

R. Galensa, U. Engelhardt,
M. Bahadir, H. Böhm

**Lebensmittel-
und Umweltanalytik
mit der HPLC**



This Page Intentionally Left Blank

R. Galensa, U. Engelhardt,
M. Bahadir, H. Böhm

**Lebensmittel-
und Umweltanalytik
mit der HPLC**



© VCH Verlagsgesellschaft mbH, D-69451 Weinheim (Bundesrepublik Deutschland), 1995

Vertrieb:

VCH, Postfach 101161, D-69451 Weinheim (Bundesrepublik Deutschland)

Schweiz: VCH, Postfach, CH-4020 Basel (Schweiz)

United Kingdom und Irland: VCH (UK) Ltd., 8 Wellington Court, Cambridge CB1 1HZ,
(England)

USA und Canada: VCH, 220 East 23rd Street, New York, NY 10010-4606 (USA)

Japan: VCH, Eikow Building, 10-9 Hongo 1-chome, Bunkyo-ku, Tokyo 113, Japan

ISBN 3-527-28747-7

R. Galensa, U. Engelhardt,
M. Bahadir, H. Böhm

Lebensmittel- und Umweltanalytik mit der HPLC

Tips, Tricks und Beispiele für die Praxis



Weinheim · New York · Basel · Cambridge · Tokyo

Prof. Dr. R. Galensa
PD Dr. U. Engelhardt
Institut für Lebensmittelchemie
TU Braunschweig
Schleinitzstr. 20
D-38106 Braunschweig

Prof. Dr. Dr. M. Bahadir
Dr. H. Böhm
Institut für Ökologische
Chemie und Abfallanalytik
TU Braunschweig
Hagenring 30
D-38106 Braunschweig

Das vorliegende Werk wurde sorgfältig erarbeitet. Dennoch übernehmen Autoren und Verlag für die Richtigkeit von Angaben, Hinweisen und Ratschlägen sowie für eventuelle Druckfehler keine Haftung.

Lektorat: Dr. Steffen Pauly
Herstellerische Betreuung: Dipl.-Wirt.-Ing. (FH) Bernd Riedel

Die Deutsche Bibliothek – CIP Einheitsaufnahme

**Lebensmittel-Umweltanalytik mit der HPLC : Tips, Tricks
und Beispiele für die Praxis / R. Galensa ... –
Weinheim ; New York ; Basel ; Cambridge ; Tokyo : VCH, 1995
ISBN 3-527-28747-7
NE: Galensa Rudolf**

© VCH Verlagsgesellschaft mbH, D-69451 Weinheim (Federal Republic of Germany), 1995

Gedruckt auf säurefreiem und chlorfrei gebleichtem Papier

Alle Rechte, insbesondere die der Übersetzung in andere Sprachen, vorbehalten. Kein Teil dieses Buches darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in irgendeiner Form – durch Photokopie, Mikroverfilmung oder irgendein anderes Verfahren – reproduziert oder in eine von Maschinen, insbesondere von Datenverarbeitungsmaschinen, verwendbare Sprache übertragen oder übersetzt werden. Die Wiedergabe von Warenbezeichnungen, Handelsnamen oder sonstigen Kennzeichen in diesem Buch berechtigt nicht zu der Annahme, daß diese von jedermann frei benutzt werden dürfen. Vielmehr kann es sich auch dann um eingetragene Warenzeichen oder sonstige gesetzlich geschützte Kennzeichen handeln, wenn sie nicht eigens als solche markiert sind.

All rights reserved (including those of translation into other languages). No part of this book may be reproduced in any form – by photoprinting, microfilm, or any other means – nor transmitted or translated into a machine language without written permission from the publishers. Registered names, trademarks, etc. used in this book, even when not specifically marked as such, are not to be considered unprotected by law.

Satz: Mitterweger Werksatz GmbH, D-68723 Plankstadt
Druck: Strauss Offsetdruck GmbH, D-69509 Mörlenbach
Bindung: Wilh. Osswald GmbH+Co KG, D-67433 Neustadt/Weinstr.

Vorwort

Die Hochleistungsflüssigkeitschromatographie hat sich in den letzten 10 Jahren zur vielleicht verbreitetsten Analysetechnik entwickelt. Abb. 0-1 zeigt die weltweiten Verkaufszahlen bis 1989.

Daraus resultiert eine hohe Nachfrage an Schulungskursen und Informationen über dieses Analyseverfahren. Aus der Zusammenarbeit bei entsprechenden GDCh-Fortbildungskursen zwischen dem Institut für Lebensmittelchemie und dem Institut für Ökologische Chemie und Abfallanalytik der TU Braunschweig entstand das vorliegende Buch. Es gibt einen Einblick in die Theorie und Praxis der HPLC, wobei bevorzugt der Anwender und Praktiker angesprochen werden soll. Deshalb werden theoretische Grundlagen auf das zum Verständnis Notwendige reduziert und so einfach wie möglich dargestellt. Wo immer es geht, werden praktische Hinweise gegeben, die aus jahrelangen Erfahrungswerten im „Kampf“ mit dieser Technik resultieren.

Der erste Teil des Buches befaßt sich mit der chromatographischen Theorie sowie mit den einzelnen Bausteinen und Einsatzmöglichkeiten der HPLC. Ebenfalls wird ein kurzer Überblick über komplementäre Techniken, wie z. B. die Capillarelektrophorese, gegeben.

Im zweiten Abschnitt werden 23 Applikationen aus dem Lebensmittel- und aus dem Umweltbereich vorgestellt. Diese Anwendungen sind erprobt und detailliert beschrieben, damit sie sowohl praktisch, wie auch geistig nachvoll-

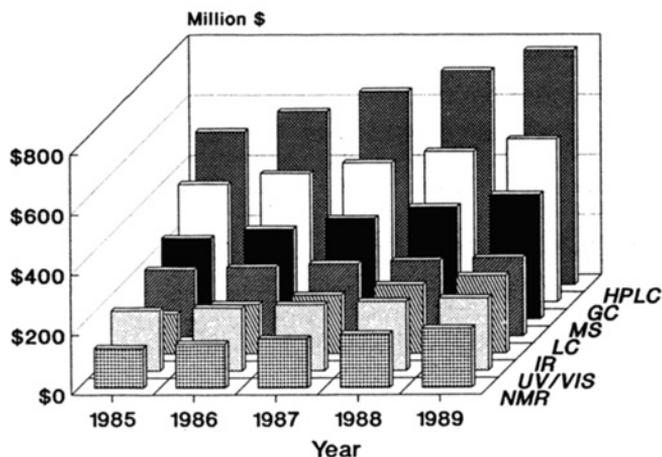


Abb. 0-1: Angaben über den Verkauf analytischer Geräte (aus: Linscheid, M., Fresenius J. Anal. Chem. 1990, 337, 648-661).

zogen werden können und vielleicht Anregungen zur Lösung eigener, ähnlich gelagerter Probleme geben. Die Auswahl soll einen weiten Bereich überstreichen. Es wurden deshalb Beispiele gewählt, die spezielle apparative, chromatographische und/oder besondere Aufarbeitungsmethoden enthalten. Gerade die Aufarbeitung des Probenmaterials entscheidet oft schon über den Erfolg oder Mißerfolg einer Analyse, weshalb der Erläuterung der entsprechenden Schritte besondere Aufmerksamkeit gewidmet wurde.

Zur Unterstreichung, daß auch in diesem Bereich der Chemie das Bewußtsein für die eigene und für die Gefährdung der Umwelt gesteigert werden muß, wird ein ausführliches, allgemeingültiges Kapitel über den Umgang mit gefährlichen Stoffen vorangestellt.

Konsequenterweise werden bei den Applikationen ebenfalls entsprechende Hinweise gegeben.

Braunschweig, im September 95

R. Galensa

Danksagung

Die Herausgeber und Autoren danken allen, die zu diesem Buch durch vielfältige Anregungen und Hilfestellungen beigetragen haben. Besonders hervorzuheben sind Herr Ralf Lippold von der Chemischen Landesuntersuchungsanstalt Freiburg, Herr Dr. Jochen Rosenboom vom Gemeinschaftlichen Chemischen Untersuchungsinstitut für die Städte Wuppertal und Solingen und Herr Prof. Dr. Bernd Luckas vom Institut für Ernährung und Umwelt der Friedrich Schiller-Universität Jena, die uns mit einigen interessanten Applikationen versorgt haben. Den Herren Dipl.-Ing. (FH) J. Hamann und B. Rother danken wir für die Optimierung der IC- und einiger HPLC-Applikationen, sowie Herrn Dr. R. Kreuzig für wertvolle Ratschläge. Frau Carola Balcke danken wir für die Anfertigung von zahlreichen Abbildungen.

This Page Intentionally Left Blank

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungen, Akronyme, Begriffe	XIII
1 Gefahrstoffverordnung und Arbeitssicherheit	1
1.1 Einleitung	1
1.2 Gefahrstoffverordnung (GefStoffV)	2
1.3 Aufbau eines Chemikalienkatasters	4
1.4 Prüfung des Einsatzes alternativer Arbeitsweisen und Ersatzstoffe	5
1.5 Gefahren bei der Untersuchung von Proben	7
1.6 Allgemeine Laboranweisungen	9
1.7 MAK-, BAT- und TRK-Werte, Auslöseschwellen	11
1.8 Gefahrensymbole und R/S-Sätze	13
1.9 Reduzierung der Schadstoffbelastung in Abwasser und Abluft	18
1.10 VVV (Vermeiden, Vermindern, Verwerten) von Laborabfällen und Lösungsmittelrückgewinnung	19
Literatur	22
2 Theoretischer Teil	23
2.1 Anwendungsbezogene theoretische Aspekte der Chromatographie	23
2.1.1 Chromatographische Kenngrößen	23
2.1.2 Diffusionseffekte, Bandenverbreiterung	26
2.1.3 Van Deemter-Kurve	26
2.1.4 Bandenverbreiterung außerhalb der Trennsäule	28
2.2 Verschiedene Kombinationsmöglichkeiten in der HPLC	29
2.2.1 Normalphasen- und Reversed-Phase-HPLC	29
2.2.2 Ionenchromatographie (IC)	31
2.2.2.1 Ionenaustausch-Chromatographie (HPIC)	31
2.2.2.2 Ionenausschluß-Chromatographie (HPICE)	34
2.2.2.3 Ionenpaar-Chromatographie (MPIC/RPIPC)	35
2.2.2.4 Detektoren für die Ionenchromatographie	36
2.2.3 HPLC-Biosensor(Enzymreaktor)-Kopplungen	37
2.2.4 LC-GC-Kopplungen	39
2.2.5 HPLC-MS-Kopplungen	41
Literatur	49

3	Komplementärmethoden	51
3.1	Automatische Mehrfachentwicklung bei der DC	51
3.2	Capillar-Elektrophorese	53
3.3	Supercritical Fluid Chromatography (SFC)	60
	Literatur	63
4	Module	65
4.1	Pumpen	65
4.2	Gradientensysteme	71
4.3	Probenaufgabe	74
4.3.1	Manuelle Injektion	74
4.3.2	Automatische Injektion	75
4.3.3	Microboretechnik – Präparatives Arbeiten	76
4.4	Trennsäulen	76
4.5	Phasenmaterialien	78
4.6	Detektoren	80
4.6.1	UV/VIS-Detektoren	82
4.6.2	Dioden-Array-Detektoren	85
4.6.3	Brechungsindex-Detektoren (RI-Detektoren)	88
4.6.4	Elektrochemische Detektoren (ELCD)	90
4.6.5	Fluoreszenz-Detektoren (FLD)	92
4.7	Fittings, Verschraubungen, Verbindungsleitungen	95
4.8	Fließmittel	99
4.9	Datenauswertung	106
	Literatur	107
5	Fehlermöglichkeiten und Fehlerbehebung (Troubleshooting)	109
6	HPLC-Applikationen	115
6.1	Validierung von Methoden	115
6.2	Probenvorbereitung mittels Festphasenextraktion	118
	Literatur	120
7	HPLC-Applikationen aus dem Lebensmittelbereich	121
7.1	Bestimmung von Flavonolglykosiden in Tee und Teeprodukten oder ähnlichen Erzeugnissen	121
7.2	Bestimmung von Catechinen und Alkaloiden in Tee oder ähnlichen Erzeugnissen	125
7.3	Nachweis von Sulfonamiden, N4-Acetylmethylmetaboliten, Chloramphenicol und Nicarbazin in Fleisch und Innereien	129
7.4	Bestimmung von Rückständen von Oxytetracyclin, Tetracyclin und Chlortetracyclin in Muskulatur und Niere	136

7.5	Bestimmung von diarrhetic shellfish poisoning in marinen Lebensmitteln	142
7.6	Bestimmung von Konservierungsstoffen in Lebensmitteln und Kosmetika	146
7.7	Nachweis eines Grapefruitzusatzes zu Orangensaft	151
7.8	Bestimmung von schwefliger Säure in Bier und anderen Getränken mittels HPLC-Biosensorkopplung	155
7.9	Bestimmung von Süßstoffen	159
7.10	Nachweis von Mais und Hirse als Malzersatzstoff in Bier	162
7.11	Bestimmung von Kohlenhydraten durch Benzoylierung	166
7.12	HPLC-Untersuchungen über Chlorogensäurelactone in Röstkaffee	171
	Literatur	176
8	Zusammenstellung einiger amtlicher Methoden	179
8.1	Amtliche Methodensammlung nach § 35 LMBG	179
8.2	AOAC-Methodensammlung	180
8.3	Schweizerisches Lebensmittelbuch	183
9	HPLC-Applikationen aus dem Umweltbereich	185
9.1	Bestimmung von Nitrophenolen in Regenwasser	185
9.2	Bestimmung von Sprengstoff-Rückständen in Oberflächengewässern und Grundwasser	190
9.3	Bestimmung von Triazin-Herbiziden in Grund- und Trinkwasser	194
9.4	Bestimmung von Pflanzenschutzmitteln (PSM) in Trinkwasser mittels HPLC-MS	198
9.5	Bestimmung von polycyclischen aromatischen Kohlenwasserstoffen (PAH) nach Trinkwasserverordnung (TVO) in Grund- und Rohwasser	203
9.6	Bestimmung von Anionen in Deponiesickerwässern	207
9.7	Bestimmung von Anionentensiden in Klärschlämmen	211
9.8	Bestimmung von Phenylharnstoff-Herbiziden in Eluaten aus Bodenproben	216
9.9	Bestimmung von 16 polycyclischen aromatischen Kohlenwasserstoffen (PAH) nach USEPA in Bodenproben	222
9.10	Bestimmung von Aldehyden und Ketonen in Dieselmotoremissionen	228
9.11	Bestimmung von polycyclischen aromatischen Kohlenwasserstoffen (PAH) in Dieselmotoremissionen	233
	Literatur	238
	Weiterführende Literatur	241
	Sachregister	243

This Page Intentionally Left Blank

Abkürzungen, Akronyme, Begriffe

Absorption (absorbance)

Aufnahme von Licht durch eine Substanz, z. B. in einer Detektorzelle

Affinitätschromatographie

Trennung von Substanzen aufgrund spezifischer Wechselwirkungen mit der stationären Phase

AMD

(Automated Multiple Development) automatische Mehrfachentwicklung bei der Dünnschichtchromatographie

APCI

(Atmospheric Pressure Chemical Ionisation) Ionisierungstechnik bei der LC-MS-Kopplung

AU

Absorption units (Absorptionseinheiten) bei der UV/VIS Detektion

Auflösung, chromatographische

beschreibt das Ausmaß der Trennung zweier Komponenten

Ausschlußchromatographie (SEC – size exclusion chromatography)

Trennung nach abnehmender Molekülgröße

Bandenverbreiterung (Peakverbreiterung)

Zunahme der Halbwertsbreite von Peaks während der chromatographischen Trennung

CE

Capillar-Elektrophorese (capillary electrophoresis): Überbegriff für elektrophoretische Techniken, die in englumigen Kapillaren durchgeführt werden

CFFAB

Continuous Flow Fast Atom Bombardment; LC-MS-Interface

chemisch gebundene Phasen

stationäre Phasen, die durch chemische Reaktionen einer Substanz mit einem Trägermaterial hergestellt werden

DAD

Photodiodenarray-Detektor

Detektoren

Anzeigegeräte zum Nachweis der Substanzen am Ende der chromatographischen Trennung

Dispersion

Peakverbreiterung in der Säule bedingt durch Stofftransportphänomene

Drift

langfristige Änderung der Basislinie

EC

elektrochemischer Detektor (HPLC)

XIV Abkürzungen, Akronyme, Begriffe

ECD	elektrochemischer Detektor (HPLC) Elektroneneinfangdetektor (electron capture detector) in der GC
EDDY-Diffusion	Term der van Deemter-Gleichung. (Beschreibt die Durchmischung von Substanzen in den Hohlräumen der stationären Phase)
Eluent	Fließmittel (= mobile Phase) bei der Chromatographie
Elutrope Reihe	Zusammenstellung von Fließmitteln, geordnet nach Elutionskraft. Gilt nur für die spezifizierte Phase, also an Al_2O_3 anders als bei RP-Material
Elutionsprofil	Zeitabhängiges Konzentrationsprofil einer Substanz beim Verlassen der Säule
Endcapping	Reaktion eines bereits derivatisierten Kieselgels (z. B. RP-18) mit kurzkettigen Silanolen. Dadurch wird die Zahl der freien OH-Gruppen und damit die Polarität vermindert
EOF	elektroosmotischer Fluß
ESI	electrospray interface
FAB	fast atom bombardment; Ionisierungsart bei der Massenspektrometrie
FID	Flammenionisationsdetektor (GC, SFC)
FTIR	Fourier Transformations Infrarot Spektroskopie
GC	Gaschromatographie
Gradientenelution	Arbeitsweise bei der HPLC, bei der die Fließmittelzusammensetzung geändert wird
HETP	height equivalent to a theoretical plate; Bodenhöhe
HPTLC	high performance thin layer chromatography; Hochleistungsdünnschichtchromatographie
hyphenated methods	Ausdruck für Kopplungsmethoden (LC-MS, GC-MS etc.)
Ionenaustausch-Chromatographie	chromatographische Trennung von Ionen an Ionenaustauschern als stationärer Phase
Ionenpaar (ion pair)	ungeladenes Paar aus einem Anion (A^-) und einem Kation (K^+), das in organischen Eluenten löslich ist
Ionenpaar-Chromatographie	chromatographische Trennung von Ionen durch Zusatz von Ionenpaar-Reagenzien zur mobilen Phase
isokratisch	HPLC-Arbeitstechnik mit konstanter Fließmittelzusammensetzung

Kapazitätsfaktor (k' -Wert)

	beschreibt das Ausmaß der Retardierung einer Substanz
Matrix	Medium (Lebensmittel, Wasser, Bodenprobe), aus dem die Analyten isoliert werden müssen
MBI	moving belt interface; veraltetes Interface zur LC-MS-Kopplung
MEKC	Micellare elektrokinetische Chromatographie
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
NP	Normalphase; HPLC an Kieselgelphasen
ODS	Octadecylsilan; stationäre Phase in der RP-Chromatographie, hergestellt durch Derivatisierung von Kieselgel mit C-18-Ketten
Particle Beam (PB)	
	Interface zur LC-MS-Kopplung
PTFE	Polytetrafluorethylen (Teflon)
Rauschen (noise)	Schwankungen des Detektorsignals; meist bedingt durch elektronische Effekte
Regenerieren	Wiederherstellen; beschreibt bei Säulen z.B. Spülvorgänge, durch die die ursprüngliche Trennleistung wiederhergestellt wird
Retentionsvolumen	Volumen von der Injektion bis zum Peakmaximum
Retentionszeit	Zeit von der Injektion bis zum Peakmaximum
Reversed Phase Chromatographie (RPC)	
	Chromatographie an Umkehrphasen, d. h. an lipophilen Phasenmaterialien (z. B. silanisierten Kieselgelen oder druckstabilen Polymeren)
Selektivität	a. die Fähigkeit eines Phasensystems, zwischen zwei Substanzen zu unterscheiden, bzw. b. die Fähigkeit eines Detektors, nur bestimmte Substanzen zu detektieren
SFC	Supercritical Fluid Chromatography; Chromatographie mit überkritischen Gasen als mobiler Phase
SFE	Supercritical Fluid Extraktion; Extraktion mit überkritischen Gasen
SPE	Solid Phase Extraction = Festphasenextraktion
Totvolumen	alle Volumina einer HPLC-Anlage nach der Probenaufgabe, die keine stationäre Phase enthalten
Totzeit	Zeit, die eine Substanz, die keine Wechselwirkung mit der stationären Phase hat, von der Injektion bis zum Peakmaximum braucht
UV/VIS-Detektor	photometrischer HPLC-Detektor

This Page Intentionally Left Blank

1 Gefahrstoffverordnung und Arbeitssicherheit

1.1 Einleitung

„Die Aufgaben der Analytischen Chemie haben sich in den letzten Jahren stark verändert und erweitert. So ist die Analytische Chemie von einer lediglich retrospektiv betrachtenden zu einer diagnostizierend gestaltenden Wissenschaft geworden und spielt eine immer wichtigere Rolle bei der Charakterisierung und Beschreibung von sich verändernden chemischen und biologischen Systemen. Die Gesellschaft und die ihr dienende Technik benötigt analytische Aussagen in allen Bereichen der Naturwissenschaften, im Umweltschutz, in der Biologie, Medizin, Pharmazie, Pharmakokinetik, in den Geowissenschaften, in der chemischen und biologischen Prozeßkontrolle, den Nahrungswissenschaften, der Forensik und den Materialwissenschaften“ [1–1].

Diese umfassende Aufgabenstellung wird in analytischen Laboratorien mit Hilfe verschiedener Verfahren und unter Einsatz z. T. extrem gefährlicher bzw. toxischer Substanzen bearbeitet, wenn auch das Gros der Arbeitsvorgänge nicht problematischer ist als in anderen chemischen Laboratorien. Die Rückstandsanalytik von phenolischen Verbindungen beispielsweise, wie sie als Metabolite von Pestiziden im Boden vorkommen, erfordert in der Regel eine Derivatisierung mit Diazomethan zu den entsprechenden Ethern zur Verminderung der Polarität des Metaboliten, um diesen mit Hilfe der GC/MS-Kopplung spezifisch nachweisen zu können. Diazomethan wie auch andere Methylierungsmittel sind ebenso extrem reaktiv gegenüber Biomolekülen (z. B. DNA), was für ihre mutagenen und cancerogenen Wirkungen verantwortlich ist. Bei Analysen mittels HPLC spielen allerdings die Derivatisierungsreaktionen eine weit untergeordnetere Rolle als in der GC-Technik, was naturgemäß zu einer Erhöhung der Arbeitssicherheit beiträgt. Es darf jedoch nicht übersehen werden, daß in keinem analytischen Labor nur das eine oder andere Verfahren zum Einsatz kommt. Der mit HPLC beschäftigte Analytiker arbeitet zur gleichen Zeit auch mit GC-Methoden, oder im gleichen Laboratorium sind andere Beschäftigte mit solchen Techniken befaßt, so daß die Gefahrenpotentiale auf alle Beschäftigten einwirken können.

Ein anderes Problem stellen die zu bestimmenden Analyte dar. Die „Dioxin-Analytik“ ist hier ein herausragendes Beispiel. Für die Qualitätssicherung des Dioxinnachweises werden die Probenextrakte mit ^{13}C -markierten und an den 2, 3, 7, 8-Positionen halogenierten Dibenzo-*p*-dioxinen und -furanen als interne Standards dotiert. Nach einem komplizierten Clean-up werden die

^{12}C - bzw. ^{13}C -markierten Kongenere mit Hilfe der GC/MS (SIM) bestimmt. Hier muß der Analytiker besondere Gefahrstoffe in höheren Konzentrationen (Standards) handhaben: Stoffe, die anderswo wegen ihrer Gefährlichkeit (Toxizität) verboten sind. Gleiches gilt etwa bei der Bestimmung von Methylquecksilber, bleiorganischen Verbindungen, Cadmiumchlorid u. a., um diese Beispiele auch auf die anorganische bzw. Elementanalytik auszudehnen.

Kann sich der Analytiker beim Umgang mit gefährlichen Standards und Reaktanden noch besonders schützen, indem er die Arbeiten unter eigens dafür ausgelegten Abzügen in speziellen Sicherheitslaboratorien („Dioxin-Labor“) ausführt, so wird er in vielen Fällen mit gefährlichen Substanzen konfrontiert, ohne daß er darüber immer Kenntnis erlangt: bei den Proben. Erhält ein Umweltlabor eine Abfall- oder Altlastenprobe mit dem Auftrag, darin neben einer Reihe von Parametern auch die „Dioxine“ zu bestimmen, so sind die Mitarbeiter gewarnt. Sie werden die Proben mit der genügenden Vorsicht behandeln, um sich und ihren Arbeitsplatz vor einer Kontamination zu schützen. Erhält das Labor jedoch diese Probe ohne diesen besonderen Zusatzauftrag, so ist zwar dieselbe Menge an „Dioxinen“ in dieser Probe enthalten, aber sie wird wie jede andere dioxinfreie Probe behandelt. Es wäre wahrscheinlich unrealistisch, zu verlangen, jede unbekannte Analysenprobe als dioxinkontaminiert zu behandeln. Die Analysen wären unbezahlbar, und nur wenige Laboratorien könnten die Investitionen tätigen, um sich zu Sicherheitshochburgen aufzurüsten. Dennoch zeigt dieses Beispiel, daß immer mit genügender Vor- und Umsicht umgegangen werden muß, damit aus Sorglosigkeit keine toxikologischen und Gesundheitsprobleme entstehen.

Neben diesen chemischen Gefahrenpotentialen sind in Abhängigkeit von den durchgeführten Analysen bzw. eingesetzten Methoden mit ionisierenden Strahlen (Röntgenquellen, ^{63}Ni in Elektroneneinfangdetektoren, ^3H und ^{14}C als offene Strahlungsquellen mit Inkorporationsmöglichkeit), Enzymen (ELISA, Immunoassays), Mykotoxinen und Mikroorganismen etwa bei Proben aus Sanierungsfällen zu rechnen. Daher kommt der Gefahrstoffverordnung als einer Sammlung zwingend zu befolgender Regeln zum Schutz der Gesundheit der Beschäftigten am analytischen Arbeitsplatz wie auch zum Schutz der Umwelt eine große Bedeutung zu.

1.2 Gefahrstoffverordnung (GefStoffV)

Die am 01. 11. 1993 in Kraft getretene Novelle der Gefahrstoffverordnung gliedert sich in neun Abschnitte und sechs Anhänge [1–2]:

1. Zweck, Anwendungsbereich und Begriffsbestimmungen
2. Einstufung von Chemikalien
3. Kennzeichnung und Verpackung beim Inverkehrbringen
4. Verbote und Beschränkungen
5. Allgemeine Umgangsvorschriften für Gefahrstoffe
6. Zusätzliche Vorschriften für den Umgang mit krebserzeugenden und erbgutverändernden Gefahrstoffen
7. Behördliche Anordnungen und Entscheidungen
8. Straftaten und Ordnungswidrigkeiten
9. Schlußvorschriften

Zweck der Gefahrstoffverordnung ist es, durch Regelungen über die Einstufung, Kennzeichnung und Verpackung von gefährlichen Stoffen, Zubereitungen und bestimmten Erzeugnissen sowie über den Umgang mit Gefahrstoffen den Menschen vor arbeitsbedingten und sonstigen Gesundheitsgefahren und die Umwelt vor stoffbedingten Schädigungen zu schützen, insbesondere die Gefahren erkennbar zu machen, sie abzuwenden und ihrer Entstehung vorzubeugen, soweit nicht in anderen Rechtsvorschriften besondere Regelungen getroffen sind.

Während der zweite Abschnitt der GefStoffV kaum Bedeutung für das analytische Labor hat, ist im dritten Abschnitt die Kennzeichnung (Etikettierung) von Gefahrstoffen wichtig. Der vierte Abschnitt enthält Herstellungs- und Verwendungsverbote für verschiedene Chemikalien, fünfter und sechster Abschnitt enthalten Vorschriften für den Umgang mit Gefahrstoffen im allgemeinen sowie mit krebserzeugenden und erbgutverändernden Gefahrstoffen im speziellen. Diese drei Abschnitte sind deshalb von besonderer Bedeutung. Die Regelungen des siebten bis neunten Abschnitts besitzen für das analytische Labor nur eine geringe Bedeutung.

Die GefStoffV umfaßt im dritten bis fünften Abschnitt meist abstrakte Begriffe, deren Inhalt bereits in anderen, schon länger existierenden Regeln, Richtlinien und Verordnungen detailliert aufgeführt ist. Insbesondere die Pflicht zur regelmäßigen Unterweisung, Angaben über hygienische Maßnahmen und Vorschriften zur Lagerung von Gefahrstoffen finden wir auch in den

- Unfallverhütungsvorschriften (UVV),
- den Laborrichtlinien,
- der Verordnung über brennbare Flüssigkeiten (VbF) und den entsprechenden Technischen Regeln (TRbF),
- der Druckbehälterverordnung und den entsprechenden Technischen Regeln (TRG),
- den Technischen Regeln über gefährliche Arbeitsstoffe (TRgA).

Nach der Veröffentlichung der GefStoffV wurden weitere Technische Regeln (Technische Regeln für Gefahrstoffe, TRGS) erlassen, die zum Teil die TRgA ersetzt haben. Eine dieser Technischen Regeln ist die TRGS 451: „Umgang mit Gefahrstoffen im Hochschulbereich“, in Instituten also, in denen die Analytik oft einen Arbeitsschwerpunkt darstellt [1–3].

1.3 Aufbau eines Chemikalienkatasters

Die GefStoffV schreibt in § 16 (3a) vor, vorhandene Gefahrstoffe in einem Kataster zu erfassen. Es erweist sich als vorteilhaft, dieses Kataster mit Hilfe der EDV zu führen. Das Kataster muß von jeder Chemikalie folgende Daten enthalten:

- Bezeichnung
- Kennzeichnung (Gefahrensymbol, R/S-Sätze)
- Menge (zumindest die Größenordnung)
- Arbeitsbereiche, in denen mit dem Gefahrstoff umgegangen wird (z. B. Labornummer)

Da grundsätzlich davon auszugehen ist, daß alle verwendeten Chemikalien auch gelagert werden, sind auch die Angaben zur Lager- und Wassergefährdungsklasse empfehlenswert, um Zusammenlagerungsverbote leicht zu überblicken. Zum schnelleren Suchen empfiehlt es sich, die CAS-Nummer sowie ggf. die Summenformel mitzuerfassen. Die genannten Daten lassen sich von fast allen Chemikalien schon vor der Bestellung aus den Chemikalienkatalogen der Hersteller entnehmen. Diese Kataloge werden heute teilweise auch auf elektronischen Datenträgern (Diskette, CD-ROM) angeboten. Die Vorteile der Datenverwaltung per EDV gegenüber den früher üblichen Karteikarten liegen auf der Hand:

- die Möglichkeit des automatischen Suchens nach verschiedenen Parametern (z. B. Suchen des Chemikaliennamens, insbesondere aber auch Suchen von bestimmten R- und S-Sätzen, Gefahrensymbolen etc.)
- die Möglichkeit des automatischen Sortierens
- die Möglichkeit des Erstellens von Inventarlisten der verschiedenen Laboren

Entscheidend für die Arbeitssicherheit im Umgang mit Chemikalien ist die richtige Etikettierung der Chemikaliengebinde. Während die GefStoffV nur die Etikettierung von Gefahrstoffgebinden vorschreibt, ist es dringend zu

empfehlen, alle Chemikaliengebinde zu etikettieren. Dabei sind Art und Umfang der Etikettierung von der Aufbewahrungsdauer abhängig. Chemikaliengebinde, die sich im Arbeitsgang befinden, brauchen nicht etikettiert zu werden, wenn die ständige Überwachung durch eine Person gewährleistet ist. Die Gebinde der Chemikalien, die bereitgestellt werden, müssen mindestens mit dem Chemikaliennamen und dem Gefahrensymbol gekennzeichnet werden. Dabei gilt als Bereitstellung ein Aufbewahrungszeitraum von 24 Stunden, längstens aber bis zum Ende des folgenden Arbeitstages. Alle Chemikaliengebinde, die länger aufbewahrt werden (und das sind fast alle!), müssen mindestens mit dem Chemikaliennamen, den Gefahrensymbolen sowie den R- und S-Sätzen (Zahlen und Text) gekennzeichnet werden. Weitere Angaben sind empfehlenswert, wie z. B. Lagerklasse, Wassergefährdungsklasse, Labornummer. Auf dem Markt werden Etikettierungsprogramme angeboten. Ein hoher Preis sowie teilweise bestimmte Ansprüche an die Hardware stehen der Verbreitung dieser Programme entgegen. Mit geringem Aufwand kann jedoch auch das für das Chemikalienkataster genutzte Programm zum Drucken von Etiketten umgestaltet und genutzt werden. Anstelle von selbstklebenden Etiketten hat es sich als vorteilhaft erwiesen, die Etiketten auf normales Schreibpapier zu drucken, und sie mit einer Klarsichtfolie auf die Gebinde aufzukleben. So ist gewährleistet, daß die Schrift nicht durch Tropfen und Spritzer, die auf das Etikett gelangen, verwischt wird. Außerdem lassen sich diese Etiketten ohne großen Aufwand wieder ablösen, während normale Klebeetiketten oft Klebereste hinterlassen, die nur schwer zu entfernen sind. Die richtige Etikettierung schützt nicht nur denjenigen, der mit der Chemikalie umgeht, sondern sie erleichtert auch die Entsorgung nicht mehr benötigter Chemikalien.

1.4 Prüfung des Einsatzes alternativer Arbeitsweisen und Ersatzstoffe

§ 16 Abs. 2 und 4 der GefStoffV fordert vom Arbeitgeber, die Möglichkeit des Einsatzes von alternativen Stoffen mit geringerem gesundheitlichen Risiko zu prüfen. In der Analytik bedeutet eine derartige stoffliche Änderung einen gravierenden Eingriff in erprobte oder genormte Analyseverfahren. Da jedoch viele Untersuchungen nach gesetzlich vorgegebenen Analyseverfahren (z. B. DIN, DEV, DFG u. a.) durchgeführt werden müssen, ist es für das einzelne Laboratorium oft schwierig, Alternativverfahren einzusetzen. Es gibt dennoch Möglichkeiten, diesem gesetzlichen Gebot nachzukommen. In der organischen Rückstandsanalytik werden z. B. noch häufig chlorierte Lösungsmittel bei der Probenaufarbeitung verwendet. Durch vergleichende

Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß bei der Pflanzenschutzmittelanalytik nach der DFG S19-Methode ein Ersatz von Dichlormethan durch nichtchlorierte Lösungsmittel durchaus möglich ist [1–4, 1–5].

Da das Abweichen von bestehenden und erprobten Analysenverfahren nicht zu Lasten der Analysenqualität gehen darf, müssen derartige Neuerungen durch aufwendige Arbeiten zur analytischen Qualitätssicherung begleitet werden. Hier sind insbesondere die Gremien gefordert, Analysenvorschriften für behördliche Überwachungszwecke zu erarbeiten und auf ihre Zweckmäßigkeit hin zu bewerten. Neben dem Bereich der reglementierten Überwachungsanalytik gibt es jedoch einen weiten Bereich von analytischen Verfahren, die durch den Analytiker im Labor meist in Anlehnung an die Literatur durchgeführt werden. Unter Berücksichtigung der hohen Ansprüche an die Analytik sollten hier die wichtigsten Forderungen der GefStoffV bei der Entwicklung und Durchführung von Analysenverfahren berücksichtigt werden.

Ein wichtiger Grundsatz sollte es sein, den Gesamtumsatz an Chemikalien zu minimieren. Dies bedeutet den verstärkten Einsatz von Mikromethoden, Minichromatographiesäulen und Kartuschen unter Berücksichtigung der Repräsentativität der Laborprobe. Die Festphasenextraktion wie auch der Einsatz der Microbore-Technik in der HPLC sind Beispiele dafür, wie der Einsatz von Lösemitteln minimiert werden kann. Das als „Züricher Modell“ an der Universität Zürich eingeführte, praktisch sonderabfallfrei gestaltete Praktikum [1–6] kann für analytisch arbeitende Laboratorien als Vorbild dafür dienen, daß bei konsequenter Überprüfung aller Arbeitsvorschriften im Labor große Einsparungspotentiale an Chemikalien, Energie und Wasser vorhanden sind. Gleichzeitig werden damit Probleme der Abfallentsorgung und der Arbeitsplatzhygiene (MAK) entschärft.

Sind Arbeiten mit größeren Lösungsmittelmengen nicht zu umgehen, müssen diese in Abzügen durchgeführt werden. So können Soxhlet-Extraktoren, Säulen zu Clean-up-Zwecken und komplette Chromatographieanlagen (z. B. Gelpermeationschromatographie, GPC) in Abzügen aufgebaut werden. Tischabzüge stellen eine relativ preisgünstige Alternative dar. Die positiven Auswirkungen auf die Konzentrationen von Schadstoffen am Arbeitsplatz sind beim Einsatz von möglichst geschlossenen Systemen am stärksten zu verzeichnen. Der Einsatz von Lösungsmitteln in Kalt- oder Heißextraktoren (z. B. Soxhlet-Extraktor), d. h. in Glasapparaturen mit Schlifffverbindungen führt zu Verlusten und damit zu einer Kontamination von Laborräumen. Neben den Problemen der Arbeitsplatzhygiene stellt die Abfallentsorgung der Lösungsmittel einen kritischen Bereich dar. Hier kann der Ersatz von Lösungsmitteln durch neue, zu evaluierende Extraktionstechniken, wie die überkritische Fluidextraktion (SFE), einen möglichen Lösungsweg darstellen. Überall dort, wo eine große Probenanzahl mit Hilfe einer überschaubaren Anzahl von Analysenmethoden untersucht wird, ist es besonders vielver-

sprechend, alternative Arbeitsweisen und Ersatzstoffe einzuführen. Das weitere Vordringen von Laborrobotern, Automaten und von Computersteuerungen im Bereich „automatisch“ arbeitender Analysenlaboratorien kann vorteilhaft mit Vorgaben der GefStoffV in Einklang gebracht werden.

1.5 Gefahren bei der Untersuchung von Proben

In analytisch arbeitenden Laboratorien hat man in der Regel mit vielen unterschiedlichen Arbeitsvorgängen und Methoden zu tun. Je nach inhaltlicher Ausrichtung des Labors werden physikalische, biochemische, anorganisch- und/oder organisch-chemische Analysenverfahren durchgeführt. Bei der oft großen Anzahl von Untersuchungsparametern, die bei zu bearbeitenden Proben bestimmt werden, liegt das Gefährdungspotential, das von der Probenbearbeitung durch das Laborpersonal ausgeht, vor allem in der sehr großen Anzahl verschiedener Arbeitsschritte. Der Unsicherheitsfaktor Mensch spielt deshalb gerade in analytischen Laboratorien auch bei gut ausgebildetem Personal eine nicht zu vernachlässigende Rolle. Die Erstellung von Betriebsanweisungen stellt eine wichtige Maßnahme dar, um sicherheitsrelevante Arbeiten mit Chemikalien im Sinne der GefStoffV für Arbeitnehmer ungefährlicher zu gestalten. An dieser Stelle sollte erwähnt werden, daß die „Gute Labor-Praxis“ (GLP) [1–7] mit ihrem Konzept der „Standard Operation Procedure“ (SOP) eine entsprechende Absicht wie die GefStoffV verfolgt. Allerdings steht hier die Analysenqualität bzw. die Produktqualität im Vordergrund. Es sollten zumindest folgende „*Betriebsanweisungen für Arbeiten mit Chemikalien*“ ausgearbeitet werden:

- Abfüllen von Lösungsmitteln (Lagerhaltung, Lösungsmittel für den täglichen Gebrauch)
- Handhabung besonders gefährlicher Lösungsmittel (Ersatz von Benzol, Testen von Diethylether auf Peroxide etc.)
- Arbeiten mit Chemikalien unter kritischen Bedingungen (Nutzung elektrischer Heizquellen zusammen mit Lösungsmitteln, Rotationsverdampfer, Arbeiten mit offener Flamme, Arbeiten im und außerhalb des Abzugs etc.)
- Herstellung von Standardlösungen (Handhabung von reinen Substanzen wie PSM, PAK und Nitrosaminen)
- Aufarbeiten von Reststoffen, Vorbereitung für die Entsorgung

So wie Betriebsanweisungen im Bereich des Umgangs mit Chemikalien einen Faktor zum sicheren Arbeiten im analytischen Labor darstellen, so können Betriebsanweisungen für die Gerätenutzung direkt oder indirekt zur Steige-

rung der Sicherheit beitragen. In diesem Bereich können folgende Beispiele für Betriebsanweisungen aufgezeigt werden:

- Diagnose-/Not-Aus-Anweisungen für komplizierte Analysensysteme, um bei Abwesenheit des Bedieners eine „Notfallbedienung“ zu gewährleisten
- Benutzerhandbücher für verschiedenste technische Geräte (Wartung, Störungen, Reparaturen, Service u. a.)

Bei der Bearbeitung von Proben unbekannter Herkunft sind alle jeweils notwendigen Sicherheitsaspekte zu berücksichtigen, insbesondere das Tragen von Handschuhen beim Umgang mit Abwasserproben (krankheitserregende Bakterien) und Deponieproben (hochtoxische Verbindungen). Gerade in den hoch arbeitsteiligen Untersuchungslaboratorien werden z. B. in Umweltproben eine ganze Reihe von Parametern bestimmt. In diesem Zusammenhang ist durch ein geeignetes Probenbegleitscheinverfahren sicherzustellen, daß jeder, der mit der Bearbeitung der Proben zu tun hat, über mögliche, von der Probe ausgehende Gefahren informiert ist. Besondere Gefahrenmomente müssen an den Probenbehältnissen deutlich gekennzeichnet werden. Zusätzlich kann die Erstellung einer Arbeitsanweisung an das Laborpersonal für „besondere Proben“ hilfreich sein.

Gefahrstoffe in Proben stellen in Abhängigkeit von den jeweiligen Rückstandsgehalten einen Problembereich sowohl für die Probenbearbeitung als auch für die Entsorgung dar. Besonderer Berücksichtigung bedürfen:

- Dioxine und Furane (chloriert und bromiert)
- chlorierte Umweltchemikalien (z. B. PCB, Chlorphenole, PCP)
- pathogene Mikroorganismen
- Arzneimittelrückstände
- Radioisotope
- Pestizide
- toxische Elemente

Im analytischen Labor gibt es eine Reihe spezieller Gefahrenmomente, die zur Freisetzung von Gefahrstoffen führen können. Für alle als kritisch zu beurteilenden Arbeitsbereiche sollten detaillierte Betriebsanweisungen geschrieben werden, so daß sich das Laborpersonal in der täglichen Arbeit an einem schriftlich fixierten „Sicherheitsleitfaden“ orientieren kann. Hierzu zählen exemplarisch:

- Glasbruch in elektrisch beheizten Apparaturen mit der Gefahr des Laborbrandes (z. B. bei Soxhlet-Apparaturen)
- Trockenschränke zur Trockengewichtsbestimmung mit der Gefahr der Freisetzung flüchtiger toxischer Bestandteile (Anschluß an die Entlüftung)