

**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.

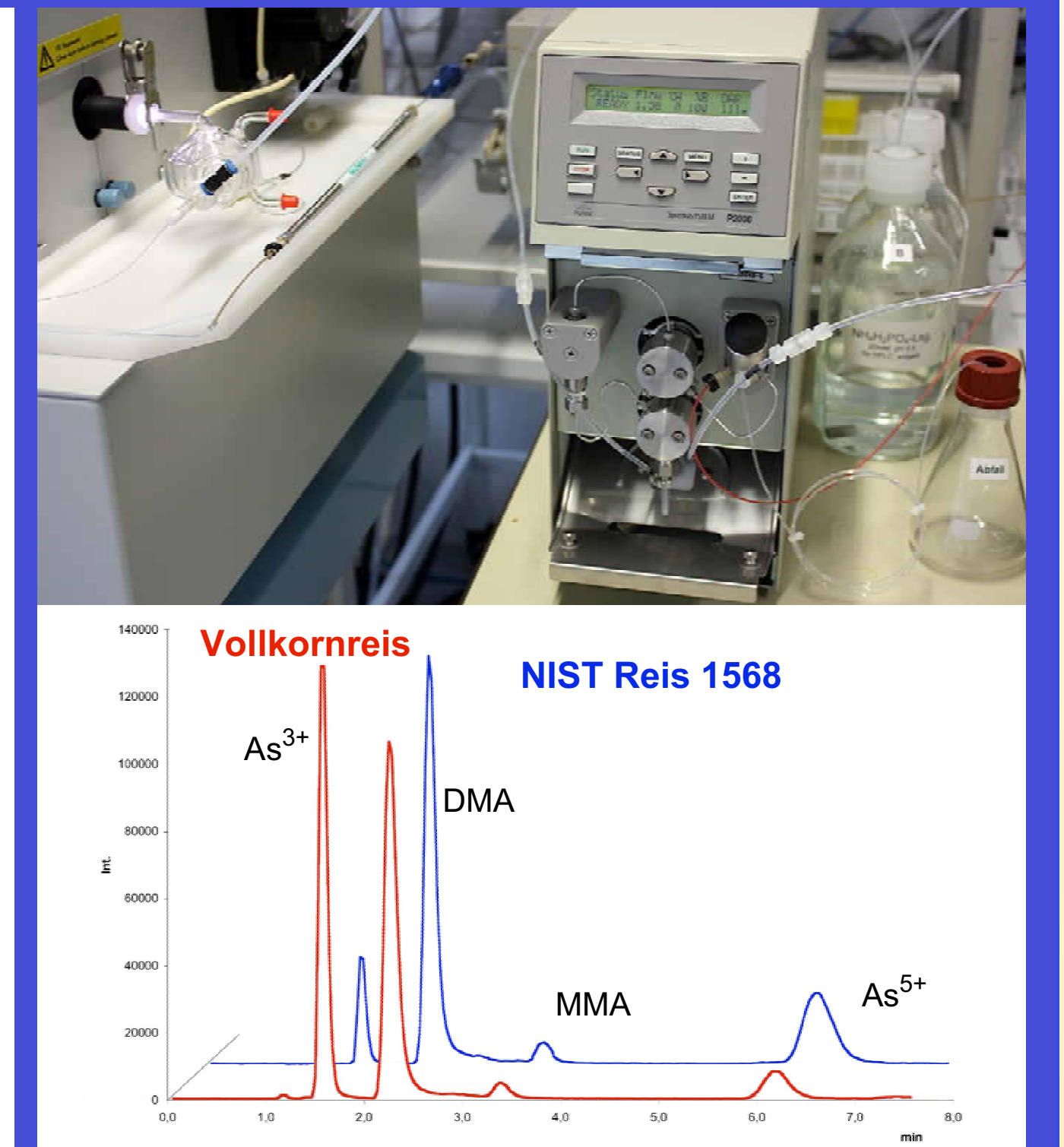
**Ziel:** Entwicklung einer Extraktionsmethode, die die As-Spezies unverändert und unabhängig von der Reissorte, mit hoher Ausbeute aus dem Reis extrahiert.

## HPLC-ICP-MS Kopplung

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

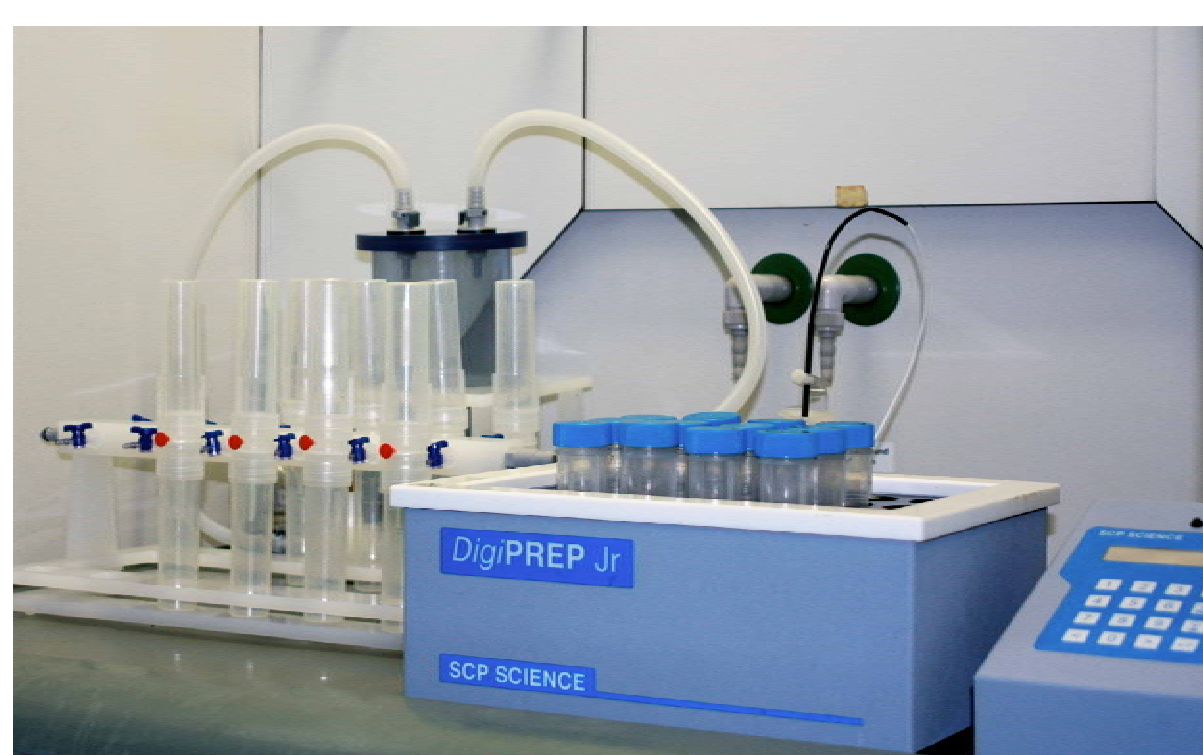
## ICP-MS Messung

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  $\mu$ m Membranfilter für HPLC  
filtrieren

### Extraktionsmittel:

- Wasser + hitzestabile  $\alpha$ -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:

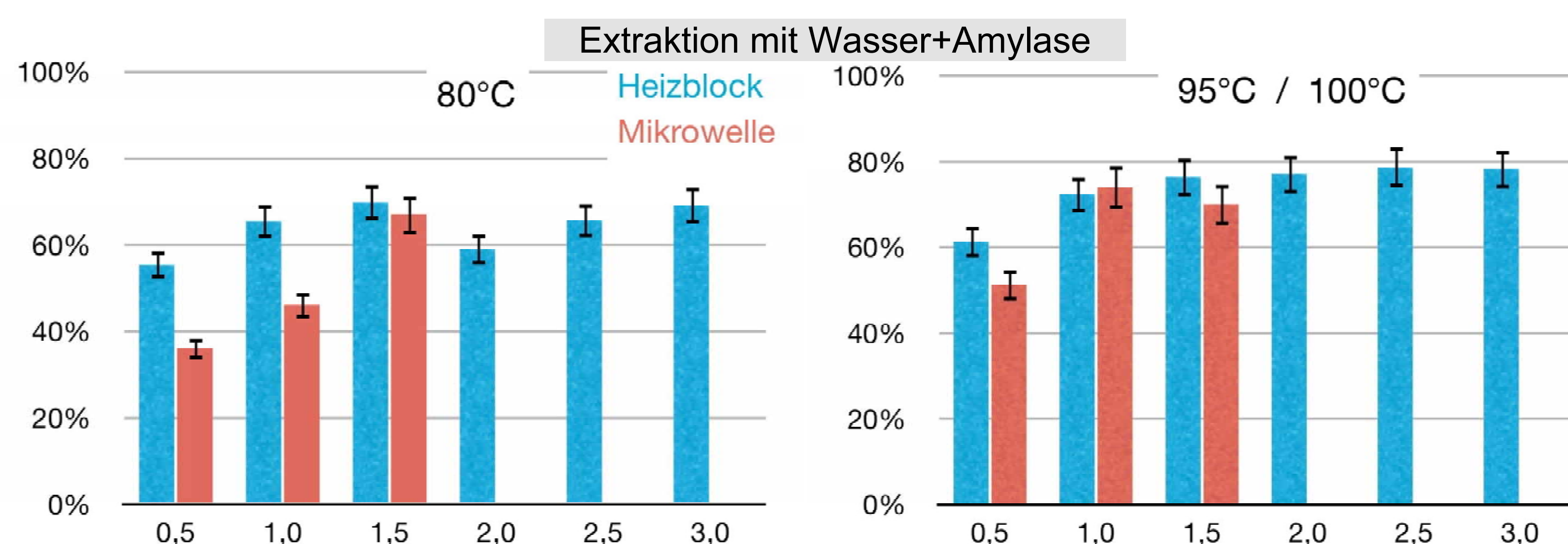
HPLC-ICP-MS zur Speziesbestimmung  
Aufschluss der Extrakte zur Bestimmung der Ausbeute

### Extraktion in der Mikrowelle



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

## Resultate: Temperatur + Zeit



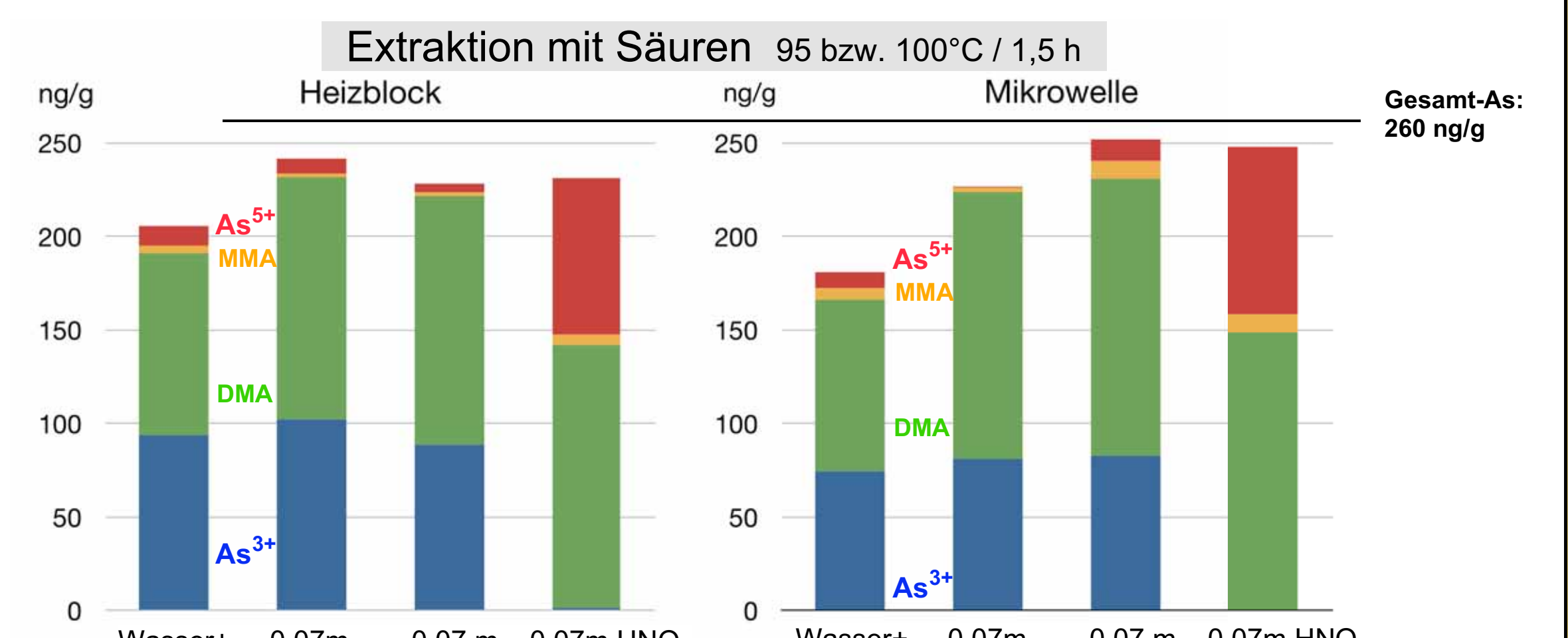
### 80 °C:

- 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



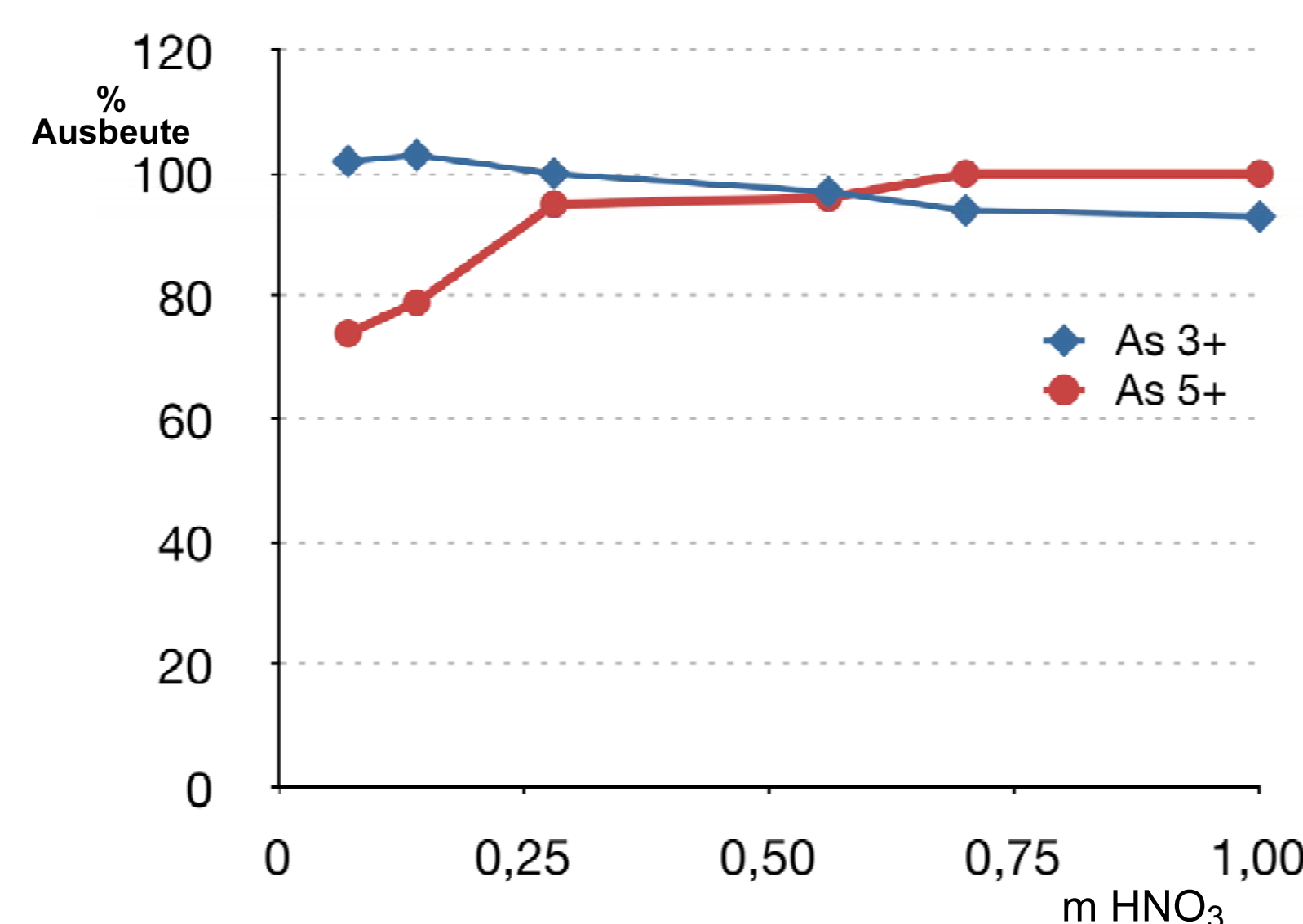
- Die Extraktionsausbeute ist mit Wasser + Amylase am geringsten.
- Salzsäure bzw. Salpetersäure liefern Ausbeuten von 90-95%.
- Salzsäure zeigt leicht reduzierende Eigenschaften:  $As^{5+}$  wird abgebaut !
- Mit  $H_2O_2$  wird  $As^{3+}$  vollständig zu  $As^{5+}$  oxidiert.
- DMA und MMA bleiben 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  $\mu$ 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.