

**Massenspektrometrische
Isotopenverdünnungsanalyse (MSIVA) als
Validierungsmethode für Bestimmungen von
Methylquecksilber mittels GC/ICP-MS**

Dissertation
zur Erlangung des Grades
„Doktor der Naturwissenschaften“
(Dr. rer. nat.)

am Fachbereich Chemie und Pharmazie
der Johannes Gutenberg-Universität
in Mainz

Natascha Demuth
geboren in Hanau

Mainz 2001

Inhaltsverzeichnis

1.	Allgemeiner Teil	5
1.1.	Einleitung	5
1.2.	Aufgabenstellung	8
1.3.	Zusammenfassung der Ergebnisse	9
2.	Grundlagen	12
2.1.	Eigenschaften der Methylverbindungen von Quecksilber	12
2.1.1.	Chemische und physikalische Eigenschaften	12
2.1.2.	Toxizität	14
2.2.	Quecksilber in der Umwelt	15
2.2.1.	Vorkommen	15
2.2.2.	Methylierung und Demethylierung	18
2.3.	Bisherige Spurenbestimmung von Methylquecksilber	21
2.4.	Prinzip der massenspektrometrischen Isotopenverdünnungsanalyse (MSIVA) am Beispiel von Methylquecksilber	23
2.5.	Qualitätssicherung und Qualitätskontrolle	28
3.	Experimenteller Teil	30
3.1.	Spurenanalytisches Arbeiten	30
3.1.1.	Verwendete Chemikalien, Verbrauchsmaterialien und Geräte	30

3.1.2.	Probennahme, -lagerung und -aufarbeitung.....	33
3.1.3.	Sicheres Arbeiten mit methylierten Quecksilberverbindungen.....	35
3.2.	Entwicklung und Anwendung eines GC/ICP-MS-Verfahrens zur Ultrapurenalyse von Methylquecksilber	37
3.2.1.	Allgemeines zum Analysensystem	37
3.2.2.	Probenvorbereitungssystem	37
3.2.3.	Aufbau und Meßbedingungen der GC/ICP-MS-Kopplung	40
3.3.	Darstellung und Charakterisierung eines ²⁰¹Hg-angereicherten Methylquecksilberindikators	45
3.3.1.	Synthese des Me ²⁰¹ Hg ⁺ -Indikators.....	45
3.3.2.	Charakterisierung des Me ²⁰¹ Hg ⁺ -Indikators mit inverser MSIVA.....	47
3.4.	Untersuchungen möglicher Quecksilberspezies-Umwandlungen bei der Probennahme von Wasserproben in PE-Flaschen.....	50
3.5.	Untersuchungen möglicher MeHg⁺ - Speziesumwandlungen ohne NaBEt₄ als Derivatisierungsreagenz	52
3.6.	Untersuchungen möglicher MeHg⁺ - Speziesumwandlungen mit NaBEt₄ als Derivatisierungsreagenz in unterschiedlichen Modellösungen.....	54
3.6.1.	Allgemeines	54
3.6.2.	Blindwerte in käuflichen Chemikalien	54
3.6.3.	Chlorid-, Bromid- und Iodidlösungen gleicher Molarität	56
3.6.4.	Chloridlösungen unterschiedlicher Konzentration	58
3.6.5.	Synthetisches Meerwasser	61
3.6.6.	Salzlösungen.....	65
3.6.7.	Bakterien.....	67
3.6.8.	Huminsäuren	68

3.7. Untersuchungen möglicher MeHg⁺ - Speziesumwandlungen bei der Derivatisierungsreaktion mit NaBEt₄ in Realproben.....	69
3.7.1. Allgemeines.....	69
3.7.2. Bestimmung des Chloridgehaltes mit Ionenchromatographie.....	70
3.7.3. Wäßrige Realproben.....	71
3.8. Untersuchung möglicher MeHg⁺ - Speziesumwandlungen bei der Derivatisierungsreaktion mit NaBPr₄.....	75
3.9. Analyse von Methylquecksilbergehalten in natürlichen Wasserproben unter Verwendung der MSIVA.....	78
3.10. Qualitätssicherung des entwickelten GC/ICP-MSIVA-Verfahrens.....	82
3.10.1. Validierung der Stabilität der Hg-Spezies in wäßrigen Proben.....	82
3.10.2. Validierung des entwickelten GC/ICP-MSIVA-Verfahrens in aquatischen Systemen durch Dotierung mit Me ²⁰¹ Hg ⁺	84
3.10.3. Analyse von Methylquecksilber im Referenzmaterial CRM 463 mit verschiedenen Aufschlußmethoden.....	88
4. Diskussion der Ergebnisse.....	94
4.1. Optimierung der Synthese von Me²⁰¹Hg⁺.....	94
4.2. Lagerungsbedingungen für Standardlösungen und reale Wasserproben.....	95
4.3. Bestimmung der Transformation von MeHg⁺ in Modellösungen mit Hilfe eines isotopenmarkierten Me²⁰¹Hg⁺ - Indikators nach Derivatisierung mit NaBEt₄.....	98
4.3.1. Allgemeines.....	98
4.3.2. Überprüfung möglicher MeHg ⁺ -Umwandlungen ohne Verwendung des Derivatisierungsreagenzes NaBEt ₄	99
4.3.3. MeHg ⁺ -Transformation in Abhängigkeit unterschiedlicher Halogenide.....	100
4.3.4. MeHg ⁺ -Transformation in Abhängigkeit von der Chloridkonzentration.....	102

4.3.5.	Überprüfung der MeHg ⁺ -Speziesumwandlung in weiteren Modelllösungen.....	106
4.4.	Bestimmung der Transformation von MeHg⁺ in Realproben mit Hilfe eines isotopenmarkierten Me²⁰¹Hg⁺ - Indikators.....	108
4.5.	Verwendung von NaBPr₄ als alternatives Derivatisierungsreagenz	114
4.5.1.	Derivatisierung von MeHg ⁺ in Modelllösungen und Realproben.....	114
4.5.2.	Vergleich der bestimmten MeHg ⁺ -Gehalte von Süßwasserproben unter Verwendung der Derivatisierungsreagenzien NaBEt ₄ und NaBPr ₄	115
4.6.	Ansatz zur Erklärung des Reaktionsmechanismus der MeHg⁺-Transformation.....	118
4.7.	Qualitätssicherung des entwickelten GC/ICP-MSIVA-Verfahrens zur Bestimmung von Methylquecksilber in aquatischen Systemen.....	120
4.7.1.	Allgemeines	120
4.7.2.	Analyse von Methylquecksilber im Referenzmaterial CRM 463	120
4.7.3.	Reproduzierbarkeit der Bestimmung von Methylquecksilber in wässrigen Proben mit MSIVA.....	124
4.8.	Ergebnisvergleich des entwickelten GC/ICP-MSIVA-Verfahrens mit der herkömmlichen GC/AFD-Methode	125
5.	Ausblick	129
6.	Literaturverzeichnis	130

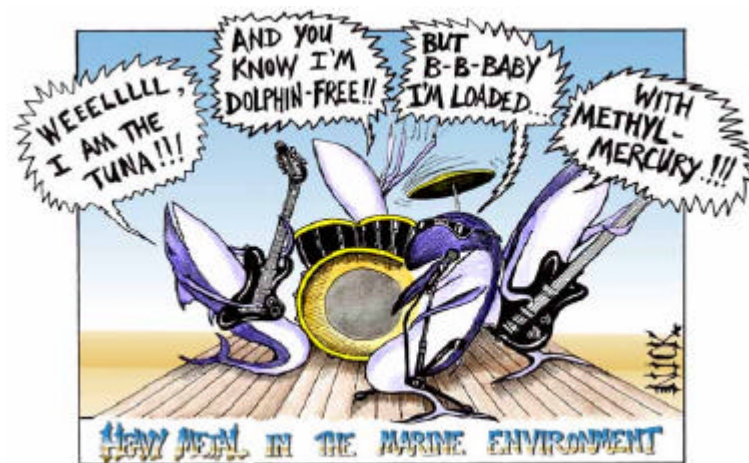
1. Allgemeiner Teil

1.1. Einleitung

Die Speziation von Elementen ist ein charakteristisches Merkmal für die Entwicklung der Analytischen Chemie. Elemente kommen häufig in unterschiedlichen Bindungsformen (Elementspezies) in den Kompartimenten der Umwelt vor. Aufgrund der Toxizität einiger Spezies sind Kenntnisse ihrer Konzentrationen, ihrer Bildungs- und Abbauprozesse sowie ihrer Mobilität zwischen den Kompartimenten von besonderem Interesse. Speziesanalytik spielt z. B. eine Rolle in den Untersuchungen biogeochemischer Stoffkreisläufe, der Bestimmung der Toxizität ausgewählter Elemente, der Qualitätskontrolle von Lebensmitteln oder auch in klinischen Untersuchungen. Gerade die Bestimmung von Schwermetallspezies wie Tetraethylblei (Antiklopfmittel in Kraftstoffen), Tributylzinn (Zusatz in Antifouling-Farben für Schiffsanstriche) oder Methylquecksilber (Saatbeizmittel, Fungizide) erlangte aufgrund deren hoher Toxizität große Beachtung [1].

Das Comic in Abb. 1 zeigt auf zeitgemäße Weise, daß Methylquecksilber-kontaminierter Fisch am Ende der Nahrungskette des Menschen auch heute noch eine aktuelle Gefährdung darstellt und nicht nur von Wissenschaftlern mit Aufmerksamkeit bedacht wird.

Abb. 1 Methylquecksilberbelastung in mariner Umgebung [2]



Aufsehen und traurige Bekanntheit erlangte die toxische Quecksilberverbindung Methylquecksilber (MeHg^+), die sich als Auslöser für die Minamata-Katastrophe 1950 in Japan herausstellte. Eine Chemiefabrik, die Acetaldehyd und Vinylchlorid produzierte, leitete ihre Abwässer von 1950 bis 1968 in die Bucht von Minamata ein. Mit dem Abwasser gelangte auch die für die Produktion nötige Hg-haltige Katalysatorlösung in den marinen Kreislauf. Quecksilber sowie auch Methylquecksilber (aus direktem Eintrag durch die Katalysatorlösung, als auch durch biogene Bildung) konnten sich so in Sedimenten und Meerestieren anreichern. Die Bewohner, deren Hauptnahrung aus Fisch und Meeresfrüchten bestand, nahmen so über Jahre große Mengen an Methylquecksilber auf. Aufgrund der hohen Toxizität des Methylquecksilbers wurden mehrere hundert Menschen mit schweren chronischen Vergiftungserscheinungen sowie viele Todesopfer registriert. Bei Neugeborenen lag die Häufigkeit von Hirnschäden fünfzigmal höher als der Durchschnitt. 1958 wurden Hinweise auf die Zusammenhänge, die zum Auftreten der Minamata-Krankheit führten, publiziert, aber erst 1968 erkannten japanische Behörden Methylquecksilber als Vergiftungsursache an [3]. Auch in anderen Ländern wie Schweden, Finnland, Kanada und den USA wuchs das Bewußtsein für eine Gefährdung des Menschen durch Methylquecksilber. Nach der Katastrophe von Minamata wurde deutlich, daß Menschen mit hohem Fischkonsum eine besondere Risikogruppe darstellten. Alkyl- und Arylquecksilberverbindungen wurden in großen Mengen weltweit in der Landwirtschaft als Saatbeizmittel und als Fungizide in der Papier- und Celluloseindustrie eingesetzt. Etwa 40 % der eingesetzten Fungizide gelangten in die Gewässer. Das staatliche Veterinäramt in Schweden wies bereits in den fünfziger Jahren darauf hin, daß ein Zusammenhang zwischen dem Aussterben einiger Vogelarten und den hohen Quecksilberkonzentrationen bestand. Schweden erließ strenge Abwasservorschriften und legte Hg-Grenzwerte für Fisch fest. Die Verwendung von Hg-haltigen Fungiziden wurde schließlich in vielen Ländern verboten und somit eine Quelle der Hg-Kontamination ausgeschaltet [4, 5].

Die Gefährdung des Menschen durch das toxische Methylquecksilber macht deutlich, daß eine Überwachung der MeHg^+ -Gehalte in Lebensmitteln sowie auch in Umweltkompartimenten nötig ist. Für die Bestimmung des MeHg^+ -Gehaltes wurden weltweit nachweisstarke, analytische Verfahren entwickelt. Die Laboratorien, die neue Verfahren entwickeln, überprüfen deren Zuverlässigkeit z.B. durch Verwendung von Referenzmaterialien. Daß im Falle des Methylquecksilbers nicht nur natürlich auftretende Speziesumwandlungen, sondern auch Speziesumwandlungen während der Probenvorbereitung zu sehr kontroversen Diskussionen führen können, wird mit folgender Mitteilung verdeutlicht [6].

„Please find enclosed a copy of letter addressed to the Editor of Analytical Chemistry. This information has been published in reaction to doubts expressed on existing sediment reference materials (BCR and IAEA) certified for their methylmercury contents. The situation as it stands today does not allow to confirm or refute the concerns which have been expressed by a limited group of laboratories, i. e. there is no scientific evidence to confirm the doubts on the certified MeHg values. The CRM 580 and IAEA 356 are both considered to fulfil the purposes of verifying the accuracy of current methods and achieving data comparability.“

Diese Mitteilung eröffnete 1999 eine - intern bereits 1996 begonnene - öffentliche Auseinandersetzung zwischen prominenten Wissenschaftlern auf dem Gebiet der Quecksilberspeziation bezüglich zertifizierter Referenzmaterialien, die in drei „Letter to the Editor“ in der Fachzeitschrift Analytical Chemistry fortgeführt wurde [7 - 9]. Ausgangspunkt waren hierbei Experimente mit isotonenangereichertem Hg^{2+} , mit denen während der häufig verwendeten Wasserdampfdestillation zur Extraktion von Methylquecksilber aus Sedimenten unter bestimmten Reaktionsbedingungen artifiziell gebildetes Methylquecksilber nachgewiesen wurde. Die Wissenschaftler zogen daraus den Schluß, daß unter diesen Bedingungen zu hohe Methylquecksilbergehalte bestimmt wurden und stellten die u. a. auch unter Verwendung der Wasserdampfdestillation zertifizierten MeHg^+ -Gehalte der Referenzmaterialien CRM 580 und IAEA 356 (Sedimente) in Frage. An der Zertifizierung nahmen nur etablierte Laboratorien teil, so daß es nicht verwunderlich war, daß diese sich gegen die getroffenen Aussagen wehrten. Ihre Argumentation bestand darin, daß die erhaltenen Ergebnisse bezüglich des artifiziell gebildeten Methylquecksilbers nicht auf reale Bedingungen in Sedimenten übertragbar wären, da zum einen die zugespikete Menge an Hg^{2+} nicht der natürlichen entspräche und zum anderen Hg^{2+} in Sedimenten nicht frei ionisch vorläge, sondern beispielsweise an Huminstoffe gebunden wäre.

Diese Diskussion macht deutlich, daß die MeHg^+ -Speziesanalytik eine besondere Herausforderung darstellt. Die Ergebnisse der beschriebenen Isotopenexperimente zeigen jedoch, daß gerade diese die Möglichkeit bieten, Probleme bzw. Fehler in der Probenaufbereitung aufzuzeigen, die mit anderen Verfahren nicht erkannt werden können. Das Potential isotonenmarkierter Verbindungen in der Speziesanalytik ist bislang jedoch nur wenig genutzt. Daher wird in dieser Arbeit die Verwendung von isotonenangereichertem $\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$ zur zuverlässigen Bestimmung von MeHg^+ -Gehalten sowie zur Überprüfung möglicher Fehlerquellen bisheriger Bestimmungsmethoden untersucht.

1.2. Aufgabenstellung

Zur Bestimmung des toxischen Methylquecksilbers in Umwelt- und biologischen Proben werden derzeit weltweit vorzugsweise Analysenverfahren eingesetzt, die auf atomspektrometrischen Methoden basieren und somit auf eine externe Kalibration angewiesen sind.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist die Entwicklung einer spezies-spezifischen massenspektrometrischen Isotopenverdünnungsanalyse (MSIVA) zur zuverlässigen Bestimmung von Methylquecksilbergehalten. Der Schwerpunkt liegt in der Untersuchung aquatischer Systeme, wobei auch eine Bestimmung von Methylquecksilber in festen Proben, z. B. dem Referenzmaterial Fisch, möglich sein soll. Die MSIVA soll zusätzlich als Validierungsmethode für bestehende Verfahren eingesetzt werden.

Aufgabe ist es zunächst, ein Analysensystem bereitzustellen, das eine nachweisstarke Bestimmung von Methylquecksilber im Ultraspurenbereich mittels induktiv gekoppelter Plasma-Massenspektrometrie (ICP-MS) zulässt. Dazu kann bezüglich der Probenvorbereitung (Purge & Trap) und des Meßsystems (GC/ICP-MS) auf zwei bestehende Verfahren zurückgegriffen werden.

Um eine spezies-spezifische MSIVA durchführen zu können, ist es notwendig, einen entsprechenden isotonenmarkierten MeHg^+ -Indikator zu synthetisieren sowie zu charakterisieren. Die Synthese soll betreffend der Ausgangsmenge von wenigen Milligramm optimiert werden.

Der MeHg^+ -Indikator soll in Isotopenexperimenten zur Überprüfung möglicher Fehlerquellen in der Probenvorbereitung eingesetzt werden. Hierbei sollen Modellösungen sowie auch Realproben bezüglich einer möglichen MeHg^+ -Speziesumwandlung untersucht werden.

Zusätzlich zur Verwendung des in der Probenvorbereitung weit verbreiteten Derivatisierungsreagenzes Natriumtetraethylborat (NaBEt_4) soll das seit kurzer Zeit kommerziell erhältliche Natriumtetrapropylborat (NaBPr_4) als Alternative überprüft werden.

Unter Verwendung des entwickelten GC/ICP-MSIVA-Verfahrens sollen MeHg^+ -Gehalte in natürlichen Wasserproben bestimmt werden. Weiterhin soll im Hinblick auf die Qualitätssicherung eine MeHg^+ -Gehaltsbestimmung in einem Referenzmaterial sowie ein Methodenvergleich mit der herkömmlichen GC/AFD-Methode durchgeführt werden.

1.3. Zusammenfassung der Ergebnisse

Im Rahmen dieser Arbeit ist es gelungen, ein GC/ICP-MSIVA-Verfahren zur zuverlässigen und richtigen Bestimmung von Methylquecksilbergehalten in aquatischen Systemen zu entwickeln.

Der für die spezies-spezifische MSIVA notwendige $\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$ -Indikator konnte in einer guten Ausbeute von 60% hergestellt werden. Die eingesetzten verdünnten Indikatorlösungen wurden hinsichtlich ihrer Isotopenzusammensetzung und ihres Gehaltes mit inverser MSIVA reproduzierbar charakterisiert.

Die Lagerungsbedingungen MeHg^+ -haltiger Standardlösungen und natürlicher Wasserproben wurden überprüft und optimiert. Hierbei war für beide Probenarten eine Lagerung in PFA-Flaschen am geeignetsten.

Unter Verwendung des $\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$ -Indikators konnte bei der Überprüfung der weltweit gängigen Probenaufbereitung mittels NaBEt_4 zur Überführung von MeHg^+ in MeEtHg gezeigt werden, daß während dieser Probenaufbereitung in Gegenwart von Halogeniden eine MeHg^+ -Speziesumwandlung zu Hg^0 stattfinden kann. Es konnte mit Hilfe von Modellösungen erstmalig eindeutig nachgewiesen werden, daß die MeHg^+ -Speziesumwandlungen ihre Ursache nur im Zusammenwirken von vorliegenden Halogeniden mit dem verwendeten Derivatisierungsreagenz NaBEt_4 haben. Die Untersuchung unterschiedlicher Halogenidlösungen ergab eine Abhängigkeit des Umwandlungsgrades zu Hg^0 vom Halogenid, wobei sich die Umwandlung in der Reihenfolge $\text{Cl}^- < \text{Br}^- < \text{I}^-$ vergrößerte. In der Iodidlösung wurde zusätzlich eine Umwandlung zu Hg^{2+} festgestellt. Die Analyse chloridhaltiger Modellösungen zeigte, daß die MeHg^+ -Umwandlung zu Hg^0 erst ab einer Konzentration von $65 \mu\text{g Cl}^-/\text{g}$ stattfindet und das Ausmaß der MeHg^+ -Umwandlung mit zunehmender Chloridkonzentration steigt. In einer $6900 \mu\text{g Cl}^-/\text{g}$ -Lösung wurde eine Umwandlung zu 83 % Hg^0 ermittelt. Die Untersuchungen weiterer Modellösungen, die andere Anionen, Huminsäure oder Mikroorganismen enthielten, zeigten keine MeHg^+ -Umwandlung.

Ebenso wie in Modellösungen wurden auch MeHg^+ -Speziesumwandlungen in Realproben bei der Derivatisierung mit NaBEt_4 überprüft. Der Chloridgehalt der unterschiedlichen Gewässerarten wurde mit Ionenchromatographie bestimmt. Die Resultate der untersuchten Realproben bestätigten die für die Modellösungen erhaltenen Ergebnisse. Schneeproben mit

einer Konzentration von höchstens $4 \mu\text{g Cl/g}$ zeigten keine MeHg^+ -Umwandlung, wohingegen in einer Süßwasserprobe mit $170 \mu\text{g Cl/g}$ bereits eine deutliche Umwandlung stattfand. Ein noch weitaus höherer Umwandlungsgrad wurde in Meerwasserproben gefunden.

Dadurch liegt die Annahme nahe, daß die in der Vergangenheit weltweit ohne Korrektur hinsichtlich der Speziesumwandlung bei der Derivatisierung mit NaBEt_4 durchgeführten Bestimmungen von Methylquecksilber in Süßwasser- und Meerwasserproben zu niedrige MeHg^+ -Konzentrationen erhalten haben.

Die Proben, die bei der Derivatisierung mit NaBEt_4 eine MeHg^+ -Umwandlung zeigten, wurden auch mit dem weltweit bisher wenig eingesetzten Reagenz NaBPr_4 derivatisiert. Hier konnte bei keiner der Untersuchungen eine MeHg^+ -Umwandlung festgestellt werden, so daß die Verwendung von NaBPr_4 eine hervorragende Alternative für die Bestimmung von MeHg^+ mit atomspektrometrischen Methoden und externer Kalibration darstellt.

Des weiteren wurden MeHg^+ -Gehalte in Süßwasserproben unter Verwendung von NaBEt_4 und NaBPr_4 bestimmt. Die Ergebnisse hinsichtlich beider Derivatisierungsreagenzien stimmten sehr gut überein. Diese Resultate zeigten eindrucksvoll, daß Substanzverluste durch die Speziesumwandlung bei MeHg^+ -Bestimmungen mit MSIVA keine Rolle spielen, da die Umwandlung erst nach der Isotopenvermischung einsetzte.

Die absolute Nachweisgrenze für das entwickelte GC/ICP-MSIVA-Verfahren zur Bestimmung von MeHg^+ -Gehalten in aquatischen Systemen betrug $1,5 \text{ pg Hg}$, und es wurden Reproduzierbarkeiten von 1,3-3,6 % erreicht. Selbst die Analyse einer antarktischen Schneeprobe, deren MeHg^+ -Gehalt im Bereich der Nachweisgrenze lag, ergab eine Reproduzierbarkeit von 7,2 %.

Die Untersuchungen verschiedener Proben ohne und mit den beiden Derivatisierungsreagenzien lieferten Hinweise auf den Ablauf der MeHg^+ -Umwandlung zu Hg^0 . Der genaue Mechanismus erscheint jedoch nach dem Wissensstand der vorliegenden Arbeit als sehr komplex und konnte nicht vollständig aufgeklärt werden.

In bezug auf die Qualitätssicherung des entwickelten GC/ICP-MSIVA-Verfahrens wurde der MeHg^+ -Gehalt im Referenzmaterial CRM 463 analysiert, der sehr gut mit dem zertifizierten Wert übereinstimmte. Ebenso wurde eine mit MeHg^+ dotierte Meerwasserprobe mit GC/AFD und GC/ICP-MSIVA analysiert. Der Methodenvergleich mit der herkömmlichen GC/AFD-Methode zeigte die Vorzüge des entwickelten GC/ICP-MSIVA-Verfahrens bezüglich Zuverlässigkeit, Richtigkeit und Reproduzierbarkeit der Analyse. Zusätzlich konnte die

MeHg⁺-Umwandlung mit dem Ergebnis der GC/AFD-Methode bei Derivatisierung mit NaBEt₄ quantifiziert werden. Die MeHg⁺-Umwandlung zu Hg⁰ betrug 79 % und stimmte somit gut mit den Ergebnissen überein, die in Modellösungen erhalten wurden.

2. Grundlagen

2.1. Eigenschaften der Methylverbindungen von Quecksilber

2.1.1. Chemische und physikalische Eigenschaften

In der Umwelt findet man Quecksilber in verschiedenen chemischen Zuständen. Die wichtigsten Quecksilberverbindungen, denen lebende Organismen ausgesetzt sind, können in drei Gruppen eingeteilt werden [5]:

- elementares Quecksilber
- anorganische Quecksilber(I)- und Quecksilber(II)-Salze
- Organoquecksilberverbindungen

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Organoquecksilberverbindung Methylquecksilber (MeHg^+).

Der Ausdruck „organische Quecksilberverbindung“ wird für alle Verbindungen verwendet, in denen Quecksilber an ein Kohlenstoffatom gebunden ist. Die organischen Quecksilberverbindungen besitzen eine kovalente Bindung zum Kohlenstoff und zeigen nur einen schwach ausgeprägten Salzcharakter. Die Bindungsstärke der C-Hg-Bindung bei den einfach substituierten Organoquecksilberverbindungen hängt vom koordinierten Anion ab, wobei z. B. bei den Methylquecksilberhalogeniden die Bindungs-Dissoziationsenergie zum Iod hin abnimmt. Tab. 1 zeigt einige Bindungs-Dissoziationsenergien.

Tab. 1 Bindungs-Dissoziationsenergien ΔH_{Diss} einiger quecksilberorganischer Verbindungen (für C-Hg-Bindung) [10]

Verbindung	Bindungs-Dissoziationsenergie ΔH_{Diss} [kJ/mol]
MeHgCl	269
MeHgBr	260
MeHgI	248
Me ₂ Hg	123

Das Element Quecksilber und seine Verbindungen zeigen, wie unterschiedliche Verbindungen eines Elementes sehr verschiedene physikalisch-chemische Eigenschaften aufweisen können. Eine Zusammenfassung einiger Hg-Spezies sowie deren Eigenschaften zeigt Tab. 2. Der Octanol/Wasser-Verteilungskoeffizient wird als Maß für die Lipophilie einer Substanz verwendet. Je höher der Wert, desto besser die Aufnahme durch Organismen. Die Henry-Konstante gibt Auskunft über die Flüchtigkeit einer Substanz aus Lösungen.

Tab. 2 Eigenschaften verschiedener Hg-Spezies [11-16]

	Hg ⁰	Me ₂ Hg	MeHgCl	HgCl ₂
Wasserlöslichkeit [g/L] (25°C)	59-63·10 ⁻⁶	0,03 (24°C)	5,93	73
Octanol/Wasser-Verteilungskoeffizient	4,2	180	2,5	0,5
Schmelzpunkt [°C]	-39	-42	170	276
Siedepunkt [°C]	357	92	-	302
Dampfdruck [Pa] (25°C)	0,3	8,3·10 ³	1,76	0,02
Henry-Konstante [Pa·m ³ ·mol ⁻¹] (25°C)	0,3	0,3	1,9·10 ⁻⁵	1,1·10 ⁻³
			(pH=5, pCl=0,2)	(pH=6,4, pCl=3,3)

Die organischen sowie anorganischen Kationen des Quecksilbers können - wie auch andere Schwermetallionen - reversible Komplexe ausbilden. Für eine Einschätzung des Verhaltens in der Umwelt ist eine genaue Betrachtung der Komplexchemie notwendig. Ähnlich wie das Hg²⁺-Ion zählen auch die Organoquecksilber-Kationen zu den weichen LEWIS-Säuren und bilden deshalb bevorzugt Verbindungen zu weichen LEWIS-Basen wie z. B. I⁻, CN⁻, SCN⁻, SR⁻ aus [17].

Umweltrelevant sind die methylierten Spezies Me₂Hg und MeHg⁺, wobei auch von ethylierten Spezies berichtet wird [18]. Me₂Hg ist eine farblose Flüssigkeit, die eine schlechte Löslichkeit in Wasser, dafür eine hohe Flüchtigkeit besitzt (Tab. 2). Die ionische Verbindung MeHg⁺ hingegen kommt in Form farbloser Salze (z. B. MeHgCl) vor. Beide Verbindungen sind gegenüber Wasser, Oxidation durch Sauerstoff und bezüglich der in der Umwelt vorliegenden Temperaturen stabil [19, 20].

2.1.2. Toxizität

Quecksilber zählt neben Cadmium, Arsen, Thallium, Blei und Selen zu den Elementen, deren Giftigkeit schon seit langer Zeit bekannt ist. Bei der Beurteilung der Toxizität von Quecksilber ist es in ganz besonderem Maße entscheidend, die jeweilige Bindungsform zu kennen. Elementares Quecksilber wird in Form eingeatmeter Quecksilberdämpfe gefährlich. Sie werden zu über 80 % von den Schleimhäuten resorbiert, enzymatisch zu Hg^{2+} oxidiert und über die Blutbahn verteilt [21]. Die Toxizität ist auf die hohe Affinität des Hg^{2+} zu Proteinen mit Thiol- und Disulfidbindungen zurückzuführen. So können sie direkt auf die aktiven Zentren von Enzymen einwirken und diese blockieren. Als Beispiel ist hier die Hemmung der Acetylcholinesterase zu nennen [22].

Am weitaus giftigsten bzw. biologisch aktivsten ist Quecksilber jedoch in Form seiner metallorganischen Verbindungen. Bei oraler Aufnahme reagiert das Methylquecksilberkation mit der Salzsäure des Magens zum unpolaren Methylquecksilberchlorid und wird dann bevorzugt in den roten Blutkörperchen akkumuliert und somit gleichmäßig über alle Organe verteilt [19]. Organoquecksilberverbindungen können auch durch Resorption durch die Haut in den Körper gelangen. Der prinzipielle Unterschied zwischen Hg^{2+} und MeHg^+ besteht darin, daß MeHg^+ aufgrund seiner höheren Lipophilie in der Lage ist, Membrangrenzen wie die z. B. die Blut-Hirn-Schranke zu überschreiten und sich damit bevorzugt im Hirn und anderen Fettgeweben anreichert. Die Komplexchemie des Quecksilbers läßt vermuten, daß Schwefel-, Selen und Stickstoffatome bevorzugte Bindungsstellen des MeHg^+ -Kations sind. Vermutet wird u. a. die Bindung an das cysteinhaltige Gluthation, was eine Beeinflussung von Enzymen des Gluthation-Metabolismus sowie eine Wechselwirkung mit Stickstoffatomen der Nucleinsäuren zur Folge hat [23]. Am besten untersucht ist der Weg des Methylquecksilbers in das Gehirn. Es bildet einen Cysteinkomplex ($-\text{CH}_2-\text{S}-\text{Hg}-\text{CH}_3$), der der Aminosäure Methionin ($-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_3$) strukturähnlich ist und somit den gleichen Transportmechanismen unterliegt. Hg^{2+} kann die Blut-Hirn-Schranke dagegen nicht überwinden, da es mit Gluthation einen Komplex ($-\text{CH}_2-\text{S}-\text{Hg}-\text{S}-\text{CH}_2-$) ausbildet, der einem dimeren Oxidationsprodukt des Gluthations ähnelt und so effektiv ausgeschieden wird [24]. In Tab. 3 sind die letalen Dosen für Hg^{2+} und MeHg^+ aufgeführt [5].

Tab. 3 Letale Dosen ausgewählter Quecksilberverbindungen

Verbindung	Ratte (oral LD ₅₀) [mg/kg]	Mensch oral (LD _{low}) [mg/kg]
HgCl ₂	37	29
MeHgCl	10	5
EtHgCl	40	5

Symptome einer Quecksilbervergiftung treten erst nach einigen Wochen auf. Die akute Vergiftung ist gekennzeichnet durch Sprachstörungen, eingeschränkte Bewegungskoordination, Empfindungsstörungen in den Fingern, Lähmungserscheinungen, Seh- und Hörproblemen sowie charakteristischen Symptomen einer Schädigung des zentralen Nervensystems (Hunter-Russell-Syndrom). Je nach Menge und Dauer der Stoffaufnahme stimmen die Vergiftungserscheinungen durch organische Quecksilberverbindungen mit denen des anorganischen Quecksilbers überein, wobei die Erkrankungen durch Organoquecksilberverbindungen schwerer und mit höherer Wahrscheinlichkeit (bis zu 30 %) tödlich verlaufen. Eine Methode, um toxische Schwermetallionen aus dem Körper zu entfernen, ist die Chelattherapie, bei der man die Thiophilie des MeHg⁺-Kations ausnutzt. Bei Methylquecksilber-Vergiftungen werden heute die Dithiole 2,3-Dimercaptopropylsulfonat und meso-2,3-Dimercaptobornsteinsäure bevorzugt [23]. Ein Behandlungserfolg ist allerdings in bezug auf Quecksilber nur zu erwarten, wenn die Therapie vor dem Auftreten der typischen Symptome einsetzt.

2.2. Quecksilber in der Umwelt

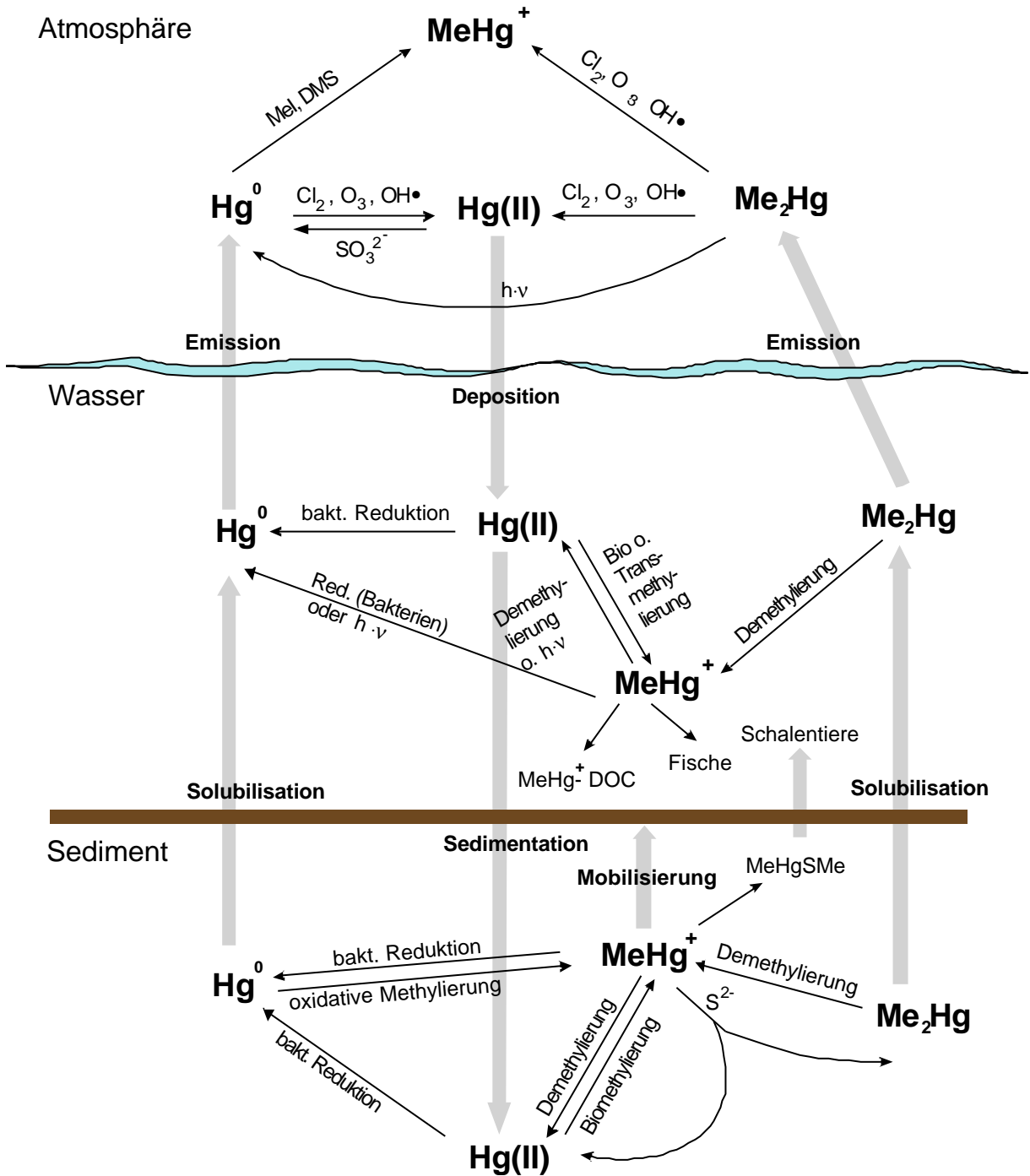
2.2.1. Vorkommen

Der natürliche Eintrag von Quecksilber in die Umwelt hat im wesentlichen zwei Quellen : Etwa 3500 Tonnen pro Jahr stammen aus verwitterndem quecksilberhaltigen Gestein, und zwischen 25000 und 150000 Tonnen gasen jährlich aus Vulkanen, heißen Quellen und anderen Stellen der Erdkruste aus. Der anthropogene Eintrag stammt aus den unterschiedlichsten Industriezweigen. Die Weltjahresproduktion von Quecksilber erreichte im Jahre 1971 mit 10600 Tonnen ihren Höhepunkt, bis 1987 sank die Menge auf knapp über 6000 Tonnen. Die für ein Industrieland typischen Einsatzbereiche für dieses Metall sind

elektronische Apparaturen, Chloralkalielektrolyse, technische Instrumente, Zahnmedizin und Landwirtschaft. Ein beträchtlicher Anteil gelangt schließlich als Abfall in die Umwelt. Annähernd die Hälfte stammt aus der Chloralkaliindustrie. Die restlichen Verluste rühren größtenteils von Verwendungen her, bei denen das Metall zwangsläufig in der Umwelt verteilt wird. Beispiele sind der Einsatz von Quecksilberverbindungen in der Nutzholz- und Papierindustrie (gegen Pilzwachstum), in Schutzanstrichen für Schiffe (Anti-Fouling-Farben), in Pestiziden und Saatgutbeizmitteln sowie in pharmazeutischen Produkten. Die Gesamteinträge aus diesen Quellen werden auf jährlich etwa 5000 Tonnen geschätzt, dazu kommen noch etwa 3000 Tonnen aus der Verwendung fossiler Brennstoffe [25].

Aufgrund der Toxizität der unterschiedlichen Quecksilberspezies ist es von besonderem Interesse, Umwandlungen als auch Transportvorgänge zu kennen. Viele dieser Prozesse sind noch nicht hinreichend untersucht, so daß eine vollständige Quantifizierung der Stoffflüsse bisher nicht möglich ist. Alle Quecksilberspezies unterliegen unterschiedlichen chemischen und biologischen Prozessen, die sie ineinander umwandeln und sowie zwischen verschiedenen Kompartimenten transportieren. Die Umwandlungen der Spezies durch biotische oder abiotische Prozesse und unter anaeroben und aeroben Bedingungen sind bereits lange bekannt [26, 27]. Die Methylierung von anorganischem Hg^{2+} sowie der Abbau von Methylquecksilber zu Hg^0 und Methan durch Mikroorganismen spielen ebenso eine Rolle [28]. Die verschiedenen Spezies können auch an andere Stoffe gebunden sein, wie z. B. Hg^{2+} an atmosphärische Partikel oder Hg^{2+} und MeHg^+ an gelöste oder suspendierte organische Makromoleküle [29, 30]. Eine Sonderstellung nimmt hierbei das elementare Hg^0 ein, das sich durch seine Eigenschaften Stabilität, Mobilität und Flüchtigkeit auszeichnet. Die Lebensdauer des atmosphärischen Quecksilbers beträgt ca. ein Jahr [31]. Umweltfaktoren wie mikrobielle Aktivität, Licht, Temperatur, Redoxpotential und Verfügbarkeit von komplexierenden Liganden beeinflussen die Umwandlung der Spezies sowie deren Stabilität. Ein Vorschlag für den biogeochemischen Kreislauf des Quecksilbers ist schematisch in Abb. 2 dargestellt.

Abb. 2 Transportwege und Umwandlungen der umweltrelevanten Quecksilberverbindungen [32]

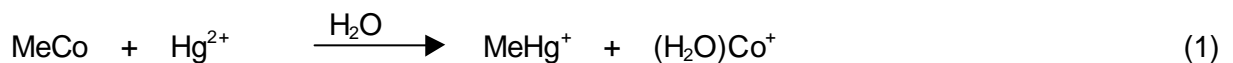


2.2.2. Methylierung und Demethylierung

Die methylierten Verbindungen des Quecksilbers MeHg^+ und Me_2Hg spielen im biogeochemischen Kreislauf eine wichtige Rolle. Auf der einen Seite können sie durch Methylierung auf natürliche Weise entstehen, auf der anderen Seite können sie wieder durch Demethylierung abgebaut werden [19]. Diese Prozesse lassen sich in vier Kategorien einteilen :

a) Die biotische Methylierung

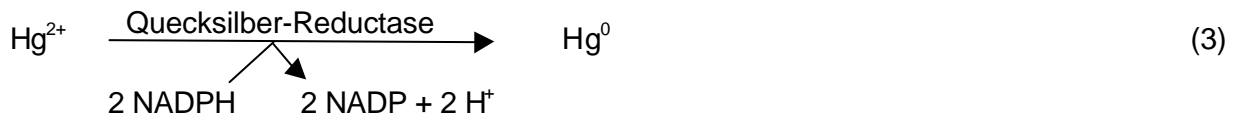
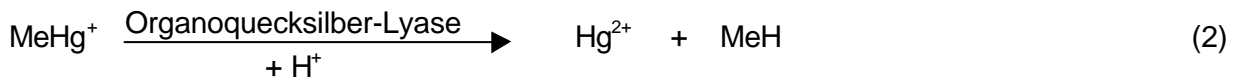
Die biotische Methylierung beruht auf der Übertragung einer Methylgruppe durch Mikroorganismen, die in ihrem Stoffwechsel Methylcobalamin (MeCo), ein Vitamin- B_{12} -Derivat, benutzen [33]. Die Methylgruppe als Ligand wird infolge eines nukleophilen Angriffs des Carbanions (CH_3^-) auf das Hg^{2+} übertragen [34] und es entsteht Methylquecksilber (Gl. 1).



Unter basischen Bedingungen entsteht während der Methylierung Me_2Hg [35]. Weitere wichtige biogene Methylendonatoren sind S-Adenosylmethionin und N^5 -Methyltetrahydrofolat, bei denen die Methylgruppenübertragung direkt oder enzymatisch erfolgen kann [36, 37]. Der Grund für die biotische Methylierung ist noch nicht vollständig geklärt. Es wird vermutet, daß es sich dabei um eine Nebenreaktion der intrazellulären Methylierung zur Darstellung von Polysacchariden, Fett-, Amino- und Nucleinsäuren handelt [38, 39]. In biotischen Modellversuchen ist eine Methylierung von Hg^{2+} durch biologische Organismen möglich. Es entstehen erwartungsgemäß MeHg^+ sowie Me_2Hg [38, 40, 41].

b) Die biotische Demethylierung

In aquatischen Systemen und in Sedimenten kann ebenso eine biotische Demethylierung stattfinden. Manche Mikroorganismen sind in der Lage, C-Hg-Bindungen von MeHg^+ und Me_2Hg zu spalten [32, 38, 42]. Die Mechanismen der Demethylierung sind allerdings weitaus weniger untersucht als die der Methylierung. Es wird angenommen, daß es sich hierbei um einen Entgiftungsprozeß handelt, der durch die Organoquecksilber-Lyase realisiert wird. Zunächst entsteht Hg^{2+} und Methan (Gl. 2) und als Endprodukt der Demethylierung elementares Quecksilber (Gl. 3). Das elementare Quecksilber kann dann aufgrund seiner Flüchtigkeit die Zelle verlassen [38, 43, 44].



c) Die abiotische Methylierung

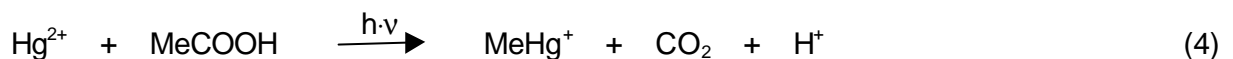
Neben den beschriebenen biotischen Prozessen finden auch abiotische Reaktionen statt. Da die Methylgruppen-Donatoren im allgemeinen intrazellulär gebildete Verbindungen sind, spricht man jedoch auch hier von einer Biomethylierung. Die abiotische Methylierung kann in drei Reaktionsklassen unterteilt werden.

Transmethylierung

Zu den wichtigen abiotischen Methylierungsreaktionen zählt die Transalkylierung zwischen unterschiedlichen Schwermetallspezies. Bei der Umsetzung von Hg^{2+} zu MeHg^+ fungieren organische Zinn- sowie Bleispezies als Methylgruppenüberträger [45, 46]. Untersuchungen über das Transalkylierungsverhalten von Sn^{4+} , Pb^{4+} und Hg^{2+} zeigen, daß Hg^{2+} von diesen drei Ionen der beste Methylgruppen-Akzeptor ist und die Tendenz der Methylgruppenaufnahme in der Reihenfolge $\text{Hg}^{2+} > \text{Sn}^{4+} > \text{Pb}^{4+}$ abnimmt [47]. Des weiteren kann eine Transmethylierung nach einem oxidativen Mechanismus durch biogen gebildetes MeI und DMS erfolgen. Auf diesem Wege ist die Entstehung von MeHg^+ (Sediment) und Hg^0 (Atmosphäre) möglich [48].

Photochemische Methylierung

Methylendonatoren wie Carbonsäuren, Alkohole, Ketone, Aminosäuren, Klärschlämme und Industrieabwässer können unter Lichteinwirkung (z. B. Sonnenlicht) anorganisches Quecksilber(II) zu Methylquecksilber methylieren. (Gl. 4) [45].



Die photochemische Methylierung ist bis jetzt nur für Quecksilber nachgewiesen worden.

Methylierung durch Huminstoffe

Die Wechselwirkung von Huminstoffen mit anorganischem Quecksilber wird bereits seit langem untersucht, jedoch ist der Mechanismus der Methylierung noch nicht aufgeklärt [49-51]. Die Umsetzung erfolgt ohne Einwirkung von Licht und in Abwesenheit von Mikroorganismen und hängt nur von den Methylgruppen der Humin- und Fulvinsäuren ab. Die Reaktion ist abhängig von äußeren Bedingungen (pH-Wert, Temperatur) und kann durch andere Metallionen (z. B. Fe^{3+}) katalysiert werden. Die Methylquecksilbermengen, die durch abiotische Prozesse gebildet werden, spielen eine wichtige Rolle im Quecksilberkreislauf.

d) Die abiotische Demethylierung

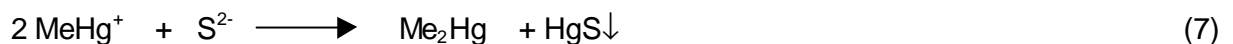
Wie bei den biotischen Prozessen ist eine Demethylierung auch unter abiotischen Bedingungen möglich. Es bestehen für die abiotische Demethylierung mehrere Reaktionswege. Ein Beispiel ist der oxidative Abbau durch Lichteinwirkung. Promotor dieser Reaktion sind verschiedene Oxidantien in der Atmosphäre, wie Ozon oder OH-Radikale [52]. Die Reaktion ist beispielhaft in Gl. 5 dargestellt.



Eine photochemische Zersetzung findet in der Atmosphäre und zu einem kleineren Anteil im aquatischen System statt. Zersetzungsprodukte sind organische Gase wie Methan oder Ethan. Das Endprodukt des photochemischen Abbaus von Quecksilber ist elementares Quecksilber [38, 53]. Gl. 6 zeigt die photochemische Zersetzung beispielhaft für Dimethylquecksilber.



Ein Sonderfall der Transmethylierung findet statt, wenn gleichzeitig eine Schwermetallspezies methyliert und demethyliert wird. Solch eine Reaktion kann für Methylquecksilber in Anwesenheit von Sulfidionen ablaufen [38]. Die Reaktion ist in Gl. 7 dargestellt.



2.3. Bisherige Spurenbestimmung von Methylquecksilber

Die wachsende Kenntnis der Toxizitätsabhängigkeit von der jeweiligen Bindungsform eines Schwermetalls führt zu einem zunehmenden Interesse, die jeweilige Spezies qualitativ sowie quantitativ zu bestimmen. Gemäß IPUAC [54] ist die Speziation „die analytische Tätigkeit, eine oder mehrere chemische Spezies in einer Probe zu identifizieren und sie quantitativ zu bestimmen“. Die Speziation spielt eine Rolle in der Bestimmung von biogeochemischen Kreisläufen sowie der Toxizität ausgewählter Elemente, der Qualitätskontrolle von Lebensmitteln, bei medizinischen und pharmazeutischen Produkten, der Prüfung von Berufskrankheiten und in der klinischen Untersuchung, wobei die Überprüfung von Kontaminationen in Lebensmitteln das führende Gebiet von Speziationsanalysen darstellt [1].

Die Toxizität der alkylierten Quecksilberverbindungen hat durch dramatische Unfälle wie 1953 in Minamata, Japan [55], und 1971 im Irak [56] Aufsehen erregt, als viele hundert Menschen an akuten Quecksilbervergiftungen starben, nachdem sie mit alkylierten Quecksilberverbindungen kontaminierte Nahrungsmittel verzehrt hatten. Quecksilber und seine organischen Verbindungen wurden aufgrund der seit langem bekannten Toxizität in die „Schwarze Liste“ für gefährliche Substanzen der Europäischen Union aufgenommen [57]. Besonderes Interesse gehört hier der Bestimmung von MeHg^+ -Gehalten in Fisch und Schalentieren, für die in der nahen Zukunft in der Europäischen Union eine Limitierung zu erwarten ist.

Für die Analyse von Methylquecksilber wurde in den letzten zehn Jahren eine enorme Anzahl von Analysemethoden entwickelt. Die Analyse von MeHg^+ -Gehalten in unterschiedlichen Matrices erfordert die Abfolge mehrerer Analysenschritte. Je nach Probenart ist zunächst eine Isolierung des MeHg^+ nötig. Die Isolierung wird mit verschiedenen Extraktionsverfahren durchgeführt. Die am meisten verwendeten Extraktionsverfahren sind die Behandlung der Matrix mit Säuren oder Basen bei Raumtemperatur, mit einer Mikrowelle oder einem Ultraschallbad sowie die Wasserdampfdestillation [58-61]. In vielen Fällen erfolgt dann eine Derivatisierung mit Reagenzien wie NaBH_4 , NaBEt_4 oder Grignardverbindungen [62-64]. Nichtflüchtige, ionische Spezies wie MeHg^+ werden dadurch in eine flüchtige Spezies umgewandelt, um sie einer gaschromatographischen Trennung von anderen Quecksilberspezies wie Hg^0 , Me_2Hg und Hg^{2+} zugänglich zu machen. Auch eine flüssigchromatographische Trennung der Spezies ist möglich. Die bislang nachweisstärkste Detektionsmethode ist die Atomfluoreszenzspektrometrie (AFD) in Kombination mit der Kapillar-Gaschromatographie,

die eine überaus empfindliche Quecksilberspeziation mit einer Nachweisgrenze von weniger als 1 pg erlaubt [65]. Eine weitere interessante, allerdings nicht gängige Detektionsmethode stellt die induktiv gekoppelte Plasma-Massenspektrometrie (ICP-MS) dar. Sie ermöglicht durch die Messung der Isotope eine weitere Information über die Spezies [66, 67]. Eine Übersicht der spurenanalytischen Bestimmungsmethoden für Methylquecksilber gibt Tab. 4.

Tab. 4 Analysenmethoden für Methylquecksilber

Trennmethode	Methode	Literatur
Kopplung mit GC	GC/AAS	[68]
	GC/AED	[69]
	GC/AFD	[70]
	GC/ECD ¹⁾	[71]
	GC/FTIR ²⁾	[72]
	GC/HC-GD ³⁾ -AED	[73]
	GC/MIP ⁴⁾ -AED	[74]
	GC/MS	[75]
	GC/ICP-MS	[76]
Kopplung mit LC	HPLC ⁵⁾ /AAS	[77]
	HPLC/AFD	[78]
	HPLC/ICP-MS	[79]
	IC ⁶⁾ /AAS	[80]
sonstige Kopplung	CE ⁷⁾ /ICP-MS	[81]
	SFC ⁸⁾ /ICP-MS	[82]

¹⁾ Elektroneneinfangdetektor

²⁾ Fouriertransformations-Infrarotspektroskopie

³⁾ Hohlkathode-Glimmentladung

⁴⁾ Mikrowelleninduziertes Plasma

⁵⁾ Hochleistungsflüssigchromatographie

⁶⁾ Ionenchromatographie

⁷⁾ Kapillarelektrophorese

⁸⁾ Chromatographie mit überkritischen Fluiden

Atomabsorptionsspektrometer (AAS), Atomemissionsdetektoren (AED) sowie Atomfluoreszenzdetektoren (AFD), gekoppelt mit verschiedenen Trennmethoden wie Gaschromatographie (GC) oder Flüssigkeitschromatographie (LC), sind die am häufigsten eingesetzten Detektoren, wobei für die Zukunft ein stärkerer Einsatz von induktiv gekoppelten Plasma-Massenspektrometern zu erwarten ist.

2.4. Prinzip der massenspektrometrischen Isotopenverdünnungsanalyse (MSIVA) am Beispiel von Methylquecksilber

Die Massenspektrometrie stellt eine der empfindlichsten Methoden in der Spurenanalytik dar. Wie bei allen anderen spurenanalytischen Verfahren stellt auch bei MeHg^+ - Bestimmungen die Richtigkeit des Ergebnisses ein nicht zu unterschätzendes Problem dar. Das heißt, erst eine sorgfältige Kalibrierung sowie eine Überprüfung mit unabhängigen Methoden sichert ein zuverlässiges Ergebnis. Die massenspektrometrische Isotopenverdünnungsanalyse (MSIVA) gehört zu den sogenannten „definitiven“ Methoden und wird allgemein als eine der zuverlässigsten und genauesten Methoden der Elementspurenanalyse anerkannt, da bei ihrer Verwendung Ergebnisse hoher Richtigkeit erzielt werden können [83, 84]. Voraussetzung für die Anwendung der MSIVA ist die Existenz von mindestens zwei stabilen oder quasistabilen Isotopen des zu untersuchenden Elementes. Aus diesem Grund können keine Elemente mit der MSIVA analysiert werden, die monoisotopisch sind und auch kein langlebiges Nuklid besitzen, wie z. B. As oder Rh [85].

Es ist inzwischen bekannt, daß organometallische Verbindungen von Schwermetallen, wie z. B. von Hg, Sn und Pb, eine weitaus höhere Toxizität als ihre anorganischen Salze besitzen. Aufgrund ihrer Toxizität ist in den letzten Jahren ein immer stärkeres Interesse an der Bestimmung der Gehalte von Schwermetallspezies feststellbar. Es wurden viele unterschiedliche, sehr leistungsfähige Analysemethoden entwickelt, die allerdings fast ausschließlich auf einer externen Kalibration zur Bestimmung der Gehalte beruhen. Für die Bestimmung organometallischer Schwermetallspezies von Hg, Sn und Pb wurde die MSIVA als Analysemethode bis heute weltweit in nur wenigen Laboratorien entwickelt, wobei im Falle des Quecksilbers nicht die Bestimmung des MeHg^+ - Gehaltes, sondern die Überprüfung von dynamischen, umweltrelevanten Prozessen (wie Methylierung und Demethylierung) im Vordergrund stand [86-88]. Die in der Elementspurenanalytik eingesetzten Massenspektrometer detektieren elementspezifisch, so daß eine vorherige Separation der einzelnen Spezies durch Trennmethode wie z. B. GC oder HPLC notwendig ist. Das vom Massenspektrometer detektierte Signal entspricht so dem Element (hier : Hg) der jeweiligen Spezies (hier : MeHg^+), die über die Retentionszeit der Trennmethode identifiziert werden kann (Kap. 3.2.3.). Der Anteil einer organometallischen Spezies eines Elementes macht in den meisten Fällen nur einen Bruchteil des Totalgehaltes dieses Elementes aus, so daß Matrixeffekte, Verluste bei der Separation sowie Schwächen im Nachweisvermögen eine große Rolle spielen können.

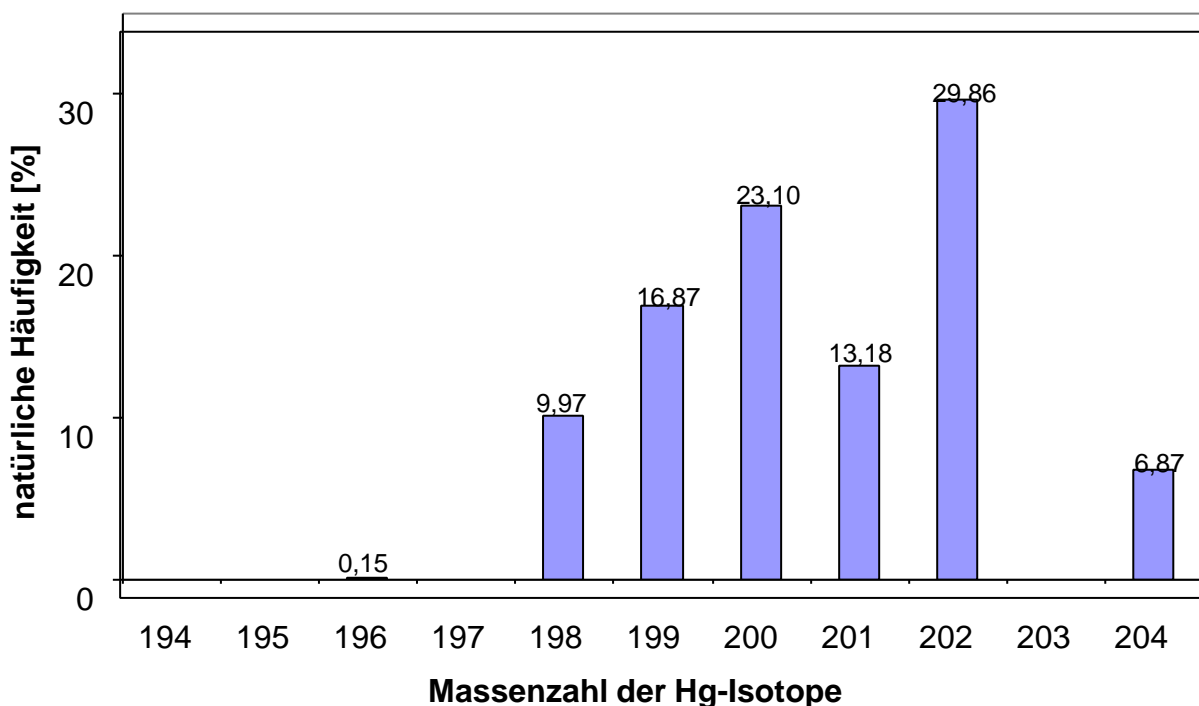
Um mit der MSIVA eine Speziesanalyse durchführen zu können, müssen vor allem folgende Bedingungen erfüllt sein [84, 89].

- Es muß ein Indikator verfügbar sein, der das Element in der gleichen chemischen Form wie die zu bestimmende Spezies enthält bzw. die Spezies oder der Indikator müssen in eine gemeinsame chemische Form überführt werden.
- Zwischen den verschiedenen Elementspezies darf während der gesamten Probenaufarbeitung bis zum Zeitpunkt der vollständigen Speziestrennung kein Isotopenaustausch stattfinden.
- Da die eingesetzten Massenspektrometer elementspezifisch detektieren, ist vor der Ionisation der Spezies eine vollständige Trennung notwendig. Es ist nicht erforderlich, die isotopenverdünnte Spezies quantitativ zu isolieren.

Die spezies-spezifische Isotopenverdünnungsanalyse stellt aufgrund der beschriebenen Anforderungen eine besondere analytische Herausforderung dar.

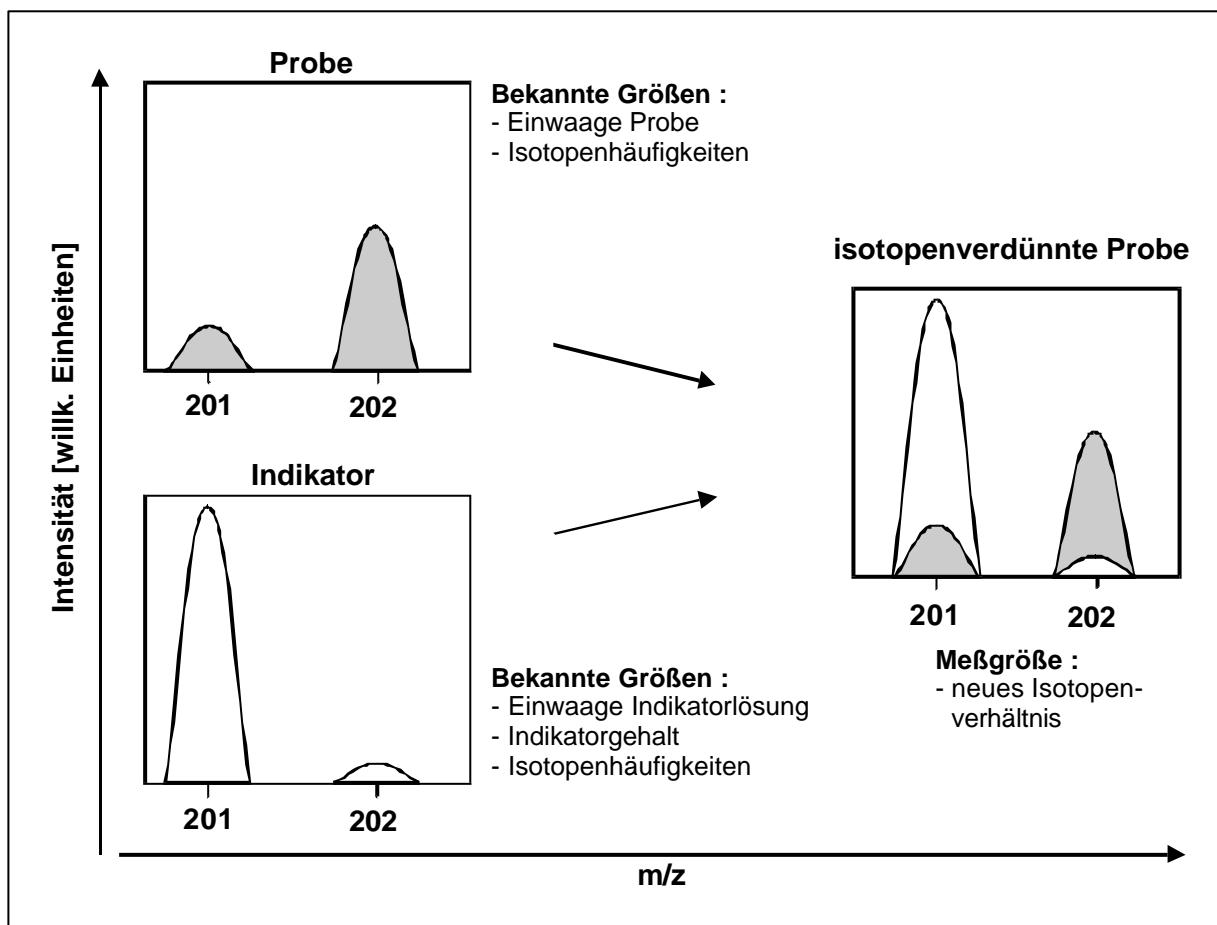
Da die vorliegende Arbeit die Entwicklung sowie Anwendung einer spezies-spezifischen MSIVA für MeHg^+ beschreibt, wird das Prinzip der MSIVA im folgenden am Beispiel von Quecksilber vorgestellt. Das Element Quecksilber mit der Ordnungszahl 80 besitzt sieben stabile Isotope [90]. Das natürliche Isotopenmuster zeigt Abb. 3.

Abb. 3 Natürliches Isotopenmuster von Quecksilber



Das Prinzip der MSIVA beruht darauf, daß zu einer exakt eingewogenen Probenmenge (mit in der Regel natürlicher Isotopenzusammensetzung und unbekannter Konzentration) eine genau eingewogene Menge eines sogenannten Indikators mit bekannter, nicht natürlicher Isotopenzusammensetzung und bekannter Konzentration gegeben wird. Entscheidender Schritt ist nun die vollständige Vermischung von Probe und Indikator, wobei sich ein neues Isotopenverhältnis einstellt, das sowohl von dem der Probe als auch von dem des Indikators abweicht. Aus dem im Massenspektrometer gemessenen, neu eingestellten Isotopenverhältnis läßt sich nun der Gehalt des zu bestimmenden Elementes in der Probe berechnen [84, 85]. In Abb. 4 ist das Prinzip der MSIVA von Quecksilber schematisch dargestellt.

Abb. 4 Prinzip der MSIVA von Quecksilber bei der Verwendung eines ^{201}Hg -Indikators



Für das Verhältnis R der isotopenverdünnten Probe gilt :

$$R = \frac{{}^{201}\text{Hg}}{{}^{202}\text{Hg}} = \frac{{}^{201}h_{Pr} \cdot N_{Pr} + {}^{201}h_I \cdot N_I}{{}^{202}h_{Pr} \cdot N_{Pr} + {}^{202}h_I \cdot N_I} \quad (8)$$

${}^{201}h_{Pr}$, ${}^{202}h_{Pr}$: Häufigkeiten der Isotope ${}^{201}\text{Hg}$ und ${}^{202}\text{Hg}$ in der Probe [%]

${}^{201}h_I$, ${}^{202}h_I$: Häufigkeiten der Isotope ${}^{201}\text{Hg}$ und ${}^{202}\text{Hg}$ im Indikator [%]

N_{Pr} : Zahl der Quecksilberatome in der Probe

N_I : Zahl der Quecksilberatome im Indikator

Durch Auflösen nach der Anzahl der Hg-Atome in der Probe N_{Pr} erhält man aus Gl. (8) :

$$N_{Pr} = N_I \cdot \frac{{}^{201}h_I - R \cdot {}^{202}h_I}{R \cdot {}^{202}h_{Pr} - {}^{201}h_{Pr}} \quad (9)$$

Die Größen h_{Pr} und h_I werden durch Isotopenverhältnismessungen von Probe bzw. Indikator ermittelt. Da Hg – im Gegensatz zu Pb – keine natürlichen Isotopenvariationen aufweist, kann h_{Pr} einmal am jeweiligen Meßtag bestimmt und für jede weitere Probe verwendet werden.

Die Anzahl der beim Isotopenverdünnungsschritt zugegebenen Indikatoratome errechnet sich aus Gleichung (10) :

$$N_I = E_I \cdot G_I \quad (10)$$

E_I : Einwaage Indikator [g]

G_I : Indikatorgehalt [Atome/g]

Aus den Gleichungen (8) und (9) erhält man für die Menge m_{Hg} des analysierten Quecksilbers :

$$m_{\text{Hg}} = \frac{N_{\text{Pr}}}{N_{\text{A}}} \cdot M_{\text{Hg}} = E_{\text{I}} \cdot G_{\text{I}} \cdot \frac{M_{\text{Hg}}}{N_{\text{A}}} \cdot \frac{{}^{201}\text{h}_{\text{I}} - R \cdot {}^{202}\text{h}_{\text{I}}}{R \cdot {}^{202}\text{h}_{\text{Pr}} - {}^{201}\text{h}_{\text{Pr}}} \quad (11)$$

m_{Hg}	:	Menge an Quecksilber	[g]
M_{Hg}	:	Molmasse Quecksilber	[g/mol]
N_{A}	:	Avogadrokonstante	[Atome/mol]

Den Gehalt G_{Pr} an Quecksilber in der Probe erhält man nach Subtraktion des Blindwertes B und Division durch die Probeneinwaage E_{Pr} :

$$G_{\text{Pr}} = \frac{m_{\text{Hg}} - B}{E_{\text{Pr}}} \quad (12)$$

G_{Pr}	:	Gehalt der Probe	[g/g]
B	:	Blindwert	[g]
E_{Pr}	:	Einwaage der Probe	[g]

Der in Gleichung (10) und (11) benutzte Indikatorgehalt G_{I} wird durch eine Isotopenverdünnung des Indikators mit einem Quecksilberstandard bekannter Konzentration und natürlicher Isotopenzusammensetzung mit nachfolgender Isotopenverhältnisbestimmung ermittelt (inverse MSIVA). Dazu löst man Gl. (8) nach N_{I} auf :

$$N_{\text{I}} = N_{\text{STD}} \cdot \frac{{}^{202}\text{h}_{\text{STD}} \cdot R - {}^{201}\text{h}_{\text{STD}}}{{}^{201}\text{h}_{\text{I}} - {}^{202}\text{h}_{\text{I}} \cdot R} \quad (13)$$

N_{STD}	:	Zahl der Quecksilberatome des Standards	
h_{STD}	:	Häufigkeiten der Isotope ${}^{201}\text{Hg}$ und ${}^{202}\text{Hg}$ im Standard	[%]
		(identisch mit natürlicher Isotopenverteilung, d. h. mit h_{Pr})	

Für die Zahl der Quecksilberatome des Standards N_{STD} gilt :

$$N_{\text{STD}} = E_{\text{STD}} \cdot G_{\text{STD}} \quad (14)$$

E_{STD} : Einwaage Standard [g]

G_{STD} : Gehalt Standard [Atome/g]

Den Indikatorgehalt G_I erhält man durch :

$$G_I = \frac{N_I}{E_I} = \frac{N_{\text{STD}}}{E_I} \cdot \frac{{}^{202}\text{h}_{\text{STD}} \cdot R - {}^{201}\text{h}_{\text{STD}}}{{}^{201}\text{h}_I - {}^{202}\text{h}_I \cdot R} \quad (15)$$

Die Tatsache, daß bei der MSIVA ausschließlich Isotopenverhältnisse, also relative Größen, bestimmt werden müssen, bietet viele Vorzüge. Ein Vorteil der MSIVA besteht darin, daß keine externe Kalibration notwendig ist. Weiterhin ist eine quantitative oder reproduzierbare Isolierung des isotopenverdünnten Elementes nicht erforderlich, d. h. Substanzverluste spielen keine Rolle, da nicht der Gehalt, sondern das Isotopenverhältnis gemessen wird. Außerdem erhöht die Zugabe des Indikators die Elementmenge, wodurch das Nachweisvermögen des Verfahrens gesteigert wird. Matrixeinflüsse spielen bei der Isotopenverdünnungsanalyse nur eine geringe Rolle. Aufgrund der häufig aufwendigen Probenvorbereitung und komplizierten Handhabung von Spezies sind diese Vorteile von besonderer Bedeutung in der Speziesanalytik.

2.5. Qualitätssicherung und Qualitätskontrolle

Die Analytische Chemie hat während der letzten Jahrzehnte infolge der raschen Entwicklung immer empfindlicherer Methoden eine zuvor kaum vorstellbare Bedeutung gewonnen. Analytische Ergebnisse sind die Grundlage für Planungen und Entscheidungen auf vielen Gebieten, z. B. Entwicklung und Produktion von Chemikalien, Arzneimitteln, Lebensmitteln, Schädlingsbekämpfungsmitteln sowie im Umweltschutz. Von den Ergebnissen wird erwartet, daß sie zuverlässig sind und damit eine richtige Aussage liefern. Falschaussagen können zu Fehlplanungen, wirtschaftlichen Verlusten oder auch zu Gesundheitsgefährdungen führen. Analysendaten müssen heutzutage zwischen unterschiedlichen Laboratorien bis in den internationalen Maßstab hinein vergleichbar sein. Dies setzt voraus, daß die Qualität der

Prüfdaten gesichert ist. Darüber hinaus sollten die Planung, die Durchführung, die Aufzeichnung und die Archivierung von Analysendaten geregelt sein. Aufgrund dieser Fragestellungen sind in den letzten Jahren Richtlinien entwickelt worden, die die Qualität analytischer Arbeiten unter Befolgung einheitlicher Vorschriften kontrollieren sollen. Dies betrifft die Evaluierung analytischer Laboratorien, die anhand der *Good Laboratory Practise* („Gute Laborpraxis“), der Akkreditierung bezüglich ihrer Fachkompetenz nach EN 45000 sowie der Zertifizierung bezüglich der Qualität der Organisation nach EN 29000 durchgeführt wird. Das System zur analytischen Qualitätssicherung läßt sich wie folgt einteilen [91, 92] :

- Auswahl und Validierung eines analytischen Verfahrens

Bei einer analytischen Fragestellung besteht die erste Aufgabe darin, ein analytisches Verfahren auszuwählen, das der Lösung der Aufgabe gerecht wird. Das analytische Verfahren beinhaltet Probenahme und -lagerung (Kap. 3.1.2.), Probenaufbereitung, die Messung des Analyten und anschließende Auswertung (Kap. 3.2). Des weiteren werden die Verfahrenskenndaten ermittelt. Kriterien wie Reproduzierbarkeit, Nachweisgrenzen und Matrixeinflüsse sind zu überprüfen (z. B. Kap. 3.6., 3.9., 4.7.3.).

- Interne Qualitätssicherung

Die Qualitätskontrolle in der Routineanalytik erfolgt durch interne Qualitätssicherung. Hierbei analysiert man parallel zu jeder Analysenserie sogenannte Kontrollproben in Form von Standardlösungen, Blindproben, realen Proben, synthetischen Proben und zertifizierten Referenzmaterialien. Die Kontrollproben sollen in jeder Analysenserie ein- oder zweimal mitanalysiert und die Ergebnisse statistisch erfaßt werden, um sie mit den Ergebnissen der Analysenserie zu vergleichen (Kap. 3.9, 3.10.3.). Die Daten und auch die Auswertung sind zu dokumentieren, um eine Rückführbarkeit des Resultates zu gewährleisten.

- Externe Qualitätssicherung

Die Richtigkeit eines Verfahrens kann nur extern nachgewiesen werden, d. h. das Verfahren muß einem Vergleich standhalten. Für den Nachweis der Richtigkeit eines Verfahrens stehen dabei verschiedene Möglichkeiten zur Auswahl. Dazu zählt zum einen der Vergleich des Verfahrens mit einem grundsätzlich verschiedenen Meßprinzip (Kap. 4.8.). Eine weitere Möglichkeit beruht auf dem Vergleich mit anderen Laboratorien (Ringversuch).

Speziation von Elementen ist seit etwa Anfang der 90er Jahre ein charakteristisches Merkmal für die Entwicklung der Analytischen Chemie. Die Bestimmung von Spezies (z. B. Pb, Hg, Sn Spezies) erlangte in den letzten Jahren aufgrund ihres hohen toxischen Potentials ein verstärktes Interesse [19]. Gerade die Analyse von Spezies umfaßt im allgemeinen eine aufwendige Abfolge von nicht immer kontrollierbaren Analysenschritten, Kontaminationsproblemen, Zersetzungsreaktionen sowie damit verbundenen Substanzverlusten [93]. Somit ist das Risiko von Fehlern erhöht und erfordert eine besondere Überprüfung und Sicherstellung des Analysenergebnisses. Gerade die Analyse von MeHg^+ - Gehalten in unterschiedlichen Matrices ergibt häufig keine 100 %ige Ausbeute des Analyten. Nötige Analysenschritte je nach Matrix wie Extraktion, Destillation, Derivatisierung, Separation, Detektion und natürlich auch die Kalibrierung müssen überprüft werden, um die Zurückführbarkeit zu gewährleisten. Die massenspektrometrische Isotopenverdünnungsanalyse (im Fall des MeHg^+ eine spezies-spezifische IVA) mit ihren bereits beschriebenen Vorteilen (Kap. 2.4.) ermöglicht durch den Einsatz einer isotopenmarkierten Verbindung die Kontrolle des Analysenweges sowie bei der Gehaltsbestimmung eine direkte Zurückführung auf SI-Einheiten. Eine Möglichkeit in der Zukunft für die Überprüfung der „richtigen“ Bestimmung von MeHg^+ -Gehalten wäre der Einsatz von Referenzmaterialien, die die zu bestimmende Hg-Spezies isotopenmarkiert enthalten und somit eine Bestimmung mit MSIVA denkbar machen [94].

3. Experimenteller Teil

3.1. Spurenanalytisches Arbeiten

3.1.1. Verwendete Chemikalien, Verbrauchsmaterialien und Geräte

Die Analyse von Quecksilberspezies im Ultraspurenbereich, wie das in dieser Arbeit untersuchte MeHg^+ , stellt eine besondere Herausforderung dar. Bereits die geringste Kontamination aus der Umgebung, aus den eingesetzten Chemikalien, aus Verbrauchsmaterialien oder den Geräten kann zu einer Verfälschung des Ergebnisses führen [95]. Im Falle des in der Natur nur in geringen Konzentrationen vorkommenden Methylquecksilbers ist eine Kontamination aus der Umgebungsluft eher unwahrscheinlich, aber ein Blindwerteintrag aus Chemikalien kann durchaus eine ernstzunehmende

Kontaminationsquelle sein. Querkontaminationen können durch Parallelproben oder eingesetzte Standardlösungen eintreten und im folgenden zu sogenannten Memoryeffekten führen. Quecksilberspezies, wie elementares Quecksilber oder Hg(II)-Salze, kommen häufig in einem hohen Überschuß in realen Proben vor. Bei chromatographischen Trennungen wird so unabhängig von der Bindungsform Quecksilber kontinuierlich eingeschleppt (z.B. bei der GC durch das Trägergas) und erhöht das Untergrundsignal und dessen Rauschen, so daß dadurch eine Ultrapurenanalyse durch die Erhöhung der Nachweisgrenze verhindert werden kann.

Bei den eingesetzten Chemikalien sollte darauf geachtet werden, daß die käuflichen Chemikalien hohe Reinheiten wie p.a. (pro analysis) oder suprapur aufweisen. Die verwendeten HNO₃ und HCl werden in der Qualitätsstufe p.a. bezogen, zur weiteren Reinigung in einer Quarzdestillationsapparatur oberflächendestilliert und bis zum Gebrauch in PFA (Perfluoroalkoxy)-Flaschen aufbewahrt. Das verwendete Reinstwasser wird aus entionisiertem Wasser nach Ionenaustausch durch ein MilliQ-System (Millipore, Eschborn) mit einer Leitfähigkeit von weniger als 0,05 µS erhalten. Eine Übersicht der verwendeten Chemikalien, ihrer Reinheit sowie Bezugsquellen gibt Tab. 5.

Tab. 5 Eingesetzte Chemikalien

Chemikalie	Reinheit	Bezugsquelle
<u>Flüssigkeiten/Lösungen</u>		
Benzol	p.a.	Fluka
Essigsäure	suprapur (96 %)	Merck
Hexan	p.a.	Sigma-Aldrich
TMAH	p.a. (25%)	Merck
Salpetersäure	p.a. (65 %) oberflächendestilliert	Merck
Salzsäure	p.a. (32 %) oberflächendestilliert	Merck
Wasser	MQ	Milliporeanlage
Wasserstoffperoxid	p.a	Merck
<u>Feststoffe</u>		
Calciumchlorid ($\cdot 6 \text{ H}_2\text{O}$)	p.a.	Merck
Huminsäure	-	Roth
Kaliumcarbonat	p.a.	Merck
Magnesiumchlorid ($\cdot 6 \text{ H}_2\text{O}$)	p.a.	Merck
Magnesiumsulfat ($\cdot 7 \text{ H}_2\text{O}$)	p.a.	Merck
Methylcobalamin	-	Sigma-Aldrich
Methylquecksilberchlorid	-	Strem Chemicals
Natriumacetat	suprapur	Merck
Natriumbromid	suprapur	Merck
Natriumcarbonat	suprapur	Merck
Natriumchlorid	suprapur	Merck
Natriumhydrogencarbonat	p.a.	Merck
Natriumiodid	suprapur	Merck
Natriumsulfat	p.a.	Merck
Natriumtetraäthyloborat	-	Galab
Natriumtetrahydridoborat	-	Acros Organics
Natriumtetrapropyloborat	-	Galab
Quecksilberoxid (isotopenangereichert)	-	Euroisotop
<u>Gase</u>		
Argon	4.6	Linde
Helium	4.6	Linde

Verwendete Gefäße müssen ebenso mit großer Sorgfalt behandelt werden. Um einen Blindwerteintrag auszuschließen, werden Glasgefäße sowie PFA- oder FEP (Hexafluorpropylen/Tetrafluoroethylen)-Gefäße bzw. Schläuche zunächst zwei Stunden in 5%iger Salpetersäure und anschließend zweimal mit MilliQ-Wasser eine Stunde ausgekocht. Weniger säurebeständige Kunststoffgefäße wie Flaschen und Pipettenspitzen aus PE (Polyethylen) durchlaufen die gleichen Reinigungsschritte, allerdings werden sie nicht ausgekocht, sondern nach dem entsprechenden Ablauf (1x Säure, 2x Wasser) ausgeschüttelt. Alle gereinigten Verbrauchsmaterialien werden mit PE-Folie umwickelt, bei 70°C getrocknet und dann zur Aufbewahrung in PE-Folie verpackt oder in PE-Tüten verschweißt. PFA/FEP-Gefäße und Schläuche können nach erneuter Reinigung wieder benutzt werden, wohingegen Glas- und PE-Flaschen sowie Pipettenspitzen dem Einmalgebrauch unterliegen.

Der Gaschromatograph wird vor jedem Meßtag auf 200°C geheizt, die Kühlfalle sowie die Transferleitung geheizt und mit Helium gespült, um mögliche Kontaminationen des Vortages vor Meßbeginn zu entfernen. Das Probengefäß aus Glas in der Purge&Trap-Einheit wird nach jeder abgeschlossenen Messung einmal mit verdünnter HNO₃ (1:1000) und anschließend zweimal mit Wasser für 1 min ausgeschüttelt, um an der Glasoberfläche adsorbierten Analyten zu desorbieren und so einen Blindwerteintrag für die folgende Probe auszuschließen. Bei Verwendung von Pipetten muß streng darauf geachtet werden, daß jeweils die für die Standard- bzw. Indikatorlösung gekennzeichnete Pipette eingesetzt wird, da mögliche Kontaminationen an der Pipette zu Verschiebungen des Isotopenverhältnisses führen können. Es wird darauf geachtet, daß Oberflächen, die mit der Probe in Berührung kommen, keinen Kontakt zur Umgebung haben. Alle Arbeiten erfolgen nur unter Verwendung von Einwegkunststoffhandschuhen.

3.1.2. Probennahme, -lagerung und -aufarbeitung






Es ist grundsätzlich bekannt, daß es je nach Lagerungsbedingung zu Speziesumwandlungen sowie Substanzverlusten kommen kann. Die Stabilität der Quecksilberspezies in Lösungen hängt von der Konzentration der Spezies, dem Typ der Lösung (z. B. Realprobe oder MilliQ-Wasser), dem Flaschenmaterial und eventuellen Zusätzen zur Stabilisierung (z. B. Säuren) ab [96].

Während der Probennahme werden PE-Einweghandschuhe getragen, um einen Kontakt mit der Probe zu vermeiden. Die Probennahme für Süßwasser- und Schneeproben erfolgt ausschließlich in gereinigten PFA-Flaschen. Bei der Probennahme von Süßwasser wird zusätzlich das Probengefäß vor endgültiger Probennahme dreimal mit Süßwasser ausgespült. Im Falle der Methylquecksilberbestimmung wird kein Stabilisierungsreagenz zur Lösung hinzugegeben, sondern die Probe ursprünglich belassen. Wenn möglich sollte die Probe sofort nach der Probennahme untersucht werden, um Adsorptionseffekte sowie Speziesumwandlungen zu minimieren. Es ist jedoch eine Lagerung der Probe im PFA-Gefäß im Kühlschrank bei 4°C für einige Tage möglich. Die untersuchten antarktischen Schnee- und Meerwasserproben wurden in Glas- oder PE-Flaschen genommen und durch Tiefkühlagerung bei -10°C konserviert, um Speziesumwandlungen kinetisch zu hemmen [97]. Eine Hg-Speziesumwandlung bei Lagerung in PE-Flaschen bei Raumtemperatur ist bereits innerhalb eines Tages feststellbar [96]. In einem anderen Kapitel (Kap. 3.4.) wird die Speziesveränderung in PE-Flaschen gezeigt. Methylquecksilber in natürlicher oder nicht-natürlicher Isotopenzusammensetzung wird in MilliQ-Wasser in PFA-Flaschen im Kühlschrank gelagert. PFA-Flaschen eignen sich besonders aufgrund ihrer hydrophoben und antiadhäsiven Materialeigenschaften sowie ihrer ultraglaten Oberflächen für die Spurenanalyse [98]. Entsprechend der Literatur [96] können bei dieser Probenlagerung der Standard - oder Indikatorlösungen mindestens sechs Wochen weder Speziesumwandlungen noch Substanzverluste festgestellt werden. Um Querkontaminationen von flüchtigen Quecksilberspezies zu vermeiden, sollten Standards dieser Spezies nicht gemeinsam mit Proben gelagert werden.

3.1.3. Sicheres Arbeiten mit methylierten Quecksilberverbindungen

Die Toxizität von methylierten Hg-Verbindungen hat nicht nur durch dramatische Unfälle wie in Minamata, Japan, Aufsehen erregt, sondern auch durch einen Laborunfall 1997 in Amerika [23]. Dort starb eine Hochschullehrerin nach unsachgemäßer Handhabung eines Dimethylquecksilberstandards an den Folgen einer Methylquecksilbervergiftung. Die Toxizität von Methylquecksilber und Dimethylquecksilber ist nahezu identisch, nur ist das Gefährdungspotential durch das flüssige Me_2Hg aufgrund seiner Flüchtigkeit im Vergleich zu dem festen MeHg^+ -Salz höher einzuschätzen. Beim Arbeiten mit der Reinstsubstanz des in dieser Arbeit verwendeten MeHgCl ist größte Vorsicht geboten. Die nötigen Sicherheitsmaßnahmen müssen strikt eingehalten werden, um ein sicheres Arbeiten zu gewährleisten. Gemeinsam mit der Arbeitssicherheit der Johannes Gutenberg-Universität wurde die in Abb. 5 dargestellte Betriebsanweisung für MeHgCl erarbeitet. Bei Einhaltung aller Schutzvorkehrungen sollte ein Arbeiten in jedem standardmäßig ausgerüsteten Chemielabor prinzipiell möglich sein. Bei Analysen mit verdünnten Lösungen ist ein Abweichen von der Betriebsanweisung möglich.

Abb. 5 Betriebsanweisung zum sicheren Arbeiten mit Methylquecksilbersalzen

Nr.	JOHANNES GUTENBERG-UNIVERSITÄT MAINZ Institut für Arbeitskreis		
Betriebsanweisung nach § 20 GefStoffV			
Geltungsbereich			
Arbeitsplatzbereich, Tätigkeit			
GEFAHRSTOFFBEZEICHNUNG			
Methylquecksilber(II)-chlorid Hersteller: Strem Chemicals GmbH			
GEFAHREN FÜR MENSCH UND UMWELT			
 T+ Sehr giftig	<p>Sehr giftig beim Einatmen, Verschlucken und Berührung mit der Haut. Reizt die Augen, Atmungsorgane und die Haut. Gefahr kumulativer Wirkung.</p> <p>Kann Störungen des Nervensystems bewirken. Reizwirkung auf die Schleimhäute und die oberen Atemwege. Es besteht die Gefahr der Hautresorption. Werdende und stillende Mütter dürfen dem Stoff nicht ausgesetzt werden.</p> <p>Wassergefährdungsklasse 3: stark wassergefährdend. Trinkwassergefährdung besteht bereits beim Auslaufen geringster Mengen in den Untergrund.</p>		
SCHUTZMASSNAHMEN UND VERHALTENSREGELN			
	Arbeiten mit Quecksilber-Methylquecksilberchlorid nur unter wirksamer Absaugung durchführen. Stoff nicht einatmen. Beim Umgang mit dem Feststoff Atemschutzmaske mit Staubfilter P3 tragen. Vermeiden Sie jeden Kontakt mit Haut, Augen und Kleidung. Behälter dicht geschlossen halten. Von Nahrungsmitteln und Getränken fernhalten. Schutzbrille tragen.		
	Schutzhandschuhe: Laminierte Handschuhe (Silvershield, 4H, Barrier) unter Handschuhen aus Nitrilkautschuk tragen. Vorbeugender Hautschutz (Lotion) wird empfohlen.		
VERHALTEN IM GEFAHRFALL			
Verletzte Personen unter Selbstschutz aus der Gefahrenzone bringen. Alarmieren weiterer Personen. Gegebenenfalls Abschalten von Strom, Gas und Wasser. Im Brandfall ist die Entstehung giftiger Dämpfe möglich. Bei unbeabsichtigter Freisetzung: Verunreinigte Bereiche gründlich reinigen und gut durchlüften lassen.			
NOTARZT:	0-19222 oder 17-3274	FEUERWEHR:	0-112 oder 92
Pforte :	2325		
ERSTE HILFE			
	<p>Augenkontakt: Unter fließendem Wasser bei gut geöffnetem Lidspalt mindestens 10 Minuten spülen. Sofort Augenarzt aufsuchen.</p> <p>Hautkontakt: Gründlich mit Wasser waschen. Verunreinigte Kleidung entfernen. Sofort Arzt aufsuchen.</p> <p>Einatmen: Sofort Frischluftzufuhr. Atemwege freihalten. Sofort Arzt hinzuziehen.</p> <p>Verschlucken: Mund mit Wasser ausspülen, vorausgesetzt die Person ist bei Bewußtsein. Sofort Arzt aufsuchen.</p>		
	Ersthelfer/in:		
SACHGERECHTE ENTSORGUNG			
Abfallschlüssel: 160503, UNNR 3282, 6.1/35b ADR. Verpacken in 30 Liter Weithalsfässer.			
4. Weitere Hinweise			
Merkblätter BG Chemie: M024 Quecksilber und seine Verbindungen, Vorsorgeuntersuchung nach G 9 Quecksilber und seine Verbindungen.			

3.2. Entwicklung und Anwendung eines GC/ICP-MS-Verfahrens zur Ultrapurenanalyse von Methylquecksilber

3.2.1. Allgemeines zum Analysensystem

Für die in der Umwelt relevanten Mengen der Quecksilberspezies im unteren pg-Bereich [19, 99] ist es nötig, ein nachweisstarkes Analysensystem einzusetzen. GC/ICP-MS-Systeme sind für diese Analyse geeignet, da sie eine Nachweisgrenze bis zu 120 fg Hg erreichen können [66]. Das in dieser Arbeit verwendete System besteht aus der Kopplung eines Probenvorbereitungssystems, einem Gaschromatographen (GC) sowie einem induktiv gekoppelten Plasma-Massenspektrometer (ICP-MS). In den folgenden Unterkapiteln werden die einzelnen Komponenten sowie ihre Parameter beschrieben.

3.2.2. Probenvorbereitungssystem

Zur Überführung einer Probe in eine für die Gaschromatographie meßbare Form sind verschiedene Schritte der Probenvorbereitung in der Hg-Speziesanalytik erforderlich. Es ist die Abtrennung von störender Matrix, die Überführung in einen flüchtigen Analyten sowie die Aufkonzentrierung des zu bestimmenden Analyten in den Empfindlichkeitsbereich der GC/ICP-MS-Methode nötig. Für die Bestimmung von leichtflüchtigen Verbindungen mit gaschromatographischer Trennung werden zwei Verfahren angewandt :

- Extraktion des Analyten in ein organisches Lösungsmittel und nachfolgende Direktinjektion in den Gaschromatographen [100]. Dieses Verfahren birgt die Gefahr von Substanzverlusten und Kontaminationsproblemen.
- Analyse des Dampfraumes über der wäßrigen Probe, die sogenannte headspace-Analyse. Bei der dynamischen headspace-Analyse leitet man einen Gasstrom kontinuierlich über oder durch (*purge*) die Probe und sammelt den Analyten durch Adsorption (*trap*). Die Adsorption kann auf sehr tief gekühlten Kapillaren (Kryofalle) [101] oder auf Adsorbentien [102] erfolgen. Nach der Anreicherung kann der Analyt thermisch desorbiert werden und wird mit dem Trägergasstrom auf die gaschromatographische Säule aufgebracht (*on-column*).

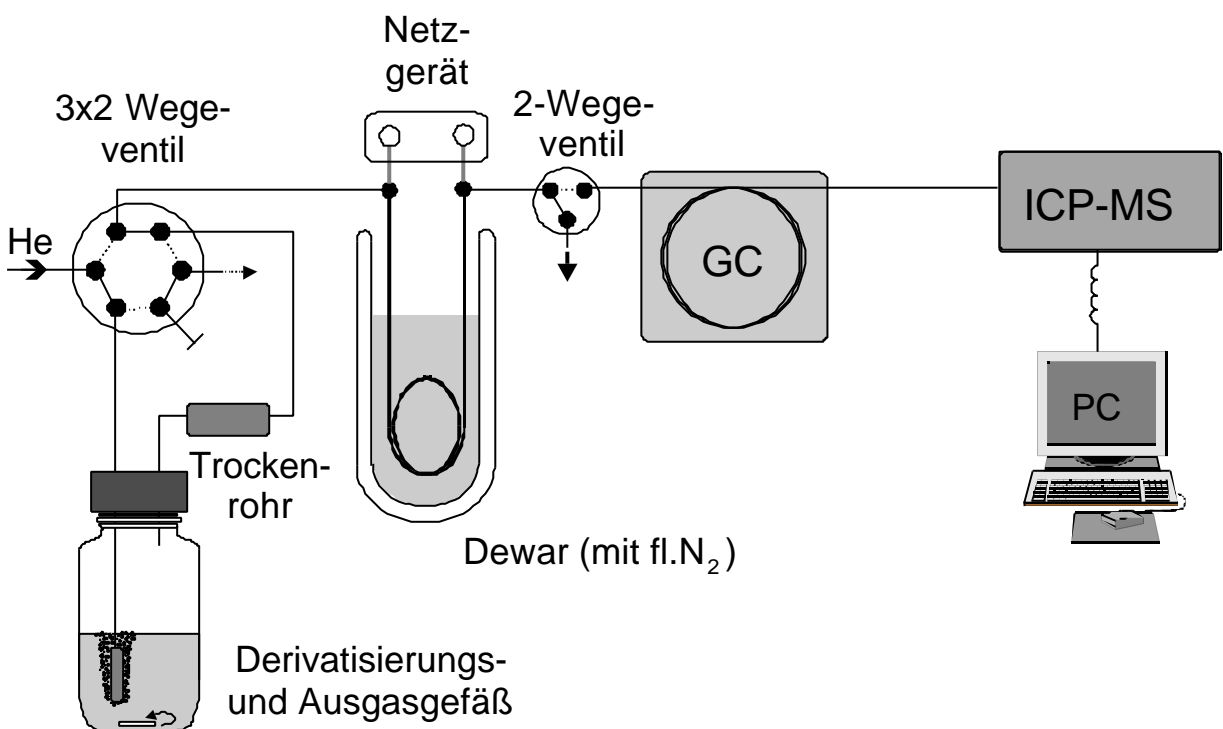
Voraussetzung für die Anwendung eines Purge&Trap-Verfahrens ist ein quantitatives bzw. reproduzierbares Ausgasen und Anreichern des Analyten [103, 104].

Folgende Vorteile bietet das in der vorliegenden Arbeit verwendete Purge&Trap-Verfahren und ist deshalb für die Ultraspurenanalyse besonders geeignet :

- keine aufwendige Probenaufbereitung
- schnelle und vollständige Abtrennung der Matrix
- geringe Kontaminations- und Verlustgefahr des Analyten
- Anreicherung des Analyten aus großem Probenvolumen
- nahezu vollständiges punktförmiges Aufbringen des Analyten auf die Säule

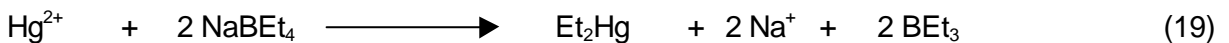
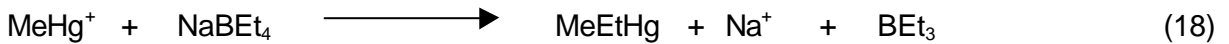
Den schematischen Aufbau des in dieser Arbeit eingesetzten Analysensystems mit dem Purge & Trap-System zeigt Abb. 6.

Abb. 6 Purge&Trap-GC/ICP-MS-System



Alle Proben werden zunächst in das Ausgasgefäß gegeben. Dort findet zuerst die Derivatisierung der Probe zur Überführung der nicht-flüchtigen in flüchtige Spezies statt, um sie einer gaschromatographischen Trennung zugänglich zu machen. Das seit etwa 15 Jahren weltweit gängige Derivatisierungsreagenz ist Natriumtetraethylborat NaBEt_4 [63]. Elementares Quecksilber und Dimethylquecksilber reagieren nicht mit NaBEt_4 , wohingegen

Methylquecksilber zu Methylethylquecksilber und anorganisches Quecksilber(II) zu Diethylquecksilber reagiert Gln. (16)-(19).



In den folgenden Chromatogrammen dieser Arbeit wird die Beschriftung der Peaks entsprechend der Ausgangsspezies als MeHg^+ sowie Hg^{2+} bezeichnet, obwohl die derivatisierten Spezies vorliegen. 0,2 mL einer frisch angesetzten Natriumtetraethylboratlösung, die 1 mg NaBEt_4 enthält, werden zur zu untersuchenden Probe hinzugegeben. Ist die Probe sehr huminstoffreich, muß die Konzentration an NaBEt_4 erhöht werden. Das NaBEt_4 wird in einer Glovesbox unter Argonatmosphäre gelagert. Die entsprechende Menge an NaBEt_4 wird in der Glovesbox in kleinvolumige GC-Gläschen eingewogen und kann dann ohne Verlust der Derivatisierungsaktivität zwei Tage im Kühlschrank gelagert werden. Im Rahmen einer anderen Arbeit [105] konnte gezeigt werden, daß eine Reaktionsdauer in wäßrigen Realproben von 10 min bei pH 5 ausreicht, um eine vollständige Derivatisierung zu erhalten. Den pH-Wert kann man durch Zugabe von 0,2 mL eines 1 mol/L Essigsäure/Acetatpuffers einstellen.

In der vorliegenden Arbeit wird auch Natriumtetrapropylborat (NaBPr_4) als Derivatisierungsreagenz eingesetzt. Natriumtetrapropylborat reagiert mit MeHg^+ und Hg^{2+} wie Natriumtetraethylborat Gln. (16)-(19), wobei natürlich entsprechend dem Derivatisierungsreagenz für MeHg^+ Methylpropylquecksilber (MePrHg) und für Hg^{2+} Dipropylquecksilber (Pr_2Hg) entsteht. Die Derivatisierungsbedingungen (wie z. B. pH-Wert, Reaktionsdauer usw.) für Natriumtetrapropylborat sind identisch mit denen des Natriumtetraethylborates. Auf die Verwendung von Natriumtetrahydridoborat (NaBH_4) wird in einem späteren Kapitel (Kap. 3.6.5.) eingegangen.

Nach Beendigung der Derivatisierungsreaktion können die flüchtigen Spezies ausgegast werden. Zum Ausgasen wird Helium mit einem Gasfluß von 270 mL/min eingesetzt. Das Helium dient auch als Trägergas während der gaschromatographischen Trennung. Zur Anreicherung der Spezies wird eine Kühlfalle, eine mit unpolarem Siliciumdioxid beschichtete Stahlkapillare (MXT Silicosteel, Länge 30 cm, I.D. 0,04 cm, O.D. 1/16", Restek, Bad

Homburg), mit flüssigem Stickstoff auf -196°C gekühlt, so daß ein Ausfrieren der Spezies stattfindet. Durch Öffnen eines 2-Wege-Ventil hinter der Kühlfalle sind höhere Flußraten zu erzielen, da eine Limitierung durch die GC-Säule verhindert wird. Um zu gewährleisten, daß ausgetriebenes Wasser weder die Kühlfalle verstopft, noch ihre Beschichtung beschädigt, wird vor die Kühlfalle ein Trockenrohr eingesetzt. Das Trockenrohr (Länge 4 cm, \varnothing 2,5 cm) enthält 20 g wasserfreies Kaliumcarbonat, dessen Ausgasen durch silylierte Glaswolle verhindert wird. Das Trockenrohr muß an jedem Meßtag aus dem System ausgebaut und erneuert werden, da es sich als eine entscheidende Quelle für Blindwerteinträge herausgestellt hat. Die vollständige quantitative Anreicherung für Methylquecksilber ist nach 30 min beendet. Mit der beschriebenen Methode ist die Analyse von bis zu 100 mL Probevolumen möglich. Soll ein organisches Lösungsmittel, das Hg-Spezies enthält, eingespritzt werden, geschieht dies über ein Einspritzventil, welches zwischen Trockenrohr und Kühlfalle eingebaut wird (siehe Abb. 6).

Nach Beendigung der Anreicherung kann die gaschromatographische Trennung der Quecksilberspezies eingeleitet werden. Das 2-Wege-Ventil wird geschlossen, so daß der Heliumgasstrom wieder in die GC-Säule fließt. Ebenso wird das Ausgasgefäß durch Umschalten des 3x2-Wege-Ventils abgekoppelt. Anschließend wird der flüssige Stickstoff von der Kühlfalle entfernt und an die Stahlkapillare ein Strom von 8 A angelegt, der über ein Netzgerät geregelt werden kann. Der Strom wird 2 min aufrechterhalten, und die Temperatur der geheizten Kühlfalle erreicht dabei maximal 180°C , wobei eine Zersetzung der Quecksilberspezies ausgeschlossen werden kann. Die Aufgabe der Quecksilberspezies erfolgt dabei nahezu punktförmig auf die GC-Säule.

3.2.3. Aufbau und Meßbedingungen der GC/ICP-MS-Kopplung

Gaschromatographie

Die gaschromatographische Trennung im Rahmen dieser Arbeit erfolgt auf einer unpolaren Kapillarsäule (Typ HP 1, Hewlett-Packard, Methylsiloxan, Länge 10 m, I. D. 0,53 mm, Filmdicke $2,65\ \mu\text{m}$), eingebaut in einem GC-Ofen (Typ Carlo Erba 8160, Fisons Instruments). Es wird mit einem Trägergasfluß von 20 mL/min gearbeitet. Die entsprechenden Temperaturprogramme für die Derivatisierung von NaBEt_4 und NaBPr_4 gibt Tab. 6 wieder. Die entwickelten Temperaturprogramme dienen dazu, daß am Anfang des Chromatogramms eine Basislinientrennung für die sehr flüchtigen Spezies wie Hg^0 und Me_2Hg erreicht wird, um

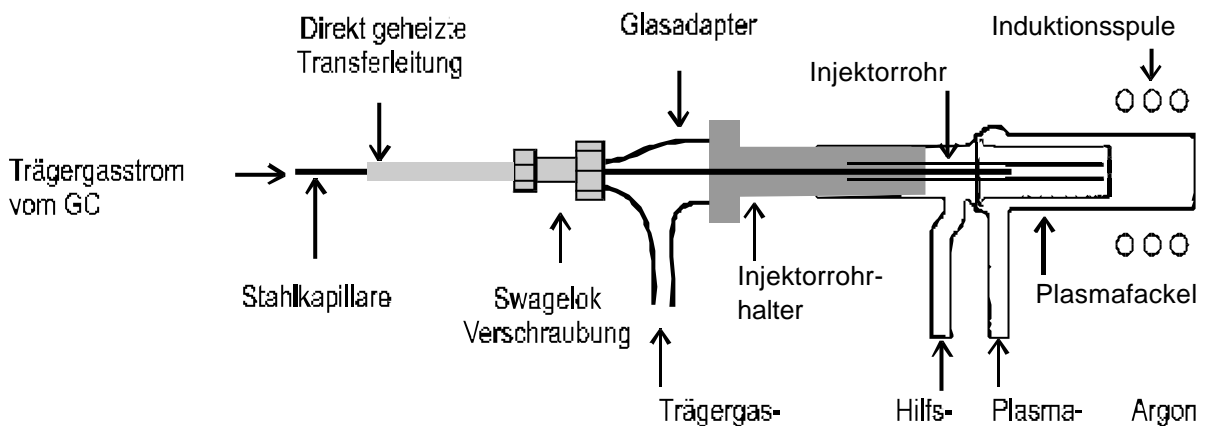
dann in Folge die schwerer flüchtigen Spezies MeEtHg und Et₂Hg bzw. MePrHg, und Pr₂Hg beschleunigt zu eluieren.

Tab. 6 Eingesetzte Temperaturprogramme bei Derivatisierung mit NaBEt₄ und NaBPr₄

Derivatisierungsreagenz	Temperaturprogramm
NaBEt ₄	30°C (2 min), 20°C/min bis 70°C (1 min), 30°C/min bis 100°C (2 min)
NaBPr ₄	30°C (2 min), 30°C/min bis 70°C (1 min), 30°C/min bis 100°C (1 min), 30°C/min bis 130°C (3 min)

Nach dem Verlassen der Säule gelangen die Analyten durch eine mit einem Strom von 9 A direkt geheizte Stahl-Transferleitung in das Plasma des ICP-MS, wo die Detektion erfolgt. Der Aufbau des GC/ICP-MS-Interface mit einem Teilstück der Transferleitung ist in Abb. 7 wiedergegeben und wurde im Rahmen einer anderen Arbeit bereits detailliert beschrieben [106].

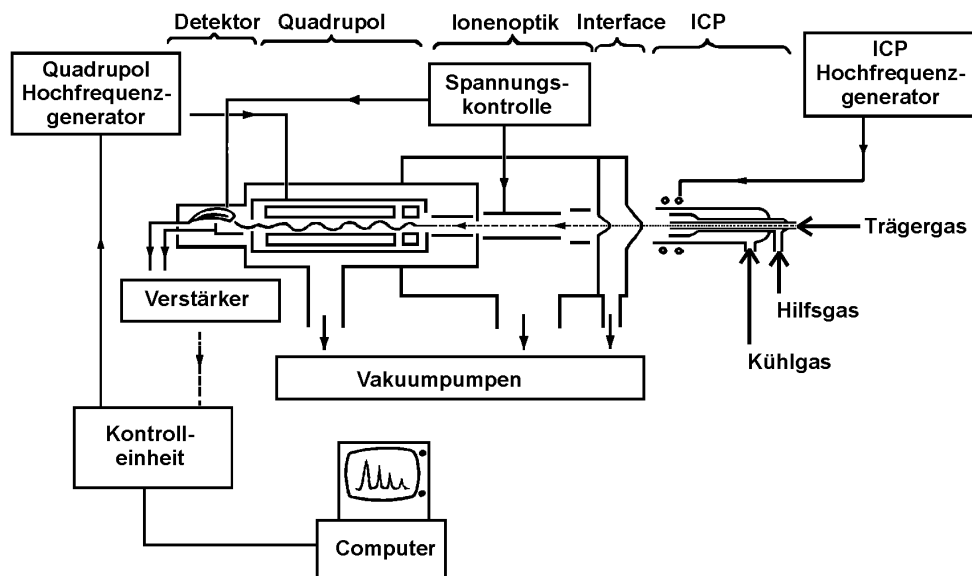
Abb. 7 Aufbau des GC/ICP-MS-Interface [106]



Induktiv gekoppelte Plasma-Massenspektrometrie

Im Rahmen dieser Arbeit wird ausschließlich ein induktiv gekoppeltes Plasma-Massenspektrometer mit Quadrupolmassenfilter und Channel Electron Multiplier (CEM) (Typ Elan 5000, Perkin Elmer SCIEX) verwendet. In Abb. 8 ist der schematische Aufbau des Elan 5000 dargestellt.

Abb. 8 Schematischer Aufbau des verwendeten ICP-MS (Elan 5000) mit Quadrupolmassenfilter



Normalerweise stellt das Auftreten einer Vielzahl spektrometrischer Interferenzen ein großes Problem der ICP-MS dar. Bei Verwendung eines Gaschromatographen wird durch Abtrennung der Matrix vom Analyten das Entstehen der spektrometrischen Interferenzen teilweise vermindert. Werden mit einem ICP-MS Isotopenverhältnisse gemessen, so müssen neben den spektrometrischen Interferenzen auftretende Massendiskriminierungseffekte berücksichtigt werden. Innerhalb dieser Arbeit werden bei allen GC/ICP-MS-Messungen die Isotopenverhältnisse bezüglich der Massendiskriminierung korrigiert, indem alle in die massenspektrometrische Isotopenverdünnungsanalyse (MSIVA) eingehenden Parameter (Isotopenverhältnisse des Standards, des Indikators, der isotonenverdünnten Proben sowie die Gehaltsbestimmung des Indikators durch inverse MSIVA) unter identischen Meßbedingungen am gleichen Meßtag bestimmt werden. Unter der Voraussetzung, daß die Massendiskriminierung bei diesen Messungen konstant bleibt, eliminieren sich die Massendiskriminierungen der unterschiedlichen Meßgrößen, und man erhält bei dieser

Vorgehensweise auch ohne Korrektur der Einzelwerte richtige MSIVA-Ergebnisse [107]. Die verwendeten Parameter des ICP-MS sind in Tab. 7 zusammengefaßt.

Tab. 7 Parameter ICP-MS Elan 5000

Parameter	Elan 5000
Plasmaleistung	1300 W
Gasflüsse	
Kühlgasfluß	15,4 L/min
Hilfsgasfluß	0,8 L/min
Zerstäubergasfluß	1,47 L/min
Injektorrohr I.D.	Quarzglas 1 mm
Konen	Platin

Die Meßsoftware des Elan 5000 ermöglicht es nicht, aus den gemessenen transienten Signalen direkt Isotopenverhältnisse zu bestimmen. Das nicht DOS-kompatible Betriebssystem Xenix der Elan 5000 Software erfordert die Konvertierung der Daten zur Erzeugung eines Datenformates, das die Integration der transienten Signale gestattet. Dies wird mit der von Perkin Elmer angebotenen Chromatographiesoftware Chromafile durchgeführt. Damit ist dann eine Integration der Peakflächen durchführbar, wobei diese manuelle Integration sehr zeitaufwendig ist, da jedes transiente Signal eines Isotops integriert werden muß. Aus den erhaltenen Peakflächen der Isotope werden dann die Isotopenhäufigkeiten bzw. Isotopenverhältnisse gebildet. Es ist ebenfalls möglich, die transienten Signale des Isotops in Excel 97 einzulesen, um auch eine graphische Darstellung der Chromatogramme zu erhalten. In den Chromatogrammen der vorliegenden Arbeit sind die gemessenen Isotope ^{201}Hg und ^{202}Hg jeweils mit blauer bzw. rosa Farbe gekennzeichnet. Abb. 9 und Abb. 10 zeigen charakteristische Chromatogramme von Standardlösungen, die die Quecksilberspezies Hg^0 , Me_2Hg , MeHg^+ sowie Hg^{2+} in natürlicher Isotopenzusammensetzung enthalten nach der Derivatisierung mit NaBEt_4 bzw. NaBPr_4 . Das gemessene Isotopenverhältnis $R (=^{201}\text{Hg}/^{202}\text{Hg})$ beträgt im Falle natürlicher Isotopenzusammensetzung 0,44.

Abb. 9 GC/ICP-MS-Chromatogramm einer Hg-Spezies-Standardlösung nach Derivatisierung mit NaBEt_4

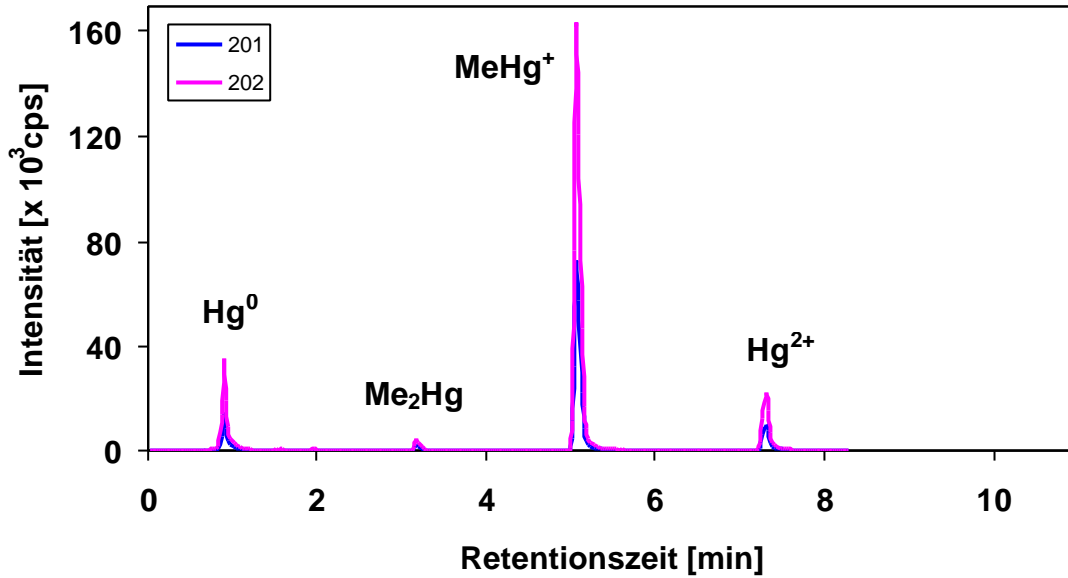
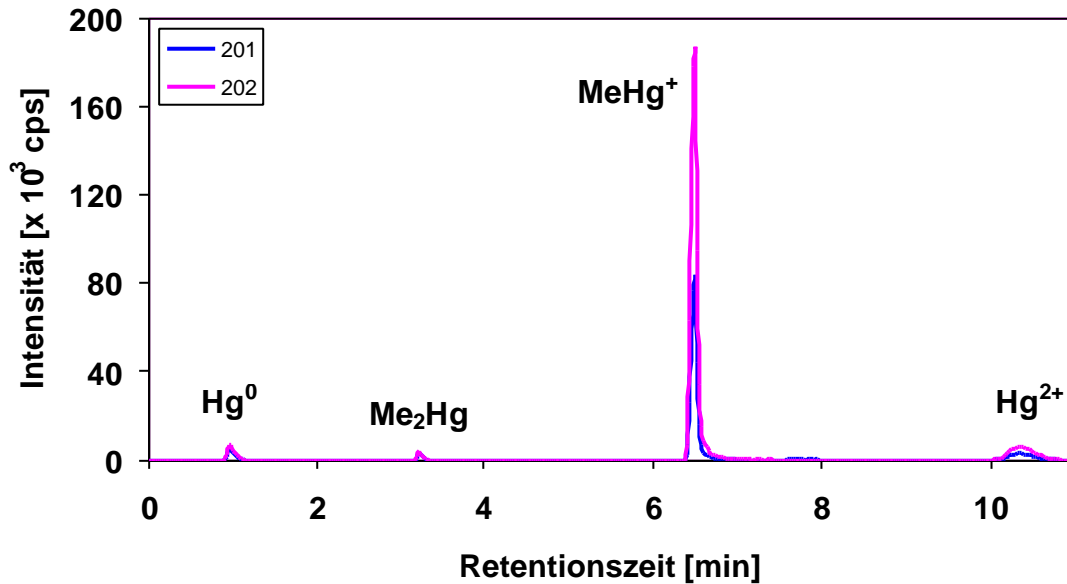


Abb. 10 GC/ICP-MS-Chromatogramm einer Hg-Spezies-Standardlösung nach Derivatisierung mit NaBPr_4



Das Temperaturprogramm für die Propylierung orientiert sich am Temperaturprogramm für die Ethylierung (Tab. 6), so daß jederzeit bei Wechsel des Derivatisierungsreagenz eine Zuordnung aller derivatisierten Hg-Spezies möglich ist. Die genauen Retentionszeiten der Spezies sind in Tab. 8 wiedergegeben.

Tab. 8 Retentionszeiten der Hg-Spezies

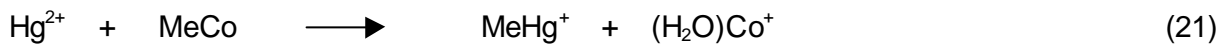
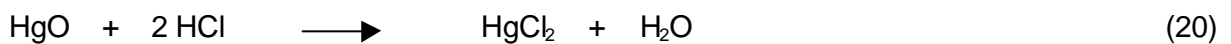
Spezies	Hg ⁰	Me ₂ Hg	MeHg ⁺	Hg ²⁺
Ethylierung				
Retentionszeit [min]	1,0	3,2	5,2	7,3
Propylierung				
Retentionszeit [min]	1,0	3,2	6,5	10,3

3.3. Darstellung und Charakterisierung eines ²⁰¹Hg-angereicherten Methylquecksilberindikators

3.3.1. Synthese des Me²⁰¹Hg⁺-Indikators

Wie bereits in den Anforderungen für die Bestimmung von Elementspezies mit MSIVA vorgestellt (Kap. 2.4.), ist es notwendig, einen Indikator einzusetzen, der in der gleichen chemischen Form vorliegt wie die zu bestimmende Spezies. Im Falle des in dieser Arbeit untersuchten Methylquecksilbers ist es erforderlich, einen entsprechenden spezies-spezifischen Indikator zu synthetisieren. In der Literatur wird z.B. die Synthese des MeHg⁺ aus Quecksilberoxid und Tetramethylzinn [86] oder aus Quecksilberchlorid und Methylmagnesiumchlorid [108] beschrieben. Beide Methoden zeichnen sich durch gravierende Nachteile aus, wie z. B. schlechte Reaktionsausbeuten, lange Reaktionszeiten oder komplizierte Reaktionsbedingungen. Im Rahmen dieser Arbeit wurde auf die in der Natur stattfindende Methylierungsreaktion mit Methylcobalmin (MeCo) zurückgegriffen [37] und eine dafür beschriebene Synthese [109] vereinfacht.

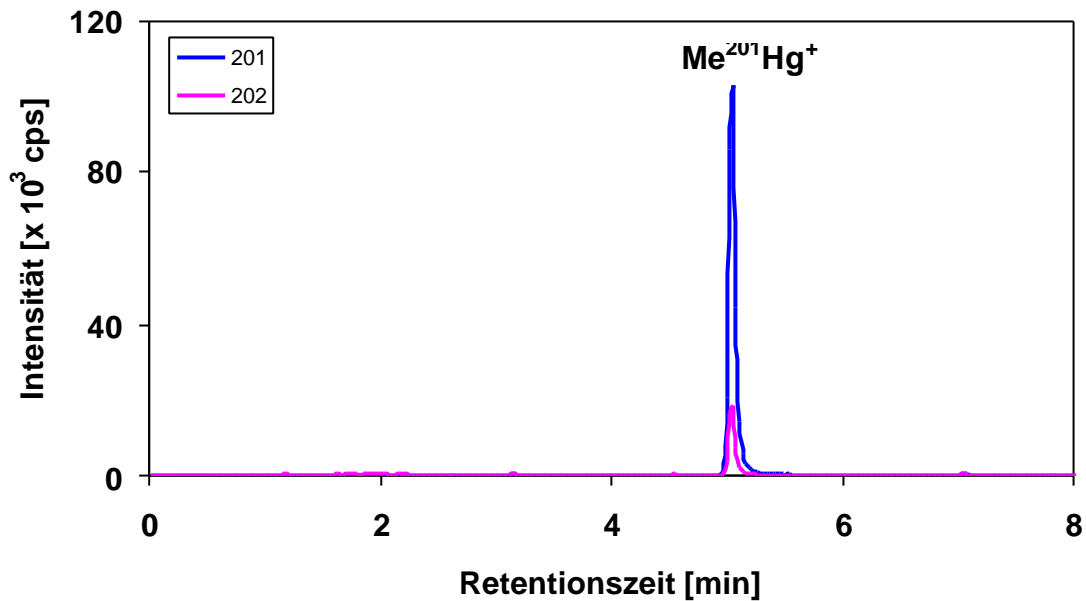
In einem Rundkolben wird 1 mg HgO in 0,02 mL konzentrierter HCl aufgenommen und mit 2 mL Wasser aufgefüllt. 25 mg Methylcobalamin werden in 1 mL 0,01 mol/L HCl gelöst. Danach werden beide Lösungen vereinigt. Der Kolben wird mit Alufolie umwickelt, um die Reaktionslösung vor Licht zu schützen. Dann wird die Lösung eine Stunde stehengelassen. Anschließend wird die Lösung dreimal mit 10 mL eines Hexan/Benzol Gemisches (1:1) für 10 min extrahiert. Hierfür werden die beiden Phasen mit Hilfe eines Magnetrührers gerührt. Die Extraktion dient der Trennung des Hg^{2+} vom entstandenen MeHg^+ . Die organische Schicht wird mit der Pipette abgezogen und in ein Zentrifugengefäß gegeben, das bereits 2 mL einer 0,005 mol/L Na_2CO_3 -Lösung enthält, die einen Übergang des Methylquecksilbers in diese wäßrige Phase gewährleistet. Danach werden die vereinten organischen Extrakte mit der Na_2CO_3 -Lösung für 10 min durchmischt. Im Anschluß daran wird das organische Lösungsmittelgemisch zwei Stunden mit Stickstoff entfernt, der durch eine Pasteurpipette über die Oberfläche geleitet wird. Die wäßrige Phase enthält nun Methylquecksilber. Das Produkt wird in ein Präparategläschen gefüllt und im Kühlschrank gelagert. Die Reaktionsgleichungen sind in Gl. (20) und Gl. (21) dargestellt.



MeCo = Methylcobalamin

$(\text{H}_2\text{O})\text{Co}^+$ = Aquacobalamin

Die hergestellte Lösung wird verdünnt und die Reinheit des synthetisierten $\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$ -Indikators mit Messungen am GC/ICP-MS überprüft. Es wird kein angereichertes $^{201}\text{Hg}^{2+}$ gefunden. In Abb. 11 ist ein Chromatogramm des $\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$ -Indikators dargestellt. Das Isotopenverhältnis $^{201}\text{Hg}/^{202}\text{Hg}$ beträgt hier 6,53.

Abb. 11 GC/ICP-MS-Chromatogramm der $\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$ -Indikatorlösung

3.3.2. Charakterisierung des $\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$ -Indikators mit inverser MSIVA

Innerhalb dieser Arbeit werden verschiedene Verdünnungen im Konzentrationsbereich von 40-220 $\mu\text{g Hg/g}$ des hergestellten $\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$ -Indikators für die Untersuchung von wässrigen Proben eingesetzt. Die Charakterisierung und Gehaltsbestimmung des $\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$ -Indikators wird mit inverser MSIVA durchgeführt (Kap. 2.4.). Alle Proben werden mit NaBEt_4 derivatisiert und mit dem beschriebenen GC/ICP-MS-System gemessen (s. Kap. 3.2.). Zur Bestimmung der Isotopenverhältnisse des Standards sowie des Indikators werden beide Lösungen jeweils zweimal gemessen. Für die inverse MSIVA werden drei unabhängige Proben analysiert. Die gesamte Analyse zur Charakterisierung des Indikators nimmt neun bis zehn Stunden in Anspruch. In Tab. 9 sind beispielhaft für alle Charakterisierungen der Indikatoren die Isotopenhäufigkeiten eines MeHg^+ -Standards sowie eines verwendeten $\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$ -Indikators zusammengefasst.

Tab. 9 Isotopenhäufigkeiten des Standards und Indikators

Isotop	Häufigkeit des Standards [%] n=2	Häufigkeit des Indikators [%] n=2
¹⁹⁶ Hg	0,15 ± 0,01	0,07 ± 0,02
¹⁹⁸ Hg	9,99 ± 0,04	1,14 ± 0,05
¹⁹⁹ Hg	16,90 ± 0,06	2,28 ± 0,04
²⁰⁰ Hg	23,18 ± 0,08	4,45 ± 0,03
²⁰¹ Hg	13,13 ± 0,10	83,42 ± 0,22
²⁰² Hg	29,80 ± 0,10	7,73 ± 0,09
²⁰⁴ Hg	6,85 ± 0,08	0,91 ± 0,04

Mit den Isotopenverhältnissen des Standards und des Indikators sowie der bekannten Konzentration der Standardlösung und den Einwaagen der beiden Lösungen lässt sich gemäß den für die MSIVA angegebenen Gleichungen (Kap. 2.4.) der unbekannte Gehalt an Quecksilber in der Me²⁰¹Hg⁺-Indikatorlösung berechnen. Beispiele für die Auswertung von drei unabhängigen Analysen zur Bestimmung des Indikatorgehaltes liefern die in Tab. 10 und Tab. 11 dargestellten Ergebnisse.

Tab. 10 Gehaltsbestimmung eines in dieser Arbeit verwendeten isotopenangereicherten Me²⁰¹Hg⁺-Indikators (²⁰¹Hg/²⁰²Hg = 10,79)

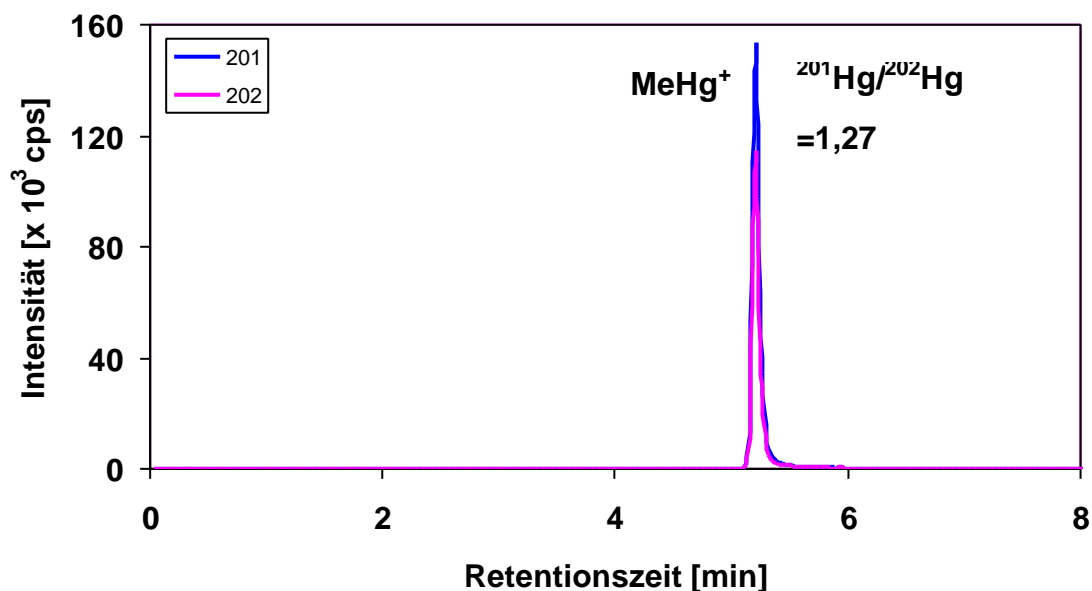
Bestimmung	Me ²⁰¹ Hg ⁺ [pg Hg/g]
1	154,4
2	162,1
3	158,4
Mittelwert	158,3 ± 3,9
S _{rel} [%]	2,4

Tab. 11 Gehaltsbestimmung eines weiteren in dieser Arbeit verwendeten isotonenangereicherten $\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$ -Indikators ($^{201}\text{Hg}/^{202}\text{Hg} = 6,45$)

Bestimmung	$\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$ [pg Hg/g]
1	212,6
2	219,7
3	204,4
Mittelwert	$212,2 \pm 7,7$
s_{rel} [%]	3,6

Die Isotopenverhältnismessung von ^{201}Hg und ^{202}Hg einer inversen MSIVA zur Bestimmung des Indikatorgehaltes (Tab. 10) ist in Abb. 12 dargestellt. Methylquecksilbergehalte werden in dieser Arbeit bezüglich ihres Hg-Anteils angegeben. Alle in dieser Arbeit verwendeten $\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$ -Indikatoren werden entsprechend dieser Vorgehensweise charakterisiert.

Abb. 12 Messung von ^{201}Hg und ^{202}Hg zur Bestimmung des Indikatorgehaltes (Tab. 10) mittels inverser MSIVA



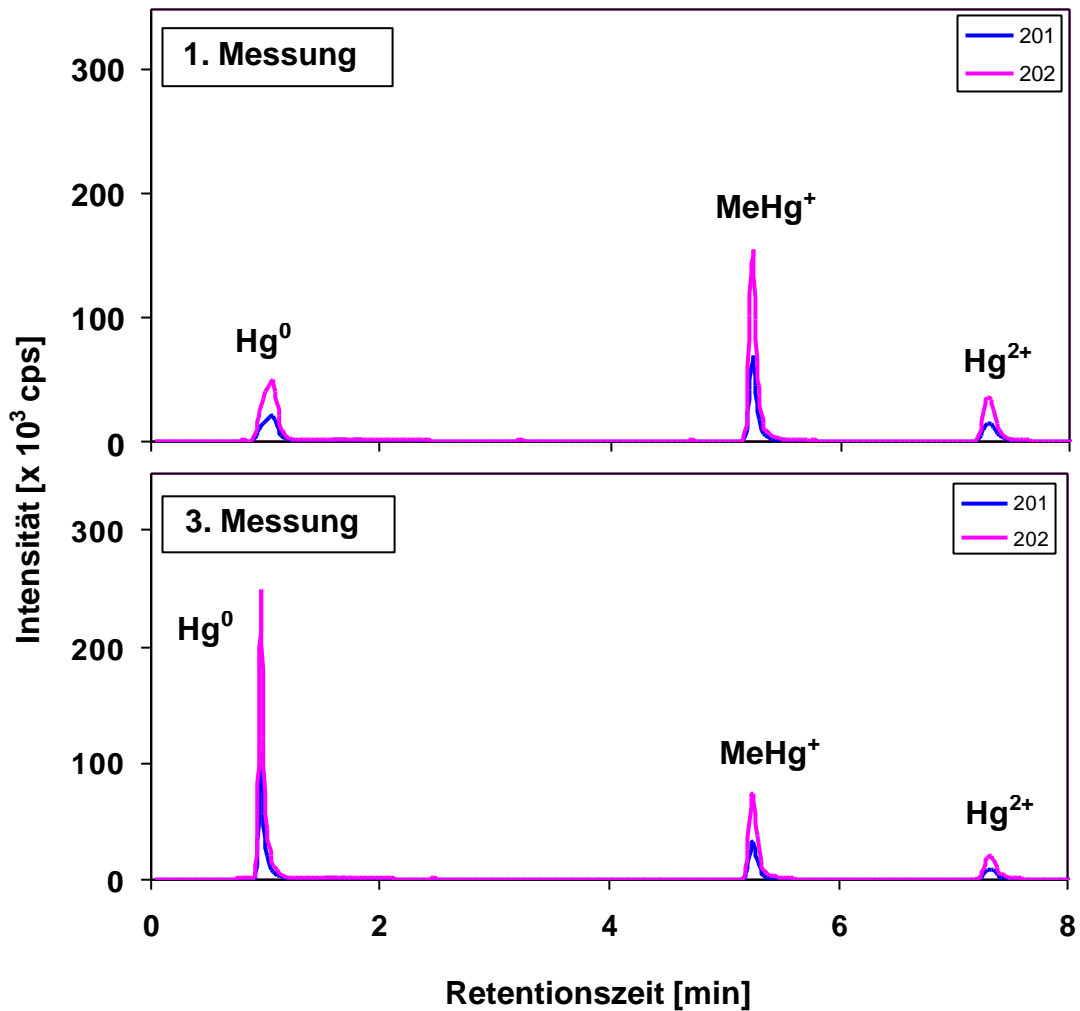
Auch wenn die Langzeitstabilität der Indikatorlösungen innerhalb der gewählten Aufbewahrungsbedingungen (Kap.3.1.2.) nach Literaturangaben gewährleistet sein sollten [96], wird die Stabilität eines ausgewählten $\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$ -Indikators über einen längeren

Zeitraum überprüft (Kap. 3.10.1.). Der geringste Blindwerteintrag von MeHg^+ im pg-Bereich, z. B. während des Pipettierens der Lösungen, kann zu Veränderungen des Gehaltes und des Isotopenverhältnisses des Indikators führen, so daß der eingesetzte Indikator während der Gehaltsbestimmungen von Methylquecksilber in realen Proben an jedem Meßtag auf seinen Gehalt und seine Isotopenhäufigkeiten überprüft wird.

3.4. Untersuchungen möglicher Quecksilberspezies-Umwandlungen bei der Probennahme von Wasserproben in PE-Flaschen

Wie bereits in einer früheren Arbeit beschrieben [110], kann die Probennahme von wäßrigen Realproben für die Bestimmung von Hg-Spezies in PE-Flaschen erfolgen. Da in vielen Fällen eine sofortige Aufarbeitung nicht möglich ist, erfolgt eine Konservierung durch Tiefkühlagerung bei $< -10^\circ\text{C}$ [97], so daß Speziesumwandlungen kinetisch gehemmt sind. Innerhalb dieser Arbeit wird eine Süßwasserprobe (Flügelbach, Mommenheim) in einer PE-Flasche am Morgen eines Meßtages (8.15 Uhr) genommen und im Verlauf des Meßtages dreimal gemessen (1. Messung 10.30 Uhr, 2. Messung 12.00 Uhr, 3. Messung 13.30 Uhr). Die Aufbewahrung der Probe erfolgt zwischen den Messungen im Kühlschrank bei 4°C . 50 g Probe werden in das Purgegefäß eingewogen und mit NaBEt_4 derivatisiert. Das Ergebnis der 1. sowie 3. Messung ist in Abb. 13 abgebildet. Ebenfalls werden die Peakflächen für Hg^0 , MeHg^+ und Hg^{2+} aller sieben Hg-Isotope ausgewertet und sind in Tab. 12 zusammengefaßt.

Abb. 13 Süßwasserprobe (Flügelsbach) derivatisiert mit NaBEt₄ zu unterschiedlichen Zeitpunkten



Tab. 12 Auswertung der Peakflächen der Spezies Hg⁰, MeHg⁺ und Hg²⁺

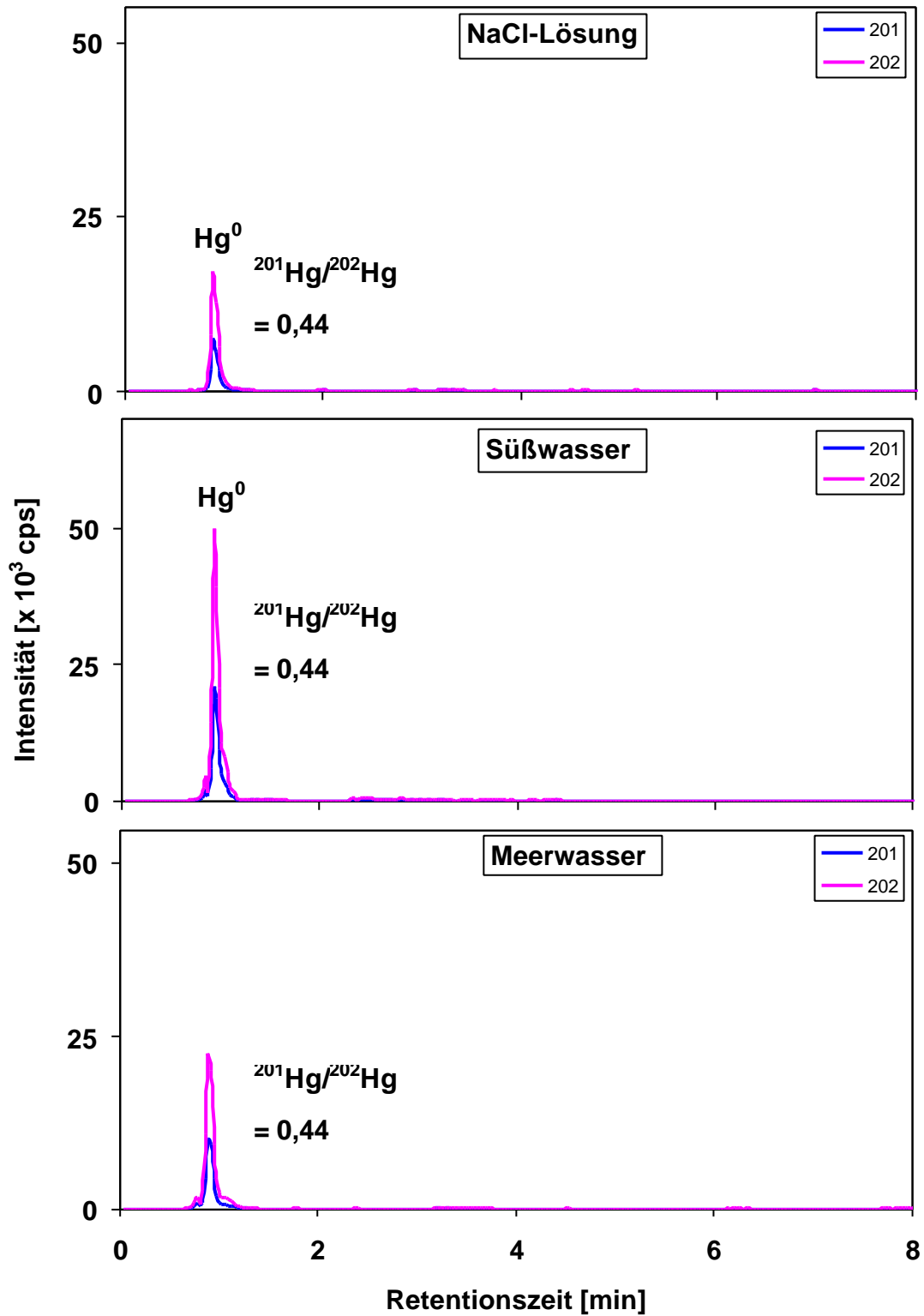
Messung	Hg ⁰ [counts]	MeHg ⁺ [counts]	Hg ²⁺ [counts]	Σ [counts]
1	1424847	2755613	1045504	5225964
2	1672117	2651810	1006679	5330606
3	2833668	1422612	583742	4840022

3.5. Untersuchungen möglicher MeHg⁺-Speziesumwandlungen ohne NaBEt₄ als Derivatisierungsreagenz

Die Verwendung des Derivatisierungsreagenzes NaBEt₄ ist bei der Analyse von Quecksilberspezies mit GC/ICP-MS erforderlich, um die nichtflüchtigen Spezies MeHg⁺ und Hg²⁺ in flüchtige Spezies zu überführen (Kap. 3.2.2.). Um zu überprüfen, ob eventuelle MeHg⁺-Speziesumwandlungen von der Zugabe des Derivatisierungsmittels NaBEt₄ in Verbindung mit einer bestimmten Matrix abhängig sind, werden einige Proben auf Speziesumwandlungen mit Me²⁰¹Hg⁺-Indikator aber ohne Derivatisierungsreagenz untersucht. Im Falle einer MeHg⁺-Speziesumwandlung zu Hg⁰ aufgrund Reaktionen des MeHg⁺ mit dem Puffer und der Matrix, kann das Isotopenverhältnis des möglicherweise gebildeten und angereicherten Hg⁰ mit dem bestehenden Meßsystem gemessen werden, da für die Bestimmung von Hg⁰ keine Derivatisierung notwendig ist.

Für diese Untersuchungsreihe werden jeweils 50 g einer NaCl-Lösung (170 µg Cl/g), einer Süßwasser- (Flügelsbach) sowie Meerwasserprobe nur mit 0,2 mL Essigsäure/Acetatpuffer und 1g Me²⁰¹Hg⁺-Indikator versetzt. Die angesetzten Proben werden entsprechend der üblichen Probenvorbereitung 10 min durchmischt und anschließend 30 min kryofokussiert. Die Chromatogramme dieser Analysen sind in Abb. 14 zusammengefaßt. Das gemessene Isotopenverhältnis ²⁰¹Hg/²⁰²Hg beträgt für Hg⁰ in allen drei Proben 0,44, was dem natürlichen Isotopenverhältnis entspricht.

Abb. 14 GC/ICP-MS-Chromatogramme verschiedener Proben dotiert mit $\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$ -Indikator ohne Zugabe von NaBEt_4



3.6. Untersuchungen möglicher MeHg⁺ - Speziesumwandlungen mit NaBEt₄ als Derivatisierungsreagenz in unterschiedlichen Modellösungen

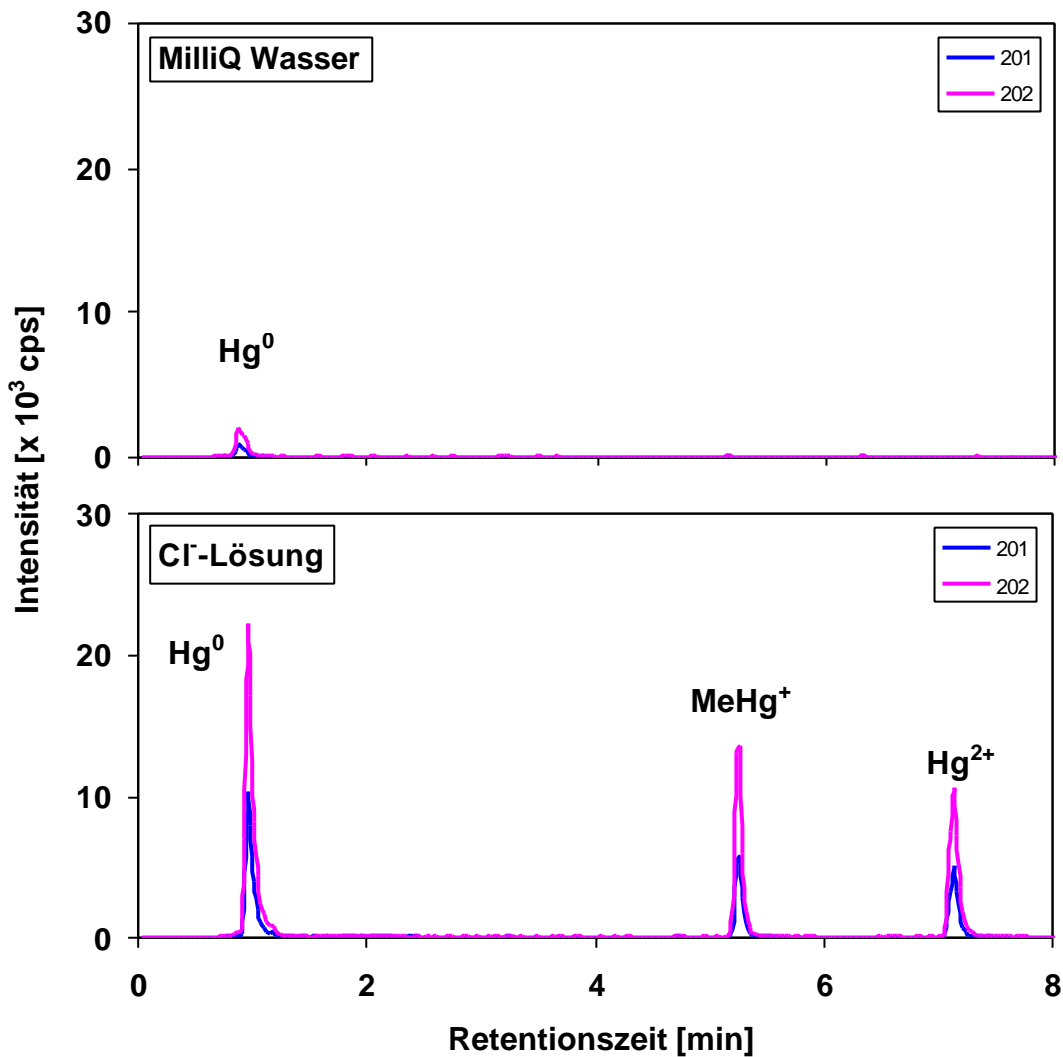
3.6.1. Allgemeines

In der Vergangenheit konnte gezeigt werden, daß spezielle Probenbehandlungen, wie z. B. Wasserdampfdestillation zur Extraktion von Methylquecksilber aus Sedimenten unter bestimmten Analysenparametern zur Artefaktbildung von MeHg⁺ aus Hg²⁺ führen können [111]. Für die Untersuchung von Speziesumwandlungen in wäßrigen Proben gibt es hingegen keine abgesicherten Aussagen. Wäßrige Proben enthalten u. a. Salze, Huminstoffe und Mikroorganismen. Bezüglich dieser Komponenten sind im folgenden Kapitel die qualitativen Untersuchungen möglicher Speziesumwandlungen von Methylquecksilber bei der Derivatisierung mit NaBEt₄ in Modellösungen unter Verwendung des Me²⁰¹Hg⁺-Indikators als isotopenmarkierte Verbindung beschrieben. Der Einsatz eines isotopenmarkierten Reagenzes in Verbindung mit einem ICP-MS bringt einen entscheidenden Vorteil gegenüber den üblichen anderen atomspektrometrischen Methoden. Durch die Messung von Isotopen und Isotopenverhältnissen erhält man wichtige Informationen über die Spezies, die die atomspektrometrischen Methoden nicht liefern können. Findet eine MeHg⁺-Speziesumwandlung statt, entspricht das Isotopenverhältnis derjenigen Hg-Spezies, in die die Ausgangssubstanz transformiert wurde, nicht mehr dem natürlichen Isotopenverhältnis (²⁰¹Hg/²⁰²Hg=0,44). Für diese Untersuchungen wird eine Probenmenge von 50 g der jeweiligen Modellösung mit 1 g Indikator dotiert, anschließend mit NaBEt₄ derivatisiert und die Hg-Spezies mit dem GC/ICP-MS-System gemessen.

3.6.2. Blindwerte in käuflichen Chemikalien

Bevor die Untersuchungen zu möglichen MeHg⁺-Speziesumwandlungen in Modellösungen unter Verwendung des Me²⁰¹Hg⁺-Indikators durchgeführt werden, werden die Modellösungen auf mögliche Quecksilberblindwerte untersucht. Hierfür wird zunächst MilliQ-Wasser mit NaBEt₄ derivatisiert und gemessen. Anschließend werden 50 g der jeweiligen Modellösung ohne Zusatz des Indikators ebenfalls mit NaBEt₄ derivatisiert und analysiert. Ein Vergleich einer Messung von MilliQ-Wasser mit darauffolgender Messung einer Cl⁻-Lösung der Konzentration 600 µg Cl⁻/g ist in Abb. 15 dargestellt. Die Cl⁻-Lösung wird aus einer Charge NaCl (suprapur) hergestellt, die bezüglich der Hg-Spezies kontaminiert ist.

Abb. 15 Vergleich der GC/ICP-MS-Messungen von MilliQ-Wasser und einer Natriumchloridlösung (hergestellt aus NaCl suprapur) nach Derivatisierung mit NaBEt_4

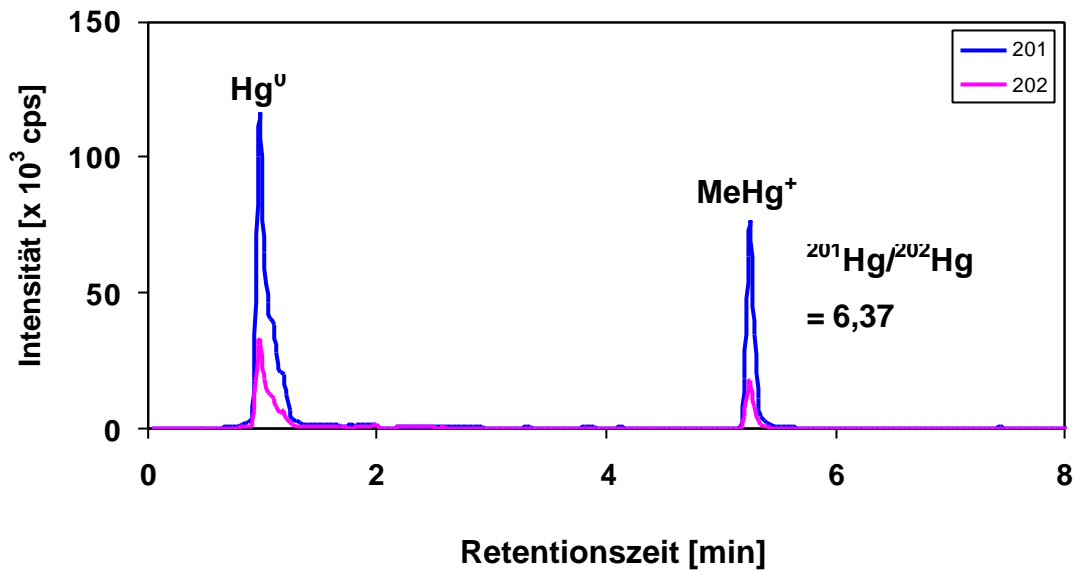


Der Blindwert für MeHg^+ beträgt weniger als 1 pg Hg/g. Prinzipiell spielen diese Blindwerte keine Rolle bezüglich der Ergebnisse der qualitativen Untersuchungen zur Überprüfung von möglichen MeHg^+ -Speziesumwandlungen in Modellösungen. Bei der quantitativen Auswertung der möglichen Umwandlungen über die Peakfläche der Hg-Isotope können sie einen geringen Einfluß haben. In dieser Arbeit werden ebenfalls Lösungen aus anderen Chargen hergestellt, die keinerlei Hg-Kontaminationen aufweisen.

3.6.3. Chlorid-, Bromid- und Iodidlösungen gleicher Molarität

Zur Überprüfung von möglichen MeHg^+ -Umwandlungen in unterschiedlichen Halogenidlösungen wird jeweils eine 0,0056 mol/L Natriumhalogenidlösung der Halogenide Chlor, Brom und Iod hergestellt. Ziel dieser Analyse ist die Klärung, ob mögliche MeHg^+ -Speziesumwandlungen qualitative und quantitative Tendenzen in Abhängigkeit zum eingesetzten Halogenidion zeigen. Die Konzentrationen bezüglich des Halogenids in Gewichtseinheiten betragen 210 $\mu\text{g Cl/g}$, 450 $\mu\text{g Br/g}$ und 710 $\mu\text{g I/g}$. Beispielhaft für diese Untersuchungsreihe ist die Analyse der Bromidlösung nach Dotierung mit $\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$ in Abb. 16 dargestellt.

Abb. 16 GC/ICP-MS-Chromatogramm des $\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$ -Indikators nach Derivatisierung in einer Br^- -Lösung (Indikator $^{201}\text{Hg}/^{202}\text{Hg}$ -Verhältnis = 6,45)



Die erhaltenen Isotopenverhältnisse $^{201}\text{Hg}/^{202}\text{Hg}$ für die Spezies Hg^0 und Hg^{2+} , sofern sie auf ^{201}Hg angereichert auftreten, sind für die analysierten Halogenidlösungen in Tab. 13 aufgeführt.

Tab. 13 $^{201}\text{Hg}/^{202}\text{Hg}$ -Isotopenverhältnisse für Hg^0 und Hg^{2+} in den untersuchten Cl^- , Br^- und I^- -Lösungen

Probe	$^{201}\text{Hg}/^{202}\text{Hg}$ für Hg^0	$^{201}\text{Hg}/^{202}\text{Hg}$ für Hg^{2+}
Cl^-	6,07	-*
Br^-	6,28	-*
I^-	2,55	5,95

* kein Hg^{2+} detektierbar

Zusätzlich zu dieser qualitativen Auswertung erfolgt eine Auswertung der Peakflächen aller Isotope der vorliegenden Hg-Spezies. Die Auswertung ist aus Tab. 14 ersichtlich.

Tab. 14 Auswertung der Peakflächen aller Isotope der Hg-Spezies in den untersuchten Cl⁻, Br⁻ und I⁻-Lösungen

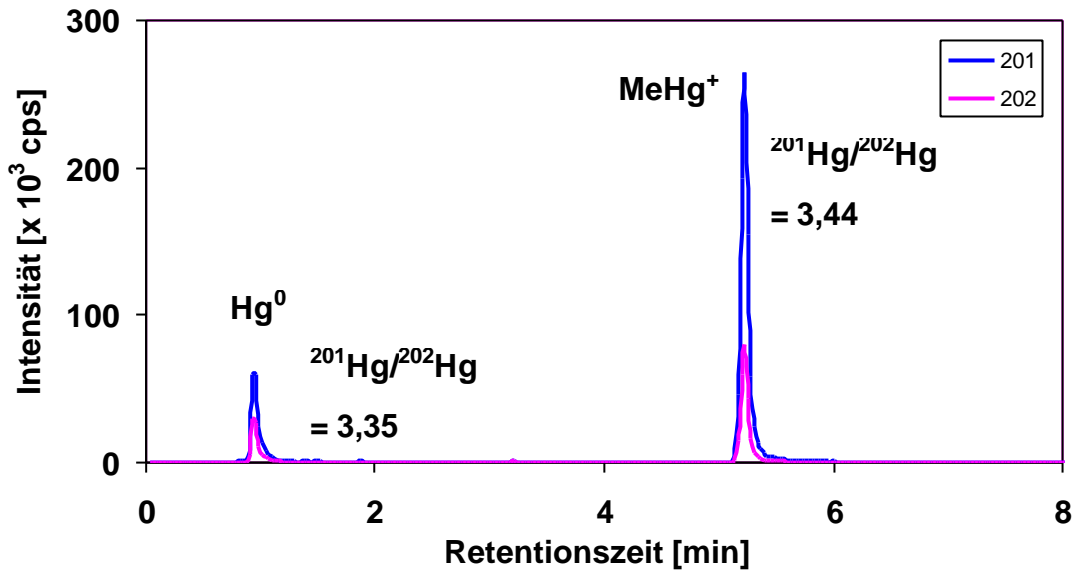
	Hg ⁰ [counts]	MeHg ⁺ [counts]	Hg ²⁺ [counts]
Cl ⁻	677773	1380923	-*
Br ⁻	1599235	600583	-*
I ⁻	417834	157524	581530

* kein Hg²⁺ detektierbar

3.6.4. Chloridlösungen unterschiedlicher Konzentration

In natürlichen Gewässern, wie z. B. Süßwasser oder Meerwasser, treten Chlorid-Ionen in unterschiedlichen Konzentrationen auf. Nachdem in unterschiedlichen Halogenidmodellösungen MeHg⁺-Speziesumwandlungen gefunden wurden (Kap. 3.6.3.), wird die MeHg⁺-Speziesumwandlung in Chloridlösungen unterschiedlicher Konzentrationen untersucht. Die Analyse soll dazu dienen, eine Abhängigkeit zwischen dem Umwandlungsgrad der MeHg⁺-Speziesumwandlung und der Chloridkonzentration festzustellen. Es werden diesbezüglich verschiedene Untersuchungsreihen analysiert. Die Untersuchungsreihen beinhalten Cl⁻-Lösungen der Konzentrationen 10-1000 µg Cl⁻/g (Me²⁰¹Hg⁺-Indikator : ²⁰¹Hg/²⁰²Hg = 3,39) und 6-6900 µg Cl⁻/g (Me²⁰¹Hg⁺-Indikator : ²⁰¹Hg/²⁰²Hg = 10,20). Beispielhaft ist das Ergebnis der Dotierung mit Me²⁰¹Hg⁺ einer 100 µg Cl⁻/g Lösung in Abb. 17 dargestellt.

Abb. 17 GC/ICP-MS-Chromatogramm des $\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$ -Indikators nach Derivatisierung in einer $100 \mu\text{g Cl/g}$ Lösung ($^{201}\text{Hg}/^{202}\text{Hg} = 3,39$)



Das erhaltene Isotopenverhältnis $^{201}\text{Hg}/^{202}\text{Hg}$ für Hg^0 , sofern es auf ^{201}Hg angereichert auftritt, ist für die analysierten Chloridlösungen unterschiedlicher Konzentrationen in Tab. 15 zusammengestellt.

Tab. 15 $^{201}\text{Hg}/^{202}\text{Hg}$ Isotopenverhältnisse für Hg^0 in Cl^- -Lösungen unterschiedlicher Konzentration

$\mu\text{g Cl/g}$	$^{201}\text{Hg}/^{202}\text{Hg}$
6	-*
10	-*
65	2,94
100	3,35
604	2,28
1000	3,29
6900	2,20

* kein Hg^0 detektierbar

Es werden ebenfalls die Peakflächen aller Hg-Isotope der Spezies Hg^0 und MeHg^+ der Untersuchungsreihen 10-1000 $\mu\text{g Cl/g}$ und 6-6900 $\mu\text{g Cl/g}$ ausgewertet, um auch eine quantitative Aussage bezüglich der MeHg^+ -Speziesumwandlung machen zu können. Die Auswertung der Peakflächen ist in Tab. 16 und Tab. 17 dargestellt.

Tab. 16 Auswertung der Peakflächen für Hg^0 und MeHg^+ der Untersuchungsreihe 10-1000 $\mu\text{g Cl/g}$ nach Dotierung mit $\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$ -Indikator und Derivatisierung

Probe	Hg^0 [counts]	MeHg^+ [counts]	Σ Fläche [counts]
10 $\mu\text{g Cl/g}$	-*	2590644	2590644
100 $\mu\text{g Cl/g}$	536160	2376781	2912941
1000 $\mu\text{g Cl/g}$	2164959	672240	2837199

* kein Hg^0 detektierbar

Tab. 17 Auswertung der Peakflächen für Hg^0 und MeHg^+ der Untersuchungsreihe 6-6900 $\mu\text{g Cl/g}$ nach Dotierung mit $\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$ -Indikator und Derivatisierung

Probe	Hg^0 [counts]	MeHg^+ [counts]	Σ Fläche [counts]
6 $\mu\text{g Cl/g}$	-*	836370	836370
65 $\mu\text{g Cl/g}$	35083	841298	876381
604 $\mu\text{g Cl/g}$	190892	779805	970697
6900 $\mu\text{g Cl/g}$	173231	831241	1004472

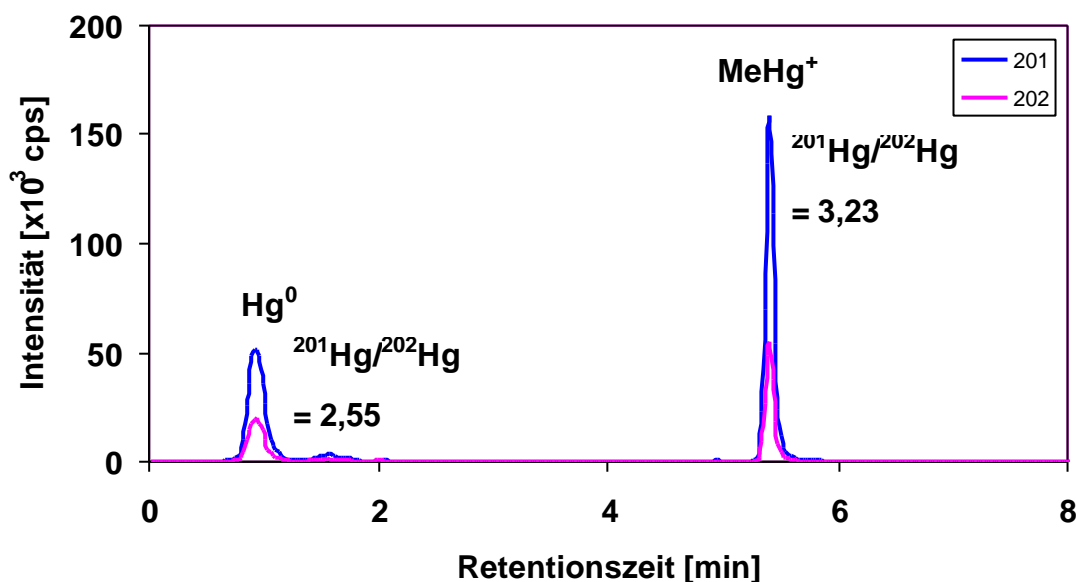
* kein Hg^0 detektierbar

Bei Auswertung der Peakflächen in Untersuchungsreihe 10-1000 $\mu\text{g Cl/g}$ kann bei allen Hg-Spezies das Isotopenverhältnis des Indikators wiedergefunden werden, während in der Untersuchungsreihe 6-6900 $\mu\text{g Cl/g}$ aufgrund einer Blindwertschwankung das Isotopenverhältnis leicht zum natürlichen Isotopenverhältnis verschoben ist. Für die Bestimmung des Transformationsgrades in Kap. 4.3.4. werden jedoch auch diese Peakflächen berücksichtigt.

3.6.5. Synthetisches Meerwasser

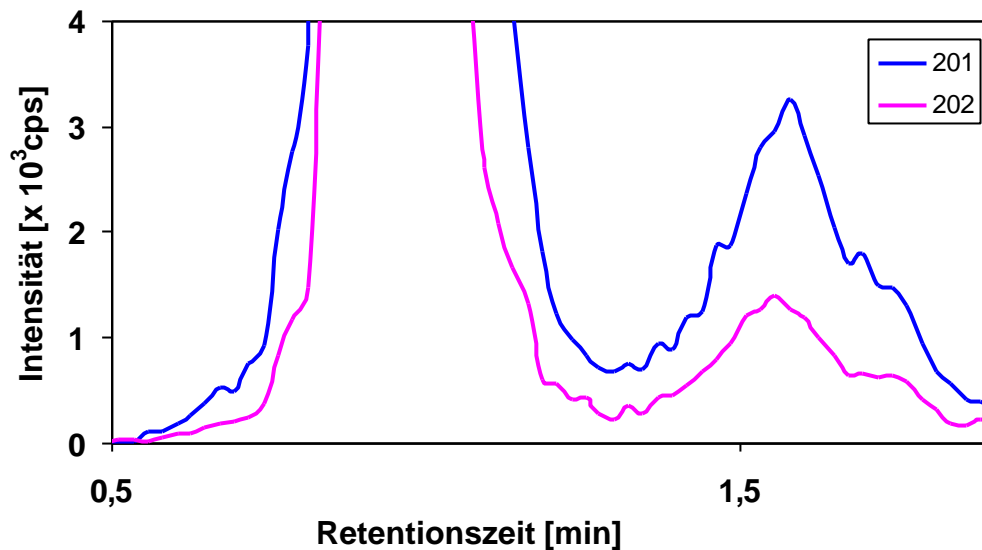
Im Rahmen der Untersuchungen von möglichen MeHg⁺-Speziesumwandlungen wird synthetisches Meerwasser hergestellt. Hierfür werden 28 g NaCl, 7 g MgSO₄·7 H₂O, 5 g MgCl₂·6 H₂O, 2,4 g CaCl₂·6 H₂O und 0,2 g NaHCO₃ in 985 mL Wasser gelöst [112]. Das synthetische Meerwasser simuliert hierbei die Salzkonzentrationen im realen Meerwasser ohne den Einfluß von Bakterien und Huminstoffen oder anderen Spurenbestandteilen. Das Resultat dieser Analyse ist in Abb. 18 wiedergegeben.

Abb. 18 GC/ICP-MS-Chromatogramm des Me²⁰¹Hg⁺-Indikators (²⁰¹Hg/²⁰²Hg = 6,45) nach Derivatisierung in synthetischem Meerwasser

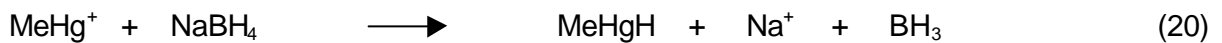


In der Vergrößerung des Chromatogramms tritt ein weiterer auf ²⁰¹Hg angereicherter Peak bei 1,7 min Retentionszeit auf, wie Abb. 19 zu entnehmen ist.

Abb. 19 Vergrößerung von Abb. 18

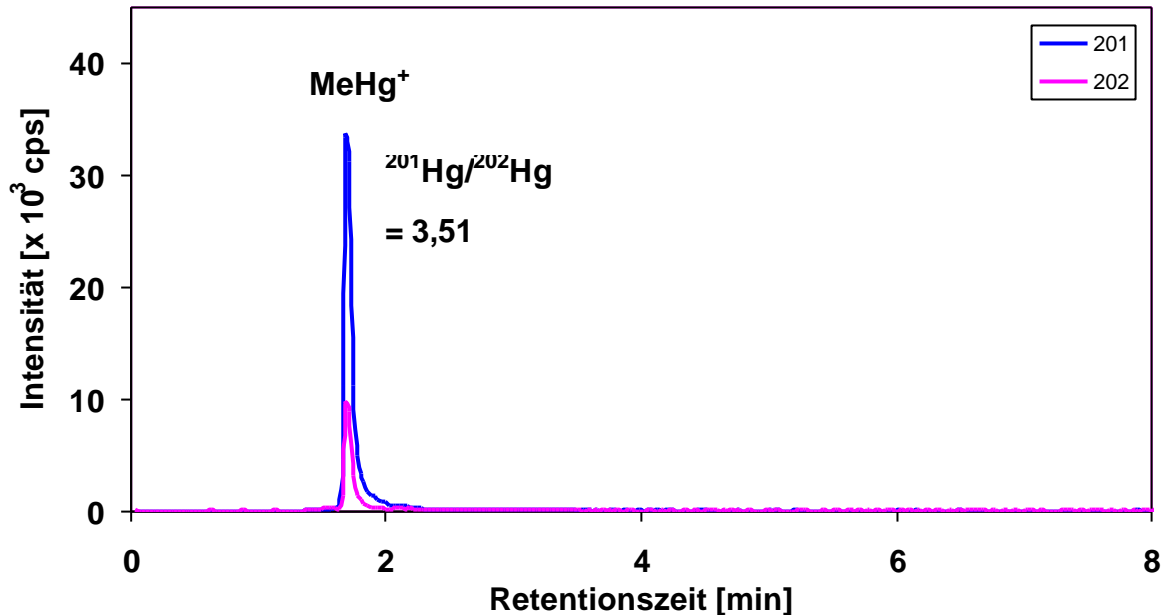


Da die Vermutung besteht, daß der unbekannte Peak MeHgH sein könnte, wird der $\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$ -Indikator mit Natriumtetrahydridoborat (NaBH_4) derivatisiert. MeHg^+ reagiert mit NaBH_4 zu MeHgH , während Hg^{2+} zu Hg^0 reduziert wird Gln. (20)-(21) [113].

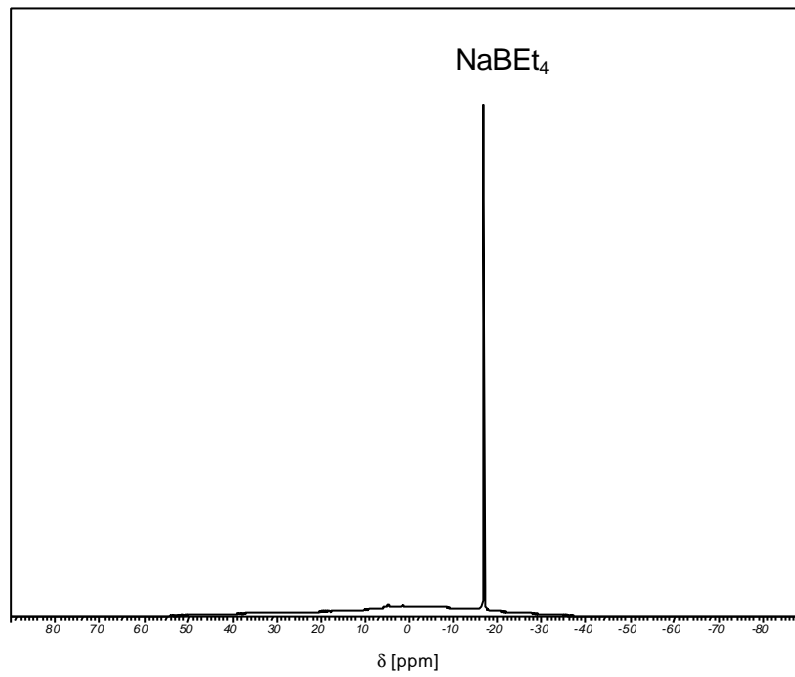
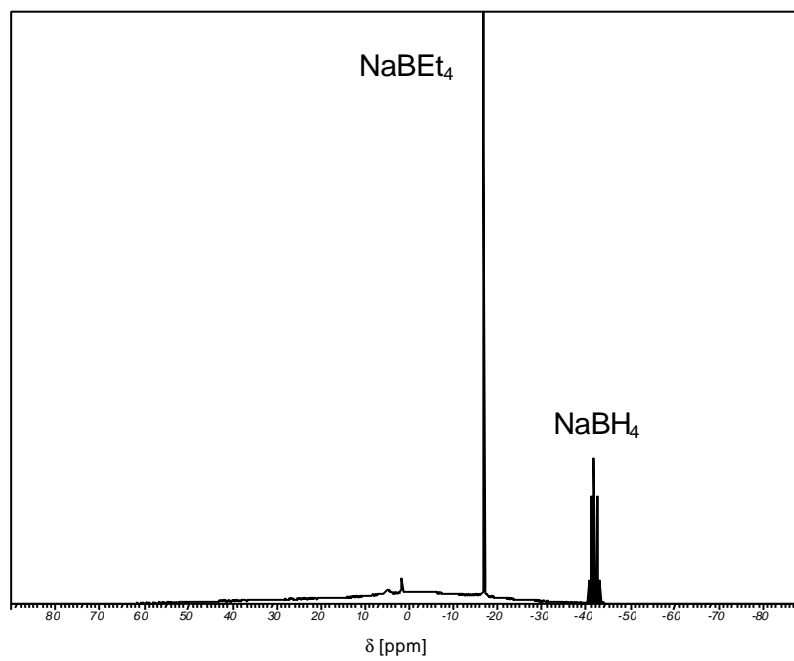


Es wird 1 mg NaBH_4 in 1 mL Wasser gelöst. Mit 0,05 mL dieser Lösung wird die $\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$ -Indikatorlösung ($^{201}\text{Hg}/^{202}\text{Hg} = 3,83$) versetzt, 10 min derivatisiert und dann untersucht. Die Temperatur des GC-Ofens wird konstant 3 min bei 30°C gehalten. Das Ergebnis dieser Analyse ist Abb. 20 zu entnehmen. Die Retentionszeit von 1,7 min des entstandenen MeHgH entspricht der Retentionszeit des unbekannten Peaks, der so als Methylquecksilberhydrid identifiziert wird.

Abb. 20 GC/ICP-MS-Chromatogramm des Me²⁰¹Hg⁺-Indikators (²⁰¹Hg/²⁰²Hg = 3,83) nach Derivatisierung mit NaBH₄



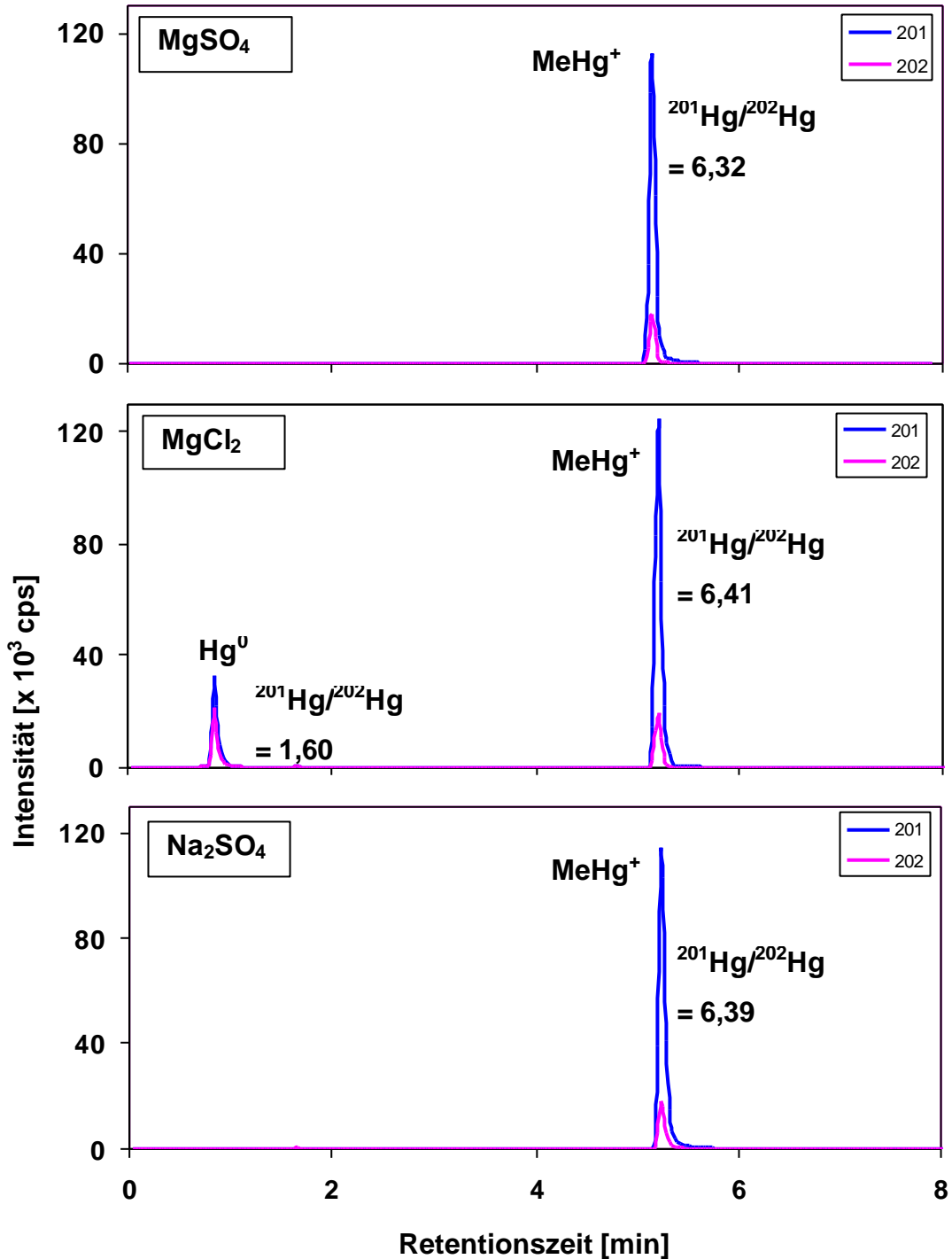
Das zur Ethylierung eingesetzte NaBEt₄ wird in diesem Zusammenhang mittels NMR-Spektroskopie auf mögliche NaBH₄-Verunreinigungen untersucht. 18 mg NaBEt₄ werden in 1,5 mL D₂O gelöst und sowohl ein ¹H-Spektrum als auch ein ¹¹B-Spektrum aufgenommen. Die Nachweisgrenze von NaBH₄ beträgt 0,2 % (entspricht 36 µg NaBH₄) der 18 mg NaBEt₄. In einer zweiten Untersuchung wird dem verwendeten NaBEt₄ 5 mg NaBH₄ zugesetzt. In ist das ¹¹B-Spektrum von NaBEt₄ und in Abb. 22 das ¹¹B-Spektrum von NaBEt₄ nach Zusatz von NaBH₄ dargestellt.

Abb. 21 ^{11}B -Spektrum von NaBEt_4 (18 mg gelöst in 1,5 mL D_2O)Abb. 22 ^{11}B -Spektrum von NaBEt_4 (18 mg) und NaBH_4 (5 mg) in 1,5 mL D_2O 

3.6.6. Salzlösungen

Neben der Hauptsalzkomponente NaCl sind MgSO_4 und MgCl_2 weitere wichtige Salze in Meerwasser. Im Rahmen der Untersuchungen von möglichen MeHg^+ -Speziesumwandlungen in Modellösungen werden deshalb auch diese beiden Salze als Einzelkomponenten untersucht. Es wird eine 0,06 mol/L (entsprechend Konzentration in synthetischem Meerwasser) sowie eine 0,487 mol/L MgSO_4 -Lösung (entsprechend molarer Menge NaCl in synthetischem Meerwasser) analysiert. Es wird zum Vergleich auch eine 0,487 mol/L MgCl_2 -Lösung untersucht. Um zu überprüfen, ob Natrium als Kation eine Rolle bei möglichen MeHg^+ -Speziesumwandlungen spielt, wird eine 0,487 mol/L Na_2SO_4 -Lösung analysiert. Die Resultate der Untersuchungen auf mögliche Speziesumwandlungen der 0,487 mol/L Lösungen sind in Abb. 23 zusammengefaßt. Die Peakflächen der Hg-Spezies werden ebenfalls ausgewertet und sind in Tab. 18 dargestellt.

Abb. 23 GC/ICP-MS-Chromatogramme des $\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$ -Indikators ($^{201}\text{Hg}/^{202}\text{Hg} = 6,45$) in MgSO_4^- , MgCl_2^- - sowie Na_2SO_4^- -Lösungen



Tab. 18 Auswertung der Peakflächen für Hg^0 und MeHg^+ in MgSO_4^- , MgCl_2^- und Na_2SO_4^- -Lösungen nach Dotierung mit $\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$ -Indikator und Derivatisierung mit NaBEt_4

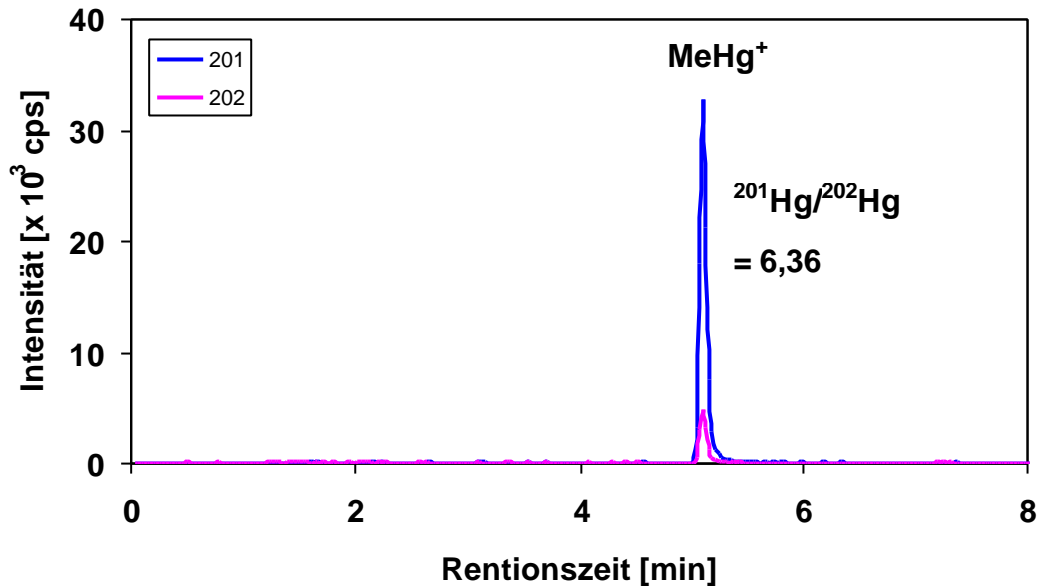
	Hg^0 [counts]	MeHg^+ [counts]
MgSO_4	-*	789793
MgCl_2	230828	833314
Na_2SO_4	-*	795793

* Hg^0 nicht detektierbar

3.6.7. Bakterien

Hg^{2+} und seine organischen Quecksilberverbindungen wirken durch Inaktivierung von Proteinen für Bakterien toxisch (Kap. 2.2.2.). Manche Mikroorganismen sind in der Lage, C-Hg-Bindungen von MeHg^+ und Me_2Hg zu spalten. Innerhalb der Untersuchungen von Modellösungen wird vom Institut für Wasserforschung, Mainz, eine Lösung präpariert, die das typische Gewässerbakterium Bakterium *Pseudomonas putida* enthält. Zielsetzung dieser Analyse ist die modellhafte Untersuchung möglicher Auswirkungen von Bakterien auf die Umwandlung von MeHg^+ . Im Falle des eingesetzten Nährmediums für die Bakterien wird streng darauf geachtet, daß dieses keine Halogenide enthält. Da das Nährmedium potentielle Bindungsstellen enthält, die Ethylierungsreaktionen zulassen, wird eine erhöhte Menge von 10 mg NaBEt_4 in 0,2 mL Wasser als Derivatisierungsmittel zugegeben. Das Ergebnis dieser Untersuchung ist in Abb. 24 wiedergegeben.

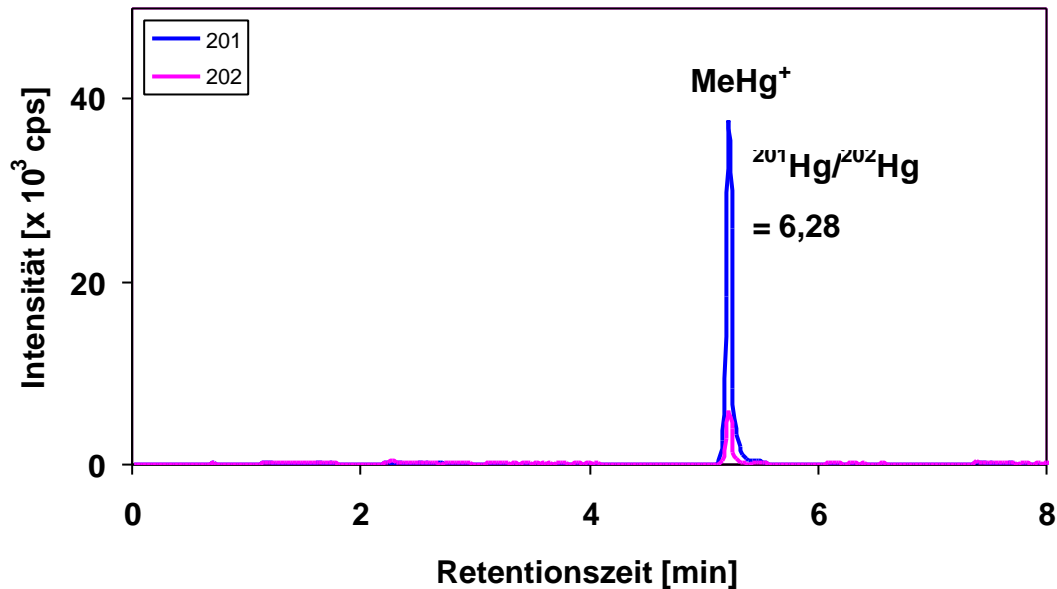
Abb. 24 GC/ICP-MS-Chromatogramm des $\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$ -Indikators ($^{201}\text{Hg}/^{202}\text{Hg} = 6,45$) nach Derivatisierung in einer Modellösung mit *Pseudomonas Pudias*



3.6.8. Huminsäuren

Wie auch Mikroorganismen können Huminstoffe an Reaktionen mit Quecksilber beteiligt sein. Die Wechselwirkung von Huminstoffen mit anorganischem Quecksilber wird bereits seit langem untersucht (Kap. 2.2.2.), wohingegen Demethylierungsreaktionen nicht bekannt sind. Innerhalb dieser Modelluntersuchung wird auch der Einfluß von Huminstoffen auf mögliche MeHg^+ -Umwandlungen in Form einer Einzelkomponente analysiert. Es werden 15 mg einer käuflichen Huminsäure in 1 L Wasser gegeben und für eine Woche geschüttelt. Danach wird der ungelöste Anteil der Huminsäure durch Filtration mit einem $0,45\ \mu\text{m}$ Cellulosenitratfilter (Typ 113, Sartorius, Göttingen) abgetrennt. Da auch die Huminsäure potentielle Bindungsstellen enthält, die Ethylierungsreaktionen zulassen, wird 15 mg NaBEt_4 in 0,2 mL Wasser als Derivatisierungsmittel zugegeben. Das erhaltene Resultat ist in Abb. 25 dargestellt.

Abb. 25 GC/ICP-MS-Chromatogram des $\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$ -Indikators ($^{201}\text{Hg}/^{202}\text{Hg} = 6,45$) nach Derivatisierung in einer Huminsäurelösung



3.7. Untersuchungen möglicher MeHg^+ -Speziesumwandlungen bei der Derivatisierungsreaktion mit NaBEt_4 in Realproben

3.7.1. Allgemeines

Aufgrund der hohen Toxizität von Methylquecksilber und dem daraus resultierenden Gefährdungspotential für den Menschen ist es notwendig, den biogeochemischen Kreislauf von Quecksilber zu erfassen und zu verstehen. Im Rahmen vieler Arbeiten werden die Kompartimente Boden, Gewässer und Atmosphäre untersucht. Da grundsätzlich bekannt ist, daß bei der Analyse von Organoquecksilberverbindungen die Richtigkeit des Ergebnisses durch Artefakte bei der Probenvorbereitung verfälscht werden kann, wird der Me^{201}Hg -Indikator nicht nur zur Gehaltsbestimmung von Methylquecksilber, sondern auch zur Untersuchung solcher möglicher Fehlerquellen bei der GC/ICP-MS-Bestimmung von wäßrigen Realproben herangezogen. Im folgenden Kapitel wird qualitativ eine mögliche MeHg^+ -Speziesumwandlung in unterschiedlichen Realproben untersucht. Innerhalb dieser Untersuchungen werden Meerwasser-, Süßwasser- sowie Schneewasserproben nach Zugabe eines $\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$ -Indikators mit GC/ICP-MS gemessen. Die Untersuchungen der

wässrigen Realproben sind identisch bezüglich der Probenvorbereitung und Meßbedingungen der Analysen in den Modellösungen (Kap. 3.6.). 50 g der Probe werden mit 1 g $\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$ -Indikator dotiert und anschließend mit NaBEt_4 derivatisiert.

3.7.2. Bestimmung des Chloridgehaltes mit Ionenchromatographie

Der Cl-Gehalt aller Realproben der auf mögliche MeHg^+ -Speziesumwandlungen untersuchten Wasserproben, bis auf die Proben Mainz 1 sowie Meerwasser, dessen Cl-Konzentration bekannt ist, wird mit Ionenchromatographie, die bevorzugt als Routinemethode zur Analyse von Anionen in Wässern verwendet wird, bestimmt. Der verwendete Ionenchromatograph (Metrohm 690 mit IC-Pumpe 697) ist mit einem basischen Anionenaustauscher (Trennsäule Hamilton PRP-X 100) und Leitfähigkeitsdetektor ausgestattet. Als Eluent wird eine 2,3 mmol/L Kaliumhydrogenphthalat-Lösung eingesetzt. Die Gehaltsbestimmung der Wasserproben erfolgt mit externer Kalibration. Die gemessenen Cl-Gehalte der Wasserproben sind Tab. 19 zu entnehmen.

Tab. 19 Mit Ionenchromatographie bestimmt Cl-Gehalte der Realproben

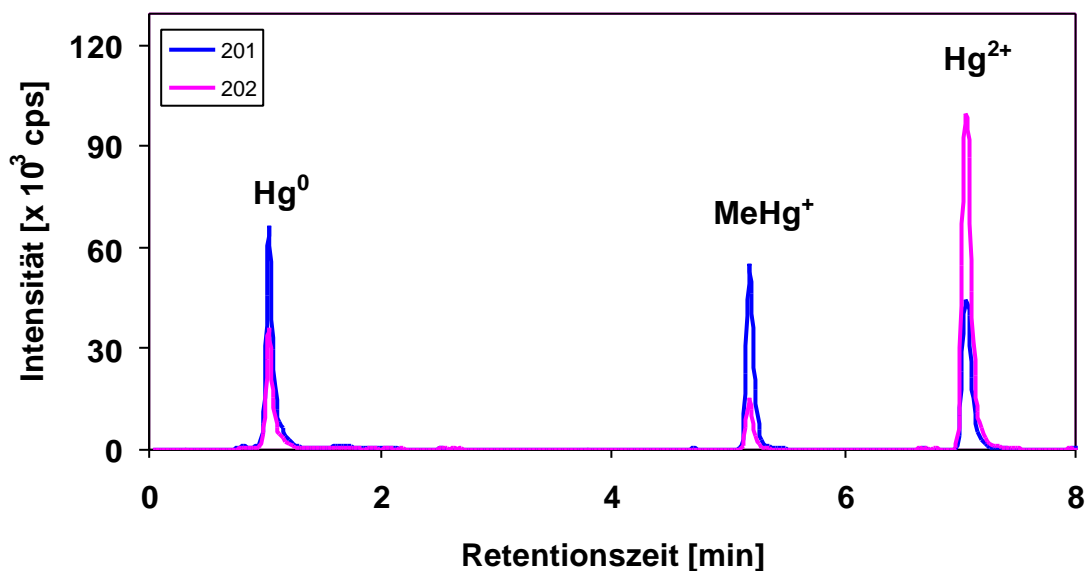
Probe	Gehalt [$\mu\text{g Cl/g}$]
Süßwasser (Flügelsbach)	170
Schneeproben :	
- Antarktis	1-4*
- Mainz 2	1
- Ischgl	2
- Schluchsee	800

* mehrere Proben

3.7.3. Wässrige Realproben

Ganz allgemein spielen für den biogeochemischen Kreislauf Austauschprozesse zwischen Atmosphäre und Gewässern eine große Rolle. Wegen ihrer globalen Ausdehnung sind die Ozeane von besonderer Bedeutung. Aufgrund der Biomethylierung von Quecksilber und damit verbundener Mobilisierung ist die Untersuchung des Methylquecksilbergehaltes in Meerwasser von großer Wichtigkeit. Im Rahmen dieser Arbeit werden atlantische Meerwasserproben bezüglich möglicher MeHg^+ -Speziesumwandlungen während der Probenaufbereitung analysiert. Die atlantischen Meerwasserproben wurden während der Antarktisexpedition des deutschen Forschungsschiffes Polarstern im Januar/Februar 2000 gesammelt. Die Proben wurden bis zu ihrer Untersuchung in Glasflaschen bei -20°C tiefgekühlt gelagert. Abb. 26 zeigt das Ergebnis der Analyse einer Meerwasserprobe nach Dotierung mit $\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$ -Indikator und Derivatisierung mit NaBEt_4 . In Tab. 20 sind die bestimmten $^{201}\text{Hg}/^{202}\text{Hg}$ -Isotopenverhältnisse der Meerwasserprobe aufgeführt.

Abb. 26 GC/ICP-MS-Chromatogramm des $\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$ -Indikators ($^{201}\text{Hg}/^{202}\text{Hg} = 3,83$) nach Derivatisierung in einer Meerwasserprobe

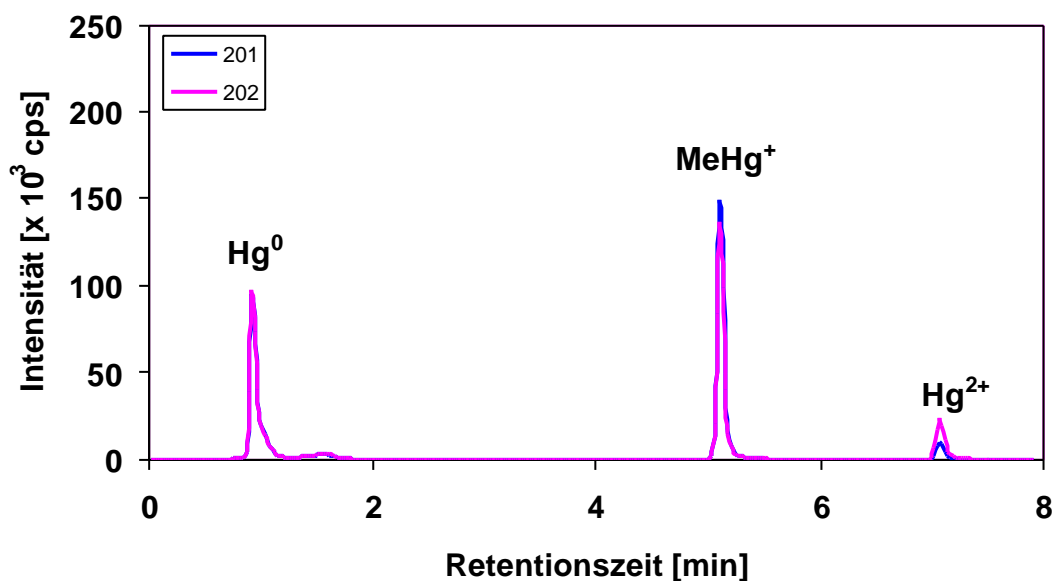


Tab. 20 Bestimmte Isotopenverhältnisse $^{201}\text{Hg}/^{202}\text{Hg}$ für die Hg-Spezies, Hg^0 , MeHg^+ und Hg^{2+} in der Meerwasserprobe (Abb. 26)

Hg-Spezies	$^{201}\text{Hg}/^{202}\text{Hg}$
Hg^0	1,81
MeHg^+	3,71
Hg^{2+}	0,44

Die Biomethylierung von anorganischem Hg(II) zu Methylquecksilber spielt nicht nur eine Rolle in der marinen Umgebung, sondern auch in huminstoffreichen Gebieten. Erhöhte Methylquecksilbergehalte treten besonders häufig dort auf, wo ein hoher anthropogener Eintrag von Hg(II) feststellbar ist. In Deutschland ist diese Problematik z.B. in der anthropogen belasteten Elbe vorhanden [114]. Es werden heute weltweit viele Süßwasserproben in bezug auf ihre Methylquecksilbergehalte untersucht, so daß eine Überprüfung möglicher Speziesumwandlungen während der Probenaufarbeitung unerlässlich ist. Innerhalb dieser Arbeit werden deshalb Süßwasserproben (Flügelsbach, Mommenheim) untersucht. Die Probennahme erfolgt in PFA-Flaschen. Abb. 27 zeigt das Resultat einer Süßwasserprobe (Flügelsbach) nach Dotierung und Derivatisierung mit NaBEt_4 . In Tab. 21 sind die bestimmten $^{201}\text{Hg}/^{202}\text{Hg}$ -Isotopenverhältnisse der Süßwasserprobe aufgeführt.

Abb. 27 GC/ICP-MS-Chromatogramm des $\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$ -Indikators ($^{201}\text{Hg}/^{202}\text{Hg} = 6,45$) nach Derivatisierung in einer Süßwasserprobe (Flügelsbach, Mommenheim)

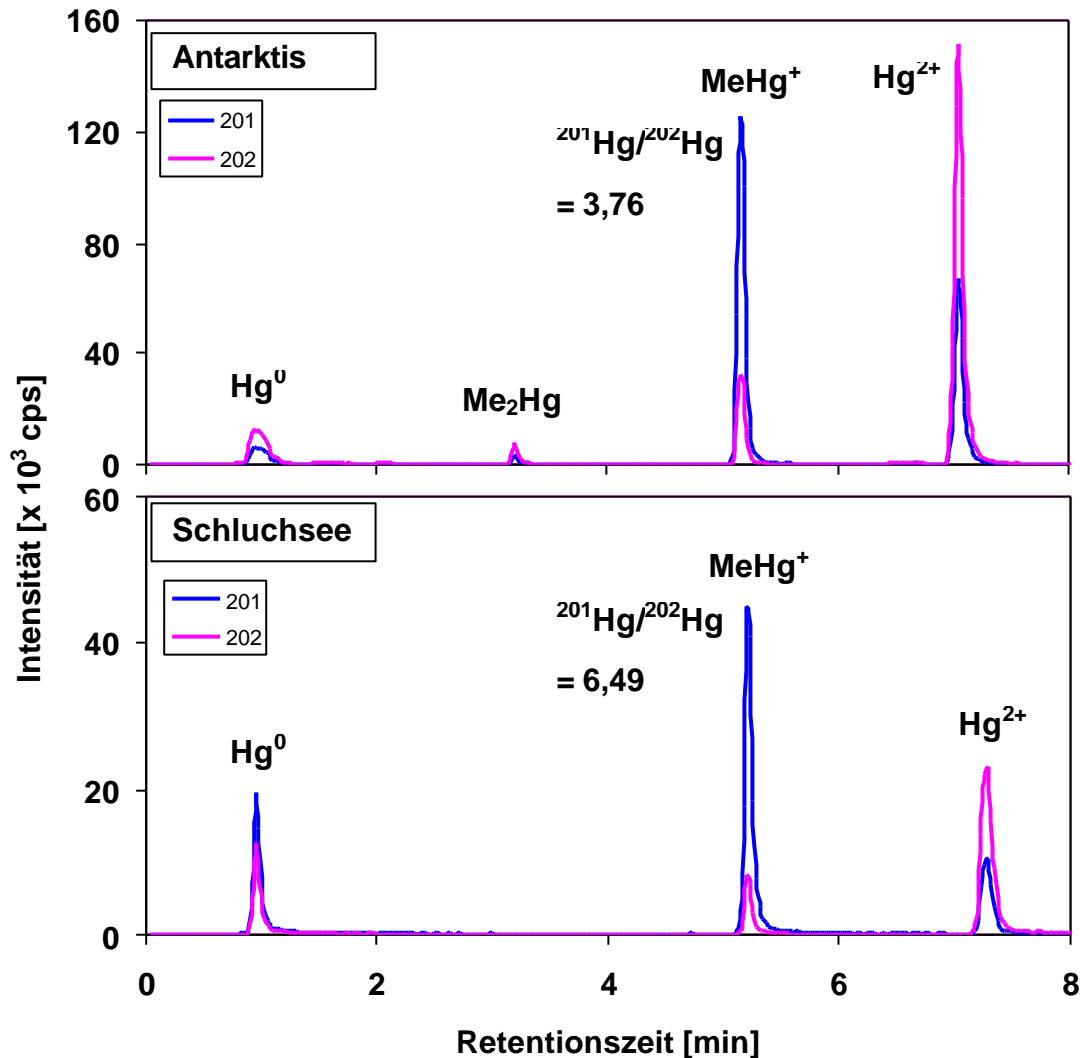


Tab. 21 Bestimmte Isotopenverhältnisse $^{201}\text{Hg}/^{202}\text{Hg}$ für die Hg-Spezies, Hg^0 , MeHg^+ und Hg^{2+} in der Süßwasserprobe (Abb. 27)

Hg-Spezies	$^{201}\text{Hg}/^{202}\text{Hg}$
Hg^0	1,00
MeHg^+	1,07
Hg^{2+}	0,44

In früheren Arbeiten wurde festgestellt, daß Schwermetalle in Eis, Schnee und Aerosolen der Antarktis oftmals stark angereichert sind [115]. Im Rahmen einer anderen Arbeit konnten erstmals methylierte Quecksilberverbindungen in antarktischen Schneeproben nachgewiesen werden [116], was einen bedeutenden Beitrag für die Kenntnis des biogeochemischen Kreislaufs liefert. Auch in der Zukunft müssen deshalb Methylquecksilbergehalte in Schneeproben (nach Schmelzen) analysiert werden. Die in dieser Arbeit analysierten Schneeproben sind unterschiedlicher Herkunft. Es wurden Schneeproben während der Antarktisexpedition im Januar/Februar 2000 an der deutschen Neumayer-Forschungsstation in der Antarktis gesammelt. Die Probenlagerung ist identisch mit der der Meerwasserproben. Des weiteren wurden Schneeproben in Mainz, Schluchsee (1000 m) und Ischgl/Österreich (2400 m) genommen. Diese Probennahmen erfolgten in PFA-Flaschen und wurden nur nach Neuschneefall durchgeführt. In Abb. 28 sind zwei Untersuchungen zu möglichen MeHg^+ -Speziesumwandlungen in geschmolzenen Schneeproben dargestellt. Das Isotopenverhältnis $^{201}\text{Hg}/^{202}\text{Hg}$ des eingesetzten $\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$ -Indikators im Falle der antarktischen Schneeprobe beträgt 3,83 und bezüglich der Schneeprobe aus Schluchsee 10,79.

Abb. 28 GC/ICP-MS-Chromatogramme des $\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$ -Indikators nach Derivatisierung mit NaBEt_4 in Schneeproben



In natürlichen Proben kommt zur Überprüfung des Isotopenverhältnisses bezüglich einer möglichen Speziesumwandlung neben Hg^0 und Hg^{2+} auch Me_2Hg in Frage. Das Isotopenverhältnis R für diese Spezies wird deshalb in den realen Proben mitbestimmt. In Tab. 22 sind die Isotopenverhältnisse der Hg-Spezies Hg^0 , Hg^{2+} und Me_2Hg der Realproben zusammengefaßt.

Tab. 22 Bestimmte Isotopenverhältnisse $^{201}\text{Hg}/^{202}\text{Hg}$ aus den gemessenen GC/ICP-MS-Chromatogrammen der Hg-Spezies Hg^0 , Hg^{2+} und Me_2Hg in Realproben

Probe	$^{201}\text{Hg}/^{202}\text{Hg}$		
	Hg^0	Me_2Hg	Hg^{2+}
Meerwasser	1,81	-*	0,44
Süßwasser	1,02	0,44	0,44
Schneeproben :			
- Antarktis	0,44	0,44	0,44
- Mainz 1	0,44	-*	0,44
- Mainz 2	3,13	-*	0,44
- Ischgl	0,44	-*	0,44
- Schluchsee	1,46	-*	0,44

* Me_2Hg nicht detektierbar

3.8. Untersuchung möglicher MeHg^+ - Speziesumwandlungen bei der Derivatisierungsreaktion mit NaBPr_4

Seit der Veröffentlichung von Rapsomanikis et al. [117], die erstmalig die Anwendung von NaBEt_4 für die Derivatisierung von Schwermetallspezies zur Überführung in eine flüchtige Form beschreibt, hat sich diese Methode zu einer weltweit angewandten Methode für die Bestimmung von Schwermetallspezies, insbesondere des Quecksilbers entwickelt. Die Derivatisierung mit einer anderen Alkyloboratverbindung, Natriumtetrapropylborat (NaBPr_4), zur Bestimmung von Schwermetallspezies wie z. B. Hg, Sn und Pb wurde vor kurzem in einer anderen Veröffentlichung vorgestellt [118]. Der weltweite Einsatz von NaBPr_4 gestaltet sich als äußerst schwierig, da das Derivatisierungsreagenz zunächst in einer aufwendigen Synthese hergestellt werden muß. Seit kurzem ist allerdings NaBPr_4 auch käuflich erhältlich und stellt somit eine interessante Alternative als Derivatisierungsreagenz dar. Von besonderem Interesse ist die Überprüfung möglicher MeHg^+ -Speziesumwandlungen bei Einsatz von NaBPr_4 .

Vorteilhaft für den Gebrauch des NaBPr_4 ist die bestehende Probenvorbereitung sowie das Meßsystem bei Einsatz von NaBEt_4 , da die Bedingungen für beide Derivatisierungsreagenzien nahezu identisch sind. Deshalb wird im Falle der Propylierung nur das Temperaturprogramm des GC-Ofens verändert (Kap. 3.2.3.). Innerhalb dieser Untersuchungen werden vorzugsweise Proben untersucht, die bei der Ethylierung mit NaBEt_4 eine MeHg^+ Umwandlung zeigten. 50 g der Probe werden mit $\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$ dotiert und mit NaBPr_4 derivatisiert. Die Untersuchungen werden mit den Proben mehrmals durchgeführt. Im Falle der Modellösungen werden die Halogenidlösungen (vgl. Kap. 3.6.3.) analysiert. Beispielhaft für diese Untersuchungsreihe ist in Abb. 29 das Ergebnis der Dotierung einer 0,056 mol/L NaBr-Lösung nach Dotierung mit $\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$ und anschließender Derivatisierung mit NaBPr_4 dargestellt. Hinsichtlich der realen Wasserproben werden Meerwasser- sowie auch Süßwasserproben (Flügelsbach) auf mögliche MeHg^+ -Speziesumwandlungen untersucht. Abb. 30 gibt das Resultat einer Meerwasserprobe nach Dotierung mit $\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$ und Derivatisierung wieder. Die Isotopenverhältnisse $^{201}\text{Hg}/^{202}\text{Hg}$ für die Hg-Spezies sind in Tab. 23 zusammengefaßt.

Abb. 29 GC/ICP-MS-Chromatogramm des $\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$ -Indikators ($^{201}\text{Hg}/^{202}\text{Hg} = 6,45$) in einer 0,056 mol/L NaBr-Lösung nach Derivatisierung mit NaBPr_4

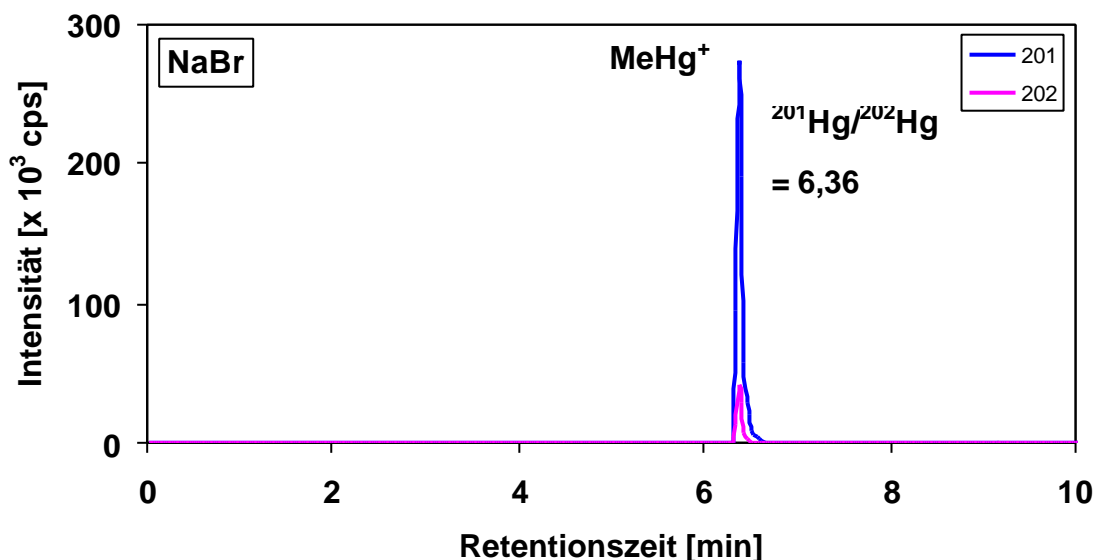
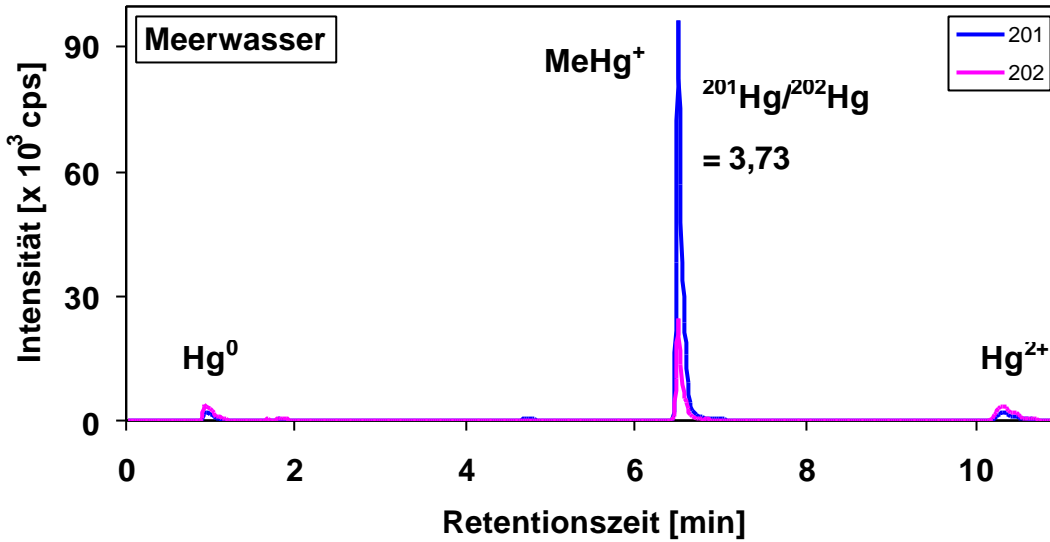


Abb. 30 GC/ICP-MS-Chromatogramm des Me²⁰¹Hg⁺-Indikators (²⁰¹Hg/²⁰²Hg = 3,83) in einer Meerwasserprobe nach Derivatisierung mit NaBPr₄



Tab. 23 Isotopenverhältnisse ²⁰¹Hg/²⁰²Hg für Hg⁰, Me₂Hg und Hg²⁺ in verschiedenen Proben

Probe	²⁰¹ Hg/ ²⁰² Hg		
	Hg ⁰	Me ₂ Hg	Hg ²⁺
Modellösungen :			
- NaCl	-*	-*	-*
- NaBr	-*	-*	-*
- NaI	-*	-*	-*
Natürliche Proben :			
- Süßwasser	0,44	0,44	0,44
- Meerwasser	0,44	-*	0,44

* Spezies nicht detektierbar

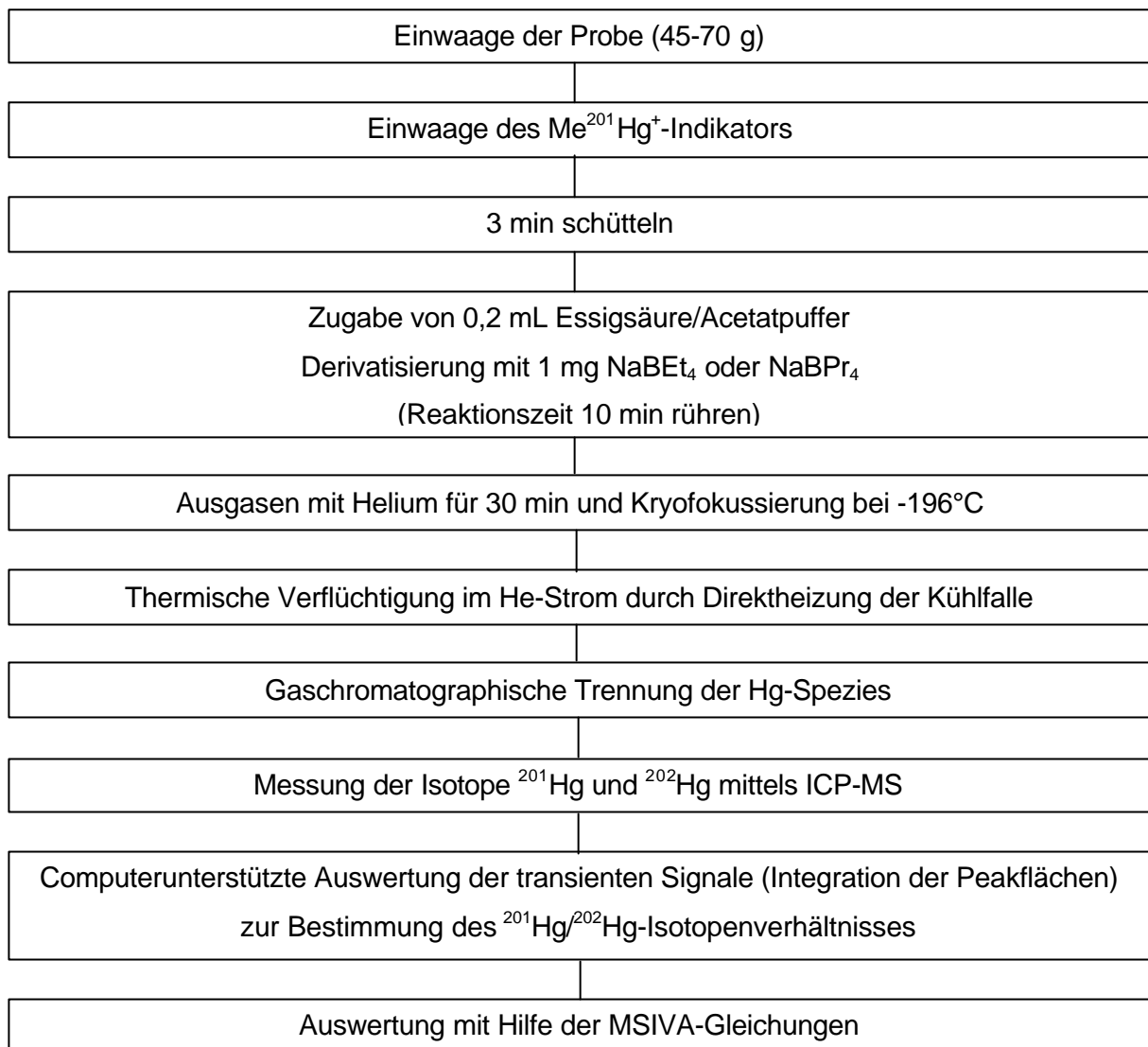
3.9. Analyse von Methylquecksilbergehalten in natürlichen Wasserproben unter Verwendung der MSIVA

Die Bestimmung von methylierten Quecksilberspezies hat sich aufgrund ihrer hohen Toxizität in den letzten Jahren zu einem sehr wichtigen Teilgebiet entwickelt. Untersuchungen der Bildungs- sowie Zersetzungsreaktionen der Hg-Spezies, ihrer Transportmechanismen sowie ihrer Gehalte in den Umweltkompartimenten führen zu immer genaueren Kenntnissen des bisher nicht vollständig geklärten biogeochemischen Quecksilberkreislaufes (Kap. 2.2.2.). Die Identifizierung und Bestimmung der niedrigen Gehalte der Hg-Spezies wird durch die Kopplung von Trennsystemen mit nachweisstarken elementspezifischen Detektoren im unteren pg-Bereich möglich (Kap. 2.3.). Die bisher eingesetzten Analysemethoden zur Bestimmung von Methylquecksilbergehalten in Wasserproben basieren ausschließlich auf der Methode der externen Kalibration. Wegen des entsprechenden Aufwandes erfolgt in der Hg-Speziesanalytik häufig nur eine Einzelbestimmung für eine Probe. Hauptgrund dafür ist die lange Meßdauer einer Analyse. Bisher ist es nicht gelungen, eine MSIVA für Methylquecksilber in Wasserproben zu entwickeln und die Zuverlässigkeit dieser Methode zu zeigen.

In der vorliegenden Arbeit wird der synthetisierte $\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$ -Indikator nicht nur zur Untersuchung von möglichen Fehlerquellen bei der Probenvorbereitung eingesetzt, sondern auch zur zuverlässigen Gehaltsbestimmung von Methylquecksilber im pg-Bereich in aquatischen Systemen. Es werden Schneewasser, Süßwasser sowie im folgenden Kapitel (Kap. 3.10.1.) auch Meerwasser analysiert. Die Probe und der Indikator werden in PFA-Flaschen eingewogen und darin vermischt. Dieses Vorgehen erfüllt die Voraussetzung der MSIVA, daß der Isotopenverdünnungsschritt vor der Aufarbeitung und Messung der Probe stattfindet. Das Verfahren stellt eine ideale interne Kalibration mit der gleichen Spezies als Standard dar, das zusammen mit der bekannten natürlichen Isotopenzusammensetzung zu den Probengehalten führt. Die isotopenverdünnte Probe wird erst dann in das Derivatisierungsgefäß zur weiteren Probenaufarbeitung gegeben. Das gesamte Aufbereitungsschema ist in Abb. 31 dargestellt. Mit den Isotopenhäufigkeiten der Probe und des Indikators, der Konzentration des $\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$ -Indikators und den Einwaagen von Probe- und Indikatorlösung läßt sich gemäß den Gln. (8)-(15) (Kap. 2.4.) der MeHg^+ -Gehalt in der Probe errechnen. Für die Isotopenhäufigkeiten der Probe werden nicht die in der Literatur enthaltenen Werte [90] eingesetzt, sondern es werden alle Isotopenhäufigkeiten (Indikator und Probe) sowie der Gehalt des Indikators unter gleichen Meßbedingungen (am gleichen Meßtag) bestimmt und in die Gleichungen der MSIVA eingesetzt, um damit vorhandene

Massendiskriminierungseffekte im ICP-MS zu eliminieren (Kap. 3.2.3.). Bei der Elementspurenbestimmung mit der Isotopenverdünnungsanalyse ist die Nachweisgrenze entweder durch die Blindwertschwankung bei der Aufarbeitung, oder durch die Ungenauigkeit der Isotopenverhältnismessung limitiert [4]. Im Rahmen der Analyse des Methylquecksilbers in Wasserproben ergibt sich eine absolute Nachweisgrenze von 1,5 pg Hg (für Methylquecksilber) aus der dreifachen Standardabweichung des Indikators, bzw. von 0,015 pg Hg/g bei dem maximal einsetzbaren Probenvolumen von 100 mL.

Abb. 31 Aufarbeitungsschema zur Bestimmung von Methylquecksilber mittels MSIVA in aquatischen Systemen



Im Rahmen dieser Arbeit werden unterschiedliche Proben hinsichtlich ihres Methylquecksilbergehaltes analysiert. Hierbei werden die Proben teilweise ethyliert und propyliert (bei ein bis drei unabhängigen Analysen). Die jeweiligen Randbedingungen sind in

den Überschriften der Tabellen aufgeführt. In Tab. 24 sind die Analysen einer Süßwasserprobe (Flügelsbach) zusammengefasst, die zweimal ethyliert sowie propyliert wurde.

Tab. 24 Bestimmung des MeHg⁺-Gehaltes in Süßwasser (Flügelsbach), derivatisiert mit NaBEt₄ und NaBPr₄ durch GC/ICP-MSIVA (n=2)

Derivatisierung mit	E _{Probe} [g]	E _{Indikator} [g]	²⁰¹ Hg/ ²⁰² Hg	Gehalt [pg Hg/g]
NaBEt ₄	48,9786	1,5121	1,6924	11,2
	47,8536	1,5143	1,6543	11,9
NaBPr ₄	48,8948	1,5113	1,6077	12,1
	46,7607	1,5107	1,7198	11,4
Mittelwert				11,7 ± 0,4
S _{rel} [%]				3,6

Eine andere Süßwasserprobe (Flügelsbach) wird je dreimal ethyliert und propyliert. Die Resultate dieser Untersuchungen sind aus Tab. 25 und Tab. 26 ersichtlich.

Tab. 25 Bestimmung des MeHg⁺-Gehaltes in Süßwasser (Flügelsbach), derivatisiert mit NaBEt₄ durch GC/ICP-MSIVA (n=3)

Probe	E _{Probe} [g]	E _{Indikator} [g]	²⁰¹ Hg/ ²⁰² Hg	Gehalt [pg Hg/g]
1	47,2809	0,7513	2,0010	3,7
2	48,0537	0,7523	1,9245	3,8
3	47,5996	0,7516	1,9045	3,9
Mittelwert				3,8 ± 0,1
S _{rel} [%]				2,6

Tab. 26 Bestimmung des MeHg⁺-Gehaltes in Süßwasser (Flügelsbach), derivatisiert mit NaBPr₄ durch GC/ICP-MSIVA (n=3)

Probe	E _{Probe} [g]	E _{Indikator} [g]	²⁰¹ Hg/ ²⁰² Hg	Gehalt [pg Hg/g]
1	48,0735	0,7492	1,9761	3,7
2	48,7352	0,7492	2,0150	3,5
3	48,9914	0,7588	2,0399	3,5
Mittelwert				3,6 ± 0,1
S _{rel} [%]				3,2

Drei Schneeproben verschiedener Herkunft werden ebenfalls hinsichtlich ihres Methylquecksilbergehaltes analysiert. Die Proben werden je einmal mit NaBEt₄ derivatisiert. Die Ergebnisse sind in Tab. 27 aufgeführt.

Tab. 27 Bestimmung des MeHg⁺-Gehaltes in Schneeproben unterschiedlicher Herkunft derivatisiert mit NaBEt₄ durch GC/ICP-MSIVA (n=1)

Probe	E _{Probe} [g]	E _{Indikator} [g]	²⁰¹ Hg/ ²⁰² Hg	Gehalt [pg Hg/g]
Ischgl	57,2000	0,5032	7,1402	0,2
Mainz	67,2190	0,5011	2,3868	1,3
Schluchsee	70,6178	0,4940	6,4941	0,2

Eine antarktische Schneeprobe wird in drei unabhängigen Analysen ethyliert. Das Resultat ist in Tab. 28 dargestellt.

Tab. 28 Bestimmung des MeHg⁺-Gehaltes einer antarktischen Schneeprobe, derivatisiert mit NaBEt₄ durch GC/ICP-MSIVA (n=3)

Probe	E _{Probe} [g]	E _{Indikator} [g]	²⁰¹ Hg/ ²⁰² Hg	Gehalt [pg Hg/g]
1	59,8590	0,5007	6,3953	0,25
2	61,7198	0,4686	6,5208	0,22
3	60,1428	0,4999	6,4532	0,25
Mittelwert				0,24 ± 0,02
S _{rel} [%]				7,2

3.10. Qualitätssicherung des entwickelten GC/ICP-MSIVA-Verfahrens

3.10.1. Validierung der Stabilität der Hg-Spezies in wässrigen Proben

Die Bestimmung von Methylquecksilber in wässrigen Proben mittels GC/ICP-MSIVA stellt ein neu entwickelte Methode dar. Um die Richtigkeit der Ergebnisse zu gewährleisten, muß die Methode validiert werden. Im Rahmen dieser Arbeit werden unterschiedliche Versuche zur Validierung des Verfahrens durchgeführt, die im folgenden beschrieben werden.

Eine der Voraussetzungen zur Quantifizierung von Spezies mittels GC/ICP-MSIVA ist die chemische Stabilität der zu untersuchenden Spezies. Sie umfaßt zum einen die kinetische und zum anderen die thermodynamische Stabilität. Um eine Analyse von Spezies unter Verwendung der Isotopenverdünnungsanalyse durchführen zu können, dürfen die verschiedenen Spezies nicht miteinander im Gleichgewicht stehen, d. h. es darf zwischen den Spezies kein Isotopenaustausch stattfinden. Um einen solchen, möglichen Isotopenaustausch zu überprüfen, läßt man eine Lösung, die Hg⁰, Me₂Hg und Hg²⁺ in natürlicher Isotopenzusammensetzung enthält, zusammen mit einem Me²⁰¹Hg⁺-Indikator in einer PFA Flasche über Nacht stehen. Die Isotopenhäufigkeiten werden am nächsten Tag bestimmt und sind aus Tab. 29 ersichtlich.

Tab. 29 Isotopenverhältnisse einer Lösung mit den Spezies Hg^0 , Me_2Hg und Hg^{2+} natürlicher Isotopenzusammensetzung nach einer Equilibrierungszeit von ca. 15 h mit einem $\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$ -Indikator

Isotop	natürliche Häufigkeit [%]	Hg^0 [%]	Me_2Hg [%]	$\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$ [%]	Hg^{2+} [%]
196	0,15	0,11	0,15	0,12	0,14
198	9,97	10,00	10,00	2,60	9,91
199	16,87	16,89	16,86	4,38	16,81
200	23,10	23,14	23,14	7,32	23,20
201	13,18	13,21	13,14	72,71	13,24
202	29,86	29,81	29,89	11,05	29,80
204	6,87	6,84	6,82	1,82	6,90

Die thermodynamische Stabilität spielt ebenfalls eine große Rolle, da eine Zersetzung des $\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$ -Indikators zu falschen Ergebnissen führen würde. Zur Überprüfung der Langzeitstabilität des $\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$ -Indikators wird der Indikator unter den gewählten Lagerungsbedingungen über einen Zeitraum von fünf Monaten beobachtet. Die $\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$ -Lösung wird in einer PFA-Flasche im Kühlschrank bei 4°C aufbewahrt. In diesem Zeitraum wird die Konzentration in zeitlichen Abständen mit inverser MSIVA (Kap. 3.3.2.) bestimmt. Die Isotopenverdünnung erfolgt durch die Zugabe einer Standardlösung, die Methylquecksilber in natürlicher Isotopenzusammensetzung enthält. Die erhaltenen Ergebnisse sind aus Tab. 30 ersichtlich.

Tab. 30 Analyse des $\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$ -Gehaltes einer Indikatorlösung bei Lagerung in einem PFA-Gefäß, bei 4°C unter Lichtausschluß

Zeitraum	MeHg^+ -Gehalt [pg Hg/g]
Lagerungsbeginn	39,0
nach 1 Monat	42,1
nach 3 Monaten	40,7
nach 5 Monaten	40,9
Mittelwert	$40,7 \pm 1,3$
s_{rel} [%]	3,1

3.10.2. Validierung des entwickelten GC/ICP-MSIVA-Verfahrens in aquatischen Systemen durch Dotierung mit $\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$

Um zu überprüfen, ob die entwickelte Methode zur Bestimmung von Methylquecksilber richtige Ergebnisse liefert, wird der Methylquecksilbergehalt in einer natürlichen Meerwasserprobe bestimmt, die kein MeHg^+ enthält, aber mit Methylquecksilber natürlicher Isotopenzusammensetzung versetzt wurde. Die Einstellung der Konzentration erfolgte gravimetrisch. Danach beträgt die Konzentration 4 pg Hg/g (als MeHg^+). Die hergestellte Lösung wird entsprechend dem Aufarbeitungsschema in Abb. 31 analysiert. Zur Überprüfung der Richtigkeit sowie zur Bestimmung der Reproduzierbarkeit werden je drei unabhängige Analysen durchgeführt, wobei bei einer Untersuchungsreihe ethyliert, bei einer anderen propyliert wird. Die Resultate sind Tab. 31 und Tab. 32 zu entnehmen.

Tab. 31 Natürliches Meerwasser (Atlantik) dotiert mit 4 pg Hg/g (als MeHg⁺) und mit GC/ICP-MSIVA nach Derivatisierung mit NaBEt₄ bestimmt

Probe	E _{Probe} [g]	E _{Indikator} [g]	²⁰¹ Hg/ ²⁰² Hg	Gehalt [pg Hg/g]
1	47,7846	1,0032	1,9341	4,02
2	46,1187	1,0066	2,0270	3,82
3	49,8911	0,9697	1,8927	3,88
Mittelwert				3,91 ± 0,10
s _{rel} [%]				2,6

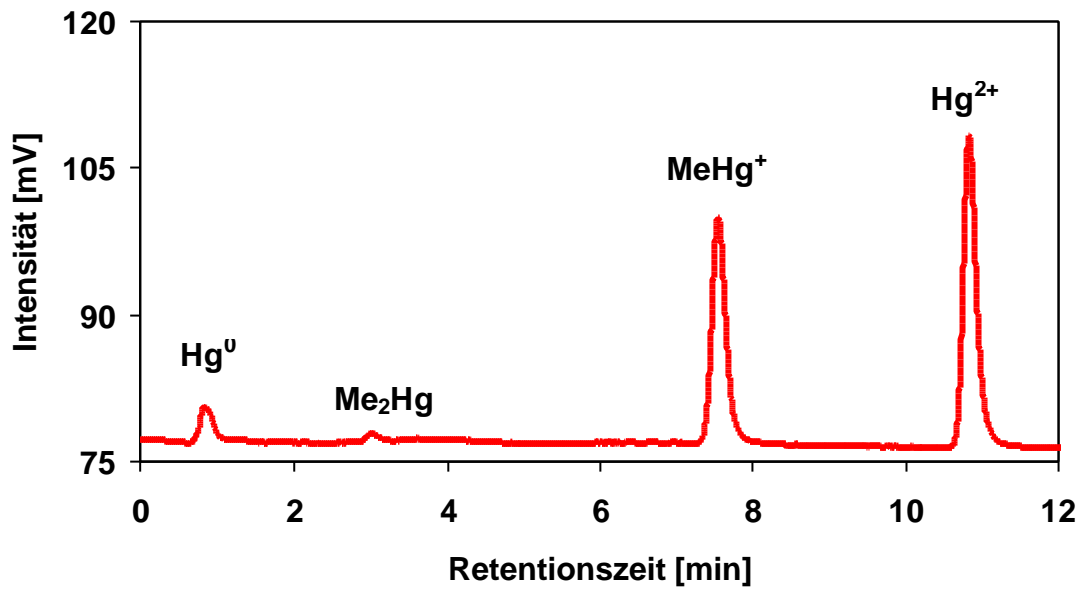
Tab. 32 Natürliches Meerwasser (Atlantik) dotiert mit 4 pg Hg/g (als MeHg⁺) und mit GC/ICP-MSIVA nach Derivatisierung mit NaBPr₄ bestimmt

Probe	E _{Probe} [g]	E _{Indikator} [g]	²⁰¹ Hg/ ²⁰² Hg	Gehalt [pg Hg/g]
1	47,7670	1,0016	1,9517	3,95
2	43,7883	0,9535	2,0022	3,90
3	49,5189	0,9922	1,8935	4,00
Mittelwert				3,95 ± 0,05
s _{rel} [%]				1,3

Trotz guter reproduzierbarer Ergebnisse kann eine analytische Methode systematische Fehler enthalten. Im Rahmen der Methodvalidierung sollte deshalb die gleiche Probe mit einer weiteren unabhängigen Analysenmethode untersucht werden, um die Ergebnisse miteinander zu vergleichen [119]. Die Ergebnisse sollten dann innerhalb der Meßungenauigkeit übereinstimmen. Innerhalb dieser Arbeit war es möglich, die erzielten Resultate für die dotierte Meerwasserprobe mit einer zweiten Analysenmethode zu vergleichen, da im Rahmen einer anderen Arbeit eine GC/AFD-Methode angewandt wurde [116]. Die Gesamtmethode mit GC/AFD basiert ebenfalls auf der Derivatisierung der Hg-Spezies zur kompletten Überführung in flüchtige Spezies, die dann in einer Kühlfalle kryofokussiert, anschließend gaschromatographisch getrennt und mit einem Atomfluoreszenzdetektor detektiert werden. Abb. 32 zeigt ein mit GC/AFD nach

Derivatisierung mit NaBEt_4 erhaltenes Chromatogramm der Hg-Spezies Hg^0 , Me_2Hg , MeHg^+ und Hg^{2+} .

Abb. 32 GC/AFD-Chromatogramm der Hg-Spezies Hg^0 , Me_2Hg , MeHg^+ und Hg^{2+} nach Derivatisierung mit NaBEt_4 [116]



Das Analysensystem ist im Detail in einer früheren Arbeit beschrieben [99]. Die Untersuchung mit diesem Analysensystem unterscheidet sich grundsätzlich in einigen Punkten von dem in dieser Arbeit verwendeten Meßsystem. Prinzipielle Unterschiede bestehen im Einsatz einer anderen Kapillarsäule, einem unterschiedlichen Temperaturprogramm des GC-Ofens sowie der als Detektionsmethode eingesetzten Atomfluoreszenz-Spektrometrie. Die Verwendung eines Atomfluoreszenzdetektors zur Bestimmung von Hg-Spezieskonzentrationen im Vergleich zu dem in dieser Arbeit eingesetzten Analysensystem macht eine externe Kalibration nötig. Für die Bestimmung von Methylquecksilbergehalten in Wasserproben wird zunächst eine Kalibrationsgerade für Quecksilber mit Methylquecksilber aufgenommen. Mit Hilfe dieser Kalibrationsgeraden und dem Probenvolumen läßt sich dann die unbekannte Konzentration an Methylquecksilber in einer Probe bestimmen. Im Rahmen der Bestimmung von Methylquecksilber in der dotierten Meerwasserprobe mittels GC/AFD werden ebenfalls zwei Untersuchungsreihen mit drei unabhängigen Analysen mit 50 mL Probenvolumen analysiert. Die Untersuchungsreihen werden sowohl mit NaBEt_4 als auch NaBPr_4 als Derivatisierungsreagenz durchgeführt. Die Resultate der Untersuchungen zur Bestimmung der Methylquecksilberkonzentration in der

dotierten Meerwasserprobe für die Ethylierung sind in Tab. 33 und für die Propylierung in Tab. 34 aufgeführt.

Tab. 33 Untersuchung einer natürlichen Meerwasserprobe nach Dotierung von MeHg^+ (Gehalt = 4 $\mu\text{g Hg/g}$), Derivatisierung mit NaBEt_4 und Bestimmung mittels GC/AFD [116]

Probe	Gehalt [$\mu\text{g Hg/g}$]
1	0,68
2	0,98
3	0,92
Mittelwert	$0,86 \pm 0,16$
s_{rel} [%]	18,5

Tab. 34 Untersuchung einer natürlichen Meerwasserprobe nach Dotierung von MeHg^+ (Gehalt = 4 $\mu\text{g Hg/g}$), Derivatisierung mit NaBPr_4 und Bestimmung mittels GC/AFD [116]

Probe	Gehalt [$\mu\text{g Hg/g}$]
1	3,88
2	3,12
3	3,35
Mittelwert	$3,45 \pm 0,39$
s_{rel} [%]	11,3

3.10.3. Analyse von Methylquecksilber im Referenzmaterial CRM 463 mit verschiedenen Aufschlußmethoden

Eine weitere Validierungsmethode ist die Analyse von Referenzmaterialien. Die Analytgehalte der Referenzmaterialien werden vom Hersteller bestimmt und garantiert. Die Referenzmaterialien sollten möglichst ähnliche Analytgehalte und Matrixzusammensetzung wie die zu untersuchenden Proben aufweisen. Da es momentan kein Referenzmaterial einer auf MeHg^+ zertifizierten, wäßrigen Probe gibt, ist eine Überprüfung der Bestimmung von Methylquecksilber in Wasserproben mittels GC/ICP-MSIVA nicht möglich. Die derzeit verfügbaren Referenzmaterialien sind Festkörperproben, die zudem meist nur auf Gesamtquecksilber hin zertifiziert sind. Nur wenige dieser Referenzmaterialien sind auf MeHg^+ zertifiziert (Tab. 35). Es handelt sich hierbei ausschließlich um Sedimente und biologische Materialien.

Tab. 35 Auswahl zertifizierter Referenzmaterialien für die MeHg^+ -Analytik

Name	Material	Hersteller	zertifizierte Spezies	zertifizierter Gehalt [$\mu\text{g Hg/g}$]
IAEA 356	Sediment	IAEA ¹⁾	MeHg^+	$0,0056 \pm 0,0004$
CRM 463	Thunfisch	BCR ²⁾	MeHg^+	$2,83 \pm 0,15$
CRM 464	Thunfisch	BCR	MeHg^+	$5,12 \pm 0,16$
CRM 580	Sediment	BCR	MeHg^+	$0,0702 \pm 0,0034$
TORT-1	Hummer	NRCC ³⁾	MeHg^+	$0,128 \pm 0,014$
DOLT-1	Fischleber	NRCC	MeHg^+	$0,08 \pm 0,01$
DORM-1	Fischmuskel	NRCC	MeHg^+	$0,738 \pm 0,060$
LUTS-1	Hummer	NRCC	MeHg^+	$0,0094 \pm 0,0006$

¹⁾ International Atomic Energy Agency

³⁾ National Research Council, Canada

²⁾ Community Bureau of Reference

Im Rahmen dieser Arbeit wurde das zertifizierte Referenzmaterial CRM 463 ausgewählt, um das entwickelte GC/ICP-MSIVA-Verfahren zu überprüfen. Bei CRM 463 handelt es sich um eine Fischprobe, die 1994 zertifiziert wurde. Details über die Herkunft der Probe, ihre Homogenität und Stabilität sowie weitere Parameter der Zertifizierungsrunde sind der Literatur zu entnehmen [120]. Im Gegensatz zu den in dieser Arbeit untersuchten

Wasserproben ist bei der Analyse von biologischen Materialien, wie z. B. Fisch, eine andere Probenaufarbeitung nötig. Das Methylquecksilber wird zuerst von der Matrix getrennt, um es in eine meßbare Form überführen zu können. Eine übliche Methode, Methylquecksilber aus Fisch zu extrahieren, ist die Behandlung mit TMAH (Tetramethylammoniumhydroxid) [111]. Die organische Matrix wird bei diesem Verfahren zerstört. Zunächst werden etwa 0,14 g Probe, 1,5 g $\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$ -Indikator und 5 g TMAH in ein PFA-Gefäß eingewogen. Das geschlossene Gefäß bleibt bei 60°C für zwei Stunden im Trockenschrank. In dieser Zeit wird es alle 15 min geschüttelt. Nach diesen zwei Stunden erhält man bereits eine völlig klare Lösung. Danach wird die Lösung für zwölf Stunden bei Raumtemperatur geschüttelt. Anschließend werden 100 mL MilliQ-Wasser hinzugegeben. 0,07 mL dieser Lösung kommen in das Derivatisierungsgefäß, das 50 mL MilliQ-Wasser enthält. Es werden 0,4 mL Essigsäure/Acetatpuffer hinzugegeben, um pH 5 einzustellen. Danach erfolgt Derivatisierung mit NaBEt_4 und abschließende Messung des Isotopenverhältnisses $^{201}\text{Hg}/^{202}\text{Hg}$ mittels GC/ICP-MS. Das basische Aufarbeitungsschema für die Extraktion von Methylquecksilber aus Fisch mit TMAH und die Bestimmung mit GC/ICP-MS ist in Abb. 33 dargestellt.

Abb. 33 Basisches Aufarbeitungsschema zur Bestimmung von MeHg^+ im Referenzmaterial CRM 463 mittels GC/ICP-MS/MS



Die mit der MSIVA in drei unabhängigen Analysen erhaltenen Ergebnisse für die Bestimmung des Methylquecksilbergehaltes im Referenzmaterial CRM 463 sind in Tab. 36 dargestellt.

Tab. 36 Methylquecksilbergehalte im Referenzmaterial CRM 463 (zertifizierter Gehalt : $2,83 \pm 0,15 \mu\text{g Hg/g}$) nach basischer Behandlung mit TMAH und Bestimmung mit GC/ICP-MSIVA

Probe	Gehalt [$\mu\text{g Hg/g}$]
1	2,67
2	2,73
3	2,74
Mittelwert	$2,71 \pm 0,04$
S_{rel}	1,4

Die Extraktion der Fischprobe mit Salzsäure ist eine weitere Möglichkeit, biologische Proben zu behandeln, um nachfolgend Methylquecksilbergehalte bestimmen zu können. Allerdings wird in vielen Arbeiten die basische Behandlung gegenüber der traditionellen sauren Behandlung bevorzugt. Innerhalb dieser Arbeit wird das Referenzmaterial CRM 463 nach zwei unterschiedlichen in der Literatur beschriebenen Extraktionen mit Salzsäure [1, 121] mit GC/ICP-MSIVA analysiert. Diese Experimente dienen hauptsächlich der Überprüfung möglicher MeHg^+ -Umwandlungen während der Aufarbeitung der Fischprobe mit HCl und Derivatisierung mit NaBEt_4 . Für die erste saure Aufarbeitung werden zunächst etwa 0,14 g Probe, 1,5 g $\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$ -Indikator und 5 g HCl (6 mol/L) in ein PFA-Gefäß eingewogen. Danach wird die Lösung für 24 Stunden bei Raumtemperatur geschüttelt. Nach dieser Zeit ist die Lösung immer noch getrübt. Dann werden 100 mL MilliQ-Wasser hinzugegeben. 0,1 mL dieser Lösung werden in das Derivatisierungsgefäß pipettiert, das 50 mL MilliQ-Wasser enthält. Es werden 0,4 mL Essigsäure/Acetatpuffer hinzugegeben, um pH 5 einzustellen. Danach erfolgt Derivatisierung mit NaBEt_4 , Trennung der Hg-Spezies mit GC und abschließende Messung des Isotopenverhältnisses $^{201}\text{Hg}/^{202}\text{Hg}$ mittels ICP-MS.

Für die zweite saure Aufarbeitung werden 0,050 g Fischprobe und 0,5 g $\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$ -Indikator in ein Zentrifugengefäß eingewogen. Dann werden 0,2 mL einer gesättigten NaCl-Lösung und 0,2 mL konzentrierte HCl hinzugefügt. Das Zentrifugengefäß wird danach 5 min geschüttelt. Anschließend werden 2 mL einer 0,1 mol/L NaH_2PO_4 Lösung, 2,1 mL

1 mol/L NaOH, 1 mL Nonan und 2,5 mL einer 2 %igen NaBEt₄-Lösung zugegeben. Diese Mischung wird im Anschluß für 40 min im Ultraschallbad geschüttelt. Eine effektive Phasentrennung erhält man durch Zentrifugieren bei 4000 U/min für 10 min. Die Nonanphase wird dann in ein GC-Gläschen überführt. 1 µL der Nonanphase wird dann in das Meßsystem eingespritzt und 10 min kryofokussiert. Abschließend erfolgt die gaschromatographische Trennung der Hg-Spezies und Messung des Isotopenverhältnisses ²⁰¹Hg/²⁰²Hg.

Die Aufarbeitungsschemata zur Bestimmung von Methylquecksilber im Referenzmaterial CRM 463 unter Verwendung der Isotopenverdünnungsanalyse mittels GC/ICP-MS sind in Abb. 34 und Abb. 35 dargestellt.

Abb. 34 Saures Aufarbeitungsschema 1 [121] zur Bestimmung von MeHg⁺ im Referenzmaterial CRM 463 mit GC/ICP-MSIVA

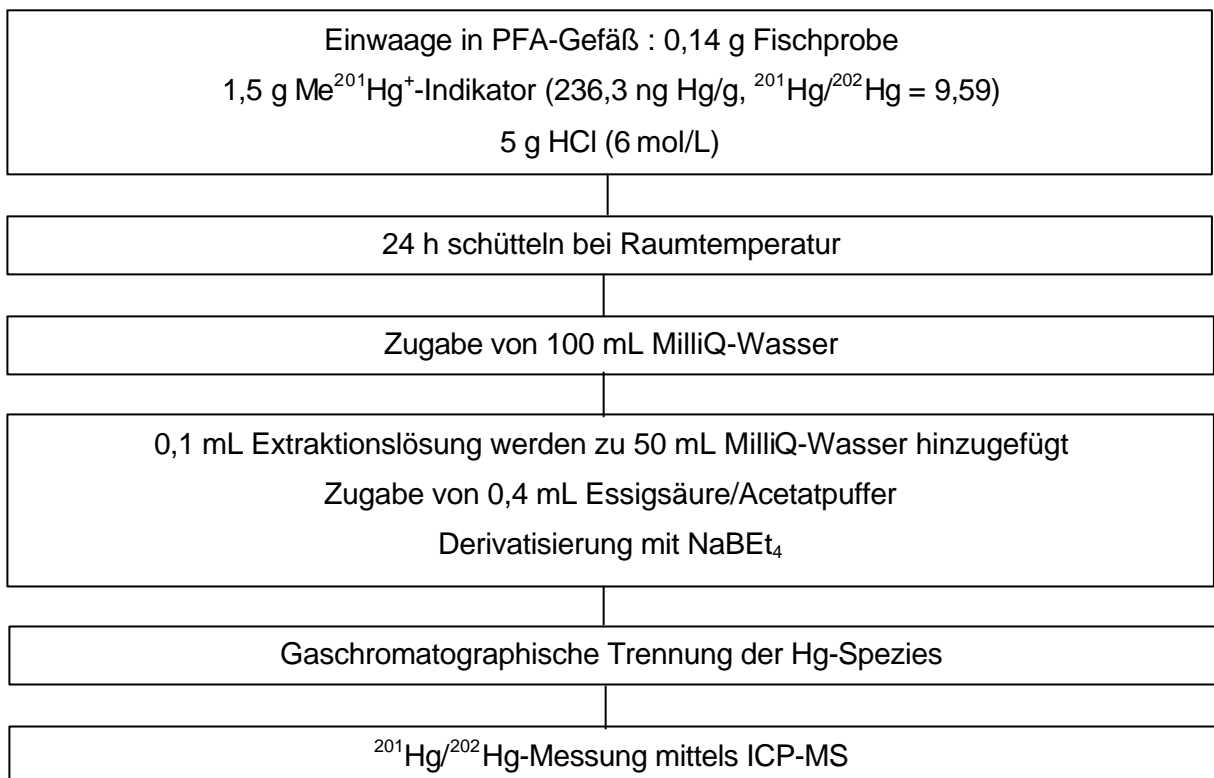
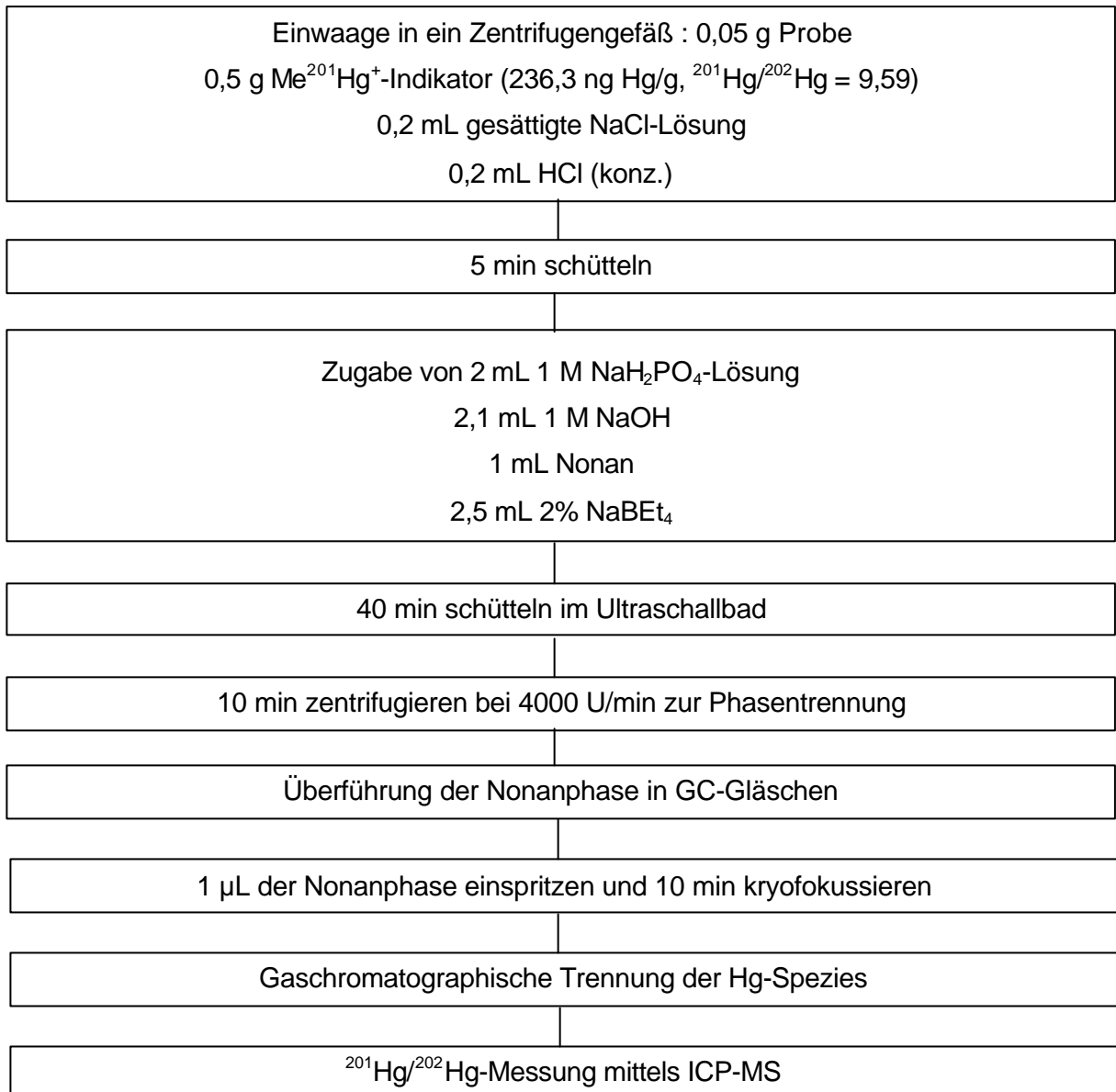


Abb. 35 Saures Aufarbeitungsschema 2 [61] zur Bestimmung von MeHg^+ im Referenzmaterial CRM 463 mittels GC/ICP-MSIVA



Die mit der MSIVA aus je einer Bestimmung erhaltenen Ergebnisse für den Methylquecksilbergehalt im Referenzmaterial CRM 463 mit den beiden sauren Aufarbeitungen sind in Tab. 37 aufgeführt.

Tab. 37 Methylquecksilbergehalte im Referenzmaterial CRM 463 (zertifizierter Gehalt : $2,83 \pm 0,15 \mu\text{g Hg/g}$) nach saurer Behandlung mit HCl und Bestimmung mit GC/ICP-MSIVA

Bestimmung nach	Gehalt [$\mu\text{g Hg/g}$]
Aufarbeitungsschema 1 (Abb. 34)	2,46
Aufarbeitungsschema 2 (Abb. 35)	2,58

4. Diskussion der Ergebnisse

4.1. Optimierung der Synthese von $\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$

Eine Grundvoraussetzung für die Durchführung einer MSIVA ist die Verfügbarkeit eines geeigneten Indikators (Kap. 2.4.). Im Falle der spezies-spezifischen MSIVA für die Bestimmung von Methylquecksilber war es zunächst nötig, einen entsprechenden Indikator zu synthetisieren, wobei für die Synthese nur wenige Milligramm Ausgangssubstanz vorhanden waren. Eine solche Synthese kann mit Schwierigkeiten verbunden sein und ist häufig nicht mit „klassischen“ Reaktionen und deren Reaktionsbedingungen vergleichbar, da normalerweise von Eduktmengen im g- bis kg-Maßstab ausgegangen wird.

Für die Synthese von Methylquecksilber im Milligrammbereich standen mehrere Varianten zur Auswahl. Eine Synthese beruhte auf der Methylierung von Hg^{2+} durch Tetramethylzinn [86], die aber nur eine Reaktionsausbeute von höchstens 20 % erreicht [122]. Eine andere Synthese stellte zunächst Me_2Hg aus HgCl_2 und MeMgCl her, wobei nachfolgend das erzeugte Me_2Hg mit HgCl_2 zu MeHg^+ in einer Ausbeute von 90 % umgesetzt wird [108]. Diese Synthese beinhaltet nicht nur aufwendige und komplizierte Versuchsbedingungen durch die Verwendung eines Grignardreagenzes (wie z. B. wasserfreie Reaktionsbedingungen), sondern auch einen Zeitaufwand von zwei Tagen. Weiterhin sind aufgrund der Flüchtigkeit des Me_2Hg und seiner hohen Toxizität besondere Sicherheitsmaßnahmen erforderlich.

Die in dieser Arbeit verwendete Synthese (Kap. 3.3.1.) orientiert sich an der in der Natur typischen Methylierungsreaktion von Hg^{2+} durch Methylcobalamin. Diese Synthese wurde bereits für die Darstellung von radioaktivem $\text{Me}^{203}\text{Hg}^+$ eingesetzt [109]. Alle Reaktionsschritte wurden bezüglich des verwendeten Laborbedarfs vereinfacht, so daß nur noch ein Rundkolben, ein Zentrifugengefäß und ein Magnetrührer nötig waren. Die Synthese von $\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$ aus ^{201}HgO wurde zuerst mehrmals mit HgO natürlicher Isotopenzusammensetzung durchgeführt, um sicher zu gehen, daß die gewählten Synthesebedingungen das gewünschte Produkt in hoher Reaktionsausbeute liefern, da die entsprechende isotoopenmarkierte Ausgangsverbindung nur in der Menge von 6mg vorlag und der erfolglose Verbrauch enorme Kosten bedeutet hätte. Besondere Vorteile dieser Synthese sind die unkomplizierten Reaktionsbedingungen, ein Zeitaufwand von weniger als vier Stunden und eine gute Ausbeute von 60 %. Die somit hergestellte Menge an $\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$ (0,55 mg Hg) reicht für mehrere Millionen Analysen von Methylquecksilber in realen

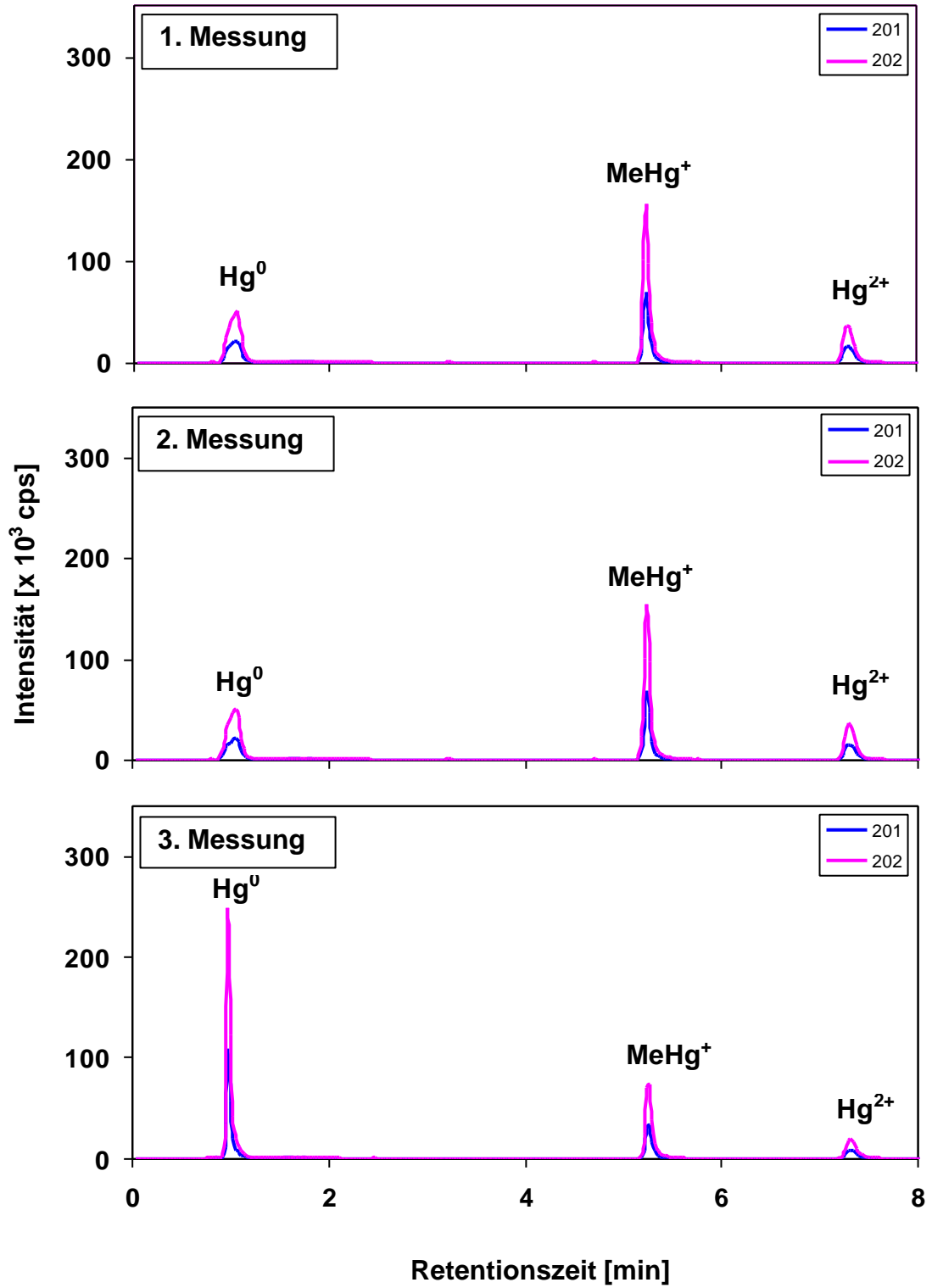
Wasserproben aus, da sich die zugegebene Menge des Indikators bei der Analyse von realer Wasserproben im Bereich der Menge des natürlich vorkommenden MeHg^+ bewegt.

4.2. Lagerungsbedingungen für Standardlösungen und reale Wasserproben

Die Lagerung von Standardlösungen und realen Wasserproben zur zuverlässigen Bestimmung von Hg-Spezies kann erhebliche Probleme aufweisen, da eine ungünstige Lagerung zu Substanzverlusten und Speziesumwandlungen führen kann. Hierbei spielen das Material (PE oder PFA) sowie dessen Vorbehandlung und die Lagerungstemperatur eine Rolle. Eine besondere Schwierigkeit stellt das Material des Aufbewahrungsgefäßes dar. Zwei Mechanismen sind für mögliche Hg-Speziesverluste bekannt. Zum einen können die Hg-Spezies an der Wand des Gefäßes adsorbiert und somit ihr Gehalt vermindert werden, und zum anderen sind aufgrund aktiver chemischer Gruppen im Gefäßmaterial Reduktionen der Hg-Spezies und daraus resultierende Speziesumwandlungen möglich. Endprodukt ist hierbei Hg^0 , das aus der Probe entweichen kann. Um das Potential an aktiven chemischen Gruppen zu vermindern, hat sich die Vorbehandlung und Reinigung der Gefäße mit HNO_3 bewährt. Für die Bestimmung von MeHg^+ wird empfohlen, die jeweilige Probe natürlich zu belassen. Zusätze wie Säuren führen zu einem sehr schnellen Verlust des MeHg^+ durch Umwandlung zu Hg^{2+} [96, 123].

Innerhalb dieser Arbeit wurde eine Süßwasserprobe (Flügelsbach) in einer mit HNO_3 vorbehandelten PE-Flasche genommen und am gleichen Tag im Verlauf von etwa fünf Stunden dreimal analysiert. Die Ergebnisse für alle drei Untersuchungen sind in Abb. 36 zusammengefaßt. Erkennbar ist die Abnahme der Spezies MeHg^+ und Hg^{2+} sowie die Zunahme von Hg^0 im Verlauf der Messungen. Diese Feststellung wurde zusätzlich durch die Auswertung der Peakflächen in Tab. 12 (Kap. 3.4.) abgesichert. Dieses Resultat bestätigt die in der Literatur beschriebenen Vorgänge bezüglich des Gefäßmaterials.

Abb. 36 Untersuchung der Stabilität von Hg-Spezies in PE-Flaschen (Messung 1 zu Beginn der Lagerung, Messung 2 nach 1,5 h, Messung 3 nach 3 h Lagerzeit)



In einem weiteren Experiment wurde eine andere Süßwasserprobe (Flügelsbach) in einem PFA-Gefäß anstelle des PE-Gefäßes beprobt und gelagert. Die Probe wurde im Abstand von 8 h am Probenahmetag ebenfalls zweimal untersucht. Die Auswertung der Peakflächen ist aus Tab. 38 ersichtlich. Aus den erhaltenen Werten ist die Stabilität der Probe ersichtlich, da keinerlei Speziesumwandlungen erkennbar sind.

Tab. 38 Untersuchung der Stabilität von Hg-Spezies einer Süßwasserprobe (Flügelsbach) bei Lagerung in PFA-Flaschen

Meßzeit- punkt	Hg ⁰ [counts]	MeHg ⁺ [counts]	Hg ²⁺ [counts]	Σ [counts]
10.00 Uhr	1362378	3423948	495180	5281506
18.00 Uhr	1145362	3500213	530475	5176050

Weitere Untersuchungen innerhalb dieser Arbeit bestätigen die Stabilität des Methylquecksilbers bezüglich der Lagerungsbedingungen in PFA-Gefäßen. In Kap. 3.9. wurde eine in einem PFA-Gefäß beprobte Süßwasserprobe (Flügelsbach) hinsichtlich ihres Methylquecksilbergehaltes an einem Meßtag viermal analysiert. Der Gehalt betrug $11,7 \pm 0,4$ pg Hg/g. Diese Gehaltbestimmung verdeutlicht auch die Stabilität des Methylquecksilbers unter den gewählten Lagerungsbedingungen, da die Bestimmung mit vier unabhängigen Analysen im Zeitraum von etwa sechs Stunden verläuft. Wäre MeHg⁺ in der Probe im PFA-Gefäß über diesen Zeitraum nicht stabil, würde sich dies in abnehmenden MeHg⁺-Gehalten bemerkbar machen. Die Süßwasserprobe (Flügelsbach) wurde weiterhin im PFA-Gefäß im Kühlschrank gelagert und erneut nach drei Tagen noch einmal hinsichtlich ihres Gehaltes untersucht. Mit einem Gehalt von 11,6 pg Hg/g konnte auch in dieser Bestimmung die Stabilität bestätigt werden.

Die Verwendung von PFA-Flaschen eignet sich nicht nur, um reale Wasserproben zu lagern, sondern ebenfalls zur Lagerung von Standardlösungen in MilliQ-Wasser. Die Stabilität des Methylquecksilbers bei Lagerung in PFA-Gefäßen zeigt sich ebenfalls bei der Betrachtung der durchgeführten Analyse in Kap. 3.10.1.. Es wurde der Gehalt einer Me²⁰¹Hg⁺-Indikatorlösung während einer fünfmonatigen Lagerungszeit der Lösung in einem PFA-Gefäß im Kühlschrank untersucht. Während dieses Zeitraumes konnte kein signifikanter Verlust von Methylquecksilber festgestellt werden.

Abschließend kann zusammenfassend hervorgehoben werden, daß sich PFA-Gefäße hervorragend zur Lagerung von methylquecksilberhaltigen Lösungen eignen, da sie aufgrund ihrer glatten Oberflächen keine Adsorptions- und Reduktionseffekte initiieren [98]. Bei der Lagerung von realen Proben sind sicherlich über einen längeren Zeitraum Speziesumwandlungen durch Mikroorganismen oder Huminstoffe zu erwarten, jedoch läßt sich deren Aktivität durch eine kühle Lagerung bei 4°C vermindern.

4.3. Bestimmung der Transformation von MeHg⁺ in Modellösungen mit Hilfe eines isotoopenmarkierten Me²⁰¹Hg⁺ - Indikators nach Derivatisierung mit NaBEt₄

4.3.1. Allgemeines

In der Vergangenheit wurde bereits festgestellt, daß die Probenvorbereitung von Sedimenten zur Bestimmung von Methylquecksilber zu falschen Ergebnissen führen kann. Es wurde mit Hilfe von zugesetztem, isotoopenangereicherten Hg²⁺ gezeigt, daß bei der oft verwendeten Wasserdampfdestillation zur Abtrennung von Methylquecksilber aus Sedimenten unter bestimmten Bedingungen Methylquecksilber aus anorganischem Hg(II) gebildet werden kann und die mit dieser Probenvorbereitung erlangten MeHg⁺-Gehalte deshalb zu hoch sein können [111]. Im Rahmen dieser Untersuchungen konnten die Autoren darlegen, daß der Einsatz einer isotoopenmarkierten Verbindung eine ausgezeichnete Möglichkeit bietet, Fehler in dieser Probenvorbereitung aufzuzeigen.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde der hergestellte Me²⁰¹Hg⁺-Indikator nicht nur dazu eingesetzt, eine MSIVA zur Methylquecksilberbestimmung in wäßrigen Proben zu entwickeln, sondern auch um mögliche MeHg⁺-Speziesumwandlungen bei der Probenvorbereitung zur Bestimmung von Methylquecksilber in Wasserproben mit der seit 15 Jahren weltweit häufig angewandten Methode der Derivatisierung mit NaBEt₄ zu überprüfen. Innerhalb dieses Kapitels werden die erhaltenen Ergebnisse der Überprüfung möglicher MeHg⁺-Speziesumwandlungen in Proben ohne Verwendung des Derivatisierungsmittels (Kap. 3.5.) sowie in den untersuchten Modellösungen (Kap. 3.6.) bei der Derivatisierung mit NaBEt₄ erörtert.

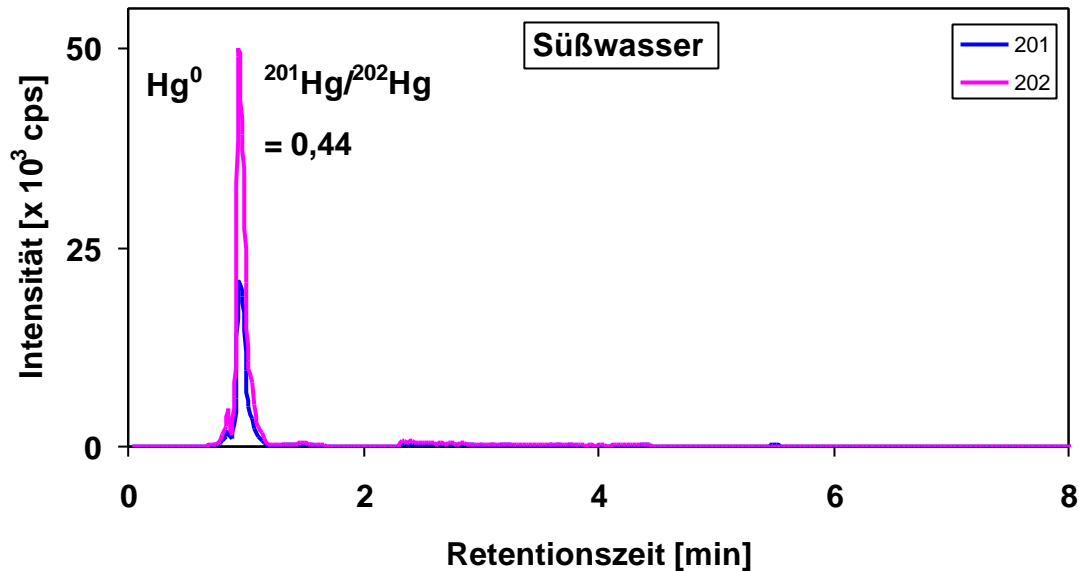
4.3.2. Überprüfung möglicher MeHg⁺-Umwandlungen ohne Verwendung des Derivatisierungsreagenzes NaBEt₄

Wie bereits in Kap. 3.5. beschrieben, wurden eine NaCl-Lösung (170 µg Cl⁻/g), eine Süßwasserprobe (Flügelsbach) sowie eine Meerwasserprobe (Atlantik), die für die Untersuchungen in dieser Arbeit als repräsentativ erschienen, bezüglich einer möglichen MeHg⁺-Umwandlung bei Einsatz eines Me²⁰¹Hg⁺-Indikators und des Essigsäure/Acetapuffers, aber ohne Verwendung von NaBEt₄, überprüft. In einem Vorversuch wurde sichergestellt, daß bei der gleichen Vorgehensweise ohne Zusatz des Puffers und NaBEt₄, sondern nur durch Zugabe des Me²⁰¹Hg⁺-Indikators keine MeHg⁺-Speziesumwandlung stattfindet.

Für die Untersuchungen hinsichtlich einer Speziesumwandlung, die von der Zugabe des Puffers initiiert werden könnte, wurden eine Meerwasserprobe, eine Süßwasserprobe sowie eine NaCl-Lösung mit dem Me²⁰¹Hg⁺-Indikator und mit Essigsäure/Acetapuffer versetzt und dann entsprechend der Probenvorbereitung (Kap. 3.2.2.) aufgearbeitet. Das eingesetzte Analysensystem bietet den Vorteil, durch Ausgasen der Lösung und ohne Derivatisierungsreagenz zumindest die flüchtigen Spezies Hg⁰ und Me₂Hg bestimmen zu können. Im Falle einer MeHg⁺-Speziesumwandlung in Hg⁰ oder Me₂Hg, die durch die Zugabe des Puffers entstehen könnte, würde das gemessene Isotopenverhältnis ²⁰¹Hg/²⁰²Hg vom natürlichen Isotopenverhältnis abweichen und eine Speziesumwandlung wäre bewiesen.

In Abb. 37 ist Hg⁰ aus der Untersuchung einer Süßwasserprobe (Flügelsbach) ersichtlich. Das gemessene Isotopenverhältnis ²⁰¹Hg/²⁰²Hg beträgt 0,44, was dem natürlichen Isotopenverhältnis entspricht. Aufgrund dieses Resultates kann man eindeutig feststellen, daß innerhalb dieser Untersuchung keine MeHg⁺-Umwandlung stattgefunden hat. Das Ergebnis der Analyse dieser Süßwasserprobe ist charakteristisch für die gesamte Untersuchungsreihe. Die Analyse der Meerwasserprobe sowie der NaCl-Lösung lieferten das identische Ergebnis. Auch in diesen Proben fand keine MeHg⁺-Umwandlung statt. Innerhalb einer Veröffentlichung [124], die sogenannte „Interferenz-Effekte“ von NaCl und Metallionen während der Bestimmung von Hg-Spezies bei Derivatisierung mit NaBEt₄ untersuchte, wurde festgestellt, daß in einer NaCl-Lösung eine MeHg⁺-Umwandlung zu Hg⁰ stattfindet. Aus ihren erhaltenen Resultaten folgerten die Autoren, daß nur NaCl ohne Einfluß des eingesetzten NaBEt₄ MeEtHg zu Hg⁰ zersetzte oder MeHg⁺ direkt zu Hg⁰ reduzierte. Diese Aussage wird eindeutig durch die in dieser Arbeit diskutierten Ergebnisse widerlegt, da ohne Einsatz von NaBEt₄ in chloridhaltigen Proben keine Umwandlung von MeHg⁺ zu Hg⁰ erfolgt.

Abb. 37 GC/ICP-MS-Chromatogramm einer Süßwasserprobe (Flügelsbach), dotiert mit $\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$ -Indikator und gepuffert, aber ohne Zusatz von NaBEt_4 (anschließendes Ausgasen der flüchtigen Spezies und GC/ICP-MS-Messung)

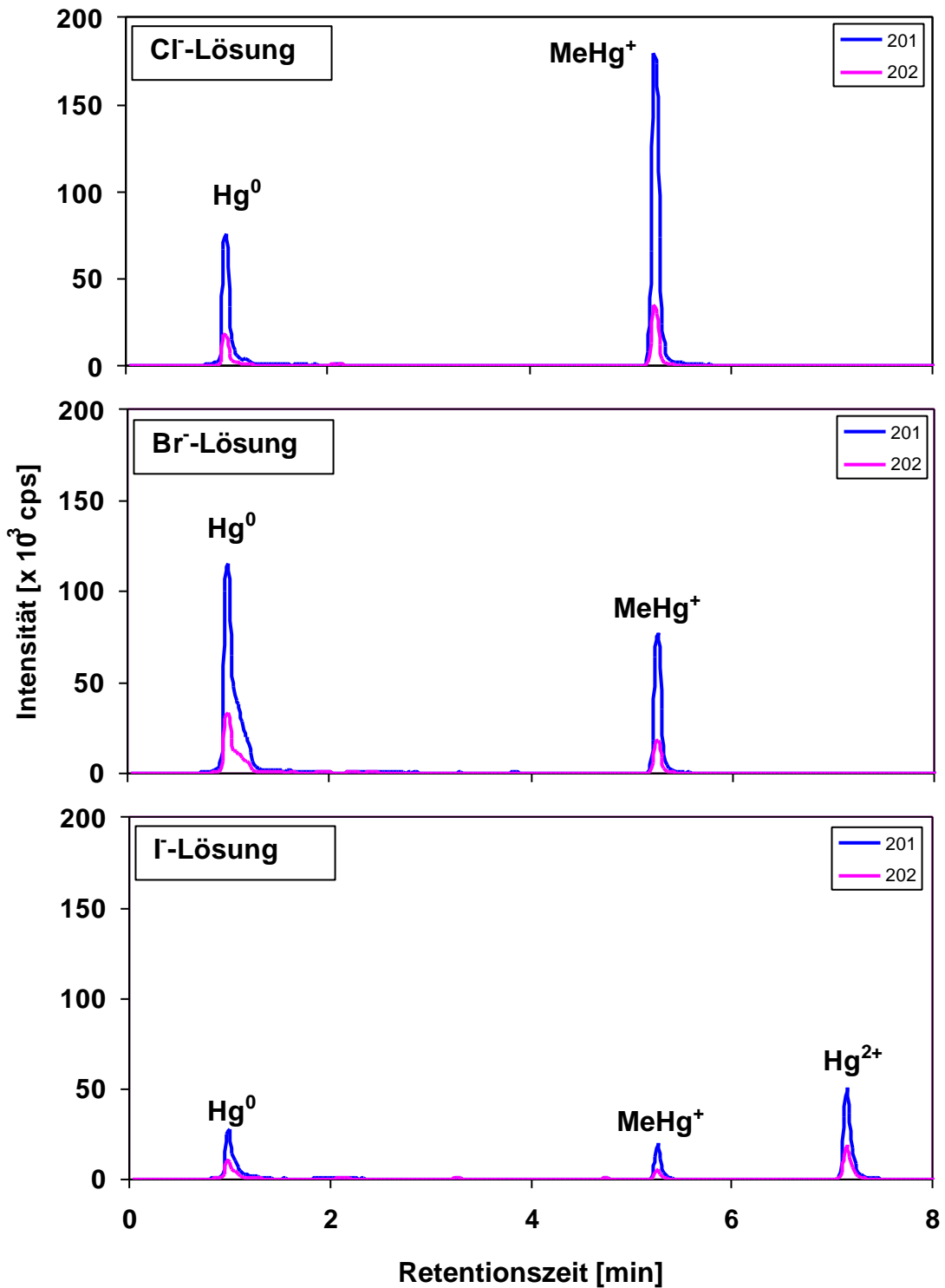


4.3.3. MeHg^+ -Transformation in Abhängigkeit unterschiedlicher Halogenide

In Kap. 3.6.3. wurde eine MeHg^+ -Speziesumwandlung bei der Derivatisierung mit NaBEt_4 in unterschiedlichen Halogenidlösungen untersucht. 0,0056 mol/L Natriumhalogenidlösungen der Halogenide Chlor, Brom und Iod wurden mit $\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$ -Indikator versetzt und mit NaBEt_4 derivatisiert. Abb. 38 gibt eine Zusammenfassung der erhaltenen Resultate wieder. In allen drei Lösungen ist eine MeHg^+ -Speziesumwandlung zu Hg^0 durch die Anreicherung auf ^{201}Hg im Peak des elementaren Quecksilbers deutlich erkennbar. Betrachtet man das qualitative Ergebnis und die quantitative Auswertung der Peakflächen, lassen sich Abhängigkeiten feststellen. Die Größe des MeHg^+ -Peaks in den Lösungen verringert sich in der Reihenfolge $\text{Cl}^- > \text{Br}^- > \text{I}^-$, wohingegen der Hg^0 -Peak sich zumindest gemäß der Abnahme des MeHg^+ -Peaks in der Cl^- - und Br^- -Lösung vergrößert. Entsprechend dem höheren Umwandlungsgrad des MeHg^+ in der I^- -Lösung wäre eine Vergrößerung des Hg^0 -Peaks zu erwarten, was aber nicht bestätigt werden konnte. Die Untersuchung der I^- -Lösung liefert jedoch ein unerwartetes Ergebnis, da während dieser Analyse nicht nur auf ^{201}Hg angereichertes Hg^0 sondern auch Hg^{2+} auftritt. Auf ^{201}Hg angereichertes Hg^{2+} wurde während der gesamten Arbeit nur in Iodidlösungen beobachtet. Die Bildung des angereicherten Hg^{2+} gibt einen

Hinweis auf den möglichen Reaktionsablauf der MeHg^+ -Speziesumwandlung, der in Kap. 4.6. diskutiert wird.

Abb. 38 Abhängigkeit der MeHg^+ -Umwandlung von der Art des Halogenidions bei der Derivatisierung mit NaBEt_4 in 0,0056 mol/L Halogenidlösungen (Cl^- , Br^- und I^-)



4.3.4. MeHg⁺-Transformation in Abhängigkeit von der Chloridkonzentration

In realen Wasserproben sind alle in dieser Arbeit auf MeHg⁺-Speziesumwandlungen untersuchten Halogenidionen zu finden, wobei dem Chloridion eine herausragende Rolle zukommt, da es in den unterschiedlichen Gewässertypen nicht nur am häufigsten von allen Halogeniden, sondern auch in sehr unterschiedlichen Konzentrationen (z. B. Meerwasser 18000 µg Cl⁻/g, Süßwasser 50-250 µg Cl⁻/g) vorkommt. Hinsichtlich der gefundenen MeHg⁺-Speziesumwandlungen in Halogenidlösungen bei der Derivatisierung mit NaBEt₄ sollte mit Hilfe von Modellösungen unterschiedlicher Cl⁻-Konzentrationen überprüft werden, ob eine Abhängigkeit der MeHg⁺-Transformation von der Cl⁻-Konzentration besteht.

Hierzu wurden zwei Untersuchungsreihen mit verschiedenen Chloridkonzentrationen durchgeführt (Kap. 3.6.4.). In einer Untersuchungsreihe wurden Chloridlösungen der Konzentrationen 6-6900 µg Cl⁻/g, in einer anderen Untersuchungsreihe 10-1000 µg Cl⁻/g mit Me²⁰¹Hg⁺-Indikator dotiert und mit NaBEt₄ derivatisiert. Die Ergebnisse dieser Analysen sind aus den Abb. 39 und Abb. 40 ersichtlich. Aus Abb. 39 und Abb. 40 erkennt man, daß ab einer Cl⁻-Konzentration von 65 µg Cl⁻/g eine deutlich meßbare Umwandlung des MeHg⁺ in Hg⁰ stattfindet, die bis zu einer Konzentration von 6900 µg Cl⁻/g noch stark zunimmt. Wertet man die Peakflächen aller Hg-Isotope in den Chromatogrammen aus, so kann man diese Umwandlung auch quantifizieren. Über die ausgewerteten Peakflächen wurde dann eine prozentuale Verteilung der Hg-Spezies bestimmt, die Aufschluß über den Transformationsgrad gibt. Die Verteilung der Hg-Spezies ist in Tab. 39 aufgeführt.

Abb. 39 MeHg⁺-Speziesumwandlungen bei der Derivatisierung mit NaBEt₄ in Chloridlösungen im Konzentrationsbereich 6-6900 µg Cl⁻/g

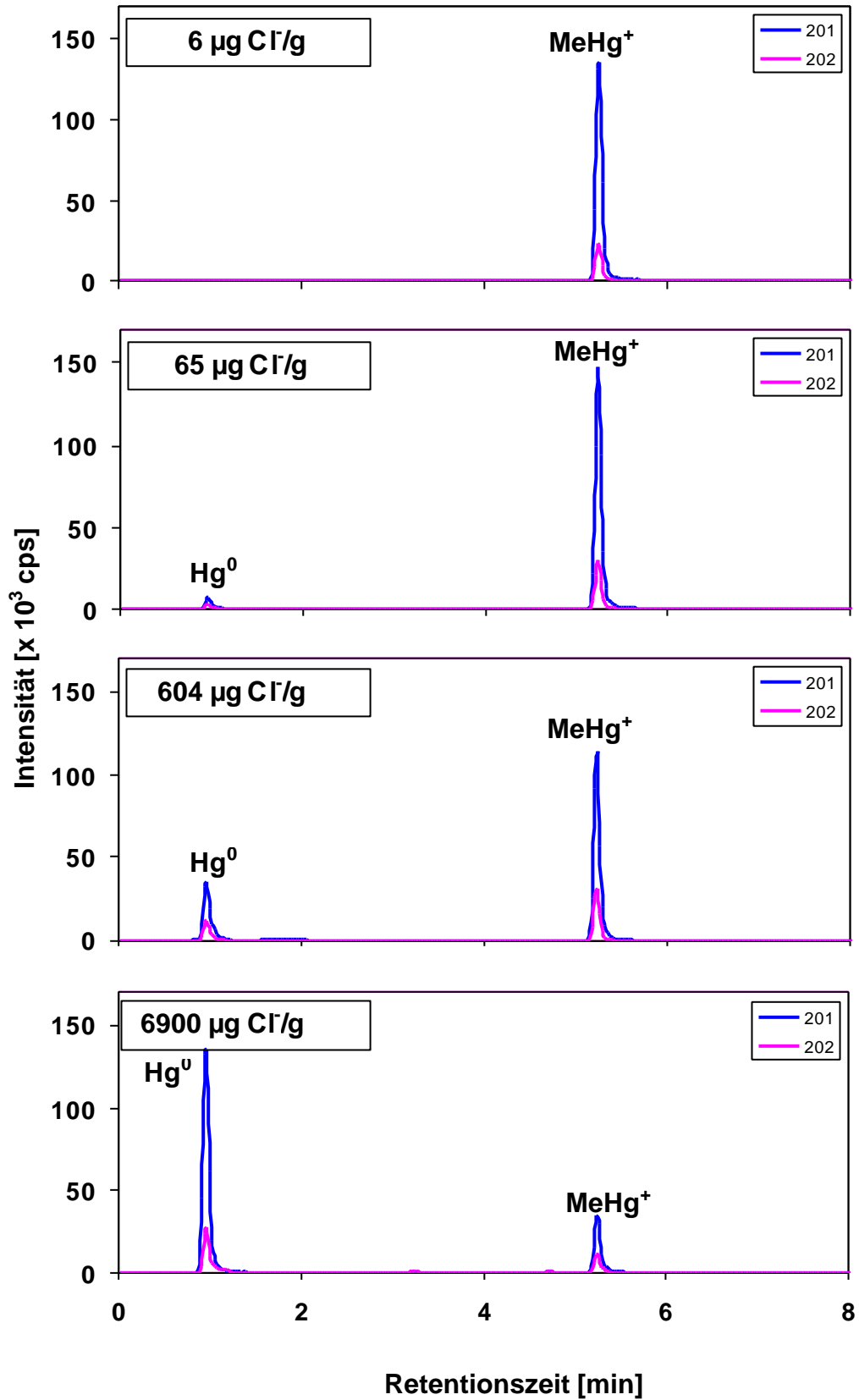
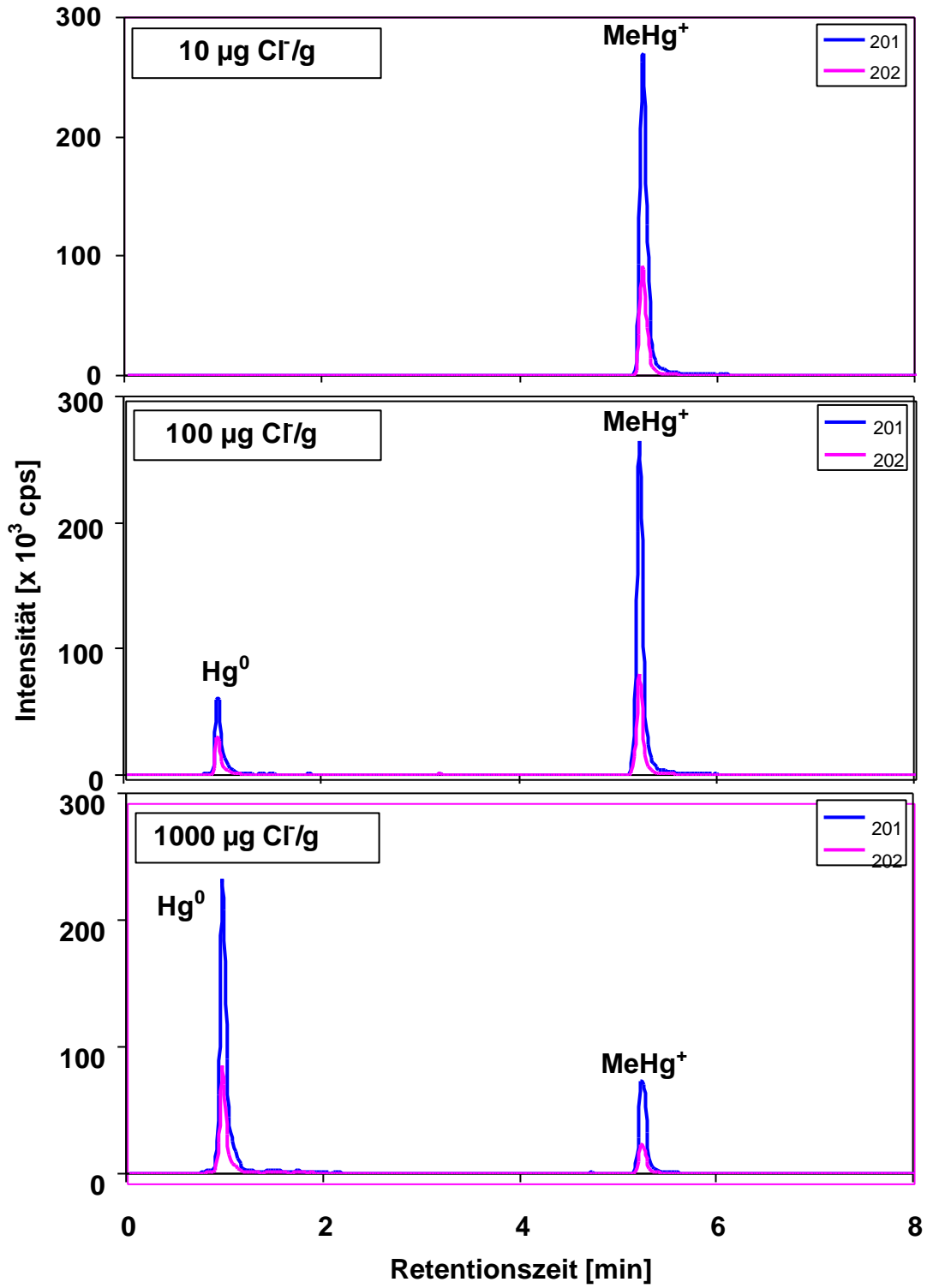


Abb. 40 MeHg^+ -Speziesumwandlungen bei der Derivatisierung mit NaBEt_4 in Chloridlösungen im Konzentrationsbereich 10-1000 $\mu\text{g Cl}^-/\text{g}$



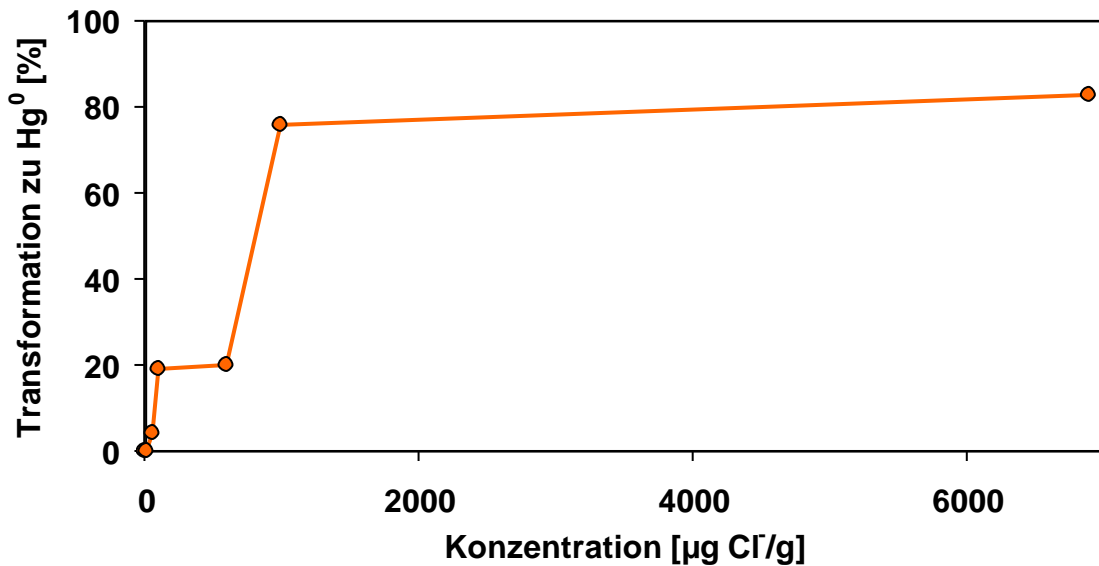
Tab. 39 Prozentuale Verteilung der angereicherten Hg-Spezies in Chloridlösungen unterschiedlicher Konzentration bei der Derivatisierung mit NaBEt₄

Probe [$\mu\text{g Cl}^-/\text{g}$]	Hg ⁰ [%]	MeHg ⁺ [%]
6	0	100
10	0	100
65	4	96
100	19	81
604	20	80
1000	76	24
6900	83	17

Aus den qualitativen und quantitativen Resultaten beider Untersuchungsreihen lassen sich folgende Schlußfolgerungen ziehen :

- 1.) Die MeHg⁺-Speziesumwandlungen bei der Derivatisierung mit NaBEt₄ in Modellösungen, die ausschließlich Chloridionen enthalten, sind abhängig von der vorliegenden Chloridkonzentration.
- 2.) Es gibt einen Zusammenhang zwischen dem Transformationsgrad und der Chloridkonzentration. Im Bereich bis 10 $\mu\text{g Cl}^-/\text{g}$ konnte keine Speziesumwandlung festgestellt werden. Erste geringe Speziesumwandlungen konnten bei einer Konzentration von 65 $\mu\text{g Cl}^-/\text{g}$ gemessenen werden (Abb. 39). Bei einer Konzentration von 100 $\mu\text{g Cl}^-/\text{g}$ nahm die Transformation bereits stark zu, und es wurden 19 % Methylquecksilber zu elementarem Quecksilber umgewandelt. Ein weiterer Sprung in der Zunahme der Umwandlung wurde bei 1000 $\mu\text{g Cl}^-/\text{g}$ gemessen (Abb. 40). Bei dieser Konzentration lag die MeHg⁺-Umwandlung bei 76 %. Die Abhängigkeit der Transformation gegenüber der Chloridkonzentration ist in Abb. 41 ersichtlich.

Abb. 41 Abhängigkeit der MeHg⁺-Transformation zu Hg⁰ von der Chloridkonzentration in Modellösungen



4.3.5. Überprüfung der MeHg⁺-Speziestransformation in weiteren Modellösungen

Um festzustellen, ob Halogenide die einzigen Ionen sind, die eine Speziesumwandlung von MeHg⁺ bei der Derivatisierung mit NaBEt₄ bewirken, wurden neben den bereits diskutierten Halogenidlösungen noch weitere Modellösungen auf MeHg⁺-Speziesumwandlungen während der Derivatisierung überprüft (Kap. 3.6.). Die Untersuchung von synthetischem Meerwasser ergab die zu erwartende MeHg⁺-Speziesumwandlung. Zusätzlich zeigte diese Untersuchung ein weiteres Phänomen während der Derivatisierung mit NaBEt₄. Im Chromatogramm (Abb. 19, Kap. 3.6.5.) konnte ein unbekannter Peak als MeHgH identifiziert werden. Die NMR-spektroskopischen Untersuchungen des verwendeten NaBEt₄ (Abb. 21/Abb. 22) konnten aufgrund der schlechten Empfindlichkeit der Methode keine NaBH₄-Verunreinigung von < 0,2 % des eingesetzten NaBEt₄ nachweisen. Wurde die Peakfläche des identifizierten MeHgH-Peaks in Bezug zur Peakfläche des MeEtHg-Peak der jeweiligen Messung gesetzt, entsprach in keiner Probe die Peakfläche des MeHgH mehr als 3 % des MeHgEt-Peaks. Tritt der MeHgH-Peak bei der Bestimmung von Methylquecksilber mittels externer Kalibration auf, so ist die analysierte Menge MeHgH der analysierten Menge MeHgEt zur Bestimmung des Methylquecksilbergehaltes hinzuzufügen.

Neben den Experimenten in NaCl-Lösungen wurden MgSO₄- sowie MgCl₂-Lösungen auf MeHg⁺-Speziesumwandlungen untersucht, da diese Salze auch maßgebliche Komponenten des Meerwassers darstellen. Wie aus Abb. 23 (Kap. 3.6.6.) ersichtlich, findet in der MgSO₄-

Lösung keine, in der MgCl_2 -Lösung hingegen die aufgrund der Cl^- -Ionen zu vermutende MeHg^+ -Umwandlung statt. Um sicher zu sein, daß Na^+ als Kation keinen zusätzlichen Einfluß auf die MeHg^+ -Transformation ausübt, wurde auch eine Na_2SO_4 -Lösung überprüft. Auch hierbei konnte keine Umwandlung festgestellt werden. Diese Experimente widerlegen zusätzlich die in einer Veröffentlichung [124] getroffene Aussage, daß NaCl als Salz für die Umwandlung verantwortlich ist. Die in dieser Arbeit erhaltenen Ergebnisse zeigen eindeutig, daß das Kation keinen Einfluß auf die MeHg^+ -Speziesumwandlung hat.

Neben diversen Salzen treten auch Mikroorganismen und Huminstoffe in aquatischen Systemen auf. Sie können ebenfalls eine Rolle bei Hg-Speziesumwandlungen spielen (Kap. 2.2.2.). Innerhalb dieser Arbeit wurden deshalb diese beiden Komponenten separat bezüglich einer MeHg^+ -Speziesumwandlung bei der Derivatisierung mit NaBEt_4 überprüft. Es wurde sowohl eine Modelllösung, die typische Gewässerbakterien (*Pseudomonas putida*) enthielt (Kap. 3.6.7.), als auch eine Huminsäure-Modelllösung (Kap. 3.6.8.) untersucht. In beiden Modelllösungen wurde darauf geachtet, daß keine Chloridionen enthalten waren. In beiden Modelllösungen wurde keine MeHg^+ -Speziesumwandlung unter den gewählten Bedingungen festgestellt, so daß ein Einfluß dieser Komponenten bei der MeHg^+ -Speziesumwandlung bei Derivatisierung mit NaBEt_4 ausgeschlossen wird. Eine Zusammenfassung der Untersuchungen auf MeHg^+ -Speziesumwandlungen während der Derivatisierung mit NaBEt_4 in Modelllösungen gibt Tab. 40 wieder.

Tab. 40 Zusammenfassung der Ergebnisse möglicher MeHg^+ -Speziesumwandlungen in Modelllösungen während der Derivatisierung mit NaBEt_4

Modelllösung	Umwandlung
NaCl	+
NaBr	+
NaI	+
MgCl_2	+
MgSO_4	-
Na_2SO_4	-
synthetisches Meerwasser	+
Huminstoff	-
Bakterien	-

+ MeHg^+ -Umwandlung

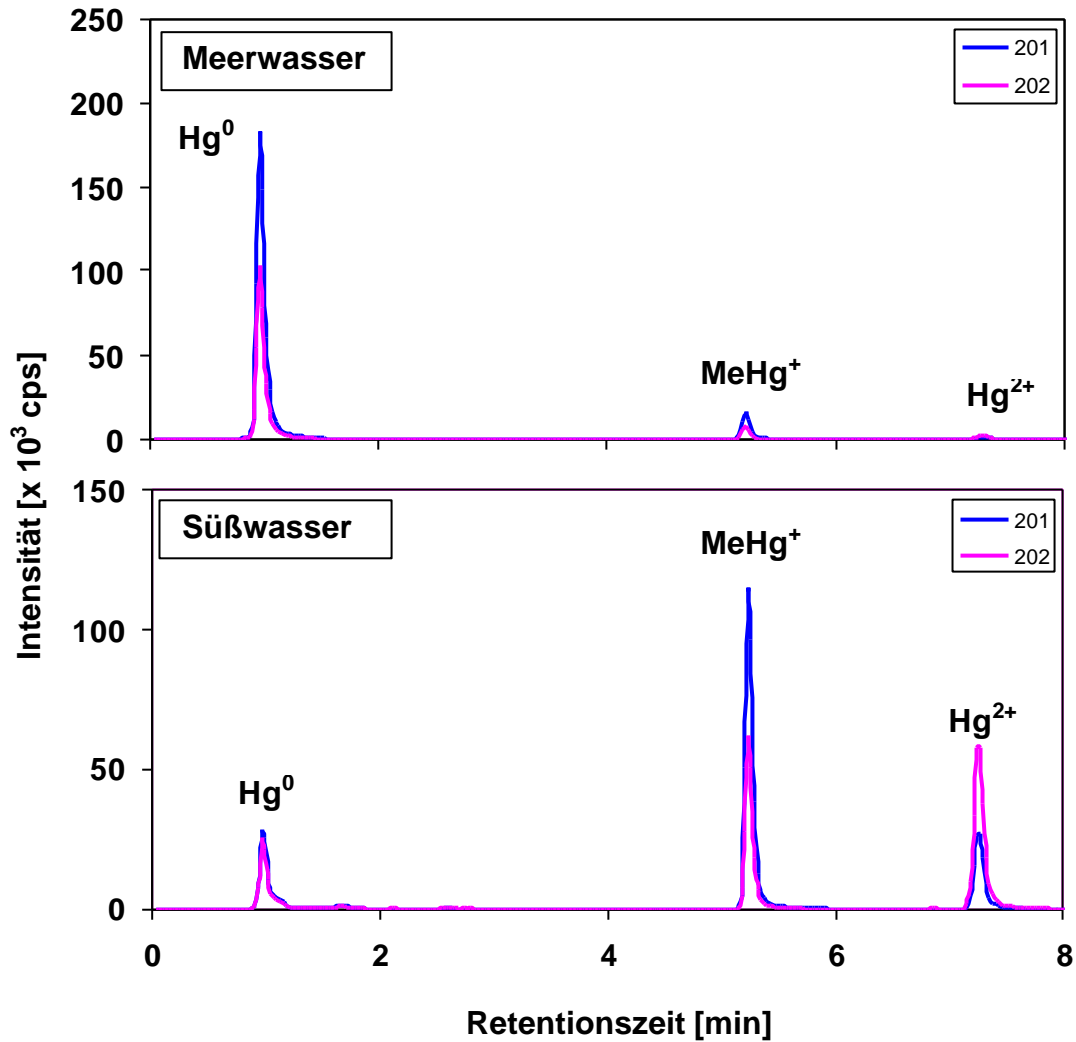
- keine MeHg^+ -Umwandlung

Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß die im Rahmen dieser Arbeit untersuchten MeHg^+ -Speziesumwandlungen ihre Ursache eindeutig in der Probenvorbereitung bei der Derivatisierung mit NaBEt_4 in Gegenwart von Halogenidionen haben. Dabei konnte eine deutliche MeHg^+ -Speziesumwandlung ab einer Chloridkonzentration von $65 \mu\text{g Cl}^-/\text{g}$ bestimmt werden.

4.4. Bestimmung der Transformation von MeHg^+ in Realproben mit Hilfe eines isotonenmarkierten $\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$ - Indikators

Die Untersuchungen der MeHg^+ -Speziesumwandlungen in Modellösungen bei der Derivatisierung mit NaBEt_4 machten deutlich, daß Halogenidionen in Verbindung mit dem verwendeten Derivatisierungsreagenz MeHg^+ -Speziesumwandlungen, hauptsächlich zu Hg^0 , auslösen. Welche Konsequenzen diese Speziesumwandlungen für die Bestimmung von Methylquecksilber in realen Wasserproben haben können, wird in diesem Kapitel diskutiert. Bezüglich der bereits erhaltenen Resultate aus den untersuchten Modellösungen, konnte erwartet werden, daß die MeHg^+ -Speziesumwandlung auch in realen Wasserproben stattfindet, da die Chloridkonzentration von Meerwasser etwa $18000 \mu\text{g Cl}^-/\text{g}$ und diejenigen von Süßwässern meist $50\text{-}250 \mu\text{g Cl}^-/\text{g}$ betragen. Die Chloridkonzentration der in dieser Arbeit untersuchten Proben lag bei der analysierten Süßwasserprobe bei $170 \mu\text{g Cl}^-/\text{g}$, wohingegen die Chloridkonzentrationen der Schneeproben unterschiedlicher Herkunft von $1\text{-}800 \mu\text{g Cl}^-/\text{g}$ schwankten. Alle in dieser Arbeit untersuchten Meerwasserproben sowie auch alle Süßwasserproben zeigten die zu vermutende Speziesumwandlung von MeHg^+ zu Hg^0 . Eine analysierte Meer- sowie auch Süßwasserprobe (Flügelsbach) sind beispielhaft in Abb. 42 zusammengefaßt. In beiden Chromatogrammen ist die Speziesumwandlung deutlich sichtbar, wobei für die Meerwasserprobe erkennbar ist, daß fast das gesamte MeHg^+ umgewandelt wurde, was durch die extrem hohe Chloridkonzentration bedingt ist.

Abb. 42 MeHg⁺-Speziesumwandlung in einer Meer- und Süßwasserprobe bei der Derivatisierung mit NaBEt₄



Von besonderem Interesse waren die Untersuchungen der Schneeproben, die unterschiedliche Chloridkonzentrationen aufwiesen. In Abb. 43 sind die Schneeproben dargestellt, die keine MeHg⁺-Umwandlung, in Abb. 44 hingegen die Proben, die eine MeHg⁺-Umwandlung zeigten.

Abb. 43 GC/ICP-MS-Chromatogramme von Hg-Spezies in Schneeproben nach Derivatisierung mit NaBEt_4 , bei denen keine MeHg^+ -Speziesumwandlungen feststellbar war

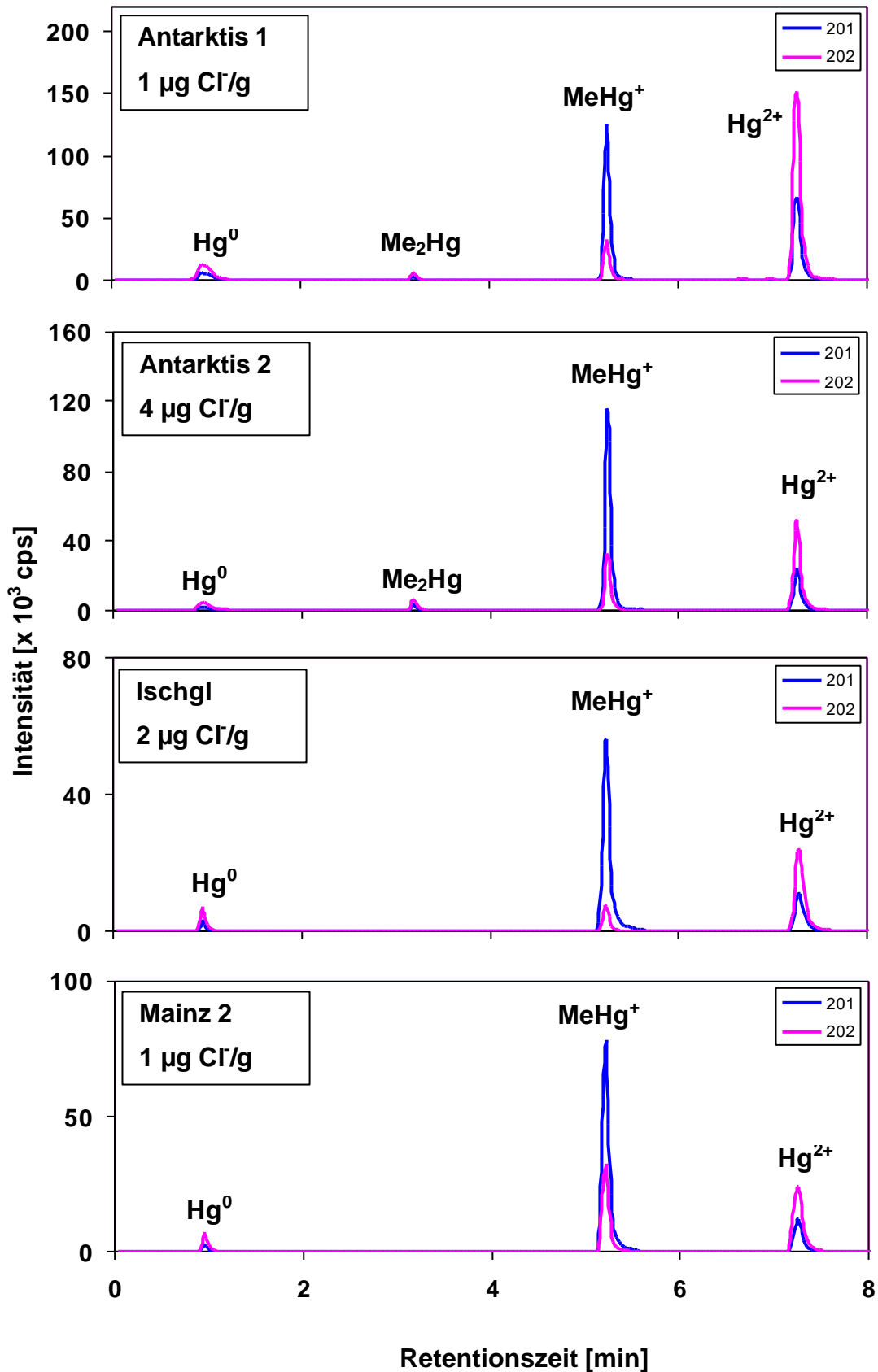
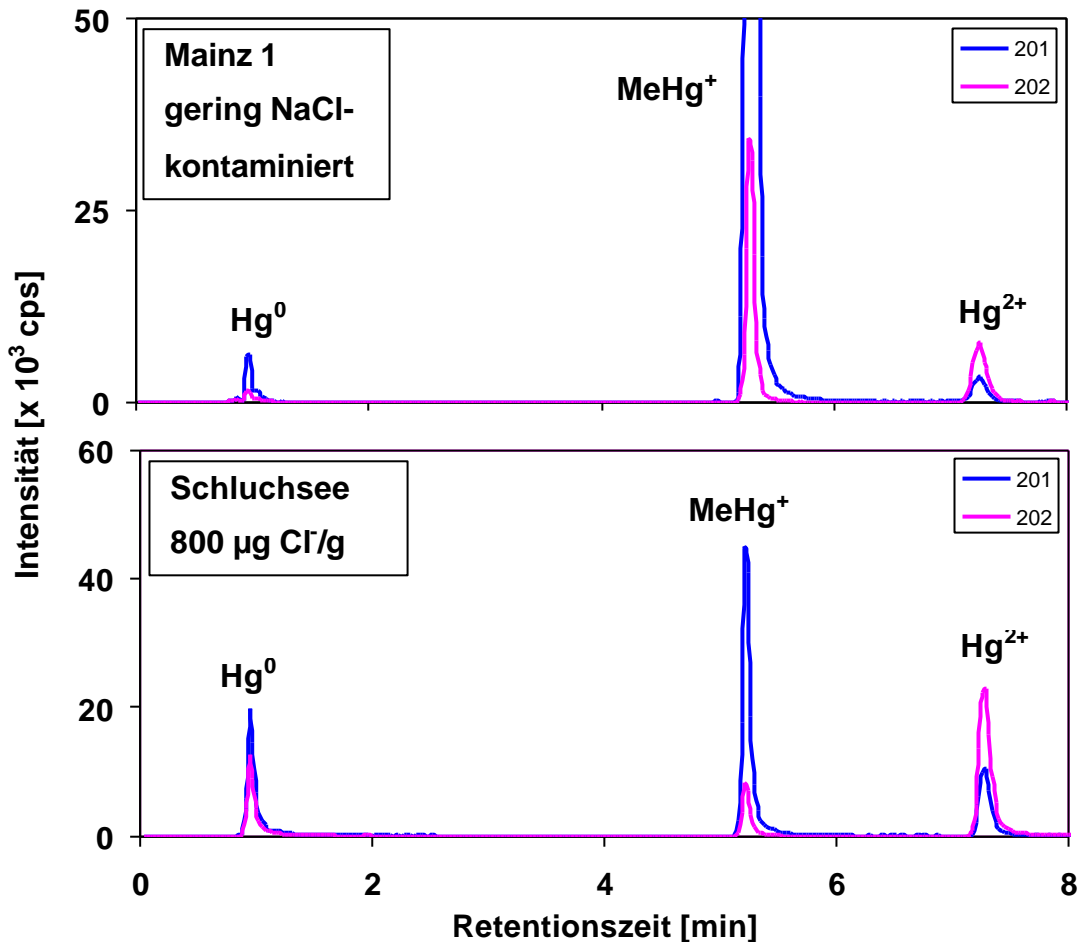


Abb. 44 GC/ICP-MS-Chromatogramme von Hg-Spezies in Schneeproben nach Derivatisierung mit NaBEt_4 , bei denen eine MeHg^+ -Speziesumwandlung feststellbar war



In allen Schneeproben mit Chloridkonzentrationen $< 4 \mu\text{g Cl/g}$ war, konnte keine MeHg^+ -Speziesumwandlung festgestellt werden. Dieses Ergebnis ist für Schneeuntersuchungen von methylierten Quecksilberspezies im Reinraumgebiet der Antarktis, die zum Verständnis des globalen Quecksilberkreislaufes beitragen sollen, von großer Wichtigkeit. Diese Untersuchungen sind nicht mit einem Fehler in der Probenvorbereitung behaftet. Der Chloridgehalt der Schneeprobe Mainz 1 wurde nicht analysiert. Der Anteil des in dieser Probe gefundenen angereicherten Hg^0 entspricht in etwa 2 % des MeHg^+ , was nur eine geringfügige Umwandlung darstellt, so daß ein Chloridgehalt von etwa $40 \mu\text{g Cl/g}$ aus Abb. 41 (Kap. 4.3.4.) abzuleiten ist. Die Schneeprobe Schluchsee zeigte dagegen aufgrund des hohen Chloridgehaltes eine sehr deutliche MeHg^+ -Umwandlung.

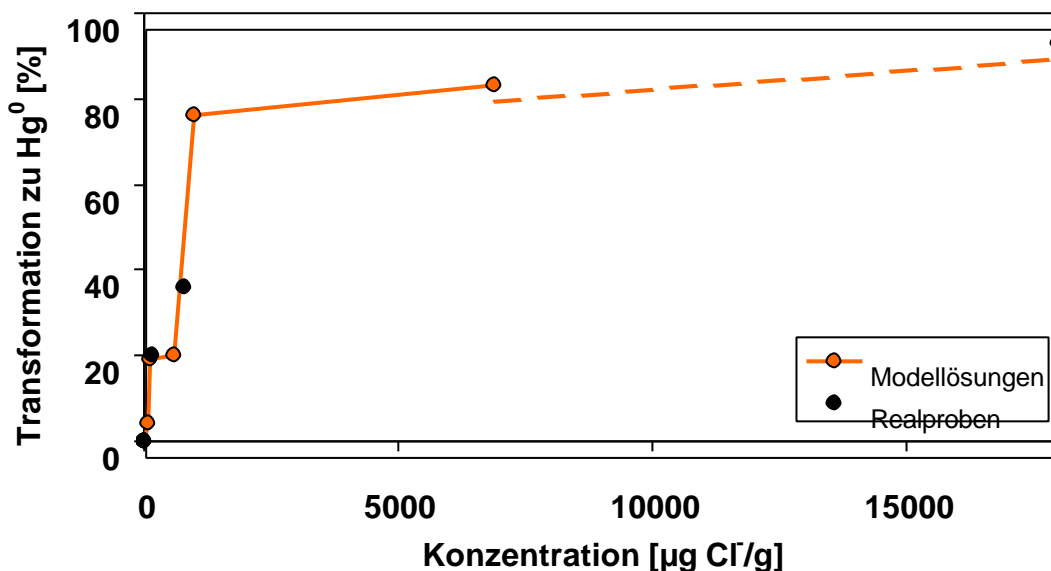
Die Quantifizierung der MeHg^+ -Transformation in Realproben stellt nur eine Näherung dar, da der Hg^0 -Gehalt der Probe unbekannt ist und somit nur die Gesamtpeakflächen beider Spezies ins Verhältnis gesetzt werden können. In Tab. 41 ist eine prozentuale Verteilung der angereicherten Hg-Spezies in repräsentativen realen Proben zusammengefaßt.

Tab. 41 Prozentuale Verteilung der angereicherten Hg-Spezies in realen Proben unterschiedlicher Cl-Konzentration bei der Derivatisierung mit NaBEt_4

Probe	Cl-Konzentration [$\mu\text{g/g}$]	Hg^0 [%]	MeHg^+ [%]
Schnee (diverse)	1-4	0	100
Süßwasser (Flügelsbach)	170	20	80
Schnee (Schluchsee)	800	36	64
Meerwasser (Atlantik)	18000	92	8

Wie bereits in Abb. 41 (Kap. 4.3.4.) bei den Modellösungen wird die Transformation zu Hg^0 in Abhängigkeit zur Chloridkonzentration gesetzt. In Abb. 45 werden die prozentualen Verteilungen von MeHg^+ und Hg^0 in realen Proben berücksichtigt und in die in Abb. 41 erstellte Grafik eingefügt. Aus Abb. 45 wird deutlich, daß die MeHg^+ -Umwandlung zu Hg^0 in realen Proben bei der Derivatisierung mit NaBEt_4 gut mit den erhaltenen Ergebnissen der Modellösungen für die Transformation von MeHg^+ zu Hg^0 übereinstimmt.

Abb. 45 Abhängigkeit der Transformation von MeHg^+ zu Hg^0 von der Chloridkonzentration in Modellösungen und realen Proben (— : theoretische Weiterführung)



Wie auch in den Modellösungen war in den Realproben die MeHg^+ -Transformation von der vorliegenden Chloridkonzentration abhängig. Für die im Rahmen dieser Arbeit identifizierte MeHg^+ -Speziesumwandlung in Wasserproben bei der Probenvorbereitung mit NaBEt_4 wurde erstmalig eindeutig nachgewiesen, daß diese Speziesumwandlung ihre Ursache im Derivatisierungsschritt mit Beteiligung von Halogenidionen hat. Die Speziesumwandlung konnte nur durch die Verwendung einer isotopenmarkierten Substanz in Verbindung mit einem ICP-MS erkannt werden, da das Massenspektrometer die zusätzliche Information über die Isotopenverteilung liefert. Diese Information kann durch die normalerweise eingesetzten atomspektrometrischen Methoden, wie z.B. die Atomfluoreszenzspektrometrie, nicht erhalten werden. Des weiteren läßt sich aus den Ergebnissen der Schluß ziehen, daß die in der Vergangenheit weltweit bestimmten MeHg^+ -Gehalte in wäßrigen Proben mit einem Chloridgehalt über $65 \mu\text{g Cl}^-/\text{g}$ bei der Derivatisierung mit NaBEt_4 und Messung mit atomspektrometrischen Methoden aufgrund der Speziesumwandlung zu niedrig waren, wenn bezüglich dieses Verlustes nicht korrigiert wurde. Der Autor einer früheren Veröffentlichung [125] wies darauf hin, daß Chloride in Meerwasser die Bestimmung von MeHg^+ interferieren. Seine These bestand darin, daß hohe Chloridkonzentrationen den Ethylierungsschritt zur Überführung des MeHg^+ in MeEtHg stark hemmten und deshalb nur sehr niedrige Wiederfindungsraten ($10\% \text{ MeHg}^+$ bei $5000 \mu\text{g Cl}^-/\text{g}$) von Methylquecksilber bei Verwendung einer GC/AFD-Methode ermittelt wurden. Zur Korrektur empfahl der Autor, für Meerwasserproben eine aufwendige Extraktion des Methylquecksilbers mit Methylenchlorid durchzuführen, um so eine Abtrennung des MeHg^+ von der chloridreichen Matrix zu erreichen. Anschließend wurde das Methylquecksilber in eine Süßwassermatrix überführt und ethyliert. Wiederfindungsexperimente zeigten die Erhöhung der Ausbeute auf $93,4 \pm 9,4\%$.

Aufgrund der in dieser Arbeit erhaltenen Resultate, ist bei Proben mit einem Chloridgehalt von unter $65 \mu\text{g Cl}^-/\text{g}$ davon auszugehen, daß keine Speziesumwandlung erfolgt und die analysierten MeHg^+ -Gehalte deshalb korrekt sind. In Kap. 4.8. wird die MeHg^+ -Speziesumwandlung bei Verwendung einer GC/AFD-Methode noch quantitativ diskutiert. Zusammenfassend läßt sich hervorheben, daß mit den Ergebnissen dieser Arbeit erst jetzt die wirkliche Ursache der MeHg^+ -Umwandlung in halogenidhaltiger Matrix und die daraus resultierenden schlechten Ausbeuten ermittelt werden konnte.

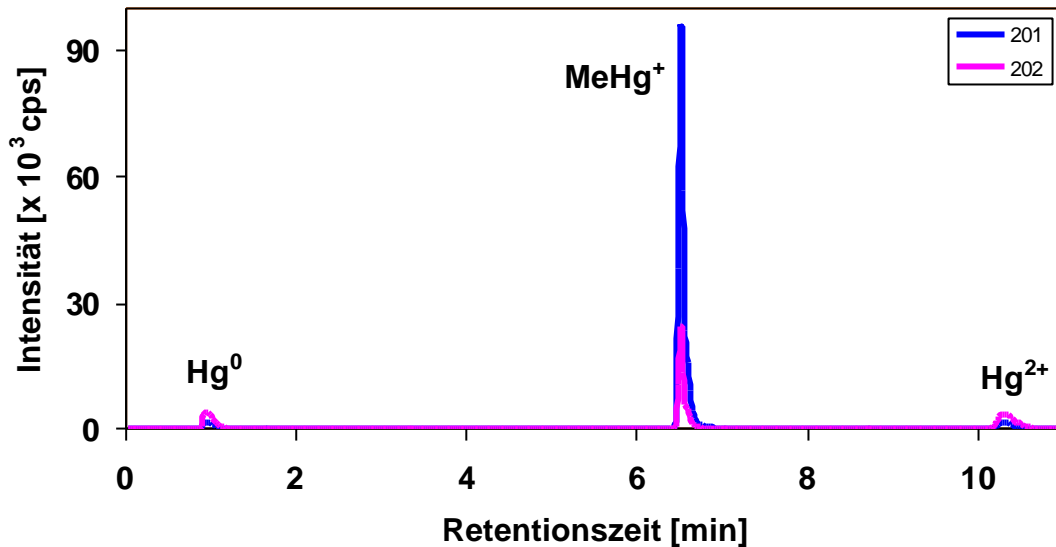
4.5. Verwendung von NaBPr₄ als alternatives Derivatisierungsreagenz

4.5.1. Derivatisierung von MeHg⁺ in Modellösungen und Realproben

Nachdem die Abhängigkeit der MeHg⁺-Speziesumwandlung von der vorliegenden Chloridkonzentration im Zusammenhang mit dem Derivatisierungsmittel NaBEt₄ bekannt war, wurde die Verwendung von NaBPr₄ als alternatives Derivatisierungsreagenz untersucht (Kap. 3.8.). Das weltweit normalerweise verwendete NaBEt₄, das die bereits diskutierten Speziesumwandlungen initiiert, macht eine richtige und direkte Bestimmung der MeHg⁺-Gehalte in wäßrigen Proben unter Einsatz von atomspektrometrischen Methoden und damit verbundener externer Kalibration ohne Korrektur unmöglich. Innerhalb dieser Arbeit sollte die Verwendung von NaBPr₄ als Derivatisierungsreagenz überprüft werden, um eine potentielle Lösung für die atomspektrometrischen Methoden bezüglich der richtigen Bestimmung von MeHg⁺-Gehalten zu finden. In Kap. 3.8. wurden solche Proben mit NaBPr₄ derivatisiert, die eine deutliche MeHg⁺-Speziesumwandlung bei Einsatz von NaBEt₄ zeigten. In keiner Analyse war bei Einsatz von NaBPr₄ unter den für die Ethylierung gültigen Reaktionsbedingungen eine MeHg⁺-Speziesumwandlung feststellbar.

Aus den erhaltenen Ergebnissen läßt sich für den Gebrauch von NaBPr₄ als Derivatisierungsreagenz das Fazit ziehen, daß NaBPr₄ als vielversprechende Alternative für die Bestimmung von MeHg⁺ anzusehen ist. NaBPr₄ ist seit kurzer Zeit käuflich erhältlich, so daß die zeitaufwendige Eigensynthese eingespart werden kann. Nach der Optimierung des für die Ethylierung bestehenden Meßsystems, z. B. hinsichtlich des GC-Temperaturprogramms oder der Ausgaszeit, ist inzwischen eine richtige Bestimmung von MeHg⁺-Gehalten mit NaBPr₄ in wäßrigen Proben unter Verwendung atomspektrometrischer Methoden möglich [126]. Abb. 46 zeigt die Propylierung einer Meerwasserprobe.

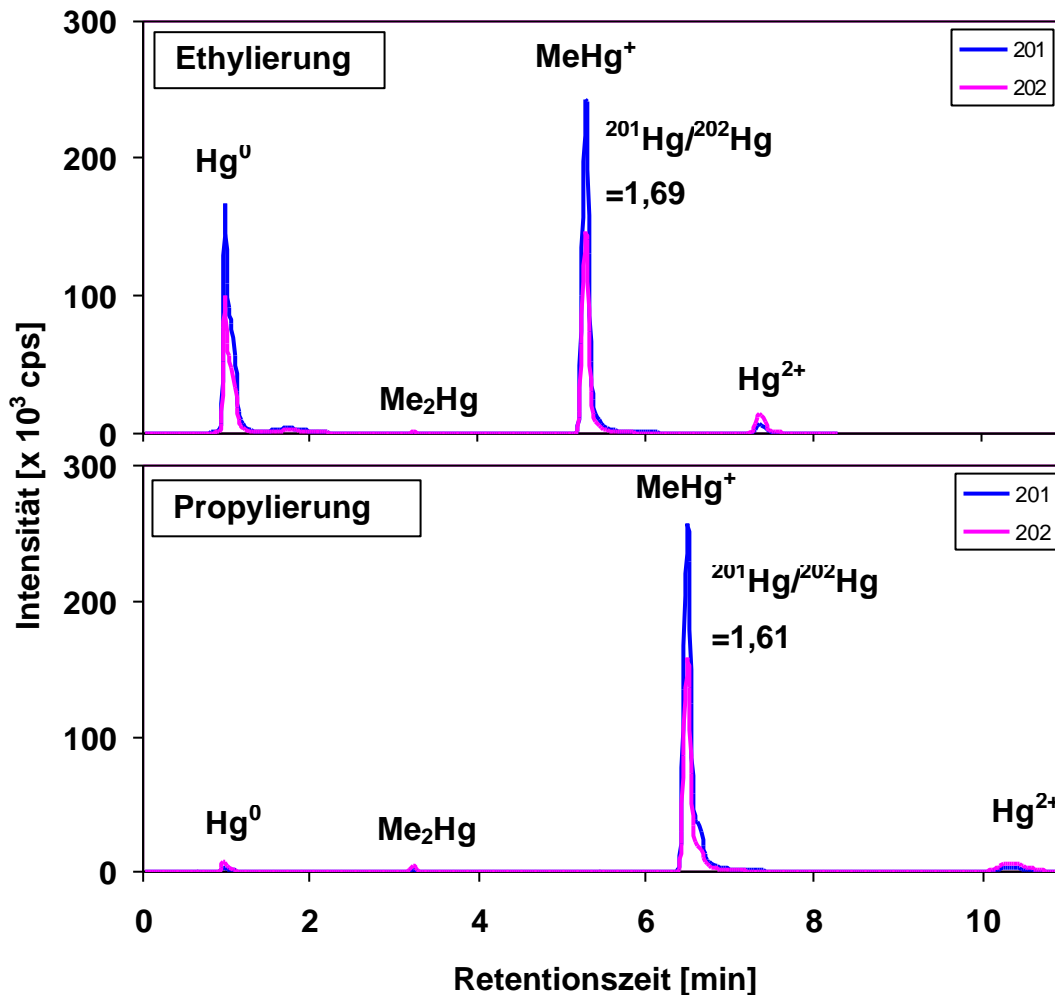
Abb. 46 GC/ICP-MS-Chromatogramm einer Meerwasserprobe nach Dotierung mit $\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$ -Indikator und Derivatisierung mit NaBPr_4



4.5.2. Vergleich der bestimmten MeHg^+ -Gehalte von Süßwasserproben unter Verwendung der Derivatisierungsreagenzien NaBEt_4 und NaBPr_4

Innerhalb dieser Arbeit sollte der synthetisierte $\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$ -Indikator nicht nur als isotope markierte Verbindung zur Überprüfung möglicher Fehler in der Probenvorbereitung, sondern auch zur Bestimmung von MeHg^+ -Gehalten unter Verwendung der MSIVA eingesetzt werden. Zunächst war nicht erwiesen, ob Substanzverluste aufgrund der MeHg^+ -Speziesumwandlungen bei der Derivatisierung mit NaBEt_4 für die Bestimmung von MeHg^+ -Gehalten mittels MSIVA eine Rolle spielen. Zur Klärung wurden zwei unterschiedliche Süßwasserproben (Flügelbach) hinsichtlich ihres MeHg^+ -Gehaltes mit $\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$ -Indikator dotiert und mit NaBEt_4 sowie NaBPr_4 derivatisiert (Kap. 3.9.). Die entsprechenden Chromatogramme für eine Süßwasserprobe gibt Abb. 47 wieder.

Abb. 47 GC/ICP-MS-Chromatogramme einer Süßwasserprobe nach Zugabe eines $\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$ -Indikators und anschließender Derivatisierung mit NaBEt_4 sowie NaBPr_4



Die MeHg^+ -Transformation während der Ethylierung, die eine richtige Bestimmung mit externer Kalibrierung unmöglich macht, ist erneut deutlich sichtbar. Einen Hinweis auf die richtige Gehaltsbestimmung mittels MSIVA unter Verwendung von beiden Derivatisierungsreagenzien geben die erhaltenen Isotopenverhältnisse $^{201}\text{Hg}/^{202}\text{Hg}$ für MeHg^+ , die mit 1,69 und 1,61 sehr ähnlich sind. In Tab. 42 sind die mittels der MSIVA-Gleichungen (Kap. 2.4.) bestimmten MeHg^+ -Gehalte der beiden Süßwasserproben aufgeführt.

Tab. 42 MeHg⁺-Gehalt zweier Süßwasserproben bei Einsatz von NaBEt₄ sowie NaBPr₄ und Bestimmung mittels GC/ICP-MSIVA

	Ethylierung [pg Hg/g]	Propylierung [pg Hg/g]
Probe 1	3,8 ± 0,1	3,6 ± 0,1
Probe 2	11,6 ± 0,4	11,8 ± 0,4

Die erhaltenen Werte für die MeHg⁺-Gehalte bei den beiden unterschiedlichen Derivatisierungen stimmen für beide Proben sehr gut überein. Die vorliegende MeHg⁺-Umwandlung spielt für die MSIVA keinerlei Rolle, da entsprechend dem Aufarbeitungsschema für wäßrige Proben (Abb. 31) zunächst Probe und Indikator vermischt wurden, die Lösung gepuffert und erst dann mit Derivatisierungsreagenz versetzt wurde. Die MeHg⁺-Speziesumwandlung, die vom zugegebenen NaBEt₄ initiiert wird, fand somit nach der vollständigen Isotopenvermischung statt. Hier zeigen sich erneut die besonderen Vorteile der MSIVA, da Substanzverluste, die nach der Isotopenvermischung eintreten, keinerlei Einfluß auf die Gehaltsbestimmung haben (Kap. 2.4.).

Somit läßt sich zusammenfassen, daß die Gehaltsbestimmung von MeHg⁺ in aquatischen Systemen mittels GC/ICP-MSIVA mit beiden Derivatisierungsreagenzien durchführbar ist. Zusätzlich ist zu bemerken, daß die Derivatisierung mit NaBEt₄ nur unter Verwendung der MSIVA zu richtigen Ergebnissen führt. Mit den in dieser Arbeit durchgeführten Experimenten konnte jedoch auch gezeigt werden, daß die Verwendung von NaBPr₄ die Möglichkeit bietet, auch bei Verwendung von Methoden mit externer Kalibration richtige Ergebnisse bei MeHg⁺-Gehaltsbestimmungen zu erzielen.

4.6. Ansatz zur Erklärung des Reaktionsmechanismus der MeHg⁺-Transformation

Im Rahmen dieser Arbeit wurde der Me²⁰¹Hg⁺-Indikator u. a. dazu eingesetzt, mögliche Fehler während der Probenvorbereitung zu überprüfen. In den vorherigen Kapiteln wurde bereits diskutiert, daß während der Probenvorbereitung mit NaBEt₄ zur Überführung des nicht-flüchtigen MeHg⁺ in flüchtiges MeEtHg unter bestimmten Reaktionsbedingungen eine MeHg⁺-Speziesumwandlung zu Hg⁰ stattfindet. Hinweise zur Klärung des Reaktionsmechanismus lassen sich wie folgt zusammenfassen :

1. Die Untersuchungen unterschiedlicher Modellösungen bei Verwendung von NaBEt₄ als Derivatisierungsreagenz (Kap. 4.3.) ergaben, daß in halogenidhaltigen Lösungen MeHg⁺ zu Hg⁰ umgewandelt wurde. Der Transformationsgrad zeigte eine Abhängigkeit vom eingesetzten Halogenid (Kap. 4.3.3.). Der größte Anteil des eingesetzten Me²⁰¹Hg⁺ wurde in chloridhaltigen Lösungen wiedergefunden, hingegen der kleinste Anteil in iodidhaltigen Lösungen. Eine Besonderheit wies die Untersuchung der I-Lösung auf, da nur in dieser Lösung Hg²⁺ als zweites Umwandlungsprodukt beobachtet wurde.
2. Der Transformationsgrad in chloridhaltigen Lösungen unter Verwendung von NaBEt₄ (Kap. 4.3.4.) war abhängig von der Cl⁻-Konzentration. Eine eindeutige Umwandlung zu Hg⁰ konnte ab einer Cl⁻-Konzentration von 65 µg Cl⁻/g nachgewiesen werden, deren Ausmaß sich mit Erhöhung der Cl⁻-Konzentration steigerte (Abb. 39).
3. Ohne Verwendung des Derivatisierungsreagenzes NaBEt₄ (Kap. 4.3.2.) erfolgte in einer Cl⁻-Modellösung sowie in Realproben keine MeHg⁺-Umwandlungsreaktion.
4. Die Verwendung von NaBPr₄ als Derivatisierungsreagenz (Kap. 4.5.1.) führte in keiner Probe zu einer MeHg⁺-Umwandlung.
5. Die unter Verwendung der MSIVA charakterisierten MeHg⁺-Gehalte bei Einsatz von NaBEt₄ und NaBPr₄ (Kap. 4.5.2.) stimmten trotz der Umwandlung während der Ethylierung sehr gut überein. Daher beginnt die MeHg⁺-Umwandlungsreaktion erst nach dem Isotopenverdünnungsschritt, d. h. frühestens mit Zugabe des Derivatisierungsreagenzes NaBEt₄.

Die erhaltenen Resultate belegen, daß weder das Halogenid, noch das Derivatisierungsreagenz alleine die MeHg⁺-Umwandlung initiieren, sondern ausschließlich die Kombination aus beiden. Das zusätzliche Auftreten von angereicherterem Hg²⁺ in Iodidlösungen könnte ein Hinweis darauf sein, daß die MeHg⁺-Umwandlung über Hg²⁺ zu Hg⁰ führt. Hg²⁺ bildet mit Iodid sehr stabile Komplexe [127], so daß unter Umständen eine

weitere Reduktion zu Hg^0 verhindert wird, was infolge der weniger stabilen Br^- - oder Cl^- -Komplexe nicht beobachtet werden konnte. Auch liegt die Vermutung nahe, daß aufgrund sterischer Hinderung bei Verwendung von NaBPr_4 keine MeHg^+ -Umwandlung stattfindet.

Die Aufklärung eines möglichen Reaktionsmechanismus der MeHg^+ -Umwandlung hat sich als nicht trivial erwiesen. Weitere Reaktionsprodukte neben Hg^0 sind beispielsweise wegen des ungleichen Konzentrationsverhältnisses von Matrix und Hg -Spezies schwer nachzuweisen, wobei die Kenntnis über andere Reaktionsprodukte entscheidend Auskunft über den bisher nur unvollständig geklärten Reaktionsverlauf geben könnte.

Bezüglich der in dieser Arbeit erhaltenen Hinweise auf Faktoren, die für die MeHg^+ -Umwandlung eindeutig verantwortlich sind, müssen die in anderen Arbeiten getroffenen Aussagen [124, 125] bezüglich der sogenannten „Cl-Interferenzen“ berichtigt werden.

1. NaCl initiiert nicht alleine die MeHg^+ -Umwandlung zu Hg^0 , sondern nur NaBEt_4 im Zusammenwirken mit Chlorid bzw. Halogenidionen. Das Kation spielt beim Transformationsprozeß keinerlei Rolle.
2. Die schlechten Wiederfindungsraten von MeHg^+ in stark chloridhaltiger Matrix haben ihre Ursache nicht in der Hemmung des Derivatisierungsschrittes durch Chloride, sondern in der Umwandlung von MeHg^+ zu Hg^0 bei Vorhandensein von Cl^- bei der Derivatisierung mit NaBEt_4 . Die damit verbundenen MeHg^+ -Verluste können bei Verwendung eines AFD nicht registriert werden.
3. Beide Veröffentlichungen diskutierten das Phänomen der Cl-Interferenzen bezüglich sehr chloridhaltiger Matrix (0,5-3,5 % Cl^-) Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, daß die Umwandlung von MeHg^+ zu Hg^0 auch im niedrigeren Konzentrationsbereich ab $65 \mu\text{g Cl}^-/\text{g}$ stattfindet und somit fast alle Gewässertypen (auch Süßwasser) sowie Schneeproben von der Umwandlung betroffen sein können.

4.7. Qualitätssicherung des entwickelten GC/ICP-MSIVA-Verfahrens zur Bestimmung von Methylquecksilber in aquatischen Systemen

4.7.1. Allgemeines

Eine besondere Bedeutung bei der Entwicklung eines neuen Analysenverfahrens hat die Qualitätssicherung der Methode. Im Verlauf dieser Arbeit wurde bereits diskutiert, daß die richtige Bestimmung von Methylquecksilber im Ultraspurenbereich eine analytische Herausforderung darstellt. Die niedrigen Konzentrationen sind besonders störanfällig, so daß die Richtigkeit und Reproduzierbarkeit der Analysenmethode überprüft werden müssen. Eine wichtige Rolle spielt die Gefahr von Speziesveränderungen. Nicht kontrollierbare Reaktionen in der Probenvorbereitung (Kap. 4.3., 4.4.) sowie die falsche Lagerung der Proben (Kap. 4.2.) können Umwandlungen der Spezies zur Folge haben, die dann zu einem falschen Analysenergebnis führen. Im Rahmen dieser Arbeit fand eine interne Qualitätssicherung durch die Analyse von Blindproben, Standardlösungen, synthetischen Proben und die Bestimmung von Methylquecksilber in einem Referenzmaterial statt. Ferner wurden regelmäßig Wiederholungsmessungen durchgeführt, um die Reproduzierbarkeit zu überprüfen (Kap. 4.7.3.) und Verfahrenskenngrößen wie z. B. die Nachweisgrenze bestimmt. Da innerhalb des Zeitraums der vorliegenden Arbeit bezüglich einer externen Qualitätssicherung kein Ringversuch zur Bestimmung von Methylquecksilber stattfand, wurde zumindest im Sinne der externen Qualitätssicherung ein Methodenvergleich mit einem anderen Meßsystem (GC/AFD) durchgeführt (Kap. 4.8.).

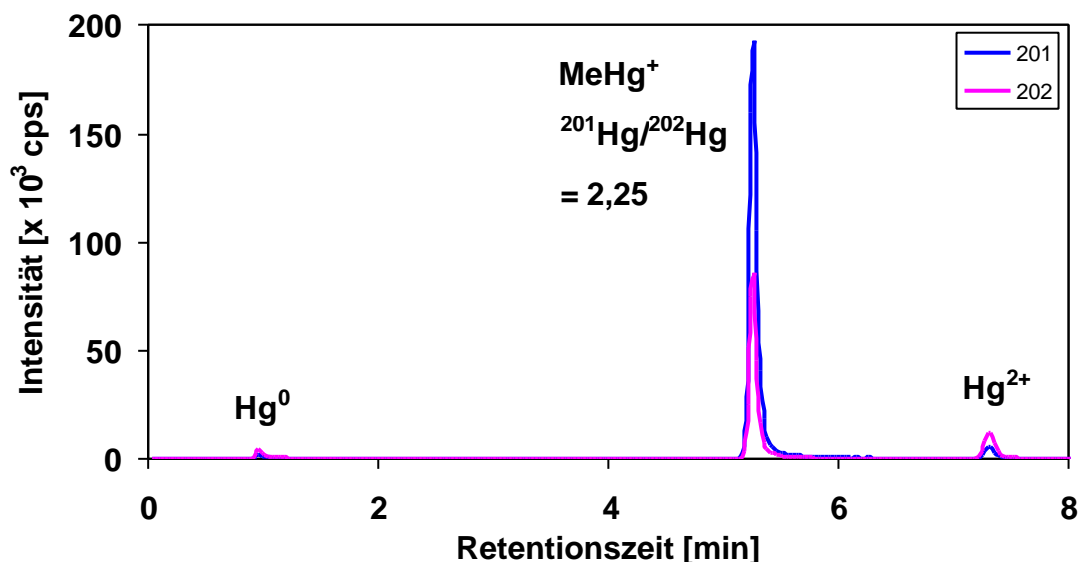
4.7.2. Analyse von Methylquecksilber im Referenzmaterial CRM 463

Die am häufigsten genutzte Möglichkeit zur Überprüfung der Richtigkeit eines analytischen Verfahrens beruht auf der Analyse von zertifizierten Referenzmaterialien. Bei der Auswahl eines geeigneten Referenzmaterials sollte die Matrix soweit wie möglich mit den zu untersuchenden Proben übereinstimmen. Im Falle des entwickelten Verfahrens zur Bestimmung von Wasserproben mittels GC/ICP-MSIVA war kein wäßriges Referenzmaterial vorhanden, so daß eine Fischprobe (CRM 463) hinsichtlich ihres MeHg^+ -Gehaltes analysiert wurde. Für die Bestimmung von Methylquecksilber in Fisch ist zunächst eine Extraktion nötig, um Methylquecksilber von der Matrix zu trennen. Die basische Extraktion ist mit

methanolischer KOH-Lösung [128] oder mit dem häufig verwendeten TMAH [111] durchführbar. Zur Extraktion unter sauren Bedingungen wird üblicherweise HCl eingesetzt [61, 121] (Kap. 3.10.3.). Die Untersuchung des Referenzmaterials sollte deshalb nicht nur die Richtigkeit des entwickelten Verfahrens zur Bestimmung von Methylquecksilber mittels GC/ICP-MSIVA zeigen, sondern auch mögliche Fehler in der Probenvorbereitung bezüglich der sauren Extraktion des MeHg^+ aus einer Fischprobe überprüfen, nachdem in dieser Arbeit die MeHg^+ -Speziesumwandlung in Anwesenheit von Chlorid bei der Derivatisierung mit NaBEt_4 gezeigt werden konnte (Kap. 4.3., 4.4.).

Das in dieser Arbeit erzielte Resultat für die Bestimmung von Methylquecksilber im Referenzmaterial CRM 463 zeigte mit $2,71 \pm 0,04 \mu\text{g Hg/g}$ nicht nur eine sehr gute Übereinstimmung mit dem zertifizierten Wert ($2,83 \pm 0,15 \mu\text{g Hg/g}$), sondern auch eine sehr gute Reproduzierbarkeit. Abb. 48 gibt das GC/ICP-MSIVA-Chromatogramm nach basischer Extraktion mit TMAH und Verwendung der MSIVA wieder. Es konnte eindeutig festgestellt werden, daß während dieser Probenaufbereitung keine MeHg^+ -Speziesumwandlung stattfand, da die Messung des $^{201}\text{Hg}/^{202}\text{Hg}$ -Isotopenverhältnisses von Hg^0 mit 0,44 dem natürlichen Isotopenverhältnis entsprach.

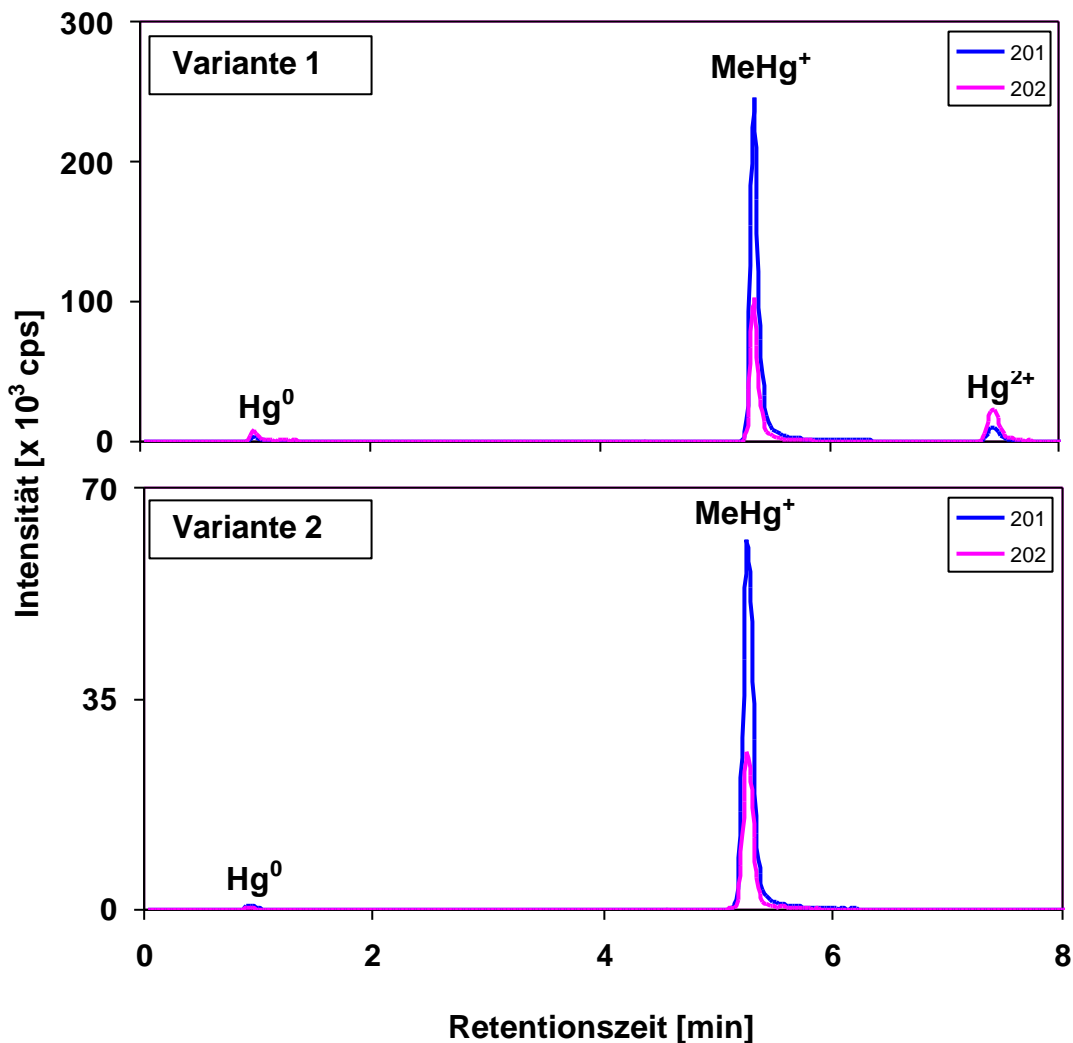
Abb. 48 GC/ICP-MSIVA-Chromatogramm des Referenzmaterials CRM 463 nach basischer Extraktion



Bei der sauren Extraktion wurden zwei unterschiedliche Varianten untersucht. Zum einen wurde die Fischprobe zur Extraktion des MeHg^+ mit HCl (6 mol/L) bei Raumtemperatur 24 h geschüttelt [121], wohingegen bei der zweiten Vorgehensweise die Fischprobe unter Verwendung von konz. HCl, NaCl-gesättigter Lösung und Nonan im Ultraschallbad

behandelt wurde (Kap. 3.10.3.). Die Gehalte bei der Bestimmung von Methylquecksilber im Referenzmaterial CRM 463 lagen mit $2,46 \mu\text{g Hg/g}$ für die erste und mit $2,58 \mu\text{g Hg/g}$ für die zweite Variante 13,1 % bzw. 8,8 % unter dem zertifizierten Wert und damit außerhalb des zertifizierten Bereichs. Die Untersuchungen des Referenzmaterials unter sauren Extraktionsbedingungen sind in Abb. 49 dargestellt.

Abb. 49 GC/ICP-MSIVA-Chromatogramme des Referenzmaterials CRM 463 nach saurer Extraktion



Für beide Varianten der sauren Extraktion wurden die $^{201}\text{Hg}/^{202}\text{Hg}$ -Isotopenverhältnisse aller Hg-Spezies bestimmt, die Tab. 43 wiedergibt.

Tab. 43 Bestimmung der $^{201}\text{Hg}/^{202}\text{Hg}$ -Isotopenverhältnisse der Hg-Spezies bei der sauren Extraktion

	$^{201}\text{Hg}/^{202}\text{Hg}$		
	Hg^0	MeHg^+	Hg^{2+}
Variante 1	0,44	2,41	0,44
Variante 2	1,80	2,35	-*

* Hg^{2+} nicht detektierbar

Die Isotopenverhältnisse der Hg-Spezies bei Anwendung der ersten Variante zeigten keine MeHg^+ -Speziesumwandlungen. Dies läßt sich erklären, wenn die weiteren Schritte der Probenvorbereitung betrachtet werden. In deren Verlauf mußte die konzentrierte Extraktionslösung verdünnt werden, um eine Messung mit dem sehr nachweisstarken GC/ICP-MS-System möglich zu machen. Die Cl-Konzentration betrug vor der Derivatisierung mit NaBEt_4 nur $20 \mu\text{g Cl/g}$. In diesem Konzentrationsbereich wurden auch in keinen anderen Untersuchungen MeHg^+ -Umwandlungen registriert. Bei geringerer Verdünnung der Extraktionslösung und somit Erhöhung der Chloridkonzentration ist allerdings anzunehmen, daß eine MeHg^+ -Umwandlung bei Derivatisierung mit NaBEt_4 stattfindet.

Das Isotopenverhältnis von Hg^0 bei der zweiten Variante der sauren Extraktion dagegen weist auf eine MeHg^+ -Speziesumwandlung hin, wobei der Hg^0 -Peak weniger als 1% der Fläche des MeHg^+ -Peaks ausmacht. Die wäßrige Phase wurde vor Zugabe von NaBEt_4 mit NaCl gesättigt. Dieses Vorgehen wird häufig in organischen Synthesen verwandt, um sehr schnell den vollständigen Übergang einer unpolaren Substanz aus der wäßrigen Phase in ein unpolares Lösungsmittel zu beschleunigen. Es ist davon auszugehen, daß dieser sehr schnelle Übergang des entstandenen MeEtHg nach Zugabe von NaBEt_4 in die Nonanphase allenfalls eine sehr geringe MeHg^+ -Speziesumwandlung zuläßt.

Im Vergleich zur basischen Extraktion wurde MeHg^+ bei der sauren Extraktion wahrscheinlich nur unvollständig aus der Matrix herausgelöst, da hier im Gegensatz zur basischen Extraktion keine vollständige Zerstörung der Matrix zu beobachten war.

Zusammenfassend läßt sich hervorheben, daß sich die Analyse von biologischen Matrices unter basischen Reaktionsbedingungen mit TMAH als eine sehr elegante, effektive und unkomplizierte Probenaufbereitung herausgestellt hat, bei der keine MeHg^+ -Speziesumwandlungen bei der Derivatisierung mit NaBEt_4 auftreten.

4.7.3. Reproduzierbarkeit der Bestimmung von Methylquecksilber in wäßrigen Proben mit MSIVA

Normalerweise ist es in der Hg-Speziesanalytik zur Bestimmung von Methylquecksilber in wäßrigen Proben nicht üblich, routinemäßig Wiederholungsmessungen der gleiche Probe durchzuführen. Häufig ist hierbei die Analysendauer der limitierende Faktor für Wiederholungsmessungen. Im Rahmen dieser Arbeit wurden Meerwasser-, Süßwasser- sowie auch eine antarktische Schneeprobe hinsichtlich der Reproduzierbarkeit der Bestimmung von Methylquecksilber in aquatischen System mittels GC/ICP-MSIVA mit drei unabhängigen Analysen untersucht. Die Proben wurden teilweise ethyliert sowie propyliert. Die Ergebnisse sind in Tab. 44 und Tab. 45 zusammengefaßt.

Tab. 44 Ergebnisse zweier verschiedener Süßwasserproben (Flügelsbach) nach Derivatisierung mit NaBEt₄ und NaBPr₄ mittels GC/ICP-MSIVA (n=3)

	Süßwasser 1*	Süßwasser 2 (ethyliert)	Süßwasser 2 (propyliert)
Gehalt [pg Hg/g]	11,7 ± 0,4	3,8 ± 0,1	3,6 ± 0,1
s _{rel} [%]	3,6	2,6	3,2

* zweimal ethyliert sowie propyliert

Tab. 45 Ergebnisse einer untersuchten Meerwasser- und Schneeprobe mittels GC/ICP-MSIVA (n=3)

	Meerwasser ethyliert	Meerwasser propyliert	Schnee ethyliert
Gehalt [pg Hg/g]	3,91 ± 0,10	3,95 ± 0,05	0,24 ± 0,02
s _{rel} [%]	2,6	1,3	7,2

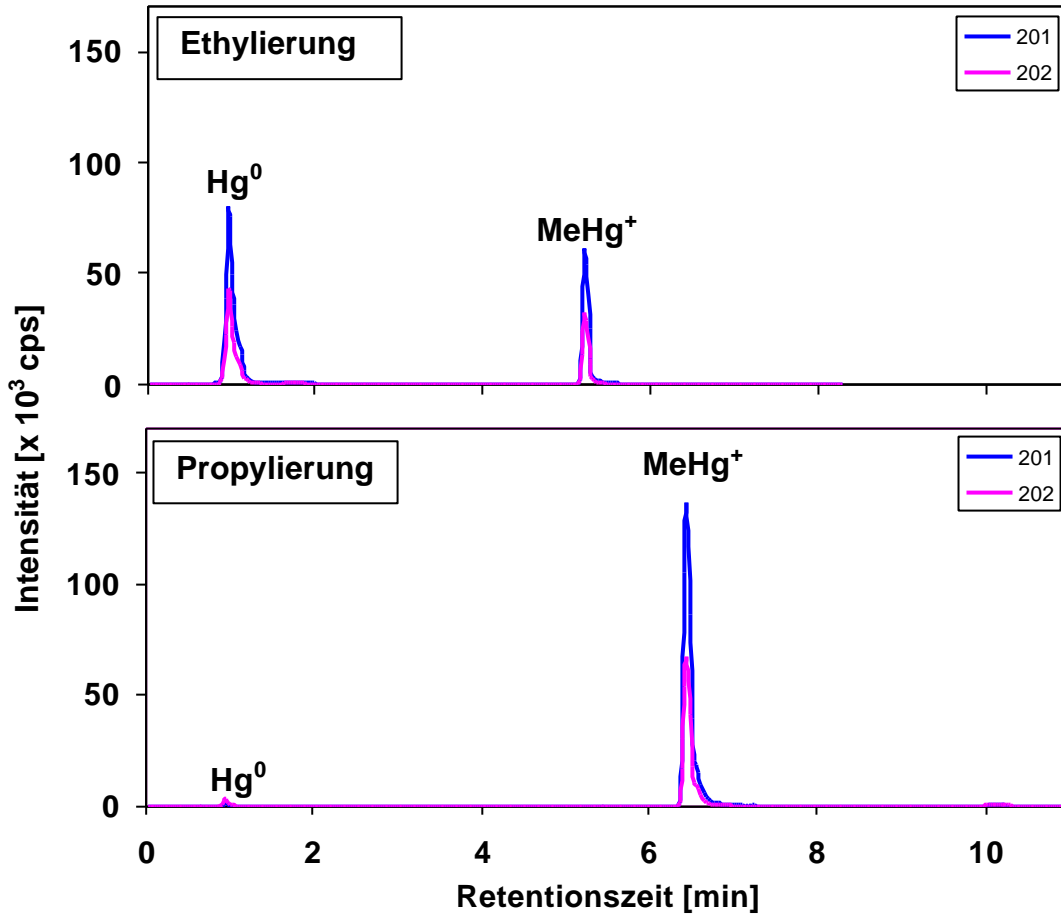
Die Ergebnisse für die Untersuchungen der Süßwasser- und Meerwasserproben zeigen mit einer relativen Standardabweichung von maximal 3,6 % eine sehr gute Reproduzierbarkeit, die andere, auf externer Kalibration beruhende Methoden zur Bestimmung von Methylquecksilber im Ultraspurenbereich nicht erreichen. Selbst die Untersuchung der Schneewasserprobe, deren Gehalt nahe der Nachweisgrenze lag, ergab eine Reproduzierbarkeit von 7,2 %. Diese Ergebnisse verdeutlichen, daß Methylquecksilber im

niedrigen pg-Bereich mit hoher Präzision mit der entwickelten GC/ICP-MSIVA-Methode bestimmt werden kann und routinemäßige Einfachbestimmungen mit einer vergleichsweise geringen Unsicherheit möglich sind.

4.8. Ergebnisvergleich des entwickelten GC/ICP-MSIVA-Verfahrens mit der herkömmlichen GC/AFD-Methode

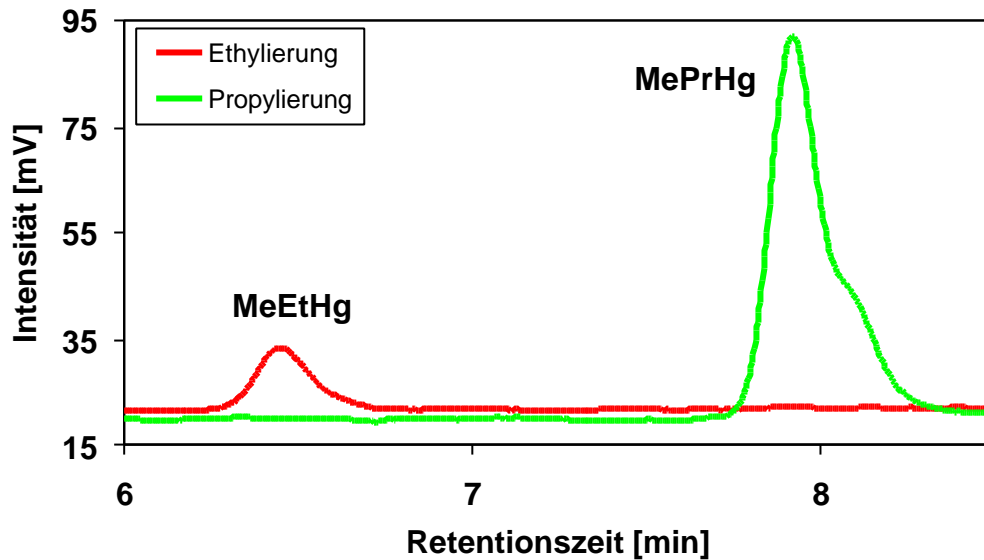
Zur Methodvalidierung wurde die entwickelte GC/ICP-MSIVA Methode zur Bestimmung von Methylquecksilber in aquatischen Systemen mit der normalerweise in der MeHg⁺-Ultrapurenalyse häufig eingesetzten GC/AFD-Methode verglichen. Hierfür wurde eine Meerwasserprobe, die kein Methylquecksilber enthielt, mit Methylquecksilber natürlicher Isotopenzusammensetzung dotiert, so daß eine MeHg⁺-Konzentration von etwa 4pg Hg/g erhalten wurde. Die Meerwasserprobe wurde dann in drei unabhängigen Analysen ethyliert und propyliert, sowie jeweils mit dem in dieser Arbeit entwickelten GC/ICP-MSIVA-Verfahren und mit einer GC/AFD-Methode bestimmt [126]. Diese Analysen sollten nicht nur einem Methodenvergleich dienen, sondern auch die zu erwartende MeHg⁺-Speziesumwandlung bei der Derivatisierung mit NaBEt₄ und Bestimmung mit der GC/AFD-Methode durch die Gehaltsbestimmung quantifizieren. In Abb. 50 ist jeweils die Analyse der Ethylierung und Propylierung nach Dotierung der Meerwasserprobe mit Me²⁰¹Hg⁺ dargestellt. Qualitativ gut ersichtlich ist die MeHg⁺-Speziesumwandlung bei der Ethylierung, während wie bei den vorhergehenden Analysen bei der Propylierung keine Speziesumwandlung erkennbar ist.

Abb. 50 GC/ICP-MS-Chromatogramme einer Meerwasserprobe nach Dotierung mit $\text{Me}^{201}\text{Hg}^+$ und Verwendung von NaBEt_4 sowie NaBPr_4



In Abb. 51 sind die unter Verwendung der GC/AFD-Methode erhaltenen MeHg^+ -Peaks zum direkten Vergleich für das Ethylierungs- und Propylierungsverfahren in einem Chromatogramm zusammengefaßt.

Abb. 51 Vergleich von ethyliertem und propyliertem MeHg⁺ in einer Meerwasserprobe bei Einsatz einer GC/AFD-Methode [126]



Im Chromatogramm ist erkennbar, daß die zur externen Kalibration auszuwertende Peakfläche bei der Ethylierung von MeHg⁺ im Vergleich zur Propylierung wesentlich kleiner ist. Die quantitative Auswertung der Peakflächen bei beiden Derivatisierungsverfahren erfolgte gegenüber einer MeHg⁺-Standardlösung in MilliQ-Wasser. In Tab. 46 sind die Gehaltsbestimmungen der Meerwasserproben aufgeführt.

Tab. 46 MeHg⁺-Gehaltsbestimmungen einer Meerwasserprobe mit GC/ICP-MSIVA und GC/AFD nach Derivatisierung mit NaBEt₄ sowie NaBPr₄

	Gehalt [pg Hg/g]	s _{rel} [%]
Ethylierung		
GC/ICP-MS	3,91 ± 0,10	2,6
GC/AFD	0,86 ± 0,16	18,5
Propylierung		
GC/ICP-MS	3,95 ± 0,05	1,3
GC/AFD	3,45 ± 0,39	11,3

Die mit der entwickelten GC/ICP-MSIVA erhaltenen Werte für die Meerwasserprobe stimmen nicht nur für die Ethylierung und Propylierung gleichermaßen sehr gut mit dem vorgegebenen MeHg^+ -Gehalt der Probe überein, sondern die geringen externen Standardabweichungen zeigen auch die sehr gute Reproduzierbarkeit der Bestimmungen. Der mit GC/AFD erhaltene Wert für die Methylquecksilberbestimmung bei der Derivatisierung mit NaBEt_4 liegt mit $0,86 \text{ pg Hg/g}$ um 79 % niedriger als die zugespikete Konzentration. Der Methylquecksilbergehalt bei der Propylierung zeigt dagegen innerhalb der Standardabweichung eine Übereinstimmung mit den analysierten GC/ICP-MSIVA-Gehalten. Der Methodenvergleich untermauert die in dieser Arbeit erhaltenen Ergebnisse bezüglich der MeHg^+ -Speziesumwandlung bei der Derivatisierung mit NaBEt_4 in chloridhaltigen Proben. Der analysierte Gehalt bei der Ethylierung und Bestimmung mit GC/AFD verdeutlicht, daß eine MeHg^+ -Umwandlung stattfindet und die Verwendung von atomspektrometrischen Methoden falsche Ergebnisse liefert, wenn nicht bezüglich der Speziesumwandlung eine Korrektur durchgeführt wird. Der Verlust von 79 % Methylquecksilber in Meerwasser bei der Derivatisierung mit NaBEt_4 stimmt mit dem Transformationsgrad in den Cf-Modellösungen in Abb. 41 (Kap. 4.3.4.) gut überein.

Zusammenfassend zeigt dieser Methodenvergleich die große Überlegenheit der GC/ICP-MSIVA im Vergleich zur GC/AFD-Methode. Die im Rahmen dieser Arbeit entwickelte Methode liefert richtige Werte für die MeHg^+ -Gehaltsbestimmung mit sehr guten Reproduzierbarkeiten, ohne daß die identifizierten MeHg^+ -Speziesumwandlungen Einfluß auf das Ergebnis haben.

5. Ausblick

Die Ergebnisse des im Rahmen dieser Arbeit entwickelten GC/ICP-MSIVA-Verfahrens für die Bestimmung von MeHg^+ haben für die Speziesanalytik von Quecksilber sowie sicherlich auch von anderen Elementen neue Perspektiven eröffnet. Sie zeigen nicht nur die Zuverlässigkeit des Verfahrens, sondern auch das große Potential der Isotopenexperimente zur Überprüfung von Fehlerquellen in der Probenaufarbeitung, was in der Zukunft verstärkt genutzt werden sollte.

Die spezies-spezifische MSIVA ist in der Zukunft routinemäßig in Forschungslaboratorien zur zuverlässigen Bestimmung von MeHg^+ -Gehalten in Umwelt- und biologische Proben einsetzbar.

Aufgrund der erhaltenen Ergebnisse sollte die spezies-spezifische MSIVA als definitive Methode auch verstärkt für MeHg^+ -Bestimmungen in Ringversuchen bei der Zertifizierung von Referenzmaterialien eingesetzt werden.

Von wissenschaftlichem Interesse wäre es weiterhin, den Reaktionsmechanismus der MeHg^+ -Umwandlung bei der Probenvorbereitung mit NaBEt_4 aufzuklären.

Eine Herausforderung stellt sicherlich die Entwicklung einer multi-spezies-spezifischen MSIVA für Hg-Spezies dar. Hierbei werden beispielsweise zwei Indikatorlösungen eingesetzt, wobei eine Lösung isotonenmarkiertes MeHg^+ und die andere Hg^{2+} enthält. Es wäre somit möglich, beide Spezies gleichzeitig mit MSIVA zu bestimmen. Ebenso wäre eine multi-spezies-spezifische MSIVA für verschiedene Schwermetallspezies von Hg, Sn und Pb denkbar.

6. Literaturverzeichnis

- [1] A. Kot, J. Namiesnik, *The role of speciation in analytical chemistry*, Trends Anal. Chem. **19** (2000) 69-78
- [2] <http://www.webelements.com/webelements/elements/text/Hg/key.html>
- [3] A. Kudo, R. R. Turner, *Mercury contamination of Minamata Bay : historical overview and progress towards recovery*, in : R. Ebinghaus, L. D. de Lacerda, O. Vasiliev, W. Salomons (Eds.), Springer-Verlag, Berlin, New York (1999) 143-158
- [4] O. Lindqvist, K. Johansson, M. Aastrup, A. Andersson, L. Bringmark, G. Hovsenius, L. Hakanson, A. Iverfeldt, M. Meili, B. Timm, *Mercury in the svedish environment – recent research on causes, consequences and corrective methods*, Water Air Soil Pollut. **55** (1991) 1-6
- [5] M. R. Greenwood, *Quecksilber*, in : E. Merian (Hrsg.), *Metalle in der Umwelt*, Verlag Chemie, Weinheim (1984) 511-539
- [6] P. Quevauviller, European Commission, Brüssel, Belgien, *Persönliche Mitteilung* (1999)
- [7] P. Quevauviller, M. Horvat, *Letter to the editor*, Anal. Chem. **71** (1999) 155 A-156 A
- [8] N. S. Bloom, D. Evans, H. Hintelmann, R-D. Wilken, *Letter to the editor*, Anal. Chem. **71** (1999) 575 A
- [9] P. Quevauviller, F. Adams, J. Caruso, M. Coquery, R. Cornelius, O. F. X. Donard, L. Ebdon, M. Horvat, R. Lobinzki, R. Morabito, H. Muntau, M. Valcárel, *Letter to the editor*, Anal. Chem. (1999)
<http://pubs.acs.org/journals/ancham/announcements/letter991292.htm>
- [10] Gmelins Handbuch der Anorganischen Chemie, Verlag Chemie, Elektronische Ausgabe, Weinheim

-
- [11] R. C. Weast, *Handbook of chemistry and physics*, 63. Auflage, CRC Press, Boca Raton (1982) C-703-C-705
- [12] S. P. Wasik, *Partition of organoelements in octanol/water/air systems*, Organometals and organometalloids : occurrence and fate in the environment, ACS Symp. Ser. **82** (1978) 314-326
- [13] S. Okutchi, S. Sasaki, *The 1-octanol/water partition coefficient of mercury*, Bull. Chem. Soc. Jpn. **58** (1985) 3401-3402
- [14] T. Endo, S. Nakaya, R. Kimura, *Factors involved in absorption of organic mercury compounds from rat small intestine : comparative study with mercuric chloride in situ*, Pharmacol. Toxicol. **65** (1989) 128-135
- [15] G. Yarwood, H. Niki, *A critical review of available information on transformation pathways of mercury species in the atmospheric environment*, York University, North York, Ontario, Canada (1990) 1-91
- [16] O. Lindqvist, H. Rohde, *Atmospheric mercury*, Tellus **37B** (1985) 136-159
- [17] D. L. Rabenstein, *The aqueous solution chemistry of methylmercury and its complexes*, Accounts Chem. Res. **11** (1978) 100-107
- [18] Y. Cai, R. Jaffé, R. Jones, *Ethylmercury in the soils and sediments of the Florida everglades*, Environ. Sci. Technol. **31** (1997) 302-305
- [19] P. Craig, *Organometallic compounds in the environment*, Longman, Harlow (1986)
- [20] K. Adam, P. Jönck, H. Gattner, E. Zirngiebel, *Quecksilber*, in : E. Bartholomé, E. Bieckert, H. Hellmann, H. Ley, W. M. Weigert, E. Weise (Hrsg.), Ullmanns Enzyklopädie der technischen Chemie, Verlag Chemie, Weinheim Bd. **19** (1980) 644
- [21] G. Tölg, I. Lorenz, *Quecksilber – ein Problemelement für den Menschen ?* Chemie in unserer Zeit **5** (1977) 150-156

-
- [22] L. Magos, *Mercury*, in : H. G. Seiler, H. Siegel (Hrsg.), *Handbook on toxicity of inorganic compounds*, Marcel Dekker, New York (1988) 419-436
- [23] H. Strasdeit, *Methylquecksilber – eine Warnung*, *Nachr. Chem. Tech. Lab.* **46** (1998) 846-848
- [24] T. W. Clarkson, *The toxicology of mercury and its compounds*, in : C. J. Watras, J. W. Huckabee (Hrsg.), *Mercury pollution : integration and synthesis*, Lewis Publisher, Boca Raton, Ann Arbor, London, Tokyo (1994) 631-641
- [25] R. B. Clark, *Kranke Meere ? Verschmutzung und ihre Folgen*, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg (1992)
- [26] C. C. Gilmour, E. A. Henry, R. Mitchell, *Methylation of HgCl₂ and HgS by sulfate reducing bacteria*, *Abstr. Annual Met. Am. Soc. Microbiol.* **Q143** (1988) 306
- [27] W. F. Beckert, A. A. Moghiss, F. H. Au, E. W. Bretthauer, J. L. McFarlane, *Formation of methylmercury in a terrestrial environment*, *Nature* **249** (1974) 674-675
- [28] J. M. Wood, F. S. Kennedy, C. G. Rosen, *Synthesis of methyl mercury compounds by extracts of a methanogenic bacterium*, *Nature* **220** (1968) 173-174
- [29] R. Ebinghaus, H. Hintelmann, R. D. Wilken, *Mercury-cycling in surface waters and in the atmosphere - species analysis for the investigation of transformation and transport properties of mercury*, *Fresenius J. Anal. Chem.* **350** (1994) 21-29
- [30] Y. Cai, R. Jaffé, R. D. Jones, *Interactions between dissolved organic carbon and mercury species in surface waters of the Florida Everglades*, *Appl. Geochem.* **14** (1999) 395-407
- [31] F. Slemr, G. Schuster, W. Seiler, *Distribution, speciation and budget of atmospheric mercury*, *J. Atmos. Chem.* **3** (1985) 407-434
- [32] E. D. Stein, Y. Cohen, A. M. Winer, *Environmental distribution and transformation of mercury compounds*, *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* **26** (1996) 1-43

-
- [33] L. Bertilsson, H. Y. Neujahr, *Methylation of mercury compounds by methylcobalamin*, *Biochem.* **10** (1971) 2805-2808
- [34] C. Elschenbroich, A. Salzer, *Organometallchemie*, Teubner Verlag, Stuttgart, 2. Auflage (1988)
- [35] J. M. Wood, H. K. Wang, *Microbial resistance of heavy metals*, *Environ. Sci. Technol.* **17** (1983) 582-590
- [36] S. K. Shapiro, F. Schlenk, *Transmethylation and methionine biosynthesis*, University of Chicago Press, Chicago (1965)
- [37] W. P. Ridley, L. J. Dizikes, J. M. Wood, *Biomethylation of toxic elements in the environment*, *Science* **197** (1977) 329-332
- [38] G. M. Gadd, *Microbial Formation and transformation of organometallic and organometalloid compounds*, *FEMS Microbiol. Rev.* **11** (1993) 297-316
- [39] R. J. P. Willams, *The transfer of methyl groups : a general introduction*, in : P. J. Craig, F. Glockings (Hrsg.), *The biological alkylation of heavy metals*, Royal Society of chemistry, London (1988) 5-19
- [40] R. Pongratz, K. G. Heumann, *Production of methylated mercury and lead by polar macroalgae – a significant natural source for atmospheric heavy metals in clean room compartments*, *Chemosphere* **36** (1998) 1935-1946
- [41] J. W. Vonk, A. K. Sijepesteijn, *Studies on the methylation of mercury chloride by pure cultures of bacteria and funghi*, *J. Microbiol. Sereol.* **39** (1973) 505-513
- [42] K. Tonomura, K. Maedda, F. Futai, *Studies on the action of Hg-resistant microorganisms on mercurials stimulated by mercury-resistant bacteria*, *J. Ferment. Technol.* **46** (1968) 685-692
- [43] W. J. Spangler, J. L. Spiragelli, J. M. Rose, H. M. Miller, *Methylmercury : bacterial degradation in lake sediments*, *Science* **180** (1973) 192-193

-
- [44] W. Schumann, *Resistenz gegen Quecksilber und organische Quecksilberverbindungen*, in : W. Schumann (Hrsg.), *Biologie bakterieller Plasmide*, Vieweg & Sohn Verlagsgesellschaft, Braunschweig (1990) 177-180
- [45] T. Hamasaki, H. Nagase, Y. Yoshioka, T. Sato, *Formation, distribution and ecotoxicity of methylmetals of tin, mercury and arsenic in the environment*, *Cri. Rev. Environ. Sci. Technol.* **25** (1995) 25-91
- [46] J. H. Weber, *Review of possible paths for abiotic methylation of mercury(II) in the aquatic environment*, *Chemosphere* **26** (1993) 2063-2077
- [47] Y. K. Chau, P. T. S. Wong, C. A. Mojesky, A. J. Carty, *Transmethylation of metals in aquatic systems*, *Appl. Environ. Chem.* **1** (1987) 235-239
- [48] B. Hall, N. S. Bloom, J. Munthe, *An experimental study of two potential methylation agents of mercury in the atmosphere : CH₃I and DMS*, *Water Air Soil Pollut.* **80** (1995) 337-341
- [49] H. Nagase, Y. Ose, T. Sako, T. Ishikawa, *Mercury methylation by compounds in humic material*, *Sci. Total Environ.* **32** (1984) 157-165
- [50] D. Y. Wang, C. L. Qing, T. Y. Guo, Y. J. Guo, *Effects of humic acids on transport and transformation of mercury in soil-plant systems*, *Water Air Soil Pollut.* **95** (1997) 35-43
- [51] J. H. Weber, K. Reisinger, M. Stoepler, *Methylation of mercury (II) by fulvic acid*, *Environ. Techn. Lett.* **6** (1985) 203-208
- [52] H. Niki, P. D. Maker, C. M. Savage, L. P. Breitenbach, *A long-path fourier transform study of the kinetics and mechanisms for the OH-radical initiated oxidation of dimethylmercury*, *J. Phys. Chem.* **87** (1983) 4978-4981
- [53] P. Sellers, C. A. Kelly, J. W. M. Rudd, A. R. MacHutchon, *Photodegradation of methylmercury in lakes*, *Nature* **380** (1996) 694-697

-
- [54] D. M. Templeton, F. Ariese, R. Cornelius, L.-G. Danielsson, H. Muntau, H. P. van Leeuwen, R. Lobinzki, *Guidelines for terms related to chemical speciation and fractionation of elements. Definitions, structural aspects and methodological approaches*, Pure Appl. Chem. **72** (2000) 1453-1470
- [55] E. A. Pearson, *Advances in water pollution research*, Pergamon Press, New York (1964)
- [56] F. Bakir, S. F. Damluji, L. Amin-Zaki, M. Murtadha, A. Khalidi, N. Y. Al-Rawi, S. Tikriti, H. I. Dhahir, T. Clarkson, J. C. Smith, R. A. Doherty, *Methylmercury poisoning in Iraq*, Science **181** (1973) 230-241
- [57] P. Quevauviller, *CRMs for quality control of determination of chemical forms of elements in support to EU legislation*, Fresenius J. Anal. Chem. **354** (1996) 515-520
- [58] G. Westöö, *Determination of methylmercury salts in various kinds of biological material*, Acta. Chem. Scand. **22** (1968) 2277-2280
- [59] M. Horvat, N. S. Bloom, L. Liang, *Comparison of distillation with other current isolation methods for the determination of methyl mercury compounds in low level environmental samples – Part 1. Sediments*, Anal. Chim. Acta **281** (1993) 135-152
- [60] C. M. Tseng, A. de Diego, F. M. Martin, O. F. X. Donard, *Rapid and quantitative microwave-assisted recovery of methylmercury from standard reference sediments*, J. Anal. At. Spectrom. **12** (1997) 629-635
- [61] Q. Tu, J. Qian, W. Frech, *Rapid determination of methylmercury in biological materials by GC-MIP-AES or GC-ICP-MS following simultaneous ultrasonic-assisted in situ ethylation and solvent extraction*, J. Anal. At. Spectrom. **15** (2000) 1583-1588
- [62] R. Ritsema, O. F. X. Donard, *On-line speciation of mercury and methylmercury in aqueous samples by chromatography- atomic fluorescence spectrometry after hydride generation*, Appl. Organomet. Chem. **8** (1994) 571-575

-
- [63] S. Rapsomanikis, P. J. Craig, *Speciation of mercury and methylmercury compounds in aqueous samples by chromatography – atomic absorption spectrometry after ethylation with sodium tetraethylborate*, Anal. Chim. Acta **248** (1991) 563-567
- [64] W. M. R. Dirkx, W. E. Van Mol, R. J. A. Van Cleuvenbergen, F. C. Adams, *Speciation of organotin compounds in water by gas chromatography/atomic absorption spectrometry*, Fresenius J. Anal. Chem. **335** (1989) 769-774
- [65] A. Alli, R. Jaffé, R. Jones, *Analysis of organomercury compounds in sediments by capillary GC with atomic fluorescence detection*, J. High Res. Chromatogr. **17** (1994) 745-748
- [66] A. Prange, E. Jantzen, *Determination of organometallic species by gas chromatography inductively coupled plasma mass spectrometry*, J. Anal. At. Spectrom. **10** (1995) 105-109
- [67] T. de Smaele, L. Moens, R. Dams, P. Sandra, *ICP-MS – a sensitive detector for metal speciation with capillary GC*, LC•GC Int. **3** (1996) 138-142
- [68] C. Dietz, Y. Madrid, C. Cámara, P. Quevauviller, *The capillary cold trap as a suitable instrument for mercury speciation by volatilization, cryogenic trapping, and gas chromatography coupled with atomic absorption spectrometry*, Anal. Chem. **72** (2000) 4178-4184
- [69] C. Gerbersmann, M. Heisterkamp, F. C. Adams, J. A. C. Broekaert, *Two methods for the speciation analysis of mercury in fish involving microwave-assisted digestion and gas chromatography-atomic emission spectrometry*, Anal. Chim. Acta **350** (1997) 273-285
- [70] K. C. Bowles, S. C. Apte, *Determination of methylmercury in natural water samples by steam distillation and gas chromatography-atomic fluorescence spectrometry*, Anal. Chem. **70** (1998) 395-399
- [71] S. Chiavarini, C. Cremisini, G. Ingrao, R. Morabito, *Determination of methylmercury in human hair by capillary GC with electron capture detection*, Appl. Organomet. Chem. **8** (1994) 536-570

-
- [72] M. Filippelli, F. Baldi, *Alkylation of ionic mercury to methylmercury and dimethylmercury by methylcobalamin : simultaneous determination by purge-and-trap GC line with FTIR*, Appl. Organomet. Chem. **7** (1993) 487-493
- [73] N. G. O. Velado, R. Pereiro, A. Sanz-Medel, *Mercury speciation by capillary gas chromatography with radiofrequency hollow cathode glow discharge atomic emission detection*, J. Anal. At. Spectrom. **15** (2000) 49-53
- [74] P. Lansens, C. Meuleman, C. Casais Laino, W. Baeyens, *Comparative study of microwave-induced plasma atomic emission spectrometry and atomic fluorescence spectrometry as gas-chromatographic detectors for the determination of methylmercury in biological samples*, Appl. Organomet. Chem. **7** (1993) 45-51
- [75] L. Dunemann, H. Hajimiragha, J. Begerow, *Simultaneous determination of Hg(II) and alkylated Hg, Pb and Sn species in human body fluids using SPME-GC/MS-MS*, Fresenius J. Anal. Chem. **363** (1999) 466-468
- [76] R. G. Fernández, M. Montes-Bayon, J. I. G. Alonso, A. Sanz-Medel, *Comparison of different derivatization approaches for mercury speciation in biological tissues by gas chromatography/inductively coupled plasma mass spectrometry*, J. Mass Spectrom. **35** (2000) 639-646
- [77] R. Falter, *Quecksilber im Ökosystem – Bestimmung von organischen Quecksilberspezies mit einer neuentwickelten HPLC-Methode*, BITÖK, Bayreuth(1996)
- [78] H. Hintelmann, R. D. Wilken, *The analysis of organic mercury compounds using liquid chromatography with on-line atomic fluorescence spectrometric detection*, Appl. Organomet. Chem. **7** (1993) 173-180
- [79] R. Falter, G. Ilgen, *Determination of trace amounts of methylmercury in sediment and biological tissue by using water vapor distillation in combination with RP C18 preconcentration and HPLC-HPF/HHPN-ICP-MS*, Fresenius J. Anal. Chem. **358** (1997) 401-406

- [80] C. Sarzanini, G. Sacchero, M. Aceto, O. Abollino, E. Mentasti, *Ion chromatographic separation and on-line cold vapour atomic absorption spectrometric determination of methylmercury, ethylmercury and inorganic mercury*, Anal. Chim. Acta **130** (1994) 661-667
- [81] T.-H. Lee, S.-J. Jiang, *Determination of mercury compounds by capillary electrophoresis inductively coupled plasma mass spectrometry with microconcentric nebulization*, Anal. Chim. Acta **413** (2000) 197-205
- [82] J. M. Carey, N. P. Vela, J. A. Caruso, *Multi-element detection for supercritical fluid chromatography by inductively coupled plasma mass spectrometry*, J. Anal. At. Spectrom. **7** (1992) 1173-1181
- [83] P. de Bièvre, *Isotope dilution mass spectrometry : what can it contribute to accuracy in trace analysis ?* Fresenius J. Anal. Chem. **357** (1997) 74-79
- [84] K. G. Heumann, *Elementspurenbestimmung mit der massenspektrometrischen Isotopenverdünnungsanalyse*, in : H. Günzler, R. Borsdorf, W. Fresenius, W. Huber, H. Kelker, I. Lüderwald, G. Tölg und H. Wissner (Hrsg.), Analytiker Taschenbuch, Bd. 9, Springer Verlag, Heidelberg (1990) 192-223
- [85] K. G. Heumann, *Isotope dilution mass spectrometry*, in : F. Adams, R. Gijbels, R. van Grieken (Hrsg.), Inorganic mass spectrometry, Wiley, New York (1988) 301-376
- [86] H. Hintelmann, R. D. Evans, *Application of stable isotopes in environmental tracer studies – measurement of monomethylmercury (CH_3Hg^+) by isotope dilution ICP-MS and detection of species transformation*, Fresenius J. Anal. Chem. **358** (1997) 378-385
- [87] L. Ebdon, S. J. Hill, C. Rivas, *Lead speciation in rainwater by isotope dilution-high performance liquid chromatography-inductively coupled plasma-mass spectrometry*, Spectrochim. Acta Part B **53** (1998) 289-297
- [88] J. R. Encinar, J. I. G. Alonso, A. Sanz-Medel, *Synthesis and application of isotopically labelled dibutyltin for isotope dilution analysis using gas chromatography-ICP-MS*, J. Anal. At. Spectrom. **15** (2000) 1233-1239

-
- [89] K. G. Heumann, *Elemental species analyses with isotope dilution mass spectrometry*, in : J. A. C. Broekaert, S. Gücer, F. Adams, *Metal speciation in the environment*, Springer Verlag, Heidelberg (1990) 153-168
- [90] Commission on Atomic Weights and Isotopic Abundances, *Isotopic Compositions of the Elements 1989*, Pure Appl. Chem. **70** (1998) 217-236
- [91] M. Otto, *Analytische Chemie*, VCH, Weinheim (1995)
- [92] K. Cammann, *Instrumentelle analytische Chemie*, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin (2001)
- [93] P. Quevauviller, *Methods performance studies for speciation analysis*, The Royal Society of Chemistry Cambridge (1998)
- [94] P. Quevauviller, *Accuracy and traceability in environmental monitoring – pitfalls in methylmercury determinations as a case study*, J. Environ. Monit. **2** (2000) 292-299
- [95] P. Tschöpel, G. Tölg, *Comments on the accuracy on analytical results in ng- and pg-trace analysis of the elements*, J. Trace Microprobe Tech. **1** (1982) 1-77
- [96] M. Leermakers, P. Lansens, W. Baeyens, *Storage and stability of inorganic and methylmercury solutions*, Fresenius J. Anal. Chem. **336** (1990) 655-662
- [97] H. Scheuermann, H. Hartkamp, *Stabilisierung von Wasserproben für die Bestimmung von Schwermetallspuren*, Fresenius Z. Anal. Chem. **315** (1983) 430-433
- [98] G. Giebenhahn, H. J. Rath, *Verwendung von Fluorpolymeren in der Spurenanalytik*, GIT Fachzeitschrift für das Laboratorium **39** (1995) 247-250
- [99] R. Pongratz, K. G. Heumann, *Determination of concentration profiles of methyl mercury compounds in surface waters of polar and other remote oceans by GC-AFD*, Intern. J. Environ. Anal. Chem. **71** (1998) 41-56
- [100] R. Morabito, *Extraction techniques in speciation analysis in environmental samples*, Fresenius J. Anal. Chem. **351** (1995) 378-385

-
- [101] F. A. Dreisch, T. O. Munson, *Purge-and-trap analysis using fused silica capillary column GC/MS*, J. Chromatogr. Sci. **21** (1983) 111-118
- [102] H. Morita, H. Tanaka, S. Shimomura, *Atomic Fluorescence Spectrometry of mercury : principles and developments*, Spectrochim. Acta Part B **50** (1995) 69-95
- [103] A. Hagman, S. Jacobsson, *Trapping efficiency of capillary cold traps*, J. Chromatogr. **448** (1988) 117-126
- [104] S. M. Abeel, A. K. Vickers, D. Decker, *Trends in purge and trap*, J. Chromatogr. Sci. **32** (1994) 328-338
- [105] R. Pongratz, *Biogene Produktion von neutralen und ionischen Methylschwermetallverbindungen in polaren Gewässern*, Dissertation, Universität Regensburg (1996)
- [106] S. Gallus, *Entwicklung eines GC/ICP-MS Systems zur Selenspezies-Bestimmung mit der massenspektrometrischen Isotopenverdünnungsanalyse*, Dissertation, Universität Regensburg (1998)
- [107] K. G. Heumann, S. M. Gallus, G. Rädlinger, J. Vogl, *Precision and accuracy in isotope ratio measurements by plasma source mass spectrometry*, J. Anal. At. Spectrom. **13** (1998) 1001-1008
- [108] J. P. Snell, I. I. Stewart, R. E. Sturgeon, W. Frech, *Species specific isotope dilution calibration for determination of mercury species by gas chromatography coupled to inductively coupled plasma- or furnace atomisation plasma ionisation-mass spectrometry*, J. Anal. At. Spectrom. **15** (2000) 1540-1545
- [109] C. Rouleau, M. Block, *Fast and high-yield synthesis of radioactive $\text{CH}_3^{203}\text{Hg(II)}$* , Appl. Organomet. **11** (1997) 751-753
- [110] O. Schedlbauer, *Methylierte Schwermetallverbindungen im Atlantischen Ozean und der marinen Atmosphäre*, Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität Mainz (1998)

- [111] H. Hintelmann, R. Falter, G. Ilgen, R. D. Evans, *Determination of artifactual formation of monomethylmercury (CH_3Hg^+) in environmental samples using stable Hg^{2+} isotopes with ICP-MS detection : calculation of contents applying species specific isotope addition*, *Fresenius J. Anal. Chem.* **358** (1997) 363-370
- [112] J. Falbe, M. Regnitz, *Meer*, in : CD Römpp Chemie Lexikon, Version 1.0, Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1995)
- [113] J. H. Weber, R. Puk, *Optimization of method for speciation of mercury (II), monomethylmercury cation, dimethylmercury und dieethylmercury by hydride generation*, *Appl. Organomet. Chem.* **8** (1994) 709-713
- [114] R. Ebinghaus, R. D. Wilken, P. Gisder, *Untersuchungen zur Entstehung von Monomethylquecksilber in der Elbe*, *Vom Wasser* **82** (1994) 19-35
- [115] N. Rädlein, K. G. Heumann, *Trace analysis of heavy metals in aerosols over the atlantic ocean from Antartica to Europe*, *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* **48** (1992) 127-150
- [116] K. Küllmer, Institut für Anorganische Chemie und Analytische Chemie, Mainz, *Persönliche Mitteilung* (2001)
- [117] S. Rapsomanikis, O. F. X. Donard, J. H. Weber, *Speciation of lead and methyllead ions in water by chromatography/atomic absorption spectrometry after ethylation with sodium tetraethylborate*, *Anal. Chem.* **58** (1986) 35-37
- [118] T. de Smaele, L. Moens, R. Dahms, P. Sandra, J. van der Eyken, J. Vandycck, *Sodium tetra (n-propyl)borate : a novel aqueous in situ derivatization reagent for the simultaneous determination of organomercury, lead and -tin compounds with capillary gas chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry*, *J. Chromatogr.* **A 793** (1998) 99-106
- [119] R. Kellner, J.-M. Mermet, M. Otto, H. M. Widmer (Eds.), *Analytical Chemistry*, Wiley-VCH, Weinheim, New York (1998)

-
- [120] P. Quevauviller, I. Drabaek, H. Muntau, B. Griepink, *The certification of the contents (mass fractions) of total and methyl mercury in two tuna fish materials CRMs 463 and 464*, European Commission, Community Bureau of Reference (1994)
- [121] M. Logar, M. Horvat, I. Falnoga, V. Stibilj, *A methodological study of mercury speciation using dogfish liver CRM (DOLT-2)*, Fresenius J. Anal. Chem. **366** (2000) 453-460
- [122] H. Hintelmann, Environmental Science Centre, Peterborough, Kanada, *Persönliche Mitteilung* (1998)
- [123] P. Lansens, C. Meuleman, W. Baeyens, *Long-term stability of methylmercury standard solutions in distilled, deionized water*, Anal. Chim. Acta **229** (1990) 281-285
- [124] A. de Diego, C. M. Tseng, T. Stoichev, D. Amouroux, O. Donard, *Interferences during mercury speciation determination by volatilization, cryofocusing, gas chromatography and atomic absorption spectroscopy : comparative study between hydride generation and ethylation techniques*, J. Anal. At. Spectrom. **13** (1998) 623-629
- [125] N. Bloom, *Determination of picogram levels of methylmercury by aqueous phase ethylation, followed by cryogenic gas chromatography with cold vapour atomic fluorescence detection*, Can. J. Fish Aquat. Sci. **46** (1989) 1131-1139
- [126] K. Küllmer, Institut für Anorganische Chemie und Analytische Chemie, Mainz, *Promotionsarbeit* (2001)
- [127] A. F. Hollemann, E. Wiberg, *Das Quecksilber*, Lehrbuch der Anorganischen Chemie, Walter de Gruyter, Berlin, New York, 91.-100. Auflage (1985) 1042-1053
- [128] M. Horvat, L. Liang, S. Azemard, V. Mandic, J.-P. Villeneuve, M. Coquery, *Certification of total mercury and methylmercury concentrations in mussel homogenate (Mytilus edulis) reference material, IAEA-142*, Fresenius J. Anal. Chem. **358** (1997) 411-418