

Nachweis von Arsenspezies in biologischen Proben – ein wichtiges Werkzeug im Umweltmonitoring



Figure 1:
Marine biota accumulating arsenic: bladder wrack (*Fucus vesiculosus*) and blue mussel (*Mytilus edulis*)

Ausgangssituation

Anorganische Arsenspezies (Arsenit, As(III); Arsenat, As(V)) besitzen eine hohe Toxizität und Kanzerogenität. Dagegen sind in der Natur vorkommende organische Arsenverbindungen im Allgemeinen als toxikologisch unbedenklich anzusehen. Das gilt z. B. für Arsenobetain (AsB) als häufigste arsenorganische Verbindung in marinen Fischen und Muscheln sowie für Arsenozucker, die den Hauptteil des Arsens in marinen Algen stellen. Anorganische Arsenspezies sind in mariner Biota unter natürlichen Bedingungen nur in geringen Mengen nachzuweisen. Laut einer vorläufigen Empfehlung der WHO beträgt die maximal duldbare wöchentliche Aufnahme von anorganischen Arsenspezies für Erwachsene 15 µg/kg Körpergewicht. Für eine entsprechende Bewertung mariner Proben, die vielerorts die Hauptquelle für Arsen in der menschlichen Ernährung darstellen, ist es somit essenziell, die vorliegenden Arsenspezies zu identifizieren und nach Möglichkeit zu quantifizieren. Die Betrachtung des Arsengesamtgehaltes ist hierzu unzureichend.

Aufgabe

Im Rahmen des Umweltprobenbank-Programms werden auch Miesmuscheln und Blasentang aus Nord- und Ostsee

beprob (Fig. 1). Um zu klären, ob das üblicherweise in der Natur gefundene Muster arsenorganischer Verbindungen auch in diesen Proben vorliegt, sollten analytische Methoden etabliert werden, mit denen eine derartige Differenzierung verschiedener Arsenspezies möglich ist.

Projektbeschreibung

Zusätzlich zur routinemäßigen Bestimmung des Gesamtarsengehalts wurden Miesmuschel- und Blasentangproben des Jahrgangs 2004 auf anorganische und organische Arsenverbindungen untersucht. Für die Untersuchungen wurde die Hochleistungs-Flüssigkeits-Chromatographie (HPLC) mit einem Massenspektrometer mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-MS) kombiniert, das sich durch eine hohe elementspezifische Nachweisstärke auszeichnet. Die Anwendung dieser Kopplungsmethode hatte die Trennung und Erfassung der verschiedenen As-Spezies mit ausreichender Empfindlichkeit zum Ziel.

Ergebnisse

Mit Hilfe der entwickelten Methoden konnte erfolgreich eine speziespezifische Analytik der untersuchten Arsenverbindungen durchgeführt werden (Fig. 2). Das als Standardsubstanz verfügbare Arsenobetain konnte beispielsweise mit einer Nachweisgrenze bis zu 20 ng/g quantifiziert werden. In den Muschelproben konnte es als Hauptarsenkomponente identifiziert werden. Auch die Arsenozucker, die als komplexe Naturprodukte nicht als synthetische Standards zur Verfügung stehen, konnten in den Extrakten mit Bezug auf den Arsengesamtgehalt indirekt quantifiziert werden. Die Identifikation eines Arsenzuckers als Hauptarsenkomponente im Blasentang (Fig. 3) gelang

durch Einbindung eines Massenspektrometers mit molekulspezifischer Elektrospray-Ionisation (ESI-MS) nach HPLC-Trennung.

Fazit

Die eingesetzten spezies-spezifischen Techniken und entwickelten Methoden konnten verifizieren, dass die untersuchten marinen Proben nur geringe Mengen anorganischer Arsenverbindungen (hier: Arsenat, As(V)) aufweisen und somit keine bedenkliche Kontamination mit toxikologisch relevanten Arsenspezies vorlag.

Die Messungen belegen auch die Bedeutung der Differenzierung von Elementspezies (Speziation) hinsichtlich einer präzisen und zielgerichteten Bewertung im Rahmen des Umweltmonitorings. Die Speziation stellt somit eine sinnvolle und notwendige Ergänzung zur bisherigen Ermittlung von Gesamtgehalten als Summenparameter dar.

Die Umweltprobenbank des Bundes wird vom Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit finanziert und vom Umweltbundesamt koordiniert. Umfangreiche Informationen sind verfügbar unter: www.umweltprobenbank.de.

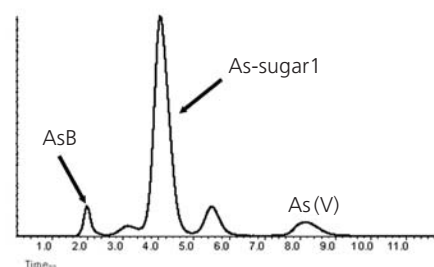


Figure 2:
Arsenic species detected using HPLC separation followed by ICP-MS (m/z 75)

Detection of Arsenic Species in Biological Samples – An Important Tool in Environmental Monitoring

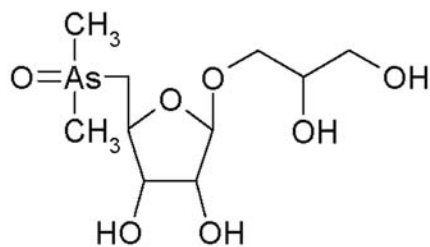


Figure 3:
Arsenosugar 1 (3-[5'-deoxy-5'-(dimethyl-arsenoyl)-B-ribofuranosyloxy]-2-hydroxy-propyleneglycol) identified in bladder wrack extract by HPLC/ESI-MS (M+H = 329)

Background

Inorganic arsenic species (arsenite, As(III); arsenate, As(V)) are toxic and carcinogenic. In contrast, natural organoarsenic compounds are in most cases toxicologically harmless. This applies to arsenobetaine (AsB) the most common organoarsenic compound in marine fish and mussels and also to arsenosugars which represent the bulk of arsenic compounds in marine algae. Under natural conditions, inorganic arsenic species are present at only low concentrations in marine biota.

According to a preliminary recommendation of the WHO, the maximum acceptable uptake for inorganic arsenic species is 15 µg per kg bodyweight and week (for adults). Most dietary arsenic is derived from marine biota. It is therefore necessary to determine the identity and quantity of each arsenic species in such organisms, since the total arsenic concentration is toxicologically misleading.

Aims

Bladder wrack and blue mussel samples are collected annually from the North and Baltic Seas as part of the German Environmental Specimen Bank program (Fig. 1). We developed analytical methods to distinguish different arsenic species, allowing arsenic profiles in pristine and sampled biota to be compared.

Approach

The analytical method combines high performance liquid chromatography (HPLC) with inductively coupled plasma mass spectrometer (ICP-MS). This hyphenated technique has sufficient element-specific sensitivity to facilitate the separation and acquisition of different arsenic species with very low detection thresholds. This allowed bladder wrack and blue mussel samples collected in 2004 to be tested not only for total arsenic content using the routine program, but also individually for the content of inorganic and organic arsenic compounds.

Results

The strategy discussed above made it possible to quantify different arsenic species in the marine samples (Fig. 2). Arsenobetaine could be detected with a lower detection limit of 20 ng/g because it is available as a reference standard. It was therefore possible to identify this compound as the main arsenic species in the mussel samples. The arsenosugars were quantified indirectly with proportional reference to the total arsenic content determined in the extracts. These compounds

are complex natural products and are not available as synthetic standard substances. This means they cannot be quantified directly.

One particular arsenosugar was identified as the main arsenic compound in bladder wrack (Fig. 3). This was achieved by using the mass spectrometer with molecule-specific electro spray ionisation (ESI-MS) after HPLC separation.

Conclusions

The methods discussed above demonstrated that inorganic arsenic (i. e. arsenate, As(V)) was present at only trace levels in the investigated marine samples. Consequently, we conclude there is no critical contamination with toxicologically relevant species.

Furthermore, the measurements prove the relevance of differentiation between element species (speciation) in the context of a precise and focussed assessment for environmental monitoring.

Therefore, speciation represents a reasonable and necessary complement to the determination of total arsenic concentrations.

Contact/Ansprechpartner

Dr. Jan Kösters
jan.koesters@ime.fraunhofer.de
Tel. +49 (0) 29 72/3 02-2 08

Dr. Heinz Rüdell
heinz.ruedel@ime.fraunhofer.de
Tel. +49 (0) 29 72/3 02-3 01

Dr. Christa Schröter-Kermani
Umweltbundesamt Dessau
Tel. +49 (0) 3 40/21 03 32 17