

Aus dem Institut für Arbeitsmedizin
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster
Direktorin: Univ.-Prof. Dr. Ute Witting

Entwicklung und Validierung einer neuen Messmethode zur Bestimmung von
Formaldehyd in der Luft

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung des doctor medicinae dentium

der Medizinischen Fakultät
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

vorgelegt von
Mündelein, Ina Maria
aus Datteln
2006

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Westfälischen
Wilhelms-Universität Münster

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Heribert Jürgens

1. Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Ute Witting

2. Berichterstatter: Prof. Dr. W. Mathys

Tag der mündlichen Prüfung: 11. Oktober 2006

Aus dem Institut für Arbeitsmedizin
der Westfälischen-Wilhelms-Universität Münster
(Direktorin: Univ.-Prof. Dr. med. Ute Witting)
Referent: Univ.-Prof. Dr. med. Ute Witting
Koreferent: Prof. Dr. W. Mathys

Zusammenfassung
Entwicklung und Validierung einer neuen Messmethode zur Bestimmung von
Formaldehyd in der Luft
Ina Maria Mündelein

Die aktuellen Standardverfahren zur Bestimmung von Formaldehyd in der Luft basieren auf der Derivatisierung der Carbonylverbindung mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin (2,4-DNPH) und nachfolgender hochdruckflüssigchromatographischer Trennung mit UV-Detektion. Ziel dieser Arbeit war es, eine neue Messmethode zur quantitativen Erfassung von Formaldehyd zu entwickeln, mit dem etablierten Standardverfahren zu vergleichen und in einem Feldversuch zu erproben.

Hierzu stand ein neu synthetisiertes Derivatisierungsreagenz zur Verfügung. Das neue Reagenz 4-Methoxy-6-(4-methoxy-1-naphthyl)-1,3,5-triazin-2-hydrazin (MMNTH) trägt an einem zentralen Triazinring eine reaktive Hydrazingruppe, eine detektierbare Methoxynaphthylgruppe und eine die Löslichkeit und die chromatographischen Eigenschaften beeinflussende Methoxygruppe.

Es konnte gezeigt werden, dass MMNTH ein effektives Reagenz zur Derivatisierung von Formaldehyd ist. Ein hochdruckflüssigchromatographisches Verfahren wurde entwickelt, mit dem das entstehende Hydrazon getrennt und sowohl UV- als auch fluoreszenzspektrometrisch detektiert werden kann.

Bei der Validierung des neuen Messverfahrens im Vergleich zur etablierten 2,4-DNPH-Methode zeigte sich, dass die Quantifizierung von Formaldehyd mit vergleichbaren Qualitätskriterien gelingt.

In einer Feldstudie in einem Institut für Pathologie wurde belegt, dass beide Verfahren vergleichbare Messergebnisse liefern.

Wesentliche Vorteile der neuen Methode sind UV- und Fluoreszenzaktivität der Derivate sowie die identische UV-Absorptionswellenlänge unabhängig vom derivatisierten Analyten. Mit der MMNTH-Methode steht eine neue sensible Messmethode zur Bestimmung von Formaldehyd (und anderen Carbonylverbindungen) in der Luft zur Verfügung, die alle Anforderungen an ein Analysenverfahren zur Überwachung arbeitsbedingter Expositionen erfüllt.

Tag der mündlichen Prüfung: 11. Oktober 2006

Diese Arbeit ist meinen Eltern Anne und Matthias Mündelein und meinem Opa
Dr. med. dent. Josef Mündelein gewidmet.

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG	1
2	MATERIAL UND METHODEN	4
2.1	Die 2,4-Dinitrophenylhydrazin-Methode (2,4-DNPH-Methode)	4
2.2	Die 4-Methoxy-6-(4-methoxy-1-naphthyl)-1,3,5,-triazin-2-hydrazin- (MMNTH)-Methode	5
2.3	Geräte und Reagenzien	7
2.3.1	Herstellung der 2,4-DNPH-Sammelphase	8
2.3.2	Herstellung der 2,4-DNPH-Probenahmeröhrchen	9
2.3.3	Synthese von MMNTH und Herstellung der Sammelphase	10
2.3.4	Herstellung der MMNTH-Probenahmeröhrchen	14
2.4	Probenahme und Aufarbeitung	14
2.4.1	Probenahme bei Kalibrationen und zur Bestimmung der Qualitätskriterien	15
2.5	Hochdruckflüssigchromatographische Analyse	16
2.5.1	Chromatographische Bedingungen und Detektionsmethoden	16
2.6	Qualitätskriterien	18
2.6.1	Kalibration	18
2.6.2	Ermittlung der Nachweis- und Bestimmungsgrenze	18
2.6.3	Bestimmung der Standardabweichung	19
2.6.4	Ermittlung der Kapazität der Probenahmeröhrchen	19
2.6.5	Ermittlung der Wiederfindungsrate	20
2.6.6	Lagerungsfähigkeit der Proben	20
3	ERGEBNISSE	21

3.1	Hochdruckflüssigchromatographische Trennung	21
3.2	Kalibration	23
3.3	Analytische Validität und Qualitätskriterien für die 2,4-DNPH-Methode	26
3.3.1	Nachweisgrenze	26
3.3.2	Kapazität	26
3.3.3	Wiederfindungsrate	26
3.3.4	Standardabweichung	26
3.3.5	Lagerungsfähigkeit	27
3.4	Analytische Validität und Qualitätskriterien für die MMNTH-Methode	27
3.4.1	Nachweisgrenze	27
3.4.2	Bestimmungsgrenze	28
3.4.3	Kapazität	28
3.4.4	Wiederfindungsrate	28
3.4.5	Standardabweichung	29
3.4.6	Lagerungsfähigkeit	30
3.5	Vergleichsmessungen zur Formaldehydbelastung in der Pathologie	30
3.5.1	Probenahmeverfahren	30
3.5.2	Arbeitsbereichanalyse	32
3.5.3	Ermittlung der Formaldehydkonzentration in der Raumluft durch stationäre Messungen	35
3.5.4	Ermittlung der Formaldehydkonzentration in der Raumluft durch personenbezogene Messungen	36
3.5.5	Abweichungen der Messwerte	40
4	DISKUSSION	42

4.1	Chemische und physikalische Eigenschaften von Formaldehyd	42
4.2	Produktion und industrielle Bedeutung von Formaldehyd	43
4.3	Verwendung in medizinischen Einrichtungen	43
4.3.1	Formaldehydbelastung in der Pathologie	45
4.3.2	Alternativen zur Anwendung von Formaldehyd in medizinischen Einrichtungen	45
4.4	Gesundheitliche Gefährdung durch Formaldehyd	49
4.4.1	Aufnahme von Formaldehyd in den Körper	49
4.4.2	Toxizität	49
4.4.3	Karzinogenität	50
4.5	Anforderungen an Messverfahren für Luftmessungen	54
4.5.1	Kurzzeitwerte	55
4.5.2	Analytische Methoden zur Bestimmung von Aldehyden und Ketonen in der Luft	56
4.5.3	Entwicklung einer neuen hochdruckflüssigkeitschromatographischen Methode zur Bestimmung von Aldehyden und Ketonen	61
4.5.4	Vergleich der 2,4-DNPH- mit der MMNTH-Methode	64
5	ZUSAMMENFASSUNG	67
6	LITERATURVERZEICHNIS	68
7	LEBENS LAUF	77
8	DANKSAGUNGEN	78

1 Einleitung

Formaldehyd ist die industriell am häufigsten genutzte Carbonylverbindung (SRI International 1984) und wird als Grundchemikalie für die Synthese von Kunststoffen, Kunstharzen, Klebstoffen, Farbstoffen, Dünge- und Pflanzenschutzmitteln bis hin zu Sprengstoffen genutzt. Er findet aber auch in medizinischen Einrichtungen breite Anwendung. So wird er zum Beispiel als Desinfektionsmittel (zentrale Bettendesinfektion, Instrumentendesinfektion, Flächendesinfektion) und als Mittel zur Fixierung von Präparaten sowohl in der Anatomie als auch in der Pathologie verwendet (Binding 1999, Kellner et al. 2003, Just 2003, Heger 2003). Neben einem breiten bakteriziden Wirkspektrum bietet Formaldehyd eine zuverlässige sporozide, fungizide und auch viruzide Wirkung, ist materialschonend, auch gasförmig einsetzbar und hat aus ökologischer Sicht den Vorteil einer guten und schnellen Abbaubarkeit (Just 2003).

Formaldehyd hat einen unangenehmen stechenden Geruch und kann bereits in niedrigen Luftkonzentrationen deutlich unter 1 ml/m^3 zu Belästigungen, Befindlichkeitsstörungen und reversiblen Schleimhautreizungen führen. Darüber hinaus wirkt Formaldehyd ätzend, weist ein sensibilisierendes Potential auf und kann zu Kontakt-Dermatitiden führen (Waldinger und Jäneke 2003).

Von besonderer Bedeutung und seit Beginn der 80er Jahre auch Gegenstand einer breiten öffentlichen Diskussion ist ein mögliches krebserzeugendes Potential von Formaldehyd. Die bisher vorliegenden Studien legen zumindest den Verdacht auf krebserzeugende Wirkung nahe. Daher wurde Formaldehyd in die Kanzerogenitäts-Kategorie K3 eingestuft ist (GefStoffV 2004).

In Kenntnis dieser gesundheitsgefährdenden Wirkungen von Formaldehyd muss es daher vorrangiges Ziel sein, den Gesundheitsschutz bei möglicher Formaldehydexposition zu gewährleisten. Im Rahmen des präventiven Auftrags von Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin ist es deshalb unerlässlich, Formaldehydexpositionen am Arbeitsplatz quantitativ zu erfassen und zu beurteilen, um

gesundheitsgefährdende Bedingungen möglichst rechtzeitig zu erkennen und Interventionsstrategien zum Schutz der Beschäftigten zu erarbeiten.

Zur Vermeidung von gesundheitsschädigenden Formaldehydkonzentrationen in der Luft wurde der Luftgrenzwert am Arbeitsplatz (Arbeitsplatzgrenzwert, früher: MAK-Wert) auf $0,5 \text{ ml/m}^3$ festgelegt (TRGS 900, 2000), dessen Einhaltung durch regelmäßige Kontrollmessungen überwacht werden muss (TRGS 402, 1997). Dazu ist es unerlässlich, sensitive und spezifische analytische Methoden einzusetzen.

Diesen Anforderungen wird derzeit die von Binding und Mitarbeitern (1986) entwickelte Methode zur Messung von Formaldehyd in der Luft gerecht, bei der Formaldehyd mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin (2,4-DNPH) derivatisiert, hochdruckflüssigchromatographisch getrennt und UV-photometrisch detektiert wird. Die 2,4-DNPH-Methode ist heute die Standardmethode zur Quantifizierung von Carbonylverbindungen. Sie ist geeignet, auch andere flüchtige Carbonylverbindungen in der Luft zu erfassen und zu quantifizieren, weist aber den Nachteil auf, dass die UV-Absorptionswellenlänge der Derivate vom jeweils derivatisierten Analyten abhängen, da sich elektronische Einflüsse der Analyten auf die chromophore Dinitrophenylgruppe des Derivatisierungsreagenzes übertragen.

Der Bedarf für neue, verbesserte Analysenverfahren für Formaldehyd und andere Carbonylverbindungen ist damit augenscheinlich. Daher wurde, basierend auf der Idee, die chromophore Gruppe des Reagenzes gegen elektronische Einflüsse der derivatisierten Analyten zu schützen (Kempter et al. 2000), die Grundstruktur eines neuen, modular aufgebauten Derivatisierungsreagenzes entworfen und 4-Methoxy-6-(4-methoxy-1-naphthyl)-1,3,5,-triazin-2-hydrazin (MMNTH) als Vertreter dieser neuen Reagenziengruppe synthetisiert (Binding und Kläning 2001).

Ziel dieser Arbeit war

- die Überprüfung der Eignung des Reagenzes für die Derivatisierung von Formaldehyd und anderen Carbonylverbindungen

- die Entwicklung einer entsprechenden hochdruckflüssigchromatographischen Analysenmethode mit UV- und Fluoreszenzdetektion
- die Evaluierung und Validierung der Methode im Rahmen der Qualitätssicherung im Vergleich zur etablierten 2,4-DNPH-Methode
- die Erprobung der neuen Analysenmethode in Felduntersuchungen.

2 Material und Methoden

2.1 Die 2,4-Dinitrophenylhydrazin-Methode (2,4-DNPH-Methode)

Die 2,4-Dinitrophenylhydrazin-Methode ist ein weltweit anerkanntes Standardverfahren für die Bestimmung von Aldehyden und Ketonen mit Hilfe der HPLC (High Performance Liquid Chromatography).

Die zu analysierenden Carbonylverbindungen werden durch 2,4-Dinitrophenylhydrazin (2,4-DNPH) im sauren Medium zu den entsprechenden Hydrazonen nach folgender Reaktionsgleichung derivatisiert (Abb. 1).

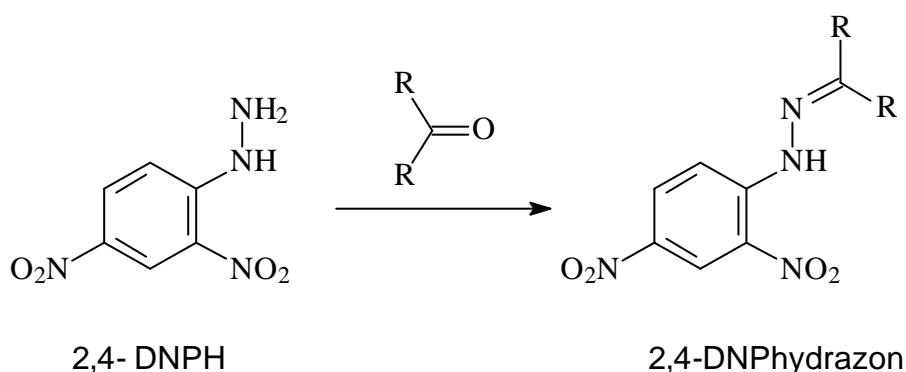


Abb. 1: Derivatisierung von Carbonylverbindungen mit 2,4-DNPH

Die entstandenen Hydrazone werden mittels C18-Umkehrphasen-HPLC unter Verwendung binärer mobiler Phasen aus Acetonitril und Wasser getrennt und anschließend UV-spektrometrisch detektiert.

Für die Probenahme wird die zu analysierende Luft durch ein ca. 10 cm langes Probenahmeröhrchen (Abb. 2) mit einem Durchmesser von 0,4 cm gepumpt, das mit 2,4-DNPH beschichtetes Chromosorb P als Sammelphase und als

Backup-Schicht enthält. Schon während der Probenahme wird Formaldehyd mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin zu einem stabilen Hydrazon derivatisiert.

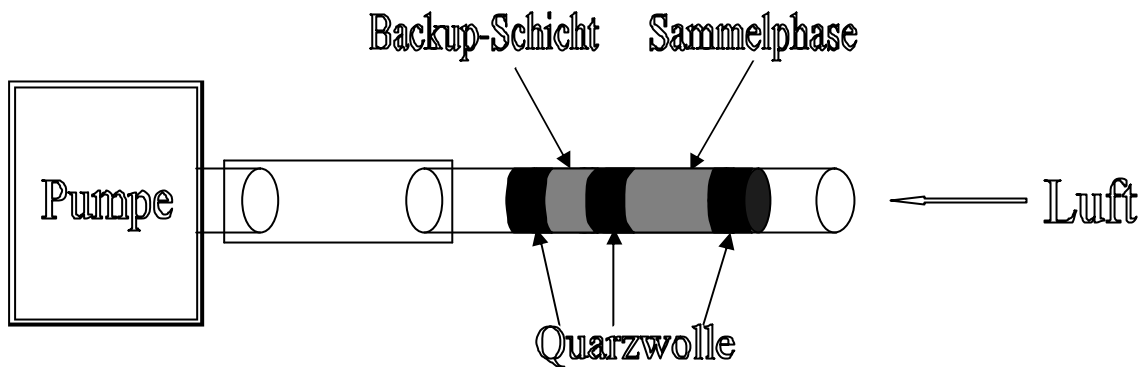


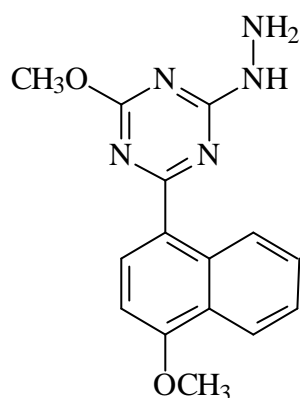
Abb. 2.: Aufbau des Probenahmeröhrchens

Nach der Probennahme wird das gebildete Formaldehyd-2,4-dinitrophenylhydrazon mit Acetonitril desorbiert und mit Hilfe der Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) mit UV-Detektion bei 341 nm analysiert. Über eine Kalibrationskurve kann die Konzentration des Formaldehyds in der Probenluft quantitativ bestimmt werden.

2.2 Die 4-Methoxy-6-(4-methoxy-1-naphthyl)-1,3,5,-triazin-2-hydrazin-(MMNTH)-Methode

4-Methoxy-6-(4-methoxy-1-naphthyl)-1,3,5,-triazin-2-hydrazin (MMNTH) ist ein neues, modular aufgebautes Derivatisierungsreagenz mit einer polaritätsmodifizierenden Methoxygruppe, einer die Detektionseigenschaften bestimmenden 4-Methoxynaphthylgruppe und einer reaktiven Hydrazingruppe (Abb. 3). Carbonylverbindungen reagieren mit der Hydrazingruppe, ebenfalls schon während der Probenahme, zu den entsprechenden Hydrazonen (Abb. 4). Wie 2,4-DNPH kann auch MMNTH auf Chromosorb P (Trägermaterial) aufgebracht werden, das dann als Sammelfase eines Probenahmeröhrchens verwendet wird. Die Derivatisierung der Carbonylverbindungen erfolgt auch hier bereits während der

Probenahme. Ein wesentlicher Vorteil der MMNTHydrazone ist ihre Fluoreszenzaktivität. Im Unterschied zu 2,4-DNPhydrazonen kann die Detektion nach hochdruckflüssigchromatographischer Trennung sowohl UV- als auch fluoreszenzspektrometrisch erfolgen. Die Quantifizierung erfolgt anhand entsprechender Kalibrationskurven.



MMNTH

Abb. 3: 4-Methoxy-6-(4-methoxy-1-naphthyl)-1,3,5,-triazin-2-hydrazin (MMNTH)

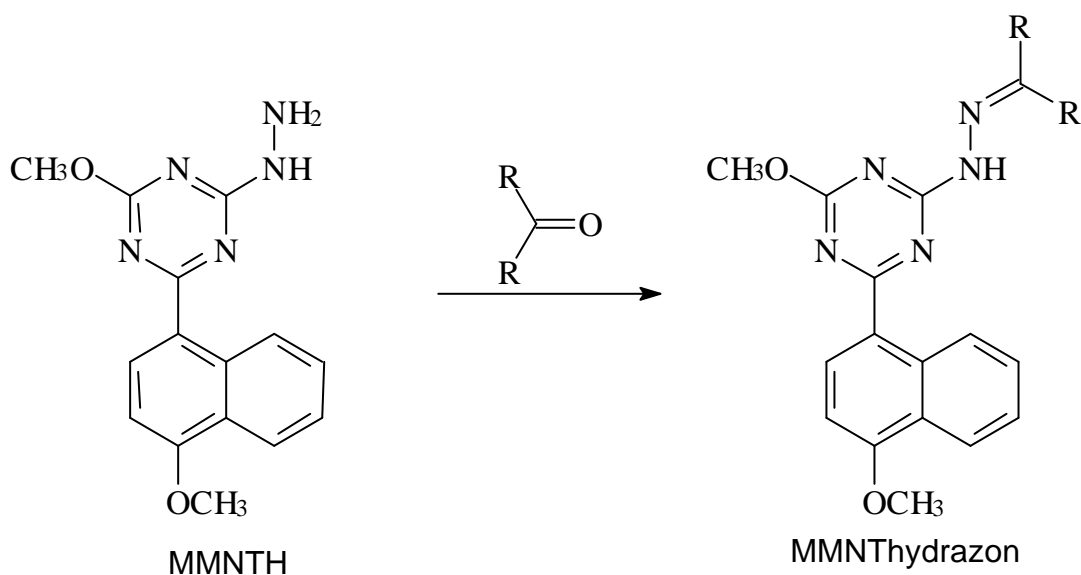


Abb. 4: Derivatisierung von Carbonylverbindungen mit MMNTH

2.3 Geräte und Reagenzien

Hochdruckflüssigchromatographie:

Pumpen: System Gold HPLC Programmable Solvent Module 126 (Beckman Coulter)

UV-Detektor: System Gold 168 Detector (Beckman Coulter)

Fluoreszenzdetektor: 1046A Programmable Fluorescence Detector (Agilent Technologies)

Software: Pumpensteuerung und UV-Detektion: 32 Karat Software (Beckman Coulter);

Fluoreszenzdetektion: ChemStation (Agilent Technologies)

Probenahme und Probenaufbereitung

Probenahmepumpen: Intrinsically Safe Portable Air Sampling Pump; Modell: ALPHA 1 (DEHA Hahn und Wittmer)

Rotameter: 0,4-4 l/min und 0-10 ml/min (DEHA Hahn und Wittmer)

Zentrifuge: Labofuge GL (Heraeus Christ)

Vortex Genie (Scientific Industry)

Ermittlung der spektroskopischen Daten

¹H-NMR Spektrometer: AC 200 Spektrometer (Bruker, 200.13 MHz),

FT-IR Spektrometer: IFS48 Spektrometer (Bruker),

Fluoreszenzspektrometer: RF-5301 PC Spektrofluorophotometer (Shimadzu)

Massenspektrometer: MAT 212 Instrument (Varian).

Reagenzien und Chemikalien:

Alle Reagenzien und Chemikalien stammen, wenn nicht anders angegeben, von Sigma-Aldrich, und wurden in p.a. Qualität verwendet.

Salzsäure 35 %

Chromosorb P 60/80 mesh

2,4-Dinitrophenylhydrazin (Fluka)

N,N-Dimethylformamid (Merck)

Cyanurchlorid

Toluol (Merck)

Aluminiumchlorid

1-Methoxynaphthalin

Natriummethanolat

Magnesiumsulfat

Acetonitril

Hydrazinhydrat (98%)

Formaldehyd (mind. 37% p.a.)

2.3.1 Herstellung der 2,4-DNPH-Sammelphase

Zur Herstellung der Sammelphase mischt man in einem 100 ml Rundkolben 12,5 g Chromosorb P 60/80 mesh mit 12,5 ml Salzsäure (6 n), bis eine gute Durchmischung erreicht ist.

Dann werden 5 g (16,4 mmol, 35% H₂O) 2,4-DNPH in einem 50 ml Rundkolben abgewogen, mit N,N-Dimethylformamid (DMF) auf 50 ml aufgefüllt und geschüttelt, bis alles vollständig gelöst ist. Die Lösung wird zu der Suspension aus Chromosorb und Salzsäure gegeben und das Gemisch alle 5-10 min geschüttelt.

Nach 30 min wird über einen Büchnertrichter abfiltriert, das noch feuchte beschichtete Chromosorb in einen Rundkolben gefüllt und am Rotationsverdampfer im Wasserstrahlvakuum getrocknet, bis es rieselfähig ist. Die verbleibende Restfeuchte ist wichtig für eine effiziente Probenahme.

Das fertige Adsorbens wird unter Lichtausschluss im Kühlschrank bei 4 °C gelagert.

2.3.2 Herstellung der 2,4-DNPH-Probenahmeröhrchen

Glasröhrchen mit einer Länge von 10 cm und einem Innendurchmesser von 0,4 cm werden mit 300 mg des mit 2,4-DNPH belegten Sorbens als Sammelphase und mit 100 mg als Kontrollphase (Backup) beschickt. Diese beiden Phasen werden mit Quarzwolle separiert und fixiert.

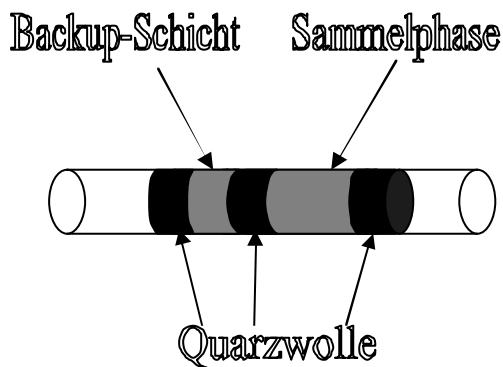


Abb. 5: Aufbau des Probenahmeröhrchens

2.3.3 Synthese von MMNTH und Herstellung der Sammelphase

4-Methoxy-6-(4-methoxy-1-naphthyl)-1,3,5,-triazin-2-hydrazin (MMNTH) ist ein neues Reagenz zur Derivatisierung von Carbonylverbindungen, das von einer Arbeitsgruppe des Instituts für Arbeitsmedizin der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster entworfen und synthetisiert wurde (Binding und Kläning 2001). Da die Synthese des Reagenzes bisher nicht publiziert wurde, wird sie an dieser Stelle ausführlich beschrieben. Ebenfalls aufgeführt sind die physikalisch-chemischen und spektroskopischen Daten des Reagenzes sowie des Formaldehyd-Derivates.

Synthese von MMNTH

2,4-Dichlor-6-(4-methoxy-1-naphthyl)-1,3,5-triazin (DMNT)

DMNT wurde nach einem Verfahren von Brückner und Strecker (1992) hergestellt.

9,3 g Cyanurchlorid (150 mmol) werden in 80 ml Toluol gelöst. Nach Abkühlen der Lösung im Eisbad auf 0-5 °C werden, 7,5 g (150 mmol) 1-Methoxynaphthalin zugegeben und 6,7 g (150 mmol) Aluminiumchlorid langsam unter Rühren zugefügt. Nach 15 Stunden wird der Niederschlag abfiltriert und mit Toluol dreimal gewaschen. Danach wird das Rohprodukt mit 250 ml 0,1 M HCl versetzt und die Suspension für zwei Stunden gerührt. Die ungelösten Bestandteile werden abfiltriert. Das Filtrat wird im Rotationsverdampfer zur Trockne eingeeengt. Das Produkt fällt als gelbes amorphes Pulver aus. Ausbeute (Rohprodukt): 31,5 g (68%)

2-Chlor-4-methoxy-6-(4-methoxy-1-naphthyl)-1,3,5-triazin (CMMNT)

25,0 g (81,67 mmol) DMNT werden in 750 ml Toluol gelöst. Unter Eisbadkühlung und ständigem Rühren werden 80 ml Natriummethanolat (1 M) langsam zugetropft. Danach wird auf Raumtemperatur erwärmt. Die Lösung wird 3 mal mit je 1 l Wasser ausgeschüttelt, über Magnesiumsulfat (MgSO₄) getrocknet, abfiltriert und am Rotationsverdampfer bis zur Trockne eingedampft.

Ausbeute: 21,22 g (86,4%)

4-Methoxy-6-(4-methoxy-1-naphthyl)-1,3,5-triazin-2-hydrazin (MMNTH)

In einen 1000 ml Kolben mit Rückflusskühler werden 50 ml Acetonitril mit 17,1 ml einer 98% Hydrazinhydrat-Lösung (entsprechend 16,6 g (331,7 mmol) Hydrazinhydrat) gemischt und 50 ml einer 1M NaHCO₃-Lösung zugegeben. Nach Erhitzen auf 85 °C wird eine Lösung von 20 g (66 mmol) CMMNT in 200 ml Acetonitril langsam zugetropft. Danach wird die Reaktionslösung für weitere 2-3 Stunden unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Nach Abkühlen der Lösung werden 800 ml Wasser zugegeben. Die Lösung wird für 48 h im Kühlschrank bei 5 °C aufbewahrt. Das dann auskristallisierte Rohprodukt wird abfiltriert, mit Wasser gewaschen und getrocknet. Das Rohprodukt wird anschließend in Portionen von 2 g in jeweils 15 ml Acetonitril gelöst und über eine Kieselgel 60 F254 -Säule (Länge 400 mm, Durchmesser 45 mm) aufgereinigt (Eluent Acetonitril). Die das Produkt enthaltenden Fraktionen werden am Rotationsverdampfer bis zur Trockne eingedampft.

Gesamtausbeute: 8,7 g (44,4 %)

Physikalisch-chemische und spektroskopische Daten

MMNTH: $^1\text{H-NMR}$ δ = 9.3 (m, 1H, Hf); 8.71, 8.66 (d, 1H, Ha); 8.36 (m, 1H, Hc); 7.74-7.52 (m, 2H, Hd,e); 6.91, 6.87 (d, 1H, Hb); 4.09 (s, 3H, OCH₃,arom.) ppm; MS m/z 297(M⁺, 100%), 281 (24%), 268 (8%), 224 (10%), 198 (7%), 184 (29%), 169 (17%), 155 (7%), 140(51%), 127 (6%), 114 (13%), 99 (23%), 83 (20%), 69 (37%), 57 (72%), 55 (44%); IR ν = 3304, 2950, 1562, 1511, 1470, 1426, 1395, 1364, 1344, 1320, 1270, 1246, 1209, 1160, 1094, 972, 813, 768, 716 cm^{-1} ; Anal. (C₁₅H₁₅N₅O₂) C 59.8 % (berechnet 60.5 %); H 5.4 % (berechnet 5.1 %); N 24.0 % (berechnet 23.5 %); Schmelzpunkt 126 °C.

Formaldehyd-MMNThydrazon

200 mg (0,672 mmol) MMNTH werden in 20 ml Acetonitril und 20 ml bidestilliertem Wasser gelöst. 108 μl einer 37%igen Formaldehydlösung (entsprechend 40,3 mg Formaldehyd, 1,344 mmol) werden zugegeben und die Lösung für eine Stunde gerührt. Unter weiterem Rühren werden 20 ml destilliertes Wasser langsam zugegeben. Anschließend wird das ausgefallene Produkt abfiltriert und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 195 mg (94%)

Physikalisch-chemische und spektroskopische Daten

Formaldehyde-MMNThydrazon: $^1\text{H-NMR}$ δ = 9.3 (m, 1H); 8.7-8.5 (m, 2H); 7.9-7.7 (m, 2H); 7.55 (s, 1H, NH); 7.25-7.1 (m, 1H); 4.3-4.1 (m, 6H, OCH₃ und OCH₃,arom.); 2.35 ppm; MS m/z 309 (M⁺, 100%), 281 (51%), 267 (32%), 251 (16%), 225 (25%), 209 (13%), 198 (17%), 183 (13%), 168 (13%), 155 (8%), 140 (53%), 127 (7%), 114 (12%), 111 (15%), 99 (6%), 83 (5%), 69 (11%), 57 (11%); IR ν = 3226, 2938, 1574, 1533, 1511, 1482, 1467, 1423, 1392, 1365, 1314, 1269, 1247, 1219, 1196, 1158, 1123, 1094, 1079, 1015, 950, 813, 768, 717, 667, 625, 513 cm^{-1} ; Anal. (C₁₆H₁₅N₅O₂) C 61.4 % (berechnet 62.1 %); H 5.2 (berechnet 4.9 %); N 22.8 % (berechnet 22.6 %); Schmelzpunkt 193 °C

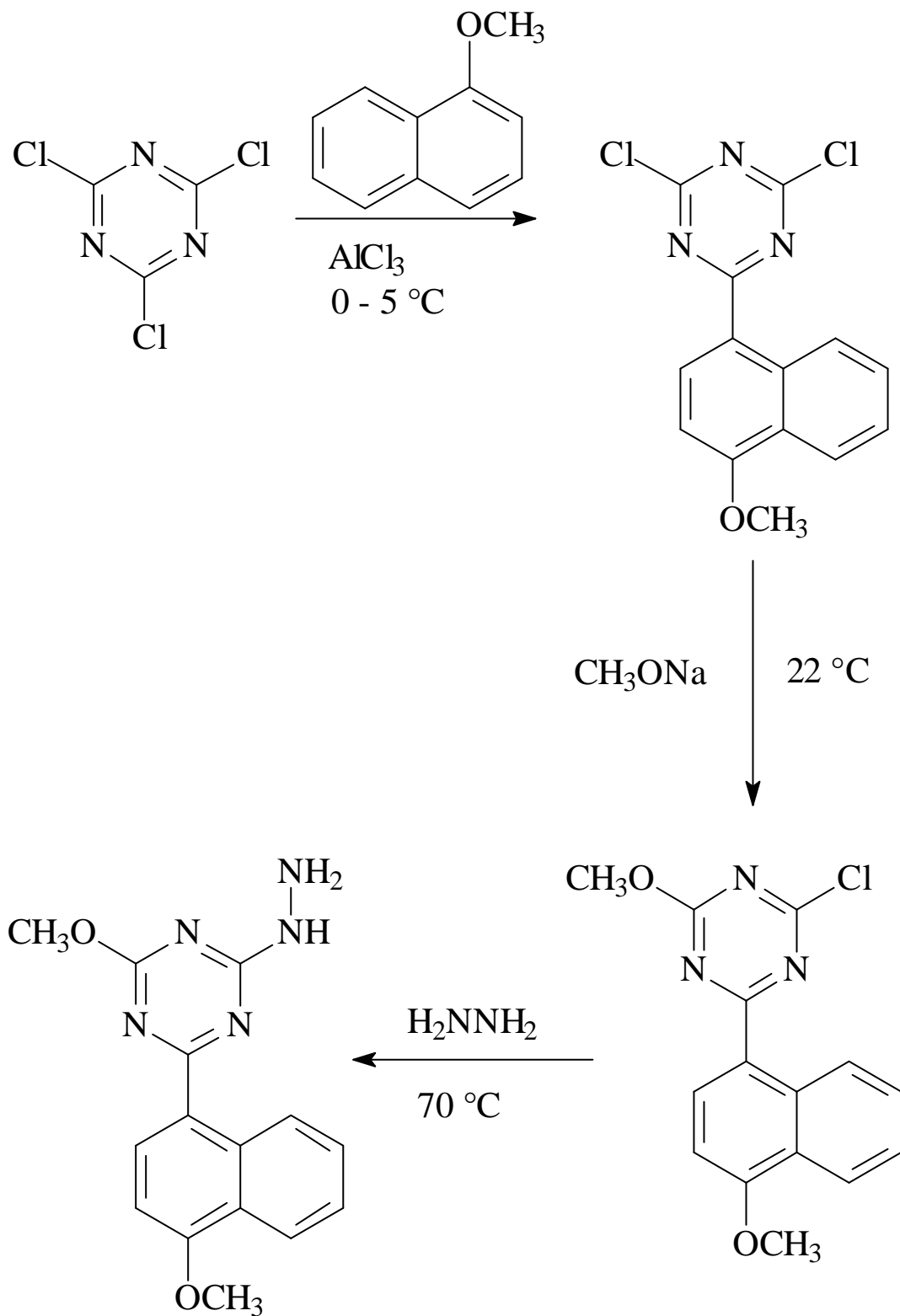


Abb. 6: Synthese von MMNTH

Herstellung der Sammelphase

300 mg MMNTH (1,01 mmol) werden in 180 ml Acetonitril gelöst, dann werden 6 ml 85%ige ortho-Phosphorsäure sowie 30 g Chromosorb P zugegeben. Man läßt das Gemisch für 30 min unter gelegentlichem Schütteln bei Raumtemperatur stehen.

Nach 30 min wird über einen Büchnertrichter abfiltriert, das noch feuchte beschichtete Chromosorb in einen Rundkolben gefüllt und am Rotationsverdampfer im Wasserstrahlvakuum getrocknet, bis es rieselfähig ist. Die verbleibende Restfeuchte ist wichtig für eine effiziente Probenahme.

Das fertige Adsorbens wird unter Lichtausschluss im Kühlschrank bei 4° C gelagert

2.3.4 Herstellung der MMNTH-Probenahmeröhrchen

Insgesamt werden 500 mg des mit MMNTH belegten Chromosorbs für ein Probenahmeröhrchen verwendet, 400 mg für die Sammelschicht und 100 mg für die Backup-Schicht. Analog zum 2,4-DNPH-Probenahmeröhrchen (vgl. Kapitel 2.3.2, Abb. 5) werden Sammel- und Backup-Schicht in ein Glasröhrchen mit einer Länge von 10 cm und einem Innendurchmesser von 0,4 cm gefüllt und durch Quarzwolle fixiert und voneinander getrennt.

2.4 Probenahme und Aufarbeitung

Die zu analysierende Luft wird mit Hilfe der kalibrierten Probenahmepumpen mit einem Volumenstrom von 800 ml/min durch das Probenahmeröhrchen gepumpt. Die Konstanz des Volumenstroms wird sowohl vor als auch nach den Probenahmen mit einem Rotameter kontrolliert. Direkt nach den Probenahmen werden die Röhrchen beidseits mit Parafilm verschlossen, um weitere Kontamination mit Formaldehyd bis zur Desorption auszuschließen.

Zur Desorption wird die Sammelschicht mit der Quarzwolle in ein Schraubdeckelglas überführt und mit 5 ml Acetonitril versetzt, verschlossen und gut geschüttelt. Danach werden die Schraubdeckelgläser bis zur Vervollständigung der Desorption ca. 2 h bei Raumtemperatur stehengelassen.

Ebenso wird mit der Backup-Phase verfahren, die zur Kontrolle eines möglichen Durchbruchs des Analyten durch die Sammelphase verwendet wird. Vor der hochdruckflüssigchromatographischen Analyse werden die Proben für fünf Minuten bei 5000 U/min zentrifugiert, um Schwebeteilchen abzusetzen. 1 ml der Desorptionslösung wird in ein Bördelgläschen überführt und zur Analyse verwendet.

2.4.1 Probenahme bei Kalibrationen und zur Bestimmung der Qualitätskriterien

Bei Kalibrationen und bei der Ermittlung von Qualitätskriterien für die MMNTH-Methode erfolgen die Probenahmen im Labor wie folgt:

Die MMNTH -Probenahmeröhrchen werden auf der einen Seite über einen Silikon Schlauch mit einer Probenahmepumpe und auf der anderen Seite über einen kurzen Silikon Schlauch mit einem leeren, zur Probenaufgabe dienenden Glasröhrchen verbunden. Dieses Probenaufgaberöhrchen wird in einem Aluminium-Heizblock auf 40 °C temperiert.

Definierte Volumina einer durch Titration geeichten Formaldehyd-Stammlösung ($c = 1,13 \mu\text{g/ml}$) werden mit einer Mikroliterspritze (SGE, 10 μl) in das Probenaufgaberöhrchen eingebracht. Mit einem Flow von 0,8 l/min wird dann für 15 min Luft durch die Röhrchen gepumpt. Die aufgegebenen Proben verdampfen während dieser Zeit.

Nach 15 min werden Sammel- und Backup-Phase in ein Schraubdeckel-Glas überführt und mit je 5 ml Acetonitril (Gradient Grade) versetzt.

Anschließend werden die Schraubdeckel-Gläser gut geschüttelt (Vortex Genie), für zwei Stunden zur Desorption stehengelassen und dann für fünf Minuten bei 5000 U/min zentrifugiert.

Von dem Überstand werden 1,5 ml abpipettiert und in ein Bördelgläschen überführt und hochdruckflüssigkeitschromatographisch analysiert.

2.5 Hochdruckflüssigchromatographische Analyse

2.5.1 Chromatographische Bedingungen und Detektionsmethoden

UV spektroskopische Eigenschaften des Formaldehyd- 2,4-dinitrophenylhydrazons

Formaldehyd-2,4-DNPHydrazon zeigt im UV-Spektrum (Lösungsmittel: Acetonitril) ein Absorptionsmaximum bei 341 nm. Diese Wellenlänge wird daher zur UV-Detektion verwendet.

Die hochdruckflüssigchromatographische Trennung wird mit einem Gradienten aus bidestill. Wasser (Laufmittel A) und Acetonitril (Laufmittel B) durchgeführt:

bis 2 min: 50% B

bis 8 min: auf 70% B

bis 10 min: 70% B

bis 16 min: auf 80% B

bis 17 min: 80% B

bis 18 min: auf 50% B

bis 20 min: 50% B

→ Stopp

Der Gesamtvolumenstrom des Laufmittelgemisches beträgt 0,65 ml/min, das Injektionsvolumen beträgt 6µl.

Die hochdruckflüssigkeitschromatographische Trennung erfolgt auf einer reversed phase Trennsäule (PRONTOSIL 200-5-C18 H 5.0 µm, 150 x 3,0 mm, Bischoff Chromatography).

UV-spektroskopische und fluoreszenzspektroskopische Eigenschaften des Formaldehyd-MMNTHydrazons:

Formaldehyd-MMNTHydrazon weist im UV-Spektrum (Lösungsmittel: Acetonitril) ein Absorptionsmaximum bei 325 nm auf. Diese Wellenlänge wird zur UV-Detektion verwendet.

Die Anregungs- und Emissionswellenlängen für die Fluoreszenzdetektion betragen 325 nm (Anregung) und 405 nm (Emission).

Die hochdruckflüssigkeitschromatographische Trennung wird mit einem Gradienten aus Laufmittel A (500 ml bidestill. Wasser, 2,42 ml Triethylamin, mit Essigsäure auf pH 5 eingestellt) und Acetonitril (Laufmittel B) durchgeführt:

bis 1,6 min: 38% B

bis 2,6 min: auf 30% B

bis 4,0 min: 30% B

bis 6,0 min: auf 45% B

bis 8,0 min: 45% B

bis 10,0 min auf 60% B

bis 11,0 min: 60% B

bis 18,0 min: auf 99% B

bis 21,0 min: 99% B

bis 24,0 min: auf 38% B

bis 26,0 min: 38% B

→ Stopp

Der Gesamtvolumenstrom des Laufmittelgemisches beträgt 0,60 ml/min, das Injektionsvolumen beträgt 6 µl.

Die hochdruckflüssigkeitschromatographische Trennung erfolgt auf einer reversed phase Trennsäule (PRONTOSIL 200-5-C18 H 5.0 µm, 150 x 3,0 mm, Bischoff Chromatography).

2.6 Qualitätskriterien

2.6.1 Kalibration

Nach der Festlegung des Arbeitsbereichs erfolgt die Wahl der Kalibrationspunkte, die äquidistant über den Arbeitsbereich verteilt liegen sollten. Die Konzentrationen der Kalibrationslösungen werden dann gegen die Peakfläche aufgetragen. Aus der die Streuung der Kalibrationspunkte um die Ausgleichsgerade ergeben sich die analytischen Grenzwerte nach DIN 32645 und der Vertrauensbereich nach DIN 38402.

2.6.2 Ermittlung der Nachweis- und Bestimmungsgrenze

Mit Hilfe eines Computerprogramms zur statistischen Auswertung von Kalibrationsdaten nach DIN 32645 (B.E.N. Version 2.0) werden die Nachweis- und die Bestimmungsgrenze nach folgenden Formeln ermittelt:

$$\text{Bestimmungsgrenze: } X_{BG} = k \cdot S_{X0} \cdot t_{f,\alpha} \cdot \sqrt{\frac{1}{m} + \frac{1}{n} + \frac{(X_{BG} - \bar{X})^2}{Q_x}}$$

$$\text{Nachweisgrenze: } X_{NG} = S_{X0} \cdot t_{f,\alpha} \cdot \sqrt{\frac{1}{m} + \frac{1}{n} + \frac{\bar{X}^2}{Q_x}}$$

Die Nachweisgrenze stellt (nach DIN 32645) den kleinsten Messwert dar, der mit einer vorgegebenen Sicherheit vom Blindwert zu unterscheiden ist. Besitzt eine Probe genau diesen Gehalt des Analyten, so wird in 50% der Fälle der konkrete Messwert kleiner als die Nachweisgrenze sein (Beta-Fehler = 50%). Erhält man bei einer Analyse Messwerte im Bereich der Nachweisgrenze, kann mit der vorgegebenen Sicherheit (Signifikanz) von z.B. 99% entsprechend einer Unsicherheit von 1% (Alpha-Fehler) davon ausgegangen werden, dass der Analyt vorhanden ist.

Im Konzentrationsbereich der Bestimmungsgrenze wird die Anwesenheit des Analyten vorausgesetzt. Die Bestimmungsgrenze bezeichnet (nach DIN 32645) den Konzentrationswert, bei dem der relative Fehler erstmals die vorgegebene Schranke der Ergebnisunsicherheit unterschreitet (üblicherweise 33%, $k=3$).

2.6.3 Bestimmung der Standardabweichung

Die Standardabweichung wird nach folgender Formel berechnet:

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (c_i - \bar{c})^2}{n-1}} \cdot \frac{100}{c}$$

2.6.4 Ermittlung der Kapazität der Probenahmeröhrchen

Sobald ein Durchbruch von Formaldehyd in die Kontrollschicht (Backup) zu verzeichnen ist, ist die Kapazität des Probenahmeröhrchens erschöpft. Ein Durchbruch liegt vor, wenn der Analysepeak der Kontrollschicht über der dreifachen Standardabweichung des Leerwertes der Kontrollschicht liegt.

2.6.5 Ermittlung der Wiederfindungsrate

Zur Bestimmung der Wiederfindungsrate werden drei Proben unterschiedlicher Formaldehydkonzentration nach dem in Kap. 2.4 beschriebenen Verfahren genommen, aufgearbeitet und analysiert.

Die Peakflächen werden mit denen von äquimolaren Lösungen von unabhängig synthetisiertem Formaldehyd-(4-methoxy-6-(4-methoxy-1-naphthyl)-1,3,5-triazin-2-hydrazon verglichen. Die Fläche des unabhängig synthetisierten Hydrazons wird gleich 100% gesetzt.

2.6.6 Lagerungsfähigkeit der Proben

Um die Lagerungsfähigkeit der Proben zu ermitteln werden 10 Probenabnahmeröhrchen nach bekanntem Verfahren mit Formaldehyd beaufschlagt und im Kühlschrank gelagert. In Abständen von einer Woche wird je eine dieser Proben analysiert und das Ergebnis mit dem Ausgangsmesswert verglichen.

3 Ergebnisse

3.1 Hochdruckflüssigchromatographische Trennung

Zur hochdruckflüssigchromatographischen Trennung der Reaktionsprodukte der Reaktion von Formaldehyd und 2,4-Dinitrophenylhydrazin wurde das in Abb. 7 dargestellte Gradientenprofil von Acetonitril/Wasser entwickelt. Dieser Gradient ergibt eine vollständige Basislinientrennung des Reagenzes 2,4-Dinitrophenylhydrazin und des Formaldehyd-2,4-dinitrophenylhydrazons (Abb. 7). Der entsprechende Peak des Hydrazons tritt nach einer Retentionszeit von 3,1 min auf. 2,4-Dinitrophenylhydrazin zeigt einen Doppelpeak aus Hydrazin (1,3 min) und seinem Hydrochlorid (1,68 min).

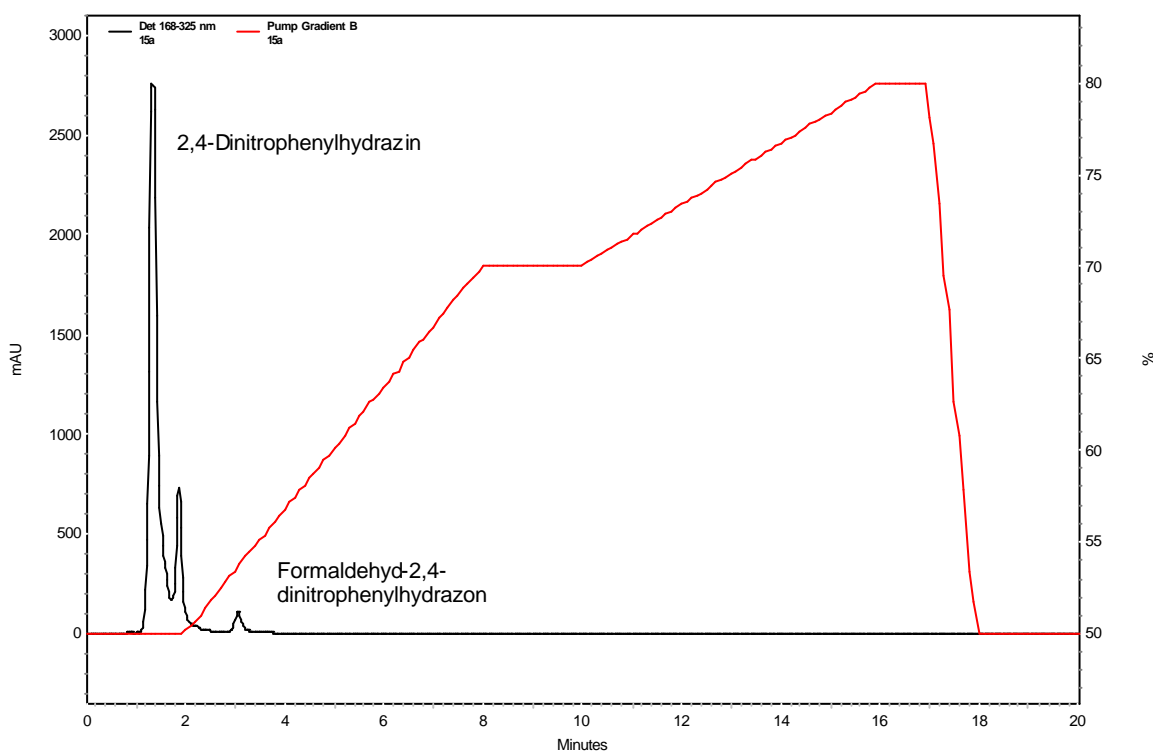


Abb. 7: Chromatogramm der Reaktionsprodukte von Formaldehyd und 2,4-DNPH (UV-Detektion); rot: Gradientenprofil

Die hochdruckflüssigkeitschromatographische Trennung der Reaktionsprodukte von Formaldehyd und 4-Methoxy-6-(4-methoxy-1-naphthyl)-1,3,5-triazin-2-hydrazin (MMNTH) ergab mit einem Standardgradienten keine zufriedenstellende Trennung der Produkte. Daher wurde der Acetonitril/Wasser-Gradient optimiert, bis eine Basislinientrennung von Reagenz und Hydrazon erreicht war. Das entwickelte komplexe Gradientenprofil (Abb. 8) sorgt für eine gute Trennung. Es ist ein deutlich abgegrenzter Peak des Reaktionsproduktes (Formaldehyd-4-methoxy-6-(4-methoxy-1-naphthyl)-1,3,5,-triazin-2-hydrazon) nach einer Retentionszeit von 8,17 min zu erkennen. MMNTH wird mit einer Retentionszeit von 4,93 min eluiert.

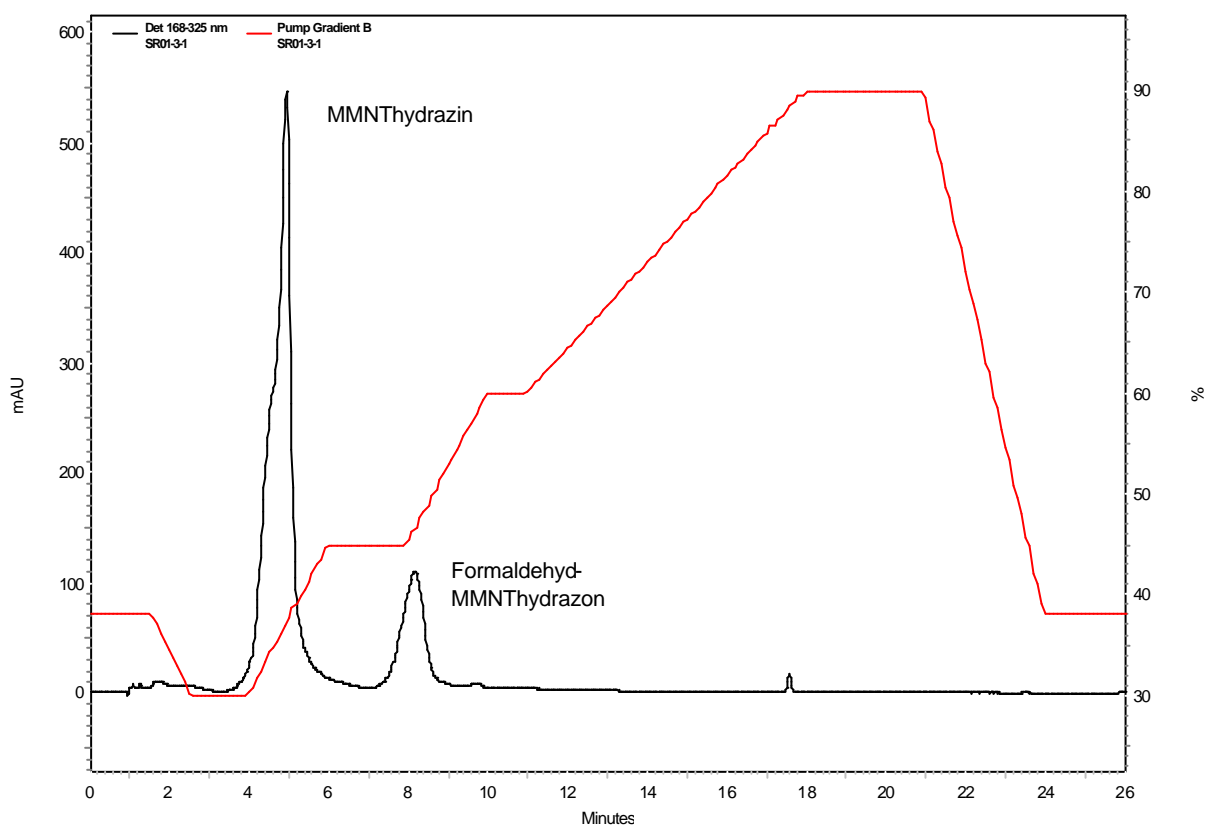


Abb. 8: Chromatogramm der Reaktionsprodukte von Formaldehyd und MMNTH (UV-Detektion); rot: Gradientenprofil

Durch die der UV-Detektion nachgeschaltete Fluoreszenzdetektion mit zusätzlichen Kapillarverbindungen zwischen UV- und Fluoreszenzdetektor, ergibt sich bei der Fluoreszenzdetektion eine Verlängerung der Retentionszeiten für das Hydrazon auf 8,6 min und für MMNTH auf 5,37 min (Abb. 9).

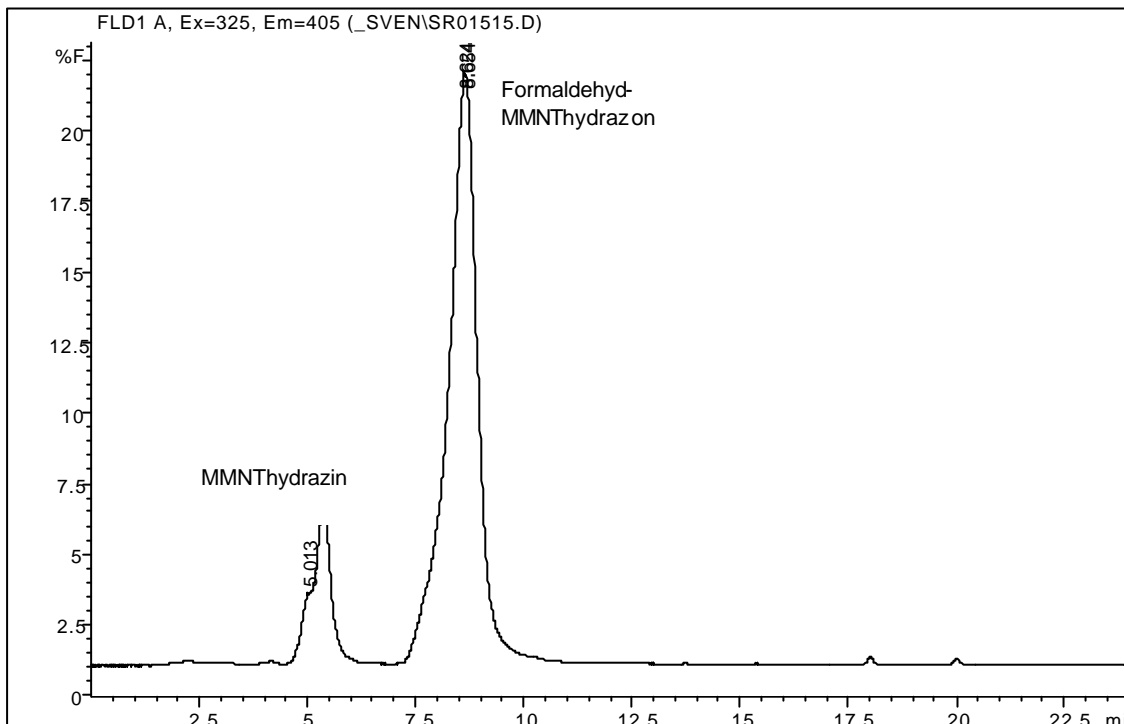


Abb. 9: Chromatogramm der Reaktionsprodukte von Formaldehyd und MMNTH (Fluoreszenzdetektion)

3.2 Kalibration

Zur Kalibration wurden definierte Mengen (zwischen 0,1 und 40 μ l für MMNTH und zwischen 5 und 15 μ l für 2,4-DNPH) einer Formaldehyd-Standardlösung ($c = 1,13$ g/l, entsprechend einer absoluten Menge von 0,113 bis 45,2 μ g Formaldehyd/Probe für MMNTH, bzw. 5,65 bis 16,95 μ g Formaldehyd/Probe für 2,4-DNPH) mit einer Mikroliterspritze in die Probenaufgaberöhrchen vor den

Probenahmeröhrchen abgelegt. Mit Hilfe der Probenahmepumpen wurde dann ein kontinuierlicher Luftstrom von 800 ml/min für 15 min durch die Röhrchen gepumpt. Nach vollständiger Verdampfung der vorgelegten Lösung erfolgt die Aufarbeitung und Analyse wie in den Kapiteln 2.4 und 2.5.1 beschrieben. Durch Auftragen der Peakflächen gegen die absolute Menge vorgelegten Formaldehyds erhält man die Kalibrationsfunktion.

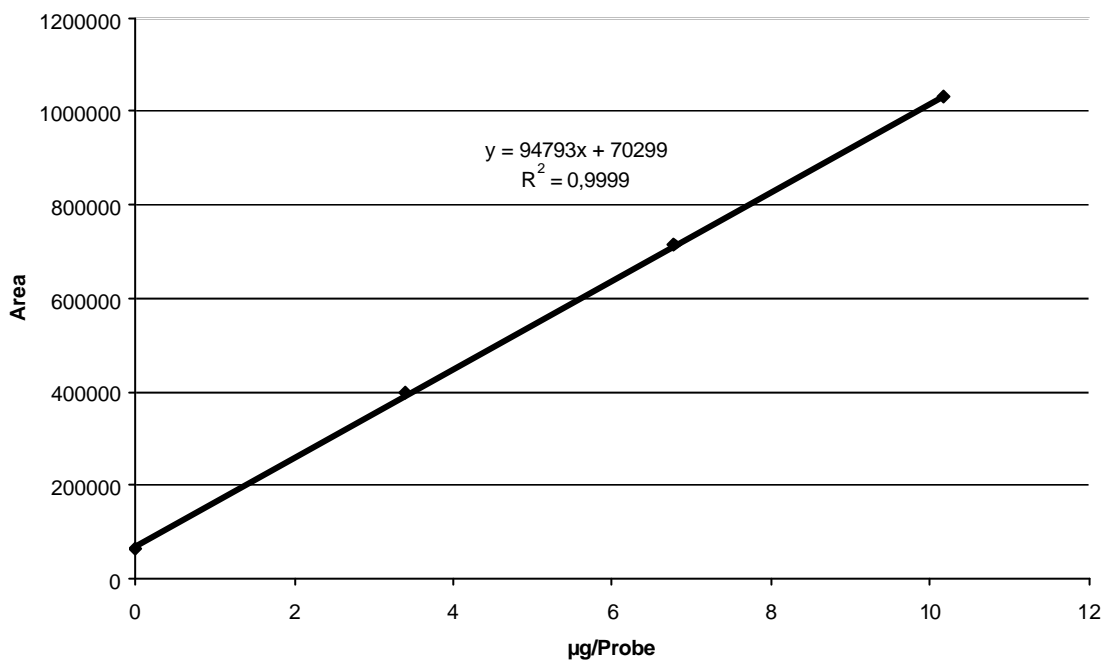


Abb. 10: Kalibrationsfunktion des Formaldehyd-2,4-DNP hydrazons

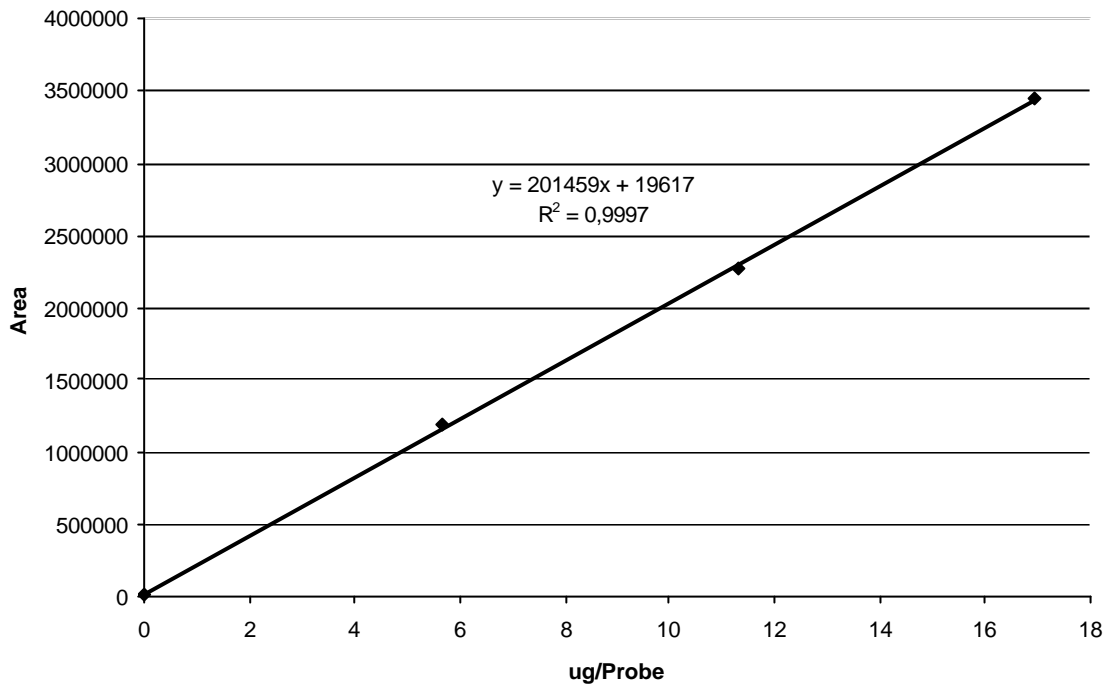


Abb. 11: Kalibrationsfunktion des Formaldehyd-MMNThydrason (UV)

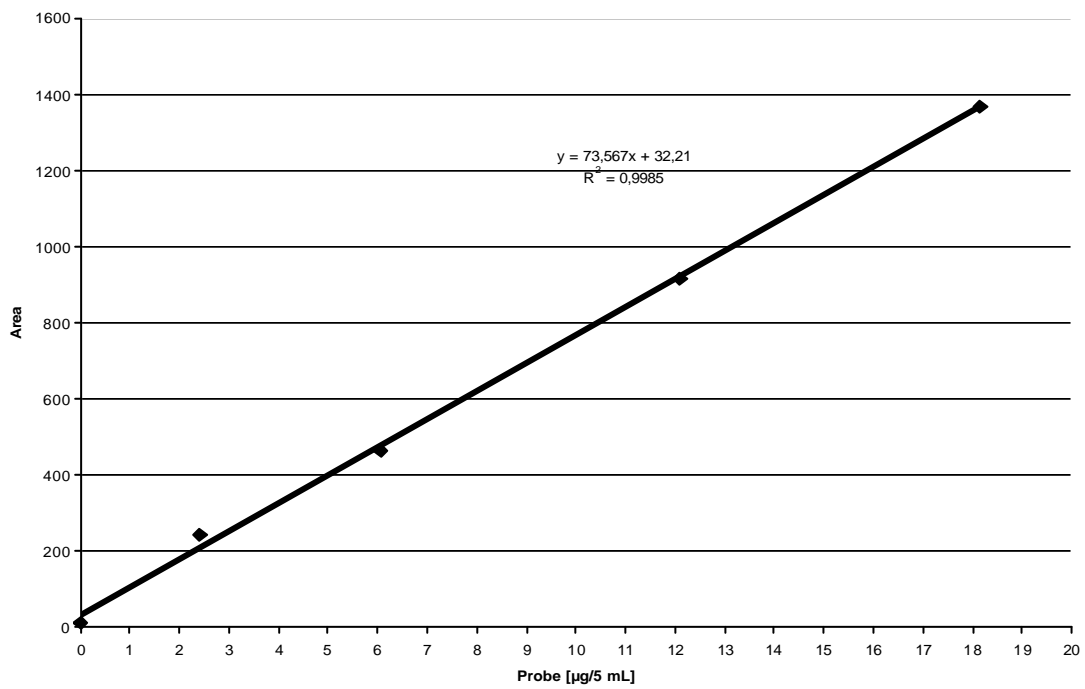


Abb. 12: Kalibrationsfunktion Formaldehyd-MMNThydrason (Fluoreszenz)

3.3 Analytische Validität und Qualitätskriterien für die 2,4-DNPH-Methode

3.3.1 Nachweisgrenze

Die Nachweisgrenze ist die niedrigste Konzentration, die in Analyseverfahren noch detektiert werden kann. Sie wird durch die Beziehung zwischen dem Analysepeak, dem Leerwertpeak und der Standardabweichung des Leerwertes bestimmt.

Die Nachweisgrenze für die Formaldehydbestimmung liegt mit der 2,4-DNPH-Methode bei 0,05 ml/m³ (Binding et al., 1986).

3.3.2 Kapazität

Die Kapazität der 2,4-DNPH-Methode für die Aufnahme von Formaldehyd liegt bei 350 µg (Binding et al., 1986).

3.3.3 Wiederfindungsrate

Die Wiederfindungsrate gibt das Verhältnis vom Analysepeak der Probe zu dem Peak einer äquimolaren Menge unabhängig hergestellte n Hydrazons wieder. Sie liegt bei 98,8 bis 100,7 % (Binding et al., 1986).

3.3.4 Standardabweichung

Es wurden 10 Proben mit definierten Formaldehyd-Konzentrationen, die im Hinblick auf das jeweilige Luftprobenvolumen im MAK- Wertebereich liegen, genommen und wie in Kap. 2.4 beschrieben aufgearbeitet und gemessen.

Für die Messungen mit der 2,4-DNPH-Methode ergaben sich folgende Werte bezüglich der Standardabweichung (Binding 1999).

Tabelle 1: Standardabweichung der 2,4-DNPH-Methode in der Serie und von Tag zu Tag (n=10)

	Formaldehyd					
	in der Serie			von Tag zu Tag		
Konzentration	0,3 µg	3,0 µg	9,0 µg	0,3 µg	3,0 µg	9,0 µg
Standardabw.	5,72 %	1,46 %	2,06 %	3,41%	2,04 %	2,31 %

3.3.5 Lagerungsfähigkeit

Die Lagerungsfähigkeit für die mit 2,4-DNPH belegten Röhrchen beträgt mindestens 4 Wochen (Binding 1999).

3.4 Analytische Validität und Qualitätskriterien für die MMNTH-Methode

3.4.1 Nachweisgrenze

Die Nachweisgrenze wurde entsprechend den Vorgaben der DIN 32645 mit einem Signifikanzniveau von 95% ermittelt und liegt für die MMNTH-Methode nach Auswertung mit UV-Detektion bei 0,012 ml/m³.

Nach Auswertung mit der Fluoreszenzdetektion ergab sich eine Nachweisgrenze von 0,08 ml/m³.

3.4.2 Bestimmungsgrenze

Die Bestimmungsgrenze wurde ebenfalls gemäß der DIN 32645 ermittelt und ergab für die UV-Auswertung einen Wert von 0,05 ml/m³.

Für die Fluoreszenzauswertung ergab sich ein Wert von 0,27 ml/m³.

3.4.3 Kapazität

Die Kapazität der MMNTH-Röhrchen liegt bei 92,8 µg Formaldehyd/Röhrchen.

3.4.4 Wiederfindungsrate

Zur Bestimmung der Wiederfindungsrate werden 3 Probenahmeröhrchen mit unterschiedlichen Formaldehydmengen beaufschlagt (siehe Tabelle 2 und 3) und analysiert. Parallel werden drei entsprechende äquimolare Lösungen von unabhängig synthetisiertem Formaldehyd-(4-methoxy-6-(4-methoxy-1-naphtyl)-1,3,5,-triazin-2-hydrason hergestellt und ebenfalls analysiert. Die Peakflächen des unabhängig synthetisierten Hydrazons werden gleich 100 % gesetzt und mit den Peakflächen der Proben verglichen.

Die ermittelten Wiederfindungsraten sind ebenfalls in Tabelle 2 und 3 angegeben.

Tabelle 2: Wiederfindungsraten bei UV-Detektion

Formaldehyd [µg/Probe]	Peakfläche Formaldehyd- MMNTHydrason (Probe) UV [-]	Peakfläche Formaldehyd- MMNTHydrason (unabhängig synthetisiert) UV [-]	Wiederfindungs- rate UV [%]
6,35	280029	233748	119,8
12,7	648792	647476	100,2
19,5	1032621	1046890	98,6

Tabelle 3: Wiederfindungsrate bei Fluoreszenz-Detektion

Formaldehyd [µg/Probe]	Peakfläche Formaldehyd- MMNTHydrason (Probe) FLUORESZENZ [-]	Peakfläche Formaldehyd- MMNTHydrason (unabhängig synthetisiert) FLUORESZENZ [-]	Wiederfindungs- rate FLUORESZENZ [%]
6,35	314,1	359,2	87,4
12,7	608	723,1	84,1
19,5	930,2	1050	88,6

3.4.5 Standardabweichung

Die Standardabweichungen in Serie und von Tag zu Tag für die Bestimmung von Formaldehyd mit der MMNTH-Methode (UV- und Fluoreszenzdetektion) sind in Tabelle 4 dargestellt.

Tabelle 4: Standardabweichungen der MMNTH-Messungen (UV und Fluoreszenz)

	Formaldehyd					
	in der Serie			von Tag zu Tag		
Konzentration	2,42 µg	6,05 µg	12,1 µg	2,42 µg	6,05 µg	12,1 µg
Standardabw. (UV, n= 10)	10,6 %	8,78 %	6,81 %	14,3 %	11,9 %	7,71 %
Standardabw (Fluoreszenz, n=10)	8,90 %	8,41 %	5,91 %	12,0 %	9,32 %	9,23 %

3.4.6 Lagerungsfähigkeit

Die Lagerungsfähigkeit für die mit Formaldehyd beaufschlagten MMNTH-Röhrchen beträgt mindestens 3 Wochen, da in dieser Zeit reproduzierbare Analyseergebnisse erzielt wurden. Danach sinkt der Messwert des Formaldehyd-MMNTHhydrazons ab.

3.5 Vergleichsmessungen zur Formaldehydbelastung in der Pathologie

Die folgenden Untersuchungen wurden in einem Institut für Pathologie mit dem Ziel durchgeführt, die Formaldehydbelastung des zuschneidenden Pathologen und des assistierenden medizinisch-technischen Personals beim Zuschneiden und Einbetten der in Formaldehyd fixierten Präparate zu messen. Gleichzeitig sollte durch die Messung mit beiden Methoden (2,4-DNPH und MMNTH) ein Vergleich der analytischen Qualität unter Feldbedingungen erfolgen. Die personenbezogenen Messungen wurden daher gleichzeitig mit 2,4-DNPH- und MMNTH-Probenahmeröhrchen vorgenommen. Die Proben, die mit den MMNTH-belegten Röhrchen genommen wurden, wurden sowohl mit UV- als auch mit Fluoreszenzdetektion analysiert.

3.5.1 Probenahmeverfahren

Um sicherzustellen, dass 2,4-DNPH- und MMNTH-Probenahmeröhrchen zu jedem Messzeitpunkt mit der gleichen Luft beaufschlagt wurden, wurde ein Y-Stück verwendet.

Die Luft wird über das Y-Stück angesaugt und gleichmäßig über die zwei Schenkel auf die beiden Probenahmeröhrchen aufgeteilt. Die unterschiedlich belegten Röhrchen sind jeweils über einen kurzen Silikonschlauch mit dem Y-Stück verbunden. An die beiden Röhrchen ist über einen weiteren Silikon-

schlauch je eine auf indentischen Volumenstrom kalibrierte Pumpe angeschlossen (Abb. 13).

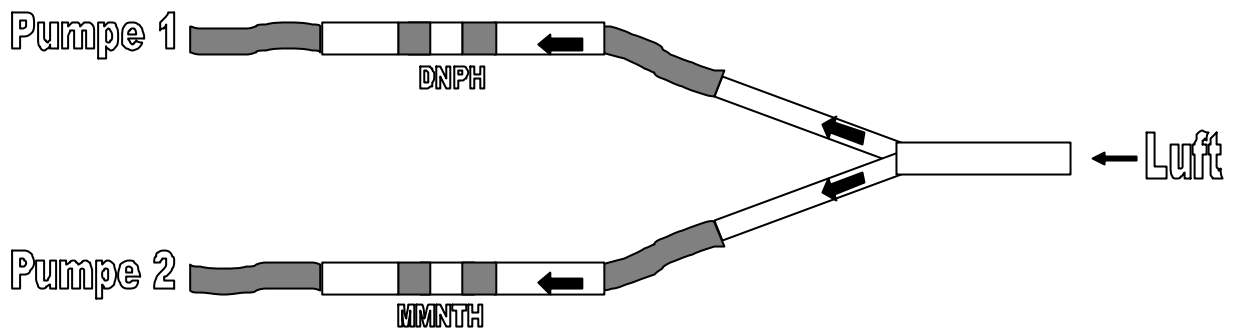


Abb. 13: Y-Stück mit nachgeschalteten Röhrcchen zur gleichzeitigen Probenahme

3.5.2 Arbeitsbereichsanalyse

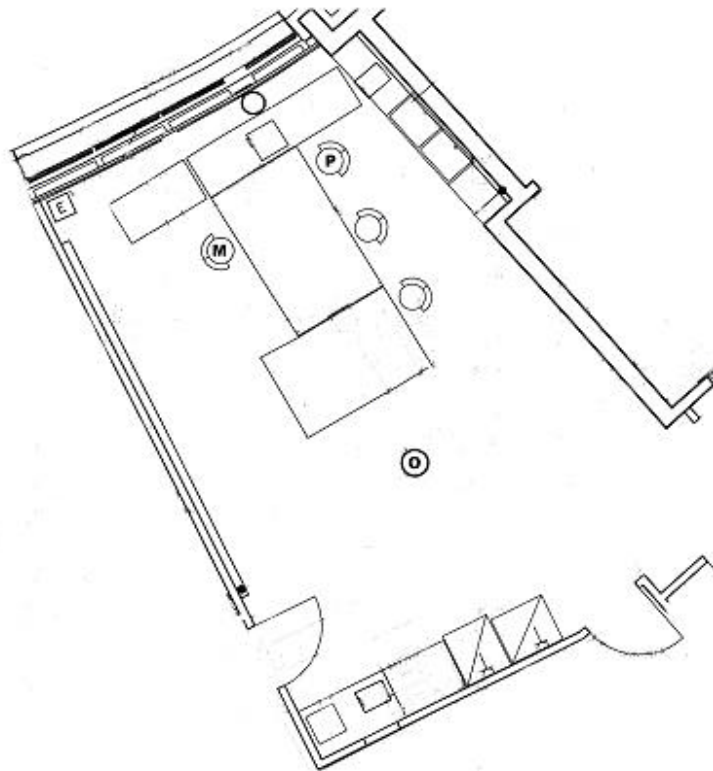


Abb. 14: Skizze des Zuschneideraums des Instituts für Pathologie mit markierten Messorten (M: Arbeitsplatz der MTA während der Messungen; P: Arbeitsplatz des Pathologen während der Messungen; O: ortsfeste Messung)

Der Zuschneideraum des Instituts für Pathologie verfügt über einen Zuschneidetisch sowie weitere Arbeitsflächen an den Längswänden des Raumes, die mit Unterschränken zu Materiallagerung und einem Doppelausgussbecken ausgestattet sind. Der eigentliche Arbeitsplatz, der Zuschneidetisch, wird über die perforierte Tischoberfläche abgesaugt. Die Zuluftöffnungen in der Decke sind seitlich zum Arbeitstisch angebracht, so dass sich ein quer gerichteter Luftstrom ergibt (siehe Pfeil Abb.15).



Abb. 15: Zuschneiderraum mit Arbeitsplätzen für den Pathologen und zwei MTAs am Zuschneidetisch im Institut für Pathologie

Die zu untersuchenden Präparate sind in der Regel in einer 4%igen Formaldehydlösung fixiert. Nur die Proben, die zur Schnellschnittuntersuchung eingehen, sind nicht fixiert. Das Zuschneiden wird von dem Pathologen auf einer Kunststoffunterlage am Zuschneideplatz vorgenommen (siehe Abb. 16). Die Präparate erhält er in Behältern mit Formaldehydlösung, die ihm von einer assistierenden MTA angereicht werden. Alle zuzuschneidenden Präparate stehen in diesen Behältern links vom Pathologen auf dem Arbeitstisch.

Nachdem er das jeweilige Präparat aus dem Behälter entnommen hat, zerteilt er es auf der dafür vorgesehenen Kunststoffunterlage in kleinere Proben für die weitere Untersuchung. Die dem Pathologen gegenüber sitzende MTA nimmt diese zugeschnittenen Proben entgegen und bereitet sie für die weitere Verar-

beitung vor, indem sie die Proben in kleine Plastikkörbchen legt. Diesen Arbeitsschritt nennt man „Einkapseln“.

Pro Arbeitstag wird in der Regel zweimal für ca. 2 Stunden zugeschnitten.

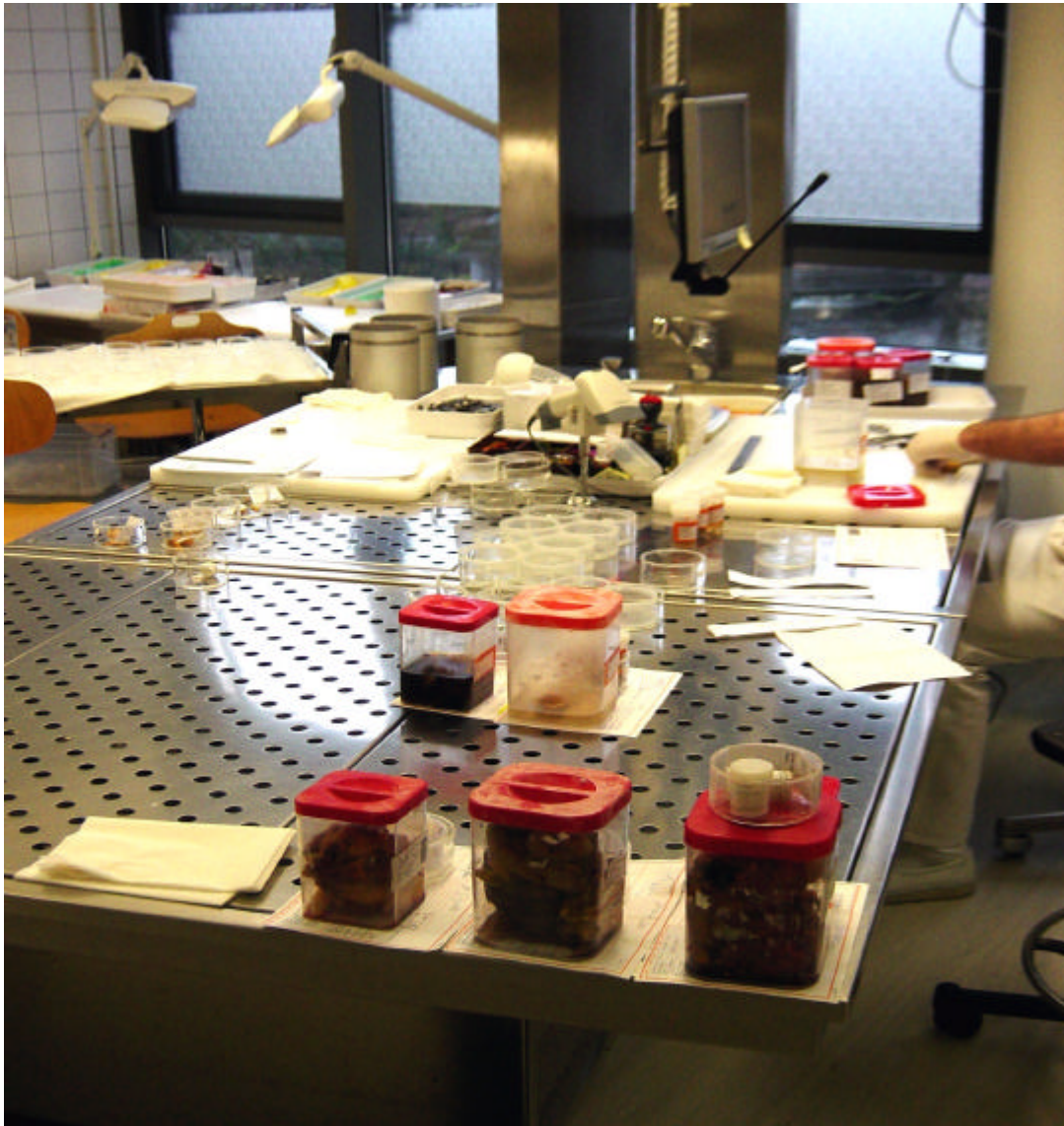


Abb. 16: Der Arbeitsplatz des Pathologen

3.5.3 Ermittlung der Formaldehydkonzentration in der Raumluft durch stationäre Messungen

Durch die ortsfesten Messungen, die in der Raummitte vorgenommen wurden, wurde neben der Ermittlung der personenbezogenen Belastungen des Pathologen und der einkapselnden MTA die Grundbelastung vor dem Zuschneiden sowie die Konzentrationen während des Zuschneidens ermittelt.

Sie dienten zur Bestimmung der Formaldehydkonzentration außerhalb des direkten Arbeitsbereiches und wurden daher nur mit der 2,4-DNPH-Methode durchgeführt und nicht in die Vergleichsmessungen mit einbezogen.

Tabelle 5: Ortsfest am Messort O ermittelte Formaldehydkonzentrationen im Zuschneideraum (2,4-DNPH-Methode)

Probe	Formaldehydkonzentration [ml/m ³]
O0	0,16
O1	0,08
O2	0,14
O3	0,15
O4	0,10
O5	0,12
O6	0,06

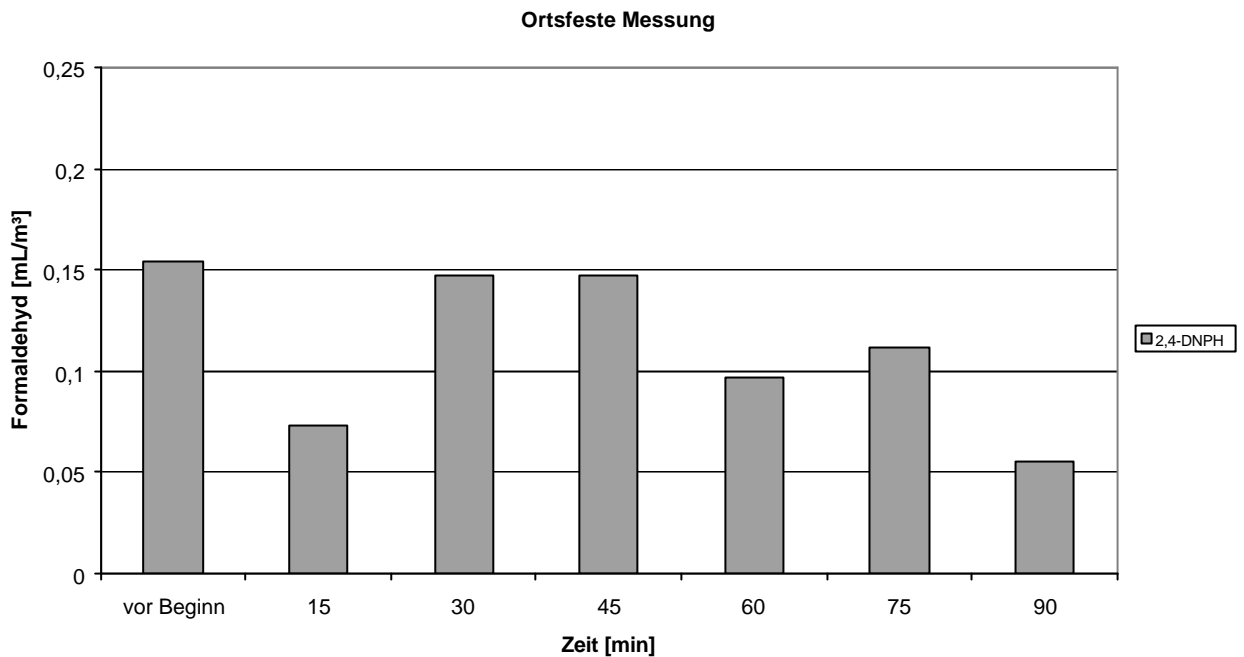


Abb. 17: Ortsfest am Messort O ermittelte Formaldehydkonzentrationen im Zuschneideraum (2,4-DNPH-Methode)

Die Werte der Formaldehydbelastung in der Raummitte lagen zu keiner Zeit oberhalb von $0,2 \text{ ml/m}^3$. Auch während des Zuschneidens war keine Erhöhung der Werte festzustellen

3.5.4 Ermittlung der Formaldehydkonzentration in der Raumluft durch personenbezogene Messungen

3.5.4.1 Personenbezogene Messungen im Atembereich des Pathologen

Die Hauptquelle der Formaldehydbelastung sind die Präparate, die aus der Konservierungslösung entnommen werden. Dabei wird die Kunststoffunterlage mit Konservierungslösung benetzt. Aus diesem je nach Präparat mehr oder weniger ausgeprägten Flüssigkeitsfilm sowie aus der Oberfläche der Präparate gas Formaldehyd in den Atembereich des Pathologen aus. Durch die

Bearbeitung und Zerkleinerung der Präparate wird deren Formaldehyd emittierende Oberfläche zusätzlich vergrößert.

Daher wurden Messungen zur individuellen Belastung des Pathologen durchgeführt.

Wie aus Tabelle 6 und Abb. 18 zu entnehmen ist, liegt die Belastung des Pathologen zu jeder Zeit deutlich unter dem Arbeitsplatzgrenzwert von 0,5 ml/m³. Auch bei der Bearbeitung von größeren Präparaten trat keine nennenswerte Erhöhung der Formaldehydbelastung auf.

Tabelle 6: Im Atembereich des Pathologen ermittelte personenbezogene Formaldehydkonzentrationen

Probe	2,4-DNPH [ml/m ³]	MMNTH mit UV [ml/m ³]	MMNTH Fluo [ml/m ³]
P1	0,11	0,12	0,11
P2	0,17	0,15	0,15
P3	0,24	0,21	0,23
P4	0,26	0,23	0,23
P5	0,17	0,16	0,15
P6	0,06	0,08	0,07

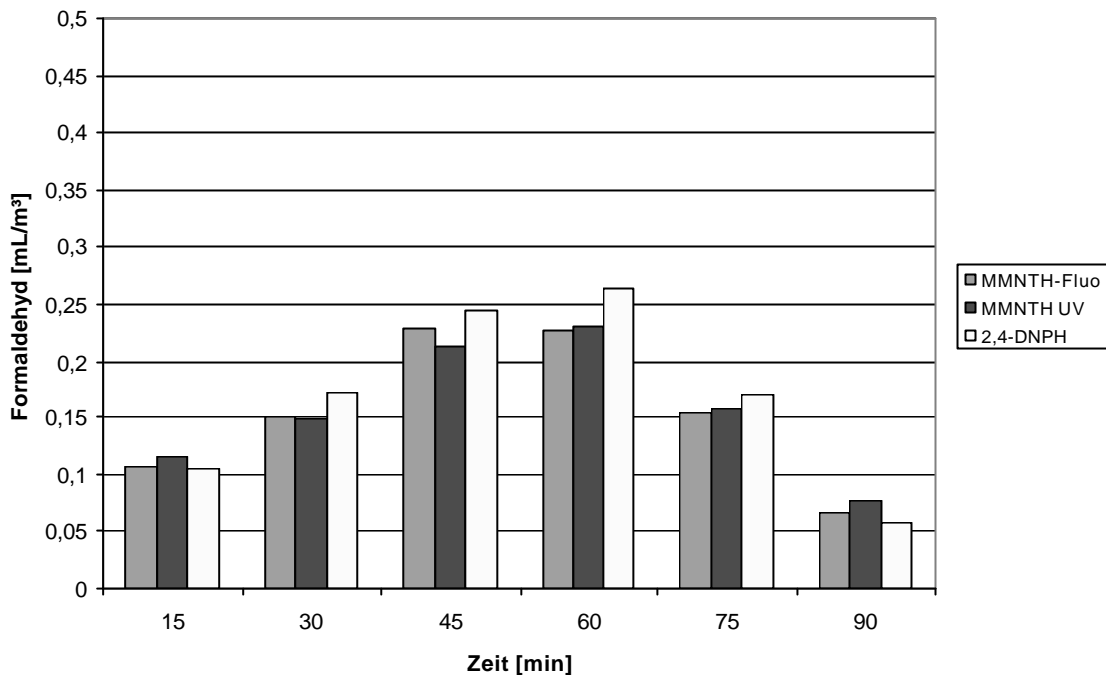


Abb. 18: Personenbezogen im Atembereich des Pathologen ermittelte Formaldehydkonzentrationen

3.5.4.2 Personenbezogene Messungen im Atembereich der medizinisch-technischen Assistentin

Die dem Pathologen gegenüber sitzende MTA befindet sich ebenfalls in unmittelbarer Nähe zu den mit der Konservierungslösung getränkten Präparaten. Während des „Einkapselns“ legt sie die zugeschnittenen Präparate in Plastikkorbchen. Daher wurden auch hier Messungen im Atembereich vorgenommen, um die individuelle Belastung zu ermitteln.

Auch hier ergaben die Messungen eine geringe Belastung, jedoch wurde einmal den Wert von 0,5 ml/m³ nahezu erreicht (vgl. Tab. 7 und Abb. 19).

Tabelle 7: Im Atembereich der MTA ermittelte personenbezogene Formaldehydkonzentrationen

Probe	DNPH [ml/m ³]	MMNTH UV [ml/m ³]	MMNTH Fluo [ml/m ³]
M1	0,19	0,18	0,17
M2	0,39	0,33	0,32
M3	0,49	0,49	0,48
M4	0,17	0,20	0,19
M5	0,15	0,14	0,15
M6	0,08	0,10	0,08

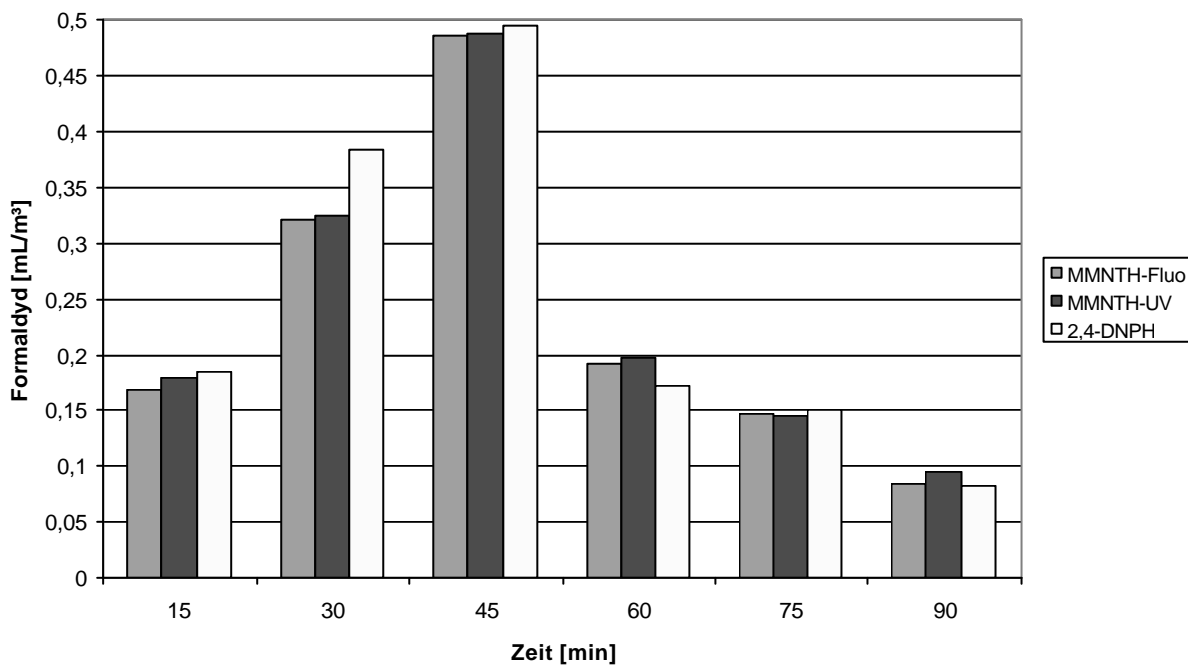


Abb. 19: Personenbezogenen im Atembereich der MTA ermittelte Formaldehyd konzentrationen

3.5.5 Abweichungen der Messwerte

Anhand des Vergleiches der Messwerte lässt sich erkennen, dass die Werte zwischen den Messergebnissen der 2,4-DNPH-Methode und denen der MMNTH-Methode im Einzelfall bis zu 15% differieren (Tab.8). Dies liegt jedoch im Rahmen der Standardabweichungen, die für 2,4-DNPH- und insbesondere für die MMNTH-Methode ermittelt wurden (vgl. Kap. 3.4.5

Tabelle 8: Prozentuale Abweichungen der Ergebnisse der MMNTH-Messungen von denen der DNPH-Messungen und der MMNTH Messungen untereinander (UV:Fluoreszenz) (Pathologe)

2,4-DNPH-Messwert [ml/m ³]	Abweichung des MMNTH-Messwertes (UV) [%]	Abweichung des MMNTH-Messwertes (Fluoreszenz) [%]	Abweichung des MMNTH-Messwertes (Fluoreszenz) vom MMNTH-Messwert (UV). [%]
0,11	8,3	0	9,1
0,17	13,3	13,3	0
0,24	14,28	4,35	8,66
0,26	13,04	13	0
0,17	6,25	13,33	6,67
0,06	25	14,29	14,28
Mittelwerte	13,36%	9,71%	6,45%

Tabelle 9: Prozentuale Abweichungen der Ergebnisse der MMNTH-Messungen von denen der DNPH-Messungen und der MMNTH Messungen untereinander (UV:Fluoreszenz) (MTA)

2,4-DNPH-Messwert [ml/m ³]	Abweichung des MMNTH-Messwertes (UV) [%]	Abweichung des MMNTH-Messwertes (Fluoreszenz) [%]	Abweichung des MMNTH-Messwertes (Fluoreszenz) vom MMNTH-Messwert (UV). [%]
0,39	18,18	21,87	3,13
0,51	4,1	6,25	2,08
0,18	10	5,26	5,26
0,15	7,1	0	6,67
0,08	20	0	25
Mittelwerte	10,82%	7,52%	8%

4 Diskussion

4.1 Chemische und physikalische Eigenschaften von Formaldehyd

Formaldehyd ist der einfachste, aus Methan abgeleitete Aldehyd („Methanal“). Der gebräuchliche Name Formaldehyd wurde aus Acidum formicium (Ameisensäure) und Aldehyd gebildet. In reinem, wasserfreiem Zustand ist Formaldehyd ein farbloses, durchdringend und stechend riechendes Gas, das nur wenig schwerer als Luft ist. Der Schmelzpunkt liegt bei -117°C , der Siedepunkt bei -19°C . Die Dämpfe sind brennbar und Gemische mit Luft explosionsfähig (Römpp, 2004). Formaldehyd hat die Summenformel CH_2O (Abb. 20).

Aufgrund seiner sehr guten Löslichkeit in Wasser kommt Formaldehyd als 35-55%ige wässrige Lösung unter dem Namen „Formalin“ in den Handel.

Formaldehyd besitzt die für Aldehyde spezifische endständige Carbonylgruppe, woraus auch das hohe Reaktionspotenzial resultiert (Strukturformel siehe Abb. 20). Die Polarität der $\text{C}=\text{O}$ -Doppelbindung ist dabei die Besonderheit. Die Elektronen verschieben sich in Richtung des elektronegativeren Sauerstoffatoms, so dass sich auf der Seite des Sauerstoffatoms eine negative und auf der Seite des Kohlenstoffatoms eine positive Partialladung ergibt. Da das Molekül keine weiteren Alkyl-Gruppen trägt, kommt es durch +I-Effekte nicht zu einer Herabsetzung der Partialladung. Deswegen ist Formaldehyd das reaktivste aller Aldehyde.

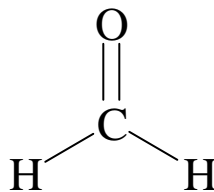


Abb. 20: Strukturformel von Formaldehyd

4.2 Produktion und industrielle Bedeutung von Formaldehyd

Aldehyde und Ketone finden aufgrund ihrer Reaktivität breite Anwendung als Ausgangsprodukte oder reaktive Zwischenstufen in der chemischen Industrie. Die größte Bedeutung kommt dabei Formaldehyd zu (Pötter 1997). Er wird seit mehr als 60 Jahren für die Produktion von Kunstharzen, Klebstoffen und Kunststoffen genutzt. Formaldehyd findet weitere Verwendung als Desinfektionsmittel in der Lebensmittelindustrie, im medizinischen und kosmetischen Bereich, außerdem wurde es als Fumigantium zur Schädlingsbekämpfung in der Landwirtschaft und in der Produktion von knitterfreien Kleidungsstücken genutzt (Coggon et al. 2003).

Aktuelle Produktionsdaten zu Formaldehyd waren nicht zugänglich. Der Gesamtverbrauch an Formaldehyd lag in Westeuropa im Jahr 1989 bei $1,2 \times 10^6$ Tonnen (Weissermel und Arpe 1994).

Aldehyde wie Formaldehyd und Acetaldehyd werden sowohl aus anthropogenen als auch aus natürlichen Quellen freigesetzt. In urbanen Gebieten sind Autoabgase (Anderson et al. 1996) und industrielle Emissionen (Carlier et al. 1990) die wichtigsten anthropogenen Quellen dieser Aldehyde. So gelangen während einer Smogperiode im südlichen Kalifornien täglich 500 t Formaldehyd durch die in-situ Bildung und 30-70 t Formaldehyd durch direkte Emission in die Atmosphäre (Grosjean et al. 1983).

4.3 Verwendung in medizinischen Einrichtungen

Formaldehyd wird seit 1888 als Desinfektionsmittel eingesetzt (Blum 1893). Da es ein umfassendes Wirkspektrum gegenüber verschiedenen Keimarten hat (Wegschneider 2003), ist es in desinfizierenden Reinigungsmitteln kaum ersetzbar (Waldinger und Jäneke 2003).

Die biozide Wirkung beruht auf der hohen Reaktivität der Aldehydfunktion insbesondere gegenüber Aminogruppen, die letztendlich zu einer Denaturierung von Proteinen führt. Die sowohl baktericide, sporocide, fungicide als auch virucide Wirkung macht es zu einem nahezu universell einsetzbaren Desinfektionsmittel, das durch organisches Material wie Eiter, Sputum, Urin, Serum und Blut nur wenig beeinflusst wird (Spicher und Peters, 1991).

Im Besonderen wird es für die Flächendesinfektion, die Desinfektion von Endoskopen und anderen Instrumenten (Wegschneider 2003; Waldinger und Jäneke 2003), sowie bei der zentralen Bettendesinfektion (Binding 1999) genutzt.

Da jedoch Unverträglichkeiten bis hin zu Allergien gegen Desinfektionsmittel zu den häufigsten berufsbedingten Erkrankungen in medizinischen Einrichtungen gehören und dabei die Aldehyde, insbesondere Formaldehyd, im Vordergrund stehen, hat jeder Anwender die Verpflichtung zu prüfen, ob auf den Einsatz von Formaldehyd verzichtet werden kann (Just 2003).

Neben den hervorragenden desinfizierenden Eigenschaften hat es auch besonders gute konservierende Eigenschaften und findet so ein weiteres großes Anwendungsgebiet in der Anatomie und Pathologie. Hier wird es zur Fixierung der Leichen bzw. Präparate genutzt. Üblicherweise werden die in der Pathologie zu untersuchenden Präparate mit einer 4%igen Formaldehydlösung fixiert. In der Anatomie wird in der Regel mit bis zu 8%igen Formaldehydlösungen gearbeitet, um die Präparate für längere Zeit zu konservieren (Kellner et al. 2003). Für die Raumdeshinfektion werden sogar 15%ige Lösungen gemäß TRGS 522 genutzt (Eickmann 2003).

4.3.1 Formaldehydbelastung in der Pathologie

Zur Formaldehydbelastung in Pathologien wurden bisher vergleichsweise wenige Studien durchgeführt.

Die Arbeitsgruppen von Coldiron (1983) und von Arias (1995) fanden beide in verschiedenen pathologischen Laboratorien eine Luftbelastung mit Formaldehyd zwischen 1,1 und 5,8 ml/m³ bei personenbezogenen Messungen.

Binding (1999) berichtet von ähnlich hohen Luftbelastungen mit Spitzenwerten von bis zu 4 ml/m³, die jedoch im Rahmen der durchgeführten Studie durch Sanierung der Abluftanlagen auf ca. 0,5 ml/m³ reduziert werden konnten, so dass in diesen Pathologien der Grenzwert in der Regel nicht mehr überschritten wird.

Diese Untersuchungen zeigen, dass es also technisch durchaus möglich ist, einen Formaldehyd-Grenzwert von 0,5 ml/m³ oder niedriger einzuhalten und so eine Gesundheitsschädigung der Beschäftigten zu vermeiden.

Die Arbeitsgruppe von Burgaz (2002) fand in anatomischen und pathologischen Laboratorien im Atembereich der Beschäftigten Konzentrationen zwischen 2 und 4 ml/m³ (Burgaz et al. 2002).

4.3.2 Alternativen zur Anwendung von Formaldehyd in medizinischen Einrichtungen

Um die Formaldehyd-Exposition möglichst gering zu halten, sollte generell vor einer Entscheidung zur Anwendung von Desinfektionsmitteln geprüft werden, ob eine Desinfektion überhaupt erforderlich ist, ob andere Verfahren eingesetzt werden können (z.B. thermische), oder ob es Substanzen gibt, die mit geringerem gesundheitlichen Risiko bei gleicher oder hinreichender Wirksamkeit eingesetzt werden können. Diese Prüfungspflicht gilt nach § 16 der Gefahrstoffverordnung (GefStoffV 2004) für jeden, der mit Gefahrstoffen umgeht (Just 2003).

Als wichtigste Alternativwirkstoffe für Formaldehyd gelten quaternäre Ammoniumverbindungen („Quats“; Esterquats: kationische grenzflächenaktive Verbindungen mit zwei hydrophoben Gruppen, die über Esterbindungen mit einem quaternierten Di(Tri-)ethanolamin oder einer analogen Verbindung verknüpft sind), Amphotenside und Amine. Diese haben gute Reinigungswirkung, sind wenig aggressiv, haben jedoch ein eingeschränktes Wirkspektrum und deutliche Eiweißfehler (sie verlieren in Gegenwart von Eiweißen (z.B. Blut) schnell an Wirkung). Auch Alkohol bietet ein breites Wirkspektrum und einen raschen Wirkungseintritt, birgt allerdings bei großflächigem Einsatz Brand- und Explosionsgefahr (Just 2003).

Spaethe (2003) führte eine große Studie zur anatomischen Leichenfixation bei niedriger Formaldehydkonzentration durch (Spaethe 2003). Anstatt mit Konzentrationen von 4-8%, wie sie in der Regel üblich sind, wird am Institut für Anatomie in Hamburg seit Jahrzehnten mit einer Konzentration von etwa 1,7 % Formaldehyd in der Fixierungslösung bei gutem Erfolg gearbeitet. Hier kommt das Gemisch nach JORES, Jores 1 (siehe Tabelle 10) zur Anwendung (Spaethe 2003). Bei Fixation mit Lösungen mit einer Formaldehydkonzentration unter 1,2% konnte Fäulnis nicht vermieden werden. Diese Versuche wurden aus hygienischen Gründen zumeist vorzeitig abgebrochen.

Tabelle 10: Zusammensetzung von Jores 1:

Stoff	Anteil
Karlsbader Salz*, künstlich, DAB	4,5 kg
Chloralhydrat	2,25 kg
Formaldehydlösung 35 %, DAB	4,5 kg
Wasser, gereinigt, DAB	ad 100 l

*Zusammensetzung von Karlsbader Salz:

Stoff	Anteile
Natriumsulfat	22
Kaliumsulfat	1
Natriumchlorid	9
Natriumhydrogencarbonat	18

Luftkonzentrationen von Formaldehyd, die während der Arbeit an mit Jores 1 fixierten Präparaten gemessen wurden, waren zwar relativ hoch, der Grenzwert wurde jedoch auch ohne Lüftungseinrichtung nicht überschritten.

Zusammenfassend wurde von Spaethe (2003) festgestellt, dass aldehydfreie Fixierung zur Zeit undenkbar ist und somit eine Absenkung des MAK-Wertes auf die Hälfte des heute gültigen Wertes von 0,5 ml/m³ aus Sicht der Anatomie nicht praktikabel sein wird.

Becker (2003) führte eine Studie über den Einsatz von Phenoxyethanol in der Anatomie zur Minimierung der Gefahrstoffexposition in Medizinischen Sektionskursen durch.

Durch die Anwendung von Phenoxyethanol (Ethylenglycolmonophenylether) bietet sich eine Möglichkeit, die Gefahrstoffexposition für Studierende, Lehrende und Sektionspersonal im Rahmen von medizinischen Sektionskursen zu reduzieren, ohne die Qualität der Präparate zu beeinflussen. Während des Ein-

satzes von Phenoxyethanol wurden im Zeitraum von 1996 bis 2003 bei 3000 Personen, die an Sektionskursen oder Operationskursen teilgenommen hatten, keine subjektive oder objektivierbare Befindlichkeitsstörungen nachgewiesen (Becker 2003).

Phenoxyethanol ist hautschonend und in verdünnter Form ein geeignetes Desinfektions- und Antischimmelmittel, hat aber keine gewebefixierenden Eigenschaften. Daraus ergibt sich, dass die anatomischen Präparate zur Dauerkonservierung zuerst mit den üblichen aldehydhaltigen Fixierungsmitteln behandelt werden müssen. Die dadurch erreichte Härtung wird durch Phenoxyethanol langsam aufgehoben, da dieses Formaldehyd-Harze und Fette löst. Für die Arbeiten während einer Sektion ist diese Eigenschaft nur von geringer Relevanz, da die Präparate nur feucht gehalten werden müssen (Becker 2003).

Aufgrund tierexperimenteller Untersuchungen diskutierten Mußhoff und Mitarbeiter (1999) die Möglichkeit von auftretenden neurotoxischen Wirkungen nach längerer Exposition mit Phenoxyethanol. Schmuck und Mitarbeiter (2000) stellten die Übertragbarkeit dieser Ergebnisse auf den Menschen allerdings in Frage.

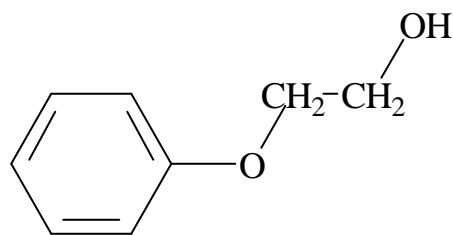


Abb. 21: Strukturformel Phenoxyethanol (C₈H₁₀O₂)

4.4 Gesundheitliche Gefährdung durch Formaldehyd

4.4.1 Aufnahme von Formaldehyd in den Körper

Formaldehyd wird endogen aus Serin, Glycin, Methionin und Cholin produziert und ist somit ein essentielles metabolisches Zwischenprodukt bei der Biosynthese von Purinen und Thymidin. Außerdem entsteht es bei der Demethylierung von N-, O-, und S-methylierten Substanzen. Es lässt sich also auch bei Menschen, die beruflich keiner Exposition gegenüber Formaldehyd ausgesetzt sind, ein Formaldehydgehalt von ca. 2,6 µg/g Blut nachweisen (Casanova et al. 1988). Formaldehyd kann exogen über die Haut, über die Atemwege oder oral aufgenommen werden. In Tierversuchen zeigte sich, dass Formaldehyd sowohl von der Haut als auch vom Verdauungstrakt nahezu vollständig resorbiert wird (Heck et al. 1983).

Bei Ratten wird Formaldehyd nach inhalativer Aufnahme fast komplett absorbiert, während es die Nase passiert (Heck et al. 1983). Heck und Mitarbeiter (1983) fanden weiter heraus, dass 70 h nach der Inhalation ca. 40% wieder abgeatmet wurden, etwa 17% über den Urin sowie 5% über die Faeces ausgeschieden wurden; die restlichen 35-39% verblieben im Körper.

4.4.2 Toxizität

Formaldehyd ist Bestandteil vieler Dinge des täglichen Gebrauchs wie z.B. Nahrungsmittel, Arzneimittel und Kosmetika. Es wird über die Atemwege und die Haut aufgenommen, wirkt in Abhängigkeit von der Konzentration ätzend oder reizend und ist als giftig eingestuft.

Die orale Aufnahme von Formaldehyd ist eher selten, da es einen sehr alarmierenden und charakteristischen Geruch besitzt. Es sind jedoch Fälle bekannt, in denen es unbeabsichtigt oder bei Selbstmordversuchen aufgenommen wurde (Pandey et al 2000).

Die Aufnahme kann zu schädigenden Wirkungen an nahezu allen Organen des Körpers führen, einschließlich des Gastrointestinaltraktes, des zentralen Ner-

vensystems, des kardiovaskulären Systems und des hepato-renalen Systems. Hier kann es gastrointestinale Blutungen, Herz-Kreislauf Schock, Ohnmacht oder Krämpfe, schwere metabolische Azidose und akutes Atemnotsyndrom hervorrufen.

Es gibt kein spezielles Antidot (Pandey et al 2000).

Die Arbeitsgruppe von Tobe (1989) fand heraus, dass bis zu 0,02% Formaldehyd im Trinkwasser (10 mg/kg Körpergewicht bei Wistar-Ratten) über 24 Monate keine gesundheitlichen Nachteile hervorruft. Konzentrationen von 0,5% jedoch bewirkten, dass alle Versuchstiere binnen der Versuchszeit von 24 Monaten starben. Bei diesen Tieren wurden Magengeschwüre, Magenentzündungen und Hyperplasien gefunden. Die letztgenannten Effekte wurden auch bei einigen Tieren beobachtet, die mit 0,1% Formaldehyd versetztes Trinkwasser bekamen (Tobe et al 1989).

Die orale Aufnahme von höher konzentriertem Formalin führt zu Verätzungen im Ösophagus und im Magen-Darm-Trakt, verbunden mit starken Schmerzen, Erbrechen, Bewusstlosigkeit bzw. Koma (GESTIS 2004).

Kontakt mit wässrigen Lösungen des Formaldehyds führt zu Verhärtung der Haut sowie zu Verätzung der Augen und der Haut. Auch Ekzembildung ist möglich (GESTIS 2004).

Gasförmiger Formaldehyd reizt stark die Augen und die Atemwege. Bei Luftkonzentrationen oberhalb von 10 ml/m³ werden schwere Atmungsstörungen und Leberstoffwechselstörungen beschrieben. Bei Konzentrationen oberhalb von 25 ml/m³ besteht Lebensgefahr durch ein toxisches Lungenödem (Gestis 2004).

4.4.3 Karzinogenität

Die Anfang der 80er Jahre einsetzende wissenschaftliche und öffentliche Diskussion über karzinogene Wirkungen von Formaldehyd war insbesondere auf tierexperimentelle Studien der Arbeitsgruppe um Swenberg zurückzuführen (Swenberg et al. 1980). Nach Inhalation hoher Konzentrationen von Formalde-

hyd treten bei Ratten in der Nasenhöhle in erhöhter Anzahl Plattenepithel-Karzinome auf.

Die Kanzerogenität von Formaldehyd war und ist Gegenstand zahlreicher Studien, die die Wirkung auf Mensch und Tier untersuchen. Hier sollen vor allem die Arbeiten Beachtung finden, die die Wirkungen nach inhalativer Exposition erforschen.

Roush und Mitarbeiter (1987) sowie West und Mitarbeiter (1993) berichteten über einen Zusammenhang zwischen Nasopharyngealkarzinomen und dem Umgang mit Formaldehyd.

In in vitro Versuchen hat Formaldehyd sich als erbgutverändernd herausgestellt. In vivo haben sich nach Formaldehyd-Applikation durch Magensonden oder Inhalation zytogenetische Veränderungen in Geweben gezeigt, die in direktem Kontakt mit der Chemikalie stehen (IARC 1995).

Die Arbeitsgruppe von Vaughan und Mitarbeitern (2000) führte eine Studie an Arbeitern durch, die den Verdacht erhärtete, dass durch berufliche Belastung mit Formaldehyd das Risiko für Nasopharyngealkarzinome gesteigert wird.

Armstrong und Mitarbeiter (2000) führten jedoch eine Studie an 282 Chinesen durch, die keinen Zusammenhang zwischen Nasopharyngealkarzinomen und Formaldehyd herstellen konnte.

Die Arbeitsgruppe von Laforest (2000) führte eine Untersuchung durch, die zu dem Ergebnis kam, dass ein möglicher Zusammenhang zwischen Formaldehydexposition und dem Risiko für Hypopharynxkarzinome bestehen könnte. Dieses Risiko wird durch Dauer und zunehmenden Grad der Exposition erhöht (Laforest et al. 2000).

Auch Burgaz und Mitarbeiter (2002) vermuten einen Zusammenhang zwischen Karzinomen der Wangenschleimhaut und im nasopharyngealen Bereich und der Inhalation von Formaldehyd. Bereits 2001 berichteten Burgaz und Mitarbeiter über zytogenetische Veränderungen der Epithelzellen der Nase nach geringer Belastung mit Formaldehyd.

Ebenso fanden Hauptmann und Mitarbeiter (2004) einen Zusammenhang zwischen Formaldehydbelastung und nasopharyngealen Karzinomen, jedoch keine Korrelation zu Pankreas-, Gehirn- Lungen- oder Prostatakarzinomen.

Die Arbeitsgruppe von Coggon (2003) führte eine Studie durch, die ebenfalls zu dem Ergebnis kam, dass Arbeiter in Fabriken mit hohen Formaldehyd-Expositionen eine signifikant erhöhte Rate von Lungenkrebs haben, jedoch kein erhöhtes Risiko für Leukämien. Allerdings waren bei den Todesursachen der Kohorte im Hinblick auf respiratorische Krankheiten chronisch obstruktive Lungenerkrankungen und Bronchopneumonie die Hauptursachen. Untersucht wurden hier 14014 Arbeiter britischer Fabriken, in denen Formaldehyd produziert oder genutzt wurde (Coggon et al 2003).

Jedoch findet man auch Studien, die einen Zusammenhang zu Leukämien herstellen. Hauptmann und Mitarbeiter (2003) fanden heraus, dass Arbeiter bei kurzzeitiger Exposition gegenüber hohen Formaldehydkonzentrationen (über 4 ml/m³) ein relatives Risiko von 3,5 für myeloische Leukämie haben. Dies war die erste Studie, die Kurzzeit-Belastungen mit sehr hohen Formaldehydkonzentrationen berücksichtigt hat, wie sie zum Beispiel beim Auffüllen von Maschinen mit dieser Chemikalie vorkommen.

Formaldehyd wurde im Jahr 2000 von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) in die neue Kategorie 4 für krebserzeugende Arbeitsstoffe eingestuft (Kategorie 4: „Stoffe mit krebserzeugender Wirkung, bei denen ein nicht-genotoxischer Wirkungsmechanismus im Vordergrund steht und genotoxische Effekte bei Einhaltung des MAK- und BAT-Wertes keine oder nur eine untergeordnete Rolle spielen. Unter diesen Bedingungen ist kein nennenswerter Beitrag zum Krebsrisiko für den Menschen zu erwarten.“) Der MAK-Wert wurde auf 0,3 ml/m³ gesenkt. Bei Einhaltung dieses Grenzwertes können Irritationen der oberen Atemwege und dadurch auch eine gesteigerte Zellproliferation vermieden werden (DFG 2000).

Die MAK-Kommission gibt in ihrer Begründung an, dass neuere Studien den Verdacht bestätigt haben, dass die bei Ratte und Maus nach Gabe von höheren

Dosen beobachteten Tumoren Folge chronischer entzündlicher Prozesse durch die zytotoxischen Wirkungen von Formaldehyd seien (Heger 2003). Nach einer amerikanischen Risikoabschätzung ist bei einer Exposition gegenüber 0,3 ml/m³ über ein Arbeitsleben von 40 Jahren das zusätzliche Krebsrisiko für Nichtraucher bei $1,3 \times 10^{-8}$ und für Raucher mit $3,8 \times 10^{-7}$ anzusetzen. Der höhere Wert für Raucher ergibt sich aus der Tatsache, dass Tabakrauch eine erhebliche Menge Formaldehyd enthält (Heger 2003).

Laut Gefahrstoffverordnung ist Formaldehyd seit 2003 in die Kanzerogenitäts-Kategorie 3, R 40 eingestuft (R 40 = Verdacht auf krebserzeugende Wirkung; GefStoffV 01.01.2003).

Im Juni 2004 hat eine Arbeitsgruppe der International Agency for Research on Cancer (IARC) Formaldehyd auf der Grundlage epidemiologischer und tierexperimenteller Daten als krebserzeugend für den Menschen eingestuft (Cogliano et al. 2005). Danach liegen ausreichende Beweise für die Verursachung nasopharyngealer Tumoren sowie starke, aber nicht ausreichende Beweise für die Verursachung von Leukämien vor. Die Publikation dieser Neueinstufung in einer Monographie (IARC Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans, Vol. 88) ist vorgesehen, bislang aber noch nicht erfolgt.

Für Formaldehyd galt bis 2004 ein rechtsverbindlicher MAK-Wert von 0,5 ml/m³ (TRGS 900, 2000), der von der MAK-Kommission empfohlene Grenzwert von 0,3 ml/m³ war also noch nicht in die entsprechenden Technischen Regeln (TRGS 900, 2000) übernommen worden. Mit Erlass der neuen Gefahrstoffverordnung zum 1. Januar 2005 (Gefahrstoffverordnung, 2004) gelten jedoch neue Regelungen für Grenzwerte am Arbeitsplatz. In Umsetzung der EU-Richtlinie 98/24/EG (1998) werden zukünftig Grenzwerte für Gefahrstoffe in der Luft am Arbeitsplatz als Arbeitsplatzgrenzwerte (AGW) definiert. Dabei sind für eine Vielzahl von Stoffen in der EU-Richtlinie 2000/39/EG (2000) bereits so genannte Arbeitsplatzrichtgrenzwerte festgelegt worden, die dann als Arbeitsplatzgrenzwerte in nationales Recht übernommen werden. Für Formaldehyd ist

jedoch kein Arbeitsplatzrichtgrenzwert festgesetzt worden, so dass bis zur Neufassung der TRGS 900 der vormalige MAK-Wert von $0,5 \text{ ml/m}^3$ als Arbeitsplatzgrenzwert galt. Mit Erlass der neuen TRGS 900 (2006) ist für Formaldehyd kein Arbeitsplatzgrenzwert festgelegt worden. Nach derzeitiger Rechtslage bedeutet dies, dass vom Erlassdatum an für Formaldehyd der ehemalige MAK-Wert nicht mehr als Arbeitsplatzgrenzwert gelten darf und allenfalls orientierend für Belastungsbeurteilungen herangezogen werden kann. Eine Begründung für die Streichung des Formaldehyd-Grenzwertes liegt bisher nicht vor, jedoch ist davon auszugehen, dass der zuständige Ausschuss für Gefahrstoffe die Datenlage als nicht ausreichend betrachtet hat, insbesondere im Hinblick auf die bereits erwähnte Neubewertung von Formaldehyd als krebserzeugend für den Menschen durch die IARC (Cogliano et al. 2005).

4.5 Anforderungen an Messverfahren für Luftmessungen

In der TRGS 900 (2000) sind die Anforderungen an Messverfahren für Gefahrstoffe in der Luft definiert:

- (1) Das Messverfahren muß der zu messenden Komponente, ihrem Grenzwert und der Arbeitsbereichsatmosphäre angepaßt sein. Das Messergebnis muß eindeutig für die Messgröße (Konzentration der zu messenden Komponente) sein; das Verfahren muß das Messergebnis in der durch den Grenzwert vorgegebenen Dimension direkt oder indirekt (z.B. durch Umrechnung) liefern.
- (2) Die Mittelungsdauer bzw. Probenahmedauer des Messverfahrens muß den in dieser TRGS gestellten Anforderungen entsprechen.
- (3) Bestimmungsgrenze, Empfindlichkeit und Präzision des Messverfahrens müssen dem Grenzwert angepaßt sein. Mit dem Verfahren sollen Konzentrationen der zu messenden Komponente mindestens in dem Bereich zwischen einem Zehntel, notwendigerweise aber einem Fünftel und dem Dreifachen des Grenzwertes gemessen werden können. Bei direktanzeigenden Messgeräten

soll der Endwert des kleinsten Messbereichs nicht größer als das Fünffache des Grenzwertes sein.

(4) Die Richtigkeit des Analysenverfahrens sollte durch Vergleichsversuche (z.B. mit standardisierten Verfahren) oder durch Mischversuche (z.B. mit Prüfgasen) sichergestellt sein.

(5) Ist das Messverfahren nicht spezifisch, so ist der volle Messwert als Messkomponente zu rechnen.

(6) Die Messunsicherheit als integraler Fehler aus allen bei einer Messung auftretenden systematischen und zufälligen Fehlern soll 30 % nicht überschreiten.

(7) Das Messverfahren soll sich unter praktischen Einsatzbedingungen bewährt haben.

4.5.1 Kurzzeitwerte

Ebenfalls in der TRGS 900 (2000) ist die Begrenzung von Expositionsspitzen (Kurzzeitwerte) geregelt:

(1) An Arbeitsplätzen kann die Konzentration der Stoffe in der Atemluft erheblichen Schwankungen unterworfen sein. Die Abweichung vom Mittelwert nach oben bedarf bei vielen Stoffen der Begrenzung, um Gesundheitsschäden zu verhüten.

(2) Für die Begrenzung von Expositionsspitzen gelten folgende Regelungen:

Die Konzentration lokal reizender und geruchsintensiver Stoffe soll zu keinem Zeitpunkt höher sein als die Grenzwertkonzentration (Überschreitungsfaktor 1). Für einzelne Stoffe können andere Überschreitungsfaktoren festgelegt sein. Die betriebliche Überwachung soll durch meßtechnische Mittelwertbildung über 15 Minuten erfolgen, z.B. durch eine 15 minütige Probenahme. Bei Einhaltung des 15-Minuten-Mittelwertes ist zusätzlich darzulegen, aus welchen technologischen oder organisatorischen Gründen davon ausgegangen werden kann, daß die Grenzwertkonzentration zu keinem Zeitpunkt überschritten wird. Die Stoffe werden in der TRGS 900 in der Spalte "Spitzenbegrenzung" durch das Zeichen = = und den Überschreitungsfaktor ausgewiesen (in der Regel: =1=)

Die mittlere Konzentration resorptiv wirksamer Stoffe und von Stoffen mit Luftgrenzwerten, die nach dem TRK-Konzept aufgestellt wurden, soll in keinem 15-Minuten-Zeitraum die 4fache Grenzwertkonzentration überschreiten (15-Minuten-Mittelwert, Überschreitungsfaktor 4). Für einzelne Stoffe oder Stoffgruppen können andere Überschreitungsfaktoren festgelegt sein. Die Stoffe werden in der TRGS 900 in der Spalte "Spitzenbegrenzung" durch Angabe des Überschreitungsfaktors ausgewiesen (in der Regel: 4).

(3) Die Dauer der erhöhten Exposition darf in einer Schicht insgesamt 1 Stunde nicht übersteigen.

Es sei angemerkt, dass mit Erlass der neuen Gefahrstoffverordnung (2004) keine Grenzwerte für krebserzeugende Stoffe mehr festgelegt sind, TRK-Werte somit keine Gültigkeit mehr haben.

4.5.2 Analytische Methoden zur Bestimmung von Aldehyden und Ketonen in der Luft

Neben der 2,4-Dinitrophenylhydrazin-Methode, die in dieser Arbeit als Referenzmethode für die neu entwickelte 4-Methoxy-6-(4-methoxy-1-naphthyl)-1,3,5,-triazin-2-hydrazin (MMNTH)-Methode diente, gibt es noch zahlreiche weitere Verfahren zur Erfassung von Aldehyden und Ketonen in der Luft.

Zu unterscheiden sind zunächst Methoden mit und ohne vorherige Derivatisierung der zu analysierenden Komponenten. Weiterhin muss differenziert werden in solche Verfahren, die ohne Trennungsschritt zur Abtrennung möglicher Störkomponenten arbeiten und solche, die chromatographische Trennverfahren einsetzen. Weitere Unterscheidungskriterien sind die Art und Weise der Probenahme und die angewandten Detektionsverfahren.

Es gibt sogenannte direktanzeigende Nachweismethoden („real-time-monitoring“), die Konzentrationsbestimmungen in Echtzeit ermöglichen. Diese können jedoch aus verschiedenen Gründen allenfalls für orientierende Messungen ver-

wendet werden und haben sich in der Arbeitsplatzanalytik bisher nicht durchgesetzt. Trotzdem sollen sie hier kurz vorgestellt werden.

Tragbare Infrarotanalysatoren (Syrjala 1977) nutzen charakteristische IR-Absorptionen der zu analysierenden Substanzen für die Quantifizierung. Die Analysatoren erlauben die direkte Quantifizierung von Stoffkonzentrationen mit nur kurzer, von der Dimension der Messzelle und der eingestellten Flussrate abhängiger Zeitverzögerung. In Verbindung mit entsprechenden Registriergäten können Konzentrationsverläufe aufgezeichnet und Mittelwerte z.B. über die Länge einer Arbeitsschicht ermittelt werden. Die Nachweisgrenzen liegen substanzabhängig in der Regel unter 1 ml/m^3 , der Messfehler liegt häufig unter 2% (Syrjala 1977). Wesentlicher Nachteil der IR-Analysatoren ist jedoch die prinzipielle Querempfindlichkeit gegenüber Stoffen, die im gleichen Wellenlängenbereich absorbieren wie der zu quantifizierende Analyt. Auch Probleme bei der Kalibration der Analysatoren haben dazu geführt, dass sie für Konzentrationsbestimmungen im Rahmen einer Arbeitsplatzüberwachung von Grenzwerten kaum einsetzbar sind. Samimi (1983) beschreibt Messfehler zwischen 4,2 und 29,3%, die durch Substanzverluste über Wandadsorptionen der Analyten in den verwendeten Kalibrationssystemen hervorgerufen werden.

Vielversprechende Entwicklungen im Bereich der Formaldehyd-Bestimmung sind auf dem Gebiet der Sensortechnik zu verzeichnen. Huang und Dasgupta (1996) haben in einer Übersichtsarbeit verschiedene, aus Elektroden und ionenleitenden flüssigen Phasen bestehende elektrochemische Sensoren beschrieben, die den bei der Oxidation von Formaldehyd entstehenden Elektronenfluß zur Quantifizierung nutzen. Die Sensoren sind zwar prinzipiell für die Formaldehyd-Bestimmung geeignet, zeigen aber Querempfindlichkeiten gegenüber Alkoholen und Phenolen und weisen für Arbeitsplatz- und Umweltmessungen ungeeignete Nachweisgrenzen auf. Zudem sind sie bisher nicht in Feldversuchen bei der Bestimmung von Realproben validiert worden. Guilbault (1983) entwickelte einen Biosensor für Formaldehyd, indem er einen piezoelektrischen Kristall mit Formaldehyd-Dehydrogenase beschichtete. Der Sensor wies einen linearen Messbereich von $0,01$ bis 10 ml/m^3 auf, das Messergebnis

zeigte aber eine deutliche Abhängigkeit von der jeweils herrschenden Luftfeuchtigkeit.

Weiterhin soll noch auf die Möglichkeit hingewiesen werden, Formaldehyd mit Hilfe von direktanzeigenden Röhrchen (z.B. Firma Dräger oder Auer) in Messbereichen zwischen 0,04 und 5 sowie 5 – 50 ml/m³ nachzuweisen. Diese Röhrchen weisen jedoch ebenfalls eine erhebliche Querempfindlichkeit gegenüber verschiedenen Substanzen auf. Darüberhinaus liegt die Standardabweichung zwischen 20 und 30%. Für exakte Messungen im Rahmen der Arbeitsplatz- und Umweltanalytik sind sie daher nicht geeignet, wohl aber für orientierende Messungen zur Abschätzung der Formaldehydkonzentration vor Einsatz aufwendigerer Analyseverfahren.

Auch photometrische Methoden, die eine Farbreaktion der Aldehyde und Ketone zur Quantifizierung nutzen, wurden entwickelt. Nash (1953) entwickelte eine photometrische Detektionsmethode, die auf einer Reaktion von Formaldehyd mit Acetylaceton in Gegenwart von Ammonium-Ionen zu einem gelb gefärbten Diacetyldihydrolutidin basierte. Nash selber wies jedoch schon auf die Querempfindlichkeit mit anderen Aldehyden und weiteren Stoffen hin, die eine Verfälschung des Ergebnisses bis 20% zur Folge hatte.

Lyles und Mitarbeiter (1965) entwickelten eine weitere photometrische Analyseverfahren, die 1968 von Lahmann und Jander weiterentwickelt (Pararosanilin-Methode) und von der Deutschen Forschungsgesellschaft 1977 als Standardmethode zur Bestimmung von Formaldehyd qualifiziert wurde.

Mit dieser Methode sind jedoch weder Kurzzeitwerte messbar noch kann sie personenbezogen eingesetzt werden. Aufgrund dieser Tatsache und der ebenfalls vorhandenen Querempfindlichkeit und Instabilität ist die Methode insgesamt weniger gut für die Messungen von Formaldehyd am Arbeitsplatz geeignet.

Die von Sawicki und Mitarbeitern (1961) entwickelte und von Rodriguez und Mitarbeitern (1995) modifizierte MBTH-Methode beruht auf der Umsetzung von Formaldehyd mit 3-Methyl-2-benzthiazolon-hydraxon-hydrochlorid (MBTH). In

Gegenwart von Oxidationsmitteln (Eisen(III)-chlorid) bildet sich ein blau gefärbter Tetraazapentamethincyanin-Farbkomplex. Diese Methode erlaubt zwar eine schnelle Bestimmung von Formaldehyd, ist jedoch nicht in der Lage, Konzentrationen im Bereich des MAK-Wertes bei angemessener Probenahmedauer zu erfassen. Außerdem hat auch diese Methode eine hohe Querempfindlichkeit gegenüber anderen Carbonylverbindungen.

Weitere Methoden zur Analyse von Carbonylverbindungen basieren auf einer gaschromatographischen Trennung der Analyten. Zu unterscheiden ist zwischen Verfahren, mit denen die unveränderten Carbonylverbindungen analysiert werden und solchen, bei denen der Analyse ein Derivatisierungsschritt vorgeschaltet wird.

Das National Institute of Occupational Safety and Health der Vereinigten Staaten von Amerika (NIOSH 1994a/b) hat verschiedene gaschromatographische Methoden (ohne Derivatisierung) zur Bestimmung von Carbonylverbindungen in der Luft empfohlen. Auch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (1991, 1993) hat gaschromatographische Methoden empfohlen.

Bei der für Aceton, Cyclohexanon, 4-Methyl-2-pentanon und einige weitere Ketone geeigneten Methode Nr. 1300 (NIOSH 1994a) erfolgt die Probenahme auf Aktivkohle aus Kokosnußschalen. Nach Desorption mit Schwefelkohlenstoff wird gaschromatographisch analysiert und mit einem Flammenionisationsdetektor (FID) detektiert.

Für 2-Butanon wird eine gesonderte Methode mit der Nr. 2500 empfohlen (NIOSH 1994b), bei der die Probenahme auf Kohlenstoff-Molekularsieb erfolgt. Der Desorption mit Schwefelkohlenstoff folgt eine gaschromatographische Trennung.

Diese Methoden wiesen jedoch zahlreiche Nachteile auf, z.B. verminderte, un-reproduzierbare Wiederfindungsraten, die grundsätzliche Probleme bei der Quantifizierung nach sich ziehen (Folke et al. 1984, Levin und Carleborg 1987), so dass sich diese Methoden neben der Hochdruckflüssigkeitschromatographie nicht durchsetzen konnten.

Auch gaschromatographische Methoden mit Derivatisierung wurden zahlreich beschrieben. So nutzte Vogh (1971) die Umsetzung von Carbonylverbindungen mit dem Hydrochlorid des Hydroxylamins und die anschließende gaschromatographische Trennung der entstandenen Oxime. Die Reaktion von Aldehyden mit Ethanolamin-Derivaten zu Oxazolidinen nutzten Kennedy und Hill (1982) für die gaschromatographische Bestimmung von Formaldehyd in der Luft. Papa und Turner (1972) nutzten für ihre Methode bereits die Umsetzung von Carbonylverbindungen zu 2,4-Dinitrophenylhydrazonen.

Durch die Derivatisierung wird zwar eine deutliche Steigerung der Selektivität bei Probennahme und Probenaufbereitung erreicht, jedoch treten häufig Probleme wie Zersetzungsreaktionen durch die Überführung der Derivate in die Gasphase und die zur Trennung notwendigen hohen Temperaturen auf.

In den 60er Jahren (Römpp 2004) wurde die Technik der HPLC entwickelt. Sie gewann im Laufe der Zeit zunehmende Bedeutung insbesondere für die Analyse von thermisch labilen oder nicht in die Gasphase überführbaren Stoffen. Mittlerweile gehört die HPLC zu den chromatographischen Standardverfahren in vielen Bereichen der analytischen Chemie.

Für die Derivatisierung von Carbonylverbindungen für die HPLC-Analyse werden reaktive Reagenzien eingesetzt, die zu Derivaten mit gutem chromatographischen Verhalten und entsprechenden Detektionseigenschaften führen.

Die Methode, die in dieser Arbeit als Referenzmethode zu der neu entwickelten MMNTH-Methode dient, wurde von Binding und Mitarbeitern (1986) entwickelt. Sie basiert auf der Umsetzung von Aldehyden und Ketonen mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin. Diese Methode erfüllt alle Kriterien eines validen Analyseverfahrens (siehe Kap. 4.5.3) und bedient sich der Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) als Trennverfahren.

Nach der hochdruckflüssigkeitschromatographischen Trennung werden die Analyten mit Hilfe der UV-Detektion detektiert und über die jeweiligen Peakflächen quantifiziert.

In der UV-Detektion liegt jedoch auch ein wesentlicher Nachteil dieser Methode: Die Derivate der verschiedenen Aldehyde und Ketone absorbieren UV-Licht in Abhängigkeit vom derivatisierten Analyten bei unterschiedlichen Absorptionswellenlängen. Dieses Phänomen ist die Folge der direkten Bindung der reaktiven Hydrazinfunktion an die chromophore Dinitrophenylgruppe. Elektronische Einflüsse der unterschiedlichen derivatisierten Aldehyde oder Ketone werden über die Hydrazonbrücke auf das Chromophor übertragen und führen zu Verschiebungen der Absorptionswellenlängen. Dies bedeutet, dass es keine einheitliche Detektionswellenlänge für die 2,4-DNP-Hydrazone von Carbonylverbindungen gibt. Üblicherweise wird eine mittlere Detektionswellenlänge gewählt, die aber dazu führt, dass die Derivate mit unterschiedlicher Empfindlichkeit detektiert werden und für die quantitative Auswertung für jeden Analyten eine eigene Kalibrationsfunktion erstellt werden muss.

4.5.3 Entwicklung einer neuen hochdruckflüssigkeitschromatographischen Methode zur Bestimmung von Aldehyden und Ketonen

Im Hinblick auf die im vorangegangenen Kapitel beschriebenen Unzulänglichkeiten sowohl der direktanzeigenden, der photometrischen als auch der chromatographischen Methoden zur Bestimmung von Carbonylverbindungen in der Luft erscheint die Entwicklung neuer Analyseverfahren notwendig.

Ein valides Analyseverfahren für Aldehyde und Ketone sollte mindestens folgende Anforderungen erfüllen:

1. Thermisch neutrale Analysebedingungen zur Vermeidung von Zersetzungsreaktionen
2. Selektivität bzw. Spezifität für die Gruppe der Carbonylverbindungen
3. Ausreichende Empfindlichkeit zur Erfassung arbeitsplatz- und umweltrelevanter Konzentrationen
4. Ausreichende Kapazität für Langzeitmessungen

5. Geringe bzw. eliminierbare Querempfindlichkeit gegenüber anderen Substanzen
6. Geeignetes Probenahmesystem für die am Arbeitsplatz erforderliche personenbezogene Probenahme

Ein geeignetes Trennverfahren mit guter Trennleistung und Empfindlichkeit ist die Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC). Dieses Verfahren bietet den besonderen Vorteil der Analyse in flüssiger Phase bei Raumtemperatur, so dass der Analyt keiner thermischen Belastung ausgesetzt ist, die im Falle der Gaschromatographie große Nachteile mit sich bringt.

All diese Kriterien erfüllt die oben beschriebene 2,4-DNPH-Methode, auf deren Nachteil, die Abhängigkeit der Absorptionswellenlänge vom jeweils derivatisierten Analyten, jedoch bereits im vorangegangenen Kapitel hingewiesen wurde.

Von großem Vorteil wäre also ein Reagenz, in dem die Eigenschaften der detektierbaren Gruppe nicht durch die jeweiligen Analyten beeinflusst werden.

Dies könnte erreicht werden, indem die reaktive Gruppe des Reagenzes durch ein elektronisch isolierendes Zentralmolekül von der detektierbaren Gruppe getrennt würde. Auf der Grundlage dieser Idee wurde die Grundstruktur eines modular aufgebauten Derivatisierungsreagenzes entworfen, das an einem (isolierenden) Zentralmolekül eine reaktive, eine detektierbare und bei Bedarf noch eine die Löslichkeit und die chromatographischen Eigenschaften beeinflussende Gruppe trägt (Abb. 22).

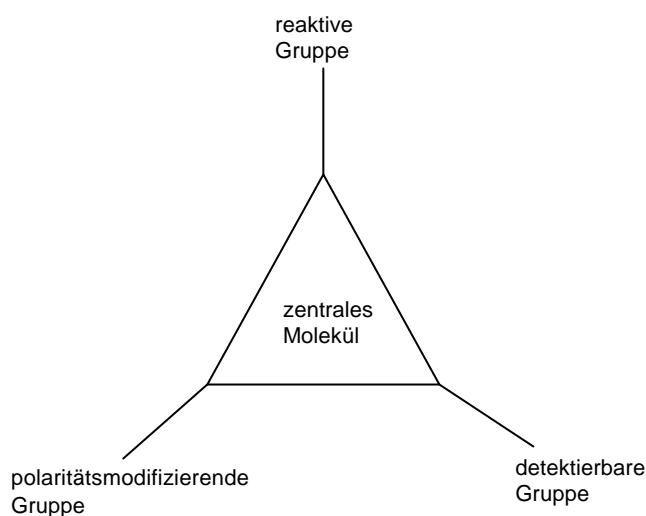


Abbildung 22 : Grundstruktur eines modularen Derivatisierungsreagenzes

Cyanurchlorid (Trichlortriazin) weist hervorragende Eigenschaften als mögliches Zentralmolekül auf. Durch den heterocyclischen Aufbau mit alternierenden Kohlenstoff- und Stickstoffatomen unterscheidet sich das π -Elektronensystem des Ringes deutlich von dem anderer aromatischer Ringsysteme. Aufgrund der unterschiedlichen Elektronegativitäten von Kohlenstoff und Stickstoff sind Veränderungen der Elektronenverteilung durch Ringsubstituenten und damit die Vermittlung mesomerer oder induktiver Effekte auf andere Substituenten nur begrenzt möglich. Damit wäre die notwendige Isolator-Funktion erfüllt.

Zudem können in einer dreistufigen, thermisch kontrollierten Synthese können bei 0, 40 und 80 °C die drei Chloratome des Cyanurchlorids successive durch andere Gruppen substituiert werden. Dies macht Cyanurchlorid zur idealen Ausgangsverbindung für den geplanten modularen Aufbau der Reagenzien.

Als detektierbares Modul wurde die Methoxynaphthylgruppe gewählt, die chromophore und fluorophore Eigenschaften besitzt und somit sowohl mit der UV- als auch mit der Fluoreszenzdetektion erfasst werden kann. Als reaktives Modul wurde wiederum die für Carbonylverbindungen selektive Hydrazingruppe genutzt. Als polaritätsmodifizierendes Modul diente eine Methoxygruppe.

Mit der Synthese von 4-Methoxy-6-(4-methoxy-1-naphthyl)-1,3,5-triazin-2-hydrazin (MMNTH) ist es gelungen, ein völlig neu konzipiertes modular aufge-

bautes Reagenz zu entwickeln, das selektiv für die Gruppe der Carbonylverbindungen ist und zudem die gewünschte Isolierung der detektierbaren Gruppe zeigt: Alle Derivate aliphatischer Carbonylverbindungen absorbieren UV-Licht bei der gleichen Wellenlänge.

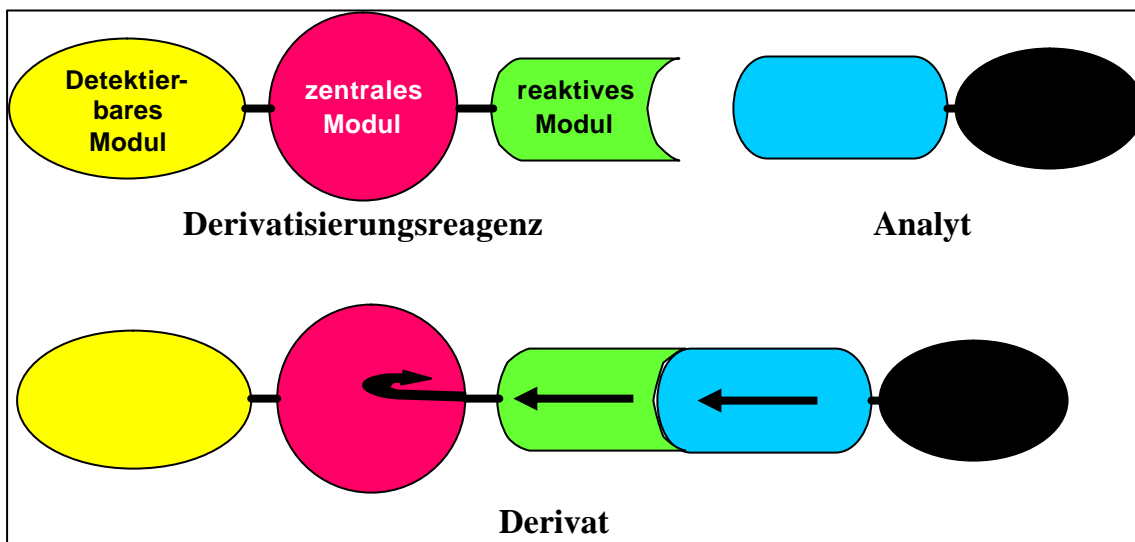


Abbildung 23: elektronische Abschirmung der detektierbaren Gruppe durch die Isolatorwirkung des Zentralkörpers

4.5.4 Vergleich der 2,4-DNPH- mit der MMNTH-Methode

Anhand der ermittelten Qualitätskriterien für die beiden Messmethoden (vgl. Kap. 3.3 und 3.4) zeigt die MMNTH-Methode mit UV-Detektion die niedrigste Nachweisgrenze ($0,012 \text{ ml/m}^3$), gefolgt von der 2,4-DNPH-Methode und der MMNTH-Methode mit Fluoreszenzdetektion. Die gleiche Reihenfolge gilt natürlich auch für die Bestimmungsgrenze.

Mit 98-119% (MMNTH-UV-Methode) bzw. 84-88% (MMNTH-Floureszenz-Methode) weist das MMNTH-Verfahren hohe Wiederfindungsraten auf, wobei der Wert von 119% nur bei der niedrigsten Formaldehydkonzentration gefunden wurde (vgl. Kap. 3.4.4). Die DNPH-Methode weist mit 98-100,7% eine vergleichbare Wiederfindungsrate auf.

Im Hinblick auf die Reproduzierbarkeit der Methoden wurden mit relativen Standardabweichungen von 1,46- 5,72% (DNPH-Methode), 6,81-14,3% (MMNTH-UV-Methode) und 5,91-12,0% (MMNTH-Fluoreszenz-Methode) für die DNPH-Methode niedrigere Werte ermittelt. Es sei aber darauf hingewiesen, dass relative Standardabweichungen von über 10% bei den beiden MMNTH-Methoden nur bei geringen Formaldehydkonzentrationen und insbesondere bei den Untersuchungen der Standardabweichung von Tag zu Tag auftraten (vgl. Kap. 3.4.5).

Die Kapazität der DNPH-Probenahmeröhrchen liegt mit 350 µg Formaldehyd deutlich höher als die der MMNTH-Röhrchen mit 93 µg. Dies ist insofern nicht überraschend, als sich die molare Belegung der jeweiligen Sammelphasen deutlich unterscheidet. So enthalten 100 mg der MMNTH-beschichteten Sammelphase 3,3 µmol MMNTH, während 100 mg der DNPH-Phase 131 µmol 2,4-DNPH enthalten. Legt man die Menge des jeweils verfügbaren Derivatisierungsreagenzes zugrunde, so ergibt sich für die MMNTH-Methode eine deutlich höhere Effektivität und eine etwa zehnfach höhere Kapazität im Vergleich zur DNPH-Methode.

Bei den Untersuchungen zur Lagerungsfähigkeit von mit Formaldehyd beaufschlagten Probenahmeröhrchen zeigte sich, dass bei beiden Methoden reproduzierbare Analysenwerte noch nach einer Lagerungsdauer von 3 (MMNTH) bzw. 4 Wochen (2,4-DNPH) gefunden werden. Dieses Ergebnis belegt die Stabilität der Formaldehydhydrazone beider Reagenzien.

Insgesamt zeigen die ermittelten Qualitätskriterien, dass Formaldehydkonzentrationen in der Luft mit beiden Methoden mit vergleichbarer Zuverlässigkeit bestimmt werden können. Auf zwei wesentliche Vorteile des neu entwickelten Reagenzes MMNTH sei aber nochmals hingewiesen: 1. die Möglichkeit, neben der UV-Detektion auch die Fluoreszenzdetektion einsetzen zu können und 2. die vereinfachte Kalibration bei der simultanen Bestimmung verschiedener Carbonylverbindungen durch die einheitlichen Absorptionswellenlängen der Derivate (vgl. Kap. 4.6.3). Alle Carbonylverbindungen in einer Probe können über

die Kalibrationsfunktion einer einzigen Verbindung mit gleicher Qualität quantifiziert werden.

Der vergleichende Einsatz der Methoden im Feldversuch zur Bestimmung der Formaldehydbelastung in einem Institut für Pathologie bestätigte die vergleichbare Qualität der DNPH- und MMNTH-Methoden. Zwar lagen die mit der MMNTH-Methode ermittelten Werte in der überwiegenden Zahl der Fälle etwas niedriger als die mit der DNPH-Methode bestimmten, zum Teil jedoch auch etwas höher (vgl. Kap. 3.5.4). Die ermittelte maximale mittlere Abweichung von etwa 10% liegt aber in einem tolerierbaren Bereich und lässt sich z.B. auf leicht unterschiedliche Volumenströme der eingesetzten Probenahmepumpen zurückführen.

Alle ermittelten Werte zeigen, dass das untersuchte Institut für Pathologie über eine leistungsfähiges Lüftungssystem verfügt. Die Messwerte lagen zu keinem Zeitpunkt über dem zum Zeitpunkt der Messung geltenden Grenzwert von 0,5 ml/m³ und nur bei zwei Messungen über 0,3 ml/m³ (im Atembereich der MTA während der Bearbeitung von relativ großen Präparaten). Der Grenzwert für Formaldehyd am Arbeitsplatz war damit zu jeder Zeit eingehalten.

5 Zusammenfassung

Die aktuellen Standardverfahren zur Bestimmung von Formaldehyd in der Luft basieren auf der Derivatisierung der Carbonylverbindung mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin (2,4-DNPH) und nachfolgender hochdruckflüssigchromatographischer Trennung mit UV-Detektion. Ziel dieser Arbeit war es, eine neue Messmethode zur quantitativen Erfassung von Formaldehyd zu entwickeln, mit dem etablierten Standardverfahren zu vergleichen und in einem Feldversuch zu erproben.

Hierzu stand ein neu synthetisiertes Derivatisierungsreagenz zur Verfügung. Das neue Reagenz 4-Methoxy-6-(4-methoxy-1-naphthyl)-1,3,5-triazin-2-hydrazin (MMNTH) trägt an einem zentralen Triazinring eine reaktive Hydrazingruppe, eine detektierbare Methoxynaphthylgruppe und eine die Löslichkeit und die chromatographischen Eigenschaften beeinflussende Methoxygruppe.

Es konnte gezeigt werden, dass MMNTH ein effektives Reagenz zur Derivatisierung von Formaldehyd ist. Ein hochdruckflüssigchromatographisches Verfahren wurde entwickelt, mit dem das entstehende Hydrason getrennt und sowohl UV- als auch fluoreszenzspektrometrisch detektiert werden kann.

Bei der Validierung des neuen Messverfahrens im Vergleich zur etablierten 2,4-DNPH-Methode zeigte sich, dass die Quantifizierung von Formaldehyd mit vergleichbaren Qualitätskriterien gelingt.

In einer Feldstudie in einem Institut für Pathologie wurde belegt, dass beide Verfahren vergleichbare Messergebnisse liefern.

Wesentliche Vorteile der neuen Methode sind UV- und Fluoreszenzaktivität der Derivate sowie die identische UV-Absorptionswellenlänge unabhängig vom derivatisierten Analyten. Mit der MMNTH-Methode steht eine neue sensible Messmethode zur Bestimmung von Formaldehyd (und anderen Carbonylverbindungen) in der Luft zur Verfügung, die alle Anforderungen an ein Analyseverfahren zur Überwachung arbeitsbedingter Expositionen erfüllt.

6 Literaturverzeichnis

1. Anderson L; Lanning JA, Barrell R, Jones JMRH, Wolfe P (1996) Sources and sinks of formaldehyde and acetaldehyde: An analysis of Denver's ambient concentration data. *Atmos Environ* 30:211-223
2. Arias MP, Freixa A, Guardino X (1995) Evaluation of exposure to formaldehyde in a hospital environment. In: *Occupational health for health care workers* (Hagberg M, Hofmann F, Stößel U, Westlander G, Hrsg) 1st update, 1995, ecomed, Landsberg, S191-196
3. Armstrong RW, Imrey PB, Lye MS, Armstrong MJ, Yu MC, Sani S (2000) Nasopharyngeal carcinoma in Malaysian Chinese: occupational exposures to particles, formaldehyde and heat. *Int J Epidemiol* 29:991-8
4. Becker KW (2003) Minimierung der Gefahrstoffexposition in medizinischen Sektionskursen durch Einsatz von Phenoxyethanol. *Gefahrstoffe - Reinhalt Luft*. 63:337-339
5. Binding N (1999) *Air Monitoring von Carbonylverbindungen*. Verlag Dr. Kovac, Hamburg
6. Binding N, Thiewens S, Witting U (1986) Spezifische Bestimmung von Formaldehyd und anderen Aldehyden und Ketonen bei ortsfester und personenbezogener Expositionskontrolle. *Staub - Reinhalt Luft* 46:444-446
7. Binding N, Klänig H (2001) MMNTH - a new fluorescent modular derivatizing agent for carbonyl compounds. *Aldehydes 2001 conference*, Münster

8. Blum F (1893) Der Formaldehyd als Antisepticum. Münch Med Wochenschr 40:601-602
9. Brückner H, Strecker B (1992) Use of chiral monohalo-s-triazine reagents for the liquid chromatographic resolution of DL-amino acids. J Chromatogr 627:97-105
10. Burgaz S, Cakmak G, Erdem O, Yilmaz M, Karakaya AE (2001) Micronuclei frequencies in exfoliated nasal mucosa cells from pathology and anatomy laboratory workers exposed to formaldehyde. Neoplasma 48:144-147
11. Burgaz S, Erdem O, Cakmak G, Erdem N, Karakaya A, Karakaya AE (2002) Cytogenetic analysis of buccal cells from shoe-workers and pathology and anatomy laboratory workers exposed to n-hexane, toluene, methyl ethyl ketone and formaldehyde. Biomarkers 7:151-61
12. Carlier P, Hannachi H, Mouvier G (1990) The chemistry of carbonyl compounds in the atmosphere. Atmos Environ 20:2079-2099
13. Casanova M, Heck HD, Everitt JI, Harrington WW Jr, Popp JA (1988) Formaldehyde concentrations in the blood of rhesus monkeys after inhalation exposure. Food 26:715-6
14. Coggon D, Harris EC, Poole J, Palmer KT (2003) Extended follow-up of a cohort of British chemical workers exposed to formaldehyde. J Natl Cancer Inst 95:1608-1615
15. Coglianò VJ, Grosse Y, Baan RA, Straif K, Secretan MB, El Ghissassi F (2005) Meeting report: Summary of IARC monographs on formaldehyde, 2-butoxyethanol, and 1-tert-butoxy-propanol. Environ Health Perspect 113:1205-1208

16. Coldiron VR, Ward JB, Trieff NM, Janssen HE, Smith JH (1983)
Occupational exposure to formaldehyde in a medical autopsy service. J
Occup Med 25:544-548
17. Deutsche Forschungsgemeinschaft (2000) MAK- und BAT-Werte-Liste
2000. Wiley-VCH, Weinheim
18. Deutsche Forschungsgemeinschaft (1977) Analytische Methoden zur
Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Bd. 1, Luftanalysen:
Formaldehyd, Methodennr.2. Verlag Chemie, Weinheim
19. Deutsche Forschungsgemeinschaft (1991) Analytische Methoden zur
Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Bd. 1, Luftanalysen: 2-
Butenal, Methodennr.1. Verlag Chemie, Weinheim
20. Deutsche Forschungsgemeinschaft (1993) Analytische Methoden zur
Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Bd. 1, Luftanalysen: 2-
Butanon, Methodennr.1. Verlag Chemie, Weinheim
21. Eickmann U (2003) Modellierung der Formaldehydbelastung bei Arbeiten im
Gesundheitsdienst. Gefahrstoffe - Reinhalt Luft 63:325-330
22. EU-Richtlinie 98/24/EG (1998) Richtlinie 98/24/EG des Rates vom 7. April
1998 zum Schutz von Gesundheit und Sicherheit der Arbeitnehmer vor der
Gefährdung durch chemische Arbeitsstoffe bei der Arbeit (vierzehnte
Einzelrichtlinie im Sinne des Artikels 16 Absatz 1 der Richtlinie
89/391/EWG). ABI Nr. L 131:20

23. EU-Richtlinie 2000/39/EG (2000) Richtlinie 2000/39/EG der Kommission vom 8. Juni 2000 zur Festlegung einer ersten Liste von Arbeitsplatz-Richtgrenzwerten in Durchführung der Richtlinie 98/24/EG des Rates zum Schutz von Gesundheit und Sicherheit der Arbeitnehmer vor der Gefährdung durch chemische Arbeitsstoffe bei der Arbeit. ABI Nr. L 142:47
24. Folke J, Johansen I, Cohr K-H (1984) The recovery of ketones from gassampling charcoal tubes. Am Ind Hyg Assoc J 45:231-235
25. GefStoffV (2004) Verordnung zum Schutz vor Gefahrstoffen - Gefahrstoffverordnung. BGBl I/2004:3758
26. GESTIS (2004) Gefahrstoffinformationssystem der gewerblichen Berufsgenossenschaften. Berufsgenossenschaftliches Institut für Arbeitsschutz - BIA : www.hvbg.de/d/bia/index.html
27. Grosjean D, Swanson RD, Ellis C (1983) Carbonyls in Los-Angeles air - contribution of direct emissions and photochemistry. Sci Total Environ 29:65-85
28. Guilbault GG (1983) Determination of formaldehyde with an enzyme-coated piezoelectric crystal detector. Anal Chem 55:1682-1684
29. Hauptmann M, Lubin JH, Stewart PA, Hayes RB, Blair A (2003) Mortality from lymphohematopoietic malignancies among workers in formaldehyde industries. J Natl Cancer Inst 95:1615-1623
30. Hauptmann M, Lubin JH, Stewart PA, Hayes RB, Blair A (2004) Mortality from Solid Cancers among Workers in Formaldehyde Industries. Am J Epidemiol 159:1117-1130

31. Heck HD, Chin TY, Schmitz MC (1983) Distribution of (¹⁴C) formaldehyde in rats after inhalation exposure. *Formaldehyde Toxicity* (Gibson JE, Hrsg.) Hemisphere S26-37
32. Heger M (2003) Neuer Grenzwert für Formaldehyd. *Gefahrstoffe - Reinhalt Luft* 63: 273-274
33. Huang HL, Dsagupta PK (1997) Electrochemical sensing of gases based on liquid collection interfaces. *Electroanalysis* 9:585-591
34. IARC, International Agency for Research on Cancer (1995) IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. *Wood Dust and Formaldehyde*. 62:217-362.
35. Just H-M (2003) Alternativen zur Anwendung von Formaldehyd in medizinischen Einrichtungen. *Gefahrstoffe - Reinhalt Luft* 63:331-335.
36. Kellner R, Thullner I, Funk D, Hallek B, Franke U, Radtke R, Neumann H-D, Overmann T (2003) Formaldehydexposition in Pathologien und Anatomien. *Gefahrstoffe - Reinhalt Luft* 63:299-308.
37. Kempter C, Pötter W, Binding N, Kläning H, Witting U, Karst U (2000) Tailor-made derivatizing agents for liquid chromatography. *Anal Chim Acta* 410:47-64
38. Kennedy ER, Hill RH (1982) Determination of formaldehyde in air as an oxazolidine derivate by capillary gas chromatography. *Anal Chem* 54:1739-1742

39. Laforest L, Luce D, Goldberg P, Begin D, Gerin M, Demers PA, Brugere J, Leclerc A (2000) Laryngeal and hypopharyngeal cancers and occupational exposure to formaldehyde and various dusts: a case-control study in France. *Occup Environ Med* 57:767-73
40. Lahmann E, Jander K (1968) Formaldehyd-Bestimmung in Straßenluft. *Gesundheits-Ingenieur* 89:18-21
41. Levin J-O, Carleborg L (1987) Evaluation of solid sorbents sampling ketones in work-room air. *Ann Occup Hyg* 31:31-38
42. Lyles GR, Dowling FB, Blanchard VJ (1965) Quantitative determination of formaldehyde in the parts per hundred million concentration level. *J Air Pollut Control Assoc* 15:106-108
43. Mußhoff U, Madeja M, Binding N, Witting U, Speckmann EJ (1999) Effects of 2-phenoxyethanol on N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor-mediated ion currents. *Arch Toxicol* 73:55-59
44. Nash T (1953) The colorimetric estimation of formaldehyde by means of the Hantzsch reaction. *J Biochem* 55:416-421
45. NIOSH (1994a) Ketones I, method 1300, issue 2. NIOSH Manual of Analytical Methods, Fourth Edition 1994, NIOSH, Cincinnati
46. NIOSH (1994b) Methyl ethyl ketone, Method 2500, issue 2. NIOSH Manual of Analytical Methods, Fourth Edition 1994, NIOSH, Cincinnati
47. Pandey CK, Agarwal A, Baronia A, Singh N (2000) Toxicity of ingested formalin and its management. *Hum Exper Toxicol* 19:360-366

48. Papa LJ, Turner LP (1972) Chromatographic determination of carbonyl compounds as their 2,4-dinitrophenylhydrazones I. Gas chromatography. J Chromatogr Sci 10:744-747
49. Pötter W (1997) Flüssigchromatographische Bestimmung von Aldehyden und Ketonen mit Hilfe von modularen Derivatisierungsreagenzien und 2,4-Dinitrophenylhydrazin. Inauguraldissertation, Westfälische Wilhelms-Universität Münster
50. RÖMPP online (2004) <http://www.roempp.com/prod/index1.html>. Thieme Chemistry
51. Rodriguez C, Rubio Bravo S, Perez Bendito D (1995) Selective monitoring of formaldehyde in air by use of the stopped-flow-technique. Intern J Environ Anal Chem 61:331-341
52. Roush GC, Walrath J, Stayner LT (1987) Nasopharyngeal cancer, sinonasal cancer and occupation related to formaldehyde: a case control study. J Natl Cancer Inst 79:1221-1224.
53. Samimi BS (1983) Calibration of MIRAM gas analyzers. Extent of vapor loss within a closed loop calibration system. Am Ind Hyg Assoc 44:40-45
54. Sawicki E, Hauser TR, Stanley TW, Elbert W (1961) The 3-methyl-2-benzothiazolone hydrazone test. Anal Chem 33:93-96.
55. Schmuck G, Steffens W, Bomhard E (2000) 2-Phenoxyethanol: a neurotoxicant? Arch Toxicol 74:281-287
56. Spaethe A (2003) Anatomische Leichenfixation bei niedriger Formaldehydkonzentration. Gefahrstoffe - Reinhalt Luft 63:335-336

57. Spicher P, Peters J (1991) Wirksamkeit von Formaldehyd, Glutaraldehyd, Peressigsäure, Chloramin T (N-Chlor-4-toluolsulfonsäureamid), m-Kresol, Ethanol und Benzyldimethyldodecyl-ammoniumbromid gegen Bakterien, die sich in geronnenem Blut befinden (Modellversuche zur chemischen Instrumentendesinfektion). Zbl Hyg 191:457-477
58. SRI International (1984) Chemical Economics Handbook. Stanford Research Institute
59. Swenberg JA, Kerns WD, Mitchell RI, Gralla EJ, Pavkov KL (1980) Introduction of squamous cell carcinoma of the rat nasal cavity by inhalation exposure to formaldehyde vapour. Cancer Res 40:3398-3402
60. Syrjala R (1977) On-site air monitoring. Ind Res 1977:81-85
61. Tobe M, Naito K, Kurokawa Y (1989) Chronic toxicity study on formaldehyde administered orally to rats. Toxicology 56:79-86
62. TRGS 402 (1997) Ermittlung und Beurteilung der Konzentrationen gefährlicher Stoffe in der Luft in Arbeitsbereichen. BArbBI 11/1997:27
63. TRGS 900 (2000) Grenzwerte in der Luft am Arbeitsplatz. Luftgrenzwerte. BArbBI 10/2000:34
64. TRGS 900 (2006) Arbeitsplatzgrenzwerte. BArbBI 1/2006:41
65. Vaughan TL, Steward PA, Teschke K, Lynch CF, Swanson GM, Lyon JL, Berwick M (2000) Occupational exposure to formaldehyde and wood dust and nasopharyngeal carcinoma. Occup Environ Med 57:376-384

66. Vogh JW (1971) Isolation and analysis of carbonyl compounds as oximes. Anal Chem 43:1618-1623
67. Waldinger C, Jäneke A (2003) Ermittlung der Aldehydexposition bei der Flächendesinfektion in humanmedizinischen Einrichtungen. Gefahrstoffe - Reinhalt Luft 63:317-324
68. Wegschneider W (2003) Messtechnische Untersuchung in Formaldehyd belasteten Arbeitsbereichen des Gesundheitswesens. Gefahrstoffe - Reinhalt Luft 63:309-316
69. Weissermel K, Arpe H-J (1994) Industrielle Organische Chemie. VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim
70. West S, Hildesheim A, Dosemeci M (1993) Non-viral risk factors for nasopharyngeal carcinoma in the Philippines: results from a case-control study. Int J Cancer 55:722-727

7 Lebenslauf

8 Danksagungen

Die vorliegende Dissertationsschrift entstand am Institut für Arbeitsmedizin der Universitätsklinik Münster.

Mein besonderer Dank gilt Frau Univ.-Prof. Dr. med. U. Witting und Herrn Prof. Dr. N. Binding für die Ermöglichung dieser Arbeit.

Ausdrücklich möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. N. Binding für seine exzellente Betreuung bedanken. Durch seine zahlreichen Anregungen, seine kompetente und konstruktive Begleitung und sein stets offenes Ohr für Fragen hat er sehr zum Entstehen dieser Arbeit beigetragen.

Darüber hinaus gilt mein Dank allen Mitarbeitern und Mitarbeiterinnen des Instituts für Arbeitsmedizin. Für die kompetente Unterstützung bei den Laborarbeiten gilt ein besonderer Dank Frau Mense und Herrn Rottmann, auf die ich mich immer verlassen konnte. Ohne die Hilfe von Herrn Rottmann wären mir die computergesteuerten Analysen und deren Auswertungen nicht möglich gewesen.

Auch Herrn Bieling gilt mein Dank, der mich bei der Literaturrecherche unterstützt hat.

Meinen Eltern Anne und Matthias Mündelein, die mich, nicht zuletzt durch Ihre liebevolle Erziehung und der daraus entstandenen positiven Lebenseinstellung und dem nötigen Selbstvertrauen meinen Berufswunsch zu verwirklichen, in meinem Studium großartig unterstützt haben, möchte ich ebenfalls besonders danken.