

Messverfahren zur Bestimmung von N-Nitrosodiethanolamin (NDELA) in wassergemischten Kühlschmierstoffen

1 Grundlagen des Messverfahrens

Das nachfolgend beschriebene Analysenverfahren eignet sich zur Bestimmung von N-Nitrosodiethanolamin in wassergemischten Kühlschmierstoffen. Die quantitative Auswertung erfolgt mittels Standardaddition.

Das Gaschromatographieverfahren mit TEA-Detektorsystem (Thermal Energy Analyzer) ist sehr selektiv. Störungen können sich bei Gegenwart organischer Stickstoffverbindungen ergeben, die ebenfalls ein TEA-Signal bei der Retentionszeit des N-Nitrosodiethanolaminderivats liefern.

Für das Verfahren kann keine einheitliche Bestimmungsgrenze angegeben werden, da sie vom jeweils bearbeiteten Kühlschmierstoff abhängt.

Das Verfahren ist zur Kontrolle des Standes der Technik von 5 mg/kg in Gemischen geeignet.

Die stoffspezifischen Kenndaten sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

Tabelle 1: Stoffspezifische Kenndaten

Stoffspezifische Kenndaten	
Formel	$ \begin{array}{c} \text{CH}_2\text{—CH}_2\text{—OH} \\ \\ \text{ON—N} \\ \\ \text{CH}_2\text{—CH}_2\text{—OH} \end{array} $
Molare Masse	134,1 g/mol
Grenzwert	5 mg/kg im Kühlschmierstoff gemäß DGUV Regel 109-003 (bisher BGR/GUV-R 143)
Kurzzeit-Kategorie	4
CAS-Nummer	1116-54-7

2 Messprinzip

Der wassergemischte Kühlschmierstoff wird eingewogen und mit Dichlormethan ausgeschüttelt, um störende organische Bestandteile abzutrennen. Danach wird die wässrige Phase auf eine Kieselgur-Fertigsäule überführt und mit Dichlormethan/Butanon eluiert. Das Eluat wird zur Trockene eingedampft, silyliert, mit Isooctan überschichtet und gaschromatographisch untersucht.

3 Geräte

Alle Glasgeräte werden nach Gebrauch zuerst mit einer 33%igen Lösung von Bromwasserstoff in Essigsäure dekontaminiert und mit Wasser ausgespült, bevor sie in der Spülmaschine gereinigt und im Trockenschrank getrocknet werden.

- Gaschromatograph
- TEA-Detektor
- Metallblockthermostat zum Verdampfen unter Stickstoff mit höhenverstellbarer Verteilerplatte
- Analytische Waage: Wägebereich 600 g, Ablesbarkeit 0,01 g
- Zentrifuge mit Leistungsbereich 0 bis 6000 min⁻¹
- Einmalsäulen für die Festphasenextraktion, V = 3 ml, geeignet für wässrige Proben
- Auslauf-Kanülen für Extrelut-Säulen 0,60/30 mit Luer-Anschluss
- verstellbare Kolbenhubpipetten (500 bis 2500 µl)
- Mikroliterspritzen (10 µl, 25 µl, 50 µl, 100 µl, 250 µl, 500 µl)
- Abdampfgläser, 15 ml, mit Schliffstopfen
- Messkolben, 10 ml
- Autosampler-Probengläser, 1,5 ml, braun
- Schraubenkappen mit Loch
- Teflon-beschichtete Butylsepten
- Glasgefäße zur Aufbewahrung der Standardlösungen, V = 5 ml

4 Chemikalien und Lösungen

4.1 Chemikalien

Die Chemikalien (1), (2) und (3) sind im Kühlschrank bei +5 °C aufzubewahren.

- NDELA-Stammlösung: 10 mg/ml in Ethanol (1)
- N-Nitrosodiisopropanolamin-Stammlösung als interner Standard: 1 mg/ml in Ethanol (2)
- Silylierungsmittel N-Methyl-N-trimethylsilylheptafluorbutylamid (MSHFBA) (3)
- Isooctan p.a.
- Ethylmethylketon p.a.
- Dichlormethan p.a.
- Ascorbinsäure p.a.
- Natriumchlorid reinst
- HBr-Essigsäure, w(HBr) = 33 % in Essigsäure

4.2 Lösungen

Unter Verwendung der oben aufgeführten Chemikalien werden folgende Lösungen angesetzt:

- NDELA-Standardlösung, $\beta(\text{NDELA}) = 100 \mu\text{g/ml}$
Die Lösung wird aus Stammlösung (1) durch eine 1:100 Verdünnung in Ethanol hergestellt (z. B. 50 µl Stammlösung auf 5 ml mit Ethanol auffüllen).
- Interner Standard, $\beta(\text{IS}) = 100 \mu\text{g/ml}$
Die Lösung wird aus der N-Nitrosodiisopropanolamin-Stammlösung (2) durch eine 1:10-Verdünnung in Ethanol hergestellt (z. B. 500 µl Stammlösung mit Ethanol auf 5 ml auffüllen).
- Ethylmethylketon/Dichlormethan-Lösung im Verhältnis 3 : 2 (jeweils Volumenteile) zur Elution
- gesättigte NaCl-Lösung

5 Lagerung

KSS-Proben kann man in dicht verschlossenen Behältern im Dunkeln vier Wochen lang bei Zimmertemperatur oder im Kühlschrank aufbewahren.

6 Analytische Bestimmung

Die analytische Bestimmung erfolgt nach den Arbeitsbedingungen in Tabelle 2:

Tabelle 2: Arbeitsbedingungen Gaschromatograph

Arbeitsbedingungen	
Vorsäule	Chrompack-Fused silica tubing, uncoated, ID 0,53 mm, OD 0,70 mm
Trennsäule	Kapillarsäule Chrompack WCOT fused silica 25 m, ID 0,53 mm, coating CP WAX 52 CB
Trägergas	Helium
Vordruck	0,3 bar
Injektionsvolumen	2 µl
Injektortemperatur	180 °C
Sauerstoff	ca. 10 ml/min
Ofentemperatur	145 °C (isotherm)
Pyrolyseofen	490 °C
Interface	200 °C

Für den Betrieb des TEA-Detektors mit Kapillarsäulen ist es notwendig, die Totvolumina im TEA-Detektor zu verkleinern, insbesondere die Querschnitte der PTFE-Leitungen. Vor der Trennsäule ist ca. 50 cm desaktivierte unbeschichtete Vorsäule anzuschließen. Sie verhindert eine schnelle Verschmutzung der Trennsäule. Das Glasverdampferrohr ist regelmäßig (z. B. wöchentlich) zu reinigen und die silanisierte Glaswatte zu wechseln.

6.1 Probenvorbereitung/Kalibrierung (Standard-Addition)

Wassergemischte Kühlschmierstoffe werden – wie nachfolgend beschrieben – aufgearbeitet. Soll ein wassermischbares Kühlschmierstoffkonzentrat untersucht werden, muss es zunächst auf eine übliche Einsatzkonzentration verdünnt werden (2 bis 5 %).

In vier 10 ml fassende Reagenzgläser werden je $2,5 \pm 0,01$ g wassergemischter Kühlschmierstoff eingewogen. Zu jeder Einwaage werden ca. 100 mg Ascorbinsäure, 4 ml gesättigte NaCl-Lösung und 40 µl Lösung des internen Standards gegeben. Der interne Standard dient der Überprüfung der Probenvorbereitung, er wird nicht zur Auswertung des Analysenergebnisses herangezogen. In drei der Reagenzgläser werden anschließend verschiedene Volumina des NDELA-Standards zugesetzt. Diese Zusätze sind so auszuwählen, dass noch im linearen Konzentrationsbereich der Methode gearbeitet wird, der bis ca. 1,5 µg/ml reicht.

Für die Standard-Addition haben sich folgende NDELA-Zusätze bewährt (siehe Tabelle 3):

Tabelle 3: NDELA-Zusätze für die Standardaddition

Reagenzglas	V _{Interner Standard} in µl	V _{NDELA-Standard} in µl	β _{Zusatz} in µg/ml
1	40	(orig. Probe)	-
2	40	20	0,2
3	40	40	0,4
4	40	60	0,6

Die Gefäße werden kurz mit der Hand geschüttelt. Die Inhalte der Reagenzgläser werden quantitativ in vier Scheidetrichter überführt. Zur Entfernung der organischen Bestandteile werden die Proben dreimal mit jeweils 10 ml Dichlormethan extrahiert. Dazu werden die Scheidetrichter horizontal auf einer Schüttelmaschine bei 200 U/min für je 15 Minuten geschüttelt. Sobald die beiden Phasen gut getrennt sind, wird die untere organische Phase abgelassen und verworfen. Die wässrigen Phasen werden anschließend in graduierte Zentrifugengläser gegeben und ca. 15 Minuten bei 3500 U/min zentrifugiert. Noch vorhandene Dichlormethan-Reste werden dadurch abgetrennt. Die verbleibenden wässrigen Phasen werden mit destilliertem Wasser auf 10 ml aufgefüllt.

Zur Festphasenextraktion werden je 2,5 ml dieser Lösungen auf Kieselgur-Fertigsäulen gegeben und mit 15 ml Ethylmethylketon/Dichlormethan-Mischung eluiert (Auslaufkanüle vorher auf die Säulenenden aufstecken!). Die Eluate werden direkt in Abdampfgläsern aufgefangen und unter Stickstoffstrom zur Trockene eingeeengt. Die Rückstände werden bei Raumtemperatur mit je 150 µl MSHFBA-Lösung silyliert. Nach einer Stunde werden jeweils 350 µl Isooctan zugegeben. Diese Messlösungen werden sofort mit Pasteurpipetten in braune Autosampler-Fläschchen überführt.

6.2 Messung

Von den Messlösungen wird ein Injektionsvolumen von 2 µl gaschromatographisch unter den in Tabelle 2 angegebenen Bedingungen analysiert.

7 Auswertung

7.1 Ergebnisberechnung

Die Standardaddition entspricht einer Kalibrierung in der Probe. Man trägt die Peakflächen gegen die in den Messlösungen enthaltenen Standardzusätze auf. Hieraus ergibt sich die Kalibrierfunktion:

$$A = b * \beta_z + a$$

mit

A	Peakfläche
b	Steigung der Kalibrierfunktion in ml/µg
β _z	Konzentration des Zusatzes in µg/ml
a	Achsenabschnitt der Kalibrierfunktion

Der Schnittpunkt der Ausgleichsgerade mit der Abszisse (siehe Abbildung 1) entspricht dem NDELA-Gehalt in der Probe, β_{NDELA} . Es gilt

$$\beta_{NDELA} = |f(z_0)|,$$

wobei β_{NDELA} der Massenkonzentration an NDELA in $\mu\text{g/ml}$ entspricht.

$$\beta_{NDELA} = \frac{|A - a|}{b}$$

mit $A = 0$ ergibt sich

$$\beta_{NDELA} = \frac{|-a|}{b}$$

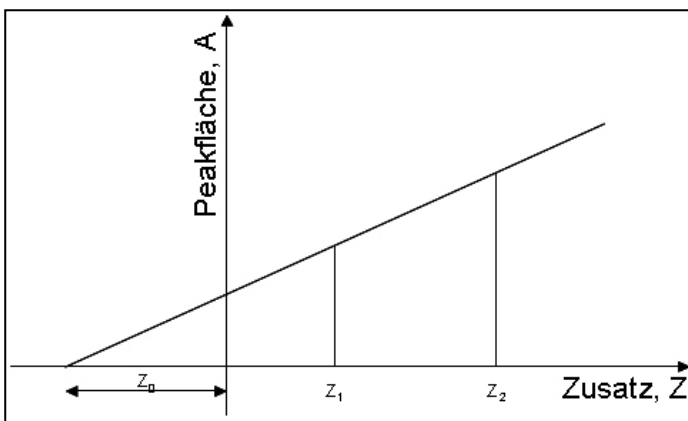


Abbildung 1: Ausgleichsgerade

Zur Berechnung des Massenanteils gehen die Aliquotierung bei der Probenaufarbeitung, die Einwaage des wassergemischten Kühlschmierstoffs und eventuell der Verdünnungsfaktor mit in die Gleichung ein:

$$w_{NDELA} = \frac{m_{NDELA} * 10 * F}{m_{KSS}}$$

mit

w_{NDELA}	Massenanteil NDELA im wassergemischten KSS in $\mu\text{g/g}$ bzw. mg/kg
m_{NDELA}	Masse NDELA in 1 ml der Messlösung in μg
F	Verdünnungsfaktor (falls die Probe verdünnt wurde)
m_{KSS}	Einwaage des wassergemischten KSS in g

In welchem Ausmaß die Probenvorbereitung die Präzision des Ergebnisses beeinflusst, kann an den Flächen des internen Standards überprüft werden. Sind sie relativ klein, werden auch die Flächen des NDELA zu klein ausfallen.

7.2 Ergebnisangabe

Das Ergebnis wird auf zwei signifikante Ziffern mit maximal zwei Nachkommastellen angegeben. In Tabelle 4 sind Beispiele zur Erläuterung der Vorgehensweise aufgeführt.

Tabelle 4: Beispiele für die Ergebnisabgabe

Analysenergebnis NDELA [mg/kg]	Ergebnisangabe NDELA [mg/kg]
0,156	0,16
2,543	2,5

8 Beurteilung der Methode

8.1 Bestimmungsgrenzen

Zur Ermittlung der Bestimmungsgrenze wurde ein wassergemischter Kühlschmierstoff, der kein NDELA enthält, mit einer niedrigen NDELA-Konzentration dotiert (0,01 µg/ml). Die Konzentration wurde so gewählt, dass ein noch sicher auswertbares Signal erhalten wird. Zehn unabhängig voneinander hergestellte Lösungen wurden untersucht.

Gemäß DIN 32645 [1] wurde ausgehend von der Standardabweichung der Messergebnisse ein Schätzwert für die Bestimmungsgrenze berechnet ($k = 4$; $n = 10$; $\alpha = 0,01$). Diese Konzentration kann nicht als Bestimmungsgrenze des Verfahrens angegeben werden, sie gilt nur für den untersuchten Kühlschmierstoff. Als Bestimmungsgrenze wird hier die zu der Konzentration gehörende Peakfläche von 75 definiert. Quantitative Ergebnisangaben sind möglich, wenn das NDELA-Signal einer Probe mindestens diese Peakfläche aufweist.

Ist das NDELA-Signal kleiner als 75 Flächeneinheiten, wird der dieser Fläche entsprechende Gehalt auf der Grundlage der Kalibrierung in der Probe berechnet. Ergibt diese Berechnung z. B. den Wert 0,15 mg/kg, wird das Ergebnis in der Form „< 0,15 mg/kg“ angegeben.

8.2 Reproduzierbarkeit

Zur Überprüfung der Reproduzierbarkeit wurde ein diethanolaminhaltiger Kühlschmierstoff (Castrol/Consulta RONDOCOR SPEZIAL KSI) achtmal unabhängig voneinander aufgearbeitet und analysiert. Für eine Konzentration von 0,522 mg/kg wurde eine Standardabweichung von

$$s = 0,0125 \text{ mg/kg} \quad (s_{\text{rel}} = 2,4 \%)$$

ermittelt. Das Ergebnis kann aufgrund der Verschiedenartigkeit von Kühlschmierstoffen nur bedingt auf andere Produkte übertragen werden.

8.3 Lagerfähigkeit

Zur Ermittlung der Lagerfähigkeit wurde der oben genannte diethanolaminhaltige Kühlschmierstoff herangezogen. Der Kühlschmierstoff wurde am 1. und 2. Tag untersucht. Dann wurde eine Portion bei Zimmertemperatur und eine zweite im Kühlschrank (dunkel) gelagert. Die weiteren Untersuchungen erfolgten nach einer Woche und nach vier Wochen. Die Lagerversuche zeigen, dass sich unter

den genannten Bedingungen im Zeitraum von vier Wochen weder NDELA bildet, noch ein Abbau stattfindet. Die Lagerung im Kühlschrank ist bei längerer Lagerdauer zu bevorzugen, hier wurde auch nach 22 Wochen keine nennenswerte Bildung von NDELA nachgewiesen. Bei Raumtemperatur stieg die NDELA-Konzentration in diesem Zeitraum um ca. 40 % an. Das Ergebnis kann aufgrund der Verschiedenartigkeit von KSS nur bedingt auf andere Produkte übertragen werden.

8.4 Wiederfindung

Die Wiederfindung hängt vom untersuchten Kühlschmierstoff ab. Erfahrungsgemäß liegen die Wiederfindungen bei den meisten Kühlschmierstoffen im Bereich von 60 bis 100 %. Bei Wiederfindungen < 50 % ist die Analyse zu wiederholen.

9 Literatur

- [1] DIN 32645: Chemische Analytik – Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze unter Wiederholbedingungen – Begriffe, Verfahren, Auswertung (11.08). Beuth, Berlin 2008