

# Hydrid-ICP-MS-Bestimmung von Selen in Weizen mit Isotopenverdünnungskalibration = Hydride ICP-MS determination of selenium in wheat based on isotope dilution

Autor(en): **Haldimann, Max / Zimmerli, Bernhard**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène**

Band (Jahr): **85 (1994)**

Heft 1

PDF erstellt am: **23.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-982751>

## **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern. Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

## **Haftungsausschluss**

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

*Max Haldimann* und *Bernhard Zimmerli*, Bundesamt für Gesundheitswesen, Sektion Lebensmittelchemie, Bern

## Hydrid-ICP-MS-Bestimmung von Selen in Weizen mit Isotopenverdünnungskalibration

Hydride ICP-MS Determination of Selenium in Wheat Based on Isotope Dilution

*Key words:* Hydride, ICP-MS, Isotope dilution, Selenium, Wheat

### Einleitung

Selen ist ein für Mensch und Tier lebensnotwendiges Spurenelement. Es ist integraler Bestandteil mindestens zweier Enzyme, der (selenabhängigen) Glutathionperoxidase und der Typ I Iodthyronin-Deiodinase (1). Für den Menschen wird der tägliche Selenbedarf (RDA [recommended dietary allowances]) mit  $0,87 \mu\text{g}/\text{kg}$  Körpergewicht, entsprechend rund  $55 \mu\text{g}$  für Frauen und  $70 \mu\text{g}$  für Männer, angegeben (2). Zur Abschätzung und Beurteilung des Selenstatus der Bevölkerung kommt den Selengehalten der Lebensmittel und deren zuverlässigen Bestimmung grosse Bedeutung zu. In Fortsetzung früherer Studien (3–6) wird in der vorliegenden Arbeit die Selenbestimmung in Weizen mittels induktivgekoppelter Plasma-Massenspektrometrie (ICP-MS) mit Anwendung der Isotopenverdünnungsanalyse beschrieben (7).

Die Konzentrationen von Selen in biologischen Proben sind oft sehr niedrig. Dadurch ist die Analytik mit ICP-Massenspektrometrie, bei üblicher Durchführung, d. h. mit einem Zerstäuber, infolge der dabei erreichbaren Nachweisgrenzen für viele Anwendungen nicht mehr möglich. Obwohl die ICP-MS-Technik bei Verwendung eines pneumatischen Zerstäubers für zahlreiche Elemente Nachweisgrenzen im Bereich von  $0,01$ – $0,1 \text{ ng/ml}$  aufweist, ist eine Bestimmung von Selen nur noch in Konzentrationen  $> 5 \text{ ng/ml}$  möglich. Dies ist im wesentlichen auf zwei Faktoren zurückzuführen: Infolge des hohen Ionisierungspotentials ( $9,75 \text{ eV}$ ) von Selen ist der Ionisationsgrad mit etwa  $33\%$  geringer als bei den meisten Elementen ( $90$ – $100\%$ ); zudem wird von den sechs stabilen Isotopen des Selens ( $0,9\%$   $^{74}\text{Se}$ ;  $9,0\%$

$^{76}\text{Se}$ ; 7,6%  $^{77}\text{Se}$ ; 23,6%  $^{78}\text{Se}$ ; 49,7%  $^{80}\text{Se}$ ; 9,2%  $^{82}\text{Se}$ ) gerade das häufigste Isotop  $^{80}\text{Se}$  von einer Argon-Interferenz ( $^{40}\text{Ar}^{40}\text{Ar}$ ) überlagert (7).

Eine wesentliche Verbesserung der Selenanalytik kann dadurch erreicht werden, dass der Analyt als Gas und nicht in Aerosolform dem Argon-Plasma zugeführt wird. Selen(IV) sowie weitere Elemente der Hauptgruppen IV, V und VI bilden leicht gasförmige Hydride. Diese Technik wurde bereits seit Anfang der 70er Jahre in der AAS erfolgreich verwendet, um das Analytelement von störenden Matrixbestandteilen abzutrennen. Liegt Se(VI) vor, so muss dieses vorher mit HCl zu Se(IV) reduziert werden (8). Die Idee, die Hydridtechnik mit einer Plasmamethode zu koppeln, wurde erstmals 1972 realisiert (8). Bei der Anwendung dieses Verfahrens in der ICP-MS steht im Fall von Selen weniger die Matrixabtrennung im Vordergrund, sondern die Möglichkeit, den Analyten gegenüber der Zerstäubertechnik (Wirkungsgrad < 10%) konzentrierter in das Plasma einzutragen und dadurch auch mit den seltenen Isotopen noch ausreichende Signalintensitäten zu erhalten. Dies wird durch die Anwendung von Fliessinjektionssystemen noch weiter begünstigt, da bei solchen Systemen nur noch minimale Totvolumina vorhanden sind. Das Selenhydrid ( $\text{SeH}_2$ ) wird durch Vermischen der salzsauren Messprobe ( $\text{Se[IV]}$ ) mit wässriger Lösung von Natriumborhydrid ( $\text{NaBH}_4$ ) erzeugt. Diese Reaktion kann durch Nitrit und zahlreiche Übergangsmetalle, wie zum Beispiel Kupfer, gestört werden. Solche Störungen zeigen sich in der Erniedrigung der Signalintensität (9).

Im Gegensatz zur Zerstäubertechnik werden zeitabhängige Signale (Ionenzählrate als Funktion der Zeit) ausgewertet. Die einzelnen Isotope erscheinen entsprechend ihrer Häufigkeit («abundance»). Es ist möglich, neben Selen noch Isotope anderer Elemente zu messen, um so eine Multielementbestimmung durchzuführen. Die Schwierigkeit besteht allerdings darin, dass zum Erzeugen der Hydride unterschiedliche Bedingungen notwendig sind, um die jeweils maximale Signalintensität zu erhalten. Wenn die Hydridtechnik als Multielementanalyse betrieben werden soll, müssen Kompromissbedingungen gefunden und für einige Elemente schwächere Empfindlichkeiten in Kauf genommen werden (7).

## Theorie

### *Isotopenverdünnung*

In der ICP-MS besteht die Möglichkeit, eine spezielle Kalibrationsstrategie anzuwenden, die Isotopenverdünnung. Diese kann als Spezialfall einer Kalibration mit internem Standard betrachtet werden. Dabei werden Isotopenverhältnisse in der Probelösung, in der Lösung eines Standards mit einem angereicherten Isotop sowie in einer Mischung beider Lösungen gemessen. Da in der ICP-MS die Intensitäten der Ionenströme als Zählraten (Ionen-Zählrate pro Sekunde [1/s])

erfasst werden, können die Isotopenverhältnisse direkt aus den Messdaten gebildet werden.

Ein Problem der ICP-MS-Technik ist die unterschiedliche Verlustrate für die verschiedenen Ionen im System (z. B. bei der Expansion der Plasmagase ins Vakuum, der Ionenoptik oder der Quadrupoltransmission). Das bedeutet, dass die Isotope eines bestimmten Elementes verschiedene Empfindlichkeiten aufweisen (Massendiskriminierung); besonders bei der Isotopenverdünnungsanalyse können daher Fehler entstehen.

Bei korrekter Anwendung der Isotopenverdünnungsanalyse werden solche Einflüsse jedoch eliminiert (10). Das beinhaltet, dass die Isotopenverhältnisse in der Analysenprobe, der Messprobe (Analysenprobe nach Zugabe des angereicherten Isotopes) und der Standardlösung des angereicherten Isotopes («Spike») gemessen werden. Wenn alle relevanten Isotopenverhältnisse unter identischen spektroskopischen Bedingungen gemessen werden, hebt sich der Fehler durch die Massendiskriminierung auf (vgl. Methode A). Häufig wird aber nur die Messprobe gemessen und mit den Verhältnissen gerechnet, die der natürlichen Isotopenzusammensetzung, beziehungsweise dem Zertifikat, entsprechen (vgl. Methode B).

#### *Methode A, alle Isotopenverhältnisse gemessen*

Die zu messenden Verhältnisse werden durch die nachfolgenden Gleichungen beschrieben. Die tiefgestellten Indizes  $P$ ,  $Z$  und  $M$  beziehen sich auf Probe, Zugabe und Mischung (Messprobe). Dabei bedeutet  $n$  die Stoffmenge (mol) mit den hochgestellten Indizes 78 und 82 für das entsprechende Selenisotop. In der vorliegenden Arbeit wurde  $^{78}\text{Se}$  als Bezugs- oder Referenzisotop verwendet und angereichertes  $^{82}\text{Se}$  («spike») zugegeben. Als Korrektur für die Diskriminierung wird der Faktor  $f$  für das entsprechende Isotop eingeführt. Unter idealen Messbedingungen wäre  $f^{78} = f^{82}$ .

$$[1] \quad R_P = \frac{f^{78} n_P^{78}}{f^{82} n_P^{82}}$$

$$[2] \quad R_Z = \frac{f^{78} n_Z^{78}}{f^{82} n_Z^{82}}$$

$$[3] \quad R_M = \frac{f^{78} n_P^{78} + f^{78} n_Z^{78}}{f^{82} n_P^{82} + f^{82} n_Z^{82}}$$

- $R_P$  = Isotopenverhältnis in der Probe
- $n_P^{82}$  = Stoffmenge von  $^{82}\text{Se}$  in der Probe (mol)
- $n_P^{78}$  = Stoffmenge von  $^{78}\text{Se}$  in der Probe (mol)
- $R_Z$  = Isotopenverhältnis im Spike
- $n_Z^{82}$  = Stoffmenge von  $^{82}\text{Se}$  im Spike (mol)
- $n_Z^{78}$  = Stoffmenge von  $^{78}\text{Se}$  im Spike (mol)
- $R_M$  = Isotopenverhältnis in der Messprobe
- $f^{78}$  = Diskriminierungsfaktor für  $^{78}\text{Se}$
- $f^{82}$  = Diskriminierungsfaktor für  $^{82}\text{Se}$

Durch Substitution von [1] und [2] in [3] und Vereinfachen ergibt sich:

$$[4] \quad R_M = \frac{R_P n_P^{82} + R_Z n_Z^{82}}{n_P^{82} + n_Z^{82}}$$

$n_Z^{82}$  ist die definierte Zugabe (Spike), die genau bekannt sein muss,  $R_P$ ,  $R_Z$  und  $R_M$  ergeben sich aus der Messung, folglich errechnet sich die unbekannte Stoffmenge  $^{82}\text{Se}$  in der Probe durch Auflösen von Gleichung [4] nach  $n_P^{82}$ :

$$[5] \quad n_P^{82} = \frac{n_Z^{82} (R_Z - R_M)}{R_M - R_P}$$

Für die praktische Berechnung der Selenkonzentration  $C_A$  in der Probe ergibt sich folgende Berechnungsformel:

$$[6] \quad C_A = \frac{m_Z^{82} M_P (R_Z - R_M) 100}{E_W M_Z (R_M - R_P) h_P^{82}}$$

$C_A$  = Selenkonzentration im Weizen (ng/g)  
 $M_P$  = Atommasse von natürlichem Selen  
 (= 78,96 g/mol)  
 $M_Z$  = Atommasse von Selen im Spike  
 (= 81,76 g/mol)  
 $E_W$  = Einwaage Weizen (g)  
 $m_Z^{82}$  = Masse von Selen  $^{82}\text{Se}$  im Spike (ng)  
 $h_P^{82}$  = Isotopenanteil von  $^{82}\text{Se}$  in natürlichen Proben (%)

*Methode B, Isotopenverhältnisse nur in der Messprobe gemessen*

Basierend auf der natürlichen Isotopenhäufigkeit kann die Isotopenverdünnung auch in etwas vereinfachter Form durchgeführt werden. Dabei wird nur noch  $R_M$  bestimmt, ohne  $R_P$  und  $R_Z$  zu messen (11). Die Isotopenanteile (%)  $h_P^{78}$  von  $^{78}\text{Se}$  und  $h_P^{82}$  von  $^{82}\text{Se}$  in der Probe ergeben sich somit aus der natürlichen Isotopenverteilung von Selen (vgl. Einleitung). Angereicherte Isotope sind in der Regel Standards mit zertifizierter Isotopenzusammensetzung, daraus ergeben sich die entsprechenden Isotopenanteile  $h_Z^{78}$  und  $h_Z^{82}$ , sowie  $n_Z$ . Analog zu Gleichung [3] gilt, wenn wiederum  $^{78}\text{Se}$  als Bezugsisotop und  $^{82}\text{Se}$  als «Spike» verwendet werden:

$$[7] \quad R_M = \frac{n_P h_P^{78} + n_Z h_Z^{78}}{n_P h_P^{82} + n_Z h_Z^{82}}$$

$$[8] \quad n_P = n_Z \frac{(h_Z^{78} - R_M h_Z^{82})}{R_M h_P^{82} - h_P^{78}}$$

$R_M$  = Isotopenverhältnis ( $^{78}\text{Se}/^{82}\text{Se}$ ) in der Messprobe  
 $h_P^{82}$  = Isotopenanteil von  $^{82}\text{Se}$  in der Probe (%)  
 $h_P^{78}$  = Isotopenanteil von  $^{78}\text{Se}$  in der Probe (%)  
 $h_Z^{82}$  = Isotopenanteil von  $^{82}\text{Se}$  im Spike (%)  
 $h_Z^{78}$  = Isotopenanteil von  $^{78}\text{Se}$  im Spike (%)  
 $n_P$  = Stoffmenge Selen (alle Isotope) in der Probe (mol)  
 $n_Z$  = Stoffmenge Selen (alle Isotope) im Spike (mol)

Analog Gleichung [6] ergibt sich die Berechnungsformel für die Selenkonzentration  $C_B$  in der Probe:

$$[9] \quad C_B = \frac{m_Z M_P (b_Z^{78} - R_M b_Z^{82})}{E_W M_Z (R_M b_P^{82} - b_P^{78})}$$

$C_B$  = Selenkonzentration im Weizen (ng/g)  
 $M_P$  = mittlere Atommasse von natürlichem Selen (= 78,96 g/mol)  
 $M_Z$  = mittlere Atommasse von Selen im Spike (= 81,76 g/mol)  
 $E_W$  = Einwaage Weizen (g)  
 $m_Z$  = Masse von Selen (alle Isotope) im Spike (ng)

Bei der Berechnung nach Formel [9] muss berücksichtigt werden, dass dabei der Fehler durch die instrumentelle Massendiskriminierung nicht eliminiert wird, da unter spektroskopischen Bedingungen nur  $R_M$ , im Gegensatz zu den Häufigkeitsdaten, gemessen wurde. Bei Methode B muss aus diesem Grund überprüft werden, ob die Massendiskriminierung wirklich vernachlässigbar ist.

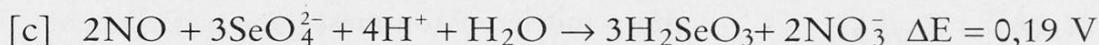
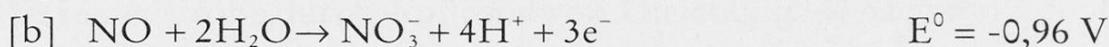
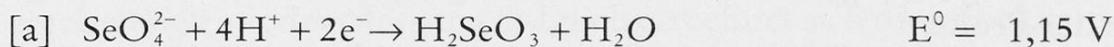
Isotopenverdünnungsanalyse ist besonders nützlich, wenn wie in der Hydridtechnik der Analyt für die Messung chemisch modifiziert werden muss. Verluste (Probelösung, Hydrid), Störungen der Hydridbildungsreaktion durch Übergangsmetalle und Veränderungen am Gerät (z. B. Plasmafluktuationen, «Drift» usw. haben auf das Resultat keinen Einfluss, da das Angereicherte (idealer interner Standard) und das Referenzisotop in ihrem Verhältnis nicht beeinflusst werden.

### Aufschluss

Dem Aufschluss kommt bei der Selenbestimmung entscheidende Bedeutung zu. Es ist bekannt, dass durch Salpetersäureaufschlüsse bei Temperaturen von ca. 200 °C organisch gebundenes Selen (z. B. Selenmethionin) ohne Zusätze (z. B. Perchlorsäure) unvollständig mineralisiert und dadurch mit der Hydridtechnik nur teilweise erfasst wird (12). Die mit dem in dieser Arbeit verwendeten Hochdruckveraschungssystem (HPA) erreichbaren Temperaturen (bis 320 °C) sind jedoch ausreichend, um Selen mit konzentrierter Salpetersäure vollständig zu mineralisieren.

Im Gegensatz zu Schwefel, der durch Salpetersäure glatt zu S(VI) oxydiert wird (13), kann im Fall von Selen nach einem geeigneten Salpetersäureaufschluss (ohne Zusätze) vorwiegend Se(IV) vorliegen. Voraussetzung ist allerdings, dass Stickstoffoxide in hoher Konzentration im System verbleiben und mit eventuell bereits vorher in der Probe vorhandenem Se(VI) reagieren können. Obwohl es sich bei einem Salpetersäureaufschluss um ein sehr komplexes chemisches System handelt, ist die Reduktion von Se(VI) mit den entstehenden Stickstoffoxiden (z. B. NO) theoretisch möglich (Gleichungen [a]–[c]).

Für saure wässrige Lösungen (molare Konzentrationen; pH = 0; 25 °C) gilt mit den entsprechenden Normalpotentialen ( $E^0$ ):



Das angegebene Potential für die Bruttoreaktion (Gleichung [c]) gilt sicher nicht mehr unter den Reaktionsbedingungen im Hochdruckverascher, zeigt aber, dass die entsprechende Reaktion unter den obengenannten Bedingungen theoretisch ablaufen müsste.

*D. Nast* und *F. Jacob* konnten experimentell zeigen, dass nach einem Druckaufschluss von verschiedenen Realproben mit Salpetersäure bei 230 °C Selen in der vierwertigen Form vorliegt (14). Diese Bedingungen sollten auch im HPA erfüllt sein, da es sich um ein geschlossenes System handelt und bei dem hohen Druck (70–100 bar) erwartet werden kann, dass ausreichend NO gelöst bleibt.

## Methodik

### *Chemikalien*

Entionisiertes Wasser Nanopure™ (Barnstead). *Selen(IV)-Standardlösung* 1 g/l (Alfa Products, Art.-Nr. 88094). Angereichertes elementares *Selen-82*, mit folgender zertifizierter Isotopenzusammensetzung: 92,2 ± 0,5% <sup>82</sup>Se; 4,8% <sup>80</sup>Se; 1,76% <sup>78</sup>Se; 0,56% <sup>77</sup>Se; 0,62% <sup>76</sup>Se; 0,06% <sup>74</sup>Se (Cambridge Isotope Laboratories); das elementare Selen (graue «metallische» Modifikation) wurde in konzentrierter Salpetersäure gelöst und verdünnt. Die so erhaltene Stammlösung (2,6% HNO<sub>3</sub>) enthält 149 µg Se(IV)/ml. *Selensäure*, H<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub>, 96% (Merck, Art.-Nr. 12325). *Salzsäure* suprapur, 30% (Merck, Art.-Nr. 318.1000). *Salpetersäure* suprapur, 65% (Merck, Art.-Nr. 441.1000). *Natriumborhydrid*, NaBH<sub>4</sub>, p.a. (Merck, Art.-Nr. 6370.0100). *Natriumhydroxid* > 98% (Fluka, Art.-Nr. 71690). *Referenzmaterial BCR 189* (Vollkornmehl) mit zertifiziertem Selengehalt (132 ± 10 ng/g).

### *Mahlen der Weizenkörner*

Bei den Weizenkörnern wurden, gemäss visueller Prüfung, verschmutzte oder nicht vollständig von der Spelz befreite Körner ausgeschieden. Jeweils etwa 20 g Weizenkörner wurden in einer Ultrazentrifugalmühle (Retsch) gemahlen. Siebeinsatz (0,25 mm) und Rotor bestehen aus Titan. Das entstehende Mehl ist in der Feinheit vergleichbar mit handelsüblicher Ware.

## Aufschluss

Die Proben wurden im Hochdruckverascher HPA (Kürner), ausgerüstet mit 35 ml Quarzgefäßen, mineralisiert. Jeweils 0,3–0,4 g des Mehles wurden in die Quarzgefäße eingewogen und mit 2 ml konzentrierter Salpetersäure überschichtet. Die Gefäße wurden mit Teflonband abgedichtet, dem plangeschliffenen Deckel (Quarz) verschlossen und bei 100 bar Anfangsdruck (Autoklav) nach folgendem Temperaturprogramm erhitzt: 30 min 80–110 °C und 90 min 260 °C. Die Aufschlusslösungen wurden in graduierten Polypropylenröhrchen (Semadeni) mit entionisiertem Wasser auf 5,0 ml verdünnt.

## Herstellung der Messproben

1,25 ml der Veraschungslösungen wurden in Polypropylenröhrchen (Semadeni) pipettiert, die bereits ca. 2 ml 15%ige Salzsäure enthielten. Zu diesen Lösungen wurden jeweils 10 µl der Spikelösung, enthaltend 1,49 ng Se/ml (hergestellt aus der <sup>82</sup>Se-Stammlösung 149 ng Se/ml), pipettiert und mit 15%iger Salzsäure auf die 5-ml-Marke aufgefüllt. Dies bedeutet, dass für einen Selengehalt im Weizen von 100 ng/g das Verhältnis <sup>78</sup>Se/<sup>82</sup>Se ungefähr Eins beträgt. Die Röhrchen wurden verschlossen und gut geschüttelt.

Tabelle 1. ICP-MS- und Fliessinjektions-Parameter

ICP-MS:		Verweilzeit (dwell time)	30 ms		
		Durchlauf/Messwert (sweeps/reading)	3		
		Messwert/Wiederholung (readings/replicate)	80		
		Punkte/Masse	1		
		Wiederholungen (replicates)	3		
		Modus (scanning mode)	Peak Hop Transient		
		Auflösung (resolution)	normal		
		Rf-Energie	1,1 kW		
		Plasma-Argon Fluss	15,0 l/min		
		Hilfs-Argon (auxillary) Fluss	0,8 l/min		
		Transfergas (Argon, Pos. A)	0,97–1,0 l/min		
		Cones (Skimmer)	Nickel <sup>1</sup>		
FIAS-Programm Schritt	Start Integration	Umdrehungsgeschwindigkeit Pumpe 1 (min <sup>-1</sup> )   Pumpe 2 (min <sup>-1</sup> )		Zeit (s)	Ventilstellung
Spülung	–	100	Stopp	20	Füllen
1	–	100	Stopp	20	Füllen
2	–	100	Stopp	2	Füllen
3	<input checked="" type="checkbox"/>	Stopp	120	10	Injizieren
4	–	50	Stopp	2	Füllen
Nachlauf	–	50	Stopp	10	Füllen

<sup>1</sup> Vom Hersteller werden Cones aus Platin empfohlen.

## Messinstrumente

Ein ICP-MS Elan 5000 (Perkin-Elmer/Sciex), ausgerüstet mit der Fliessinjektionsanlage FIAS 200 (Perkin-Elmer) und dem Probengeber AS-90 (Perkin-Elmer) wurde unter den in Tabelle 1 beschriebenen Bedingungen betrieben.

### Systemaufbau

Das Versuchsprinzip ist in Abbildung 1 schematisch dargestellt. Die Messprobe ( $P$ ) wird über die Dosierspirale (Pos. 4) und das Mehrwegventil (Pos. 3) in einen kontinuierlichen Strom 15%iger Salzsäure ( $S$ ) eingeleitet (Stellung «injizieren»). Im Mischkanal (Pos. 5) wird nun die Probe/HCl-Lösung ( $S+P$ ) mit einem ebenfalls kontinuierlichen Strom 0,2%iger Natriumborhydridlösung ( $R$ ) zusammengeführt. Der dabei entstehende Selenwasserstoff ( $X$ ) wird von der wässrigen Phase abgetrennt und mit Argonträgergas ( $A$ ) dem Plasma (Pos. 8) zugeführt.

In der konventionellen ICP-MS tritt anstelle der Fliessinjektionsanlage ein pneumatischer Zerstäuber; die Messlösung gelangt dabei als Aerosol in das Plasma.

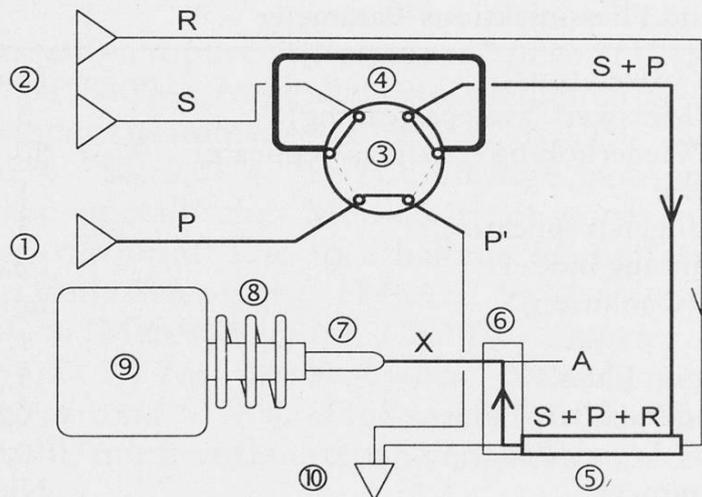


Abb. 1. Systemzeichnung

Gerätepositionen: ① Reagenzienpumpe (peristaltisch); ② Probenpumpe (peristaltisch); ③ 6-Weg-Ventil in der Stellung «injizieren» = fette Linie, Stellung «füllen» = gestrichelte Linie; ④ Proben-Füllschleife (500 µl); ⑤ Mischkanal (Reaktionskanal, Chemifold); ⑥ Gas-Flüssig-Abschneider (ohne Membrane); ⑦ Plasma-Adapter; ⑧ induktiv gekoppeltes Plasma (ICP); ⑨ Quadrupol-Massenspektrometer (M); ⑩ Abflusspumpe, gleichgeschaltet mit Pumpe 2; Chemikalienfluss: R = Reduktionsmittel, 0,2% NaBH<sub>4</sub>; S = Trägerlösung, 15% HCl; P = Probelösung (fette Linie); P' = Probelösung > 500 µl (Überschuss); X = Selenwasserstoff (unbekannte Menge Analyt); A = Trägergas, Argon Fliessinjektionssystem)

## Resultate und Diskussion

### Interferenzen

Ein spezielles Problem in der ICP-MS ist die Bildung von kurzlebigen Molekulationen, die als Untergrund messbar sind. Sie können aus Argon, dem Lösungsmittel ( $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{HCl}$ ,  $\text{HNO}_3$ ) oder der Probenmatrix entstehen. Ein Beispiel für ein kombiniertes Ion ist  $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}$  (Masse/Ladung,  $m/e = 75$ ), welches z. B. die Bestimmung des einzigen Arsenisotops ( $m/e = 75$ ) beeinträchtigt. Im Bereich der Selenisotope stören hauptsächlich die verschiedenen  $\text{Ar}_2$ -Spezies.

Das kontinuierliche Erzeugen des Hydrids, aus einer Lösung mit ca. 2 ng Se/ml in 15%iger Salzsäure, ermöglicht die Aufnahme eines Spektrums (Abb. 2) unter Messbedingungen. Beim Vergleich mit dem entsprechenden Untergrundspektrum ist ersichtlich, dass verschiedene Selenisotope für die Messung nicht mehr zur Verfügung stehen, weil der  $\text{Ar}_2$ -Anteil zu hoch ist. Das Hauptisotop  $^{80}\text{Se}$  wird dabei vom intensiven  $^{40}\text{Ar}^{40}\text{Ar}$ -Signal überlagert und kann nicht gemessen werden. Für die Analytik sind somit nur noch die Isotope  $^{77}\text{Se}$ ,  $^{78}\text{Se}$  und  $^{82}\text{Se}$  geeignet, weil diese einen nur geringen oder gar keinen unspezifischen Signalanteil aufweisen. Eine wesentliche Störung durch  $^{40}\text{Ar}^{37}\text{Cl}$  ist offensichtlich nicht vorhanden, dies war nicht unbedingt zu erwarten, da in chloridhaltigen Lösungen gemessen wurde.  $^{74}\text{Se}$  könnte sich zwar als angereichertes Isotop eignen, kommt aber wegen seiner geringen Häufigkeit kaum als Referenzisotop in Frage. Die Massen 78 und 82 sind zusätzlich noch geringfügig durch die Kryptonisotope  $^{78}\text{Kr}$ , beziehungsweise  $^{82}\text{Kr}$  überlagert. Spuren von Krypton sind als Verunreinigungen im Plasmagas Argon enthalten. Die Signale bei  $m/e = 79$  und  $m/e = 81$  entsprechen Bromverunreinigungen aus der Salzsäure, sind aber für die Selenbestimmung ohne Bedeutung.

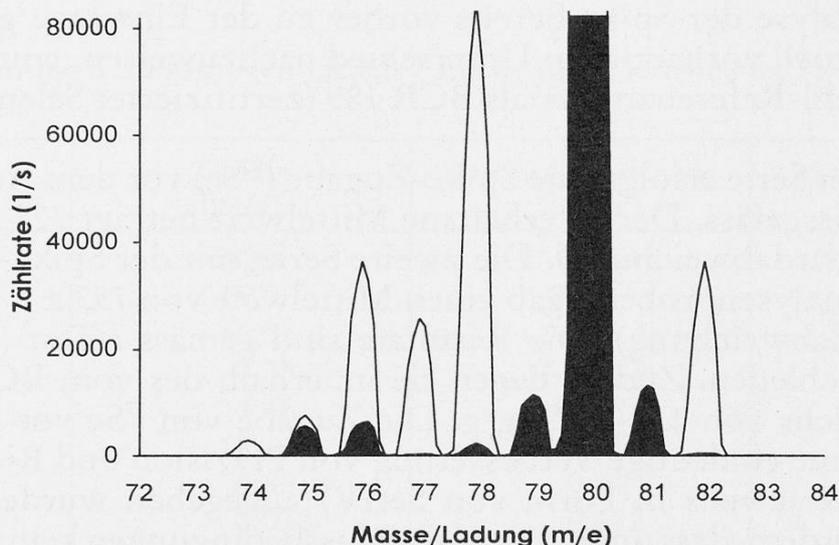


Abb. 2. Massenspektrum im Bereich der natürlichen Selenisotope,  $^{74}\text{Se}$  (0,9%),  $^{76}\text{Se}$  (9,0%),  $^{77}\text{Se}$  (7,6%),  $^{78}\text{Se}$  (23,6%),  $^{80}\text{Se}$  (49,7%) und  $^{82}\text{Se}$  (9,2%), dargestellt mit dem entsprechenden Untergrund (schraffierte Fläche). Das Spektrum wurde bei kontinuierlichem Hydridfluss mit 20 Punkten pro Masse aufgenommen

## Messung

Falls nichts anderes angegeben, so wurden die Messungen nach Gleichung [9] ausgewertet. Nach Subtraktion der Zählraten für  $^{78}\text{Se}$  und  $^{82}\text{Se}$  im Reagenzienblindwert wurden die Verhältnisse direkt aus den integrierten zeitabhängigen Signalen der entsprechenden Isotope gebildet (vgl. Abb. 3). Für die Messprobe des BCR 189 Vollkornmehls (132 ng Se/g) ergab sich beispielsweise ein Verhältnis Analytsignal zu Blindwertsignal von 20 für  $^{78}\text{Se}$ , beziehungsweise von 80 für  $^{82}\text{Se}$ .

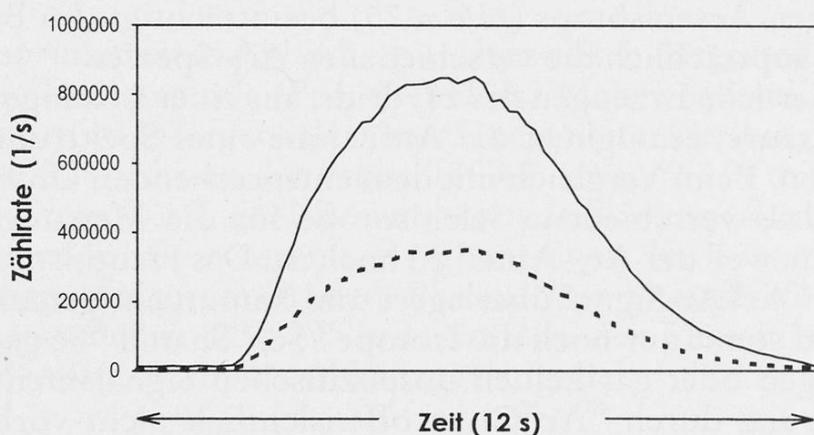


Abb. 3. Zeitabhängige Signale von  $^{78}\text{Se}$  (durchgezogene Linie) und  $^{82}\text{Se}$  (gestrichelte Linie) für natürliches Selen (ohne Spike, 3 ng/mL entsprechend 170 ng/g im Weizen)

## Präzision und Richtigkeit

Um mögliche Verluste beim Aufschluss zu korrigieren, kann bei der Isotopenverdünnungsanalyse der Spike bereits vorher zu der Einwaage gegeben werden. Um einen eventuell vorhandenen Unterschied nachzuweisen, wurden zwei Serien des Vollkornmehl-Referenzmaterials BCR 189 (zertifizierter Selengehalt 132 ng/g) gemessen (15).

Bei der ersten Serie erfolgte die Spike-Zugabe ( $^{82}\text{Se}$ ) vor dem Aufschluss, direkt in das Aufschlussgefäß. Der so erhaltene Mittelwert beträgt  $127 \pm 7 \text{ ng/g}$  (6 Einwaagen,  $\pm$  Standardabweichung). Die zweite Serie, mit der Spike-Zugabe erst zur hergestellten Analysenprobe, ergab einen Mittelwert von  $133 \pm 5 \text{ ng/g}$  (6 Einwaagen,  $\pm$  Standardabweichung). Die Resultate sind gemäss *t*-Test ( $P = 95\%$ ) nicht signifikant verschieden. Zudem liegen sie innerhalb des vom BCR angegebenen Vertrauensbereichs von 122–142 ng/g. Die Zugabe von  $^{82}\text{Se}$  vor dem Aufschluss bringt somit keine eindeutige Verbesserung von Präzision und Richtigkeit.

Da der Spike jeweils in Form von Se(IV) zugegeben wurde, zeigt die erste Messreihe ausserdem, dass unter den Aufschlussbedingungen kein Se(IV) zu Se(VI) oxydiert wird. Da es sich beim HPA um ein Aufschlussystem handelt, bei dem in der Regel keine Verluste zu erwarten sind, und die Aufschlusslösungen für weitere Elementanalysen zur Verfügung stehen sollten, wurde der Spike in der Folge erst nach dem Aufschluss zugegeben.

Die höchste Präzision kann mit der Isotopenverdünnungsanalyse theoretisch dann erreicht werden, wenn das Referenzisotop ( $^{78}\text{Se}$ ) und das zugegebene Isotop ( $^{82}\text{Se}$ ) ein Verhältnis von etwa Eins bilden (11, 16). Dies ist unter unseren experimentellen Bedingungen für Selengehalte von etwa 100 ng/g gewährleistet.

$^{77}\text{Se}$  kann sich ebenfalls als Referenzisotop eignen, da bei dieser Masse keine isobaren oder  $\text{Ar}_2$ -Interferenzen zu erwarten sind (17). Das Verhältnis zum angereicherten Isotop  $^{82}\text{Se}$  ist jedoch in jedem Fall günstiger ( $\sim 1$ ), wenn, wie auch in der vorliegenden Arbeit,  $^{78}\text{Se}$  als Referenzisotop verwendet wird (18).

### *Homogenität des Probenmaterials*

Zur Überprüfung der Homogenität des Mahlgutes wurden je sieben Einwaagen einer Weizenprobe bezüglich Selen (Hydrid-ICP-MS) und weiterer Elemente (ICP-MS, Zerstäuber) gemessen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 zusammengestellt. Die Variationskoeffizienten (VK) der Selengehalte für das Vollkornmehl-Referenzmaterial BCR 189 (3,7%, vgl. Abschnitt «Präzision und Richtigkeit») und der gemahlene Probe (3,9%) sind vergleichbar. Da es sich bei dem Referenzmaterial um erwiesenermassen homogenes Material handelt (15), kann die untersuchte Weizenprobe hinsichtlich Selen ebenfalls als einheitlich bezeichnet werden. Auch die übrigen Elemente geben keine Hinweise auf Inhomogenitäten. Mit Ausnahme von Blei wurden Variationskoeffizienten von 5–7% erhalten. Dieses Ergebnis entspricht erfahrungsgemäss der Reproduzierbarkeit der Methode. Der grössere Variationskoeffizient für Blei könnte mit Kontamination erklärt werden, ein häufiges Problem für dieses Element bei Proben mit tiefen Gehalten.

*Tabelle 2.* Bestimmung der Homogenität mit 7 Einwaagen (300–400 mg) einer Weizenprobe aus Chur

Element (gemessene Isotope)	Gehalt ( $\mu\text{g/g}$ )	Standardabweichung ( $\mu\text{g/g}$ )	Variationskoeffizienten (%)
<i>Se (78 und 82)</i> <sup>1</sup>	0,064	0,003	3,9
Ca (43)	313,0	21,4	6,8
Mn (55)	36,5	2,5	6,7
Ni (60)	0,359	0,017	4,7
Cu (63)	4,46	0,28	6,3
Zn (66)	18,1	1,10	6,1
Sr (88)	5,83	0,41	7,0
Cd (111)	0,030	0,002	6,0
Ba (138)	5,12	0,34	6,7
Pb (208)	0,029	0,004	13,1

<sup>1</sup> Als Hydrid gemessen mit Isotopenverdünnungskalibration, die übrigen Elemente mit Zerstäuber und Kalibration mit externen Bezugslösungen.

## Oxidationsstufen von Selen

Zur Überprüfung, ob in den Proben vorhandenes Se(VI) nach dem Aufschluss als Se(IV) vorliegt (vgl. Abschnitt Theorie, Aufschluss), wurden zu mehreren Einwaagen von Weizenproben jeweils 100 µl Se(VI) als H<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub>-Lösung (0,96 mg Se/l) direkt in das Aufschlussgefäß zugegeben. Die Mischungen wurden analog einer Weizenprobe aufgeschlossen. Dabei wurden Wiederfindungsraten im Bereich von 90% (Tabelle 3) erreicht. Dieser Befund bestätigt die Annahme, dass bei den gewählten Aufschlussbedingungen Se(VI) weitgehend zu Se(IV) reduziert wird. Selbst in Ansätzen ohne Probenmatrix (reine Salpetersäure) wird Se(VI) noch zum überwiegenden Teil (> 70%) reduziert. Dies kann jedoch nicht mehr befriedigend mit einer Reduktion durch NO erklärt werden. In Anbetracht der geringen eingesetzten Se(VI)-Mengen spielen möglicherweise die Quarzoberfläche oder Verunreinigungen in der Säure eine Rolle. Bei Vergleichsmessungen von Se(VI) ohne Aufschluss ist andererseits die Wiederfindungsrate mit rund 5% wie erwartet sehr gering, was auch zeigt, dass das in den Messproben vorhandene Se(VI) durch das Stehenlassen in 15%iger Salzsäure bei Raumtemperatur (3 h) kaum reduziert wird.

Tabelle 3. Wiederfindungen von 96 ng Se (VI) nach Aufschluss

Matrix	mittlere Wiederfindung <sup>1</sup> (%)	Wiederholungen
Weizen mit 3 ng/g Se-Eigengehalt	92 ± 2,1	4
Weizen mit 86 ng/g Se-Eigengehalt	91 (2,7)	2
ohne Weizen	73 (6,5)	2
ohne Weizen, ohne Aufschluss	5,0 ± 0,1	3

<sup>1</sup> Bei mehr als 2 Wiederholungen ist die Standardabweichung (%) angegeben, ansonsten die Differenz.

### Konzentrationsabhängigkeit der Wiederfindung von zugesetztem Selen (IV)

Durch ein Wiederfindungsexperiment wurde das Verfahren auf konstant- und proportional-systematische Abweichungen hin untersucht. Dazu wurden Lösungen von Weizenproben (Mischmatrix mit Selenkonzentrationen < 3 ng/g) jeweils mit dem Spike (<sup>82</sup>Se) und variablen Mengen Se(IV) versetzt. Eine Lösung ohne Spike und Selenzusatz wurde als Blindwert verwendet. Die Ergebnisse dieser Messungen sind in Abbildung 4 dargestellt. Anhand von 22 Messungen wurde die Anwendbarkeit des Verfahrens über den zu erwartenden Arbeitsbereich untersucht. Im Idealfall ergibt die Wiederfindungsfunktion eine Gerade ( $y = a + bx$ ) mit dem Achsenabschnitt  $a = 0$  und der Steigung  $b = 1$ . Da die Messwerte aber zufällige Fehler aufweisen, werden die Idealwerte kaum je exakt erreicht. Ob ein signifikanter Unterschied zu den Idealwerten nachweisbar ist, wurde mittels des  $t$ -Tests wie folgt ermittelt (19):  $t_a = |a|/s_a$ ;  $t_b = |(b-1)|/s_b$  ( $t$  = Student Faktor,  $P = 95\%$ ,  $v = n-2$ )

Für die Wiederfindungsfunktion ( $a = 0,019 \pm 0,012$ ;  $b = 0,985 \pm 0,008$ ) gemäss Abbildung 4 ergaben sich die Werte  $t_a = 1,58$  und  $t_b = 1,88$ , die beide unter dem kritischen Wert  $t = 2,09$  ( $P = 95\%$ ;  $v = 20$ ) liegen; d. h. es ist keine signifikante Abweichung von den Idealwerten ( $a = 0$ ;  $b = 1$ ) nachweisbar. Das beschriebene Verfahren kann daher für Selengehalte im Weizen bis etwa 200 ng/g angewendet werden, ohne dass konzentrationsabhängige Fehler zu erwarten sind. Weil für diese Experimente reale Proben eingesetzt wurden, können auch mögliche Matrixeinflüsse ausgeschlossen werden. Ferner hat sich gezeigt, dass die Blindwertkorrektur (vgl. Abschnitt Messung) zulässig ist und dass unspezifische Beiträge bei den Signalen  $m/e = 78$  und  $m/e = 82$  die Resultate nicht beeinflussen (vgl. Abschnitt Interferenzen).

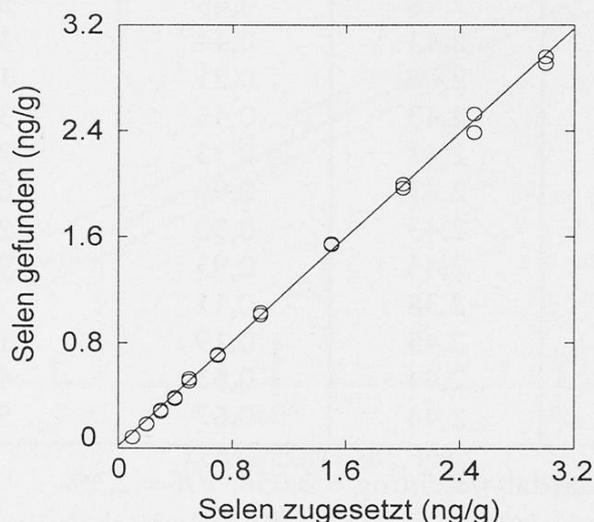


Abb. 4. Wiederfindung von zugesetztem Selen aus einer Weizenprobe, mit der entsprechenden Regressionsgeraden:  $Se_{gef.} = (0,02 \pm 0,01) + (0,99 \pm 0,01) Se_{zuges.}$

#### *Methoden A und B im Vergleich, Einfluss der Massendiskriminierung*

Zur quantitativen Bestimmung der Massendiskriminierung wird bevorzugt ein Referenzmaterial von zertifizierter Isotopenzusammensetzung unter identischen Bedingungen wie die Messproben gemessen. Weil solches Material nicht zur Verfügung stand, wurde eine Serie Weizenproben mit unterschiedlichen natürlichen Selengehalten gemessen und jeweils mit den Methoden A und B ausgewertet. Durch Auswertung mit Gleichung [6] wird der Selengehalt  $C_A$  nach Methode A erhalten. Durch den Vergleich mit dem nach Methode B berechneten Selengehalt  $C_B$  (Gleichung [9]) wird der Einfluss der Massendiskriminierung auf das Resultat erkennbar. Aus diesem Querschnitt von natürlichem Material lässt sich der Fehler von Methode B abschätzen. Dabei wird allerdings vorausgesetzt, dass Methode A richtige Ergebnisse liefert.

Für den Vergleich wurde die Regressionsgerade  $C_B = a' + C_{AB}b'$  ( $a' = 0,643 \pm 0,260$  ng/g;  $b' = 0,955 \pm 0,005$ ) berechnet und  $a'$  und  $b'$  mit dem  $t$ -Test auf signifikante Abweichungen von  $a' = 0$  und  $b' = 1$  geprüft. Mit den Werten aus

Tabelle 4. Einfluss der Massendiskriminierung auf das Ergebnis der Bestimmung von Selen mit Isotopenverdünnungskalibration

Probe		$^{78}\text{Se}/^{82}\text{Se}$ -Verhältnis		Selengehalt	
Weizen Nr.	Einwaage (mg)	in der Probe <sup>1</sup> $R_p$	in der Mischung $R_M$	berechnet nach Methode A <sup>2</sup> $C_A$ (ng/g)	berechnet nach Methode B <sup>3</sup> $C_B$ (ng/g)
Probe 1	355	2,44	0,68	61,4	59,6
Probe 2	346	2,63	0,13	7,1	7,7
Probe 3	353	2,44	0,79	77,0	74,5
Probe 4	345	2,39	0,39	30,5	29,2
Probe 5	349	2,48	0,66	58,0	57,6
Probe 6	354	2,43	0,44	34,3	33,5
Probe 7	352	2,40	0,21	14,6	14,2
Probe 8	356	2,43	0,45	34,8	34,0
Probe 9	350	2,41	0,33	24,7	24,0
Probe 10	356	2,43	0,94	100,6	96,0
Probe 11	345	2,43	0,32	23,5	23,0
Probe 12	354	2,43	0,93	99,6	94,9
Probe 13	350	2,38	0,11	6,5	6,3
Probe 14	351	2,45	0,19	12,4	12,3
Probe 15	354	2,44	0,53	44,0	42,9
Probe 16	358	2,44	0,67	59,7	57,9

<sup>1</sup> Mittelwert = 2,44, Standardabweichung = 0,056, VK = 2,3%

<sup>2</sup> Berechnet nach Gleichung [6]; gemessenes  $^{78}\text{Se}/^{82}\text{Se}$ -Verhältnis im Spike  $R_Z = 0,0204 \pm 0,0002$  (5 Messungen)

<sup>3</sup> Berechnet nach Gleichung [9]

Tabelle 4 ergibt sich:  $t_a = 2,5$ ;  $t_b = 9$ ;  $t = 1,76$  ( $P = 95\%$ ,  $v = 14$ ) d. h.  $a' \neq 0$  und  $b' \neq 1$ . Zwischen den beiden Auswertungsmethoden ergeben sich somit systematische Abweichungen. Der Achsenabschnitt  $a'$  ist offenbar nur wenig verschieden von Null, hingegen unterscheidet sich  $b'$  hochsignifikant von Eins. Wird  $a'$  als praktisch Null betrachtet, ergibt sich mit Methode B ein Minderbefund von etwa 4%, falls davon ausgegangen wird, dass Methode A richtige Ergebnisse liefert.

Die Variationen von  $R_p$  müssen Messfehlern entsprechen, da die natürlichen Schwankungen in den Selen-Isotopenhäufigkeiten gemäss Literatur nur etwa 0,0001% betragen (13).

### Nachweisgrenze

Zur realistischen Abschätzung der (absoluten) Nachweisgrenze  $C_N$  mittels Methode B wurden die Verhältnisse  $R$  ( $^{78}\text{Se}/^{82}\text{Se}$ ) in einer Serie von Selenstandardlösungen mit sehr geringen Konzentrationen (0,05; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 und 0,5 ng/ml) unter identischen Bedingungen wie die Messproben je 4mal gemessen. Die Messergebnisse sind ausschnittsweise (bis 0,1 ng/ml) zusammen mit der entsprechenden

Regressionsgeraden und den Prognosebereichen in Abbildung 5 graphisch dargestellt. Aus dem Schnittpunkt des oberen Prognosebereiches ( $v = 26$ ,  $P = 95\%$ ) mit der Ordinate im Punkt  $R_y$  ergibt sich die Nachweisgrenze gemäss Abbildung 5 zu  $C_N = 0,02$  ng/ml, sofern angenommen wird, dass bei sehr tiefen Konzentrationen ( $C \rightarrow C_N$ ) keine Abweichung vom linearen Verhalten besteht. Der so erhaltene Wert ist identisch mit dem Wert anderer Autoren für eine vergleichbare Methode (18). Entsprechend umgerechnet auf Weizenproben ergibt sich eine Nachweisgrenze von etwa 1 ng/g.

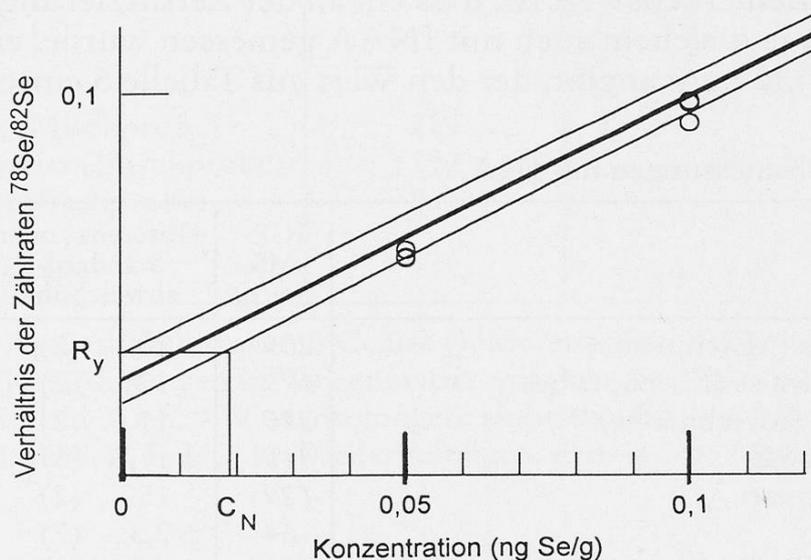


Abb. 5. Ermittlung der absoluten Nachweisgrenze, Verhältnis der Zählraten  $^{78}\text{Se}/^{82}\text{Se}$  in Abhängigkeit der Konzentration von natürlichem Selen (Ausschnitt im Bereich bis 0,1 ng/ml). Die Regressionsgerade, berechnet aus allen Messwerten für 0,05, 0,1, 0,2, 0,3, 0,4 und 0,5 ng/ml zugegebenes Selen, ist zusammen mit dem Prognosebereich ( $P = 95\%$ ) dargestellt.

#### Vergleich der Resultate mit instrumenteller Neutronenaktivierungsanalyse

Um die Richtigkeit der Resultate anderweitig zu überprüfen, wurden die Selenkonzentrationen in ausgewählten Weizen- und Mehlsproben mit Instrumenteller Neutronenaktivierungsanalyse (INAA) bestimmt. Der Vorteil der INAA als unabhängige Kontrollmethode zur Qualitätssicherung besteht darin, dass die Messungen ohne Aufschluss der Probe, d. h. zerstörungsfrei, durchgeführt werden können und dass die chemische Form des Selens in der Probe bedeutungslos ist. Diese Methode eignet sich folglich ausgezeichnet zur Bestimmung des Totalgehaltes, da mögliche Fehler durch unvollständige Mineralisation oder Verluste ausgeschlossen sind. Ferner entfällt auch die durch Natriumborhydrid und andere Reagenzien bedingte Blindwertproblematik.

In Tabelle 5 sind die Ergebnisse der INAA und ICP-MS-Messungen zusammengestellt. Die Übereinstimmung der ICP-MS-Resultate mit jenen der INAA erscheint befriedigend. Durch einen Paarvergleich ( $t$ -Test) lässt sich zeigen, dass sich der Mittelwert der Resultatdifferenzen zwischen beiden Methoden nicht

signifikant ( $P = 0,95$ ) von Null unterscheidet. Dieser statistische Test basiert auf der Standardabweichung der Differenzen und ist auch anwendbar, wenn sich die Standardabweichungen der einzelnen analytischen Verfahren voneinander unterscheiden (21, 22). Durch diese Art der Validierung wird auch bestätigt, dass der verwendete Aufschluss erstens vollständig ist und zweitens Selen in der Aufschlusslösung überwiegend als Se(IV) vorliegt.

Der Messwert für die zertifizierte Vollkornmehlreferenzprobe BCR 189 liegt für die INAA-Messungen knapp ausserhalb des Vertrauensbereichs von 122–142 ng/g (Tabelle 5). Bemerkenswert ist, dass ein an der Zertifizierung dieses Materials beteiligtes Labor, in welchem auch mit INAA gemessen wurde, einen Vertrauensbereich von 110–150 ng/g angibt, der den Wert aus Tabelle 5 einschliesst (15).

Tabelle 5. Vergleichsmessungen mit INAA

Probe	ICP-MS (ng/g)	Differenz <sup>1</sup> oder Standard- abweichung	INAA <sup>2</sup> (ng/g)	$d_i$ <sup>3</sup> (ng/g)
Weizenmehl weiss (Mischprobe)	209	20 (2)	255	-46
Weizenmehl halbweiss (Mischprobe)	179	10 (2)	168	11
Weizenmehl ruch (Mischprobe)	240	11 (2)	225	15
Weizen aus Buchs SG	348	± 11,8 (3)	340	8
Weizen aus Landquart	129	15 (2)	119	10
Weizen aus Chur	64	± 2,5 (7)	70	-6
Vollkornmehl BCR 189 (zert. 132 ± 10 ng Se/g)	133	± 4,9 (6)	113	20

<sup>1</sup> Die Werte in Klammern bezeichnen die Anzahl unabhängiger Wiederholungen, bei mehr als 2 ist die Standardabweichung angegeben, ansonsten die Differenz der Messwerte.

<sup>2</sup> L. Tobler, Paul-Scherrer-Institut, Villigen, Angabe der Präzision mit 5% (20).

<sup>3</sup> Differenzwerte  $d_i$  von 7 Beobachtungspaaren (ICP-MS und INAA), Mittelwert ( $d_i$ ) = 2 ng/g, Standardabweichung ( $d_i$ ) = 23 ng/g;  $t = (2/23) \sqrt{7} = 0,2$ ;  $t(P = 0,95, \gamma = 6) = 2,4$  (21, 22).

### Vergleich mit Hydrid-AAS

Interessant ist auch der Vergleich mit dem entsprechenden Hydrid-AAS-Verfahren. Beide Methoden wurden absolut identisch bezüglich Veraschung und Darstellung des Hydrids mittels Fliessinjektionstechnik (FIAS 200) durchgeführt. Der physikalische Unterschied bestand somit nur im analytischen Messprinzip; einerseits der Zählrate von Se<sup>+</sup>-Ionen, andererseits der charakteristischen Lichtabsorption von atomisiertem Selen (196 nm). Von wesentlicher Bedeutung ist in diesem Zusammenhang jedoch die unterschiedliche Art der Kalibration. Die Resultate sind in Tabelle 6 zusammengestellt.

Die Übereinstimmung der Resultate ist einerseits zufriedenstellend, andererseits, wie die Ergebnisse für die BCR 189 Probe (als Qualitätskontrollprobe eingesetzt) zeigen, ist bei der AAS-Methode mit externer Kalibration, in der entspre-

*Tabelle 6.* Vergleich Hydrid-AAS mit Hydrid-ICP-MS (Einzeleinwaagen, mit Ausnahme der Probe aus Buchs und den Weizenmehlen, siehe auch Tabelle 5)

Weizenproben	Hydrid-AAS <sup>1</sup> (ng/g)	Hydrid AAS <sup>2</sup> (ng/g)	Hydrid-ICP-MS (ng/g)
Münchenbuchsee		63	80
Buchs		365	348
St. Margrethen		48	56
Aarberg		59	65
Thüringen		21	30
Buswil		25	34
Weizenmehl weiss (Mischprobe)	214		209
Weizenmehl halbweiss (Mischprobe)	192		179
Weizenmehl ruch (Mischprobe)	243		240
Vollkornmehl BCR 189		135 ± 17,4 <sup>3</sup>	126 ± 1,4 <sup>4</sup>

<sup>1</sup> J. Kumpulainen, Agricultural Research Centre (Jokioinen, Finnland).

<sup>2</sup> Kalibration mit Bezugslösungen in Weizenmatrix mit geringem Selengehalt (< 5 ng/g).

<sup>3</sup> Kontrollprobe Hydrid-AAS, 9 Wiederholungen, einheitliche Messprobe.

<sup>4</sup> Kontrollprobe Hydrid-ICP-MS, 10 Wiederholungen, einheitliche Messprobe (vgl. auch Tabelle 5).

chenden Matrix, mit einer höheren Streuung der Resultate zu rechnen. Dies ist bedingt durch die spezifischen Nachteile der AAS (Spektrale Interferenzen, Verluste, Beschaffenheit der Quarzküvette usw.).

Zusätzlich wurden unsere Ergebnisse für Weizenmehle mit den früheren Messungen eines externen Laboratoriums (ohne Fliessinjektionstechnik) verglichen (23), die Übereinstimmung ist befriedigend. Die Graphitrohr-AAS mit Palladium-Modifizier, wie von uns früher bearbeitet, ist als Vergleichsmethode weniger gut geeignet, da nur Selenkonzentrationen im Weizen > 100 ng/g sicher bestimmt werden können (6).

### *Routineuntersuchung von Weizen*

Für die Untersuchung einer grösseren Anzahl von Weizenproben (ca. 150) wurde das Referenzmaterial BCR 189 als Qualitätskontrollprobe verwendet. Jeweils nach 10 Proben wurde es als Kontrollprobe eingesetzt. Ein typisches Resultat dieser Kontrollmessungen für zwei Serien, die an verschiedenen Tagen gemessen wurden, ist in Abbildung 6 zusammengefasst. Die Gegenüberstellung dieser Resultate mit den jeweils gemessenen Zählraten für das angereicherte Isotop <sup>82</sup>Se und das Referenzisotop <sup>78</sup>Se demonstriert die eigentliche Stärke der Methode. Die absoluten Intensitäten beider Isotope können in Abhängigkeit der Tagesjustierung des Gerätes und innerhalb einer Messreihe variieren. Der Vergleich zeigt aber, dass

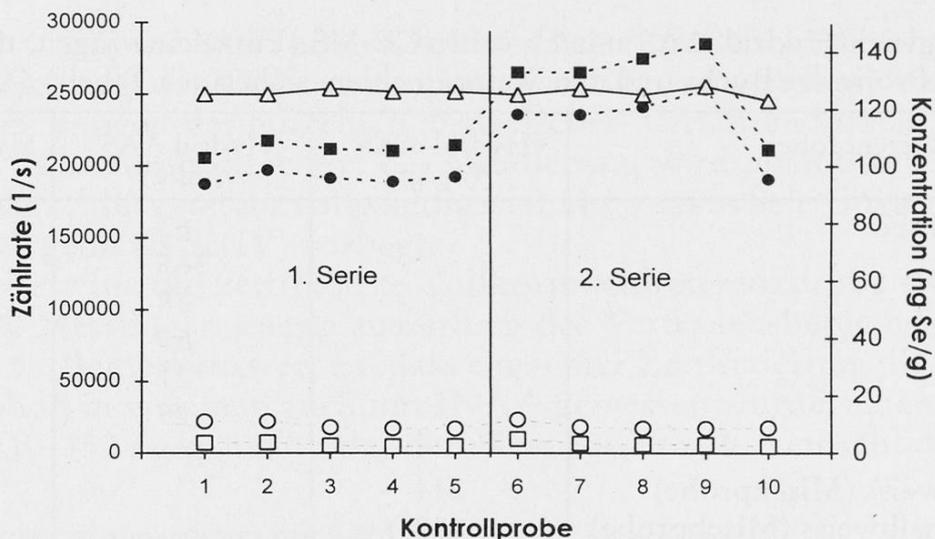


Abb. 6. Resultate der Qualitätskontrollproben ( $\Delta$ , Vollkornmehl BCR 189, einheitliche Messprobe), von 2 Serien (an verschiedenen Tagen gemessen) im Vergleich mit den erhaltenen Signalintensitäten für  $^{82}\text{Se}$  (■),  $^{78}\text{Se}$  (●) der Probe und  $^{82}\text{Se}$  (□),  $^{78}\text{Se}$  (○) des Blindwertes (ohne Zugabe von  $^{82}\text{Se}$ )

die Empfindlichkeitsänderungen praktisch keinen Einfluss auf das Resultat haben, weil zur Berechnung nur die Verhältnisse massgebend sind (vgl. auch Tabelle 6). Der ebenfalls jeweils nach 10 Proben erneut gemessene Reagenzienblindwert bleibt während der Messung konstant. Das bedeutet auch, dass keine nennenswerte Verschleppung des Analyts stattfindet.

Die Ergebnisse der Selenanalysen dieser gesamtschweizerisch erhobenen Weizenproben sind Gegenstand einer künftigen Veröffentlichung. Diese wird geographische Aspekte und Vergleichsmessungen von Selen in Brot enthalten.

### Schlussfolgerungen

Durch Kopplung mit einem Hydridsystem wird die ICP-MS zu einer äusserst empfindlichen Methode für die Selenbestimmung, die sich auch für den routinemässigen Einsatz eignet. Spektrale Interferenzen, wie etwa in der Hydrid-AAS (Molekülabsorption, Interferenz durch Arsen usw.), sind vergleichsweise unbedeutend. Zwar werden auf den verwendeten Massen 78 und 82 unspezifische Signale von  $^{40}\text{Ar}^{38}\text{Ar}$ ,  $^{78}\text{Kr}$ , bzw.  $^{82}\text{Kr}$  beobachtet, welche sich jedoch über eine Blindwertkorrektur eliminieren lassen. Durch die Anwendung der Isotopenverdünnungskalibration können chemische Interferenzen (Übergangsmetalle, Nitrit) beseitigt und die Präzision gegenüber einer externen Kalibration deutlich verbessert werden. Auch Transportinterferenzen und Plasmafluktuationen werden ausgeglichen, da das angereicherte Isotop ( $^{82}\text{Se}$ ) zugleich ein idealer interner Standard ist. Bei der Isotopenverdünnungskalibration ist es wichtig, den Einfluss der instrumentellen

Massendiskriminierung zu kennen. Im vorliegenden Fall von Selen ( $^{78}\text{Se}$  und  $^{82}\text{Se}$ ) ist der Minderbefund von etwa 4% aber verhältnismässig gering.

Die allgemeine Problematik bei der Hydridtechnik für Selen, die Unempfindlichkeit von Se(VI), bleibt naturgemäss bestehen. Durch entsprechende Wahl der Aufschlussbedingungen kann jedoch erreicht werden, dass praktisch nur noch Se(IV) in der Messprobe vorliegt, so dass eine Vorreduktion nicht durchgeführt werden muss. Soll die Methode zur Bestimmung von Selen in anderen Probenmaterialien als Weizen angewendet werden, muss dieser Aspekt jedoch erneut überprüft werden.

### *Dank*

Wir danken Herrn *F. Zurflüh* vom Bundesamt für Landwirtschaft (vormals Eidg. Getreideverwaltung), Bern, für die Bereitstellung der Weizenkörner, Herrn *L. Tobler* vom Paul-Scherrer-Institut, Würenlingen, für die Vergleichsanalysen mit Neutronenaktivierung und Frau *T. Venner* für die Mithilfe bei den experimentellen Arbeiten.

### *Zusammenfassung*

Die Methode eignet sich zur Bestimmung von Selen im Weizen als Hydrid mit induktivgekoppelter Plasma-Massenspektrometrie (ICP-MS). Die Salpetersäureaufschlüsse wurden in einem Hochdruckverascher durchgeführt und die Hydride ohne Vorreduktion in einem Fliessinjektionssystem erzeugt. Für die Isotopenverdünnungskalibration wurde das zugegebene  $^{82}\text{Se}$  (Spike) auf  $^{78}\text{Se}$  als Referenzisotop bezogen. Die  $^{78}\text{Se}/^{82}\text{Se}$ -Verhältnisse wurden im Gasstrom gemessen. Präzision und Richtigkeit wurden mit dem Vollkornmehl-Referenzmaterial BCR 189 (zertifiziert  $132 \pm 10$  ng Se/g) bestimmt. Die Werte für zwei Serien ( $133 \pm 5$  ng/g und  $127 \pm 7$  ng/g; je 6 Wiederholungen pro Serie) stimmen mit dem zertifizierten Gehalt überein. Bei der zweiten Serie wurde  $^{82}\text{Se}$  bereits vor der Veraschung zugegeben. Durch Wiederfindungsexperimente wurden bis 200 ng Se/g Weizen keine systematischen Abweichungen nachgewiesen. Die Vernachlässigung der instrumentellen Massendiskriminierung ergab einen Fehler von etwa 4%. Der Vergleich mit instrumenteller Neutronenaktivierungsanalyse (INAA) als unabhängige Kontrollmethode zeigte befriedigende Übereinstimmung.

### *Résumé*

La méthode décrite ci-dessus permet le dosage du sélénium dans le froment, après obtention d'hydrure de sélénium, au moyen de la spectrométrie de masse couplée au plasma par induction (ICP-MS). La désagrégation en milieu d'acide nitrique a été effectuée dans un incinérateur à haute pression. Ensuite, les hydrures ont été préparés sans réduction préalable dans un système d'injection à la chaîne. Lors de l'étalonnage par dilution des isotopes, le rapport est établi entre  $^{82}\text{Se}$  («Spike») et le  $^{78}\text{Se}$  comme isotope de référence. Les rapports  $^{78}\text{Se}/^{82}\text{Se}$  ont été mesurés dans un courant gazeux. Exactitude et justesse ont été déterminées en utilisant une farine complète de référence BCR 189 (certifié  $132 \pm 10$  ng Se/g). Les valeurs de deux séries ( $133 \pm 5$  ng/g et  $127 \pm 7$  ng/g; 6 valeurs par série) correspondent à la teneur certifiée. Dans la deuxième série, le  $^{82}\text{Se}$  a été ajouté déjà avant l'incinération. Aucune

déviations systématiques jusqu'à 200 ng Se/g de froment n'a été constatée lors de l'établissement des taux de récupération. Il y a cependant une erreur d'environ 4% si l'on ne tient pas compte de la discrimination de masse par l'instrument. La comparaison avec l'analyse instrumentale de l'activation des neutrons (INAA) comme méthode de contrôle indépendante démontre une conformité satisfaisante.

### Summary

A method for the determination of selenium in wheat by means of hydride generation inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) is described. It involves wet digestion with nitric acid in a high pressure asher and subsequent on-line generation of the hydrides in a flow-injection system without pre-reduction. The calibration is based on isotope dilution with  $^{82}\text{Se}$  as spike related to  $^{78}\text{Se}$  as reference isotope. The  $^{78}\text{Se}/^{82}\text{Se}$ -ratios were measured in the gas stream. Precision and accuracy were established using the wheat flour standard reference material BCR 189 (certified  $132 \pm 10$  ng/g). With the data for 2 series ( $133 \pm 5$  ng/g and  $127 \pm 7$  ng/g; 6 replicates for each series) good agreement with the certified value was obtained. The second value was obtained for a series spiked with  $^{82}\text{Se}$  before wet ashing. Multilevel recoveries of added selenium to wheat samples revealed no systematic deviation. Neglecting instrumental mass discrimination amounts to a bias of about 4%. Comparison of some results with independent control measurements using instrumental neutron activation analysis (INAA) showed satisfactory agreement.

### Literatur

1. Forchhammer, K. und Böck, A.: Selenocystein: Katalytische Funktion und spezifischer Einbau in Proteine. *Nachr. Chem. Tech. Lab.* **39**, 966–971 (1991).
2. *National Research Council: Recommended dietary allowances*, 10th edition, pp. 217–224. National Academy Press, Washington D.C. 1989.
3. Erard, M., Miserez, A. et Zimmerli, B.: Exposition des nourrissons au plomb, cadmium, zinc et sélénium de provenance alimentaire. *Trav. chim. aliment. hyg.* **73**, 394–411 (1982).
4. Wyttenbach, A., Bajo, S., Tobler, L. and Zimmerli, B.: The concentration of 19 trace elements in the Swiss diet. In: Brätter, P. and Schramel, P. (eds.), *Trace element – analytical chemistry in medicine and biology*, Vol. 4, pp. 169–178. Walter de Gruyter & Co., Berlin, New York 1987.
5. Erard, M. et Zimmerli, B.: Influence de différents modificateur de matrice sur le dosage de sélénium dans les céréales par spectrométrie d'absorption atomique avec technique du four à tube graphite. *Trav. chim. aliment. hyg.* **80**, 452–466 (1989).
6. Erard, M., Haldimann, M. und Zimmerli, B.: Selenbestimmung in Getreide und Getreideprodukten. In: Welz, B. (Hrsg.), 5. Colloquium Atomspektrometrische Spurenanalytik, S. 789–798, Bodenseewerk Perkin-Elmer & Co. GmbH 1989.
7. Jarvis, K.E., Gray, A.L. and Houk, R.S.: *Handbook of inductively coupled plasma mass spectrometry*, pp. 100–105, Chapman and Hall, New York 1992.
8. Godden, R.G. and Thomerson, D.R.: Generation of covalent hydrides in atomic absorption spectroscopy. A review. *Analyst* **105**, 1137–1156 (1980).
9. Agterdenbos, J. and Bax, D.: Mechanism in hydride generation AAS. *Z. Anal. Chem.* **323**, 783–787 (1986).

10. *Longerich, H.P.*: The application of isotope dilution to inductively coupled plasma-mass spectrometry. *Atomic Spectroscopy* **10**, 112–115 (1989).
11. *Heumann, K.G.*: Isotope mass dilution spectrometry. In: Adams, F., Gijbels, R. and van Grieken, R. (eds.), *Inorganic mass spectrometry*, pp. 301–313. John Wiley and Sons, New York 1988.
12. *Welz, B., Melcher, M. and Nève, J.*: Determination of selenium in human body fluids by hydride-generation atomic absorption spectrometry. *Anal. Chim. Acta.* **65**, 131–140 (1984).
13. *Greenwood, N.N. and Eamshaw, A.*: *Chemie der Elemente*, S. 21–23. VCH-Verlagsgesellschaft, Weinheim 1990.
14. *Nast, D. und Jacob, F.*: Einfacher Druckaufschluss zur Selenbestimmung. In: Welz, B. (Hrsg.), *4. Colloquium Atomspektrometrische Spurenanalytik*, S. 369–374. Bodensee-werk Perkin-Elmer & Co. GmbH 1987.
15. *Wagstaffe, P.J., Griepink, B., Muntau, H. and Schramel, P.*: The certification of the contents (mass fractions) of Cd, Pb, Se, Zn, Fe, and Mn in whole meal flour and lyophilized brown bread reference materials. Office for Official Publications of the European Communities, Brussels/Luxembourg 1987 (EUR 10997 EN).
16. *van Heuzen, A.A., Hoekstra, T. and van Wingerden, B.*: Precision and accuracy attainable with isotope dilution analysis applied to inductively coupled plasma mass spectrometry: theory and experiments. *J. Anal. At. Spectrom.* **4**, 483–489 (1989).
17. *Ting, B.T.G., Mooers, C.S. and Janghorbani, M.*: Isotopic determination of selenium in biological materials with inductively coupled plasma mass spectrometry. *Analyst* **114**, 667–674 (1989).
18. *Buckley, W.T., Budac, J.J. and Godfrey, D.V.*: Determination of selenium by inductively coupled plasma mass spectrometry utilizing a new hydride generation sample introduction system. *Anal. Chem.* **64**, 724–729 (1992).
19. *Funk, W., Dammann, V. und Donnevert, G.*: Qualitätssicherung in der Analytischen Chemie, S. 27–38. VCH-Verlagsgesellschaft, Weinheim 1992.
20. *Tobler, L.*: Paul-Scherrer-Institut, Villigen/Würenlingen, persönliche Mitteilung, 1993.
21. *Rey, G. und Kreuter, U.*: *Statistik im Laboratorium*, S. 45–46. Separatdruck der Schweizerischen Laboratoriumszeitschrift, Basel 1986.
22. *Wernimont, G.T.*: Use of statistics to develop and evaluate analytical methods, pp. 48–50. Association of Official Analytical Chemists, Arlington 1985.
23. *Kumpulainen, J.*: Agricultural Research Centre, Jokioinen, Finland, persönliche Mitteilung, 1988.

Max Haldimann  
 Dr. Bernhard Zimmerli  
 Bundesamt für Gesundheitswesen  
 Abteilung Lebensmittelwissenschaft  
 Sektion Lebensmittelchemie  
 Postfach  
 CH-3000 Bern 14