

BGI 505-78

Verfahren zur Bestimmung von Nikotin im Tabakrauch in der Raumluft

Deutsche gesetzliche Unfallversicherung

Fachausschuss Chemie – AG Analytik ¹

März 2010

Erprobte und von den Unfallversicherungsträgern anerkannte Verfahren zur Bestimmung von Nikotin in Arbeitsbereichen mit Belastung durch Tabakrauch in der Raumluft (ETS – Environmental Tobacco Smoke).

Es sind personenbezogene und ortsfeste Probenahmen möglich.

[01](#) Probenahme mit Pumpe und Adsorption an Aktivkohle, Gaschromatographie mit massenselektivem Detektor

Nikotin im Tabakrauch in der Raumluft – 01 – GC/MS

(erstellt: November 2009)

[02](#) Probenahme mit Pumpe und Adsorption an XAD-4-Röhrchen, Gaschromatographie nach Extraktion

Nikotin im Tabakrauch in der Raumluft – 02 – GC

(erstellt: November 2009)

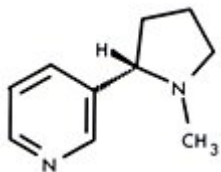
Name: Nikotin, (S)-(-)-3-(1-Methylpyrrolidin-2-yl)pyridin

CAS-Nummer: 54-11-5

Summenformel: C₁₀H₁₄N₂

Molmasse: 162,24 g/mol

Strukturformel:



¹ Korrespondenzadresse: Berufsgenossenschaft Rohstoffe und chemische Industrie
Geschäftsbereich Prävention
Fachbereich Gefahrstoffe und biologische Arbeitsstoffe
Postfach 10 14 80, 69004 Heidelberg
E-Mail: analytik@bgrci.de

01 Probenahme mit Pumpe und Adsorption an Aktivkohle, Gaschromatographie mit massenselektivem Detektor

Kurzfassung

Mit diesem Verfahren wird die über die Probenahmedauer gemittelte Nikotin-Konzentration im Arbeitsbereich mit Belastung durch Tabakrauch in der Raumluft personenbezogen oder ortsfest bestimmt.

| | |
|-----------------------------|---|
| Messprinzip: | Mit Hilfe einer Pumpe wird ein definiertes Luftvolumen durch ein Aktivkohleröhrchen gesaugt. Anschließend wird das adsorbierte Nikotin mit einer Mischung aus Dichlormethan, Schwefelkohlenstoff und Methanol desorbiert und gaschromatographisch bestimmt. |
| Bestimmungsgrenze: | absolut: 45 pg Nikotin relativ: 0,002 mg/m ³ Nikotin für ein Probeluftvolumen von 60 l, 1 ml Probelösung und ein Injektionsvolumen von 0,5 µl. |
| Messbereich: | 0,0022 bis 0,127 mg/m ³ für ein Probeluftvolumen von 60 l (0,5 l/min Volumenstrom; Probenahmedauer 2 h). |
| Selektivität: | Störungen durch andere Komponenten werden durch die massenselektive Detektion eliminiert. |
| Vorteile: | Personenbezogene und selektive Messungen möglich. |
| Nachteile: | Keine Anzeige von Konzentrationsspitzen. |
| Apparativer Aufwand: | Pumpe, durchflussgeregelt mit Gasmengenzähler oder Volumenstromanzeiger, Aktivkohleröhrchen, Gaschromatograph mit massenselektivem Detektor (MSD). |

Ausführliche Verfahrensbeschreibung

1 Geräte, Chemikalien und Lösungen

1.1 Geräte

Für die Probenahme:

- Probenahmepumpe, durchflussgeregelt, geeignet für einen Volumenstrom von 0,5 l/min, z. B. GSA 502 ex, Fa. GSA Messgerätebau, 41469 Neuss.
- Gasmengenzähler oder Volumenstromanzeiger, z. B. Dry Cal DC1, Fa. DEHA Haan & Wittmer, 71 296 Heimsheim.
- Aktivkohleröhrchen Typ BIA (standardisiert, bestehend aus zwei durch poröses Polymermaterial getrennte Aktivkohlefüllungen von 300 mg Sammelphase und 600 mg Kontrollphase), z. B. Fa. MSA Auer, 12059 Berlin, oder Fa. Dräger Safety, 23560 Lübeck.

Für die Probenaufbereitung und analytische Bestimmung:

- Ultraschallbad.
- Automatische Verdrängerpipette, geeignet für Lösemittel, z. B. Multipette pro (von 1 µl bis 10 ml), Fa. Eppendorf, 22339 Hamburg.
- Glasspritzen, 1 ml, 2,5 ml.
- Messkolben, Braunglas, 5 ml, 10 ml, 50 ml, 100 ml.
- Schraubgläschen, Braunglas, 4 ml.
- Septengläschen, Braunglas, 1,5 ml mit Verschlusskappe (Gummisepten).
- Head-Space-Gläschen, Braunglas, 10 ml mit Verschlusskappe (Gummisepten).
- Einmalfilter Polytetrafluorethylen-Membran, Durchmesser 4 mm, Porengröße 0,45 µm, z. B. Millex FH der Fa. Millipore, 65824 Schwalbach.
- Einwegspritzen mit Kanülen, 5 ml.
- Gaschromatograph mit automatischem Probengeber und massenselektivem Detektor (MSD).

1.2 Chemikalien und Lösungen

Nikotin-Standardlösung 1, 1000 µg/ml Methanol (zur Herstellung der Kalibrierlösungen), Fa. Restek, 61348 Bad Homburg.

Nikotin-Standardlösung 2, 100 µg/ml Methanol (zur Herstellung der Kontrolllösungen), Fa. Dr. Ehrenstorfer, 86199 Augsburg.

N,N-Diethylnicotinsäureamid p.a. (interner Standard für den niedrigen Kalibrierbereich), z. B. Fa. Sigma-Aldrich, 82024 Taufkirchen.

n-Undecan, Reinheit mindestens 99,8 % (interner Standard für den hohen Kalibrierbereich), z. B. Fa. Sigma-Aldrich, Geschäftsbereich Fluka, 82024 Taufkirchen.

Dichlormethan p.a., z. B. Fa. Sigma-Aldrich, Geschäftsbereich Fluka.

Schwefelkohlenstoff p.a. (benzolarm), z. B. Fa. Sigma-Aldrich.

Methanol LiChrosolv, z. B. Fa. Merck, 64293 Darmstadt.

Gas zum Betrieb des Gaschromatographen:

- Helium, Reinheit: 99,999 %

Alle im Folgenden beschriebenen Lösungen sind im Kühlschrank aufzubewahren.

Ternäres Gemisch (t-Mix): Gemisch aus Methanol (5 % v/v), Schwefelkohlenstoff (35 % v/v), Dichlormethan (60 % v/v).

In einem 100-ml-Messkolben werden 5 ml Methanol, 35 ml Schwefelkohlenstoff und ca. 50 ml Dichlormethan gemischt und nach Temperierung mit Dichlormethan auf 100 ml aufgefüllt.

Lösung der internen Standards (ISTD-Lösung): Lösung von 2960 µg n-Undecan und 530 µg N,N-Diethylnikotinsäureamid/ml t-Mix.

In einem 10-ml-Messkolben werden einige ml t-Mix vorgelegt und 40 µl n-Undecan (Dichte 0,74 g/ml) und 5 µl N,N-Diethylnikotinsäureamid (Dichte 1,060 g/ml) zupipettiert. Anschließend wird mit t-Mix bis zur Marke aufgefüllt und umgeschüttelt.

Desorptionslösung: Lösung von 5920 ng n-Undecan und 1060 ng N,N-Diethylnikotinsäureamid/ml t-Mix.

In einem 50-ml-Messkolben werden einige ml t-Mix vorgelegt und 100 µl ISTD-Lösung zupipettiert. Anschließend wird mit t-Mix bis zur Marke aufgefüllt und umgeschüttelt.

Kalibrierstammlösung: Lösung von 50 µg Nikotin/ml Methanol.

In ein 1,5-ml-Braunglaseptengläschen werden 950 µl Methanol pipettiert und 50 µl Nikotin-Standardlösung 1 zupipettiert. Anschließend wird das Gläschen verschlossen und umgeschüttelt.

Kalibrierlösungen I (niedrig): Lösungen von ca. 100 bis 700 ng Nikotin, 5920 ng n-Undecan und 1060 ng N,N-Diethylnikotinsäureamid/ml t-Mix.

In je einen 5-ml-Messkolben werden einige ml t-Mix vorgelegt und die sieben in der [Tabelle 1](#) angegebenen Volumina der Kalibrierstammlösung sowie jeweils 10 µl ISTD-Lösung zupipettiert. Anschließend werden die Messkolben bis zur Marke mit t-Mix aufgefüllt und umgeschüttelt.

Tabelle 1: Konzentrationen von Nikotin und N,N-Diethylnikotinsäureamid in den Kalibrierlösungen I in ng/ml (niedriger Konzentrationsbereich)

| Kalibrierstammlösung | 10 µl | 20 µl | 30 µl | 40 µl | 50 µl | 60 µl | 70 µl |
|--|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Nikotin [ng/ml] | 100 | 200 | 300 | 400 | 500 | 600 | 700 |
| N,N-Diethylnikotinsäureamid [ng/ml] | 1060 | 1060 | 1060 | 1060 | 1060 | 1060 | 1060 |
| Nikotin [mg/m ³] für 60 l Probeluft | 0,0017 | 0,0033 | 0,005 | 0,0067 | 0,0083 | 0,010 | 0,012 |
| Nikotin [mg/m ³] für 120 l Probeluft | 0,0008 | 0,0017 | 0,0025 | 0,0033 | 0,0042 | 0,0050 | 0,0058 |

Kalibrierlösungen II (hoch): Lösungen von ca. 1000 bis 7000 ng Nikotin, 5920 ng n-Undecan und 1060 ng N,N-Diethylnikotinsäureamid/ml t-Mix.

In je einen 5-ml-Messkolben werden einige ml t-Mix vorgelegt, die sieben in der [Tabelle 2](#) angegebenen Volumina der Nikotin-Standardlösung 1 und jeweils 10 µl ISTD-Lösung zupipettiert. Anschließend werden die Messkolben bis zur Marke mit t-Mix aufgefüllt und umgeschüttelt.

Tabelle 2: Konzentrationen von Nikotin und n-Undecan in den Kalibrierlösungen II in ng/ml (hoher Konzentrationsbereich)

| Nikotin-Standardlösung 1 | 5 µl | 10 µl | 15 µl | 20 µl | 25 µl | 30 µl | 35 µl |
|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Nikotin [ng/ml] | 1000 | 2000 | 3000 | 4000 | 5000 | 6000 | 7000 |
| n-Undecan [ng/ml] | 5920 | 5920 | 5920 | 5920 | 5920 | 5920 | 5920 |
| Nikotin [mg/m ³] für 60 l Probeluft | 0,017 | 0,033 | 0,050 | 0,067 | 0,083 | 0,10 | 0,12 |

Kontrollstammlösung: Lösung von 10 µg Nikotin/ml Methanol.

In ein 1,5-ml-Braunglasseptengläschen werden 90 µl Methanol pipettiert und 10 µl Nikotin-Standardlösung 2 zupipettiert. Anschließend wird das Gläschen verschlossen und umgeschüttelt.

Kontrolllösung I (niedrig): Lösung von ca. 400 ng Nikotin und 1018 ng N,N-Diethylnikotinsäureamid/ml Desorptionslösung.

In ein 1,5-ml-Braunglasseptengläschen werden 960 µl Desorptionslösung pipettiert und 40 µl Kontrollstammlösung zupipettiert. Anschließend wird das Gläschen verschlossen und umgeschüttelt.

Kontrolllösung II (hoch): Lösung von ca. 4000 ng Nikotin und 5683 ng n-Undecan/ml Desorptionslösung. In ein 1,5-ml-Braunglasseptengläschen werden 960 µl Desorptionslösung pipettiert und 40 µl Nikotin-Standardlösung 2 zupipettiert. Anschließend wird das Gläschen verschlossen und umgeschüttelt.

2 Probenahme

Zur Probenahme wird das Aktivkohleröhrchen geöffnet und mit der durchflussgeregelten Pumpe verbunden. In der Regel wird 2 Stunden lang Probeluft mit einem Volumenstrom von 0,5 l/min, entsprechend einem Probeluftvolumen von 60 l, durch das Röhrchen gesaugt. Je nach Nikotin-Belastung kann die Probenahmedauer zwischen 1 und 4 Stunden variiert werden. Die Probenahme kann personenbezogen oder auch ortsfest durchgeführt werden.

Nach der Probenahme ist der Volumenstrom auf Konstanz zu überprüfen. Ist die Abweichung vom eingestellten Volumenstrom größer $\pm 5\%$ wird empfohlen, die Messung zu verwerfen (siehe hierzu BGI 505-0 „Allgemeiner Teil“, [Abschnitt 3](#)).

Anschließend wird das Aktivkohleröhrchen von der Pumpe gelöst, mit den mitgelieferten Kunststoffkappen sofort dicht verschlossen und kühl gelagert.

Pro Probenserie ist eine Blindprobe anzufertigen. Diese unterscheidet sich von der Probe nur dadurch, dass keine Probeluft durch das Röhrchen gesaugt wird. Dieser Probeträger ist nach dem Öffnen mit den Kunststoffkappen zu verschließen und ebenso wie die Proben kühl zu lagern. Die Blindprobe dient zur Kontrolle von Kontaminationen z. B. durch den Transport. Der Gehalt muss von dem berechneten Analysenergebnis der Proben abgezogen werden.

3 Analytische Bestimmung

3.1 Probenaufbereitung und Analyse

Sieb, Watte und Sammelpolphase des beladenen Aktivkohleröhrchens bzw. der Blindprobe werden in je ein 4-ml-Schraubglas (braun) überführt. Anschließend wird mit einer Glasspritze je 1 ml Desorptionslösung vorsichtig hinzugefügt. Die verschlossenen Gläser werden 10 Minuten ins Ultraschallbad gestellt und danach werden die Lösungen mit Hilfe von Einwegspritzen über Einmalfilter abfiltriert (Probelösung bzw. Feldblindwert).

Analog werden die Kontrollphasen der Aktivkohleröhrchen mit je 2 ml Desorptionslösung aufgearbeitet.

Je 0,5 μ l der aufgearbeiteten Extrakte werden mit dem GC/MSD unter den angegebenen Bedingungen analysiert (siehe [Abschnitt 3.2](#)).

Analog dazu wird bei jeder Untersuchung der Reagenzienblindwert der Desorptionslösung bestimmt.

Weiterhin müssen am Anfang und Ende sowie innerhalb der Probensequenz die Kontrolllösungen I und II analysiert werden.

Bei Probegehalten zwischen 700 und 1000 ng Nikotin/ml werden die Proben 1 : 1 mit t-Mix verdünnt.

3.2 Gaschromatographische Arbeitsbedingungen

Die in [Abschnitt 5](#) angegebenen Verfahrenskenngrößen wurden unter folgenden Gerätebedingungen ermittelt:

Gerät: Gaschromatograph mit automatischem Probengeber und massenselektivem Detektor der Fa. Agilent

GC-Parameter:

Trennsäule: Quarzkapillare, stationäre Phase 5 % Diphenyl/95 % Dimethylsiloxan (SLB-5MS von Supelco), Innendurchmesser 0,32 mm, Filmdicke 0,5 µm, Länge 30 m

Injektor/Injektion: PTV mit deaktivierter Watte, 0,5 µl, splitlos
Temperatur: 250 °C

Ofen: Anfangstemperatur 55 °C, isotherm 2 min
Heizrate I: 10 °C/min bis 250 °C
Heizrate II: 16 °C/min bis zur Endtemperatur
Endtemperatur: 270 °C, 15 min isotherm

Trärgas: Helium, 2,2 ml/min, constant flow

Transferleitung: 250 °C

MSD-Parameter:

Ionenquelle: 200 °C

Ionisierungsart: Elektronenstoßionisation (70 eV)

Messmodus: SIM

Registriermassen (m/z in amu)

| | Quantifizierung (Targetion) | Qualifizierung (Qualifierion) |
|------------------------------------|--------------------------------|----------------------------------|
| Nikotin | 84 | 133, 162 |
| N,N-Diethylnikotinsäureamid (ISTD) | 106 | 177, 78 |
| n-Undecan (ISTD) | 71 | 85, 156 |

4 Auswertung

4.1 Kalibrierung

Je 0,5 µl der unter [Abschnitt 1.2](#) beschriebenen Kalibrierlösungen I und II werden unter den angegebenen GC/MSD-Bedingungen analysiert. Durch Auftragen der Verhältnisse der ermittelten Peakflächen der Targetionen des Nikotins und des internen Standards über die in den jeweiligen Kalibrierlösungen enthaltenen Massenverhältnisse des Nikotins und des internen Standards werden die Kalibrierfunktionen erstellt und die Linearität überprüft.

Bei Probegehalten zwischen 1000 und 7000 ng Nikotin/ml wird n-Undecan als interner Standard zur Berechnung herangezogen, bei Konzentrationen < 700 ng Nikotin/ml wird N,N-Diethylnikotinsäureamid als interner Standard verwendet.

Vor der Berechnung des Analyseergebnisses wird über die Qualifierionen überprüft, ob der Peak wirklich dem Nikotin zuzuordnen ist.

4.2 Berechnen des Analyseergebnisses

Aus dem Chromatogramm werden die Peakflächen des Nikotins und des entsprechenden internen Standards ermittelt, der Quotient gebildet und aus der entsprechenden Kalibrierkurve der zugehörige Wert für die Nikotin-Masse in der Probelösung in µg entnommen.

Dabei werden die Nikotin-Konzentrationen im hohen Bereich mit n-Undecan als internem Standard und im niedrigen Bereich mit N,N-Diethylnikotinsäureamid als internem Standard ausgewertet.

Die Berechnung der Massenkonzentration des Nikotins in der Probeluft in mg/m³ erfolgt nach Formel (1):

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

Es bedeuten:

c = Massenkonzentration des Nikotins in der Probeluft in mg/m³

m = die aus der entsprechenden Kalibrierfunktion ermittelte Masse des Nikotins in der Probelösung in µg

V = Probeluftvolumen in l

η = Wiederfindung (siehe [Abschnitt 5.1](#))

Der Feldblindwert wird von den Ergebnissen der zu analysierenden Proben zur Korrektur subtrahiert. Wird im Feldblindwert abzüglich des Reagenzienblindwertes eine Nikotin-Konzentration oberhalb der Bestimmungsgrenze ermittelt, ist eine Kontamination der Proben z. B. durch den Transport nicht auszuschließen.

Wird das Nikotin sowohl auf der Sammelphase als auch auf der Kontrollphase des Aktivkohleröhrchens nachgewiesen, so werden beide Massen addiert und zur Berechnung des Ergebnisses verwendet. Sind auf der Kontrollphase mehr als 10 % der auf der Sammelphase abgeschiedenen Masse des Nikotins zu finden, ist von einem Durchbruch des Nikotins durch das

Probenahmesystem auszugehen und die Probenahme mit einem geringeren Probeluftvolumen zu wiederholen.

5 Beurteilung des Verfahrens

5.1 Präzision und Wiederfindung

Für die Validierung wurden zwei Lösungen hergestellt.

Validierlösung I: Lösung von ca. 40 µg Nikotin/ml Methanol

In ein 1,5-ml-Septengläschen werden 960 µl Methanol pipettiert und 40 µl Nikotin-Standardlösung 1 zupipettiert. Anschließend wird das Gläschen verschlossen und umgeschüttelt.

Validierlösung II: Lösung von ca. 500 µg Nikotin/ml Methanol

In ein 1,5-ml-Septengläschen werden 500 µl Methanol pipettiert und 500 µl Nikotin-Standardlösung 1 zupipettiert. Anschließend wird das Gläschen verschlossen und umgeschüttelt.

Niedriger Konzentrationsbereich

Die Wiederfindungen wurden ermittelt, indem 6 Aktivkohleröhrchen mit je 10 µl Validierlösung I beaufschlagt wurden.

Nach 2 Stunden Wartezeit wurde für 2 und 4 Stunden Luft mit einem Volumenstrom von 0,5 l/min durch die Probenträger gesaugt. Als Referenz wurden entsprechend 10 µl Validierlösung I in 990 µl Desorptionslösung pipettiert. Die Aufarbeitungen und die gaschromatographischen Analysen wurden entsprechend den [Abschnitten 3.1](#) und [3.2](#) durchgeführt.

Tabelle 3: Nikotin-Wiederfindung und Präzision im niedrigen Konzentrationsbereich

| Dotierte Masse [ng] | Probeluftvolumen [l] | Präzision [%] | Wiederfindung | Mittlere Wiederfindung |
|---|----------------------|---------------|---------------|------------------------|
| 400 | 60 | 2,4 | 0,78* | 0,77 |
| 400 | 120 | 2,7 | 0,75* | |
| * Die Abweichungen der Messreihen nach 2 und 4 h sind statistisch nicht signifikant. Die mittlere Wiederfindung beträgt 0,77. | | | | |

Die dotierten Massen entsprechen bei Probeluftvolumina von 60 und 120 l Nikotin-Konzentrationen von 0,007 und 0,003 mg/m³.

Hoher Konzentrationsbereich

Die Wiederfindungen wurden ermittelt, indem 6 Aktivkohleröhrchen mit je 12 µl Validierlösung II beaufschlagt wurden.

Nach 2 Stunden Wartezeit wurde für 2 Stunden Luft mit einem Volumenstrom von 0,5 l/min durch die Probenträger gesaugt. Als Referenz wurden entsprechend 12 µl Validierlösung II in 988 µl Desorptionslösung pipettiert. Die Aufarbeitungen und die gaschromatographischen Analysen wurden entsprechend den [Abschnitten 3.1](#) und [3.2](#) durchgeführt.

Tabelle 4: Nikotin-Wiederfindung und Präzision im hohen Konzentrationsbereich

| Dotierte Masse [ng] | Probeluftvolumen [l] | Präzision [%] | Wiederfindung |
|---------------------|----------------------|---------------|---------------|
| 6000 | 60 | 8,4 | 0,92 |

Die dotierten Massen entsprechen bei einem Probeluftvolumen von 60 l einer Nikotin-Konzentration von 0,1 mg/m³.

5.2 Bestimmungsgrenze

Die absolute Bestimmungsgrenze wurde nach DIN 32645 [3] in Anlehnung an die Leerwertmethode aus einer niedrigen Kalibrierkonzentration abgeschätzt.

Für eine statistische Sicherheit von 95 % und einer relativen Ergebnisunsicherheit von 33 % ($k = 3$) beträgt diese 45 pg.

Für ein Probeluftvolumen von 60 l ergibt sich eine relative Bestimmungsgrenze von 2 µg/m³ bzw. von 1 µg/m³ für ein Probeluftvolumen von 120 l bei jeweils 1 ml Probelösung und 0,5 µl Injektionsvolumen.

5.3 Messunsicherheit

Die Messunsicherheit wird unter Abschätzung aller relevanten Einflussgrößen nach DIN 1076 und DIN EN 482 ermittelt [1], [2]. Die Ergebnisunsicherheit des Gesamtverfahrens und damit auch des Analyseergebnisses setzt sich im Wesentlichen zusammen aus den Unsicherheitsbeiträgen des Probeluftvolumens, Extraktionsvolumens, der Wiederfindungen und der Einflüsse auf die Messwerte, insbesondere die Streuung der Kalibrierfunktion und die laborinterne Reproduzierbarkeit (Präzision).

In den Tabellen 5 und 6 sind alle ermittelten Unsicherheitsbeiträge sowie die kombinierten und erweiterten Messunsicherheiten aufgeführt. Da die Messunsicherheiten der Messwerte konzentrationsabhängig sind, wurde zwischen hoch, mittel und niedrig für beide Kalibrierfunktionen unterschieden.

Tabelle 5: Messunsicherheiten für den hohen Konzentrationsbereich (interner Standard n-Undecan); Angaben in %

| Probenahmedauer | Messunsicherheit | | | | | | kombinierte Messunsicherheit | | | erweiterte Messunsicherheit | | |
|-----------------|------------------|--------------------|-----------------|----------|--------|---------|------------------------------|--------|---------|-----------------------------|--------|---------|
| | Probeluftvolumen | Extraktionsvolumen | Wiederfindungen | Messwert | | | Messwert | | | Messwert | | |
| | | | | hoch | mittel | niedrig | hoch | mittel | niedrig | hoch | mittel | niedrig |
| 2 h | 3,3 | 1,4 | 4,9 | 5,2 | 6,5 | 16,9 | 8,0 | 8,9 | 17,9 | 16 | 18 | 36 |

Bei 2 h Probenahmedauer entspricht die hohe Konzentration 0,13 mg Nikotin/m³, die mittlere 0,072 mg/m³ und die niedrige 0,018 mg/m³.

Tabelle 6: Messunsicherheiten für den niedrigen Konzentrationsbereich (interner Standard N,N-Diethylnikotinsäureamid); Angaben in %

| Probenahmedauer | Messunsicherheit | | | | | | kombinierte Messunsicherheit | | | erweiterte Messunsicherheit | | |
|-----------------|------------------|--------------------|-----------------|----------|--------|---------|------------------------------|--------|---------|-----------------------------|--------|---------|
| | Probeluftvolumen | Extraktionsvolumen | Wiederfindungen | Messwert | | | Messwert | | | Messwert | | |
| | | | | hoch | mittel | niedrig | hoch | mittel | niedrig | hoch | mittel | niedrig |
| 2 h | 3,3 | 1,4 | 3,8 | 8,6 | 9,1 | 17,6 | 10,1 | 10,5 | 18,4 | 20 | 21 | 37 |
| 4 h | 3,3 | 1,4 | 4,4 | 8,6 | 9,1 | 17,6 | 10,3 | 10,7 | 18,5 | 21 | 21 | 37 |

Bei 2 h Probenahmedauer entspricht die hohe Konzentration 0,015 mg Nikotin/m³, die mittlere 0,009 mg/m³ und die niedrige 0,002 mg/m³. Bei 4 h Probenahme betragen die Nikotinkonzentrationen die Hälfte.

5.4 Selektivität

Die Selektivität des Verfahrens ist durch die Quantifizierung im SIM-Mode und die zusätzliche Überprüfung des Peaks mit zwei Qualifizierungen gewährleistet.

5.5 Lagerfähigkeit

Sowohl die beaufschlagten und verschlossenen Aktivkohleröhrchen als auch die Probelösungen sind gekühlt (5 – 10 °C) und lichtgeschützt aufzubewahren. Unter diesen Bedingungen können die Probenräger und Probelösungen bis zu 2 Wochen gelagert werden.

6 Bemerkungen

Nikotin ist nicht als krebserregend gemäß [TRGS 905](#) eingestuft, wird aber als geeignete Markersubstanz für die Passivrauchbelastung in Arbeitsbereichen, wie z. B. Gaststätten und Restaurants, verwendet. Das Verfahren wurde zur Bestimmung des Nikotins in derartigen Arbeitsbereichen entwickelt.

Sowohl bei der Probenahme, beim Transport als auch bei der Probenaufarbeitung sind Kontaminationen durch Tabakrauch zu vermeiden.

7 Literatur

- [1] DIN EN 1076
Exposition am Arbeitsplatz – Messung von Gasen und Dämpfen mit pumpenbetriebenen Probenahmeeinrichtungen – Anforderungen und Prüfverfahren
Beuth Verlag GmbH, Berlin 2009
- [2] DIN EN 482
Arbeitsplatzatmosphäre – Allgemeine Anforderungen an die Leistungsfähigkeit von Verfahren zur Messung chemischer Arbeitsstoffe
Beuth Verlag GmbH, Berlin 2006
- [3] DIN 32645
Chemische Analytik – Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze unter Wiederholbedingungen – Begriffe, Verfahren, Auswertung
Beuth Verlag GmbH, Berlin 2008

02 Probenahme mit Pumpe und Adsorption an XAD-4-Röhrchen, Gaschromatographie nach Extraktion

Kurzfassung

Mit diesem Verfahren wird die über die Probenahmedauer gemittelte Konzentration von Nikotin in Arbeitsbereichen mit Belastung durch Tabakrauch in der Raumluft personenbezogen oder ortsfest bestimmt.

| | |
|-----------------------------|---|
| Messprinzip: | Mit Hilfe einer Pumpe wird ein definiertes Luftvolumen durch ein XAD-4-Röhrchen gesaugt. Anschließend wird das adsorbierte Nikotin mit einer Mischung aus Ethylacetat und Methanol desorbiert und gaschromatographisch bestimmt. |
| Bestimmungsgrenze: | absolut: 23 pg Nikotin. relativ: 0,1 µg/m ³ Nikotin für ein Probeluftvolumen von 240 l, 1 ml Probelösung und ein Injektionsvolumen von 1 µl. |
| Messbereich: | 0,13 bis 65 µg/m ³ für ein Probeluftvolumen von 240 l (1,0 l/min Volumenstrom, Probenahmedauer 4 h). |
| Selektivität: | Eine hohe Selektivität wird durch die gaschromatographische Trennung und Verwendung eines Stickstoff-Phosphor-Detektors (NPD) erreicht. Dennoch sind zu hohe Werte durch andere stickstoffhaltige Komponenten möglich, deren Störeinflüsse im Allgemeinen durch Wahl einer Säule mit anderer Trenncharakteristik eliminierbar sind. |
| Vorteile: | Personenbezogene und selektive Messungen möglich. |
| Nachteile: | Keine Anzeige von Konzentrationsspitzen. |
| Apparativer Aufwand: | Pumpe, durchflussgeregelt mit Gasmengenzähler oder Volumenstromanzeiger, XAD-4-Röhrchen, Gaschromatograph mit NPD. |

Ausführliche Verfahrensbeschreibung

1 Geräte, Chemikalien und Lösungen

1.1 Geräte

Für die Probenahme:

- Probenahmepumpe, durchflussgeregelt, geeignet für einen Volumenstrom von 1 l/min, z. B. Gil-Air5, Fa. Gilian, Bezug z. B. über Fa. DEHA Haan & Wittmer, 71296 Heimsheim.
- Gasmengenzähler oder Volumenstromanzeiger, z. B. GFM 171, Fa. Analyt-MTC, 79379 Müllheim.
- Adsorptionsröhrchen, gefüllt mit XAD-4 (Copolymerisat auf der Basis von Styrol und Divinylbenzol; standardisiert, bestehend aus zwei durch Glaswolle getrennte XAD-4-Füllungen von 80 mg Sammelphase und 40 mg Kontrollphase), z. B. ORBO-613 Adsorbent Tubes, Fa. SUPELCO, Bezug z. B. über Fa. Sigma-Aldrich, Geschäftsbereich Supelco, 82024 Taufkirchen.

Für die Probenaufbereitung und analytische Bestimmung:

- Ultraschallbad.
- Vollpipetten, 1 ml, 20 ml.
- Mikroliterspritzen, 10 µl, 25 µl, 100 µl, 1000 µl.
- Messkolben, 1 ml, 5 ml, 10 ml, 200 ml.
- Einmalspritzen, 2 ml, mit Einmalkanülen.
- Einmalfilter aus PTFE zur Filtration flüssiger Proben, Durchmesser 25 mm, Porengröße 0,45 µm.
- Autosamplergefäße aus Glas und Bördelkappen mit Septum aus Naturkautschuk/ETEF und Mikroinsätzen (z. B. LABC Labortechnik, 53773 Hennef).
- Gaschromatograph mit Stickstoff-Phosphor-Detektor (NPD).

1.2 Chemikalien und Lösungen

Nikotin, Reinheit ≥ 99 %, z. B. Fa. Sigma-Aldrich, Geschäftsbereich Fluka, 82024 Taufkirchen.

Chinolin (interner Standard), Reinheit 99 %, z. B. Fa. Acros Organics, Bezug z. B. über Fa. Fisher Scientific, 61130 Nidderau.

Ethylacetat, Reinheit 99 %, z. B. Fa. Merck, 64293 Darmstadt.

Methanol, Suprasolv, z. B. Fa. Merck.

Gase zum Betrieb des Gaschromatographen:

- Helium, Reinheit: 99,999 %
- Wasserstoff, Reinheit: 99,999 %
- synthetische Luft (kohlenwasserstofffrei)

Desorptionslösung: Mischung aus Ethylacetat und Methanol (9+1, v+v).

In einen 200-ml-Messkolben, der zur Hälfte mit Ethylacetat gefüllt wurde, werden 20 ml Methanol zupipettiert und mit Ethylacetat bis zur Marke aufgefüllt und umgeschüttelt.

Alle im Folgenden beschriebenen Lösungen sind im Dunkeln und gekühlt aufzubewahren.

Interner Standard: Lösung von ca. 0,87 mg Chinolin/ml Desorptionslösung.

In einen 5-ml-Messkolben, der fast vollständig mit Desorptionslösung gefüllt wurde, werden mit einer 10- μ l-Spritze 4 μ l Chinolin zudosiert und mit Desorptionslösung bis zur Marke aufgefüllt und umgeschüttelt.

Stammlösung 1: Lösung von ca. 505 μ g Nikotin/ml Desorptionslösung.

In einen 10-ml-Messkolben, der fast vollständig mit Desorptionslösung gefüllt wurde, werden mit einer 10- μ l-Spritze 5 μ l Nikotin zudosiert. Anschließend wird mit Desorptionslösung bis zur Marke aufgefüllt und umgeschüttelt.

Stammlösung 2: Lösung von ca. 0,505 μ g Nikotin/ml Desorptionslösung.

In einen 10-ml-Messkolben, der fast vollständig mit Desorptionslösung gefüllt wurde, werden mit einer 25- μ l-Spritze 10 μ l Stammlösung 1 zudosiert. Anschließend wird mit Desorptionslösung bis zur Marke aufgefüllt und umgeschüttelt.

Kalibrierlösungen: Für die 10-Punkt-Kalibrierung im unteren Konzentrationsbereich zur Ermittlung der Verfahrenskenndaten:

Lösungen von ca. 20,2 bis 202 ng Nikotin/ml Desorptionslösung und ca. 2,6 μ g Chinolin/ml Desorptionslösung (siehe [Tabelle 1](#)).

In je einen 1-ml-Messkolben werden mit Mikroliterspritzen die zehn in der [Tabelle 1](#) angegebenen Volumina der Stammlösung 2 dosiert und mit Desorptionslösung bis zur Marke aufgefüllt. Danach werden 3 μ l interner Standard zugegeben und die Kolben umgeschüttelt.

Tabelle 1: 10-Punkt-Kalibrierung; Konzentrationen in den Kalibrierlösungen

| Lösung | Zugabe Stammlösung 2 in μ l | Nikotin [μ g/ml] | Nikotin [μ g/m ³] |
|--------|------------------------------------|--------------------------|---------------------------------------|
| 1 | 40 | 0,020 | 0,08 |
| 2 | 80 | 0,040 | 0,17 |
| 3 | 120 | 0,061 | 0,25 |
| 4 | 160 | 0,081 | 0,34 |
| 5 | 200 | 0,101 | 0,42 |
| 6 | 240 | 0,121 | 0,51 |

| Lösung | Zugabe Stammlösung 2 in µl | Nikotin [µg/ml] | Nikotin [µg/m ³] |
|--------|-------------------------------|--------------------|---------------------------------|
| 7 | 280 | 0,141 | 0,59 |
| 8 | 320 | 0,162 | 0,67 |
| 9 | 360 | 0,182 | 0,76 |
| 10 | 400 | 0,202 | 0,84 |

Für die 6-Punkt-Kalibrierung im Messbereich:

Lösungen von ca. 0,03 bis 15,7 µg Nikotin/ml Desorptionslösung und ca. 2,6 µg Chinolin/ml Desorptionslösung (siehe [Tabelle 2](#)).

In je einen 1-ml-Messkolben werden mit Mikroliterspritzen die sechs in der [Tabelle 2](#) angegebenen Volumina der Stammlösungen 1 oder 2 dosiert und mit Desorptionslösung bis zur Marke aufgefüllt. Danach werden 3 µl interner Standard zugegeben und die Kolben umgeschüttelt.

Mit diesen Lösungen wird, bezogen auf ein Probeluftvolumen von 240 l, ein Konzentrationsbereich von ca. 0,13 bis ca. 65 µg/m³ an Nikotin erfasst (siehe [Tabelle 2](#)).

Tabelle 2: 6-Punkt Kalibrierung; Konzentrationen in den Kalibrierlösungen

| Lösung | Zugabe Stammlösung in µl | Nikotin [µg/ml] | Nikotin [µg/m ³] |
|--------|-----------------------------|--------------------|---------------------------------|
| 1 | 60 (Stammlösung 2) | 0,030 | 0,13 |
| 2 | 600 (Stammlösung 2) | 0,303 | 1,26 |
| 3 | 6,0 (Stammlösung 1) | 3,03 | 12,6 |
| 4 | 12,5 (Stammlösung 1) | 6,31 | 26,3 |
| 5 | 25 (Stammlösung 1) | 12,6 | 52,6 |
| 6 | 31 (Stammlösung 1) | 15,7 | 65,2 |

2 Probenahme

Das XAD-4-Röhrchen wird mit der Pumpe verbunden und es wird ein Volumenstrom von 1 l/min eingestellt. Die Pumpe und das Probenahmesystem werden von einer Person während der Arbeitszeit getragen oder ortsfest verwendet. Das Verfahren wurde bis zu einem Probeluftvolumen von 240 l (entsprechend einer Probenahmedauer von 4 Stunden) überprüft. Nach der Probenahme ist der Volumenstrom auf Konstanz zu überprüfen. Ist die Abweichung vom eingestellten Volumenstrom größer ± 5 % [1] wird empfohlen, die Messung zu verwerfen (siehe hierzu BGI 505-0 „Allgemeiner Teil“, [Abschnitt 3](#)).

Anschließend wird das Adsorptionsröhrchen von der Pumpe gelöst und mit den dafür vorgesehenen Kappen sofort dicht verschlossen.

3 Analytische Bestimmung

3.1 Probenaufbereitung und Analyse

Die Sammelphase des XAD-4-Röhrchens wird zusammen mit dem ersten Glaswollepfropfen in Durchflussrichtung in ein Autosamplergefäß gegeben. Die Kontrollphase wird ohne Glaswollepfropfen aus dem Röhrchen in ein eigenes Autosamplergefäß überführt. Nach dem Zusatz von jeweils 1 ml Desorptionslösung und 3 µl interner Standard werden die Gefäße verschlossen und 30 Minuten in das Ultraschallbad gestellt. Danach werden die Lösungen mit Hilfe von Einwegspritzen über Einmalfilter in neue Autosamplergefäße mit Mikroinsert abfiltriert (Probelösungen).

Um sicherzustellen, dass die verwendete Desorptionslösung und die XAD-4-Röhrchen keine störenden Verunreinigungen enthalten, werden in regelmäßigen Abständen zwei unbeladene Röhrchen wie oben beschrieben desorbiert (Leerwertlösungen).

Jeweils 1 µl der beiden Probelösungen oder der Leerwertlösungen werden unter den unten angegebenen Bedingungen mit dem Gaschromatographen analysiert. Die quantitative Auswertung erfolgt nach der Methode des internen Standards über die Peakflächen des Nikotins und des Chinolins als internem Standard.

3.2 Gaschromatographische Arbeitsbedingungen

Die in [Abschnitt 5](#) angegebenen Verfahrenskenngrößen wurden unter folgenden Gerätebedingungen ermittelt:

| | |
|--------------------|---|
| Gerät: | Gaschromatograph Clarus 500 von Fa. PerkinElmer mit einem Stickstoff-Phosphor-Detektor (NPD) und split/splitless-Injektor |
| Vorsäule: | CS-Fused Silica, Fs-Methyl-Sil (Innendurchmesser 250 µm, Länge 2,5 m) |
| Trennsäule: | RTX-5 Amine von Fa. Restek (Innendurchmesser 250 µm, Filmdicke 1 µm, Länge 30 m) |
| | Die beiden Kapillaren werden über einen Kapillarverbinder (z.B. Vu2 Union Connector, Fa. Restek) miteinander verbunden. |
| Temperaturen: | Injektor: 250 °C |
| | Detektor: 280 °C |
| | Säule mit Temperaturprogramm: |
| | Anfangstemperatur 80 °C |
| | Heizrate: 10 °C/min bis zur Endtemperatur |
| | Endtemperatur: 220 °C, 1 min isotherm |
| Injektion: | Splitverhältnis 5 : 1 |
| Injektionsvolumen: | 1 µl |

Trägergas: Helium (2,4 ml/min, programmierter Fluss)
Detektorgase: Wasserstoff ca. 1,7 ml/min
synthetische Luft ca. 100 ml/min

4 Auswertung

4.1 Kalibrierung

Von den unter [Abschnitt 1.2](#) exemplarisch beschriebenen Kalibrierlösungen der 6-Punkt-Kalibrierung wird jeweils 1 µl in den Gaschromatographen eingespritzt. Die Kalibrierlösungen werden jeweils dreimal injiziert.

Durch Auftragen der Verhältnisse der Peakflächen des Nikotins zu den Peakflächen des Chinolins als internem Standard über die in den jeweiligen Kalibrierlösungen enthaltenen Massenverhältnisse des Nikotins und des Chinolins ermittelt man mit Hilfe der Regressionsrechnung die Kalibrierfunktion.

4.2 Berechnen des Analysenergebnisses

Aus den Chromatogrammen der Probelösungen werden die Peakflächen des Nikotins und des Chinolins ermittelt, der Quotient gebildet und aus der Kalibrierkurve der zugehörige Wert für die Nikotin-Masse in der Probelösung in µg entnommen. Die Probelösungen werden jeweils zweimal injiziert und die Resultate der jeweiligen Doppelbestimmungen gemittelt.

Die Berechnung der Massenkonzentration des Nikotins in der Probeluft in µg/m³ erfolgt nach Formel (1):

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

Es bedeuten:

c = Massenkonzentration des Nikotins in der Probeluft in µg/m³

m = die aus der entsprechenden Kalibrierfunktion ermittelte Masse des Nikotins in der Probelösung in µg

V = Probeluftvolumen in m³

η = Wiederfindung (siehe [Abschnitt 5.1](#))

Ist der gefundene Gehalt des Nikotins oberhalb des Kalibrierbereiches, so ist die Probelösung entsprechend mit Desorptionslösung zu verdünnen und die Quantifizierung mit der verdünnten Probelösung zu wiederholen.

Wird das Nikotin sowohl auf der Sammelphase als auch auf der Kontrollphase des XAD-4-Röhrchens nachgewiesen, so werden beide Massen addiert und zur Berechnung des Ergebnisses verwendet. Sind auf der Kontrollphase mehr als 10 % der auf der Sammelphase abgeschiedenen Masse des Nikotins zu finden, ist von einem Durchbruch des Nikotins durch das Probenahmesystem auszugehen und die Probenahme mit einem geringeren Probeluftvolumen zu wiederholen.

5 Beurteilung des Verfahrens

5.1 Präzision und Wiederfindung

Die Präzision im Mindestmessbereich nach DIN EN 482 [2] und DIN EN 1076 [3] sowie die Wiederfindung wurden für vier Konzentrationen (siehe [Tabelle 3](#)) bestimmt. Dazu wurden jeweils sechs XAD-4- Röhrcen mit Stammlösung 1 oder 2 beaufschlagt, in 4 Stunden 240 l Laborluft (Volumenstrom 1 l/min) durchgesaugt, mit den dafür vorgesehenen Kappen sofort dicht verschlossen und über Nacht bei Raumtemperatur aufbewahrt. Abschließend wurden die Röhrcen wie in den [Abschnitten 3.1](#) und [3.2](#) beschrieben aufgearbeitet und analysiert (siehe [Tabelle 3](#)).

Tabelle 3: Verfahrenskennndaten

| Stammlösung | Volumen [µl] | Validierkonzentrationen [µg/m ³] | Wiederfindung | Relative Standardabweichung [%] |
|-------------|--------------|--|---------------|---------------------------------|
| 2 | 60 | 0,13 | 1,18 | 8,7 |
| 1 | 6,0 | 12,6 | 0,89 | 12,5 |
| 1 | 12,5 | 26,3 | 0,97 | 10,4 |
| 1 | 25 | 52,6 | 0,95 | 5,5 |

5.2 Bestimmungsgrenze

Die Bestimmungsgrenze des Verfahrens wurde gemäß DIN 32645 [4] mittels einer 10-Punkt-Kalibrierung mit drei Injektionen pro Kalibrierpunkt im unteren Konzentrationsbereich (siehe [Tabelle 1](#)) für eine statistische Sicherheit von 99 % und einer relativen Ergebnisunsicherheit von 25 % (k = 4) ermittelt. Sie beträgt absolut 23 pg. Die relative Bestimmungsgrenze beträgt 0,1 µg/m³ für 240 l Probeluft, 1 ml Probelösung und ein Injektionsvolumen von 1 µl.

5.3 Messunsicherheit

Die erweiterte Messunsicherheit der Methode (siehe [Tabelle 4](#)) wurde nach EN 482 (2006) bzw. DIN EN 1076 (2009) für vier Konzentrationen berechnet [5].

Tabelle 4: Erweiterte Messunsicherheit der Methode

| Validierkonzentrationen (siehe Tabelle 3) [µg/m ³] | Erweiterte Messunsicherheit [%] |
|---|---------------------------------|
| 0,13 | 29,1 |
| 12,6 | 32,2 |
| 26,3 | 23,6 |
| 52,6 | 16,3 |

5.4 Selektivität

Eine hohe Selektivität des Verfahrens wird durch die gaschromatographische Trennung und den Stickstoff-Phosphor-Detektor gewährleistet.

5.5 Einfluss der Luftfeuchte

Der Einfluss der Luftfeuchte auf die Wiederfindung wurde für Konzentrationen von ca. 13 und 53 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ bei Luftfeuchten von 50 bzw. 80 % untersucht. Ein Einfluss wurde nicht festgestellt.

5.6 Lagerfähigkeit

Die Lagerfähigkeit der beaufschlagten und verschlossenen Röhrchen wurde bei in [Abschnitt 5.5](#) beschriebenen Bedingungen überprüft. Jeweils 3 Röhrchen wurden nach 1, 3, 7, 14 und 21 Tagen untersucht. Die Lagerung der XAD-4-Röhrchen erfolgte bei Raumtemperatur in lichtundurchlässigen Behältern.

In dem angegebenen Zeitraum war keine Änderung der Konzentrationen feststellbar.

6 Bemerkungen

Nikotin ist nicht als krebserregend gemäß [TRGS 905](#) eingestuft, wird aber als geeignete Markersubstanz für die Belastung durch Tabakrauch in Arbeitsbereichen, wie z. B. Gaststätten und Restaurants, verwendet. Das Verfahren wurde zur Bestimmung des Nikotins in derartigen Arbeitsbereichen entwickelt. Es basiert auf dem Verfahren Nr. 2551 von NIOSH [\[6\]](#).

Das Verfahren eignet sich nicht zur Überwachung des derzeitigen Arbeitsplatzgrenzwertes (AGW) von Nikotin in Höhe von $0,5 \text{ mg}/\text{m}^3$ (Stand 2009 [\[7\]](#)).

7 Literatur

- [1] DIN EN 1232
Arbeitsplatzatmosphäre – Pumpen für die personenbezogene Probenahme von chemischen Stoffen – Anforderungen und Prüfverfahren
Beuth Verlag GmbH, Berlin 1997
- [2] DIN EN 482
Arbeitsplatzatmosphäre – Allgemeine Anforderungen an die Leistungsfähigkeit von Verfahren zur Messung chemischer Arbeitsstoffe
Beuth Verlag GmbH, Berlin 2006
- [3] DIN EN 1076
Exposition am Arbeitsplatz – Messung von Gasen und Dämpfen mit pumpenbetriebenen Probenahmeeinrichtungen – Anforderungen und Prüfverfahren
Beuth Verlag GmbH, Berlin 2009

- [4] DIN 32645
Chemische Analytik – Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze unter
Wiederholbedingungen – Begriffe, Verfahren, Auswertung
Beuth Verlag GmbH, Berlin 2008

- [5] BC/CEN/ENTR/000/2002-16 – Analytical Methods for Chemical Agents
Final Report, Sankt Augustin 27. Juni 2005

- [6] Nicotine, NMAM Method Nr. 2551
National Institute of Occupational Safety and Health, Cincinnati 1998,
<http://www.cdc.gov/niosh/nmam/>

- [7] Technische Regel für Gefahrstoffe: Arbeitsplatzgrenzwerte ([TRGS 900](#))
Ausg. 1/2006. B ArbBl. (2006) Nr. 1, S. 41 – 55; zul. geänd. GMBI (2009) Nr. 28, S. 605