

Molybdän

Methodennummer 2

Anwendbarkeit Bestimmung in Plasma und Urin

Analyt. Messprinzip Induktiv gekoppelte Plasma-Quadrupol-Massenspektrometrie mit elektrothermischer Verdampfung

Abgeschlossen im Dezember 2001



Zusammenfassung

Mit der hier beschriebenen Methode der ICP-MS kann Molybdän im Plasma oder im Urin einfach, empfindlich und spezifisch bestimmt werden. Das Verfahren eignet sich zur Erfassung von Molybdän bis in den physiologischen Konzentrationsbereich. Die Plasma- bzw. Harnproben werden ohne zusätzlichen Probenaufschluss im Graphitrohr elektrothermisch verdampft und in das ICP-MS eingebracht. Die Quantifizierung erfolgt über das Standardadditionsverfahren.

Molybdän in Plasma

Präzision in der Serie: Standardabweichung (rel.) $s = 4,5\%$
Streubereich $u = 10,0\%$
bei einer Konzentration von $0,6 \mu\text{g}$ Molybdän pro Liter Plasma und $n = 10$ Bestimmungen

Präzision von Tag zu Tag: Standardabweichung (rel.) $s = 5,0\%$
Streubereich $u = 11,1\%$
bei einer Konzentration von $0,6 \mu\text{g}$ Molybdän pro Liter Plasma und $n = 10$ Bestimmungen

Richtigkeit:	Wiederfindungsrate:	$r = 97-103\%$ bei einer Aufstockung von $1 \mu\text{g/L}$ Molybdän pro Liter Plasma
Nachweisgrenze:	0,05 μg Molybdän pro Liter Plasma	

Molybdän in Urin

Präzision in der Serie:	Standardabweichung (rel.)	$s = 2,0\%$
	Streubereich	$u = 4,5\%$
bei einer Konzentration von $12 \mu\text{g}$ Molybdän pro Liter Urin und $n = 10$ Bestimmungen		
Präzision von Tag zu Tag:	Standardabweichung (rel.)	$s = 3,0\%$
	Streubereich	$u = 6,7\%$
bei einer Konzentration von $12 \mu\text{g}$ Molybdän pro Liter Urin und $n = 10$ Bestimmungen		
Richtigkeit:	Wiederfindungsrate:	$r = 98-104\%$ bei einer Aufstockung von $10 \mu\text{g/L}$ Molybdän pro Liter Urin
Nachweisgrenze:	0,05 μg Molybdän pro Liter Urin	

Molybdän

Molybdän (Mo) besitzt die Ordnungszahl 42 und das Atomgewicht 95,94. Metallisches Mo hat eine Dichte von $10,2 \text{ g/cm}^3$, schmilzt bei 2610°C und siedet bei 5560°C . Am häufigsten tritt Molybdän in vier- (z. B. Molybdänsulfid) oder sechswertigen Verbindungen auf, aber auch zwei-, drei- und fünfwertig

Neuen Schätzungen zufolge beträgt das durchschnittliche Molybdänvorkommen in der Erdkruste etwa 1 ppm. In bestimmten Gesteinen kann der Gehalt zwischen 20 und 3000 ppm variieren. Das Element wird in erhöhter Konzentration in Schiefer, Phosphorit, Kohle und Erdöl vorgefunden, wobei ein direkter Zusammenhang zwischen den Mengen an Molybdän und organischem Kohlenstoff besteht [1]. Durch Verhüttung, Phosphatdüngung, phosphathaltige Waschmittel, Kohle- und Ölverbrennung gelangt Molybdän in die Umwelt.

Die Jahresproduktion beträgt weltweit etwa 80.000 t Molybdän (hauptsächlich aus Molybdänsulfid, die größte Menge in den USA). Es wird zur Stahlerzeugung (Baustahl, rostfreien Stahl, Werkzeugstahl, siehe auch [2]) und in speziellen chemischen Produkten (Farbpigmente, Katalysatoren, Schmiermittel und Flammschutz) verwendet [3].

Molybdän ist ein essentielles Spurenelement. Es wird leicht aus dem Gastrointestinaltrakt resorbiert. Der Molybdäengehalt der Nahrung schwankt entsprechend den

verschiedenen Lebensmittelsorten. Den höchsten Molybdängehalt haben Milchprodukte, getrocknete Hülsenfrüchte, Innereien (Leber, Nieren), Getreideprodukte und Backwaren. Die niedrigsten Spiegel finden sich im Schweinefleisch, Fisch, Nüssen, Fetten, Süßigkeiten und Zitrusfrüchten [4, 5]. Der Molybdängehalt der Pflanzen ist stark abhängig vom jeweiligen Boden. Neutrale oder alkalische Böden, besonders bei hohem Feuchtigkeitsgehalt und hohem Gehalt an organischen Materialien, fördern die Aufnahme [6, 7]. Das Trinkwasser mit einem Gehalt von 0–20 µg/L trägt zur Molybdänaufnahme aus der Nahrung nur wenig bei. In hoch industrialisierten Gegenden und bei hohem Molybdängehalt des Bodens wurden mehr als eine Zehnerpotenz höhere Werte festgestellt, z. B. in einigen Gegenden Colorados, wo – angeblich durch Minenabwässer bedingt – die Konzentrationen bei 400 µg/L liegen [5].

Das National Research Council der USA hielt 1980 [8] eine tägliche Zufuhr von 50–100 µg bei Kindern von 1 bis 3 Jahren und 150–500 µg bei Erwachsenen für ausreichend. Angeblich liegt in Neuseeland die Aufnahme deutlich unter diesem für USA-Bürger angegebenen Bereich [9].

Das resorbierte Molybdän wird hauptsächlich im Urin, teilweise auch mit der Galle ausgeschieden [10, 11]. Bilanzstudien wurden bei 36 Mädchen von 6–10 Jahren [12] sowie bei 4 jungen neuseeländischen Frauen (19–21 Jahre) durchgeführt [13]. In den Arbeiten wurde die Zufuhr auf Werte zwischen ungefähr 45 und 80 oder 95 µg/d geschätzt. Die Zahlen [12] zeigen, dass die Resorption des Elementes bei verschiedenen Kostformen beträchtlich schwankt.

Iversen und Mitarbeiter [14] ermittelten für das EURO-TERVIHT Projekt (Trace Element Reference Values in Human Tissues) Referenzwerte für die dänische Allgemeinbevölkerung. Bei der Untersuchung von 128 Personen unter Anwendung der ICP-MS ergab sich eine mediane Ausscheidung von 42 µL Molybdän pro Liter Urin.

Im Rahmen des sog. ENHANES-Programmes (National Health and Nutrition Examination Survey) wurden 1999 in den USA 904 Personen der Allgemeinbevölkerung ohne bekannte berufliche Exposition auf ihren Molybdängehalt im Harn untersucht. Dabei ergab sich eine renale Ausscheidung im Median von 53 µg Mo pro Liter Harn. Das 90. Perzentil lag bei 140 µg/L [15].

Molybdänkonzentrationen im Plasma von Personen ($n = 30$), die beruflich nicht gegenüber diesem Metall exponiert sind, liegen im Mittel bei 0,6 µg pro Liter Plasma [16]. Diese Konzentrationen stimmen sehr gut überein mit Plasmawerten, die bereits in den 80er Jahren bei der Allgemeinbevölkerung gemessen wurden [17–21]. Die extrem hohe Häufigkeit einer sog. endemischen Gicht in der Ankavan-Provinz in Armenien bei Bevölkerungsgruppen, die sich hauptsächlich von den dort angebauten Nahrungsmitteln ernähren, wurde mit abnorm hohen Molybdänkonzentrationen in Böden und Pflanzen in Verbindung gebracht [22]. Die Molybdänaufnahme wurde in den betroffenen Regionen auf 10–15 mg/d geschätzt, verglichen mit



1 bis 2 mg in nahegelegenen Gegenden mit niedriger Gicht-Inzidenz. Menschen und Weidevieh wiesen angeblich abnorm hohe Plasmaharnsäurespiegel und Gewebe-Xanthinoxidaseaktivitäten auf.

Beim Tier hängt der Effekt einer hohen Molybdänzufuhr mit der Nahrung von verschiedenen Faktoren ab: Alter der Tiere, Menge und chemische Form des Molybdäns, Kupferstoffwechsel, Phosphat-, Schwefel-, Eiweiß-, Cystein-, Methionin-, Zink- und Bleigehalt der Nahrung. Bei Rindern kommt eine Molybdänose in verschiedenen Teilen der Welt unter normalen Weidebedingungen vor. In England ist die Erkrankung als „teart“ bekannt, in Neuseeland als „Torfdurchfall“. Der Durchfall kann sich in milder Form oder als schwere Erkrankung manifestieren, die zu Dauerschäden und zum Tode führen kann. Schafe sind weniger betroffen als Rinder, Pferde gar nicht [6].

Walravens und Mitarbeiter [23, 24] untersuchten 25 Arbeiter, die an einem Molybdän-Röstofen beschäftigt waren. Die Molybdänexposition durch Stäube war von geringen Harnsäureanstiegen, von einer ausgeprägten Zunahme des Plasmacoeruleoplasmins sowie einem deutlich erhöhten Molybdänwert im Plasma und im Urin begleitet. Der Kupfergehalt im Urin war bei einer von 14 Proben stark erhöht. Sichere Hinweise für ein molybdänbedingtes Gichtsyndrom ergaben sich nicht. Weitere Studien sind jedoch zur Abklärung eventueller Zusammenhänge mit Molybdän erforderlich.

Der derzeit in Deutschland gültige MAK-Wert wurde für Molybdän und seine wasserunlöslichen Verbindungen auf 4 mg/m^3 und für wasserlösliche Molybdänverbindungen auf 5 mg/m^3 festgesetzt. Ein BAT-Wert existiert derzeit nicht [25].

Große Fortschritte wurden hinsichtlich der Erforschung der biochemischen und funktionellen Bedeutung des Molybdäns erzielt. Das Element ist offenbar ein essentieller Bestandteil der Enzyme Xanthinoxidase [26, 27], Aldehydoxidase [28] und Sulfitoxidase [29]. Am besten untersucht ist bisher die zytoplasmatische Xanthinoxidase des Purinstoffwechsels, die für die Oxidation von Hypoxanthin zu Xanthin und von Xanthin zur Harnsäure wichtig ist. Die Aldehydoxidase ist bisher nicht so eingehend untersucht, beansprucht aber neuerdings Interesse wegen ihrer möglichen Rolle im Alkoholstoffwechsel der Leber. Die mitochondriale Sulfitoxidase dient als terminales Enzym beim Abbau schwefelhaltiger Aminosäuren. Bei Bakterien und Pflanzen hängt die Reduktion von Nitraten und Distickstoff vom Molybdängehalt der Nitrogenase und der Nitroreduktase ab.

Johnson und Mitarbeiter [30] zeigten, dass die Aldehydoxidase, Sulfitoxidase, Xanthinoxidase und Nitratreduktase das Metall als einen Komplex mit einem offenbar identischen organischen Bestandteil enthalten, der isoliert wurde und einen Pterinkern sowie eine noch nicht identifizierte 6-Alkyl-Seitenkette enthält [30–32]. Aufgrund detaillierter Rekonstruktionsstudien ist dieser Molybdän-Kofaktor der drei Enzyme funktionell austauschbar. Von den charakteristischen Molybdänenzymen enthält nur die Nitrogenase einen speziellen Eisen-Molybdän-Kofaktor.

Offenbar ist Wolfram ein kompetitiver Antagonist der Molybdänverwertung im tierischen Organismus. Durch Verabreichung von Wolfram konnten Cohen und Mitarbeiter [33, 34] eine Abnahme der Sulfitoxidase- und Xanthinoxidaseaktivität bei Ratten hervorrufen. Mit spezifischen Antikörpern gegen Rattenleber-Sulfitoxidase und -Xanthinoxidase wurden in Lebern von mit Wolfram behandelten Tieren beträchtliche Mengen inaktiven Proteins beider Enzyme nachgewiesen. Auch bei mangelnder Molybdänverwertung verläuft demnach die Biosynthese schnell. Andererseits enthielten die inaktiven Enzyme statt Molybdän Wolfram, bzw. waren zum überwiegenden Teil nicht mit einem Metall besetzt [35].

Daten über die Auswirkungen des Molybdäns bei menschlichen Krankheitsbildern sind spärlich. An der Universität Gent wurden mit Hilfe der Neutronenaktivierungsanalyse die Plasmaspiegel bei Leber- und Gallenwegserkrankungen bestimmt [21]. Die Richtigkeit und Präzision der Methode wurde durch Analysen im Bowenschen Kohlpulver, der NBS-Rinderleber und getrocknetem Tierblut der IAEA geprüft [36, 37]. Danach war der Plasmamolybdänspiegel in der Initialphase der akuten Virushepatitis deutlich erhöht ($3,1 \pm 1,46$ ng/mL bei Patienten; $0,55 \pm 0,21$ ng/mL bei Kontrollpersonen) und kehrte in der Rekonvaleszenz parallel zu den üblichen Leberfunktionsparametern zur Norm zurück. Es fand sich eine signifikante Korrelation zwischen der Plasmamolybdänkonzentration und der Plasma-Aspartattransaminase (SGOT) ($r = 0,710$; $p < 0,001$) und der Alanintransaminase (SGPT) ($r = 0,683$; $p < 0,001$). Daneben wurde ein eindeutig erhöhter Plasmamolybdänspiegel bei einer Reihe anderer hepatobiliärer Erkrankungen beobachtet, nämlich der Hepatitis-B-(HBsAg-)positiven chronisch aktiven Hepatitis, der primär biliären Zirrhose, bei alkoholischen Leberschäden, medikamenteninduzierten Leberschäden, Lebermetastasen, Gallensteinen, Tumoren der Gallenblase und der extrahepatischen Gallenwege sowie beim Pankreaskopfkarzinom. Der verantwortliche Mechanismus bleibt zunächst unklar. Zwischen der Aufnahme zirkulierenden Molybdäns in die Leber und dem Funktionszustand des Hepatozyten besteht offensichtlich eine enge Beziehung [38, 39]. Eine Freisetzung intrazellulären Molybdäns aus geschädigten Parenchymzellen kommt ebenfalls in Betracht. Da erhebliche Anstiege auch bei intra-extra-hepatischer Cholestase beobachtet wurden, kommt möglicherweise auch eine Unterbrechung des Gallenflusses ursächlich in Frage. In der Literatur finden sich weitere Erkrankungen, bei denen erhöhte Molybdänwerte festgestellt werden (Urämie, rheumatische Erkrankungen, Neoplasien, kardiovaskuläre Erkrankungen, Infektionen) [40–45]. Nur einige dieser Ergebnisse wurden durch die Analysen von Referenzmaterial abgesichert. Nicht alle angegebenen Untersucher haben den Vorgang der Probengewinnung und -verarbeitung detailliert beschrieben. In solchen Fällen besteht keine Gewissheit darüber, ob alle Maßnahmen zur Vermeidung exogener Verunreinigungen getroffen wurden.

Autor: *P. Schramel*

Prüfer: *L. Dunemann, J. Begerow, P. Brätter*

M

Molybdän

Methodennummer 2

Anwendbarkeit Bestimmung in Plasma und Urin

Analyt. Messprinzip Induktiv gekoppelte Plasma-Quadrupol-Massenspektrometrie mit elektrothermischer Verdampfung

Abgeschlossen im Dezember 2001



M

Inhaltsverzeichnis

- 1 Grundlage des Verfahrens
- 2 Geräte, Chemikalien und Lösungen
 - 2.1 Geräte
 - 2.2 Chemikalien
 - 2.3 Lösungen
 - 2.3.1 Standardlösungen für die Bestimmung in Plasma
 - 2.3.2 Standardlösungen für die Bestimmung in Harn
- 3 Probenahme und Probenaufbereitung
 - 3.1 Probenahme und Lagerung
- 4 Instrumentelle Arbeitsbedingungen
 - 4.1 Plasma-Einstellungen
 - 4.2 Massenspektroskopische Parameter
 - 4.3 Parameter der elektrothermischen Verdampfung (ETV)
- 5 Analytische Bestimmung
- 6 Kalibrierung und Berechnung des Analysenergebnisses
- 7 Standardisierung der Messergebnisse und Qualitätssicherung
- 8 Beurteilung des Verfahrens
 - 8.1 Präzision
 - 8.2 Richtigkeit
 - 8.3 Nachweisgrenzen
 - 8.4 Störeinflüsse
- 9 Diskussion der Methode
- 10 Literaturverzeichnis

1 Grundlage des Verfahrens

Die Plasma- bzw. Harnproben werden ohne Probenaufschluss über ein ETV-System mit Graphitrohrküvette elektrothermisch verdampft und in das ICP-MS eingebracht. Die Quantifizierung erfolgt über das Standardadditionsverfahren.

2 Geräte, Chemikalien und Lösungen

2.1 Geräte

ICP-Massenspektrometer (Quadrupol), mit Vorrichtung zur ETV mit Graphitrohrküvette, PC, Probenwechsler und Drucker

Graphitrohrküvetten, pyrolytisch beschichtet

Laborzentrifuge (z. B. von Heraeus)

Mikroliterpipette, variabel zwischen 100 und 1000 μL (z. B. von Eppendorf)

Milliliterpipette, variabel zwischen 1 und 10 mL (z. B. von Eppendorf)

1000-mL-Messkolben

10-mL-Messkolben

10-mL-Probengefäße aus Kunststoff oder Quarzglas

10-mL-Polyethylenröhrchen mit Stopfen (z. B. von Sarstedt)

EDTA-Monovetten (z. B. von Sarstedt)

2-mL-Kunststoffprobengefäße für Probenwechsler AS 60 (Perkin-Elmer)

2.2 Chemikalien

Molybdän-Maßlösung 1 g Mo/L in H_2O $[(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot \text{H}_2\text{O}]$ (z. B. Spex)

Ultrareines Wasser (z. B. Milli-Q, Millipore)

35%ige Salzsäure hochrein (suprapur, z. B. Merck)

$\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ Maßlösung 20 g/L (z. B. Spex)

$\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ Maßlösung 20 g/L (z. B. Spex)

65%ige HNO_3 (p. a.) mit Subboiling-Destillation nachgereinigt

Hilfsgas Argon (Schweißargon oder Flüssigargon) (z. B. Messer-Griesheim)
Plasmagas Argon (Schweißargon oder Flüssigargon) (z. B. Messer-Griesheim)
Zerstäubergas Argon (Schweißargon oder Flüssigargon) (z. B. Messer-Griesheim)

2.3 Lösungen

1 M HNO₃:

In einen 1000-mL-Messkolben, in dem etwa 500 mL hochreines Wasser vorgelegt wurden, pipettiert man 70 mL 65proz. HNO₃ und füllt den Kolben anschließend unter Umschwenken mit hochreinem Wasser bis zur Marke auf.

Diese Lösung ist bei 4 °C mehrere Monate haltbar.

Matrixmodifizier-Lösung Pd(NO₃)₂:

In einen 10-mL-Messkolben werden ca. 6 mL 1 M Salpetersäure vorgelegt. Man pipettiert 50 µL der Pd(NO₃)₂-Maßlösung (20 g/L) hinzu und füllt den Kolben mit 1 M Salpetersäure bis zur Marke auf (100 mg/L).

Matrixmodifizier-Lösung Mg(NO₃)₂:

In einen 10-mL-Messkolben werden ca. 6 mL 1 M Salpetersäure vorgelegt. Man pipettiert 100 µL der Mg(NO₃)₂-Maßlösung (20 g/L) hinzu und füllt den Kolben mit 1 M Salpetersäure bis zur Marke auf (200 mg/L).

2.3.1 Standardlösungen für die Bestimmung in Plasma

Ausgangslösung:

0,1 mL der Molybdänmaßlösung (vgl. Abschnitt 2.2) wird in einen 10-mL-Messkolben, in dem etwa 6 mL Wasser vorgelegt wurden, pipettiert. Anschließend pipettiert man 1 mL Salzsäure hinzu. Der Kolben wird schließlich mit hochreinem Wasser bis zur Marke aufgefüllt (10 000 µg/L).

Stammlösung:

0,1 mL der Ausgangslösung wird in einen 10-mL-Messkolben, in dem etwa 6 mL Wasser vorgelegt wurden, pipettiert. Anschließend pipettiert man 1 mL Salzsäure hinzu. Der Kolben wird schließlich mit hochreinem Wasser bis zur Marke aufgefüllt (100 µg/L).

Arbeitslösung:

1 mL der Stammlösung wird in einen 10-mL-Messkolben, in dem etwa 6 mL Wasser vorgelegt wurden, pipettiert. Anschließend pipettiert man 1 mL Salzsäure hin-

zu. Der Kolben wird schließlich mit hochreinem Wasser bis zur Marke aufgefüllt (10 µg/L).

Die Stammlösung und die Arbeitslösung sind vor jedem Analysengang neu anzusetzen.

Die Ausgangslösung ist mehrere Monate (2–3) im Kühlschrank (+4 °C) haltbar.

Dotierlösungen (Plasma) für Standardaddition

Dotierlösung 0:

In einem 10-mL-Messkolben werden etwa 6 mL Wasser vorgelegt. Anschließend pipettiert man 1 mL Salzsäure hinzu. Der Kolben wird schließlich mit hochreinem Wasser bis zur Marke aufgefüllt (0 µg/L).

Dotierlösung A:

1 mL der Arbeitslösung wird in einen 10-mL-Messkolben, in dem etwa 6 mL Wasser vorgelegt wurden, pipettiert. Anschließend pipettiert man 1 mL 35proz. Salzsäure hinzu. Der Kolben wird schließlich mit hochreinem Wasser bis zur Marke aufgefüllt (1 µg/L).

Dotierlösung B:

2 mL der Arbeitslösung werden in einen 10-mL-Messkolben, in dem etwa 6 mL Wasser vorgelegt wurden, pipettiert. Anschließend pipettiert man 1 mL 35% Salzsäure hinzu. Der Kolben wird schließlich mit hochreinem Wasser bis zur Marke aufgefüllt (2 µg/L).

Diese Dotierlösungen werden den zu untersuchenden Plasmaproben zugesetzt (P0, P1, P2). Dazu wird jeweils 0,1 mL der Plasmaprobe im Probenwechsellergesäß mit jeweils 0,1 mL der jeweiligen Dotierlösung entsprechend dem Pipettierschema (Tab. 1) versetzt und gut durchmischt. Diese Probenlösungen werden der weiteren Probenbearbeitung unterworfen.

Tab. 1: Pipettierschema zur Herstellung von aufgestockten Plasma-Probenlösungen für das Standardadditionsverfahren und resultierende Konzentrationen in µg/L

Bezeichnung	Volumen der Dotierlösungen			Volumen Plasma [mL]	End- volumen [mL]	Aufgestockte Konzentration [µg/L]
	0 [mL]	A [mL]	B [mL]			
P0	0,1	–	–	0,1	0,2	+ 0
P1	–	0,1	–	0,1	0,2	+ 0,5
P2	–	–	0,1	0,1	0,2	+ 1

2.3.2 Standardlösungen für die Bestimmung in Harn

Ausgangslösung:

0,1 mL der Molybdänmaßlösung (vgl. Abschnitt 2.2) wird in einen 10-mL-Messkolben, in dem etwa 6 mL Wasser vorgelegt wurden, pipettiert. Anschließend pipettiert man 1 mL konzentrierte Salpetersäure hinzu. Der Kolben wird schließlich mit hochreinem Wasser bis zur Marke aufgefüllt (10 000 µg/L).

Arbeitslösung:

0,1 mL der Ausgangslösung wird in einen 10-mL-Messkolben, in dem etwa 6 mL Wasser vorgelegt wurden, pipettiert. Anschließend pipettiert man 1 mL konzentrierte Salpetersäure hinzu. Der Kolben wird schließlich mit hochreinem Wasser bis zur Marke aufgefüllt (100 µg/L).

Die Arbeitslösung ist vor jedem Analysengang neu anzusetzen.

Dotierlösungen (Harn) für Standardaddition

Dotierlösung 0:

1 mL konzentrierte Salpetersäure wird in einen 10-mL-Messkolben, in dem etwa 6 mL Wasser vorgelegt wurden, pipettiert. Anschließend wird der Kolben mit hochreinem Wasser bis zur Marke aufgefüllt (0 µg/L).

Dotierlösung A:

0,4 mL der Arbeitslösung werden in einen 10-mL-Messkolben, in dem etwa 6 mL Wasser vorgelegt wurden, pipettiert. Anschließend pipettiert man 1 mL konzentrierte Salpetersäure hinzu. Der Kolben wird schließlich mit hochreinem Wasser bis zur Marke aufgefüllt (4 µg/L).

Dotierlösung B:

0,8 mL der Arbeitslösung werden in einen 10-mL-Messkolben, in dem etwa 6 mL Wasser vorgelegt wurden, pipettiert. Anschließend pipettiert man 1 mL konzentrierte Salpetersäure hinzu. Der Kolben wird schließlich mit hochreinem Wasser bis zur Marke aufgefüllt (8 µg/L).

Diese Dotierlösungen werden den zu untersuchenden Urinproben zugesetzt (U0, U1, U2). Dazu wird jeweils 1 mL der Urinprobe im Probenwechslergefäß mit jeweils 1 mL der jeweiligen Dotierlösung entsprechend dem Pipettierschema (Tab. 2) versetzt und gut durchmischt. Diese, für jede Harnprobe frisch herzustellenden Probenlösungen werden mit 1 M Salpetersäure im Verhältnis 1 : 10 verdünnt und anschließend der weiteren Probenbearbeitung unterworfen.



Tab. 2: Pipettierschema zur Herstellung von aufgestockten Urin-Probenlösungen für das Standardadditionsverfahren und resultierende Konzentrationen in $\mu\text{g/L}$

Bezeichnung	Volumen der Dotierlösungen			Volumen Urin (1:10) [mL]	Endvolumen [mL]	Aufgestockte Konzentration [$\mu\text{g/L}$]
	0 [mL]	A [mL]	B [mL]			
U0	1	–	–	1	2	+0
U1	–	1	–	1	2	+2
U2	–	–	1	1	2	+4

3 Probenahme und Probenaufbereitung

3.1 Probenahme und Lagerung

Wie bei allen Spurenelementanalysen wird von den Reagenzien und den verwendeten Gefäßmaterialien höchster Reinheitsgrad verlangt. Dies gilt auch bei der Probenahme.

Zur Entnahme von Blutproben verwendet man EDTA-Monovetten (z. B. von Sarstedt). Möglichst unmittelbar nach der Entnahme werden die Blutproben zentrifugiert, um das Plasma abzutrennen. Dieses überführt man in 10 mL Polyethylenröhrchen mit Stopfen.

Plasmaproben sind bis zur Analyse grundsätzlich tiefgefroren bei ca. -18°C zu lagern. Nach dem Auftauen (bei Raumtemperatur) ist für eine gute Durchmischung zu sorgen.

Die zur Probenahme verwendeten Kunststoffgefäße müssen vor der Benutzung zur Verhinderung einer möglichen exogenen Kontamination einzeln mit 1 M Salpetersäure gereinigt werden, indem man sie mindestens 2 h gefüllt stehen lässt und anschließend mit hochreinem Wasser gründlich ausspült und trocknet.

Die Urin-Sammlung und -Lagerung sollte in Polyethylengefäßen erfolgen. Ist die Bestimmung nicht sofort durchführbar, kann der Urin für ca. 1 Woche im Kühlschrank bei ca. $+4^\circ\text{C}$ aufbewahrt werden. Bei längerer Lagerung empfiehlt sich ein Einfrieren in der Tiefkühltruhe (ca. -18°C).

Zur weiteren Aufarbeitung werden die Harnproben aufgetaut und auf Raumtemperatur gebracht.

4 Instrumentelle Arbeitsbedingungen

Bei der Graphitrohr-AAS (GFAAS) muss das Temperaturprogramm der Graphitrohrküvette den jeweiligen Bedingungen optimal angepasst werden (Trocknung, thermische Vorbehandlung zur Matrixabtrennung, Atomisierung). Der Probengasstrom (Zerstäubergas) muss ebenfalls an die Schlauchlänge zum ICP angepasst werden.

Die nachfolgend angeführten Gerätebedingungen und Einstellungen wurden optimiert für die hier verwendete Gerätekombination (ICP-MS ELAN-5000, ETV HGA 600, Probenwechsler AS-60, Perkin-Elmer). Diese Angaben können nur als Orientierungshilfe dienen. Die einzelnen Parameter müssen an den jeweils verwendeten Geräten angepasst werden. Ggf. sind an Geräten anderer Hersteller zusätzliche Einstellungen bzw. Parameteroptimierungen notwendig.



4.1 Plasma-Einstellungen

Plasma-Einstellung:	1,2 kW
CEM Voltage:	4,1 kV
Probenzufuhr:	Elektrothermische Verdampfung (ETV)
Plasmabedingungen:	Hilfsgas Ar 15 L/min Probengasstrom Ar ca. 0,9 L/min (Optimierung notwendig) Plasmagas Ar 0,8 L/min

4.2 Massenspektroskopische Parameter

Sweeps/Reading:	1
Readings/Replicate:	120
Number of Replicates:	2
Points Across Peak:	1
Resolution:	Normal
Scanning Mode:	Peak Hop Transient
Baseline Time:	600 ms
Transfer Frequency:	Replicate
Element Masses:	95 und 98 amu

Replicate Time: 1200 ms
 Dwell time: 10 ms

Elemental Equations (Gleichungen für die mathematische Korrektur)

$$^{95}\text{Mo} = ^{95}\text{Mo}$$

$$^{98}\text{Mo} = ^{98}\text{Mo} - 0.1095 * ^{101}\text{Ru}$$

Da Ru im Plasma und im Urin im unteren ng/L-Bereich vorliegt, spielt diese Gleichung für eine Korrektur keine Rolle. Die beiden Molybdänisotope werden ausschließlich zu Kontrollzwecken vermessen, wobei die Quantifizierung über ⁹⁵Mo erfolgt.

4.3 Parameter der elektrothermischen Verdampfung (ETV)

Sample Volume: 20 µL
 Modifier: Pd 100 mg/L, Mg 200 mg/L
 Modifier Volume: 20 µL
 Injection Temperature: 20 °C
 Injection Speed: 50 %
 Read Delay: 2 s
 Closure Delay: -6 s

Tab. 3: ETV-Parameter (I): Temperaturprogramm

Programm Step	Cell Temperature [°C]	Time Ramp [s]	Time Hold [s]	Internal Flow [mL]	Gas Norm	Type Alt	Gas Vent	To ICP	Read
1	90	5.0	10	300	x		x		
2	120	5.0	25	300	x		x		
3	700	10.0	20	300	x		x		
4	1500	5.0	10	300	x		x		
5	1500	1.0	5	100	x		x		
6	2650	0.2	5	100	x			x	x
7	2700	1.0	5	300	x			x	
8	20	1.0	20	300	x			x	

Tab. 4: ETV-Parameter (II)

Pipet Seq.	Pipet Solution			Activate from	Cell to	Wash	Repeat Sequence from	
	Mod 1	Mod 2	Sample				to	times
1				0	0	2	0	0
2	x			0	0	0	0	0
3				1	2	2	0	0



5 Analytische Bestimmung

Mindestens 100 µL der frisch aufdotierten Probenlösungen (Plasma oder Harn) werden in die Probenwechslergefäße pipettiert. Dies ist bei den hier zugrunde liegenden Bedingungen genügend Material um, wie bei der ICP-MS üblich, drei Messwiederholungen durchzuführen. Daraus werden dann der Mittelwert und die Standardabweichung der jeweiligen Messung errechnet.

Bei jeder Analysenserie wird eine Qualitätskontrollprobe (siehe Abschnitt 7) mit-analysiert. Reagenzienleerwerte sind gegebenenfalls zu berücksichtigen.

Die Quantifizierung erfolgt über ⁹⁵Mo. ⁹⁸Mo wird zur Kontrolle mitvermessen.

6 Kalibrierung und Berechnung des Analysenergebnisses

Die Kalibrierung erfolgt über das Standardadditionsverfahren. Die jeweils drei Probenlösungen werden über die elektrothermische Verdampfung in das Plasma eingebracht. Man erstellt für jede Probe eine Kalibrierfunktion, indem man die ermittelten Signalfächen der drei Probenlösungen gegen die aufdotierten Konzentrationen aufträgt. Das Analysenergebnis kann dann als negativer Achsenabschnitt an der Konzentrationsachse abgelesen werden.

Die Proben sind nach dem Standardadditionsverfahren zu bestimmen, da zwischen wässriger Kalibrierfunktion und der Standardadditionsfunktion erhebliche Unterschiede in der Steigung zu verzeichnen sind (s. auch Abbildung 1).

7 Standardisierung der Messergebnisse und Qualitätssicherung

Gemäß den Richtlinien der Bundesärztekammer [46, 47] und den speziellen Vorbemerkungen dieses Werkes [48, 49] ist zur Präzisionskontrolle bei jeder Analysenserie ein Qualitätskontrollstandard mitzuführen.

Da für Molybdän kein käufliches Kontrollmaterial zur Verfügung steht, muss dieses selbst hergestellt werden. Dazu versetzt man Harn bzw. Plasma mit einer definierten Menge an Molybdän. Aliquote dieser Lösung können bis zu einem Jahr tiefgekühlt aufbewahrt und zur Qualitätskontrolle eingesetzt werden. Die Konzentration dieses Kontrollmaterials sollte in der Mitte des am häufigsten auftretenden Konzentrationsbereichs liegen. Der Sollwert und die Toleranzbereiche dieses Qualitätskontrollmaterials werden im Rahmen einer Vorperiode (an 20 Tagen je eine Analyse des Kontrollmaterials) ermittelt [50].

Eine externe Qualitätssicherung kann durch eine Teilnahme an Ringversuchen praktiziert werden. Derzeit berücksichtigen nach unserem Kenntnisstand die in Deutschland durchgeführten Ringversuche für arbeits- und umweltmedizinisch-toxikologische Analysen in ihrem externen Qualitätssicherungsprogramm die Analyse von Molybdän jedoch nicht [51].

Mit dieser Methode wurden vom Autor 70 Plasmaproben von nicht beruflich gegenüber Molybdän exponierten Personen untersucht. Die dabei erhaltenen Werte für Plasma ($0,58 \pm 0,34 \mu\text{g/L}$) stimmen sehr gut mit den Literaturwerten von ca. $0,5\text{--}0,8 \mu\text{g/L}$ überein (siehe auch einleitenden Abschnitt). Eine Häufigkeitsverteilung dieser 70 vermessenen Plasmaproben ist Abbildung 2 zu entnehmen.

8 Beurteilung des Verfahrens

8.1 Präzision

Zur Bestimmung der Präzision in der Serie wurde Poolplasma von beruflich nicht gegenüber Molybdän belasteten Personen über 10 Standardadditionsreihen analysiert.

Zur Ermittlung der entsprechenden Präzision für die Matrix Harn wurde Poolurin verwendet, von dem ebenfalls 10 unabhängige Standardadditionsreihen vermessen wurden. Dabei ergaben sich folgende, in Tab. 5 dokumentierte, relative Standardabweichungen bzw. Streubereiche. Die Molybdänkonzentration des eingesetzten Poolplasmas wurde zu $0,6 \mu\text{g/L}$ berechnet, die Konzentration des Poolharns zu $12 \mu\text{g/L}$.

Tab. 5: Präzisionen

	Berechnete Konzentration [µg/L]	Standardabweichung (rel.) [%]	Streubereich [%]
Präzision in der Serie (<i>n</i> = 10)			
Harn	12	2,0	4,5
Plasma	0,6	4,5	10,0
Präzision von Tag zu Tag (<i>n</i> = 10)			
Harn	12	3,0	6,7
Plasma	0,6	5,0	11,1

Zusätzlich wurde dasselbe Poolplasma sowie derselbe Poolharn (bei beiden Konzentrationen) jeweils an 10 Analysentagen aufgearbeitet und analysiert. Die ermittelten Präzisionen von Tag zu Tag sind ebenfalls Tab. 5 zu entnehmen.

8.2 Richtigkeit

Da zertifiziertes Referenzmaterial für Molybdän derzeit kommerziell nicht zur Verfügung steht, wurden zur Prüfung der Richtigkeit Wiederfindungsversuche durchgeführt. Dazu wurde einem Poolplasma mit einem zuvor bestimmten Gehalt von 0,63 µg/L Mo 1 µg/L Mo zugesetzt. Dieses Plasma wurde 10-mal analysiert. Dabei ergab sich eine relative Wiederfindung zwischen 97 und 103%. Ebenso wurde verfahren im Fall der Matrix Harn. Poolharn mit einem zuvor bestimmten Molybdängehalt von 12 µg/L wurden 10 µg/L Molybdän zugesetzt und 10-mal analysiert. Dabei ergab sich eine relative Wiederfindungsrate von 98–104%.

8.3 Nachweisgrenzen

Unter den angegebenen Bedingungen lagen die Nachweisgrenzen, ermittelt aus dem dreifachen Signal/Rauschverhältnis des analytischen Störuntergrundes in der zeitlichen Umgebung des Analytsignals für die Massen 95 bzw. 98 bei 0,05 µg/L. Dies gilt sowohl für die Matrix Plasma als auch die Matrix Urin.



8.4 Störeinflüsse

Die Analyse des Molybdäns in Harn und Plasma ist unter den angegebenen Bedingungen störungsfrei möglich.

Für eine zuverlässige Analyse ist ein ETV-System bei der Verwendung eines Quadrupol-ICP-MS unbedingt notwendig. Störeinflüsse bei der direkten Bestimmung von Molybdän in Harn oder Plasma, das heißt ohne ETV, durch „polyatomare Ionen“ wie BrO^+ und ArKO^+ sind bekannt und täuschen falsch zu hohe Molybdänwerte vor. Mathematische Korrekturen sind in dem hier vorliegenden Konzentrationsverhältnis Analyt/Störer unzuverlässig. Die direkte Bestimmung ist nur bei Verwendung eines Sektorfeld-ICP-MS bei einer Auflösung von ca. 4000 möglich.

Wie von der GFAAS hinlänglich bekannt, treten im Graphitrohr chemische Matrixeinflüsse auf, die die Empfindlichkeit, d. h. die Steigung der Kalibrationsgeraden, verändern. Daher ist eine Standardaddition dringend erforderlich (Abbildung 1).

Ein Probenaufschluss ist bei der ETV nicht erforderlich, da durch das jeweilige Temperaturprogramm vor der Atomisierung bereits die Probe getrocknet und eine thermische Zersetzung stattfindet, die die Hauptmatrixbestandteile vom Analyten trennt und damit nicht das Interface belastet.

9 Diskussion der Methode

Das vorliegende Verfahren gestattet die schnelle, zuverlässige und richtige Bestimmung von Molybdän in Harn und Plasma bis in den umweltbedingten Konzentrationsbereich. Gleichwohl kann auch der arbeitsmedizinisch relevante Bereich erfasst werden. Die Zuverlässigkeitskriterien sind als hervorragend zu bezeichnen und konnten von den Prüfern der Methode auf Anhieb nachvollzogen werden.

Die Vorteile der ETV-Kopplung an ein Quadrupol-ICP-MS sind dabei:

- 1) Matrixabtrennung durch geeignetes Temperaturprogramm (wie bei GFAA) und damit niedrige Belastung des Interfaces. Damit sind höhere Salzkonzentrationen bzw. höhere organische Anteile in den Proben problemlos zu verarbeiten. Aus diesem Grund kann auch auf eine Mineralisierung der Probe verzichtet werden.
- 2) Es handelt sich um eine Mikromethode. Insgesamt sind nur etwa 200–400 Plasma erforderlich, was besonders bei der Untersuchung von Kindern eine wesentliche Rolle spielt.
- 3) Einige polyatomare Interferenzen können durch geeignete Wahl des Temperaturprogramms ausgeschaltet werden. Damit können mit der Quadrupol-ICP-MS auch Elemente analysiert werden, für die sonst eine höhere Auflösung notwendig ist.

Die Nachteile sind:

- 1) Das Verfahren ist wegen der Verwendung der Standardadditionsmethode relativ zeitaufwendig (ca. 10 min/Probe). Dies ist wegen der bekannten chemischen Matrixeinflüsse im Graphitrohr notwendig.
- 2) Die Verwendung eines internen Standards ist, wie sonst in der ICP-MS üblich, nicht möglich, da Analyt und interner Standard sich im Graphitrohr thermisch meist sehr unterschiedlich verhalten.

Die Auswertung über ^{95}Mo und ^{98}Mo dient nur der Kontrolle, wobei die Quantifizierung über ^{95}Mo erfolgt. Obwohl ^{98}Mo durch ^{98}Ru gestört wird, ist dies für die untersuchten Matrices nicht von Bedeutung, da die Ru-Konzentrationen im Plasma und im Urin nur im unteren ng/L-Bereich liegen.

Die Methode stellt keine höheren personellen Anforderungen, als die GFAAS und die Quadrupol-ICP-MS, da die Kopplung leicht und rasch durchzuführen ist.

Bei einem Nichtvorhandensein einer Sektorfeld-ICP-MS stellt dieses Verfahren eine gute Alternative für die Bestimmung von Molybdän in Plasma und Urin dar.

Verwendete Geräte:

ICP-Massenspektrometer ELAN-5000 (Perkin-Elmer, Deutschland), ETV HGA 600 (Perkin-Elmer, Deutschland) mit Probenwechsler AS-60 (Perkin-Elmer, Deutschland)

10 Literaturverzeichnis

- [1] G. K. Davies, R. Jorden, J. Kubota, A. Laitinen, G. Matrone, P. M. Newberne, B. L. O'Dell und J. S. Webb. In: *Geochemistry and the Environment*, Vol. 1, Chap. IX. National Academy of Sciences, Washington, D.C. (1974).
- [2] E. Lugscheider, R. Eck und P. Etmayer: Chrom, Molybdän, Wolfram und ihre Legierungen als Hochtemperatur- und Verschleißschutzwerkstoffe, Radex Rundschau (Österreichisch-Amerikanische Magnesit-Aktiengesellschaft, A-9545 Radenthein) 75, Nr. 1/2-1983, 52–84 (1983).
- [3] J. L. De Maris: Neue Züricher Zeitung, Beilage: Forschung und Technik Nr. 116, 55 (19. Mai 1976).
- [4] T. A. Tsongas, R. R. Meglen, P. A. Walravens und W. R. Chappell: Molybdenum in the diet: an estimate of average daily intake in the United States. *Amer. J. Clin. Nutr.* 33, 1103 (1980).
- [5] P. W. Winston: Molybdenum. In: *Disorders of Mineral Metabolism*, ed. by F. Bronner, J. W. Coburn. Academic Press, New York, 295–315 (1981).
- [6] E. J. Underwood: *Trace Elements in Human and Animal Nutrition*, 4th ed. Academic Press, New York, 109–131 (1977).
- [7] *World Health Organization Expert Committee: Trace Elements in Human Nutrition*. WHO Tech. Rep. Ser. No. 532, 43 (1973).
- [8] *The National Academy of Sciences – National Research Council: Recommended Dietary Allowances Revised 1980*. National Dairy Council, Rosemont (1980).

M

- [9] *M. F. Robinson*: Essential trace elements in New Zealand residents. In: Proceedings New Zealand Workshop on Trace Elements in New Zealand. University of Otago, Dunedin, 50–60 (1981).
- [10] *I. J. T. Davies*: The Clinical Significance of the Essential Biological Metals. Heinemann, London, 81–85 (1972).
- [11] *C. F. Mills, I. Bremner, B. W. Young* und *N. T. Davies*: Effects of thioanions of molybdenum and tungsten upon copper metabolism. In: Trace Element Metabolism in Man and Animals (TEMA-4), ed. by J. Mc C. Howell, J. M. Gawthorne, C. L. White. Australian Academy of Science, Canberra, 549–552 (1981).
- [12] *M. F. Robinson, J. M. McKenzie, C. D. Thomson* und *A. L. van Ry*: Metabolic balance of zinc, Copper, cadmium, iron, molybdenum and selenium in young New Zealand women. Brit. J. Nutr. 30, 195 (1973).
- [13] *R. W. Engel, N. O. Price* und *R. F. Miller*: Copper, manganese, cobalt, and molybdenum balance in pre-adolescent girls. J. Nutr. 92, 197 (1967).
- [14] *B. S. Iversen, C. Menne, M. A. White, J. Kristiansen, J. M. Christensen* und *E. Sabbioni*: Inductively coupled plasma mass spectrometric determination of molybdenum in urine from a Danish population. Analyst. 123(1), 81–85 (1998).
- [15] *Centers of Disease Control*: National report on human exposure to environmental chemicals March 2001. Department of Health and Human Services, CDC, Atlanta Georgia, USA (2001).
- [16] *M. Anke* und *M. Glei*: Molybdenum. In: *H. G. Seiler, A. Siegel* und *H. Siegel* (Hrsg.): Handbook on Metals in Clinical and Analytical Chemistry. Marcel Dekker Inc., New York, 495–500 (1994).
- [17] *J. Versieck* und *R. Cornelis*: Normal levels of trace elements in human blood plasma or serum. Anal. Chim. Acta 116, 217 (1980).
- [18] *J. Versieck* und *R. Cornelis*: Trace Elements in Human Plasma or Plasma, CRC Press, Boca Raton, Florida, USA (1989).
- [19] *S. P. Ericson, M. L. McHalsky, B. E. Rabinow, K. G. Kronholm, C. S. Arceo, J. A. Weltzer* und *S. W. Ayd*: Sampling and analysis techniques for monitoring serum for trace elements. Clin. Chem. 32, 1350 (1986).
- [20] *K. Kasperek, G. V. Iyengar, J. Kiem, H. Bosberg* und *L. E. Feinendegen*: Elemental composition of platelets. III. Determination of Ag, Au, Cd, Co, Cr, Cs, Mo, Rb, Sb and Se in normal human platelets by neutron activation analysis. Clin. Chem. 25, 711 (1979).
- [21] *J. Versieck, J. Hoste, L. Vanballenberghe, F. Barbier, R. Cornelis*, und *I. Waelpu*: Serum molybdenum in diseases of the liver and biliary system. J. Lab. Clin. Med. 97, 535 (1981).
- [22] *V. V. Kovalsky, G. A. Yaravaya* und *D. M. Shamavonyan*: Changes of purine metabolism in man and animals under conditions of biogeochemicals molybdenum provinces. Zh. Obshch. Biol. 22, 179 (1961).
- [23] *P. A. Walravens, R. Moure, C. C. Solomons, W. R. Chapell* und *G. Bentley*: Biochemical changes in workers exposed to molybdenum dusts. In: *E.M. Kirchgessner* (Hrsg): Trace Element Metabolism in Man and Animals. Vol. III, Inst. für Ernährungsphysiologie der Technischen Universität München, Freising-Weihenstephan, 577–581 (1978).
- [24] *P. A. Walravens, R. Moure-Eraso, C. C. Solomons, W. R. Chappell* und *G. Bentley*: Biochemical abnormalities in workers exposed to molybdenum dust. Arch. Environ. Health 34, 302 (1979).
- [25] *Deutsche Forschungsgemeinschaft*: MAK- und BAT-Werte Liste, Mitteilung 37. Wiley-VCH Weinheim (2001).
- [26] *E. C. DeRenzo, E. Kaleita, P. Heytler, J. J. Oleson, B. L. Hutchings* und *J. H. Williams*: The nature of xanthine oxidase factor. J. Amer. Chem. Soc. 75, 753 (1953).

- [27] *D. A. Richert und W. W. Westerfeld*: Isolation and identification of the xanthine oxidase factor as molybdenum. *J. Biol. Chem.* 203, 915 (1953).
- [28] *H. R. Mahler, B. Mackler, D. E. Green und R. M. Bock*: Studies on metalloflavoproteins. III. Aldehyde oxidase: a molybdoflavoprotein. *J. Biol. Chem.* 210, 465 (1954).
- [29] *H. J. Cohen, I. Fridovich und K. V. Rajagopalan*: Hepatic sulfite oxidase. A functional role for molybdenum. *J. Biol. Chem.* 246, 374 (1971).
- [30] *J. L. Johnson*: The molybdenum cofactor common to nitrate reductase, xanthine dehydrogenase, and sulfite oxidase. In: *Molybdenum and Molybdenum-Containing Enzymes*, ed. by M. P. Coughlan. Pergamon, Oxford, 345–383 (1980).
- [31] *J. L. Johnson, B. E. Hainline und K. V. Rajagopalan*: Characterization of the molybdenum cofactor of sulfite oxidase, xanthine oxidase, and nitrate reductase. Identification of a pteridine as a structural component. *J. Biol. Chem.* 255, 1783 (1980).
- [32] *J. L. Johnson, W. R. Waud, K. V. Rajagopalan, M. Duran, F. A. Beemer und S. K. Wadman*: Inborn errors of molybdenum metabolism: Combined deficiencies of sulfite oxidase and xanthine dehydrogenase in a patient lacking the molybdenum cofactor. *Proc. nat. Acad. Sci.* 77, 3715 (1980).
- [33] *H. J. Cohen, R. T. Drew, J. I. Johnson und K. V. Rajagopalan*: Molecular basis of the biological function of molybdenum. The relationship between sulfite oxidase and the acute toxicity of bisulfate and SO₂. *Proc. nat. Acad. Sci.* 70, 3655 (1973).
- [34] *J. L. Johnson, K. V. Rajagopalan und H. L. Cohen*: Molecular basis of the biological function of molybdenum. Effect of tungsten on xanthine oxidase and sulfite oxidase in the rat. *J. Biol. Chem.* 249, 859 (1974).
- [35] *J. L. Johnson und K. V. Rajagopalan*: Tryptic cleavage of rat liver sulfite oxidase. Isolation and characterization of molybdenum and heme domains. *J. Biol. Chem.* 252, 2017 (1977).
- [36] *J. Versieck, J. Hoste, F. Barbier, L. Vanballenberghe, J. De Rudder und R. Cornelis*: Determination of Molybdenum in human plasma by neutron activation analysis. *Clin. Chim. Acta*, 87, 135, (1978).
- [37] *J. Versieck, L. Vanballenberghe, G. Lemey, F. Barbier, R. Cornelis und J. De Rudder*: Determination of molybdenum in Plasma: In: *P. Brätter und P. Schramel* (Hrsg.), *Trace Element Analytical Chemistry in Medicine and Biology*. De Gruyter Verlag, Berlin, 273–282 (1980).
- [38] *L. B. Sorensen*: Specific uptake of molybdenum by the liver. *J. Lab. Clin. Med.* 60, 1020 (1962).
- [39] *L. B. Sorensen und M. Archambault*: Visualization of the liver by scanning with Mo⁹⁹ (molybdate) as tracer. *J. Lab. Clin. Med.* 62, 330 (1963).
- [40] *A. C. Altray, H. Rudolph und W. R. Smythe*: Mineral metabolism in uremia. *Kidney Int.* 7, Suppl. 2, 85 (1975).
- [41] *D. Brune, K. Samsahl und P. O. Wester*: A comparison between the amounts of As, Au, Br, Cu, Fe, Mo, Se and Zn in normal and uraemic whole blood by means of neutron activation analysis. *Clin. Chim. Acta* 13, 285 (1966).
- [42] *J. Dany und M. Kusleikaite*: Die Konzentrationsänderung der Spurenelemente im Plasma bei Rheumatismus und anderen inneren Krankheiten. *Z. inn. Med.* 26, 718 (1971).
- [43] *L. O. Plantin*. Trace elements in cardiovascular diseases. In: *Nuclear Activation Techniques in the Life Sciences*. International Atomic Energy Agency, Vienna, 321–332 (1979).
- [44] *H. Rudolph, A. C. Alfrey und W. R. Smythe*: Muscle and Plasma trace element profile in uraemia. *Trans. Amer. Soc. Artif. Intern. Organs*, 19, 456, (1973).
- [45] *K. Samsahl, D. Brune und P. O. Wester*: Simultaneous determination of 30 trace elements in cancerous and non-cancerous human tissue samples by neutron activation analysis. *Int. J. appl. Radiat. Isot.* 16, 273 (1965).



- [46] *Bundesärztekammer*: Qualitätssicherung der quantitativen Bestimmungen im Laboratorium. Neue Richtlinien der Bundesärztekammer. Dt. Ärztebl. 85, A699 – A712 (1988).
- [47] *Bundesärztekammer*: Ergänzung der „Richtlinien der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung in medizinischen Laboratorien“. Dt. Ärztebl. 91, C159 – C161 (1994).
- [48] *J. Angerer* und *K. H. Schaller* (Hrsg.): *Analyses of Hazardous Substances in Biological Materials*. Volume 1–7, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Wiley-VCH Verlag, Weinheim (1985–2001).
- [49] *J. Angerer* und *K. H. Schaller* (Hrsg.): *Analysen in biologischem Material*, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Loseblattsammlung, 14. Lieferung, Wiley-VCH Verlag, Weinheim (2000).
- [50] *J. Angerer*, *Th. Göen* und *G. Lehnert*: Mindestanforderungen an die Qualität von umweltmedizinisch-toxikologischen Analysen. *Umweltmed. Forsch. Prax.* 3, 307–312 (1998).
- [51] *Ringversuch Nr. 28*. Qualitätsmanagement in der Arbeits- und Umweltmedizin, Projektgruppe Qualitätssicherung, Organisation: Institut für Arbeits-, Sozial- und Umweltmedizin der Universität Erlangen-Nürnberg (2001).

Autor: *P. Schramel*

Prüfer: *L. Dunemann, J. Begerow, P. Brätter*

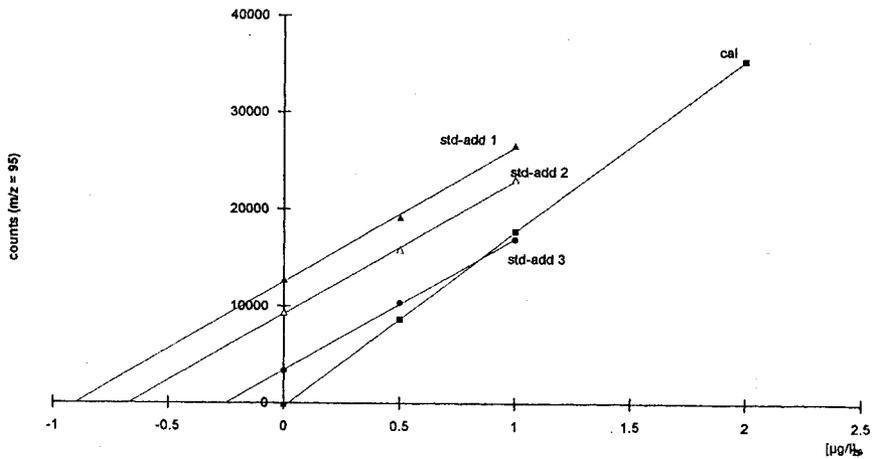


Abb. 1: Vergleich wässrige Kalibrierung (cal) und Standardaddition (std-add 1-3).

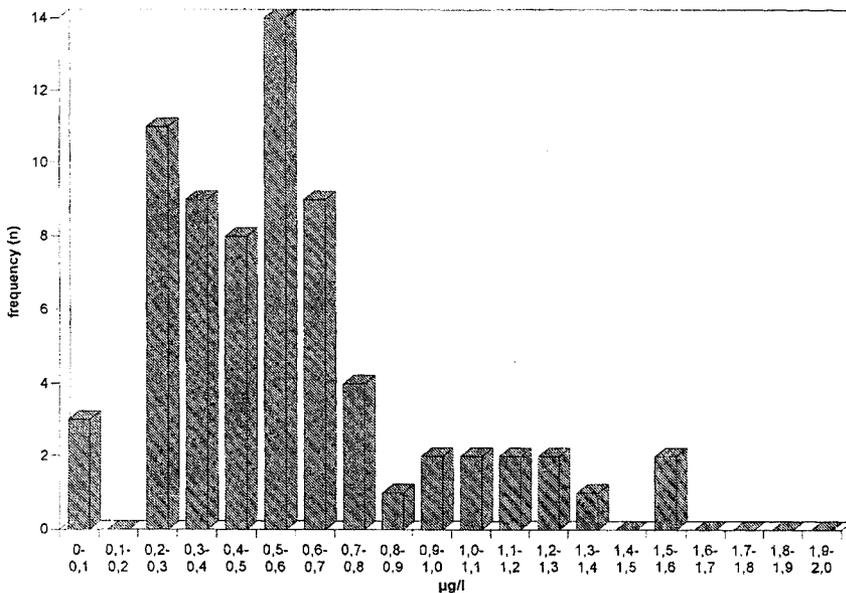


Abb. 2: Häufigkeitsverteilung Molybdän in Plasma von 70 mit dieser Methode vermessenen Proben.



