

**BESTIMMUNG VON LINEAREN
ALKYLBENZOLSULFONATEN (LAS)
IN WASSER MIT DER HOCHLEISTUNGS-
FLÜSSIGCHROMATOGRAPHIE (HPLC)
MIT UV-DETEKTION**



Bestimmung von linearen Alkylbenzolsulfonaten (LAS) in Wasser mit der Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC) mit UV-Detektion

**Peter SEIF
Peter REISINGER**

UBA-BE-025

Wien, November 1994

**Bundesministerium für Umwelt,
Jugend und Familie**



Impressum:

Medieninhaber und Herausgeber: Umweltbundesamt, 1090 Wien, Spittelauer Lände 5

© Umweltbundesamt, Wien, November 1994

**Alle Rechte vorbehalten
ISBN 3-85457-207-7**

Inhalt

	Seite
Zusammenfassung	1
Einleitung	2
A. Arbeitsvorschrift	3
B. Langfristige Kontrolle der Wiederfindungsrate	10



Zusammenfassung

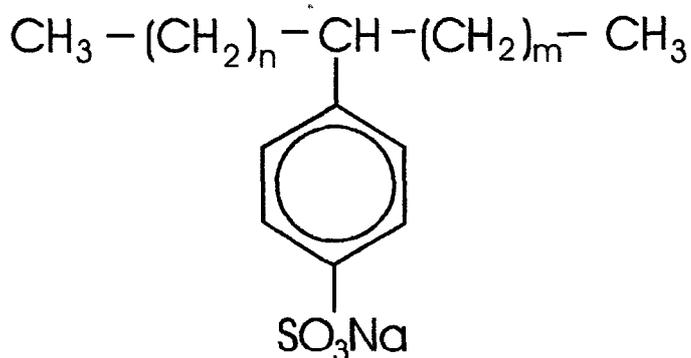
Im Umweltbundesamt wurde eine HPLC-Methode zur Bestimmung von linearen Alkylbenzolsulfonaten (LAS) in Grund- und Oberflächenwasser adaptiert, bei der die Probenvorbereitung durch den Einsatz eines automatischen Festphasenextraktionssystems automatisiert wurde.

Im Rahmen der Erhebung der Wassergüte in Österreich wurden mit dieser Analysenmethode LAS in ca. 520 Oberflächenwasserproben im Auftrag des Bundesministeriums für Land- und Forstwirtschaft bestimmt. Die mittlere Wiederfindungsrate von 169 Wiederfindungsproben, die im Laufe dieser Untersuchungen zur Kontrolle analysiert wurden, betrug 99,7 % (+/- 5,56 % relative Standardabweichung).

Einleitung

Pro Jahr werden in den Industriestaaten ca. 5.3 Millionen Tonnen Tenside (ohne Seife) verbraucht. In Österreich wurden im Jahr 1992 ungefähr 195 000 Tonnen Wasch- und Reinigungsmittel verwendet, die etwa 26 000 Tonnen Tenside enthielten. Davon waren ca. 65 - 70 % anionische Tenside und etwa die Hälfte von diesen lineare Alkylbenzolsulfonate (LAS). Weltweit werden jährlich 1.5 Millionen Tonnen LAS produziert [S. Scharf et al.: LAS in der Umwelt. Umweltbundesamt, Report UBA-94-105, Wien, 1994].

Abbildung 1: LAS



$n + m = 7 \text{ bis } 10$

Obwohl diese waschaktiven Stoffe zu einem hohen Prozentsatz in Kläranlagen abgebaut werden, ist die Erfassung der LAS auch in Wasserproben wichtig.

Deshalb wurde im Umweltbundesamt eine automatisierte Methode zur Bestimmung dieser anionischen Tenside in Grund- und Oberwasserproben adaptiert, bei der die LAS an Festphasen angereichert und mit der Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC) mit UV-Detektion analysiert werden. Dabei wurde im Bereich der Probenvorbereitung die Festphasenextraktion automatisiert, indem die LAS mit Hilfe eines automatischen Festphasenextraktionssystems aus den Wasserproben angereichert werden. Die Arbeitsvorschrift ist in Abschnitt A angeführt.

Diese Analysenmethode wurde im Rahmen der Erhebung der Wassergüte in Österreich im Auftrag des Bundesministeriums für Land- und Forstwirtschaft bei der Erfassung von LAS in ungefähr 520 Oberflächenwasserproben angewandt. Aufgrund der Vorgaben der im Umweltbundesamt angewandten analytischen Qualitätssicherung wurden im Laufe der Analysen zur Kontrolle 169 Wiederfindungsproben - verteilt über einen Zeitraum von mehr als einem Jahr - analysiert. Die Ergebnisse dieser umfangreichen Untersuchungen sind in Abschnitt B dargestellt.

A. Arbeitsvorschrift

Bestimmung von linearen Alkylbenzolsulfonaten (LAS) in Wasser mit der Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC) mit UV-Detektion

1) Warn-und Sicherheitshinweise

Acetonitril ist leichtentzündlich (R11) und giftig beim Einatmen, Verschlucken und Berührung mit der Haut (R23/24/25).

Methanol ist leichtentzündlich (R11) und giftig beim Einatmen und Verschlucken (R23/25).

Dodecylbenzolsulfonsäure ist gesundheitsschädlich beim Verschlucken (R22) und reizt die Augen und die Haut (R36/38).

Formaldehyd ist giftig beim Einatmen, Verschlucken und Berührung mit der Haut (R23/24/25) und verursacht Ätzungen (R34). Irreversibler Schaden (R40) und Sensibilisierung durch Hautkontakt (R43) ist möglich.

Natriumperchlorat ist gesundheitsschädlich beim Verschlucken (R22). Es besteht Explosionsgefahr bei Mischung mit brennbaren Stoffen (R9).

2) Zweck und Anwendungsbereich

Mit dieser Methode können 10 - 100 µg LAS / l in Grund- und Oberflächenwasser bestimmt werden.

3) Referenzen

E. Matthijs, H. De Henau: Determination of LAS. Determination of linear alkylbenzenesulfonates in aqueous samples, sediments, sludges and soils using HPLC.

Tenside Surfactans Detergents 24 (1987) 4, 193-199.

4) Grundzüge des Verfahrens

- 1) Anreicherung der LAS an einer C18-Festphase (1:1000)
- 2) Elution mit Methanol
- 3) Entfernen des Elutionsmittels
- 4) Aufnahme des Trockenrückstandes in Methanol

5) Bestimmung mit der Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC) mit UV-Detektion

5) Reagenzien und Materialien

Acetonitril, gradient grade (z.B. Merck 30)
Methanol, gradient grade (z.B. Merck 6007)
Dodecylbenzolsulfonsäure Natriumsalz 80-85 % (Fluka 44200)
Formaldehydlösung mind. 37 %, p.A. (z.B. Merck 4003)
Natriumperchlorat-Monohydrat $\text{NaClO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, p.A. (z.B. Merck 6564)
Reinstwasser (z.B. hergestellt mit Milli-Q-Plus)
Festphasenextraktionssäule Isolute C18(EC), 1 g (IST 221-0100-C)
HPLC-Vorsäule: Reversed-Phase, 75 mm x 2.1 mm ID (Chrompack 28603)
HPLC-Trennsäule: ChromSpher C8, 5 μm , 250 mm x 4.6 mm ID
(Chrompack 28503)

6) Geräte

Reinstwasseraufbereitungssystem Milli-Q-plus (Millipore)
Automatisches Festphasenextraktionssystem AutoTrace SPE Workstation (Zymark)
Rotationsvakuumkonzentrator Alpha RVC (Christ)
HPLC-System (Waters):

- Delta Prep 4000
- Autosampler 717
- Tunable Absorbance Detector 486
- System Controller 4000
- Gerätesteuer- und Auswertesoftware Maxima 825

7) Probenkonservierung

1000 ml unfiltrierte Probe werden mit 10 ml Formaldehydlösung stabilisiert.
Die Probe wird bei 4° C aufbewahrt.

8) Durchführung

8.1) Probenvorbereitung

Die Extraktion der LAS wird mit dem automatischen Festphasenextraktionssystem AutoTrace SPE Workstation (Zymark) durchgeführt.
Während des gesamten Vorgangs darf die Isolute-C18(EC)-Festphasenextraktionssäule nicht trockenlaufen!

8.1.1) Vorbehandlung der C18-Festphasenextraktionssäule

Die C18-Säule wird 2 x mit je 10 ml Methanol und 2 x mit je 10 ml Reinstwasser bei einem Fluß von 4 ml/min. gereinigt und aktiviert.

8.1.2) Extraktion und Anreicherung

1000 ml stabilisierte Probe werden mit einem Fluß von 4 ml/min. über die C18-Säule gepumpt.

Die Säule wird mit 10 ml Reinstwasser und anschließend mit 3 ml Reinstwasser/Methanol (70/30 V/V) beim selben Fluß nachgewaschen. Dann wird sie 15 min. im Stickstoffstrom getrocknet.

8.1.3) Elution und Aufnahme in Methanol

Die LAS werden mit 4 ml (3.5 ml + 0.5 ml) Methanol bei einem Fluß von 1 ml/min. eluiert. Danach wird das Lösemittel im Rotationsvakuumkonzentrator (Druck: 10 mbar, Temperatur: 40° C) entfernt und der Trockenrückstand in 1 ml Methanol aufgenommen (= Probenextrakt).

8.2) Analyse

Vorsäule: Reversed-Phase, 75 mm x 2.1 mm ID (Chrompack 28603)

Trennsäule: ChromSpher C8, 5 µm, 250 mm x 4.6 mm ID (Chrompack 28503)

Gradientenelution: Linearer Gradient

Zeit (min.)	0.15 M NaClO ₄ .H ₂ O in Wasser	0.15 M NaClO ₄ .H ₂ O in Acetonitril/Wasser (70/30 V/V)
0,0	30	70
25,0	10	90
35,0	30	70
40,0	30	70

Flußrate: 1 ml/min.

Injektionsvolumen: 50 µl Probenextrakt

Detektion: UV bei 230 nm

8.3) Kalibrierung

Die Kalibrierung erfolgt mit externen Standards auf der Gerätesoftware. Als Referenzsubstanz wird Natriumdodecylbenzolsulfonat verwendet, eine Mischung von LAS-Homologen. Für die Kalibrierung wird die Gesamtfläche dieser Homologen herangezogen. Die Ergebnisse werden mit dem Anreicherungsschritt von 1:1000 sowie mit der mittleren Wiederfindungsrate korrigiert.

- Arbeitsbereich: 10 - 100 µg/l
- Kalibrierpunkte: 5
- Bezugsfunktion: linear
- Meßwert: Peakfläche

8.3.1) Herstellen der Stammlösung

1 g Natriumdodecylbenzolsulfonat wird eingewogen, 1 ml Formaldehydlösung dazugegeben und mit Reinstwasser auf 100 ml aufgefüllt.
Diese Stammlösung enthält 10 g LAS / l Reinstwasser

8.3.2) Herstellung der Kalibrierlösungen

In je einem 100 ml Meßkolben werden je 100 µl, 200 µl, 500 µl, 750 µl und 1 ml der Stammlösung mit Methanol auf 100 ml verdünnt.

Diese Kalibrierlösungen enthalten 10 mg, 20 mg, 50 mg, 75 mg und 100 mg LAS / l Methanol.

Beim vorliegenden Anreicherungs-schritt von 1:1000 entsprechen sie 10 µg, 20 µg, 50 µg, 75 µg und 100 µg LAS / l Wasserprobe.

8.3.3) Bestimmung der mittleren Wiederfindungsrate

Für die Ermittlung der Wiederfindungsraten werden 1000 ml Leitungswasser mit LAS-Gehalten von 10 µg - 100 µg versetzt. Es werden je 2 Zumischproben mit einer LAS-Konzentration von 100 µg/l, 90 µg/l, 75 µg/l, 60 µg/l, 50 µg/l, 40 µg/l und 20 µg/l sowie eine Zumischprobe mit einer LAS-Konzentration von 10 µg/l nach der Arbeitsvorschrift analysiert und der Gehalt an LAS bestimmt.

Die mittlere Wiederfindungsrate (MWFR) wird aus den Wiederfindungsraten der 15 Zumischungen bestimmt.

	MWFR %	(+/- s %)
LAS	97.6	(3.9)

MWFR % = mittlere Wiederfindungsrate aus 15 Meßwerten in %

+/- s % = Standardabweichung in %

9) Qualitätssichernde Maßnahmen

9.1) Grundvalidierung

Die Grundvalidierung wird erstellt, indem je 4 Kalibrierlösungen mit einer LAS-Konzentration von 10 mg/l und 100 mg/l sowie je 2 Kalibrierlösungen mit einem LAS-Gehalt von 20 mg/l, 40 mg/l, 50 mg/l, 60 mg/l, 75 mg/l und 90 mg/l mit der HPLC analysiert werden und die Daten zur Ermittlung der Verfahrenskenndaten in die Qualitätssicherungssoftware ValiData eingegeben werden.

9.1.1) Verfahrenskenndaten

Kenndaten der Grundkalibrierung			
Arbeitsbereich: 10µg/l bis 100µg/l			
Kalibrierfunktion 1. Grades ($y = a + bx$)			
Steigung		10243	Fl. / (µg/l)
VB(Steigung)	10129	10357	Fl. / (µg/l)
Achsenabschnitt		-1281	Fl.
VB(Achsenabschnitt)	-8673	6111	Fl.
Reststandardabweichung		8131	Fl.
Verfahrensstandardabweichung		0.79	µg/l
rel. Verfahrensstandardabweichung		1.43	%
Nachweisgrenze (nach DIN32645 Vorentwurf Dezember 1991)			
Nachweisgrenze		1.14	µg/l
VB Nachweisgrenze	0.86	1.69	µg/l
Bestimmungsgrenze		4.10	µg/l
VB Bestimmungsgrenze	3.10	6.06	µg/l

Errechnet mit Hilfe des Excel-Makros „ValiData“ von Ch. Rohrer und W. Wegscheider © 1993

9.2) Kontrollmessungen

9.2.1) Kalibrierung

Die aktuelle Kalibrationskurve, die bei jeder HPLC-Analysenserie auf der Gerätesoftware erstellt wird, wird mit der Kalibrierfunktion der Grundvalidierung verglichen. Es wird überprüft, ob die Steigung und der Achsenabschnitt der aktuellen Kalibrationskurve innerhalb der aus der Grundvalidierung erhaltenen Vertrauensbereiche liegen.

Nach Servicearbeiten an der HPLC und nach einem Säulenwechsel wird eine aktuelle Kalibrationskurve aus 8 Kalibrierlösungen mit LAS-Gehalten wie bei der Grundvalidierung (8 verschiedene Konzentrationsstufen) erstellt und in derselben Weise mit der Kalibrierfunktion der Grundvalidierung verglichen.

9.2.2) Blindproben

Zur Überprüfung der eingesetzten Reagenzien, Materialien und Geräte werden vor jeder Meßserie mindestens 2 Blindwerte und während einer Meßserie nach jeweils 10 Proben, sowie beim Einsatz einer neuen Charge von Festphasenextraktionssäulen mindestens ein Blindwert bestimmt. Dafür werden 1000 ml Leitungswasser nach der Arbeitsvorschrift analysiert.

9.2.3) Wiederfindungsproben

Während einer Meßserie nach jeweils 10 Proben sowie beim Einsatz einer neuen Charge von Festphasenextraktionssäulen wird die Wiederfindungsrate durch Analyse von mindestens einer Zumischprobe kontrolliert.

9.2.4) Doppelbestimmungen

Proben, deren Gehalt an LAS über der Bestimmungsgrenze liegt, werden ein zweites Mal aufgearbeitet und analysiert (Doppelbestimmung).

Abbildung 2: HPLC-Chromatogramm einer LAS-Kalibrierlösung (50 µg/l)

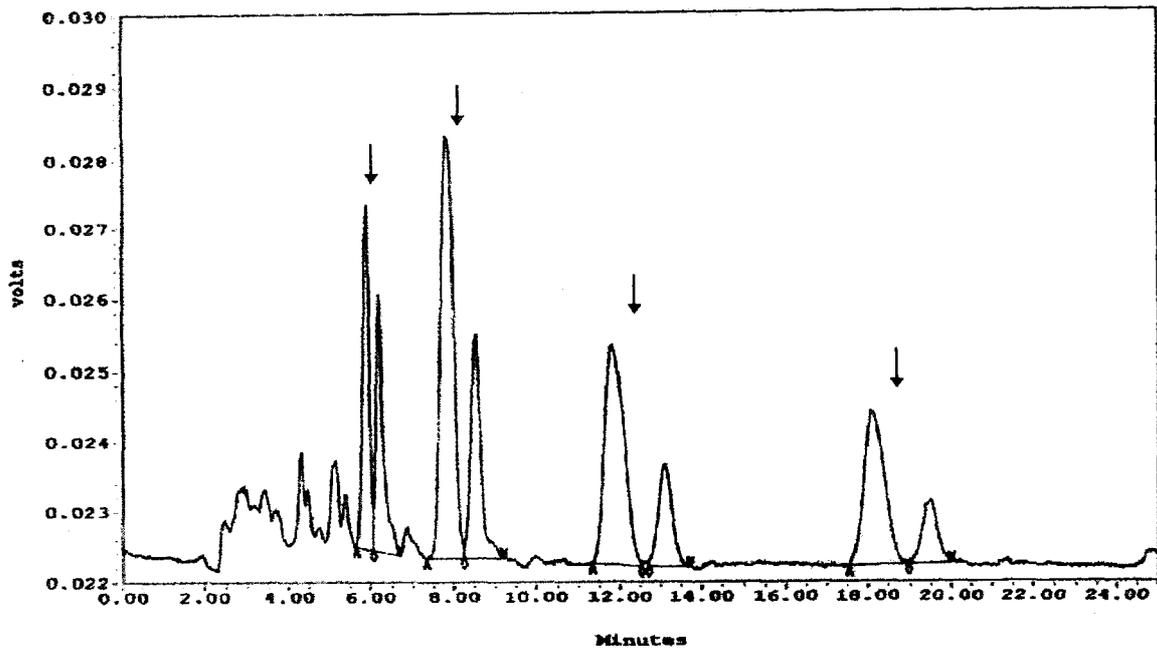
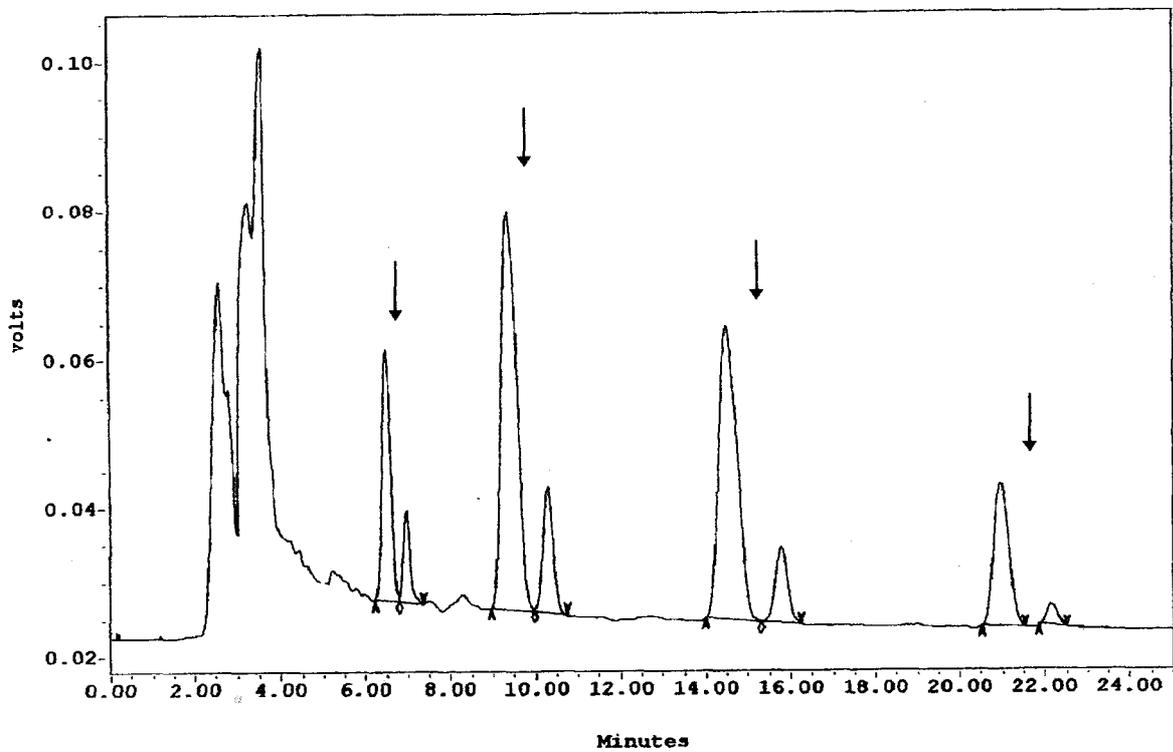


Abbildung 3: HPLC-Chromatogramm einer belasteten Oberflächenwasserprobe



B. Langfristige Kontrolle der Wiederfindungsrate

Bei der Erhebung der Wassergüte in Österreich wurden im Auftrag des Bundesministeriums für Land- und Forstwirtschaft LAS in ca. 520 Oberflächenwasserproben mit dieser Analysenmethode bestimmt.

Aufgrund der Vorgaben der im Umweltbundesamt angewandten analytischen Qualitätssicherung wurde während einer Meßserie nach jeweils 10 Proben sowie beim Einsatz einer neuen Charge von Festphasenextraktionssäulen die Wiederfindungsrate durch Analyse von mindestens einer Zumischprobe kontrolliert. Über einen Zeitraum von mehr als einem Jahr wurden daher im Laufe dieser Analysen zur Kontrolle 169 Wiederfindungsproben analysiert. Die dotierten LAS-Mengen variierten von 10 - 100 µg/l Wasser.

Die mittleren Wiederfindungsraten bei den verschiedenen Konzentrationsstufen betragen 98.6 % bis 101 %.

Die mittlere Wiederfindungsrate, die aus allen 169 Zumischproben errechnet wurde, war 99.7 % (+/- 5.56 % relative Standardabweichung).

Mittlere Wiederfindungsraten bei der Bestimmung von LAS in Oberflächenwasserproben mit automatischer Festphasenextraktion und HPLC mit UV-Detektion			
Dotierte LAS-Konzentration (µg/l)	Anzahl Wiederfindungsproben	Mittlere Wiederfindungsrate (%)	Relative Standardabweichung (%)
10	23	101	5.54
20	25	99.7	4.88
40	22	101	6.82
50	21	100	6.97
60	16	99.2	6.12
75	22	98.7	4.13
90	19	98.6	4.37
100	21	99.1	4.51
Gesamt	169	99.7	5.56