



Verfahren zur Bestimmung von 4-Chloranilin

Von den Unfallversicherungsträgern anerkannte Messverfahren zur Feststellung der Konzentrationen krebserzeugender, keimzellmutagener oder reproduktionstoxischer Stoffe in der Luft in Arbeitsbereichen

Impressum

Herausgegeben von: Deutsche Gesetzliche Unfallversicherung e.V. (DGUV)
Glinkastraße 40
10117 Berlin
Telefon: 030 13001-0 (Zentrale)
E-Mail: info@dguv.de
Internet: www.dguv.de

Arbeitsgruppe Analytik

im Sachgebiet Gefahrstoffe des Fachbereichs
Rohstoffe und chemische Industrie der DGUV
Federführung Berufsgenossenschaft Rohstoffe
und chemische Industrie (BG RCI)

Korrespondenzadresse

Berufsgenossenschaft Rohstoffe und chemische Industrie
Prävention – Gefahrstoffe und biologische Arbeitsstoffe
Gefahrstoffe, Biostoffe, Analytik
Postfach 10 14 80, 69004 Heidelberg
E-Mail: analytik@bgrci.de

Ausgabe: Februar 2023

Layout: Deutsche Gesetzliche Unfallversicherung e. V., Berlin

Copyright: Diese Publikation ist urheberrechtlich geschützt.
Die Vervielfältigung, auch auszugsweise, ist nur mit
ausdrücklicher Genehmigung gestattet.

Bezug: Bei Ihrem zuständigen Unfallversicherungsträger oder unter
www.dguv.de/publikationen > Webcode: p213552

Verfahren zur Bestimmung von 4-Chloranilin

Von den Unfallversicherungsträgern anerkannte Messverfahren zur Feststellung der Konzentrationen krebserzeugender, keimzellmutagener oder reproduktionstoxischer Stoffe in der Luft in Arbeitsbereichen

Verfahren 02

Probenahme mit Pumpe und Abscheidung auf sauer imprägnierten Filtern, Gaschromatographie nach Desorption
4-Chloranilin – 02 – GC
(erstellt: Februar 2023)

Zurückgezogene Verfahren (Erläuterungen siehe Seite 4)

Verfahren 01

Probenahme mit Pumpe und Absorption an imprägniertem Kieselgel, Flüssigchromatographie (HPLC nach Elution)
p-Chloranilin – 01 – HPLC
(erstellt: Mai 1993, zurückgezogen: September 2014)

Erläuterungen zur Gültigkeit

Einige Messverfahren dieser Reihe entsprechen bezüglich der Validierung, der Bestimmungsgrenze und der Probenahme nicht mehr den Anforderungen an das aktuelle Regelwerk, können aber für spezielle Aufgabenstellungen oder als Grundlage für eine Weiterentwicklung der Verfahren herangezogen werden. Diese sind als eingeschränkt geeignet mit den folgenden Kategorien gekennzeichnet:

E1: Validierung entspricht nicht den aktuellen Anforderungen

E2: Bestimmungsgrenze genügt nicht den aktuellen Anforderungen

E3: Probenahme entspricht nicht den aktuellen Anforderungen

Diese Verfahren sind unverändert in der Version der damaligen Ausgabe im Anhang wiedergegeben.

Als zurückgezogen werden Messverfahren bezeichnet, wenn das Verfahren durch ein neueres anerkanntes Verfahren gleicher Methodik ersetzt oder die angewandte Methode veraltet, nicht mehr nachvollziehbar oder fehlerbehaftet ist.

Teil dieses Verfahrens sind die im „Allgemeinen Teil“ (DGUV Information 213-500) beschriebenen Anforderungen und Grundsätze.

Die Verfahren wurden bis 1998 unter der Nummer ZH 1/120.xx und von 1999 bis 2014 unter der Nummer BGI 505-xx bzw. BGI/GUV-I 505.x veröffentlicht.

Eine Übersicht über die aktuellen und zurückgezogenen Messverfahren der DGUV Information 213-500-Reihe finden Sie unter

↗ <http://analytik.bgrci.de>

Verfahren 02

Probenahme mit Pumpe und Adsorption auf sauer imprägnierten Filtern, Gaschromatographie nach Desorption

Erprobtes und von den Unfallversicherungsträgern anerkanntes Messverfahren zur Bestimmung von 4-Chloranilin in der Luft in Arbeitsbereichen.

Für folgenden Stoff ist das Verfahren validiert:

Name	CAS-Nr.	Molmasse [g/mol]	AGW [mg/m ³]
4-Chloranilin	106-47-8	127,57	0,3 ÜF 2 (II) [1]

Es sind personengetragene und ortsfeste Probenahmen für Messungen zur Beurteilung von Arbeitsbereichen möglich.

Inhaltsverzeichnis

		Seite
Kurzfassung	7
1 Geräte und Chemikalien	8
1.1	Geräte	8
1.2	Chemikalien	8
1.3	Lösungen.....	9
1.4	Herstellung der imprägnierten Filter	11
2 Probenahme	12
3 Analytische Bestimmung	13
3.1	Probenaufbereitung.....	13
3.2	Chromatographische Arbeitsbedingungen	13
4 Auswertung	15
4.1	Kalibrierung	15
4.2	Berechnung des Analysenergebnisses.....	15
5 Beurteilung des Verfahrens	17
5.1	Präzision und Wiederfindung.....	17
5.2	Versuche zum Durchbruchsvolumen	18
5.3	Bestimmungsgrenze.....	18
5.4	Lagerfähigkeit.....	19
5.5	Selektivität.....	19
5.6	Messunsicherheit.....	19
5.7	Bemerkungen	20
6 Literatur	21

Kurzfassung

Mit diesem Verfahren wird die über die Probenahmedauer gemittelte Konzentration von 4-Chloranilin im Arbeitsbereich personengetragen oder ortsfest bestimmt.

Messprinzip: Mithilfe einer Pumpe wird ein definiertes Luftvolumen durch zwei sauer imprägnierte Filter gesaugt. Danach wird 4-Chloranilin mit einem Gemisch aus Acetonitril und Ammoniakwasser vom Filter desorbiert und nach gaschromatographischer Trennung mit massenselektivem Detektor (MSD) bestimmt.

Bestimmungsgrenze: absolut: 0,22 ng
 pro Probeträger: 0,89 µg
 relativ: 0,0037 mg/m³ für 240 l Probeluftvolumen, 4 ml Desorptionslösung und ein Injektionsvolumen von 1 µl

Messbereich: validiert von 0,026 mg/m³ bis 0,53 mg/m³

Selektivität: Durch den Einsatz eines massenselektiven Detektors hohe Selektivität.

Vorteile: Personengetragene und selektive Messungen möglich.

Nachteile: Keine Anzeige von Konzentrationsspitzen.

Apparativer Aufwand: Probenahmeeinrichtung:
 bestehend aus Pumpe und Probenahmekopf, Filterkassette mit sauer imprägnierten Filtern
 Volumenstrommessgerät
 Gaschromatograph mit massenselektivem Detektor (MSD)

1 Geräte und Chemikalien

1.1 Geräte

Für die Probenahme:

- Pumpe, geeignet für einen Volumenstrom größer 1l/min, z. B. PP 5, Fa. Gilian, Bezug über Fa. DEHA Haan & Wittmer, 71296 Heimsheim
- Volumenstrommessgerät, z. B. Gilibrator, Fa. Gilian
- Probenahmekopf GSP, ausgelegt für einen Volumenstrom von 1l/min
- Filterhalter für GSP-System
- Glasfaserfilter, Typ 85/90BF, Durchmesser 37 mm, Fa. Macherey und Nagel, 52355 Düren
- Petrischalen

Für die Analyse:

- Messkolben 5 ml, 10 ml, 25 ml, 250 ml, 1000 ml
- automatische Verdrängerpipette, z. B. Multipette pro, Fa. Eppendorf AG, 50389 Wesseling-Berzdorf
- Flachbettschüttler
- Gaschromatograph, z. B. Agilent 7890B mit massenspezifischem Detektor und Autosampler, Fa. Agilent, 76337 Waldbronn
- Analysenwaage

Für die Validierung:

- Filterkassette, Fa. Merck Millipore, 64293 Darmstadt

1.2 Chemikalien

- 4-Chloranilin, 97 %, z. B. Fa. Sigma-Aldrich Chemie GmbH, 64293 Darmstadt, Bestell-Nr. C22415-100 G
- Methanol, $\geq 99,9\%$, z. B. Fa. Merck, 64293 Darmstadt, Bestell-Nr. 1060022500
- Ammoniakwasser (25%ig), z. B. Fa. Merck, Bestell-Nr. 1054321000
- Schwefelsäure 0,5 M, z. B. Fa. Merck, Bestell-Nr. 1090721000

- 4-Propylanilin, 98 %, z. B. Fa. Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Bestell-Nr. BL3H1F1CAD1A-5 G
- Acetonitril für die Chromatographie, z. B. Fa. Riedel de Haen, 30926 Seelze, Bestell-Nr. RD34851-2.5 L
- Polyethylenglykol MN 400, z. B. Fa. Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Bestell-Nr. 8074850050

Gase zum Betrieb des Gaschromatographen:

- Helium, Reinheit 99,996 %

1.3 Lösungen

Lösemittelgemisch: Lösung von Ammoniakwasser in Acetonitril
In einen 1000-ml-Messkolben werden 50 ml Ammoniakwasser (25%ig) vorgelegt und mit Acetonitril auf 1l aufgefüllt. Dieses Gemisch ist 6 Monate haltbar.

Desorptionslösung: Lösung von ca. 36 mg 4-Propylanilin (interner Standard (ISTD))/l Lösemittelgemisch
In einen 250-ml-Messkolben, in dem einige Milliliter Lösemittelgemisch vorgelegt wurden, werden 10 µl 4-Propylanilin (Dichte 0,919 g/ml) einpipetiert, mit dem Lösemittelgemisch bis zur Marke aufgefüllt und umgeschüttelt.

Kalibrierstammlösung: Lösung von ca. 3,5 g 4-Chloranilin/l Desorptionslösung
In einen 10-ml-Messkolben werden ca. 36 mg 4-Chloranilin auf 0,1mg genau eingewogen. Anschließend wird der Messkolben mit Desorp-

tionslösung bis zur Marke aufgefüllt und umgeschüttelt.

Kalibrierlösungen: In eine Vorlage aus Desorptionslösung werden jeweils Aliquote der Kalibrierstammlösung in je einen 10-ml-Messkolben pipettiert. Anschließend wird mit Desorptionslösung bis zur Marke aufgefüllt und umgeschüttelt.

Diese Kalibrierlösungen entsprechen bezogen auf ein Probeluftvolumen von 240 l den Konzentrationen wie in Tabelle 1 dargestellt.

Tabelle 1 Kalibrierlösungen

Volumen Stammlösung [µl]	4-Chloranilin		
	[µg/ml]	[µg] absolut*	[mg/m³]
2	0,7	2,8	0,012
5	1,8	7,2	0,029
10	3,5	14	0,058
20	7	28	0,12
40	14	56	0,23
60	21	84	0,35
80	28	112	0,47
100	35	140	0,58

* bezogen auf ein Desorptionsvolumen von 4 ml

Validierlösung: Lösung von ca. 1,26 g/l 4-Chloranilin in Methanol
In einen 5-ml-Messkolben werden ca. 6,5 mg
4-Chloranilin auf 0,1mg genau eingewogen.
Anschließend wird der Messkolben mit Methanol
bis zur Marke aufgefüllt und umgeschüttelt.

1.4 Herstellung der imprägnierten Filter

Die Glasfaserfilter werden in 0,5 molare Schwefelsäure, der 1 Volumenprozent Polyethylenglykol MN 400 zugesetzt wurde, eingetaucht, auf ein Uhrglas abgelegt und über Nacht an der Luft getrocknet. Das zugesetzte Polyethylenglykol MN 400 dient der Feuchtigkeitserhaltung der getrockneten Filter. Die imprägnierten Filter werden in geschlossenen Petrischalen bei Raumtemperatur gelagert und sind unter diesen Bedingungen drei Monate haltbar.

2 Probenahme

Eine Filterkassette, die mit zwei imprägnierten Filtern ausgestattet ist, wird in den GSP-Kopf eingelegt und mit einer Pumpe [4] verbunden. Es wird eine Flussrate von 1l/min eingestellt. Die Pumpe und die Filter werden von einer Person während der Arbeitszeit getragen oder ortsfest verwendet. Das Verfahren wurde für ein Probenahmevolumen von 240 l, entsprechend einer Probenahmezeit von vier Stunden, überprüft.

Nach der Probenahme ist der Volumenstrom auf Konstanz zu überprüfen. Ist die Abweichung vom eingestellten Volumenstrom größer als 5 %, wird empfohlen, die Probenahme zu wiederholen (siehe hierzu DGUV Information 213-500 „Allgemeiner Teil“, Abschnitt 3 [2]).

3 Analytische Bestimmung

3.1 Probenaufbereitung

Die beiden Filter werden getrennt in 5-ml-Probengläschen gegeben. Nach Zugabe von jeweils 4 ml Desorptionslösung werden die Gefäße sofort verschlossen. Nach 30-minütigem Schütteln auf dem Flachbettschüttler wird ca. 1 ml in ein Autosamplergläschen überführt, 1 µl der Probe in den Gaschromatographen injiziert und anschließend analysiert.

3.2 Chromatographische Arbeitsbedingungen

GC-Bedingungen

Gerät:	Gaschromatograph Agilent 7890B mit massenspezifischem Detektor (MSD) und Split/Splitless-Injektor
Trennsäule:	Material: Quarzkapillare stationäre Phase: DB-Wax Länge: 30 m Innendurchmesser: 0,25 mm Filmdicke: 0,5 µm
Injektortemperatur:	250 °C
Split:	1 : 10
Injektionsvolumen	1 µl
Temperaturprogramm:	Anfangstemperatur 50 °C Heizrate I: 50 °C/min auf 180 °C Heizrate II: 5 °C/min auf 198 °C Heizrate III: 25 °C/min auf 240 °C 2 min isotherm

Trägergas: Helium, 1,6 ml/min, constant flow

MS-Bedingungen

Temperaturen: Transferleitung: 280 °C
Ionenquelle: 150 °C

Ionisierungsart: Elektronenstoßionisation (70 eV)

Massenbereich: Fullscan-Messung: 29 – 250 amu

Auswertemassen (m/z in amu):	<u>Quantifizierung</u> <u>(Targetion)</u>	Qualifizierung (Qualifizierungen)
4-Chloranilin	127	129/65
4-Propylanilin (ISTD)	106	135

4 Auswertung

4.1 Kalibrierung

Die entsprechend Abschnitt 1.3 hergestellten Kalibrierlösungen werden wie in Abschnitt 3 beschrieben analysiert.

Zur Bestimmung der Kalibrierfunktion werden die ermittelten Peakflächen des MSD-Signales gegen die Konzentrationen aufgetragen (siehe Tabelle 1).

Durch das Auftragen der Verhältnisse der Peakflächen des 4-Chloranilins zu den Peakflächen des internen Standards über die in den jeweiligen Kalibrierlösungen enthaltenen Massenverhältnisse des 4-Chloranilins und des internen Standards wird durch Regressionsrechnung die Kalibrierfunktion ermittelt.

Die Kalibrierfunktion ist im untersuchten Konzentrationsbereich linear und wird in der Routineanalytik regelmäßig überprüft. Dazu ist bei jeder Analysenreihe ein Kontrollstandard bekannter Konzentration zu analysieren.

4.2 Berechnung des Analyseergebnisses

Aus den erhaltenen Chromatogrammen werden die Peakflächen des 4-Chloranilins und des internen Standards ermittelt, der Quotient gebildet und aus der jeweiligen Kalibrierfunktion der zugehörige Wert für die Konzentration in der Probelösung in $\mu\text{g/ml}$ bestimmt.

Anhand der erhaltenen Peakfläche wird aus der Kalibrierkurve die zugehörige Konzentration m in $\mu\text{g/ml}$ je Probe ermittelt.

Die zugehörige Massenkonzentration (c) errechnet sich nach Gleichung (1) wie folgt:

$$c = \frac{c_1 \cdot d}{V \cdot \eta} \quad (1)$$

Es bedeuten:

c Massenkonzentration an 4-Chloranilin in der Luft in mg/m^3

c_1 Konzentration an 4-Chloranilin in der Analysenprobe in $\mu\text{g}/\text{ml}$

d Desorptionsvolumen in ml (4 ml)

V Probeluftvolumen in Liter

η Wiederfindung (siehe Abschnitt 5.1)

Wie in Abschnitt 3 beschrieben, dient der 2. Filter der Kontrolle, um Durchbrüche feststellen zu können. Sollte auf dem 2. Filter 4-Chloranilin bestimmt werden, sind diese Ergebnisse zu berücksichtigen.

5 Beurteilung des Verfahrens

5.1 Präzision und Wiederfindung

Die Präzision im Mindestmessbereich nach DIN EN 482 [3] sowie die Wiederfindung wurden für 3 Konzentrationen (siehe Tabelle 2) bestimmt. Dazu wurde die unter Abschnitt 1.3 hergestellte Validierlösung verwendet.

Zur Ermittlung der Präzision des Verfahrens wurden Millipore-Kassetten mit jeweils einem nicht imprägnierten Filter und zwei dahinter angeordneten imprägnierten Filtern bestückt, die durch einen Distanzring von dem nicht imprägnierten Filter getrennt waren. Auf die nicht imprägnierten Glasfaserfilter wurden jeweils 5 µl, 50 µl und 100 µl der Validierlösung dotiert. Durch diese so bestückten Kassetten wurde jeweils 4 Stunden lang Laborluft mit einem Volumenstrom von 1l/min gesaugt (Temperatur ca. 23 °C, relative Luftfeuchte zwischen 50 % und 55 %). Für jede Dotiermenge wurde der Versuch sechsmal wiederholt. Die Aufarbeitung und analytische Bestimmung erfolgten wie in Abschnitt 3 beschrieben.

Tabelle 2 Präzision und Wiederfindung

4-Chloranilin-Masse [µg]	4-Chloranilin-Konzentration* [mg/m³]	relative Standard-abweichung [%]	Wiederfindung [%]
6,3	0,026	1,0	101
63	0,262	1,9	97,3
126	0,525	3,6	101

* bezogen auf ein Probeluftvolumen von 240 l

Die mittlere Wiederfindung beträgt 99,9 %.

5.2 Versuche zum Durchbruchsvolumen

Es wurden zwei Millipore-Kassetten mit Hilfe eines möglichst kurzen Teflonschlauchs miteinander verbunden, das zweite Probenahmesystem diente als Kontrollschicht. Nach Dotierung mit 50 µl der Validierlösung wurden 240 l Laborluft über die Systeme gesaugt. Bei der anschließenden analytischen Auswertung konnte kein Durchbruch festgestellt werden.

5.3 Bestimmungsgrenze

Die Bestimmungsgrenze wurde in Anlehnung an die DIN 32645 [5] nach der Kalibriergeradenmethode mit 10 Kalibrierlösungen im unteren Konzentrationsbereich ermittelt.

Tabelle 3 Bestimmungsgrenze (P=99% und k=3)

Massenbereich [µg] von – bis	Bestimmungsgrenzen	
	absolut pro Probenträger [µg]	relativ* [µg/m³]
2,8 – 7,0	0,89	3,7

* bezogen auf ein Probeluftvolumen von 240 l

Die absolute Bestimmungsgrenze, berechnet auf 1 µl Injektionsvolumen, beträgt 0,22 ng.

Versuche zeigten, dass die Konzentrationen im Bereich der ermittelten Bestimmungsgrenze gut auswertbare Signale liefern.

5.4 Lagerfähigkeit

Die Ermittlung der Lagerfähigkeit erfolgte mit jeweils drei beaufschlagten Probenträgern. Dazu wurden 50 µl der Validierlösung entsprechend 0,262 mg/m³ auf die Probenahmesysteme dotiert. Nach Dotierung der Lösung wurden jeweils 240 l Laborluft (23 °C, 50 – 55 % relative Feuchte) darüber gesaugt. Die Probenahmesysteme wurden verschlossen bei Raumtemperatur trocken und dunkel gelagert. Die Untersuchungen wurden über Zeiträume von 3, 7 und 14 Tagen durchgeführt. Die Lagerfähigkeit ist über 14 Tage im Dunkeln bei Raumtemperatur gewährleistet (Wiederfindung 99 %).

5.5 Selektivität

Infolge von Störkomponenten sind Überbefunde möglich. Die Bestimmung kann durch Substanzen gleicher Retentionszeit gestört werden. Durch Verwendung eines massenselektiven Detektors werden Störungen weitestgehend eliminiert.

5.6 Messunsicherheit

Die erweiterte Messunsicherheit wurde unter Berücksichtigung aller relevanten Einflussgrößen ermittelt [6]. Die Ergebnisunsicherheit des Gesamtverfahrens und damit auch des Messergebnisses setzt sich im Wesentlichen zusammen aus den Unsicherheitsbeträgen bei der Probenahme (z. B. Probeluftvolumen) und der analytischen Bearbeitung (vollständige Desorption, Streuung der Kalibrierfunktion, Schwankung der Wiederfindungen und der Reproduzierbarkeiten). Die erweiterte Messunsicherheit beträgt über den gesamten Messbereich maximal 27 %.

5.7 Bemerkungen

Das Verfahren ist auch für eine 2-stündige Probenahme geeignet. Bislang wurden keine Durchbrüche festgestellt.

6 Literatur

- [1] Technische Regeln für Gefahrstoffe 900 (TRGS 900)
Arbeitsplatzgrenzwerte
BArBl. Nr. 1, S. 41 – 55 (2006), geändert und ergänzt: GMBI Nr. 20-21, S. 469
(2022)
- [2] DGUV Information 213-500
Allgemeiner Teil – Von den Unfallversicherungsträgern anerkannte Analyseverfahren zur Feststellung der Konzentrationen krebserzeugender, erbgutverändernder oder fortpflanzungsgefährdender Stoffe in der Luft in Arbeitsbereichen
DGUV, Berlin 2015
🔗 www.dguv.de/publikationen > Webcode: p213500
- [3] DIN EN 482:2021-05
Exposition am Arbeitsplatz – Verfahren zur Bestimmung der Konzentration von chemischen Arbeitsstoffen – Grundlegende Anforderungen an die Leistungsfähigkeit
Beuth Verlag, Berlin 2021
- [4] DIN EN ISO 13137:2023-01
Arbeitsplatzatmosphäre – Pumpen für die personenbezogene Probenahme von chemischen und biologischen Arbeitsstoffen – Anforderungen und Prüfverfahren (ISO 13137:2022); Deutsche Fassung EN ISO 13137:2022
Beuth Verlag, Berlin 2023
- [5] DIN 32645:2008-11
Chemische Analytik – Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze unter Wiederholbedingungen – Begriffe, Verfahren, Auswertung
Beuth Verlag, Berlin 2008
- [6] Institut für Arbeitsschutz (IFA) der DGUV
Berechnung der erweiterten Messunsicherheit nach IFA unter:
🔗 www.dguv.de > Webcode: d140853

Eingereicht durch Ralf Schmitt, BASF SE, Ludwigshafen

Erarbeitet und verabschiedet durch die AG Analytik im Sachgebiet „Gefahrstoffe“ des Fachbereichs „Rohstoffe und chemische Industrie“ der DGUV.

**Deutsche Gesetzliche
Unfallversicherung e.V. (DGUV)**

Glinkastraße 40

10117 Berlin

Telefon: 030 13001-0 (Zentrale)

E-Mail: info@dguv.de

Internet: www.dguv.de