

14) Zur AAS-Bestimmung von Quecksilber in Zahnwurzeln und Kieferknochen

H. Malissa* und K. Maly

Institut für Analytische Chemie und Mikrochemie der technischen Universität Wien, Getreidemarkt 9, A-1060 Wien, Österreich

T. Till

Pathologisch-Anatomisches Institut der Universität Wien, Mundflora-forschungsstation, Spitalgasse 4, A-1090 Wien, Österreich

On the AAS-Determination of Mercury in Roots of Teeth and in Jawbones

Summary

The homogenized samples are decomposed with a mixture of HNO_3/HF in teflon vessels under pressure. The determination of mercury is carried out with an atomic absorption spectrophotometer by means of the cold-vapour technique. The limit of detection is $0.1 \mu\text{g/g}$ for a 200 mg sample. A relative standard deviation of 2.7 — 5.6% is achieved in the working range of 10 — 100 ng mercury. Mercury contents of < 0.1 — 187 $\mu\text{g/g}$ were found in the samples.

Zusammenfassung

Es wird ein Verfahren zur Bestimmung von Quecksilber in Zahnwurzeln und Kieferknochen beschrieben. Die homogenisierten Proben werden in Teflonbomben unter Druck mit einem Gemisch von HNO_3/HF aufgeschlossen. Die Quecksilberbestimmung erfolgt mit einem Atomabsorptionsspektrophotometer nach dem Kaltdampfverfahren. Unter Einsatz von 200 mg Probe können Quecksilbergehalte bis zu $0.1 \mu\text{g/g}$ bestimmt werden. Die relativen Standardabweichungen liegen im Arbeitsbereich von 10 — 100 ng Quecksilber zwischen 2,7 und 5,6%. Es wurden Quecksilbergehalte von $< 0,1$ — 187 $\mu\text{g/g}$ in den Proben gefunden.

*) Korrespondenzanschrift

Key words

Best. von Quecksilber in Zähnen, Knochen; Spektralphotometrie, Atomabsorption; HNO_3/HF -Aufschluß, Kaltdampfverfahren.

1. Einleitung

Die Bestimmung von Schadstoffgehalten im menschlichen Organismus, vor allem in einzelnen Organen oder in Depotregionen, gewinnt in letzter Zeit immer mehr an Bedeutung. Die Ursache dafür ist in der erhöhten Belastung des menschlichen Organismus mit schädigenden Stoffen, bedingt durch Umwelt, Beruf und Ernährung zu sehen.

Eine zusätzliche Belastungskomponente stellen die in der chirurgischen und zahnärztlichen Praxis verwendeten Implantate oder Füllstoffe aus metallischen oder nichtmetallischen Werkstoffen dar, wenn sie im Körper Lösevorgängen unterliegen. In der zahnärztlichen Praxis werden bei der Sanierung kariöser Zähne neben Silicatfüllungen, Zementfüllungen und Füllungen aus selbstpolymerisierenden Kunststoffen nach wie vor Amalgamfüllungen sehr häufig eingesetzt. Wegen der hohen Toxizität des Quecksilbers sind Überprüfungen der Löslichkeit von Amalgamfüllungen von großer Bedeutung. Während die Lösevorgänge von Quecksilber an der der Mundhöhle zugewandten Seite der Füllungen Gegenstand einer Reihe von Untersuchungen waren (5, 8, 9, 11 — 13), fehlen Angaben über Löslichkeit und Transport des Quecksilbers im Zahnninneren.

Ziel dieser Arbeit war die Entwicklung eines analytischen Verfahrens zur Erfassung der in Zahnwurzeln und Kieferknochen auftretenden Quecksilbergehalte. Da Quecksilber bereits ab einem Gehalt von $10^{-5}\%$ biologisch aktiv sein kann (10), mußte ein Verfahren erarbeitet werden, das, bei Probemengen von 20 — 200 mg, Quecksilbermengen bis zu dieser Grenze der möglichen biologischen Schädigung erfassen kann.

2. Experimenteller Teil

2.1 Proben

Es wurden ausschließlich vitale Zähne untersucht, wobei nur Zahnsponder herangezogen wurden, die in beruflicher Hinsicht keinen außerordentlichen Quecksilberkonzentrationen ausgesetzt waren. Im einzelnen wurden gesunde vitale Zähne ohne Füllungen, kariöse Zähne ohne Füllungen, amalgamgefüllte Zähne sowie Kieferknochenteile untersucht.

2.2 Probenvorbehandlung

Die Zähne wurden nach der Extraktion getrocknet und die Zahnkronen abgedeckt, um eine Kontamination des zu analysierenden Wurzelanteiles mit vorhandenem Füllmaterial zu verhindern. Danach wurden die Zähne bzw. Kieferknochenteile mit 10%igem H_2O_2 gereinigt. Anschließend wurden mit Hilfe von sterilen Diamanttrennscheiben die Zahnwurzeln unterhalb der Zahnschmelzzone abgetrennt und neuerlich mit H_2O_2 gereinigt. Nach Trocknung wurden die Proben in einer Achatmühle homogenisiert. Die sorgfältige Homogenisierung der Proben ist wesentlich für den Erfolg des nachfolgenden Aufschlusses.

2.3 Aufschluß

Die bisher zum Auflösen von Zahnmaterialien üblichen Verfahren unter Anwendung verschiedener Säuregemische in offenen Systemen bringen neben langer Aufschlußdauer (1) oder unvollständigem Aufschluß (14) auch die Gefahr des Verlustes leichtflüchtiger Elemente mit sich. Diese Nachteile können bei Anwendung eines Druckaufschlusses vermieden werden.

Deshalb wurden in dieser Arbeit die von G. Tölg und Mitarb. (4) zur Bestimmung niedriger Spurengehalte in biologischen Matrices eingeführten Druckaufschlußbehälter aus Teflon mit Stahummantelung eingesetzt. Radiochemische Untersuchungen ergaben, daß mit diesen Aufschlußeinheiten bei Quecksilbermengen von 3 — 80 ng Aufschlußausbeuten von über 98% erzielt werden (4).

2.3.1 Arbeitsvorschrift für den Aufschluß. 20 — 200 mg der sorgfältig homogenisierten Probe werden mittels einer Mikrowaage in die durch Auskochen in ca. 30%iger p.a. Salpetersäure gereinigten Teflonbomben eingewogen. Nach Zugabe von 2 ml 65%iger HNO_3 (Merck, Suprapur) und 2,5 ml 40%iger HF (Merck, Suprapur) wird die Teflonbombe in die Stahummantelung eingesetzt und verschlossen. Bei einer Aufschlußtemperatur von 180° C ist der Aufschluß nach 90 min. beendet. Nach dem Abkühlen wird die Aufschlußlösung in 20 ml bei Raumtemperatur gesättigte Borsäurelösung (Merck, p.a. durch Umkristallisieren gereinigt) eingebracht. Die in der Lösung durch Calciumfluorid auftretende weißliche Trübung verschwindet beim Erwärmen der Lösung auf 80° C nach einigen Minuten. Nach dem Abkühlen wird mit bidest. Wasser auf 50 ml aufgefüllt. Teile dieser Lösung werden für die atomabsorptionsspektroskopische Bestimmung des Quecksilbers eingesetzt.

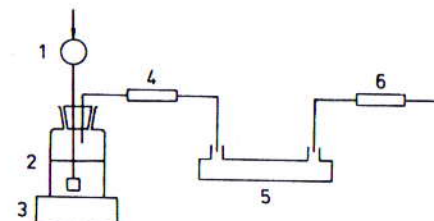


Abb. 1. Darstellung der Apparatur zur Bestimmung des Quecksilbers. 1 Pumpe, 2 Reduktionsgefäß, 3 Magnetrührer, 4 Trockenrohr, 5 Langwegküvette, 6 Absorptionsrohr

Tabelle 1 Geräteparameter

Lampenstrom	6 mA
Wellenlänge	253,7 nm
Spalt	4 (0,7 nm)
Schreibvorschub	5 mm/min

2.4 Bestimmung des Quecksilbergehaltes

Eine der empfindlichsten Quecksilberbestimmungsmethoden wird durch den hohen Dampfdruck und die Tatsache, daß Quecksilberdampf praktisch nicht mit Luftsauerstoff reagiert, ermöglicht. Bereits im Jahre 1964 wurden diese Eigenschaften von Poluektov u.a. (6) zur analytischen Bestimmung des Quecksilbers benützt. Das in ionischer Form in einer meist stark schwefelsäuren Lösung vorliegende Quecksilber wird mit Zinn-(II)-chlorid zum Metall reduziert und mittels eines Luftstromes aus der Lösung ausgetrieben. Der Quecksilberdampf enthaltende Luftstrom wird nach Trocknung mit Calciumchlorid oder Magnesiumperchlorat durch eine im Strahlengang eines Atomabsorptionsspektrophotometers justierte Langwegküvette geleitet, wo die Ultraviolettabsorption des Quecksilbers bei 253,7 nm gemessen wird. Der Quecksilberdampf wird entweder in einem geschlossenen Kreislauf durch die Langwegküvette gepumpt, oder es wird das aus der Lösung freigesetzte Quecksilber im Durchfluß durch die Küvette geführt. Die Auswertung erfolgt entweder durch Integration der Peakflächen oder durch Ausmessen der Peakhöhen.

2.4.1 Apparatur- und Geräteparameter. Eine schematische Darstellung der Apparatur ist in Abbildung 1 zu sehen.

Es handelt sich dabei um ein Perkin-Elmer Mercury Analysis System (3), das unter Berücksichtigung der von E. G. Harsanyi u.a. (2) angegebenen Optimierungskriterien für diese Untersuchungen modifiziert wurde. Während das ursprüngliche System das Umpumpen des freigesetzten Quecksilbers in einem geschlossenen Kreislauf vorsieht, wird hier im Durchfluß mit einer Durchflußrate von 2 l Luft/min gearbeitet. Außerdem wurde das Volumen des Reaktionsgefäßes von 300 auf 250 ml verkleinert, wodurch eine Steigerung der Empfindlichkeit erreicht wird. Der Quecksilberdampf enthaltende Luftstrom wird mit $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$ getrocknet. Nach Passieren der Langwegküvette wird der Luftstrom zur Entfernung des Quecksilbers durch eine Aktivkohlepatrone geleitet.

Die Bestimmung der UV-Absorption erfolgt mit einem Gerät der Fa. Perkin-Elmer Typ 403. Als Lichtquelle dient eine Hg-Hohlkathodenlampe Marke Intensitron. Die Signale werden mit einem Schreiber der Fa. Perkin-Elmer Typ 56 aufgezeichnet. Die Geräteparameter sind in Tabelle 1 angegeben.

2.4.2 Reagentien und Standards

SnCl_2 (Merck Nr. 7815)
 H_2SO_4 (Merck Nr. 731)
 $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$ (Merck Nr. 5874)

Tabelle 2

Lage des Zahnes	Lage der Füllung	Liegedauer der Füllung	Wurzel	Hg ($\mu\text{g/g}$)
7 rechts oben	mesial - occlusal	5 — 7 Jahre	mesial	0,27
			distal	< 0,1
6 rechts oben	mesial - occlusal - distal	4 Jahre	mesial	0,43
			distal	0,40

Reduktionslösung. 20 g SnCl_2 werden unter Erwärmen in 200 ml 0,5 N H_2SO_4 gelöst (täglich frisch zubereiten!)

Quecksilberstandardlösung. Eine Standardlösung mit einer Konzentration von 1000 $\mu\text{g Hg}^{2+}/\text{ml}$ (Merck Nr. 9916) wird auf 1 $\mu\text{g Hg}^{2+}/\text{ml}$ verdünnt. Die Eichung erfolgt durch Zugabe von 10 — 100 μl dieser verdünnten Standardlösung, das entspricht einer Quecksilbermenge von 10 — 100 ng. Die Dosierung der Standardlösungen erfolgt mittels Eppendorfpipetten.

2.4.3 Arbeitsvorschrift. 5 ml einer 50 Vol-%igen Schwefelsäure und 5 ml der Reduktionslösung werden in das Reaktionsgefäß einpipettiert. Darauf wird das Volumen mit bidest. Wasser auf 100 ml aufgefüllt. Durch Einschalten der Pumpe werden die Chemikalienblindwerte an Hg (bis zu 10 ng) aus dem System ausgetrieben. Nach dem Ausschalten der Pumpe werden je nach Hg-Gehalt bis zu 10 ml der Aufschlußlösung zugegeben und das Gefäß sofort verschlossen. Nachdem die Lösung 30 s mittels eines Magnetrührers gerührt wurde, wird das gebildete Hg durch Einschalten der Pumpe in die Langwegküvette getrieben. Da 50 ml Aufschlußlösung für die Analyse zur Verfügung stehen, wird jede Bestimmung zumindest zweimal durchgeführt. Die Eichung erfolgt durch Zugabe von 10 — 100 ng Hg enthaltenden Standardlösungen.

2.4.4 Verfahrenskenngrößen. Da bei der Eichung im Arbeitsbereich von 10 — 100 ng Quecksilber ein linearer Zusammenhang zwischen Quecksilbermengen und Peakhöhen festgestellt wurde, erübrigt sich die Auswertung über die Peakflächen. Die Überprüfung der Reproduzierbarkeit ergab im Bereich zwischen 10 — 100 ng Quecksilber eine relative Standardabweichung von 2,7 — 5,6%. Die Erfassungsgrenze der unter Punkt 2.4.1 beschriebenen Meßanordnung liegt bei 3 ng Quecksilber, das ergibt, auf das Analysenvolumen von 100 ml bezogen, eine Erfassungsgrenze von 0,03 ng/ml. Bei Einsatz von 200 mg Zahnmaterial und Verwendung von einem Fünftel der Aufschlußlösung zur Analyse können daher Gehalte im Feststoff bis etwa 0,1 $\mu\text{g/g}$ bestimmt werden.

Die Blindwerte liegen pro Aufschluß unter 15 ng Quecksilber.

3. Ergebnisse

Das im Kapitel 2 beschriebene Analysenkonzept wurde zur Untersuchung von insgesamt 75 Zahnwurzeln und 11 Kieferknochenteilen eingesetzt.

Die in den Wurzeln von gesunden, nicht amalgamgefüllten Zähnen auftretenden Quecksilberkonzentrationen liegen unabhängig vom Lebensalter der Patienten unter 0,5 $\mu\text{g/g}$, meist sogar unter der Erfassungsgrenze von 0,1 $\mu\text{g/g}$. Nur wenn der Zahn direkten Kontakt mit der Amalgamfläche eines Nachbarzahnes hatte, wurden höhere Quecksilberwerte gefunden.

Bei kariösen nicht gefüllten Zähnen wurden ähnliche Werte festgestellt. Die Quecksilberkonzentrationen liegen unter 0,5 $\mu\text{g/g}$. Die in ei-

nem Fall festgestellte Quecksilberkonzentration von 2,1 $\mu\text{g/g}$ in der Zahnwurzel eines Milchzahnes dürfte auch auf den Kontakt mit der Amalgamfläche eines Nachbarzahnes zurückzuführen sein.

Bei 18 von 35 untersuchten Zahnwurzeln amalgamgefüllter Zähne wurden ebenfalls Quecksilberkonzentrationen unter 0,5 $\mu\text{g/g}$ festgestellt. 17 Proben enthielten Quecksilber im Konzentrationsbereich von 0,5 — 187 $\mu\text{g/g}$, wobei die höchsten Werte bei Kontakt von Amalgamfüllungen und Goldmaterialien gefunden wurden.

Außerdem wurden 11 Kieferknochenteile, die sich an den Wurzeln amalgamgefüllter Zähne befanden, untersucht. Während in 9 Kieferknochenteilen kein Quecksilber nachgewiesen werden konnte, wurden in 2 Proben Quecksilbergehalte festgestellt, die höher waren, als die entsprechenden Werte in den zugehörigen Wurzeln. In beiden Fällen bestand ein Kontakt zwischen Goldmaterialien und Amalgamfüllungen in den Zahnkronen.

Weiterhin wurde der Einfluß der Lage von Amalgamfüllungen auf die in Wurzeln auftretenden Quecksilberkonzentrationen untersucht. Das Ergebnis ist in Tabelle 2 wiedergegeben.

Bei der Untersuchung eines mesial — occlusal gefüllten Zahnes wurde in der mesialen Wurzel eine Quecksilberkonzentration von 0,27 $\mu\text{g/g}$ gefunden, während in der distalen Wurzel kein Quecksilber festgestellt werden konnte. Bei einem mesial — occlusal — distal gefüllten Zahn desselben Patienten unterschieden sich die Quecksilberwerte in der mesialen und distalen Wurzel dagegen nur wenig.

Eine Diskussion dieser Ergebnisse vom medizinischen Standpunkt unter Berücksichtigung der Anamnese der einzelnen Patienten ist Gegenstand einer eigenen Arbeit [7].

Die Autoren danken Frau E. G. Harsányi für wertvolle Anregungen und Mithilfe bei der praktischen Arbeit.

Literatur:

1. Dolinsek, F., Stupar, J., Spenko, M.: *Analyst* 100, 884 — 890 (1975)
2. Harsányi, E. G., Polos, L., Bezur, L., Pungor, E.: *Hung. Sci. Instr.* 36, 13 — 17 (1976)
3. Kahn, H. L.: *At. Absorption Newsletters* 10, 58 (1971)
4. Kotz, L., Kaiser, G., Tschöpel, P., Tölg, G.: *Fresenius Z. Anal. Chem.* 260, 207 — 209 (1972)
5. Mayer, R., Diehl, W.: *Dtsch. Zahnärztl. Z.* 31, 855 — 859 (1976)
6. Poluektov, N. S., Vitkun, R. A., Zelyukova, Y. V.: *Z. Anal. Chim.* 19, 937 (1964)
7. Till, T., Maly, K.: „Quecksilber in Zahnwurzeln und Kieferknochen“ *ZWR* 6, 1978, S. 288 — 290, A. Hüthig Verlag
8. Till, T., Wagner, G.: *Zahnärztl. Welt/Reform* 80, 334 — 339 (1971)
9. Till, T., Wagner, G.: *Zahnärztl. Welt/Reform* 82, 945 — 948 (1973)
10. Tölg, G., Lorenz, I.: *Chemie unserer Zeit* 11, 150 — 156 (1977)
11. Wagner, G., Till, T.: *Zahnärztl. Welt/Reform* 81, 490 — 494 (1972)
12. Wagner, G., Till, T.: *Zahnärztl. Welt/Reform* 82, 1004 — 1006 (1973)
13. Wagner, G., Till, T.: *Zahnärztl. Welt/Reform* 83, 980 — 982 (1974)
14. Wilkinson, R., Palmer, W.: *Int. Lab.* 41 — 47 (1975)
15. Till, T., Maly, K.: „Zum Nachweis der Lyse von Hg aus Silberamalgam v. Zahnfüllungen“ *D. Prakt. Arzt*, Sept. 1978

Adresse der Autoren

Prof. Dr. Dipl.-Ing. H. Malissa, Vorstand d. Inst. f. Analyt. Chemie u. Mikrochemie d. techn. Univ. Wien, Getreidemarkt 9.

Dr. Dipl.-Ing. K. Maly, Inst. f. Analyt. Chemie u. Mikrochemie, Wien, Getreidemarkt 9

Prof. Dr. T. Till, Leiter der Mundfloraforschungsstation am Path. Anat. Inst. Wien, 1010, Riemergasse 14.