

## Schnellverfahren für den Aufschluß von größeren Mengen an Biomaterial zur analytischen Erfassung von Schwermetallspuren

E. Scheubeck\* und A. Nielsen

Forschungslaboratorien der Siemens AG, Postfach 3240, D-8520 Erlangen

G. Iwantscheff

Förrenbacher Str. 32, D-8500 Nürnberg-Laufamholz

### A Rapid Decomposition Process for Large Samples of Biological Materials and Its Use in the Determination of Trace Quantities of Heavy Metals

**Summary.** A 20 g sample of biological material with a water content of 70–80% was pre-dried in a closed pressure vessel and thereafter burnt in oxygen. All traces of metallic poisons, which are present in the starting sample, find their way quantitatively into a solution consisting of the condensates from drying and combustion. The time required for decomposition is less than 30 min. Mercury, cadmium, lead and arsenic in amounts ranging from 50–250 ppb resp. in amounts of 1–5 µg can be detected with a recovery rate of 80–90%.

**Zusammenfassung.** Ein Verfahren zum Aufschluß von Biomaterial wird beschrieben. Dabei können 20 g einer Probe mit einem Wassergehalt von 70–80% in weniger als 30 min aufgeschlossen werden. Man trocknet die Probe in einem geschlossenen Druckgefäß und verbrennt anschließend in Sauerstoff. Die zu erfassenden Schwermetallspuren liegen in einer Lösung vor, die im wesentlichen aus dem Kondenswasser der Probe und den Verbrennungsprodukten der organischen Matrix besteht. Quecksilber, Cadmium, Blei und Arsen in Konzentrationen von 50–250 ppb bzw. im Bereich von 1–5 µg können mit einer Wiederfindungsrate von 80–90% erfaßt werden.

**Key words:** Best. von Schwermetallen in Biolog. Material, Lebensmittel; Spurenanalyse, Aufschlußverfahren

### 1. Einleitung

Die Zerstörung organischer Substanzen durch Säuren [3, 5, 12] oder oxidierende Lösungsgemische [11] dauert bei größeren Probeneinwaagen längere Zeit [7] und ergibt durch die erforderlichen relativ großen Mengen

an Chemikalien erhöhte Blindwerte. Außerdem sind je nach apparativem Aufwand mehr oder weniger große Verluste an leicht flüchtigen Verbindungen, z.B. bei Quecksilber- und Arsenspuren zu erwarten [10]. Andere Aufschlußverfahren, wie z.B. die Verbrennung der organischen Matrix in Sauerstoff unter verschiedenen Bedingungen [2, 8] vermeiden zwar zum Teil die Nachteile der Naßveraschung, sie sind jedoch nur für den Aufschluß von Probenmengen bis zu einigen Gramm geeignet. Die seit langem bekannte Verbrennung von organischen Substanzen in Sauerstoff unter erhöhtem Druck [1] ist in der ursprünglichen Form für die Anforderungen der Spurenanalyse, z.B. bei der Lebensmittelüberwachung, nicht unmittelbar einsetzbar. Ein wichtiges Kriterium für eine vollständige und ruhige Verbrennung einer größeren Probenmasse ist der Wassergehalt des Probenmaterials. Während zu feuchte Proben unvollständig verbrennen, ergibt zu trockenes Material ebenfalls einen erhöhten Rückstand an Kohlenstoff, da bei einer sehr kurzen Verbrennungszeit nicht ausreichend Sauerstoff an die Probe nachgebracht werden kann. Außerdem können trockene und fein verteilte Proben explosionsartig reagieren.

### 2. Experimentelles

#### 2.1 Erforderliche Chemikalien

Sauerstoff, rein in Druckflaschen; Salpetersäure, suprapur 1+1; bidest. Wasser.

#### 2.2 Apparatives

Druckaufschlußgerät<sup>1</sup>; Sauerstoff in Druckflasche; Meßkolben 100 ml; Meßzylinder 5 ml; Pipette 50 ml; Papierfilter, Schwarzband, 90 mm Ø.

<sup>1</sup> Die Trocknung und der Aufschluß der organischen Substanzprobe erfolgt in einem speziellen Druckaufschlußgerät. Zum Betreiben des Gerätes ist lediglich die übliche Labor-Grundausrüstung mit einem Strom- und Wasseranschluß erforderlich. Eine ausführliche Beschreibung des Aufbaues und der Funktionsweise des Druckaufschlußgerätes wird zur Veröffentlichung in dieser Zeitschrift vorbereitet

\* Address for correspondence

### 2.3 Versuchsdurchführung

**2.3.1 Probenmaterial.** Die Leistungsfähigkeit des Aufschlußverfahrens wurde in erster Linie an Proben von Schweinefleisch und Rindfleisch sowie an Schweineiere, Schweineleber und Rinderleber geprüft. Dabei wurde handelsübliches Material eingesetzt. Übliche Schwankungen im Fettgehalt blieben unberücksichtigt. Zur Feststellung der Wiederfindungsrate wurde die Grundbelastung des Probenmaterials an Schwermetallen ermittelt. Die jeweiligen Einwaagen aus der homogenisierten Probe wurden dann, vor Beginn des Aufschlußverfahrens, mit definierten Zusätzen an den interessierenden Metallspezies Hg, Pb, As und Cd versehen. Bei unbekanntem Alterungszustand des Probenmaterials ist die Bestimmung des Wassergehaltes erforderlich. Das Verfahren hat sich bisher außerdem beim Aufschluß der folgenden Substanzen bewährt: Orangen, Malfarben für Kinder, Würstwaren, pulverförmige Kinderfertiernahrung, Kondensmilch, Bienenhonig, Ölsardinen, Fruchtsaftlikör, Speiseöl und Tintenfische sowie bei Nahrungsmitteln auf vorwiegend vegetarischer Basis, bei Stuhlproben und bei menschlichem Gewebe.

**2.3.2 Arbeitsvorschrift.** Das zerkleinerte Probenmaterial (*a*) wird in einer speziellen Schale aus Quarz eingewogen und mit einem Papierfilter bedeckt (*b*). Die Schale wird auf eine Heizeinrichtung im Druckaufschlußgerät gestellt und das Gerät geschlossen. Mit Hilfe der Heizeinrichtung trocknet man die Probe etwa 10 min lang (*c*). Anschließend füllt man das Druckgefäß mit Sauerstoff bis zu einem Druck von 35–40 bar und zündet elektrisch mit einem Zünddraht (*d*). Nach dem Verbrennen der Probe läßt man 7 min lang absorbieren (*e*). Dann wird durch ein Entlüftungsventil Druckausgleich hergestellt. Nach Öffnen des Gefäßes gibt man 1 ml HNO<sub>3</sub> (1+1) und 5 ml Wasser in die Probenschale und erhitzt 40 s lang mit der Heizeinrichtung. Der Schaleninhalt (*f*) wird mit dem Kondensat am Boden des Aufschlußgefäßes vereinigt. Dann saugt man mit einer Pipette die Lösung ab und füllt im Meßkolben auf 100 ml auf. Die Erfassung der Metallspezies kann mit einer geeigneten analytischen Methode, z.B. photometrisch mit Dithizon [4], mit AAS [6, 9] oder nach einer Anreicherungs-fällung<sup>2</sup> mit RFA erfolgen.

#### Bemerkungen zur Arbeitsvorschrift

*a)* Bei einem Wassergehalt der Probe von 70–80 %, z.B. bei frischem Fleisch, kann die Einwaage 20 g betragen; bei niedrigerem Feuchtigkeitsgehalt wird entsprechend weniger eingewogen. Die zum Aufschluß gebrachte organische Masse soll 5–6 g nicht überschreiten. Das Probenmaterial kann auf jede geeignete Weise zerkleinert werden.

*b)* Organproben, wie z.B. zerkleinerte Leber oder Niere, trocknen gleichmäßiger und verbrennen besser, wenn die Probe auf ein Rundfilter am Boden der Quarzschale eingebracht und mit einem zweiten Rundfilter bedeckt wird.

*c)* Die Trocknungstemperatur und -zeitdauer ist auf den Feuchtigkeitsgrad des Probenmaterials abzustimmen. In jedem Fall muß die Probe vor der Verbrennung einen Restfeuchtegehalt von 10–20 % besitzen. Wasserärmere Proben, z.B. reines Fett, werden mit einer entsprechenden Menge dest. Wasser vermengt. Die Verbrennung erfolgt dann ohne vorherige Trocknung.

*d)* Die Verbrennung des Probenmaterials wird durch einen »Zündstreifen« aus etwa 5 mm breitem Filtrierpapier eingeleitet.

*e)* In dieser Zeit erfolgt eine gute Absorption der gasförmigen Verbrennungsprodukte am Wassernebel im Aufschlußgefäß. Gegen Ende der Zeit ist außerdem der Wasserdampf im Gefäß weitgehend kondensiert.

*f)* Der Verbrennungsrückstand in der Schale enthält hauptsächlich Salze aus dem Biomaterial und einen Teil der zu erfassenden Schwermetallspezies.

2 Veröffentlichung in Vorbereitung

**Tabelle 1.** Ausbringversuche nach verschiedener Verweilzeit der Metallspezies im Druckaufschlußgefäß. Es wurden jeweils 5 µg vorgelegt. Bestimmung der Elemente erfolgte photometrisch. Hg, Pb, Cd mit Dithizon, As nach dem Molybdänblau-Verfahren

Element	Verweilzeit im Druckaufschlußgefäß (min)	gefunden (µg)	(%)
Hg	5	4,7	94
	5	5,0	100
	5	4,7	94
	30	4,7	94
	30	4,3	86
	30	4,5	90
	60	4,8	96
As	5	4,9	98
	5	5,2	104
	5	4,9	98
Cd	1	4,1	82
	1	5,0	100
	1	4,1	82
Pb	5	4,5	90
	5	4,55	91
	5	5,0	100
	5	4,55	91

### 3. Störungen

#### 3.1 Einfluß des Gefäßmaterials

Zur Untersuchung des Verhaltens der zu erfassenden Metallspezies gegenüber dem Gefäßmaterial wurden entsprechend verdünnte, schwach salpetersaure Metallsalzlösungen in das Druckaufschlußgefäß gebracht. Dabei wurde die gesamte innere Oberfläche benetzt. Nach verschiedenen Verweilzeiten wurde die Lösung abgesaugt und das Druckaufschlußgefäß mit tridest. Wasser gespült. Nach den in der Tabelle 1 wiedergegebenen Wiederfindungsraten ist unter den Versuchsbedingungen mit keiner Reaktion der interessierenden Metallspezies mit dem Wandmaterial des Aufschlußgerätes, einem hochlegierten Cr/Ni/Mo-Stahl, zu rechnen. Die Bestimmung der ausgebrachten Metallspezies erfolgte photometrisch mit Dithizon.

#### 3.2 Beständigkeit des Gefäßmaterials

Es wurde festgestellt, daß beim Aufschluß von 20 g Fleisch jeweils 10–30 µg Eisen, < 5 µg Nickel und 4 µg Chrom von der Gefäßwandung abgetragen und in die Aufschlußlösung eingebracht werden. Demzufolge können die Elemente Fe, Ni, Cr, Mo und Mn nach diesem Aufschlußverfahren, infolge der nicht ausreichenden Beständigkeit des Gefäßmaterials im Spurenbereich, nicht erfaßt werden.

### 3.3 Druckverlauf

Der übliche Druckverlauf ist am Beispiel der Verbrennung von 20 g Fleisch, nach vorheriger Trocknung im Druckaufschlußgerät, in der Abb. 1 wiedergegeben.

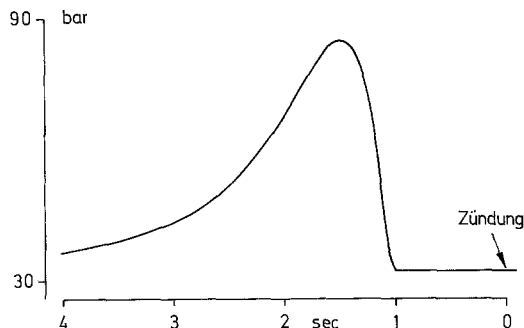


Abb. 1. Druckverlauf beim Aufschluß von 20 g Rindfleisch

Bei unzulässig hohem Druckanstieg wird als Sicherheitseinrichtung des Druckaufschlußgerätes eine Berstscheibe zum Platzen gebracht. Überhöhter Druck entsteht z.B. bei zu hoher Einwaage oder bei zu rascher Verbrennung von zu trockenem Probenmaterial. Sehr fein verteiltes Material, z.B. staubförmige oder mehrlartige Proben, muß vor dem Aufschluß mit Wasser angeteigt und entsprechend getrocknet werden. In jedem Fall muß mit einem Filtrierpapier abgedeckt werden, um ein Verstauben zu vermeiden.

## 4. Meßwerte

### 4.1 Wiederfindungsraten

Für die Ermittlung der Wiederfindungsraten wurden jeweils 20 g Schweinefleisch bzw. Rindfleisch sowie, wegen der höheren Eigenbelastung, je 10 g Rinderleber

**Tabelle 2.** Wiederfindungsraten und Reproduzierbarkeit der Ergebnisse nach Aufschluß verschiedener Matrices. Bei den Zahlenwerten ist ein meßbarer Eigenwert der Proben an den zugegebenen Elementen berücksichtigt

Probe	Hg, As, Pb, Cd zugegeben in µg	Wiederfindungsrate in µg											
		mit AAS				mit Photometrie				mit RFA			
		Hg	As	Pb	Cd	Hg	As	Pb	Cd	Hg	As	Pb	Cd
Rindfleisch	je 5	4,3	4,7	n.b. <sup>a</sup>	n.b.	4,3	n.b.	4,0	4,0	4,2	4,0	4,4	4,4
		4,4	4,3			3,9		5,3	4,0	4,3	4,1	4,3	5,2
		4,0	4,2			4,0		4,6	4,1	4,7	4,6	4,9	4,1
		4,1	4,8							4,4	4,2	4,1	4,8
		4,5	4,2							4,4	4,4	4,8	4,4
	4,7	4,8							4,7	4,3	4,8	5,1	
									4,7	4,1	4,8	5,2	
	je 2	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	1,8	1,6	n.b.	1,63	1,85	1,70
								2,0	1,6		2,09	1,83	1,66
	je 1	0,98	0,98	n.b.	n.b.	0,9	n.b.	0,9	n.b.	n.b.	0,95	0,90	0,95
	0,83	0,90			1,0		n.b.						
	n.b.	0,90											
	0,79	0,86											
Schweinefleisch	je 10	n.b.	n.b.	n.b.	9,6	9,0	n.b.	10,7	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
					9,4	10,2		10,8					
					9,0	9,7		10,7					
					10,0	10,0		10,4					
					9,6	9,2		10,7					
				9,8	9,7		10,4						
	je 5	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	4,5	4,6	4,9	4,9
										4,3	4,3	4,7	4,2
										4,4	4,6	4,7	4,4
										4,6	n.b.	4,7	4,4
									4,6	n.b.	4,6	4,7	
Rinderleber	je 5	4,5	4,3	n.b.	n.b.	5,0	n.b.	n.b.	n.b.	4,1	n.b.	4,8	4,3
		4,3	n.b.			5,3				4,1	n.b.	4,7	n.b.
Schweineleber	je 5	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	4,9	4,8	4,7	4,7
										4,2	4,5	4,2	5,2
										4,5	5,3	4,4	4,8
										4,7	4,7	4,6	4,7
										4,8	4,7	4,7	4,9
								4,7	5,2	4,6	5,1		

<sup>a</sup> Nicht bestimmt

**Tabelle 3.** Bestimmung der Gehalte an Hg, As, Pb und Cd in Schweinefleisch, Rindfleisch, Schweineiere und Rinderleber mit RFA. Konzentrationsangaben in ppb. (n.n. = nicht nachweisbar)

Probe	Hg	As	Pb	Cd
Schweinefleisch <sup>a</sup>	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Rindfleisch	n.n.	n.n.	48	n.n.
	n.n.	n.n.	40	n.n.
	n.n.	n.n.	64	n.n.
	n.n.	n.n.	40	n.n.
	n.n.	n.n.	40	n.n.
Rinderleber	n.n.	n.n.	50	n.n.
	n.n.	n.n.	193	245
Schweineiere	n.n.	n.n.	194	104
	326	34	127	855
	329	17	93	837
	343	30	105	830
	331	22	107	760
	302	34	85	706
	337	29	85	819
	337	16	77	820

<sup>a</sup> 9 Bestimmungen

bzw. Schweineiere mit den Elementen Hg, Pb, Cd und As im Bereich von 1–10 µg dotiert. Nach dem Aufschluß wurden vergleichende Bestimmungen der zugegebenen Elemente mit Atom-Absorptionsspektrophotometrie (AAS), Röntgen-Fluoreszenz-Analyse<sup>3</sup> (RFA) und Absorptionsphotometrie der Dithizonate durchgeführt. In der Tabelle 2 sind die Analyseergebnisse zusammengefaßt.

#### 4.2 Elementspurengehalte in Fleisch- und Organproben

Diese sind in der Tabelle 3 zusammengefaßt. Analyseverfahren RFA.

### 5. Diskussion

Die Reaktionsträgheit des Werkstoffes für das Aufschlußgefäß ist auf eine gute und dichte Passivierung

<sup>3</sup> Nach einer Anreicherungs-fällung

der Oberfläche durch die stark oxidierende Atmosphäre unter den Versuchsbedingungen zurückzuführen. An der Wandung zurückgehaltene Metallspuren konnten auch bei speziellen Untersuchungen nicht in dem hier interessierenden Mengenbereich nachgewiesen werden. Eine Spurenerfassung der Elemente des Gefäßmaterials ist allerdings in Aufschlußproben trotz der geringen Abtragsrate nicht mehr möglich. Für alle übrigen Elemente liegen die Blindwerte sehr niedrig, da für den Aufschluß praktisch keine Chemikalien verwendet werden und ein Einschleppen von Verunreinigungen aus der Umgebung dadurch unterbunden wird, daß sämtliche Arbeitsschritte für den Aufschluß in einem geschlossenen System erfolgen.

Besonderer Dank gebührt für wertvolle Hilfe bei der praktischen Erprobung des Aufschlußverfahrens, für eine kritische Prüfung und viele interessante Hinweise den Herren Dr. Beil und Dr. Weber, Chemische Untersuchungsanstalt der Stadt Nürnberg; Herrn Schaller, Institut für Arbeits- und Sozial-Medizin und Polyklinik für Berufskrankheiten der Universität Erlangen-Nürnberg und den Herren Dr. Forschner und Dr. Wolf, Staatliches Veterinär-Untersuchungsamt, Hannover.

### Literatur

- Berthelot, M.: *Ann. Chim. Phys.* **26**, 555 (1892)
- Gleit, C. E., Holland, W. D.: *Anal. Chem.* **34**, 1454 (1962)
- Hahn, K. J., Tuma, D. J., Quaife, M. A.: *Anal. Chem.* **39**, 1169 (1967)
- Iwantscheff, G.: *Das Dithizon und seine Anwendung in der Mikro- und Spurenanalyse*. Weinheim: Verlag Chemie 1972
- Knapp, G.: *Fresenius Z. Anal. Chem.* **274**, 271 (1975)
- Langmyhr, F. I., Aamodt, I.: *Anal. Chim. Acta* **87**, 483 (1976)
- Menke, H.: *Fresenius Z. Anal. Chem.* **286**, 31 (1977)
- Morsches, B., Tölg, G.: *Fresenius Z. Anal. Chem.* **219**, 61 (1966)
- Orheim, R. M., Bovee, H. H.: *Anal. Chem.* **46**, 921 (1974)
- Roth, F. J.: *J. Assoc. Off. Agric. Chem.* **40**, 302 (1957)
- Sansoni, B., Kracke, W.: *Fresenius Z. Anal. Chem.* **243**, 209 (1968)
- Talvtie, N. A.: *Anal. Chem.* **25**, 119 (1953)

Eingegangen am 12. August 1978