

Deckblatt zu Peroxide

Methodennummer	1
Anwendbarkeit	Luftanalyse
Analyt. Messprinzip	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC)
Abgeschlossen im	Mai 2011

Zusammenfassung

Die hier beschriebene Analysenmethode ermöglicht die Ermittlung der Exposition gegenüber Peroxyessigsäure und Wasserstoffperoxid am Arbeitsplatz, die bei Tätigkeiten mit peroxyessigsäurehaltigen Desinfektionsmitteln freigesetzt werden. Peroxyessigsäure und Wasserstoffperoxid können nebeneinander in einem Konzentrationsbereich von 0,08 bis 1,7 mg/m³ bestimmt werden. Bezogen auf den für Wasserstoffperoxid von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) vorgeschlagenen Luftgrenzwert (MAK-Wert) können Konzentrationen von einem Neuntel bis zum Zweifachen des Grenzwertes bestimmt werden [1].

Zur Probenahme wird die Raumluft mit einer geeigneten Probenahmepumpe durch einen mit Wasser gefüllten Impinger gesaugt. Direkt nach der Probenahme wird ein aliquoter Teil der Absorptionslösung mit Methyl-p-tolylsulfid und Puffer versetzt und die Probe zur Reaktion für 10 Minuten ins Dunkle gestellt. Anschließend wird Triphenylphosphin als Reagenz zur Probe gegeben. Die absorbierte Peroxyessigsäure oxidiert dabei das Methyl-p-tolylsulfid zum entsprechenden Sulfoxid während Wasserstoffperoxid mit Triphenylphosphin zu dem stabilen Triphenylphosphinoxid reagiert. Die beiden erhaltenen Oxide werden mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) getrennt und photometrisch mit einem Diodenarraydetektor (DAD) detektiert. Die quantitative Bestimmung erfolgt anhand von Kalibrierkurven eines Kontrollstandards, der definierte Massen an Peroxyessigsäure und Wasserstoffperoxid enthält.

Kenndaten des Verfahrens

Peroxyessigsäure

Wiederholpräzision: Standardabweichung (rel.): $s = 1,3 \%$

Bei einer Konzentration von 1,27 µg/mL bzw. 0,61 mg/m³ und $n = 6$ Bestimmungen

D2 Deckblatt zu Peroxide

Vergleichspräzision: Standardabweichung (rel.): $s = 4,5 \%$
Erweiterte Messunsicherheit: $U = 11 \%$
Bei einer Konzentration von $2,1 \mu\text{g/mL}$ bzw. $1,0 \text{ mg/m}^3$ und $n = 6$ Bestimmungen

Wasserstoffperoxid

Wiederholpräzision: Standardabweichung (rel.): $s = 0,4 \%$
Bei einer Konzentration von $1,18 \mu\text{g/mL}$ bzw. $0,5 \text{ mg/m}^3$ und $n = 6$ Bestimmungen

Vergleichspräzision: Standardabweichung (rel.): $s = 8,3 \%$
Erweiterte Messunsicherheit: $U = 9 \%$
Bei einer Konzentration von $2,1 \mu\text{g/mL}$ bzw. $0,84 \text{ mg/m}^3$ und $n = 6$ Bestimmungen

Bestimmungsgrenze: Peroxyessigsäure absolut: $1,5 \text{ ng}$
entspricht $0,07 \text{ mg/m}^3$ bei einem Probeluftvolumen von 83 L
Wasserstoffperoxid absolut: $2,0 \text{ ng}$
entspricht $0,08 \text{ mg/m}^3$ bei einem Probeluftvolumen von 83 L

Wiederfindung: Peroxyessigsäure $\eta = 0,84$ (84 %) bei 1 h Probenahme
 $\eta = 1,0$ (100 %) bei 15 min Probenahme
Wasserstoffperoxid $\eta = 1,0$ (100 %)

Probenahmeempfehlung: Probenahmedauer: 1 h
Probeluftvolumen: 83 L
Für Kurzzeitwertmessungen: 15 min, 21 L

Stoffbeschreibung

Peroxyessigsäure [CAS-Nr. 79-21-0]

$\text{CH}_3\text{-CO-OOH}$ Synonyme: Peressigsäure
Peroxyethansäure

1 mL/m^3 (ppm) $\hat{=}$ $3,16 \text{ mg/m}^3$

Peroxide

Methodennummer	1
Anwendbarkeit	Luftanalyse
Analyt. Messprinzip	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC)
Abgeschlossen im	Mai 2011

Inhaltsverzeichnis

1	Grundlage des Verfahrens
2	Geräte, Chemikalien und Lösungen
2.1	Geräte
2.2	Chemikalien
2.3	Lösungen
2.4	Kontrollstandards
2.5	Vergleichsstandards
3	Probenahme und Probenaufbereitung
3.1	Probenahme
3.2	Probenaufbereitung vor Ort
4	Chromatographische Arbeitsbedingungen
5	Analytische Bestimmung
6	Kalibrierung
7	Berechnung des Analysenergebnisses
8	Beurteilung des Verfahrens
8.1	Präzision
8.2	Richtigkeit
8.3	Erweiterte Messunsicherheit des Gesamtverfahrens
8.4	Bestimmungsgrenze
8.5	Lagerfähigkeit
8.6	Störeinflüsse
8.7	Blindwerte
9	Diskussion

Literatur

2 Peroxide

1 Grundlage des Verfahrens

Peroxyessigsäure und Wasserstoffperoxid werden mit einer geeigneten Probenahme-pumpe durch einen mit Wasser gefüllten Impinger gesaugt. Direkt nach Beendigung der Probenahme wird ein aliquoter Teil der Absorptionslösung mit Methyl-p-tolylsulfid und Puffer versetzt und die Probe zur Reaktion für 10 Minuten ins Dunkle gestellt. Anschließend wird Triphenylphosphin als Reagenz zur Probe gegeben. Die absorbierte Peroxyessigsäure oxidiert dabei das Methyl-p-tolylsulfid zum entsprechenden Sulfoxid während das Wasserstoffperoxid mit Triphenylphosphin zum stabilen Triphenylphosphinoxid reagiert. Die beiden Oxide werden anschließend flüssigkeitschromatographisch getrennt und mit Hilfe eines Diodenarraydetektors (DAD) quantifiziert [5]. Die Kalibrierung erfolgt analog zu den zu analysierenden Proben mit Vergleichsstandards.

2 Geräte, Chemikalien und Lösungen

2.1 Geräte

- Pumpe zur personengetragenen Probenahme, Förderleistung 83 L/h
- Gasmengenzähler oder Volumenstromanzeiger (z. B. Dry Cal DC1, Fa. DEHA Haan & Wittmer, 71296 Heimsheim)
- Ultraschallbad
- Analysenwaage
- Hochleistungsflüssigkeitschromatograph (HPLC) mit DAD (z. B. Agilent HP1100)
- Säule (z. B. Nucleosil C8, Fa. Macherey & Nagel, 52313 Düren)
- Messkolben, 10, 50, 100 und 200 mL
- Erlenmeyerkolben 100 mL
- Büretten 25 mL
- automatische Verdrängerpipette (z. B. Multipette pro (von 1 µL bis 10 mL) Fa. Eppendorf, 22366 Hamburg)
- Messzylinder 100 mL
- Spatel, Trichter
- Midget-Impinger mit Fritteneinsatz (25 mL) der Fa. SKC, Fa. Analyt MTC, 79379 Müllheim, Artikel-Nr. 225-36-5
- Impingerhalter
- Probengläschen für Autosampler: dunkel und verschließbar, Nennvolumen ca. 2 mL
- Klimaschrank
- Laborkühlschrank
- Ganzkörperexpositions-kammer mit Dosierpumpe
- 80-L-Tedlar-Gassack

2.2 Chemikalien

- Acetonitril, gradient grade (z. B. Merck, 64293 Darmstadt)
- Wasser für die Chromatographie
- Destilliertes Wasser
- Di-Natriumhydrogenphosphat (z. B. Merck)
- Natriumhydrogenphosphat-Monohydrat (z. B. Merck)
- Triphenylphosphin (Sigma-Aldrich, 82024 Taufkirchen)
- Methyl-p-tolylsulfid (Sigma-Aldrich)
- Methyl-p-tolylsulfoxid 97 % (Sigma-Aldrich)
- Triphenylphosphinoxid 98 % (Sigma-Aldrich)
- P3 Oxonia Active 150 (Ecolab, 40589 Düsseldorf) (Gehalt ca. 18 % Wasserstoffperoxid und ca. 18 % Peroxyessigsäure) als Kontrollstandard
- 0,01 N Kaliumpermanganatlösung (Titrisol) (z. B. Merck)
- Schwefelsäure 25 %
- Stärke löslich, zur Analyse (z. B. Merck)
- 0,01 N Natriumthiosulfatlösung (Titrisol) (z. B. Merck)
- Kaliumiodid (z. B. Merck)

2.3 Lösungen

Reagenzlösung I: MTS-Lösung (4 mM):

270 µL Methyl-p-tolylsulfid werden in einen 100-mL-Messkolben pipettiert, mit Acetonitril bis zur Marke aufgefüllt und umgeschüttelt. Diese Stammlösung wird anschließend im Verhältnis 1:5 mit Acetonitril verdünnt. Dazu werden z. B. 2000 µL der Stammlösung in einen 10-mL-Messkolben pipettiert, mit Acetonitril bis zur Marke aufgefüllt und umgeschüttelt.

Reagenzlösung II: TPP-Lösung (1 mM):

130 mg Triphenylphosphin werden in einen 100-mL-Messkolben eingewogen, mit Acetonitril bis zur Marke aufgefüllt und umgeschüttelt. Diese Stammlösung wird anschließend im Verhältnis 1:5 mit Acetonitril verdünnt. Dazu werden z. B. 2000 µL der Stammlösung in einen 10-mL-Messkolben pipettiert, mit Acetonitril bis zur Marke aufgefüllt und umgeschüttelt.

Pufferlösung:

1,42 g Di-Natriumhydrogenphosphat und 21 mg Natriumdihydrogenphosphat-Monohydrat werden in 100 mL Wasser für die Chromatographie gelöst.

1-%ige Wässrige Stärkelösung:

0,1 g Stärke werden in einen 10-mL-Messkolben eingewogen und in einigen mL destilliertem Wasser gelöst. Anschließend wird der Messkolben bis zur Marke mit destilliertem Wasser aufgefüllt und umgeschüttelt.

4 Peroxide

2.4 Kontrollstandards

Kontrollstammlösung I:

1 mL P3 Oxonia Active 150 werden in einen 200-mL-Messkolben pipettiert. Der Messkolben wird anschließend mit destilliertem Wasser bis zur Marke aufgefüllt und umgeschüttelt (Konzentrationen je ca. 900 mg/L Peroxyessigsäure und Wasserstoffperoxid).

Kontrollstammlösung II:

1 mL der Kontrollstammlösung I werden in einen 50-mL-Messkolben pipettiert. Anschließend wird der Messkolben mit destilliertem Wasser bis zur Marke aufgefüllt und umgeschüttelt (Konzentrationen jeweils ca. 18 mg/L Peroxyessigsäure und Wasserstoffperoxid).

Kontrollstandard I:

In ein braunes 2-mL-Autosamplergläschen, das als Vorlage 250 µL destilliertes Wasser und 100 µL Pufferlösung enthält, werden 50 µL der Kontrollstammlösung II pipettiert und umgeschüttelt. Anschließend wird die Lösung mit 100 µL Reagenzlösung I versetzt. Nach einer Reaktionszeit von 10 Minuten werden 500 µL der Reagenzlösung II zudosiert.

Die Soll-Konzentrationen der aufgearbeiteten Messlösung betragen ca. 0,9 mg/L Peroxyessigsäure und 0,9 mg/L Wasserstoffperoxid.

Kontrollstandard II:

In ein braunes 2-mL-Autosamplergläschen, das als Vorlage 150 µL destilliertes Wasser und 100 µL Pufferlösung enthält, werden 150 µL der Kontrollstammlösung II pipettiert und umgeschüttelt. Anschließend wird die Lösung mit 100 µL Reagenzlösung I versetzt. Nach einer Reaktionszeit von 10 Minuten werden 500 µL Reagenzlösung II zudosiert.

Die Soll-Konzentrationen der aufgearbeiteten Messlösung betragen ca. 2,7 mg/L Peroxyessigsäure und 2,7 mg/L Wasserstoffperoxid.

Analog zu den Kontrollstandards werden 2 Blindwerte mit jeweils 300 µL destilliertem Wasser und 100 µL Pufferlösung entsprechend den Kontrollstandards in braunen 2-mL-Autosamplergläschen angesetzt.

Der exakte Gehalt an Peroxiden in der P3 Oxonia Active 150-Lösung wird titrimetrisch wie folgt ermittelt:

Die als Kontrollstandard verwendete Lösung P3 Oxonia Active 150 wird im Verhältnis 1:1000 verdünnt. Dazu werden 100 µL dieser Lösung in einen 100-mL-Messkolben pipettiert. Anschließend wird der Messkolben mit destilliertem Wasser bis zur Marke aufgefüllt und umgeschüttelt.

25 mL der verdünnten P3 Oxonia Active 150-Lösung werden in einen 100-mL-Erlenmeyerkolben gegeben und mit 20 mL einer 25-%igen Schwefelsäure versetzt. Anschließend wird diese Lösung mit einer 0,01 N Kaliumpermanganatlösung bis zum Farbumschlag nach schwach rosa titriert. Bei Übertitration ist die Probe zu verwerfen. Danach ist sofort wie folgt weiter vorzugehen:

Die nach „schwach rosa“ titrierte Lösung wird mit einer Spatelspitze Kaliumiodid und 2 mL der 1-%igen Stärkelösung versetzt und danach umgehend mit einer 0,01 N Natriumthiosulfatlösung bis zum Verschwinden der Blaufärbung titriert. Zusätzlich wird entsprechend der Probelösung ein Blindwert (destilliertes Wasser) titrimetrisch analysiert. Die Gehalte an Wasserstoffperoxid und Peroxyessigsäure in der P3 Oxonia Active 150-Lösung werden anschließend unter Berücksichtigung folgender Beziehung bestimmt:

- 1 mL 0,01 N Kaliumpermanganatlösung entsprechen 6,8 mg/L Wasserstoffperoxid.
- 1 mL 0,01 N Natriumthiosulfatlösung entsprechen 15,2 mg/L Peroxyessigsäure.

Die ermittelten Gehalte an Wasserstoffperoxid und Peroxyessigsäure werden mit dem Verdünnungsfaktor von 1000 multipliziert und danach die ermittelten Blindwerte davon abgezogen. Durch Division der Konzentrationen durch den Faktor 10 000 erhält man die exakten Konzentrationen an Peroxyessigsäure und Wasserstoffperoxid in der P3 Oxonia Active 150-Originallösung in der Einheit Masse-%.

2.5 Vergleichsstandards

Stammlösung: 2 mg MTSO und 10 mg TPPO/mL Acetonitril

20 mg Methyl-p-tolylsulfoxid (MTSO) und 100 mg Triphenylphosphinoxid (TPPO) werden in einen 10-mL-Messkolben eingewogen. Anschließend wird der Messkolben mit Acetonitril bis zur Marke aufgefüllt und umgeschüttelt. Die exakten Gehalte werden dokumentiert. Bei Berechnung der Konzentrationen ist die Reinheit der Vergleichsstandards zu berücksichtigen.

Tab. 1. Pipettierschema zur Herstellung der Vergleichsstandards zur Kalibrierung

Vergleichsstandard Nr.	Volumen der Stammlösung [µL]	Endvolumen der Kalibrierlösung [mL]	Konzentration an Peroxyessigsäure in der Lösung [mg/L]	Konzentration an Wasserstoffperoxid in der Lösung [mg/L]
1	5	50	0,096	0,12
2	25	50	0,48	0,60
3	45	50	0,86	1,08
4	65	50	1,24	1,56
5	85	50	1,63	2,04
6	105	50	2,01	2,51
7	125	50	2,39	3,00
8	145	50	2,78	3,47
9	165	50	3,16	3,95
10	185	50	3,54	4,43

6 Peroxide

Die zur Kalibrierung verwendeten Vergleichsstandards werden in 50-mL-Messkolben angesetzt. Dazu werden jeweils ca. 30 mL Lösungsmittel (60 % Acetonitril und 40 % destilliertes Wasser) in 50-mL-Messkolben vorgelegt. Anschließend werden gemäß dem in Tabelle 1 aufgeführten Pipetierschema definierte Volumina der Stammlösung in die Messkolben pipettiert (5, 25, 45, 65, 85, 105, 125, 145, 165 und 185 μL) und diese mit Lösungsmittel bis zur Marke aufgefüllt und umgeschüttelt. Die Vergleichsstandards sind bis zur HPLC Analyse kühl (z. B. Laborkühlschrank) und dunkel aufzubewahren. Die Gehalte an Peroxyessigsäure (PES) und Wasserstoffperoxid (H_2O_2) werden über die Verhältnisse der Molmassen (M) der Peroxide zu den entstehenden Oxiden umgerechnet.

$$M_{\text{MTSO}} = 154,23 \text{ g/mol}$$

$$M_{\text{PES}} = 76,04 \text{ g/mol}$$

$$M_{\text{TPPO}} = 278,29 \text{ g/mol}$$

$$M_{\text{H}_2\text{O}_2} = 34,02 \text{ g/mol}$$

Beispiel:

20 mg MTSO und 100 mg TPPO (gelöst in 10 mL Acetonitril) entsprechen bei einer Reinheit von 97 % bzw. 98 % einer Konzentration von 1,94 mg/mL MTSO und 9,8 mg/mL TPPO. In Vergleichsstandard I (5 $\mu\text{L}/50 \text{ mL}$) liegt der Gehalt an MTSO bei 0,194 $\mu\text{g}/\text{mL}$ und an TPPO bei 0,98 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Umgerechnet auf die Konzentrationen an Peroxyessigsäure und Wasserstoffperoxid ergeben sich für diesen Standard folgende Gehalte: 0,096 $\mu\text{g}/\text{mL}$ Peroxyessigsäure und 0,12 $\mu\text{g}/\text{mL}$ Wasserstoffperoxid.

3 Probenahme und Probenaufbereitung

3.1 Probenahme

In einen Midget-Impinger werden 10 mL destilliertes Wasser gegeben, wobei nur ein Impinger für die Probenahme benötigt wird. Die Probenahme kann sowohl ortsfest als auch personengetragen erfolgen. Bei der Probenahme wird die Raumluft mit einer durchflussgeregelten Pumpe mit einer Durchflussrate von 1,38 L/min durch den Impinger gesaugt. Für die Probenahmedauer können Zeiten von 15 Minuten (Überprüfung von Kurzzeitwerten) und 1 Stunde gewählt werden. Da die Proben nicht stabil sind, müssen sie innerhalb von 15 Minuten nach Beendigung der Probenahme vor Ort aufgearbeitet werden.

3.2 Probenaufbereitung vor Ort

Es werden immer Doppelbestimmungen durchgeführt. Aus dem Impinger werden aliquote Teile der Probelösung für die Probenaufbereitung entnommen. Dazu werden 300 μL der Probelösung in ein dunkles 2-mL-Autosamplergläschen gegeben, mit 100 μL Pufferlösung und 100 μL Reagenzlösung I (MTS) versetzt und danach für 10 min stehen gelassen. Anschließend werden 500 μL Reagenzlösung II (TPP) zudosiert

und die Probe zur Umsetzung für mindestens 30 min im Dunkeln und kühl aufbewahrt (z. B. Kühltasche). Bei kühler Lagerung im Dunkeln (z. B. im Kühlschrank) sind die Proben bis zu 14 Tage stabil.

Zu jeder Probenahmeserie wird eine Blindprobe (Field Blank) mitgeführt, d. h. anstatt 300 µL Probelösung werden vor Ort 300 µL destilliertes Wasser entsprechend den Proben aufgearbeitet.

4 Chromatographische Arbeitsbedingungen

Die analytischen Messungen erfolgen an einer Gerätekombination bestehend aus einem HPLC-System mit binärer Pumpe, einem Säulenofen, Entgaser und automatischem Probengeber sowie einem Diodenarraydetektor (DAD).

Anmerkung:

Die Methode kann auch mit einem UV-Detektor bei 225 nm durchgeführt werden.

Gerät:	Hochleistungsflüssigkeitschromatograph mit DAD, z. B. Agilent HP1100	
Trennsäule:	Material:	Edelstahl
	Länge:	70 mm
	Innerer Durchmesser:	3 mm
	Säulenfüllung:	Nucleosil C 8
	Partikelgröße:	5 µm
Detektor:	Diodenarraydetektor (DAD)	
Säulentemperatur:	20 °C	
Mobile Phase:	Eluent A:	Acetonitril gradient grade
	Eluent B:	Wasser für die Chromatographie
Gradient:	siehe Tabelle 2	

Ein unter den angegebenen Bedingungen erhaltenes Chromatogramm einer Probelösung ist in Abbildung 1 dargestellt. Unter diesen Bedingungen eluiert MTSO aus Peroxyessigsäure nach 0,75 min und TPPO aus Wasserstoffperoxid nach 1,9 min. Die eingesetzten Reagenzien MTS und TPP eluieren nach 2,5 bzw. 4,6 min.

8 Peroxide

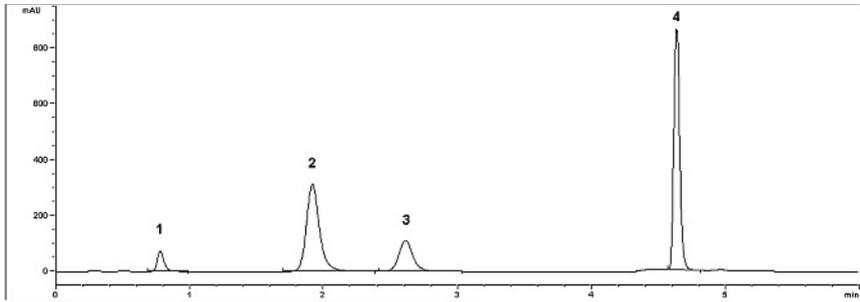
Tab. 2. Gradientenprogramm der binären Pumpe

Zeit [min]	Eluent A Vol.-%	Eluent B Vol.-%
0,0	40	60
3,0	40	60
3,1	100	0
4,0	100	0
4,1	40	60
6,0	40	60

Flussrate: 1 mL/min

Injektionsvolumen: 10 μ L

Messwellenlänge: 225 nm; Referenzwellenlänge 360 nm



Peaknummer	Retentionszeit [min]	Substanz
1	0,75	Methyl-p-tolylsulfoxid
2	1,9	Triphenylphosphinoxid
3	2,5	Methyl-p-tolylsulfid
4	4,6	Triphenylphosphin

Abb. 1. Beispielchromatogramm für die flüssigchromatographische Trennung eines Standards (chromatographische Bedingungen vgl. Abschnitt 4)

5 Analytische Bestimmung

Zur analytischen Bestimmung werden jeweils 10 μ L der nach Abschnitt 3.2 aufbereiteten Proben in den Hochleistungsflüssigkeitschromatographen injiziert und unter den in Abschnitt 4 angegebenen Arbeitsbedingungen analysiert. Liegen die ermittelten Konzentrationen oberhalb des Kalibrierbereiches, so sind geeignete Verdünnungen herzustellen und diese nochmals zu analysieren. Des Weiteren wird die aufbereitete Blindprobe (Field Blank) entsprechend den Analysenproben analysiert. Zusätzlich zu den Proben werden je zwei Kontrollstandards und deren Blindwerte (Chemikalienblindwerte) (siehe Abschnitt 2.4) zur Überprüfung der Retentionszeiten und Kalibrierkurven mit analysiert. Die Mittelwerte der Chemikalienblindwerte sind bei den Kontrollstandards

zu berücksichtigen. Die Identifizierung der Peaks im Chromatogramm erfolgt anhand der Retentionszeiten der Kontrollstandards.

Anmerkung:

Vor jeder Analyse ist der exakte Gehalt der Peroxide PES und H_2O_2 in der P3 Oxonia Active 150-Lösung titrimetrisch zu ermitteln (siehe Abschnitt 2.4).

6 Kalibrierung

Zur Erstellung der Kalibrierfunktionen werden die unter Abschnitt 2.5 beschriebenen Vergleichsstandards verwendet und mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie analysiert. Dazu werden von jedem Vergleichsstandard 10 μL in den Injektor der HPLC injiziert und wie die Probelösungen analysiert. Die ermittelten Peakflächen werden gegen die jeweiligen Konzentrationen aufgetragen und daraus die Kalibrierfunktionen für Wasserstoffperoxid und Peroxyessigsäure berechnet. Die Kalibrierkurven sind in den untersuchten Konzentrationsbereichen linear. In den Abbildungen 2 und 3 sind die Kalibrierkurven für Peroxyessigsäure und Wasserstoffperoxid dargestellt. Zur Überprüfung der Kalibrierfunktionen ist arbeitstäglich mindestens eine Kontrollprobe mit Chemikalienblindwert zu analysieren. Die Kalibrierung ist neu zu erstellen, wenn die analytischen Bedingungen sich ändern oder die Qualitätskontrolle dazu Anlass gibt.

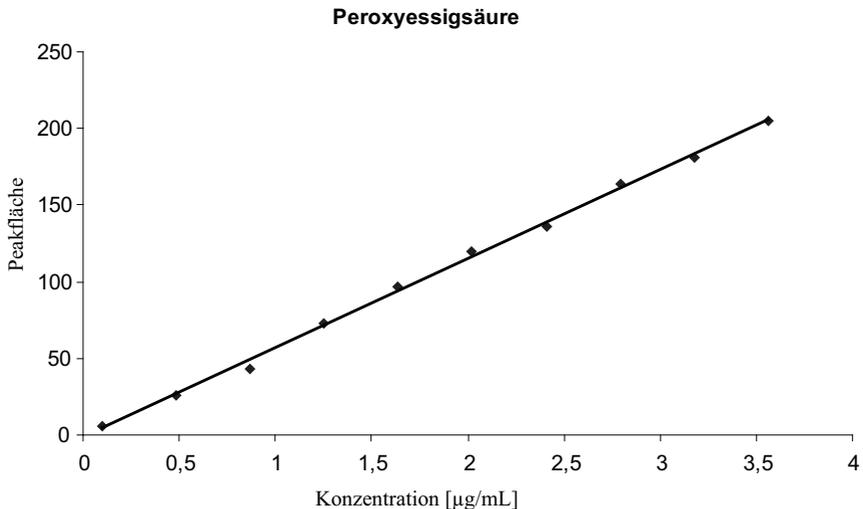


Abb. 2. Graphische Darstellung der Kalibrierfunktion zur quantitativen Bestimmung von Peroxyessigsäure (PES) im Konzentrationsbereich von 0,1 bis 3,5 $\mu\text{g/mL}$

10 Peroxide

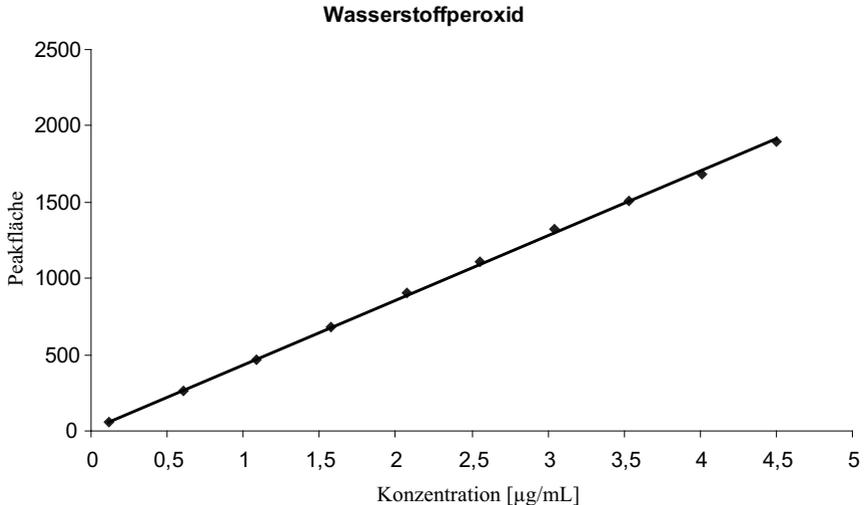


Abb. 3. Graphische Darstellung der Kalibrierfunktion zur quantitativen Bestimmung von Wasserstoffperoxid im Konzentrationsbereich von 0,1 bis 4,4 µg/mL

7 Berechnung des Analyseergebnisses

Die Berechnung der Konzentrationen an Peroxyessigsäure und Wasserstoffperoxid in der Luft am Arbeitsplatz erfolgt mit Hilfe der von der Datenauswerteeinheit berechneten Konzentrationen der Substanzen in der Messlösung. Die Datenauswerteeinheit verwendet dazu die im Rahmen der Kalibrierung berechneten Kalibrierfunktionen. Aus den Konzentrationen werden unter Berücksichtigung von Verdünnungen und des Probeluftvolumens die Konzentrationen an Peroxyessigsäure und Wasserstoffperoxid in der Luft am Arbeitsplatz berechnet. Die Massenkonzentration (ρ) der beiden Peroxide in der Probeluft in mg/m^3 wird nach Gleichung (1) wie folgt ermittelt.

$$\rho = \frac{(m - m_{\text{Blind}}) \times E}{M \times \eta \times V_{\text{Luft}}} \quad (1)$$

Es bedeuten:

ρ	Massenkonzentration an Peroxyessigsäure (PES) bzw. Wasserstoffperoxid (H_2O_2) in der Raumluft in mg/m^3
m	gemittelte Masse an Peroxyessigsäure (PES) bzw. Wasserstoffperoxid (H_2O_2) in der Probelösung in μg
m_{Blind}	gemittelte Masse des Blindwertes (Field Blanks) an Peroxyessigsäure (PES) bzw. Wasserstoffperoxid (H_2O_2) in der Probelösung in μg
E	Absorptionsmasse im Impinger in mL (Vorgabe 10)
M	eingesetzte Probemenge in mL (Vorgabe 0,3)
η	Wiederfindung
V_{Luft}	Probeluftvolumen in L (berechnet aus dem Volumenstrom und der Probenahmedauer: $1,38 \text{ L}/\text{min} \times 60 \text{ min} = 83 \text{ L}$)

8 Beurteilung des Verfahrens

Die Kenndaten der Methode wurden nach DIN EN 482 [6] und DIN 32645 [7] ermittelt.

8.1 Präzision

Die Vergleichspräzisionen wurden in einer Ganzkörperexpositionsanlage ermittelt. Dazu wurden in mehreren Versuchen kontinuierlich 35-%ige wässrige Peroxyessigsäurelösung, 36-%ige wässrige Wasserstoffperoxidlösung und ein Desinfektionsmittelgemisch bestehend aus je ca. 16 % Peroxyessigsäure und Wasserstoffperoxid verdampft. Über eine Dosierpumpe wurden zwischen 2 und 4 mL Peroxidlösung pro Stunde dosiert. Anschließend wurde das Gemisch bei einer Temperatur von 60 °C verdampft und über einen Gasstrom mit einem Fluss von 14 m³/h in eine 1,4 m³ umfassende Kammer geleitet. Die Soll-Konzentrationen in der Kammer lagen für Peroxyessigsäure zwischen 0,9 und 1,9 mg/m³ und für Wasserstoffperoxid im Bereich von 0,9 bis 2,8 mg/m³. Pro Konzentration wurden jeweils 6 Probenahmen mit einstündiger sowie 15-minütiger Probenahmedauer durchgeführt. Zur Überprüfung der Durchbruchraten wurden zwei Impinger hintereinander geschaltet und die Lösungen anschließend getrennt aufgearbeitet.

Da die Anlageneffizienz für Wasserstoffperoxid zwischen 50 und 76 % lag, wurde Wasserstoffperoxid zusätzlich photometrisch bestimmt [8]. Die dabei ermittelten Gehalte für H₂O₂ wurden als Bezugsgröße herangezogen.

Peroxyessigsäure wurde beim Verdampfen der wässrigen Lösung zu 100 % wiedergefunden. Die Anlageneffizienz beim Verdampfen des wässrigen Desinfektionsmittelgemisches lag dagegen bei ca. 84 %. Die Vergleichspräzisionen lagen bei allen Versuchen für Peroxyessigsäure und Wasserstoffperoxid bei maximal 4,5 % bzw. 8,3 %.

Wasserstoffperoxid konnte im zweiten Impinger nicht nachgewiesen werden, so dass ein Durchbruch ausgeschlossen werden kann. Die Absorption von H₂O₂ ist also im ersten Impinger vollständig. Peroxyessigsäure konnte bei einstündiger Probenahme konzentrationsunabhängig im zweiten Impinger im Mittel zu 16 % (bezogen auf die Gesamtkonzentration) nachgewiesen werden. Bei einer Probenahmedauer von 15 min lag der Gehalt im zweiten Impinger immer unter der Bestimmungsgrenze. Die Ergebnisse sind in den Tabellen 3 und 4 aufgeführt.

Die Wiederholpräzision bei Wasserstoffperoxid bei einer Konzentration von 1,18 µg/mL Endlösung beträgt 0,4 % und bei Peroxyessigsäure 1,3 % bei einer Konzentration von 1,27 µg/mL. Ermittelt wurden die Wiederholpräzisionen aus einer aufgearbeiteten Standardlösung über eine Zeitdauer von 6 Tagen.

12 Peroxide

Tab. 3. Standardabweichung (rel.) und Gehalt im 2. Impinger für $n = 6$ Bestimmungen für Peroxyessigsäure bei einstündiger und 15-minütiger Probenahme

Soll-Konzentration	1 Stunde Probenahmedauer			15 Minuten Probenahmedauer*	
	Ermittelte Konzentration	Standardabweichung (rel.)	Gehalt im 2. Impinger bez. auf Gesamtgehalt	Ermittelte Konzentration	Standardabweichung (rel.)
[mg/m ³]	[mg/m ³]	[%]	[%]	[mg/m ³]	[%]
0,90	0,80	2,4	18	0,68	4,5
0,96	1,04	2,1	17	1,36	2,1
1,50	1,37	2,9	13	1,17	3,5
1,91	1,97	2,1	17	1,98	1,5

* Die Gehalte im 2. Impinger lagen alle unterhalb der Bestimmungsgrenze.

Tab. 4. Standardabweichung (rel.) für $n = 6$ Bestimmungen für Wasserstoffperoxid bei einstündiger und 15-minütiger Probenahme

Soll-Konzentration	1 Stunde Probenahmedauer			15 Minuten Probenahmedauer		
	Bezugskonzentration*	Ermittelte Konzentration	Standardabweichung (rel.)	Bezugskonzentration*	Ermittelte Konzentration	Standardabweichung (rel.)
[mg/m ³]	[mg/m ³]	[mg/m ³]	[%]	[mg/m ³]	[mg/m ³]	[%]
0,94	0,68	0,78	1,7	0,65	0,73	5,7
1,57	1,06	1,47	7,6	1,11	1,07	4,4
2,82	1,81	1,74	6,3	1,52	1,74	8,3

* photometrisch ermittelt [8] für $n = 6$ Bestimmungen

8.2 Richtigkeit

Zur Überprüfung der Richtigkeit der Methode wurden mehrere Wiederfindungsversuche durchgeführt.

Direktdotierung

Dazu wurde Desinfektionsmittellösung direkt in die Absorptionslösung des Impingers dotiert. Anschließend wurde unbelastete Luft durch den Impinger gesaugt. Bei Konzentrationen von 0,85 mg/m³ Peroxyessigsäure und 1,48 mg/m³ Wasserstoffperoxid wurden die Peroxide bei einer Probenahmedauer von 15 Minuten zu 91 % bzw. 105 % wiedergefunden.

Dotierung in einen Gassack

Zur Bestimmung der Peroxyessigsäure wurden Wiederfindungsversuche in einem Klimaschrank durchgeführt. Dazu wurden 6 Tedlar-Gassäcke mit je 80 Liter Stickstoff be-

füllt und bei 40 °C für 30 Minuten temperiert. Ein handelsübliches peroxyessigsäurehaltiges Produkt wurde mit einer Spritze injiziert. Die Luftkonzentration entsprach etwa 0,7 mg/m³. Bei 40 °C wurden die dotierten Gassäcke im Klimaschrank für 1 Stunde temperiert. Anschließend erfolgte die Luftprobenahme bei 30 °C mit 2 hintereinandergeschalteten Impingern. Zu Vergleichszwecken wurden die gleichen Massen an Peroxid direkt in je 10 mL Absorptionslösung dotiert. Entsprechend den Abschnitten 3.2 und 5 wurden die Proben und Vergleichslösungen mit den Reagenzien versetzt (400 µL Probenmenge statt 300) und analysiert. Die Wiederfindung im 1. Impinger betrug für die Peroxyessigsäure 84 %, wobei der Gehalt im 2. Impinger bei ca. 8 % lag. Für Wasserstoffperoxid verläuft die Verdampfung im Gassack unter diesen klimatischen Bedingungen nicht vollständig. Es konnte kein Durchbruch für Wasserstoffperoxid festgestellt werden.

Bei hohen Peroxyessigsäurekonzentrationen (5,3 mg/m³) wurden im zweiten Impinger 11 % bezogen auf die Gesamtmasse nachgewiesen.

Expositionsmessung

An Arbeitsplätzen wurden bei einstündigen Probenahmen 11 % Peroxyessigsäure im 2. Impinger nachgewiesen. Die Peroxyessigsäurekonzentration in der Arbeitsplatzluft betrug 0,7 mg/m³.

Des Weiteren wurden auch an Arbeitsplätzen Wasserstoffperoxidmessungen mit beiden Verfahren durchgeführt. Die Messergebnisse bei einstündiger Probenahme betragen bei photometrischer und HPLC-Bestimmung 1,4 mg/m³ bzw. 1,3 mg/m³.

Aus den Wiederfindungsversuchen ergibt sich für Wasserstoffperoxid eine relative Wiederfindung von $\eta = 1,0$. Für Peroxyessigsäure beträgt die relative Wiederfindung bei einstündiger Probenahme $\eta = 0,84$ und $\eta = 1,0$ bei 15-minütiger Probenahme.

8.3 Erweiterte Messunsicherheit des Gesamtverfahrens

Die Ermittlung der Messunsicherheit erfolgt unter Abschätzung aller relevanten Einflussgrößen (bottom-up-Verfahren) [6], [9]. Die Messunsicherheit des Gesamtverfahrens setzt sich im Wesentlichen aus folgenden Beiträgen des Analysenverfahrens zusammen:

- Unsicherheitsbeträge des Probeluftvolumens,
- Unsicherheitsbeträge der Volumina der Absorptionslösung und der zur Oxidation eingesetzten Probelösung,
- Unsicherheitsbeträge der Wiederfindungsraten,
- sowie der Einflüsse auf die Messwerte, insbesondere der Streuung der Kalibriergeraden, Unsicherheit der Kalibrierpunkte und der laborinternen Reproduzierbarkeit (Präzision).

Durch Multiplikation mit einem Wahrscheinlichkeits-Faktor (z. B. $k = 2$ für 95 % Sicherheit) erhält man die entsprechenden erweiterten Messunsicherheiten (U_{erw}), die gleichzeitig die stoff- und konzentrationsabhängigen Messunsicherheiten des Gesamtverfahrens darstellen. In Tabelle 5 sind alle ermittelten Unsicherheitsbeiträge zusammengefasst, wobei in Abhängigkeit der Kalibrierkurve unterschieden wird zwischen

14 Peroxide

hoher (Vergleichstandard 9), mittlerer (Vergleichstandard 5) und niedriger Konzentration (Vergleichstandard 2) sowie zwischen einer Probenahmedauer von 15 und 60 Minuten. Die Umrechnung auf die Luftkonzentrationen ist in Tabelle 6 dargestellt.

Tab. 5. Beiträge zur Messunsicherheit U des Gesamtverfahrens in %

Komponente	U_{VL} (60 min)	U_{VL} (15 min)	U_{E-Abs}	U_P	U_{WF}
Peroxyessigsäure	3,38	3,86	0,22	0,52	3,8
Wasserstoffperoxid	3,38	3,86	0,22	0,52	7,2
Komponente	$U_{Messwert\ h}$	$U_{Messwert\ m}$	$U_{Messwert\ n}$	$U_{komb.\ h}$ (60 min)	$U_{komb.\ m}$ (60 min)
Peroxyessigsäure	1,67	1,74	3,85	5,4	5,3
Wasserstoffperoxid	1,15	1,35	3,87	7,7	4,7
Komponente	$U_{komb.\ n}$ (60 min)	$U_{komb.\ h}$ (15 min)	$U_{komb.\ m}$ (15 min)	$U_{komb.\ n}$ (15 min)	$U_{erweitert\ h}$ (60 min)
Peroxyessigsäure	6,4	5,4	5,4	7,0	11
Wasserstoffperoxid	14,2	8,9	8,9	7,6	15
Komponente	$U_{erweitert\ m}$ (60 min)	$U_{erweitert\ n}$ (60 min)	$U_{erweitert\ h}$ (15 min)	$U_{erweitert\ m}$ (15 min)	$U_{erweitert\ n}$ (15 min)
Peroxyessigsäure	11	13	11	11	14
Wasserstoffperoxid	9	28	18	18	15

Tab. 6. Luftkonzentrationen zur Ermittlung der erweiterten Messunsicherheiten

	niedrig	Luftkonzentration [mg/m ³] mittel	hoch
PES 1 h Probenahme	0,24	1,0	1,7
H ₂ O ₂ 1 h Probenahme	0,24	0,84	1,4
PES 15 min Probenahme	0,97	3,4	5,6
H ₂ O ₂ 15 min Probenahme	0,97	3,4	5,6

Es bedeuten:

U_{VL} (60 min) Unsicherheit des Probeluftvolumens bei einer Probenahmedauer von 60 Minuten

U_{VL} (15 min) Unsicherheit des Probeluftvolumens bei einer Probenahmedauer von 15 Minuten

U_{E-Abs} Unsicherheit des Volumens der Absorptionslösung

U_P Unsicherheit der zur Oxidation eingesetzten Probelösung

U_{WF} Unsicherheit der Wiederfindung

$U_{Messwert\ h}$ Unsicherheit des Messwertes bei einer hohen Konzentration (Vergleichsstandard 9) (beinhaltet Präzision und Streuung der Kalibrierkurve)

$U_{\text{Messwert m}}$	Unsicherheit des Messwertes bei einer mittleren Konzentration (Vergleichsstandard 5)
$U_{\text{Messwert n}}$	Unsicherheit des Messwertes bei einer niedrigen Konzentration (Vergleichsstandard 2)
$U_{\text{komb. h}}$	kombinierte Messunsicherheit bei einer hohen Konzentration
$U_{\text{komb. m}}$	kombinierte Messunsicherheit bei einer mittleren Konzentration
$U_{\text{komb. n}}$	kombinierte Messunsicherheit bei einer niedrigen Konzentration
$U_{\text{erweitert-h}}$	erweiterte Messunsicherheit bei hoher Konzentration
$U_{\text{erweitert-m}}$	erweiterte Messunsicherheit bei mittlerer Konzentration
$U_{\text{erweitert-n}}$	erweiterte Messunsicherheit bei niedriger Konzentration

8.4 Bestimmungsgrenze

Die Bestimmungsgrenzen wurden gemäß DIN 32645 [7] jeweils aus den Messergebnissen einer 10-Punkt-Kalibrierung berechnet. Dazu wurden Vergleichsstandards mit Gehalten von 0,1 bis 4,4 $\mu\text{g/mL}$ Wasserstoffperoxid und 0,1 bis 3,54 $\mu\text{g/mL}$ Peroxyessigsäure untersucht. Für Wasserstoffperoxid ergab sich eine Bestimmungsgrenze von 0,20 mg/L und für Peroxyessigsäure von 0,15 mg/L. Bezogen auf ein Probeluftvolumen von 83 L entspricht dies einer relativen Bestimmungsgrenze von 0,08 mg/m^3 für Wasserstoffperoxid und 0,07 mg/m^3 für Peroxyessigsäure.

8.5 Lagerfähigkeit

Zur Ermittlung der Lagerfähigkeit wurden sowohl Luftproben, die aus einem Tedlar-Gassack entnommen wurden (mit Konzentrationen von 2,1 bzw. 3,9 $\mu\text{g/mL}$ Peroxyessigsäure und 0,7 bzw. 1,75 $\mu\text{g/mL}$ Wasserstoffperoxid), als auch ein Kontrollstandard mittlerer Konzentration (2,4 bzw. 2,3 $\mu\text{g/mL}$ Peroxyessigsäure und Wasserstoffperoxid; vgl. Abschnitt 2.4) untersucht. Die Proben wurden wie in Abschnitt 3.2 beschrieben aufgearbeitet. Entsprechend den Proben wurden parallel auch Blindproben aufgearbeitet. Die aufgearbeiteten Probelösungen, Standards und Blindproben wurden am gleichen Tag und nach 15-tägiger Lagerung im Kühlschrank analysiert. Dabei konnten keine Verluste an Peroxyessigsäure und Wasserstoffperoxid festgestellt werden. Die Lagerfähigkeit über 15 Tage ist gewährleistet.

8.6 Störeinflüsse

Das Analysenverfahren mittels HPLC ist unter den angegebenen Arbeitsbedingungen spezifisch. Störeinflüsse durch andere Komponenten wurden in den untersuchten Arbeitsbereichen nicht beobachtet.

8.7 Blindwerte

Blindwerte werden durch die parallel zur Probenaufbereitung hergestellten Field Blanks berücksichtigt. Bei der Auswahl der Reagenzien Methyl-p-tolylsulfid (MTS)

16 Peroxide

und Triphenylphosphin (TPP) ist darauf zu achten, dass sie die Qualität p. a. aufweisen. Diese sind grundsätzlich vor Einsatz auf Blindwerte zu überprüfen.

9 Diskussion

Mit der hier vorgestellten Analysenmethode lassen sich die Konzentrationen an Peroxyessigsäure und Wasserstoffperoxid in der Luft am Arbeitsplatz selektiv bestimmen. Das Verfahren ist geeignet, um den von der DFG vorgeschlagenen Luftgrenzwert für Wasserstoffperoxid zu überwachen.

Jedoch sollten vor Durchführung der Analyse einige Hinweise berücksichtigt werden. So ist bei der Auswahl der Reagenzien Methyl-p-tolylsulfid (MTS) und Triphenylphosphin (TPP) darauf zu achten, dass sie die Qualität p. a. aufweisen. Diese sind grundsätzlich vor Einsatz auf Blindwerte zu überprüfen. Es hat sich gezeigt, dass bei Verwendung von TPP in niedriger Qualität trotz einer Reinheit von 99 % deutlich erhöhte Blindwerte auftreten können, wodurch sich die Reproduzierbarkeit erheblich verschlechtern kann.

Tritt Wasserstoffperoxid in der Luft am Arbeitsplatz allein auf, kann dieses auch mit dem photometrischen Verfahren [8] bestimmt werden.

Literatur

- [1] Deutsche Forschungsgemeinschaft (2012) MAK- und BAT-Werte-Liste 2012. Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Mitteilung 48. Wiley-VCH Verlag, Weinheim
- [2] Greim H. (Hrsg.) (1993) Peroxyessigsäure. Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründungen von MAK-Werten. Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, 19. Lieferung. Wiley-VCH Verlag, Weinheim. <http://onlinelibrary.wiley.com/mrw/advanced/search?doi=10.1002/3527600418>
- [3] EU (European Union) (2003) Risk assessment report, hydrogen peroxide, Vol. 38, EU, Brüssel
- [4] Greim H. (Hrsg.) (2006) Wasserstoffperoxid. Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründungen von MAK-Werten. Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, 41. Lieferung. Wiley-VCH Verlag, Weinheim. <http://onlinelibrary.wiley.com/mrw/advanced/search?doi=10.1002/3527600418>
- [5] Pinkernell U, Effkemann S, Karst U (1997) Simultaneous HPLC Determination of Peroxyacetic Acid and Hydrogen Peroxide. Anal. Chem. 69, 3623–3627
- [6] DIN EN 482 (2012) Arbeitsplatzatmosphäre – Allgemeine Anforderungen an die Leistungsfähigkeit von Verfahren zur Messung von chemischen Arbeitsstoffen. Beuth Verlag, Berlin
- [7] DIN 32645 (2008) Chemische Analytik; Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze; Ermittlung unter Wiederholbedingungen – Begriffe, Verfahren, Auswertung. Beuth Verlag, Berlin
- [8] Breuer D, Adelman M (2003) Wasserstoffperoxid Meth.-Nr. 2. In: Deutsche Forschungsgemeinschaft (Greim H, Hrsg.) Analytische Methoden zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Band 1 „Luftanalysen“, 13. Lieferung. Wiley-VCH Verlag, Weinheim. <http://onlinelibrary.wiley.com/mrw/advanced/search?doi=10.1002/3527600418>
- [9] DIN EN 1076 (2008) Exposition am Arbeitsplatz – Messung von Gasen und Dämpfen mit pumpenbetriebenen Probenahmegeräten – Anforderungen und Prüfverfahren Anhang B

Autor: C. Schuh

Prüfer: R. Hebisch