
BGI 505.50 (bisher ZH 1/120.50)

Verfahren zur Bestimmung von Auramin

Hauptverband der gewerblichen Berufsgenossenschaften

Fachausschuß "Chemie"

Mai 1993

Erprobtes und von den Berufsgenossenschaften anerkanntes, diskontinuierliches Verfahren zur Bestimmung von Auramin als Hydrochlorid (im weiteren Text: Auramin) in Arbeitsbereichen.

Es sind personenbezogene oder ortsfeste Probenahmen für Messungen zur Beurteilung von Arbeitsbereichen möglich:

Probenahme mit Pumpe und Abscheidung auf einem Filter, Flüssigchromatographie (HPLC)¹ nach Desorption.

"Auramin – 1 – HPLC".

(Ausgabe: Mai 1993).

IUPAC-Name: 4,4'-(Imidocarbonyl)-bis-(N,N-dimethylanilin) hydrochlorid

CAS-Nr.: 2465-27-2

Probenahme mit Pumpe und Abscheidung auf einem Filter, HPLC nach Desorption

Kurzfassung

Mit diesem Verfahren wird die über die Probenahmedauer gemittelte Konzentration von Auramin als Hydrochlorid (im weiteren Text: Auramin) im Arbeitsbereich personenbezogen oder ortsfest bestimmt.

Meßprinzip: Mit Hilfe einer Pumpe wird ein definiertes Luftvolumen durch ein Glasfaserfilter gesaugt und der Staub abgeschieden. Das abgeschiedene Auramin wird mit einem Gemisch aus Tetrabutylammoniumhydrogensulfatlösung und Methanol desorbiert und flüssigchromatographisch bestimmt.

Technische Daten

Bestimmungsgrenze: absolut: 0,1 µg.
relativ: 16 g/m³ bei 500 l Probeluft, 4 ml

Desorptionslösung und 50 µl Injektionsvolumen.

Selektivität: Die Selektivität ist in jedem Einzelfall zu prüfen.

Vorteile: Personenbezogene und selektive Messungen möglich.

Nachteile: Keine Anzeige von Konzentrationsspitzen.

Apparativer Aufwand: Pumpe mit Gasmengenzähler oder Volumenstromanzeiger, Glasfaserfilter mit Filterhalter, Flüssigchromatograph mit UV/VIS-Detektor.

¹HPLC, engl.: High Performance Liquid Chromatography.

Ausführliche Verfahrensbeschreibung

1 Geräte, Chemikalien und Lösungen

1.1 Geräte

Für die Probenahme und Probenaufbereitung:

- Pumpe mit Volumenstromanzeiger oder Gasmengenzähler, geeignet für einen Volumenstrom von 3,5 l/min,
- Probenahmekopf GSP, z.B. Firma Ströhlein GmbH, Kaarst oder Firma DEHA-Haan & Wittmer GmbH, Friolzheim,
- Glasfaserpapier, z.B. Firma Macherey & Nagel Mn 85/90 BF,
- Gasuhr, nasse Bauart, z.B. Firma Ritter AG,
- Meßkolben 10 ml, 100 ml und 1000 ml (Braunglas),
- Variable Dosierpipetten 5 µl bis 1 ml,
- Probengläschen (Braunglas),
- PTFE²-Spritzenvorsatzfilter, z.B. Firma Millipore Millex FG 13 0,2 µm,
- Einmalspritzen 2,5 ml,
- pH-Meßgerät,
- HPLC-Gerät mit Gradientenpumpensteuerung und UV-VIS-Detektor,
- Registrier- und Auswerteeinheit,
- Wasseraufbereitungsgerät, z.B. Elgastat, Firma Elga, Vertrieb in Deutschland durch Firma Labotec, Wiesbaden,
- Schnappdeckelgläschen, 20 ml (Braunglas),
- Ultraschallbad.

1.2 Chemikalien und Lösungen

- Wasser für die HPLC z.B. mit dem Elgastat aufbereitet (UHQ-Wasser),
- Methanol, z.B. LiChrosolv, Firma Merck,
- Tetrabutylammoniumhydrogensulfat p.a.,
- Natronlauge 0,1 mol/l, p.a.,
- Technisches Auraminhydrochlorid 85 %, z.B. Firma Aldrich, Steinheim.

Pufferlösung: Tetrabutylammoniumhydrogensulfatlösung 10 mmol/l.

3,36 g Tetrabutylammoniumhydrogensulfat werden in 1-l-UHQ-Wasser gelöst und mit Natronlauge auf einen pH-Wert von 2,3 eingestellt.

Desorptionslösung: Gemisch aus Pufferlösung und Methanol 1:1 (v/v).

Stammlösung: Lösung von 1 mg Auramin/ml Wasser.

In einen 25-ml-Meßkolben werden 25 mg Auramin auf 0,1 mg genau eingewogen und mit Wasser bis zur Marke aufgefüllt.

Kalibrierlösungen: Lösungen von je 0,5; 2,5; 10; 25 und 50 µg Auraminhydrochlorid/ml Desorptionslösung.

Es werden 5; 25; 100; 250; 500 µl der Stammlösung in jeweils einen 10-ml Meßkolben vorgelegt und mit der Desorptionslösung bis zur Marke aufgefüllt. Mit diesen Lösungen wird bei einem Probeluftvolumen von 500 l ein Konzentrationsbereich von 4 bis 400 µg/m³ abgedeckt.

2 Probenahme

Zur Probenahme wird der Probenahmekopf mit Glasfasergapier versehen und mit der Pumpe verbunden. Pumpe und Filterhalter werden von einer Person während der Arbeitszeit getragen oder ortsfest aufgestellt. Der Volumenstrom wird auf 3,5 l/min eingestellt, damit an der Eintrittsöffnung gemäß Gesamtstaubdefinition eine Strömungsgeschwindigkeit von 1,25 m/s gewährleistet ist. Bei einer Probenahmedauer von zweieinhalb Stunden entspricht dies einem Probeluftvolumen von 525 l.

Die Proben müssen in Braunglasgefäßen aufbewahrt und gehandhabt werden.

3 Analytische Bestimmung

3.1 Probenaufbereitung und Analyse

Zur Aufbereitung wird das Filter in ein Schnappdeckelgläschen aus Braunglas gegeben und mit 4 ml Desorptionslösung versetzt. Nach der anschließenden 15-minütigen Behandlung im Ultraschallbad werden die festen Bestandteile mit einem PTFE³-Spritzenvorsatzfilter von der Flüssigkeit abgetrennt (Desorptionslösung).

Um sicherzustellen, daß die verwendete Desorptionslösung und das Glasfaserfilter keine störenden Verunreinigungen enthalten, wird ein unbeladenes Glasfaserfilter mit 4 ml Desorptionslösung desorbiert (Leerwertlösung).

Aus der Desorptionslösung werden 50 µl entnommen, in den Flüssigchromatographen eingespritzt und ein Chromatogramm – wie unter Abschnitt 3.2 beschrieben – angefertigt. Das Auramin wird bei einer Wellenlänge von 437 nm detektiert.

3.2 Instrumentelle Arbeitsbedingungen

Die in Abschnitt 5 angegebenen Verfahrenskenngrößen wurden unter folgenden Gerätebedingungen erarbeitet:

Analysengerät: Hewlett Packard 1090 mit Diodenarraydetektor (DAD) und Autosampler;
Trennsäule: z.B. LiChroCart HPLC-Kartusche
(Länge 125 mm, Innendurchmesser 4 mm) mit LiChrospher 60 RP-select B (5 µm) und einer Vorsäule (Länge 4 mm, Innendurchmesser 4 mm) mit dem gleichen Packungsmaterial, Firma Merck, Darmstadt;
Mobile Phase: Mischung aus 1 Volumenteil Pufferlösung, 2 Volumenteilen Methanol;
Flußrate: 0,8 ml/min;
Einspritzvolumen: 50 µl;
Meßwellenlänge: 437 nm.

²Polytetrafluorethylen.

³Polytetrafluorethylen.

4 Auswertung

4.1 Kalibrierung

Von den in Abschnitt 1.2 beschriebenen Kalibrierlösungen werden je 50 µl in das Analysengerät injiziert. Durch Auftragen der ermittelten Flächen über den in den jeweiligen Kalibrierlösungen enthaltenen Auraminmassen wird die Kalibrierkurve erstellt und die Linearität überprüft. Im angegebenen Konzentrationsbereich ist die Kalibrierkurve eine Gerade.

Der Kalibrierfaktor f wird mit Hilfe der erhaltenen Peakflächen von Auramin in den unterschiedlichen Kalibrierlösungen nach Formel (1) ermittelt:

$$f = \frac{c_K}{F} \quad (1)$$

Es bedeuten:

f = Kalibrierfaktor,

c_K = Konzentration von Auramin in µg/ml in der Kalibrierlösung,

F = Peakfläche des Auramins.

Der Kalibrierfaktor ist für alle Verdünnungen ungefähr gleich. Der Mittelwert $\bar{f}$ ist für die Berechnung des Analysenergebnisses zu verwenden.

4.2 Berechnen des Analysenergebnisses

Die Berechnung der Auraminkonzentration in der Probeluft in mg/m³ erfolgt nach der Formel (2):

$$c_m = \frac{4 \cdot F \cdot \bar{f}}{V} \quad (2)$$

Es bedeuten:

c_m = Massenkonzentration in mg/m³ an Auramin in der Probeluft,

F = Peakfläche des Auramins aus der Desorptionslösung,

$\bar{f}$ = mittlerer Kalibrierfaktor für Auramin,

V = Probeluftvolumen in l.

5 Beurteilung des Verfahrens

5.1 Genauigkeit

Es wurden jeweils 5 µl, 50 µl und 100 µl der unter Abschnitt 1.2 beschriebenen Stammlösung auf Glasfaserfilter aufgebracht. Anschließend wurden 500 l Laborluft – wie unter Abschnitt 2 beschrieben – durch die Filter gesaugt. Die dotierten Mengen an Auramin entsprechen beim untersuchten Probeluftvolumen Konzentrationen von 10, 100 und 200 µg/m³. Nach 24-stündiger Lagerung unter Lichtausschluß wurden die Filter – wie unter Abschnitt 3.1 beschrieben – analysiert. Für jede Konzentration wurden sechs Bestimmungen durchgeführt. Für die untersuchten Konzentrationen ergaben sich relative Standardabweichungen von 2,3; 2,7 und 2,5 %.

Bei einem Probeluftvolumen von 500 l lag die Wiederfindungsrate bei 90 %.

5.2 Bestimmungsgrenze

Die absolute Bestimmungsgrenze beträgt 0,1 µg Auramin.

Die relative Bestimmungsgrenze beträgt 16 µg/m³ an Auramin für ein Probeluftvolumen von 500 l, 4 ml Desorptionslösung und 50 µl Injektionsvolumen.

5.3 Selektivität

Die Selektivität ist in jedem Einzelfall zu überprüfen.

6 Bemerkungen

Die Lagerfähigkeit der beaufschlagten Filter beträgt bei Raumtemperatur und unter Lichtausschluß mindestens sieben Tage.