

Peter Fecher, Anton Nagengast

Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit, Erlangen

Gunter Ilgen

Universität Bayreuth, BAYCEER, Chemische Analytik

Einleitung

Die hohe Genotoxizität von $As^{3+/5+}$ im Vergleich zu organischen As-Verbindungen wie Dimethylarsinsäure **DMA** und Monomethylarsonsäure **MMA** erfordert eine spezifische Bestimmung im Reis.

Mit milden Extraktionsmitteln wie Wasser bzw. Wasser/Methanol werden Ausbeuten von 8-80% erreicht, mit Enzymen (Amylase+Protease) und Ultraschall ist die Ausbeute abhängig von Reissorten und Versuchsbedingungen.

Starke Extraktionsmittel wie Trifluoressigsäure (2M), Salzsäure (2M) oder Salpetersäure (68%) verändern $As^{3+/5+}$ durch Oxidation oder Reduktion.

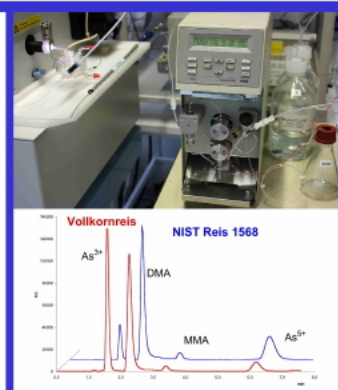
Ziel: Entwicklung einer Extraktionsmethode, die die As-Spezies unverändert und unabhängig von der Reissorte, mit hoher Ausbeute aus dem Reis extrahiert.

HPLC-ICP-MS Kopplung

Trennsäule: Hamilton PRP-X 100
250 x 4,1 mm, 10 μ m
Puffer: 20 mM $NH_4H_2PO_4$, pH 5,6
Fluss: 1,5 ml/min;
Analysendauer: 8 min
Autosampler: Spark Marathon Basic
20 μ l Probenschleife
bzw. HPLC Agilent 1200, 100 μ l
Micromist-Zerstäuber (Glass Expansion)

ICP-MS Messung

Thermo Element 2
m/e = 75; R = 300
Integrationszeit: 1,5 sec
Agilent 7500 ce
Integrationszeit: 1 sec



Versuchsbedingungen

Extraktion im Heizblock



SCP Digiprep Heizblock, 50 ml PE-Gefäße
Temperaturmessung in Referenzgefäß
parallele Filtriereinheit für Extraktionslösungen

Testsubstanzen:

Vollkornreis aus dem Handel
Reis-Referenzmaterial Nies 10 a, b

Extraktionsbedingungen:

1,5 g Reis + 15 ml Extraktionsmittel
80°C – 120 °C; 0,5 – 3 Stunden
im geschlossenen Gefäß (Heizblock
bzw. Mikrowelle) extrahieren
nach Abkühlen zentrifugieren und
über 0,45 μ m Membranfilter für HPLC
filtrieren

Extraktionsmittel:

- Wasser + hitzestabile α -Amylase (Sigma A7565) zum Stärkeabbau
- 0,07 m Salzsäure (Magensäurekonzentration)
- 0,07 m Salpetersäure
- 0,07 m Salpetersäure + Wasserstoffperoxid
- 0,07 n Phosphorsäure
- 0,07 m Tetramethylammoniumhydroxid (TMAH)

Messung:

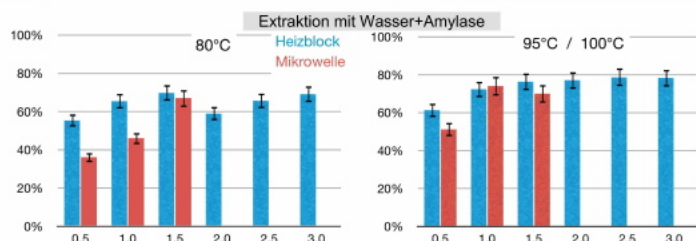
HPLC-ICP-MS zur Speziesbestimmung
Aufschluss der Extrakte zur Bestimmung der Ausbeute

Extraktion in der Mikrowelle



Paar Multiwave 3000, TFM-Gefäße,
Rotor 16, kalibrierter pT-Innensensor
zur Temperaturmessung

Resultate: Temperatur + Zeit



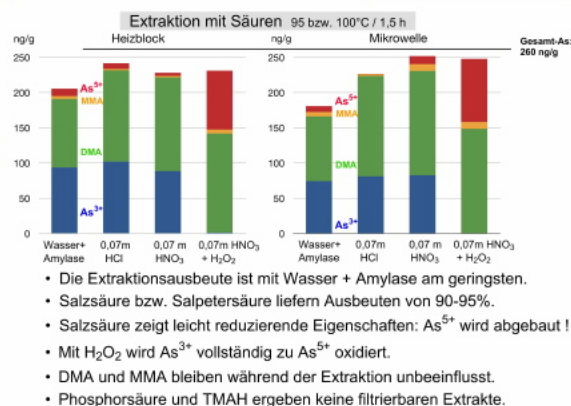
80 °C:

- ab 1,5 Stunden liegt die Extraktionsausbeute bei 60-70%, streut allerdings.
- die Mikrowelle ergibt ab 1,5 Stunden vergleichbare Resultate.

95 °C / 100 °C:

- ab 1,5 Stunden konstante Extraktionsausbeute von 70-80%.
- Heizblock und Mikrowelle liefern vergleichbare Ergebnisse.

Extraktionsmittel



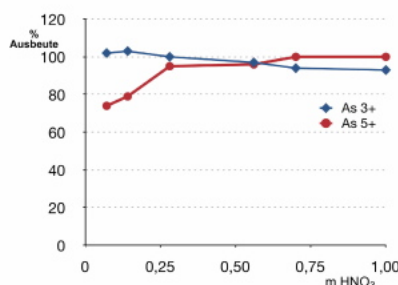
- Die Extraktionsausbeute ist mit Wasser + Amylase am geringsten.
- Salzsäure bzw. Salpetersäure liefern Ausbeuten von 90-95%.
- Salzsäure zeigt leicht reduzierende Eigenschaften: As^{5+} wird abgebaut!
- Mit H_2O_2 wird As^{3+} vollständig zu As^{5+} oxidiert.
- DMA und MMA bleiben während der Extraktion unbeeinflusst.
- Phosphorsäure und TMAH ergeben keine filtrierbaren Extrakte.

Stabilität der Spezies

Die Stabilität der Arsen-Spezies wurde unter Extraktionsbedingungen überprüft:

Je 50 μ g/l As^{3+} , As^{5+} , DMA und MMA wurden zum Reis und dem Extraktionsmittel zugegeben und bei 95°C, 1,5 Stunden extrahiert.

Als Extraktionsmittel wurde Salpetersäure in unterschiedlichen Konzentrationen (0,07 m – 1,0 m) verwendet.



Ergebnisse:

- MMA und DMA sind unter allen Extraktionsbedingungen stabil.
- Ohne Reismatrix sind As^{3+} und As^{5+} bis zu einer Konzentration von 4 m HNO_3 stabil.
- Die Reismatrix bewirkt bei der Extraktion eine Redox-Transformation, bei der As^{5+} zu As^{3+} reduziert wird.
- Eine Mindestkonzentration von 0,28 m HNO_3 unterbindet diese Redox-Transformation und hält As^{3+} und As^{5+} stabil.
- Eine höhere Säurekonzentrationen der Extrakte wirkt sich nachteilig auf die Chromatographie und die Säule aus.

Zusammenfassung:

- Die Arsenspezies in Reis können mit 0,28 m HNO_3 bei 95 °C in 90 Minuten quantitativ extrahiert werden.
- Die Verteilung der Spezies, speziell die von As^{3+} und As^{5+} , wird dabei nicht verändert.
- Die Verwendung eines Heizblocks ist einfacher, kostengünstiger und besser kontrollierbar als eine Mikrowellenextraktion.
- Die Extraktion ist einfach durchzuführen und für die Routineanalytik geeignet.