

The MAK Collection for Occupational Health and Safety

Zitronensäure – Methode zur Bestimmung von Zitronensäure in der Luft am Arbeitsplatz mittels Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC)

Luftanalysen-Methode

C. Schuh¹, H. Korste², R. Hebisch^{3,*}, A. Hartwig^{4,*}, MAK Commission^{5,*}

¹ Methodentwicklung, Berufsgenossenschaft Nahrungsmittel und Gastgewerbe, Dynamostraße 7 – 11, 68165 Mannheim

² Methodenprüfung, Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (LGL), Dienststelle Oberschleißheim, Veterinärstraße 2, 85764 Oberschleißheim

³ Leitung der Arbeitsgruppe „Luftanalysen“ der Ständigen Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin (BAuA), Friedrich-Henkel-Weg 1–25, 44149 Dortmund

⁴ Vorsitz der Ständigen Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Institut für Angewandte Biowissenschaften, Abteilung Lebensmittelchemie und Toxikologie, Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Adenauerring 20a, Geb. 50.41, 76131 Karlsruhe

⁵ Ständige Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Kennedyallee 40, 53175 Bonn

* E-Mail: R. Hebisch (luftanalysen-dfg@baua.bund.de), A. Hartwig (andrea.hartwig@kit.edu), MAK Commission (arbeitsstoffkommission@dfg.de)

Keywords: Zitronensäure; Luftanalysen; Analysenmethode; Arbeitsplatzmessung; Gefahrstoff; Hochleistungsflüssigkeitschromatographie; UV-Detektion; HPLC-UV; Glasfaserfilter; Flüssigdesorption

Citation Note: Schuh C, Korste H, Hebisch R, Hartwig A, MAK Commission. Zitronensäure – Methode zur Bestimmung von Zitronensäure in der Luft am Arbeitsplatz mittels Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC). Luftanalysen-Methode. MAK Collect Occup Health Saf [Original-Ausgabe. Weinheim: Wiley-VCH; 2019 Apr;4(2):990–1005]. Korrigierte Neuveröffentlichung ohne inhaltliche Bearbeitung. Düsseldorf: German Medical Science; 2025. https://doi.org/10.34865/am7792kskd0020_w

Neuveröffentlichung (Online): 30 Apr 2025

Vormals erschienen bei Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA; <https://doi.org/10.1002/3527600418.am7792kskd0020>

Manuskript abgeschlossen: 01 Okt 2018

Erstveröffentlichung (Online): 25 Apr 2019

Zur Vermeidung von Interessenkonflikten hat die Kommission Regelungen und Maßnahmen etabliert.



Dieses Werk ist lizenziert unter einer
Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz.

Citric acid – Method for the determination of citric acid in workplace air using high performance liquid chromatography (HPLC)

[Zitronensäure – Methode zur Bestimmung von Zitronensäure in der Luft am Arbeitsplatz mittels Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC)]

Air Monitoring Methods in German language

C. Schuh¹, H. Korste², R. Hebisch^{3,*}, A. Hartwig^{4,*}, MAK Commission^{5,*}

DOI: 10.1002/3527600418.am7792kskd0020

Abstract

This analytical method is a validated measurement procedure for the determination of citric acid [77-92-9] in workplace air in a concentration range of one tenth up to twice the currently valid OEL or MAK value of 2 mg/m³ E. Sampling is performed by drawing a defined volume of air through a glass fibre filter, which is inserted in a GSP sampling system, using a suitable flow-regulated pump with a volumetric flow rate of 10 L/min or 3,5 L/min. For sampling 2 hours or 15 min (checking the short-term value) can be used. The collected citric acid is extracted with diluted caustic soda and analysed by means of high performance liquid chromatography using an UV detector. The quantitative determination is based on a calibration function obtained by means of a multiple-point calibration. The absolute limit of quantification (LOQ) is 12 ng and the relative LOQ is 0.005 mg/m³ based on an air sample volume of approx. 1200 L (0.014 mg/m³ based on air sample volume of 420 L) or 0.04 mg/m³ based on an air sample volume of approx. 150 L (for short-term value) (0.11 mg/m³ based on air sample volume of 52.5 L). The mean recovery was 100% and the expanded uncertainty for the overall measurement method was 18%.

Keywords

Zitronensäure; Arbeitsplatzmessung; Gefahrstoffe; Luftanalysen; Messverfahren; GSP-Probenahmekopf; Hochleistungsflüssigchromatographie; HPLC

Author Information

¹ Berufsgenossenschaft Nahrungsmittel und Gastgewerbe, Dynamostr. 7–11, 68165 Mannheim

² Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (LGL Bayern), Dienststelle Veterinärstraße 2, 85764 Oberschleißheim

³ Leiter der Arbeitsgruppe „Luftanalysen“ der Ständigen Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin (BAuA), Friedrich-Henkel-Weg 1–25, 44149 Dortmund

⁴ Vorsitzende der Ständigen Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Institut für angewandte Biowissenschaften, Abteilung Lebensmittelchemie und Toxikologie, Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Adenauerring 20a, Geb. 50.41, 76131 Karlsruhe

⁵ Ständige Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Kennedyallee 40, 53175 Bonn

* Email: R. Hebisch (luftanalysen-dfg@baua.bund.de), A. Hartwig (andrea.hartwig@kit.edu), MAK Commission (arbeitsstoffkommission@dfg.de)

Zitronensäure – Bestimmung von Zitronensäure in der Luft am Arbeitsplatz mittels Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC)

Methodennummer	1
Anwendbarkeit	Luftanalyse
Analyt. Messprinzip	Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC)
Abgeschlossen im	Oktober 2018

Zusammenfassung

Mit dieser Analysenmethode kann Zitronensäure in der Luft am Arbeitsplatz in einem Konzentrationsbereich von einem Zehntel bis zum 2-Fachen des derzeit gültigen MAK-Wertes von 2 mg/m^3 E bestimmt und die Spitzenbegrenzung mit einem Überschreitungsfaktor von 2 überprüft werden [1].

Zur Probenahme wird ein definiertes Luftvolumen mit einer durchflusstabilisierten Pumpe durch einen Glasfaserfilter gesaugt, der in einem GSP-Probenahmesystem lokalisiert ist. Der verwendete Probenahmekopf ist mit einem Erfassungskegel von 10 L/min ausgestattet, was einer Ansauggeschwindigkeit von ca. 1,25 m/s entspricht und somit die Anforderungen der DIN EN 481 [2] für einatembare Partikel erfüllt. Alternativ kann auch der Erfassungskegel von 3,5 L/min verwendet werden. Zur Probenaufbereitung wird die auf dem Filter gesammelte Zitronensäure mit verdünnter Natronlauge extrahiert und mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie unter Verwendung eines UV-Detektors analysiert. Die quantitative Bestimmung erfolgt anhand zweier Mehrpunkt-Kalibrierungen.

Kenndaten des Verfahrens

Wiederholpräzision:	Standardabweichung (rel.):	$s = 0,5 \%$ bei Konzentrationen von 72 und 530 $\mu\text{g/mL}$
Vergleichspräzision:	Standardabweichung (rel.):	$s = 0,9 \%$ bei einer Konzentration von 500 $\mu\text{g/mL}$

992 Air Monitoring Methods in German language

Erweiterte Messunsicherheit: $U = 18\%$ im Konzentrationsbereich von 0,2 bis 4 mg/m³ und einem Probeluftvolumen von 1200 Litern.

$U = 18\%$ im Konzentrationsbereich von 2 bis 8 mg/m³ und einem Probeluftvolumen von 150 Litern.

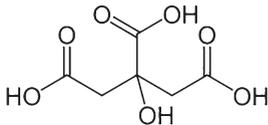
Wiederfindung: $\eta = 1$ (100 %) bei einem Probeluftvolumen von 1200 L.

Bestimmungsgrenze: absolut: 12 ng
relativ: 0,005 mg/m³ bei einem Probeluftvolumen von 1200 L
0,014 mg/m³ bei einem Probeluftvolumen von 420 L
0,04 mg/m³ bei einem Probeluftvolumen von 150 L
0,11 mg/m³ bei einem Probeluftvolumen von 52,5 L

Probenahmeempfehlung: Probenahmedauer: 120 min
Probeluftvolumen: 1200 L oder 420 L
Für Kurzzeitwertmessungen: 15 min; 150 L oder 52,5 L

Stoffbeschreibung

Zitronensäure [77-92-9]



Synonyma: 2-Hydroxypropan-1,2,3-tricarbonsäure;
3-Carboxy-3-hydroxypentandisäure; E 330

Zitronensäure ist ein farb- und geruchloser Feststoff (Molmasse 192,43 g/mol, Schmelzpunkt 153 °C, Siedepunkt Zersetzung: ab 175 °C, Dampfdruck $7,3 \times 10^{-9}$ hPa bei 25 °C). Es ist eine wasserlösliche Carbonsäure (600 g/L), die zu den Fruchtsäuren zählt.

Zitronensäure gehört zu den am weitesten verbreiteten Säuren im Pflanzenreich. Natürlich kommt sie vor allem in Zitrusfrüchten, wie z. B. Zitronen, Limetten, Orangen, Mandarinen und Grapefruits vor; so enthält der Saft einer Zitrone z. B. ca. 5 bis 7 % an Zitronensäure. Des Weiteren enthalten ist sie z. B. in Äpfeln, Birnen, Himbeeren, Johannisbeeren, Kiwis und Pilzen. Als Stoffwechselprodukt ist die Zitronensäure in Form ihrer Salze (Citrate) wichtiges Zwischenprodukt des Energiestoffwechsels (Zitronensäurezyklus) und ist somit Bestandteil jeder lebenden Zelle in einem Organismus.

Neben der Gewinnung aus Zitrusfrüchten, wird Zitronensäure biotechnologisch mit Hilfe von Mikroorganismen hergestellt. Dazu wird vor allem der Schimmelpilz *Aspergillus niger* eingesetzt, wobei als Nährmedium Mais und Melasse verwendet wird.

Zitronensäure (E 330) und ihre Salze sind wichtige Zusatzstoffe in der Lebensmittelindustrie, wo sie als Konservierungsmittel eingesetzt werden, weil sie wirkungsvoll Oxidationsprozesse verhindern, die den Verderb von Lebensmitteln beschleunigen. Zudem wird sie als Komplexbildner und Säuerungsmittel verwendet. Als Säureregulator hält Zitronensäure den gewünschten pH-Wert eines Lebensmittels konstant. Darüber hinaus wird Zitronensäure als Reiniger – insbesondere zum Entkalken – eingesetzt.

Der MAK-Wert von Zitronensäure beträgt 2 mg/m^3 E. Die Spitzenbegrenzung erfolgt nach Kategorie I mit dem Überschreitungsfaktor 2 [1]. Zur Toxizität von Zitronensäure siehe toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründungen von MAK-Werten [3, 4].

Inhaltsverzeichnis

1	Grundlage des Verfahrens	994
2	Geräte, Chemikalien und Lösungen	994
2.1	Geräte	994
2.2	Chemikalien	995
2.3	Lösungen	995
3	Probenahme und Probenaufbereitung	998
3.1	Probenahme	998
3.2	Probenaufbereitung	998
4	Chromatographische Arbeitsbedingungen	999
5	Analytische Bestimmung	999
6	Kalibrierung	1000
7	Berechnung des Analyseergebnisses	1000
8	Beurteilung des Verfahrens	1000
8.1	Präzision	1000
8.2	Wiederfindung und Vergleichspräzision	1000
8.3	Erweiterte Messunsicherheit des Gesamtverfahrens	1001
8.4	Bestimmungsgrenze	1003
8.5	Lagerfähigkeit	1003
8.6	Störeinflüsse	1003
9	Diskussion	1003
10	Anhang: Präzision und Richtigkeit mittels Vergleichsmessung	1003
	Literatur	1004

1 Grundlage des Verfahrens

Mit dieser Analysenmethode kann Zitronensäure in der Luft am Arbeitsplatz in einem Konzentrationsbereich von einem Zehntel bis zum 2-Fachen des derzeit gültigen MAK-Wertes von $2 \text{ mg/m}^3 \text{ E}$ bestimmt werden und die Spitzenbegrenzung mit einem Überschreitungsfaktor von 2 überprüft werden [1].

Zur Probenahme wird ein definiertes Luftvolumen mit einer durchflusstabilisierten Pumpe durch einen Glasfaserfilter gesaugt, der in einem GSP-Probenahmesystem lokalisiert ist. Der verwendete Probenahmekopf ist mit einem Erfassungskegel von 10 L/min ausgestattet, was einer Ansauggeschwindigkeit von ca. $1,25 \text{ m/s}$ entspricht und die Anforderungen der DIN EN 481 [2] für einatembare Partikel erfüllt. Alternativ kann auch der Erfassungskegel von $3,5 \text{ L/min}$ verwendet werden. Die auf dem Filter gesammelte Zitronensäure wird mit verdünnter Natronlauge extrahiert und mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie und UV-Detektion analysiert. Die quantitative Bestimmung erfolgt anhand zweier Mehrpunkt-Kalibrierungen.

2 Geräte, Chemikalien und Lösungen

2.1 Geräte

- Glasfaserfilter, z. B. Typ MN 85/90, bindemittelfrei, $\text{Ø } 37 \text{ mm}$
- Personengetragenes Gefahrstoff-Probenahmesystem (PGP) mit Probenahmekopf für die einatembare Fraktion (GSP) mit Ansaugkegel für 10 L/min (Abbildung 1) oder Ansaugkegel für $3,5 \text{ L/min}$, bezogen über DEHA Haan&Wittmer GmbH, 71296 Heimsheim
- Filterkassetten für Probenahmesystem PGP, bezogen über DEHA Haan&Wittmer
- Pumpe zur personengetragenen Probenahme, Förderleistung 10 L/min bzw. $3,5 \text{ L/min}$, z. B. SG10-2, GSA Gesellschaft für Schadstoffanalytik, 40880 Ratingen
- Schwebekörperdurchflussmesser, z. B. Influx 1–13 Liter, DEHA Haan&Wittmer
- Hochleistungsflüssigkeitschromatograph mit UV-Detektor oder DAD, z. B. Agilent 1200, 76337 Waldbronn
- Trennsäule, z. B. IC-PAK Ion Exclusion ($7,8 \times 150$) mm, $7 \mu\text{m}$, Waters, 65760 Eschborn
- Analysenwaage
- Ultraschallbad
- Tischzentrifuge, $10\,000 \text{ U/min}$, z. B. Universal 320R, Fa. Hettich, 78532 Tuttlingen
- Messkolben, 10 und 100 mL
- Zentrifugenröhrchen, 10 mL
- Einmalspritzen
- automatische Verdrängerpipette, z. B. Multipette pro ($1 \mu\text{L}$ bis 10 mL) Eppendorf, 22366 Hamburg
- Autosamplervials, Nennvolumen, 2 mL
- Einmalfilter, Porengröße $0,45 \mu\text{m}$, regenerierte Cellulose, $\text{Ø } 30 \text{ mm}$



Abb. 1 Probenahmekopf GSP [5]

2.2 Chemikalien

- Wasser für die Chromatographie, z. B. Merck, Darmstadt, Best.-Nr. 1.15333
- 0,1-molare Natronlauge, z. B. Merck, Best.-Nr. 1.09141
- o-Phosphorsäure (85 %) p. A., z. B. Merck, Best.-Nr. 1.00573
- Zitronensäure z. B. Sigma-Aldrich, Best.-Nr. C0759

2.3 Lösungen

Eluent: 0,00333-molare Phosphorsäure

In einen 1000-mL-Messkolben in den ca. 500 mL Wasser (für die Chromatographie) vorgelegt wurden, werden 222 μ L der 85%igen Phosphorsäure (15 mol/L) zugeben. Danach wird der Messkolben mit Wasser (für die Chromatographie) bis zur Marke aufgefüllt und umgeschüttelt.

Stammlösung 1: Zitronensäure (9,59 mg/mL)

In einen 100-mL-Messkolben werden 968,18 mg Zitronensäure (99,1%ig) genau eingewogen. Danach wird der Messkolben mit Wasser (für die Chromatographie) bis zur Marke aufgefüllt und umgeschüttelt. Die Konzentration an Zitronensäure beträgt 9,595 mg/mL.

Kalibrierstandards für die Erstellung von zwei Kalibriergeraden für den unteren und oberen Konzentrationsbereich.

Aus Stammlösung 1 werden sechs Kalibrierlösungen (zur Ermittlung des unteren Konzentrationsbereiches) wie folgt hergestellt:

In jeweils 10-mL-Messkolben, die als Vorlage ca. 5 mL Natronlauge enthalten, werden die in Tabelle 1 aufgeführten Volumina an Stammlösung 1 zudosiert. Die Messkolben werden danach mit Natronlauge bis zur Marke aufgefüllt und umgeschüttelt.

Zur Ermittlung des oberen Konzentrationsbereiches werden aus Stammlösung 1 acht Kalibrierlösungen wie folgt hergestellt:

In jeweils 10-mL-Messkolben, die als Vorlage 5 mL Natronlauge enthalten, werden die in Tabelle 2 aufgeführten Volumina an Stammlösung 1 zudosiert. Die Messkolben werden danach mit Natronlauge bis zur Marke aufgefüllt und umgeschüttelt.

Tab. 1: Pipettierschema zur Herstellung der sechs Kalibrierstandards von Zitronensäure im unteren Konzentrationsbereich

Kalibrierstandard	Stammlösung 1	Konzentration
	[$\mu\text{L}/10\text{ mL}$]	[$\mu\text{g}/\text{mL}$]
Kalibrierstandard I (Blindprobe)	0	0
Kalibrierstandard II	25	23,99
Kalibrierstandard III	50	47,97
Kalibrierstandard IV	75	71,96
Kalibrierstandard V	100	95,95
Kalibrierstandard VI	125	119,9

Tab. 2: Pipettierschema zur Herstellung von Kalibrierstandards von Zitronensäure im oberen Konzentrationsbereich

Kalibrierstandard	Stammlösung 1	Konzentration
	[$\mu\text{L}/10\text{ mL}$]	[$\mu\text{g}/\text{mL}$]
Kalibrierstandard I (Blindprobe)	0	0
Kalibrierstandard II	100	95,95
Kalibrierstandard III	250	239,9
Kalibrierstandard IV	400	383,8
Kalibrierstandard V	550	527,7
Kalibrierstandard VI	700	671,6
Kalibrierstandard VII	850	815,6
Kalibrierstandard VIII	1000	959,5

Es werden zwei Kontrollstandards angesetzt.

Stammlösung für die Kontrollstandards: Zitronensäure (9,91 mg/mL)

In einen 10-mL-Messkolben werden 100 mg Zitronensäure (99,1%ig) eingewogen. Danach wird der Messkolben mit Wasser (für die Chromatographie) bis zur Marke aufgefüllt und umgeschüttelt. Die Konzentration an Zitronensäure beträgt 9,91 mg/mL.

Kontrollstandard 1: Zitronensäure (ca. 74,3 µg/mL)

In einen 10-mL-Messkolben, in den einige Milliliter Natronlauge vorgelegt wurden, werden 75 µL Kontrollstammlösung pipettiert. Der Messkolben wird danach mit Natronlauge bis zur Marke aufgefüllt und umgeschüttelt. Die Konzentration an Zitronensäure beträgt ca. 74,3 µg/mL.

Kontrollstandard 2: Zitronensäure (ca. 545,1 µg/mL)

In einen 10-mL-Messkolben, in den einige Milliliter Natronlauge vorgelegt wurden, werden 550 µL Kontrollstammlösung pipettiert. Der Messkolben wird danach mit Natronlauge bis zur Marke aufgefüllt und umgeschüttelt. Die Konzentration an Zitronensäure beträgt ca. 545,1 µg/mL.

Stammlösung 2: Zitronensäure (1,485 mg/mL)

In einen 100-mL-Messkolben werden 149,83 mg Zitronensäure (99,1%ig) eingewogen. Danach wird der Messkolben mit Wasser (für die Chromatographie) bis zur Marke aufgefüllt und umgeschüttelt. Die Konzentration an Zitronensäure beträgt 1,485 mg/mL.

Kalibrierstandards zur Ermittlung der Bestimmungsgrenze.

Aus Stammlösung 2 werden zehn Kalibrierlösungen wie folgt hergestellt:

In zehn 10-mL-Messkolben, die als Vorlage einige Milliliter Natronlauge enthalten, werden die in Tabelle 3 aufgeführten Volumina an Stammlösung 2 dosiert. Die Messkolben werden danach mit Natronlauge bis zur Marke aufgefüllt und umgeschüttelt.

Tab. 3: Pipettierschema zur Herstellung der Kalibrierstandards von Zitronensäure zur Ermittlung der Bestimmungsgrenze

Kalibrierstandard	Stammlösung 1	Konzentration
	[$\mu\text{L}/10\text{ mL}$]	[$\mu\text{g}/\text{mL}$]
Kalibrierstandard I (Blindwert)	0	0
Kalibrierstandard II	25	3,71
Kalibrierstandard III	50	7,42
Kalibrierstandard IV	75	11,14
Kalibrierstandard V	100	14,85
Kalibrierstandard VI	125	18,56
Kalibrierstandard VII	150	22,27
Kalibrierstandard VIII	175	25,98
Kalibrierstandard IX	200	29,7
Kalibrierstandard X	225	33,41

3 Probenahme und Probenaufbereitung

3.1 Probenahme

Zu Beginn der Probenahme wird ein Glasfaserfilter in den GSP-Probenahmekopf eingelegt und mit einer durchflussstabilisierten Pumpe verbunden. Das PGP-Probenahmesystem ist mit einem dem Volumenstrom entsprechenden Erfassungskegel von 10 L/min ausgestattet. Für die Probenahmedauer können 15 Minuten (Überprüfung der Spitzenbegrenzung) oder 2 Stunden gewählt werden. Bei einer Probenahmedauer von 15 min entspricht dies einem Probeluftvolumen von ca. 150 Litern und bei zwei Stunden Probenahme einem Probeluftvolumen von ca. 1200 Litern. Alternativ kann auch der Erfassungskegel von 3,5 L/min verwendet werden. Die Probeluftvolumina betragen bei einer Probenahmedauer von 2 Stunden und 15 Minuten damit 420 Liter und 52,5 Liter. Die Probenahme kann personenbezogen oder ortsfest erfolgen. Nach Beendigung der Probenahme ist der Volumenstrom auf Konstanz zu überprüfen. Ist die Abweichung vom eingestellten Volumenstrom größer $\pm 5\%$, wird empfohlen, die Probe zu verwerfen [6]. Die Filterkassette mit dem beaufschlagten Filter wird mit den dafür vorgesehenen Deckeln verschlossen.

Zu jeder Probenserie ist eine Blindprobe (Field Blank) mitzuführen. Diese unterscheidet sich von der Analysenprobe lediglich darin, dass keine Probeluft durch den Filter gesaugt wurde. Die Blindprobe wird analog den Proben gelagert und aufbereitet.

3.2 Probenaufbereitung

Zur Probenaufbereitung wird der Filter in ein 10-mL-Zentrifugenröhrchen überführt und mit 5 mL Natronlauge überschichtet. Nach kräftigem manuellen Schütteln wird

die Probe zur Extraktion 25 Minuten lang im Ultraschallbad behandelt und danach für 10 Minuten bei 10 000 U/min zentrifugiert. Von dem Überstand wird mittels einer Einmalspritze Probenflüssigkeit entnommen, durch einen Einmalspritzenfilter in ein Autosamplervial filtriert und analysiert. Die Blindprobe (Field Blank) wird analog der Probelösung aufbereitet.

Zusätzlich werden zur Ermittlung des Reagenzienblindwertes einige Milliliter Natronlauge in ein Autosamplervial pipettiert und analysiert (Lab Blank).

4 Chromatographische Arbeitsbedingungen

Die analytischen Messungen erfolgen an einer Gerätekombination, bestehend aus einem HPLC-System mit Pumpe, Säulenofen, Entgaser und automatischem Probengeber sowie einem UV-Detektor bzw. einem DAD.

Gerät:	Hochleistungsflüssigchromatograph (HPLC) mit UV-Detektor bzw. DAD, z. B. Agilent 1200
Trennsäule:	IC-PAK Ion Exclusion: 150 × 7,8 mm, Partikelgröße 7 µm, 50 Å
	Länge: 15 cm
	Innerer Durchmesser: 7,8 mm
Säulentemperatur:	30 °C
Eluent:	0,00333-molare Phosphorsäure (isokratisch)
Flussrate:	0,8 mL/min
Messwellenlänge:	210 nm; BW 4 nm
Injektionsvolumen:	10 µL

5 Analytische Bestimmung

Zur analytischen Bestimmung werden jeweils 10 µL der nach Abschnitt 3.2 aufbereiteten Proben in den HPLC injiziert und unter den in Abschnitt 4 angegebenen Bedingungen analysiert. Je nach Höhe der Konzentration an Zitronensäure in einer Probe wird zur Auswertung die Kalibrierkurve im niedrigen oder hohen Konzentrationsbereich herangezogen. Liegen die ermittelten Konzentrationen oberhalb des Kalibrierbereiches, so sind geeignete Verdünnungen mit Natronlauge herzustellen und diese nochmals zu analysieren. Des Weiteren werden die aufbereitete Blindprobe (Field Blank) und der Reagenzienblindwert (Lab Blank) analog den Analysenproben analysiert.

6 Kalibrierung

Zur Erstellung der beiden Kalibrierfunktionen werden die unter Abschnitt 2.3 beschriebenen Kalibrierstandards entsprechend den Abschnitten 4 und 5 analysiert. Die ermittelten Peakflächen werden gegen die jeweiligen Konzentrationen aufgetragen und jeweils eine Kalibrierkurve für den niedrigen und hohen Bereich erstellt.

Zur Überprüfung der Kalibrierfunktionen werden arbeitstäglich die zwei, unter Abschnitt 2.3 beschriebenen, Kontrollstandards analysiert.

7 Berechnung des Analyseergebnisses

Die Berechnung der Konzentration an Zitronensäure erfolgt nach Gleichung (1) wie folgt:

$$\rho = \frac{X \times E \times 100}{V \times Wf} \quad (1)$$

Es bedeuten:

- ρ Massenkonzentration an Zitronensäure in der Raumluft in mg/m^3
- X Konzentration an Zitronensäure in der aufbereiteten Probelösung abzüglich des Gehalts des Field Blanks in $\mu\text{g}/\text{mL}$
- E Extraktionsvolumen in mL (hier 5 mL)
- V Probeluftvolumen in Liter
- Wf Wiederfindung in %

8 Beurteilung des Verfahrens

Die Kenndaten der Methode wurden entsprechend der DIN EN 482 [7], der DIN EN 13890 [8] und der DIN 32645 [9] ermittelt.

8.1 Präzision

Zur Bestimmung der Wiederholpräzision wurde an sechs Tagen je ein Kalibrierstandard im mittleren Konzentrationsbereich der Kalibriergeraden analysiert. Die dabei ermittelten relativen Standardabweichungen betragen bei beiden Konzentrationen 0,5 %.

8.2 Wiederfindung und Vergleichspräzision

Zur Wiederfindung wurden sechs Filter mit jeweils 10 mg Zitronensäure dotiert. Zur Überprüfung des MAK-Wertes wäre eine geringere Einwaage von Vorteil gewesen. Um den Wäagefehler möglichst gering zu halten, wurde eine Mindesteinwaage von 10 mg gewählt. Danach wurden $1,2 \text{ m}^3$ Luft durch die Filter gesaugt und die Filter

entsprechend Abschnitt 3.2 aufbereitet. Die Probelösungen wurden vor der Analyse mittels HPLC (vgl. Abschnitte 4 und 5) um ein Viertel mit Natronlauge verdünnt (z. B. 200 μL Probelösung und 600 μL Natronlauge).

Zur Ermittlung von Referenzwerten wurden in sechs Zentrifugenröhrchen jeweils 5 mL Natronlauge gegeben und danach je 10 mg Zitronensäure dazu dosiert. Die Referenzproben wurden wie die Analysenproben aufbereitet, um ein Viertel mit der Natronlauge verdünnt und analysiert.

Die ermittelten Referenzwerte und Wiederfindungen lagen – bezogen auf den theoretischen Zitronensäuregehalt – zwischen 98 und 102 %. Die Wiederfindungen unterscheiden sich statistisch nicht signifikant von den Referenzwerten.

Die Wiederfindung betrug 100 %. Die Vergleichspräzisionen der Referenzwerte und Wiederfindungen lagen bei 0,9 %.

8.3 Erweiterte Messunsicherheit des Gesamtverfahrens

Die Messunsicherheit wurde unter Abschätzung aller relevanten Einflussgrößen (bottom-up-Verfahren) ermittelt [7, 8]. Die Ergebnisunsicherheit des Gesamtverfahrens und damit auch die des Analyseergebnisses setzt sich im Wesentlichen zusammen aus folgenden Unsicherheitsbeiträgen:

- dem Probeluftvolumen U_L ,
- dem Probenahmegerät U_{PN} ,
- dem Extraktionsvolumen U_E ,
- der relativen Wiederfindung U_{Wf} ,
- sowie von Einflüssen auf die Messwerte U_ρ , insbesondere von Streuung der Kalibriergeraden und Kalibrierstandards und -stammlösung und der laborinternen Reproduzierbarkeit (Präzision).

Die kombinierte Unsicherheit des Messwertes ist konzentrationsabhängig. Sie ergibt sich aus der Unsicherheit der Kalibriergeraden, der Kalibrierstammlösung, dem Ansatz der Kalibrierlösungen und den Resultaten der Präzision.

Die Kombination aller Unsicherheitsbeiträge führt zur konzentrationsabhängigen kombinierten Messunsicherheit U_{komb} .

Durch Multiplikation mit einem Wahrscheinlichkeitsfaktor (z. B. $k = 2$ für 95 % Sicherheit) erhält man die entsprechende erweiterte Messunsicherheit U_{erw} , die gleichzeitig die konzentrations- und von der Probenahme abhängigen Messunsicherheiten des Gesamtverfahrens darstellen. In Tabelle 4 sind die ermittelten Unsicherheitsbeiträge zusammengestellt, wobei unterschieden wird zwischen einer niedrigen, mittleren und hohen Konzentration bei 15-minütiger Probenahmedauer. In Tabelle 5 sind die dazugehörigen kombinierten und erweiterten Messunsicherheiten bei 15-minütiger Probenahmedauer aufgeführt.

Tab. 4: Messunsicherheiten bei 15-minütiger Probenahme von Zitronensäure in %

U_L	U_{PN}	U_E	U_{Wf}	$U_{\rho_{-h}}$	$U_{\rho_{-m}}$	$U_{\rho_{-n}}$
3,3	8,5	0,2	1,3	1,8	1,9	1,4

1002 Air Monitoring Methods in German language

Tab. 5: Kombinierte und erweiterte Messunsicherheiten bei 15-minütiger Probenahme in %

$U_{\text{komb-h}}$	$U_{\text{komb-m}}$	$U_{\text{komb-n}}$	$U_{\text{erw-h}}$	$U_{\text{erw-m}}$	$U_{\text{erw-n}}$
9,0	9,2	9,1	18	18	18

Die Konzentrationen betragen bei 15-minütiger Probenahmedauer 8 mg/m³ bzw. 4 und 2 mg/m³.

Da sich bei einer Probenahmedauer von 120 Minuten verschiedene Unsicherheitsbeiträge wie z. B. die des Extraktionsvolumens und des verwendeten Probenahmegerätes nicht von den Beiträgen von denen bei einer 15-minütigen Probenahmedauer unterscheiden, sind in Tabelle 6 nur die davon abweichenden Messunsicherheiten dargestellt. Tabelle 6 zeigt u. a. die kombinierten und erweiterten Messunsicherheiten bei drei unterschiedlichen Konzentrationen.

Tab. 6: Messunsicherheiten bei 120-minütiger Probenahme von Zitronensäure in %

U_L	$U_{\rho-h}$	$U_{\rho-m}$	$U_{\rho-n}$	$U_{\text{komb-h}}$	$U_{\text{komb-m}}$	$U_{\text{komb-n}}$	$U_{\text{erw-h}}$	$U_{\text{erw-m}}$	$U_{\text{erw-n}}$
2,6	0,9	1,8	1,6	9,0	9,2	9,1	18	18	18

Die Konzentrationen betragen bei 120-minütiger Probenahmedauer 4 mg/m³, 1 mg/m³ und 0,2 mg/m³.

Es bedeuten:

U_L	Unsicherheit des Probeluftvolumens
U_{PN}	Unsicherheit des Probenahmegerätes
U_E	Unsicherheit des Extraktionsvolumens
U_{wf}	Unsicherheit der Wiederfindung
$U_{\rho-h}$	Unsicherheit des Messwertes bei einer hohen Konzentration (beinhaltet Präzision und Streuung der Kalibrierkurve)
$U_{\rho-m}$	Unsicherheit des Messwertes bei einer mittlerer Konzentration (beinhaltet Präzision und Streuung der Kalibrierkurve)
$U_{\rho-n}$	Unsicherheit des Messwertes bei einer niedrigen Konzentration (beinhaltet Präzision und Streuung der Kalibrierkurve)
$U_{\text{komb-h}}$	kombinierte Messunsicherheit bei einer hohen Konzentration
$U_{\text{komb-m}}$	kombinierte Messunsicherheit bei einer mittleren Konzentration
$U_{\text{komb-n}}$	kombinierte Messunsicherheit bei einer niedrigen Konzentration
$U_{\text{erw-h}}$	erweiterte Messunsicherheit bei hoher Konzentration
$U_{\text{erw-m}}$	erweiterte Messunsicherheit bei mittlerer Konzentration
$U_{\text{erw-n}}$	erweiterte Messunsicherheit bei niedriger Konzentration

8.4 Bestimmungsgrenze

Die Ermittlung der Bestimmungsgrenze von Zitronensäure erfolgte aus einer 10-Punkt-Kalibrierung im Konzentrationsbereich von 0 bis 33,41 µg/mL (vgl. Tabelle 3) gemäß DIN 32645 [9] mit $P = 95\%$ und $k = 3,33$.

Für Zitronensäure ergab sich eine Bestimmungsgrenze von 1,2 µg/mL. Bezogen auf ein Probeluftvolumen von 1,2 m³ (1200 L) entspricht dies einer relativen Bestimmungsgrenze von 0,005 mg/m³ und bei 150 L Probeluftvolumen einer relativen Bestimmungsgrenze von 0,040 mg/m³ (Kurzzeitwert). Bezogen auf ein Probeluftvolumen von 420 Liter (2 Stunden mit 3,5 L/min) entspricht dies einer relativen Bestimmungsgrenze von 0,014 mg/m³ und bei 52,5 Liter Probeluftvolumen einer relativen Bestimmungsgrenze von 0,11 mg/m³ (Kurzzeitwert).

8.5 Lagerfähigkeit

Untersuchungen zur Lagerstabilität zeigten, dass sowohl die dotierten Filter als auch die aufbereiteten Probelösungen und die Kalibrierstandards mindestens drei Wochen bei Raumtemperatur lagerfähig sind.

8.6 Störeinflüsse

Das Analysenverfahren mittels Hochleistungsflüssigchromatographie und UV-Detektion ist unter den angegebenen Arbeitsbedingungen spezifisch und robust. Es wurden keine Störungen durch z. B. andere organische Säuren festgestellt. Blindwerte werden durch die parallel zur Probenaufbereitung hergestellten Field Blanks berücksichtigt; konnten allerdings nicht nachgewiesen werden.

9 Diskussion

Das hier beschriebene Messverfahren ermöglicht die Bestimmung von Zitronensäure in der Luft am Arbeitsplatz in einem Konzentrationsbereich von 0,005 bis 4 mg/m³ bei einer Probenahmedauer von 2 Stunden und für die Ermittlung des Kurzzeitwertes (15 Minuten) im Konzentrationsbereich von 0,04 bis 32 mg/m³.

10 Anhang: Präzision und Richtigkeit mittels Vergleichsmessung

Die Präzision und Richtigkeit des Messverfahrens wurden im Rahmen von Vergleichsmessungen geprüft. Dazu wurden zwölf Glasfaserfilter mit jeweils 12 mg Zitronensäure dotiert. Anschließend wurden sechs Filter im Labor des Entwicklers (BGN – *Berufsgenossenschaft Nahrungsmittel und Gastgewerbe*) und sechs Filter im Labor des Prüfers (LGL – *Bayerisches Landesamt für Gesundheit und*

1004 Air Monitoring Methods in German language

Lebensmittelsicherheit) analysiert. Die Analytik im Labor des Entwicklers erfolgte mittels Hochleistungsflüssigchromatographie (vgl. Abschnitte 3.2 und 4), während die Prüfung mittels Photometrie nach enzymatischer Reaktion [10] erfolgte. Die Ergebnisse der Wiederfindungen von den Vergleichsmessungen sind in Tabelle 7 aufgeführt.

Tab. 7: Ergebnisse der Vergleichsmessungen für die dotierten Filter

Filter-Nr.	BGN*	LGL**
	Rel. Wiederfindung [%]	Rel. Wiederfindung [%]
Filter 1 bzw. 7	101,8	97,83
Filter 2 bzw. 8	102,2	98,63
Filter 3 bzw. 9	101,9	97,92
Filter 4 bzw. 10	101,3	99,84
Filter 5 bzw. 11	100,2	100,06
Filter 6 bzw. 12	101,6	98,34
Mittelwert Filter 1–6 bzw. Filter 7–12	101,5	98,8
Standardabweichung s	0,7236	0,9614
Rel. Standardabweichung s [%]	0,71	0,97

* Berufsgenossenschaft Nahrungsmittel und Gastgewerbe, Mannheim

** Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit, Dienststelle Oberschleißheim

Die mittlere Wiederfindung bei Prüfung mittels photometrischer Analyse betrug 98,8 %, während die mittlere Wiederfindung bei Analytik mittels HPLC bei 101,5 % lag. Die Abweichung der Ergebnisse zwischen den beiden Messverfahren betrug 2,7 % und die Präzision war kleiner 1,0 %.

Literatur

- [1] DFG – Deutsche Forschungsgemeinschaft (2018) MAK- und BAT-Werte-Liste 2018. Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Mitteilung 54, Wiley-VCH, Weinheim, <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/book/10.1002/9783527818396>
- [2] DIN EN 481 (1993) Arbeitsplatzatmosphäre; Festlegung der Teilchengrößenverteilung zur Messung luftgetragener Partikel; Deutsche Fassung EN 481:1993. Beuth Verlag, Berlin
- [3] Hartwig A und MAK Commission (2018) Zitronensäure. Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten, The MAK Collection for Occupational Health and Safety, Vol. 3, No. 2, Wiley-VCH, Weinheim, <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/3527600418.mb7792kskd0065>

- [4] Greim H (1998) Zitronensäure und ihre Alkalisalze. Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten, 26 Lieferung. Wiley-VCH, Weinheim,
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/3527600418.mb7792kskd0026/pdf>
- [5] IFA Arbeitsmappe (2016) Sachgruppe 9 – Messverfahren für Gefahrstoffe (Analyseverfahren) Hrsg. Deutsche Gesetzliche Unfallversicherung (DGUV). Erich Schmidt Verlag, Berlin, <https://www.ifa-arbeitsmappedigital.de/>
- [6] DIN EN ISO 13137 (2014) Arbeitsplatzatmosphäre – Pumpen für die personenbezogene Probenahme von chemischen und biologischen Arbeitsstoffen – Anforderungen und Prüfverfahren (ISO 13137:2013); Deutsche Fassung EN ISO 13137:2013. Beuth Verlag, Berlin
- [7] DIN EN 482 (2015) Exposition am Arbeitsplatz – Allgemeine Anforderungen an die Leistungsfähigkeit von Verfahren zur Messung chemischer Arbeitsstoffe; Deutsche Fassung EN 482:2012+A1:2015. Beuth Verlag, Berlin
- [8] DIN EN 13890 (2010) Exposition am Arbeitsplatz – Messung von Metallen und Metalloiden in luftgetragenen Partikeln – Anforderungen und Prüfverfahren; Deutsche Fassung EN 13890:2009. Beuth Verlag, Berlin
- [9] DIN 32645 (2008) Chemische Analytik; Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze unter Wiederholbedingungen – Begriffe, Verfahren, Auswertung. Beuth Verlag, Berlin
- [10] R-BIOPHARM Methodenvorschrift Bestimmung von Zitronensäure mittels Photometrie nach enzymatischer Hydrolyse,
https://food.r-biopharm.com/wp-content/uploads/sites/2/2012/06/roche_ifu_citric-acid_de_10139076035_2017-07.pdf