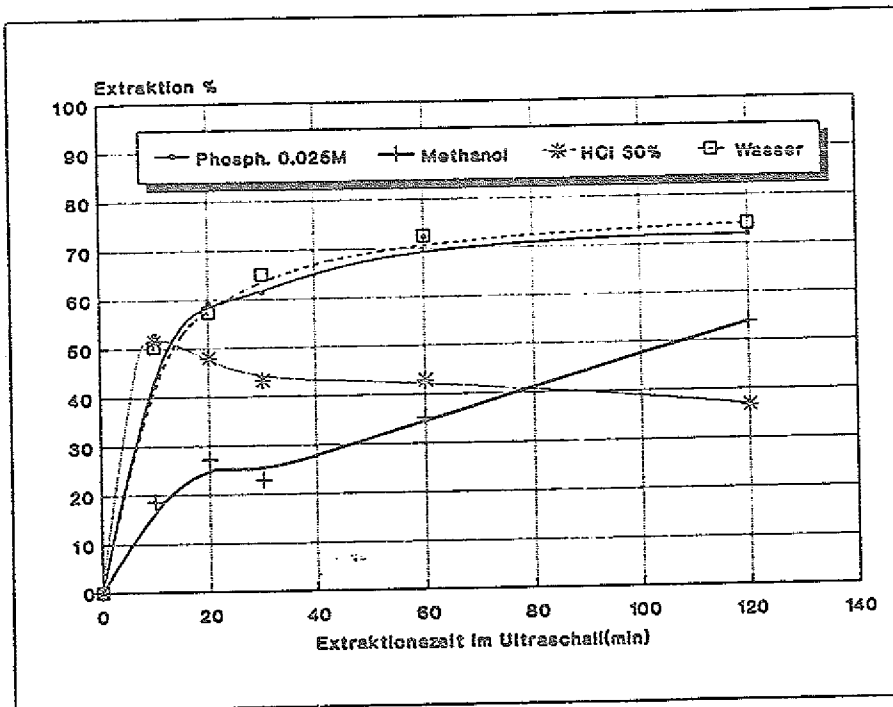


Abb. 27: Arsenextraktion gefriergetrockneter Algen aus Nordstrand, Ultraschallbad und verschiedene Extraktoren.

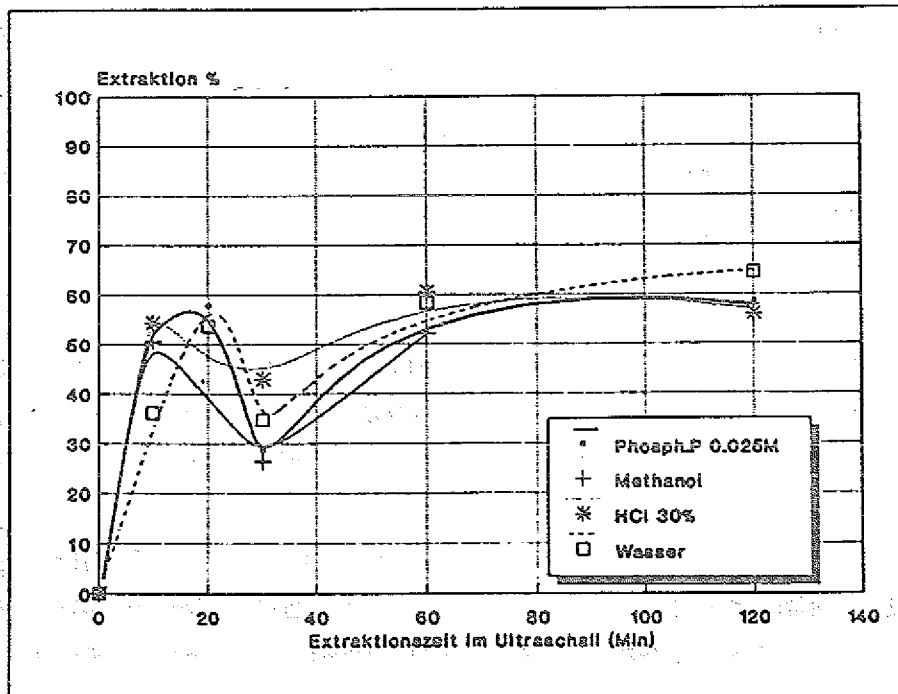


Abb. 28: Arsenextraktion frischer Muscheln aus Nordstrand Ultraschallbad und verschiedene Extraktoren.

Nach den vorliegenden Ergebnissen wäre eine Extraktionszeit von 20 min im Ultraschallbad ein akzeptabler Kompromiß zwischen maximaler Ausbeute und Zeitaufwand, da es ja ein Routineverfahren werden soll.

Bliebe der Versuch, ob eine Mehrfachextraktion eine Ausbeute erreicht, die eine etwas längere Extraktionszeit rechtfertigt. Für diese Versuche wurden die zwei Extraktoren gewählt, die in den vorangegangenen Versuchen die besten Ergebnisse ergaben: Phosphatpuffer und Methanol.

Extrahiert wurden gefriergetrocknete Algen mehrmals je 15 min mit dem Ultraschallbad (Abb. 32).

Nach jeder Zentrifugation wurden beide Phasen sorgfältig getrennt. Da aber trotzdem ein Teil des extrahierten Arsens in der Festphase zurückblieb, sind die wiedergegebenen Ergebnisse nur relativ. Die absolute Ausbeute ist ab der 2. Extraktion höher.

Mehr als 2 mal zu extrahieren wäre für die Routine zu langwierig und die Ausbeute dieser doppelten Extraktion ist nicht wesentlich höher, so daß der Mehraufwand nicht gerechtfertigt sein dürfte.

Faßt man sämtliche Ergebnisse zusammen, so dürfte die optimale Extraktionszeit mit einer Ausbeute von 60 % bei 20 min liegen. Das reicht für die nachfolgende Trennung und qualitative Bestimmung der verschiedenen Verbindungsformen aus. Dabei wurde dem Ultraschallbad wegen seiner um 10 % höheren Extraktionsausbeute für Muscheln (für Algen nahezu gleich) der Vorzug gegeben.

Im Hinblick auf die anschließende chromatographische Trennung wurde der Phosphatpuffer als Extraktor gewählt, der bei allen Extraktionsvarianten gute Ergebnisse zeigte.

Leider ergab die höhere Viskosität der Wasser- bzw Phosphat-Extrakte im Gegensatz zu den Methanol bzw Salzsäureextrakten eine schlechtere Filtration.

Obwohl Methanol bei der HPLC in diesem Fall kein geeignetes Laufmittel ist, wurde wegen seiner guten Extraktionseigenschaften ein Gemisch aus 50 % Phosphat und 50 % Methanol gewählt. Dadurch wurde prinzipiell das Filtrieren erleichtert.

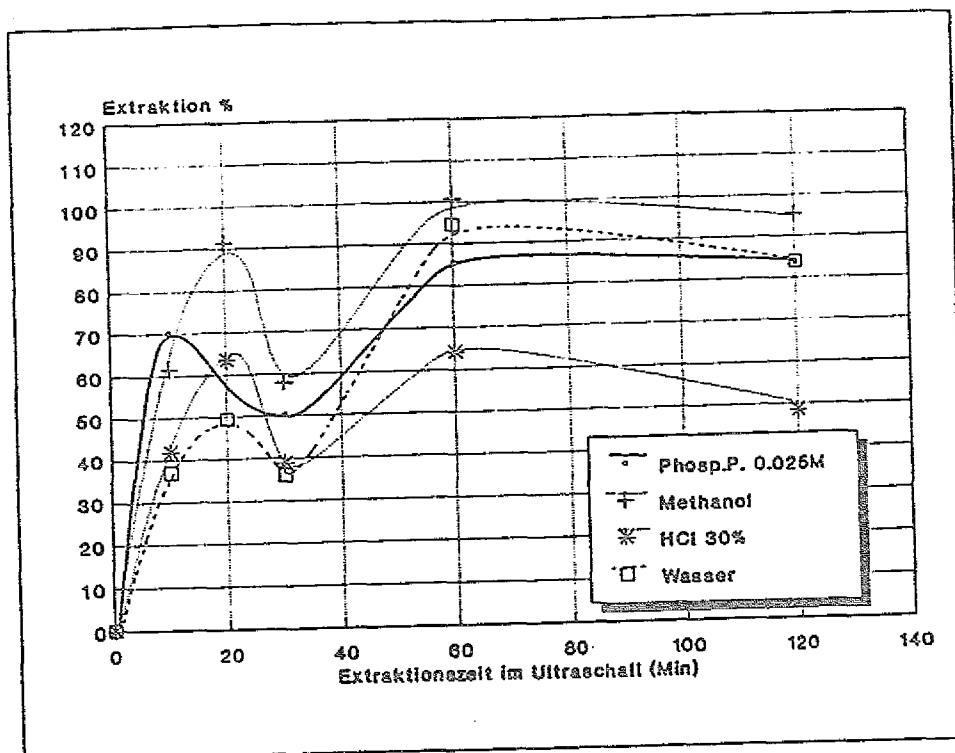


Abb. 29: Arsenextraktion frischer Algen aus Nordstrand. Ultraschallbad und verschiedene Extraktoren

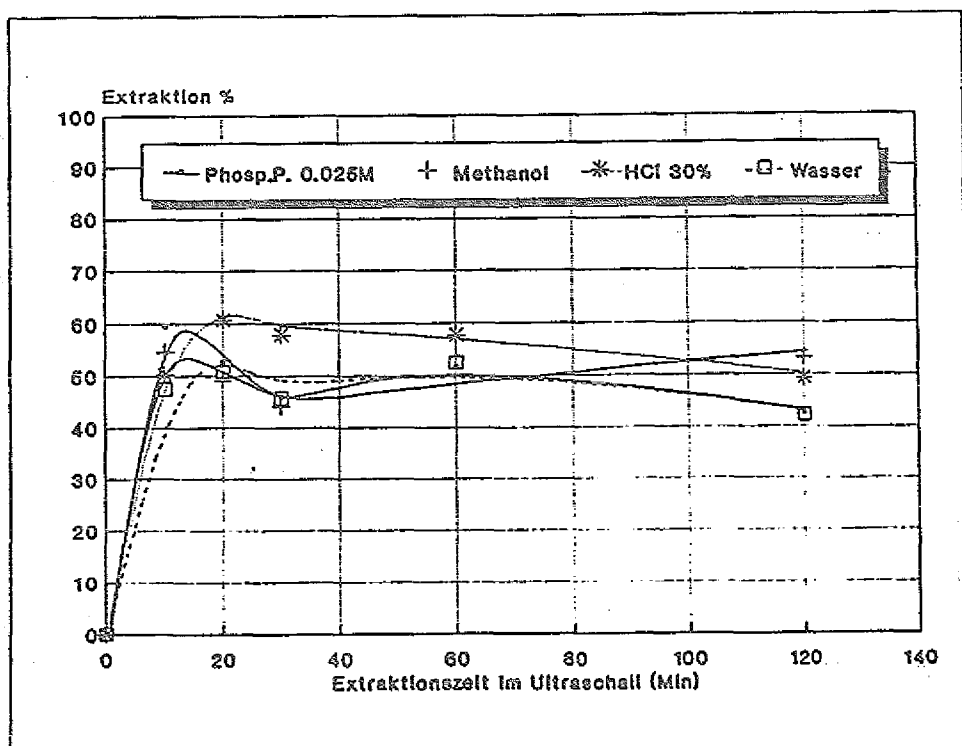


Abb. 30: Arsenextraktion gefriergetrockneter Muscheln aus Nordstrand; mechanische Rührung und verschiedene Extraktoren.

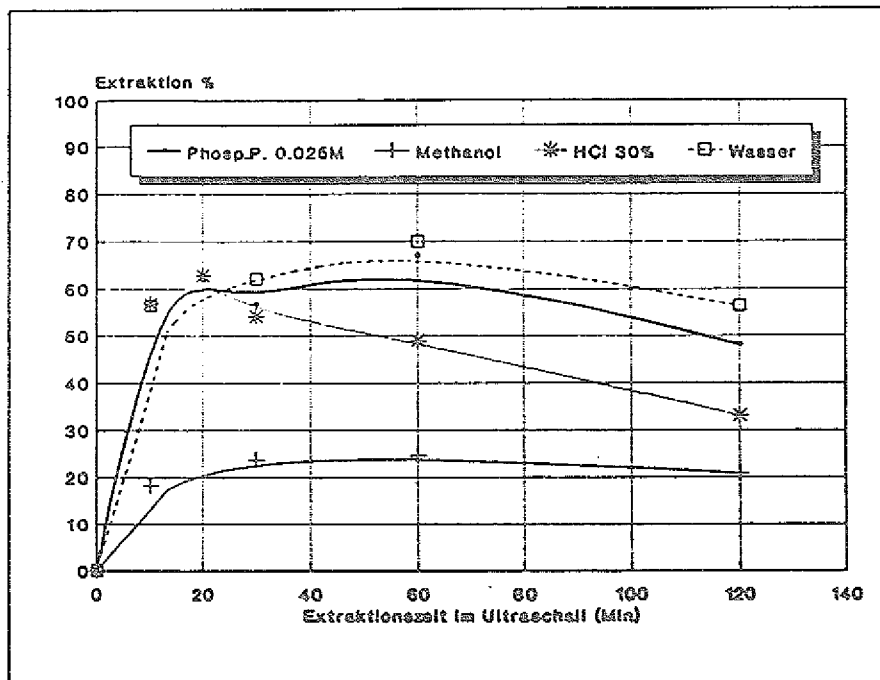


Abb. 31: Arsenextraktion gefriergetrockneter Algen aus Nordstrand; mechanische Rührung und verschiedene Extraktoren.

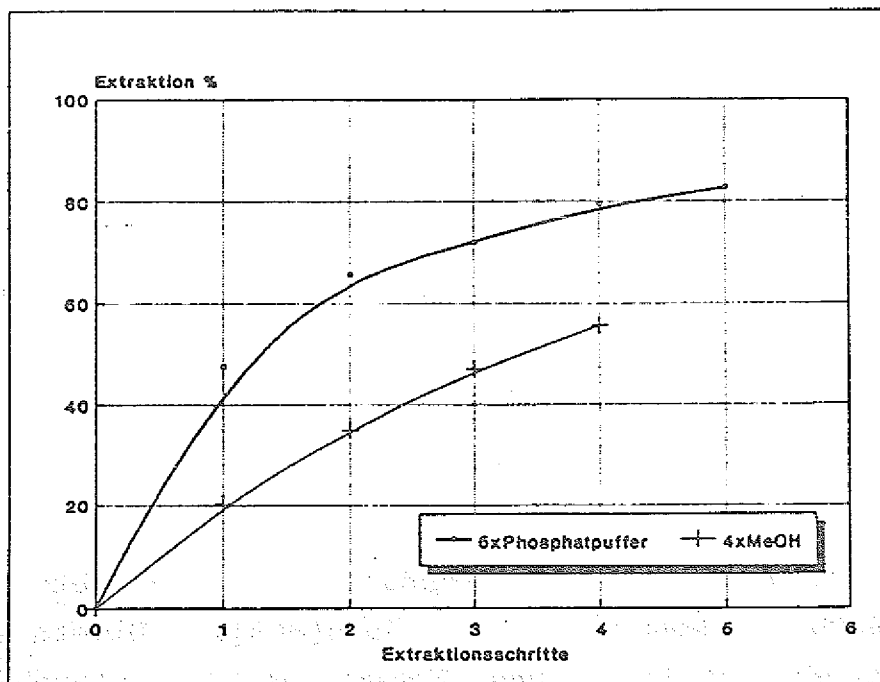


Abb. 32: Relative Darstellung einer Vielfachextraktion von Algen mit Phosphatpuffer oder Methanol.

Die Chromatographie sollte durch eine so kleine Menge Methanol im Probenaliquot nicht beeinflusst werden.

Da die Extraktionsraten in den gefriergetrockneten Homogenaten geringfügig höher sind, wurden diese für die Analysen ausgewählt. Außerdem sind sie leichter zu handhaben und zu homogenisieren. Die frischen Proben enthalten vom Auftauen zu viel Wasser. Dadurch werden die Volumina zu groß und deshalb ist die Wirkung des Extraktors geringer.

7.3 Optimierung des HPLC-Systems

Die Hochleistungs-Flüssigchromatographie (HPLC) sollte als Trennmethode dienen, um die verschiedenen Arsenverbindungen, die sich nach der Extraktion der biologischen Proben im Extrakt befinden, gleichzeitig trennen zu können.

Wie jede andere Methode muß die HPLC optimiert werden, um die besten Ergebnisse zu erzielen. Optimierung heißt in diesem Fall, die Festlegung der Arbeitsparameter für die verwendete chromatographische Säule. Es wurden daher folgende Parameter untersucht:

1. Laufmittel
2. Konzentration und pH des Laufmittels
3. Mengenfluß und Druck
4. Einfluß von Methanol in der Laufmittel

Optimiert wird mit Standardlösungen der möglicherweise enthaltenen Arsenverbindungen, die zuerst einzeln zur Identifizierung des Peaks in die Säule eingespritzt werden. Anschließend wird ein Gemisch untersucht, um das beste Trennungsverhalten zu ermitteln.

In der Literatur sind für die Trennung von Arsenobetain[As β], Arsenocholin[AsCh], Monomethylarsonsäure[MMA], Dimethylarsinsäure[DMA], Arsenit[As(III)] und Arsenat[As(V)], grundsätzlich drei Säulenarten beschrieben (siehe Anhang Kap. 11.7). Darunter werden hauptsächlich Anionenaustauscher-, Kationenaustauscher- und Reverse-Phase-Säulen(RP-Säulen) verwendet. Keine einzige Säule kann aber sämtliche Verbindungen trennen. Normalerweise werden Anionen- oder Kationenaustauscher, für die Trennung von

As β , MMA, DMA, As(III) und As(V) verwendet. Für die Trennung von As β , AsCh, As(III), und As(V) sind RP-Säulen am besten geeignet. Da in den zu analysierenden Proben das Vorkommen von As β , MMA, DMA, As(V), und vermutlich auch AsCh und As(III) bekannt ist, wurde eine Säule ausgesucht, die außer einer guten Trennung der wichtigsten Verbindungen, eine günstige Elutionszeit der zu trennenden Stoffe und eine gute Verträglichkeit des Laufmittels mit dem jeweiligen Extraktionsmittel aufweist.

Nach Literaturangaben brachte die mit einem starken Anionenaustauscher gefüllte Säule NUCLEOSIL 10SB 250/8/4 von Macherey und Nagel die beste Trennung der organischen Arsen-Verbindungen (Morita et al., 1981). Sie wurde daher für die Untersuchungen ausgewählt.

Nach einigen Trennungen mit einer 250mm langen Säule, wurde festgestellt, daß für die gewünschte Trennung eine längere Säule besser geeignet ist. Daher wurde für die endgültigen Bestimmungen eine 300/8/4 verwendet, die 300 mm anstelle der ursprünglichen 250 mm lang ist.

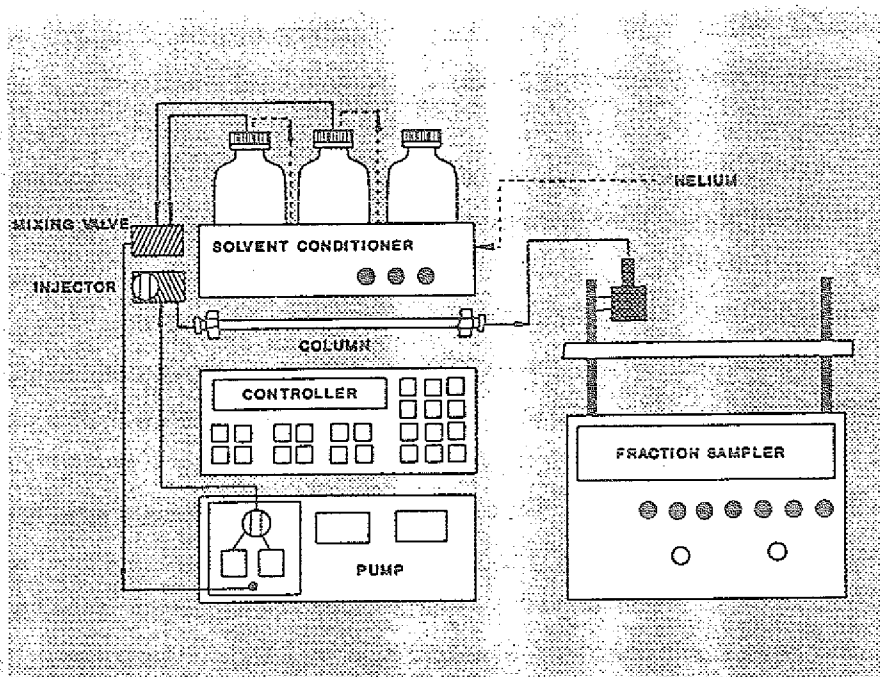


Abb.33: Apparatur zur Hochleistungs-Flüssigchromatographie

7.3.1 Geräte und Grundbedingungen für die Chromatographie
 Für die Hochleistungs-Flüssigchromatographie (vgl. Abb. 33) wurden ein "Controller", eine HPLC Pumpe, ein "Solvent-Conditioner", ein Fraktionssammler, ein Mischventil und ein Injektionsventil mit der oben genannten starken Anionenaustauscher-Säule kombiniert.

Die Grundbedingungen für die Chromatographie werden für ein Aliquot von 100 µl wie folgt vorgegeben: Massenstrom von 1.5 ml/min Pufferkonzentration 0.05 M, pH 5 und 12 Tropfen pro Fraktion.

7.3.2 Standardlösungen

Sechs verschiedene Arsenstandardlösungen wurden zur Identifizierung der getrennten Verbindungen hergestellt: Arsenit, Arsenat, Monomethylarsonsäure, Dimethylarsinsäure, Arsenobetain und Arsenocholin. Die Konzentration betrug jeweils etwa 1 ng/µl.

7.3.2.1 Arsenit [Arsen III]

Da arsenige Säure sehr instabil ist und sehr schnell zu Arsenat [Arsen (V)] oxidiert wird, sollte man für jede Untersuchung die gewünschte Verdünnung aus der konzentrierten Standardlösung herstellen.

Die konzentrierte Arsen(III)-Lösung wurde aus Arsentrioxid (As_2O_3) hergestellt. Dafür wurden 989.2 mg As_2O_3 in 100 ml 0.1 M Natriumhydroxidlösung partiell gelöst, mit Salzsäure neutralisiert und auf 1000 ml aufgefüllt. Das ergibt 749 ng/µl As(III)-Lösung bzw 989.2 ng/µl Arsenit.

7.3.2.2 Arsenat [As V]

Zur Herstellung der Arsenatlösung wurde eine Titrisol-Ampulle As_2O_5 Titrisol nach Vorschrift verdünnt. Es resultiert eine Lösung: 1000 ng/µl As (V). Diese Lösung wurde für die Chromatographie auf 1 ng/µl Arsen weiterverdünnt.

7.3.2.3 Monomethylarsonsäure [MMAA]

45 mg des Dinatriumsalzes der Monomethylarsonsäure wurden in destilliertem Wasser aufgelöst, mit 100 µl konzentrierter Salzsäure versetzt und auf 25 ml mit destilliertem Wasser aufgefüllt.

15 µl dieser Lösung (733.2 ng/µl Arsen oder 1800 ng/µl MMAA), werden unter Zugabe von 30 µl konzentrierter Salzsäure mit destilliertem Wasser auf 10 ml aufgefüllt. Daraus ergibt sich eine Endlösung von 1.1 ng/µl Arsen bzw. 2.7 ng/µl MMAA

7.3.2.4 Dimethylarsinsäure [DMAA] (Andreas, 1977; Ebdon et al., 1988)

2 g Dimethylarsinsäuremononatriumsalz trihydrat, wurden mit 50 ml destilliertem Wasser und 400 µl konzentrierter Salzsäure aufgelöst und auf 100 ml aufgefüllt. 10 µl dieser DMAA-Lösung (14956.3 ng/µl) und 4 ml konzentrierter Salzsäure sind auf 50 ml mit destilliertem Wasser aufzufüllen, um eine Lösung mit 2.99 ng/µl DMAA bzw. 1.4 ng/µl As(V) herzustellen.

7.3.2.5 Arsenobetain [Asβ]

45.4 mg des selbst hergestellten Arsenobetainhydrogenbromids, wurden in etwas Wasser und 0.1 ml Salzsäure aufgelöst, und auf 25 ml mit destilliertem Wasser aufgefüllt. Von dieser Arsenobetainhydrogenbromid-Lösung (1820 ng/µl) wurden 2 ml mit 4 ml konzentrierter Salzsäure auf 1000 ml aufgefüllt. Die Stammlösung enthält 1.1 ng/µl Arsen bzw. 3.64 ng/µl Arsenobetainhydrogenbromid.

7.3.2.6 Arsenocholin [AsCh]

45.4 mg Arsenocholinbromid (von Prof. Irgolic zur Verfügung gestellt) wurden zur Herstellung der Stammlösung, wie das Arsenobetain, behandelt. 500 µl wurden mit 100 µl konzentrierter Salzsäure auf 250 ml mit destilliertem Wasser aufgefüllt. Die Lösung hat dann einen Gehalt von 1.1 ng/µl Arsen oder 3.63 ng/µl Arsenocholin.

7.3.2.7 Phosphatpuffer

Das Laufmittel ist eine Phosphat-Pufferlösung.

Laut Literatur sollte dieser Puffer einen pH Wert von 7.4 haben. Um dies zu erreichen, mischt man 9.5 ml 1 molare $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ - Lösung mit 202.5 ml 0.2 molarer Na_2HPO_4 -Lösung und füllt auf 1000 ml auf. Das ergibt den Puffer $\text{NaH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4$ (0.05M) der einen pH Wert von 7.58 hat.

7.3.3 Laufmittel

Die Entscheidung für das Laufmittel basiert auf einer Untersuchung der in der Literatur erwähnten Laufmittel, die zusätzlich fähig waren als Arsen-Extraktoren in den Algen- und Muschelproben (Morita et al, 1981) zu wirken. Die vorgegebene Konzentration von 0.05 M Phosphatpuffer trennt die verschiedenen Arsenverbindungen nicht vollständig. Eine stufenweise Erniedrigung der Phosphatkonzentration sollte zeigen, ob die Peaks besser getrennt werden. Der Druck sollte 100 bar nicht überschreiten; deshalb wurde als Fluß 1.5 ml/min gewählt.

Die graphische Darstellung dieser Ergebnisse (Abb. 34) zeigt: Je niedriger die Phosphatkonzentration wird, desto größer wird die Retention von MMAA, DMAA und As(V). Am langsamsten läuft Arsenat mit dieser Verdünnung, dann folgt Monomethylarsonsäure. Das läßt sich durch den Einfluß der Konzentration der Gegenionen im Laufmittel erklären. Bei pH=5 hat das Arsenat-Ion eine größere Basenstärke als die partiell dissoziierte Monomethylarsonsäure. Wenn die Ionenstärke der Gegenionen erniedrigt wird, sind sie nicht mehr fähig, gebunden zu bleiben und erlauben eine stärkere Bindung der Arsenspezies. Dies bedeutet dann eine längere Retentionszeit.

Arsenobetain und Arsenit, eluieren unabhängig von der Phosphatkonzentration mit der Front, weil sie bei diesem pH-Wert ungeladen sind und damit nicht an die Säulenfüllung gebunden werden.

Am Beispiel des Verhaltens von Arsenobetain und Arsenat läßt sich die Veränderung im Retentionsvermögen für Arsenat bei verschiedenen Phosphatkonzentrationen (Abb. 26) erkennen.

Aufgrund dieser Vorversuche wurde 0.025 M als Konzentration für den Phosphatpuffer gewählt.

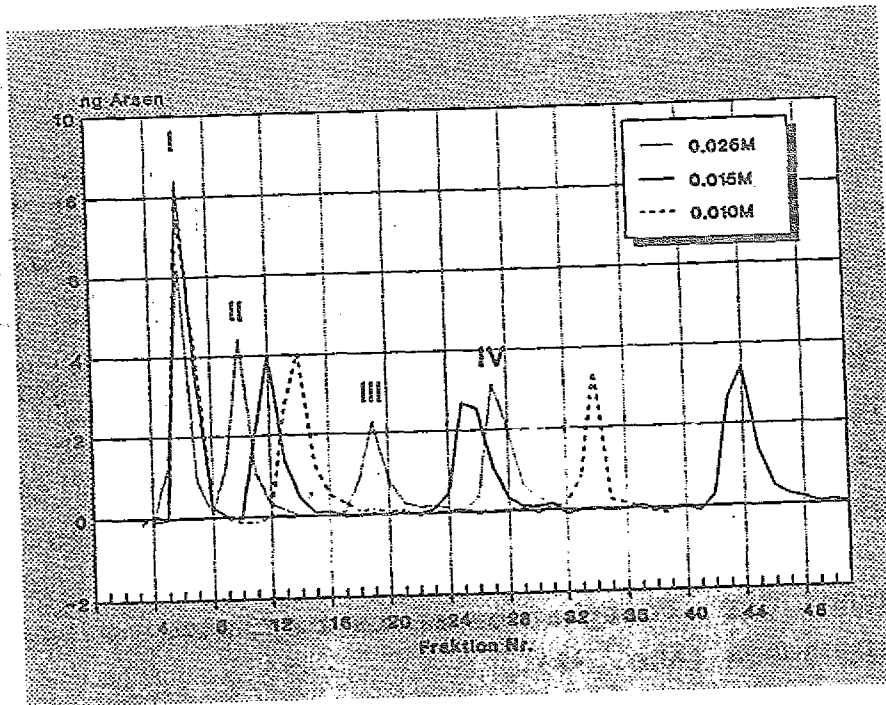


Abb. 34: Einfluß der Phosphatkonzentration bei der Chromatographie von Arsenstandardlösungen. Identifikation: I, Arsenobetain; II, DMAA; III, MMAA; IV, Arsen(V)

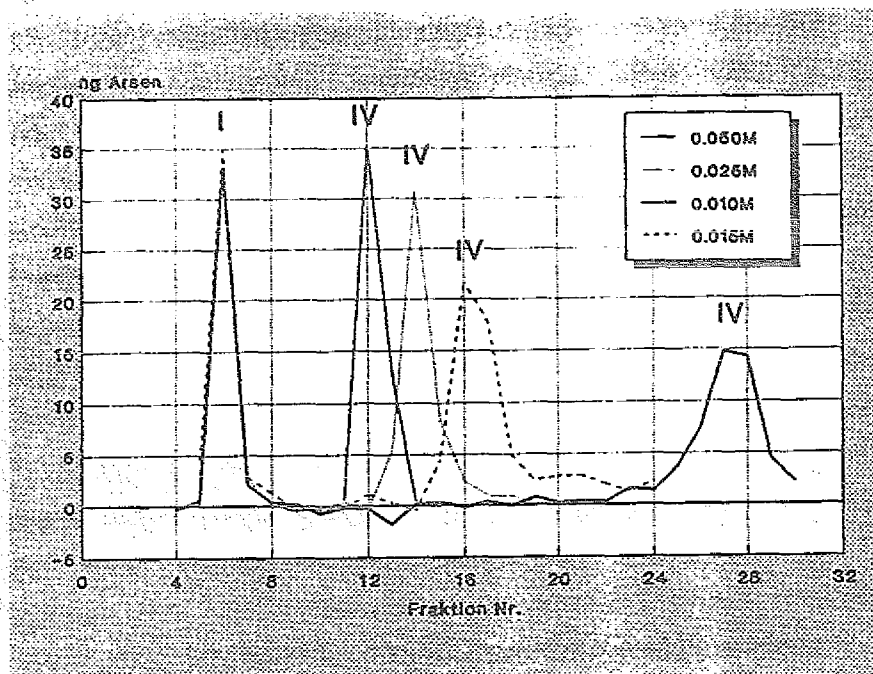


Abb. 35: Einfluß der Phosphatpuffer-Konzentration bei der Chromatographie von Arsenobetain und Arsenat. Identifikation: I, Arsenobetain; IV, Arsen(V)

7.3.4 pH Wert des Laufmittels

Dieser Parameter soll in einem Bereich eingestellt werden, in dem die Säule ihre beste Austauschkapazität besitzt. Für starke Anionenaustauscher liegt ein breites Optimum zwischen pH 2 und 9. (siehe Abb. 36)

Da die untersuchten Arsenverbindungen zwischen Arsenobetain (erster Peak) und Arsenat (letzter Peak) eluieren, wurde die pH-Abhängigkeit nur mit diesen zwei Verbindungen untersucht. Mit steigendem pH-Wert des Laufmittels verschlechtert sich die Trennung dieser zwei Verbindungen (Abb. 37). Durch eine Erniedrigung der Phosphatkonzentration wird dieser Effekt wieder aufgehoben (Abb. 38).

Alle weitere Trennungen wurden daher bei pH 5 durchgeführt. Für optimale Ergebnisse sollte ein möglichst niedriger pH-Wert, etwa 5, eingestellt werden.

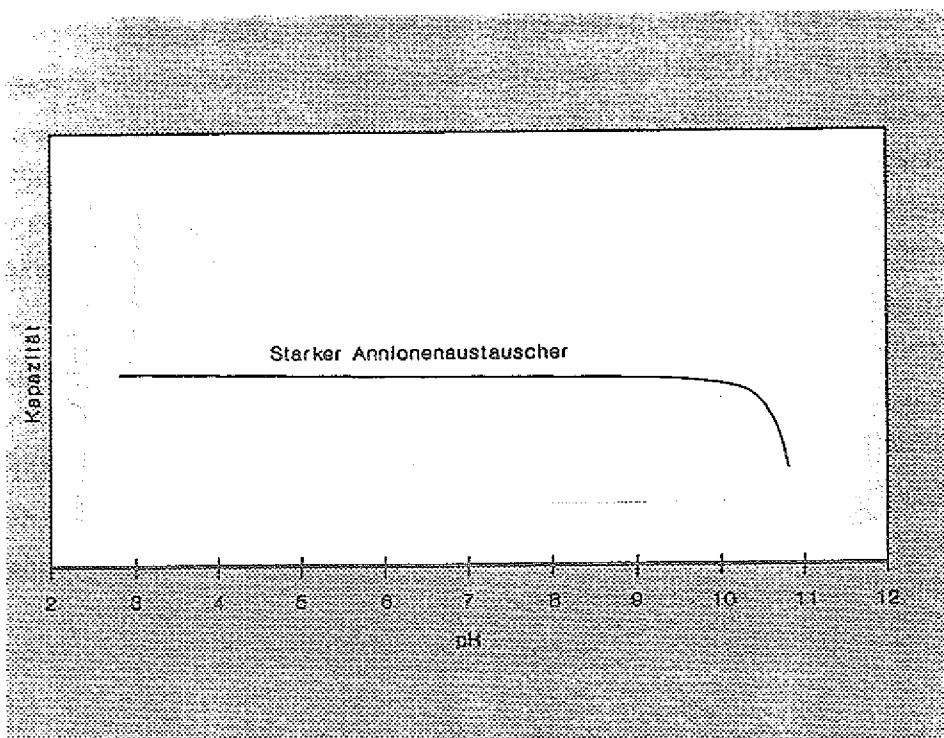


Abb. 36: Kapazität eines Anionenaustauschers in Abhängigkeit des pH-Werts (Scott, 1983)

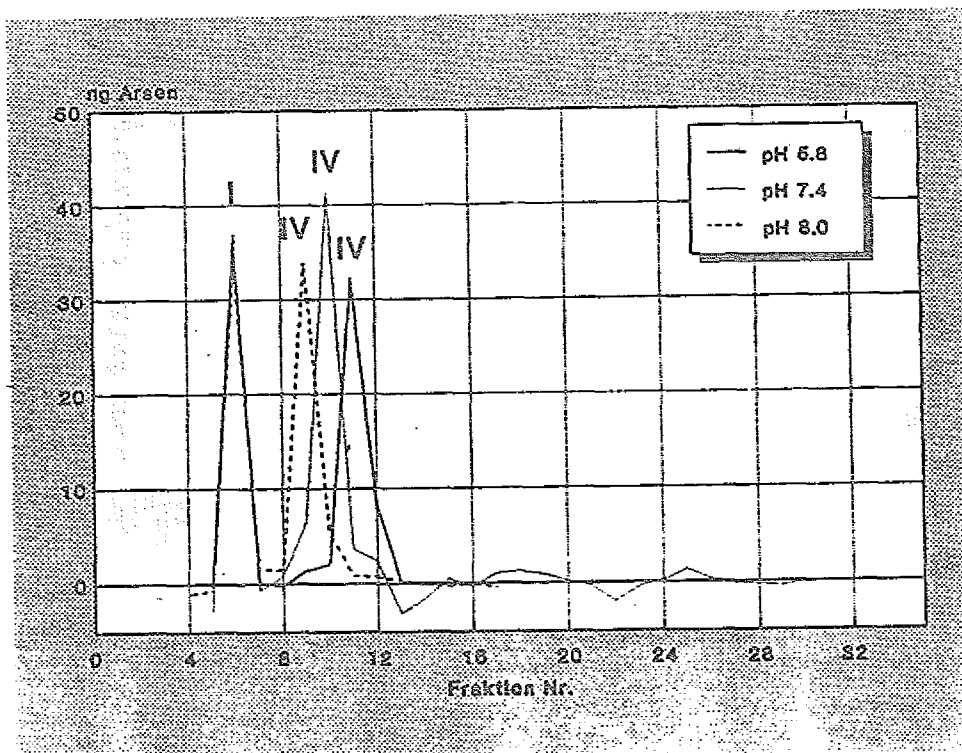


Abb. 37: Einfluß des pH-Werts bei der Chromatographie von Arsenverbindungen mit Phosphatpuffer als Laufmittel. Identifikation: I, Arsenobetain; IV, Arsen(V)

7.3.5 Einfluß von Methanol auf das Laufmittel

Da zur Extraktion der biologischen Proben auch Methanol in Frage kommt (siehe Kap 7.2) und dieses auch in der Chromatographie wirkt, wurde dessen Einfluß auf die Retention untersucht. Die verschiedenen Verbindungen reagieren unterschiedlich auf den Zusatz von Methanol zum Laufmittel (Abb. 38).

Bei Monomethylarsonsäure und Arsenat erhöht es die Retentionszeit.

Für Dimethylarsinsäure und Arsenobetain kehrt sich dieser Einfluß um. Mit steigender Konzentration vereinigen sie sich zu einer Front. Daher sollte auf einen Methanolzusatz zum Laufmittel verzichtet werden.

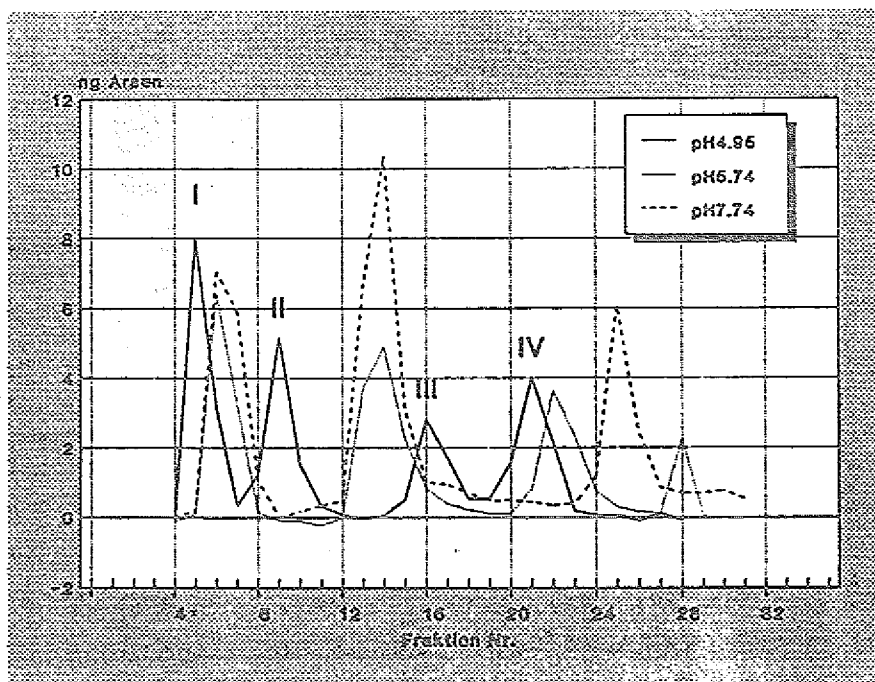


Abb. 38: Einfluß der Phosphatkonzentration bei der Chromatographie von Arsenverbindungen. Identifikation: I, Arsenobetain; II, DMAA; III, MMAA; IV, Arsen(V)

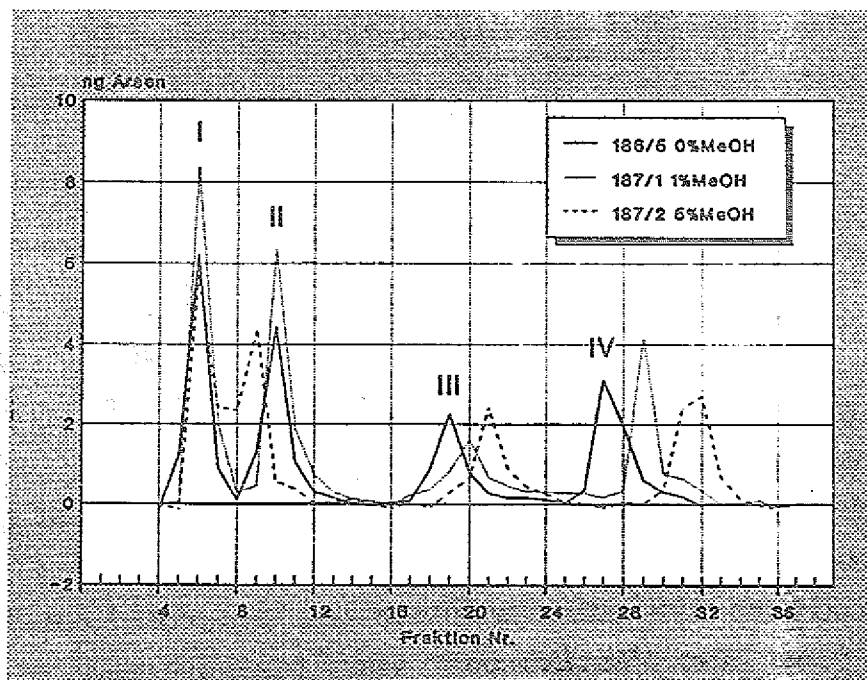


Abb. 39: Einfluß des Methanolgehalts (in %) im Laufmittel bei der Chromatographie von Arsenverbindungen. Identifikation: I, Arsenobetain; II, DMAA; III, MMAA; IV, Arsen(V)

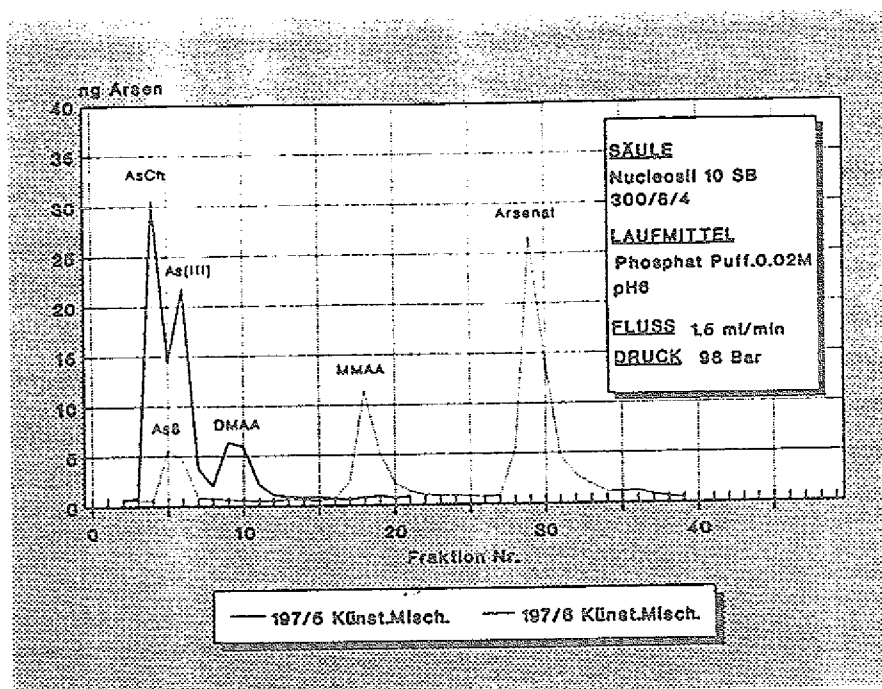


Abb. 40: Elutionsordnung bei der Chromatographie von Arsenverbindungen. Untersuchungen mit Standards

7.3.6 Elutionsordnung der untersuchten Arsenverbindungen

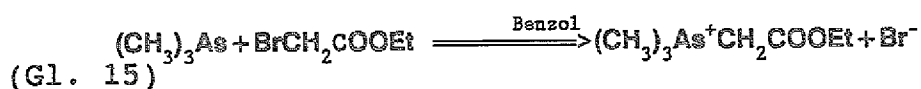
Zur endgültigen Identifizierung der Arsenverbindungen im Chromatogramm unter den optimierten Bedingungen, wurden je 3 Verbindungen gemeinsam eingespritzt. Da die Konzentrationen der Verbindungen unterschiedlich gewählt wurden, war eine Zuordnung der Peaks einfach.

Arsenocholin, Arsenobetain und Arsenit sind, wie bereits beschrieben, mit dieser Säule nicht zu trennen, während Dimethylarsinsäure, Monomethylarsonsäure und Arsenat gut getrennt werden (Abb. 31). Da das Arsenit nicht und Arsenocholin wenn überhaupt, nur in geringsten Mengen vorkommt, wird diese Fraktion in den Analysen als Arsenobetain ausgewertet.

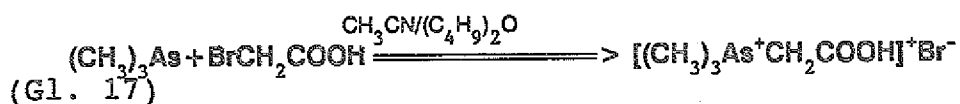
7.4 Synthese von Arsenobetainhydrogenbromid (Trimethylcarboxymethylarsonium bromid)

Nach der Literatur besteht die Möglichkeit Arsenobetain nach zwei verschiedenen Verfahren herzustellen. Goetz⁽¹⁹⁸³⁾ veröffentlichte 1983 die Synthese des Arsenobetains nach einer Modifizierung des Verfahrens von Samaan^(Samaan, 1978). Aus der Reaktion von

Trimethylarsin und Ethylbromacetat in Benzol (Gl. 15) entsteht nach 24 Stunden Rührung Arsenobetainethylesterbromid, das später mit einem Anionenaustauscher zu Arsenobetainhydrogenbromid hydrolysiert wird. (Gl. 16)



Die zweite Art, das nicht hygroskopische Arsenobetainhydrogenbromid herzustellen, ist nach McShane⁽¹⁹⁸²⁾, durch eine Einstufenreaktion von Trimethylarsin und Bromessigsäure (Gl. 17)



Das Arsenobetain wurde nach McShane⁽¹⁹⁸²⁾ wegen höherer Ausbeute und einfacherer Herstellungsmethode präpariert. Die Ausbeute war 61 %. Das synthetisierte Arsenobetainhydrogenbromid war in der Elementaranalyse, im Massenspektrum und im NMR-Spektrum identisch mit einem authentischen Standard (siehe Anhang Kap. 11.5.2).

Reaktionen für die Herstellung von Arsenverbindungen sollten mit besonderen Sicherheitsmaßnahmen durchgeführt werden. Das Tragen von Sicherheitsbrillen und Handschuhen ist notwendig, um den Kontakt der Verbindungen mit der Haut zu vermeiden. Trimethylarsin ist außerdem sehr toxisch und brennt in der Luft.

7.4.1 Identifikation des Arsenobetainhydrogenbromids

Für die Identifikation des Produktes wurde der Schmelzpunkt gemessen, Massen- und NMR-Spektren aufgenommen und Elementaranalysen durchgeführt. Diese letzte Analyse ergab:

C: 23.3 % $\pm$ 0.1 % (Theor. 23.2%); H: 4.77 $\pm$ 0.12% (Theor. 4.7 %).

Theoretisch soll Arsenobetainhydrogenbromid bei 227°C schmelzen. Die Referenzverbindung hatte einen Schmelzbereich von 224°C bis 225°C. Das synthetisierte Produkt schmilzt bei 222°C.

Aus den Massenspektren ist ersichtlich, daß auch hier kein molekularer Peak entsteht. Der intensivste Massenpeak ist $(\text{CH}_3)_2\text{AsCH}_2\text{COOH}$ (m/e 164) zuzuordnen und ist wahrscheinlich das Produkt einer thermischen Abspaltung von CH_3Br . Im allgemeinen werden die Moleküle durch Abspaltung von Methyl- und Acetatgruppen sowie auch von CO und CO_2 entstehen. Fraktionen mit Arsen-Sauerstoff und Arsen-Bromid-Verbindungen sind entweder aus thermischem Abbau oder intramolekularen Umordnungen entstanden.

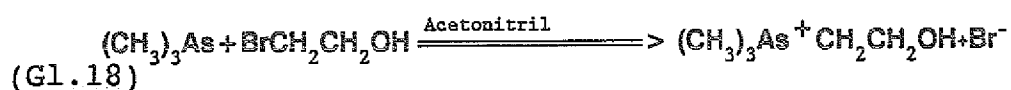
Wichtige Peaks dieser Massenspektren, die das Produkt als Arsenobetainhydrogenbromid bestätigen, sind: $(\text{CH}_3)_2\text{As}$ (m/e 105); $(\text{CH}_3)_3\text{As}$ (m/e 120); $\text{CH}_3\text{AsCH}_2\text{COOH}$ (m/e 149) und $(\text{CH}_3)_2\text{AsCH}_2\text{COOH}$ (m/e 164).

Auch nach der Auswertung der NMR-Spektren ist ersichtlich, daß das synthetisierte Produkt Arsenobetain ist.

7.5 Synthese von Arsenocholinbromid (Trimethyl-2hydroxyethyl-arsoniumbromid)

Arsenocholin wurde als Standard für die Identifizierung und Analyse der Arsenocholinpeaks der Algen- und Muschelproben gebraucht. Solche Chemikalien sind sehr schwer kommerziell erhältlich. Darum war es notwendig, es zu synthetisieren.

Das Arsenocholin wurde nach dem Verfahren von Goetz und Norin (Goetz, 1983; Norin, 1983) aus Trimethylarsin und 2-Bromethanol in Acetonitril synthetisiert (Gl. 18).



Die Reaktion ist exotherm, dauert etwa 70 Stunden und wird in einem geschlossenen System durchgeführt. Die Ausbeute betrug 80 %.

7.5.1 Identifikation des Arsenocholinbromids

Mit dem Vergleich der theoretischen und experimentellen Schmelzpunkte, Elementaranalyse, Massen- und NMR-Spektren dieses Produktes (Anhang; Kap 11.5.2) wurde das hergestellte Produkt als Arsenocholin identifiziert.

Bei der Schmelzpunktmessung (theoretisch 226.7°C (McShane, 1982)) wurden für die von Prof. Irgolic zur Verfügung gestellte Verbindung, praktisch zwei Schmelzstufen festgestellt. Zwischen 180°C und 185°C werden die Kristalle amorph und von 200°C bis 215°C schmelzen sie. Dieses Verhalten zeigt auch das neu synthetisierte Arsenocholinbromid, das zwischen 180°C und 200°C amorph wird und ab 200°C schmilzt.

Die Elementaranalyse ergab: C: $24.0\% \pm 0.1\%$ (Theor. 24.5%);

H: 6.40% (Theor. 5.8%).

In den sehr linienreichen Massenspektren des selbst hergestellten Arsenocholins befindet sich, genau wie bei Messungen verschiedener Arsenocholinhalide von McShane⁽¹⁹⁸²⁾, kein signifikanter molekularer Ionenpeak. Für die Identifizierung des Arsenocholins bleiben nur folgende Massenpeaks: $\text{CH}_3\text{AsCH}_2\text{CH}$ (m/e 117); $(\text{CH}_3)_2\text{AsCH}_2\text{CH}$ (m/e 132); $\text{CH}_3\text{AsCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ (m/e 135); $(\text{CH}_3)_2\text{AsCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ (m/e 150) und $(\text{CH}_3)_3\text{AsCH}_2\text{CH}_2\text{O}$ (m/e 164). Diese Peaks beweisen eine Verbindung zwischen beiden Reaktanden zu Arsenocholin und finden sich in sämtlichen Spektren mit relativ großer Intensität.

Andere wichtige Peaks wie $(\text{CH}_3)_2\text{As}$ (m/e 105) und $(\text{CH}_3)_3\text{As}$ (m/e 120) oder CH_3AsBr (m/e 169; 171) und $(\text{CH}_3)_2\text{AsBr}$ (m/e 184; 186) stammen auch aus der hergestellten Verbindung, zeigen aber nur Teile des Moleküls.

Insgesamt war aus der Information gut erkennbar, daß die hergestellte Arsenverbindung mit Arsenocholinbromid identisch ist.

Zum Vergleich wurde auch die Verbindung von Prof. Irgolic gemessen. Die Spektren weisen für die wichtigsten ausgewählten Peaks eine viel geringere Intensität aus. Trotzdem sind es die selben Peaks.

Arsenocholinbromid wurde damit durch NMR-Spektren (s. Anhang 11.6.1), Massenspektren und Elementaranalyse eindeutig identifiziert.

8 Arsenanalysen

Die Arsenanalysen erfolgten in jeweils mindestens 2 Probenaliquots. Das bedeutet, daß jede Probe zweimal aufgeschlossen, und jeder Aufschluß zweimal gemessen wurde.

Die erhaltenen Ergebnisse weisen normalerweise von Messung zu Messung bzw. von Aufschluß zu Aufschluß nicht mehr als eine Standardabweichung von 4 % auf.

Die Ergebnisse wurden auf das zuvor bestimmte Trockengewicht der Probe umgerechnet.

8.1 Aufschluß der Proben

8.1.1 Aufschluß für Gesamtarsen

Sämtliche Proben, mit Ausnahme der Wasserproben, wurden zur Bestimmung des Gesamtarsengehalts durch Überführung in das fünfwertige anorganische Arsen offen naß aufgeschlossen.

Ca. 100 mg der gefriergetrockneten Algen - bzw. Muschelproben - wurden in einem Quarzkolben eingewogen, mit 3 ml HNO_3 konz. versetzt und über Nacht bei Zimmertemperatur reagieren gelassen. War die Probe dann klar, wurde sie mit 0.2 ml HClO_4 und 0.5 ml H_2SO_4 versetzt und im Aufschlußblock (siehe Kap.5.3.3) verascht. War die Lösung getrübt, mußte sie vor dem Aufschluß kurz bis zum Sieden erhitzt werden, bis sie klar wurde.

Die nach dem Aufschluß (Endtemperatur 310°C) verbleibende Schwefelsäure wird vorsichtig mit destilliertem Wasser aufgenommen und in einem 25 ml Meßkolben zur Marke aufgefüllt.

8.1.2 Aufschluß zur Bestimmung der Arsenspezies

Zur Bestimmung der Konzentration der einzelnen Arsenspezies wurde jede Fraktion der HPLC-Trennung im gleichen Aufschlußsystem mit 1ml HNO_3 ; 0.5 ml H_2SO_4 und 0.2 ml HClO_4 versetzt und direkt aufgeschlossen. Eine Standzeit über Nacht war nicht notwendig, da die Probe schon flüssig war.

Auf Grund der niedrigen Arsen-Konzentrationen in den Fraktionen wurden die Proben anschließend nicht aufgefüllt sondern ein Aliquot direkt zur Messung gebracht. Das Volumen der Lösung wurde durch Berechnung der Dichte festgestellt.

8.2 Arsenbestimmung in Meerwasser

Die filtrierten und aufgetauten Wasserproben, mußten zur Bestimmung des Gesamtarsengehaltes nicht aufgeschlossen werden, da sie nur sehr wenig von den mit HG-AAS nicht direkt bestimmbaren organischen Arsenverbindungen enthalten. Sie sollten aber so schnell wie möglich nach dem Auftauen analysiert werden, um Änderungen in der Zusammensetzung zu vermeiden. Dies gilt besonders für das sehr labile Arsenit.

Eine Aliquot der Wasserprobe (3 ml) wurde mit HCl konz. angesäuert (0.5 ml) und mit HG-A-AAS der Gesamtarsengehalt bestimmt.

Danach wurde in einem weiteren Aliquot mit 1 ml Citrat-Puffer (pH-Wert der Meßlösung = 6) der Anteil an Arsen(III) gemessen. Durch Subtraktion des Arsen-(III)-Gehaltes vom Gesamtarsengehalt wurde der Arsen(V)-Anteil berechnet.

Die Auswertung erfolgte in Peakfläche gegen eine wässrige Bezugskurve, mit Arsen(V).

8.3 Gesamtarsenbestimmung und Ermittlung der Verbindungsform (Speziation) in Muscheln und Algen

Die Bestimmung des Gesamtarsengehaltes erfolgte mit Aliquots der Aufschlußlösungen. In der Regel genügten 100 µl.

Gemessen wurde die Peakfläche bei 193.7 nm; die Auswertung erfolgte gegen eine wässrige Bezugskurve.

Zur Speziation wurden ca 200 mg Probe mit 3 ml Methanol/Phosphat-Puffer versetzt und wie im Kapitel 7.2.3 beschrieben, weiterverarbeitet. Der so erhaltene Extrakt konnte direkt für die HPLC eingesetzt werden.

Die Arbeitsbedingungen für die Trennung der Arsenverbindungen eines 100µl Aliquots waren:

Laufmittel: 0.025 M Phosphatpuffer, pH5

Mengenstrom: 1.5 ml/min

Druck: etwa 90Bar

Es wurden insgesamt 55 Fraktionen zu je 12 Tropfen erhalten, die wie unter 8.1.2 beschrieben, aufgeschlossen wurden.

Von den 500 µl H₂SO₄ 96% (= 0.947 g) blieben nach dem Aufschluß nur 462.2 µl wasserfreie Säure (= 0.909 g; Mittelwert von n=10) zurück. Davon wurden 300 µl zur Messung eingesetzt. Die Analyse erfolgt wie beim Totalarsengehalt in Algen und Muscheln. Jede

Probe wurde 2 mal extrahiert und jeder Extrakt mindestens einmal chromatographiert.

Die Arsengehalte der einzelnen Fraktionen wurden zu einem Diagramm zusammengesetzt. So entstanden "Chromatogramme", deren Peaks den Messungen der einzelnen Arsenverbindungen entsprechen.

Aus der Arsenmenge eines Peaks (in ng) wurde die Konzentration der Arsenverbindung in der Ausgangsprobe errechnet.

Die Ergebnisse sämtlicher Proben wurden für jeden Probenahmeort graphisch dargestellt (siehe Anhang Kap. 11.4).

8.4 Analysenergebnisse und deren Interpretation

8.4.1 Gesamtarsen in Algen und Muscheln

Die Gesamtarsenbestimmung wurde in Algen und Muscheln an vier Stellen der Nordsee und zwei der Ostsee als Überprüfung der Leistungsfähigkeit des entwickelten Anreicherungssystems für die Arsenanalyse in biologischen Proben durchgeführt.

Da die Analyse aller Proben über 2 Jahre eine große Menge Ergebnisse liefert, wurden die Extremwerte in einfachen Tabellen zusammengefaßt (Tabellen VIII und X). Auf diese Weise ist es möglich festzustellen, ob es eine Korrelation zwischen den Totalarsengehalten der untersuchten Orte gibt, die zu einem von der Jahreszeit abhängigen Zyklus führen kann.

In der Nordsee sind zwei deutliche Konzentrationsminima, jeweils im Juni, zu erkennen (siehe Tabelle VIII). In der Ostsee sind sie im August.

Generell sind jahreszeitliche Unterschiede an allen Probenahmeorten erkennbar (siehe Abb. 41).

Eine Ausnahme bildet der Probenahmeort List auf der Insel Sylt. Er zeigt im gesamten Untersuchungszeitraum nur zeitunabhängige Schwankungen. Gleichzeitig wurden an dieser Stelle die geringsten Salinitätsschwankungen und die größten Wassertemperaturunterschiede von allen untersuchten Probenahmestellen gemessen (siehe Tab. IX), zwei Parameter, die wahrscheinlich einen Einfluß auf dieses Verhalten haben (Munda, 1978, 1979; Steinhagen-Schneider, 1981).

Tabelle VIII: Höherere und niedrigere Arsenkonzentrationen in Algen im Zeitraum 1987-1988

	Februar	April	Juni	August	Oktober	Dezember
Nordsee						
Eckwarderhörne		H	tT	h	H	t
Kugelbake	H		tT		H	
Nordstrand	H		tT			H
List	H	t	T		T	tH
Ostsee						
Kronsgaard	h	H	T	t		
Strände				tT		hH

t= Niedrige Arsenkonzentration im Jahr 1987

T= Niedrige Arsenkonzentration im Jahr 1988

h= Hohe Arsenkonzentration im Jahr 1987

H= Hohe Arsenkonzentration im Jahr 1988

Tabelle IX: Absolute Schwankung der Parameter während des zweijährigen Beobachtungszeitraumes.

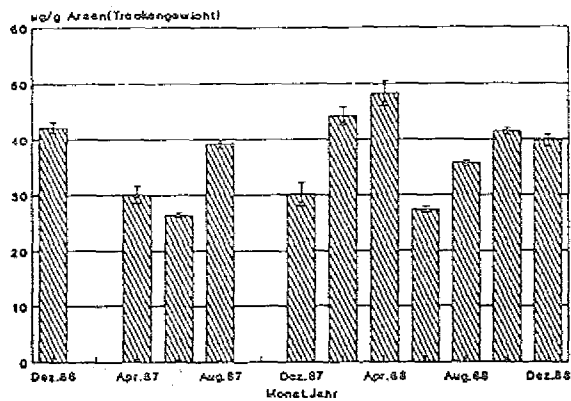
STELLE	SALINITÄT(‰)	PH-WERT	H ₂ O-T°(°C)	LUFT-T°(°C)
Nordsee				
Eckwarderh.	10.6-28.7(18.1)*	7.1-8.3(1.2)	3-21(18)	-1-23(24)
Kugelbake	3.3-20.8(17.5)	7-8.5(1.5)	0-17(17)	-1-22(23)
Nordstrand	21-27.4(6.4)	7.3-8.7(1.4)	0-19(19)	-1-20(21)
List	21.7-27.2(5.5)	7.5-8.7(1.2)	0-22(22)	0-21(21)
Ostsee				
Kronsgaard	13.4-21.2(7.8)	7.2-8.7(1.5)	0.7-22(21.3)	0-24(24)
Strände	13-18.7(5.7)	7.3-8.6(1.3)	4-13.2(9.2)	5-25(20)
Antofagasta(RCh)				
(+)El Cobre	34	7.9	24.5	18.2
(+)I.Lagarto	33.9	7.9	24.5	19.5

* Schwankung(Unterschied)

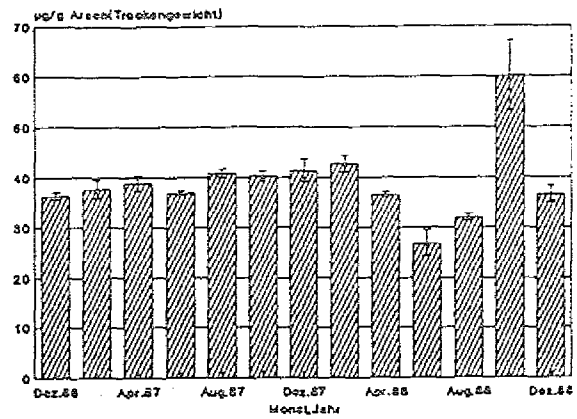
(+)Probenahme Dezember 1987(Anfang Sommer)

Wahrscheinlich spielt die Lage des Ortes eine besondere Rolle (siehe Abb. 8 und Probenahmestellenbeschreibung, Anhang Kap 11.4): Das fast umschlossene Gebiet bietet besondere Bedingungen für ein mehrmals im Jahr stattfindendes Wachstum der Alge.

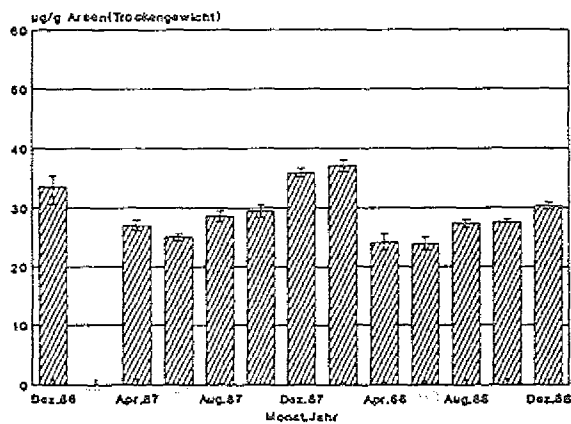
Nach den vorliegenden Ergebnissen ist ersichtlich, daß die Algen einem Zyklus unterliegen, in dem sie, durch die Umwelt bedingt, mehr oder weniger Arsen aufnehmen können. Da in den Wachstumsperioden neue Triebe gebildet werden, wird wahrscheinlich das in



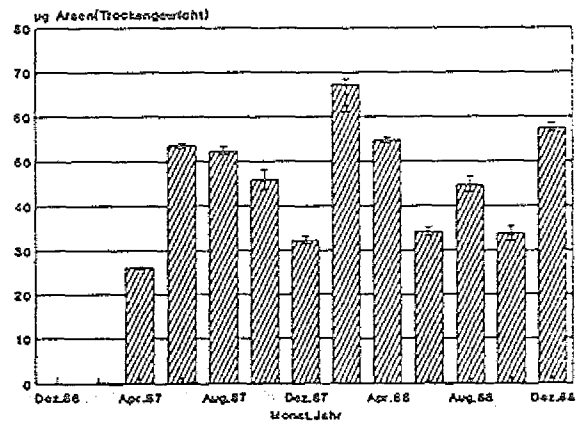
1 Eckwarderhörne



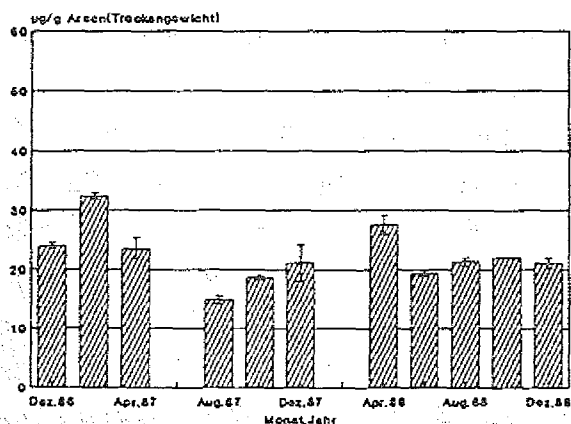
2 Cuxhaven-Kugelbake



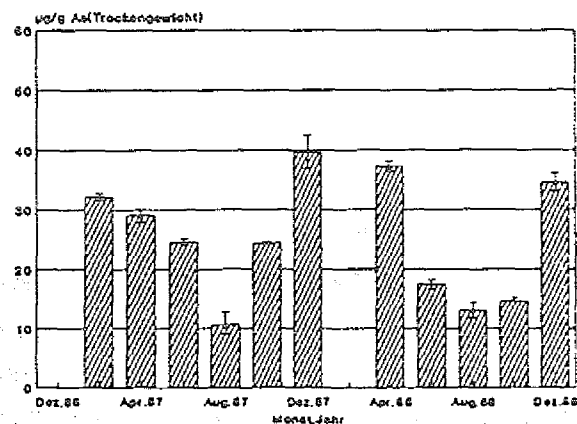
3 Nordstrand



4 Sylt-List



5 Kronsgaard



6 Kiel-Strande

Abb. 41: Vergleichende Betrachtung der Totalarsengehalte in Algen über 2 Jahre an den verschiedenen Orten:
 1 Eckwarderhörne; 2 Cuxhaven-Kugelbake; 3 Nordstrand;
 4 Sylt-List; 5 Kronsgaard; 6 Kiel-Strande

der Alge enthaltene Arsen damit "verdünnt". Das Wachstum fällt normalerweise in den Bereich der niedrigen Arsengehalte. Die zusätzlich gemessenen Probenahmeparameter (Salinität, pH-Wert, und die Temperatur von Wasser und Luft) erhärten in etwa diese Aussage. (Siehe Tabelle X und im Kap 11.3 Abbildungen: 59-62).

Die Jahresmittelwerte der Totalarsenkonzentrationen für Algen über die gesamte Probenahmezeit sind im Nordseeraum höher als in der Ostsee und schwanken zwischen $28 \pm 5 \mu\text{g/g}$ und $50 \pm 11 \mu\text{g/g}$ für die Nordsee und zwischen $22 \pm 3 \mu\text{g/g}$ und $30 \pm 10 \mu\text{g/g}$ für die Ostsee (Siehe Einzelwerte, Anhang Kap. 11.2, Tabellen XI bis XVIII).

Beim Vergleich der 2-Jahres-Mittelwerte eines Ortes ist es möglich, die Arsenkonzentration in Algen, trotz der Schwankungen der einzelnen Mittelwerte, als konstant zu betrachten. Nur in Strande (Ostsee) sind die Mittelwerte leicht sinkend ($30 \pm 10 \mu\text{g/g}$ in 1987 und $20 \pm 12 \mu\text{g/g}$ in 1988) und auf Sylt steigend ($40 \pm 12 \mu\text{g/g}$ in 1987 und $50 \pm 11 \mu\text{g/g}$ in 1988).

Die Arsengehalte der zwei Algenproben aus Chile sind wesentlich höher als die der deutschen. Sie sind aber nicht direkt vergleichbar, da die chilenischen Algen kein *Fucus vesiculosus*, sondern *Lessonia nigrescens* sind. Außerdem sind sie als einzelne Proben nicht aussagekräftig. Die Tatsache, daß beide Proben so hohe Totalarsenkonzentration aufweisen, könnte aber dennoch ein Beweis für höhere Arsengehalte in dieser Algenart sein, was auch eine höhere Anreicherungs-kapazität bedeuten würde, wenn der Arsengehalt im Wasser im normalen Bereich liegt (I.Lagarto 2.7 ng/ml ; El Cobre 1.8 ng/ml). Verschiedene Algenspezies haben unterschiedliche Fähigkeiten, Arsen anzureichern. Bei Messungen von Arsengehalten in verschiedenen Algenspezies der Ostsee wurden ganz unterschiedliche Werte gefunden, auch wenn sie zum selben Gebiet gehörten und der Arsengehalt im Wasser normalerweise bei ca. 2 ng/ml liegt (Stoeppler et al, 1986; Sanders, 1978).

Die Algen von Isla Lagarto, einem unbelasteten Standort weit von jeder Industrie entfernt, zeigen die höhere Arsenkonzentration ($54 \pm 2 \mu\text{g/g}$). In El Cobre (120 km von I.Lagarto entfernt), das in der Nähe einer kleinen Kupferhütte liegt, ist die Arsenkonzentration erstaunlicherweise etwas geringer ($46 \pm 4 \mu\text{g/g}$).

Die Muschelproben zeigen ein signifikantes Minimum der Arsenkonzentration im August 1987 und ein weniger deutliches im August 1988 (siehe Tabelle X).

Tabelle X: Hohe und niedrige Arsenkonzentrationen in Muscheln
im Zeitraum 1987-1988

	Februar	April	Juni	August	Oktober	Dezember
Nordsee						
Eckwarderhörne		hH		tT		
Nordstrand		H	T	t		H
List		hH			t	T
Ostsee						
Kronsgaard	t	h	H	t	T	
Strände		hH		tT		

t= Niedrige Arsenkonzentration im Jahr 1987

T= Niedrige Arsenkonzentration im Jahr 1988

h= Hohe Arsenkonzentration im Jahr 1987

H= Hohe Arsenkonzentration im Jahr 1988

Auch hier nimmt List wieder eine Sonderstellung mit einem Tiefpunkt ein, der bis zu vier Monate von dem für die anderen Standorte gefundenen verschoben ist. Interessant ist die Tatsache, daß die maximale Arsenkonzentration bei fast allen Probenahme-stellen im selben Monat liegt. Ausnahmen sind Nordstrand, Nordsee und Kronsgaard, Ostsee im Jahr 1988 (siehe Abb. 42).

Diese Tendenzen sind aus den Abbildungen 54b bis 58b im Kapitel 11.3 ersichtlich, in denen die Totalarsenkonzentrationen der 2 Jahre Probenahme für die Muscheln überlappend abgebildet sind.

Wie aus den Tabellen zu ersehen ist (XI bis XVII; Anhang Kap 11.2), liegen die Arsengehalte der Miesmuscheln bei etwa 50 % der im gleichen Bereich lebenden Algen (Vergleich Tabellen XI bis XVII; Kap. 11.2). Der Standort mit dem niedrigsten Konzentrationsbereich ist Kronsgaard (4.8 µg/g - 12.3 µg/g); die Muscheln mit dem höchsten Arsengehalt (13.4 µg/g - 20 µg/g) gehören zum Standort Eckwarderhörne. Im Vergleich sind für *Mytilus* die Mittelwerte der Totalarsenkonzentrationen aus der gesamten Probenahmezeit in der Nordsee bedeutend höher (12±2 µg/g bis 15±2µg/g) als in der Ostsee (9±2µg/g bis 10µg/g).

Die in Chile genommenen Muschelproben (*Perumytilus purpuratus*) weisen ähnliche Totalarsengehalte wie die deutsche *Mytilus edulis*

auf. Die Isla Lagarto-Muscheln ($10.8 \pm 0.3 \mu\text{g/g}$ Arsen) liegen im Schwankungsbereich der Ostsee. Die von Caleta El Cobre ($15 \pm 3 \mu\text{g/g}$ Arsen) stimmen mit den Konzentrationen der Muscheln aus der Nordsee überein.

Ein Vergleich mit den Ost- und Nordseeproben ist auch hier, trotz gleicher Familie der Muscheln, wegen der geringen Anzahl der Proben nur begrenzt möglich.

Ein Vergleich der erhaltenen Ergebnisse mit früheren Daten der gleichen Probenart am selben Ort, ist in Abb.43 zusammengefaßt.

Die Arsengehalte aller gemessenen Proben liegen in einem engen Schwankungsbereich. Eine Trendberechnung mit den Dezemberwerten bestätigt eine unerhebliche Steigerung der Arsenkonzentration von etwa $1 \mu\text{g/g}$ in sieben Jahren. Die Berechnung eines Trends mit den Jahresmittelwerten ist in diesem Fall nicht möglich, da die Proben nicht alle in den gleichen Monaten genommen wurden. Alles in allem ist in Nordstrand keine bedeutende Änderung der Arsenkonzentration in Algen innerhalb von 5 Jahren Probenahme zu erkennen.

8.4.2 Arsenspeziation in Algen, Muscheln und Wasser aus Nordstrand

Die Arsenspeziation sollte nur die Durchführbarkeit der chromatographischen Trennung und der Messung niedrigster Arsenkonzentrationen in den Fraktionen mit Hilfe der neu entwickelten extrem nachweisstarken Variante der HG-A-AAS beweisen.

Die Chromatogramme der Algenextrakte -ca 54 gemessene Fraktionen- enthalten generell vier deutliche Peaks, die gut voneinander getrennt sind.

Die genaue Position der einzelnen Peaks variiert normalerweise mit der Benutzung der Säule. Die Säule ist nur relativ kurze Zeit wirksam, verliert dann ihre Austauschkapazität und läßt die Peaks mit der Front zusammenrücken. Da es sich aber immer um die selbe Probenart handelt, sind die einzelnen Peaks durch ihre relative Position trotzdem gut identifizierbar.

Beim Vergleich von Chromatogramm 9 (Algen, August 1988) mit dem einer künstlichen Arsenmischung in Abbildung 40 (siehe Kap. 7.3.6) lassen sich sofort einige Arsenverbindungen erkennen.

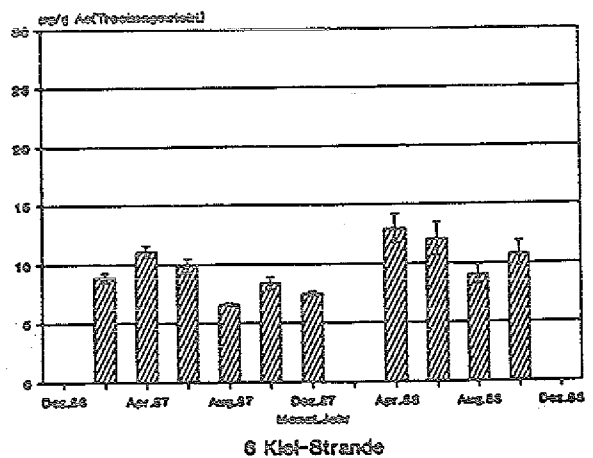
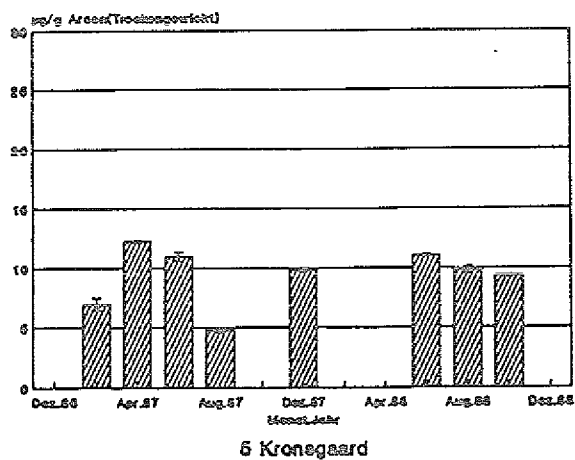
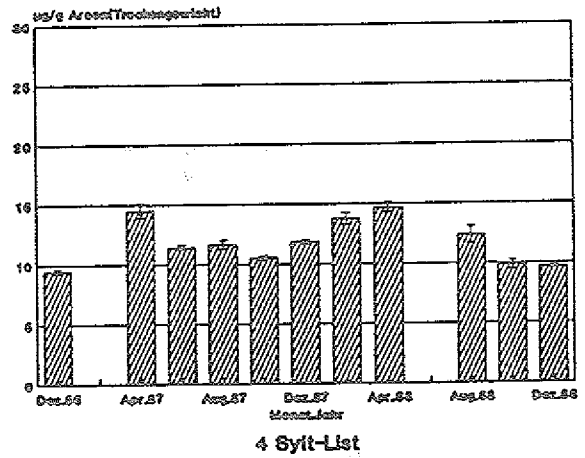
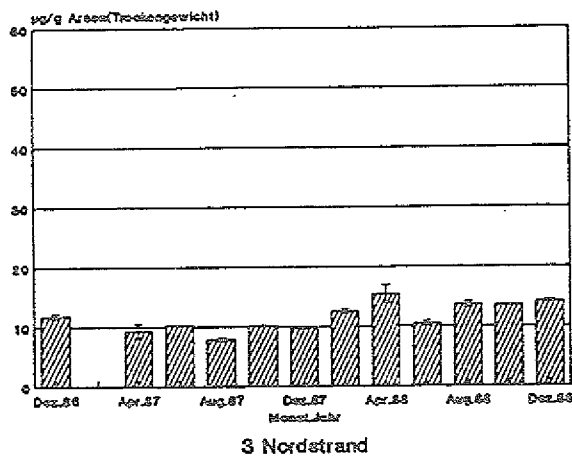
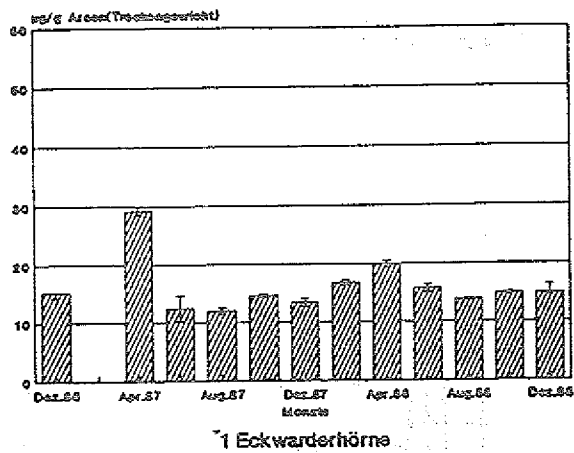


Abb. 42: Vergleichende Betrachtung der Totalarsengehalte in Muscheln über die 2 Jahre Probenahme an den Probenahmestellen: 1 Eckwarderhörne; 3 Nordstrand; 4 Sylt-List; 5 Kronsgaard; 6 Kiel-Strande

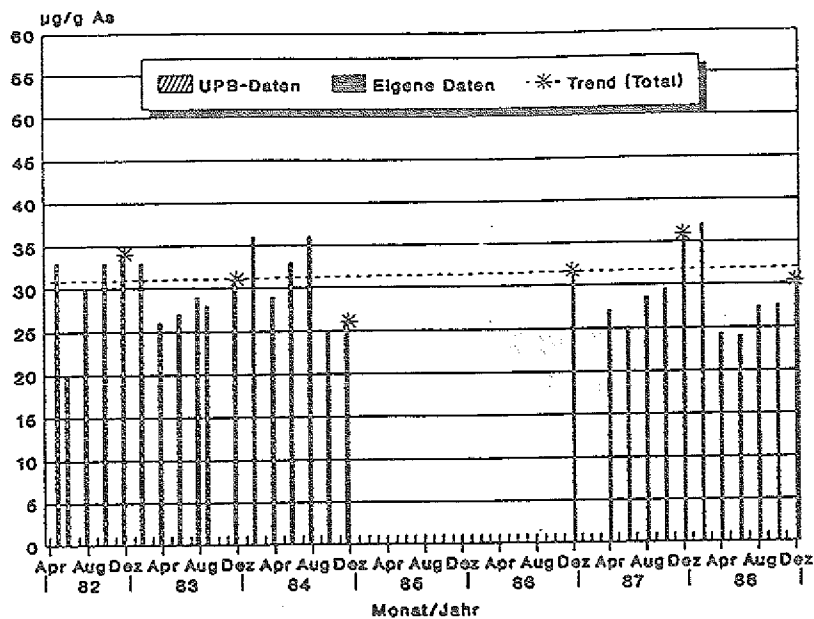
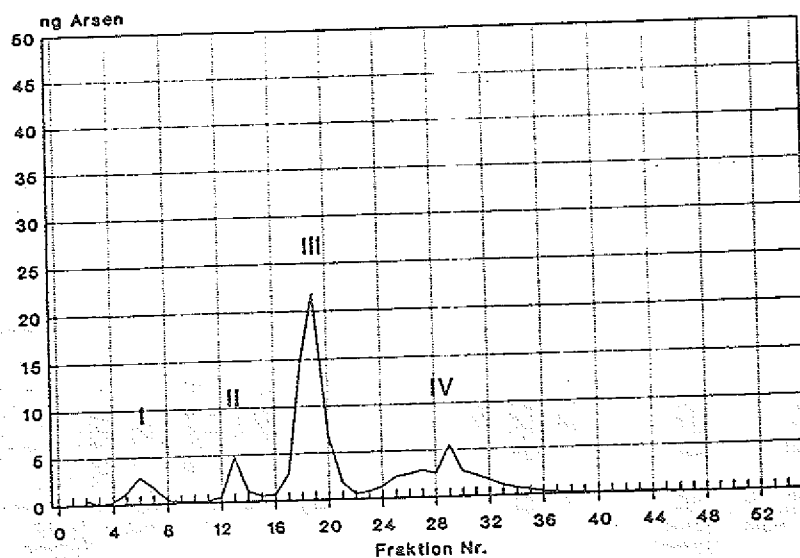


Abb. 43: Zusammenfassende Darstellung der Arsengehalte in Algen aus Nordstrand über 5 Jahre Probenahme. (Daten von 1982 bis 1984 aus Stoeppler et al, 1986)



Chromatogramm 9: Extrakt aus Algen von Nordstrand. Probenahme August 1988. Identifikation: I Arsenobetain, II Unbekannt; III MMAA; IV Arsen(V).

Peak I (zwischen Fraktion 4 und 8) ist theoretisch ein Gemisch aus As(III), Arsenobetain und Arsenocholin falls die Verbindungen in den untersuchten Muscheln vorkommen würden. Mit Hilfe der HG-A-AAS wurde aber in den entsprechenden Fraktionen kein Arsen(III) gefunden. Nachdem das Arsenocholin eine Zwischenphase in der Umwandlung von Arsenozuckern, über Dimethyloxarsenylethanol zu Arsenobetain ist (Edmonds et al., 1982; Norin et al., 1983), kommt es nur in äußerst geringen Konzentrationen vor (Shiomi et al., 1983; Cannon et al., 1981; Edmond und Francesconi, 1981; Luten et al., 1982). Andererseits wurde festgestellt, daß Arsenobetain normalerweise in marinen Organismen mit höherer Konzentration vorkommt als die anderen Arsenverbindungen.

Deshalb kann man diesen Peak I in erster Näherung dem Arsenobetain zuordnen.

Peak II in Chromatogramm 9 (Fraktionen 11 bis 15) erscheint direkt nachdem der DMAA-Peak im Chromatogramm 31 wieder die Grundlinie erreicht hat. Dies beweist, daß Peak II kein DMAA ist, sondern eine andere Arsenverbindung, die nicht mit den chromatographierten Standards vergleichbar ist. Das bestätigt Chromatogramm 6 (Algen Februar 1988), in dem die Probe einmal mit DMAA und dann mit MMAA chromatographiert wurde. Daraus ist ersichtlich, daß der DMAA-Peak genau zwischen Arsenobetain und der unbekannten Verbindung vorkommt. Diese Arsenverbindung erscheint in unterschiedlicher Konzentration in sämtlichen Algenproben.

Solche unbekannten Peaks sind auch früher gefunden worden. Morita et al (1981) z.B. ermittelten eine chromatographische Arsentrennung von Hiziki-Extrakt (*Hizikia jusiforme*) mit einem starken Anionenaustauscher. Von den 5 Peaks konnten sie nur 3 nach den chromatographierten Standards identifizieren. Die Position des einen unbekannten Peaks stimmt mit dem in dieser Arbeit gefundenen überein. Sein zweiter unbekannter Peak aber erscheint an der Stelle von MMAA.

Peak III (Chromatogramm 9; Fraktionen 16 bis 22) stimmt mit dem MMAA-Peak der Standard-Chromatographie überein und ist damit auch identifiziert.

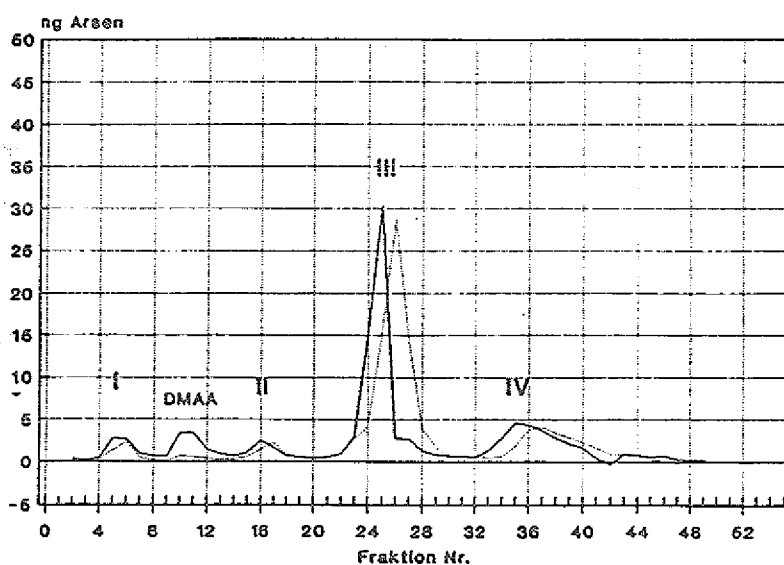
Der Peak von Arsen(V) bei Abbildung 31 erscheint in den Probenchromatogrammen (IV) oft flach oder mit "Tailing", aber dennoch ist die Identifikation problemlos möglich.

Die identifizierten Peaks jedes Chromatogramms wurden getrennt ausgewertet und gemeinsam mit den Werten aller anderen Proben und den Totalarsenwerten als Vergleich graphisch dargestellt (siehe Abb. 44). Tabelle XVIII (im Kap 11.2) enthält die einzelnen Werte und ihre Standardabweichungen.

Bezogen auf die Gesamtmittelwerte der Algen aus Nordstrand, bestehen ca 10% aus Arsenobetain, 57% aus MMAA, 24% aus Arsen(V). Der Rest von 9% gehört zu den unbekannten organischen Arsenverbindungen. Das ergibt 76% organische Arsenverbindungen.

Aus den Chromatogrammen der chilenischen Proben (Chromatogramme 12 und 14) ist ersichtlich, daß sie kein Arsen(V) enthalten. Das konnte durch die Chromatographie einer chilenischen Probe mit Zusatz von Arsen(V) zusammen mit der Identifikation der anderen Peaks bestätigt werden (Chromatogramm 15).

Aufgrund der Form des unbekannten Peaks(II) besteht er sehr wahrscheinlich aus einer Mischung von mindestens zwei Komponenten.



Chromatogramm 6: Extrakte aus Algen von Nordstrand, wechselweise mit MMAA und DMAA injiziert. Probenahme Februar 1988. Peakidentifikation: I, Arsenobetain; II, unbekannt; III, MMAA; IV, As(V).

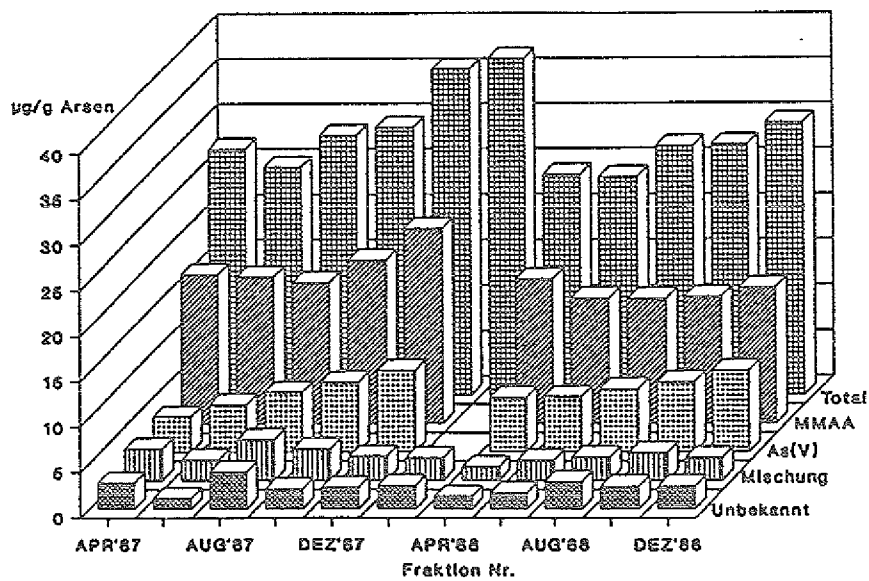
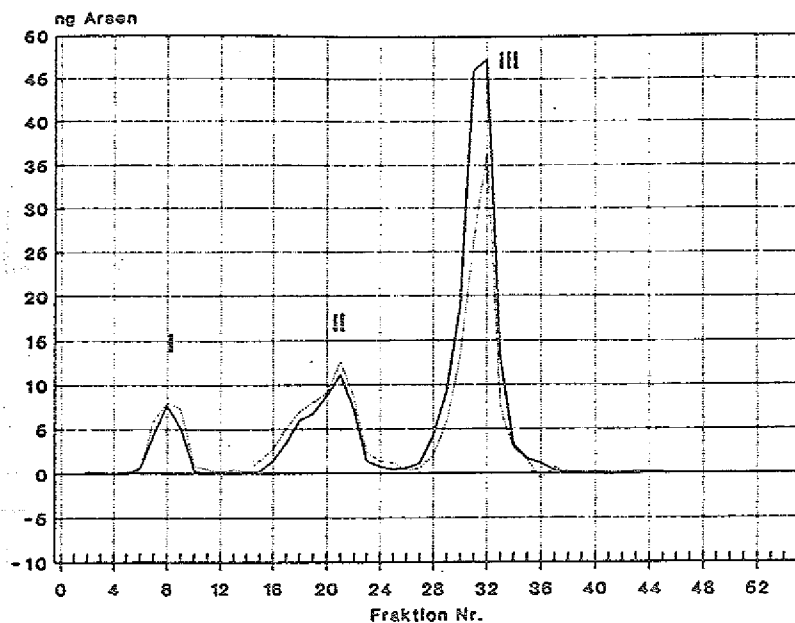
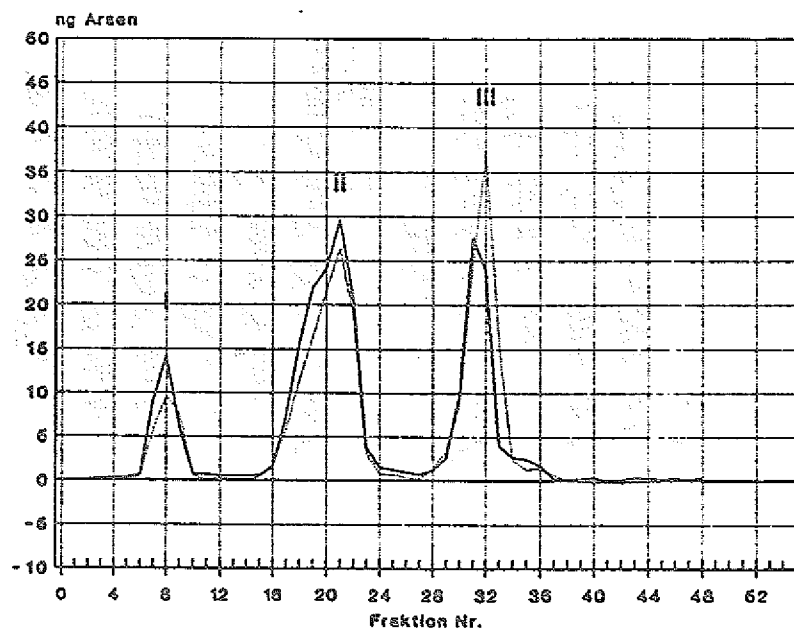


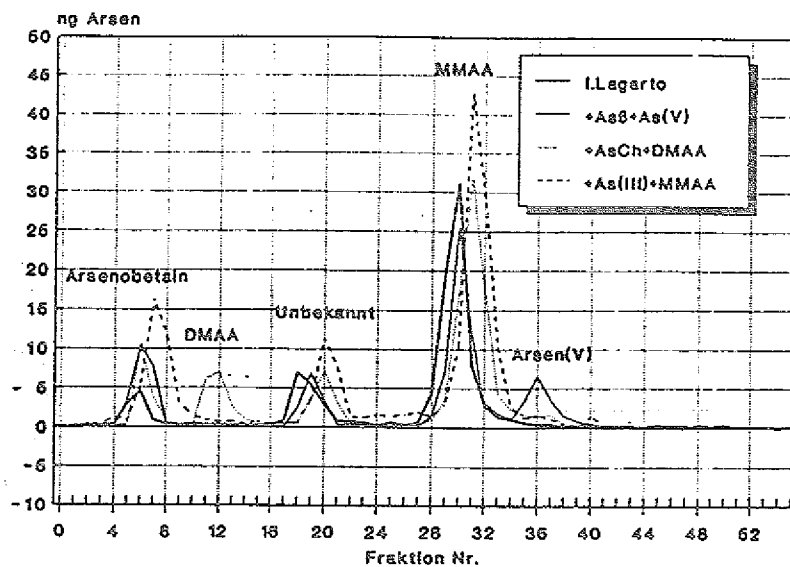
Abb. 44: Darstellung der Konzentration der untersuchten Arsenverbindungen in Algen über die gesamte Probenahmezeit in Nordstrand.



Chromatogramm 12: Chromatographierte Extrakte aus Algen von Caleta el Cobre(RCh). Probenahme Dezember 1987.
Peakidentifikation: I, Arsenobetain; II, Unbekannten(Mischung); III, MMAA.



Chromatogramm 14: Extrakte aus Algen von Isla Lagarto(RCh). Probenahme Dezember 1987. Peakidentifikation: I, Arsenobetain; II, unbekannt (Mischung); III, MMAA.

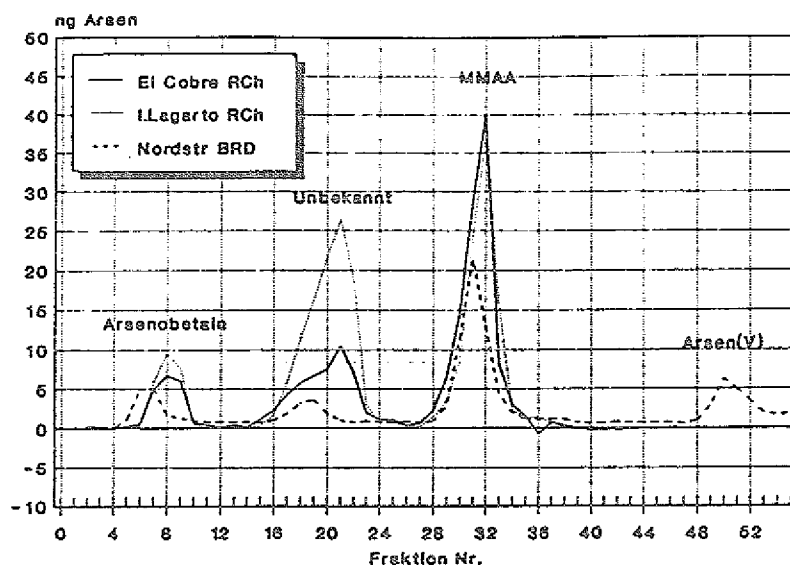


Chromatogramm 15: Extrakte aus Algen von Caleta el Cobre, wechselweise mit verschiedenen Arsenverbindungen injiziert. Peakidentifikation: 1, Arsenobetain; 2, unbekannt; 3, MMAA; 4, As(V), 5, DMAA

Im Vergleich haben die chilenischen Algen gegenüber den deutschen eine viel höhere Konzentration an MMAA und der unbekannten Verbindung. Auch die chilenischen Proben haben untereinander große Unterschiede in der Konzentration dieser unbekannten Verbindung (Isla Lagarto 50%; El Cobre 26%) und des MMAA (Isla Lagarto 37%; El Cobre 59%). Beim Arsenobetain sind die Gehalte in *Lessonia nigrescens* gegenüber *Fucus vesiculosus* nur wenig höher (Isla Lagarto 11%; El Cobre 13%).

Im Chromatogramm 13 sind alle 3 Algenproben (Nordstrand, I.Lagarto und El Cobre) überlappt dargestellt. Daraus ist ersichtlich, welche Verbindungen je Probe konzentrierter sind.

Bei den Muschelproben sehen die Chromatogramme ganz anders aus. Nur der erste Peak (I=Arsenobetain) erscheint scharf und höher als bei den Algen (siehe Chromatogramm 16). Was danach kommt, ist ein sehr niedriges Plateau, bei dem nur mit Schwierigkeiten 5 weitere Peaks im Vergleich mit der Abbildung 31 zu erkennen sind. Der letzte davon (Peak VI) entspricht mit seiner Retentionszeit Arsen(V).

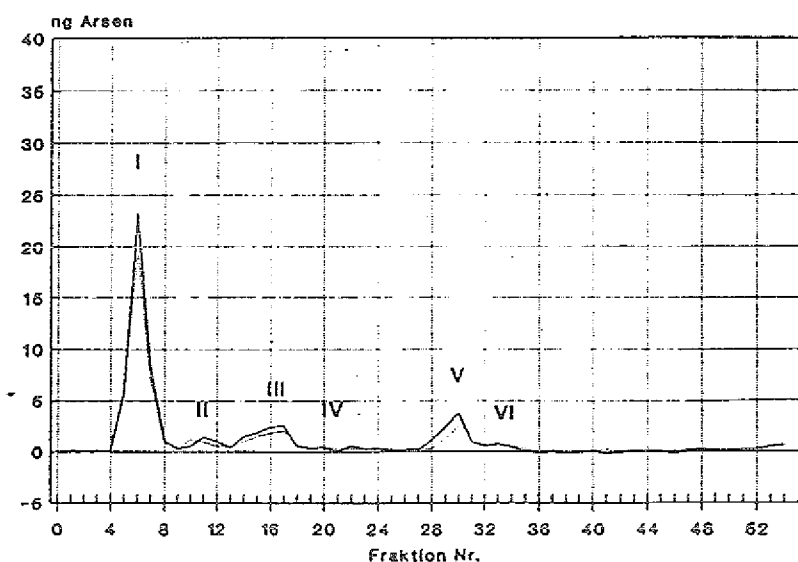


Chromatogramm 13: Vergleich der Arsenspeziation bei Algen von Nordstrand, I.Lagarto und El Cobre.

Der Peak VI (Unbekannt 2) kann, aufgrund seiner niedrigen Konzentration und der großen Schwankung, auch als "Tailing" von Peak V (Arsen (V)) angesehen werden. Eine Zuordnung als eigenständiger Peak ist nicht mit Sicherheit möglich.

Angaben über spezifische Arsenmessungen in Muscheln mit chromatographischer Trennung der Verbindung liegen in der Literatur nicht vor.

Die in den Fraktionen gemessenen Mengen Arsen, die zu diesen niedrigen Peaks führten, sind normalerweise nahe an der Bestimmungsgrenze der Methode. Deswegen sind die zugehörigen Standard-Abweichungen oft fast so hoch wie der Wert selbst (siehe Tabelle XVIII im Kap 11.2). Für eine graphische Darstellung lohnen sich diese Werte nur, wenn man eine Größenordnung der Menge jeder Verbindung ermitteln möchte, die diese Algen über die Probenahmezeit enthalten. Nur in diesem Sinne sind in Abb. 45 alle Verbindungskonzentrationen je nach Probe graphisch zusammengefaßt.



Chromatogramm 16: Extrakte aus Muscheln von Nordstrand(BRD) Probenahme April 1987. Peakidentifikation: I, Arsenobetain; II, DMAA; III, unbekannt 1; IV, MMAA; V, Arsen(V); VI, unbekannt 2.

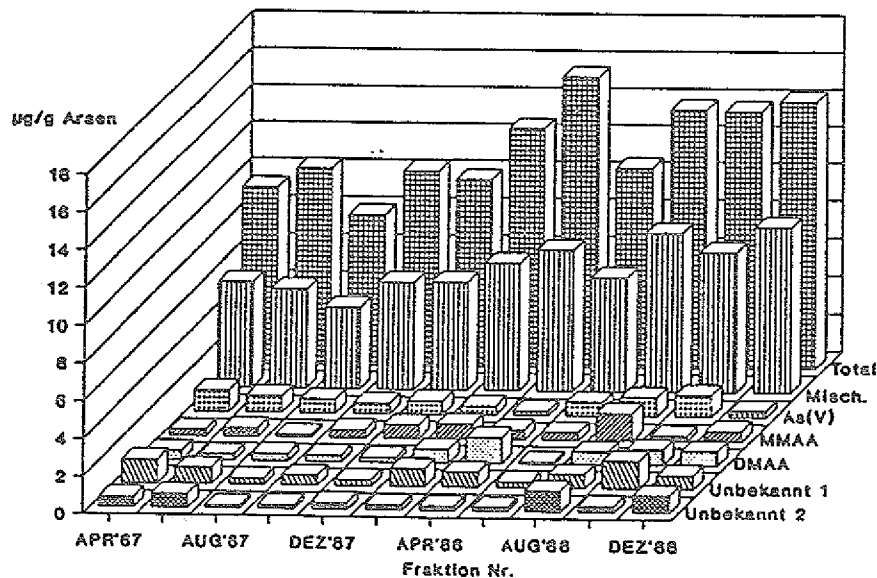
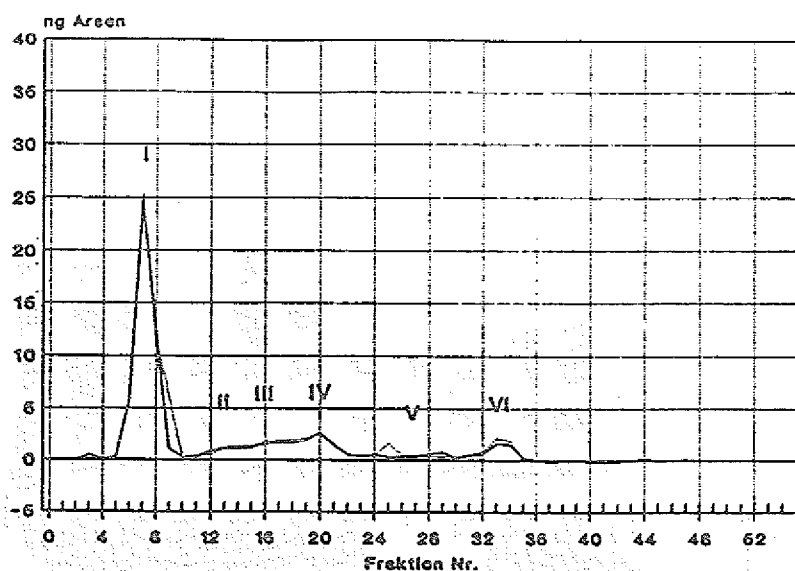


Abb. 45: Darstellung der Konzentration der untersuchten Arsenverbindungen in Muscheln, über die gesamte Probenahmezeit in Nordstrand.

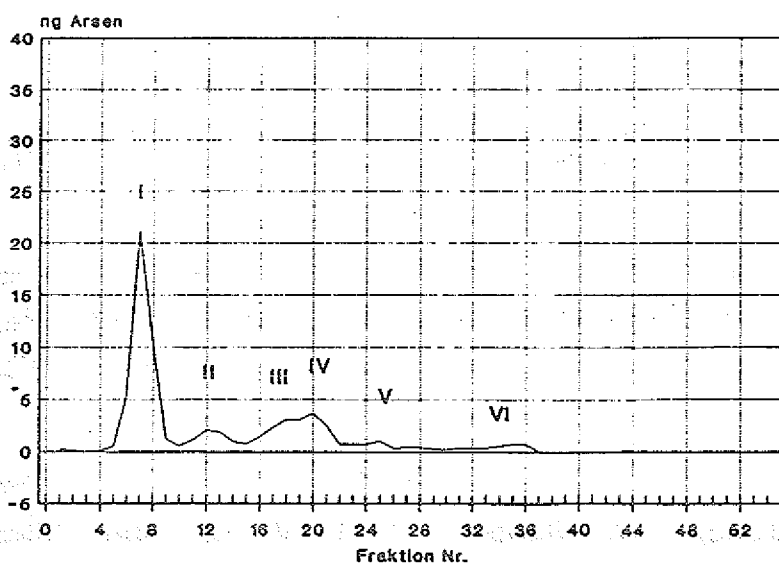
Auf jeden Fall ist es möglich, aus diesen chromatographischen Ergebnissen die Anteile organischer Arsenverbindungen (89,6 %) entweder je Probe oder als Mittelwerte (89.6%) zu berechnen.

Die Gehalte der einzelnen Arsenverbindungen der chilenischen Proben gleichen in diesem Fall denen der deutschen (siehe Chromatogramm 29).

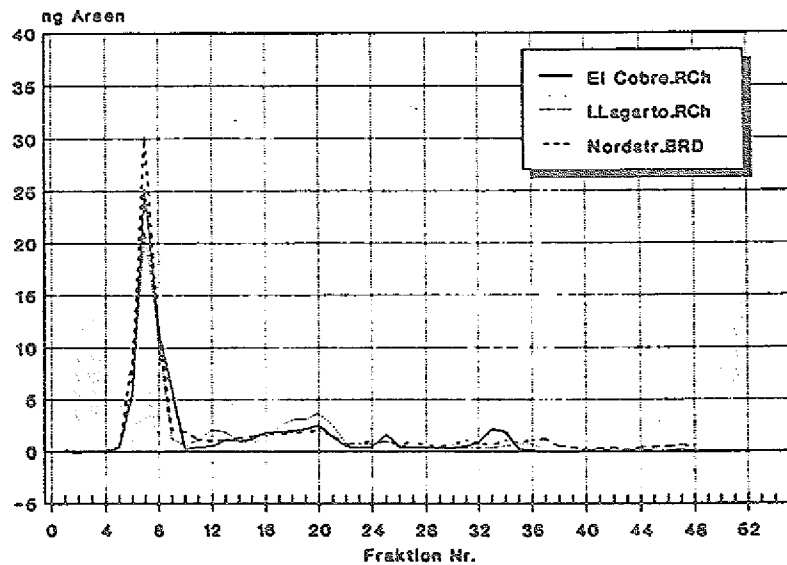
Auf den Gesamtgehalt entfallen jeweils ca 52% Arsenobetain und ca. 18% MMAA. Auch hier enthalten die chilenischen Muscheln wesentlich weniger Arsen(V) und mehr von der unbekannten Substanz (siehe Chromatogramme 27 und 28; Peak IV). Daraus ergibt sich ein höherer Gesamtanteil an organisch gebundenem Arsen (I.Lagarto 91.2% und El Cobre 93.1%) für die chilenischen Proben.



Chromatogramm 27: Extrakte aus Muscheln von Caleta elCobre(RCh).
 Probenahme Dezember 1987. Peakidentifikation:
 I, Arsenobetain; II, DMAA; III, Unbekannt;
 IV, MMAA; V, Arsen(V) und VI, unbekant



Chromatogramm 28: Extrakte aus Muscheln von Isla Lagarto(RCh).
 Probenahme Dezember 1987. Peakidentifikation:
 I, Arsenobetain; II, DMAA; III, Unbekannt;
 IV, MMAA; V, Arsen(V) und VI, unbekant



Chromatogramm 29: Vergleich der Arsenspeziation bei Muscheln aus Nordstrand, I.Lagarto und El Cobre

Um eine Beziehung zwischen den verschiedenen Arsenverbindungen in Algen und Muscheln und ihrer Umgebung herzustellen, wurden auch die entsprechenden Wasserproben auf Arsen(III) und Totalarsen untersucht (siehe Abb 46 und Kap. 11.2; Tabelle XIII). Leider ermöglichten die Ergebnisse keine Korrelation, weder mit Algen noch mit Muscheln. Stoeppler et al fanden 1986 nach 2 Jahren Probenahme am selben Ort auch keine Korrelation. Ihre Meßwerte für Arsengehalte in Wasserproben aus Nordstrand zwischen 1982 und 1984 sind in Abb. 47 zusammen mit den für 1986 bis 1988 gefundenen Werten graphisch dargestellt.

Um einen aussagekräftigen Trend über die 5 Jahre Probennahme berechnen zu können, benötigt man Ergebnisse vom gleichen Monat über alle Jahre. Das ist hier nicht der Fall. Für insgesamt 7 Jahre sind höchstens 5 Werte gemessen (in den Dezember-Monaten) aber einer davon (1982) ist auch nicht für die ganze Periode repräsentativ.

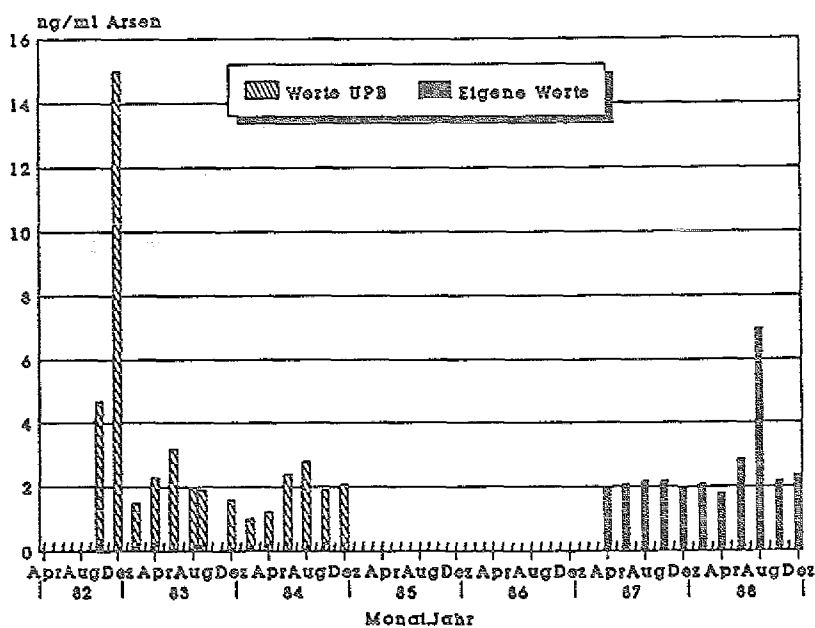


Abb. 46: Zusammenfassende Darstellung der Arsengehalte in Wasser aus Nordstrand über 5 Jahre Probenahme. (Daten vom 1982 bis 1984 aus Stoeppler et al., 1986)

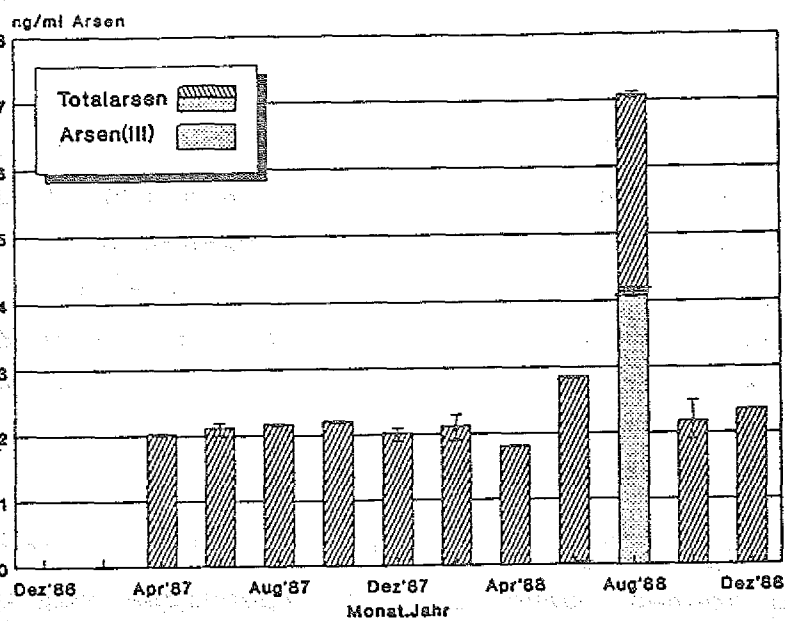


Abb. 47: Gesamtarsen und Arsen(III) in Wasserproben aus Nordstrand.

Zum einen fehlt für einen Zeitraum von 2 Jahren die Probenahme und zum anderen ist in den vorhandenen Jahren nicht immer in den gleichen Monaten gesammelt worden. Selbst der Monat Dezember (vgl. Abb. 46) ist nicht repräsentativ, da in 1982 ein unerklärlich hoher Gehalt auftrat, der den Trend verfälschen würde.

Mit einem Totalarsen-Jahresmittelwert von 3 ± 2 ng/ml ist der Schwankungsbereich von April 1987 bis April 1988 (2.21 ng/ml-1.86 ng/ml) im Vergleich mit der von Algen (37.1 ng/ml-24.3 ng/ml) oder Muscheln (15.5 ng/ml-8 ng/ml) im selben Zeitraum unerheblich. Auch der große Sprung im August 1988 (oder Dezember 1982) spiegelt sich in den Algen- bzw Muschelproben nicht wieder.

Der Arsen(III)-Anteil des Wassers wird nicht chemisch, sondern biologisch (z.B. durch Phytoplankton) erzeugt (Sanders, 1978), da die oxidierenden Bedingungen der marinen Wasseroberfläche eine mögliche Reduktion von Arsen(V) nicht erlauben. Die Nordsee hatte ab Juni 1988 eine katastrophale Algenblüte. Diese Mikroalgen sind fähig, Arsen(V) zu reduzieren, was eine Erklärung für die hohe Arsen(III)-konzentration im Wasser sein dürfte. Nicht erwartet war, daß außer für diese Werte von Juni und August 1988 gar kein Arsen(III) zu finden ist. Frühere Daten weisen diesen Arsenanteil nicht auf. Eine weitere Erklärung für den fehlenden Arsen(III)-Anteil könnte in der Lagerung der Probe liegen: Es ist nicht ausgeschlossen, daß trotz der tiefen Temperaturen eine Umwandlung zu Arsen(V) stattgefunden hat.

Eine Untersuchung des organischen Arsenanteils war trotz der neuen Meßordnung wegen der extrem niedrigen Gehalte nicht möglich. Beim Chromatographieren werden die Arsenverbindungen oft so verdünnt, daß sie nicht mehr mit der AAS bestimmbar sind.

9. Zusammenfassung

Die unter 9.1 - 9.6 beschriebenen Ergebnisse dieser Arbeit beziehen sich im wesentlichen auf die Entwicklung einer besonders nachweisstarken Hydrid-AAS-Methode für Arsengehalte im ng- und pg-Bereich, einem Extraktionsverfahren für verschiedene Arsenverbindungen aus marinen Organismen, der Optimierung einer HPLC-Trennmethode für diese Verbindungen, der Synthese von Arsenobetain und Arsenocholin und der Anwendung des Gesamtverfahrens auf Algen-, Muschel- und Wasserproben verschiedener Herkunft.

9.1 Entwicklung einer empfindlichen HG-AAS Methode und Optimierung der Meßparameter

Das Hydrid-System eines Atomabsorptionsgeräts wurde so weiterentwickelt, daß die Nachweisgrenze (310 pg) etwa um das 6-fache verbessert wurde (<50 pg absolut).

Folgende Arbeitsparameter wurden am HG-AAS Gerät optimiert bzw. neu entwickelt:

a) Wasserabscheider: Da bei der Arsinentwicklung viel Wasserdampf erzeugt wird, wurde eine Wasserfalle aus Quarz entwickelt, mit der die Möglichkeit einer Störung durch das Wasser während der Messung auf ein Minimum reduziert wird.

Um eine Verstopfung des Abscheiders mit dem gebildeten Eis zu vermeiden und damit den Transport der Arsine zu ermöglichen wurden verschiedene Formen ausprobiert. Dabei wurde festgestellt, daß die beste Effektivität mit einer ungefüllten Falle erreicht wird.

Mit diesem Wasserabscheider können bis zu 80 Messungen störungsfrei durchgeführt werden.

b) Arsinfalle: Die Entwicklung begann mit einem einfachen, mit einem Heizdraht umwickelten Quarz U-Rohr, das während der Reaktion in flüssigen Stickstoff eintaucht. Ziel war eine Arsinfalle, die Abkühlung und Aufheizung eines Quarzrohres automatisch ermöglicht: Ihre endgültigen Form ist ein Quarzrohr (150 mm lang; 8 mm Innendurchmesser) mit einem Heizdraht (4.6 Ω /m; 0.55 mm ϕ) umwickelt, das mit einem

Pyrexgehäuse ummantelt ist, und die automatische Abkühlung des Rohres mit flüssigem Stickstoff ermöglicht (siehe Abb. 18).

Für optimales Nachweisvermögen wurden verschiedene Füllungen getestet: Glaskugeln, Glaswolle, Chromosorb W und silanisierte Quarzwolle. Probleme traten auf als das Wasser, das trotz der Wasserfalle in die Arsinfalle gelangte, den Durchfluß der Gase verhinderte. Als beste Füllung erwies sich wegen besonders guter Absorption und Reproduzierbarkeit der Messung silanisierte Quarzwolle.

c) Anreicherungszeit: Die günstigste Anreicherungszeit betrug 20 s, gemessen nach Beendigung der Zugabe von Natriumborhydrid. Nach dieser Zeit ist die Bildung des Arsins quantitativ und es wird ein maximales Signal des zu analysierenden Arsens erreicht. Da Untersuchungen ohne Wasserstoffzusatz durchgeführt wurden, konnte darüber hinaus bestätigt werden, daß in dieser Zeit immer noch Wasserstoff aus der Reaktion für die Atomisierung vorhanden war.

d) Additionszeit des Reduktionsmittels: Das Natriumborhydrid weist einen herstellungsbedingten Arsenblindwert von 1 bis 30 ng/g auf und ist damit für den größten Anteil des Geräteblindwertes verantwortlich. Aus diesem Grund wurde die notwendige Menge Reduktionsmittel gesucht. Die Ergebnisse zeigten, daß eine Zugabe von 3 ml 3%igem Natriumborhydrid für die maximal meßbare Menge Arsen ausreicht. Das heißt 13 Sekunden Additionszeit reichen vollständig aus, das gesamte im Probenaliquot vorliegende Arsen in Arsin umzuwandeln.

e) Einfluß des Trägergasstroms: Die Empfindlichkeit der Messung hängt auch vom Gasdurchfluß ab. Der höchste Meßwert für 5 ng Arsen wurde bei 538 ml/min festgestellt. Schon bei unwesentlicher Änderung des Durchflusses verminderte sich die Empfindlichkeit der Messung um bis zu 33%.

f) Einfluß eines zusätzlichen Wasserstoffstromes: Wasserstoff dient bei der Atomisierung der Arsine in der beheizten Quarzküvette als Katalysator. Da während der Anreicherungszeit Wasserstoff die abgekühlte Arsinfalle

durchfließen kann, wurde angenommen, daß während der Atomisierung kein Wasserstoff mehr vorhanden sei. Aus den Untersuchungsergebnissen ergab sich, daß das nicht der Fall ist und der Einfluß dieses Zusatzgases im Trägergasstrom nur gering ist (Verbesserung nur 2 % ab 20 ml/min).

g) Temperatur der Arsinfalle während des Prozesses: Um eine Beziehung zwischen der Aufheiztemperatur in der Arsinfalle und der Empfindlichkeit der Messung zu erkennen, wurden die Temperaturen der Falle während und nach dem Aufheizen gemessen. Obwohl Schwierigkeiten bei den Messungen auftraten, wurde in einem Bereich von -10 bis 140°C praktisch kein Unterschied gefunden. Der Peak tritt jedoch mit ansteigender Aufheiztemperatur immer rascher auf und deswegen wurde die höchste Temperatur für das Verfahren gewählt (140°C).

Die Methode wurde weiter für eine bessere Reproduzierbarkeit der Ergebnisse automatisiert. Eine zusätzliche, selbst entwickelte Steuerung erweitert die Funktionen des MHS-20. Diese Steuereinheit erfüllt folgende Forderungen: Beim Starten wird die Falle mit einer ausreichenden Menge Stickstoff nachgefüllt, um sie bis zum Aufheizvorgang kalt zu halten. Nach der Reaktionszeit bestimmt die Steuereinheit die Zeit für die Anreicherung (20 sek). Nach einer gewählten Zeit (10 s) wird der flüssige Stickstoff abgelassen; kurz darauf wird mit dem Aufheizvorgang begonnen. Nach der Bestimmung der freigesetzte Arsine und einer bestimmten Spülzeit wird die Falle sofort wieder mit flüssigem Stickstoff aufgefüllt. Die automatischen Arbeitsbedingungen wurden ermittelt und in Tabelle VI zusammengefaßt.

9.2 Funktionstest der entwickelten Apparatur

Elf zertifizierte biologische Referenzmaterialien wurden mit der entwickelten Methode und den erarbeiteten Parametern auf Arsen untersucht. Die Ergebnisse zeigten eine sehr gute Übereinstimmung auch bei sehr geringen Arsenkonzentrationen (siehe Tab. VII). Dies beweist, daß die Richtigkeit der

Hydridmethode durch die automatische Steuerung nicht beeinträchtigt wird.

Die aus der 3fachen Standardabweichung des Blindwertes berechnete Nachweisgrenze liegt bei 60 pg Arsen. Das bedeutet eine 5fache Verbesserung der Empfindlichkeit gegenüber der normalen HG-AAS. Automatisiert, und damit gleichmäßiger in der Handhabung, erreicht man eine Nachweisgrenze von <50 pg Arsen.

9.3 Optimierung des Extraktionsverfahrens

Als erster Schritt zur Bestimmung der Arsenspezies in den gesammelten Algen und Muscheln mußte ein Extraktionsverfahren entwickelt werden, das nach Möglichkeit sämtliche Arsenverbindungen erfaßt und dessen Extraktor am besten mit dem für die chromatographische Trennung verwendeten Laufmittel kompatibel ist. Wasser, Methanol, HCl 30%, Phosphatpuffer und Ether wurden als Arsenextraktoren überprüft.

Extraktionsversuche unterschiedlicher Art ergaben, daß ein Ultraschallbad zum Mischen und 3 ml eines Gemisches aus 0.05M Phosphatpuffer und Methanol (1:1) als Extraktor am günstigsten waren. Das Methanol wurde nur zur Erleichterung der Filtration des Extrakts benötigt.

Eine Extraktionszeit von 20 min mit 60 % Ausbeute war ausreichend für die anschließende Analyse der einzelnen Arsenverbindungen.

Dem Ultraschallbad wurde wegen seiner um 10% größeren Extraktionsrate für Muscheln (nahezu gleich für Algen) der Vorzug gegeben.

Das zu analysierende Material wurde als gefriergetrocknetes Homogenat eingesetzt, da es so einfacher zu handhaben war.

Eine Mehrfachextraktion kam schon wegen des erheblichen Zeitaufwands für ein Routineverfahren nicht in Frage.

9.4 Optimierung der HPLC-Trennmethode

Die Hochleistungs-Flüssigchromatographie (HPLC) wurde als Trennmethode ausgewählt, um die verschiedenen Arsenverbindungen, die nach der Extraktion der biologischen Proben im Extrakt bleiben, voneinander zu trennen. Dafür ist die 300 mm lange Säule NUCLEOSIL 10SB (starker Anionenaustauscher) am besten geeignet. Damit werden mindestens MMAA, DMAA und Arsen(V) gut getrennt. Arsenobetain, Arsenocholin und Arsen(III) erscheinen in zwei nicht vollständig getrennten Peaks, wobei Arsenocholin und Arsenobetain zum selben Peak gehören. Optimiert wurde mit Arsen-Standardlösungen.

Die Art des Laufmittels war durch die Optimierung des Extraktionsverfahrens vorgegeben.

Optimale Konzentration, Flußrate und pH-Wert wurden experimentell ermittelt. Bei einem pH-Wert von 5 und einer Konzentration von 0.025M als Arbeitsparameter erreicht man die beste Trennung. Je niedriger die Phosphatkonzentration wird, desto größer wird die Retention von MMAA, DMAA und As(V).

Für die Einstellung der Flußrate (1.5 ml/min) wurde ein Druck von maximal 100 bar gewählt.

Da die Proben nach der Extraktion auch Methanol enthalten, mußte dessen Einfluß als Zusatz zum Laufmittel getestet werden. Die Reaktion der Arsenverbindungen auf den Zusatz ist unterschiedlich. Bei Monomethylarsonsäure und Arsen(V) wird die Retentionszeit erhöht. Bei Dimethylarsinsäure und Arsenobetain wurde ein gegenseitiger Einfluß beobachtet. Mit steigender Methanolkonzentration im Laufmittel (0 bis 5%) vereinigen sich diese Verbindungen zu einer einzigen Front. Ein Zusatz von Methanol zum Laufmittel ist daher nicht möglich.

Die endgültige Identifizierung der Arsenverbindungen im Chromatogramm unter optimalen Bedingungen erfolgte durch Chromatographieren von Gemischen der Arsenverbindungen mit bekannten aber stark unterschiedlichen Konzentrationen.

9.5 Synthese von Arsenobetain und Arsenocholin

Beide organische Arsenverbindungen wurden synthetisiert, um sie später als Standard zur Identifizierung und Analyse der Arsenocholin- bzw. Arsenobetainpeaks der Algen- und Muschelproben zu verwenden. Sie wurden durch Schmelzpunkt, Elementaranalyse, Massenspektren und ^1H -NMR identifiziert.

9.6 Testanalyse des ganzen Systems.

Für diese Untersuchungen wurden Algen-, Muschel-, und Meerwasserproben systematisch, zwei Jahre lang, an vier Stellen der Nordsee und zwei der Ostsee gesammelt, bearbeitet, tiefgefroren ($<-150^\circ\text{C}$) und bis zur Analyse gelagert.

Die Totalarsenbestimmung wurde -in Algen und Muscheln- zur Überprüfung der Leistungsfähigkeit des entwickelten Anreicherungssystems für die Arsenanalyse in biologischen Proben durchgeführt. Es wurde generell ein von der Jahreszeit abhängiger Zyklus der Arsengehalte in Algen und Muscheln festgestellt. Die Jahresmittelwerte der Totalarsenkonzentrationen für Algen aus der gesamten Probenahmezeit sind im Nordseeraum höher als in der Ostsee und schwanken zwischen $28 \pm 5 \mu\text{g/g}$ und $50 \pm 11 \mu\text{g/g}$ für die Nordsee und zwischen $22 \pm 3 \mu\text{g/g}$ und $30 \pm 10 \mu\text{g/g}$ für die Ostsee. Auch die Muscheln der Nordsee enthalten etwas mehr ($12 \pm 2 \mu\text{g/g}$ bis $15 \pm 2 \mu\text{g/g}$) als die gleichen Muscheln in der Ostsee ($9 \pm 2 \mu\text{g/g}$ bis $10 \mu\text{g/g}$).

Zwei in Chile genommene Proben wurden mit den deutschen verglichen. Die Arsengehalte der Algen (*Lessonia nigrescens*; $54 \pm 2 \mu\text{g/g}$ und $46 \pm 4 \mu\text{g/g}$) sind bedeutend höher, als die der deutschen (*Fucus vesiculosus*). Die chilenischen Muschelproben (*Perumytilus purpuratus*) besitzen ähnliche Totalarsengehalte wie *Mytilus edulis* ($10.8 \pm 0.3 \mu\text{g/g}$ und $15 \pm 3 \mu\text{g/g}$).

Die Proben aus Nordstrand wurden zusätzlich auf einzelne Arsenspezies untersucht. In den Algen wurde Arsenobetain(10%), Monomethylarsonsäure(57%), Arsen(V)(24%) und eine unbekannte Arsenverbindung(9%) gefunden. Chilenische Algen enthalten kein Arsen(V) aber wesentlich mehr von der

unbekannten Verbindung (bis zu 50%) und auch Monomethylarsonsäure (bis zu 59%). Arsenobetain ist nur in geringfügig höheren Konzentrationen vorhanden (12%).

Die Chromatogramme von Muscheln sehen ganz anders aus. Nur der erste Peak (Arsenobetain; 52%) erscheint scharf und höher als bei den Algen. Danach kommt ein sehr niedriges Plateau, bei dem nur mit Schwierigkeiten 5 weitere Peaks im Vergleich mit dem Standardchromatogramm zu erkennen sind.

Die einzelnen Gehalte der Arsenverbindungen der chilenischen Muschelproben gleichen in diesem Fall denen der deutschen. Ein Vergleich der Chromatogramme zeigt nur geringe Unterschiede.

Schließlich wurden auch die entsprechenden Wasserproben auf Arsen(III) und Totalarsen direkt beim pH-Wert 1 (für Totalarsen) und pH-Wert 5 (für Arsen(III)) untersucht. Die Untersuchung wurde durchgeführt, um eine mögliche Beziehung zwischen den spezifischen Arsenverbindungen in Algen und Muscheln und ihrer Umgebung festzustellen. Eine Korrelation der Ergebnisse war jedoch nicht möglich: Die Arsengehalte im Wasser schwanken im Jahresverlauf nur leicht um ca. 2 ng/ml) und entsprechen nicht den zeitlichen Schwankungen der Arsengehalte in Algen und Muscheln.

the 1937-38 season, the average yield of the wheat was 1.5 bushels per acre, and the average yield of the corn was 1.5 bushels per acre. The total yield of the wheat and corn was 3.0 bushels per acre.

The average yield of the wheat was 1.5 bushels per acre, and the average yield of the corn was 1.5 bushels per acre. The total yield of the wheat and corn was 3.0 bushels per acre. The average yield of the wheat was 1.5 bushels per acre, and the average yield of the corn was 1.5 bushels per acre. The total yield of the wheat and corn was 3.0 bushels per acre.

The average yield of the wheat was 1.5 bushels per acre, and the average yield of the corn was 1.5 bushels per acre. The total yield of the wheat and corn was 3.0 bushels per acre. The average yield of the wheat was 1.5 bushels per acre, and the average yield of the corn was 1.5 bushels per acre. The total yield of the wheat and corn was 3.0 bushels per acre.

The average yield of the wheat was 1.5 bushels per acre, and the average yield of the corn was 1.5 bushels per acre. The total yield of the wheat and corn was 3.0 bushels per acre. The average yield of the wheat was 1.5 bushels per acre, and the average yield of the corn was 1.5 bushels per acre. The total yield of the wheat and corn was 3.0 bushels per acre.

10. Literaturverzeichnis

- Agterdenbos J., Bax D., Anal. Chim. Acta 188 (1986) 127
- Agterdenbos J., Bax D., Fresenius Z. Anal. Chem. 323 (1986) 783-787
- Agterdenbos J., Van Noort J., Peters F., Bax D., Spectrochim. Acta 41(B) (1986) 283
- Agterdenbos J., Van Noort J., Peters F., Bax D., Ter Heege J., Spectrochim. Acta Part B 40 (1985) 501
- Akman S., Genc O., Balkis T., Spectrochim. Acta Part B 37 (1982) 903
- Al Ani M., Dagnall M., West T., Analyst 92 (1967) 597
- Alkemade C., Milatz J. J. Opt. Soc. Am. 45 (1955) 583
- Alt F., Messerschmidt J. und Tölg G. Fresenius Z. Anal. Chem 327 (1987) 233
- Andreae M. in: Arsen: Industr. Biomed. Environ. Perspect. Van Nostrand Reinhold Co. N.Y. 1983
- Andreae M. Manuskript (1983)
- Andreae M., Anal. Chem 49 (1977) 820-823
- Andreae M., Deep Sea Res 25(4) (1978) 391-402
- Apel M., Stoeppler M., International Conference "Heavy Metals in the Environment" Vol.1 (1983) 517.
- Arenas V., Stoeppler M., Bergerhoff G. Fresenius Z. Anal. Chem. 332 (1988) 447-452
- Arenas V., Stoeppler M., Müller H. in 5. Colloquium Atomspektrometrische Spurenanalytik Welz B. (Ed) Bodenseewerk Perkin-Elmer, Überlingen 1989, p. 483-490
- Baker C., Nature 270 (1977) 230-232.
- Basadre M., Alvarez A., Bermejo F., Bollain M. Microchem. J. 23 (1978) 360
- Bax D., Peters F., Van Noort J., Agterdenbos J., Spectrochim. Acta 41(B)3 (1986) 275-282
- Bax D., Van Elteren J., Agterdenbos J., Spectrochim. Acta Part B, 41 (1986) 1007
- Beauchemin D., Bednas M., Berman S., McLaren J., Sin K., Sturgeon R., Anal. Chem. 60 (1988) 2209-2212
- Beer N., Ann. Physik 86 (1852) 78
- Benson A., Nissen P., Dev. Plant Biol 8 (1982) 121
- Bensons A., Summons R., Science 211 (1981) 482-483.
- Boehringer U., Hertel W., Umwelt 1-2 (1987) 21-23
- Boehringer U., Spektrum der Wissenschaft 9 (1988) 15-16
- Bottino N., Cox E., Irgolic K., Maeda S., McShane W., Stockton R., Zingaro R., ACS Symp. Ser. 82 (1978) 116

- Bouguer P., Essai d'Optique sur la gradation de la lumière.
Paris 1729
- Braman R., Johnson D., Foreback C., Ammons J., Bucker J.,
Anal.Chem. 49 (1977) 621-625
- Branch S., Bancroft K., Ebdon L., O'Neil P. Anal.Proc. 26
(1989) 73-75
- Brinckman F., Jewet K., Iverson W., Irgolic K., J.Chromatogr.
(1977) 31-46
- Browner R., Dagnall R., West T., Anal. Chim. Acta 45 (1969)
163
- Bryan, Langston, Hummerstone, Burt in: Biol.Assoc.of the U.K.
March (1985)
- Buchanan W., in: "Toxicity of Arsenic Coumpounds" Elsevier,
Amsterdam 16 (1962)
- Buchet J., Lauwerys R., Roels H., Int.Arch.Occup.Environ.
Health 48 (1981) 71
- Burow M., Stoeppler M in:Trace Element- Anal.Chem.in Med.and
Biol. Brätter P., Schramel P.(Ed) Vol 4 Berlin 1987
- Cambray R., Jefferies D., Topping G., U.K. At.Energy Auth.
Harwell Rep., 30 (1975)
- Cannon J., Edmond J., Francesconi K., Raston C., Sanders J.,
Skelton B., Aust.J.Chem. 34 (1981) 787-798
- Caspers H., in: Pollution in Coastal Waters. A Report of the
German Research Society Boppard:Boldt-Verlag 1975
- Chana B., Smith N., Anal.Chim.Acta 197 (1987) 177
- Chilvers D., Peterson P., "Workshop on Metal Cycling in the
Environment" Canada (1984)
- Chilvers D., Peterson P., in: "Lead, Mercury, Cadmium and
Arsenic in the Environment" Hutchinson T., Meema K.,
Eds. Wiley, New York (1987) 279
- Chu R., Barrows G., Baumgardner P., Anal. Chem. 44 (1972) 1476
- Czobik E., Matousek J. Anal.Chem. 50 (1978) 2-10
- D'Silva A., Rice G., Fassel A., Appl.Spectrosc. 34(1980) 578
- Dagnall R., West T., Appl.Opt. 7 (1968) 1287
- Davies I., Pirie J., Mar.Biol. 57 (1980) 87-93
- Dedina in: Fortschritte der atomabsorptionsspektrometrischen
Spurenanalytik 1. Verlag Chemie (1984) 29
- Dittrich K., Mandry R., Analyst 111 (1986) 277
- Donohue J., The Structure of the Elements, Ed.Wiley 1974 pp436
- Ebdon L.;Hill S.;Walton A.;Wardt R. Analyst 113 (1988) 1159-
1165
- Edmonds J., Francesconi K. Mar.Pollut.Bull. 12 (1981) 92-96
- Edmonds J., Francesconi K., Anal.Chem. 48 (1976) 2019-2020
- Edmonds J., Francesconi K., Cannon J., Raston C., Skelton B.,
White A., Tetrahedron Lett. 18 (1977) 1543

- Edmonds J., Francesconi K., Hansen J., *Experientia* 38 (1982) 643
- Edmonds J., Francesconi K., *J.Appl.Organomet.Chem.* 2 (1988)
- Edmonds J., Francesconi K., *J.Chem.Soc. Perkin Trans I* (1983) 2375
- Edmonds J., Francesconi K., *Nature* 289 (1981) 602
- Edmonds J., Francesconi K., *Sci.Total Environ.* 64 (1987) 317
- Edmonds J.; Francesconi K.; Healy P.; White A., *J.Chem.Soc. Perkin Trans. I* (1982) 2989
- Feldman C., *Anal.Chem.* 51 (1979) 664-669
- Ferguson J., Gavis J., *Water Res.* 6 (1972) 1259-1274
- Fielder R., Dale E., Williams S., HMSO London, *Toxicity Review 16: Inorg Arsenic Comp., Health and Safety Executive, London, 1986.*
- Fishman M., Spencer R., *Anal.Chem.* 49 (1977) 1599-1602
- Fitzgerald L., in "Arsenic, Industrial, Biomedical, Environmental Perspectives" Lederer W., Fensterheim Van Nostrand Reinhold Co. New York 1983
- Förstner U., Müller G., *Schwermetalle in Flüssen und Seen.* Berlin, Springer Verlag 1974
- Förstner U., Wittmann G., *Metal Pollution in the Aquatic Environment* Berlin Springer Verlag 1979
- Francesconi K., Micks P., Stockton R., Irgolic K., *Chemosphere* 14 (1985) 1443-1453
- Freeman H., Uthe J., Fleming R., Odense P., Ackman R., Landry G., Musial C., *Bull. environ. Contam. Toxicol.* 22(1-2) (1979) 224-229
- Fricke F., Robbins W., Caruso J., *J.Assoc.Off.Anal.Chem.* 61(1978) 1118
- Froelich P., Kaul W., Byrd J., Andreae M., Roe K., *Est. Coast. and Shelf Science* 20 (1985) 239-264
- Gastinger E., *Mikrochim Acta* (1972) 526
- George S., *Thalassia Jugoslavica* 16 (1980) 347-365
- Ghoda S., *Bull.Chem.Soc.Jpn.* 18(44) (1975) 1213-1216
- Godden R., Thomerson D., *Analyst* 105 (1980) 1137
- Goetz L., Norin H. Manuscript (1983)
- Goldberg E., Martin J., in: Wong et al. (eds) "Trace Metals in Sea Water" Plenum Press N.Y. 1983 pp.415-426
- Goulden P., Brootesbank P., *Anal. Chem.* 46 (1974) 1431
- Greenwood N., Earnshaw A., "Chemistry of the Elements" Pergamon Press 1983 pp.638
- Hanaoka K., Yamamoto H., Kawashima K., Tagawa S., Kaise T., *J.Appl.Organomet.Chem.* 2 (1988)
- Handbook of Geochemistry, Wedepohl K. (Ed) Springer Verlag Berlin Vol II/3 1978

- Harvey H. in: "The Chemistry and Fertility of the Sea Water"
Cambridge University Press, Cambridge 1955
- Haswell S., O'Neil P., Bancroft K. *Talanta* 32 (1985) 69
- Henry F., Kirch T., Thorpe T., *Anal.Chem.* 51 (1979) 215-218
- Holak W., *Anal.Chem.* 41 (1969) 1712
- Howard A., Arbab Zavar M., *Analyst* 106 (1981) 213-220
- Howe L., EPA- Report No.600/7-77-036 NTIS PB-269 (1977) 652
- Ikeda M., *Anal. Chem. Acta* 167 (1985) 289-297
- Irgolic K. Arsenic in the Environment, in: Xavier A. Ed.
"Frontiers in Bioinorganic Chemistry" VCH Publishers,
Weinheim, FRG. 399 (1986)
- Irgolic K. Arsenic, in: Stoeppler, M., ed., *Hazardous Metals
in the Environment*, Elsevier, in press (1991)
- Irgolic K., Stockton R., Chakraborti D., "Arsenic:
industrial biomedical, environmental perspectives" in
Lederer W.H., Fensterheim R.J. Eds) Van Nostrand
Reinhold N.Y. (1983) pp. 282-308
- Irgolic K., *Sci. Total Environ.* 64 (1987) 61-73
- Irvin T., Irgolic K., *J.Appl.Organomet.Chem.* 2 (1988)
- Iverson D., Anderson M., Thomas H., Stanforth R., *J. Am. Chem.
Soc.* 13 (1979) 1491-1494
- Jansson A., Kautsky N., in Keegan B., Ceidigh P., Boaden P.
(eds): "Biology of Benthic Organisms" Pergamon
Press, Oxford 1977 pp.359-366
- Jin K., Hayashi T., Shibata Y., Morita M., *J.Appl.Organomet.
Chem.*, 2 (1988)
- Johnson D., *Nature*, 240 (1972) 44
- Johnson D., Pilson M., *J. Mar. Res.* 30 f(1) (1972) 140-149
- Jongen W., Cardinaals J., Bos P., Hagel P., *Food Chem. Toxicol*
23(7) (1985) 669-673
- Kahane E. *Fresenius Z.Anal.Chem.* 111 (1973) 14
- Kautsky N., *Kieler Meeresforschung, Sonderheft* 5 (1981)
454-461
- Kersten M. in: *Pollution of the North sea, an assessment von
Salomon W.* Springer Verlag (1988)
- Kopp J., *Anal. Chem.*, 45 (1973) 1786
- Kurosawa S., Yasuda K., Tagushi M., Yamasaki S., Toda S.,
Morita M., Uehiro T., Fuwa K. *Agr.Biol.Chem.* 44 (1985)
1993-1994
- L'vov B. *Ing.Fiz.Zhur.*, 11 (1959) 44
- Lambert H., *Photometria, sive de misura et gradibus luminis
colorum et umbrae* (1760)
- Lenvik K., Steinnes E., Pappas A., *Nord. Hydrol.*, 9 (1978)
197-206
- Lewis E., Hansen L., Baca E., Temer D., *J.Chem.Soc. Perkin
Trans. II* 125 (1976)

- Luten J., Riekwel-Booy O., Rauchbaar A., Environ.Health. Perspect. 45 (1982) 165
- Maher W. Mar.Poll.Bull. 18(8) (1983) 308-164
- Marafante E., Vahter M., Denker L., Sci.Total Environ. 34 223 (1984)
- Marks J., Welcher G., Anal. Chem. 42 (1970) 1033
- Marsh (1836)
- Mart L., Nürnberg H.W., Mar.Chem. 18 (1986) 197-213
- Martell A., Smith R., in "Critical Stability Constants" vol 5 Plenum Press, New York 1982 pp.409
- Martin J. Meybeck M., Mar. Chem. 7 (1979) 173-206
- Massmann H. Talanta 29 (1962) 1051-1055
- Matsuto S., Stockton R., Irgolic K. Sci.Total Environ. 48 (1986) 133-140
- McShane W. Dissertation at the Texas A&M University 1982
- Mertz W., in: Anke M., Schneider J., Brückner C., (Eds) "Arsen 3. Spurenelement Symposium" Sciller Universität Jena (1980) 14
- Michel P., "Wissenschaft und Umwelt" 3-4 (1986) 118-122
- Michel P., Rev. Trav. Inst.Pêches marit., 49(3-4) (1987) 175-185
- Morita M., Uehiro T., Fuwa K. Anal. Chem. 53 (1981) 1806-1808
- Morita M., Uehiro T., Fuwa K. Anal.Chem. 53 (1981) 1806-1808
- Munda I. Bot.Mar. 21 (1978) 261-263
- Munda I. Bot.Mar. 22 (1979) 149-152
- Munson W., in: Pharmaceutical Analysis Part B, Marcel Dekker Inc. USA (1984) 19
- Münz H., Lorenzen W. Fresenius Z.Anal.Chem 319 (1984) 395-398
- Murray A. Chem.in Ecol. 1 (1982) 33-45
- Narsito, Agterdenbos Anal.Chim.Acta 197 (1987) 315-321
- National Academy of Sciences, Medical and Biological Effects of Environmental Pollutants: Arsenic, Washington D.C. (1977)
- Neumüller O., "RÖMPPS Chemie Lexikon" 8. Auflage, Franckhsche Verlagshandlung, Stuttgart 1979
- Nichols R., MS Thesis, Texas A&M Univ. (1978)
- Norin H., Christakopoulos A., Chemosphere 11 (1982) 287
- Norin H., Christakopoulos A., Sandstroem M., Chemosphere, 14, 313 (1985)
- Norin H., Ryhage R., Christakopoulos A., Sandstroem M., Chemosphere 12 (1983) 299
- Owens J., Gladney E., At.Abs.Newsl. 15 (1976) 47-48
- Philipps D. Environ.Poll. 13 (1977) 281-317

- Piwonka J., Kaiser G., Tölg G., Fresenius Z.Anal Chem. 321 (1985) 225
- Pollock E., West S., At. Absorption Newslett. 11 (1972) 104
- Pollock E., West S., At. Absorption Newslett. 12 (1973) 6
- Quentin K., Winkler H., Zentralbl. Bakteriologie 158 (1974) 514-523
- Ray B., Johnson B., Anal.Chim.Acta 62 (1972) 196-199
- Ricci G., Shepard L., Colovos G., Hester N., Anal.Chem. 53 (1981) 610-613
- Riedel F., Eikmann T., Wissenschaft und Umwelt 3-4 (1986) 108-116
- Round F., "Biologie der Algen" Georg Thieme Verlag, 2.Auflage 1975 pp.170
- Russel J., Shelton J., Walsh A. Spectrochim.Acta 8 (1957) 317
- Samaan S., in: Methoden der Organischen Chemie Band XIII/8, Metallorganische Verbindungen As, Sb, Bi, Thieme Verlag (1978) 402
- Sanders J., Dissertation University of North Carolina at the Chapel (1978)
- Schladot J., Backhaus F. NBS Spec.Publ.740 Progress in Environm.Specimen Banking, (1988), 184-193, US Dept. of Commerce, Washington DC.
- Schladot J., Stoeppler M., Schwuger M. Jahresbericht der K.F.A. (1990)
- Schmidt F., Roper J., Anal. Letters 6 (1973) 17
- Scott C. ed. in Modern Practice of Liquid Chromatographie Kirkland 1983
- Seiler H. et al., Analytische Methoden, Analysen in biol.Material. Manuskript
- Shibata Y., Morita M., Edmonds J., Agric.Biol.Chem. 51 (1987) 391
- Shinagawa A., Shiomi K., Yamanaka Y., Kikuchi T. Bull.Jap.Soc.Sci.Fish, 49 (1983) 75-78
- Shiomi K., Orii M., Yamanaka H., Kikuchi T., Nippon Suisan Gakkaishi 53 (1987) 103
- Shiomi K., Shinagawa A., Yamanaka H., Kikuchi T., Comp.Biochem.Physiol. 74C (1983) 393-396
- Siemer D., Koteel P., Jariwala V., Anal. Chem. 48 (1976) 836-840
- Sperling K., Bahr B. Fresenius Z.Anal.Chem. 299 (1979) 206-207
- Squibb K., Fowler B., in: Fowler B.(Ed.) "Biological and Environmental Effects of Arsenic" Elsevier, Amsterdam (1983), 233.
- Standard Methods for the examination of Water and Wastewater 15th. ed. American Public Health Assoc. Washington D.C. (1980) 174-175

- Steinhagen-Schneider G. Berichte aus dem Institut für Meereskunde an der Christian-Albrecht-Universität, Kiel (1981)
- Stockton R., Irgolic K., Intern.J.Environ.Anal. (1979) 313-319
- Stoeppler M. 3.Spurenelement Symposium Ni der Karl Marx Univ. Leipzig und Univ. Jena Juli 1980, S. 369-374
- Stoeppler M., Haus der Technik, Essen, Fachveranstaltung F-50-607-121-7 (1987)
- Stoeppler M. Fresenius Z.Anal Chem. 317 (1984) 235
- Stoeppler M., Apel M. Fresenius Z.Anal Chem. 317 (1984) 226-227
- Stoeppler M., Backhaus F., Schlodot J., Nürnberg H.W. in: Lewis, R.A., Stein, R. and Lewis, C., ed., Environmental Specimen Banking and Monitoring as related to Banking Martinus Nijhoff Pub. (1984), S. 95-107
- Stoeppler M., Burow M., Backhaus F., Schramm W., Nürnberg H.W., Marine Chem. 18 (1986) 321-324
- Stoeppler M., Nürnberg H., in: Vercruysse A.(ed.) Analysis of Heavy Metals in Human Toxicology, Elsevier, Amsterdam (1983)
- Stoeppler M., Schlodot J., Schwuger M. Nachrichten aus Chemie, Technik und Laboratorium 38 (1990) Nr. 10
- Stratton G., Whitehead H., J.Amer.Water Works Assoc. 54 (1962) 861-864
- Tait R., "Meeresökologie" Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1981 pp.77 und 160
- Talmi Y., Bostick D., Anal.Chem. 47 (1975) 2145-2150
- Talmi Y., Bostick D., J.Chromatogr.Sci. 13 (1975)
- Tam G., Charbonneau S., Lacroix G., Bryce F., Bull.Envir.Contam. Toxicol 21 (1979) 371
- Tam G., Charbonneau S., Lacroix G., Bryce F., Bull.Envir.Contam. Toxicol. 22 (1979) 69
- Tam G., Lacroix G., J.Assoc.Off.Anal.Chem. 65 (1982) 647-650
- Tedengren M., Kautsky N., Ophelia 25(3) (1986) 145-155
- Thompson K., Analyst 100 (1975) 307
- Thompson K., Thomerson D., Analyst 99 (1974) 595
- Treadwell F., "Kurzes Lehrbuch der Analytischen Chemie" Vol. 1 Qualitative Analyse 17. Aufgabe, Deuticke F., Wien 1949 pp.223
- Treadwell F., "Kurzes Lehrbuch der Analytischen Chemie" Vol. 21 Qualitative Analyse 12. Aufgabe, F.Deuticke, Wien 1949, pp.223.
- Tye C. Anal.Chim.Acta 169 (1985) 195
- U.S. Environmental Protection Agency, E.P.A.-600/8-83-021F. Office of Health and Environmental Assessment, Washington, DC (1983a)

- Vahter M., Edmonds J., "Hazard Evaluation for Arsenic" (1985)
- Vahter M., Marafante E., Denker L., Sci.Tot.Environ. 30 (1983) 197
- Van Aalst R. in Pollution of the North Sea, an Assessment Salomons W. Springer Verlag (1988) 280.
- Van Cleuvenberger R., Van Mol W., Adams F., J. Anal.Atom. Spectrom. 3 (1988) 169-176
- Van den Hoek C., ed., "Algen" Thieme, Stuttgart, 1978
- Vijan P., Wood G., Analyst 101 (1976) 966
- Volland G., Kölblin G., Tschöpel P., Tölg G. Fresenius Z.Anal. Chem. 284 (1977) 1-12
- Walsh A., Spectrochim.Acta 7 (1955) 108
- Walsh P., Duce R., Fashing J., J.Geophys.Res. 84 (1979) 1719-1726
- Weeks M., "Discovery of the Elements" J. Chem.Ed. 6th ed (1960) 62
- Weichart G., Ambio., 2(4) (1973) 99-106
- Welz B. Atomic Absorption Spectroscopy, Verlag Chemie Weinheim (1976)
- Welz B., Melcher M., Anal Chem 57 (1985) 427.
- Welz B., Melcher M., Anal.Chim.Acta 131 (1981) 17-25
- Welz B., Melcher M., Analyst 108 (1983) 213-224
- Welz B., Melcher M., Manuskript (1984)
- Welz B., Schubert Jakobs M., Fresenius Z. Anal. Chem. 324 (1986) 832-838
- WHO 1981 "Environmental Health Criteria 18, Arsenic" World Health Organization, Geneva 1981
- Willard H., Merritt L., Dean J., Settle F. Instrumental Methods of Analysis 6th Edition Van Nostrand Co., Toronto 1981
- Woolson E., Ahronson N., J.Assoc.Anal.Chem 63 (1980) 523
- Würfels M. Labo 3 (1989) 7-15
- Würfels M., Jackwerth E. Fresenius Z.Anal.Chem. 322 (1985) 354
- Yamamoto M., Yamamoto Y., Yamashige T., Analyst 109 (1984) 1461 .

11 Datenanhang

11.1 Beschreibung der Probenahmeorte

Die gewählten Probenahmeorte an der Nordseeküste sind stark von den Gezeiten beeinflusst. Dies bedeutet, daß sich an diesen Orten die Proben gezeitenabhängig entweder im Trocknen oder im Wasser befinden.

An den Probenahmestellen an der Ostsee ist dieser Einfluß viel geringer und die Proben werden normalerweise aus dem flachen Wasser genommen.

11.1.1 Eckwarderhörne

Der Probenahmeort liegt am östlichen Auslauf des Jadebusens im niedersächsischen Wattenmeer ($53^{\circ}32'N$; $8^{\circ}13,5'O$).

Die an diesem Ort künstlich angelegte Hauptbuhne, senkrecht zu den Nebenbuhnen und zu der Küstenlinie, ist eine Uferbefestigung aus Basaltsteinen, die mit Bitumenmasse ausgegossen ist.

Algen und Muscheln wachsen hier gemeinsam auf einer von sandigem Boden umgebenen Nebenbuhne, die aus geschichteten Steinen, mit Hölzern verkantet, hergestellt wurde.

In der nächsten Umgebung befinden sich Schiffanleger, ein Eßlokal, ein Campingplatz und ein kleiner Badestrand.

In weiterer Entfernung sind Schwerindustrie (Werften) und die Stadt Wilhelmshaven.

11.1.2 Kugelbake (Cuxhaven)

Der Probenahmeort liegt im Elbeästuar im niedersächsischen Wattenmeer ($53^{\circ}53,8'N$; $8^{\circ}40,9'O$).

Es ist ein zur Elbe hin, bis auf den Durchgang mit großen Betonblöcken abgesperrtes Hafenbecken ohne Schleusentore. Sein Boden ist sandig und schlammig.

Im Becken selbst sind Anlegepfähle aus Holz, an denen die Algen teilweise wachsen. Hier kommen keine Muscheln vor.

In unmittelbarer Nähe werden Arbeitsschiffe, an von den Gezeiten unabhängigen Steganlagen aus Metall, zeitweilig befestigt. Am Ufer werden Küstenbefestigungsmatten geflochten.

An der dem Meer zugewandten Seite sind künstlich angehäuften Steine, die mit der Zeit, mit Seesand aufgelandet sind. Im Sommer findet hier Badebetrieb statt.

Auf der Elbe gibt es regen Schiffsverkehr. Elbaufwärts liegt die Stadt Cuxhaven mit ihrem Hafen.

11.1.3 Nordstrand (Elisabeth-Sophien-Koog)

Der Probenahmeort liegt an der Nordküste der Insel Nordstrand im schleswig-holsteinischen Wattenmeer ($54^{\circ}31'N$; $8^{\circ}41,40'$).

Die Küste dieser Insel ist hier durch künstlich angelegte Steine, die mit Bitumenmasse ausgegossen sind, geschützt.

Algen wachsen auf den Steinen einer Buhne, die zusätzlich mit Hölzern befestigt ist.

Kleine Muschelkolonien findet man in unmittelbarer Nähe, auf dem von der Flut angeschwemmten Watt.

Auf der Insel, sind Landwirtschaft- und Campingbetriebe.

In nächster Umgebung weiden Schafe auf der Uferbefestigung.

Nördlich der Probenahmestelle liegen im Wattenmeer einige Halligen. An der östlichen Seite wurde eine neue Deichmauer gebaut.

11.1.4 List (Insel Sylt)

Die Insel Sylt liegt im schleswig-holsteinischen Wattenmeer, an der dänischen Grenze. Der Probenahmeort befindet sich im nördlichen Teil der Insel, etwa 1 km südlich des Lister Hafens. List liegt an der Ostküste der Insel und ist dem Festland zugewandt ($55^{\circ}0,9'N$; $8^{\circ}26,1'O$). Etwa 15 km nach Süden, ist das Wattenmeer zwischen der Insel und dem Festland durch den Hindenburgdamm begrenzt.

Die Ostküste der Insel ist an dieser Stelle durch einen Deich geschützt, dessen Oberfläche mit Bitumenmasse bedeckt ist.

Am Fuße dieses Deiches befinden sich aus Steinen und Hölzern angelegte Buhnen. An der Spitze einer Buhne befindet sich eine Muschelkolonie von der die Proben stammen. Östlich der Probenahmestelle sind im tieferen Wasser verschiedene Muschelbänke, die kommerziell genutzt werden.

Die Braunalgen wachsen an den Hölzern einer benachbarten Buhne. Die Buhnen ragen ins Watt.

Am Land ist Wohngebiet. Nördlich, im Hafen, herrscht reger Fährbetrieb zum Festland. Außerdem wird der Hafen von Berufsfischern genutzt, die hauptsächlich Krabben und Muscheln fangen.

11.1.5 Krongaard

Der Probenahmeort liegt an der westliche Küste der Ostsee, nördlich der Schleimündung ($54^{\circ}42,5'N$; $10^{\circ}0,5'O$).

Die Küste ist hier sandig, mit großen Steinen (Findlingen) durchsetzt. Die Braunalgen und die Muscheln leben zwischen den im Wasser liegenden Findlingen.

Durch häufige Ostwinde werden an der Probenahmestelle sehr viele Reste von abgestorbenes Seegras und Algen angetrieben.

Direkt an der Probenahmestelle ist Landwirtschaft und ein großer Campingplatz mit viel Badebetrieb im Sommer. Etwa 10 km nördlich liegt eine Freizeitanlage (DAMP 2000); südlich angrenzend ein Vogelschutzgebiet.

11.1.6 Kiel-Strände

Die Probenahmestelle liegt an der Nordküste der Kieler Bucht in der Nähe des alten Bülker Leuchtturms, ca. 15 km vom Kieler Hafen entfernt ($54^{\circ}39,5'N$; $10^{\circ}16,3'O$).

Die Küste ist durch einen steinigen, mit Bitumenmasse bedecktem Deich geschützt, dessen Steine an der Probenahmestelle bis ins Wasser reichen.

An diesen, im Wasser zum Teil mit Sand bedeckten Steinen, wachsen gleichzeitig Muscheln und Algen.

In unmittelbare Nähe, befinden sich im Sommer Surfschulen und Badegäste. Am westlichen Festland ist Landwirtschaft und nördlich liegt eine große Kläranlage, deren Auslauf etwa 2 km von der Probenahmestelle entfernt ist.

Südlich von diesem Ort, liegt der neue Olympiahafen von Kiel und der kleine Hafen von Strände.

Die Einfahrt der Kieler Bucht wird von vielen Schiffen benutzt, die entweder zum Kieler Hafen zu den großen Werftanlagen in Kiel oder zum Nord-Ostsee Kanal fahren.

11.1.7 Antofagasta-I.Lagartos (RCh)

Die Isla Lagarto liegt im Pazifik direkt an der Küste in der chilenischen Region Antofagasta auf dem äußeren Teil der Halbinsel Cerro Moreno. Der Probenahmeort befindet sich etwa 500 m südlich der Insel an der kontinentalen Küste ($22^{\circ}50,3'S$; $70^{\circ}30,9'W$). Es handelt sich um einen Ort weit entfernt von jeder Stadt oder anderen Kontaminationsquellen. Die Umgebung gehört zur Atacamawüste. Etwa 1 km vom Probenahmeort entfernt, befindet sich im Meer eine Muschelzucht.

Die Algen und Muscheln leben getrennt auf Felsen in der Gezeitenzone, wo die Algen an der Wellenlinie und die Muscheln in Küstennähe am besten wachsen.

11.1.8 Paposo-Caleta El Cobre

Caleta El Cobre befindet sich etwa 120 km südlich von I.Lagarto entfernt und ist durch die Wüste von der Außenwelt fast isoliert ($24^{\circ}19,5'S$; $70^{\circ}39,7'W$). Es handelt sich um eine Bucht mit einer kleinen Kupfermine, die ihre Abfälle aus der Mineralgewinnung direkt ins Meer entläßt. Man erkennt einen großen braunen Fleck im Meer, der direkt mit der Mine verbunden ist. Algen und Muscheln wachsen in großen Kolonien auf natürlichen Steinen etwa 200 m südlich von der Kupferhütte und dem Fleck entfernt.

11.2 Gesamtarsenwerte von Algen, Muscheln und Wasser. Allgemeine Probenahmeparameter

Tabelle XI: Eckwarderhörne (Nordsee)

ALGEN	Probe von Monat.Jahr	Tot. As* [µg/g]	Std.Abw [µg/g] %	n	Wassergehalt [%]
	Dez.86	42.2	0.9 2.1	6	83.5
	Apr.87	30	2 6.7	14	91.4
	Jun.87	26.4	0.4 0.2	4	87.6
	Aug.87	39.2	0.7 0.2	5	80.7
	Dez.87	30	2 6.7	17	89.1
	Feb.88	44	2 4.5	5	86.6
	Apr.88	48	2 4.2	10	86.3
	Jun.88	27.4	0.6 2.1	4	83.4
	Aug.88	35.8	0.5 1.4	5	73.0
	Okt.88	41.5	0.6 1.4	4	78.9
	Dez.88	40	1 2.5	4	80.7

MUSCHELN	Probe von Monat.Jahr	Tot. As* [µg/g]	Std.Abw [µg/g] %	n	Wassergehalt [%]
	Jun.86	13	1 7.7	8	94.4
	Dez.86	15	1 6.7	9	96.1
	Apr.87	29.3	0.7 2.4	4	96.3
	Jun.87	13	2 1.5	8	94.7
	Aug.87	12.1	0.6 5.0	8	94.1
	Okt.87	14.7	0.3 2.0	7	93.2
	Dez.87	13.5	0.7 5.2	8	93.5
	Feb.88	16.9	0.4 2.4	6	96.2
	Apr.88	20.0	0.6 3.0	16	99.8
	Jun.88	15.9	0.7 4.4	7	71.2
	Aug.88	14.0	0.1 0.7	4	80.1
	Okt.88	15.0	0.3 2.0	4	93.6
	Dez.88	15	1 6.7	10	95.0

ALLGEMEINE PARAMETER	Salinität [‰]	pH- Wert	Wasser- temp.[°C]	Lufttemp. [°C]
Monat.Jahr				
Dez.86	24.8	8.2	5.4	8.0
Apr.87	26.0	8.3	17.6	20.0
Jun.87	25.3	7.8	13.7	11.6
Aug.87	26.0	7.1	14.3	15.0
Dez.87	10.6	7.6	3.0	-1.0
Feb.88	24.0	7.7	7.0	5.0
Apr.88	22.8	7.7	12.2	13.1
Jun.88	27.2	7.7	15.1	15.0
Aug.88	28.5	7.8	21.0	23.0
Okt.88	28.7	7.5	13.0	14.0
Dez.88	27.8	7.7		

* Trockengewicht

Tabelle XII: Kugelbake, Cuxhaven (Nordsee)

ALGEN	Probe von Monat.Jahr	Tot. As* [µg/g]	Std.Abw [µg/g]	n	Wassergehalt [%]
	Dez.86	36.3	0.7	4	88.2
	Feb.87	38	2	5	84.3
	Apr.87	39	2	10	96.2
	Jun.87	38.9	0.5	8	87.3
	Aug.87	40.9	0.8	8	88.3
	Okt.87	40	1	8	87.4
	Dez.87	41	2	8	81.6
	Feb.88	43	2	8	71.8
	Apr.88	36.6	0.6	8	82.2
	Jun.88	27	3	8	8.0
	Aug.88	32.0	0.7	8	90.5
	Okt.87	60	8	20	83.9
	Dez.87	37	2	4	79.9

ALLGEMEINE PARAMETER	Salinität [‰]	pH- Wert	Wasser- temp.[°C]	Lufttemp. [°C]
Monat.Jahr				
Dez.86	14.7	6.5	0	7.0
Feb.87	7.4	8.4	0	2.0
Apr.87	5.1	8.5	15	22.0
Jun.87	8.8	8.2	13	15.4
Aug.87	10.5	7.8	17	21.0
Okt.87	13.4	8.0	12	13.5
Dez.87	11.6	7.7	3	-1.0
Feb.88	16.8	7.6	5	5.0
Apr.88	3.3	8.1	8	11.7
Jun.88	15.7	8.0	16	15.0
Aug.88	14.4	7.4	19	21.0
Okt.87	14.5	7.0	14	14.0
Dez.87	20.8	7.7	3	4.0

* Trockengewicht

Tabelle XIII: Nordstrand-Elisabeth Sophien-Koog (Nordsee)

<u>ALGEN</u>	Probe von Monat.Jahr	Tot. As* [µg/g]	Std.Abw [µg/g]	n	Wassergehalt [%]
	Dez.86	34	2	4	
	Apr.87	27.1	0.9	8	80.8
	Jun.87	25.1	0.6	4	90.4
	Aug.87	28.6	0.9	4	83.5
	Okt.87	30	1	6	80.7
	Dez.87	35.9	0.7	5	81.4
	Feb.88	37	1	6	84.1
	Apr.88	24	1	9	84.9
	Jun.88	24	1	6	85.9
	Aug.88	27.4	0.7	4	81.9
	Okt.88	27.6	0.6	4	81.0
	Dez.88	30.4	0.6	4	80.0
<u>MUSCHELN</u>	Probe von Monat.Jahr	Tot. As* [µg/g]	Std.Abw [µg/g]	n	Wassergehalt [%]
	Dez.86	11.9	0.4	4	97.8
	Apr.87	9	1	7	90.5
	Jun.87	10.4	0.1	2	92.7
	Aug.87	8.0	0.3	2	88.9
	Okt.87	10.3	0.1	2	94.0
	Dez.87	9.9	0.2	2	95.2
	Feb.88	12.7	0.4	4	94.4
	Apr.88	16	1	6	96.8
	Jun.88	10.6	0.4	8	91.8
	Aug.88	14	1	4	98.5
	Okt.88	13.6	0.1	4	97.1
	Dez.88	14.3	0.2	4	94.6
<u>ALLGEMEINE PARAMETER</u>	Monat.Jahr	Salinität [‰]	pH- Wert	Wasser- temp.[°C]	Lufttemp. [°C]
	Dez.86	23.4	7.9	7	8.0
	Apr.87	25.4	8.5	17	20.0
	Jun.87	25.1	8.7	18	16.2
	Aug.87	24.3	8.0	14	15.0
	Okt.87	25.2	8.0	12	13.0
	Dez.87	21.8	7.9	0	-1.0
	Feb.88	21.0	7.7	2	1.0
	Apr.88	23.9	7.7	11	11.0
	Jun.88	27.2	8.3	15	15.0
	Aug.88	27.4	7.3	19	19.0
	Okt.88	27.4	7.6	14	17.0
	Dez.88	26.5	7.8	4	5.0

* Trockengewicht

Tabelle XIII: Fortsetzung: Nordstrand-Elisabeth Sophien-Koog
(Nordsee)

WASSER						
Probe von Monat.Jahr	Tot. As [ng/ml]	Std.Abw [ng/ml]	n	Arsen(III) [ng/ml]	Std.Abw [ng/ml]	n
Apr'87	2.03	0.02	4	< 0.02		2
Jun'87	2.1	0.1	2	< 0.02		2
Aug'87	2.17	0.02	2	< 0.02		2
Okt'87	2.21	0.02	2	< 0.02		2
Dez'87	2.0	0.1	2	< 0.02		2
Feb'88	2.1	0.2	2	< 0.02		2
Apr'88	1.62	0.01	2	0.09		2
Jun'88	2.86	0.02	2	0.03	0.02	2
Aug'88	7.08	0.05	2	4.13	0.06	2
Okt'88	2.2	0.3	3	0.09		2
Dez'88	2.365	0.003	2	0.1		2

Tabelle XIV: List, Insel Sylt (Nordsee)

<u>ALGEN</u>	Probe von Monat.Jahr	Tot. As* [µg/g]	Std.Abw [µg/g]	n	Wassergehalt [%]
	Apr.87	26.1	0.3	4	92.2
	Jun.87	53.6	0.5	4	87.8
	Aug.87	52.3	0.7	4	86.6
	Okt.87	46	2	12	84.7
	Dez.87	32.4	0.8	4	73.6
	Feb.88	67	1	4	84.3
	Apr.88	54.8	0.6	4	84.7
	Jun.88	34.3	0.9	4	85.0
	Aug.88	45	1	4	82.9
	Okt.88	34	2	5	83.3
	Dez.88	57.6	0.9	4	84.9

<u>MUSCHELN</u>	Probe von Monat.Jahr	Tot. As* [µg/g]	Std.Abw [µg/g]	n	Wassergehalt [%]
	Dez.86	9.5	0.2	4	94.1
	Apr.87	14.5	0.6	8	93.9
	Jun.87	11.5	0.2	8	91.5
	Aug.87	11.7	0.4	6	87.4
	Okt.87	10.6	0.2	4	91.1
	Dez.87	11.9	0.2	4	90.7
	Feb.88	13.8	0.5	4	93.1
	Apr.88	14.7	0.4	4	90.9
	Aug.88	12.4	0.7	4	81.1
	Okt.88	9.9	0.4	4	86.4
	Dez.88	9.7	0.1	4	88.3

<u>ALLGEMEINE PARAMETER</u>	Salinität [°/∞]	pH- Wert	Wasser- temp.[°C]	Lufttemp. [°C]
Monat.Jahr				
Dez.86	25.2	8.3	6	8.0
Apr.87	25.0	8.7	11	12.5
Jun.87	25.9	8.3	12	10.2
Aug.87	26.6	7.8	15	12.0
Okt.87	23.7	7.6	11	12.0
Dez.87	21.7	7.7	0	0.0
Feb.88	23.8	7.9	2	0.0
Apr.88	23.6	8.2	8	8.0
Jun.88	27.1	8.6	17	20.0
Aug.88	27.2	8.1	22	21.0
Okt.88	27.0	7.5	13	13.0
Dez.88	25.2	7.8	4	4.0

* Trockengewicht

Tabelle XV: Kronsgaard (Ostsee)

<u>ALGEN</u>	Probe von Monat.Jahr	Tot. As* [µg/g]	Std.Abw [µg/g]	n	Wassergehalt [%]
	Dez.86	24.1	0.5	4	37.1
	Feb.87	32.4	0.5	4	82.1
	Apr.87	24	1	10	
	Aug.87	15.0	0.7	6	85.5
	Okt.87	18.7	0.4	4	86.7
	Dez.87	21	3	4	86.1
	Apr.88	26	2	8	8.0
	Jun.88	19.4	0.5	7	
	Aug.88	21.4	0.7	5	83.5
	Okt.88	22.1	0.0	5	83.6
	Dez.88	21.2	0.9	4	81.1

<u>MUSCHELN</u>	Probe von Monat.Jahr	Tot. As* [µg/g]	Std.Abw [µg/g]	n	Wassergehalt [%]
	Feb.87	7.0	0.5	13	91.8
	Apr.87	12.3	0.1	4	89.7
	Jun.87	11.0	0.4	4	90.7
	Aug.87	4.8	0.2	4	92.6
	Dez.87	9.9	0.2	4	93.1
	Jun.88	11.1	0.1	4	
	Aug.88	9.9	0.3	4	84.2
	Okt.88	9.4	0.1	3	

<u>ALLGEMEINE PARAMETER</u>	Salinität [°/‰]	pH- Wert	Wasser- temp.[°C]	Lufttemp. [°C]
Monat.Jahr				
Dez.86	18.1	8.5	6.1	6.0
Feb.87	15.4	8.6	0.7	2
Apr.87	14.2	8.7	8.9	15.0
Jun.87	15.2	8.4	13.9	13.5
Aug.87				
Okt.87	17.2	8.0	11	14.2
Dez.87	15.4	7.8	3	0.0
Apr.88	14.6	8.6	5	5.0
Jun.88	13.4	7.9	15	15.0
Aug.88	15.7	7.4	22	24.0
Okt.88	21.2	7.2	13	13.0
Dez.88	18.0	7.2	5	5.0

* Trockengewicht

Tabelle XVI: Kiel - Strände (Ostsee)

<u>ALGEN</u>	Probe von Monat.Jahr	Tot. As* [µg/g]	Std.Abw [µg/g]	n	Wassergehalt [%]
	Feb.87	32.2	0.5	4	85.8
	Apr.87	29	1	4	92.2
	Jun.87	24.6	0.5	4	91.9
	Aug.87	11	2	4	84.5
	Okt.87	24.5	0.2	4	86.6
	Dez.87	40	3	17	89.2
	Apr.88	37.3	0.9	4	89.3
	Jun.88	17.5	0.8	9	34.8
	Aug.88	13	1	16	88.3
	Okt.88	14.7	0.7	10	87.3
	Dez.88	35	1	4	89.4

<u>MUSCHELN</u>	Probe von Monat.Jahr	Tot. As* [µg/g]	Std.Abw [µg/g]	n	Wassergehalt [%]
	Feb.87	8.9	0.4	4	99.0
	Apr.87	11.1	0.5	4	94.4
	Jun.87	9.9	0.6	6	98.6
	Aug.87	6.6	0.1	4	96.2
	Okt.87	8.4	0.5	4	96.1
	Dez.87	7.5	0.2	4	96.6
	Apr.88	13	1	8	99.5
	Jun.88	12	1	8	99.6
	Aug.88	9.1	0.8	8	98.3
	Okt.88	11	1	8	99.3

<u>ALLGEMEINE PARAMETER</u>	Salinität [‰]	pH- Wert	Wasser- temp. [°C]	Lufttemp. [°C]
Monat.Jahr				
Apr.87	13.0	8.6	13.2	13.8
Jun.87	14.2	8.2	14	13.8
Aug.87	14.9	8.5	17	19.0
Okt.87	17.7	8.2	11	14.0
Dez.87	15.1	8.3		
Apr.88	13.2	8.6	9	11.0
Aug.88	14.3	8.8	19	25.0
Okt.88	18.7	8.0	13	13.0
Dez.88	17.5	7.3	4	5.0

* Trockengewicht

Tabelle XVII: Isla Lagarto und El Cobre (Südpazifik)
Einzelprobenahme im Dezember 1987

<u>ALGEN</u>	Probe von Ort	Tot. As* [µg/g]	Std.Abw [µg/g]	n	Wassergehalt [%]		
	I.Lagarto	46	4	7	88.4		
	El Cobre	54	2	7	87.7		
<u>MUSCHELN</u>	Probe von Ort	Tot. As* [µg/g]	Std.Abw [µg/g]	n	Wassergehalt [%]		
	I.Lagarto	14	3	9	93.4		
	El Cobre	10.8	0.3	4	91.6		
<u>WASSER</u>	Probe von Monat.Jahr	Tot. As [ng/ml]	Std.Abw [ng/ml]	n	Arsen(III) [ng/ml]	Std.Abw [ng/ml]	n
	I.Lagarto	1.8	0.2	4	<0.02		2
	El Cobre	2.7	0.2	3	<0.02		2
<u>ALLGEMEINE PARAMETER</u>	Monat.Jahr	Salinität [‰]	pH-Wert	Wasser-temp.[°C]	Lufttemp. [°C]		
	I.Lagarto	33.9	7.9	19.5	24.5		
	El Cobre	34	7.9	18.2	24.5		

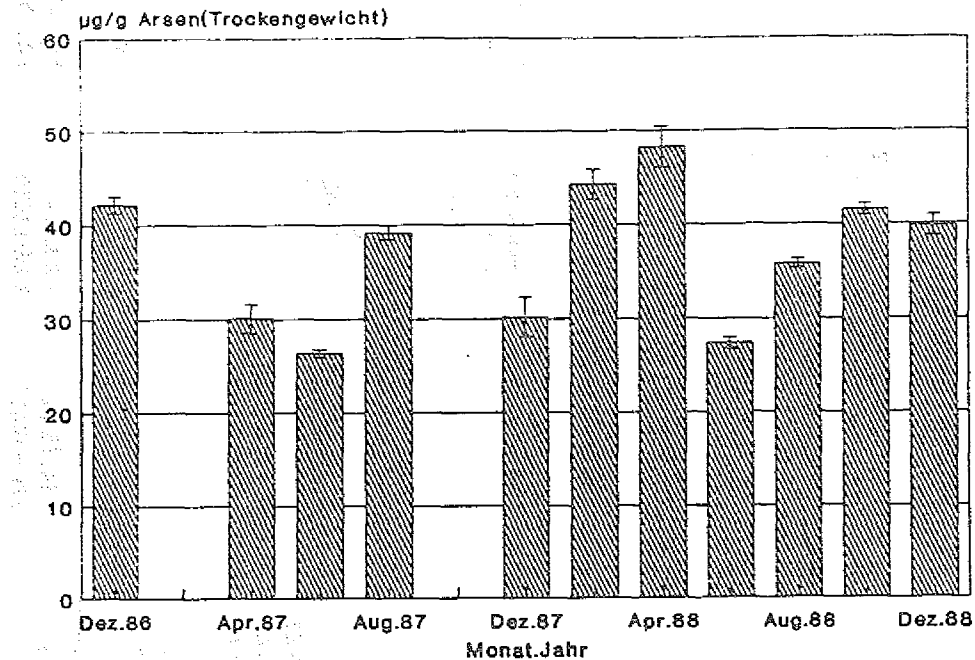
* Trockengewicht

Tabelle XVIII: Arsenspeziation in Algen und Muscheln aus Nordstrand. (Mittelwerte Trockengewicht)

Peak Nr. Probenahme von ALGEN	Tot.As $\pm s$ [$\mu\text{g/g}$]	I As β $\pm s$ [$\mu\text{g/g}$]	III MMAA $\pm s$ [$\mu\text{g/g}$]	IV As(V) $\pm s$ [$\mu\text{g/g}$]	II Unbekannt $\pm s$ [$\mu\text{g/g}$]
Apr'87	27.1 $\pm$ 0.9	3.5 $\pm$ 0.6	16.5 $\pm$ 0.8	3.9 $\pm$ 0.6	2.9 $\pm$ 0.7
Jun'87	25.1 $\pm$ 0.6	2.3 $\pm$ 0.4	16.2 $\pm$ 0.3	5.2 $\pm$ 0.3	1.2 $\pm$ 0.1
Aug'87	28.6 $\pm$ 0.9	4.5	15.6	6.6	4.1
Okt'87	30 $\pm$ 1	3.5 $\pm$ 0.4	18 $\pm$ 2	7.7	2.2
Dez'87	35.9 $\pm$ 0.7	2.7 $\pm$ 0.1	21.5 $\pm$ 0.6	9 $\pm$ 1	2.4 $\pm$ 0.2
Feb'88	37 $\pm$ 1	2.5 $\pm$ 0.8			2.6 $\pm$ 0.4
Apr'88	24 $\pm$ 1	1.5 $\pm$ 0.1	16 $\pm$ 1	6 $\pm$ 1	1.4 $\pm$ 0.2
Jun'88	24 $\pm$ 1	2.2	13.9	6.1	1.8
Aug'88	27.4 $\pm$ 0.7	2.6	13.8 $\pm$ 0.7	7 $\pm$ 1	3.0 $\pm$ 0.9
Okt'88	27.6 $\pm$ 0.6	3.1 $\pm$ 0.6	14 $\pm$ 1	7.7 $\pm$ 0.9	2.5 $\pm$ 0.2
Dez'88	30.4 $\pm$ 0.6	2.51 $\pm$ 0.01	15 $\pm$ 2	9 $\pm$ 1	2.51 $\pm$ 0.08
Dez'87(El Cobre)	54 $\pm$ 2	6.8 $\pm$ 0.3	19 $\pm$ 2	0	26 $\pm$ 2
Dez'87(I.Lagarto)	46 $\pm$ 4	4.9 $\pm$ 0.9	27 $\pm$ 5	0.1	12 $\pm$ 2

Peak Nr. MUSCHELN	Tot.As $\pm s$ [$\mu\text{g/g}$]	I As β [$\mu\text{g/g}$]	IV MMAA $\pm s$ [$\mu\text{g/g}$]	V As(V) $\pm s$ [$\mu\text{g/g}$]	II DMAA $\pm s$ [$\mu\text{g/g}$]	III Unbekannt $\pm s$ [$\mu\text{g/g}$]	VI Unbekannt $\pm s$ [$\mu\text{g/g}$]
Apr'87	9 $\pm$ 1	5.6 $\pm$ 0.3	0.35 $\pm$ 0.08	1.1 $\pm$ 0.2	0.49 $\pm$ 0.01	0.58 $\pm$ 0.05	1.3 $\pm$ 0.2
Jun'87	10.41 $\pm$ 0.1	0.5	0.9	0.3	0.8	0.9	
Aug'87	8.0 $\pm$ 0.3	4.32 $\pm$ 0.01	0.2 $\pm$ 0.2	0.7 $\pm$ 0.2	0.4 $\pm$ 0.2	0.2 $\pm$ 0.1	0.36 $\pm$ 0.07
Okt'87	10.3 $\pm$ 0.1	5.66 $\pm$ 0.01	0.5 $\pm$ 0.2	0.6 $\pm$ 0.2	0.35 $\pm$ 0.04	0.23 $\pm$ 0.03	0.6 $\pm$ 0.3
Dez'87	9.9 $\pm$ 0.2	5.7 $\pm$ 0.4	0.8 $\pm$ 0.1	0.72 $\pm$ 0.05	0.25 $\pm$ 0.01	0.40 $\pm$ 0.09	0.4 $\pm$ 0.1
Feb'88	12.7 $\pm$ 0.4	6.7 $\pm$ 0.3	0.8 $\pm$ 0.1	0.48 $\pm$ 0.02	0.7 $\pm$ 0.1	0.3	1.0 $\pm$ 0.3
Apr'88	16 $\pm$ 1	7.5 $\pm$ 0.2	0.5 $\pm$ 0.1	0.26 $\pm$ 0.05	1.39 $\pm$ 0.07	0.3 $\pm$ 0.2	0.8 $\pm$ 0.3
Jun'88	10.6 $\pm$ 0.4	6.0	0.4	0.7	0.1	0.2	0.3
Aug'88	13.6 $\pm$ 0.1	8.4 $\pm$ 0.1	1.5 $\pm$ 0.3	1.0 $\pm$ 0.2	0.7 $\pm$ 0.1	1.1 $\pm$ 0.5	0.8 $\pm$ 0.2
Okt'88	13.6 $\pm$ 0.1	7.4 $\pm$ 0.7	0.3 $\pm$ 0.1	1.1 $\pm$ 0.6	0.8 $\pm$ 0.3	0.4 $\pm$ 0.3	1.5 $\pm$ 0.4
Dez'88	14.3 $\pm$ 0.2	8.7	0.6	0.3	0.6	0.9	0.7
Dez'87(El Cobre)	10.8 $\pm$ 0.3	5.7 $\pm$ 0.3	1.2 $\pm$ 0.2	0.5 $\pm$ 0.1	0.94 $\pm$ 0.09	1.2 $\pm$ 0.4	0.55 $\pm$ 0.07
Dez'87(I.Lagarto)	14 $\pm$ 3	7.2 $\pm$ 0.4	1.12 $\pm$ 0.08	0.5 $\pm$ 0.1	0.69 $\pm$ 0.05	0.82 $\pm$ 0.05	0.8 $\pm$ 0.2

11.3 Gesamtarsen in Muscheln, Algen und Wasser
(Bilder 48 bis 62), Probenahmeparameter
(Bilder 59 bis 64).



1 Eckwarderhörne

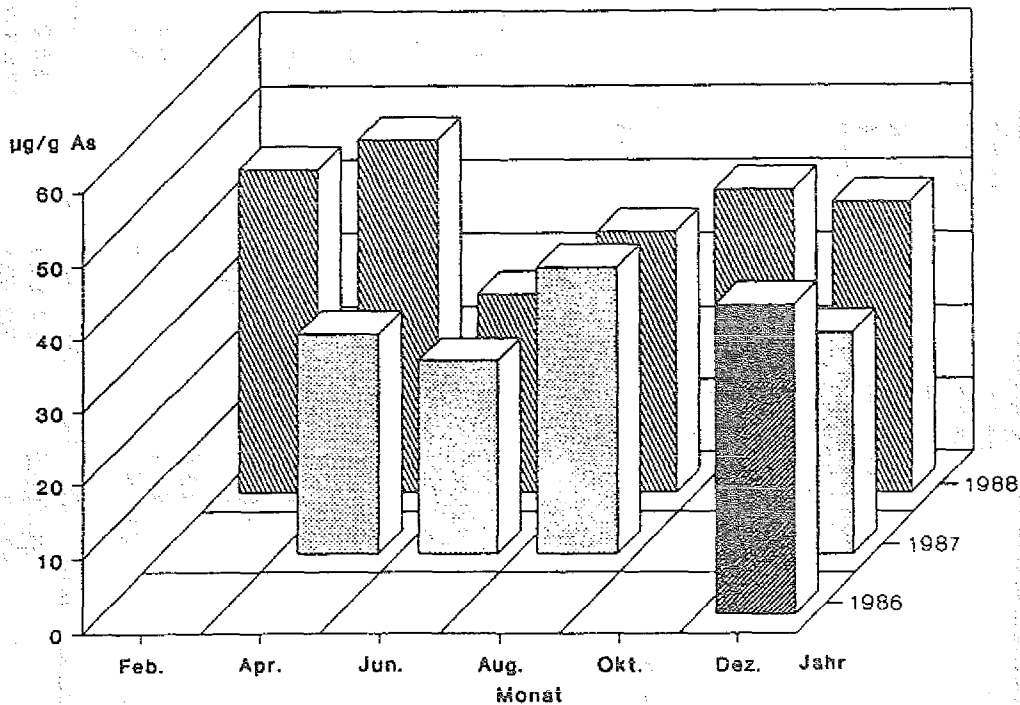


Abb. 48: Betrachtung der Totalarsengehalte in Algen über 2 Jahre Probenahme an der Stelle Eckwarderhörne, für zwei verschiedene Arten dargestellt.

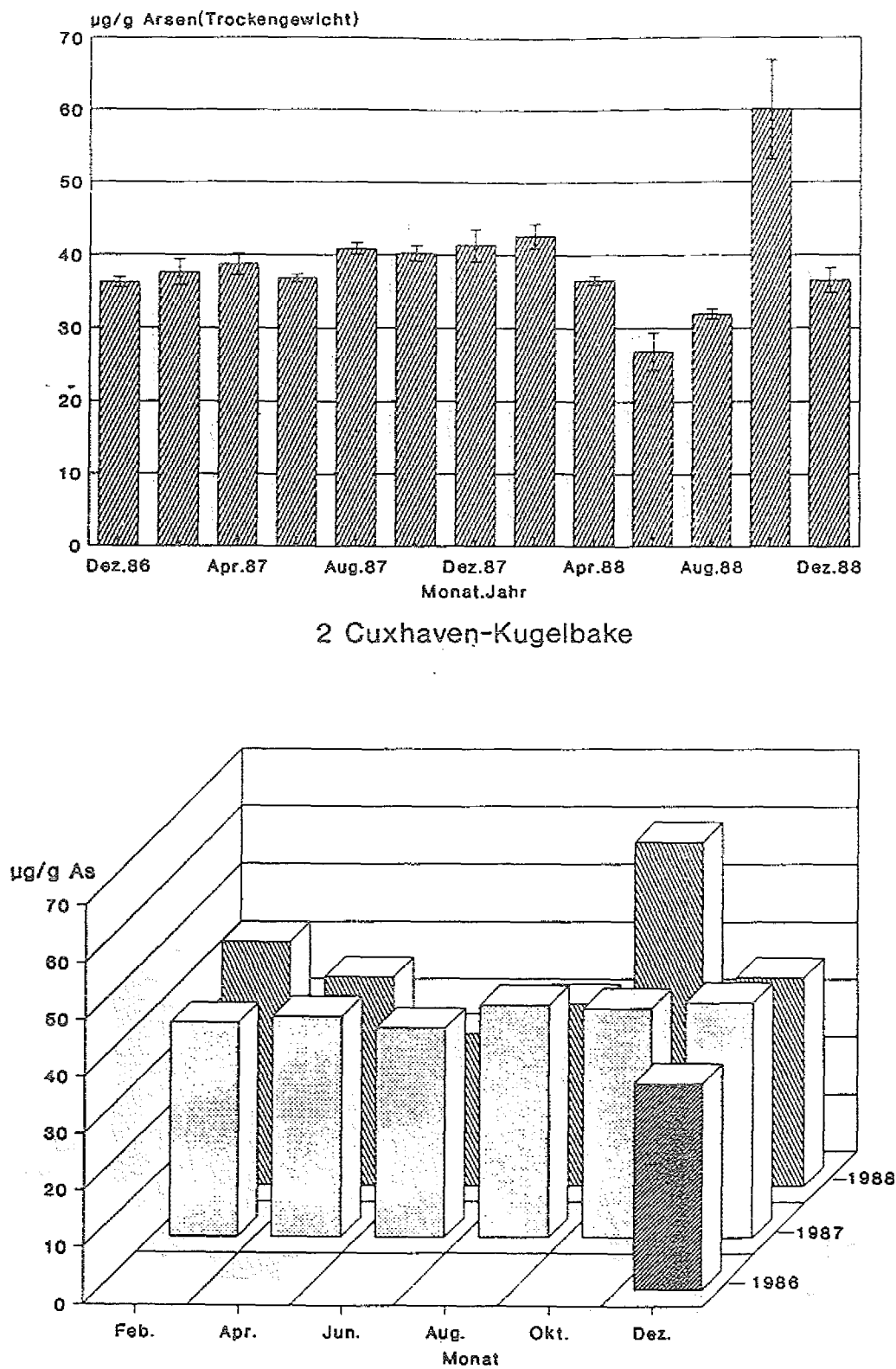
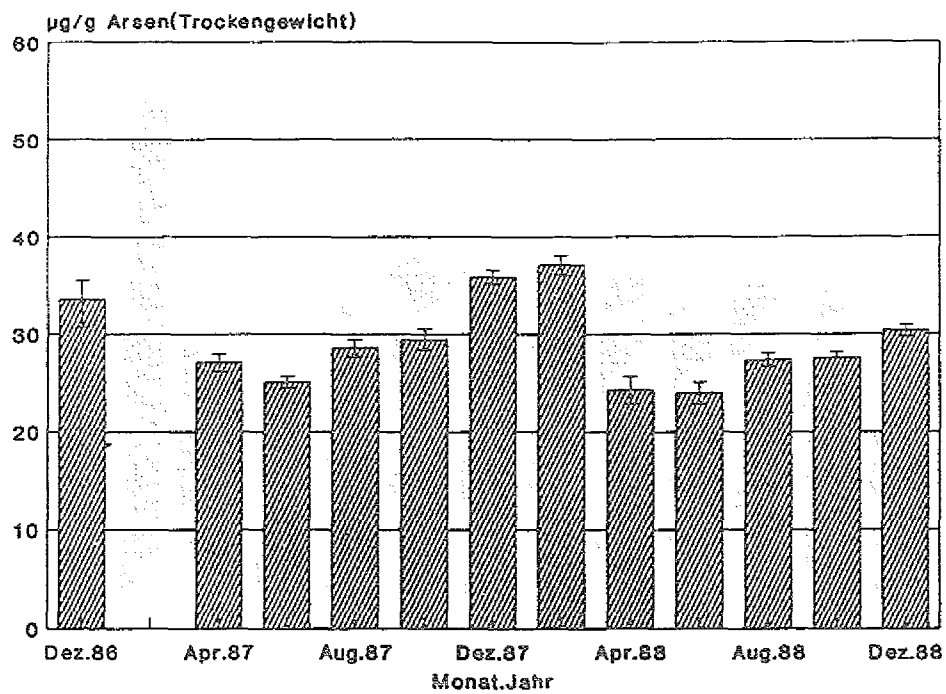


Abb. 49: Betrachtung der Totalarsengehalte in Algen über 2 Jahre Probenahme an der Stelle Kugelbake (Cuxhaven), für zwei verschiedene Arten dargestellt.



3 Nordstrand

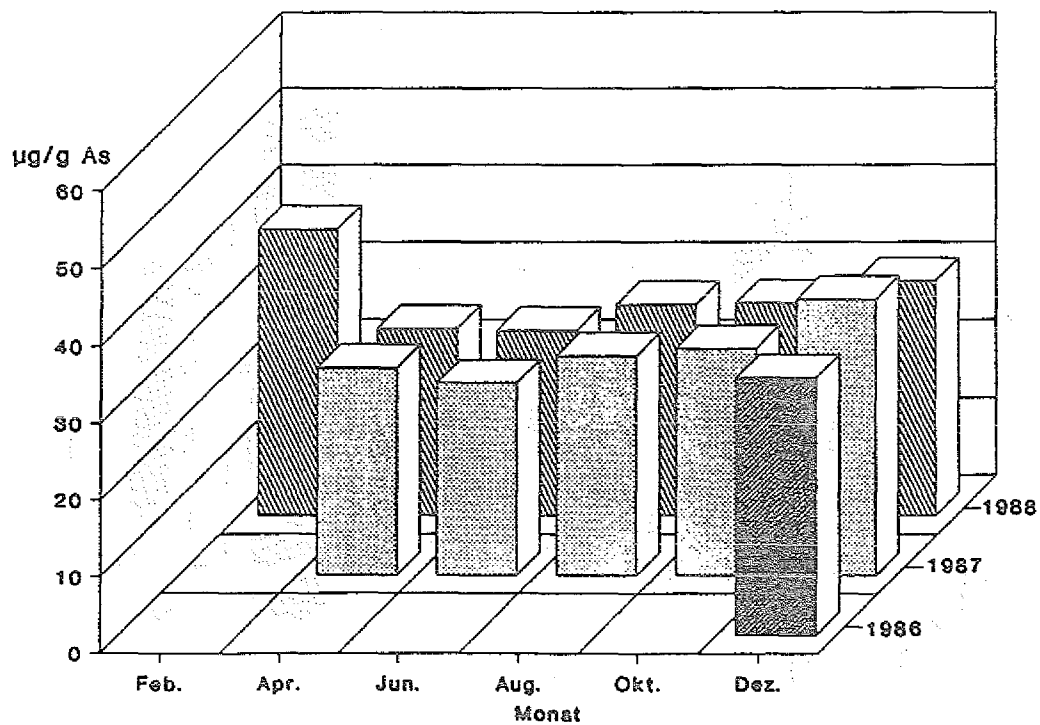
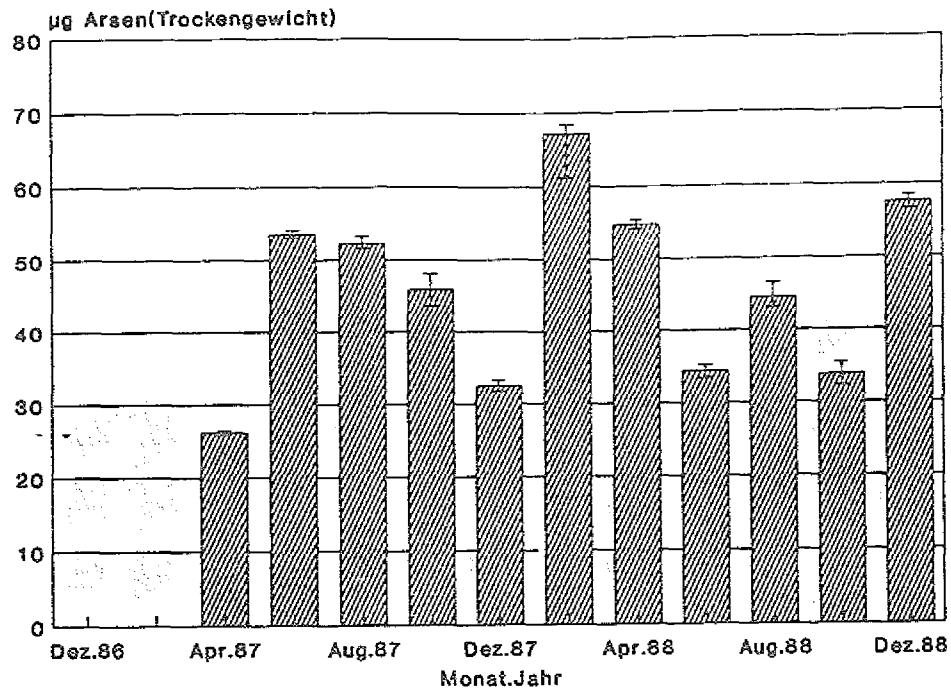


Abb. 50: Betrachtung der Totalarsengehalte in Algen über 2 Jahre Probenahme an der Stelle Nordstrand, für zwei verschiedene Arten dargestellt.



4 Sylt-List

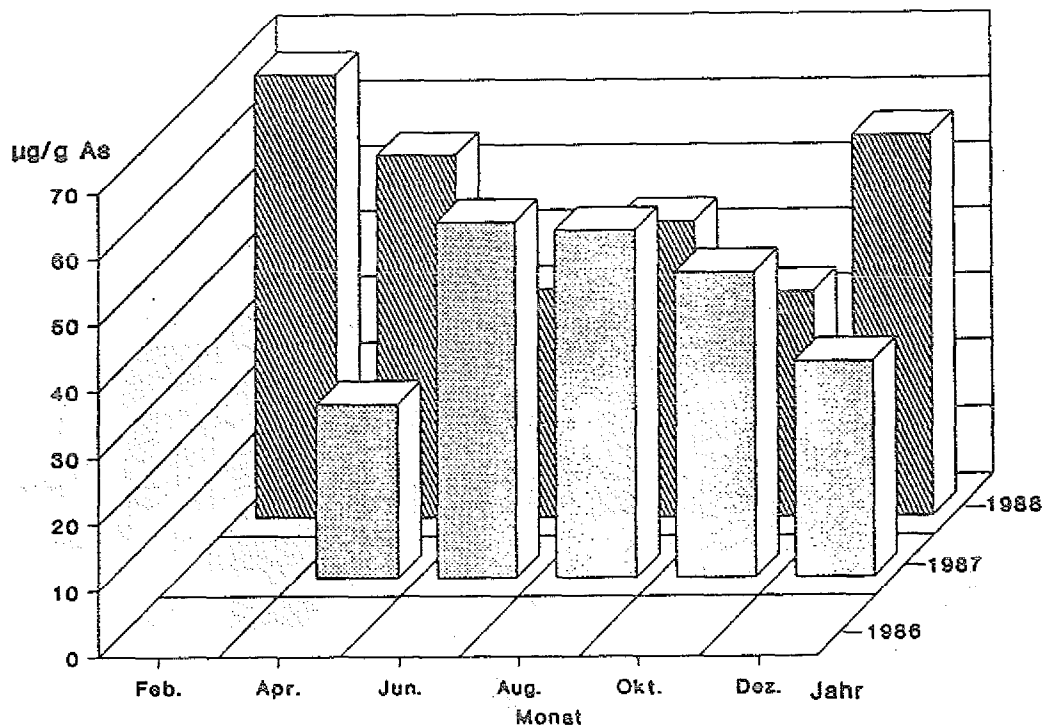


Abb. 51: Betrachtung der Totalarsengehalte in Algen über 2 Jahre Probenahme an der Stelle List (Sylt), für zwei verschiedene Arten dargestellt.

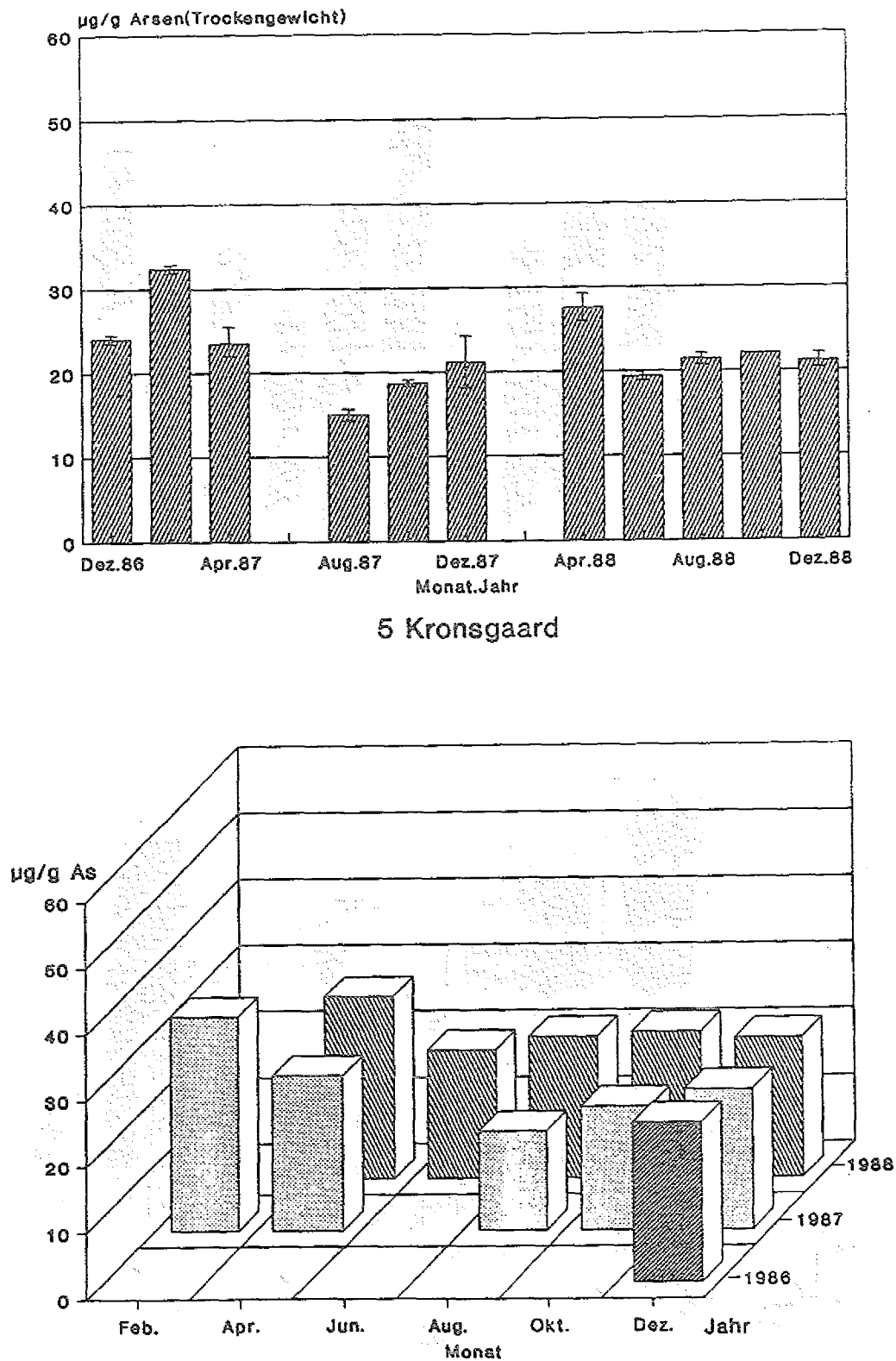
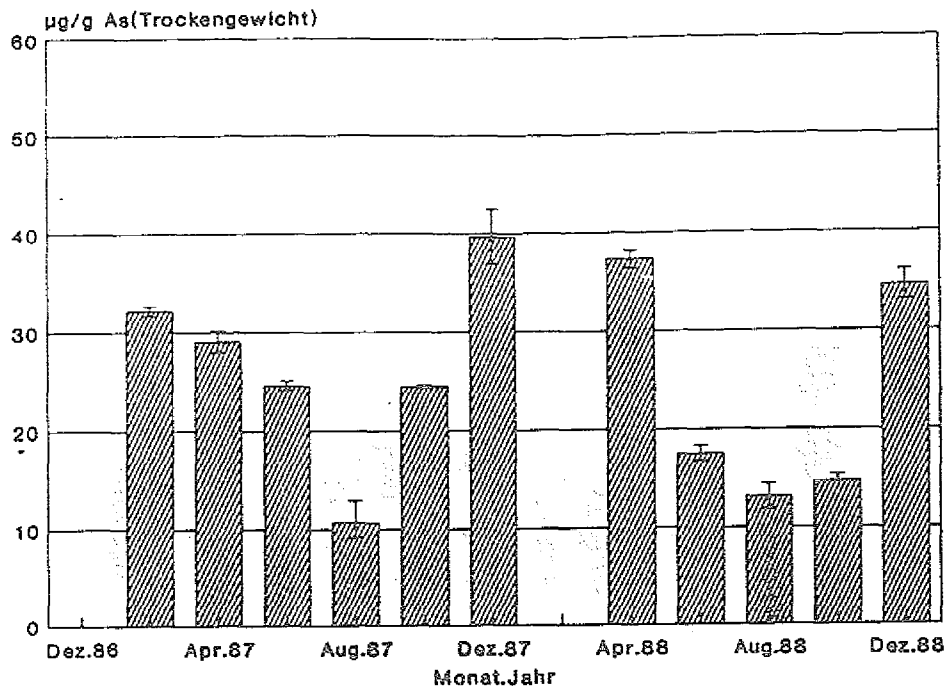


Abb. 52: Betrachtung der Totalarsengehalte in Algen über 2 Jahre Probenahme an der Stelle Kronsgaard, für zwei verschiedene Arten dargestellt.



6 Kiel-Strände

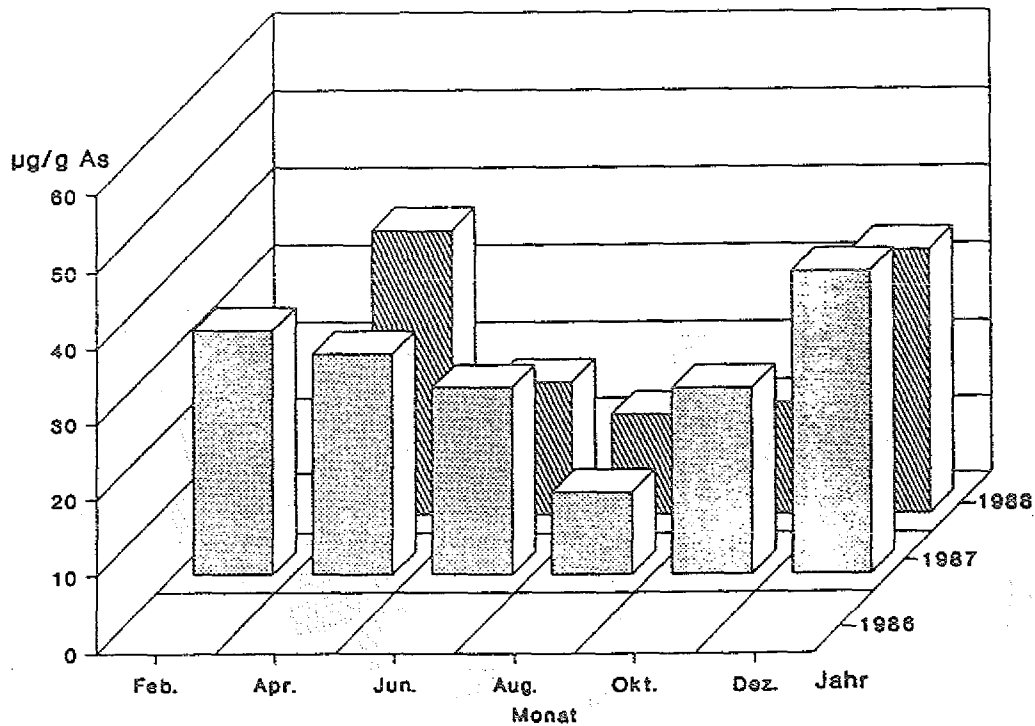
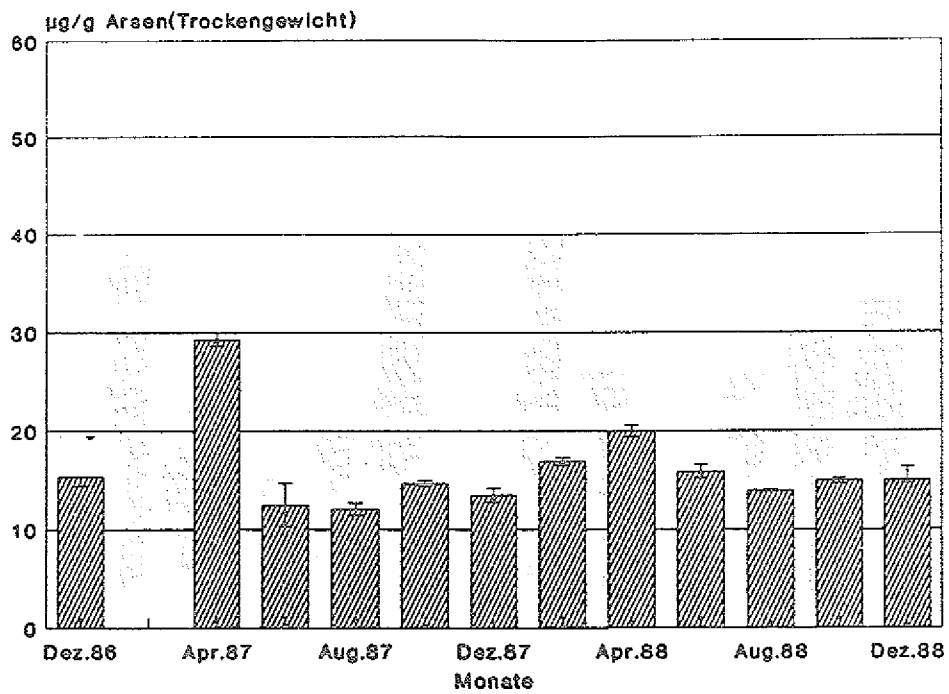


Abb. 53: Betrachtung der Totalarsengehalte in Algen über 2 Jahre Probenahme an der Stelle Strände (Kiel), für zwei verschiedene Arten dargestellt.



1 Eckwarderhörne

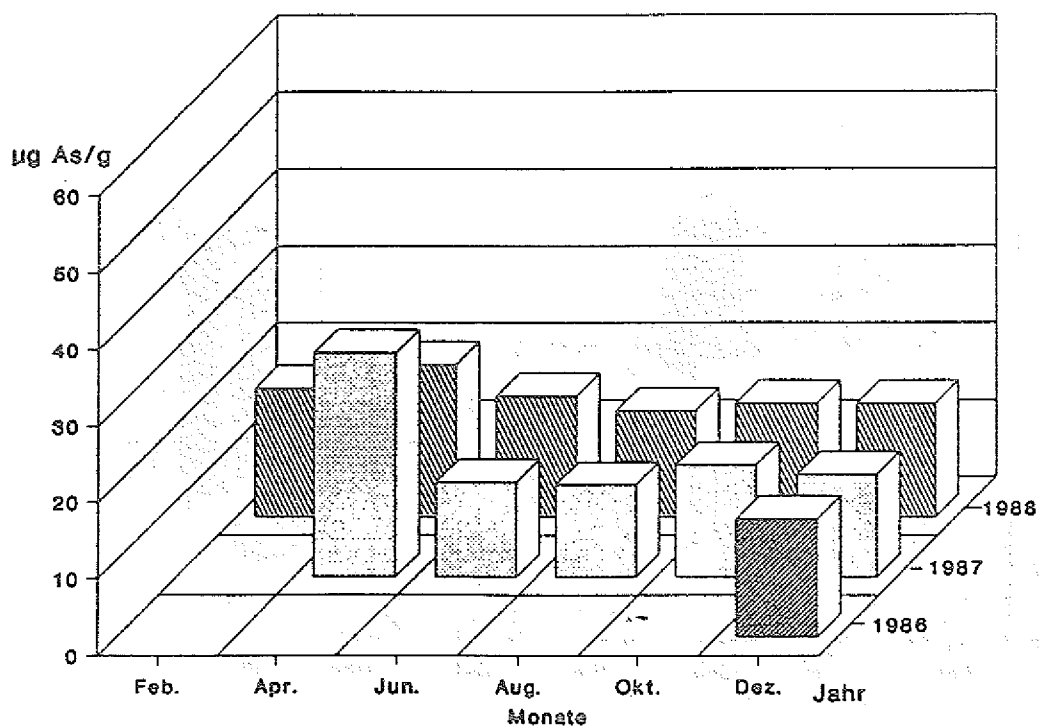


Abb. 54: Betrachtung der Totalarsengehalte in Muscheln über 2 Jahre Probenahme an der Stelle Eckwarderhörne, für zwei verschiedene Arten dargestellt.

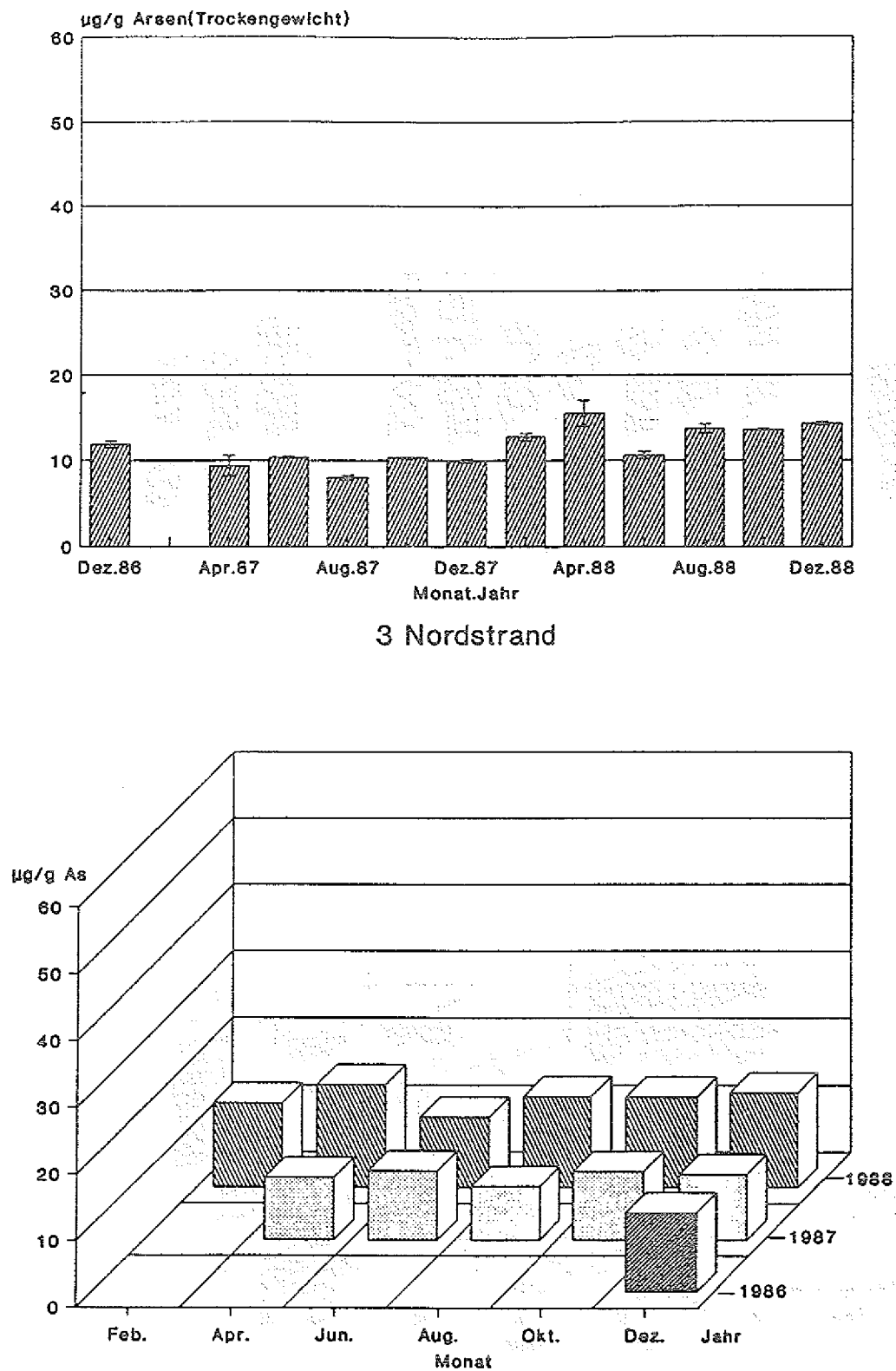
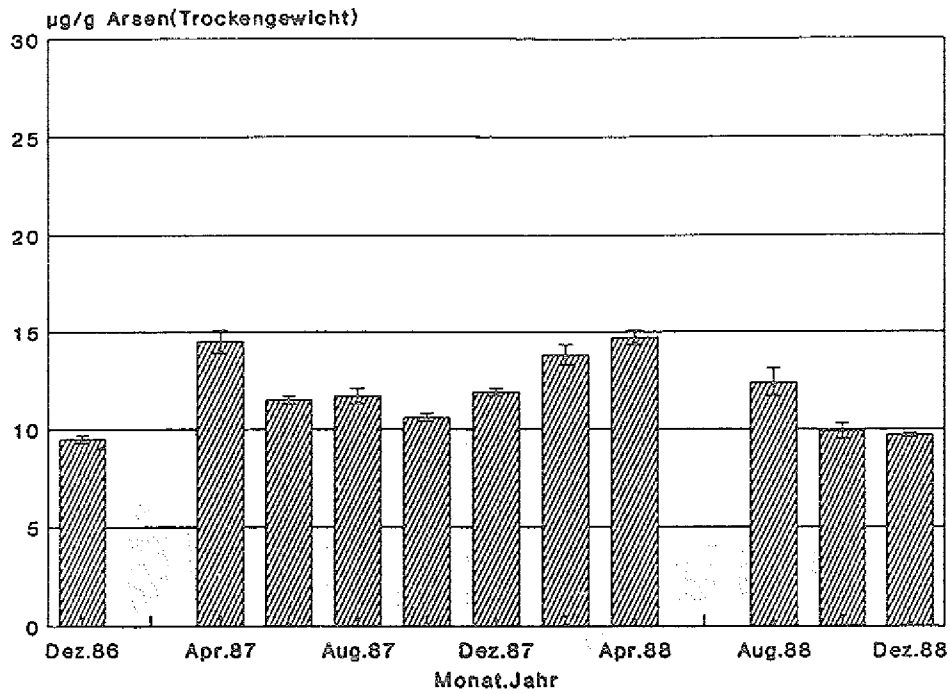


Abb. 55: Betrachtung der Totalarsengehalte in Muscheln über 2 Jahre Probenahme an der Stelle Nordstrand, für zwei verschiedene Arten dargestellt.



4 Sylt-List

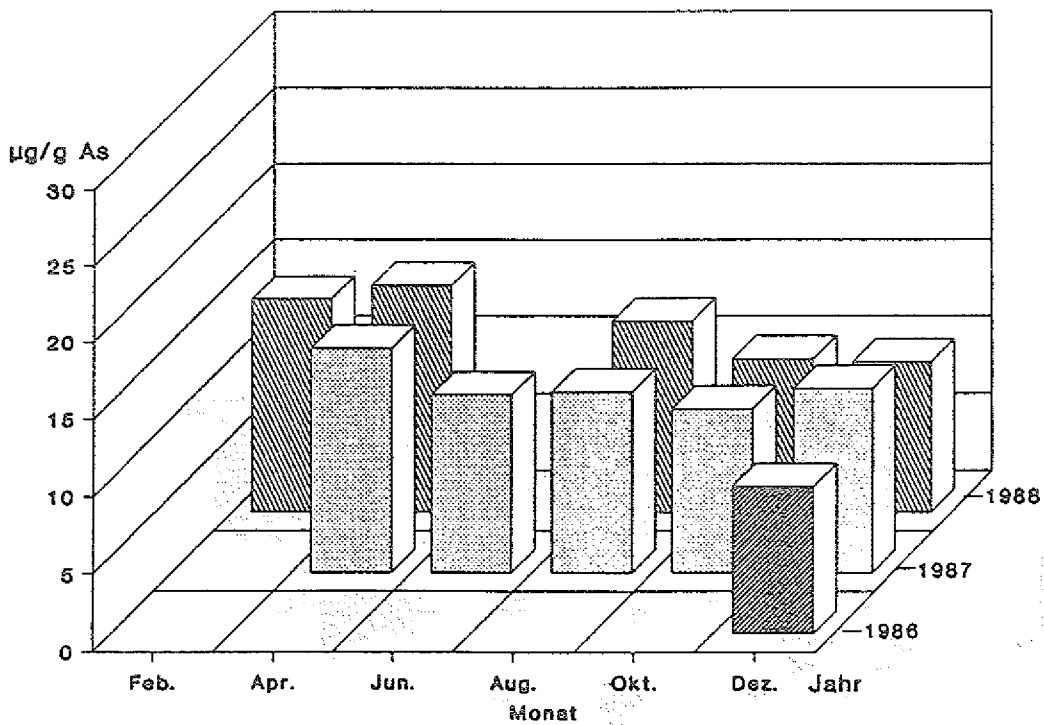
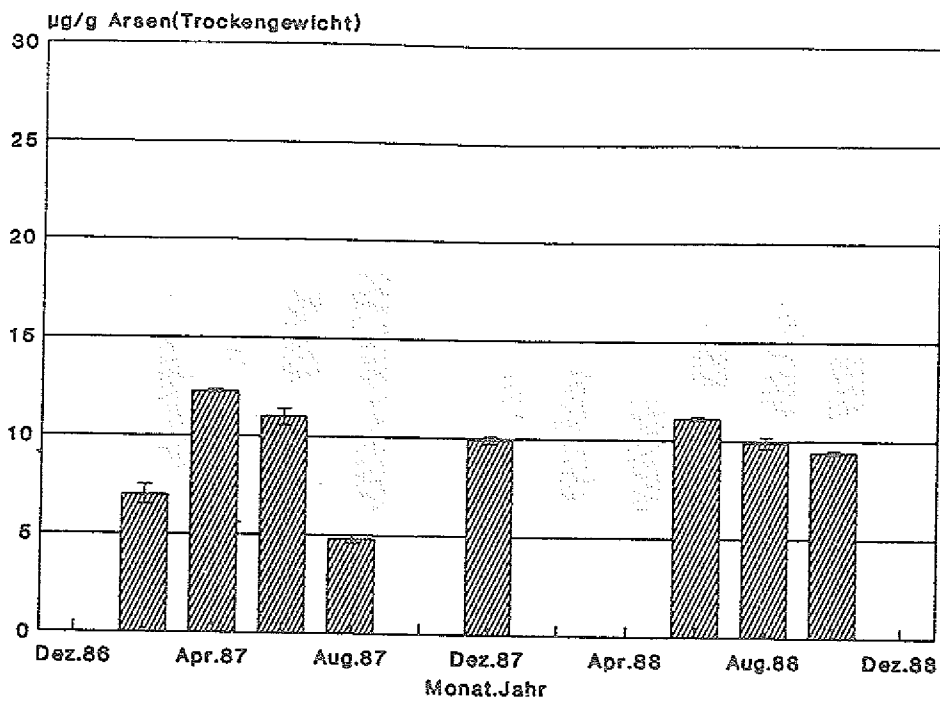


Abb. 56: Betrachtung der Totalarsengehalte in Muscheln über 2 Jahre Probenahme an der Stelle List (Sylt), für zwei verschiedene Arten dargestellt.



5 Kronsgaard

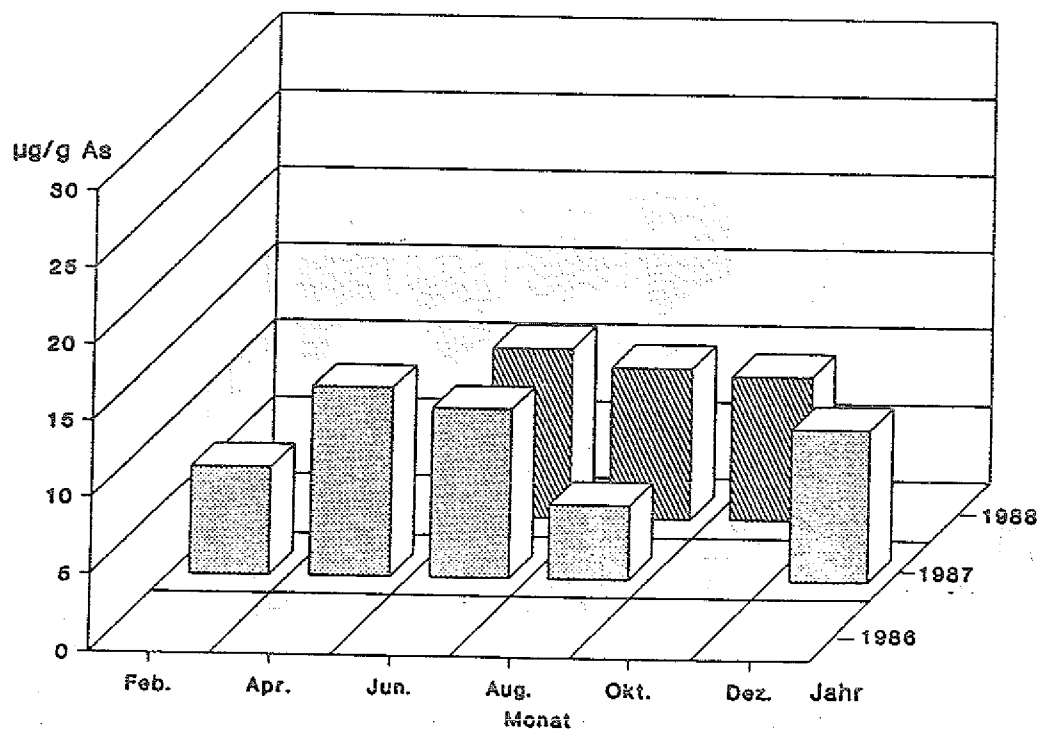


Abb. 57: Betrachtung der Totalarsengehalte in Muscheln über 2 Jahre Probenahme an der Stelle Kronsgaard, für zwei verschiedene Arten dargestellt.

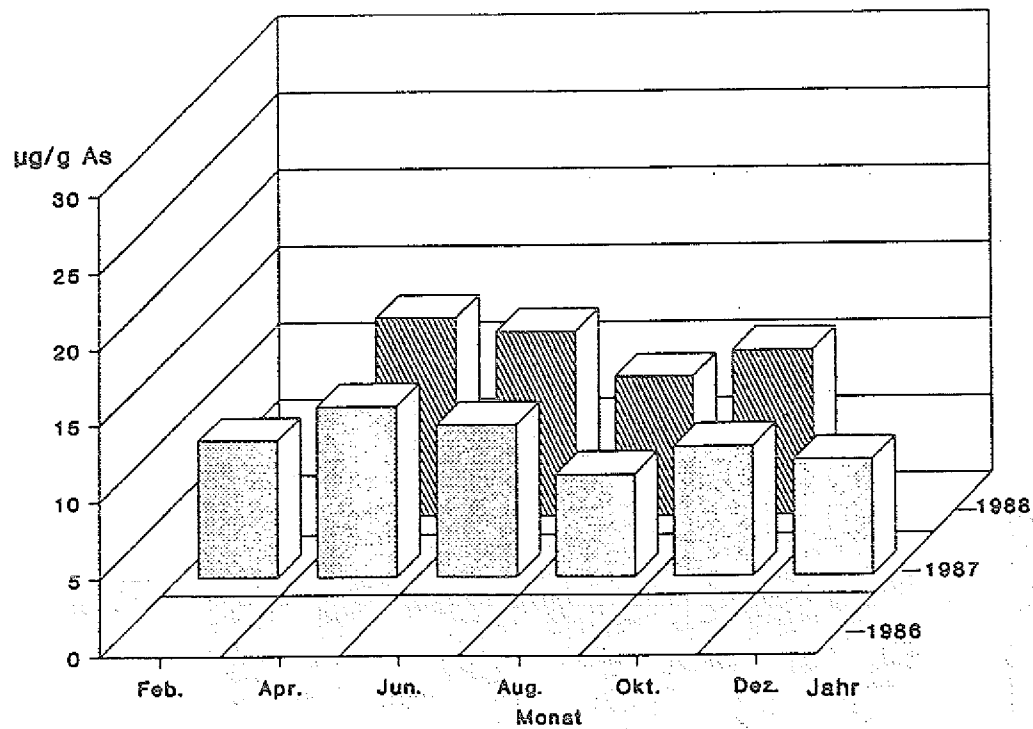
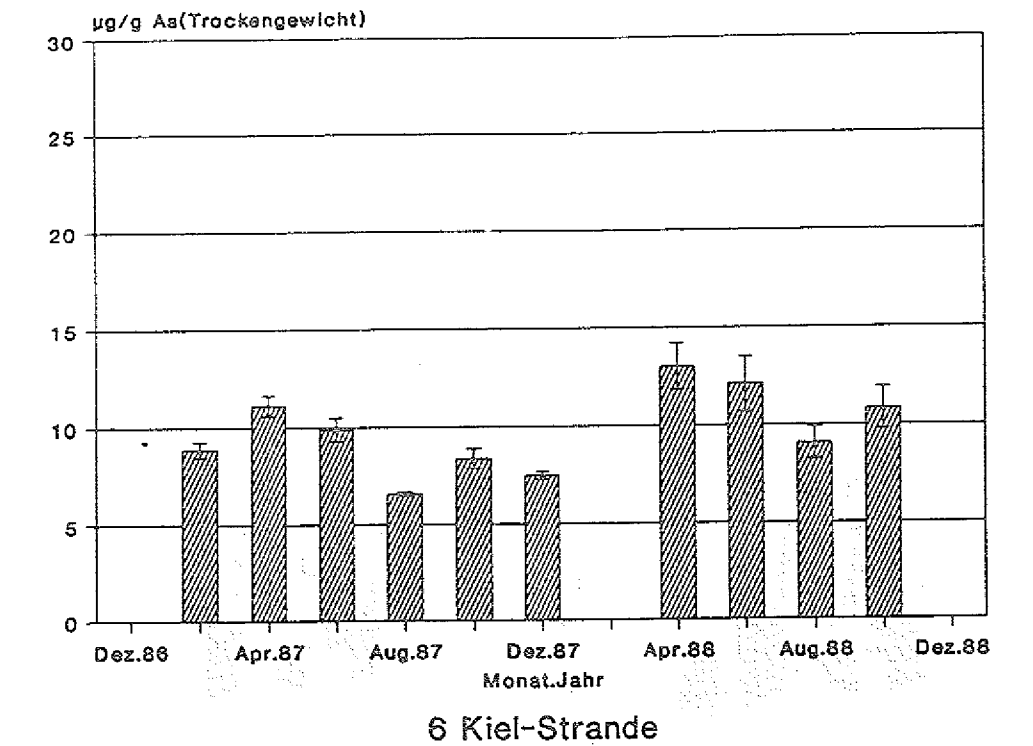


Abb. 58: Betrachtung der Totalarsengehalte in Muscheln über 2 Jahre Probenahme an der Stelle Strände (Kiel), für zwei verschiedene Arten dargestellt.

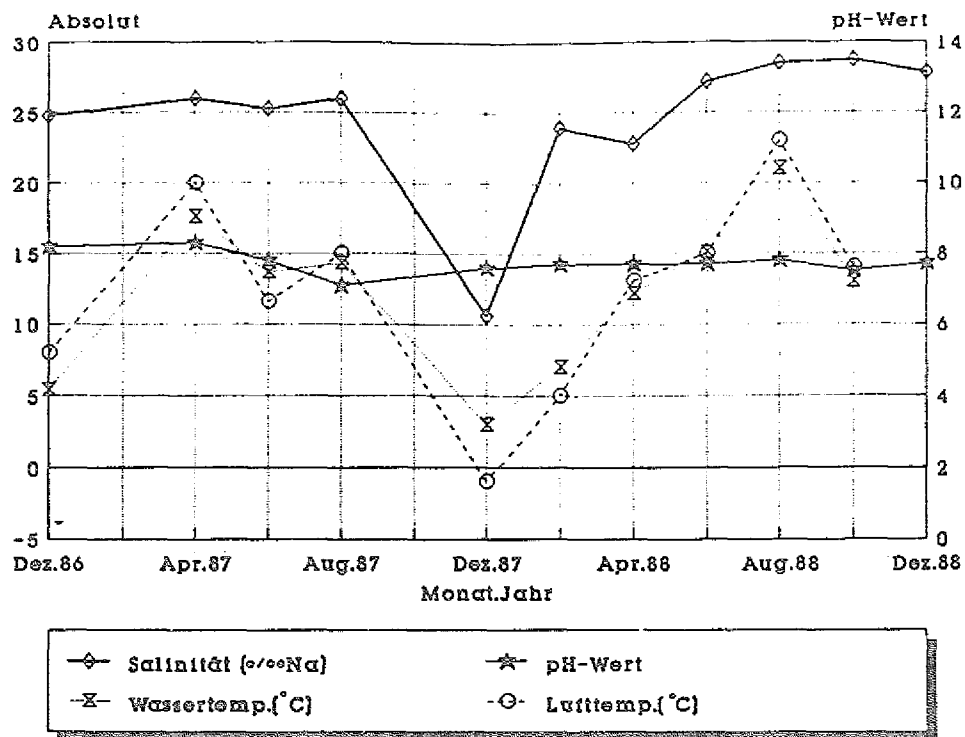


Abb. 59: Betrachtung der Probenahmeparameter Salinität, pH-Wert, Luft- und Wassertemperatur über 2 Jahre Probenahme an der Stelle Eckwarderhörne.

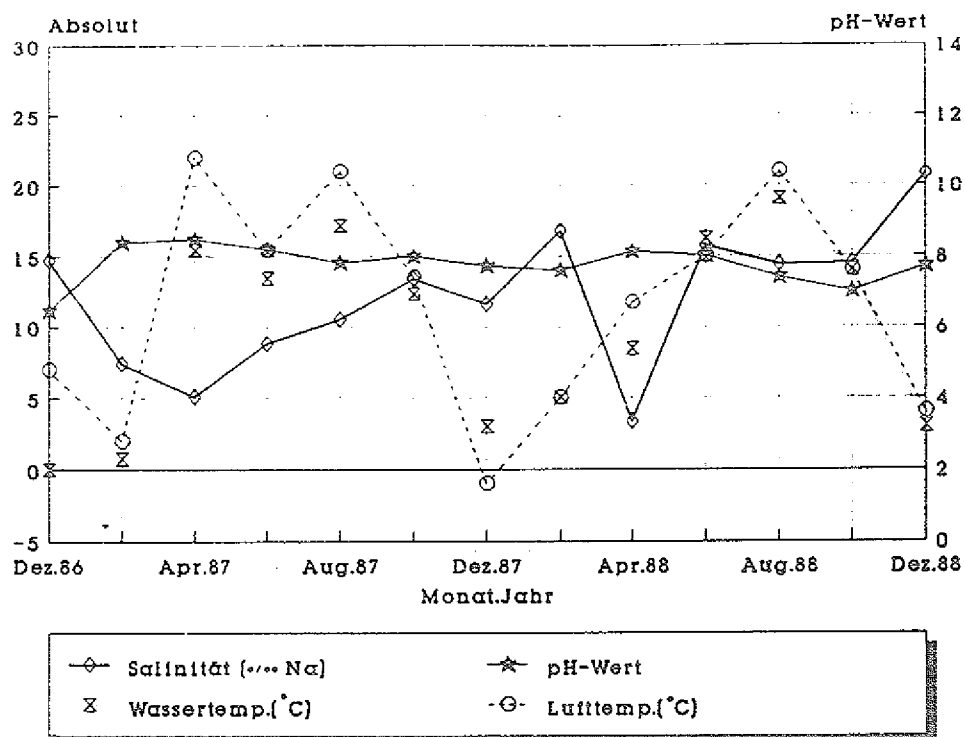


Abb. 60: Betrachtung der Probenahmeparameter Salinität, pH-Wert, Luft- und Wassertemperatur über 2 Jahre Probenahme an der Stelle Kugelbake (Cuxhaven).

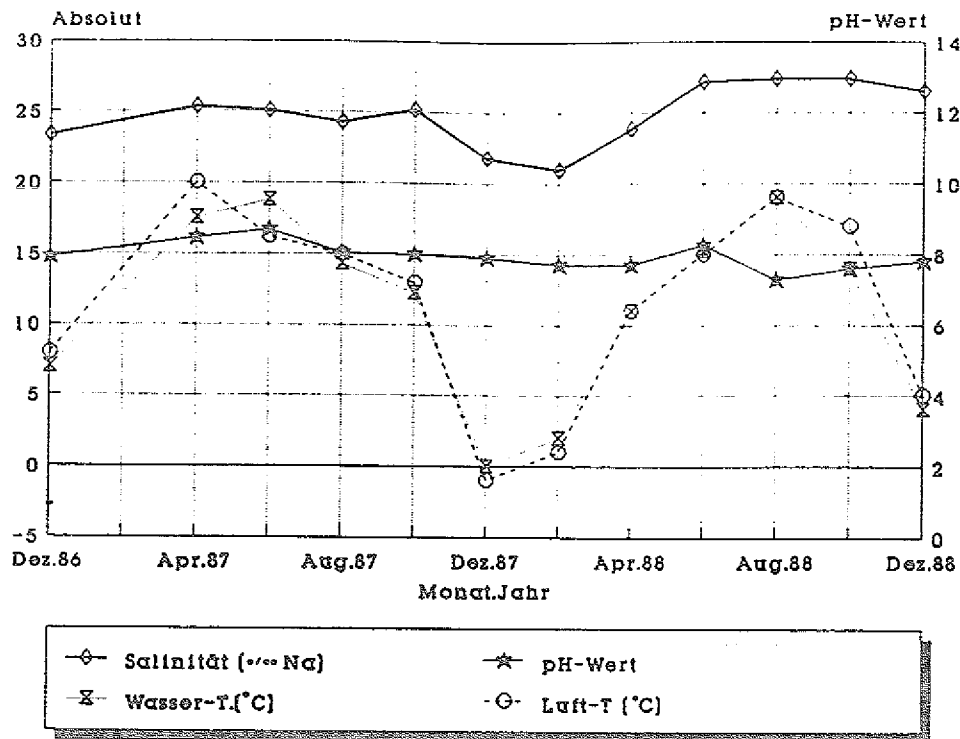


Abb. 61: Betrachtung der Probenahmeparameter Salinität, pH-Wert, Luft- und Wassertemperatur über 2 Jahre Probenahme an der Stelle Nordstrand, für zwei verschiedene Arten dargestellt.

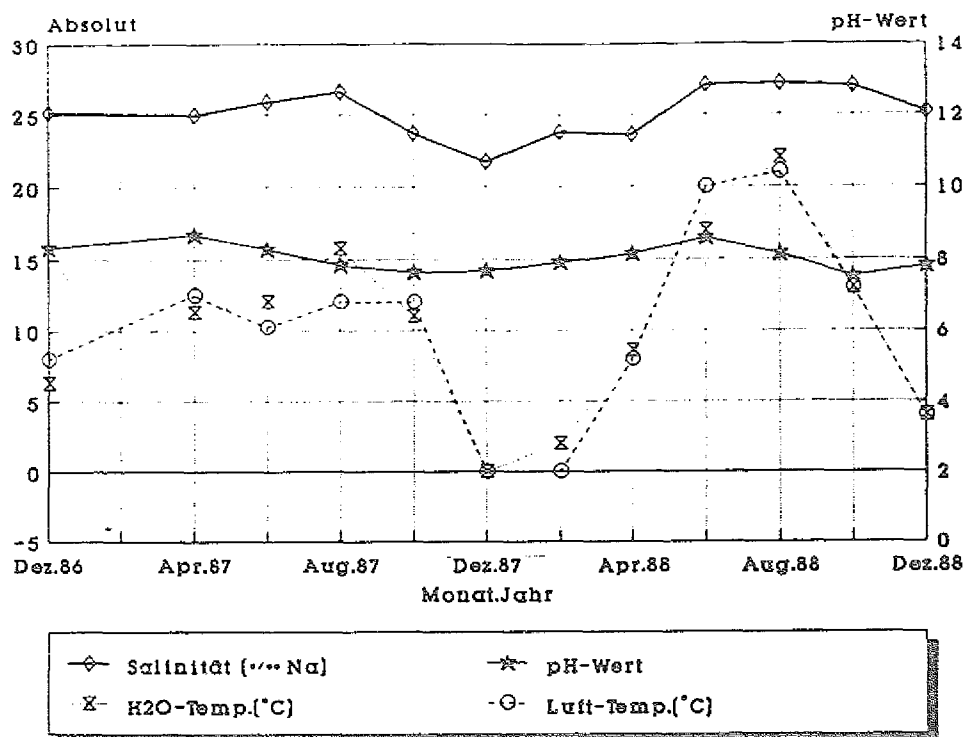


Abb. 62: Betrachtung der Probenahmeparameter Salinität, pH-Wert, Luft- und Wassertemperatur über 2 Jahre Probenahme an der Stelle List (Sylt)

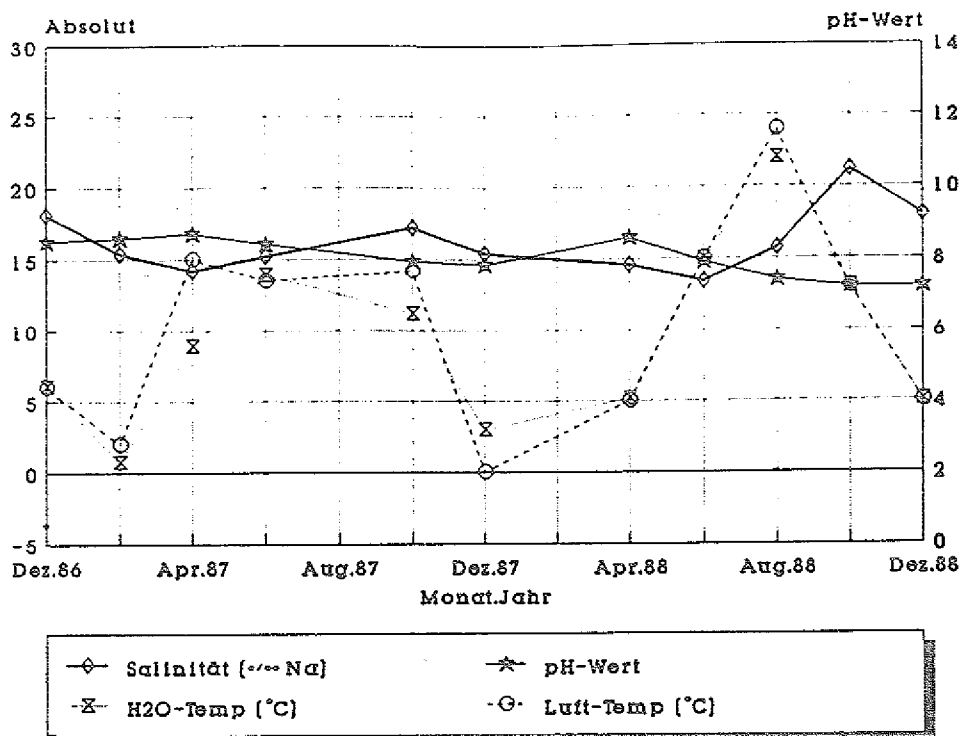


Abb. 63: Betrachtung der Probenahmeparameter Salinität, pH-Wert, Luft- und Wassertemperatur über 2 Jahre Probenahme an der Stelle Kronsgaard

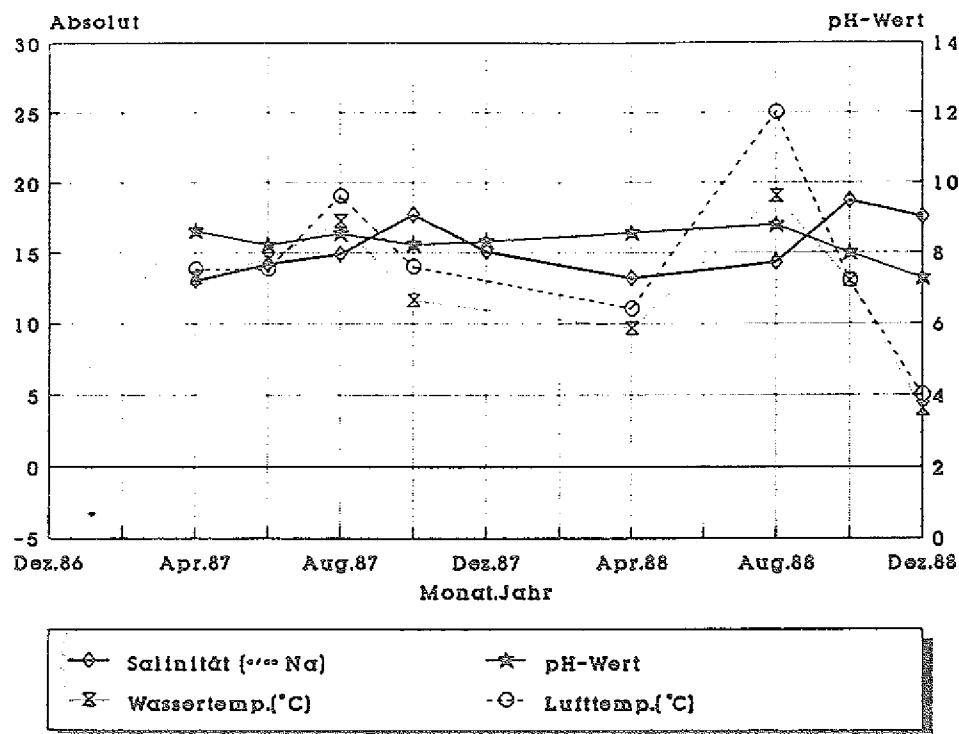


Abb. 64: Betrachtung der Probenahmeparameter Salinität, pH-Wert, Luft- und Wassertemperatur über 2 Jahre Probenahme an der Stelle Strande (Kiel)

Datum

--	--	--

ALGENPROBEN für Schwermetallanalysen

Anzahl

--

Aussehen: frisch grün
braun lang
viele Blasen

viele hellgrüne Spitzen
keine hellgrüne Spitzen

anhaftende Tiere:

braun lang
braun lang
viele Blasen

viele
viele
viele

vereinzelt
vereinzelt
vereinzelt

sind zu entfernen: leicht
schwer

Wasserhöhe über Algenfuß

--

 m

Probenbezeichnung

--

--

--

Verpackung:

Al-Folie
Glasflasche

PE-Flasche
PE-Tüte

Essenträger
sonstige

Transport:

in Wasser
-140°C

+4°C
-18°C

Vor der Verpackung:

durch die Zentrifuge
oder naß verpackt

ungefähre Lageskizze:Bemerkungen:

PROBENDATENBLATT

lfd.Nr.

Probenahmeort : _____

Datum

Probenahmezeit : _____

<u>Wetter</u>	: Regen	☐	Schnee	☐	Hagel	☐
	Nieselregen	☐				
	bewölkt	☐	bedeckt	☐	trocken	☐
	sonnig	☐				
<u>Sicht</u>	: Nebel	☐	diesig	☐	klar	☐
<u>Wind</u>	: stürmisch	☐	böig	☐	windig	☐
	windstill	☐				

Wetterbericht:

Windstärke	☐	Windrichtung	☐
d.h. ablandig	☐	anlandig	☐

Temperatur:

Luft	☐ °C	Wasser	☐ °C
------	-----------------------------	--------	-----------------------------

Wasser :

aufgewühlt	☐	klar	☐	Schwebeteilchen	☐
		treibende Pflanzenteilchen			☐
Treibgut	☐	z.B. _____			

Wellen :

Über 1m	☐	0,5-1m	☐	unter 0,5m	☐
wellig	☐	ruhig	☐		

Boden:

steinig	☐	sandig	☐	schlammig	☐
nicht sichtbar	☐				
stark bewachsen	☐	wenig bewachsen	☐	kahl	☐
nicht sichtbar	☐				

Menschen : viele ☐ wenig ☐ keine ☐

Tiere : viele ☐ wenig ☐ keine ☐

Arten: _____

Boote : viele ☐ wenig ☐ keine ☐

Arten: _____ Entfernung _____ m.

sonstige Angaben zum Probenahmeort:

Campingplätze	☐	Brachland	☐	Industrieanlagen	☐
Hafengebiete	☐	Mülldeponien	☐	millit. Einricht.	☐
Anlegestelle	☐	Kläranlagen	☐	Landwirtschaft	☐
Bauernhöfe	☐	Rohre im Wasser	☐	sonstiges _____	

liegen andere Daten
zur Wetterlage vor ☐

Anlage ☐ Stück

WASSERPROBEN:

Voltametrie

--

 Anzahl

--

 dazu Filter

--

 mit

--

 ml über das Filter
 angesäuert

--

 mit

--

 ml

--

Hg-Bestimmung :

--

 Anzahl

--

 angesäuert: vorher

--

 mit

--

 ml HNO₃
 nachher

--

As-Bestimmung :

--

 Anzahl

--

 filtriert

--

--

 ml
 unfiltriert

--

 angesäuert: vorher

--

 mit

--

 ml HCl
 nachher

--

Entfernung vom Trocknen:

--

 m
 Wassertiefe :

--

 m

ungefähre Lageskizze:

Probenbezeichnung:

Voltametrie

--

 dazu Filter

--

 Hg-Bestimmung

--

 As-Bestimmung

--

Probenverpackung:	Glas	PE	PTFE	Filterdöschen
Voltametrie				
Hg-Bestimmung				
As-Bestimmung				

Probentransport:	offen	+4°C	-18°C	-140°C
Voltametrie				
Hg-Bestimmung				
As-Bestimmung				

Bemerkungen:

MUSCHELPROBEN für die Schwermetallanalyse

Ortbeschreibung:

Steine, künstlich angelegt

Steine, natürliche

Holzpfähle, verwittert

Holzpfähle, neu

Anzahl der Proben

Angestelle, Holz

Angestelle, Stahl

Bootsbetrieb, rege

Bootsbetrieb, selten

nur Muscheln

Gemisch Schnecken-Muscheln

Populationsdichte der Muscheln ca

ca

Tiere/10cm³

Tiere/m³

Größe

von

cm

bis

cm

Wasserhöhe über Entnahmestelle

m

Entfernung zur Wasserprobenahme

m

ungefähre Lageskizze:

entnommene Muschelanzahl

Größe

von

cm

bis

cm

durch Schütteln gereinigt:

direckt verpackt:

Verpackung:

Al-Folie

PE-Flasche

Essenträger

Glas

PE-Tüte

sonstige

Probenbezeichnung

am Entnahmeort seziert

Probenbezeichnung

Transport:

in Wasser

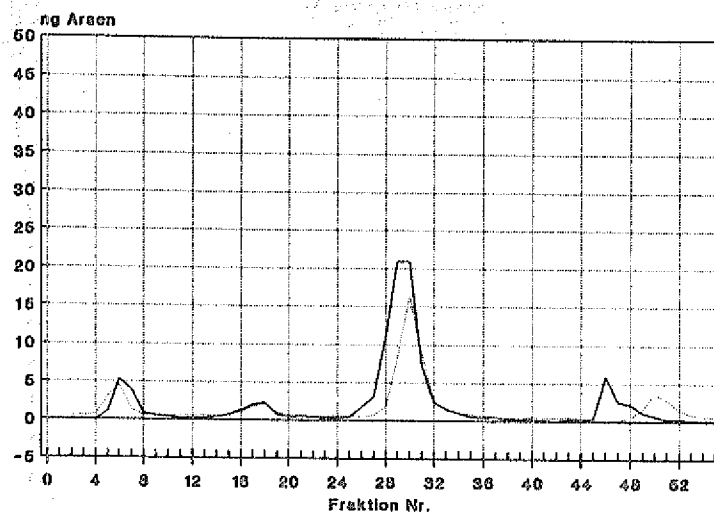
+4°C

-18°C

-140°C

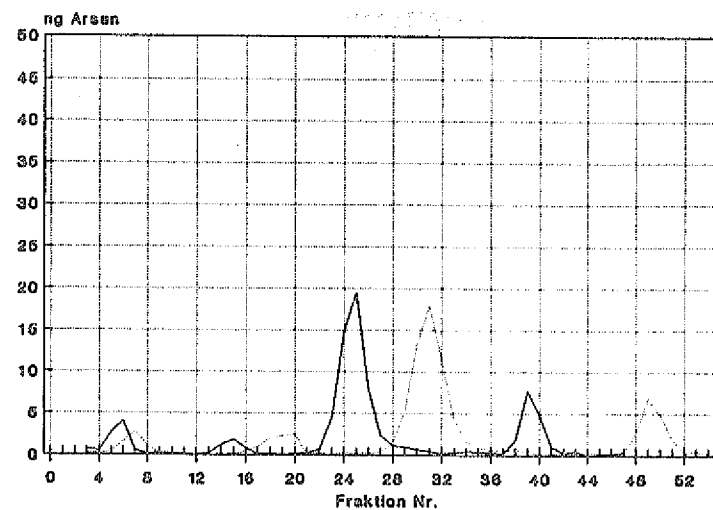
Bemerkungen:

Chromatogramm 1
Algen Nordstrand
Probenahme April 1987



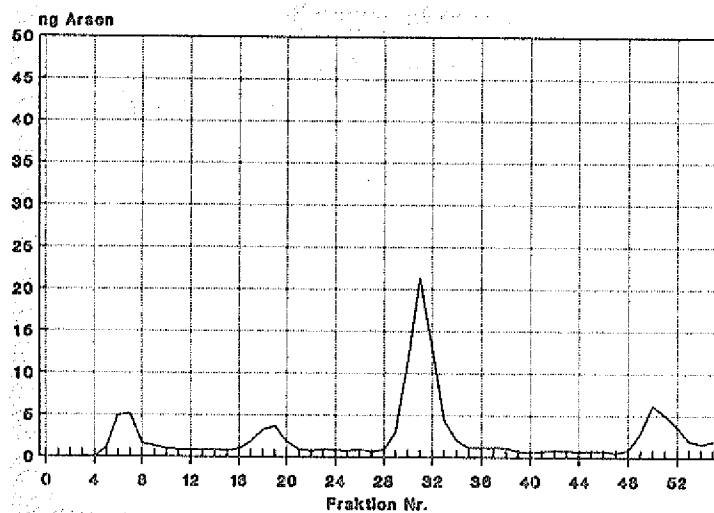
Chromatogramm 1

Chromatogramm 2
Algen Nordstrand
Probenahme Juni 1987



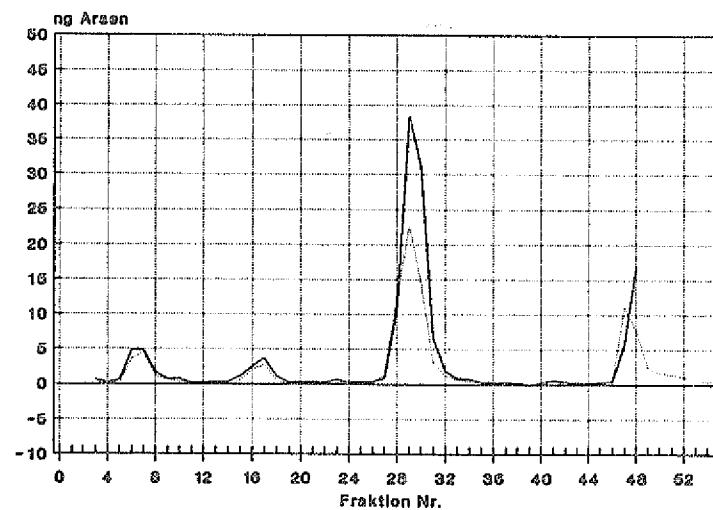
Chromatogramm 2

Chromatogramm 3
Algen Nordstrand
Probenahme August 1987



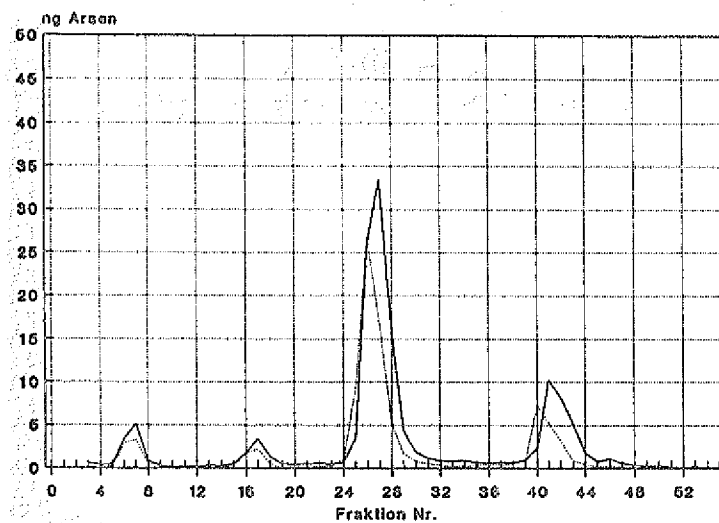
Chromatogramm 3

Chromatogramm 4
Algen Nordstrand
Probenahme Oktober 1987



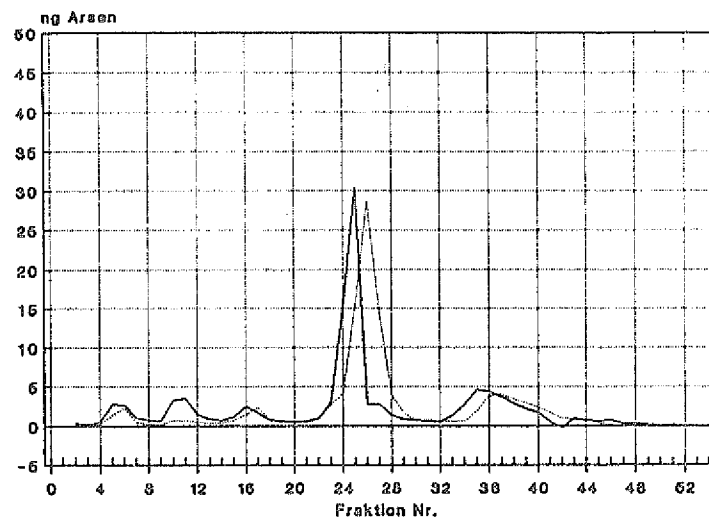
Chromatogramm 4

Algen Nordstrand
Probenahme Dezember 1987



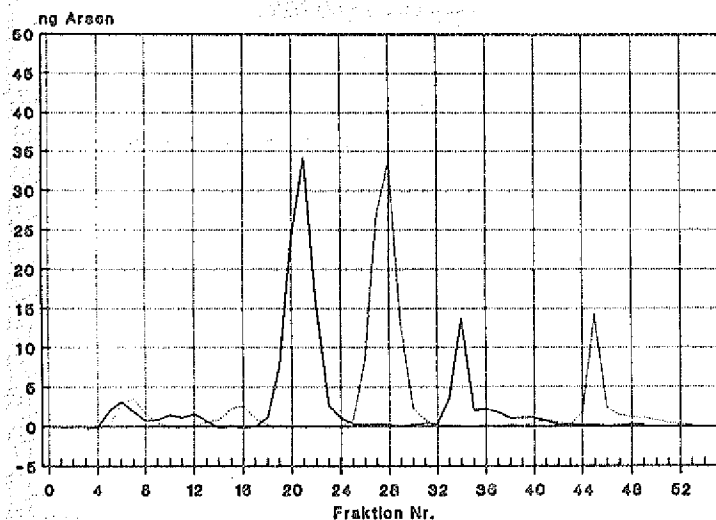
Chromatogramm 5

Algen Nordstrand
Probenahme Februar 1988



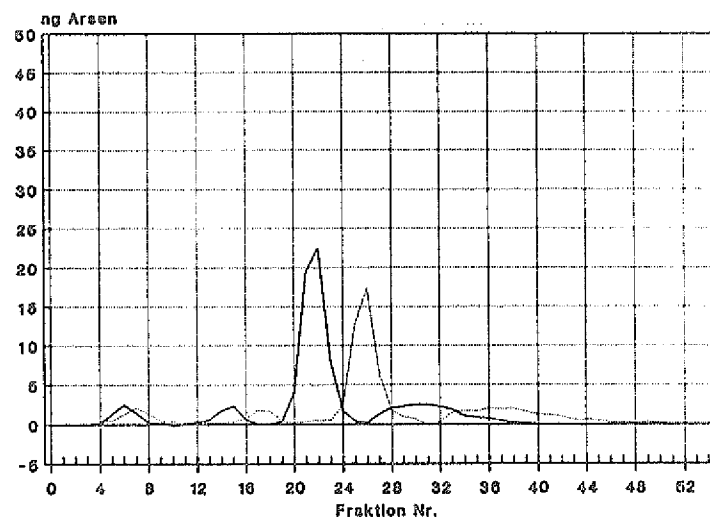
Chromatogramm 6

Algen Nordstrand
Probenahme April 1988



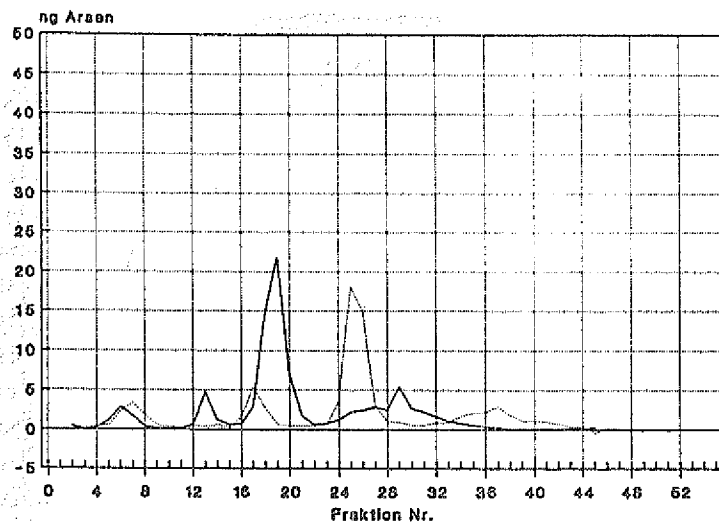
Chromatogramm 7

Algen Nordstrand
Probenahme Juni 1988



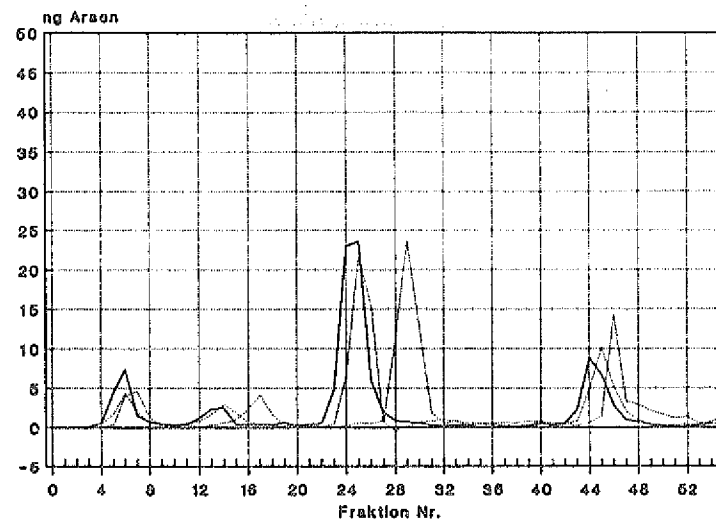
Chromatogramm 8

Algen Nordstrand
Probenahme August 1988



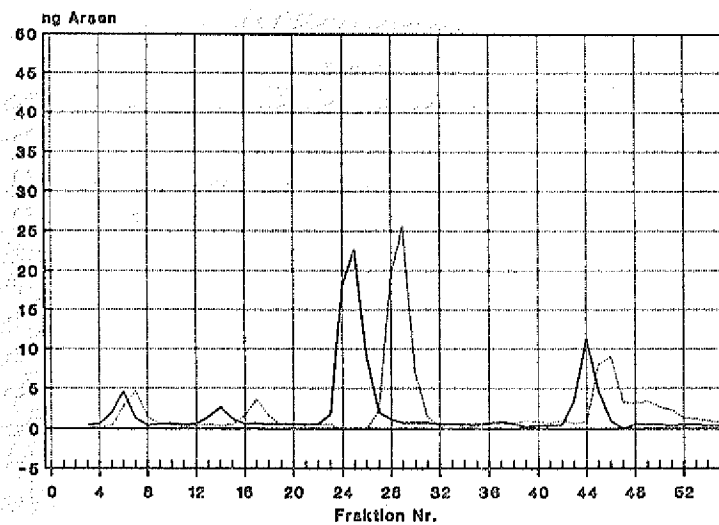
Chromatogramm 9

Algen Nordstrand
Probenahme Oktober 1988



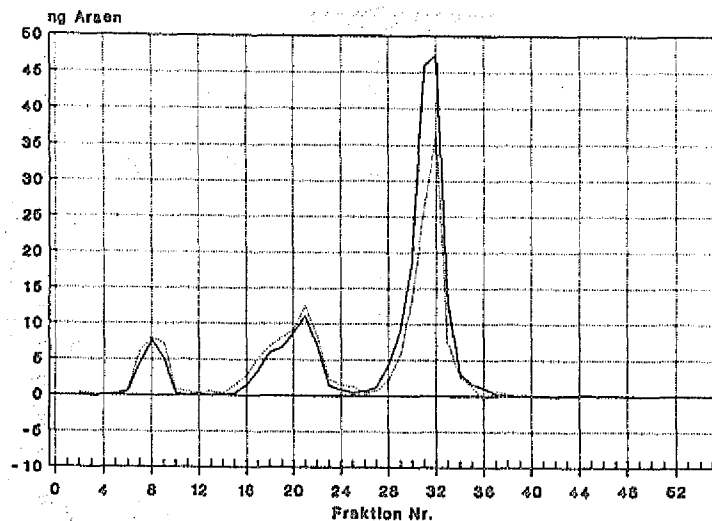
Chromatogramm 10

Algen Nordstrand
Probenahme Dezember 1988



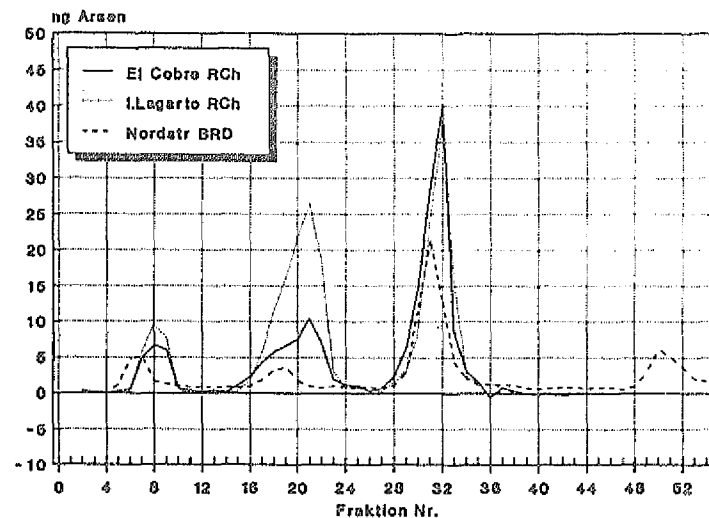
Chromatogramm 11

Algen El Cobre (R de Ch)
Probenahme Dezember 1987



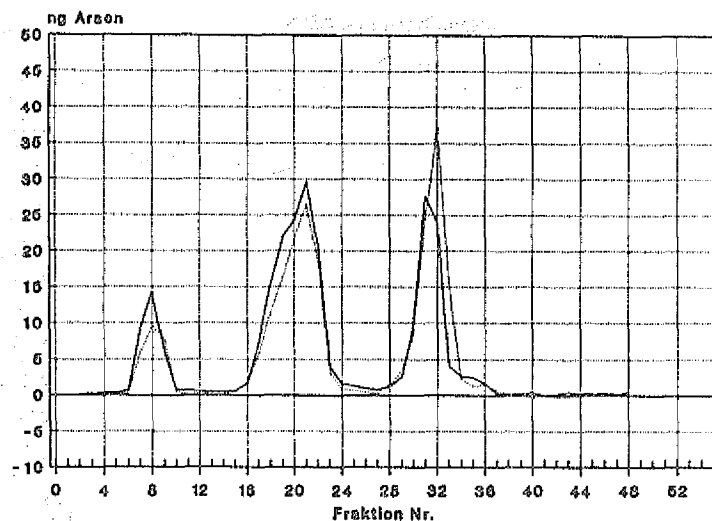
Chromatogramm 12

VERGLEICH-ARSENSPETIATION
Algen (RCh; BRD)



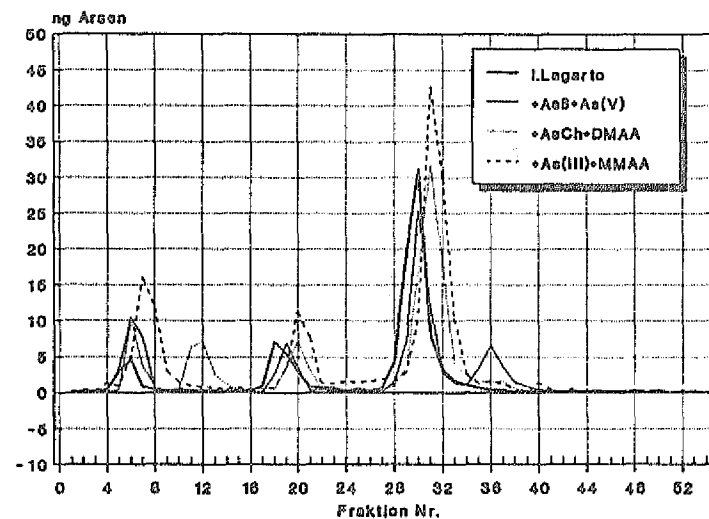
Chromatogramm 13

Algen Isla Lagarto (R de Ch)
Probenahme Dezember 1988



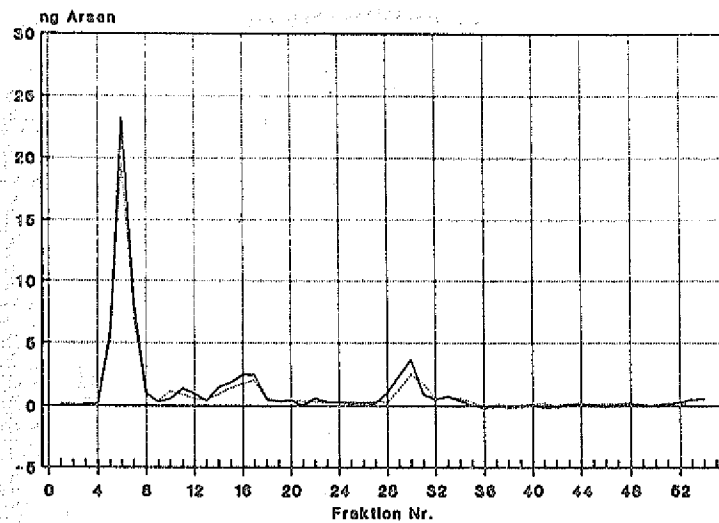
Chromatogramm 14

PEAKS IDENTIFICATION
Algen I. Lagarto + Arsenverbindungen



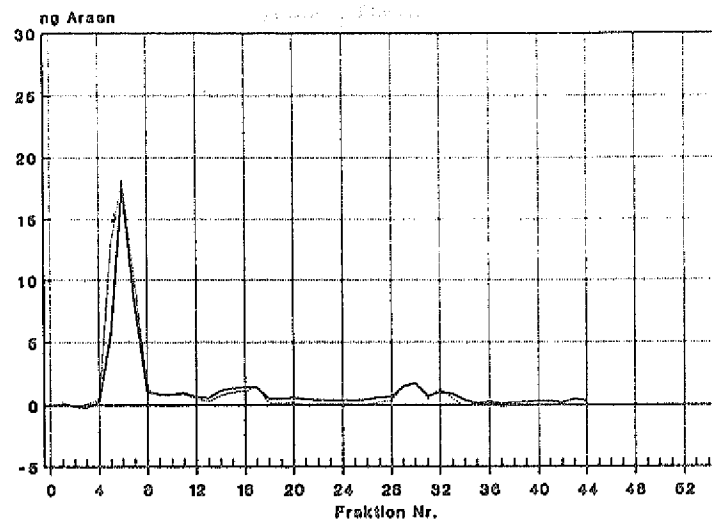
Chromatogramm 15

Muscheln Nordstrand
Probenahme April 1987



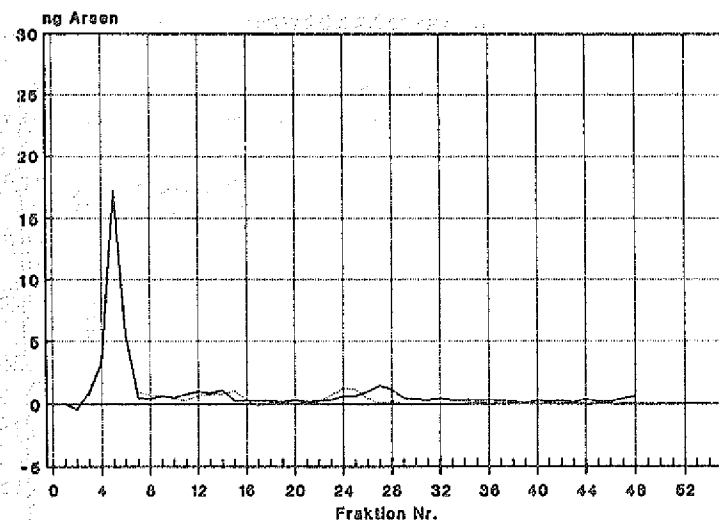
Chromatogramm 16

Muscheln Nordstrand
Probenahme Juni 1987



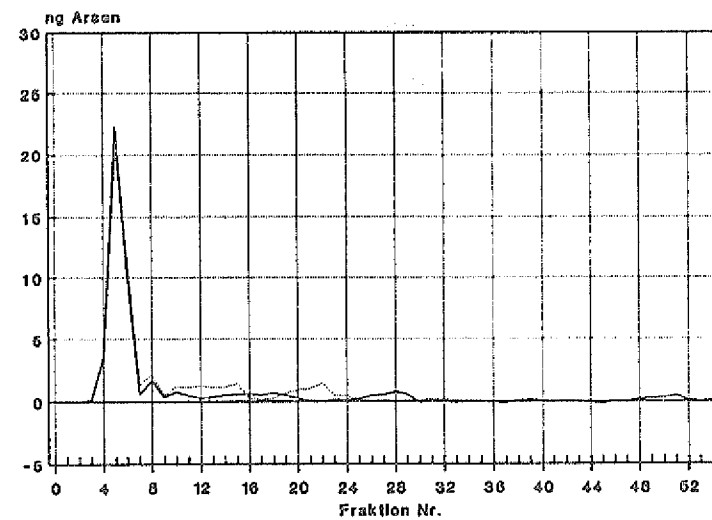
Chromatogramm 17

Muscheln Nordstrand
Probenahme August 1987



Chromatogramm 18

Muscheln Nordstrand
Probenahme Oktober 1987



Chromatogramm 19