

Verfahren zur Bestimmung von Kohlenstoff-14 in Lebensmitteln

E-C-14-LEBM-01

Bearbeiter:

O. Frindik
M. Heilgeist
W. Kalus
R. Schelenz

Leitstelle für Boden, Bewuchs, Futtermittel und
Nahrungsmittel pflanzlicher und tierischer Herkunft

5 Verfahren zur Bestimmung von Kohlenstoff-14 in Lebensmitteln

1 Anwendbarkeit

Die Methode dient zur Umgebungsüberwachung kerntechnischer Anlagen und für die Überwachung der allgemeinen Umweltradioaktivität. Sie kann außer für Lebensmittel auch für jedes beliebige biologische Material angewendet werden. Außerdem ist unter Wegfall des Verbrennungsschrittes die Bestimmung des Kohlenstoff-14-Gehaltes im Kohlendioxid der Luft und des Wassers möglich.

2 Probeentnahme

Bei der Probeentnahme ist darauf zu achten, daß genügend biologisches Material entnommen wird. Die Probenmenge richtet sich nach der Trockenmasse (TM) des zu untersuchenden biologischen Materials. 30 g frisches Gras mit einer TM von ca. 22 % liefert z. B. ca. 50 g Bariumcarbonat, das für 5 Kohlenstoff-14-Bestimmungen ausreicht. Um die gleiche Bariumcarbonat-Menge zu erhalten, müssen z. B. 138 g Kopfsalat (TM = 5,6 %) oder 7,7 g Roggenkörner (TM = 88,8 %) als Probe genommen und verbrannt werden. 150 g biologisches Material reichen stets aus. Ansonsten wird auf Verfahren E- γ -SPEKT-LEBM-01 verwiesen.

3 Analytik

3.1 Prinzip der Methode

Der Analysengang setzt sich aus zwei Teilschritten zusammen:

- a) der quantitativen Verbrennung der Probe, der Absorption des gebildeten Kohlendioxids in Natronlauge und der gravimetrischen Bariumcarbonat-Bestimmung nach Fällung mit Bariumchlorid,
- b) der Meßprobenpräparation für die Flüssigkeitsszintillationsmessung durch Freisetzen des Kohlendioxids mit Phosphorsäure, dessen Absorption in 1-Aminopropanol-(2) unter Carbamatbildung und Zusatz eines geeigneten Szintillationssystems. Teil b) erlaubt auch die Analyse von aus Wasser- oder Luftproben gewonnenem Bariumcarbonat oder Calciumcarbonat.

3.2 Probenvorbereitung

Für die Analyse von Lebensmitteln werden nur die eßbaren Anteile (siehe Verfahren E- γ -SPEKT-LEBM-01) verwendet. Das Probenmaterial ist stets vor der Einbringung in den Verbrennungsofen grob zu zerkleinern.

3.2.1 Verbrennung der Probe und Absorption des Kohlendioxids

Die verwendete Verbrennungsapparatur ist in Abbildung 1 als Fließschema wiedergegeben. Für den Nachbau der Anlage und auf weitere Einzelheiten wird auf die Publikationen (1) und (2) verwiesen.

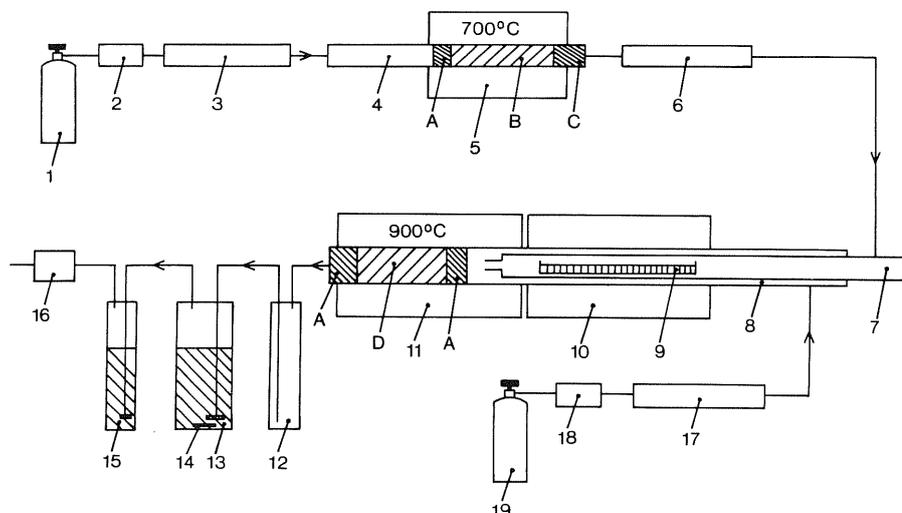


Abb. 1: Verbrennungsapparatur für die Kohlenstoff-14-Bestimmung. 1 Preßluft-Flasche; 2 Strömungsmesser; 3 Absorptionsrohr mit Molekularsieb; 4 Luftreinigungsrohr aus Quarz, A Quarzwolle, B Kupferoxiddraht, C Quarzstückchen; 5 Vorverbrennungsofen; 6 CO₂-Absorptionsrohr mit NaOH-Plätzchen; 7 Pyrolyserohr aus Quarz; 8 Oxidationsrohr aus Quarz, A Quarzwolle, D Platin-Katalysator auf Keramikkugeln; 9 Quarzschiffchen; 10 Pyrolyseofen; 11 Oxidationsofen; 12 Sicherheitsfalle; 13 1-Liter-Kolben; 14 Magnetrührer; 15 Waschflasche; 16 Membranpumpe; 17 CO₂-Absorptionsrohr mit NaOH-Plätzchen; 18 Strömungsmesser; 19 Sauerstoff-Flasche

Im Fließschema umfaßt der mit den Ziffern 1 bis 6 bezeichnete Zweig die Vorrichtungen zur Reinigung der für die Pyrolyse verwendeten Luft. Im Pyrolyserohr 7 werden abhängig von der Trockenmasse der Probe 8 g (Getreidekörner) bis 150 g (Kopfsalat), die sich im Quarzschiffchen 9 befinden, nach einem jeweils dem Material angepaßten Temperaturprogramm thermisch zersetzt. Verbrennungsprogramme für pflanzliche und tierische Produkte zeigen die Tabellen 1 und 2.

Tabelle 1: Temperaturprogramm für die Verbrennung von pflanzlichen Produkten

Temperatur des Pyrolyseofens (°C):	100	150	200	250	300	350	400	500	600	700
Heizdauer (in Minuten):	60	30	45	60	60	15	15	15	15	15

Tabelle 2: Temperaturprogramm für die Verbrennung von tierischen Produkten

Temperatur des Pyrolyseofens (°C):	110	200	250	300	350	400	500	600	700	750
Heizdauer (in Minuten):	60	30	30	30	30	20	20	20	20	20

Die Pyrolysegase passieren anschließend den auf 900 °C erhitzten Platinkatalysator D, an dem die quantitative Umsetzung zu CO₂ erfolgt. Die mit insgesamt 600 ml Natronlauge (2 mol · l⁻¹) gefüllten Absorptionsgefäße 13 und 15 absorbieren das bei der Verbrennung gebildete Kohlendioxid quantitativ. Die Natronlauge muß frei von Carbonaten sein. Bei deren Herstellung wird NaOH von p.a.-Qualität und destilliertes Wasser verwendet, das durch 8stündiges Einleiten von Stickstoff unter Erhitzen auf beinahe Siedetemperatur und Rückflußkühlung kohlendioxidfrei gemacht wird.

Das Gefäß 12 ist ein leerer 1 l-Kolben mit Waschflascheneinsatz, der so angeschlossen wird, daß die im Störungsfalle zurückfließende Natronlauge dort aufgefangen werden kann. Für den Betrieb der Apparatur ist ein leichter Unterdruck zur Überwindung des hydrostatischen Druckes in den Absorptionsgefäßen erforderlich, der von der Membranpumpe 16 erzeugt wird. Mit einem dazwischengeschalteten Dosierventil wird der erforderliche Unterdruck eingestellt.

3.2.2 Fällung des absorbierten Kohlendioxids als Bariumcarbonat und dessen gravimetrische Bestimmung

Nach Abschluß der Verbrennung wird der Natronlauge zur Pufferung eine äquimolare Menge an Ammoniumchlorid (65 g) zugesetzt, die Lösung auf ca. 60 °C erwärmt, unter Rühren mit einem Magnetrührer heiße Bariumchlorid-Lösung zugetropft und der Kolben luftdicht verschlossen. Am nächsten Tag wird über eine Fritte der Porosität 4 abgenutscht, 2mal mit kohlendioxidfreiem Wasser, 1mal mit vergälltem Ethanol gewaschen und bei 120 °C auf Gewichtskonstanz getrocknet. Das Bariumcarbonat wird in Pulver-Polyethylenflaschen abgefüllt und luftdicht verschlossen gelagert.

3.2.3 Probenvorbereitung für die Flüssigkeitsszintillationsmessung

Für die Herstellung einer einwandfreien Meßprobe ist die Verwendung von frisch destilliertem 1-Aminopropanol-(2) Voraussetzung. Wasserstrahlpumpen-Vakuum ist für die Destillation ausreichend (Sdp. 63 bis 65 °C bei 30 bis 40 hPa). Es wird empfohlen, jeweils am Beginn der Arbeitswoche zu destillieren und das Destillat nur in der laufenden Woche zu verwenden. Die Aufbewahrung sollte in einer dunklen Flasche im Kühlschrank erfolgen.

Bei der Probenvorbereitung muß vermieden werden, daß Sonnenlicht auf die Apparatur fällt. Die für die Probenvorbereitung entwickelte Apparatur zeigt Abbildung 2. Im 100 ml-Zweihalskolben mit Magnetrührer werden 9,5 g Bariumcarbonat in 60 ml kohlendioxidfreiem Wasser aufgeschlämmt und im Tropftrichter 40 ml konzentrierte Phosphorsäure vorgelegt. Während ein schwacher Stickstoffstrom (der Stickstoff wird zuvor zur Kohlendioxid-Entfernung durch eine Kalilauge-Waschflasche und zur Trocknung durch einen mit konzentrierter Schwefelsäure gefüllten Blasenähler geleitet) die Apparatur passiert, werden in das Absorptionsrohr zuerst 6 ml Methanol, anschließend 7,4 ml 1-Aminopropanol-(2) eingefüllt.

Bevor die Phosphorsäure zugetropft wird, ist der Magnetrührer in Betrieb zu setzen und die Stickstoffzufuhr zu unterbinden. Für den einwandfreien Betrieb der Apparatur ist die richtige Dosierung der Phosphorsäurezugabe Voraussetzung. Die Blasenentwicklung an der Fritte mit der Porosität 4 darf nicht zu stürmisch sein, da sonst das Kohlendioxid nicht quantitativ absorbiert wird. Zur vollständigen Freisetzung des Kohlendioxids werden etwa 2,5 bis 3 Stunden benötigt. Anschließend wird noch 3 Stunden Stickstoff durch die Apparatur geleitet, wodurch alles Kohlendioxid übergetrieben wird. Noch unter Stickstoffzufuhr läßt man die Absorptionslösung in ein Polyethylenfläschchen zur Flüssigkeitsszintillationsmessung abfüllen.

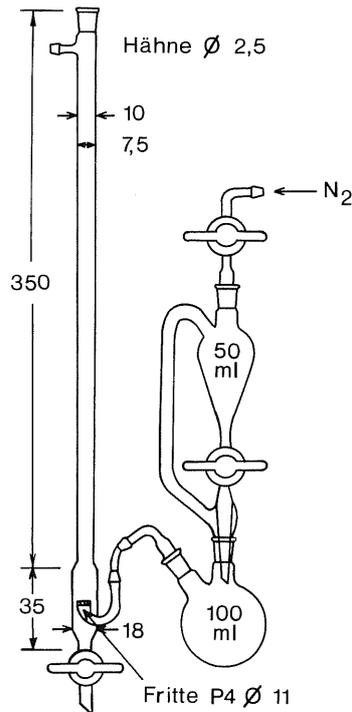


Abb. 2: Apparatur zur Probenbereitung für die Kohlenstoff-14-Flüssigkeitsszintillationsmessung

sigkeitsszintillationszählung ablaufen, spült das Absorptionsrohr mit 2,6 ml Methanol nach und setzt 4 ml Szintillatorlösung der Zusammensetzung 20 g PPO (2,5-Diphenyloxazol), 0,3 g POPOP (2,2'-p-Phenylbis(5-phenyloxazol)) und 200 g Naphthalin in 1 l Toluol zu. Die Nullwertprobe wird in der gleichen Weise aus C-14-freiem Bariumcarbonat bereitet. Dabei erwiesen sich sowohl käufliches (Merck) als auch aus Marmor gewonnenes Bariumcarbonat als geeignet. Handelsübliche toluolfreie Szintillatorlösungen können auch verwendet werden. Entsprechende Vorschriften zur Verwendung sind den vom Hersteller beigefügten Anwendungsempfehlungen zu entnehmen.

4 Messung der Aktivität

Für die Messung ist die optimale Einstellung des zur Verfügung stehenden Flüssigkeitsszintillationsspektrometers auf das verwendete Szintillationssystem Voraussetzung. Die Optimierung des Gerätes erfolgt auf einen Maximalwert für $(\epsilon_c \cdot 100)^2 / R_0$ (ϵ_c = Zählausbeute, R_0 = Nulleffektzählrate). Es sollten mindestens 4 Messungen zu 6000 Sekunden (100 Minuten) durchgeführt werden. Die Meßproben zeigen bis zu 20 Stunden nach der Bereitung stabile Meßwerte. Danach steigen die Zählraten kontinuierlich an. Von jedem zu untersuchenden Lebensmittel sollte mindestens eine Doppelbestimmung durchgeführt werden.

Die Zählausbeute wird mit einer frisch bereiteten Nullwertprobe ermittelt, der eine geringe Menge (entsprechend 80 bis 160 Bq) eines C-14-Standards beigemischt wird. Zu empfehlen ist ($7\text{-}^{14}\text{C}$)-Benzoessäure, da sie sich wegen ihres geringen Dampfdruckes verlustlos einwiegen und in die Meßküvette überführen läßt. Die Zählausbeute unterliegt zwar nur geringen Schwankungen, sie sollte aber regelmäßig – am besten in 2wöchentlichen Abständen – bestimmt werden.

5 Berechnung der Analysenergebnisse

Die spezifische C-14-Aktivität bezogen auf den Kohlenstoffgehalt der Probe wird nach Gleichung (1) berechnet:

$$a_{\text{C-14}} = \frac{R_b - R_o}{m_c \cdot \varepsilon_c} \quad (1)$$

$a_{\text{C-14}}$ = Spezifische Aktivität der Probe in $\text{Bq} \cdot \text{g}^{-1}$ Kohlenstoff

R_b = Bruttozählrate in s^{-1}

R_o = Nulleffektzählrate in s^{-1}

ε_c = Zählausbeute in $\text{Bq}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$

m_c = Masse des Kohlenstoffs der Probe in der Meßküvette in g

Für die Angabe der C-14-Aktivitätskonzentration in $\text{Bq} \cdot \text{kg}^{-1}$ bezogen auf die Feuchtmasse (FM) der Probe benötigt man die Bariumcarbonat-Ausbeute m_a der zur Verbrennung eingewogenen Probenmasse m_F .

Die Umrechnung in $\text{Bq} \cdot \text{kg}^{-1}$ Feuchtmasse erfolgt nach Gleichung (2):

$$a_p = \frac{a_{\text{C-14}} \cdot m_a \cdot 1000}{f_c \cdot m_F} \quad (2)$$

a_p = Aktivität der Probe in $\text{Bq} \cdot \text{kg}^{-1}$ FM

m_a = BaCO_3 -Auswaage in kg

m_F = zur Verbrennung eingewogenes Lebensmittel in kg

$f_c = \frac{M_{\text{BaCO}_3}}{M_C} = 16,436$ (Umrechnungsfaktor g C in g BaCO_3)

Da chemisch-analytische Präparationsfehler bei dieser Methode nur bei den Wägungen zu erwarten sind, diese aber nur von geringem Einfluß auf das Meßergebnis bei niedrigen C-14-Gehalten sind, ist nur der bei der Radioaktivitätsmessung auftretende statistisch bedingte Zählfehler von Bedeutung.

Er errechnet sich nach Gleichung (3):

$$s_n = \sqrt{\frac{R_o}{t_o} + \frac{R_b}{t_m}} \quad (3)$$

s_n = Standardabweichung der Nettozählrate R_n in s^{-1}

t_o = Meßzeit der Nulleffektprobe in s

t_m = Meßzeit der ^{14}C -kohlendioxidhaltigen Probe in s

Die Standardabweichung der C-14-Aktivität $s(a_p)$ errechnet sich nach Gleichung (4):

$$s(a_p) = \frac{s_n \cdot a_p}{R_b - R_o} \quad (4)$$

5.1 Rechenbeispiel

Von einer Grasprobe soll die spezifische Aktivität von C-14 pro kg Feuchtmasse mit Fehlerangabe berechnet werden. Die Verbrennung von 30 g Gras (m_F) hatte 51,74 g Bariumcarbonat (m_a) ergeben. Die weiteren Meßwerte lauten:

$$R_b = 0,283 \text{ s}^{-1}$$

$$R_o = 0,158 \text{ s}^{-1}$$

$$t_m = t_o = 24000 \text{ s}$$

$$\varepsilon_c = 0,66 \text{ Bq}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$$

$$m_c = \frac{1 \cdot 9,5}{f_c} = 0,578 \text{ g C} (\hat{=} 9,5 \text{ g BaCO}_3)$$

Zunächst wird a_{C-14} nach Gleichung (1) berechnet:

$$a_{C-14} = \frac{0,283 - 0,158}{0,578 \cdot 0,66} = 0,328 \text{ Bq} \cdot \text{g}^{-1} \text{ C}$$

Die auf die Feuchtmasse bezogene C-14-Aktivität a_p beträgt dann nach Gleichung (2):

$$a_p = \frac{0,328 \cdot 0,05174 \cdot 1000}{16,436 \cdot 0,030} = 34,4 \text{ Bq} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ FM}$$

5.2 Fehlerbetrachtung

Die Standardabweichung s_n ergibt sich nach Gleichung (3):

$$s_n = \sqrt{\frac{0,158}{24000} + \frac{0,283}{24000}} = 0,00429 \text{ s}^{-1}$$

und $s(a_p)$ nach Gleichung (4):

$$s(a_p) = \frac{0,00429 \cdot 34,4}{0,283 - 0,158} = 1,18 \text{ Bq} \cdot \text{kg}^{-1}$$

Damit lautet das Endergebnis:

$$a_p = (34,4 \pm 1,2) \text{ Bq} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ FM}$$

Der Gesamtfehler wird im wesentlichen durch den statistischen Zählfehler bestimmt, da die anderen denkbaren Fehlerquellen, wie die Einwaage zur Verbrennung, die gravimetrische Bariumcarbonat-Bestimmung, die Einwaage und Messung des C-14-Standards zur Ermittlung der Zählausbeute zusammen nur wenige Prozent ausmachen.

6 Nachweisgrenzen des Verfahrens

Die Definition der Nachweisgrenze und die allgemeinen Berechnungsformeln sind im Kapitel IV.5 dieser Meßanleitungen zu finden.

Für die eingesetzte Bariumcarbonat-Menge von 9,5 g (0,578 g Kohlenstoff) pro Meßprobe, für die gewählte Meßzeit von $2,4 \cdot 10^4$ s (400 min), für eine Nulleffektzählrate von $0,158 \text{ s}^{-1}$ ($9,5 \text{ min}^{-1}$) und für eine Zählausbeute von 66,0 % läßt sich die Nachweisgrenze wie folgt errechnen:

$$g_c = \varphi \cdot k \cdot \sqrt{\frac{R_o}{t_m} \left(1 + \frac{t_m}{t_o}\right)} \quad (5)$$

g_c = Nachweisgrenze des Kohlenstoff-14 in $\text{Bq} \cdot \text{g}^{-1}$ Kohlenstoff

$k = k_{1-\alpha} + k_{1-\beta}$ (Quantile der Normalverteilung)

$\varphi = \text{Kalibrierfaktor} \frac{1}{m_c \cdot \varepsilon_c}$ in $\text{Bq} \cdot \text{s} \cdot \text{g}^{-1}$

Mit $R_o = 0,158 \text{ s}^{-1}$, t_m und $t_o = 24000 \text{ s}$, $m_c = 0,578 \text{ g}$, $\varepsilon_c = 0,66$ und $k = 4,645$ ergibt sich nach Gleichung (5):

$$g_c = 0,044 \text{ Bq} \cdot \text{g}^{-1} \text{ Kohlenstoff}$$

Für das unter 5.1 angegebene Rechenbeispiel für eine Grasprobe läßt sich nach Gleichung (5) und einsetzen von g_c anstelle von a_{c-14} in Gleichung (2) eine Nachweisgrenze von $4,62 \text{ Bq} \cdot \text{kg}^{-1}$ FM ermitteln.

7 Verzeichnis der erforderlichen Chemikalien und Geräte

7.1 Chemikalien

Die benötigten Chemikalien müssen p. a.-Qualität aufweisen

- BaCO_3 , C-14-frei
- NaOH-Plätzchen
- NH_4Cl
- 111,4 g $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ gelöst in 250 ml heißem Wasser
- 1-Aminopropanol-(2) zur Synthese
- H_3PO_4
- Ethanol, vergällt
- Methanol

Folgende Gase sind erforderlich:

- Stickstoff 4,0
- Sauerstoff 4,5
- Preßluft

Für die Flüssigkeitsszintillationsmessungen werden benötigt:

- Toluol
- Naphthalin
- PPO (2,5-Diphenyloxazol)
- POPOP (2,2'-p-Phenylbis(5-phenyloxazol)) bzw. handelsübliche toluolfreie Szintillatorlösungen
- ($7\text{-}^{14}\text{C}$)-Benzoesäure (z. B. NEN Chemicals GmbH, 6072 Dreieich)

7.2 Geräte

- Verbrennungsanlage (Abbildung 1 und Literaturstellen (1) und (2))
- Absorptionsapparatur (Abbildung 2)
- Magnetrührwerke
- Membranpumpe
- Wasserstrahlpumpe
- Trockenschrank
- Flüssigkeitsszintillationsspektrometer
- Saugflasche
- Fritten der Porosität 4, $\varnothing = 6$ cm
- Waschflaschen mit Fritteneinsatz
- Blasenähler
- 1 l-Kolben mit Fritteneinsatz
- Polyethylen-Pulverflaschen (100 ml)
- Gas-Dosierventil

Literatur

- (1) Mlinko, S., Fischer, E., Diehl, J.F.: Tritium in Lebensmitteln. I. Verbrennungsanlage für Lebensmittel und Wasserreinigungsanlage zur Herstellung von Wasserproben für die Tritiumbestimmung durch Flüssigkeitsszintillationsspektrometrie. Z. Anal. Chem. 261 (1972) 203–208
- (2) Müller, H., Fischer, E.: Neue Methode für die Bestimmung des natürlichen Kohlenstoff-14-Gehaltes in biologischem Material. Z. Anal. Chem. 302 (1980) 199–202