

Eine neue Apparatur zur Druckveraschung von biologischem Material

P. Schramel*, A. Wolf, R. Seif und B.-J. Klose¹

Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung mbH, Physikalisch-Technische Abteilung, Ingolstädter Landstraße 1, D-8042 Neuherberg

¹ Kreiskrankenhaus Erding, Frauenklinik, D-8058 Erding

New Device for Ashing of Biological Material under Pressure

Summary. The range of application was tested with different standard reference materials for the elements Cd, Cu, Fe, Mn, Pb and Zn. The results are presented. The analyses were performed by atomic absorption spectroscopy and ICP spectroscopy. This device offers the advantages of easy handling, of possible pressure measurement during the ashing process, and of the use of the quartz vessels, which may also be employed for storing.

Zusammenfassung. Eine neue Apparatur zur Druckveraschung von biologischem Material wird beschrieben. Die Leistungsfähigkeit wurde mit verschiedenen Standardreferenzmaterialien für die Elemente Cd, Cu, Fe, Mn, Pb und Zn getestet und die Ergebnisse beschrieben. Die Analysen wurden mittels Atomabsorptionsspektroskopie und ICP-Spektroskopie durchgeführt. Der Vorteil des Geräts liegt in der einfachen Handhabung, der Möglichkeit der Druckmessung während der Veraschung und der Möglichkeit, Quarzgefäße zu verwenden, die auch gleichzeitig als Lagergefäße dienen können.

Key words: Analyse von biologischem Material; Veraschungsapparatur

Einleitung

Einer der wesentlichsten Schritte bei einer Spurenelementanalyse von biologischem Material (Gewebe, Körperflüssigkeiten, Pflanzen u.ä.) ist die Veraschung der jeweils vorliegenden Probe, da fast alle analytischen Verfahren nur die Bestimmung von Elementen aus Lösungen gestatten. Es leuchtet ein, daß die zahlreichen

organischen Produkte infolge ihrer verschiedenartigen Zusammensetzung nicht ohne weiteres nach einer Universalmethode verascht werden können. Auch sind die gestellten spurenelementanalytischen Aufgaben vielfach zu verschieden; ferner muß auf die unterschiedliche Flüchtigkeit der einzelnen Elemente besondere Rücksicht genommen werden.

Eine Vielzahl von Trocken- und Naßaufschlußverfahren stehen heute zur Verfügung. In den letzten Jahren hat sich speziell für die Atomspektroskopie ein Verfahren als weitgehend universell anwendbar erwiesen. Es ist dies die Druckveraschung mit HNO_3 . Ziel dieser Arbeit war es, die Leistungsfähigkeit und das Einsatzgebiet dieser modernen Aufschlußtechnik in der Spurenelementanalyse zu prüfen und darzustellen. Als Analysenverfahren wurden die flammenlose Atomabsorptionsspektroskopie und die ICP-Emissions-Spektalanalyse eingesetzt.

Methodik

1. Beschreibung der verwendeten Geräte

Wie bereits erwähnt, wurde bei diesen Untersuchungen die Druckveraschung für die Mineralisation von biologischem Material verwendet. Dazu wurde vor einigen Jahren in unserem Labor — aufgrund von teilweise schlechten Erfahrungen mit kommerziellen Geräten — eine neue Apparatur entwickelt [2], wobei die Hauptaufgabe darin bestand, den Aufschluß der Proben bei bekanntem, d.h. meßbarem Druck und bei konstanter Temperatur durchzuführen. Die Apparatur besteht aus sechs nebeneinander angeordneten Teflonbehältern in einem gemeinsamen Gehäuse, wobei durch die Verwendung von konischen Teflonstopfen für jeden Behälter eine Verformung mit anschließender Undichte bei höheren Temperaturen vermieden wird. Das Schließen und Öffnen der einzelnen Behälter erfolgt mit einfachen Waagrechtspannern, so daß nur ein beweglicher Teil pro Behälter notwendig ist. Die Proben werden in

* Korrespondenz-Anschrift

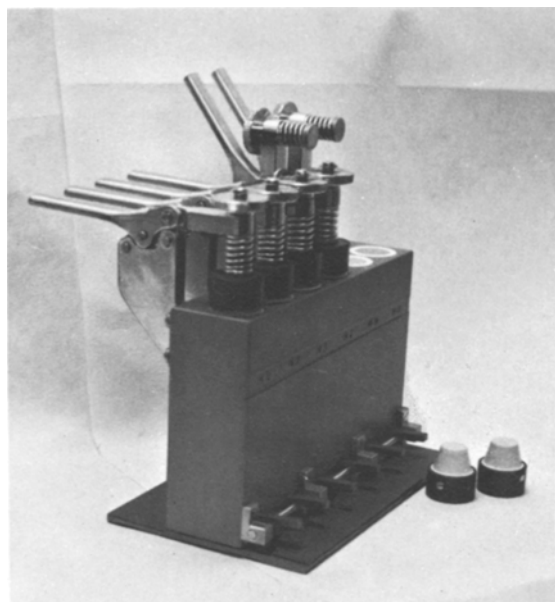


Abb. 1. Druckaufschlußapparatur

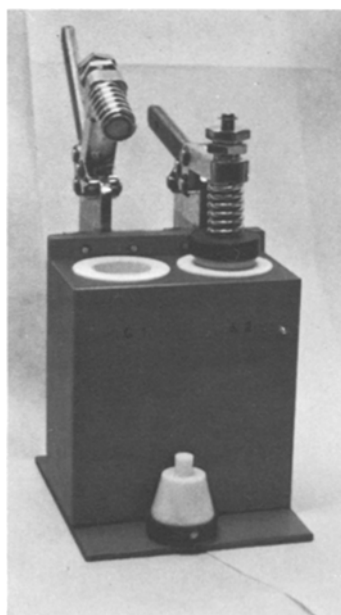


Abb. 2. Größere Ausführung der Apparatur

Quarzreagensgläsern verascht, die in die Teflonbehälter eingepaßt sind, um Kontaminationen der Proben bzw. eine Verschleppung von Spuren von einer Probe in eine andere zu vermeiden. Der gesamte Aufschlußblock wird in einem Trockenschrank bei 160°C aufgeheizt.

In dieser Ausführung (Abb. 1) können maximal 150 mg Trockensubstanz in einer Säuremenge von 1 ml HNO_3 aufgeschlossen werden. Der dabei entstehende Druck beträgt 10–12 bar, die Zeitdauer für eine

Veraschung beträgt 3–6 h (abhängig vom Material). Mit dieser Apparatur wurden in unserem Labor bisher einige Tausend Veraschungen von Pflanzen, Gewebe, Blut, Serum und auch von Sedimenten ohne Schwierigkeiten durchgeführt.

Eine neue und größere Apparatur gestattet den Aufschluß von ca. 500 mg Trockensubstanz mit einer Säuremenge von etwa 3 ml (Abb. 2). Ein wesentlicher Vorteil ist auch, daß die Veraschung in Quarzreagensgläsern durchgeführt wird. Damit entfällt das bei anderen Apparaturen notwendige quantitative Umschütten der veraschten Probe in Lager- oder Meßgefäße. Eine eventuell notwendige Verdünnung bzw. die folgende Analyse kann aus dem Veraschungsgefäß erfolgen.

Bei der anschließenden Spurenelementbestimmung in den Lösungen wurde mit Hilfe der flammenlosen Atomabsorptionsspektroskopie (AAS) und der ICP (Inductively Coupled Plasma)-Spektroskopie (ICP-OES) gearbeitet.

Für die AAS stand ein Gerät der Firma Perkin-Elmer, Modell 403, mit angeschlossener Graphitküvette HGA-76 mit Probenwechsler zur Verfügung. Bei der ICP-OES wurde mit einem Sequenzspektrometer JY 38 der Firma Instruments S.A. gearbeitet, dessen maximale RF-Leistung 1,5 kW beträgt. Als Zerstäuber wurde ein pneumatischer Zerstäuber (Typ Meinhard) mit vorgeschalteter pneumatischer Pumpe [1] verwendet. In beiden Fällen (AAS und ICP) wurde mit manueller Auswertung der Meßdaten, die einerseits vom Schreiber aufgezeichnet wurden (AAS) und andererseits von einer Integrationseinheit (ICP) stammen, gearbeitet.

Bei der manuellen Auswertung der ICP-Meßergebnisse wurde natürlich bei jeder Probe auch der linke und rechte „Peak“-Untergrund berücksichtigt bzw. gemessen, was durch eine konstante Verschiebung des Monochromators um $\pm 0,4 \text{ \AA}$ und jeweils eine Messung in dieser Stellung erreicht wurde. Aus diesen beiden Werten wurde das arithmetische Mittel gebildet und vom Meßwert subtrahiert. Dieser Wert ergab dann das „Netto-Signal“ für das gesuchte Element.

2. Experimente und Ergebnisse

Für den Test der Leistungsfähigkeit des Aufschlußverfahrens und für den Vergleich der beiden Analysemethoden wurde mit den bekannten Standardreferenzmaterialien von NBS (Spinach, Nr. 1570; Orchard leaves, Nr. 1571; Tomato leaves, Nr. 1573; Pine needles, Nr. 1575; Bovine liver, Nr. 1577) gearbeitet. Es wurden jeweils 5 Veraschungen von jedem Referenzmaterial ausgeführt. Die verwendeten Probenmengen betrugen immer ca. 100 mg. Die Säuren wurden anschließend mit bi.-dest. H_2O (Millipore-Anlage) auf 10 ml verdünnt, was dann in den meisten Fällen die für die Messungen adäquate Probelösung ergab. In einigen Fällen mußte weiter verdünnt werden. Für die Druckveraschung wurde 1 ml HNO_3 (Merck Suprapur) verwendet. Aus diesen Lösungen wurden mit Hilfe der AAS die Elemente Pb, Cd, Cu, Mn und mit Hilfe der ICP-Spektroskopie die Elemente Fe, Mn, Cu, Zn für diesen Vergleichstest bestimmt.

Die Tabellen 1 bis 6 zeigen die Ergebnisse der AAS- und ICP-Untersuchungen. Dabei ist jeweils der Mittelwert und die Standardabweichung von den fünf Einzelbestimmungen angegeben. In der letzten Spalte sind die

Tabelle 1. Ergebnisse der AAS-Untersuchungen von Pb (in µg/g)

Probe	$\bar{x}$	gem. Bereich	s	Lit.
1570	1,1	1,0 – 1,2	$\pm 0,1$	1,2 $\pm 0,2$
1571	46	45 – 48	± 2	45 ± 3
1573	6,1	5,8 – 6,3	$\pm 0,3$	6,3 $\pm 0,3$
1575	11,1	10,7 – 11,4	$\pm 0,3$	10,8 $\pm 0,5$
1577	0,35	0,30 – 0,40	$\pm 0,5$	0,34 $\pm 0,08$

Tabelle 2. Ergebnisse der AAS-Untersuchungen von Cd (in µg/g)

Probe	$\bar{x}$	gem. Bereich	s	Lit.
1570	1,7	1,5 – 1,9	$\pm 0,2$	(1,5)
1571	0,11	0,10 – 0,12	$\pm 0,006$	0,11 $\pm 0,01$
1573	2,8	2,6 – 2,9	$\pm 0,2$	(3)
1575	0,30	0,25 – 0,35	$\pm 0,04$	(< 0,5)
1577	0,28	0,25 – 0,30	$\pm 0,03$	0,27 $\pm 0,04$

Tabelle 3. Ergebnisse der ICP und AAS-Untersuchungen von Cu (in µg/g)

Probe	$\bar{x}$	gem. Bereich	s	Lit.
1570	11,8	11,0 – 13,0	$\pm 2,5$	12 ± 2
1571	12,3	11,0 – 13,1	$\pm 1,4$	12 ± 1
1573	10,4	10,2 – 11,2	$\pm 0,6$	11 ± 1
1575	3,0	2,7 – 3,4	$\pm 0,3$	3 $\pm 0,3$
1577	190	183 – 195	± 8	193 ± 10

von NBS zertifizierten Werte für das jeweilige Material angegeben. Wegen der guten Übereinstimmung der beiden Analysetechniken ICP und AAS wurde bei den Elementen Cu und Mn der Mittelwert aller Untersuchungen angegeben.

Diskussion

Aus den Meßergebnissen kann man deutlich ersehen, daß die beiden Analysetechniken ICP und AAS für die mit beiden Methoden gemessenen Elemente eine gute Übereinstimmung zeigen.

Pb und Cd wurden nur mit der flammenlosen AAS bestimmt, da für diese beiden Elemente die ICP-Emissionsspektalanalyse zu unempfindlich ist. Zn dagegen wurde nur mit ICP-OES bestimmt, da die flammenlose AAS für dieses Element zu empfindlich ist und deshalb sehr hohe Verdünnungen notwendig sind, die dann den Bestimmungsfehler erhöhen würden.

Die neuentwickelte Apparatur zur Druckveraschung von biologischem Material liefert für alle untersuchten Elemente sehr gute Ergebnisse, so daß davon ausgegangen werden kann, daß bei der Veraschung keine Verluste auftreten. Einwaagen von 100–150 mg in der kleineren bzw. ca. 500 mg in der größeren

Tabelle 4. Ergebnisse der ICP und AAS-Untersuchungen von Mn (in µg/g)

Probe	$\bar{x}$	gem. Bereich	s	Lit.
1570	168	163 – 172	± 3	165 ± 6
1571	89	87 – 92	± 3	91 ± 4
1573	234	230 – 242	± 5	238 ± 7
1575	677	665 – 688	± 12	675 ± 15
1577	9,0	8,2 – 9,4	$\pm 0,7$	10,3 ± 1

Tabelle 5. Ergebnisse der ICP-Untersuchungen von Fe (in µg/g)

Probe	$\bar{x}$	gem. Bereich	s	Lit.
1570	540	530 – 570	± 18	550 ± 20
1571	288	270 – 310	± 20	300 ± 20
1573	685	670 – 710	± 20	690 ± 25
1575	194	186 – 205	± 10	200 ± 10
1577	266	260 – 275	± 9	268 ± 8

Tabelle 6. Ergebnisse der ICP-Untersuchungen von Zn (in µg/g)

Probe	$\bar{x}$	gem. Bereich	s	Lit.
1570	48	45 – 51	± 3	50 ± 2
1571	26	23 – 29	± 3	25 ± 3
1573	65	58 – 72	± 7	62 ± 6
1575	99	90 – 108	± 10	—
1577	124	115 – 135	± 10	130 ± 13

Ausführung erscheinen für biologisches Material ausreichend zu sein.

Der große Vorteil liegt in der sehr einfachen Handhabung der Apparatur, ferner in der Möglichkeit der Druckmessung während der Veraschung bei unbekannten Matrices und in der Veraschungsmöglichkeit in Quarzgefäßen, die auch gleichzeitig als Lagergefäße für die Probenlösungen verwendet werden können, so daß systematische Fehler durch das Umgießen in andere Behälter nicht auftreten können. In unserem Labor wurden bisher mit zwei solcher Anordnungen einige Tausend Proben ohne Schwierigkeiten verascht. Bei diesen Untersuchungen wurde natürlich eine große Anzahl verschiedener Elemente analysiert (auch Hg, As usw.) über die hier nicht berichtet wurde, die aber ebenfalls sehr gute Resultate zeigten. Man kann daraus ersehen, daß diese neue Apparatur auch für die Routine und für größere Probenserien bestens geeignet ist.

Literatur

- Schramel, P., Pavlu-Ovcara, J.: Fresenius Z. Anal. Chem. **298**, 28 (1979)
- Seif, R., Samsahl, K.: Deutsches Patentamt GM 76 38347 (1977)

Eingegangen am 6. Dezember 1979