Aus dem Institut für Toxikologie und Pharmakologie für Naturwissenschaftler

(Direktor: Prof. Dr. E. Maser)

im Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel

an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

Toxikokinetik von Arsen im Menschen nach dem Verzehr von Fisch

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades

der Agrar- und Ernährungswissenschaftlichen Fakultät

der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von

M.Sc. Svenja Behrens

aus Stade

Kiel 2008

Dekan:	**Prof. Dr. J. Krieter**
1. Berichterstatter:	**Priv.-Doz. Dr. C. Alsen-Hinrichs**
2. Berichterstatter:	**Prof. Dr. M.J. Müller**
Tag der mündlichen Prüfung:	**8. Mai 2008**

Für meine Eltern

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis ..... **I**

Abbildungsverzeichnis ..... **VIII**
Tabellenverzeichnis ..... **XI**
Abkürzungsverzeichnis ..... **XVIII**

1 Einleitung **1**

2 Problemstellung **2**

3 Vorkommen von anorganischen Arsenverbindungen in der Umwelt **4**

3.1 Vorkommen von Arsen im Trinkwasser 6
3.2 Lebensmittel mit relevantem Beitrag zur Arsenaufnahme 7

4 Vorkommen von Arsen in der aquatischen Umwelt **10**

5 Toxikokinetik des Arsens **16**

6 Toxikologische Bedeutung von Arsen **20**

6.1 Mechanismus der Toxizität von Arsenat 21
6.2 Mechanismus der Toxizität von Arsenit 22
6.3 Toxizität der methylierten Arsenspezies Monomethylarsonsäure und Dimethylarsinsäure 23
6.4 Toxikologische Bedeutung von Arsenverbindungen im nicht-marinen Bereich 24
6.5 Befunde am Menschen 25
6.6 Akute Wirkungen 26
6.7 Chronische Wirkungen 27
6.7.1 Nicht-kanzerogene Wirkungen 28

6.8 Kanzerogenität von Arsenverbindungen 32
6.8.1 Chromosomenmutationen 32
6.8.2 Oxidativer Stress 33
6.8.3 Promotion der Kanzerogenese 34

7 Toxikologische Bedeutung von in marinen Organismen natürlich vorkommenden Arsenspezies 36

8 Methoden zur differenzierten Bestimmung von Arsenverbindungen 38

9 Atomabsorptionsspektrometrie 41

10 Nachweis der Monomethylarson- und Dimethylarsinsäure im Urin mittels GC/MS 44

10.1 Elektronenstoßionisierungsverfahren 45
10.2 Messtechnik in der GC/MS 46

11 Material und Methoden 47

11.1 Probandenkollektiv 47
11.2 Vorbereitung der Probengefäße 48
11.3 Durchführung des Versuchs 48
11.3.1 Die Fischmahlzeit 48
11.3.2 Probenentnahme und Probenlagerung 50
11.4 Geräte und Reagenzien 51
11.4.1 Geräte 51
11.4.2 Reagenzien 51
11.5 Probenaufbereitung 53
11.5.1 Konventioneller Druckaufschluss nach Tölg 53
11.5.2 Mikrowellenunterstützter Druckaufschluss 54
11.6 Die Arsenbestimmung 56
11.7 Matrixmodifier, Reduktions- und Kalibrierlösungen 59
11.7.1 Matrixmodifier 59
11.7.2 Reduktionslösung 59

11.7.3 Reduktionslösung zur Reduzierung der Oxidationsstufe 59
11.7.4 Kalibrierlösungen 59
11.7.5 Überprüfung der Kalibrierung 60
11.8 Die Bestimmung von Monomethylarsonsäure und Dimethylarsinsäure im Urin 60
11.9 Absicherung der Messverfahren 64
11.9.1 Standardlösungen 64
11.9.2 Eichgerade 64
11.10 Absicherung der Methoden 67
11.10.1 Präzision der Aufschlussmethoden 67
11.10.2 Präzision des Messgerätes 69
11.10.3 Reproduzierbarkeit 71
11.10.4 Wiederfindung 73
11.10.5 Nachweisgrenze 73
11.10.6 Richtigkeit 74
11.11 Statistische Auswertungen 74

12 Ergebnisse zum Arsen 74

12.1 Vergleich der Aufschlussmethoden 77
12.2 Ergebnisse zu Arsen im Fisch 78
12.3 Ergebnisse zu Arsen im Urin 82
12.4 Ergebnisse zu Arsen im Blut 86
12.5 Arsenkonzentration / Alter 94
12.5.1 Ergebnisse zum Arsen im Urin in Abhängigkeit vom Alter 94
12.5.2 Ergebnisse zum Arsen im Blut in Abhängigkeit vom Alter 102
12.6 Arsenkonzentration / Geschlecht 104
12.6.1 Ergebnisse zum Arsen im Urin in Abhängigkeit vom Geschlecht 104
12.6.2 Ergebnisse zum Arsen im Blut in Abhängigkeit vom Geschlecht 109
12.7 Arsenkonzentration / BMI 111
12.7.1 Ergebnisse zum Arsen im Urin in Abhängigkeit vom BMI 111
12.7.2 Ergebnisse zum Arsen im Blut in Abhängigkeit vom BMI 118
12.8 Ergebnisse zur Bestimmung von MMA und DMA im Urin 120

13 Diskussion **121**

14 Ausblick **135**

15 Zusammenfassung **137**

16 Summary **140**

17 Anhang **143**

18 Literaturverzeichnis **192**

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Strukturformeln von Arsenat und Arsenit 5
Abbildung 2: Reduktion und Methylierung von Arsenat durch Mikroorganismen 10
Abbildung 3: Strukturformeln von Monomethylarsonat und Dimethylarsinat 11
Abbildung 4: Strukturformeln von Arsenobetain, Arsenocholin, Trimethylarsinoxid und Tetramethylarsoniumion 12
Abbildung 5: Strukturformel von Arsenozucker 13
Abbildung 6: Biomethylierung von Arsen 19
Abbildung 7: Wirkungen des Arsenats im Organismus 21
Abbildung 8: Aufbau eines GC/MS 44
Abbildung 9: Arsenbestimmung 56
Abbildung 10: Massenspektrum der Monomethylarsonsäure 61
Abbildung 11: Massenspektrum Dimethylarsinsäure 61
Abbildung 12: Darstellung der Kalibriergeraden für Dimethylarsinsäure 63
Abbildung 13: Darstellung der Kalibriergeraden für Monomethylarsonsäure 63
Abbildung 14: Vergleich der mit wässriger Lösung erstellten Eichgeraden mit der Standardadditionseichgeraden 65
Abbildung 15: Kalibriergerade für Gesamtarsen 65
Abbildung 16: Kalibriergerade für anorganisches Arsen 66
Abbildung 17: Darstellung der Wiederfindung für den Druckaufschluss nach Tölg und den mikrowellenunterstütztem Druckaufschluss 77
Abbildung 18: Vergleich der Gehalte an Gesamtarsen in roher und gebratener Scholle 79
Abbildung 19: Vergleich der Gehalte an anorganischem Arsen in rohem und gebratenem Fisch 81
Abbildung 20: Gesamtarsengehalte im Urin nach der Fischmahlzeit 83
Abbildung 21: Konzentrationen an anorganischem Arsen im Urin nach der Fischmahlzeit 85
Abbildung 22: Gesamtarsengehalte im Blut nach der Fischmahlzeit 87
Abbildung 23: Gehalte an anorganischem Arsen im Blut nach der Fischmahlzeit 89
Abbildung 24: Box&Whisker-Blots für die Gesamtarsenkonzentrationen im Urin 24 h nach Fischaufnahme in Abhängigkeit von verschiedenen Altersklassen 95
Abbildung 25: Box&Whisker-Blots für die Gesamtarsenkonzentrationen im Urin 48 h nach Fischaufnahme in Abhängigkeit von verschiedenen Altersklassen 96

Abbildung 26: Box&Whisker-Blots für die Gesamtarsenkonzentrationen im Urin 72 h nach Fischaufnahme in Abhängigkeit von verschiedenen Altersklassen..... 97
Abbildung 27: Box&Whisker-Blots für die anorganischen Arsenkonzentrationen im Urin 24 h nach Fischaufnahme in Abhängigkeit von verschiedenen Altersklassen..... 99
Abbildung 28: Box&Whisker-Blots für die anorganischen Arsenkonzentrationen im Urin 48 h nach Fischaufnahme in Abhängigkeit von verschiedenen Altersklassen..... 100
Abbildung 29: Box&Whisker-Blots für die anorganischen Arsenkonzentrationen im Urin 72 h nach Fischaufnahme in Abhängigkeit von verschiedenen Altersklassen..... 101
Abbildung 30: Gesamtarsengehalte im Blut nach Fischverzehr in Abhängigkeit von verschiedenen Altersklassen..... 102
Abbildung 31: Konzentrationen an anorganischem Arsen im Blut nach Fischverzehr in Abhängigkeit von verschiedenen Altersklassen. 103
Abbildung 32: Box&Whisker-Blots für die Gesamtarsenkonzentrationen im Urin 24 h nach Fischaufnahme in Abhängigkeit vom Geschlecht 104
Abbildung 33: Box&Whisker-Blots für die Gesamtarsenkonzentrationen im Urin 48 h nach Fischaufnahme in Abhängigkeit vom Geschlecht 105
Abbildung 34: Box&Whisker-Blots für die Gesamtarsenkonzentrationen im Urin 72 h nach Fischaufnahme in Abhängigkeit vom Geschlecht 106
Abbildung 35: Box&Whisker-Blots für die anorganischen Arsenkonzentrationen im Urin 24 h nach Fischaufnahme in Abhängigkeit vom Geschlecht 107
Abbildung 36: Box&Whisker-Blots für die anorganischen Arsenkonzentrationen im Urin 48 h nach Fischaufnahme in Abhängigkeit vom Geschlecht 108
Abbildung 37: Box&Whisker-Blots für die anorganischen Arsenkonzentrationen im Urin 72 h nach Fischaufnahme in Abhängigkeit vom Geschlecht 108
Abbildung 38: Gesamtarsengehalte im Blut nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Geschlecht 109
Abbildung 39: Konzentrationen an anorganischem Arsen im Blut nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Geschlecht 110
Abbildung 40: Box&Whisker-Blots für die Gesamtarsenkonzentrationen im Urin 24 h nach Fischaufnahme in Abhängigkeit von verschiedenen BMI-Klassen..... 112
Abbildung 41: Box&Whisker-Blots für die Gesamtarsenkonzentrationen im Urin 48 h nach Fischaufnahme in Abhängigkeit von verschiedenen BMI-Klassen..... 113
Abbildung 42: Box&Whisker-Blots für die Gesamtarsenkonzentrationen im Urin 72 h nach Fischaufnahme in Abhängigkeit von verschiedenen BMI-Klassen. 114

Abbildung 43: Box&Whisker-Blots für die anorganischen Arsenkonzentrationen im Urin 24 h nach Fischaufnahme in Abhängigkeit von verschiedenen BMI-Klassen..... 115
Abbildung 44: Box&Whisker-Blots für die anorganischen Arsenkonzentrationen im Urin 48 h nach Fischaufnahme in Abhängigkeit von verschiedenen BMI-Klassen..... 116
Abbildung 45: Box&Whisker-Blots für die anorganischen Arsenkonzentrationen im Urin 72 h nach Fischaufnahme in Abhängigkeit von verschiedenen BMI-Klassen..... 117
Abbildung 46: Gesamtarsengehalte im Blut nach Fischverzehr in Abhängigkeit von verschiedenen BMI-Klassen..... 118
Abbildung 47: Konzentrationen von anorganischem Arsen im Blut nach Fischverzehr in Abhängigkeit von verschiedenen BMI-Klassen..... 119

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Arsenaußenluftkonzentration (Jahresmittelwerte 2002) 6
Tabelle 2: Tägliche Zufuhr von Arsen mit der Nahrung 7
Tabelle 3: Mittlere Arsenkonzentrationen in verschiedenen Lebensmittelgruppen 9
Tabelle 4: LD_{50}-Werte ausgewählter Arsenverbindungen bei Ratten 20
Tabelle 5: Effekte einer akuten und chronischen Arsenvergiftung 29
Tabelle 6: Lebensdaten und Expositionsverhältnisse fünf männlicher Winzer mit arsenbedingten Erkrankungen 31
Tabelle 7: Methoden zur Bestimmung von Arsenverbindungen 39
Tabelle 8: Personendaten und absolute Verzehrsmenge der einzelnen Versuchspersonen. 49
Tabelle 9: Temperaturprogramm für den Mikrowellen-Aufschluss 55
Tabelle 10: Verwendetes Temperaturprogramm für die Bestimmung von Arsen in Urin und Fisch mittels Graphitrohrofentechnik 57
Tabelle 11: Verwendetes Temperaturprogramm für die Bestimmung von Arsen im Blut mittels Graphitrohrofentechnik 57
Tabelle 12: Retentionszeiten und substanzspezifische Massenfragmente der methylierten Arsenverbindungen 62
Tabelle 13: Bedingungen der GC/MS-Analyse bei der Bestimmung der methylierten Arsenverbindungen 62
Tabelle 14: Präzision der Aufschlussmethode "Druckaufschluss nach Tölg" für Gesamtarsen 67
Tabelle 15: Präzision der Aufschlussmethode "Mikrowellenunterstützter Druckaufschluss" für Gesamtarsen 68
Tabelle 16: Präzision der Aufschlussmethode "Druckaufschluss nach Tölg" für anorganisches Arsen 68
Tabelle 17: Präzision der Aufschlussmethode für DMA und MMA im Urin 69
Tabelle 18: Präzision der Messung der Gesamtarsenkonzentration mit der Graphitrohrofentechnik 69
Tabelle 19: Präzision der Messung der Konzentration an anorganischem Arsen mit der Hydridtechnik 70
Tabelle 20: Präzision der Messung der Konzentration an MMA und DMA im Urin mittels GC/MS 70
Tabelle 21: Reproduzierbarkeit der Methode für Gesamtarsen mittels Druckaufschluss nach Tölg 71

Tabelle 22: Reproduzierbarkeit der Methode für Gesamtarsen mittels mikrowellenunterstütztem Druckaufschluss 71
Tabelle 23: Reproduzierbarkeit der Methode für anorganisches Arsen mittels Druckaufschluss nach Tölg 72
Tabelle 24: Reproduzierbarkeit der Methode zur Messung der Konzentration an MMA und DMA im Urin mittels GC/MS 72
Tabelle 25: Vergleich der Konzentrationen an Gesamtarsen in rohem und gebratenem Fisch. 78
Tabelle 26: Vergleich der Konzentrationen an anorganischem Arsen in rohem und gebratenem Fisch 80
Tabelle 27: Darstellung der Gesamtarsenkonzentrationen im Urin nach der Fischmahlzeit ... 82
Tabelle 28: Darstellung der anorganischen Arsenkonzentrationen im Urin nach der Fischmahlzeit 84
Tabelle 29: Gesamtarsengehalte im Blut nach der Fischmahlzeit 86
Tabelle 30: Anorganische Arsengehalte im Blut nach der Fischmahlzeit 88
Tabelle 31: Darstellung der aufgenommenen Gesamtarsenmengen und der über den Urin ausgeschiedenen Gesamtarsenmengen zu den jeweiligen Zeitpunkten (Absolutwerte) .. 90
Tabelle 32: Darstellung der aufgenommenen Gesamtarsenmengen und der über den Urin ausgeschiedenen Gesamtarsenmengen zu den jeweiligen Zeitpunkten (Prozentwerte)... 91
Tabelle 33: Darstellung der aufgenommenen anorganischen Arsenmengen und der über den Urin ausgeschiedenen anorganischen Arsenmengen zu den jeweiligen Zeitpunkten (Absolutwerte) 92
Tabelle 34: Darstellung der aufgenommenen anorganischen Arsenmengen und der über den Urin ausgeschiedenen anorganischen Arsenmengen zu den jeweiligen Zeitpunkten (Prozentwerte) 93
Tabelle 35: Ergebnisse für die Gesamtarsenkonzentrationen im Urin in Abhängigkeit von verschiedenen Altersklassen 94
Tabelle 36: Ergebnisse für die anorganischen Arsenkonzentrationen im Urin in Abhängigkeit von verschiedenen Altersklassen 98
Tabelle 37: Befunde aus der Literatur zum Gesamtarsengehalt in rohem Fisch 124
Tabelle 38: Befunde aus der Literatur zum Gehalt an anorganisch gebundenem Arsen in rohem Fisch 126
Tabelle 39: Messergebnisse für Gesamtarsenkonzentrationen im Fisch 143
Tabelle 40: Messergebnisse für anorganische Arsenkonzentrationen im Fisch 144

Tabelle 41: Messergebnisse für Gesamtarsenkonzentrationen im Urin in Abhängigkeit von der Zeit nach der Fischmahlzeit 145
Tabelle 42: Messergebnisse für anorganische Arsenkonzentrationen im Urin in Abhängigkeit von der Zeit nach der Fischmahlzeit 146
Tabelle 43: Messergebnisse für Gesamtarsenkonzentrationen im Blut in Abhängigkeit von der Zeit nach der Fischmahlzeit 147
Tabelle 44: Messergebnisse für anorganische Arsenkonzentrationen im Blut in Abhängigkeit von der Zeit nach der Fischmahlzeit 148
Tabelle 45: Ergebnisse für die Gesamtarsenkonzentrationen im Blut in Abhängigkeit von verschiedenen Altersklassen 149
Tabelle 46: Ergebnisse für die anorganischen Arsenkonzentrationen im Blut in Abhängigkeit von verschiedenen Altersklassen 149
Tabelle 47: Ergebnisse für die Gesamtarsenkonzentrationen im Urin in Abhängigkeit vom Geschlecht 150
Tabelle 48: Ergebnisse für die anorganischen Arsenkonzentrationen im Urin in Abhängigkeit vom Geschlecht 150
Tabelle 49: Ergebnisse für die Gesamtarsenkonzentrationen im Blut in Abhängigkeit vom Geschlecht 150
Tabelle 50: Ergebnisse für die anorganischen Arsenkonzentrationen im Blut in Abhängigkeit vom Geschlecht 151
Tabelle 51: Ergebnisse für die Gesamtarsenkonzentrationen im Urin in Abhängigkeit von den verschiedenen BMI-Klassen 151
Tabelle 52: Ergebnisse für die anorganischen Arsenkonzentrationen im Urin in Abhängigkeit von verschiedenen BMI-Klassen 152
Tabelle 53: Ergebnisse für die Gesamtarsenkonzentrationen im Blut in Abhängigkeit von verschiedenen BMI-Klassen 152
Tabelle 54: Ergebnisse für die anorganischen Arsenkonzentrationen im Blut in Abhängigkeit von verschiedenen BMI-Klassen 153
Tabelle 55: Gesamtarsenkonzentrationen im Urin 24 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Alter 153
Tabelle 56: Gesamtarsenkonzentrationen im Urin 48 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Alter 154
Tabelle 57: Gesamtarsenkonzentrationen im Urin 72 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Alter 154

Tabelle 58: Anorganische Arsenkonzentrationen im Urin 24 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Alter 155
Tabelle 59: Anorganische Arsenkonzentrationen im Urin 48 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Alter 155
Tabelle 60: Anorganische Arsenkonzentrationen im Urin in 72 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Alter 156
Tabelle 61: Gesamtarsenkonzentrationen im Blut 1 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Alter 156
Tabelle 62: Gesamtarsenkonzentrationen im Blut 2 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Alter 157
Tabelle 63: Gesamtarsenkonzentrationen im Blut 4 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Alter 157
Tabelle 64: Gesamtarsenkonzentrationen im Blut 6 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Alter 158
Tabelle 65: Gesamtarsenkonzentrationen im Blut 8 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Alter 158
Tabelle 66: Gesamtarsenkonzentrationen im Blut 10 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Alter 159
Tabelle 67: Gesamtarsenkonzentrationen im Blut 24 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Alter 159
Tabelle 68: Gesamtarsenkonzentrationen im Blut 48 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Alter 160
Tabelle 69: Anorganische Arsenkonzentrationen im Blut vor Fischverzehr in Abhängigkeit vom Alter 160
Tabelle 70: Anorganische Arsenkonzentrationen im Blut 1 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Alter 161
Tabelle 71: Anorganische Arsenkonzentrationen im Blut 2 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Alter 161
Tabelle 72: Anorganische Arsenkonzentrationen im Blut 4 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Alter 162
Tabelle 73: Anorganische Arsenkonzentrationen im Blut 6 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Alter 162
Tabelle 74: Anorganische Arsenkonzentrationen im Blut 8 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Alter 163

Tabelle 75: Anorganische Arsenkonzentrationen im Blut 10 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Alter 163
Tabelle 76: Anorganische Arsenkonzentrationen im Blut 24 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Alter 164
Tabelle 77: Anorganische Arsenkonzentrationen im Blut 48 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Alter 164
Tabelle 78: Gesamtarsenkonzentrationen im Urin 24 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Geschlecht 165
Tabelle 79: Gesamtarsenkonzentrationen im Urin 48 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Geschlecht 165
Tabelle 80: Gesamtarsenkonzentrationen im Urin 72 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Geschlecht 166
Tabelle 81: Anorganische Arsenkonzentrationen im Urin 24 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Geschlecht 166
Tabelle 82: Anorganische Arsenkonzentrationen im Urin 48 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Geschlecht 167
Tabelle 83: Anorganische Arsenkonzentrationen im Urin 72 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Geschlecht 167
Tabelle 84: Gesamtarsenkonzentrationen im Blut 1 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Geschlecht 168
Tabelle 85: Gesamtarsenkonzentrationen im Blut 2 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Geschlecht 168
Tabelle 86: Gesamtarsenkonzentrationen im Blut 4 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Geschlecht 169
Tabelle 87: Gesamtarsenkonzentrationen im Blut 6 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Geschlecht 169
Tabelle 88: Gesamtarsenkonzentrationen im Blut 8 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Geschlecht 170
Tabelle 89: Gesamtarsenkonzentrationen im Blut 10 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Geschlecht 170
Tabelle 90: Gesamtarsenkonzentrationen im Blut 24 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Geschlecht 171
Tabelle 91: Gesamtarsenkonzentrationen im Blut 48 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Geschlecht 171

Tabelle 92: Anorganische Arsenkonzentrationen im Blut vor Fischverzehr in Abhängigkeit vom Geschlecht 172
Tabelle 93: Anorganische Arsenkonzentrationen im Blut 1 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Geschlecht 172
Tabelle 94: Anorganische Arsenkonzentrationen im Blut 2 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Geschlecht 173
Tabelle 95: Anorganische Arsenkonzentrationen im Blut 4 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Geschlecht 173
Tabelle 96: Anorganische Arsenkonzentrationen im Blut 6 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Geschlecht 174
Tabelle 97: Anorganische Arsenkonzentrationen im Blut 8 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Geschlecht 174
Tabelle 98: Anorganische Arsenkonzentrationen im Blut 10 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Geschlecht 175
Tabelle 99: Anorganische Arsenkonzentrationen im Blut 24 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Geschlecht 175
Tabelle 100: Anorganische Arsenkonzentrationen im Blut 48 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Geschlecht 176
Tabelle 101: Gesamtarsenkonzentrationen im Urin 24 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom BMI 176
Tabelle 102: Gesamtarsenkonzentrationen im Urin 48 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom BMI 177
Tabelle 103: Gesamtarsenkonzentrationen im Urin 72 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom BMI 177
Tabelle 104: Anorganische Arsenkonzentrationen im Urin 24 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom BMI 178
Tabelle 105: Anorganische Arsenkonzentrationen im Urin 48 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom BMI 178
Tabelle 106: Anorganische Arsenkonzentrationen im Urin 72 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom BMI 179
Tabelle 107: Gesamtarsenkonzentrationen im Blut 1 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom BMI 179
Tabelle 108: Gesamtarsenkonzentrationen im Blut 2 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom BMI 180

Tabelle 109: Gesamtarsenkonzentrationen im Blut 4 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom BMI 180
Tabelle 110: Gesamtarsenkonzentrationen im Blut 6 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom BMI 181
Tabelle 111: Gesamtarsenkonzentrationen im Blut 8 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom BMI 181
Tabelle 112: Gesamtarsenkonzentrationen im Blut 10 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom BMI 182
Tabelle 113: Gesamtarsenkonzentrationen im Blut 24 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom BMI 182
Tabelle 114: Gesamtarsenkonzentrationen im Blut 48 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom BMI 183
Tabelle 115: Anorganische Arsenkonzentrationen im Blut vor Fischverzehr in Abhängigkeit vom BMI 183
Tabelle 116: Anorganische Arsenkonzentrationen im Blut 1 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom BMI 184
Tabelle 117: Anorganische Arsenkonzentrationen im Blut 2 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom BMI 184
Tabelle 118: Anorganische Arsenkonzentrationen im Blut 4 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom BMI 185
Tabelle 119: Anorganische Arsenkonzentrationen im Blut 6 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom BMI 185
Tabelle 120: Anorganische Arsenkonzentrationen im Blut 8 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom BMI 186
Tabelle 121: Anorganische Arsenkonzentrationen im Blut 10 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom BMI 186
Tabelle 122: Anorganische Arsenkonzentrationen im Blut 24 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom BMI 187
Tabelle 123: Anorganische Arsenkonzentrationen im Blut 48 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom BMI 187

Abkürzungsverzeichnis

AAS = Atomabsorptionsspektrometrie

HPLC = High-Performance-Liquid-Chromatography

ICP-MS = Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma

HG = Hydrid-Atomabsorptionsspektrometrie

GC = Gaschromatographie

AES = Atomemissionspektrometrie

LC = Flüssigkeitschromatographie

FIAS = Fließinjektions-Analyse-System

EI = Elektronenstoß-Ionisierung

SIM = selected ion monitoring

FG = Frischgewicht

AB = Arsenobetain

AC = Arsenocholin

TMAO = Trimethylarsinoxid

TEMA = Tetramethylarsonium ion

MMA^{III} = dreiwertige Monomethylarsonsäure

MMA^{V} = fünfwertige Monomethylarsonsäure

DMA^{III} = dreiwertige Dimethylarsinsäure

DMA^{V} = fünfwertige Dimethylarsinsäure

TGM = Thioglykolsäuremethylester

1 Einleitung

Das Vorkommen von Schadstoffen in Lebensmitteln und die damit einhergehenden Gesundheitsrisiken für den Verbraucher stellen ein großes Problem unserer Bevölkerung dar.
Marine Organismen enthalten Arsen in Größenordnungen von einem bis zu einigen zehn mg/kg Frischgewicht (LARSEN et al., 2005; LEHMANN, 2000; BALLIN, 1994; EDMONDS et al., 1993; LEAH et al., 1992; MÜNZ, 1989). Dabei sind in Süßwasserfischen und terrestrischen Lebensmitteln deutlich geringere Gesamtarsenkonzentrationen zu finden als in Seefischen (UBA, 2003). Auffällig ist die große Schwankungsbreite bei den Arsengehalten in Fischen, welche möglicherweise auf anthropogene Faktoren zurückzuführen ist. Im Gegensatz zu den Schwermetallen Blei, Cadmium und Quecksilber wurden für Arsen bislang keine Höchstgehalte bzw. Richtwerte festgesetzt. Lediglich der Arsengehalt im Trinkwasser wurde durch die Trinkwasserverordnung auf 0,01 mg/l begrenzt.
Einzelne Arsenverbindungen unterscheiden sich stark in ihrer Toxizität (MANDAL und SUZUKI, 2002). Für eine umfassende Beurteilung der Arsenkonzentrationen in Fischen ist es wichtig, neben dem Gesamtarsengehalt auch die einzelnen Arsenverbindungen im Fisch und die daraus im Organismus gebildeten Metaboliten nachzuweisen.

2 Problemstellung

Fisch spielt bei einer gesunden und ausgewogenen Ernährung eine wichtige Rolle. Er liefert hochwertiges, leicht verdauliches Eiweiß und sein Fett ist reich an essentiellen, mehrfach ungesättigten Fettsäuren, darunter die wertvollen omega-3-Fettsäuren. Darüber hinaus enthält Fisch lebenswichtige Vitamine und Mineralstoffe. Als einschränkend ist möglicherweise der Arsengehalt in Fischen anzusehen. Arsen kommt in Fischen in verschiedenen Verbindungen vor. Die dominierende Arsenspezies im Fisch ist die organische Arsenverbindung Arsenobetain. Daneben kommen aber auch anorganische Arsenverbindungen in geringen Konzentrationen vor. Die mit dem Fisch aufgenommenen Arsenverbindungen werden im menschlichen Organismus resorbiert und metabolisiert. Bisher wurde die Biomethylierung von Arsenat und Arsenit zu Monomethylarsonsäure und Dimethylarsinsäure als Detoxifizierungsprozess angesehen, da die gebildeten Spezies nicht an Gewebe binden und schnell über den Urin eliminiert werden. Neuere Untersuchungen konnten jedoch zeigen, dass methylierte Arsenverbindungen ebenfalls toxisch wirken, zum Teil sogar toxischer als ihre Ausgangsverbindungen (LIN et al., 2001).

In der Literatur finden sich Untersuchungen darüber, dass es infolge einer Fischaufnahme zu einem Anstieg der Konzentration an dimethylierten Arsenverbindungen im Urin kommt (HEINRICH-RAMM et al., 2002; ARBOUINE und WILSON, 1992; SUR et al., 2004). Daher wird davon ausgegangen, dass neben den anorganischen Arsenverbindungen auch organische Arsenverbindungen wie Arsenobetain und Arsenozucker zu Dimethylarsinsäure metabolisiert werden (STYBLO et al., 2000; PETRICK et al., 2000; VEGA et al., 2001; HEINRICH-RAMM et al., 2002).

Anorganischen Arsenverbindungen und ihren durch Biomethylierung gebildeten Metaboliten wird eine hohe akute und chronische Toxizität zugeschrieben (SYBLO et al., 1997; LIN et al., 1999; HUGHES, 2002; DOPP, 2004; YAMANAKA et al., 2001). Weitgehend unberücksichtigt blieben in der Vergangenheit mögliche Gesundheitsbeeinträchtigungen infolge einer Aufnahme von organischen Arsenverbindungen durch Fischverzehr.

Daher war das primäre Ziel dieser Arbeit zu prüfen, ob es infolge einer Fischaufnahme zu einem Anstieg von methylierten Arsenverbindungen im Urin kommt. Die in der Literatur beschriebenen Analyseverfahren zur qualitativen Bestimmung von Monomethylarsonsäure und Dimethylarsinsäure im Urin nach Fischverzehr werden vorwiegend mittels

HPLC-ICP-MS oder HGAAS durchgeführt (SHRAIM et al., 2000; DO et al., 2000; QUINAIA und ROLLEMBER, 2001). Diese Verfahren erscheinen aufgrund der hohen apparativen Aufwendungen für viele Untersuchungslabore ungeeignet. Daher wurde in der vorliegenden Arbeit ein GC/MS verwendet.

Aussagen bezüglich der Kinetik des Arsens in Abhängigkeit von Geschlecht, Alter und Body-Mass-Index existieren in der Literatur nur vereinzelt (LINDBERG et al., 2007; KURTTIO, 1998; CHRISTENSEN, 1995; KRISTIANSEN et al., 1997). Daher sollen infolge einer kontrollierten Fischaufnahme die Gesamtarsenkonzentrationen und die Konzentrationen an anorganischem Arsen in Urin und Blut erfasst und mögliche Unterschiede zwischen Geschlecht, Alter und Body-Mass-Index abgeleitet werden.

Weiterhin sollen die Gesamtarsenkonzentrationen und die Konzentrationen an anorganischem Arsen in rohem und gebratenem Fisch miteinander verglichen werden.

Aufgrund des hohen Zeitaufwandes für den Probenaufschluss sind einige Methoden für Routinearbeiten in Untersuchungslaboren ungeeignet. Daher ist der Wunsch nach einer schnelleren, aber dennoch qualitativ hochwertigen Aufschlussmethode verständlich. Aus diesem Grund kommt im Rahmen dieser Arbeit neben dem zeitaufwendigen Druckaufschluss nach Tölg der mikrowellenunterstützte Druckaufschluss zum Einsatz.

3 Vorkommen von anorganischen Arsenverbindungen in der Umwelt

Arsen kommt aufgrund seines natürlichen Vorkommens in der Erdkruste und infolge anthropogener Emissionen ubiquitär in Luft, Boden, Trinkwasser und Lebensmitteln vor.

Mit einem durchschnittlichen Anteil von 2 - 5 mg/kg befindet sich Arsen an Position 20 der Elementhäufigkeit in der Erdkruste (GONG et al., 2002). Es kommt in ca. 245 verschiedenen Mineralien vor (WHO, 1981; MANDAL und SUZUKI, 2002).
Die dominierende natürliche Emission von anorganischen Arsenverbindungen geht von Vulkanausbrüchen aus, gefolgt von Erosionen arsenhaltiger Gesteine.

Mit der Industrialisierung stiegen die anthropogenen Arsenemissionen durch die Verwendung von fossilen Roh- und Brennstoffen an (UBA, 2003). Als die bedeutendsten anthropogenen Arsenquellen gelten zurzeit die Verfeuerung fossiler Brennstoffe und die Metallverhüttung. Daneben tragen auch Halbleiterindustrie, Bergbau, keramische Industrie, Glasindustrie, Gerbereien, Kohleverbrennung, Herbizidanwendung, Herstellung von Glas- und Farbpigmenten, Holzschutz, Müllverbrennung und Stahlproduktion zur Arsenbelastung der Umwelt bei. Die Hauptarsenproduzenten sind neben Deutschland China, Frankreich, Mexiko, Peru, Namibia, Schweden und die USA (MANDAL und SUZUKI, 2002; MÜLLER et al., 2007, MATSCHULLAT, 2000).

Im Grund- und Oberflächenwasser kommt Arsen geologisch bedingt vor. Es kommen aber auch anthropogen bedingte Belastungen vor (UMWELT-SURVEY, 1998; KEVEKORDES et al., 1998; CHOWDHURY et al., 2000). Das Redoxpotential im Grund- und Oberflächenwasser bestimmt das Verhältnis zwischen As^{III} und As^{V} -Verbindungen, d.h. je sauerstoffärmer das Grundwasser, desto höher sind die Konzentrationen an dreiwertigem Arsen (UBA, 2003). In Flüssen und Seen schwanken die Arsenkonzentrationen beträchtlich (ANDREAE et al., 1983). Konzentrationen von 0,4 - 0,8 µg/l sind für Süßwasser typisch (LE et al., 2000). Für Meerwasser werden Arsenkonzentrationen von 1 - 1,8 µg/l angegeben. In Küstenbereichen sind 1 - 3 µg Arsen/l typisch (LE et al., 2000). Die Arsenkonzentrationen im

marinen Oberflächenwasser können bedingt durch die biologische Aufnahme saisonalen Schwankungen unterliegen (CULLEN und REIMER, 1989).
Die natürliche Arsenkonzentration der Böden liegt in Deutschland zwischen 0,1 und 20 mg Arsen/kg (UBA, 2003). Geogen bedingt können die Gehalte bis zu 100 mg Arsen/kg betragen. Im Umfeld von Kupferhütten und Arsenproduktionsstätten können die Böden mit bis zu 1000 mg Arsen/kg belastet sein (MATSCHULLAT, 2000; DICKERSON, 1980; CRECELIUS, 1974; BINDER, 1987). Hohe Arsenkonzentrationen können auch auf landwirtschaftlich genutzten Flächen vorkommen, die mit arsenhaltigen Herbiziden bearbeitet wurden (WHO, 2001).

In der Luft kommt Arsen gebunden an Schwebstaub als Gemisch von Arsenit und Arsenat vor (MANDAL und SUZUKI, 2002). Während in ländlichen Regionen zwischen 0,5 und 1 ng Arsen/m^3 in der Luft vorkommt, können in der Nähe von Emittenten die Konzentrationen bis auf 15 ng Arsen/m^3 ansteigen (UBA, 2003).

Arsenat Arsenit

Abbildung 1: Strukturformeln von Arsenat und Arsenit

(QUAGHEBEUR und RENGEL, 2005)

Arsen gelangt zusammen mit anderen giftigen Schwermetallen über den Abfall in Müllverbrennungsanlagen. Um hohe Arsenemissionen zu verhindern, wurden in Folge der 17. Bundesimmissionsschutz-Verordnung Filter bei Müllverbrennungsanlagen eingebaut (BUNDESINSTITUT FÜR UMWELT, NATURSCHUTZ UND REAKTORSICHERHEIT, 2005). Bislang liegen keine vollständigen Datensätze über die Arsenkonzentrationen in der Außenluft in der Bundesrepublik Deutschland vor. Erst seit dem 15.12.2004 nach Inkrafttreten der 4. Tochterrichtlinie der EU über Arsen, Cadmium, Quecksilber und

polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe in der Luft sind die Bundesländer verpflichtet Arsen in der PM10-Fraktion (partikelgebundenes Arsen) der Stäube zu messen (UBA, 2007).

Tabelle 1: Arsenaußenluftkonzentration (Jahresmittelwerte 2002)
(UBA, 2007)

Ort	Westerland	Waldhof	Schauinsland	Deuselbach	Zingst	Neuglobsow	Schmücke
Arsenkonzentration in ng/m³	0,61	0,76	0,2	0,48	0,63	0,86	0,43

Für die Arsenkonzentrationen in der Außenluft liegen keine Grenzwerte sondern Zielwerte vor. Der Zielwert für die Luftbelastung durch Arsen liegt bei 6 ng Arsen/m³ (EU, 2004).

3.1 Vorkommen von Arsen im Trinkwasser

Nach der oxidativen Aufbereitung des Trinkwassers liegen etwa 80 – 90 % des Arsens im Trinkwasser in fünfwertiger Form vor. Nach dem Umweltsurvey des Umweltbundesamtes aus dem Jahr 1998 liegt die mittlere Arsenkonzentration im Trinkwasser der 18- bis 69-jährigen Bevölkerung bei 0,4 µg/l und damit deutlich unter dem Grenzwert der Trinkwasserverordnung von 10 µg/l.
Weltweit gesehen kommen hohe Belastungen des Trinkwassers mit anorganischem Arsen z.B. in Bangladesh, Taiwan, Nepal und in der inneren Mongolei vor. Geogen bedingt liegen dort die Arsenkonzentrationen zwischen 100 und 1000 µg/l Trinkwasser. Diese hohen Werte im Trinkwasser führen nachweislich zu Erkrankungen der Bevölkerung (siehe Kapitel 6.7.1).
Es wird davon ausgegangen, dass mehr als 10 000 000 Menschen von Arsenerkrankungen durch arsenbelastetes Trinkwasser betroffen sind. Erkrankungen, die durch eine Arsenbelastung hervorgerufen werden, haben eine jahrzehntelange Latenzzeit. Daher ist in den betroffenen Bevölkerungsschichten in den kommenden Jahrzehnten mit weiteren Gesundheitsschäden zu rechnen. Bedenklich ist dabei die Tatsache, dass nicht nur Erwachsene mit dem arsenbelasteten Trinkwasser versorgt werden, sondern auch Kinder, Kleinkinder und Säuglinge (BÖCHER et al., 2006).

3.2 Lebensmittel mit relevantem Beitrag zur Arsenaufnahme

Die Arsenkonzentrationen in Gemüse, Getreide und anderen Lebensmitteln sind gering (BURLÒ et al., 1999). Terrestrische Lebensmittel enthalten Arsen überwiegend in anorganisch gebundener Form in Konzentrationen von im Mittel 2,5 µg Arsen/kg (UBA, 2003). Die organischen Arsenverbindungen machen nur einen geringen Teil aus.

Tabelle 2: Tägliche Zufuhr von Arsen mit der Nahrung (24-h-Duplikate, n = 312, 25 bis 69jährige Erwachsene aus den alten Bundesländern)

(UMWELT-SURVEY, 1998)

	mg/kg		**µg/Tag**		**µg/kg KG* Tag**	
	BG	n < BG	MAX	GM	MAX	GM
Arsen	0,05	298	2000	71,8	22,5	0,99

Anmerkungen: BG = Bestimmungsgrenze; n < BG = Anzahl Werte unter der Bestimmungsgrenze; Max = Maximalwert; GM = Geometrisches Mittel

In Getreide liegen 65 % des Gesamtarsens in anorganisch gebundener Form vor. Die Arsenkonzentrationen in Getreide und Gemüse nehmen mit steigender Arsenkonzentration in der Erde und dem Grundwasser zu, wobei die Arsenaufnahme auch sehr stark von der Pflanzenspezies abhängig ist (SCHMIDT et al., 2004). Werte für Transferfaktoren einzelner Pflanzen liegen nicht vor. Der Transfer des Arsens vom Boden in die Pflanze hängt von unterschiedlichen Faktoren ab: So sind die Mengen der löslichen Arsenspezies in der Erde, das Redoxpotenzial und der pH-Wert sowie die mikrobielle Aktivität und die Pflanzenspezies von Bedeutung (BURLÒ et al., 1999).

Pflanzen können Arsen über ihre Wurzeln aufnehmen, wobei Arsenat und Arsenit über unterschiedliche Transportsysteme aufgenommen werden. Arsenat wird durch das chemisch ähnlich reagierende sowie auch strukturell ähnliche Phosphat-Ion verdrängt. Dadurch kommt es zu einer verminderten Aufnahme. Bei Arsenit spielt die Anwesenheit von Phosphat keine Rolle (ABEDIN et al., 2002). Nimmt die Arsenatkonzentration in Pflanzen zu, dann reagiert die Pflanze darauf mit einer gesteigerten Phosphataufnahme, denn Arsenat ist zwar in der

Lage, Phosphat in Pflanzen zu ersetzen, aber es kann nicht die Rolle von Phosphat im Energietransfer übernehmen (BURLÒ et al., 1999).
In Pflanzen und Früchten wie z.B. Knoblauch, Zwiebeln, Karotten, rote Bete, Radieschen, Mais, Tomaten, Bohnen, Spinat, Kohl und Reis konnten von DEMBITSKY und LEVITSKY, 2004 unterschiedliche anorganische Arsenverbindungen nachgewiesen werden. Dimethylarsinsäure und Monomethylarsonsäure, die Hauptmetaboliten des anorganischen Arsens im menschlichen Körper, werden im Vergleich zu Arsenat und Arsenit kaum von Pflanzen aufgenommen (QUAGHEBEUR und RENGEL, 2005). AL RAMALLI et al. konnten 2005 feststellen, dass aus Bangladesh importiertes Gemüse zwischen 2 und 100 fach mehr Arsen enthält als Gemüse aus Großbritannien und anderen Ländern Europas sowie Nordamerikas.
Der Einsatz von arsenhaltigen Pflanzenschutzmitteln ist in Deutschland seit 1974 verboten, die Anwendung im Weinbau seit 1948.

In Fleisch und Milchprodukten liegen ca. 75 % des vorhandenen Arsens in anorganischer Form vor.

Tiere nehmen anorganische Arsenverbindungen über ihre Nahrung auf; so können z.B. arsenkontaminierte Pflanzen ein gesundheitliches Risiko für Rinder darstellen (ABEDIN et al., 2002). Eine mögliche Ursache für das Vorkommen organischer Arsenverbindungen in Fleisch und Milchprodukten kann die Verfütterung von Fischmehl darstellen. Fischmehl wird aus verschiedenen Fischsorten oder Fischabfällen hergestellt (KAMPHUES et al, 1999).

Tabelle 3: Mittlere Arsenkonzentrationen (µg/g) in verschiedenen Lebensmittelgruppen (SCHUHMACHER-WOLZ et al., 2005)

	Dänemark	**Deutschland**	**Vereinigtes Königreich**
Milch	0,007 **0,005**		0,0004 **0,0003**
Käse	0,021 **0,016**	0,004 **0,003**	0,002 **0,0015**
Fett und Öle	0,005		0,003
Obst	0,007 **0,0007**	0,006 **0,0006**	0,0015 **0,0002**
Gemüse	0,019 **0,002**	0,014-0,09 **0,001-0,009**	0,0028 **0,0003**
Konfekt		0,015	
Getreide und Backwaren	0,037 **0,024**	0,05 **0,033**	0,006 **0,004**
Fleisch und Fleischprodukte	0,024 **0,018**	0,009-0,033 **0,007-0,025**	0,0033 **0,0025**
Innereien		0,02 **0,015**	0,004 **0,003**
Fisch und Fischprodukte	1,42 **0,14**	0,694-1,409 **0,07-0,14**	4,4 **0,44**
Eier und Eiprodukte Süßstoff	0,006	0,005 0,005-0,009	0,001 0,005
Salz und Gewürze		0,02-0,097	

Fett markierte Werte: Konzentrationen (µg/g) an anorganischem Arsen unter Berücksichtigung der Angaben der WHO (2001b) zum Anteil anorganischen Arsens in den einzelnen Lebensmittelgruppen: Milch und Milchprodukte 75 %, Obst und Gemüse 10 %, Getreide 65 %, Fleisch 75 %, Fisch und Fischprodukte 10 %

4 Vorkommen von Arsen in der aquatischen Umwelt

Der durchschnittliche Gehalt von Arsen im Meerwasser liegt bei 1 – 2 µg/l (FRANCESCONI und EDMONDS, 1998). Während die Arsengehalte im Oberflächenwasser saisonalen Schwankungen unterworfen sind, sind die Gehalte in tieferen Wasserschichten überwiegend konstant (CULLEN und REIMER, 1989). Die dominierende Arsenverbindung in biologisch intakten Gewässern ist Arsenat (OREMLAND und STOLZ, 2003). Im Oberflächenwasser werden neben dem thermisch stabilen Arsenat auch geringe Konzentrationen von Arsenit und der methylierten Spezies Methylarsenat und Dimethylarsenat gefunden (MANDAL und SUZUKI, 2002). Sie entstehen durch Reduktion bzw. Methylierung von Arsenat durch Primärproduzenten wie Mikroorganismen und Plankton mariner und limnischer Systeme (JOHNSON und PILSON, 1975).

Die Transformation von Arsen in der Umwelt findet hauptsächlich in Mikroorganismen, Algen, Pflanzen, Tieren und Menschen statt, wobei die Biomethylierung bei Arsen die wichtigste Transformation in der Umwelt darstellt (UBA, 1983).
Der Mechanismus der Biomethylierung wurde erstmalig im Jahre 1945 von CHALLENGER bei der Erzeugung von Arsin durch Pilzkulturen (Fungus Scopulariopsis brevecaulis) aufgeklärt.

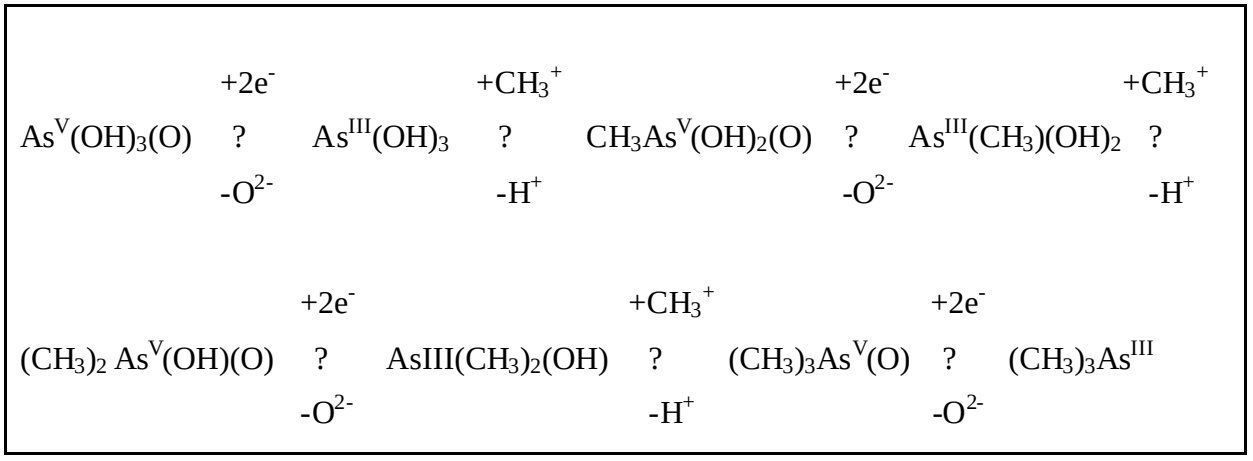


Abbildung 2: Reduktion und Methylierung von Arsenat durch Mikroorganismen

(nach CHALLENGER; 1945)

Reduktionen und Anlagerungen von Methylgruppen führen zur Bildung von verschiedenen Verbindungen. Es entstehen Mono,- Di,- und Trimethylarsin als flüchtige Verbindungen und Methylarsonate und Dimethylarsinate als schwer-flüchtige Verbindungen (DOMBROWSKI et al., 2005; BENTLEY und CHASTEEN, 2002).

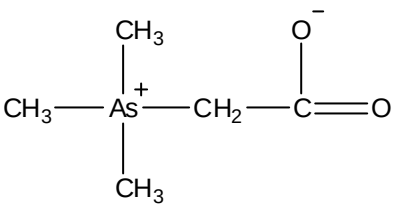
Methylarsonat (MA) Dimethylarsinat (DMA)

Abbildung 3: Strukturformeln von Monomethylarsonat und Dimethylarsinat (QUAGHEBEUR und RENGEL, 2005)

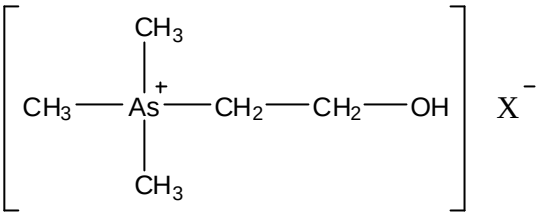
Neben aerob wachsenden Pilzen und Hefen sind auch Prokaryonten in der Lage methylierte Arsenverbindungen zu bilden, wobei der Ursprung der Methylgruppe und die Übertragungsreaktionen variieren können. In Pilzen wirkt S-Adenosylmethionin als Methyldonator und im anaeroben Bereich liefert Methylcobalamin die Methylgruppen (STOLZ et al., 2006).

Die chemischen Zwischenschritte und Reaktionen im Metabolismus von Arsenat sind in Mikroorganismen und Säugetieren ähnlich. Ein Unterschied besteht darin, dass Mikroorganismen hauptsächlich Monomethylarsin produzieren, wohingegen bei Säugetieren Dimethylarsin der Hauptausscheidungsmetabolit im Urin ist (BENTLEY und CHASTEEN, 2002). Die Biomethylierung von Arsen im menschlichen Körper wird in Kapitel 6 eingehender erläutert.

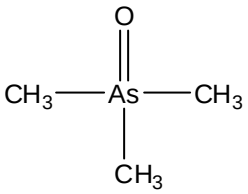
Marine Organismen besitzen die Fähigkeit, Arsen aus dem Meer zu akkumulieren und in weniger toxische Arsenverbindungen umzuwandeln. Organische Arsenverbindungen in aquatischen Organismen wurden erstmals von LUNDE (1973) entdeckt. Bei der Untersuchung von Makroalgen, Muscheln, Shrimps und Fisch aus Norwegen wurde festgestellt, dass die Proben nur geringe Konzentrationen an anorganisch gebundenem Arsen enthielten, dafür aber das organisch gebundene Arsen den Hauptanteil ausmacht.



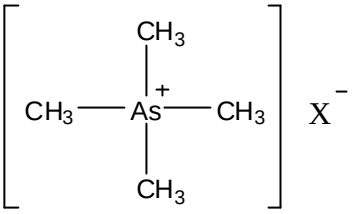
Arsenobetain



Arsenocholin



Trimethylarsinoxid



Tetramethylarsoniumion

Abbildung 4: Strukturformeln von Arsenobetain, Arsenocholin, Trimethylarsinoxid und Tetramethylarsoniumion

(QUAGHEBEUR und RENGEL, 2005)

Arsenobetain ist die am häufigsten anzutreffende wasserlösliche Verbindung von Arsen in höheren aquatischen Organismen des marinen Ökosytems und stellt in den meisten Fällen die vorherrschende Arsenspezies dar (EDMONDS und FRANCESCONI, 1987; CULLEN und REIMER, 1989). Bei Arsenobetain handelt es sich um eine stabile Verbindung mit einem fünfwertigen Arsenatom. Es konnte gezeigt werden, dass es schwer metabolisierbar ist und wenig toxisch wirkt (VAHTER et al., 1983; SABBIONI et al., 1991).

Besonders hohe Gehalte an Arsenobetain konnten in Meeresfrüchten und einigen Seefischen nachgewiesen werden. Meeresfische enthalten mit 3 mg Arsen/kg im Gegensatz zu Süßwasserfischen, die nur etwa 0,3 mg Arsen/kg enthalten, deutlich höhere Konzentrationen an organisch gebundenem Arsen. Bei Meeresfrüchten können die Arsengehalte im Bereich zwischen 1 und 150 mg Arsen/kg Frischgewicht liegen, je nachdem, ob die Meeresfrüchte aus belastetem oder unbelastetem Gewässer stammen (UBA, 2003).

In Fischen wie Dorsch und Scholle liegt der prozentuale Anteil von Arsenobetain am Gesamtarsen bei ca. 98 % (BALLIN, 1992). Eine Erklärung für die Herkunft des Arsenobetains in marinen Lebewesen gibt es bislang noch nicht, denn Fisch und Krustentiere sind selbst nicht in der Lage aus Arsenat und methylierter Arsensäure Arsenobetain oder Arsenocholin zu bilden (NEFF, 1997; BALLIN, 1992). Eine mögliche Erklärung für die Herkunft dieser organisch gebundenen Arsenverbindung in Fischen könnte sein, dass Mikroorganismen im Sediment und in Algen Arsenat und Arsenit aus dem Wasser akkumulieren und zu Monomethylarsonsäure und Dimethylarsinsäure metabolisieren im Sinne einer Entgiftung. Fische und Krustentiere nehmen dann diese organisch gebundenen Arsenverbindungen auf und akkumulieren sie. Im Gegensatz dazu besitzen Fisch und Krustentiere nur eine eingeschränkte Fähigkeit zur Akkumulation von anorganisch gebundenem Arsen aus dem Meerwasser (NEFF, 1997).
Am Beispiel von Gastropoden konnte von FRANCESCONI et al. (1998) gezeigt werden, dass Arsenobetain zu 94 %, Arsenocholin zu 3,1 – 4 % und Tetramethylarsoniumion zu 0,2 – 2,2 % vorkommen. Daneben können noch andere Arsenverbindungen wie Trimethylarsinoxid, Dimethylarsinsäure und Monomethylarsonsäure in Spuren nachgewiesen werden (KAISE et al., 1993; FRANCESCONI et al., 1998).

In Algen dominieren Arsenozucker (FRANCESCONI und EDMONDS, 1998; CULLEN und REIMER, 1989; SHIBATA et al., 1992). Bei den Arsenozuckern handelt es sich um dimethylierte Arsinoylderivate von Zuckern (FRANCESCONI et al., 1998).

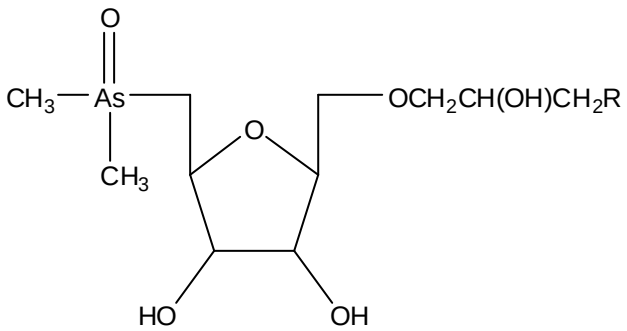


Abbildung 5: Strukturformel von Arsenozucker
(QUAGHEBEUR und RENGEL, 2005)

Bislang konnten 15 unterschiedliche Arsenozucker in der marinen Umwelt entdeckt werden, wobei Dimethylarsinoyl- und Trimethylarsinoylriboside die dominanten Spezies in Algen darstellen (EDMONDS und FRANCESCONI, 2003; TUKAI et al., 2002).
Allen Arsenozuckern gemein ist, das sie fünfwertiges Arsen enthalten, welches an zwei Methylgruppen gebunden ist.
Es gibt vier Hauptarsenzucker (Arsenozucker OH, Arsenozucker PO_4, Arsenozucker SO_3 und Arsenozucker SO_4). In Algen variiert die Art der enthaltenen Arsenozucker (WEI et al., 2003). Der Arsengehalt in Algen ist abhängig von der jeweiligen Algenspezies. Braune Makroalgen enthalten höhere Konzentrationen an Arsenozuckern als grüne oder rote Makroalgen (EDMONDS und FRANCESCONI, 1998). TUKAI et al. wiesen 2002 Arsenozucker in 13 Makroalgenspezies aus Australien nach. Sie fanden 39 µg Arsenozucker/g in braunen Makroalgen, 10,7 µg Arsenozucker/g in grünen und 4,3 µg Arsenozucker/g in roten Makroalgen.
In vielen Experimenten wurde aufgrund der chemisch ähnlichen Struktur von Phosphat und Arsenat die Beziehung zwischen dem Phosphatgehalt des Gewässers und der Arsenataufnahme durch Phytoplankton untersucht. SANDERS (1979) ging nach Untersuchungen an Braunalgen von einer konkurrierenden Arsenat- und Phosphataufnahme aus. Hierbei hatte ein geringer Phosphatgehalt eines Gewässers eine gesteigerte Arsenataufnahme durch Phytoplankton zur Folge. In Süßwassersytemen können aufgrund eines intensiven zivilisatorisch beeinflussten Oberflächenabflusses oft wesentlich höhere Phosphatgehalte nachgewiesen werden. Dies könnte eine mögliche Erklärung dafür sein, dass marine Organismen im Vergleich zu Süßwasserorganismen höhere Arsengehalte haben (BALLIN, 1992).
Arsenozucker mit unterschiedlichen funktionellen Gruppen konnten von EDMONDS et al. (1982b) sowie EDMONDS und FRANCESCONI (1983) mit Hilfe der Röntgenstrukturanalyse und der Kernresonanzspektroskopie in Algen (Ecklonia, Hizikia) und in der Niere einer Muschel (Tridacna maxima) nachgewiesen werden. Neben den Arsenozuckern konnte in Algen in geringen Konzentrationen Arsenat nachgewiesen werden ebenso wie Spuren von Monomethylarsonsäure und Dimethylarsinsäure (BOCH, 2003).

Zur Bildung von Arsenozuckern gibt es unterschiedliche Annahmen. Zum einen gehen EDMONDS und FRANCESCONI (1993) davon aus, dass Arsenozucker durch mikrobielle Methylierung von aufgenommenem Arsenat nach einem Mechanismus, der anaolog zu dem

Mechanismus nach CHALLENGER (1945) verläuft, gebildet werden. Hierbei kommt es zu einer sequentiellen Reduktion und zu einer oxidativen Methylierung des aufgenommenen Arsenats. S-Adenosylmethionin wirkt, wie in vielen anderen enzymatischen Prozessen, als Methyldonator (siehe Kapitel 5).

Untersuchungen von FRANCESCONI et al. (1998) lassen darauf schließen, dass di- oder trimethylierte Arsenozucker aus Algen Vorstufen für Arsenobetain sind.
Dimethylierte Arsenozucker kommen gehäuft in Algen vor und werden unter Laborbedingungen zu Dimethylarsinoylethanol biotransformiert, welches eine Vorstufe für Arsenobetain darstellt.
Dass auch trimethylierte Arsenozucker eine Vorstufe für Arsenobetain sein können, wurde in einem Laborexperiment unter natürlichen marinen Verhältnissen simuliert. Dabei wurden trimethylierte Arsenozucker mikrobiell unter anaeroben Bedingungen zu Arsenocholin umgewandelt, welches dann in Fisch und Crustaceen zu Arsenobetain umgewandelt werden kann.

Die Umwandlung von Arsenozucker in Arsenobetain scheint nicht in lebenden Algen stattzufinden, denn bisher konnte in Algen kein Arsenobetain nachgewiesen werden. Es wird davon ausgegangen, dass die Umwandlung außerhalb der Algen durch mikrobielle Aktivitäten im Seewasser, im Sediment oder in Tieren selbst stattfindet (EDMONDS und FRANCESCONI, 1998; McSHEEHY et al., 2002).

5 Toxikokinetik des Arsens

Die Aufnahme von Arsen erfolgt über verschiedene Expositionspfade. Dabei sind die orale und die inhalative Aufnahme die wichtigsten Arsenquellen für den Menschen. Die dermale Resorption spielt eine untergeordnete Rolle (UBA, 2003).

Metabolismus und Ausscheidung sind abhängig von der chemischen Bindungsform des aufgenommenen Arsens. Neben der aufgenommen Dosis bestimmen auch Body-Mass-Index (BMI), Geschlecht und Alter den Arsenmetabolismus (LINDBERG et al., 2007, KURTTIO, 1998; CHRISTENSEN, 1995; KRISTIANSEN et al., 1997). Der Body-Mass-Index spiegelt die Konstitution des betreffenden Menschen wieder und errechnet sich aus dem Gewicht (in kg Körpergewicht) dividiert durch die Größe zum Quadrat (m^2) (BIESALSKI et al., 1999).

Über die Toxikokinetik von organischen Arsenverbindungen ist wenig bekannt. Es wird davon ausgegangen, dass Arsenobetain nur in geringem Maße metabolisiert und unverändert über den Urin ausgeschieden wird.
Die mit Fisch und Meerestieren aufgenommenen organischen Arsenverbindungen wie Arsenobetain oder Arsenocholin werden vom Menschen überwiegend unverändert innerhalb von 2 - 3 Tagen fast vollständig renal ausgeschieden. Die Ausscheidung über die Niere ist der Hauptausscheidungsweg für die Eliminierung von Arsen (VAHTER, 1983, LE et al., 1994).
Im Allgemeinen ist die Arsenausscheidung über den Urin abhängig von Dosis und Art der chemischen Verbindung bei der Aufnahme (CIU et al., 2004). Nur eine geringe Menge Arsen wird über die Fäzes ausgeschieden. Da jedoch im Dünndarm hohe Arsengehalte gemessen werden konnten, wird von einem enterohepatischen Kreislauf beim Menschen ausgegangen (MARQUARDT et al., 2004). Arsenobetain weist dabei eine Kinetik mit zwei unterschiedlichen Halbwertzeiten auf. Einer ersten kurzen von 7 - 11 Stunden und einer zweiten längeren Halbwertzeit von 76 Stunden (LEHMANN, 2000; LEHMANN et al., 2001). Arsenobetain, welches nicht ausgeschieden wird, verteilt sich sehr schnell gleichmäßig in weichen Geweben (BROWN et al., 1990).

Entgegen der bisherigen Annahme, dass Arsenobetain den Körper unmetabolisiert wieder verlässt, konnte in Untersuchungen von ARBOUINE und WILSON, 1992 und

HEINRICH-RAMM et al., 2002 festgestellt werden, dass es durch Fischverzehr ebenfalls zu einer gesteigerten Ausscheidung der methylierten Arsenverbindung Dimethylarsinsäure kommt. Der genaue Mechanismus ist noch ungeklärt.

Im Fisch kommt neben Arsenobetain auch Arsenocholin, das Arsenanaloge des Cholins, vor. Zusammen machen sie ca. 99 % des Gesamtarsens in Fischen aus, wobei Arsenobetain die Hauptkomponente ist und Arsenocholin nur in geringen Mengen vorliegt (HIRATA, 2006; EDMONDS und FRANCESCONI, 1993; FRANCESCONI und EDMONMDS; 1994). In Versuchen konnte gezeigt werden, das aufgenommenes Arsenocholin rasch in Arsenobetain umgewandelt wird und auch als solches ausgeschieden wird (LE et al., 1994; EDMONDS et al., 1992). Arsenocholin wird als metabolische Vorstufe des Arsenobetains betrachtet (LE et al., 1994; PHILLIPS; 1990). Die Umwandlung von Arsenocholin zu Arsenobetain konnte in Fischen und Säugetieren nachgewiesen werden (HANAOKA et al., 1997). HANAOKA et al. (1992) konnten feststellen, dass auch Mikroorganismen aus dem Sediment in der Lage sind Arsenocholin in Arsenobetain umzuwandeln. Diese Art der Metabolisierung ist saisonalen Schwankungen unterworfen; so ist die Umwandlungsrate im Mai höher als im Juli. Die saisonalen Schwankungen bei der Umwandlungsrate können eventuell mit dem Arsenkreislauf in der Umwelt in Verbindung gebracht werden.

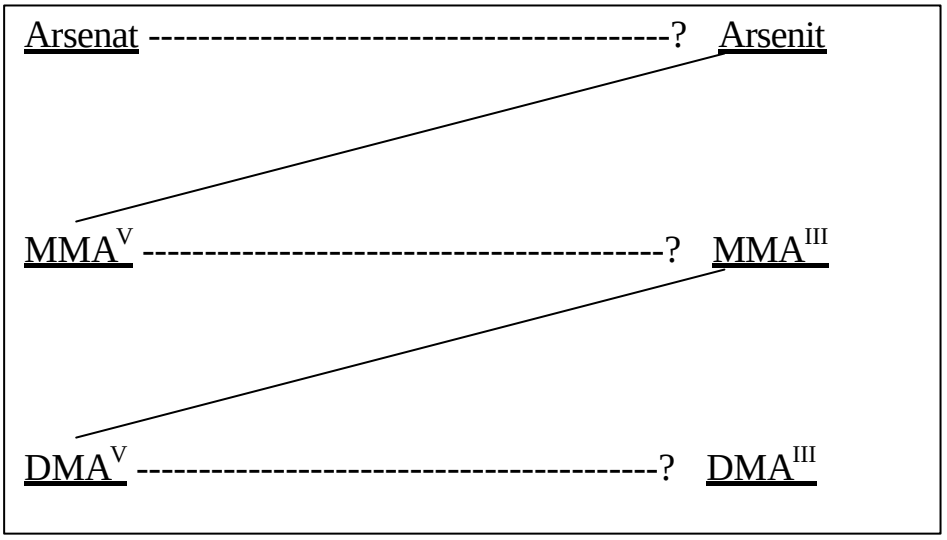
Im Vergleich dazu unterliegen Arsenozucker einem komplexen Metabolismus und haben eine längere Verweildauer im menschlichen Organismus. Infolge einer Algenaufnahme konnte im Urin von Probanden Dimethylarsinsäure nachgewiesen werden. Algen enthalten jedoch keine signifikanten Mengen an Dimethylarsinsäure. Aus diesem Grund kann auf einen Metabolismus der Arsenozucker geschlossen werden (MA und LE, 1998; WEI et al., 2003; ANDREWES et al., 2004). Von LE et al., 1994, konnte gezeigt werden, dass der Metabolismus von Arsenozuckern je nach Person variiert. So wurden bei neun Personen, die eine identische Menge Algen verzehrt hatten, Unterschiede in Muster und Menge an Arsenmetaboliten festgestellt.

Neben den organischen Arsenverbindungen, die vom Menschen vorwiegend durch den Verzehr von marinen Produkten wie Fisch und Algen aufgenommen werden, gelangen auch anorganische Arsenverbindungen in den menschlichen Körper.

Oral aufgenommene anorganische Arsenverbindungen werden im Gastrointestinal-Trakt zu ca. 80 % resorbiert, inhalativ aufgenommenes Arsen zu ca. 10 % (REICHL, 2000). Im Vergleich zu schwerlöslichen Arsenverbindungen wie z.B. Kalzium- und Bleiarsenat werden dreiwertige lösliche Verbindungen wie z.B. Arsentrioxid zügig über die Lunge resorbiert. Die inhalative Arsenaufnahme wird durch Löslichkeit und Partikelgröße beeinflusst (SCHUHMACHER-WOLZ et al., 2005).
Im Anschluss an die Resorption verteilt sich Arsen in Organen und Geweben, die über Blut- und Lymphgefäße erreicht werden können. Bereits im Blut beginnt die Metabolisierung des anorganischen Arsens. Reduktionen und Methylierungen, die durch Reduktasen und Methyltransferasen katalysiert werden, sind verantwortlich für den Arsenmetabolismus.

Für den Metabolismus sind ein Methylgruppendonator sowie ein reduzierendes Agens erforderlich. S-Adenosylmethionin ist verantwortlich für die oxidative Methylierung von anorganischem Arsenit via nucleophiler Substitution. Neben S-Adenosylmethionin sind auch Methylcobalamin oder deren Derivate Methyldonatoren für die oxidative Methylierung (PERGANTIS et al., 2004). Glutathion (GSH) ist ein reduzierendes Agens.
Zu Beginn des Arsenmetabolismus findet im Blut eine durch Arsenat-Reduktase katalysierte Reduktion von Arsenat in Arsenit statt. In vitro ist PNP (purine nucleoside phosphorylase) als Arsenat-Reduktase nachgewiesen worden. PNP katalysiert jedoch nicht die im späteren Verlauf des Metabolismus stattfindende Umwandlung von MMA^{V} zu MMA^{III} (NEMETI et al., 2003; RADABAUGH und APOSHIAN, 2000). Dieser erste Schritt der Biomethylierung von Arsenat wird als „Bioaktivierung“ beschrieben.
Das gebildete Arsenit gelangt in die Hepatozyten. Die Leber gilt als der wichtigste Ort für die Arsenmethylierung. Allerdings konnte auch bei einigen anderen Organen eine Methylierungskapazität gemessen werden. So wurden von VAHTER et al., 2002 bei der männlichen Maus hohe Methylierungsaktivitäten auch in Hoden, Niere und Lunge nachgewiesen. In der Leber erfolgt eine oxidative Methylierung von As^{III} zu MMA^{V}. Die oxidative Methylierung wird vermittelt durch Cyt 19, eine Arsenit-Methyltransferase. Das Ausmaß der oxidativen Methylierung wird beeinflusst durch die Anwesenheit von Arsentriglutathion. Bei Arsentriglutathion handelt es sich um einen Komplex, bei dem As^{III} an Thiolhälften der Cysteinreste von 3 GSH-Molekülen gebunden ist. Es ist ein Substrat der menschlichen Arsenmethyltransferase Cyt 19 (HAYAKAWA et al., 2005). Im Anschluss kommt es zu einer Reduktion der zuvor gebildeten MMA^{V} zu MMA^{III}. Dieser Schritt wird

durch die MMA^V-Reduktase katalysiert. In einigen Geweben wird diese Umwandlung durch die Glutathion-S-transferase ? katalysiert (SAMPAYO-REYES et al., 2000; ZAKHARYAN et al., 2001). MMA^{III} wird in Anwesenheit der MMA^{III}-Methyltransferase zu DMA^V methyliert, welches dann zu DMA^{III} reduziert wird.



? Methylierung

--? Reduktion

Abbildung 6: Biomethylierung von Arsen
(nach SUZUKI et al., 2002)

Die Endmetaboliten sind DMA^{III} und MMA^{III}. Einzelne Schritte der Biomethylierung sind noch nicht aufgeklärt. Möglicherweise bindet As^{III} an ein Thiol, ein Carrierprotein, bevor die Methylierung erfolgt (SUZUKI et al., 2002; VAHTER, 2002).

Bei kleineren Arsenaufnahmemengen kommt es zu keiner wesentlichen Akkumulation im Körper (WHO, 2005). Bei einer chronischen Exposition reichert sich Arsen vor allem in keratin- bzw. sulfhydrylreichen Geweben wie Haaren, Nägeln und Haut an sowie in Organen mit einem hohen Gehalt an cysteinhaltigen Proteinen (SCHUHMACHER-WOLZ et al., 2005). Die Elimination von Arsen aus diesen Organen und Geweben verläuft hier nur langsam (MARQUARDT et al., 2004).

6 Toxikologische Bedeutung von Arsen

Die Toxizität der Arsenverbindungen ist sehr unterschiedlich. Die chemische Struktur und die Oxidationsstufe, in der Arsen im Organismus vorliegt, sind entscheidend für den Grad der Toxizität. Daneben spielen Faktoren wie Löslichkeit, Größe arsenhaltiger Partikel, Aufnahmerate in die Zellen und Ausscheidungsrate eine Rolle (MANDAL und SUZUKI, 2002). Grundsätzlich kann bezüglich der Toxizität zwischen metallischem Arsen, anorganischen und organischen Arsenverbindungen differenziert werden. Metallisches und organisches Arsen werden im Gegensatz zu den anorganischen Arsenverbindungen als gering toxisch eingestuft.

Tabelle 4: LD_{50}-Werte ausgewählter Arsenverbindungen bei Ratten
(LE et al., 1994)

Arsenverbindung	LD_{50}-Wert (mg/kg)
Arsin	3
Arsenit	14
Arsenat	20
Monomethylarsonsäure	700-1800
Dimethylarsinsäure	700-2000
Arsenobetain	> 10 000

Die Toxizität von anorganischen Arsenverbindungen wird durch verschiedene Mechanismen ausgelöst.

6.1 Mechanismus der Toxizität von Arsenat

Die Toxizität von Arsenat basiert auf der strukturellen Ähnlichkeit mit Phosphat. Arsenat kann Phosphat in zahlreichen biochemischen Prozessen ersetzen. Infolge eines Mechanismus, der in der Literatur als „Arsenolyse“ beschrieben wird, kommt es zu einer Entkopplung der ATP-Gewinnung. ATP ist im menschlichen Organismus der wichtigste Energieträger. Bei der Anwesenheit von Arsenat kann während der Glykolyse kein ATP gebildet werden.
Auf der Substratebene tritt die „Arsenolyse“ während der Glykolyse auf. Phosphat wird enyzmatisch an Glycerinaldehyd-3-phosphat gebunden, um 1,3-Bisphosphoglycerat zu bilden. Arsenat kann in dieser Reaktion Phosphat ersetzen. So kommt es zur Bildung des Anhydrids 1-arsenat-3-phospho-D-glycerat. Es ist instabil und wird hydrolyisiert zu Arsenat und 3-Phosphoglycerat. Die geringe Stabilität des gebildeten Anhydrids beruht auf der Länge der As-O-Bindungen. Diese sind im Vergleich zu den P-O-Bindungen 10 mal länger (DIXON, 1997).

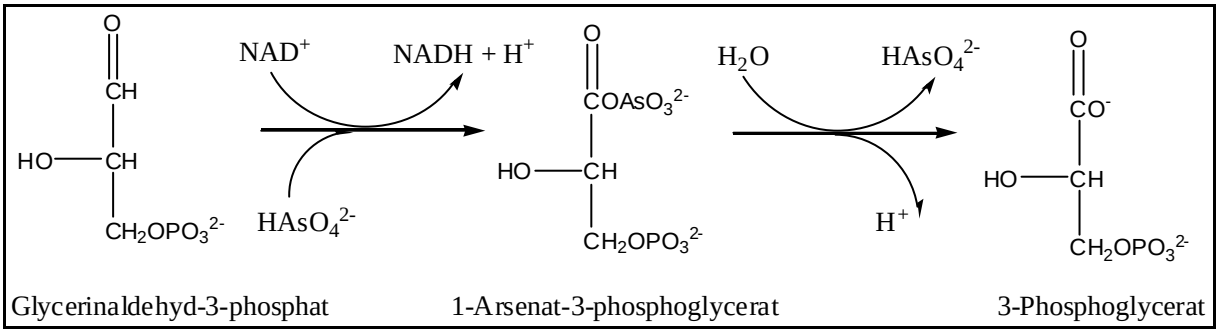


Abbildung 7: Wirkungen des Arsenats im Organismus
(nach BORGES, 2006)

Auf der enzymatischen Ebene tritt „Arsenolyse“ während der oxidativen Phosphorylierung ein. ADP-Arsenat wird synthetisiert aus ADP und Arsenat in Anwesenheit von Succinat.

Auf Grund der Substitution von Phosphat durch Arsenat verhindert „Arsenolyse“ auf Substratebene wie auch auf mitochondrialer Ebene die in vitro – Bildung von ATP in enzymatischen Reaktionen (GRESSER, 1981).

Eine durch Arsenat bedingte verminderte ATP-Bildung konnte in zellulären Systemen beobachtet werden. So stellten WINSKI und CARTER (1998) bei Untersuchungen an menschlichen Erythrocyten fest, dass es nach einer Aufnahme von 0,01 mM Arsenat zu einer reduzierten ATP-Bildung kommt.

6.2 Mechanismus der Toxizität von Arsenit

Arsenit bindet irreversibel an eine Vielzahl von Enzymen und Proteinen, die Thiolgruppen enthalten, z.B. GSH und Cystein. Arsenit besitzt eine hohe Affinität zu Dithiolen. Die kovalente Bindung an reduzierende Thiolgruppen - speziell vicinale Thiole - führt zu einer Hemmung vieler wichtiger biochemischer Prozesse. Dadurch wird die Toxizität von Arsenit deutlich. Es werden z.B. die Pyruvatdehydrogenase oder die ß-Oxidation der Fettsäuren gehemmt. Pyruvatdehydrogenase benötigt für die enzymatische Aktivität das Dithiol Liponsäure als Cofaktor. Arsenit hemmt die Pyruvatdehydrogenase durch Bindung an das Dithiol. Pyruvatdehydrogenase oxidiert Pyruvat zu Acetyl-CoA, welches dann im Citratcyclus oxidativ abgebaut wird. Eine Hemmung der Pyruvatdehydrogenase führt zu einer verminderten Produktion von Acetyl-CoA und ATP. Dadurch können schwere Störungen des Energiestoffwechsels wie eine gestörte Fettsäureoxidation oder eine gestörte Gluconeogenese verursacht werden. Weiterhin kommt es infolge einer verminderten Acetyl-CoA-Bildung zu einer gestörten Biosynthese von Ketonkörpern, Cholesterin und anderen Isoprenlipiden (LÖFFLER et al., 2007).

Obgleich hinreichend sichere Beweise für die Karzinogenität von Arsen beim Menschen vorliegen, ist der verantwortliche Mechanismus bisher noch nicht vollständig entschlüsselt.

6.3 Toxizität der methylierten Arsenspezies Monomethylarsonsäure und Dimethylarsinsäure

Die Biomethylierung von anorganischen Arsenverbindungen galt lange als Detoxifizierungsprozess. Es wurde davon ausgegangen, dass die dabei gebildeten Metabolite Monomethylarsonsäure und Dimethylarsinsäure deutlich weniger toxisch sind als ihre Ausgangsverbindungen.

Allerdings ist auch hier die Oxidationsstufe entscheidend für den Grad der Toxizität.
Die methylierten fünfwertigen Arsenverbindungen MMA^V und DMA^V sind weniger cytotoxisch, mutagen und clastogen im Vergleich zu Arsenat und Arsenit (DOPP et al., 2004). In Versuchen mit Labortieren und kultivierten Zellen konnte jedoch auch für DMA^V gezeigt werden, dass diese dimethylierten Verbindungen an der Induzierung von DNA-Schäden beteiligt sind (YAMANAKA et al., 2001; KATO et al., 1994; YAMANAKA et al., 1991; YAMANAKA et al., 1994; TEZUKA et al., 1993; YAMANAKA et al., 1993; YAMANAKA et al., 1990).

Im Gegensatz zu den fünfwertigen methylierten Arsenverbindungen konnte in neueren Untersuchungen nachgewiesen werden, dass die durch Methylierung in der Leber entstandenen dreiwertigen methylierten Arsenspezies toxischer sind als ihre Ausgangsverbindungen:

In Tierversuchen erwiesen sich MMA^{III} und DMA^{III} stärker toxisch als fünfwertige Arsenverbindungen (STYBLO et al., 2000; KLIGERMAN et al., 2003). Bisher sind nur wenige Untersuchungen zur Genotoxizität von methylierten dreiwertigen Arsenverbindungen gemacht worden (DOPP et al., 2004). Dabei konnte festgestellt werden, dass sie weniger genotoxisch sind als dreiwertige anorganische Arsenverbindungen.

Methylierte dreiwertige Arsenverbindungen können die Glutathionreduktase (STYBLO et al., 1997) und die Thioredoxin-Reduktase (LIN et al., 1999) hemmen, wodurch es zu einer Veränderung des zellulären Redoxpotentials und zur Cytotoxizität kommen kann. Weiterhin konnte für MMA^{III} in Tierversuchen eine Hemmung der Pyruvatdehydrogenase nachgewiesen

werden. Die Hemmung war um 2 - 6 fach stärker als eine Hemmung durch Arsenit (PETRICK et al., 2001).
Neben der Hemmung von Enzymen konnten durch DMA^{III} verursachte Karzinome in Blase, Niere, Leber und Schilddrüse von Ratten nachgewiesen werden (WEI et al., 2002).

Im Hinblick auf das Potenzial zur Schädigung der DNA ergibt sich folgende Rangordnung, wobei die erstgenannte Verbindung die größten Schäden verursacht (DOPP et al., 2004):

$DMA^{III} > MMA^{III} > iAs^{III} +^{V} > DMA^{V} > MMA^{V}$

Wie es genau zur Schädigung der DNA durch dimethylierte Arsenverbindungen kommt, wird in Kapitel 6.8.2 näher erläutert.

Bislang wurden ausschließlich die durch Biomethylierung aus anorganischen Arsenverbindungen gebildeten Metabolite hinsichtlich ihrer Toxizität untersucht. In Untersuchungen von HEINRICH-RAMM et al., 2002, SUR et al., 2004 und ARBOUINE und WILSON, 1992, konnte jedoch nach dem Verzehr von Fisch, der Arsen hauptsächlich in Form der organischen Arsenverbindung Arsenobetain enthält, dimethylierte Arsenverbindungen im Urin nachgewiesen werden. HEINRICH-RAMM et al. (2002) gehen davon aus, dass neben den anorganischen Arsenverbindungen auch das mit dem Fisch aufgenommene Arsenobetain im Organismus metabolisiert wird.

6.4 Toxikologische Bedeutung von Arsenverbindungen im nicht-marinen Bereich

Arsentrioxid und Arsenpentoxid stehen aufgrund ihrer akuten, chronischen und kanzerogenen Wirkungen im Fokus zahlreicher Untersuchungen, wobei die dreiwertigen Arsenverbindungen als besonders toxisch angesehen werden (MÜLLER et al., 2007).
Anorganische $Arsen^{III}$-Verbindungen wurden auf Grund ihrer hohen Toxizität über Jahrhunderte hinweg als Mordgift verwendet. Es ist infolge seiner besseren Verfügbarkeit 2 - 10 mal toxischer als $Arsen^{V}$-Verbindungen (UBA, 2003). Bisher wurden diese Arsenverbindungen für die toxischen Effekte verantwortlich gemacht. PETRICK et al., 2002

sowie DOPP et al., 2004 konnten jedoch zeigen, dass die durch Methylierung gebildeten Verbindungen Monomethylarsonsäure und Dimethylarsinsäure ebenfalls toxisch sind für Mensch und Tier.

In Tierversuchen erwiesen sich methylierte dreiwertige Arsenverbindungen stärker toxisch, jedoch weniger genotoxisch als dreiwertige anorganische Arsenverbindungen. Im Gegensatz dazu verhielten sich methylierte fünfwertige Arsenverbindungen weniger toxisch und weniger genotoxisch als fünfwertige anorganische Verbindungen (SCHUHMACHER-WOLZ et al., 2005).

Dreiwertige Arsenverbindungen schädigen die Zellen am meisten. Im Gegensatz dazu besitzen die fünfwertigen Arsenverbindungen und ihre Metabolite nur eine geringe Cytotoxizität (STYBLO et al., 2000).

6.5 Befunde am Menschen

Der body burden für Arsen beträgt für einen erwachsenen Menschen 3 – 4 mg Arsen. Diese Werte steigen mit zunehmendem Lebensalter an. In den meisten Geweben liegt die Arsenkonzentration zwischen 0,3 und 147 µg/g Trockengewicht. Dies gilt jedoch nicht für Haare und Nägel. Hier sind die Konzentrationen höher. Dies ist bedingt durch einen hohen Keratingehalt und der chemischen Affinität von Arsenverbindungen zu Sulfhydrylgruppen. Anorganisches Arsen kann bei akuter und chronischer Aufnahme unterschiedliche nicht-kanzerogene und kanzerogene Auswirkungen auf den menschlichen Körper haben (ADAM, 2004).

Für die Toxizität organischer Arsenverbindungen gibt es bisher nur wenige qualitative Daten (GRUNER, 2005).

6.6 Akute Wirkungen

Die akute toxische Dosis des Arsens für den Menschen variiert sehr stark. Sie ist abhängig von der Art der Arsenverbindung, ihrer physikalischen Form und der individuellen Toleranz des Einzelnen. Für Arsenik wird 0,01 - 0,05 g als toxische Dosis angegeben. Als tödliche Dosis gilt 0,1 - 0,3 g (PSYCHREMBEL, 1998).

Bei einer akuten Arsenintoxikation treten sechs klassische Organmanifestationen auf:

Phase 1: Gastrointestinale Symptomatik
Phase 2: Renale Symptomatik
Phase 3: Kardiovaskuläre Symptomatik
Phase 4: ZNS- Symptomatik
Phase 5: Hautmanifestation
Phase 6: Polyneuropathie

Die einzelnen Phasen sind aufgelistet in der Reihenfolge ihres zeitlichen Auftretens. Überlappungen zwischen den einzelnen Phasen sind möglich.

Bereits nach 30 - 60 Minuten treten infolge einer einmaligen Arsenaufnahme erste Symptome einer akuten Vergiftung auf. Innerhalb einer Woche werden Hautveränderungen sichtbar. Es kommt zu Haut- und Schleimhautpigmentation sowie zu Hyperkeratosen (ADAM, 2004). Weiterhin treten Halluzinationen und Wahnvorstellungen auf, bevor letztendlich ein komatöser Zustand oder der Tod eintritt. In einem Zeitraum von 1 - 4 Tagen führt eine unbehandelte akute Arsenintoxikation durch einen Schock oder ein akutes Nierenversagen zum Tod (MÜLLER et al., 2007).
Bei einer subakuten Arsenintoxikation treten Entzündungen der Schleimhäute der Nase und der Augen auf, wodurch die Nahrungsaufnahme erschwert wird. Es kommt zu Appetitlosigkeit und Kräfteverfall, Untertemperatur, Krämpfen und Ohnmachtsanfällen (GLOXHUBER und WIRTH, 1994).

Infolge einer akuten inhalativen Arsenbelastung kommt es zu Schädigungen der Schleimhäute in den Atemwegen. Der Tod tritt hierbei durch Kreislaufversagen ein (MINDT-PRÜFERT, 2002). Der Großteil der inhalativen Arsenaufnahmen ist akut. Jedoch werden in der Literatur auch einige chronisch exponierte Personen beschrieben.
Die primären Symptome einer Vergiftung mit Arsenwasserstoff sind Unpässlichkeit, Schwindel, Übelkeit und Schmerzen im Abdominalbereich. Nach wenigen Stunden kommt es zu massiver Hämolyse und Nierenversagen.

6.7 Chronische Wirkungen

Chronische Arsenintoxikationen werden durch Einatmen arsenhaltiger Stäube bzw. durch Aufnahme von kontaminiertem Wasser oder Lebensmitteln hervorgerufen.
Sie werden international als „Arsenicosis“ bezeichnet.

Effekte, die durch eine chronische Arsenaufnahme hervorgerufen werden, sind für die Festlegung von Grenzwerten relevant. Der LOAEL (lowest observable adverse effect level) für die chronische orale Arsenaufnahme betrifft Hautläsionen und liegt bei 10 – 20 µg As/kg und Tag. Der NOAEL (no observable adverse effect level) liegt zwischen
0,4 und 0,9 µg As/kg und Tag (ATSDR, 1998).

Im Folgenden werden die durch eine chronische Arsenaufnahme auftretenden Effekte in nicht-kanzerogene und kanzerogene Wirkungen unterschieden.

6.7.1 Nicht-kanzerogene Wirkungen

Ein charakteristisches Merkmal für eine chronische Arsenintoxikation sind Veränderungen der Haut. Daneben können auch gastrointestinale, kardiovaskuläre, hämatologische, pulmonale, neurologische, immunologische sowie reproduktions- und entwicklungstoxische Effekte beobachtet werden (siehe Tabelle 5).

Typische Hautveränderungen bei einer chronischen Vergiftung durch Arsen sind Hornperlen an Händen und Füßen. Vereinzelt kann es zu Nierenschäden kommen, die jedoch vorwiegend kapillaren Gefäßschädigungen zuzuschreiben sind.
Bei einer chronisch inhalativen Arsenbelastung kommt es neben neurologischen Symptomen und Hautveränderungen zu Schädigungen der Schleimhäute in den Atemwegen. In einigen Fällen treten Funktionseinschränkungen des Herz-Kreislauf-Systems und der Leber auf (MARQUARDT et al., 2004).

Die Aufnahme von arsenbelastetem Trinkwasser ist weltweit die Hauptursache für eine chronische Arsenbelastung der Bevölkerung (GEBEL, 2000; NG et al., 2003). Hiervon sind vorwiegend Menschen in Ländern wie Asien, Taiwan, Bangladesh, China (z.B. Shanxi und Innere Mongolei) und Nepal betroffen. Die Belastung und die Erkrankung durch Arsen besitzt international einen hohen umweltmedizinischen Stellenwert (BÖCHER et al., 2006). Bei einer chronischen Intoxikation durch die orale Aufnahme von Arsen ist das Hauptzielorgan die Haut. Es kann zu einer Hyperpigmentation in Form einer „Arsenmelanose“ kommen, die bevorzugt Gesichtsbereich, Nacken und Achselhöhle betrifft. Des Weiteren kann es zu Haarausfall oder weißen Querstreifen unter den Nägeln kommen. Hierbei wird von den Mees´schen Bändern gesprochen.
Neben Hautveränderungen können periphere vaskuläre Veränderungen auftreten, die zu einer Verhärtung der Arterien führen. Dadurch kommt es zu Schmerzen, Taubheitsgefühl, Kribbeln und Wundbrand. Diese Symptome werden besonders häufig in Taiwan beobachtet und werden als „Black Foot Disease“ bezeichnet (SCHUMACHER-WOLZ et al., 2005).

Tabelle 5: Effekte einer akuten und chronischen Arsenvergiftung

(GORBY, 1994)

Organ/Gewebe	**Akute Effekte**	**Chronische Effekte**
Haut	Haarverlust Erröten der Kapillargefäße Kontaktallergie Folliculitis	Melanose Bowen´s Krankheit Ödeme im Gesicht Hyperpigmentation Hyperkeratose an den Handflächen Abschuppungen
Nerven	hohes Fieber Krämpfe Tremor/Koma Orientierungslosigkeit	Enzephalopathie Kopfschmerzen Periphere Neuropathie axonale Veränderungen
Gastrointestinaltrakt/ Leber	Schmerzen im Abdominalbereich Schluckstörungen Erbrechen reiswasserähnliche Durchfälle knoblauchartiger Geruch Fettleber Entzündung der Gallenwege Entzündung der Gallenblase	Übelkeit Erbrechen Durchfall Diarrhoe Gewichtsverlust Gelbsucht Pankreatitis Zirrhose Vergrößerung der Leber
Niere	Schädigungen am proximalen Tubulus Schädigungen am Glomerulus verminderte Harnausscheidung Niereninsuffizienz	Nierenentzündung Proteinurie
Blut	Anämie verminderte Zahl der Thrombozyten	Anämie Knochenmarksaplasie verminderte Zahl der Thrombozyten Karyorrhexis
Herz und Gefäße	Herzrhythmusstörung Herzkammerflimmern	Arrythmien Perikarditis Akrozyanose
Lunge	Bronchiale Pneumonie Tracheobronchitis	Husten Lungenfibrose

Auch sind arsenbedingte Berufskrankheiten bekannt: Betroffen sein können Winzer, in der Landwirtschaft tätige Personen, Bergleute, Arbeiter in Minen und unter Tage, in Hüttenwerken, in der keramischen Industrie und Glasindustrie, in der Farbproduktion und in Gerbereien (MÜLLER et al., 2007).

Fallbeispiele – Die Arsenerkrankungen von Moselwinzern

Bis zum Jahr 1942 wurde Arsen als Pestizid zur Schädlingsbekämpfung im Weinbau verwendet. Dabei kamen Winzer beim Ansetzen der Spritzbrühe mit Arsen in Kontakt. Neben einer dermalen Arsenaufnahme kam es beim Spritzen ebenfalls zu einer inhalativen Aufnahme von Arsen.
Zwischen 1920 und 1942 wurde in den Moselgebieten an durchschnittlich 30 Tagen im Jahr mit arsenhaltigen Spritzmitteln gearbeitet. Die inhalative Aufnahme wurde an diesen Tagen auf 3 – 30 mg Arsen/Tag geschätzt (MÜLLER et al., 2007).
Im Weinbau wurde zusätzlich der arsenbelastete „Haustrunk“ aufgenommen. Dieser wird gewonnen, indem der nach mehrmaligem Auspressen zurückgebliebene Traubenrückstand (Trester) mit Wasser aufgelockert wird, anschließend ausgepresst und nach Zuckerzusatz vergoren wird. In einigen Fällen wurde die nach Ablassen des Weines zurückgebliebene Hefe zu Haustrunk verarbeitet. Die Arsenkonzentrationen im Haustrunk lagen zwischen
2 und 30 mg/l (MÜLLER et al., 2007). Eine chronische Arsenvergiftung trat bei einer Konzentration von 4 mg Arsen/l auf (LÜCHRATH, 1983). Die durch den Haustrunk hervorgerufene Arsenbelastung wurde als berufliche Belastung anerkannt (MÜLLER et al., 2007).

In der Landwirtschaft wurde die Verwendung von Arsen erst 1974 verboten. Da zwischen der Arsenexposition und dem Ausbruch einer dadurch ausgelösten Erkrankung eine lange Latenzzeit liegt, werden auch heute noch dadurch verursachte Krankheitsfälle beobachtet. Die Anzahl dürfte in den nächsten Jahren jedoch weiter abnehmen.

Aufgrund moderner Arbeitsschutzmaßnahmen treten arsenbedingte Berufskrankheiten in der heutigen Zeit nur noch selten auf.

Tabelle 6: Lebensdaten und Expositionsverhältnisse fünf männlicher Winzer mit arsenbedingten Erkrankungen

(MÜLLER et al., 2007)

Fall-nummer	**Geburtsjahr († = verstorben)**	**Erkrankungen (Jahr der Erstdiagnose)**	**Exposition**	**Expositionszeit (Lebensjahr [LJ])**
1	1914 († 2003)	Basaliome (1979), Dyskeratosen Urothelialkarzinom (1999)	Inhalativ, dermal, oral (Haustrunk)	1932 - 1939 (18. – 25. LJ)
2	1921	Arsenkeratosen (1989), präkanzeröse Keratosen, Hornperlen, Leberfibrose (seit 1991), Urothelialkarzinom (1999), Basaliome (seit 2002), Plattenepithelkarzinom der Haut (seit 2003)	Inhalativ, dermal,	1935 - 1941 (14. - 20. LJ)
3	1922	Arsenkeratosen (seit den 70ern), Plattenepithelkarzinom der Haut (seit 1988), Basaliome (seit 1997), multiple Basaliome (seit 2000)	Inhalativ, dermal, oral (Haustrunk)	1936 - 1941 (14. - 19. LJ)
4	1924 († 2002)	Bronchialkarzinom	Inhalativ, dermal oral (Haustrunk)	1938 - 1942 (14. - 18. LJ)
5	1927	Arsenkeratosen, Hornperlen an Händen und Füßen (seit 1983)	Inhalativ, dermal	1939 - 1942 (10. - 16. LJ)

6.8 Kanzerogenität von Arsenverbindungen

Arsen und seine anorganischen Arsenverbindungen werden von der Europäischen Kommission als Kanzerogene der Kategorie 1 eingestuft. Hierzu zählen „Stoffe, die beim Menschen Krebs erzeugen und bei denen davon auszugehen ist, dass sie einen nennenswerten Beitrag zum Krebsrisiko leisten“ (DFG, 2007).

Es gibt 3 Haupttheorien zur arseninduzierten Kanzerogenese: Chromosomale Abnormalitäten, oxidativer Stress und Promotion der Kanzerogenese. Diese drei Theorien weisen in experimentellen Studien an tierischen und menschlichen Zellen positive Befunde auf. Daneben gibt es noch weitere Annahmen wie veränderte Wachstumsfaktoren, Zellproliferation, veränderte DNA-Reparatur, p53 Gensuppression, veränderte DNA-Methylierungsmuster und Genamplifikation. Diese Annahmen können jedoch nicht durch Studien gestützt werden und werden hier deshalb nicht weiter behandelt.

6.8.1 Chromosomenmutationen

Bei Chromosomenmutationen handelt es sich um Veränderungen der Chromosomen.
In der Literatur werden durch Arsen induzierte Chromosomenmutationen wie Mikronuklei und Schwesterchromatidaustausch beschrieben. Mikronuklei entstehen in Zellen durch schädigende Einwirkungen. Sie sind in der Lage clastogene Effekte wie das Brechen von Chromosomen auszulösen oder können den Spindelapparat in seiner Funktion hemmen. Beim Schwesterchromatidaustausch handelt es sich um eine spezielle Variante einer Chromosomenmutation.

Infolge einer längerfristigen Aufnahme von Arsenverbindungen über das Trinkwasser kommt es bei exponierten Personen zu einem signifikanten Anstieg in der Häufigkeit von Mikronuklei in Mundschleimhaut, Urothelialzellen und Lymphozyten im Vergleich zur Kontrollgruppe (BASU et al., 2002). Des Weiteren konnten vermehrt chromosomale Aberrationen und Schwesterchromatidaustausch beobachtet werden, die als Indikatoren für cytogenetische Schäden gelten (MAHATA et al., 2003). Außerdem treten häufig Mikronuklei in Blasenzellen auf (WARNER et al., 1994).

Weiterhin sind dreiwertige Arsenverbindungen in der Lage, die normale Funktion von Tubulin zu hemmen und damit Veränderungen an den Chromosomen auszulösen. Bei Tubulin handelt es sich um ein dimeres Protein. Es ist aufgebaut aus einer a- und einer ß-Untereinheit und verantwortlich für die Bewegung und den Transport von Organellen, der Bildung von Mitosespindeln und der Bewegung von Flagellen.
Einzelne Tubuli dienen als Bausteine für die Mikrotubuli. Gemeinsam mit Motorproteinen sind Mikrotubuli für die Zellteilung, die Verteilung von Organellen zwischen dem Zentrum und der Peripherie sowie für die Bewegung ganzer Zellen oder der umgebenden Flüssigkeit notwendig (LÖFFLER et al., 2007).
Durch eine Störung in der Funktion von Tubulin findet eine ungenügende Zellteilung statt, wodurch es zur Bildung von chromosomalen Abnormalitäten kommt.

6.8.2 Oxidativer Stress

Infolge einer Arsenaufnahme kommt es zur Bildung von freien Radikalen.
DMA^{V} wird in vivo zu DMA^{III} reduziert (siehe Kapitel 5). Die gebildete Arsenverbindung kann zusammen mit molekularem Sauerstoff reagieren, wodurch es zur Bildung eines DMA-Radikals ($(CH_3)_2As^{\cdot}$) und eines Superoxidanionradikals kommt. Das entstandene
DMA-Radikal kann einen weiteren molekularen Sauerstoff aufnehmen. Dadurch entsteht ein DMA-Peroxylradikal ($(CH_3)_2AsOO^{\cdot}$).

Mit Hilfe der Superoxiddismutase entsteht aus dem gebildeten Superoxidanionradikal $^{\cdot}O_2^-$ das Wasserstoffperoxid:

$$^{\cdot}O_2^- + {}^{\cdot}O_2^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$$

Das entstandene Wasserstoffperoxid unterliegt dann Sekundärreaktionen wie der Produktion des sehr reaktiven Hydroxylradikals ($^{\cdot}OH$):

$$^{\cdot}O_2^- + H_2O_2 \rightarrow O_2 + OH^- + {}^{\cdot}OH$$

Ein Ungleichgewicht zwischen Bildung und Abbau von unterschiedlichen reaktiven Sauerstoffspezies führt zur Entstehung von oxidativem Stress. Durch den oxidativen Stress kann es zu Schäden innerhalb der Zelle – insbesondere der DNA – kommen (KITCHIN und AHMAD, 2003; RENSING et al., 2006).

Bei Untersuchungen von LIU et al., 2001, konnte nach einer Arsenitexposition gegenüber 2 µg/ml eine dreifache Erhöhung von reaktiven Sauerstoffspezies in lebenden A_L Zellen nachgewiesen werden. Nach Zugabe eines Radikalfängers (Dimethylsulfoxid) konnten die durch die Arsenitaufnahme bedingten Konzentrationen an reaktiven Sauerstoffspezies wieder reduziert werden.

HEI et al., stellten 1998 in kultivierten Säugetierzellen fest, dass durch Hydroxylradikale die Mutagenität von Arsenit vermittelt wird.

WANG et al., konnten 2001 in Experimenten beobachten, dass schon durch geringe Arsenkonzentrationen (0,25 µM) Zellschäden induziert werden können. Diese Konzentration entspricht der Gesamtarsenkonzentration im Blut von arsenexponierten Personen durch hoch belastetes Trinkwasser.

6.8.3 Promotion der Kanzerogenese

Die Mechanismen der Kanzerogenese sind sehr komplex. Es finden mindestens drei Hauptphasen statt: Initiation (Auslösung), Promotion (Förderung) und Progression (Tumorwachstum und/oder Metastasenbildung).

Bei der Initiation kommt es zu einer Wechselwirkung zwischen Kanzerogen und Genmaterial des Zielgewebes, wobei es zur Bildung von Zellen mit geschädigter DNA kommt. Durch eine kontinuierlich verlaufende Zellerneuerung kann die Tumorbildung verhindert werden. Kommt es jedoch infolge von Promotoren zu einer gesteigerten Exprimierung der genetischen Information von Zellen mit veränderter DNA, kann es zur Tumorbildung kommen. Promotoren bewirken eine gesteigerte Zellproliferation und letztendlich eine Tumorbildung. Eine kontinuierliche Anwesenheit von Promotoren ist bei der Tumorentstehung unerlässlich. Kommt es zu einer Beendigung der Exposition mit dem Promotor bevor die Zellen die Fähigkeit erlangen, sich auch in seiner Abwesenheit unkontrolliert zu teilen, kann die Tumorbildung noch abgewendet werden.

DMA^{III} ist ein Promotor für die Karzinogenese an Haut, Lunge, Blase, Niere, Leber und Schilddrüse in Mäusen und Ratten (KITCHIN et al., 2001; YAMAMOTO et al., 1995; YAMANAKA et al., 2000; YAMANAKA et al., 2004; MIZIO et al., 2005; YAMAMOTO et al., 1995; NISHIKAWA et al., 2002).

Infolge einer lang andauernden Arsenexposition über Trinkwasser und Nahrung kommt es zu einem Anstieg des Krebsrisikos, wobei die Haut das Hauptzielorgan ist. Dies konnte nach jahrelanger Aufnahme von arsenhaltigem Trinkwasser in einem taiwanesischen Kollektiv beobachtet werden.
Arsen führt außerdem zu Tumoren der Lunge, der Blase, der Niere oder der Leber (YU et al., 2006; DING et al., 2005; TCHOUNWOU et al., 2003).

7 Toxikologische Bedeutung von in marinen Organismen natürlich vorkommenden Arsenspezies

Die Hauptarsenspezies in marinen Organismen sind Arsenobetain und Arsenozucker.

Arsenobetain ist die dominante Arsenform in Fischen und gilt als Endmetabolit im Arsenzyklus des marinen Ökosystems. Aus zahlreichen Untersuchungen ist bekannt, dass Arsenobetain innerhalb kurzer Zeit unverändert über den Urin ausgeschieden wird (HEINRICH-RAMM et al., 2005; KAISE und FUKUI, 1992; BORAK und HOSGOOD, 2007).
Im Vergleich zu anorganischen Arsenverbindungen wirken organische Verbindungen wie Arsenobetain und Arsenocholin nur in sehr hohen Konzentrationen toxisch. In Versuchen mit Mäusen konnte festgestellt werden, dass die Aufnahme von Arsenobetain keine toxischen Symptome auslöst. Von OYA-OHTA et al. konnte 1996 gezeigt werden, dass durch Arsenobetain keine Induktion von chromosomalen Schäden hervorgerufen werden kann. Des Weiteren konnten SAKURAI et al. 2004 in ihren Untersuchungen zeigen, dass von Arsenobetain in vivo keine akute Immunotoxizität ausgeht ebenso wenig wie Cytolethalität, die in vitro bei Mäusen und Makrophagen gemessen wurde. GUILLAMENT et al. konnten 2004 in ihrer Arbeit keine genotoxischen Effekte von Arsenobetain nachweisen. SABBIONI et al. konnten 1991 keine cytotoxischen Effekte oder neoplastischen Umwandlungen infolge einer Arsenobetainaufnahme aufzeigen. Als mögliche Gründe für die geringe Cytotoxizität und das geringe Umwandlungspotenzial geben die Autoren eine geringe Retentionseffizienz in den Zellen, keine Interaktion mit intrazellulären Komponeten und keine Biotransformation innerhalb der Zelle an.

In marinen Algen liegen Arsenozucker als dominante Arsenspezies vor (CASTHLEHOUSE et al., 2003). In Algen liegen mehr als 85 % des Gesamtarsens als Arsenozucker vor (WEI et al., 2003). Ebenfalls können Arsenozucker in Tieren nachgewiesen werden, die sich von Algen ernähren, z.B. Muscheln (FRANCESCONI et al., 2002).

Wie bei den anorganischen Arsenverbindungen kann man bei den Arsenozuckern zwischen fünf- und dreiwertigen Verbindungen differenzieren. Durch eine Reaktion von fünfwertigen Arsenozuckern mit Thiolbestandteilen kommt es in vivo zur Bildung von dreiwertigen Arsenozuckern (ANDREWES et al., 2004). Dreiwertige Arsenozucker sind toxischer als ihre Ausgangsverbindung. Die toxikologischen Effekte beruhen auf der Induktion von oxidativem Stress. Weiterhin sind dreiwertige Arsenozuckerverbindungen in der Lage, durch die Produktion von reaktiven Sauerstoffspezies genotoxische Effekte auszulösen. Die Toxizität der dreiwertigen Arsenozucker gegenüber MMA^{III}, DMA^{III} sowie Arsenat ist geringer, da die Größe und die Hydrophobität der dreiwertigen Arsenozucker einen Transport in die Zelle und den Zellkern verhindern. Im Gegensatz dazu diffundieren MMA^{III} und DMA^{III} passiv durch die Zellmembran. Ein weiterer Unterschied zwischen dreiwertigen Arsenozuckern und dreiwertigen Arsenverbindungen liegt darin, dass im Arsenozucker das Arsen von drei Alkylgruppen umgeben ist. Dadurch kann es nicht so leicht Komplexe mit enzymatischen Sulfhydrilen eingehen, wodurch es zur Hemmung zellulärer Schlüsselenzyme kommt (siehe Kapitel 6.2).

Im Vergleich zum Arsenobetain, das vom Körper unverändert und zügig wieder ausgeschieden wird, ist die Toxikologie von Arsenozuckern komplexer. Die Hauptaufnahmequelle von Arsenozuckern für den Menschen sind Algen und Seegras. Besonders in Asien spielt die Arsenozucker-Aufnahme über Lebensmittel eine wichtige Rolle, da hier besonders viel Seegras zum Kochen verwendet wird, z.B. für die Zubereitung von Sushi. Die Arsenkonzentrationen in Algen liegen hier bis zu 100 mg/kg Trockengewicht (ANDREWES, 2004).

Arsenozucker werden im Körper metabolisiert. Der Hauptausscheidungsmetabolit ist DMA^{V}, welches sich bei Ratten als karzinogen erwiesen hat (FRANCESCONI et al., 2002, WEI et al., 2003; ANDREWES, 2004; MA, 1998). LE et al., 1994 gehen davon aus, dass enzymatische und mikrobielle Aktivitäten für eine Metabolisierung der Arsenozucker im menschlichen Körper verantwortlich sind.

8 Methoden zur differenzierten Bestimmung von Arsenverbindungen

Aus toxikologischer Sicht ist es wichtig, neben einer Bestimmung des Gesamtarsengehaltes auch eine Spezifizierungsanalyse einzelner Arsenverbindungen durchzuführen um das in unterschiedlichen Bindungsformen in Nahrungsmitteln vorkommende Arsen toxikologisch beurteilen zu können.

Im Jahr 1973 gelang es BRAMAN und FOREBACK mittels Hydrid-Technik Arsenat und Arsenit sowie einfach methylierte Arsenverbindungen wie MMA und DMA nachzuweisen. Bei der Hydrid-Technik werden flüchtige Hydride des zu bestimmenden Elementes erzeugt. Diese werden dann in einen Detektor weitergeleitet. Dadurch können spektrale und chemische Interferenzen durch die Probenmatrix eliminiert werden.

Ab Mitte der 80er Jahre wurden HPLC-Systeme mit ICP-MS-Geräten gekoppelt. Bei dem HPLC-ICP-MS handelt es sich um eine robuste und gleichzeitig hoch empfindliche Technik, die zu einer guten Trennung der Arsenverbindungen führte.
Daneben gibt es noch eine Reihe anderer Methoden und Kopplungstechniken, die in der Arsenspeziesanalytik zur Anwendung kommen (FRANCESCONI und KUEHNELT, 2004; GONG et al., 2002).

Tabelle 7: Methoden zur Bestimmung von Arsenverbindungen
(eigene Darstellung)

Autor	Jahr	Arsenspezies	Matrix	Methodik
MOHRI et al.	1990	anorg. As, MMA, DMA	Urin, Fäzes, Lebensmittel	AAS
BRANCH et al.	1994	AB, Gesamtarsen, As^{V}	Fisch	HPLC-ICP-MS
DEMESMAY et al.	1994	As^{III}, As^{V}, MMA, DMA	Fisch- und Sedimentextrakte	HPLC-ICP-MS
LE et al.	1994	As^{V}, DMA, AB,	Fisch	HPLC-ICP-MS
LE et al.	1994	Arsenozucker Gesamtarsen	Fisch	HG-AAS
VELEZ et al.	1996	MMA, DMA	marine Proben	HPLC-HG-AAS
HELGESEN und LARSEN	1998	As^{III}, As^{V}	Karotten	HPLC-ICP-MS
McKIERNAN et al.	1999	As^{III}, As^{V}, MMA,	Fisch	ICP-MS
MESTER	1999	DMA, AB, AC, MMA, DMA	Urin	GC/MS
MUNOZ et al.	1999	As^{III}, As^{V}	marine Proben	HG-AAS
SCHOOF et al.	1999	MMA, DMA	Lebensmittel	ICP-MS
CHAUSSEAU et al.	2000	As^{III}, As^{V}, MMA, DMA	Zerstäuber, Sprays	ICP-AES
DO et al.	2000	As^{III}, As^{V}, MMA, DMA	Urin	HPLC-HG-ICP-AES
FALK et al.	2000	As^{III}, As^{V}, MMA, DMA, AB, AC, TMAO, TeMA	Zerstäuber	HPLC-ICP-MS

Autor	Jahr	Arsenspezies	Matrix	Methodik
GETTAR et al.	2000	As^{III}, As^{V}, MMA, DMA	Wasser	ICP-AES
GÓMEZ-ARIZA et al.	2000	As^{III}, As^{V}, MMA, DMA, AB	Referenzmaterial, biota Proben	HPLC-HG-ICP-MS
McSHEEHY und SZAPUNAR	2000	Gesamtarsen	Algen	GF-AAS
SHRAIM et al.	2000	As^{III}, As^{V}, MMA, DMA	Wasser	HG-AAS
DO et al.	2001	MMA, DMA	Wasser	ICP-MS
HEITKEMPER et al.	2001	As^{III}, As^{V}, MMA, DMA	Reis	IC-ICP-MS
VELA et al.	2001	As^{III}, As^{V}, MMA, DMA, AB	Karotten	LC-ICP-MS
QUINAIA und ROLLEMBER	2001	As^{III}, As^{V}, DMA	Wasser	HG-AAS
KÖSTERS et al.	2003	MMA, DMA, TMAO	Wasser	GC/MS
HOVANEC	2004	As^{III}, As^{V}, MMA, DMA	Erdnußbutter	IC-ICP-MS
NIEDZIELSKI et al.	2004	As^{III}, As^{V}	Wasser	HPLC-HGAAS
LARSEN et al.	2005	As^{III}, As^{V}	Fisch	HPLC-ICP-MS
HIRATA et al.	2006	As^{III}, As^{V}, MMA, DMA, AB, AC, TMAO, TeMA	marine Proben	HPLC-ICP-MS

9 Atomabsorptionsspektrometrie

Die Bestimmung der Arsenkonzentration in Blut, Fisch und Urin wurde mit der Atomabsorptionsspektrometrie (AAS) durchgeführt.
Die Grundlage dieser Messtechnik beruht darauf, dass Atome im Grundzustand diejenige Wellenlänge zu absorbieren vermögen, die sie selbst nach Anregung emittieren. Dabei werden die Ionen der zu analysierenden Probe zunächst in den atomaren Zustand überführt.

Das Atomabsorptionsspektrometrie-Gerät ist aufgebaut aus einer Strahlungsquelle, einem Atomizer, einem Monochromator und einem Detektor.

Liegen im Strahlengang zwischen Strahlungsquelle und Atomizer freie Atome des zu analysierenden Elementes vor, so verringert sich die Intensität der Resonanzlinien gemäß dem Lambert-Beer´schen Gesetz, d.h. auf dem Weg durch eine Wolke von freien Atomen im Gaszustand wird eine Strahlung, deren Wellenlänge von diesen Atomen absorbiert werden kann, abgeschwächt (WELZ et al., 1997).

Die Atomisierung der Elemente kann durch die Anwendung unterschiedlicher Techniken wie der Flammen-AAS, der Graphitrohrofen-AAS und der Hydrid-AAS erreicht werden.
In dieser Arbeit wurden die Messungen der Arsenkonzentration mittels der Graphitrohrofen-AAS und der Hydrid-AAS druchgeführt.

Durch die Verwendung der Graphitrohrofen-AAS werden die Gesamtarsenkonzentrationen in den Proben bestimmt. Zur Atomisierung der Probe wird ein Graphitrohr eingesetzt. Es besteht aus Graphit und wirkt in der Hitze reduzierend, d.h. die Arsenverbindungen werden zu elementarem Arsen reduziert. Bei den Messungen wurden Graphitrohre mit L`vov-Plattform verwendet, wodurch eine zeitliche und räumlich konstante Temperatur der Rohroberfläche und des Gasraums erzielt werden kann (BOCH, 2003).
Das Graphitrohr wird von außen und innen von einer Argon-Schutzatmosphäre umströmt, die das Graphitrohr vor dem Verbrennen schützt. Der äußere Strom unterbindet das Eindringen von Außenluft und verhindert so das Veraschen des Graphits. Der innere Strom befördert die bei dem Veraschen der Probenmatrix entstandenen Dämpfe aus dem Rohrofen hinaus, indem er an den beiden Enden in das Rohr fließt und aus der Probeneingabeöffnung wieder hinaus

tritt (SCHWEDT, 1995; SKOOG et al., 1996; KLÄNTSCHI et al., 1996). Anstelle von Argon kann auch Helium als Schutzgas verwendet werden.
Dann wird die Probe über ein vorab bestimmtes Temperaturprogramm in mehreren aufeinanderfolgenden Schritten getrocknet, verascht und atomisiert. Das Graphitrohr kann bei der Atomisierung auf Temperaturen je nach Element zwischen ca. 1800 und 2600 °C aufgeheizt werden. Als letzten Schritt vor der nächsten Analyse wird das Rohr ausgeheizt (SCHWEDT, 1992).

Treten neben dem Analyten Begleitsubstanzen im Überschuss auf, sind diese in der Lage nach dem Verflüchtigen die Zusammensetzung der Gasatmosphäre zu bestimmen und Reaktionen zu beeinflussen. Um einen Überschuss von unerwünschten Begleitsubstanzen zu minimieren oder sogar zu eliminieren, müssen chemisch modifizierend wirkende Stoffe zugesetzt werden. Um eine wirkungsvolle Abtrennung der Begleitsubstanzen zu erzielen, sind möglichst hohe Veraschungstemperaturen von Bedeutung (WELZ et al., 1997). Da jedoch eine zu hohe Temperatur zum Verlust eines flüchtigen Elementes führen könnte, wird zusätzlich ein Matrixmodifier zur Probe gegeben (LEHMANN, 2000). Durch das chemische Modifizieren soll die Probe in eine stabile Verbindung oder Phase überführt werden. Gleichzeitig soll die thermische Stabilität der Begleitsubstanzen herabgesetzt werden. In der vorliegenden Arbeit wird ein Palladium-Magnesium-Modifier verwendet (siehe Kapitel 11.7.1). Durch den Einsatz dieses Modifiers kann die Veraschungstemperatur von 300°C auf 1400°C gesteigert werden. Mit dem Modifier liegt die optimale Atomisierungstemperatur für Arsen bei 2200°C (WELZ, 1997).

Mittels der Hydridtechnik wurden in dieser Arbeit die Konzentrationen des anorganischen Arsens in Fisch, Urin und Blut bestimmt.
Für eine effektive Hydridbildung muss Arsen in anorganischer Form vorliegen. Die Oxidationsstufe nimmt dabei Einfluss auf die Quantität der Hydridbildung und auch auf die Empfindlichkeit des Nachweises (WELZ, 1983).
Arsen muss vor der Bestimmung der Elementkonzentration in eine niedrigere Oxidationsstufe überführt werden (As^{V} ? As^{III}). Dreiwertiges Arsen bildet Arsenhydride, die durch inerten Argonstrom in eine heizbare Quarzküvette zur Atomisierung und zur atomabsorptionsspektrometrischen Messung geleitet werden.

Das Atomisierungssignal ist abhängig von der Oxidationsstufe und dem verwendeten Hydridsystem. In Batch-Systemen beträgt der Unterschied zwischen As^{III} und As^{V} nur etwa 25 - 30 % und verschwindet bei einer Integration über die Peakfläche fast vollständig. In Fließsystemen kann dieser Unterschied in Abhängigkeit von der Länge der Reaktionsschlaufe jedoch bis zu einer Zehnerpotenz betragen. Diese Unterschiede sind zudem pH-abhängig.
Als Reduktionsmittel wird Natriumborhydrid verwendet. Es reagiert mit Arsen zu Arsenwasserstoff. Eine Steigerung der Reagenzienkonzentration der Salzsäure und des Natriumborhydrids kann generell zu einer höheren Hydridausbeute bei der Hydridtechnik führen. Eine Erhöhung der Natriumborhydridkonzentration geht jedoch mit einer zunehmenden Schaumbildung im Gas-Flüssig-Abscheider einher. Dadurch kann Feuchtigkeit in die Küvette gelangen, die die Messung stark stören kann. In einer beheizten, beidseitig offenen Quarzküvette, die sich im Strahlengang des Spektrometers befindet, erfolgt dann bei 900°C die Atomisierung des gasförmigen Arsenwasserstoffs. In Folge der thermischen Zersetzung entstehen freie Arsenatome, deren Konzentration durch Extinktionsmessung ermittelt wird (MÜNZ, 1989). Als Trägergas beim Transport der Hydride wird das Inertgas Argon verwendet. Auch hier kann neben Argon Helium verwendet werden.

10 Nachweis der Monomethylarson- und Dimethylarsinsäure im Urin mittels GC/MS

Mit Hilfe der Kapillargaschromatographie werden die zu untersuchenden Stoffgemische in Einzelkomponenten aufgetrennt. Das nachgeschaltete Massenspektrometer dient der Identifizierung und Quantifizierung der einzelnen Komponenten. Mittels dieser Methode können alle unzersetzt verdampfbaren Stoffe analysiert werden.

Die Chromatographie ist ein physikalisch-chemisches Trennverfahren. Hierbei verteilen sich die zu trennenden Substanzen zwischen zwei nicht mischbaren Phasen. Eine Phase ist die stationäre Phase. Die zweite Phase wird als mobile Phase bezeichnet, da diese die chromatographische Trennstrecke in eine Richtung durchströmt und so den Stofftransport auslöst. An den Gaschromatographen ist ein Massenspektrometer gekoppelt. Hier werden die zu analysierenden Proben ionisiert und die gebildeten Molekülionen oder die daraus entstehenden Fragmentionen hinsichtlich ihres Masse- zu Ladungsverhältnisses m/z getrennt. Bei der GC/MS findet ein kontinuierlicher Stofftransfer durch das Trägergas in die Ionenquelle statt.

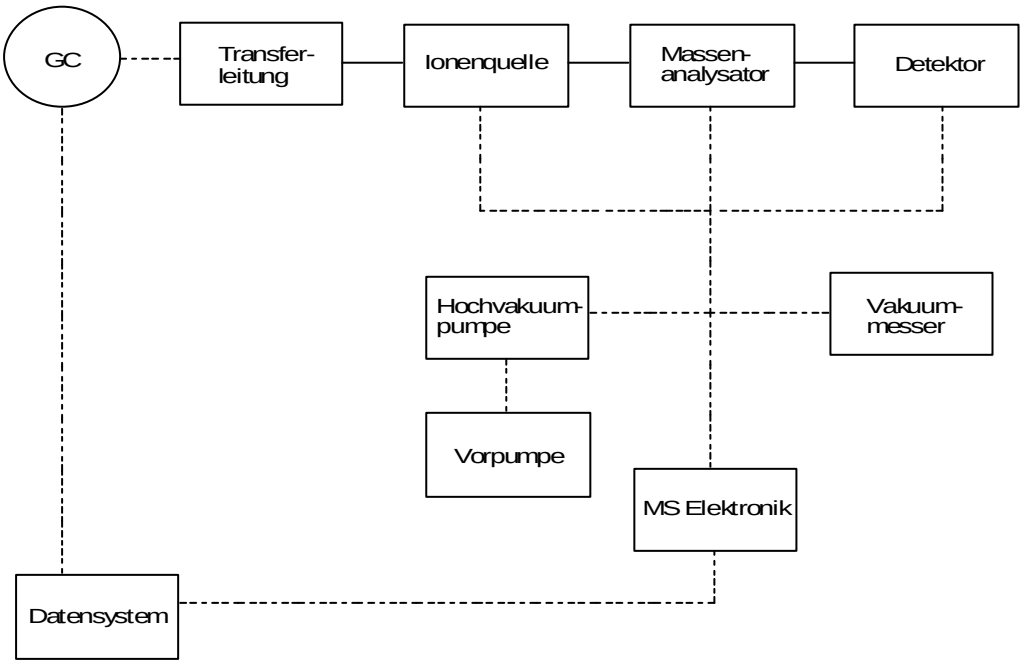


Abbildung 8: Aufbau eines GC/MS
(nach KOLB, 2003)

10.1 Elektronenstoßionisierungsverfahren

Die Elektronenstoß-Ionisierung bei 70 eV wird heute bei allen GC/MS-Geräten als Standardverfahren eingesetzt.

Im Hochvakuum treten in einer Ionisierungskammer aus einem Glühdraht Elektronen aus. Diese Elektronen werden im Spannungsfeld der Ionenquelle beschleunigt. Aufgrund einer Kollision mit den Stoffmolekülen wird ein Elektron herausgeschlagen. Dabei wird ein Radikalkation erzeugt, welches auch kurz als Molekülion M+ bezeichnet werden kann. Innerhalb des gebildeten Radikalkations kommt es infolge der überschüssigen Energie zu Rotationen und Schwingungen. Die Höhe der Überschussenergie sowie die Fähigkeit des Moleküls zur inneren Stabilisierung bestimmen die Folgeprozesse der unimolekularen Fragmentierung in Fragment-Ionen und ungeladene Teilchen.

Durch eine steigende Ionisierungsenergie kann die Signalintensität erhöht werden. Dies gilt allerdings nur so lange bis das Plateau erreicht ist. Eine weitere Zunahme der Ionisierungsenergie hätte daraufhin sogar eine leicht abfallende Signalintensität zur Folge. Daher kann eine Signalintensitätssteigerung nicht mehr über eine erhöhte Ionisierungsenergie erzielt werden, sondern über Maßnahmen, die eine Steigerung der Dichte und der Dispersion des Elektronenstrahls bewirken können.

Neben der Empfindlichkeit hat eine Ionisierungsenergie von 70 eV auch einen Einfluss auf die Vergleichbarkeit von Massenspektren. Im Molekül bleibt ein Vielfaches der zur primären Ionisierung zum Molekülion benötigten Energie als Überschussenergie bestehen. Fragmentierungsreaktionen und eine sofortige Konzentrationsabnahme an Molekülionen im Ionisierungsbereich sind die Folge. Zeitgleich kommt es zu einem gesteigerten Auftreten von stabilen Fragment-Ionen. Die Fragmentierungs- und Umlagerungsvorgänge sind fast alle bekannt und werden als Fragmentierungsregeln zur manuellen Interpretation von Massenspektren eingesetzt. Damit dienen sie der Interpretation unbekannter Substanzen.

10.2 Messtechnik in der GC/MS

Bei der Datenaufnahme des Massenspektrometers wird die Einzelmassenregistrierung (SIM) angewendet.
Bei der Einzelmassen-Registrierung wird die Auswahl bestimmter Ionen (Fragmente, Molekülionen) vorausgesetzt, die selektiv die geforderten Analyten detektieren können. Daneben bleiben andere in der Probe enthaltene Verbindungen unentdeckt. Im SIM-Modus ist eine Identifizierung der Substanzen durch einen Vergleich mit Spektrenbibliotheken nicht möglich. Bevor jedoch eine Substanz eine Analyse im SIM-Modus durchlaufen kann, muss zunächst ein Standard-Lauf im full scan-Modus durchgeführt werden. Dabei werden die Retentionszeiten und auch die für die SIM-Auswahl nötigen Massensignale ermittelt.

Anhand der charakteristischen Retentionszeit und über die spezifischen Massenfragmente erfolgt die qualitative Identifizierung der methylierten Arsenverbindungen. Wenn die für die Substanz spezifischen Massenfragmente zeitgleich zu der für diesen Stoff charakteristischen Retentionszeit erscheinen, ist die Substanz identifiziert.

11 Material und Methoden

In Vorversuchen wurden literaturbekannte Methoden zur Arsenbestimmung optimiert und den besonderen Bedingungen der vorliegenden Arbeit angepasst.
Untersucht wurde, ob neben dem Druckaufschluss nach Tölg auch der Mikrowellenaufschluss für die Arsenbestimmung mit Hilfe der Graphitrohrofen- bzw. mittels der Hydridtechnik geeignet ist.

11.1 Probandenkollektiv

Als Probandenkollektiv standen 35 Männer und Frauen im Alter von 22 bis 75 Jahren zur Verfügung. 21 Probanden bzw. Probandinnen wohnen in Drochtersen und beziehen ihr Trinkwasser vom Trinkwasserverband Stader Land, 14 Probanden bzw. Probandinnen wohnen in Kiel und beziehen ihr Trinkwasser von den Stadtwerken Kiel. Somit sind die über das Trinkwasser aufgenommenen Arsenmengen bekannt.
Es wurden die Arsengehalte in 24-h-Sammelurin und Blut bestimmt.

Am 11.10.2001 gab die Ethikkommission des Universitätsklinikums Kiel ihre schriftliche Zustimmung zur Durchführung der Versuche. Die Probanden wurden ausführlich über den Zweck des Versuchs informiert und erhielten einen detaillierten Zeitplan zum Versuchsablauf, einen Fragebogen und ein Ernährungsprotokoll, das sie während der Versuchstage führen sollten (siehe Kapitel 17).
Die Probanden wurden gebeten, ab einer Woche vor Versuchsbeginn bis zum Versuchsende auf außerplanmäßigen Fischverzehr und Lebensmittel wie Speisepilze sowie Innereien zu verzichten, um nennenswerte Arsenaufnahmen aus anderen Quellen zu vermeiden.

11.2 Vorbereitung der Probengefäße

Vor Versuchsbeginn wurden alle Probengefäße, außer den Blutmonovetten, sowie alle Petrischalen für die Fischproben und die Essteller, wie auch das Besteck der Probanden dreimal mit 1-molarer Salpetersäure sowie zweimal mit Aqua bidestillata gespült. Anschließend wurden alle Probengefäße im Trockenschrank getrocknet.

11.3 Durchführung des Versuchs

Einen Tag vor der Fischmahlzeit sammelten die Probanden ihren ersten 24-Stunden-Urin und ließen sich Blut abnehmen.
Im Anschluss an die Fischmahlzeit sammelten die Probanden wiederum ihren 24-Stunden-Urin und ließen sich 1,2,4,6,8,10,24 und 48 Stunden nach der Fischmahlzeit Blut abnehmen. Des Weiteren wurden 24-Stunden-Urine bis 72 Stunden nach der Fischmahlzeit gesammelt.
Die Blutentnahmen erfolgten durch Venenpunktion unter ärztlicher Aufsicht.
Bei einer Probandin kam es zu einer fehlerhaften Versuchsdurchführung. Daher konnten ihre Werte nicht berücksichtigt werden.

11.3.1 Die Fischmahlzeit

Bei den tiefgefrorenen Fischfilets handelt es sich um Nordsseeschollen. Für den Versuch in Kiel wurden ebenfalls tiefgefrorene Nordseeschollenfilets gekauft.
Die Probanden verzehrten zwischen 115 und 216 Gramm in Butter gebratenen Fisch (Tabelle 8).

Tabelle 8: Personendaten und absolute Verzehrsmenge der einzelnen Versuchspersonen.
m = männlich; w = weiblich

Proband	Geschlecht	Alter	BMI	Fischaufnahme in g
1	m	58	26	146
2	w	53	34	129
3	w	25	23	142
4	w	75	34	151
5	w	70	24	106
6	w	68	33	123
7	w	60	31	131
8	m	69	22	115
9	m	54	27	156
10	w	62	21	133
11	m	22	21	156
12	w	46	25	137
13	m	51	30	168
14	w	38	24	138
15	w	72	25	164
16	m	66	24	163
17	w	67	31	167
18	m	56	27	138
19	w	67	22	154
20	w	62	28	167
21	w	26	20	217
22	w	22	23	114
23	m	22	23	157
24	m	28	24	118
25	w	24	24	98
26	w	24	26	146
27	w	26	32	100
28	m	23	24	127
29	w	24	19	124
30	w	25	21	131
31	w	25	20	116
32	m	27	25	135
33	w	26	27	111
34	w	29	24	99
35	w	25	21	74
Minimum		22	19	74
Maximum		75	34	217
Mittelwert		43	25	136
Standardfehler des Mittelwertes		3,3	0,7	4,6
Median		38	24	135
Standardabweichung		19,5	4,1	27

11.3.2 Probenentnahme und Probenlagerung

Der Arsengehalt der verzehrten Fische wurde sowohl in rohem als auch in gebratenem Zustand bestimmt.
Die Fischproben wurden in Petrischalen bei 45°C im Trockenschrank getrocknet und anschließend gemörsert. So ergaben sich homogene Proben. Die Lagerung bis zur Messung erfolgte in Mehrzweckbechern unter Lichtabschluss bei Zimmertemperatur.

Der 24-h-Urin wurde in 2-L-Sammelurinbehältern aufgefangen, den die Probanden stets mit sich führten. Die tägliche Gesamtmenge wurde registriert. Für die Urinuntersuchungen wurden aus dem Sammelurin 100 ml entnommen. Dieses Aliquot wurde mit 1 ml konzentrierter Essigsäure versetzt und bei + 5°C gelagert. Der restliche Urin wurde als Rückstellprobe bei - 20°C gelagert.

Das Blut wurde in Blutmonovetten mit Kalium-EDTA abgenommen und wie der Urin bei -20°C gelagert.

11.4 Geräte und Reagenzien

11.4.1 Geräte

Neben der allgemeinen Laborausstattung wurden speziell verwendet:

- Aluminium-Heizblockadapter, Edelstahl-Druckbehälter DAB I, Fa. Berghof, Eningen
- Atomabsorptionsspektrometer 5100 PC (Graphitrohrofentechnik mit Zeemann-Untergrundkompensation) mit Probengeber AS-60, Fa. Perkin Elmer, Überlingen
- Atomabsorptionsspektrometer 1100 B (Hydridtechnik) mit Fließinjektionssystem FIAS 400 und Probengeber AS-90, Fa. Perkin Elmer, Überlingen
- Heizblöcke DAH 412 mit Temperaturreglern BTU 412, Fa. Berghof, Eningen
- Mikrowellengerät Typ MARS Xpress, Fa. CEM, Kamp-Lindfort
- Kalium-EDTA-Blutmonovetten, Fa. Sarstedt, Nümbrecht
- 100ml Mehrzweckbecher und 2000ml Sammelurinbehälter aus Polyethylen, Fa. Sarstedt, Nümbrecht
- Massenspektrometer SSQ 7000, Finnigan MAT GmbH, Bremen
- Teflongefäße aus PTFE, Fa. Maassen, Ravensburg
- Mikrowellengefäße, Fa. CEM, Kamp-Lindfort

11.4.2 Reagenzien

- Ascorbinsäure, Fa. Merck, Darmstadt
- Aqua bidestillata aus der laboreigenen Destillieranlage Destamat, Fa. Heraeus, Hanau
- Essigsäure, 96%, pro analysi, Fa. Merck, Darmstadt
- n-Hexan, für die Gaschromatographie, Fa. Merck, Darmstadt
- Kaliumiodid, pro analysi, Fa. Merck, Darmstadt
- Magnesium-Matrixmodifier, Fa. Merck, Darmstadt
- Natriumborhydrid, pro analysi, Fa. Merck, Darmstadt
- Natriumhydroxid, Fa. Merck, Darmstadt
- 1-Octanol, Fa. Merck, Darmstadt
- ortho-Phorsphorsäure, 85%, pro analysi, Fa. Merck, Darmstadt
- Palladium-Modifier, Fa. Merck, Darmstadt

- Salpetersäure, 65%, suprapur, Fa. Merck, Darmstadt
- Salzsäure, 30%, suprapur, Fa. Merck, Darmstadt
- Thioglykolsäure-methylester, Fa. Fluka, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim
- Triton X, Fa. Merck, Darmstadt
- Wasserstoffperoxid, 35%, Fa. Merck, Darmstadt

Standardlösungen

- Arsen-Standardlösung, Titrisol® (1,000 ± 0,002g As/l als As_2O_5 in Wasser), Fa. Merck, Darmstadt
- Arsenobetain-Standardlösung, BCR 626, Fa. Promochem, Wesel

Referenzmaterial

- Blut: Seronorm Trace Elements Whole Blood, Fa. Sero AS, Billingstad, Norwegen
- Fisch: Tuna Fish Tissue, BCR-627, Fa. Promochem, Wesel
- Urin: ClinRep®-Control, Level 1, Fa. Recipe, München
- Dimethylarsinic acid, 98%, Alfa Aesar, Heysham
- Monomethylarsonsäure, 99%, Campro Scientific, Berlin

11.5 Probenaufbereitung

Zur Messung der Arsenkonzentrationen in den unterschiedlichen Materialien (Fisch, Blut, Urin) musste zunächst die organische Matrix zerstört werden. Die Zerstörung der organischen Matrix erfolgte zum einen mittels konventionellem Druckaufschlusses nach Tölg und zum anderen mittels mikrowellenunterstütztem Druckaufschluss in dem Mikrowellen-Aktivierungs-Reaktions-System MARS Express 5.

Zur Absicherung der erzielten Messergebnisse wurde jede Probe doppelt aufgeschlossen und jeder Aufschluss doppelt gemessen.

11.5.1 Konventioneller Druckaufschluss nach Tölg

Der konventionelle Druckaufschluss wurde durchgeführt nach KOTZ et al., 1972.

Bestimmung im Fisch:

Für die Bestimmung der Gesamtarsenkonzentration und des anorganischen Anteils wurden für den Druckaufschluss nach Tölg 0,1 g Fischhomogenat in ein Teflongefäß eingewogen und dann mit 2 ml konzentrierter Salpetersäure versetzt. Zunächst wurde die Probe für 0,6 h bei 120°C aufgeschlossen und dann für 4,2 h bei 170°C. Im Anschluss wurden die Proben für 24 h bei 90°C getrocknet. Die getrockneten Proben wurden für die Graphitrohrofentechnik in 2 ml 0,25 molarer HNO_3 aufgenommen, für die Hydridtechnik in 3 ml 0,25 molarer HNO_3.

Bestimmung im Urin:

Für den Aufschluss nach Tölg wurden 0,5 ml Urin zusammen mit 1 ml konzentrierter Salpetersäure in ein Teflongefäß versetzt. Die Proben wurden für 4,4 h bei 170°C aufgeschlossen. Anschließend wurden die Proben für 26 h bei 95°C getrocknet.

Die weitere Aufarbeitung für die Graphitrohrofentechnik und die Hydridtechnik erfolgte analog der Arsenbestimmung im Fisch.

Bestimmung im Blut:

Für die Bestimmung der Gesamtarsenkonzentration im Blut wurden 0,5 ml Blut in ein Teflongefäß pipettiert, mit 1 ml 65 % HNO_3 versetzt und im Druckaufschluss nach Tölg bei 170°C für 4,5 h erhitzt. Nach dem Abkühlen wurden die Gefäße geöffnet und bei 90°C für 24 h zur Trocknung in einen Heizblock gestellt. Im Anschluss wurden die getrockneten Blutproben in 2 ml 0,25 molarer HNO_3 aufgenommen. Nach 30 Minuten wurden die Blutproben aus dem Teflongefäß in ein Probengefäß überführt und dann mittels Graphitrohrofentechnik die Arsenkonzentrationen gemessen.

Für die Hydridtechnik wurde die in Salpetersäure aufgenommene Probe in ein Reagenzglas gegeben. Zur Probe wurden 3 ml Salzsäure und 3 ml Reduktionslösung (Herstellung: 90 g Aqua bidestillata + 5 g Ascorbinsäure + 5 g Kaliumiodid + 300 g Salzsäure) gegeben und 24 h stehen gelassen.

11.5.2 Mikrowellenunterstützter Druckaufschluss

Der mikrowellenunterstützte Druckaufschluss wird durchgeführt nach MARR et al., 1988.

Bestimmung im Fisch:

Für den Aufschluss in der Mikrowelle wurde 0,1 g Fischhomogenat in ein Mikrowellengefäß eingewogen und mit 4 ml konzentrierter Salpetersäure und 1 ml Wasserstoffperoxid versetzt. Die so vorbereiteten Proben wurden anschließend mit Hilfe des mikrowellenunterstützten Druckaufschlusses MARS Express 5 aufgeschlossen.

Bestimmung im Urin:

Für den Aufschluss in der Mikrowelle wurden 0,5 ml Urin mit 2 ml konzentrierter Salpetersäure und 0,5 ml Wasserstoffperoxid versetzt. Es wurde das gleiche Temperaturprogramm wie beim Aufschluss der Fischproben gewählt.
Die weitere Aufarbeitung für die Graphitrohrtechnik und die Hydridtechnik erfolgte analog der Arsenbestimmung im Urin.

Der Aufschluss von Blut gelang in der Mikrowelle nicht.

Tabelle 9: Temperaturprogramm für den Mikrowellen-Aufschluss

Stufe	Leistung in Watt	Power in %	Zeitrampe in min.	Temperatur in °C	Haltezeit in min.
1	600	100	04:00	80	03:00
2	600	100	04:00	120	05:00
3	600	100	04:00	150	10:00

Nach dem Aufschluss wurden die Aufschlusslösungen in Reagenzgefäße mit Deckeln überführt.
Im Anschluss daran wurden die Messlösungen durch Verdünnung aus den Aufschlusslösungen hergestellt.

Die Teflongefäße wurden nach jedem Aufschluss zweimal mit 30 ml konzentrierter Phosphorsäure und 50 ml konzentrierter Salpetersäure auf 1,5 l Aqua bidestillata für sechs Stunden ausgekocht und anschließend bei 100°C im Trockenschrank getrocknet.
Die Gefäße für die Mikrowelle wurden nach jedem Aufschluss mit Aqua bidestillata und 1 molarer Salpetersäure gespült und danach ebenfalls im Trockenschrank getrocknet.

11.6 Die Arsenbestimmung

Die Bestimmung der Gesamtarsengehalte sowie der Konzentrationen an anorganischem Arsen in Blut, Fisch und Urin wurde mit Hilfe der Atomabsorptionsspektrometrie durchgeführt. Bei der Bestimmung des anorganischen Arsens mit der Hydridtechnik wurde keine Spezifizierung der einzelnen anorganischen Arsenspezies (As^{V}, As^{III}) vorgenommen. Die Gesamtarsenkonzentration ist die Summe aus anorganischem Arsen und organischen Arsenverbindungen wie Arsenobetain, Arsenocholin und Arsenozucker. Auch bei der Bestimmung der Gesamtarsenkonzentration wurde keine Spezifizierung der einzelnen Arsenverbindungen vorgenommen.
Mit der Hydrid-Technik ist es nicht möglich den Gesamtarsengehalt, und dabei vor allem die organisch gebundene Arsenverbindung Arsenobetain zu erfassen. Die Verbindung wird durch den Druckaufschluss nach Tölg und dem mikrowellenunterstützem Druckaufschluss nicht mineralisiert und bleibt erhalten. Arsenobetain entzieht sich dem Nachweis mit der Hydridtechnik, da es mit Natriumborhydrid keine flüchten Arsenhydride bildet, und wird daher mit der Graphitrohrofentechnik nachgewiesen.

Gesamtarsen		**anorganisches Arsen**
?	?	?
Tölg-Druckaufschluss	Mikrowellen-Druckaufschluss	Tölg-Druckaufschluss
?	?	?
Graphitrohrofentechnik		Hydridtechnik

Abbildung 9: Arsenbestimmung, eigene Darstellung

Die Geräteeinstellung für die Graphitrohrofentechnik erfolgte nach MÜNZ, 1989:

- Wellenlänge: 193,7 nm
- Spalt: 0,7 nm
- Integrationszeit: 3 Sek.
- Messart: Peak-Fläche

Tabelle 10: Verwendetes Temperaturprogramm für die Bestimmung von Arsen in Urin und Fisch mittels Graphitrohrofentechnik

Step	**Temperature in °C**	**Ramp Time in sec.**	**Hold Time in sec.**	**Internal Flow Argon ml/min**	**Read Step**
1	120	20	50	300	
2	1300	1	30	300	
3	20	1	15	300	
4	2100	0	5	0	x
5	2600	1	5	300	
6				300	

Tabelle 11: Verwendetes Temperaturprogramm für die Bestimmung von Arsen im Blut mittels Graphitrohrofentechnik

Step	**Temperature in °C**	**Ramp Time in sec.**	**Hold Time in sec.**	**Internal Flow Argon ml/min**	**Read Step**
1	120	20	50	300	
2	1300	1	30	300	
3	130	1	15	300	
4	2100	0	5	0	x
5	2600	1	5	300	
6				300	

Die Geräteeinstellung für die Hydridtechnik erfolgte auf der Grundlage von BASSNER et al., 1990:

- Wellenlänge: 193,7 nm
- Spalt: 0,7 nm
- Integrationszeit: 15 Sek.
- Messart: Peak-Höhe
- Küvettentemperatur: 900 °C
- Argon-Flussrate: 100 cm^3/min
- Reduktionslösung: 0,6 % Natriumborhydrid
- Trägerlösung: 3 % HCl

11.7 Matrixmodifier, Reduktions- und Kalibrierlösungen

11.7.1 Matrixmodifier

Für die Arsenbestimmung mittels Graphitrohrofentechnik wurde der Matrixmodifier wie folgt angesetzt: 1 ml Magnesium-Matrixmodifier und 1,5 ml Palladium-Matrixmodfier, mit Aqua bidestillata, zu 10 ml gelöst.

11.7.2 Reduktionslösung

Zur Arsenbestimmung mittels Hydridtechnik ist eine weitere Reduktionslösung erforderlich. Dafür wurden 6 g Natriumborhydrid mit 3 g Natriumhydroxid zu 1000 ml in Aqua bidestillata gelöst.
Die Lösung wurde zu Beginn eines jeden Messtages neu angesetzt.

11.7.3 Reduktionslösung zur Reduzierung der Oxidationsstufe

Zur Überführung anorganischer Arsenverbindungen in die einheitliche dreiwertige Oxidationsstufe wurde eine Reduktionslösung aus 90 ml Aqua bidestillata, 5 g Kaliumiodid, 5 g Ascorbinsäure und 300 ml 30 % Salzsäure hergestellt. Diese Reduktionslösung wurde ausschließlich für die Arsenbestimmung mittels Hydridtechnik verwendet. Die Lösung wurde vor der Verwendung immer neu angesetzt.

11.7.4 Kalibrierlösungen

Als Blindlösungen wurden Leeraufschlüsse eingesetzt. Es wurden keine Signal-Peaks an den Messgeräten bei der Verwendung der Blindlösungen beobachtet.
Die Kalibrierlösungen wurden durch Verdünnungen aus den Standardlösungen in Aqua bidestillata hergestellt.

11.7.5 Überprüfung der Kalibrierung

An jedem Messtag wurde vor Beginn der Messungen eine neue Kalibrierung durchgeführt. Die so erhaltene Eichgerade wurde für die anschließenden Messungen verwendet.
Kam es während der Messungen zu starken Messschwankungen, wurde nachkalibriert und die letzten Messungen wurden wiederholt.

11.8 Die Bestimmung von Monomethylarsonsäure und Dimethylarsinsäure im Urin

Die Bestimmung der Monomethylarsonsäure und Dimethylarsinsäure im Urin wurde nach der Methode von MESTER et al., 1999 durchgeführt.

Für die Bestimmung von Monomethylarsonsäure und Dimethylarsinsäure wurde 1 ml Urin in ein 10 ml Glasröhrchen gegeben und mit 100 µl 30% Salzsäure und 50 µl Thioglykolsäure-methylester versetzt. Anschließend wurde das Glasröhrchen mit einem Glasstopfen verschlossen und für 2 Minuten intensiv mit einem Vortex-Mixer geschüttelt. Danach wurde 1 ml n-Hexan hinzugefügt und wiederum für 2 Minuten geschüttelt. Im Anschluss wurde das Gemisch bei 4000 U/m für 5 Minuten zentrifugiert. Nach der Trennung der Phasen wurde die obere, organische Phase abpipettiert und mittels GC/MS analysiert.

Die Retentionszeiten liegen in dem Bereich von 15 Minuten, wobei diese in zwei unterschiedliche Segmente unterteilt werden können. Das erste Segment, zur Bestimmung der Dimethylarsinsäure läuft innerhalb der ersten sechs Minuten ab. Das zweite Segment zur Bestimmung der Monomethylarsonsäure läuft dann in den restlichen 9 Minuten ab.

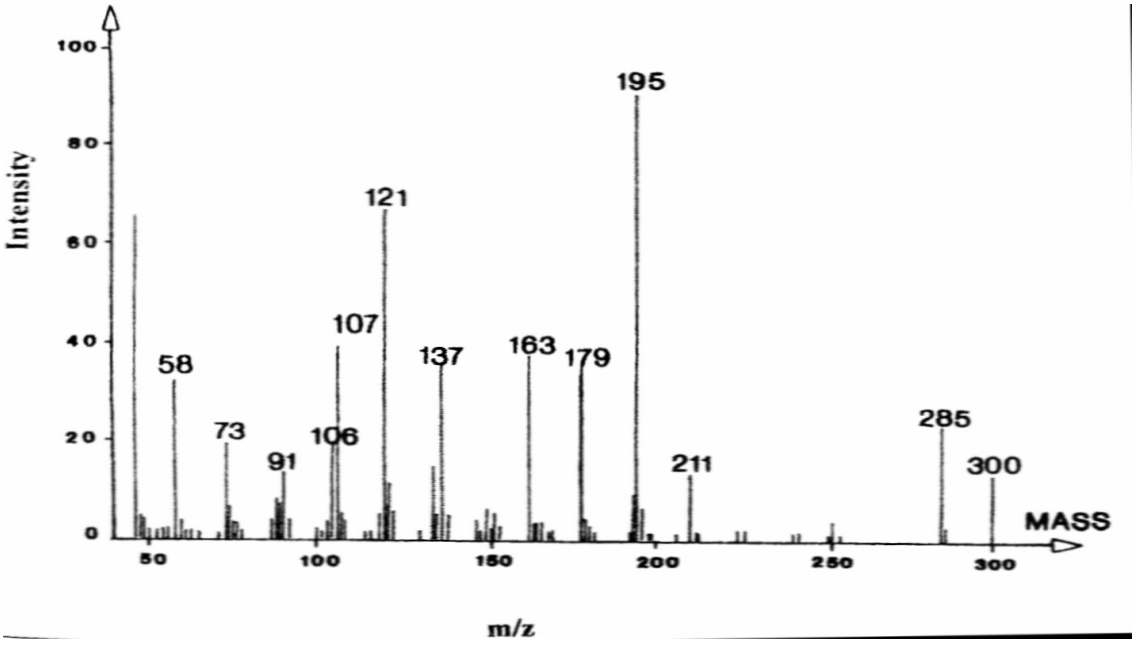


Abbildung 10: Massenspektrum der Monomethylarsonsäure

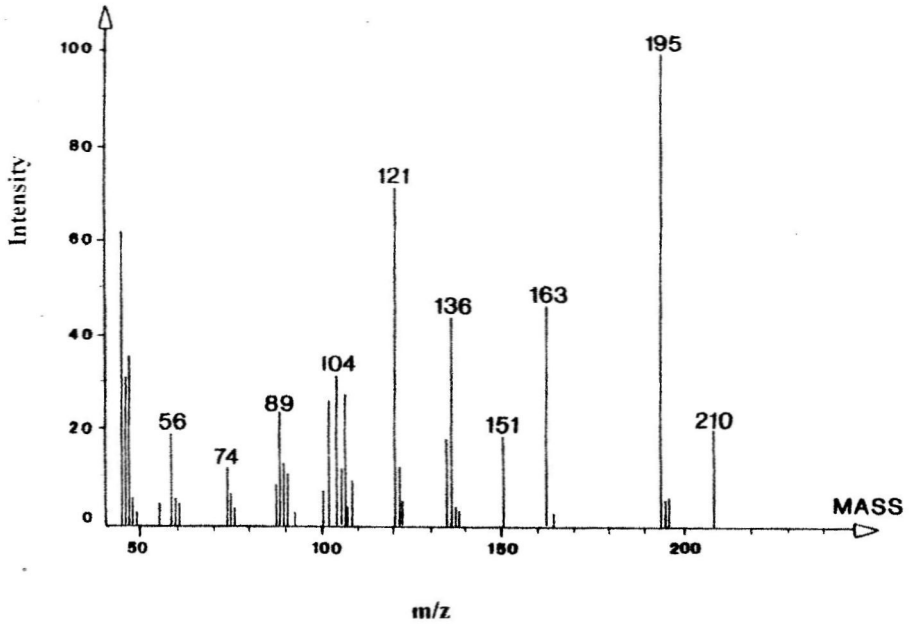


Abbildung 11: Massenspektrum Dimethylarsinsäure

Tabelle 12: Retentionszeiten und substanzspezifische Massenfragmente der methylierten Arsenverbindungen

Substanz	Retentionszeit in min.	substanzspezifische Massenfragmente (m/z)
Monomethylarsonsäure	7,43	194,9; 284,9
Dimethylarsinsäure	4,72	194,9; 209,9

Tabelle 13: Bedingungen der GC/MS-Analyse bei der Bestimmung der methylierten Arsenverbindungen

GC/MS-System	Finnigan SSQ 7000 MS Varian 3400 GC
Ionisierungsenergie	70 eV
Injektionsvolumen des Autosampler	1 µl
Injektionsmethode	split/splitless
Splitverhältnis	01:50
Trägergas	Helium
Injektortemperatur	220°C
Programmdauer	15 min.

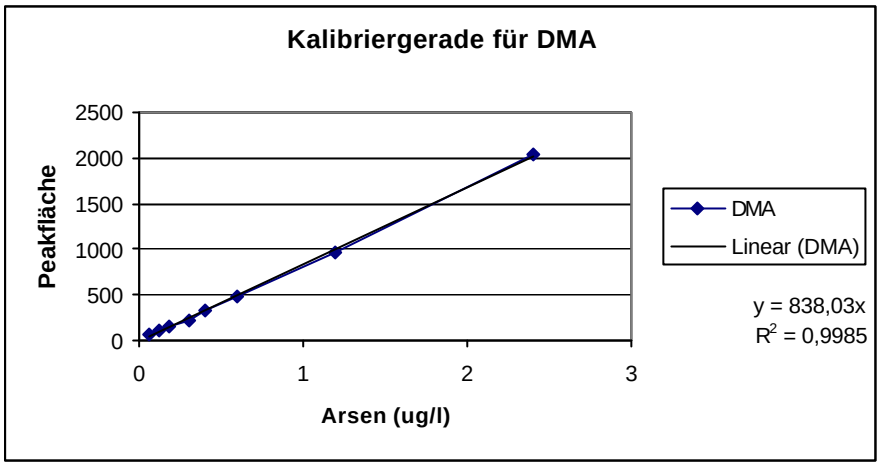


Abbildung 12: Darstellung der Kalibriergeraden für Dimethylarsinsäure (DMA)

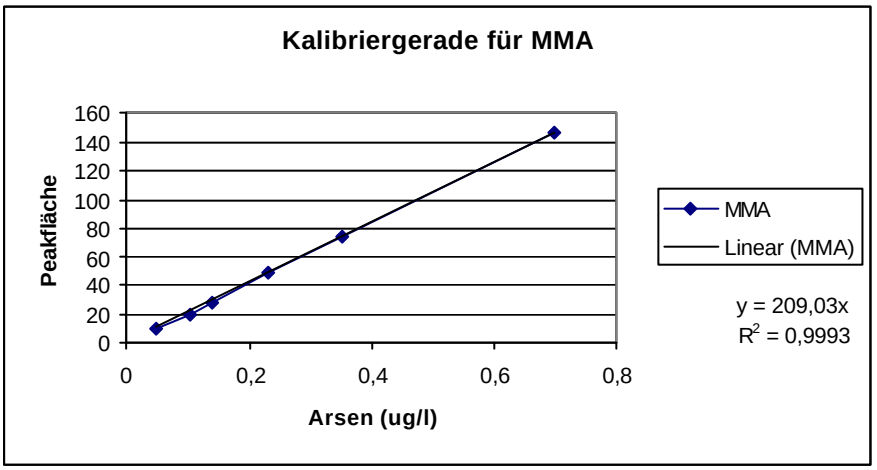


Abbildung 13: Darstellung der Kalibriergeraden für Monomethylarsonsäure (MMA)

11.9 Absicherung der Messverfahren

11.9.1 Standardlösungen

Als Standardlösungen wurden Stammlösungen nach Angabe der Hersteller angesetzt. Aus diesen Stammlösungen wurden die erforderlichen Verdünnungen hergestellt.

11.9.2 Eichgerade

Da die Atomisierung der in der Probe enthaltenen Ionen durch Matrixbestandteile der Probe beeinflusst werden kann, wurde dieser Effekt durch Vergleich der mit wässrigen Lösungen erstellten Eichkurve mit der Standardadditionseichgeraden überprüft.
Zur Erstellung der Standardadditionskurve wurden Aliquote einer Aufschlusslösung steigende Konzentrationen der entsprechenden Standardlösung zugegeben. Dabei konnte beobachtet werden, dass der Verlauf der mit wässrigen Lösungen erstellten Eichgeraden parallel zu der entsprechenden Standardadditionseichgeraden verläuft, d.h. die beiden Geraden haben ein und dieselbe Steigung.
Dadurch konnte ein Einfluss von Matrixbestandteilen auf die Messergebnisse ausgeschlossen werden und die Messung konnte auf der Grundlage der mit wässrigen Lösungen erstellten Eichgeraden erfolgen.

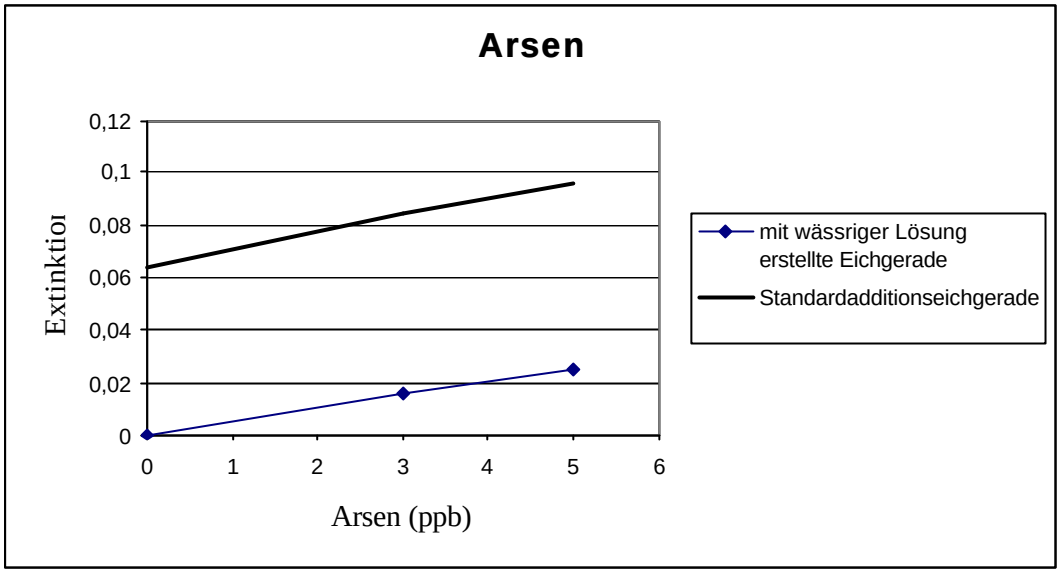


Abbildung 14: Vergleich der mit wässriger Lösung erstellten Eichgeraden mit der Standardadditionseichgeraden

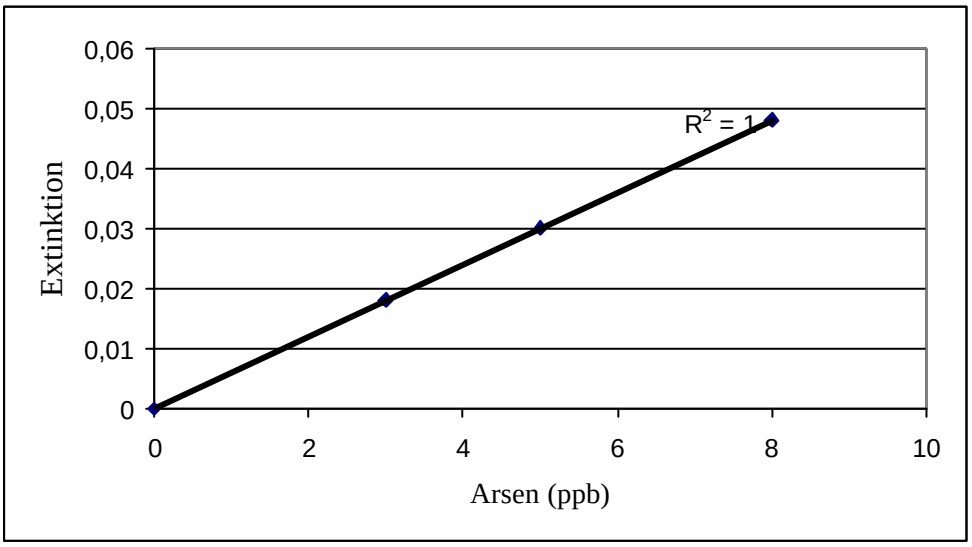


Abbildung 15: Kalibriergerade für Gesamtarsen

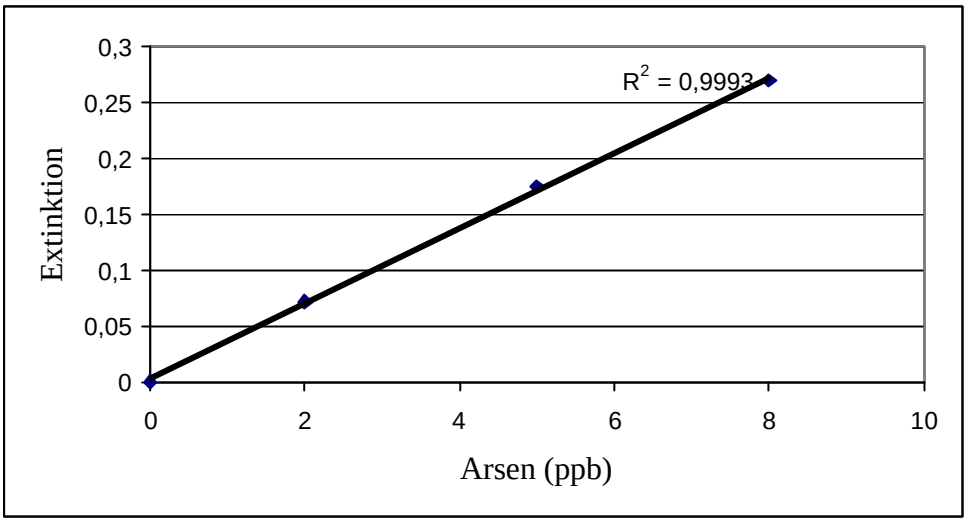


Abbildung 16: Kalibriergerade für anorganisches Arsen

11.10 Absicherung der Methoden

Für die Darstellung der Absicherung der Methoden wurden folgende Werte tabellarisch dargestellt: Minimum, Maximum, Median, Mittelwert, Standardfehler des Mittelwertes, Standardabweichung und Varianz.

11.10.1 Präzision der Aufschlussmethoden

Zur Prüfung der Präzision der Aufschlussmethoden wurden jeweils 10 Aliquote einer Probe aufgeschlossen und diese Aliquote nach der Aufbereitung gemessen.

Tabelle 14: Präzision der Aufschlussmethode "Druckaufschluss nach Tölg" für Gesamtarsen, geordnet nach Matrizes

	Gesamtarsen		
	Fisch (mg/kg)	**Urin (µg/l)**	**Blut (µg/l)**
Anzahl der Aufschlüsse	10	10	10
Minimum	3,9	31,6	11,6
Maximum	4,3	36,8	14,2
Median	4,1	32,8	13
Mittelwert	4,08	33,6	12,7
Standardfehler des Mittelwertes	0,04	0,52	0,26
Standardabweichung	0,12	1,64	0,8
Varianz	0,02	0,68	0,84

Tabelle 15: Präzision der Aufschlussmethode "Mikrowellenunterstützter Druckaufschluss" für Gesamtarsen, geordnet nach Matrizes

	Gesamtarsen	
	Fisch (mg/kg)	**Urin (µg/l)**
Anzahl der Aufschlüsse	10	10
Minimum	3,6	25
Maximum	4,5	36
Median	4	26
Mittelwert	4	29
Standardfehler des Mittelwertes	0,11	1,3
Standardabweichung	0,34	4,2
Varianz	0,03	1,5

Tabelle 16: Präzision der Aufschlussmethode "Druckaufschluss nach Tölg" für anorganisches Arsen, geordnet nach Matrizes

	anorganisches Arsen		
	Fisch (mg/kg)	**Urin (µg/l)**	**Blut (µg/l)**
Anzahl der Aufschlüsse	7	7	7
Minimum	798	34	12
Maximum	948	52	14
Median	840	39	13
Mittelwert	855	41	13
Standardfehler des Mittelwertes	21	2,3	0,26
Standardabweichung	55	6,1	0,69
Varianz	3037	37	0,5

Tabelle 17: Präzision der Aufschlussmethode für DMA und MMA im Urin

	Urin	
	MMA (ng/µl)	**DMA (ng/µl)**
Anzahl der Aufschlüsse	7	7
Minimum	0,11	0,02
Maximum	0,17	0,02
Median	0,11	0,02
Mittelwert	0,12	0,02
Standardfehler des Mittelwertes	0,01	0
Standardabweichung	0,03	0
Varianz	0,001	0

11.10.2 Präzision des Messgerätes

Zur Prüfung der Präzision des Gerätes wurde aus den aufgeschlossenen Aliquoten ein Pool gebildet, aus dem wiederum 10 Proben entnommen und gemessen wurden.

Tabelle 18: Präzision der Messung der Gesamtarsenkonzentration mit der Graphitrohrofentechnik, geordnet nach Matrizes

	Gesamtarsen		
	Fisch (mg/kg)	**Urin (µg/l)**	**Blut (µg/l)**
Anzahl der Aufschlüsse	10	10	10
Minimum	3,7	30	9
Maximum	4,4	36	13
Median	4,1	34	11
Mittelwert	4,1	34	11
Standardfehler des Mittelwertes	0,1	0,5	0,4
Standardabweichung	0,2	1,5	1,2
Varianz	0,1	0,5	1,4

Tabelle 19: Präzision der Messung der Konzentration an anorganischem Arsen mit der Hydridtechnik, geordnet nach Matrizes

	anorganisches Arsen		
	Fisch (mg/kg)	**Urin (µg/l)**	**Blut (µg/l)**
Anzahl der Aufschlüsse	7	7	7
Minimum	765	38	12
Maximum	900	42	14
Median	846	41	14
Mittelwert	835	41	13
Standardfehler des Mittelwertes	16	0,4	0,3
Standardabweichung	43	1,2	0,8
Varianz	1817,1	1,4	0,6

Tabelle 20: Präzision der Messung der Konzentration an MMA und DMA im Urin mittels GC/MS

	Urin	
	MMA (ng/µl)	**DMA (ng/µl)**
Anzahl der Aufschlüsse	7	7
Minimum	0,105	0,017
Maximum	0,12	0,018
Median	0,11	0,017
Mittelwert	0,11	0,017
Standardfehler des Mittelwertes	0,002	0
Standardabweichung	0,005	0
Varianz	0	0

11.10.3 Reproduzierbarkeit

Um die Reproduzierbarkeit zu überprüfen, wurden bei jedem Aufschluss zwei Aliquote eines Referenzmaterials aufgeschlossen und gemessen.

Tabelle 21: Reproduzierbarkeit der Methode für Gesamtarsen mittels Druckaufschluss nach Tölg, geordnet nach Matrizes

	Gesamtarsen		
	Fisch (mg/kg)	**Urin (µg/l)**	**Blut (µg/l)**
Anzahl der Aufschlüsse	10	10	10
Minimum	3,8	33,2	12,6
Maximum	4,2	37,6	14,6
Median	4	35,6	13,4
Mittelwert	4	35,2	13,4
Standardfehler des Mittelwertes	0,05	0,48	0,2
Standardabweichung	0,14	1,52	0,64
Varianz	0,02	1,65	0,2

Tabelle 22: Reproduzierbarkeit der Methode für Gesamtarsen mittels mikrowellenunterstütztem Druckaufschluss, geordnet nach Matrizes

	Gesamtarsen	
	Fisch (mg/kg)	**Urin (µg/l)**
Anzahl der Aufschlüsse	10	10
Minimum	3,7	24
Maximum	4,4	31
Median	4	29
Mittelwert	4	28
Standardfehler des Mittelwertes	0,08	0,77
Standardabweichung	0,27	2,5
Varianz	0,07	0,55

Tabelle 23: Reproduzierbarkeit der Methode für anorganisches Arsen mittels Druckaufschluss nach Tölg, geordnet nach Matrizes

	anorganisches Arsen		
	Fisch (mg/kg)	**Urin (µg/l)**	**Blut (µg/l)**
Anzahl der Aufschlüsse	7	7	7
Minimum	792	34	12
Maximum	870	43	13
Median	846	42	13
Mittelwert	840	40	12
Standardfehler des Mittelwertes	9,4	1,2	0,24
Standardabweichung	25	3,1	0,63
Varianz	616	9,3	0,4

Tabelle 24: Reproduzierbarkeit der Methode zur Messung der Konzentration an MMA und DMA im Urin mittels GC/MS

	Urin	
	MMA (ng/µl)	**DMA (ng/µl)**
Anzahl der Aufschlüsse	7	7
Minimum	0,1	0,02
Maximum	0,11	0,02
Median	0,11	0,02
Mittelwert	0,10	0,02
Standardfehler des Mittelwertes	0	0
Standardabweichung	0	0
Varianz	0	0

11.10.4 Wiederfindung

Arsen-verbindung	Matrix	Aufschluss-methode	Referenzwert	Kontrollbereich des Referenzwertes	gemessener Wert	Wiederfindung in %
Gesamtarsen	Urin	Tölg	39 µg/l	32 - 46 µg/l	34 µg/l	87 %
Gesamtarsen	Urin	Mikrowelle	39 µg/l	32 - 46 µg/l	30 µg/l	77 %
Gesamtarsen	Blut	Tölg	13,2 µg/l	11,9 - 14,5 µg/l	13 µg/l	99 %
Gesamtarsen	Fisch	Tölg	4,8 mg/kg	-	4,1 mg/kg	85 %
Gesamtarsen	Fisch	Mikrowelle	4,8 mg/kg	-	4 mg/kg	83 %
Anorg. Arsen	Urin	Tölg	41 µg/l	31 - 51 µg/l	40 µg/l	98 %
Anorg. Arsen	Blut	Tölg	13,2 µg/l	11,9 - 14,5 µg/l	13 µg/l	99 %
Anorg. Arsen	Fisch	Tölg	0,9 mg/kg	-	0,85 mg/kg	94%
DMA	Urin		0,02 ng/µl	-	0,02 ng/µl	100%
MMA	Urin		0,14 ng/µl	-	0,13 ng/µl	93 %

11.10.5 Nachweisgrenze

Die Nachweisgrenze wurde über das doppelte Signalrauschverhältnis von Messwerten aus Blindaufschlüssen (Aufschlüsse nur mit Säure; keine Probe) ermittelt.

Die Nachweisgrenze für Arsen lag mit der Graphitrohrofentechnik bei 0,8 µg/l, mit der Hydridtechnik bei 0,15 µg/l.

Die Nachweisgrenze für Monomethylarsonsäure lag bei 0,05 ng/µl, für Dimethylarsinsäure bei 0,01 ng/µl.

11.10.6 Richtigkeit

Zur Überprüfung der Richtigkeit für Arsen im Urin nimmt das Institut regelmäßig erfolgreich an offiziellen Ringversuchen für arbeitsmedizinisch-toxikologische Analysen teil. Zusätzlich wurde zu jeder Messreihe Referenzmaterial mit aufgeschlossen und analysiert. Daraus wurde der Mittelwert errechnet und in Bezug zu dem vom Hersteller angegebenen Wert gesetzt. Der Wert der Wiederfindung wird in Kapitel 11.10.4 prozentual angegeben. Die Richtigkeit konnte über die Wiederfindung abgeschätzt werden.

11.11 Statistische Auswertungen

Die statistischen Auswertungen wurden zusammen mit Herrn Sommerfeld aus dem Referat 107 „Datenmanagement und Datenanalyse“ des Bundesamtes für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit in Berlin durchgeführt.
Bei allen Berechnungen wurde von einer nicht parametrischen Verteilung der Messwerte ausgegangen. Hierbei handelt es sich um verteilungsfreie Tests, die keine bestimmte Verteilungsform voraussetzen.
Unterschiede der Messwerte in rohem und gebratenem Fischfilet wurden anhand des Wilcoxon-Tests geprüft.
Zur Prüfung von Korrelationen zwischen den Gehalten an Gesamtarsen und anorganischem Arsen in Blut und Urin und dem Geschlecht wurde der Mann-Whitney-U-Test für zwei unabhängige Stichproben angewendet. Zur Prüfung von Korrelationen zwischen den Arsengehalten in Blut und Urin und dem Alter und BMI wurde der Kruskal-Wallis-Test für drei unabhängige Stichproben eingesetzt. Für die Fälle, in denen dieser Test signifikante Unterschiede ausgewiesen hat, wurde ein paarweises Testen der Gruppen mit dem Mann-Whitney-U-Test angewendet, um festzustellen, zwischen welchen Gruppen der Unterschied besteht (SACHS, 2006).
Alle Berechnungen wurden mit dem Programm SPSS durchgeführt.

12 Ergebnisse zum Arsen

Allgemeines zur Auswertung

Bei der statistischen Auswertung wurde aufgrund der geringen Probenzahl bei allen Beobachtungen ein nicht-parametrischer Test verwendet. Dies bedeutet, dass verteilungsfreie Tests angewendet werden, bei denen die Verteilungsform keine Rolle spielt (WEISS, 2005).

Um eine präzise Auswertung der Messwerte zu ermöglichen, wurden die wichtigsten statistischen Werte für Urin und Blut nach Alters- und BMI-Klassen sowie nach Geschlecht getrennt dargestellt.

Für Urin

Häufigkeiten für Geschlecht, Altersklassen, BMI-Klassen

Geschlecht

		Häufigkeit	Prozent
Gültig	weiblich	23	68
	männlich	11	32
	Summe	34	100

Altersklassen (AK)

		Häufigkeit	Prozent
Gültig	AK < 30 Jahre	17	50
	AK 30 - 59 Jahre	7	21
	AK >= 60 Jahre	10	29
	Summe	34	100

BMI-Klassen (BMIK)

		Häufigkeit	Prozent
Gültig	BMIK	18	53

	< 25		
	BMIK 25 bis 30	9	26
	BMIK >= 30	7	21
	Summe	34	100

Für Blut

Häufigkeiten für Geschlecht, Altersklassen, BMI-Klassen

Geschlecht

		Häufigkeit	Prozent
Gültig	weiblich	13	65
	männlich	7	35
	Summe	20	100

Altersklassen (AK)

		Häufigkeit	Prozent
Gültig	AK < 30 Jahre	3	15
	AK 30 - 59 Jahre	7	35
	AK >= 60 Jahre	10	50
	Summe	20	100

BMI-Klassen (BMIK)

		Häufigkeit	Prozent
Gültig	BMIK < 25	8	40
	BMIK 25 bis 30	6	30
	BMIK >= 30	6	30
	Summe	20	100

Das Signifikanz-Niveau wurde bei diesen Tests entsprechend der Bonferroni-Korrektur auf 0,05/3 = 0,0167 festgesetzt.

12.1 Vergleich der Aufschlussmethoden

Für den Vergleich der beiden Aufschlussmethoden wurden jeweils 10 Aliquote einer Urinprobe mit bekanntem Arsengehalt und einer festgelegten Menge an Arsenstandard mit dem Druckaufschluss nach Tölg und mit dem mikrowellenunterstützem Druckaufschluss aufgeschlossen und mittels Graphitrohrtechnik gemessen. Die ermittelten Wiederfindungswerte für die beiden Aufschlussmethoden sind in Abbildung 17 dargestellt.

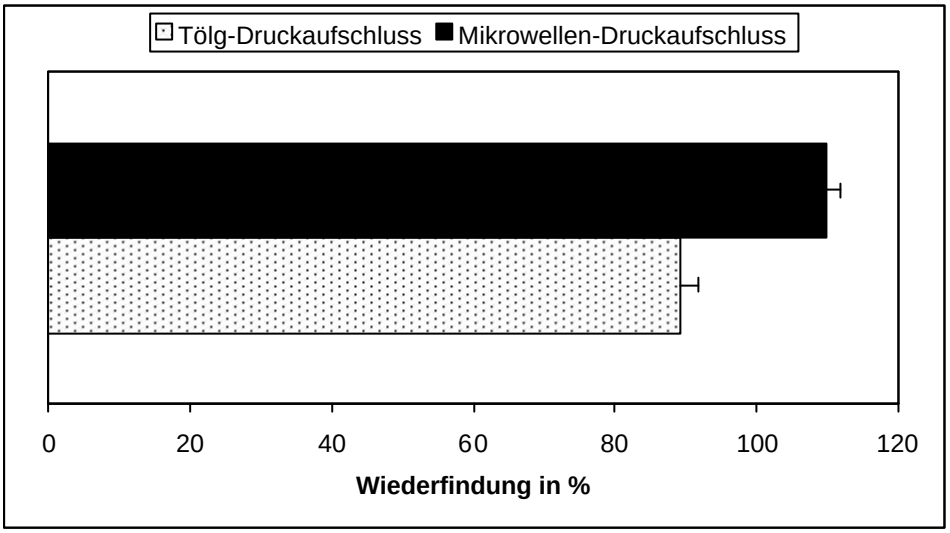


Abbildung 17: Darstellung der Wiederfindung für den Druckaufschluss nach Tölg und den mikrowellenunterstütztem Druckaufschluss

Es konnten beim Druckaufschluss nach Tölg und beim mikrowellenunterstütztem Druckaufschluss gute bis sehr gute Wiederfindungsraten erreicht werden. Aufgrund der schnelleren Durchführung wurden in dieser Arbeit die zu untersuchenden Proben für die Messungen mit der Graphitrohrtechnik mittels mikrowellenunterstüztem Druckaufschluss durchgeführt. Der mikrowellenunterstützte Druckaufschluss konnte nicht für den Aufschluss der anorganisch gebundenen Arsenverbindungen benutzt werden, da bei der Messung mittels Hydrid-Technik bereits im Leerwert Arsenkonzentrationen nachgewiesen werden konnten. Kontaminationen der Probengefäße und anderer verwendeter Reagenzien konnte ausgeschlossen werden.

12.2 Ergebnisse zu Arsen im Fisch

Bei 21 Fischproben wurden zunächst Gesamtarsenkonzentrationen sowie Konzentrationen an anorganischem Arsen im rohen und gebratenen Fisch miteinander verglichen.

In Tabelle 25 sind die in rohem und gebratenem Fisch nachgewiesenen Gesamtarsenkonzentrationen zusammengefasst. Die Tabelle zeigt, dass im rohen Fisch höhere Konzentrationen an mg Gesamtarsen/kg Frischgewicht (FG) nachgewiesen wurden.

Tabelle 25: Vergleich der Konzentrationen an Gesamtarsen in rohem und gebratenem Fisch. Alle Angaben in mg/kg Frischgewicht. FG = Frischgewicht

	Gesamtarsen mg/kg FG	
	roh	**gebraten**
Summe	21	21
Minimum	0,71	0,32
Maximum	1,62	1,31
Mittelwert	1,11	0,82
Standardfehler des Mittelwertes	0,06	0,06
Median	1,05	0,84
Standardabweichung	0,28	0,27

Abbildung 18 zeigt, dass in rohem Fisch (0,71 - 1,62 mg/kg) höhere Konzentrationen an Gesamtarsen mg/kg Frischgewicht nachgewiesen wurden als in gebratenem Fisch (0,32 – 1,31 mg/kg). Durch die Anwendung des Wilcoxon-Tests konnte für die Konzentrationen an Gesamtarsen nach der Zubereitung eine signifikante Abnahme nachgewiesen werden.

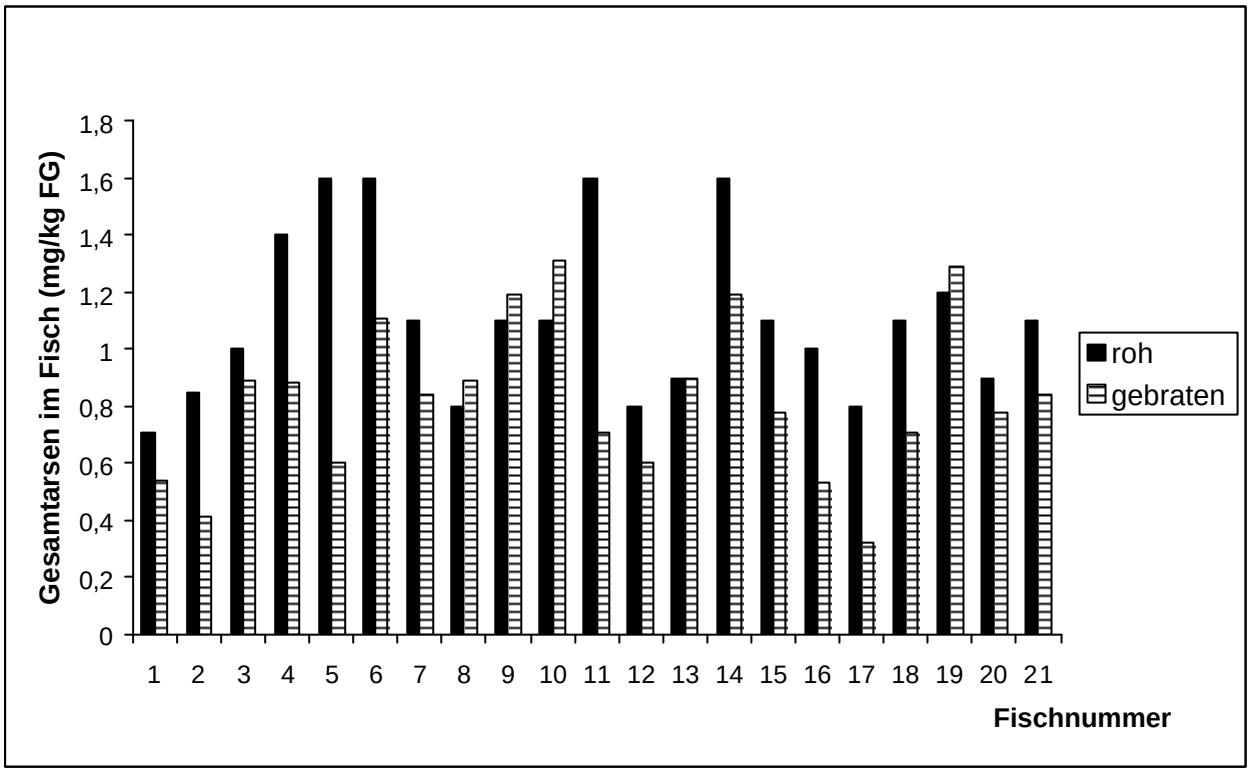


Abbildung 18: Vergleich der Gehalte an Gesamtarsen in mg/kg Frischgewicht (FG) in roher und gebratener Scholle, Fischnummer = Probandennummer

Die prozentuale Abnahme durch das Braten für die einzelnen Fische liegt im Mittel bei 30 %. Es wurden lediglich die Fischproben der Probanden 1 bis 21 untersucht. Für die weiteren Fischproben wurde dies nicht überprüft.

In Tabelle 26 sind die in rohem und gebratenem Fisch nachgewiesenen Konzentrationen an anorganischem Arsen zusammengefasst. Die Tabelle zeigt, dass im rohen Fisch höhere Konzentrationen an Gesamtarsen mg/kg Frischgewicht gemessen wurden.

Tabelle 26: Vergleich der Konzentrationen an anorganischem Arsen in rohem und gebratenem Fisch. Alle Angaben in mg/kg Frischgewicht. FG = Frischgewicht

	Anorganisches Arsen (mg/kg FG)	
	roh	**gebraten**
Summe	21	21
Minimum	0,02	0,01
Maximum	0,06	0,06
Mittelwert	0,04	0,02
Standardfehler des Mittelwertes	-	-
Median	0,04	0,02
Standardabweichung	0,01	0,01

Abbildung 19 veranschaulicht, dass in rohem Fisch (0,02 – 0,06 mg/kg) höhere Konzentrationen an anorganischem Arsen vorkommen als in gebratenem Fisch (0,01 – 0,06 mg/kg). Anhand des Wilcoxon-Tests konnte eine signifikante Abnahme der Konzentration an anorganisch gebundenem Arsen nach der Zubereitung nachgewiesen werden.

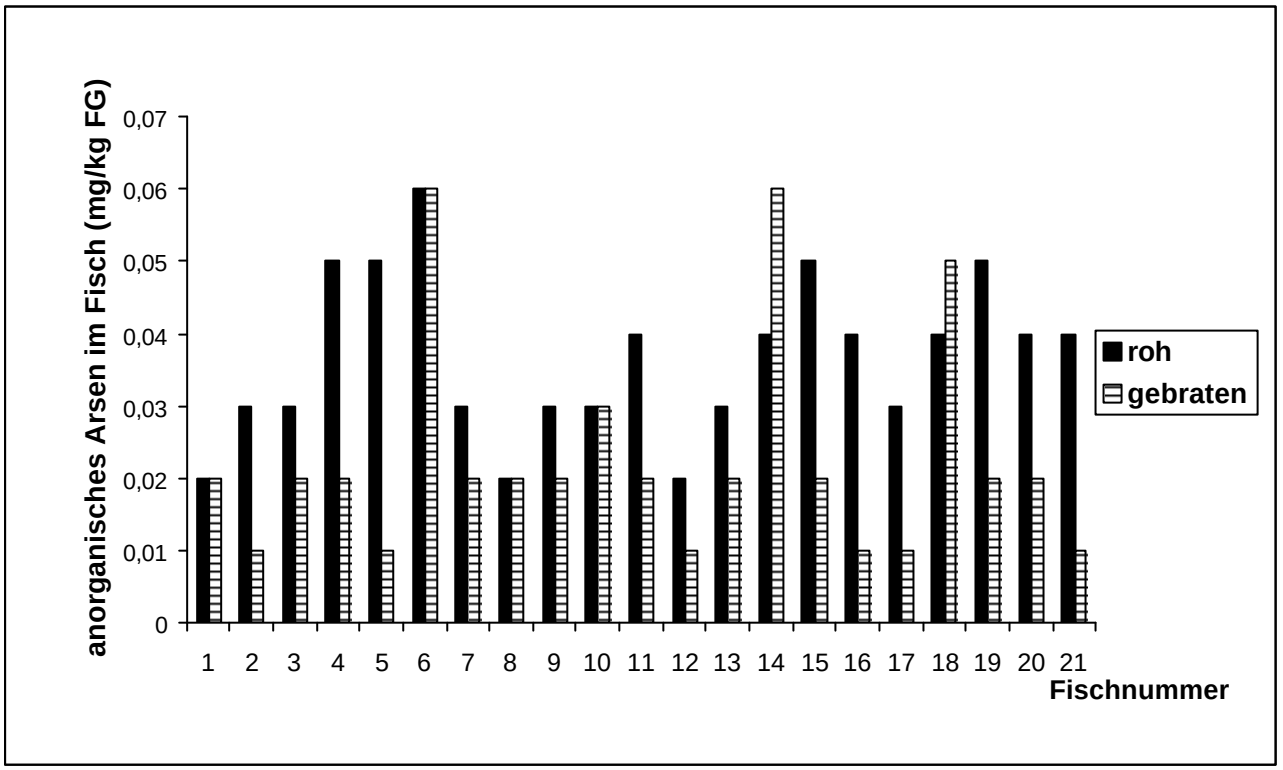


Abbildung 19: Vergleich der Gehalte an anorganischem Arsen in rohem und gebratenem Fisch. Alle Angaben in mg/kg Frischgewicht. FG = Frischgewicht; Fischnummer = Probandennummer

Bei den Untersuchungen des Fisches wird deutlich, dass roher Fisch überwiegend höhere Konzentrationen an Gesamtarsen und anorganischem Arsen enthält als gebratener Fisch.

Die prozentuale Abnahme durch das Braten für die einzelnen Fische liegt im Mittel bei 43 %. Es wurden nur die Fischproben der Probanden 1 bis 21 untersucht. Für die weiteren Fischproben wurde dies nicht überprüft.

12.3 Ergebnisse zu Arsen im Urin

Tabelle 27 fasst die in den Urinproben der Versuchspersonen vor und nach der Fischmahlzeit zu verschiedenen Zeiten nachgewiesenen Gesamtarsenmengen zusammen. Aus den Werten der einzelnen Probanden wurden Minimum, Maximum, Mittelwert, Standardfehler des Mittelwertes, Median, Standardabweichung und Spannweite ermittelt.

Tabelle 27: Darstellung der Gesamtarsenkonzentrationen im Urin nach der Fischmahlzeit in µg/l; n.n. = nicht nachweisbar

Zeit in Stunden	**0**	**24**	**48**	**72**
Minimum	n.n.	21	6,3	2,4
Maximum	n.n.	386	146	84
Mittelwert	n.n.	113	34	17
Standardfehler des Mittelwertes	n.n.	16	4,7	2,5
Median	n.n.	73	26	13
Standardabweichung	n.n.	93	27	14
Spannweite	n.n.	365	140	81

In Tabelle 27 ist eine zusammgenfasste Betrachtung der Gesamtarsenkonzentrationen im Urin nach der Fischmahlzeit dargestellt. Die Werte für die einzelnen Probanden befinden sich im Anhang.

Es wird deutlich, dass 24 h nach der Fischmahlzeit die höchsten absoluten Gesamtarsengehalte nachgewiesen wurden und ein Großteil bereits nach 72 h renal ausgeschieden worden ist (Abbildung 20).

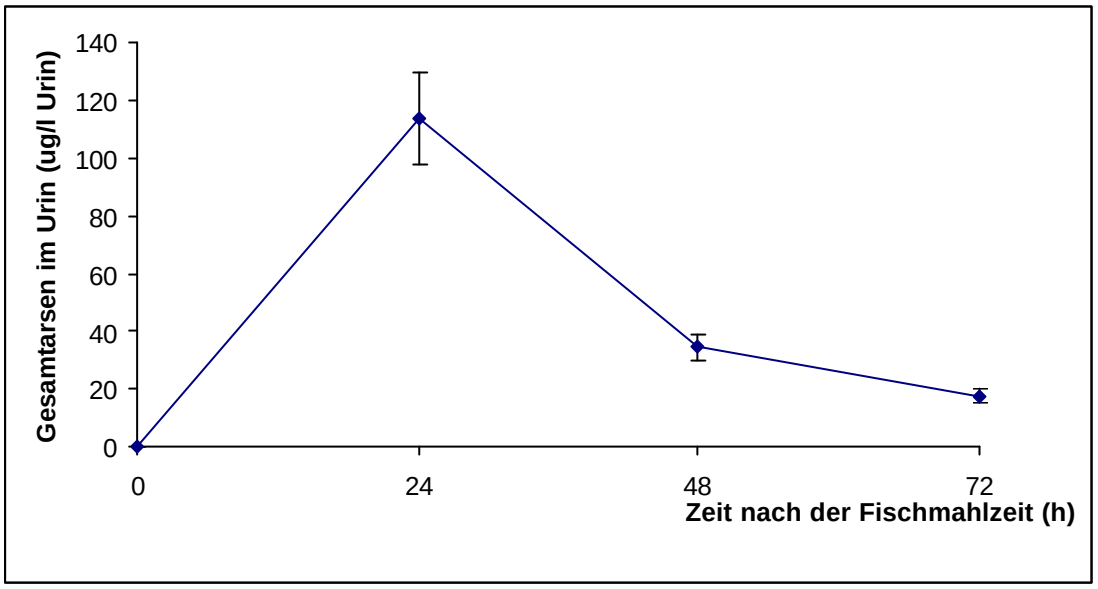


Abbildung 20: Gesamtarsengehalte im Urin in µg/l nach der Fischmahlzeit, Zeitpunkt 0 = vor Fischverzehr. Angegeben sind die Mittelwerte aller gewerteten Probanden und die Standardfehler des Mittelwertes

Tabelle 28 zeigt die nach der Fischmahlzeit ausgeschiedenen anorganischen Arsenkonzentrationen. Hierbei handelt es sich um eine zusammengefasste Betrachtung. Die Werte der einzelnen Probanden befinden sich im Anhang.

Tabelle 28: Darstellung der anorganischen Arsenkonzentrationen im Urin in µg/l nach der Fischmahlzeit; n.n. = nicht nachweisbar

Zeit in Stunden	**0**	**24**	**48**	**72**
Minimum	n.n.	1,8	n.n.	n.n.
Maximum	10	33	11	6,6
Mittelwert	0,92	9,3	3,8	1,4
Standardfehler des Mittelwertes	0,39	1,1	0,4	0,29
Median	n.n.	8,2	3,8	1,3
Standardabweichung	2,3	6,3	2,4	1,7
Spannweite	10	31	11	6,6

In Abbildung 21 werden die ausgeschiedenen anorganischen Arsenkonzentrationen vor und nach der Fischmahlzeit dargestellt.

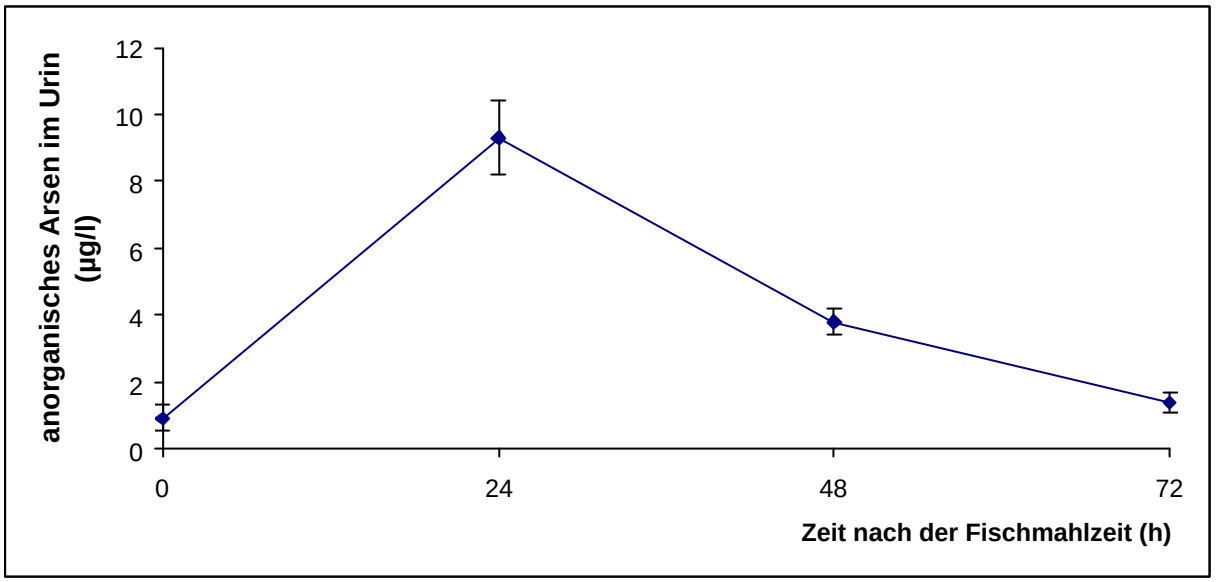


Abbildung 21: Konzentrationen an anorganischem Arsen im Urin in µg/l nach der Fischmahlzeit, Zeitpunkt 0 = vor der Fischmahlzeit. Angegeben sind die Mittelwerte aller gewerteten Probanden und Standardfehler des Mittelwertes

12.4 Ergebnisse zu Arsen im Blut

Die im Blut der Versuchspersonen nachgwiesenen Gesamtarsengehalte werden in Tabelle 29 zusammengefasst.

Tabelle 29: Gesamtarsengehalte im Blut in µg/l nach der Fischmahlzeit, Zeitpunkt 0 = vor der Fischmahlzeit; n.n. = nicht nachweisbar

Zeit in Stunden	**0**	**1**	**2**	**4**	**6**	**8**	**10**	**24**	**48**
Minimum	n.n.	15	35	30	13	10	5	5	2,3
Maximum	n.n.	33	57	49	26	14	12	7,7	3,9
Mittelwert	n.n.	18	42	40	21	12	9,3	6,1	3,2
Standardfehler des Mittelwertes	n.n.	1	1,1	1,3	0,76	0,19	0,29	0,15	0,12
Median	n.n.	16	40	38	20	12	9,4	6,1	3,2
Standardabweichung	n.n.	4,6	4,8	6	3,4	0,86	1,3	0,65	0,53
Spannweite	n.n.	18	22	19	13	3,4	6,6	2,7	1,6

Deutlich zu erkennen ist ein schneller Anstieg von Gesamtarsen im Blut nach dem Fischverzehr. Bereits nach 2 h sind die Höchstwerte erreicht. Die hohen Werte bleiben zunächst konstant, bevor die Gesamtarsenkonzentrationen 6 h nach Fischverzehr schnell abnehmen.

In Abbildung 22 werden die Gesamtarsengehalte im Blut nach der Fischmahlzeit graphisch dargestellt. Bemerkenswert sind der zügige Anstieg der Arsenkonzentration und die dagegen langsam verlaufende Eliminierung aus dem Blut. Nahe zu das gesamte aufgenommene Gesamtarsen ist nach 48 h aus dem Blut verschwunden.

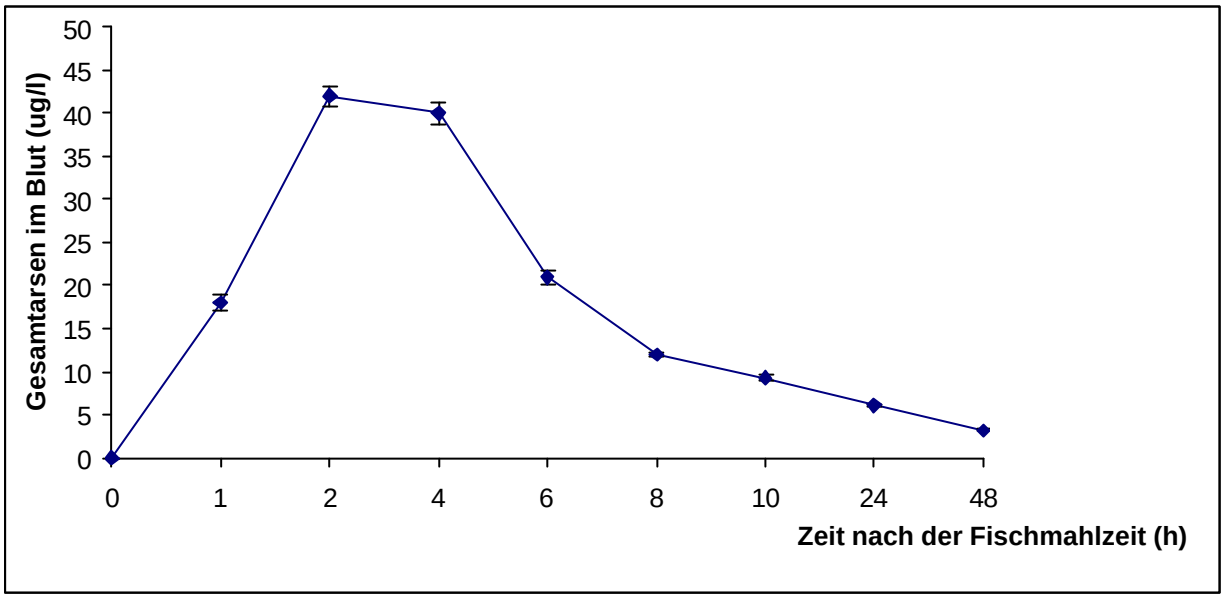


Abbildung 22: Gesamtarsengehalte im Blut in µg/l nach der Fischmahlzeit, Zeitpunkt 0 = vor der Fischmahlzeit. Angegeben sind die Mittelwerte aller gewerteten Probanden und Standardfehler des Mittelwertes

In Tabelle 30 werden die anorganischen Arsengehalte im Blut der Versuchspersonen nach der Fischmahlzeit dargestellt. Auffällig sind dabei die hohen Werte 1 h nach dem Fischverzehr.

Tabelle 30: Anorganische Arsengehalte im Blut in µg/l nach der Fischmahlzeit, Zeitpunkt 0 = vor der Fischmahlzeit; n.n. = nicht nachweisbar

Zeit in Stunden	**0**	**1**	**2**	**4**	**6**	**8**	**10**	**24**	**48**
Minimum	0,09	0,45	0,15	0,09	0,06	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Maximum	19	29	19	13	0,66	0,45	0,6	0,6	0,57
Mittelwert	1,3	15	5,6	1,4	0,32	0,26	0,28	0,31	0,19
Standardfehler des Mittelwertes	0,94	1,4	1,6	0,79	0,04	0,03	0,03	0,04	0,04
Median	0,39	15	0,62	0,33	0,33	0,3	0,3	0,39	0,12
Standardabweichung	4,2	6,2	7,2	3,6	0,16	0,15	0,15	0,18	0,2
Spannweite	19	28	19	13	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6

Abbildung 23 zeigt die Konzentrationen an anorganischem Arsen im Blut der Probanden und Probandinnen nach der Fischmahlzeit. Bereits 1 h nach Fischverzehr konnten im Blut hohe Gehalte an anorganischem Arsen nachgewiesen werden. Nach 48 h konnten nur noch geringe Gehalte gemessen werden.

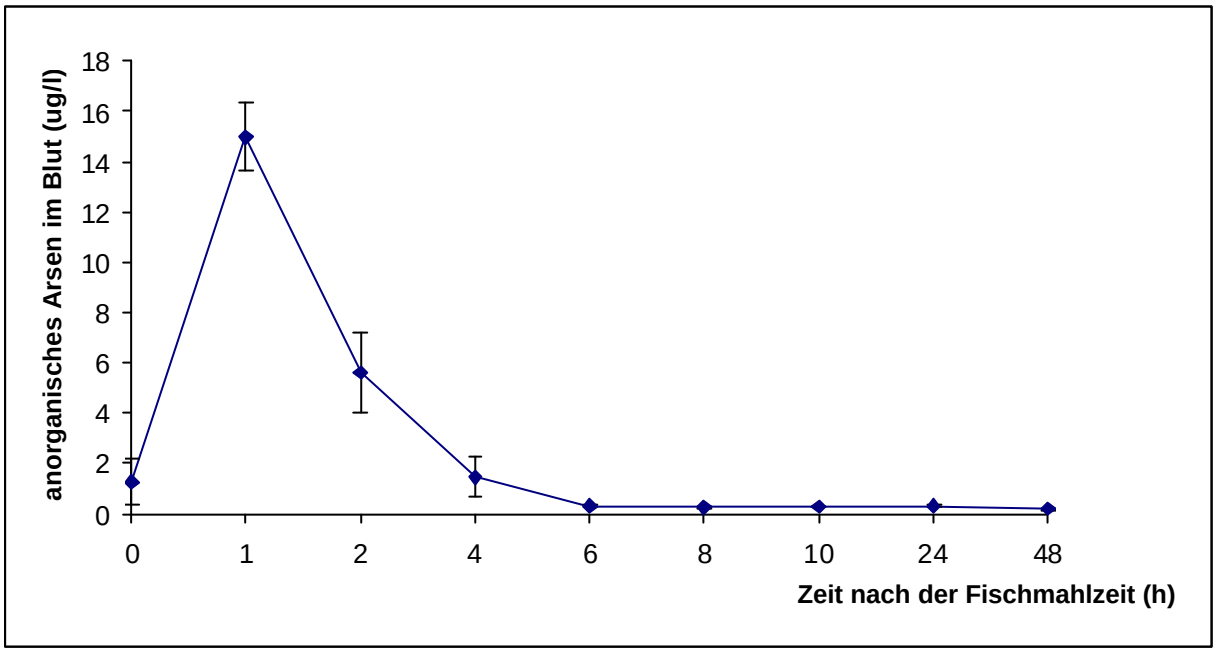


Abbildung 23: Gehalte an anorganischem Arsen im Blut in µg/l nach der Fischmahlzeit, Zeitpunkt 0 = vor der Fischmahlzeit. Angegeben sind die Mittelwerte aller gewerteten Probanden und Standardfehler des Mittelwertes

Weiterhin wurde eine Bilanzierung von aufgenommenem und ausgeschiedenem anorganischem Arsen und Gesamtarsen gemacht. Dabei wurde die ausgeschiedene Arsenmenge in % der aufgenommenen Arsenmenge angegeben (siehe Tabelle 31, 32, 33 und 34).
Dabei wurden jeweils Minimum, Maximum, Median, Mittelwert und Standardabweichung und Standardfehler des Mittelwertes angegeben.

Tabelle 31: Darstellung der aufgenommenen Gesamtarsenmengen und der über den Urin ausgeschiedenen Gesamtarsenmengen zu den jeweiligen Zeitpunkten. Die ausgeschiedenen Mengen sind als Absolutwerte angegeben.

	Gesamtarsen			
Zeit in h nach Fischverzehr		24	24 - 48	48 - 72
	aufgenommene Arsenmenge mit dem Fisch in µg	Gesamte ausgeschiedene Arsenmenge	Gesamte ausgeschiedene Arsenmenge	Gesamte ausgeschiedene Arsenmenge
Minimum	53	21	6,3	2,4
Maximum	996	386	146	84
Median	160	73	26	13
Standard-abweichung	188	93	27	14
Mittelwert	221	113	34	17
Standardfehler des Mittelwertes	32	16	4,7	2,5

Tabelle 32: Darstellung der aufgenommenen Gesamtarsenmengen und der über den Urin ausgeschiedenen Gesamtarsenmengen zu den jeweiligen Zeitpunkten. Die ausgeschiedenen Mengen sind als Prozentwerte der aufgenommenen Mengen angegeben.

	Gesamtarsen			
Zeit in h nach Fischverzehr		24	24 - 48	48 - 72
	aufgenommene Arsenmenge mit dem Fisch in µg	Gesamte ausgeschiedene Arsenmenge in %	Gesamte ausgeschiedene Arsenmenge in %	Gesamte ausgeschiedene Arsenmenge in %
Minimum	53	39	12	4,5
Maximum	996	39	15	8,4
Median	160	45	16	8,1
Standard-abweichung	188	49	14	7,4
Mittelwert	221	51	15	7,7
Standardfehler des Mittelwertes	32	50	15	7,8

Tabelle 33: Darstellung der aufgenommenen anorganischen Arsenmengen und der über den Urin ausgeschiedenen anorganischen Arsenmengen zu den jeweiligen Zeitpunkten. Die ausgeschiedenen Mengen sind als Absolutwerte angegeben

	Anorganisches Arsen			
Zeit in h nach Fischverzehr		24	24 - 48	48 - 72
	aufgenommene anorganische Arsenmenge mit dem Fisch in µg	Gesamte anorganisch ausgeschiedene Arsenmenge	Gesamte anorganisch ausgeschiedene Arsenmenge	Gesamte anorganisch ausgeschiedene Arsenmenge
Minimum	1,3	1,8	n.n.	n.n.
Maximum	28	33	11	6,6
Median	5,4	8,2	3,8	1,3
Standard-abweichung	8,1	6,3	2,4	1,7
Mittelwert	9,2	9,3	3,8	1,4
Standardfehler des Mittelwertes	1,4	1,4	0,4	0,3

Tabelle 34: Darstellung der aufgenommenen anorganischen Arsenmengen und der über den Urin ausgeschiedenen anorganischen Arsenmengen zu den jeweiligen Zeitpunkten. Die ausgeschiedenen Mengen sind als Prozentwerte der aufgenommenen Mengen angegeben

	Anorganisches Arsen			
Zeit in h nach Fischverzehr		24	24 - 48	48 - 72
	aufgenommene Anorganische Arsenmenge mit dem Fisch in µg	Gesamte anorganisch ausgeschiedene Arsenmenge in %	Gesamte anorganisch ausgeschiedene Arsenmenge in %	Gesamte anorganische ausgeschiedene Arsenmenge in %
Minimum	1,3	139	0	0
Maximum	28	118	70	24
Median	5,4	156	39	24
Standard-abweichung	8,1	0	30	21
Mittelwert	9,2	101	41	15
Standardfehler des Mittelwertes	1,4	78	29	21

Auffällig sind die hohen ausgeschiedenen Mengen an anorganischem Arsen nach der Fischmahlzeit. Bei der Betrachtung der prozentualen Werte ist zu erkennen, dass die wiedergefundenen Werte über den mit dem Fisch aufgenommenen anorganischen Arsenmengen liegen.

12.5 Arsenkonzentration / Alter

Das Alter im Kollektiv ist bekannt.
Um eine genauere Auswertung der Messergebnisse vornehmen zu können, wurden die Versuchspersonen in drei Altersklassen (AK) unterteilt:

AK < 30 Jahre
AK 30 – 59 Jahre
AK >= 60 Jahre

12.5.1 Ergebnisse zum Arsen im Urin in Abhängigkeit vom Alter

In Tabelle 35 ist eine Übersicht über die statistischen Testergebnisse der Gesamtarsenkonzentrationen im Urin in Abhängigkeit vom Alter gegeben. Es ist zu erkennen, dass nach Fischverzehr signifikante Unterschiede zwischen einzelnen Altersklassen auftreten.

Tabelle 35: Ergebnisse für die Gesamtarsenkonzentrationen im Urin in Abhängigkeit von verschiedenen Altersklassen; p = Signifikanzniveau; AK = Altersklasse

Zeit nach Fischverzehr (h)	
24	**p = 0** AK 1 < AK 2 Ak 1 < AK 3
48	**p = 0,012** AK 1 > AK 3
72	**p = 0,005** AK 1 > AK 3

Abbildung 24 zeigt Unterschiede bei den Gesamtarsenkonzentrationen im Urin in Abhängigkeit von verschiedenen Altersklassen. Dabei weisen Versuchspersonen der AK < 30 Jahre höhere Gesamtarsenkonzentrationen auf als die Versuchspersonen der anderen beiden Altersklassen.

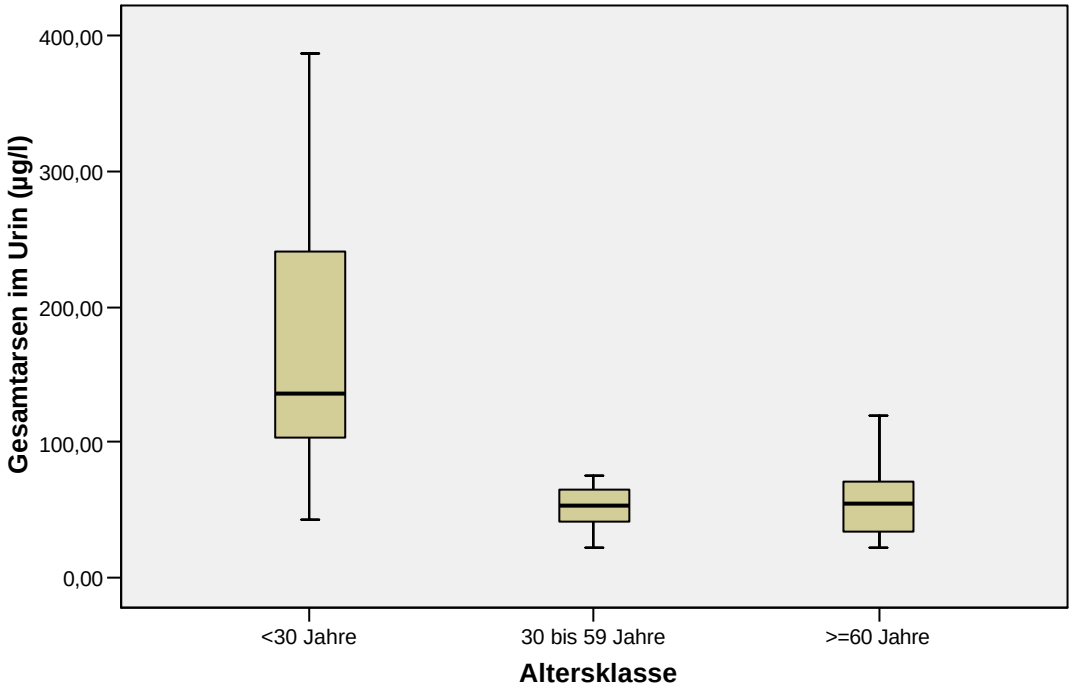


Abbildung 24: Box&Whisker-Blots für die Gesamtarsenkonzentrationen im Urin in µg/l 24 h nach Fischaufnahme in Abhängigkeit von verschiedenen Altersklassen

48 h nach Fischaufnahme sind zwischen der AK < 30 Jahre und AK >= 60 Jahre signifikante Unterschiede zu erkennen. Die Versuchspersonen der AK >= 60 Jahre und der AK 30 – 59 Jahre haben ähnliche Medianwerte. Die Probanden und Probandinnen der AK < 30 Jahre weisen höhere Werte auf, wobei besonders bei Proband 30 erhöhte Werte im Urin ermittelt werden konnten (Abbildung 25).

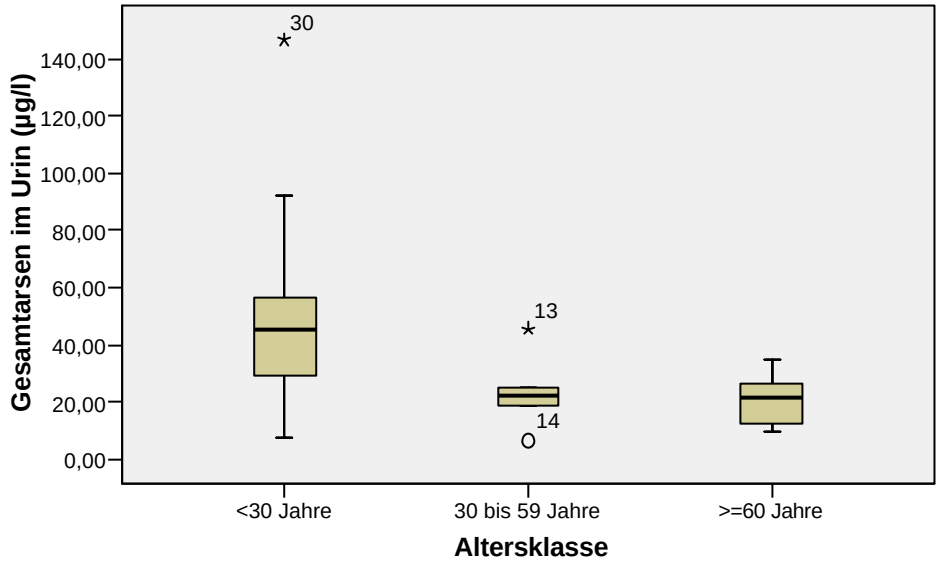


Abbildung 25: Box&Whisker-Blots für die Gesamtarsenkonzentrationen im Urin in µg/l 48 h nach Fischaufnahme in Abhängigkeit von verschiedenen Altersklassen

Die Medianwerte innerhalb der einzelnen Altersklassen differieren 72 h nach der Fischmahlzeit nur in geringem Maße (Abbildung 26). Durch den verwendeten Kruskal-Wallis-Test und einem nachgelagerten Mann-Whitney-U-Test konnten signifikante Unterschiede zwischen der AK < 30 Jahre und AK >= 60 Jahre nachgewiesen werden.

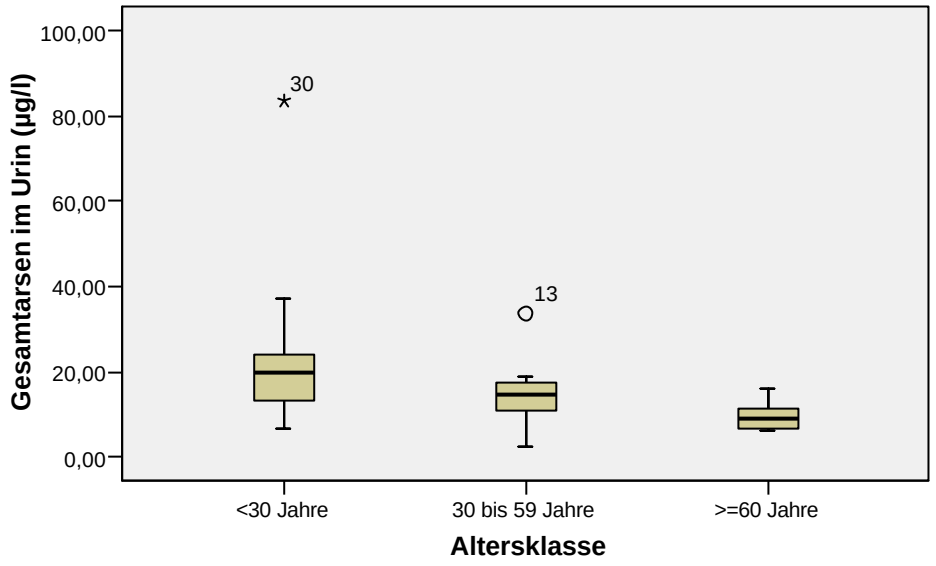


Abbildung 26: Box&Whisker-Blots für die Gesamtarsenkonzentrationen im Urin in µg/l 72 h nach Fischaufnahme in Abhängigkeit von verschiedenen Altersklassen

Aus Tabelle 36 ist zu erkennen, dass die einzelnen Altersklassen sich hinsichtlich der ausgeschiedenen anorganischen Arsenkonzentrationen unterscheiden. Die Probanden und Probandinnen der AK < 30 Jahre scheiden 24 und 72 h nach Versuchsbeginn geringere Mengen aus als Probanden und Probandinnen der anderen beiden Altersklassen. Erst 72 h nach der Fischmahlzeit konnten bei Versuchspersonen der AK < 30 Jahre wesentlich höhere Werte im Urin nachgewiesen werden.

Tabelle 36: Ergebnisse für die anorganischen Arsenkonzentrationen im Urin in Abhängigkeit von verschiedenen Altersklassen; p = Signifikanzniveau; AK = Altersklasse

Zeit nach Fischverzehr (h)	
24	**p = 0** AK 1 < AK 2 AK 1 < AK 3
48	**p = 0,267**
72	**p = 0,002** AK 1 > AK 2 AK 1 > AK 3

Abbildung 27 zeigt, dass innerhalb der AK 30 - 59 Jahre und der AK >= 60 Jahre mehr anorganisches Arsen nachgewiesen werden konnte als in der AK < 30 Jahre.

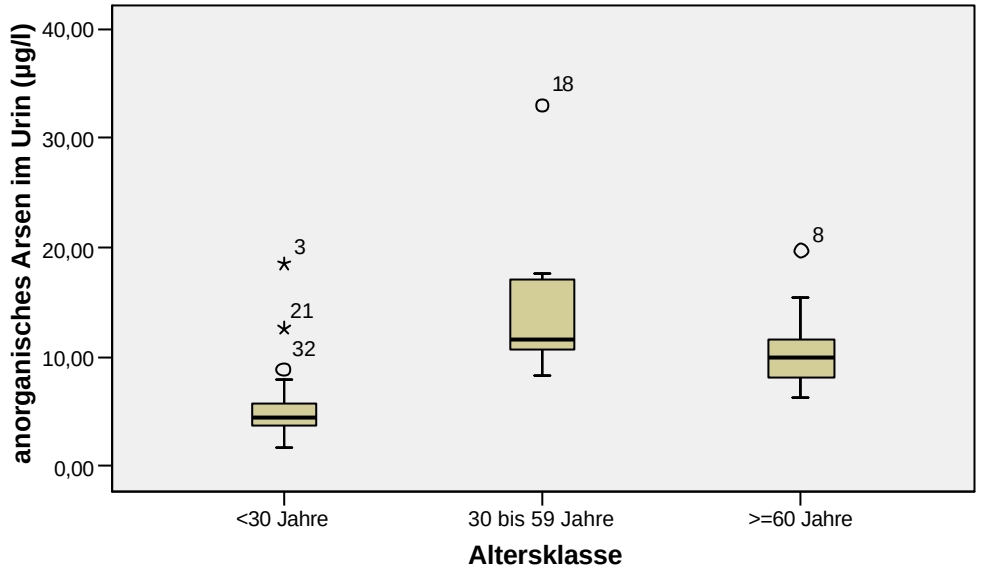


Abbildung 27: Box&Whisker-Blots für die anorganischen Arsenkonzentrationen im Urin in µg/l 24 h nach Fischaufnahme in Abhängigkeit von verschiedenen Altersklassen

AK 30 – 59 Jahre zeigt eine große Spannweite bei der Ausscheidung von anorganischem Arsen 48 h nach Versuchsbeginn im Gegensatz zu AK < 30 Jahre (Abbildung 28). Ein Großteil der gemessenen Werte liegt auf dem Medianwert.

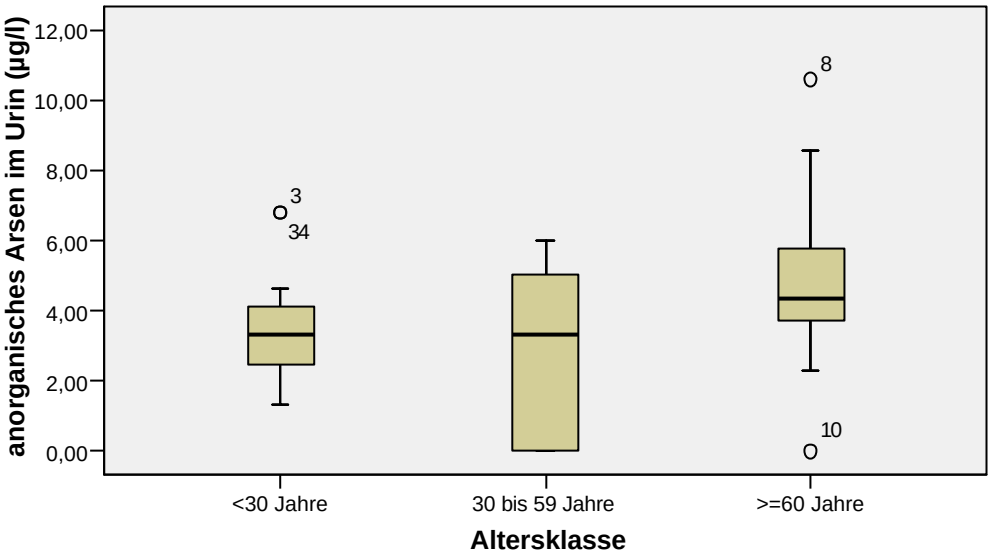


Abbildung 28: Box&Whisker-Blots für die anorganischen Arsenkonzentrationen im Urin in µg/l 48 h nach Fischaufnahme in Abhängigkeit von verschiedenen Altersklassen

In Abbildung 29 sind die in den Urinproben der Versuchspersonen der AK < 30 Jahre nachgewiesenen anorganischen Arsenmengen höher als bei den Versuchspersonen der AK 30 – 59 Jahre und AK >= 60 Jahre.

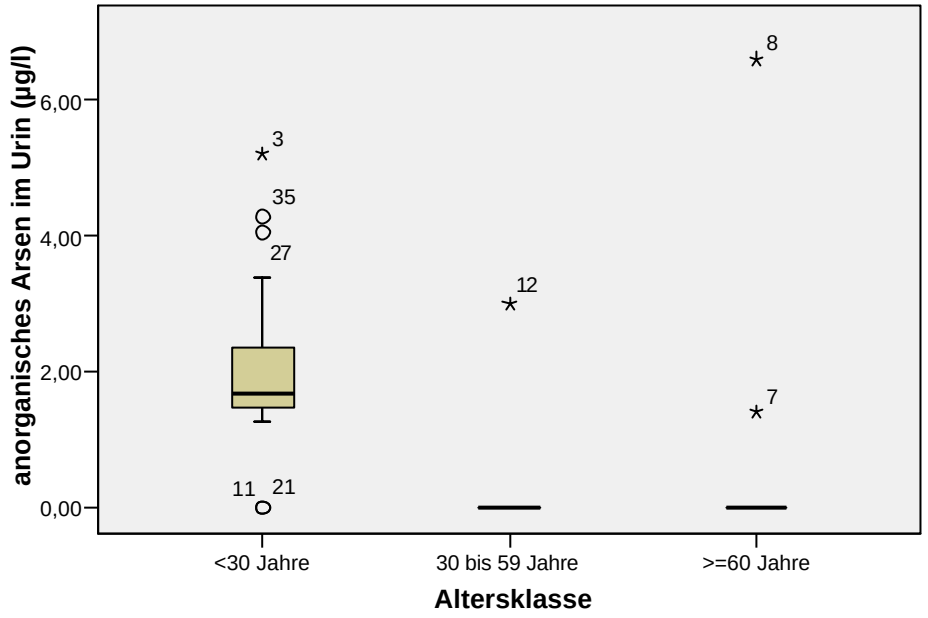


Abbildung 29: Box&Whisker-Blots für die anorganischen Arsenkonzentrationen im Urin in µg/l 72 h nach Fischaufnahme in Abhängigkeit von verschiedenen Altersklassen

12.5.2 Ergebnisse zum Arsen im Blut in Abhängigkeit vom Alter

Bei der Betrachtung der einzelnen Altersklassen konnten bei den Gesamtarsenkonzentrationen im Blut keine Unterschiede gefunden werden. Die Darstellung der Ergebnisse für die Berechnung des Signifikanzniveaus für die Gesamtarsenkonzentrationen im Blut in Abhängigkeit von verschiedenen Altersklassen befindet sich im Anhang (Tabelle 45).

Aus Abbildung 30 ist kein signifikanter Unterschied bei den Gehalten an Gesamtarsen im Blut zwischen den einzelnen Altersklassen ersichtlich.

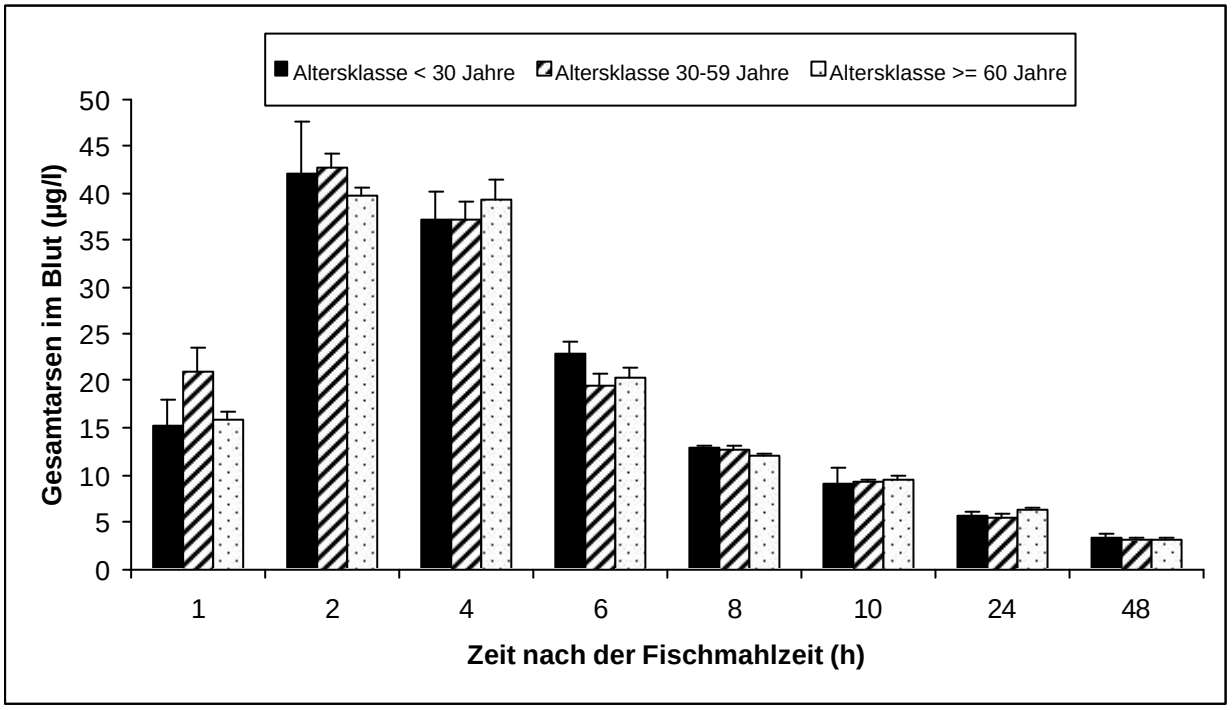


Abbildung 30: Gesamtarsengehalte im Blut in µg/l nach Fischverzehr in Abhängigkeit von verschiedenen Altersklassen. Angegeben sind die Mittelwerte aller gewerteten Probanden und Standardfehler des Mittelwertes

Bei den anorganischen Arsenkonzentrationen ist kein signifikanter Unterschied zwischen den einzelnen Altersklassen festzustellen. Die Darstellung der Ergebnisse für die Berechnung des Signifikanzniveaus für die anorganischen Arsenkonzentrationen im Blut in Abhängigkeit von verschiedenen Altersklassen befindet sich im Anhang (Tabelle 46).

Aus Abbildung 31 geht deutlich hervor, dass 1 h nach Fischverzehr der Gehalt an anorganischem Arsen im Urin zügig ansteigt und wieder abnimmt.

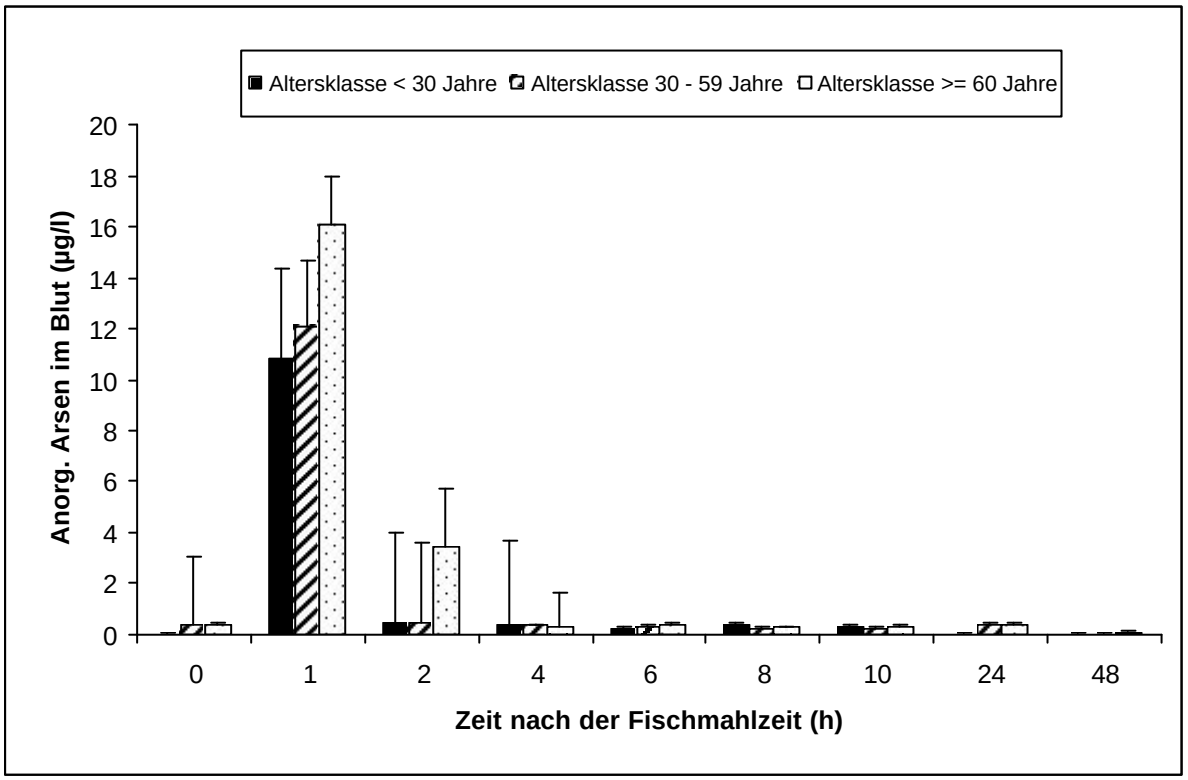


Abbildung 31: Konzentrationen an anorganischem Arsen im Blut in µg/l nach Fischverzehr in Abhängigkeit von verschiedenen Altersklassen. Angegeben sind die Mittelwerte aller gewerteten Probanden und Standardfehler des Mittelwertes

12.6 Arsenkonzentration / Geschlecht

12.6.1 Ergebnisse zum Arsen im Urin in Abhängigkeit vom Geschlecht

Hinsichtlich der Geschlechtsspezifität konnten bei der Anwendung der statistischen Tests keine Unterschiede bei den Gehalten an Gesamtarsen und anorganischem Arsen in Urin und Blut ermittelt werden. Die Darstellung der Ergebnisse für die Berechnung des Signifikanzniveaus für die Gesamtarsenkonzentrationen und anorganischen Arsenkonzentrationen im Urin in Abhängigkeit vom Geschlecht befinden sich im Anhang (Tabelle 47 und 48).

Gesamtarsen konnte 24 h nach Versuchsbeginn bei Frauen und Männern in ähnlichen Mengen nachgewiesen werden (Abbildungen 32 und 33).

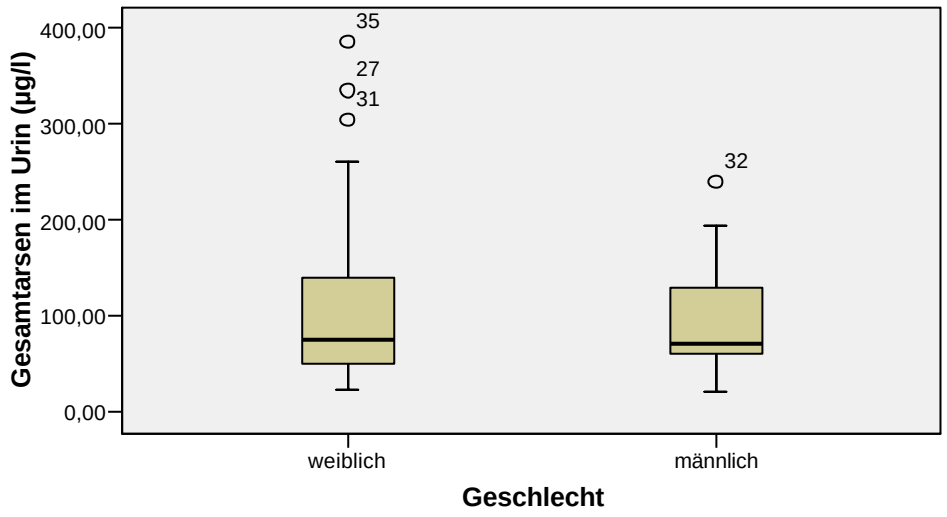


Abbildung 32: Box&Whisker-Blots für die Gesamtarsenkonzentrationen im Urin in µg/l 24 h nach Fischaufnahme in Abhängigkeit vom Geschlecht

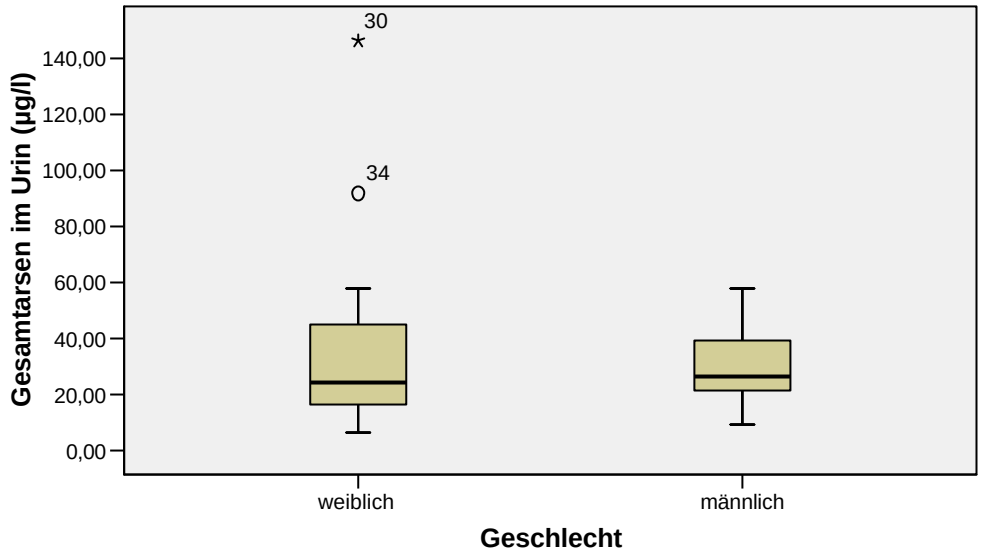


Abbildung 33: Box&Whisker-Blots für die Gesamtarsenkonzentrationen im Urin in µg/l 48 h nach Fischaufnahme in Abhängigkeit vom Geschlecht

Abbildung 34 zeigt, dass auch 72 h nach Versuchsbeginn ähnliche Konzentrationen an Gesamtarsen im Urin von Frauen und Männern beobachtet wurden.

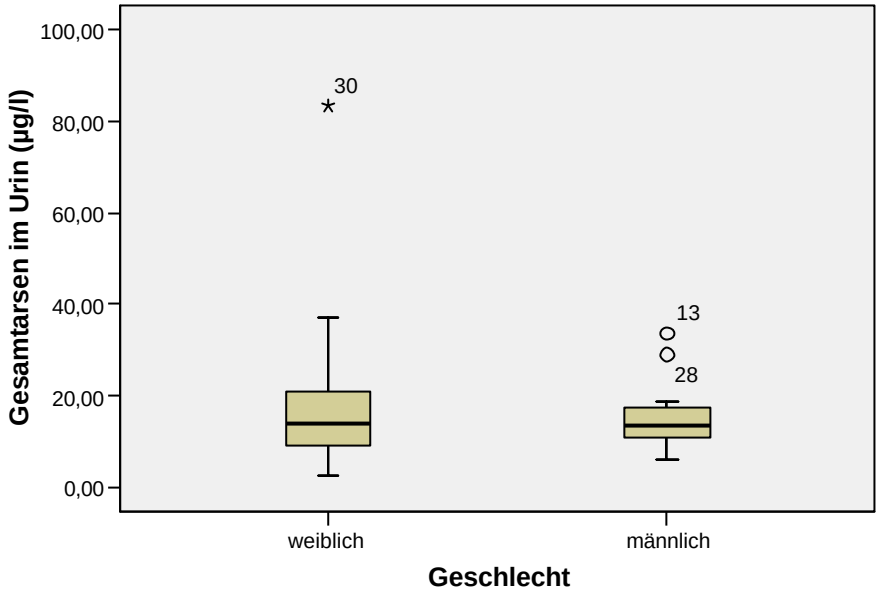


Abbildung 34: Box&Whisker-Blots für die Gesamtarsenkonzentrationen im Urin in µg/l 72 h nach Fischaufnahme in Abhängigkeit vom Geschlecht

Aus den Abbildungen 35, 36 und 37 geht deutlich hervor, dass sich Männer und Frauen bei der renalen Ausschiedung von anorganischem Arsen nur gering unterscheiden.

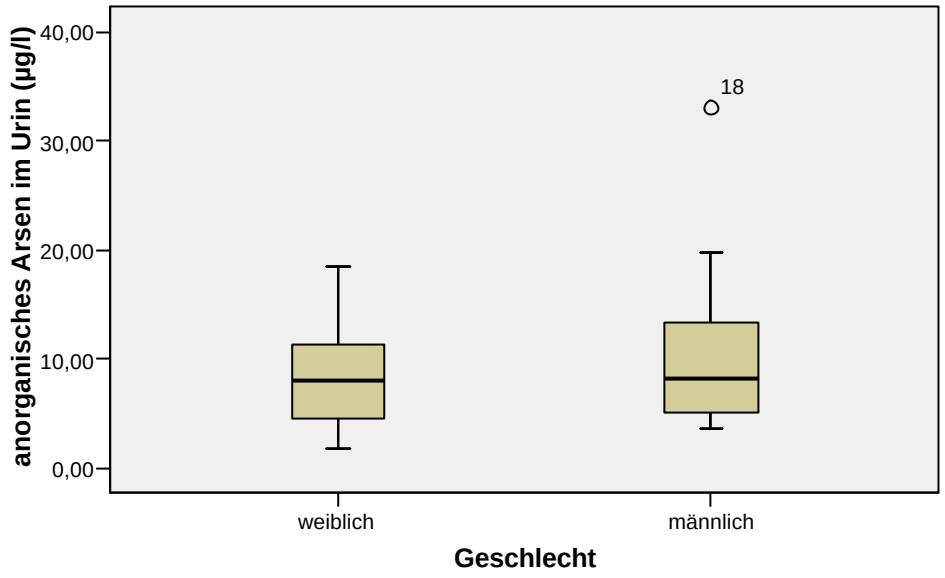


Abbildung 35: Box&Whisker-Blots für die anorganischen Arsenkonzentrationen im Urin in µg/l 24 h nach Fischaufnahme in Abhängigkeit vom Geschlecht

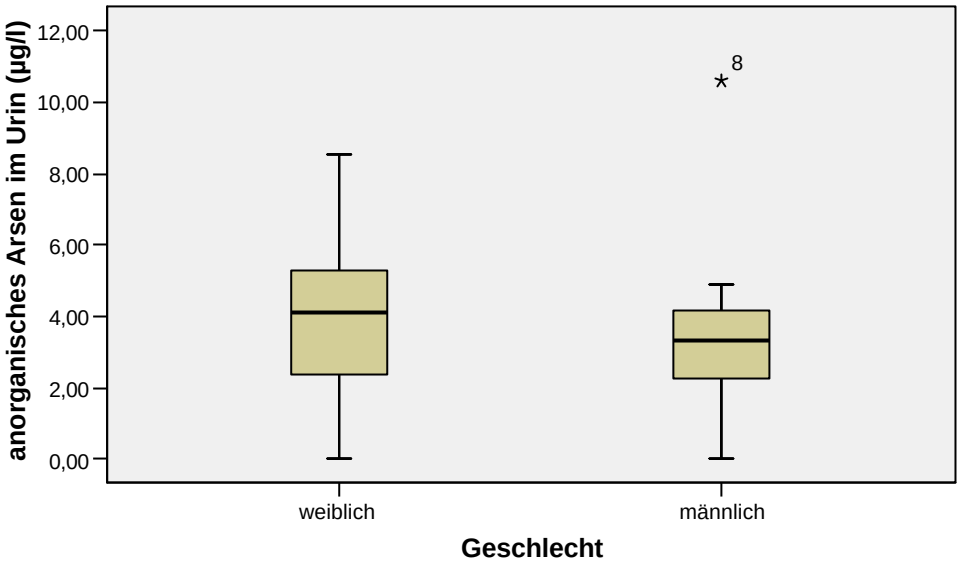


Abbildung 36: Box&Whisker-Blots für die anorganischen Arsenkonzentrationen im Urin in µg/l 48 h nach Fischaufnahme in Abhängigkeit vom Geschlecht

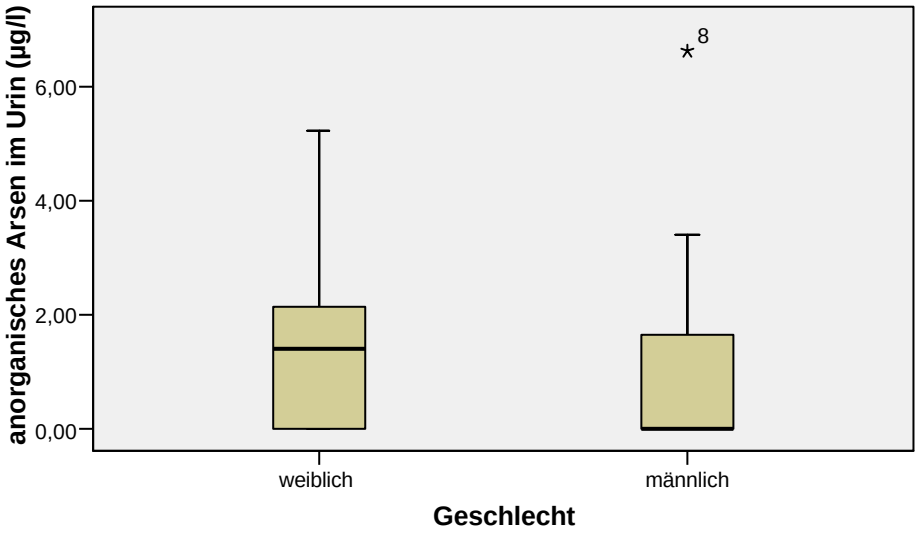


Abbildung 37: Box&Whisker-Blots für die anorganischen Arsenkonzentrationen im Urin in µg/l 72 h nach Fischaufnahme in Abhängigkeit vom Geschlecht

12.6.2 Ergebnisse zum Arsen im Blut in Abhängigkeit vom Geschlecht

Die Kinetik des Gesamtarsens sowie des anorganischen Arsens im Blut wird durch das Geschlecht nicht beeinflusst. Die Darstellung der Ergebnisse für die Berechnung des Signifikanzniveaus für die Gesamtarsenkonzentrationen und anorganischen Arsenkonzentrationen im Blut in Abhängigkeit vom Geschlecht befinden sich im Anhang (Tabelle 49 und 50).

Aus Abbildung 38 wird ersichtlich, dass zwischen Frauen und Männern geringe bis keine Unterschiede in Bezug auf die Gesamtarsengehalte im Blut bestehen.

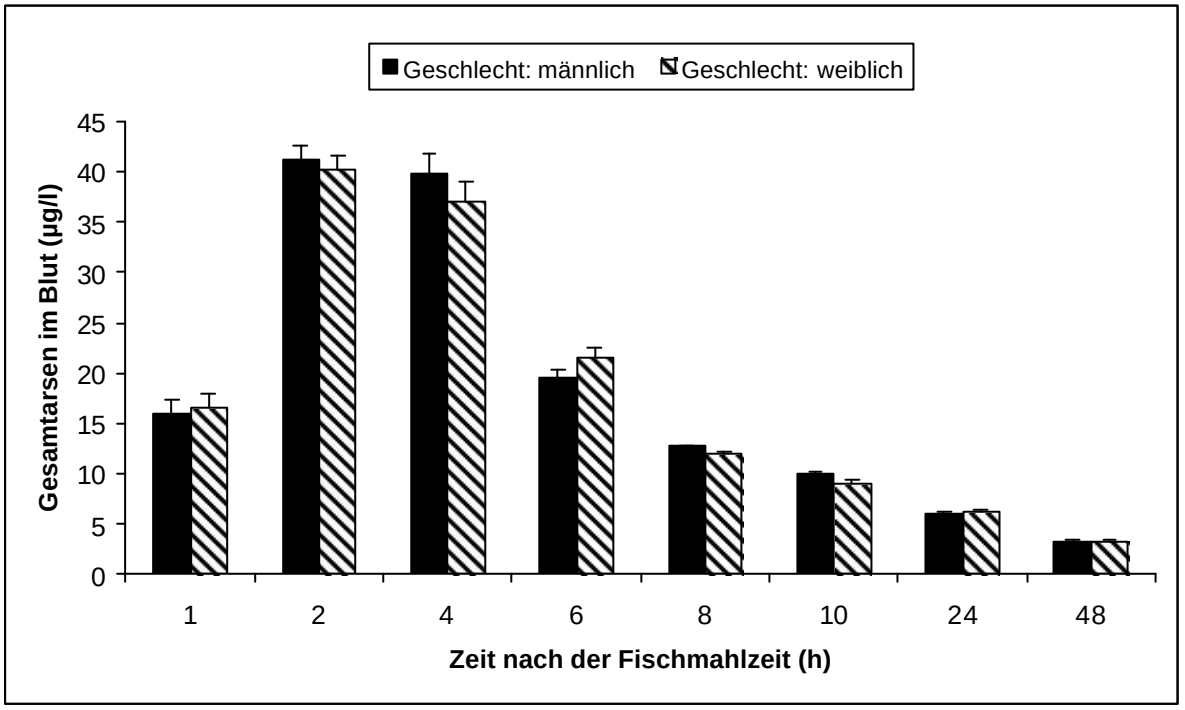


Abbildung 38: Gesamtarsengehalte im Blut in µg/l nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Geschlecht. Angegeben sind die Mittelwerte aller gewerteten Probanden und Standardfehler der Mittelwerte

Wie beim Gesamtarsen sind auch beim anorganischen Arsen nur geringe bis keine Unterschiede zwischen Frauen und Männern nachgewiesen worden.
Auffällig sind jedoch der schnelle Anstieg und die darauffolgende schnelle Abnahme des anorganischen Arsens (Abbildung 39) aus dem Blut der Versuchspersonen.

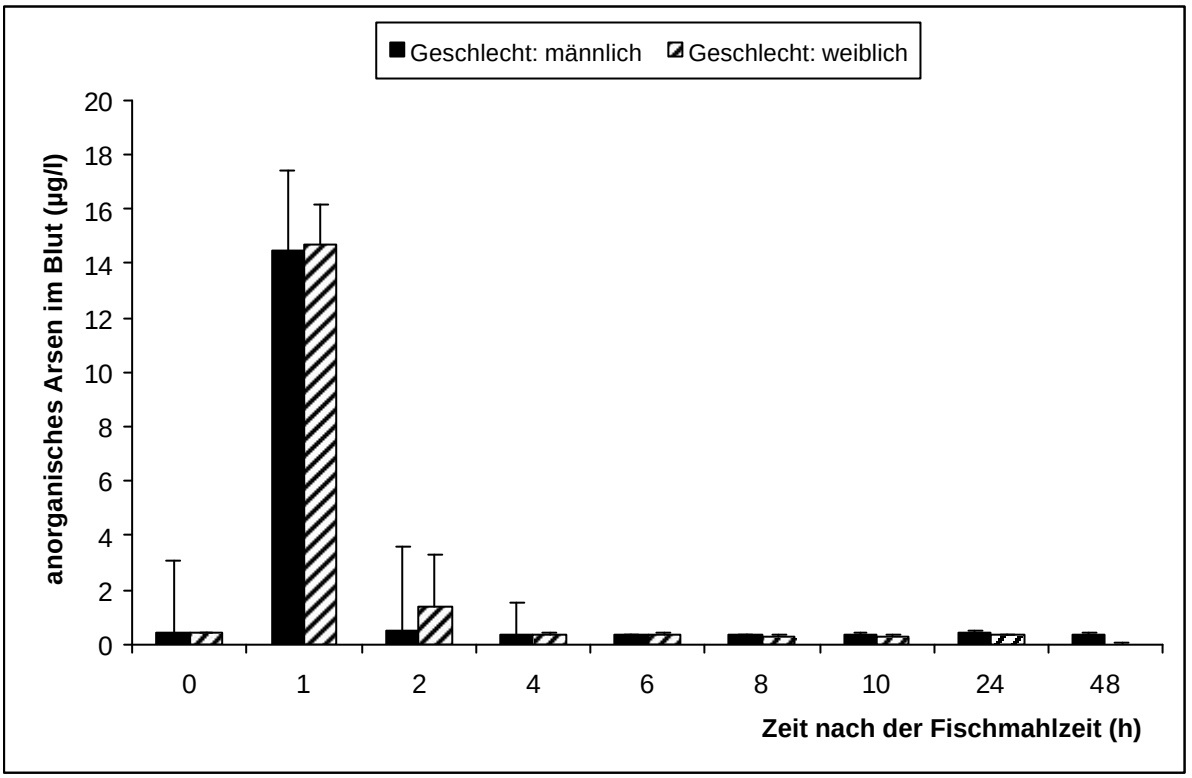


Abbildung 39: Konzentrationen an anorganischem Arsen im Blut in µg/l nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Geschlecht. Angegeben sind die Mittelwerte aller gewerteten Probanden und Standardfehler der Mittelwerte

12.7 Arsenkonzentration / BMI

In dem Kollektiv ist der Body-Mass-Index (BMI) = (Körpergewicht [kg]) / Körpergröße $[m]^2$) der Probanden bekannt. Die Versuchspersonen werden hinsichtlich ihres BMI in drei BMI-Klassen (BMIK) unterteilt:

BMIK < 25
BMIK 25 – 30
BMIK >= 30

12.7.1 Ergebnisse zum Arsen im Urin in Abhängigkeit vom BMI

Zwischen den verschiedenen BMI-Klassen bestehen keine Unterschiede hinsichtlich der Kinetik. Die Darstellung der Ergebnisse für die Berechnung des Signifikanzniveaus für die Gesamtarsenkonzentrationen im Urin in Abhängigkeit vom BMI befindet sich im Anhang (Tabelle 51).

Abbildung 40 zeigt keine Unterschiede zwischen den einzelnen BMI-Klassen. Die Medianwerte differieren nicht sehr stark. Bemerkenswert ist jedoch die große Spannweite der Messergebnisse innerhalb der BMIK >= 30.

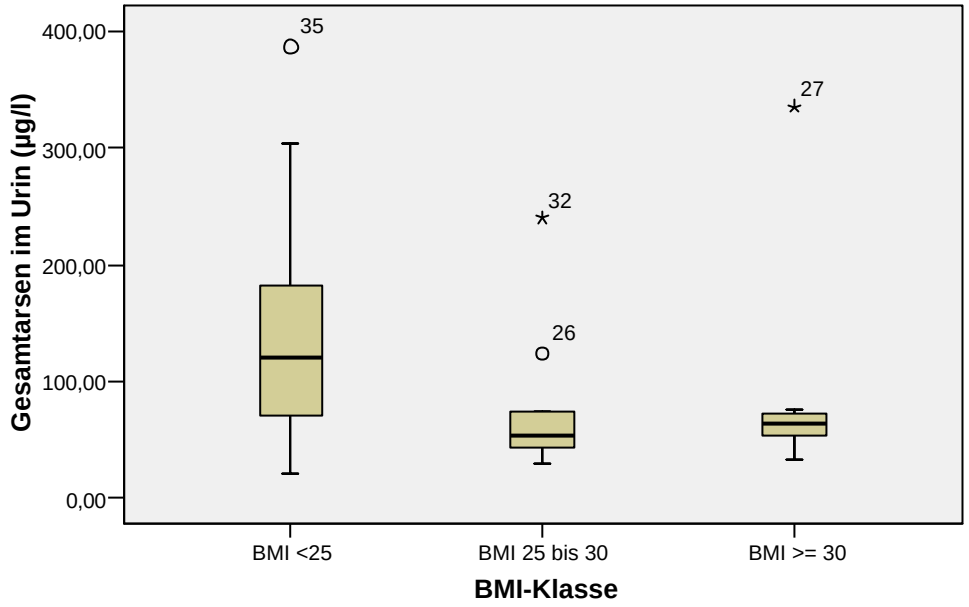


Abbildung 40: Box&Whisker-Blots für die Gesamtarsenkonzentrationen im Urin in µg/l 24 h nach Fischaufnahme in Abhängigkeit von verschiedenen BMI-Klassen

In Abbildung 41 werden die Gesamtarsenkonzentrationen im Urin in µg/l 48 h nach Fischaufnahme in Abhängigkeit von verschiedenen BMI-Klassen dargestellt. Es wird erneut eine große Spannweite bei den Messwerten innerhalb der BMIK < 25 deutlich.

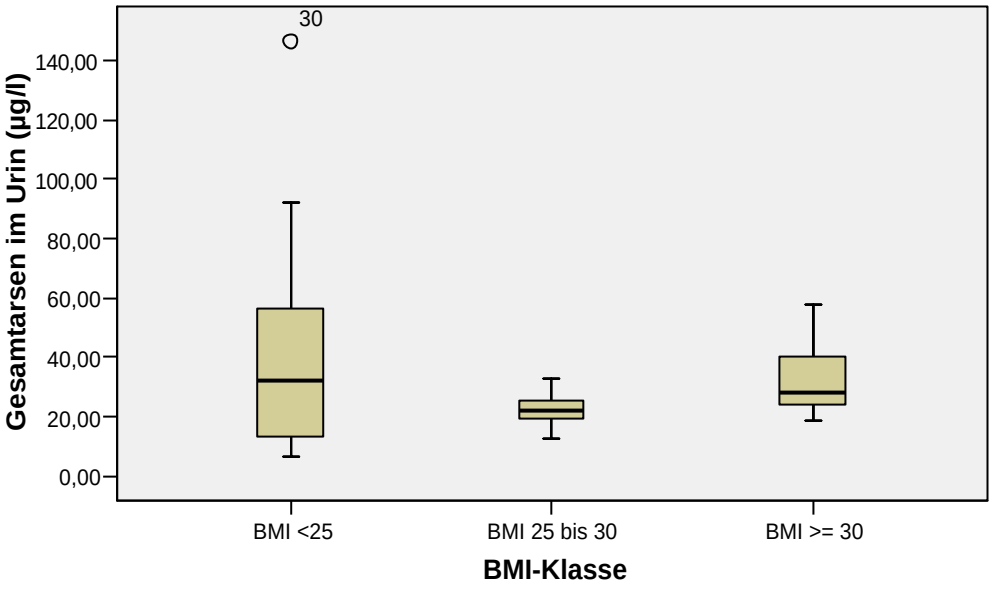


Abbildung 41: Box&Whisker-Blots für die Gesamtarsenkonzentrationen im Urin in µg/l 48 h nach Fischaufnahme in Abhängigkeit von verschiedenen BMI-Klassen

Aus Abbildung 42 sind keine Unterschiede zwischen den Medianwerten der einzelnen BMI-Klassen zu erkennen. Innerhalb der BMIK >= 30 tritt zwischen den Messwerten eine große Spannweite auf.

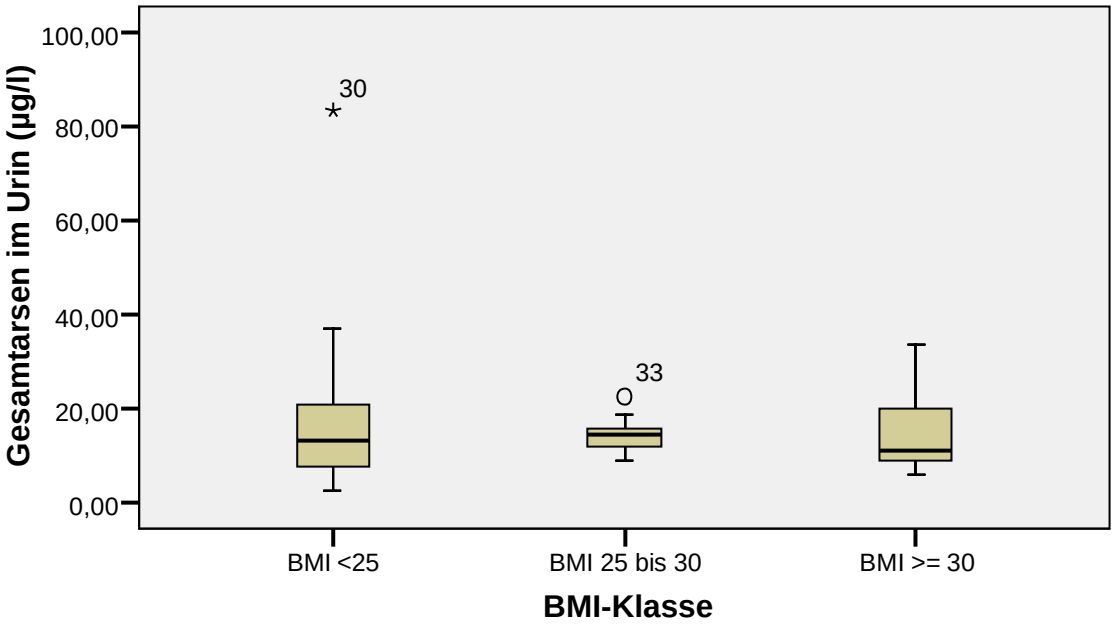


Abbildung 42: Box&Whisker-Blots für die Gesamtarsenkonzentrationen im Urin in µg/l 72 h nach Fischaufnahme in Abhängigkeit von verschiedenen BMI-Klassen

Die Ergebnisse der statistischen Tests für die anorganischen Arsenkonzentrationen im Urin in Abhängigkeit vom BMI werden in Tabelle 52 im Anhang dargestellt. Zwischen den einzelnen BMI-Klassen treten keine signifikanten Unterschiede auf.

Aus Abbildung 43 geht hervor, dass die Medianwerte der einzelnen BMI-Klassen sehr ähnlich sind.

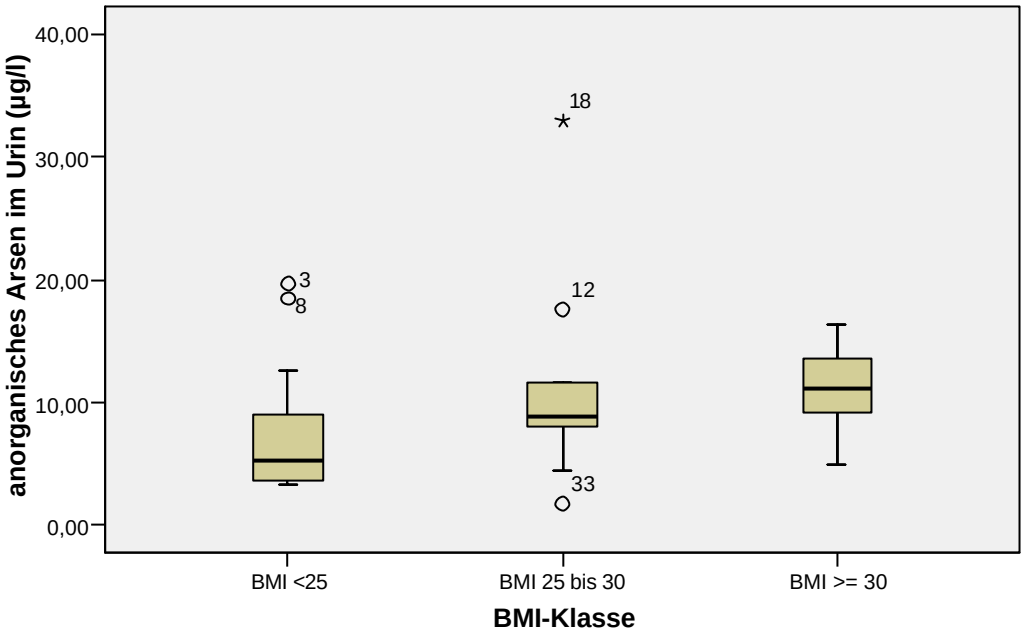


Abbildung 43: Box&Whisker-Blots für die anorganischen Arsenkonzentrationen im Urin in µg/l 24 h nach Fischaufnahme in Abhängigkeit von verschiedenen BMI-Klassen

Innerhalb jeder BMI-Klasse tritt eine große Spannweite der Messwerte auf.

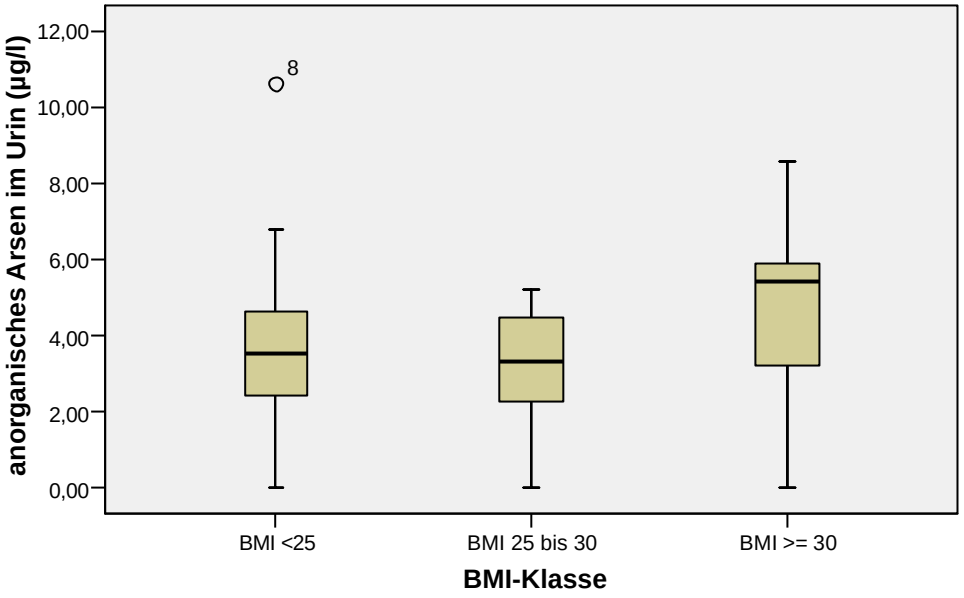


Abbildung 44: Box&Whisker-Blots für die anorganischen Arsenkonzentrationen im Urin in µg/l 48 h nach Fischaufnahme in Abhängigkeit von verschiedenen BMI-Klassen

Bei einem Vergleich der Medianwerte ist zwischen den einzelnen BMI-Klassen wird deutlich, dass die Versuchspersonen der BMIK < 25 höhere anorganische Arsenkonzentrationen im Urin aufweisen als Versuchspersonen der anderen beiden BMI-Klassen.

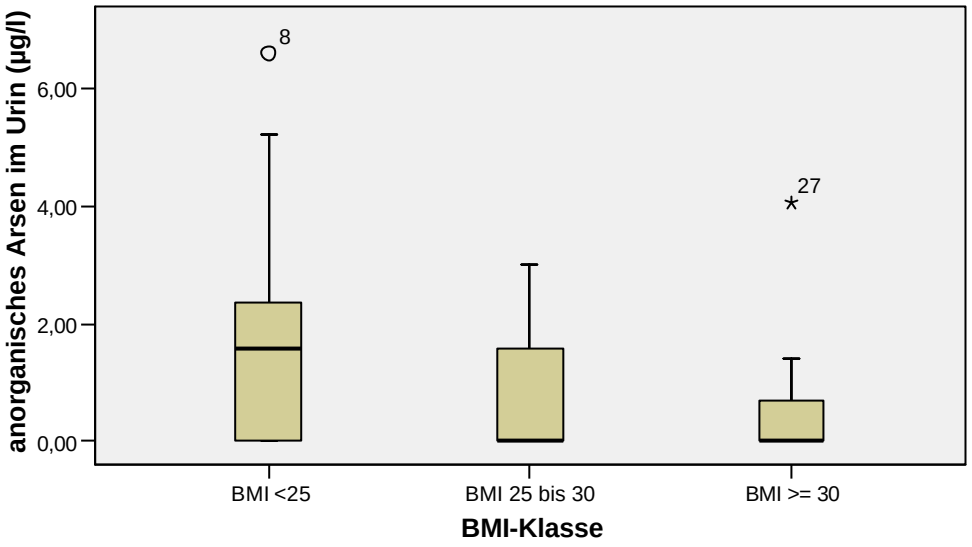


Abbildung 45: Box&Whisker-Blots für die anorganischen Arsenkonzentrationen im Urin in µg/l 72 h nach Fischaufnahme in Abhängigkeit von verschiedenen BMI-Klassen

12.7.2 Ergebnisse zum Arsen im Blut in Abhängigkeit vom BMI

Zwischen den einzelnen BMI-Klassen bestehen keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Kinetik. Die Darstellung der Ergebnisse für die Berechnung des Signifikanzniveaus für die Gesamtarsenkonzentrationen im Blut in Abhängigkeit vom BMI befindet sich im Anhang (Tabelle 53).

Aus Abbildung 46 konnten keine Unterschiede hinsichtlich der Kinetik des Gesamtarsens im Blut in Abhängigkeit von verschiedenen BMI-Klassen nachgewiesen werden.

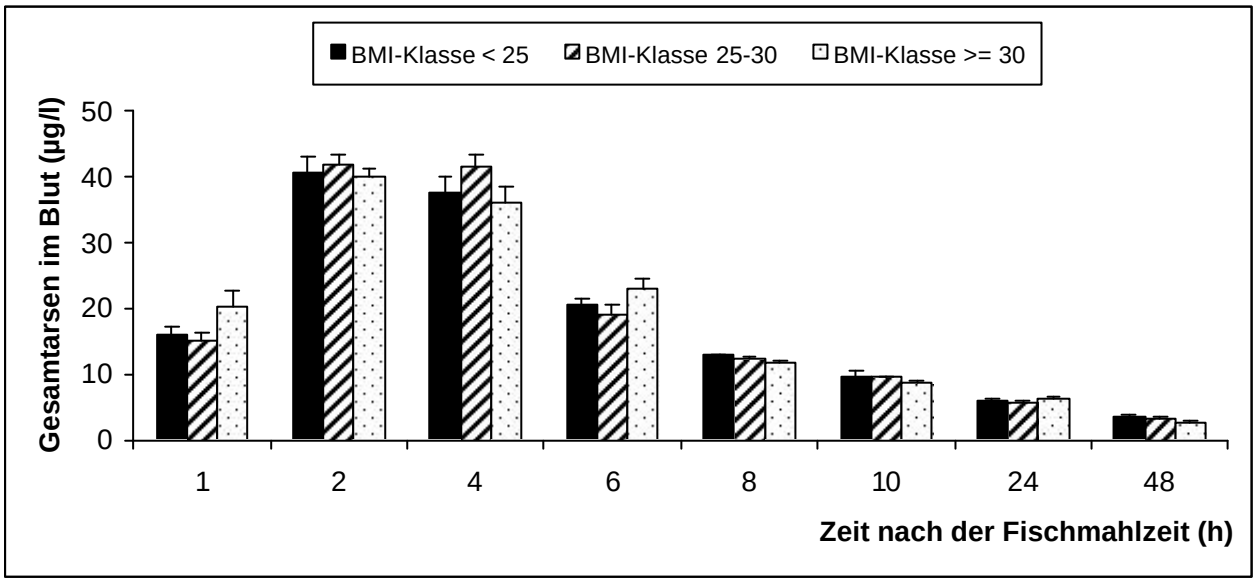


Abbildung 46: Gesamtarsengehalte im Blut in µg/l nach Fischverzehr in Abhängigkeit von verschiedenen BMI-Klassen. Angegeben sind die Mittelwerte aller gewerteten Probanden und die Standardfehler der Mittelwerte

Bei einem Vergleich der anorganischen Arsenkonzentrationen im Blut hinsichtlich des BMI konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen BMI-Klassen nachgewiesen werden. Die Darstellung der Ergebnisse für die Berechnung des Signifikanzniveaus befindet sich im Anhang (Tabelle 54).

Aus Abbildung 47 geht deutlich hervor, dass nach Fischverzehr der Gehalt an anorganischem Arsen im Blut schnell ansteigt und dann relativ zügig abfällt.

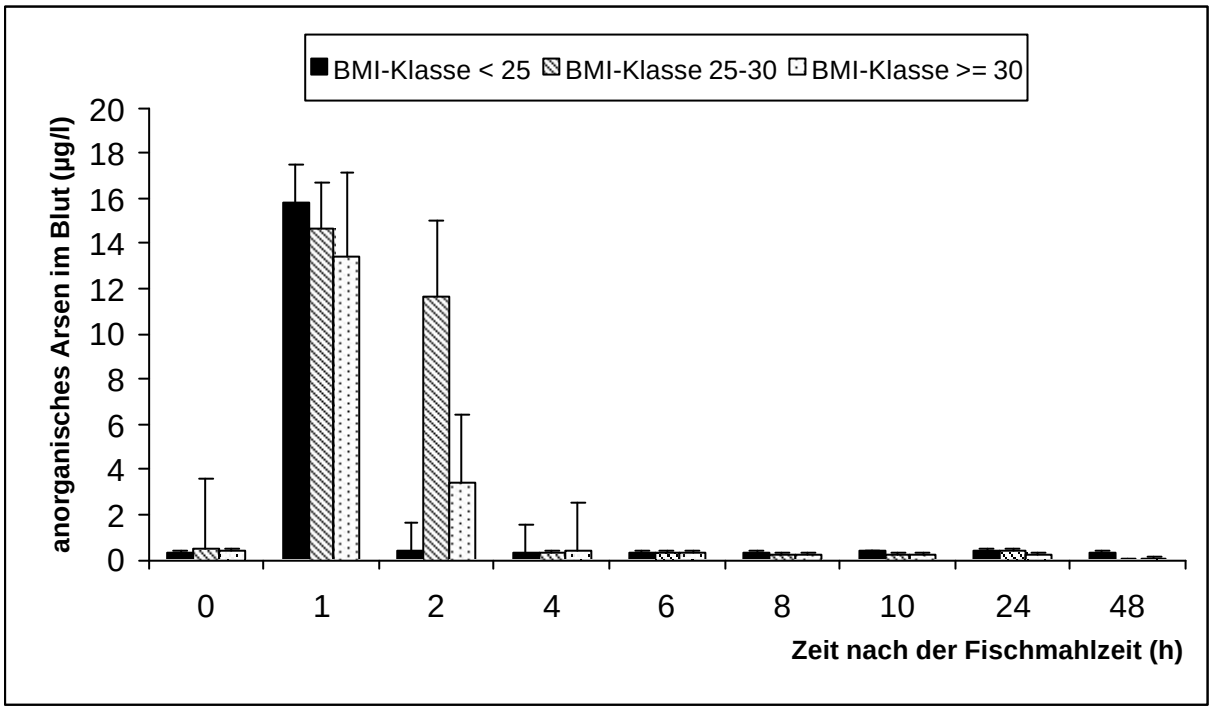


Abbildung 47: Konzentrationen von anorganischem Arsen im Blut in µg/l nach Fischverzehr in Abhängigkeit von verschiedenen BMI-Klassen. Angegeben sind die Mittelwerte aller gewerteten Probanden und die Standardfehler der Mittelwerte

12.8 Ergebnisse zur Bestimmung von MMA und DMA im Urin

Bei den Analysen der Urinproben konnte bei allen Proben vor dem Fischverzehr keine Dimethylarsinsäure nachgewiesen werden, da die gemessenen Werte unterhalb der Nachweisgrenze von 0,06 ng/µl.
Monomethylarsonsäure (MMA) und Dimethylarsinsäure (DMA) wurden mittels GC/MS analysiert und über die Massenfragmente 194,9 und 284,9 (für MMA) sowie 194,9 und 209,9 (DMA) analysiert.

Wie bei der Dimethylarsinsäure konnte bei keinem Versuchsteilnehmer Monomethylarsinsäure im Urin vor Versuchsbeginn nachgewiesen werden. Nach Fischverzehr konnte keine Zunahme der Monomethylsäurekonzentration im Urin gemessen werden. Lediglich bei einer Probandin kam es nach Fischverzehr zu einem kurzfristigen Anstieg an Monomethylarsonsäure.

13 Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurde die Toxikokinetik der mit einer Fischmahlzeit aufgenommenen verschiedenen Arsenverbindungen bei 35 Probanden und Probandinnen im Alter von 22 bis 75 Jahren untersucht.

Das Arsen liegt im Fisch überwiegend in organischer Bindungsform als toxikologisch weitgehend unproblematisches Arsenobetain, aber zu einem geringeren Anteil auch als toxikologisch relevantes anorganisches Arsen (As^{III} und As^{V}) vor. Mit unterschiedlichen Messverfahren wurden in dem verzehrten Fisch, im Blut von 21 und im Urin von 35 Probanden sowohl das anorganische als auch das Gesamtarsen (Summe aus organischem und anorganischem Arsen) analysiert. Im weitern Verlauf der Untersuchungen wurden ferner mögliche Einflüsse von Alter, Geschlecht und Body-Mass-Index (BMI) berücksichtigt.
Ein besonderer Schwerpunkt der Arbeit bestand in der Prüfung der Frage, ob die beiden Arsenverbindungen Monomethylarsonsäure (MMA) und Dimethylarsinsäure (DMA) nach einer Fischmahlzeit als Metabolite im Organismus in nennenswerten Mengen gebildet werden. MMA und DMA stehen ähnlich wie die Arsenverbindungen As^{III} und As^{V} in Verdacht einer carcinogenen Wirkung. Dafür wurde der Urin von 21 Probanden und Probandinnen auf MMA und DMA untersucht.

Für die Bestimmung von anorganischem Arsen wurde die Hydrid-Atomabsorptionsspektrometrie verwendet. Mit der Hydrid-Technik ist es nicht möglich den Gesamtarsengehalt, und dabei vor allem die organisch gebundene Arsenverbindung Arsenobetain zu erfassen.
Für die Messung von Gesamtarsen einschließlich Arsenobetain wurde die Graphitrohrofentechnik eingesetzt. Um MMA und DMA zu analysieren wurde die GC/MS eingesetzt.

Es wurde ein Vergleich zwischen dem konventionellen Druckaufschluss nach Tölg und dem Mikrowellendruckaufschluss vorgenommen. Dazu wurden zu einer Urinprobe mit bekanntem Arsengehalt eine festgelegte Menge an Arsen-Standard gegeben und an diesen Proben dann die beiden Aufschlussverfahren geprüft.

Beide Methoden zeigen gute Wiederfindungsraten; für den Druckaufschluss nach Tölg 89 % und für den mikrowellenunterstützen Druckaufschluss 110 %. Lange Aufschluss- und Trocknungszeiten während des Druckaufschlusses nach Tölg im Vergleich zu der kurzen Aufschlusszeit in der Mikrowelle sind evident. Der mikrowellenunterstützte Druckaufschluss ist daher besser geeignet als der Druckaufschluss nach Tölg. Für die Bestimmung der Arsenkonzentrationen im Blut konnte der mikrowellenunterstützte Druckaufschluss nicht eingesetzt werden, da Arsen zu fest in die Matrix Blut eingebunden ist. Die erzielten Wiederfindungsraten waren unbefriedigend. Daher wurde für die Bestimmung der Gesamtarsenkonzentrationen im Blut ausschließlich der Druckaufschluss nach Tölg angewendet. Weiterhin konnte der mikrowellenunterstützte Druckaufschluss nicht für den Aufschluss der anorganisch gebundenen Arsenverbindungen benutzt werden. Bei der Messung mit Hilfe der Hydrid-Atomabsorptionsspektrometrie konnten bereits im Leerwert Arsenkonzentrationen nachgewiesen werden. Eine Kontamination der Probengefäße und anderer verwendeter Reagenzien konnte ausgeschlossen werden.

In einer Arbeit von LEHMANN aus dem Institut für Toxikologie und Pharmakologie für Naturwissenschaftler im Jahr 2000 konnte bereits gezeigt werden, dass es nicht möglich ist, mit der Hydridtechnik den Gesamtarsengehalt einschließlich der organisch gebundenen Arsenverbindungen zu bestimmen. Grundsätzlich muss Arsen in anorganischer Form vorliegen um eine effektive Bildung der Hydride im FIAS zu ermöglichen. Organisch gebundene Arsenverbindungen weisen im Gegensatz zu anorganischen Arsenverbindungen eine besonders hohe Oxidationsbeständigkeit auf und entziehen sich so dem Nachweis mittels Hydridgenerierung (BOCH, 2002). Wie in der Literatur bereits beschrieben, ist der Großteil der Arsenverbindungen im Fisch das organisch gebundene Arsenobetain (BALLIN; 1992). Aufgrund seiner Stabilität lässt sich Arsen unter den normalen Bedingungen nicht mit Natriumborhydrid zu Arsenwasserstoff umsetzen. Daher entzieht sich Arsenobetain dem Nachweis durch die Hydrid-Technik. Für die Bestimmung des Arsenobetains wird die Graphitrohrofentechnik eingesetzt.

Die Graphitrohratomabsorptionsspektrometrie ist in der Elementspurenanalytik eine der empfindlichsten Nachweismethoden. Die Nachweisgrenze für Arsen wurde in dieser Arbeit bei 0,8 µg/l ermittelt. Grundsätzlich erreicht nur die Analytik mittels ICP-MS niedrigere Nachweisgrenzen als die Graphitrohrofenatomabsorptionsspektrometrie. Durch den Einsatz der Graphitrohrofen-Technik können ca. 50 Elemente im Spurenbereich nachgewiesen werden. Obwohl die HPLC-IPC-MS heute die meist angewandte Methode ist, wird die Graphitrohrofen-Technik insbesondere dann eingesetzt, wenn spektrale Interferenzen durch Elementisotope und Molekülionen mit gleichem oder ähnlichem Masse/Ladungsverhältnis auftreten.

Generell werden in der Lebensmittelüberwachung anorganisch gebundene Arsenverbindungen, Gesamtarsen und Arsenobetain analysiert. Eine substanzspezifische Quantifizierung der beiden toxikologisch relevanten Arsenverbindungen Monomethylarsonsäure und Dimethylarsinsäure wurde bislang vernachlässigt. Im Rahmen dieser Arbeit wurden Monomethylarsonsäure und Dimethylarsinsäure im Urin nach Fischverzehr durch den Einsatz der GC/MS-Technik nachgewiesen.

Gesamtarsen und der Anteil des anorganisch gebundenen Arsens wurden in rohem und gebratenem Fisch untersucht.

Die gemessenen Gesamtarsengehalte sowie die Konzentrationen an anorganisch gebundenem Arsen im Fisch stimmen mit den Angaben in der Literatur gut überein. Die in der Literatur angegebenen Arsenkonzentrationen beziehen sich auf rohe Fische. Daher wurden für diesen Vergleich die Arsenwerte im rohen Fisch herangezogen.

Tabelle 37: Befunde aus der Literatur zum Gesamtarsengehalt in rohem Fisch in mg/kg Frischgewicht. k.A = keine Angaben

Autor	**Fisch**	**Fanggebiet**	**Minimum [mg/kg]**	**Maximum [mg/kg]**	**Mittelwert [mg/kg]**
LARSEN et al. 2005	Scholle	k.A	k.A.	k.A.	7,3
LEHMANN 2000	Scholle	k.A	9,4	41	14
BALLIN 1994	Scholle	Fladengrund (Nordsee)	17	56	32
	Scholle	Deutsche Bucht	7,4	13	9
EDMONDS et al. 1993	Scholle	k.A	k.A.	k.A.	24
BALLIN 1992	Scholle	k.A	20	79	41
LEAH et al. 1992	Scholle	Isle of Man	k.A.	k.A.	21
	Scholle	Dumping Ground 1	k.A.	k.A.	20
	Scholle	Dumping Ground 3	k.A.	k.A.	10
	Scholle	Rock Channel	k.A.	k.A.	7,2
	Scholle	Garston	k.A.	k.A.	4,9
MÜNZ 1989	Scholle	Nordsee	0,35	2,5	2

Die gemessenen Gesamtarsenkonzentrationen der in dieser Arbeit untersuchten Schollen aus der Nordsee lagen im Mittel bei 1,1 mg Arsen/kg Frischgewicht, wobei der Minimalwert bei 0,71 mg Arsen/kg Frischgewicht lag und der Maximalwert bei 1,6 mg Arsen/kg Frischgewicht. Im Vergleich zu den Angaben aus der Literatur (siehe Tabelle 37) enthalten die untersuchten Schollen nur geringe Konzentrationen an Gesamtarsen. MÜNZ wies 1989 ebenfalls nur geringe Gesamtarsenkonzentrationen in Nordseeschollen nach. Dagegen enthielten die von BALLIN, 1994, untersuchten Schollen im Mittel um die 30-fach höheren Gesamtarsenkonzentrationen, obwohl die untersuchten Fische ebenfalls aus der Nordsee

stammten. Die große Schwankungsbreite der Gesamtarsenkonzentrationen bei den Fischen aus der Nordsee könnte zurückgeführt werden auf mögliche anthropogene und geogene Faktoren, die Einfluss auf den Arseneintrag in die Nordsee haben. Allerdings sind die in dieser Arbeit nachgewiesenen Gesamtarsenkonzentrationen nahezu identisch mit den Messungen von MÜNZ vor knapp 20 Jahren. Eine mögliche Ursache für die große Schwankungsbreite der Gesamtarsenkonzentrationen in Fischen können die unterschiedlichen Fanggebiete innerhalb der Nordsee darstellen. Innerhalb der Nordsee existieren mehrere Fanggebiete wie z.B. Doggerbank, Fladengrund oder das norwegische Küstengewässer. Aus den Messungen von BALLIN, 1992, ist bekannt, dass die Schollen im Fanggebiet Fladengrund gefangen wurden. Bei den eigenen Messungen und den Messungen von MÜNZ ist das Fanggebiet nicht bekannt. Daher könnte die Schwankungsbreite des Gesamtarsengehaltes in den Fischen auf unterschiedliche Arsenvorkommen in den einzelnen Fanggebieten zurückzuführen sein. Eine mögliche weitere Erklärung für die große Schwankungsbreite kann die Anzahl oder die Art der Mikroorganismen aus dem Sediment darstellen. Diese Mikroorganismen sind nach Untersuchungen von HANAOKA et al., 1992, in der Lage Arsenocholin zu Arsenobetain zu metabolisieren. Die Metabolisierung ist abhängig von saisonalen Schwankungen. Je nach Jahreszeit kann es so zu unterschiedlichen Arsenobetainkonzentrationen und damit Gesamtarsenkonzentrationen kommen. Die genauen Ursachen für die große Schwankungsbreite bei den Gesamtarsenkonzentrationen und damit für die Herkunft des Arsenobetains in den Fischen konnte bisher noch nicht befriedigend geklärt werden.

Tabelle 38: Befunde aus der Literatur zum Gehalt an anorganisch gebundenem Arsen in rohem Fisch in mg/kg Frischgewicht. k.A = keine Angaben

Autor	**Fisch**	**Fanggebiet**	**Minimum [mg/kg]**	**Maximum [mg/kg]**	**Mittelwert [mg/kg]**
LARSEN et al. 2005	Scholle	k.A	k.A.	k.A.	0,003
EDMONDS et al. 1993	Scholle	k.A	k.A.	k.A.	0,03
LEAH et al. 1992	Scholle	Isle of Man	k.A.	k.A.	0,04
	Scholle	Dumping Ground 1	k.A.	k.A.	0,04
	Scholle	Dumping Ground 3	k.A.	k.A.	0,04
	Scholle	Rock Channel	k.A.	k.A.	< 0,02
	Scholle	Garston	k.A.	k.A.	< 0,02
MÜNZ 1989	Scholle	Nordsee	0,03	0,21	0,09

In der vorliegenden Arbeit konnten in den untersuchten Schollen aus der Nordsee im Mittel 0,04 mg anorganisches Arsen/kg Frischgewicht nachgewiesen werden, wobei der Minimalwert bei 0,02 mg anorganisches Arsen/kg Frischgewicht lag und der Maximalwert bei 0,06 mg anorganisches Arsen/kg Frischgewicht. Die ermittelten Werte stimmen mit den Befunden aus der Literatur überein (siehe Tabelle 38). Nur LARSEN et al. (2005) fanden mit 0,003 mg anorganisches Arsen/kg Frischgewicht deutlich niedrigere Werte, wohingegen MÜNZ (1989) mit 0,09 mg anorganisches Arsen/kg Frischgewicht deutlich höhere Konzentrationen nachweisen konnte.

Der prozentuale Anteil der anorganischen Arsenkonzentration am Gesamtarsengehalt liegt nach eigenen Messungen bei etwa 3,8 %. Zum selben Ergebnis kam auch MÜNZ, 1989. Er konnte einen Anteil von 3 – 4 % an anorganischem Arsen am Gesamtarsen nachweisen. Hingegen wurden bei Messungen von LARSEN et al., 2005; EDMONDS et al., 1993 und LEAH et al., 1992 mit 0,1 – 0,4 % deutlich geringere prozentuale Anteile des anorganisch gebundenen Arsens am Gesamtarsengehalt nachgewiesen. Es wird deutlich, dass mit zunehmender Gesamtarsenkonzentration in Schollen der prozentuale Anteil an anorganischem Arsen abnimmt.

Neben dem anorganisch gebundenen Arsen werden neuerdings auch organisch gebundene Arsenverbindungen für die toxischen Effekte verantwortlich gemacht, da auch diese Arsenverbindungen im Körper methyliert werden. Die gebildeten Metaboliten können toxischer wirken als ihre Ausgangsverbindungen. Daher ist eine Abnahme des anorganischen

Arsens bei einer gesteigerten Gesamtarsenkonzentration nicht zwingend als positv zu bewerten. Die Bildung der methylierten Verbindungen aus organisch gebundenem Arsen ist bisher noch nicht entschlüsselt worden. In Untersuchungen von HEINRICH-RAMM et al., 2002 konnte gezeigt werden, dass der Umfang der Methylierung von der Fischart abhängig ist.
Durch die vorgelegten Befunde kann gezeigt werden, dass Arsenobetain die Hauptarsenverbindung im Fisch ist, wie dies auch in der Literatur beschrieben ist (BALLIN, 1992; EDMONDS und FRANCESCONI, 1987; CULLEN und REIMER, 1989; HIRATA, 2006; EDMONDS und FRANCESCONI, 1994).

Es konnte eine signifikante Abnahme des Gesamtarsengehaltes und der Konzentration an anorganischem Arsen im Fisch infolge der Zubereitung beobachtet werden. Der Gesamtarsengehalt verringerte sich in gebratenem Fisch um ca. 20 % im Vergleich zum rohen Fisch. Beim anorganischen Arsen kam es zu einer Reduzierung von etwa 50 %.
Der Gehalt an Gesamtarsen variierte je nach Fischart (DEVESA et al., 2001). In Untersuchungen von DEVESA et al., konnte 2001 festgestellt werden, dass der Einfluss der Verarbeitungsart auf die Gesamtarsenkonzentrationen abhängig ist von der Fischart. Die Autoren gehen davon aus, dass es infolge von Verflüchtigungen und der Wasserlöslichkeit von organischen Arsenverbindungen während der Zubereitung zu einer Abnahme von Gesamtarsen kommt. Zwischen organischen Arsenverbindungen und Proteinen im Fischmuskel bestehen instabile Bindungen, die während der Zubereitung zerstört werden können. Dadurch kommt es zu einer Abnahme der Gesamtarsenkonzentration in gebratenem Fisch. Im Vergleich zum Gesamtarsen bildet As^{III} zusammen mit Thiolgruppen der Proteine feste Bindungen. Mögliche Ursachen, durch die es zu einer Reduzierung der Konzentration an anorganischem Arsen in gebratenem Fisch kommt, sind bisher noch nicht geklärt.

Mehrere vorangegangene Untersuchungen zeigen, dass die mit Fisch und Meerestieren aufgenommenen organischen Arsenverbindungen wie Arsenobetain oder Arsenocholin vom Menschen überwiegend unverändert innerhalb von 2 - 3 Tagen und fast vollständig renal ausgeschieden werden. Die Ausscheidung über die Niere ist der Hauptausscheidungsweg für die Eliminierung von Arsen (VAHTER, 1983, LE et al., 1994; LEHMANN, 2000). In der vorliegenden Untersuchung konnte in Übereinstimmung mit den Angaben aus der Literatur gezeigt werden, dass es nach Fischgenuss zu einem Anstieg der Arsengehalte im Blut und

Urin der Versuchspersonen kommt und dass ein Großteil des aufgenommenen Gesamtarsens innerhalb von 72 h wieder ausgeschieden wird (LEHMANN, 2000). So wurden im Mittel 75 % des aufgenommenen Gesamtarsens nach 72 h renal ausgeschieden. Beim anorganisch gebundenen Arsen wurden im Mittel 157 % des aufgenommenen anorganisch gebundenen Arsens ausgeschieden. Die hohe Wiederfindung von anorganischem Arsen ist darauf zurückzuführen, dass die Grundlage dieser Arbeit ein kontrollierter Fischverzehr ist. Fisch enthält zum Großteil organisch gebundene Arsenverbindungen und nur einen geringen prozentualen Anteil an anorganisch gebundenen Arsenverbindungen. Bei der Gesamtbilanzierung bildeten die gemessenen anorganischen Arsenkonzentrationen im Fisch die Ausgangsbasis für die Berechnung der Wiederfindung. Mit dem Fisch nahmen die Versuchspersonen jedoch nur geringe Mengen an anorganischem Arsen auf. Während die Versuchspersonen durch das Merkblatt auf Aufnahmequellen von organisch gebundenem Arsen hingewiesen worden sind und darum gebeten worden sind, die Aufnahme zu unterlassen, wurde das anorganische Arsen im Hinblick auf mögliche Aufnahmequellen vernachlässigt. Daher kann es infolge einer unkontrollierten Aufnahme zu hohen Wiederfindungsraten gekommen sein. Besonders hohe Wiederfindungsraten sind bei den Versuchspersonen 1 bis 21 zu finden. Diese Personen nahmen neben der Fischmahlzeit Alkohol zu sich. In Untersuchungen von HSUEH et al., 2003, konnte gezeigt werden, dass es mit steigendem Alkoholkonsum zu einer erhöhten Ausscheidung von anorganischem Arsen kommt. Auf DMA und MMA hat ein Alkoholkonsum keinen Einfluss.

Vor Beginn musste jeder Versuchsteilnehmer einen Fragebogen ausfüllen mit Angaben zu Geschlecht, Alter, Körpergröße und Körpergewicht (siehe Anhang). Es wurde geprüft, ob die Charakteristika Auswirkungen auf die Kinetik des Arsens infolge einer kontrollierten Fischaufnahme haben.

Bei dem Vergleich der Konzentrationen an Gesamtarsen und anorganisch gebundenem Arsen in Blut und Urin in Abhängigkeit vom Geschlecht zeigten sich im Kollektiv keine Zusammenhänge. Unterschiede hinsichtlich einer Geschlechtsspezifität bei der Arsenausscheidung infolge einer Arsenaufnahme durch Fischverzehr wurden bisher in der Literatur noch nicht untersucht.
In Untersuchungen zur anorganischen Arsenaufnahme über das Trinkwasser scheinen geschlechtsabhängige Betrachtungen einen Einfluss auf die Arsenausscheidung zu haben. So

konnten CHRISTENSEN, 1995, sowie KRISTIANSEN et al., 1997, signifikante Effekte des Geschlechtes auf die anorganischen Arsengehalte im Urin aufzeigen. In Untersuchungen von LINDBERG et al., 2007 konnte aufgezeigt werden, dass Geschlechtsunterschiede bis zu einem Alter von 60 Jahren bestehen. Über dieses Alter hinaus waren keine Differenzen zu erkennen. In diesem Zusammenhang wird der Einfluss der Sexualsteroide auf die anorganische Arsenausscheidung diskutiert. In der Literatur gibt es jedoch keine Angaben darüber, ob männliche oder weibliche Sexualsteroide dafür verantwortlich sind.
Für die Gesamtbetrachtung der Ergebnisse wurde eine Gruppeneinteilung in 3 Altersklassen (AK) (siehe Kapitel 12) als sinnvoll erachtet: < 30 Jahre; 30 – 59 Jahre; >= 60 Jahre.

Bei der Betrachtung der Altersklassen konnten bei den Gesamtarsenkonzentrationen sowie den Konzentrationen an anorganisch gebundenem Arsen im Blut keine Unterschiede beobachtet werden. Im Urin bestehen signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Altersklassen. Versuchspersonen der Alterkslasse < 30 Jahre scheiden 24 h und 48 h nach Versuchsbeginn mehr Gesamtarsen aus als Versuchspersonen der anderen beiden Altersklassen. Hinsichtlich der Ausscheidung von anorganischem Arsen ist festzustellen, dass 24 h nach Versuchsbeginn Versuchspersonen der AK 30 – 59 Jahre und der AK >= 60 Jahre deutlich höhere Werte im Urin aufweisen als Versuchspersonen der AK < 30 Jahre. Dadurch wird deutlich, dass ältere Personen anorganisches Arsen schneller wieder ausscheiden als jüngere Personen.
KURTTIO konnte 1998 aufzeigen, dass ältere Personen anorganisches Arsen effizienter methylieren und somit die größte Arsenmenge ausscheiden. In Untersuchungen von KRISTIANSEN et al., 1997 konnte nachgewiesen werden, dass Männer im Vergleich zu gleichaltrigen Frauen höhere Arsenkonzentrationen im Urin aufweisen. Mit zunehmendem Alter (>60 Jahre) lassen sich jedoch keine Differenzen mehr erkennen. Zum selben Ergebnis kamen LINDBERG et al., 2007 (siehe oben). Auch hier wird wie beim Geschlecht basierend auf den erzielten Ergebnissen davon ausgegangen, dass die Arsenmethylierung von Sexualsteroiden beeinflusst wird.

Vor Beginn des Versuchs wurden von den Versuchsteilnehmern anthropometrische Messgrößen wie Körpergröße und Körpergewicht erfragt. Zur Berechnung des Body-Mass-Index (BMI) sind diese Daten notwendig. Er spiegelt die Konstitution des betreffenden

Menschen wider. Auch hier wurden erneut 3 BMI-Klassen (BMIK) gebildet um einen besseren Überblick über die erzielten Ergebnisse zu bekommen (siehe Kapitel 12): BMIK < 25 (normalgewichtig); BMIK 25 – 30 (übergewichtig); BMIK > 30 (adipös).

Bei dem Vergleich der Kinetik des Arsens in Abhängigkeit vom BMI konnten für Gesamtarsen und anorganisches Arsen in Urin und Blut keine signifikanten Unterschiede nachgewiesen werden.

Entgegen unseren Untersuchungen konnte von LINDBERG et al., 2007 nachgewiesen werden, dass es bei der Bevölkerung in Zentraleuropa mit steigendem BMI zu einer verminderten Ausscheidung von anorganischem Arsen kommt. Arsen gehört zu den lipophilen Substanzen und reichert sich im Fettgewebe an. Aus diesem Grund kann ein hoher BMI zu einer verminderten Arsenausscheidung führen. Eine Anreicherung von methylierten Arsenverbindungen in lipidreichen Organen konnte bei Personen, die an einer Arsenintoxikation verstorben sind, beobachtet werden (BENRANDAME et al., 1999). Von anderen Schwermetallen ist dieser Zusammenhang schon beobachtet worden. Methyliertes Quecksilber kann sich z.B. in Gehirn und Rückenmark anreichern (GUTKNECHT, 1981).

Infolge des Methylierungsprozesses besitzen die entstandenen Metabolite sowohl lipo- als auch hydrophile Eigenschaften. Dadurch können sie effizient in die Zellmembran transportiert werden und dort mit Enzymen, Proteinen und zerebralen Rezeptoren interagieren und ihre Funktionen beeinträchtigen. Arsenverbindungen können zu einer veränderten Glutamat-Rezeptorkanalaktivität führen, die eine essentielle Bedeutung für den Ablauf und die Aufrechterhaltung der Informationsverarbeitung im Gehirn besitzt (GRUNER, 2005).

Der BMI berücksichtigt jedoch nicht die unterschiedlichen Körperzusammensetzungen der einzelnen Probanden und die damit einhergehenden interindividuellen Schwankungen. Eine Frau hat bei gleichem BMI ca. 10 % mehr Fett als ein Mann bzw. ein Mann hat eine größere fettfreie Masse und weniger Fett als eine Frau (BIESALSKI et al., 2004). Interindividuelle Unterschiede wurden bei der vorliegenden Arbeit wie auch bei anderen Arbeiten vernachlässigt!

Bei den dieser Arbeit zugrunde liegenden Untersuchungen nehmen Alter, Geschlecht und Body-Mass-Index nur in geringem Umfang Einfluss auf den Arsenmetabolismus. Bisher wurde nur in wenigen Arbeiten der Einfluss dieser Charakteristika auf den Arsenmetabolismus beschrieben. Für die Kinetik von Arsen nach kontrolliertem Fischverzehr in Abhängigkeit von Alter, Geschlecht und Body-Mass-Index fehlen bisher aussagekräftige Daten. Das liegt wahrscheinlich daran, dass davon ausgegangen wird, dass Arsenobetain nur im geringen Maße metabolisiert und weitgehend unverändert über den Urin ausgeschieden wird.

Neuere Untersuchungen gehen von einer Methylierung der über den Fischverzehr aufgenommenen organischen Arsenverbindung Arsenobetain aus (HEINRICH-RAMM et al., 2002). Die dabei gebildeten Metabolite Monomethylarsonsäure (MMA) und Dimethylarsinsäure (DMA) sind teilweise toxischer als ihre Ausgangssubstanzen, wobei auch hier die Oxidationsstufe entscheidend ist für die Toxizität.
Daher ist es wichtig, nicht nur die Ausscheidung von Gesamtarsen und anorganischem Arsen im Körper zu beobachten, sondern auch die durch Methylierung gebildeten organischen Arsenverbindungen MMA und DMA zu messen.

Die im Urin gemessenen Konzentrationen an MMA lagen in 95 % der Fälle unterhalb der Nachweisgrenze. Jedoch konnte bei einer Probandin ein deutlicher Anstieg der MMA-Konzentration nach Fischverzehr nachgewiesen werden. Es befanden sich allerdings schon im Ausgangswert hohe Gehalte an MMA im Vergleich zu den anderen Versuchspersonen. Nach dem Fischverzehr stieg der Wert innerhalb der ersten 24 Stunden um das 10-fache an und nahm dann zügig wieder ab. Nach 72 Stunden lag die Konzentration wie bei allen anderen Probanden und Probandinnen unterhalb der Nachweisgrenze. Die Probandin hatte wie die anderen Versuchsteilnehmer eine Woche vor Versuchsbeginn keinen Fisch und keine Meeresfrüchte zu sich genommen. Lebensmittel und Trinkwasser sind die Hauptaufnahmequellen für Arsenverbindungen. Das Trinkwasser kann als Belastungsquelle ausgeschlossen werden, da alle Versuchspersonen eine identische Wasserversorgung hatten und der Wert nach 72 Stunden wieder unter der Nachweisgrenze lag. Am Tag vor dem Fischverzehr konnte im Ernährungsprotokoll der Probandin keine Arsenquelle entdeckt werden. Die Ausscheidung von Gesamtarsen und anorganischem Arsen lag im Normbereich.

Möglicherweise sind Stoffwechselwege dafür verantwortlich. Daher sollte in Zukunft stärker darauf geachtet werden.
In der Literatur gibt es widersprüchliche Aussagen bezüglich der MMA-Ausscheidung über den Urin nach Fischverzehr. So konnten HEINRICH-RAMM et al., 2002 und HSUEH et al., 2002 in ihren Untersuchungen keine Erhöhung der MMA-Konzentration im Urin beobachten. Andere Angaben stammen dagegen von BUCHET et al., 1996. Sie konnten nach Aufnahme von Kabeljau, Muscheln und Seezunge einen Anstieg des MMA-Gehaltes im Urin nachweisen.

In Untersuchungen von ARBOUINE und WILSON, 1992 konnte gezeigt werden, dass es durch Fischverzehr zu einer gesteigerten Ausscheidung der methylierten Arsenverbindung DMA kommt. Dies konnte von HEINRICH-RAMM et al., 2002 und SUR et al., 2004 bestätigt werden, wohingegen in der vorliegenden Studie gegenüber den Ausgangskonzentrationen im Urin kein Anstieg der DMA- und MMA-Konzentration beobachtet werden konnte. Ein möglicher Grund dafür könnte sein, dass die von den an der vorliegenden Studie teilnehmenden Versuchspersonen verzehrten Fischmengen mit 135,7 g geringer waren als die Fischmengen in der Untersuchung von HEINRICH-RAMM et al., 2002, bei der die Probanden 237 g im Mittel verzehrten, so dass sich bei unseren Untersuchungen DMA und MMA dem Nachweis entzog. Eventuell kann erst nach einer bestimmten Aufnahmemenge an organisch gebundenem Arsen DMA im Urin nachgewiesen werden. Weiterhin können sich Fische bezüglich der Gesamtarsenkonzentrationen unterscheiden. Wie hoch die Gesamtarsenkonzentrationen bei den Schollen in der Arbeit von HEINRICH-RAMM et al. waren, wurde in der Arbeit nicht dargestellt. So kann nicht ermittelt werden, ob Fische eine bestimmte Konzentration an Gesamtarsen und damit auch organisch gebundenem Arsen enthalten müssen, um im Körper in DMA umgewandelt zu werden.
Der Anstieg der DMA-Konzentration im Urin nach Fischverzehr ist nach HEINRICH-RAMM et al., 2002 auf zwei mögliche Ursachen zurückzuführen: Zum einen können die erhöhten Konzentrationen bereits im Fisch vorkommen. Diese sind jedoch nur gering (BRANCH et al., 1994; YAMAUCHI und YAMAMURA, 1984; SÙNER et al., 2002). Zum anderen kann es durch die metabolische Umwandlung des in Fischen enthaltenen Arsenobetains in DMA zu einer gesteigerten Ausscheidung von DMA mit dem Urin kommen. HEINRICH-RAMM et al., konnten 2002 zeigen, dass der DMA-Anstieg im Urin nur zu

einem geringen Teil auf den DMA-Gehalt der Fischprobe zurückzuführen ist. Daher wird die Umwandlung des Arsenobetains in DMA als wahrscheinlich erachtet.
Im Gegensatz zu Arsenobetain aus Fischen ist bei den Arsenozuckern in Algen schon festgestellt worden, dass im Körper eine metabolische Umwandlung zu DMA stattfindet. Der Mechanismus konnte jedoch noch nicht aufgeklärt werden.
Einen bemerkenswerten Einfluss auf die Höhe der Zunahme an DMA hat die Fischart. In einem Versuch von HEINRICH-RAMM et al., 2002 bekamen die Probanden unterschiedliche Fischsorten wie Lachs, Herring, Seelachs, Kabeljau und Scholle zum Verzehr. Es konnte festgestellt werden, dass Hering und Scholle im Vergleich zu anderen Fischsorten wie Kabeljau und Lachs die größten DMA-Konzentrationen im Urin verursachten. Es konnten bis zu 6 fach höhere DMA-Konzentrationen im Urin beobachtet werden als vor der Fischmahlzeit. Eine erhöhte DMA-Ausscheidung im Urin nach Schollenverzehr konnte jedoch von uns bis auf eine Ausnahme nicht bestätigt werden.

Seit einiger Zeit ist bekannt, dass die methylierten Arsenverbindungen MMA und DMA für eine arseninduzierte Karzinogenese verantwortlich sind. So konnte für DMA^V an Mäusen und Ratten eine Induzierung von DNA-Schäden nachgewiesen werden (YAMANAKA et al., 2001; KATO et al., 1994; YAMANAKA et al., 1991; YAMANAKA et al., 1994; TEZUKA et al., 1993; YAMANAKA et al., 1993; YAMANAKA et al., 1990). Dies konnte durch Versuche mit Labortieren und kultivierten Zellen bestätigt werden. Dabei reagiert DMA^V zusammen mit GSH zu DMA^{III}, welches als Tumorpromotor bei Hautkrebs wirkt (MIZOI et al., 2005). Dagegen konnten DOPP et al. (2004) in Untersuchungen zeigen, dass die methylierten fünfwertigen Arsenverbindungen MMA^V und DMA^V im Vergleich zu Arsenat und Arsenit weniger cytotoxisch, mutagen und clastogen sind. Weiterhin erwiesen sich MMA^{III} und DMA^{III} in Tierversuchen stärker toxisch als fünfwertige Arsenverbindungen (STYBLO et al., 2000; KLIGERMANN et al., 2003). Durch DMA^{III} kann es zu einer Hemmung der Glutathionreduktase (STYBLO et al., 1997) und der Thioredoxin-Reduktase (LIN et al., 1999) kommen. MMA^{III} führte in Tierversuchen zu einer Hemmung der Pyruvatdehydrogenase (PETRICK et al., 2001). DMA^{III} ist im Gegensatz zu MMA^{III} in der Lage eine stärkere Induktion von DNA-Schäden hervorzurufen. Dies liegt daran, dass DMA^{III} befähigt ist zusammen mit molekularem Sauerstoff reaktive Sauerstoffspezies zu bilden, welche dann DNA-Schäden initiieren können (KENYON und HUGHES, 2001). Dies konnte

in vivo beobachtet werden (BERNSTAM und NRIAGU, 2000; LIU et al., 2001; LYNN et al., 1998; MANDAL et al., 2001; WU et al., 2001). DMA^{III} kann weiterhin zu Lungentumoren bei Mäusen führen und Karzinome in Blase, Niere, Leber und Schilddrüse von Ratten auslösen (WEI et al., 2002; HAYASHI et al., 1998).

14 Ausblick

Organische Arsenverbindungen wie das Arsenobetain werden vom Menschen hauptsächlich über den Verzehr von Fisch aufgenommen. Die große Schwankungsbreite bei den Arsengehalten in Fischen führt zu einer zunehmenden Verunsicherung der Verbraucher, denn im Gegensatz zu den Schwermetallen Blei, Cadmium und Quecksilber wurde für Arsen bislang keine Höchstgehalt bzw. Richtwert beim Fisch festgesetzt. Fisch ist aufgrund seiner gesundheitlich bedeutenden mehrfach ungesättigten Fettsäuren Bestandteil einer ausgewogenen Ernährung und sollte regelmäßig verzehrt werden. Daher ist es von Bedeutung das toxische Potenzial der Arsenverbindungen sowie deren Metabolite zu erkennen und die gesundheitliche Relevanz für den Menschen auf der Basis von Dosis-Wirkungs-Beziehung umfassend zu erforschen.

Die Metabolisierung von Arsenat und Arsenit wurde lange als Detoxifizierungsprozess bezeichnet. Es konnte jedoch nachgewiesen werden, dass die dabei gebildeten Metaboliten Monomethylarsonsäure und Dimethylarsinsäure in Abhängigkeit von ihrer Oxidationsstufe toxischer sind als ihre Ausgangssubstanzen.

Der organischen Arsenverbindung Arsenobetain wurde bislang immer ein geringes toxisches Potenzial zugeschrieben, da nach Auffassung vieler Autoren diese Verbindung nach der Aufnahme den Körper schnell und unverändert wieder verlässt. In neueren Untersuchungen wird jedoch davon ausgegangen, dass auch die organischen Arsenverbindungen, die besonders in marinen Organismen vorkommen, im menschlichen Körper zum Teil in Monomethylarsonsäure und Dimethylarsinsäure umgewandelt werden können. Dies ist bisher lediglich eine Vermutung und muss in der Zukunft entschlüsselt werden. Die vorliegende Arbeit gibt hierzu keine überzeugenden Hinweise.

Die Wertigkeit der Monomethylarsonsäure und der Dimethylarsinsäure wurde in dieser Arbeit nicht bestimmt. Da die Arsenverbindungen sich in Abhängigkeit ihrer unterschiedlichen Oxidationsstufen hinsichtlich ihrer toxischen Effekte stark unterscheiden, können im Rahmen der Befunde dieser Arbeit keine genauen toxikologischen Bewertungen vorgenommen werden. In unseren Untersuchungen konnten bisherige Daten aus der Literatur bestätigt werden, jedoch traten auch Differenzen zu anderen Studien auf. Es konnte gezeigt werden,

dass noch erheblicher Forschungsbedarf bezüglich des Arsenmetabolismus und der Methylierung von organischen Arsenverbindungen bzw. der Umwandlung von Arsenobetain in MMA und DMA im menschlichen Organismus besteht.

15 Zusammenfassung

Fisch spielt in einer gesunden und ausgewogenen Ernährung eine wichtige Rolle. Als einschränkend ist möglicherweise der Arsengehalt in Fischen anzusehen. Arsen kommt in Fischen in verschiedenen Verbindungen vor. Die einzelnen Arsenverbindungen unterscheiden sich stark in ihrer Toxizität. Eine Spezifizierung einzelner Arsenverbindungen im Fisch ist unumgänglich um eine differenzierte toxikologische Bewertung vornehmen zu können.

Das vordergründige Ziel dieser Arbeit war es, zu prüfen, ob es infolge einer Fischaufnahme zu einem Anstieg der methylierten Arsenverbindungen Monomethylarsonsäure (MMA) und Dimethylarsinsäure (DMA) kommt. Weiterhin sollten die Gesamtarsenkonzentrationen und die Konzentrationen an anorganisch gebundenem Arsen in Fisch sowie im Urin und Blut von Versuchspersonen nach Fischverzehr erfasst werden. Aus den Befunden können mit Hilfe statistischer Methoden Aussagen bezüglich der Arsenkinetik in Abhängigkeit von Alter, Geschlecht und Body-Mass-Index (BMI) getroffen werden.

Für die Untersuchungen wurde ein Experiment mit 24 Frauen und 11 Männern durchgeführt, die über einen Fragebogen Angaben zu Alter, Geschlecht, Körpergröße, Körpergewicht, Ernährungsgewohnheiten, Medikamentenaufnahme und Rauchverhalten machen mußten. Auf der Basis dieser Daten wurden die Versuchspersonen nach Alter, Geschlecht und BMI in verschiedene Klassen eingeteilt. Die Versuchspersonen verzehrten zwischen 74 und 217 g gebratenes Schollenfilet, welches zwischen 0,32 und 1,31 mg Gesamtarsen/kg Frischgewicht und zwischen 0,01 und 0,06 mg anorganisches Arsen/kg Frischgewicht enthielten.

Während des Versuches sammelten die Probanden und Probandinnen über die Versuchsdauer von drei Tagen 24-Stunden-Urine und stellten sich während der Versuchsperiode zu verschiedenen Zeiten zu mehreren Blutabnahmen zur Verfügung.

Zur Messung der Gesamtarsenkonzentration und der anorganischen Arsenkonzentration in Fisch, Blut und Urin musste die organische Matrix zerstört werden. Diese Zerstörung erfolgte mittels konventionellem Druckaufschluss nach Tölg und dem mikrowellenunterstütztem Druckaufschluss.

Die Bestimmung der Gesamtarsenkonzentrationen sowie der Konzentrationen an anorganisch gebundenem Arsen in Fisch, Blut und Urin wurde mit der Atomabsorptionsspektrometrie durchgeführt. Gesamtarsen wurde mit der Graphitrohrofen-Technik bestimmt; anorganisches Arsen wurde mit der Hydrid-Technik nachgewiesen.

Die differenzierte Bestimmung der methylierten Arsenverbindungen MMA und DMA, die den anorganischen Arsenverbindungen zuzuordnen sind, erfolgte im Urin mittels Gaschromatographie gekoppelt mit Massenspektrometrie.

Bei einem Vergleich der Aufschlussmethoden, konventioneller Druckaufschluss und mikrowellenunterstützter Druckaufschluss, zeigten beide Methoden gute Wiederfindungsraten von 89 % (Druckaufschluss nach Tölg) und 110 % (mikrowellenunterstützter Druckaufschluss).
Durch die Zubereitung des Fisches kam es zu einer Abnahme der Gehalte an Gesamtarsen und anorganischem Arsen.

	Gesamtarsen in mg/kg FG	
	roh	gebraten
Minimum	0,71	0,32
Maximum	1,62	1,31
Median	1,05	0,84

	anorganisches Arsen in mg/kg FG	
	roh	gebraten
Minimum	0,02	0,01
Maximum	0,06	0,06
Median	0,04	0,02

Es ergab sich ein prozentualer Anteil von etwa 3,8 % des anorganischen Arsens am Gesamtarsen.
Im Urin wurden nach 24 h die höchsten Gesamtarsenkonzentrationen ermittelt (113 µg/l).
72 h nach dem Fischverzehr wurde der Versuch beendet und es wurden etwa 75 % des aufgenommenen Gesamtarsens renal ausgeschieden. Für die anorganischen Arsenkonzentrationen wurden ebenfalls nach 24 h die höchsten Werte ermittelt (9,3 µg/l). Nach Beendigung des Versuches wurden etwa 160 % des aufgenommenen anorganischen Arsens renal ausgeschieden.
Im Blut konnte 2 h nach dem Fischverzehr die höchste Gesamtarsenkonzentration (42 µg/l) und 1 h nach dem Fischverzehr die höchste anorganische Arsenkonzentration (2,9 µg/l) nachgewiesen werden.
Bei der Betrachtung der Altersklassen (AK) konnten bei den Gesamtarsenkonzentrationen sowie den Konzentrationen an anorganisch gebundenem Arsen im Blut keine Unterschiede beobachtet werden. Im Gegensatz dazu wurden im Urin beim Gesamtarsen und beim

anorganischem Arsen signifikante Unterschiede nachgewiesen. Gesamtarsen wurde während der Versuchsdauer von jüngeren Versuchspersonen (AK < 30 Jahre) wesentlich mehr ausgeschieden als von älteren Personen. Anorganisches Arsen wird 24 und 48 h nach Fischverzehr vermehrt von älteren Versuchspersonen (AK 30 – 59 Jahre und AK >=60 Jahre) ausgeschieden.
Hinsichtlich der Geschlechtsspezifität konnten bezüglich der Kinetik von Arsen keine Unterschiede nachgewiesen werden.
Bezüglich des Body-Mass-Index konnten sowohl im Urin als auch im Blut keine signifikanten Unterschiede beobachtet werden.

Bei allen statistischen Berechnungen wurde von einer nicht-parametrischen Verteilung der Messwerte ausgegangen. Als statistische Methoden wurden der Wilcoxon-Test, der Mann-Whitney-U-Test sowie der Kruskal-Wallis-Test herangezogen.

Nach dem Fischverzehr kam es bei 95 % der Versuchspersonen zu keinem Anstieg der methylierten Arsenverbindungen MMA und DMA im Urin. Bei einer Person kam es durch den Fischverzehr zu einem Anstieg der einfach methylierten Arsenverbindung MMA.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit haben gezeigt, dass intensive Untersuchungen an einem größeren Kollektiv erforderlich sind. Die Datenlage über die im Urin nach Fischverzehr vorkommenden toxikologisch relevanten und möglicherweise carcinogenen methylierten Arsenverbindungen ist genau wie die Literatur über die Kinetik von Arsen in Abhängigkeit von Alter, Geschlecht und BMI gegenwärtig noch völlig unzureichend und muss verbessert werden.

16 Summary

Fish plays an important role in a healthy and balanced diet. However the arsenic content in fish my be a toxicological problem in this respect. In fish arsenic occurs in different compounds which differ greatly in their toxicity. A determination of single arsenic compounds in fish is necessary for a differentiated toxicological appraisal.

The aim of this work was to analyse whether fish meal consumption causes an increase of methylated arsenic compounds e.g. monomethylarsonic acid (MMA) and dimethylarsinic acid (DMA). Furthermore the total arsenic concentration and the concentration of inorganic arsenic in urine and blood should be determined.
With the relief of statistical methods positive correlations of kinetics in relationship to age, sex and body-mass-index (bmi) can be calculated.

For this purpose 34 volunteers (24 females and 11 males) completed a questionary indicating sex, age, body weight, medication, nutrition and smoking habits. The test persons were subdivided according to age, sex and bmi. The test persons ate between 74 and 217 g fried filet of plaice, which contained between 0.32 and 1.31 mg total arsenic/kg fresh weight and between 0.01 and 0.06 mg inorganic arsenic/kg fresh weight.

For three consecutive days after fish consumptions the test persons collected 24-hours-urine and had several blood samples taken at different times.

In order to measure the total and the inorganic arsenic concentration in fish, blood and urine the organic matrix had to be disrupted. This disruption was achieved by using a conventional pressure outcrop according to Tölg and a microwave assisted pressure outcrop, respectively.
The determination of total arsenic and inorganic arsenic in fish, blood and urine was achieved by atomic absorption spectrometry. Total arsenic was determined by graphit furnace and inorganic arsenic was measured by hydrid-generating atomic absorption spectrometry.

The specific determination of the methylated arsenic compounds MMA and DMA both of which are classified as inorganic arsenic, in urine was performed by gas-chromatography coupled with mass-spectrometry.

Both pressure outcrop methods, the pressure outcrop according to Tölg and the microwave assisted pressure outcrop, gave good recoveries (pressure outcrop according to Tölg: 89 %; microwave assisted pressure outcrop: 110 %).
The preparation of fish led to a reduction of total arsenic and inorganic arsenic. About 3.8 % of the total arsenic amounted to inorganic arsenic.

	Total arsenic (mg/kg FW)	
	raw	fried
Minimum	0.71	0.32
Maximum	1.62	1.31
Median	1.05	0.84

	Inorganic arsenic (mg/kg FW)	
	raw	fried
Minimum	0.02	0.01
Maximum	0.06	0.06
Median	0.04	0.02

In urine maximum concentrations of total arsenic were observed after 24 hours (113 µg/l). 72 hours after the fish consumption the experiment was finished. Up to this time 75 % of the ingested total arsenic concentration was excreted via kidney. Also the inorganic arsenic concentrations were highest 24 hours after the fish consumption (9.3 µg/l). 72 hours after the fish meal more than 160 % of the absorbed inorganic arsenic was excreted via urine. In blood 2 hours after fish consumption the total arsenic concentration (42 µg/l) was highest. Similarly very high concentrations of inorganic arsenic (29 µg/l) were found at that time.
No significant differences between age classes in terms of excretion of total and inorganic arsenic in blood were detected. In urine younger persons excreted more total arsenic than elder persons. For inorganic arsenic 24 and 48 hours after fish consumption age class 30 to 59 years and >= 60 years have the highest concentration in urine. After 72 hours younger persons have more inorganic arsenic in urine than other volunteers.
No evidence could be provided for differences regarding to sex and bmi.

All statistical calculations were based on a non parametric distribution of the measured data. The Wilcoxon-test, the Mann-Whitney-U-test and the Kruskal-Wallis-test were used.
In 95 % of the test persons no increases of MMA and DMA in urine were observed after fish consumption. Only one person showed an increase of MMA after fish consumption.

The results of this study implicate that intensive tests with a larger group of test persons are needed. Data records of the toxicologically relevant and perhaps carcinogenic methylated arsenic compounds in urine is currently inadequate as well as the data found in the literature about the kinetics of arsenic with respect to age, sex and bmi. For the purpose of a better understanding of the kinetics and toxicology of arsenic more scientific work is needed.

17 Anhang

Tabelle 39: Messergebnisse für Gesamtarsenkonzentrationen im Fisch in mg/kg Frischgewicht; k.A. = keine Angaben

	roh	**gebraten**
Fischnummer		
1	0,71	0,54
2	0,85	0,41
3	1	0,89
4	1,4	0,88
5	1,6	0,6
6	1,6	1,1
7	1,1	0,84
8	0,77	0,89
9	1,1	1,2
10	1,1	1,3
11	1,6	0,71
12	0,83	0,6
13	0,93	0,9
14	1,6	1,2
15	1,1	0,78
16	1	0,53
17	0,83	0,32
18	1,1	0,71
19	1,2	1,3
20	0,93	0,78
21	1,1	0,84
22	k.A.	1,3
23	k.A.	1,5
24	k.A.	2,3
25	k.A.	2,4
26	k.A.	1,5
27	k.A.	9,9
28	k.A.	2,7
29	k.A.	1,7
30	k.A.	4,6
31	k.A.	3,7
32	k.A.	2
33	k.A.	1,4
34	k.A.	5,1
35	k.A.	5,9

Tabelle 40: Messergebnisse für anorganische Arsenkonzentrationen im Fisch in mg/kg Frischgewicht; k.A. = keine Angaben

Fischnummer	roh	gebraten
1	0,02	0,02
2	0,03	0,01
3	0,03	0,02
4	0,05	0,02
5	0,05	0,01
6	0,06	0,06
7	0,03	0,02
8	0,02	0,02
9	0,03	0,02
10	0,03	0,03
11	0,04	0,02
12	0,02	0,01
13	0,03	0,02
14	0,04	0,06
15	0,05	0,02
16	0,04	0,01
17	0,03	0,01
18	0,04	0,05
19	0,05	0,02
20	0,04	0,02
21	0,04	0,01
22	k.A.	0,09
23	k.A.	0,12
24	k.A.	0,06
25	k.A.	0,12
26	k.A.	0,13
27	k.A.	0,22
28	k.A.	0,22
29	k.A.	0,15
30	k.A.	0,12
31	k.A.	0,2
32	k.A.	0,17
33	k.A.	0,11
34	k.A.	0,18
35	k.A.	0,25

Tabelle 41: Messergebnisse für Gesamtarsenkonzentrationen im Urin in µg/l in Abhängigkeit von der Zeit nach der Fischmahlzeit

Zeit in h **Probandennummer**	24	48	72
1	41	25	9,9
2	65	18	16
3	71	15	14
4	34	28	6
6	55	24	11
7	75	35	9
8	71	26	12
9	66	24	19
10	119	19	6,6
11	71	13	7,8
12	43	22	12
13	53	46	34
14	22	6,3	2,4
15	54	15	9,2
16	21	9,4	6,2
17	71	24	8,7
18	75	19	14
19	44	11	11
20	30	12	16
21	81	7,7	6,5
22	150	45	21
23	135	58	12
24	122	29	13
25	128	46	20
26	124	20	13
27	335	58	24
28	194	56	29
29	104	56	21
30	260	146	84
31	304	36	16
32	240	33	16
33	43	33	23
34	182	92	31
35	386	53	37

Tabelle 42: Messergebnisse für anorganische Arsenkonzentrationen im Urin in µg/l in Abhängigkeit von der Zeit nach der Fischmahlzeit; n.n. = nicht nachweisbar

Zeit in h **Probandenummer**	24	48	72
1	8,3	3,3	n.n.
2	12	6	n.n.
3	19	6,8	5,2
4	11	8,6	n.n.
6	7,6	5,8	n.n.
7	16	2,3	1,4
8	20	11	6,6
9	10	4,9	n.n.
10	8,2	n.n.	n.n.
11	7,9	3,3	n.n.
12	18	5,2	3
13	16	n.n.	n.n.
14	11	n.n.	n.n.
15	8,1	4,1	n.n.
16	6,3	3,7	n.n.
17	11	5,4	n.n.
18	33	n.n.	n.n.
19	9	4,2	n.n.
20	12	4,5	n.n.
21	13	2,5	n.n.
22	4,9	2,2	1,7
23	3,6	3,4	1,7
24	3,7	1,3	1,5
25	3,4	2,6	1,6
26	4,5	2,3	2,4
27	5	4,1	4,1
28	3,7	4,6	3,4
29	3,9	4,6	1,9
30	4,3	3,8	2,4
31	5,7	2,5	1,4
32	8,9	3,2	1,6
33	1,8	2	1,3
34	3,5	6,8	1,6
35	4,8	4	4,3

Tabelle 43: Messergebnisse für Gesamtarsenkonzentrationen im Blut in µg/l in Abhängigkeit von der Zeit nach der Fischmahlzeit

Zeit in h / **Probanden-nummer**	1	2	4	6	8	10	24	48
1	15	38	36	25	12	10	5,4	2,7
2	33	36	36	25	11	8,2	5,5	2,7
3	15	39	36	24	12	9	5,7	3
4	22	39	36	24	11	8,6	6,3	2,3
6	19	40	33	19	12	8,6	7,7	2,6
7	19	40	30	22	12	8,6	6,8	2,4
8	15	39	38	22	12	12	6,3	3
9	15	41	42	19	13	9,1	5,9	3
10	17	44	38	18	14	9,5	5,8	3,9
11	23	42	37	20	13	11	6,1	3,4
12	21	43	37	16	14	9,6	5,3	3,8
13	22	43	38	17	12	10	6,4	3,1
14	23	45	31	19	12	9	7,1	3,6
15	15	44	41	13	10	10	6,6	2,4
16	17	39	49	19	13	10	6	3,5
17	15	44	49	26	12	10	5,8	3,3
18	16	49	46	21	13	9,3	5,5	3,6
19	15	35	48	22	12	10	6,4	3,7
20	15	40	47	18	11	9,2	6,2	3,9
21	15	57	46	23	13	5	5	3,8

Tabelle 44: Messergebnisse für anorganische Arsenkonzentrationen im Blut in µg/l in Abhängigkeit von der Zeit nach der Fischmahlzeit; 0 = vor der Fischmahlzeit; n.n = nicht nachweisbar

Zeit in h / **Probanden-nummer**	0	1	2	4	6	8	10	24	48
1	0,18	12	16	0,09	0,3	0,21	0,24	0,09	n.n.
2	0,39	12	0,21	0,09	0,06	0,12	0,18	0,12	0,12
3	0,09	9,7	0,15	0,39	0,12	0,06	0,21	0,15	0,12
4	0,21	12	5,5	0,15	0,09	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
6	0,15	19	1,4	0,48	0,36	0,12	n.n.	n.n.	n.n.
7	0,39	29	18	0,3	0,54	0,36	0,42	0,42	n.n.
8	0,39	22	0,33	0,27	0,3	0,3	0,45	0,45	0,57
9	19	22	19	0,45	0,36	0,36	0,39	0,39	0,36
10	0,3	19	0,27	0,3	0,42	0,39	0,39	0,39	0,36
11	0,39	21	0,48	0,3	0,45	0,36	0,42	0,42	0,3
12	0,42	18	0,45	0,42	0,42	0,27	0,3	0,3	n.n.
13	0,51	0,45	0,42	0,42	0,3	0,39	0,42	0,42	0,33
14	0,39	17	0,48	0,36	0,45	0,39	0,42	0,42	0,36
15	0,51	17	17	0,36	0,5	0,3	0,54	0,54	n.n.
16	0,42	14	0,39	0,33	0,39	0,3	0,57	0,57	0,54
17	0,45	15	13	13	0,66	0,36	0,3	0,3	0,39
18	0,09	11	0,75	0,27	0,12	0,24	0,39	0,39	0,09
19	0,12	10	0,15	0,33	0,12	0,12	0,18	0,18	0,21
20	0,84	9,1	7,7	0,09	0,18	0,15	0,6	0,6	n.n.
21	0,09	11	11	10	0,45	0,45	0,12	0,12	n.n.

Tabelle 45: Ergebnisse für die Gesamtarsenkonzentrationen im Blut in Abhängigkeit von verschiedenen Altersklassen; p = Signifikanzniveau

Zeit nach Fischverzehr (h)	
1	**p = 0,516**
2	**p = 0,646**
4	**p = 0,609**
6	**p = 0,539**
8	**p = 0,314**
10	**p = 0,794**
24	**p = 0,071**
48	**p = 0,688**

Tabelle 46: Ergebnisse für die anorganischen Arsenkonzentrationen im Blut in Abhängigkeit von verschiedenen Altersklassen; p = Signifikanzniveau

Zeit nach Fischverzehr (h)	
0	**p = 0,209**
1	**p = 0,606**
2	**p = 0,844**
4	**p = 0,6**
6	**p = 0,66**
8	**p = 0,727**
10	**p = 0,758**
24	**p = 0,585**
48	**p = 0,982**

Tabelle 47: Ergebnisse für die Gesamtarsenkonzentrationen im Urin in Abhängigkeit vom Geschlecht; p = Signifikanzniveau

Zeit nach Fischverzehr (h)	
24	**p = 0,84**
48	**p = 0,768**
72	**p = 0,897**

Tabelle 48: Ergebnisse für die anorganischen Arsenkonzentrationen im Urin in Abhängigkeit vom Geschlecht; p = Signifikanzniveau

Zeit nach Fischverzehr (h)	
24	**p = 0,699**
48	**p = 0,386**
72	**p = 0,683**

Tabelle 49: Ergebnisse für die Gesamtarsenkonzentrationen im Blut in Abhängigkeit vom Geschlecht; p = Signifikanzniveau

Zeit nach Fischverzehr (h)	
1	**p = 0,721**
2	**p = 0,692**
4	**p = 0,267**
6	**p = 0,874**
8	**p = 0,204**
10	**p = 0,015**
24	**p = 0,579**
48	**p = 0,751**

Tabelle 50: Ergebnisse für die anorganischen Arsenkonzentrationen im Blut in Abhängigkeit vom Geschlecht; p = Signifikanzniveau

Zeit nach Fischverzehr (h)	
0	**p = 0,496**
1	**p = 0,782**
2	**p = 0,874**
4	**p = 0,45**
6	**p = 0,905**
8	**p = 0,401**
10	**p = 0,152**
24	**p = 0,188**
48	**p = 0,071**

Tabelle 51: Ergebnisse für die Gesamtarsenkonzentrationen im Urin in Abhängigkeit von den verschiedenen BMI-Klassen ; p = Signifikanzniveau

Zeit nach Fischverzehr (h)	
24	**p = 0,096**
48	**p = 0,41**
72	**p = 0,898**

Tabelle 52: Ergebnisse für die anorganischen Arsenkonzentrationen im Urin in Abhängigkeit von verschiedenen BMI-Klassen; p = Signifikanzniveau

Zeit nach Fischverzehr (h)	
24	**p = 0,103**
48	**p = 0,448**
72	**p = 0,168**

Tabelle 53: Ergebnisse für die Gesamtarsenkonzentrationen im Blut in Abhängigkeit von verschiedenen BMI-Klassen; p = Signifikanzniveau

Zeit nach Fischverzehr (h)	
1	**p = 0,108**
2	**p = 0,756**
4	**p = 0,324**
6	**p = 0,292**
8	**p = 0,054**
10	**p = 0,285**
24	**p = 0,306**
48	**p = 0,046**

Tabelle 54: Ergebnisse für die anorganischen Arsenkonzentrationen im Blut in Abhängigkeit von verschiedenen BMI-Klassen; p = Signifikanzniveau

Zeit nach Fischverzehr (h)	
0	**p = 0,238**
1	**p = 0,947**
2	**p = 0,032**
4	**p = 0,778**
6	**p = 0,999**
8	**p = 0,529**
10	**p =0,093**
24	**p =0,327**
48	**p = 0,079**

Tabelle 55: Gesamtarsenkonzentrationen im Urin in µg/l 24 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Alter

Altersklasse	< 30 Jahre	30 - 59 Jahre	> = 60 Jahre
Mittelwert	193	52	58
Standardfehler d. Mittelwertes	36	7	9
Median	182	53	55
Standardabweichung	118	18	28
Spannweite	344	53	98
Minimum	43	22	21
Maximum	386	75	119

Tabelle 56: Gesamtarsenkonzentrationen im Urin in µg/l 48 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Alter

Altersklasse	< 30 Jahre	30 - 59 Jahre	> = 60 Jahre
Mittelwert	51	23	20
Standardfehler d. Mittelwertes	12	4,4	2,7
Median	36	22	22
Standardabweichung	39	12	8,4
Spannweite	139	39	26
Minimum	7,7	6,3	9,4
Maximum	146	46	35

Tabelle 57: Gesamtarsenkonzentrationen im Urin in µg/l 72 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Alter

Altersklasse	< 30 Jahre	30 - 59 Jahre	> = 60 Jahre
Mittelwert	26	15	10
Standardfehler d. Mittelwertes	6,3	3,6	1
Median	21	14	9,1
Standardabweichung	21	10	3,1
Spannweite	77	31	10
Minimum	6,5	2,4	6
Maximum	84	34	16

Tabelle 58: Anorganische Arsenkonzentrationen im Urin in µg/l 24 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Alter

Altersklasse	< 30 Jahre	30 - 59 Jahre	> = 60 Jahre
Mittelwert	6,1	15	11
Standardfehler d. Mittelwertes	1,5	3,2	1,3
Median	4,3	12	9,9
Standardabweichung	5,1	8,4	4,1
Spannweite	17	25	13
Minimum	1,3	8,3	6,3
Maximum	19	33	20

Tabelle 59: Anorganische Arsenkonzentrationen im Urin in µg/l 48 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Alter; n.n. = nicht nachweisbar

Altersklasse	< 30 Jahre	30 - 59 Jahre	> = 60 Jahre
Mittelwert	3,1	2,8	4,9
Standardfehler d. Mittelwertes	0,52	1	0,9
Median	2,5	3,3	4,4
Standardabweichung	1,7	2,7	3,0
Spannweite	5,5	6	11
Minimum	1,3	n.n.	n.n.
Maximum	6,8	6	11

Tabelle 60: Anorganische Arsenkonzentrationen im Urin in µg/l 72 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Alter; n.n. = nicht nachweisbar

Altersklasse	< 30 Jahre	30 - 59 Jahre	> = 60 Jahre
Mittelwert	2,3	0,43	0,80
Standardfehler d. Mittelwertes	0,47	0,43	0,66
Median	1,6	n.n.	n.n.
Standardabweichung	1,6	1,1	2,1
Spannweite	5,2	3,0	6,6
Minimum	n.n.	n.n.	n.n.
Maximum	5,2	3,0	6,6

Tabelle 61: Gesamtarsenkonzentrationen im Blut in µg/l 1 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Alter

Altersklasse	< 30 Jahre	30 - 59 Jahre	> = 60 Jahre
Mittelwert	18	21	17
Standardfehler d. Mittelwertes	2,8	2,4	0,77
Median	15	21	16
Standardabweichung	4,9	6,4	2,4
Spannweite	8,6	18	7,5
Minimum	15	15	15
Maximum	23	33	22

Tabelle 62: Gesamtarsenkonzentrationen im Blut in µg/l 2 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Alter

Altersklasse	< 30 Jahre	30 - 59 Jahre	> = 60 Jahre
Mittelwert	46	42	41
Standardfehler d. Mittelwertes	5,5	1,7	0,89
Median	42	43	40
Standardabweichung	9,5	4,4	2,8
Spannweite	18	13	9,1
Minimum	39	36	35
Maximum	57	49	44

Tabelle 63: Gesamtarsenkonzentrationen im Blut in µg/l 4 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Alter

Altersklasse	< 30 Jahre	30 - 59 Jahre	> = 60 Jahre
Mittelwert	40	38	41
Standardfehler d. Mittelwertes	3	1,8	2,2
Median	37	37	39
Standardabweichung	5,2	4,9	7,1
Spannweite	9,6	15	19
Minimum	36	31	30
Maximum	46	46	49

Tabelle 64: Gesamtarsenkonzentrationen im Blut in µg/l 6 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Alter

Altersklasse	< 30 Jahre	30 - 59 Jahre	> = 60 Jahre
Mittelwert	22	20	20
Standardfehler d. Mittelwertes	1,4	1,4	1,2
Median	23	19	20
Standardabweichung	2,5	3,6	3,7
Spannweite	4,8	9,5	13
Minimum	20	16	13
Maximum	24	25	26

Tabelle 65: Gesamtarsenkonzentrationen im Blut in µg/l 8 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Alter

Altersklasse	< 30 Jahre	30 - 59 Jahre	> = 60 Jahre
Mittelwert	13	13	12
Standardfehler d. Mittelwertes	0,40	0,32	0,28
Median	13	13	12
Standardabweichung	0,69	0,85	0,89
Spannweite	1,3	2,6	3,2
Minimum	12	11	10
Maximum	13	14	14

Tabelle 66: Gesamtarsenkonzentrationen im Blut in µg/l 10 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Alter

Altersklasse	< 30 Jahre	30 - 59 Jahre	> = 60 Jahre
Mittelwert	8,3	9,3	9,6
Standardfehler d. Mittelwertes	1,8	0,22	0,28
Median	9	9,3	9,6
Standardabweichung	3	0,59	0,89
Spannweite	6	1,8	2,9
Minimum	5	8,2	8,6
Maximum	11	10	12

Tabelle 67: Gesamtarsenkonzentrationen im Blut in µg/l 24 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Alter

Altersklasse	< 30 Jahre	30 - 59 Jahre	> = 60 Jahre
Mittelwert	5,6	5,9	6,4
Standardfehler d. Mittelwertes	0,33	0,25	0,18
Median	5,7	5,5	6,3
Standardabweichung	0,57	0,66	0,57
Spannweite	1,1	1,8	1,9
Minimum	5	5,3	5,8
Maximum	6,1	7,1	7,7

Tabelle 68: Gesamtarsenkonzentrationen im Blut in µg/l 48 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Alter

Altersklasse	< 30 Jahre	30 - 59 Jahre	> = 60 Jahre
Mittelwert	3,4	3,2	3,1
Standardfehler d. Mittelwertes	0,23	0,18	0,20
Median	3,4	3,1	3,2
Standardabweichung	0,40	0,47	0,63
Spannweite	0,80	1,1	1,6
Minimum	3	2,7	2,3
Maximum	3,8	3,8	3,9

Tabelle 69: Anorganische Arsenkonzentrationen im Blut in µg/l vor Fischverzehr in Abhängigkeit vom Alter

Altersklasse	< 30 Jahre	30 - 59 Jahre	> = 60 Jahre
Mittelwert	0,19	3	0,38
Standardfehler d. Mittelwertes	0,10	2,7	0,07
Median	0,09	0,39	0,39
Standardabweichung	0,17	7,1	0,21
Spannweite	0,30	19	0,72
Minimum	0,09	0,09	0,12
Maximum	0,39	19	0,84

Tabelle 70: Anorganische Arsenkonzentrationen im Blut in µg/l 1 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Alter

Altersklasse	< 30 Jahre	30 - 59 Jahre	> = 60 Jahre
Mittelwert	14	13	17
Standardfehler d. Mittelwertes	3,5	2,6	1,85
Median	11	12	16
Standardabweichung	6,1	6,9	5,9
Spannweite	11	21	19
Minimum	9,7	0,45	9,1
Maximum	21	22	29

Tabelle 71: Anorganische Arsenkonzentrationen im Blut in µg/l 2 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Alter

Altersklasse	< 30 Jahre	30 - 59 Jahre	> = 60 Jahre
Mittelwert	3,8	5,3	6,4
Standardfehler d. Mittelwertes	3,5	3,1	2,3
Median	0,48	0,48	3,4
Standardabweichung	6	8,3	7,2
Spannweite	11	19	18
Minimum	0,15	0,21	0,15
Maximum	11	19	18

Tabelle 72: Anorganische Arsenkonzentrationen im Blut in µg/l 4 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Alter

Altersklasse	< 30 Jahre	30 - 59 Jahre	> = 60 Jahre
Mittelwert	3,6	0,30	1,6
Standardfehler d. Mittelwertes	3,3	0,06	1,3
Median	0,39	0,36	0,32
Standardabweichung	5,6	0,15	4,1
Spannweite	9,8	0,36	13
Minimum	0,30	0,09	0,09
Maximum	10	0,45	13

Tabelle 73: Anorganische Arsenkonzentrationen im Blut in µg/l 6 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Alter

Altersklasse	< 30 Jahre	30 - 59 Jahre	> = 60 Jahre
Mittelwert	0,27	0,29	0,36
Standardfehler d. Mittelwertes	0,10	0,06	0,06
Median	0,24	0,30	0,38
Standardabweichung	0,17	0,15	0,19
Spannweite	0,33	0,39	0,57
Minimum	0,12	0,06	0,09
Maximum	0,45	0,45	0,66

Tabelle 74: Anorganische Arsenkonzentrationen im Blut in µg/l 8 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Alter; n.n = nicht nachweisbar

Altersklasse	< 30 Jahre	30 - 59 Jahre	> = 60 Jahre
Mittelwert	0,29	0,28	0,24
Standardfehler d. Mittelwertes	0,12	0,04	0,04
Median	0,36	0,27	0,30
Standardabweichung	0,20	0,10	0,13
Spannweite	0,39	0,27	0,39
Minimum	0,06	0,12	n.n.
Maximum	0,45	0,39	0,39

Tabelle 75: Anorganische Arsenkonzentrationen im Blut in µg/l 10 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Alter; n.n = nicht nachweisbar

Altersklasse	< 30 Jahre	30 - 59 Jahre	> = 60 Jahre
Mittelwert	0,32	0,27	0,27
Standardfehler d. Mittelwertes	0,06	0,04	0,06
Median	0,33	0,27	0,30
Standardabweichung	0,11	0,11	0,19
Spannweite	0,21	0,33	0,60
Minimum	0,21	0,09	n.n.
Maximum	0,42	0,42	0,60

Tabelle 76: Anorganische Arsenkonzentrationen im Blut in µg/l 24 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Alter; n.n. = nicht nachweisbar

Altersklasse	< 30 Jahre	30 - 59 Jahre	> = 60 Jahre
Mittelwert	0,23	0,30	0,35
Standardfehler d. Mittelwertes	0,10	0,05	0,07
Median	0,15	0,39	0,41
Standardabweichung	0,17	0,14	0,22
Spannweite	0,30	0,33	0,60
Minimum	0,12	0,09	n.n.
Maximum	0,42	0,42	0,60

Tabelle 77: Anorganische Arsenkonzentrationen im Blut in µg/l 48 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Alter; n.n = nicht nachweisbar

Altersklasse	< 30 Jahre	30 - 59 Jahre	> = 60 Jahre
Mittelwert	0,14	0,18	0,21
Standardfehler d. Mittelwertes	0,09	0,06	0,08
Median	0,12	0,12	0,11
Standardabweichung	0,15	0,17	0,24
Spannweite	0,30	0,36	0,57
Minimum	n.n.	n.n.	n.n.
Maximum	0,30	0,36	0,57

Tabelle 78: Gesamtarsenkonzentrationen im Urin in µg/l 24 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Geschlecht

Geschlecht	männlich	weiblich
Mittelwert	99	121
Standardfehler d. Mittelwertes	20	22
Median	71	75
Standardabweichung	67	104
Spannweite	219	364
Minimum	21	22
Maximum	240	386

Tabelle 79: Gesamtarsenkonzentrationen im Urin in µg/l 48 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Geschlecht

Geschlecht	männlich	weiblich
Mittelwert	31	36
Standardfehler d. Mittelwertes	4,9	6,6
Median	26	24
Standardabweichung	16	31
Spannweite	48	140
Minimum	9,4	6,3
Maximum	58	146

Tabelle 80: Gesamtarsenkonzentrationen im Urin in µg/l 72 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Geschlecht

Geschlecht	männlich	weiblich
Mittelwert	16	18
Standardfehler d. Mittelwertes	2,6	3,4
Median	13	14
Standardabweichung	8,6	16
Spannweite	27	81
Minimum	6,2	2,4
Maximum	34	84

Tabelle 81: Anorganische Arsenkonzentrationen im Urin in µg/l 24 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Geschlecht

Geschlecht	männlich	weiblich
Mittelwert	11	8,5
Standardfehler d. Mittelwertes	2,7	1,0
Median	8,3	8,1
Standardabweichung	8,9	4,7
Spannweite	29	17
Minimum	3,6	1,8
Maximum	33	19

Tabelle 82: Anorganische Arsenkonzentrationen im Urin in µg/l 48 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Geschlecht; n.n. = nicht nachweisbar

Geschlecht	männlich	weiblich
Mittelwert	3,5	3,9
Standardfehler d. Mittelwertes	0,87	0,44
Median	3,3	4,1
Standardabweichung	2,9	2,1
Spannweite	11	8,6
Minimum	n.n.	n.n.
Maximum	11	8,6

Tabelle 83: Anorganische Arsenkonzentrationen im Urin in µg/l 72 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Geschlecht; n.n. = nicht nachweisbar

Geschlecht	männlich	weiblich
Mittelwert	1,3	1,4
Standardfehler d. Mittelwertes	0,62	0,33
Median	n.n.	1,4
Standardabweichung	2,1	1,6
Spannweite	6,6	5,2
Minimum	n.n.	n.n.
Maximum	6,6	5,2

Tabelle 84: Gesamtarsenkonzentrationen im Blut in µg/l 1 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Geschlecht

Geschlecht	männlich	weiblich
Mittelwert	17	19
Standardfehler d. Mittelwertes	1,3	1,4
Median	16	17
Standardabweichung	3,5	5,2
Spannweite	8,6	18
Minimum	15	15
Maximum	23	33

Tabelle 85: Gesamtarsenkonzentrationen im Blut in µg/l 2 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Geschlecht

Geschlecht	männlich	weiblich
Mittelwert	42	42
Standardfehler d. Mittelwertes	1,4	1,5
Median	41	40
Standardabweichung	3,7	5,4
Spannweite	11	22
Minimum	38	35
Maximum	49	57

Tabelle 86: Gesamtarsenkonzentrationen im Blut in µg/l 4 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Geschlecht

Geschlecht	männlich	weiblich
Mittelwert	41	39
Standardfehler d. Mittelwertes	1,9	1,8
Median	38	37
Standardabweichung	5	6,6
Spannweite	13	19
Minimum	36	30
Maximum	49	49

Tabelle 87: Gesamtarsenkonzentrationen im Blut in µg/l 6 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Geschlecht

Geschlecht	männlich	weiblich
Mittelwert	20	21
Standardfehler d. Mittelwertes	0,90	1,1
Median	20	22
Standardabweichung	2,4	3,9
Spannweite	7,4	13
Minimum	17	13
Maximum	25	26

Tabelle 88: Gesamtarsenkonzentrationen im Blut in µg/l 8 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Geschlecht

Geschlecht	männlich	weiblich
Mittelwert	13	12
Standardfehler d. Mittelwertes	0,17	0,28
Median	13	12
Standardabweichung	0,45	1
Spannweite	1,4	3,4
Minimum	12	10
Maximum	13	14

Tabelle 89: Gesamtarsenkonzentrationen im Blut in µg/l 10 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Geschlecht

Geschlecht	männlich	weiblich
Mittelwert	10	8,8
Standardfehler d. Mittelwertes	0,33	0,36
Median	9,9	9
Standardabweichung	0,86	1,29
Spannweite	2,4	5
Minimum	9,1	5
Maximum	12	10

Tabelle 90: Gesamtarsenkonzentrationen im Blut in µg/l 24 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Geschlecht

Geschlecht	männlich	weiblich
Mittelwert	6	6,2
Standardfehler d. Mittelwertes	0,14	0,21
Median	6	6,2
Standardabweichung	0,38	0,76
Spannweite	1	2,7
Minimum	5,4	5
Maximum	6,4	7,7

Tabelle 91: Gesamtarsenkonzentrationen im Blut in µg/l 48 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Geschlecht

Geschlecht	männlich	weiblich
Mittelwert	3,2	3,2
Standardfehler d. Mittelwertes	0,13	0,17
Median	3,1	3,3
Standardabweichung	0,34	0,63
Spannweite	1	1,6
Minimum	2,7	2,3
Maximum	3,6	3,9

Tabelle 92: Anorganische Arsenkonzentrationen im Blut in µg/l vor Fischverzehr in Abhängigkeit vom Geschlecht

Geschlecht	männlich	weiblich
Mittelwert	3	0,33
Standardfehler d. Mittelwertes	2,7	0,06
Median	0,39	0,39
Standardabweichung	7,1	0,21
Spannweite	19	0,75
Minimum	0,09	0,09
Maximum	19	0,84

Tabelle 93: Anorganische Arsenkonzentrationen im Blut in µg/l 1 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Geschlecht

Geschlecht	männlich	weiblich
Mittelwert	15	15
Standardfehler d. Mittelwertes	2,9	1,5
Median	14	15
Standardabweichung	7,7	5,5
Spannweite	21	19
Minimum	0,45	9,1
Maximum	22	29

Tabelle 94: Anorganische Arsenkonzentrationen im Blut in µg/l 2 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Geschlecht

Geschlecht	männlich	weiblich
Mittelwert	5,3	5,8
Standardfehler d. Mittelwertes	3,1	1,9
Median	0,48	1,4
Standardabweichung	8,3	6,8
Spannweite	19	18
Minimum	0,33	0,15
Maximum	19	18

Tabelle 95: Anorganische Arsenkonzentrationen im Blut in µg/l 4 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Geschlecht

Geschlecht	männlich	weiblich
Mittelwert	2,1	0,30
Standardfehler d. Mittelwertes	1,2	0,04
Median	0,36	0,30
Standardabweichung	4,3	0,12
Spannweite	13	0,36
Minimum	0,09	0,09
Maximum	13	0,45

Tabelle 96: Anorganische Arsenkonzentrationen im Blut in µg/l 6 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Geschlecht

Geschlecht	männlich	weiblich
Mittelwert	0,32	0,32
Standardfehler d. Mittelwertes	0,04	0,05
Median	0,30	0,36
Standardabweichung	0,10	0,20
Spannweite	0,33	0,60
Minimum	0,12	0,06
Maximum	0,45	0,66

Tabelle 97: Anorganische Arsenkonzentrationen im Blut in µg/l 8 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Geschlecht; n.n. = nicht nachweisbar

Geschlecht	männlich	weiblich
Mittelwert	0,31	0,24
Standardfehler d. Mittelwertes	0,03	0,04
Median	0,30	0,27
Standardabweichung	0,07	0,15
Spannweite	0,18	0,45
Minimum	0,21	n.n.
Maximum	0,39	0,45

Tabelle 98: Anorganische Arsenkonzentrationen im Blut in µg/l 10 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Geschlecht; n.n. = nicht nachweisbar

Geschlecht	männlich	weiblich
Mittelwert	0,34	0,24
Standardfehler d. Mittelwertes	0,06	0,04
Median	0,33	0,27
Standardabweichung	0,16	0,14
Spannweite	0,51	0,42
Minimum	0,09	n.n.
Maximum	0,60	0,42

Tabelle 99: Anorganische Arsenkonzentrationen im Blut in µg/l 24 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Geschlecht; n.n.= nicht nachweisbar

Geschlecht	männlich	weiblich
Mittelwert	0,39	0,27
Standardfehler d. Mittelwertes	0,06	0,05
Median	0,42	0,30
Standardabweichung	0,15	0,19
Spannweite	0,48	0,60
Minimum	0,09	n.n.
Maximum	0,57	0,60

Tabelle 100: Anorganische Arsenkonzentrationen im Blut in µg/l 48 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom Geschlecht; n.n. = nicht nachweisbar

Geschlecht	männlich	weiblich
Mittelwert	0,31	0,12
Standardfehler d. Mittelwertes	0,08	0,04
Median	0,33	0
Standardabweichung	0,21	0,16
Spannweite	0,57	0,39
Minimum	n.n.	n.n.
Maximum	0,57	0,39

Tabelle 101: Gesamtarsenkonzentrationen im Urin in µg/l 24 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom BMI

BMI	< 25	25 - 30	> = 30
Mittelwert	137	80	98
Standardfehler d. Mittelwertes	23	22	40
Median	121	54	65
Standardabweichung	98	66	105
Spannweite	365	210	302
Minimum	21	30	34
Maximum	386	240	335

Tabelle 102: Gesamtarsenkonzentrationen im Urin in µg/l 48 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom BMI

BMI	< 25	25 - 30	> = 30
Mittelwert	40	23	33
Standardfehler d. Mittelwertes	8,3	2,4	5,3
Median	32	22	28
Standardabweichung	35	7,1	14
Spannweite	140	21	39
Minimum	6,3	12	18
Maximum	146	33	58

Tabelle 103: Gesamtarsenkonzentrationen im Urin in µg/l 72 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom BMI

BMI	< 25	25 - 30	> = 30
Mittelwert	19	15	16
Standardfehler d. Mittelwertes	4,4	1,4	3,8
Median	13	14	11
Standardabweichung	19	4,3	10
Spannweite	81	13	28
Minimum	2,4	9,2	6,0
Maximum	84	23	34

Tabelle 104: Anorganische Arsenkonzentrationen im Urin in µg/l 24 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom BMI

BMI	< 25	25 - 30	> = 30
Mittelwert	7,5	12	11
Standardfehler d. Mittelwertes	1,2	3,1	1,5
Median	5,3	8,9	11
Standardabweichung	5,0	9,2	4,0
Spannweite	16	31	11
Minimum	3,4	1,8	5,0
Maximum	20	33	16

Tabelle 105: Anorganische Arsenkonzentrationen im Urin in µg/l 48 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom BMI; n.n. = nicht nachweisbar

BMI	< 25	25 - 30	> = 30
Mittelwert	3,7	3,3	4,6
Standardfehler d. Mittelwertes	0,60	0,55	1,1
Median	3,5	3,3	5,4
Standardabweichung	2,5	1,7	2,8
Spannweite	11	5,2	8,6
Minimum	n.n.	n.n.	n.n.
Maximum	11	5,2	8,6

Tabelle 106: Anorganische Arsenkonzentrationen im Urin in µg/l 72 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom BMI; n.n. = nicht nachweisbar

BMI	< 25	25 - 30	> = 30
Mittelwert	1,8	0,91	0,78
Standardfehler d. Mittelwertes	0,45	0,39	0,58
Median	1,6	0	0
Standardabweichung	1,9	1,2	1,5
Spannweite	6,6	3,0	4,1
Minimum	n.n.	n.n.	n.n.
Maximum	6,6	3,0	4,1

Tabelle 107: Gesamtarsenkonzentrationen im Blut in µg/l 1 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom BMI

BMI	< 25	25 - 30	> = 30
Mittelwert	17	16	22
Standardfehler d. Mittelwertes	1,3	1	2,5
Median	16	15	20
Standardabweichung	3,7	2,4	6
Spannweite	8,9	6,3	18
Minimum	15	15	15
Maximum	23	21	33

Tabelle 108: Gesamtarsenkonzentrationen im Blut in µg/l 2 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom BMI

BMI	< 25	25 - 30	> = 30
Mittelwert	43	42	40
Standardfehler d. Mittelwertes	2,3	1,6	1,2
Median	41	42	40
Standardabweichung	6,6	3,9	2,9
Spannweite	22	11	8,2
Minimum	35	38	36
Maximum	57	49	44

Tabelle 109: Gesamtarsenkonzentrationen im Blut in µg/l 4 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom BMI

BMI	< 25	25 - 30	> = 30
Mittelwert	40	42	37
Standardfehler d. Mittelwertes	2,3	1,8	2,7
Median	38	41	36
Standardabweichung	6,5	4,4	6,6
Spannweite	18	11	19
Minimum	31	36	30
Maximum	49	47	49

Tabelle 110: Gesamtarsenkonzentrationen im Blut in µg/l 6 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom BMI

BMI	< 25	25 - 30	> = 30
Mittelwert	21	19	22
Standardfehler d. Mittelwertes	0,78	1,7	1,4
Median	21	19	23
Standardabweichung	2,2	4,1	3,5
Spannweite	6,3	12	9
Minimum	18	13	17
Maximum	24	25	26

Tabelle 111: Gesamtarsenkonzentrationen im Blut in µg/l 8 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom BMI

BMI	< 25	25 - 30	> = 30
Mittelwert	13	12	12
Standardfehler d. Mittelwertes	0,20	0,50	0,17
Median	13	12	12
Standardabweichung	0,57	1,2	0,42
Spannweite	1,8	3,4	1,1
Minimum	12	10	11
Maximum	14	14	12

Tabelle 112: Gesamtarsenkonzentrationen im Blut in µg/l 10 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom BMI

BMI	< 25	25 - 30	> = 30
Mittelwert	9,4	9,5	8,9
Standardfehler d. Mittelwertes	0,70	0,13	0,29
Median	9,7	9,5	8,6
Standardabweichung	2	0,32	0,70
Spannweite	6,6	0,80	1,8
Minimum	5	9,1	8,2
Maximum	12	9,9	10

Tabelle 113: Gesamtarsenkonzentrationen im Blut in µg/l 24 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom BMI

BMI	< 25	25 - 30	> = 30
Mittelwert	6,1	5,8	6,4
Standardfehler d. Mittelwertes	0,22	0,21	0,32
Median	6,1	5,7	6,4
Standardabweichung	0,61	0,51	0,78
Spannweite	2,1	1,3	2,2
Minimum	5	5,3	5,5
Maximum	7,1	6,6	7,7

Tabelle 114: Gesamtarsenkonzentrationen im Blut in µg/l 48 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom BMI

BMI	< 25	25 - 30	> = 30
Mittelwert	3,5	3,3	2,8
Standardfehler d. Mittelwertes	0,12	0,25	0,16
Median	3,6	3,3	2,7
Standardabweichung	0,34	0,62	0,38
Spannweite	0,88	1,5	1
Minimum	3	2,4	2,3
Maximum	3,9	3,9	3,3

Tabelle 115: Anorganische Arsenkonzentrationen im Blut in µg/l vor Fischverzehr in Abhängigkeit vom BMI

BMI	< 25	25 - 30	> = 30
Mittelwert	0,27	3,5	0,35
Standardfehler d. Mittelwertes	0,05	3,1	0,06
Median	0,35	0,47	0,39
Standardabweichung	0,15	7,6	0,14
Spannweite	0,33	19	0,36
Minimum	0,09	0,09	0,15
Maximum	0,42	19	0,51

Tabelle 116: Anorganische Arsenkonzentrationen im Blut in µg/l 1 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom BMI

BMI	< 25	25 - 30	> = 30
Mittelwert	15	15	14
Standardfehler d. Mittelwertes	1,7	2	3,7
Median	16	15	13
Standardabweichung	4,9	4,9	9,2
Spannweite	12	12	28
Minimum	9,7	9	0,45
Maximum	22	22	29

Tabelle 117: Anorganische Arsenkonzentrationen im Blut in µg/l 2 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom BMI

BMI	< 25	25 - 30	> = 30
Mittelwert	1,6	10	6,4
Standardfehler d. Mittelwertes	1,3	3,4	3
Median	0,36	12	3,4
Standardabweichung	3,7	8,3	7,5
Spannweite	11	19	18
Minimum	0,15	0,45	0,21
Maximum	11	19	18

Tabelle 118: Anorganische Arsenkonzentrationen im Blut in µg/l 4 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom BMI

BMI	< 25	25 - 30	> = 30
Mittelwert	1,6	0,28	2,5
Standardfehler d. Mittelwertes	1,2	0,07	2,2
Median	0,33	0,32	0,36
Standardabweichung	3,5	0,16	5,3
Spannweite	9,8	0,36	13
Minimum	0,27	0,09	0,09
Maximum	10	0,45	13

Tabelle 119: Anorganische Arsenkonzentrationen im Blut in µg/l 6 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom BMI

BMI	< 25	25 - 30	> = 30
Mittelwert	0,31	0,32	0,34
Standardfehler d. Mittelwertes	0,05	0,06	0,10
Median	0,35	0,33	0,33
Standardabweichung	0,14	0,15	0,24
Spannweite	0,33	0,39	0,60
Minimum	0,12	0,12	0,06
Maximum	0,45	0,51	0,66

Tabelle 120: Anorganische Arsenkonzentrationen im Blut in µg/l 8 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom BMI; n.n. = nicht nachweisbar

BMI	< 25	25 - 30	> = 30
Mittelwert	0,30	0,26	0,23
Standardfehler d. Mittelwertes	0,05	0,03	0,07
Median	0,33	0,26	0,24
Standardabweichung	0,14	0,07	0,17
Spannweite	0,39	0,21	0,39
Minimum	0,06	0,15	n.n.
Maximum	0,45	0,36	0,39

Tabelle 121: Anorganische Arsenkonzentrationen im Blut in µg/l 10 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom BMI; n.n. = nicht nachweisbar

BMI	< 25	25 - 30	> = 30
Mittelwert	0,36	0,22	0,22
Standardfehler d. Mittelwertes	0,05	0,04	0,07
Median	0,38	0,26	0,24
Standardabweichung	0,14	0,10	0,17
Spannweite	0,42	0,21	0,39
Minimum	0,18	0,09	n.n.
Maximum	0,6	0,3	0,39

Tabelle 122: Anorganische Arsenkonzentrationen im Blut in µg/l 24 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom BMI; n.n. = nicht nachweisbar

BMI	< 25	25 - 30	> = 30
Mittelwert	0,34	0,39	0,21
Standardfehler d. Mittelwertes	0,06	0,07	0,08
Median	0,41	0,39	0,21
Standardabweichung	0,16	0,18	0,20
Spannweite	0,45	0,51	0,42
Minimum	0,12	0,09	n.n.
Maximum	0,57	0,6	0,42

Tabelle 123: Anorganische Arsenkonzentrationen im Blut in µg/l 48 h nach Fischverzehr in Abhängigkeit vom BMI; n.n. = nicht nachweisbar

BMI	< 25	25 - 30	> = 30
Mittelwert	0,31	0,08	0,14
Standardfehler d. Mittelwertes	0,07	0,06	0,07
Median	0,33	0,00	0,06
Standardabweichung	0,20	0,14	0,18
Spannweite	0,57	0,36	0,39
Minimum	n.n.	n.n.	n.n.
Maximum	0,57	0,36	0,39

Informationsblatt

Lieber Versuchsteilnehmer!

Vorweg ein Dankeschön, dass Du am Versuch im Rahmen meiner Doktorarbeit teilnimmst! Meine Arbeit trägt den Titel: Toxikokinetik von Arsen im Menschen nach dem Verzehr von Fisch."

Arsen gehört zu den Halbmetallen. Seine Verbindungen sind sehr unterschiedlich toxisch. Zu den toxischen Verbindungen zählen alle löslichen Verbindungen des 3- und 5-wertigen Arsens, wie Oxide und Halogenide, Arsenite und Arsenate, Arsenik, das gasförmige Arsin sowie mono- und dimethylierte Verbindungen.

Weniger toxisch sind dagegen metallisches Arsen, Metallarsenide, Verbindungen mit Schwefel und das mit Fisch und Meeresfrüchten aufgenommene Arsenobetain, welches mit 99% den überwiegenden Anteil des Arsens in Fischen einnimmt.

In vielen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass es in marinen Lebewesen zu einer Akkumulation von Arsenobetain und damit zum Teil zu sehr hohen Arsenwerten kommt. Es konnte nachgewiesen werden, dass es nach dem Verzehr von Fisch zu einer erhöhten Arsenausscheidung über den Urin kommt.

In meiner Arbeit sollen aus dem Arsengehalt im Organismus (Blut und Urin) nach dem Fischgenuss Rückschlüsse auf die Toxikokinetik des Arsens im menschlichen Körper gezogen werden. Anhand der Nachweise der unterschiedlichen Arsenverbindungen sollen Gesundheitsrisiken für die Bevölkerung neu abgeschätzt werden.

Im Rahmen des Versuches besteht keine Gefahr einer Arsenvergiftung, da ich für den Versuch ganz „normalen" Fisch (wahrscheinlich Schollenfilet) nehmen werde, den es im Handel zu kaufen gibt.

Bitte beachten!!!

- Wichtig ist, dass Du darauf achtest, möglichst von Samstag, den 22.04.06 bis einschließlich Dienstag, den 02.05.06 keinen Fisch oder andere marine Lebensmittel, keine Speisepilze und keine Innereien zu essen.
-
- Außerdem sollte für die vier Versuchstage bei jeder Mahlzeit sehr detailliert und gewissenhaft ein Ernährungsprotokoll geführt werden. Die von mir gestalteten Vordrucke für die Ernährungsprotokolle füge ich diesem Informationsblatt bei. So kannst Du die verzehrten Nahrungsmittel und die Mengen immer sofort aufschreiben und nichts wird vergessen

Selbstverständlich wirst Du über die Ergebnisse der Untersuchungen informiert.
Ich hoffe, Du wirst Spaß an dem Versuch haben und ich freue mich schon auf unsere Zusammenarbeit!!!

Zeitplan:

Freitag, den 28.04.06
Sammelurin ab 10 Uhr; d.h. um 10 Uhr entleerst Du Deine Blase zum letzten Mal in die Toilette, danach **nur noch** in das Urinsammelgefäß.
Am Samstag um 10 Uhr entleerst Du Deine Blase zum letzten Mal in das Sammelgefäß vom ersten Tag und beginnst danach mit dem Sammelgefäß für den zweiten Tag.

Samstag, den 29.04.06
10 Uhr Wechsel der Urinsammelgefäße und Treffen zur Fischmahlzeit
Um ca. 11 Uhr Verzehr der Fischmahlzeit, dann Venenweg legen. Vor der Fischmahlzeit Blutabnahme und dann weitere Blutabnahmen um:
12 Uhr, 13 Uhr, 15 Uhr, 17 Uhr, 19 Uhr und 21 Uhr

Sonntag, den 30.04.06
10 Uhr Wechsel der Urinsammelgefäße und dann mit dem Sammelgefäß für den dritten Tag beginnen.
Um ca. 12 Uhr Blutentnahme

Montag, den 01.05.06
10 Uhr Wechsel der Urinsammelgefäße und dann mit dem Sammelgefäß für den dritten Tag beginnen.
Um ca. 12 Uhr Blutentnahme

Dienstag, den 02.05.06
Um 10 Uhr zum letzten Mal Blase in das Urinsammelgefäß des vierten Tages entleeren.

Probandenfragebogen: (nicht zutreffendes bitte streichen!!)

? Probandennummer:

? Alter:

? Größe:

? Gewicht:

? Geschlecht: weiblich / männlich

? Ich bin Raucher / Nichtraucher

? Ich esse normalerweise
fast nie
selten
ca. 1 x im Monat
ca. 1 x in der Woche
mehrmals in der Woche
Fisch, Krusten- ,Schalen- und/oder Weichtiere.

? Ich leide an Blutgerinnungsstörungen: ja / nein

? Ich leide an Blutarmut: ja / nein

? Ich nehme regelmäßig Medikamente ein: ja / nein
Wenn ja, welche Medikamente und in welchen Zeitabständen?

18 Literaturverzeichnis

Abedin, M.J.; Cresser, MS.; Meharg, A.A.; Feldmann, J.; Cotter-Howells, J. (2002): Arsenic accumulation and metabolism in rice (Oryza sativa L.). Environ. Sci. Technol 36 (5): 962-968

Abedin, M. J.; Feldmann, J.; Meharg, A.A. (2002): Uptake kinetics of arsenic species in rice plants. Plant Physiol. 128 (3): 1120-1128

Adam, B. (2004): DMPS und Dimercaprol in der Therapie der akuten Arsenintoxikation. Dissertation aus der medizinschen Fakultät der Technischen Universität München

Andrewes, P.; Demarini, D.M.; Funasaka, K.; Wallace, K.; Lai, V.W.; Sun, H.; Cullen, W.R.; Kitchin, K.T. (2004): Do arsenosugars pose a risk to human health? The comparative toxicities of a trivalent and pentavalent arsenosugar. Environ. Sci. Technol., 38, 4140-4148

Al Ramalli, S.W.; Haris, P.; Harrington, C.F.; Ayub, M. (2005): A survey of arsenic in foodstuff on soil in the United Kingdom and imported from Bangladesh. Sci. Total. Environ. 337 (1-3): 23-30

Arbouine M.W., Wilson, H.K. (1992): The effect of seafood consumption on the assessment of occupational exposure to arsenic by urinary arsenic speciation measurements. J. Trace Electrolytes Health Dis. 6 (3): 153–60

Baasner, J., Fisch, W., Bunzel, F. (1990): Bestimmung von Arsen im Urin mit der Fließinjektionstechnik. Analysentechnische Berichte, Perkin Elmer, Überlingen

Ballin, U. (1992): Speziierung von Arsenobetain in marinen Fischen, Krusten-, Schalen- und Weichtieren durch Reaktions- Headspace- Gaschromatographie. Dissertation im Fachbereich Chemie, Cuxhaven

Ballin,U.; Kruse, R.; Rüssel, H.-A. (1994): Determination of total arsenic and speciation of arsenobetaine in marine fish by means of reaction-headspace gas chromatography utilizing flame-ionization detection and element specific spectrometric detection. Fresen. J. Anal. Chem. 350(1-2): 54–61

Basu, A.; Mahata, J.; Roy, A.K.; Sarker, J.N.; Poddar, G.; Nandy, A.K.; Sarker, P.K.; Dutta, P.K.; Banerjee, A.; Das, M.; Ray, K.; Roychaudhury, S.; Natarajan, A.T.; Nilsson, R.; Giri, A.K. (2002): Enhanced-frequency of micronuclei in individuals exposed to arsenic through drinking water in West Bengal, India. Mutat. Res-Gen Tox. En. 516 (1-2): 29–40

Biesalski, H.K.; Fürst, P.; Kasper, H.; Kluthe, R.; Pölert, W.; Puchstein, C.; Stähelin, H.B. (1999): Ernährungsmedizin. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York

Binder, S., Forney D., Kaye W., Paschal D. (1987): Arsenic exposure in children living near a former copper smelter. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 39 (1), 114-121

Boch, K.. (2003): Entwicklung und Optimierung von modernen Probenvorbereitungsmethoden zur Ultraspurenbestimmung umweltrelevanter Elemente mittels Graphitrohrofentechnik. Dissertation im Fachbereich Chemie, Technische Universität München

Böcher, A.; Müller, M.; Buchter, A. (2006): Die Arsenerkrankungen der Winzer und umweltmedizinische Bedeutung der Arsenbelastung. In: Zbl. Arbeitsmedizin 56: 58-67

Borak, J.; Hosgood, H.D. (2007): Seafood arsenic: Implications for human risk assessment. Regul. Toxicol. Pharm. 47 (2), 204-212

Borges, M. (2006): Synthese und Charakterisierung von Ionenaustauschharzen zur Abtrennung von Arsen und Selen aus Wässern. Dissertation aus der naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Paderborn

Branch, S., Ebdon, L.; O`Neill, P. (1994): Determination of arsenic species in fish by directly coupled high-performance liquid chromatography induced coupled plasma mass spectrometry. J. Anal. Atom. Spectrom. 9 (1): 33-37

Brown, R.M.; Newton, D.; Pickford, C.J.; Sherlock, J.C. (1990): Human metabolism of arsenobetaine ingested with fish. Hum. Exp. Toxicol. 9 (1): 41-6

Bundesinstitut für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit (2005): Müllverbrennung – ein Gefahrenherd? Abschied von der Dioxinschleuder

*Burló, F.; Guijarro, I.; Carbonell-Barrachina, A.A.; Valero, D.; Martin-Sánchez, F. (*1999): Arsenic species: Effect on and accumulation by tomato plants. J. Agric. Food Chem. 47 (3): 1247-1253

Castlehouse, H.; Smith, C.; Raab, A.; Deacon, C.; Meharg, A.A.; Feldmann, J. (2003): Biotransformation and Accumulation of Arsenic in Soil Amended with Seaweed. Environ. Sci. Technol.37 (5); 951-957

Challenger, F. (1945): Biological methylation. Chem. Rev. 36, 315-361

Chausseau, M., Roussel, C.; Gilon, N., Mermes, J.M. (2000): Optimization of HPLC-ICP-AES for the determination of arsenic species. Fresenius J. Anal. Chem. 366 (5): 476–480

Chowdhury, U.K., Biswas, B.K., Chowdhury, T.R.; Samanta, G.; Mandal, B.K.; Basu, G.C.; Chanda, C.R.; Codh, D.; Saha, K.C.; Mukherje, S.K.; Ray, S.; Kabir, S. (2000): Groundwater arsenic contamination in Bangladesh and West Bengal, India. Environ. Health Persp. 108 (5), 393-397

Christensen, JM (1995): Human exposure to toxic metals – Factors influencing interpretation of biomonitoring results. Sci. Total. Environ. 166 (1-3): 89–135

Ciu, X.; Kobayashi, Y.; Hayakawa, T.; Hirano, S. (2004): Arsenic speciation in bile and urine following oral and intravenous exposure to inorganic and organic arsenic in rats. Toxicol. Sci. 82 (2): 478–487

Crecelius, E.A., Johnson, C.J., Hofer, G.C. (1974): Contamination of soils near a copper smelter by arsenic, antimony and lead. Water Air Soil Pollut.3 (3), 337-342

Cullen, W.R.; Reimer, K.J. (1989): Arsenic speciation in the environment. Chem. Ver. 89, 713-764

Delnomdedieu, M.; Basti, M.M.; Styblo, M.; Otovos, J.D.; Thomas, D.J. (1994): Complexation of arsenic species in rabbit erythrocytes. Chem. Res. Toxicol. 7 (5): 621–627

Dembitsky, V.M.; Levitsky, D.O. (2004): Arsenolipids. Prog. Lipid Res. 43 (5): 403-448

Demesmay, C.; Olle, M.; Porthault, M. (1994): Arsenic speciation by coupling high-performance liquid chromatography with induced coupled plasma mass spectrometry. Fresenius J. Anal. Chem. 348 (3): 205–210

DFG Deutsche Forschungsgemeinschaft: MAK und BAT-Werte Liste 2007. Wiley-VCH, Weinheim

Dickerson, O.B. (1980): Arsenic. In: Waldron HA (Hrsg.): Metals in the environment. Academic Press, New York

Ding, W.; Hudson, L.G.; Liu, K.J. (2005): Inorganic arsenic compounds cause oxidative damage to DNA and protein by including ROS and RNS generation in human keratinocytes. Mol. Cell. Biochem.; 279 (1-2): 105-120

Dixon, H.B.F. (1997): The biochemical action of arsenic acids especially as phosphate analogues. In: Hughes, M.F. (2002): Arsenic toxicity and potential mechanism of action. Toxicol. Lett. 133 (1): 1–16

Do, B.; Alet, P.; Pradeau, D. Poupon, J.; Guilley, M.; Guyon, F. (2000): On-line reserved-phase liquid chromatography hydride generation emission spectrometry: Speciation of arsenic in urine of patients intravenously treated with As2O3. J. Chromatogr. B 740 (2): 179–186

Do, B.; Robinet, S.; Pradeau, D.; Guyon, F. (2001): Application of central composite designs for optimisation of the chromatographic separation of monomethylarsonate and dimethylarsinate and of selenomethionine and selenite by ion-pair chromatography coupled with plasma mass spectrometric detection. Analyst 126 (5): 594–601

Dombrowski, P.M.; Long, W.; Parley, K.J.; Mahoney, J.D.; Capitani, J.F.; Di Toro; D.M. (2005): Thermodynamic analysis of arsenic methylation. Environ. Sci. Technol. 39 (7): 2169-76

Dopp, E.; Hartmann, L.M.; Florea, A.-M.; von Recklinghausen, U.; Pieper, R.; Shokouhi, B.; Rettenmeier, A.W.; Hirner, A.V.; Obe, G. (2004): Uptake of inorganic and organic derivates of arsenic associated with induced cytotoxic and genotoxic effects in Chinese hamster ovary (CHO) cells. Toxicol. Appl. Pharmacol 201; 156-165

Edmonds, J.S.; Francesconi, K.A. (1987): Transformations of arsenic in the marine environment. Experientia 43 (5): 553-557

Edmonds, J.S.; Francesconi, K.A.; Healy, P.C.; White, A.H. (1982b): Isolation and crystal structure of an arsenic-containing sugar suphate from the kidney of the gaint clam, Tridacna maxima. J. Chem. Soc. Perkin Trans., I, 2989-2993

Edmonds, J.S.; Francesconi, K.A. (1983): Arsenic-containing ribofuranosides. Isolation from brown kelp Ecklonia radiate and nuclear magnetic resonance spectra. J. Chem. Soc. Perkin Trans., I, 2375-2382

Edmonds, J.S.; Francesconi, K.A.; Cannon, J.R.; Raston, C.L.; Skelton, B.W.;White, A.H. (1977): Isolation, crystal structure and synthesis of arsenobetaine, the arsenical constituent of the western rock lobster Panulirus longipes cygnus George .Tetrahedron. Lett. 18: 1543-1546

Edmonds. J.S.; Francesconi, K.A.; Stick, R.V. (1993): Arsenic compounds from marine organisms. Nat. Prod. Rep. 10(4): 421-428

Edmonds, J.S.; Francesconi, K.A. (1993): Arsenic in seafood: Human health aspechts and regulations. Mar. Pollut. Bull. 26 (1): 665-674

Falk, K.; Emons, H. (2000): Speciation of arsenic compounds by ion-exchange HPLC-ICP-MS with different nebulizers. J. Anal. At. Spectrom. 15 (6): 643–649

Francesconi, K.A.; Edmonds, J.S. (1998): Arsenic Species in Marine Samples. Croat. Chem. Acta 71 (2): 343-359

Francesconi, K.A.; Goessler, W.; Panutrakul, S.; Irgolic, K.J. (1998): A novel containing riboside (arsenosugar) in three species of gastropods. The Science of the Total Environment 221 (2-3): 139-148

Francesconi, K.A.; Tanggaard, R.; McKenzie, C.J.; Goessler, W. (2002): Arsenic metabolites in Human Urine after Ingestion of an Arsenosugar. Clin. Chem. 48 (1): 1, 92-101

Francesconi, K.A.; Kuehnelt, D. (2004): Determination of arsenic species: A critical review of method and applications, 2000 – 2003. Analyst 129 (5): 373–395

Gebel, T. (2000): Confounding variables in the environmental toxicology of arsenic. Toxicology 144 (1-3); 155-162

Gettar, R.T.; Garavaylia, R.N.; Gautier, E.A. Bastioni, D.A. (2000): Determination of inorganic and organic anionic arsenic species in water by ion chromatography coupled to hydride generation-inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. J. Chromatogr. A, 884 (1-2): 211–221

Gloxhuber, C.; Wirth, W. (1994): Toxikologie. 5. Auflage; Georg Thieme Verlag; Stuttgart

Gómez-Ariza, J.L.; Sánchez-Rodas, D.; Giráldez, I.; Morales, E. (2000): Comparison of biota sample pretreatments for arsenic speciation with coupled HPLC-HG-ICP-MS. Analyst 125 (3): 401-407

Gong, Z.; Lu, X.; Ma, M.; Watt, C.; Le, X.C. (2002): Arsenic speciation analysis. Talanta 58 (1): 77-96

Gorby, M.S. (1994): Arsenic in human medicin. In: Tchounwou, P.B.; Centeno, J.A., Patlolla, A.K.(2004): Arsenic toxicity, mutagenesis, and carcinogenesis – a health risk assessment and management approach. Molec. Cell. Biochem. 255 (1-2): 47-55

Grobe, J.W. (1997): Gutachterliche und therapeutische Befunde und Beobachtungen bei Moselwinzern mit Arsenintoxikationsspätfolgeschädigung. In: Müller, M.; Böcher, A.; Bucher, A. (2007): Induktion von Urothelkarzinomen durch chronische Arseningestion? – Ein arbeitsmedizinisch-toxikologischer Exkurs. Urologe 46: 511-515

Gresser, M.J. (1981): ADP-arsenate. In: Hughes, M.F. (2002): Arsenic toxicity and potential mechanism of action. Toxicol. Lett. 133 (1): 1–16

Guillament, E.; Creus, A.; Ponti, J.; Sabbioni, E. ; Fortaner, S. ; Marcos. R.. (2004): In vitro DNA damage by arsenic compounds in a human lymphoblastoid cell line (TK 6) assessed by the alcaline comet assay. Mutagenesis 19 (1-2): 129-135

Hanaoka, K.; Satow, T.; Tagawa, S.; Kaise, T. (1997): Formation of arsenobetaine from arsenocholine by micro-organisms occuring in sediments. Appl. Organomet. Chem. 6 (4): 375-381

Hanaoka, K.; Satow, T.; Tagawa, S.; Kaise, T. (1992): Formation of arsenobetaine from arsenocholine by mircroorganisms occuring in sediments. Appl. Organomet. Chem. 6 (4): 375–381

Hayakawa, T.; Kobayashi, Y.; Ciu, X.; Hirano, S. (2003): A new metabolic pathway of arsenite: arsenic-glutathione complexes are substrates for human arsenic methyltransferase Cyt. 19. Arch. Toxicol. 79 (4): 183-191

Hei, T.K.; Liu, S.X.; Waldren, C. (1998): Mutagenicity of arsenic in mammalian cells: role of reactive oxygen species. P. Natl. Acad. Sci. USA 95 (14): 8103–8107

Heinrich-Ramm, R.; Mindt-Prüfert, S.; Szadkowski, D. (2002): Arsenic species excretion after controlled seafood consumption. J. Chromatogr B (1-2): 778, 263-273

Heitkemper, D.T.; Vela, N.P.; Stewart, K.R.; Westphal, C.S. (2001): Determination of total and speciated arsenic in rice by ion chromatography and inductively coupled plasma mass spectrometry. J. Anal. Atom. Spectrom. 16 (4): 299-306

Helgesen H.; Larsen E.H. (1998): Bioavailability and speciation of arsenic in carrots grown in contaminated soil. Analyst 123 (5): 791–796

Hirata, S.; Toshimitsu, H.; Aihara, M. (2006): Determination of Arsenic Species in Marine Samples by HPLC-ICP-MS. Analyt. Sci. 22 (1): 39-43

Hovanec, B.M. (2004): Arsenic speciation in commercially available peanut butter spread by IC-ICP-MS. J. Anal. At. Spectrom. 19 (9): 1141–144

Hughes, M.F. (2002): Arsenic toxicity and potential mechanism of action. Toxicol. Lett. 133 (1): 1–16

Hsueh, Y.M.; Ko, Y.F.; Huang, Y.K.; Chen, H.W.; Chiou, H.Y.; Huang, Y.L.; Yuang, M.H.; Chen, C.J. (2003): Determinants of inorganic arsenic methylation capability among residents of the Lanyang Basin, Taiwan: arsenic and selenium exposure and alcohol consumption. Toxicol. Lett. 137: 49–63

Johnson, D.L.; Pilson, M.E.Q. (1975): The oxidation of arsenate in seawater. In: Ballin, U. (1992): Speziierung von Arsenobetain in marinen Fischen, Krusten-, Schalen- und Weichtieren durch Reaktions- Headspace- Gaschromatographie. Dissertation im Fachbereich Chemie, Cuxhaven

Kaise, T.; Fukuit, S. (1992): The chemical form and acute toxicity of arsenic compounds in marine organism. Appl. Organomet. Chem. 6 (2): 155-160

Kamphues, J.; Schneider, D.; Leibetseder, J. (1999): Supplemente zu Vorlesungen und Übungen in der Tierernährung. Verlag M. & H. Schaper, Alfeld-Hannover

Kato, K.; Hayashi, H.; Hasegawa, A.; Yamananka, K.; Okada, S. (1994): DNA-damage induced in cultured human alveolar (L-132) cells by exposure to dimethylarsinic acid. Environ. Health Persp. 102: 285–88

Kevekordes, S., Suchenwirth, R., Gebel, T et al. (1998): Trinkwassergewinnung unter Berücksichtigung geogener Arsenbelastungen. Gesundheitswesen 60, 580-585

Kitchen, K.T.; Ahmad, S. (2003): Oxidative stress as possible modes of action for arsenic carcinogenesis. Toxicology Letters 137 (1-2): 3–313

Kläntschi, N.; Lienemann, P.; Richner, P.; Vonmont, H. (1996): Elementanalytik. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg

Kligerman, A.D.; Doerr, C.L.; Tennant, A.H.; Harrington-Brock, K.; Allen, J.W.; Winkfield, E.; Poorman-Allen, P.; Kundu, B.; Funasaka, K.; Roop, B.C.; Mass, M.J.; DeMarini, D.M. (2003): Methylated trivalent arsenicals as candidate ultimate genotoxic forms of arsenic: Induction of chromosomal mutations but not gene mutations. Environ. Mol. Mutagen. 42 (3): 192–205

Kolb, B. (2003): Gaschromatographie in Bildern – Eine Einführung. Wiley-VCH, Weinheim

Kösters, J.; Diaz-Bone, R.A.; Planer-Friedrich, B., Rothweiler, B.; Hirner, A.V. (2003): Identitification of organic arsenic, tin, antimony and tellerium compounds in environmental samples by GC-MS. J. Mol. Struct. 661: 347–356

Kotz, L.; Kaiser, G.; Tschöpel, P.; Tölg, G. (1972): Aufschluss biologischer Matrices für die Bestimmung sehr niedriger Spurenelementgehalte bei begrenzter Einwaage mit Salpetersäure unter Druck in einem Teflongefäß. Z. Anal. Chem. 260 (3): 207-209

Kristiansen J.; Christensen J.M.; Iversen, B.S.; Sabbioni, E. (1997): Toxic trace element reference level in blood and urine: Influence of gender and lifestyle factors. Sci. Total. Environ. 204 (2): 147-160

Kurttio, P.; Komulainen, H.; Hakala, E.; Kahelin, H.; Pekkanen J. (1998): Urinary excretion of arsenic species after exposure to arsenic present in drinking water. Arch. Environ. Con. Tox. 34 (3): 297-305

Lamble, K.J.; Hill, S.J. (1996): Arsenic speciation in biological samples by on-line high performance liquid chromatography-microwave digestion-hydride generation-atomic absorptions spectrometry. Anal. Chem. Acta. 334 (3): 261-270

Larsen, E.H.; Engman, J.; Sloth, J.J.; Hansen, M.; Jorhem, L. (2005): Determination of inorganic arsenic in white fish using microwave-assisted alkaline alcoholic sample dissolution and HPLC-ICP-MS. Anal. Bioanal. Chem. 381 (2): 339-346

Le, X.C.; Cullen, W.R.; Reimer, K.J. (1994): Human urinary arsenic excretion after one-time ingestion of seaweed, crab, and shrimp. Clin. Chem. 40 (4): 617-624

Le, .X.C.; Cullen, W.R.; Reimer, K.J. (1994): Speciation of arsenic compounds in some marine organisms. Environ. Sci. Technol. 28 (9): 1598–1604

Leah, R.T.; Evans, S.J.; Johnson, M.S. (1992): Arsenic in plaice (Pleuronectes platessa) and whiting (Melangius merlanges) from the North East Irish sea. Mar. Pollut. Bul. 24 (11): 544-549

Lehmann, B. (2000): Kinetik von Arsen, Selen und Quecksilber im Blut des Menschen nach einer Fischmahlzeit. Dissertation aus der medizinischen Fakultät der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

Lehmann, B.; Ebeling, E.; Alsen-Hinrichs, C. (2001): Kinetics of arsenic in human blood after ingestion of fish. Gesundheitswesen 63 (1): 42-48

Lin, S.; Cullen, W.R.; Thomas, D.J. (1999): Methylarsenicals and arsinothiols are potent inhibitors of mouse liver thioredoxin reductase. Chem. Res. Toxicol. 12 (10): 924-930

Lindberg AL; Kumar, R.; Goessler, W.; Thirumaran, R.; Gurzau, E.; Koppova, K.; Rudnai, P.; Leonardi, G.; Fletcher, T.; Vahter, M. (2007): Metabolism of low-dose inorganic arsenic in a central european population: Influence of sex and genetic polymorphisms. Environ. Health Persp. 115 (7): 1081-1086

Liu, S.X.; Athar, M.; Lippai, I.; Waldren, C.; Hei, T.K. (2001): Induction of oxyradicals by arsenic: implication for mechanism of genotoxicity. Proc. Natl. Acad. Sci. 98: 1643–1648

Löffler, G.; Petrides, P.E.; Heinrich, P.C. (2007): Biochemie & Pathobiochemie. Springer Medizin Verlag Heidelberg

Lunde, G. (1973): Separation and analysis of organic-bound and inorganic arsenic in marine organisms. J. Sci. Food Agr. 24 (9): 1021-7

Lüchrath, H. (1983): The consequences of chronic arsenic poisoning among moselle wine growers. In: Müller, M.; Böcher, A.; Bucher, A. (2007): Induktion von Urothelkarzinomen durch chronische Arseningestion? – Ein arbeitsmedizinisch-toxikologischer Exkurs. Urologe 46: 511-515

Ma, M.; Le, X.C. (1998): Effect of arsenosugar ingestion on urinary speciation. Clin. Chem. 44 (3)3, 539-550

Mahata, J.; Basu, A.; Goshal, S.; Sakar, J.N.; Roy, A.K.; Poddar, G.; Nandy, A.K.; Benerjee, A.; Ray, K.; Natarajan, A.T.; Nilsson, R.; Giri, A.K. (2003): Chromosomal aberrations and sister chromatid exchanges in individuals exposed to arsenic through drinking water in West Bengal, India. Mutant Res. 534 (1-2): 133–43

Mandal, B. K.; Suzuki, K.T. (2002): Arsenic round the world: a review. Talanta 58 (1): 201-235

Marquardt, H.; Schäfer, G. (2004): Lehrbuch der Toxikologie. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH; 2. Auflage; Stuttgart

Matschullat, J. (2000): Arsenic in the geosphere – a review. Sci. Total Environ. 249 (1-3): 297-312

Marr, I.L.; Cresser, M.S.; Ottendorfer, L.J. (1988). Umweltanalytik. Thieme Verlag, Stuttart

Mc Kiernan, J.W.; Creed, J.T.; Brockhoff, C.A., Caruso, J.A.; Lorenza, R.M. (1999): A comparison of automated and traditional methods for the extraction of arsenicals from fish. J. Anal. Atom. Spectrom. 14 (4): 607–613

Mc Sheehy, S.; Szpunar, J. (2000): Speciation of arsenic in edible algae by bidmensional size-exklusion anion exchange HPLC with dual ICP_MS and electrospry MS/MS detection. J. Anal. At. Spectrom. 15: 79–87

McSheehy S; Szpunar, J.; Lobinski, R.; Haldays, V.; Tortajada, J.; Edmonds J.S. (2002): Characterization of arsenic species in kidney of the clam Tridacna derasa by multidimensional liquid chromatography – ICPMS and electrospray time-of-flight tandem mass spectrometry, Anal. Chem. 74 (10): 2370-2378

Mester, Z.; Vitanyi, G.; Morabito, R. (1999): Speciation of dimethylarsinic acid and monomethylarsonic acid by gas chromatography mass spectrometry. J. Chromatogr. A 832 (1-2): 183–190

Mindt-Prüfert, S. (2002): Zum alimentären Einfluss auf die Arsenausscheidung im Harn bei arbeitsmedizinischen Vorsorgeuntersuchungen. Dissertation aus der medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

Mizio, M.; Takabayashi, F.; Nakano, M.; An Y.; Sagesaka, Y.; Kato, K.; Okada, S.; Yamanaka, K. (2005): The role of trivalent dimethylated arsinic in dimethylarsinic acid-promoted skin and lung tumorigenesis in mice: Tumor-promoting action through the induction of oxidative stress. Toxicol. Lett. 158 (2): 87–94

Mohri, T.; Hisanaga, A.; Ishinishi, N. (1990): Arsenic intake and excretion by japanese adults: A 7-day duplicate diet study. Food Chem. Toxicol. 28 (7): 521–529

Munoz, O.; Vélez, D.; Cervera, M.L.; Montoro, R. (1999): Rapid and quantitative release, speciation and determination of inorganic arsenic [As (III) + As (V)] in seafood products by microwave-assisted distillation and hydride generation atomic absorptions spectrometry. J. Anal. Atom. Spectrom. 14 (10): 1607–1613

Müller, M.; Böcher, A.; Bucher, A. (2007): Induktion von Urothelkarzinomen durch chronische Arseningestion? – Ein arbeitsmedizinisch-toxikologischer Exkurs. Urologe 46: 511-515

Münz, H. (1989): Zur Erfassung der Arsen- und Chrombelastung von marinen Lebewesen aus der Nordsee mit Hilfe der Atomabsorptionsspektrometrie. Dissertation aus der mathematisch-naturwissenschaftlichen Fakultät der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

Neff, JM. (1997): Ecotoxicology of arsenic in the marine environment. Environ. Toxicol. Chem. 16 (5): 917-927

Nemeti, B.; Cssanaky. I.; Gregus, Z. (2003): Arsenate reduction in human erythrocytes and rats – Testing the role of purine nucleoside phosphorylase. Toxicol. Sci. 74 (1): 22–31

Ng, J.C.; Wang, J.; Shraim, A. (2003): A global health problem caused by arsenic from natural sources. Chemosphere 52 (9): 1353-1359

Niedzielski, P.; Siepak, M.; Novotny, K. (2004): Determination of inorganic arsenic species AsIII and AsV by high performance liquid chromatography with hydride generation atomic absorption spectrometry detection. CEJC 2 (1): 82–90

Nishikawa, T.; Wanibuchi, H.; Ogawa, M.; Kinoshita, A.; Morimura, K.; Hiroi, T.; Funae, Y.; Kishida, H.; Nakae D.; Fukushima, S. (2002): Promoting effects of monomethylarsonic acid, dimethylarsinic acid and trimethylarsine oxide on induction of rat liver preneoplastic gluathione-S-transferase placental form positive foci: a possible oxygen species mechanism. Int. J. Cancer 100 (2): 136–9

Oremland, R.S.; Stolz, J.F. (2003): The Ecology of Arsenic. Science 300 (5621): 939-944

Oya-Ohta, Y.; Kaise, T.; Ochi, T. (1996): Inuduction of chromosomal aberrations in cultured human fibroblasts by inorganic and organic arsenic compounds and the different roles of glutathione in such inductions. Mutat.Res.-Fund. Mol. M. 357 (1-2): 123–129

Pergantis, S.A.; Miguens-Rodriguez, M.; Vela, N.P.; Heitkemper, D.T. (2004): Investigating the non-enzymatic methylation of arsenite by methylcobalamin B12 using high-performance liquid chromatography on-line with inductively coupled plasma-mass spectrometry. J. Anal. At. Spectrom., 19 (1): 178-182

Petrick, J.S.; Ayala-Fierro, F.; Cullen, W.R. (2000): Monomethylarsonous acid (MMA(III)): is more toxic than arsenite in Chang human hepatocytes. Toxicol. Appl. Pharmacol. 163 (2): 203-207

Petrick, J.S.; Jagadish, B.; Mash, E.A.; Aposhian, H.V. (2001): Monomethylarsonous acid (MMA(III)) and arsenite: LD50 in hamsters and in vitro inhibition of pyruvate dehydrogenase. Chem. Res. Toxicol. 14 (6): 651-656

Phillips, D.J.H. (1990): Arsenic in aquatic organisms: a review, emphasizing chemical speciation, Aquat. Toxicol. 16 (3): 151-168

Psychrembel; Klinisches Wörterbuch (1998) Verlag Walter de Gruyter, Berlin

Quaghebeur, M.; Rengel, Z. (2005): Arsenic speciation governs arsenic uptake and transport in terrestrial plants. Microchim Acta 151 (3-4): 141-152

Quinaia, SP; Rollember, MDE (2001): Selective reduction of arsenic species by hydride generation atomic absorption spectrometry. part 2 – Sample storage and arsenic determination in natural waters. J. Brazil. Chem. Soc. 12 (1): 37-41

Radabaugh, T.R.; Aposhian, H.V. (2000): Enzymatic reduction of arsenic compounds in mammalian systems: Reduction of arsenate to arsenite by human liver arsenate reductase. Chem. Res. Toxic. 13 (1): 26-30

Reichl, F.X. (2000): Taschenatlas der Umweltmedizin. Georg Thieme Verlag, Stuttgart

Rensing, L.; Koch, M.; Rippe, B.; Rippe, V. (2006): Mensch im Stress. Psyche, Körper, Moleküle. Elsevier GmbH München, Spektrum Akad. Verlag 194–196

Sabbioni, E.; Fischbach, M.; Pozzi, G.; Pietra, R.; Gallorini, M.; Piette, J.L. (1991): Cellular retention, toxicity and carcinogenic potential of seafood arsenic. I. Lack of cytotoxicity and transforming activity of arsenobetaine in the BALB/3T3 cell line. Carcinogenesis 12 (7): 1287-1291

Sakurai, T.; Kojima, C.; Ochiai, M.; Ohta, T.; Fujiwara, K. (2004): Evaluation of in vivo acute immunotoxicity of a major organic arsenic compound arsenobetaine seafood. Int. Immunopharmacol. 4 (2): 179–184

Sampayo-Reyes, A.; Zakharyan, R.A.; Healy, S.M.; Aposhian, H.V. (2000): Monomethylarsonic acid reductase and monomethylarsonous acid in hamster tissue. Chem. Res. Toxicol. 13 (11): 1181–1186

Sanders, J.G. (1979): The concentration and speciation of arsenic in marine macro-algae. Estuarine Coastal. Mar. Sci., 9: 95-99

Schmidt, A.-C.; Mattusch, J.; Reisser, W.; Wennrich, R. (2004): Uptake and accumulation behaviour of angiosperms irrigated with solutions of different arsenic species. Chemosphere 56 (3): 305-313

Schoof, R.A.; Yost, L.J.; Eickhoff, J.; Crecelius, E.A.; Cragin, D.W.; Meacher, D.M.; Menzel, D.B. (1999): A market basket survey of inorganic arsenic in food. Food Chem. Toxicol. 37 (8): 839–846

Schuhmacher-Wolz, U.; Hassauer, M.; Oltmanns, J.; Schneider, K. (2005): Verfahren zur Ableitung von Höchstgehalten für krebserzeugende Umweltkontaminanten. Forschungs- und Beratungsinstitut Gefahrstoffe GmbH (FoBiG), Freibug i. Br.

Schwedt, G. (1992): Taschenatlas der Analytik , Georg Thieme Verlag, Stuttgart

Schwedt, G. (1995): Analytische Chemie, Georg Thieme Verlag, Stuttgart

Shibata, Y.; Morita, M.; Fuwa, K. (1992): Selenium and arsenic in biology, their chemical forms and biological functions. Adv. Biophys. 28: 31-80

Shraim, A. (2000): Use of perchloric acid as a reaction medium for speciation of arsenic by hydride generation-atomic absorption spectrometry. Analyst 125 (5): 949-953

Skoog, D.A; Leary, J.J. (1996): Instrumentelle Analytik, Springer Verlag, Berlin

Stolz, J.F.; Basu, P.; Santini, J.M.; Oremland, R.S. (2006): Arsenic and selenium in microbial metabolism. Ann. Rev. Microbiol 60: 107-130

Styblo, M.; Serves, S.V.; Cullen, W.R.; Thomas, D.J. (1997): Comparative inhibition of yeast glutathione reductase by arsenicals and arsenothiols. Chem. Res. Toxicol. 10 (1): 27-33

Styblo, M.; Del Razo, L.M.; Vega, L., Germolec, D.R.; LeCluyse, E.L.; Hamilton, G.A., Reed, W.; Wang, C.; Cullen, W.R.; Thomas, D.J. (2000): Comparative toxicity of trivalent and pentavalent inorganic and methylated arsenicals in rat and human cells. Arch Toxicol 74 (6): 289-299

Sur, R.; Dunemann, L. (2004): Method for the determination of five toxicologically relevant arsenic species in human urine by liquid chromatography-hydride generation atomic absorption spectrometry. J. Chromatogr. B 807 (2): 169-176

Súner, M.A.; Devesa, V.; Clemente, M. J.; Vélez, D., Monitora, R.; Urieta, I; Jalón, M.; Macho, M.L. (2002): Organoarsenical species contents in fresh and processed seafood products. J. Agric. Food. Chem. 50 (54): 924-932

Suzuki, K.T.; Mandal, B.K.; Ogry, Y. (2002): Speciation of arsenic in body fluids. Talanta 58 (1): 111-119

Tchounwou, P.B.; Centeno, J.A., Patlolla, A.K. (2004): Arsenic toxicity, mutagenesis, and carcinogenesis – a health risk assessment and management approach. Mol. Cell. Biochem. 255 (1-2): 47-55

Tchounwou P.B.; Patlolla A.K.; Centeno J.A. (2003): Carcinogenic and systemic health effects associated with arsenic exposure – a critical review; Toxicol Pathol. 31 (6): 575-88

Tezuka, M.; Hanoika, K.; Yamanaka, K.; Okada, S. (1993): Gene damage induced in human alveolar type –II (L-132) cells by exposure to dimethylarsinic acid. Biochem. Bioph. Res. Commun. 191 (3): 1178-1183

Umweltbundesamt (1983): Umwelt- und Gesundheitskriterien für Arsen. Erich Schmidt, Berlin

Umweltbundesamt (2003): Stoffmonographie Arsen – Referenzwert für Urin. Bundesgesundheitsbl – Gesundheitsforsch – Gesundheitsschutz 46:1098-1106

Vahter, M.; Marafante, E.; Dencker, L. (1983): Metabolism of arsenobetaine in mice, rats and rabbits. Sci. Total Environ., 30: 197-211

Vahter, M. (2002): Mechanism of arsenic biotransformation. Toxicology 181: 211-217

Vela, NP (2001): Arsenic extraction and speciation in carrots using accelerated solvent extraction, liquid chromatography and plasma mass spectrometry. Analyst 126 (7): 1011-1017

Velez, D.; Ybanez, N.; Montoro, R. (1996): Optimization of the extraction and determination of monomethylarsonic and dimethylarsinic acids in seafood products by coupling liquid chromatography with hydride generation atomic absorption spectrometry. J. Anal. Atom. Spectrom. 11 (4): 271-277

Wang, T.S.; Hsu, T.Y.; Chung, C.H.; Wang, A.S.; Bau, D.T.; Jan, K.Y. (2001): Arsenite induces oxidative DNA adducts and DNA-protein crosslinks in mammalian cells. Free Radical Biol. Med. 31 (3): 321–330

Wanibuchi, H.; Yamamoto, S.; Chen, H.; Yoshida, K.; Endo, G.; Hari, T.; Fukushima, S. (1996): Promoting effects of dimethylarsinic acid on N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine-induced urinary bladder carcinogenesis in rats. Carcinogenesis 17 (11): 2435–9

Warner M.L.; Moore, L.E.; Smith, M.T.; Kalman, D.A.; Fanning, E.; Smith, A.H. (1994): Increased micronuclei in exfoliated bladder cells of individuals who chronically ingest arsenic-contaminanted water in Nevada. Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 3 (7): 583-90

Watzl, B.; Leitzmann, C. (2005): Bioaktive Substanzen in Lebensmitteln. Hippokrates Verlag, Stuttgart

Wei, C.; Li, W.; Zhang, C.; Van Hulle, M.; Cornelis, R.; Zhang, X. (2003): Safety evaluation of organoarsenicals species in edible porphyra from the China sea. J. Agr. Food. Chem. 51 (17): 5176-5182

Welz, B. (1983): Atomabsorptionsspektrometrie, Verlag Chemie, Weinheim

Welz, B.(1997): Atomabsorptionsspektrometrie, Wiley-VCH, Weinheim

Winski, S.L.; Carter, D.E. (1998): Arsenate toxicity in human erythrocytes: Characterization of morphologic changes and determination of the mechanism of damage. J. Toxicol. Env. Heal. A. 53 (5): 345-355

WHO (2001): Arsenic. Environmental health perspectives, 224. Genf, Eigenverlag

Yamamoto, S., Konishi, Y.; Matsuda, T.; Murai, T.; Shibata, M.A.; Matsui-Yuasa, I.; Otana, S.; Kuroda, K.; Endo, G.; Fukushima, S. (1995): Cancer induction by an organic arsenic compund, dimethylarsinic acid (cacodylic acid), F 344/DuCrJ rats after pretreatment with five carcinogens. Cancer Res. 55(6): 1271–6

Yamanaka, K.; Hoshino, M.; Okamoto, M.; Sawamura, R.; Hasegawa, A.; Okada, S. (1990): Induction of DNA damage by dimethylarsinc, a metabolite of inorganic arsenic, is for the major part likely due to its peroxyl radical. Biochem. Biophys. Res. Commun. 168 (1): 1184-1191

Yamanaka, K.; Hasegawa, A.; Sawamura, R.; Okada, S. (1991): Cellular-response to oxidative damage in lung induced by the administration of dimethylarsinic acid, a major metabolite of inorganic arsenic, in mice. Toxicol. Appl. Pharm. 108 (2): 205–213

Yamanaka, K.; Tezuka, M.; Kato, K.; Hasegawa, A.; Okada, S. (1993): Cross-link formation between DNA and nuclear proteins by invivo and invitro exposure of cells to dimethylarsinic acid. Biochem. Biophys. Res. Commun. 191 (3): 1184-1191

Yamanaka, K.; Okada, S. (1994): Induction of lung-specific DNA-damage by metabolically methylated arsenics via the production of free-radicals. Environ. Health Persp. 102: 37 - 40 Suppl. 3

Yamanaka, K.; Katsumata, K.; Ikuma, K.; Hasegawa, A.; Nakano, M.; Okada, S. (2000): The role of orally administered dimethylarsinic acid, a main metabolite of inorganic arsenics, in the promotion a progression of UVB-induced skin tumorigenesis in hairless mice. Cancer Letters 152 (1): 79-85

Yamanaka, K.; Mizoi, M.; Kato, K.; Hasegawa, A.; Nakano, M.; Okada, S. (2001): Oral administration of dimethylarsinic acid, a main metabolite of inorganic arsenic, in mice promotes skin tumorigensis initiated by dimethylbenz(a)anthracene with or without ultraviolet B as a promoter. Biol. Pharm. Bull. 24 (5): 510–514

Yamanaka, K.; Kato, K.; Mizoi, M.; An, Y.; Takabayashi, F.; Nakano, M.; Hoshino, M.; Okada, S. (2004): The role of active arsenic species produced by metabolic reduction of dimethylarsinic acid in genotoxicity and tumorigensis. Toxicol. Appl. Pharm. 198 (3): 385-393

Yu H.S.; Liao W.T.; Chai, C.Y. (2006): Arsenic carcinogenesis in the skin. J. Biomed. Sci.; 13(5): 657-66

Zakharyan, R.A.; Sampayo-Reyes, A.; Healy, S.M. (2001): Human monomethylarsonic acid (MMA(V)) reductase is a member of glutathione-S-Transferase superfamily. Chem. Res. Toxicol. 14 (8): 1051-1057

http:// europa.eu.int. Amtsblatt der Europäischen Union “Richtlinie 2004/107/EG des Europäischen Parlaments und des Rates über Arsen, Kadmium, Quecksilber, Nickel und polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe; 2004

http:// atsdr.cdc.gov/hac; 1998

Danksagung

Ich möchte mich hiermit sehr herzlich bedanken bei:

Herrn PD Dr. C. Alsen-Hinrichs, meinem Doktorvater, für die Überlassung des Themas, für die wertvollen Ratschläge, die konstruktive Kritik sowie sein freundliches Interesse während der Bearbeitung des Themas.

Herrn Prof. Dr. E. Maser, dem Direktor des Instituts für Toxikologie und Pharmakologie für Naturwissenschaftler des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Kiel, für die Ermöglichung dieser Arbeit durch die Bereitstellung von Institutsmitteln zur Durchführung der Arbeit.

Herrn Dr. H. Kruse, für die gute Betreuung, die Anregungen und die stete Hilfsbereitschaft während der Arbeit. Die lebhaften Diskussionen und kritische Durchsicht des Manuskriptes waren mir eine große Hilfe.

Mein besonderer Dank gilt *Frau S. Ulrich* für die vielen nützlichen Tipps, die guten Ratschläge, die freundliche und allzeit gewährte Hilfsbereitschaft und den Spaß, den wir zusammen hatten.

Herrn Prof. M. J. Müller, Institut für Humanernährung der Christian-Albrechts-Universität Kiel, danke ich für die Übernahme des Co-Referates.

Herrn G. Sommerfeld, Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit Berlin, für die Hilfe bei den statistischen Auswertungen.

Frau C. Borstelmann und meinen *Probanden und Probandinnen* ohne die diese Arbeit nicht zustande gekommen wäre.

Allen *Mitarbeitern und Mitarbeiterinnen* des Institutes für Toxikologie und Pharmakologie für Naturwissenschaftler für die tolle Arbeitsatmosphäre.

Meinen *Freunden und Freundinnen* aus Drochtersen und Kiel, die mir immer hilfreich zur Seite standen und sich geduldig alle Probleme angehört haben, sowie mich unermüdlich unterstützt und ermuntert haben.

Mein ganz besonderer Dank gilt *meinen Eltern*, für die emotionale und finanzielle Unterstützung während der Arbeit. Ohne Sie wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen.

Lebenslauf

Name:	Svenja Behrens
Geburtsdatum:	17.07.1980
Geburtsort:	Stade
Staatsangehörigkeit:	deutsch
Schulbildung:	1986-1990 Grundschule in Drochtersen 1990-1992 Orientierungsstufe in Drochtersen 1992-1996 Kooperative Gesamtschule in Drochtersen 1996-1999 Fachgymnasium für Ernährung und Hauswirtschaft in Stade 29.06.1999 Abitur auf dem Fachgymnasium für Ernährung und Hauswirtschaft
Studium:	1999-2005 Studium Ökotrophologie an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel 14.01.2005 Abschluss als Master of Science
Dissertation:	seit Mai 2005 am Institut für Toxikologie und Pharmakologie für Naturwissenschaftler an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel