

Beurteilung der Toxizität luftgetragener Stoffe am Arbeitsplatz mittels Leuchtbakterientest

Teil 1: Verfahrensentwicklung

H. Brüggemann-Prieshoff, Th. Gehrke, W. Pflaumbaum, E. Nies

1 Einleitung

Eine wichtige Aufgabe des Arbeitsschutzes besteht in der Ermittlung, Beurteilung und Kontrolle der an Arbeitsplätzen vorhandenen Konzentrationen luftgetragener gefährlicher Stoffe. Vorzugsweise werden Luftgrenzwerte durch Aufkonzentration der Substanzen auf einem Probenträger mit anschließender Desorption und chemischer Analytik überwacht. In der Regel werden bei diesem Vorgehen Einzelsubstanzen bestimmt, in selteneren Fällen Summenparameter. Eine Beurteilung der Gesamtoxizität der gas- und dampfförmigen Stoffe in der Luft ist auf diesem Wege – auch unter Einbeziehung der TRGS 403 – kaum möglich, weil beispielsweise nicht zu allen im Arbeitsbereich vorhandenen Stoffen Grenzwerte vorliegen oder Wechselwirkungen von Stoffen untereinander nicht berücksichtigt werden.

Als einfache Testverfahren zur Ermittlung der toxischen Wirkung von Substanzgemischen und von unbekanntem oder wenig untersuchten Substanzen in der Luft an Arbeitsplätzen bieten sich bakterielle Toxizitätssysteme an. Diese Testverfahren werden *in vitro*, d. h. im Reagenzglas, durchgeführt und sind i. d. R. schneller und kostengünstiger als Tierversuche.

Für die Abschätzung der akuten Toxizität einer Probe im Rahmen der Umweltüberwachung, vornehmlich zur Bestimmung der Wasser- und Bodenqualität, hat sich der DIN-zertifizierte Leuchtbakterientest bewährt. Dieser Test wird standardmäßig im wässrigen Milieu durchgeführt, so dass für die spezielle Problemstellung der Beurteilung von luftgetragenen Stoffen die Entwicklung eines Verfahrens notwendig war, das es ermöglicht, luftgetragene, meist schlecht wasserlösliche Stoffe in ihrer Gesamtheit in ein wässriges System zu überführen, um sie dort auf ihre Toxizität zu testen.

Bei dem im Folgenden vorgeschlagenen Verfahren werden die gesammelten Stoffe den Indikatorbakterien in Form einer konzentrierten ethanolischen Lösung angeboten. Zur Herstellung dieser Lösung erwies sich die Thermodesorption mit Kryofokussierung als geeignete Methode.

2 Grundlagen des Leuchtbakterientests

Das Prinzip des Leuchtens von Bakterien ist schon sehr lange Gegenstand wissenschaftlicher Untersuchungen. Bereits Anfang des 20. Jahrhunderts erschien das erste Lehrbuch über „kaltes“ Leuchten von Bakterien.

Die zur Familie der *Vibrionaceae* gehörenden Leuchtbakterien sind salzliebende, nicht human-pathogene Stäbchenbakterien, in der Mehrzahl mariner Herkunft. Ein Nebenprodukt

Zusammenfassung Als einfache Methode zur Ermittlung und Beurteilung der Gesamtoxizität von Stoffen und Stoffgemischen in der Luft am Arbeitsplatz könnte sich ein im Berufsgenossenschaftlichen Institut für Arbeitssicherheit – BIA neu entwickeltes Verfahren erweisen, das die Probenaufarbeitung mittels Thermodesorption mit dem bereits standardisierten Leuchtbakterientest verbindet. Nach der Probenaufarbeitung liegen die zu testenden Substanzen in einem von den Indikatorbakterien tolerierten Lösungsmittel vor, so dass mit dem Leuchtbakterientest die Toxizität der gelösten Stoffe bestimmt werden kann. Erste Versuche mit arbeitsplatzrelevanten Substanzen bei Konzentrationen im Bereich des Luftgrenzwertes wurden unter Laborbedingungen durchgeführt.

Evaluating the toxicity of airborne substances at the workplace by luminous bacteria tests – Part 1: Developing a procedure

Abstract This is a potentially useful method for determining and evaluating the overall toxicity of airborne substances and substance mixes in the workplace. Devised by the BG Institute for Occupational Safety (BIA), it combines sample processing using thermal desorption with the standardised luminous bacteria test. After the samples are processed, the test substances are placed in a solution that the luminous bacteria tolerate. This enables the toxicity of the dissolved substances to be tested with the indicator bacteria. Initial tests have already been conducted under laboratory conditions on substances relevant to the workplace within the air threshold limit value range.

des Stoffwechsels ist die Biolumineszenz („kaltes Leuchten“), die eng an grundlegende Prozesse des Energiestoffwechsels (Kohlehydrat-, Aminosäure- oder Fettsäureabbau) gekoppelt ist. Störungen des Energiestoffwechsels oder der Zellatmung, z. B. durch toxische Substanzen, bewirken somit auch eine Hemmung der Lumineszenz. Die Biolumineszenz kann dementsprechend als ein Indikator für die toxische Wirkung von Substanzen auf essentielle Stoffwechselfunktionen gelten [1 bis 3]. Der erste Leuchtbakterientest wurde in den 70er Jahren in den USA entwickelt und 1978 erstmals in einer Veröffentlichung vorgestellt [2].

Das Grundprinzip des Leuchtbakterientests ist einfach. In einem Luminometer wird das Ausgangsleuchten einer Bakterien suspension gemessen. Nach Zugabe der Testsubstanz wird die Leuchtintensität nach definierten Zeitabständen bestimmt. Die Abnahme der Leuchtintensität mit der Zeit ist ein Maß für die Toxizität der zugegebenen Testsubstanz.

Mitte der 60er Jahre des vergangenen Jahrhunderts wurden Untersuchungen zum Einfluss von Chemikalien und Medikamenten auf die Leuchtintensität durchgeführt [4; 5]. Seit der kommerziellen Markteinführung des Leuchtbakterientests werden routinemäßig Abwässer und Abwasserinhaltsstoffe auf wassergefährdende Eigenschaften untersucht. Ab 1981/1982 wurde der Test in der Bundesrepublik Deutschland in Behörden und der Industrie erprobt und schließlich 1991 mit der Norm DIN 38 412 Teil 34 in das deutsche Regelwerk auf-

Dipl.-Geoökol. Heike Brüggemann-Prieshoff, Dipl.-Chem. Dipl.-Biol. Thomas Gehrke, Dr. rer. nat. Wolfgang Pflaumbaum, Dr. rer. nat. Eberhard Nies, Berufsgenossenschaftliches Institut für Arbeitssicherheit – BIA, Sankt Augustin.

Tabelle 1 | Testnormen für Leuchtbakterientests (nach [2; 7; 8]).

Staat/Institution	Regelung
USA EPA – Office of Solid Waste	Landlagerung von kontaminierten Materialien: Leuchtbakterientest empfohlen, Testnorm Juni 1991
USA Fish and Wildlife Service	Standard Operating Protocol Testnorm, 1991
State of California, Regional Water Quality Control Board	Abwasserüberwachung: Leuchtbakterientest, Anwendung freigestellt
State of Washington, Department of Ecology	Abwasserüberwachung seit 1988: Leuchtbakterientest oder alternative Tests vorgeschrieben
USA American Society for Testing and Materials	Testnorm, Final Draft
Deutschland	– Testnorm seit 26. März 1990 (DIN 38 412) Weißdruck 01.1991, aktualisiert 1999 – WHG § 7a (1996), Verweis auf AbwV – AbwV § 4 mit Anlage Nr. 404 (1997); letzte Änderung 1998 mit Anhang 243 (07.2001) und 51 (02.2001)
Kanada, Provinz Quebec	Testnorm, 1987
Schweden	Testnorm, 1990
Spanien	Testnorm, 1991 (Boden)
Frankreich, Großbritannien, Niederlande, Kanada	Testnorm, 1992 (Final Draft)
CEN/TC 230	Testnorm, 1998
ISO/TC 147	Testnorm, 1998
Deutschland, Österreich, Schweiz, Frankreich, Großbritannien	Testnorm, 1999 (EN ISO 11348-1 bis 3)

Tabelle 2 | Anwendungsbereiche des Leuchtbakterientests (nach[2]).

Anwendungsbereich	Einsatzzweck
Chemikalienprüfung	Ermittlung wassergefährdender Eigenschaften; hilfsweise Einstufung wassergefährdender Stoffe nach § 19g WHG
Kläranlagenabläufe	Schutz der Vorfluter, Schutz der aquatischen Lebens- gemeinschaft
Rohabwässer	Schutz der biologischen Abwasserreinigung
Toxizitätsabnahmeermittlung	Kläranlagensanierung, Landlagerung von kontami- nierten Materialien
Deponiesickerwässer	Schutz von Wasser und Boden
Vorfluter	Suche nach schadstoffbelasteten Flussabschnitten
Sedimente	Suche nach schadstoffbelasteten Abschnitten der Gewässersohle
Boden	Prüfung auf Kontamination
Stauseen, Wasserreservoir	Schutz des Trinkwassers vor biogenen Schadstoffen (Algentoxine) und Verunreinigung durch Sabotage
Bohrflüssigkeiten bei Erdölbohrungen	Schutz von Wasser und Boden
Produktprüfung	F+E-Bereich; Überwachung während der Produktion
Medizinische Materialprüfungen	Screening; als bioanalytischer Test in den USA „legal test“ bei Eichung gegenüber vorgeschriebenen Bio- testen
Medizinische Verträglichkeitsprüfung	Screening möglicher Hautreizungen durch Kosmetika

genommen. Heute ist der Leuchtbakterientest weltweit eingeführt (siehe **Tabelle 1**) und in mehreren hundert Veröffentlichungen liegen für weit über 1 000 Chemikalien Testergebnisse vor [2; 6].

Die Anwendungsgebiete des Leuchtbakterientests sind vielfältig. Sie reichen von der klassischen Umweltüberwachung von Gewässern und Abwässern bis zur Sediment- und Bodenanalyse. Einen kurzen Überblick über die Anwendungsgebiete gibt **Tabelle 2**.

3 Thermodesorption

Die Thermodesorption ist ein seit mehreren Jahrzehnten in der chemischen Analytik gängiges Verfahren zur Probenaufarbeitung. Die ersten Thermodesorber mit Kryofokussierung wurden Anfang der 80er Jahre auf den Markt gebracht [9; 10].

Das Grundprinzip ist bei allen Thermodesorbern mit Kryofokussierung gleich: Die luftgetragenen Stoffe werden im Rahmen der Probenahme über eine definierte Zeit auf einem Probenträger mit Adsorbens gesammelt und aufkonzentriert. Das Probenahmeröhrchen wird anschließend im Gerät in einem ersten Schritt (erste Thermodesorption) erhitzt, wobei die Temperatur u. a. abhängig vom verwendeten Adsorbens ist. Die Substanzen werden dabei in einem inerten Trägergasstrom thermisch desorbiert und nachfolgend in einer Kältefalle zurückgehalten. Schlagartiges Aufheizen der Kältefalle (zweite Thermodesorption; bis zu 40 °C pro Sekunde) führt zu einer spontanen Verdampfung der Substanzen, die dann im nachfolgenden Analysesystem – im Allgemeinen ein Gaschromatograf – getrennt und analytisch bestimmt werden.

Vor allem in der Innenraumluft-Analytik findet die Thermodesorption breite Anwendung. So existieren u. a. DIN-ISO-Verfahrensvorschriften (z. B. DIN ISO 16000-6 [11]).

4 Methodenbeschreibung und Material

Das Grundproblem bei Aussagen über die Gesamtoxizität der Luft an Arbeitsplätzen mittels Leuchtbakterientest liegt in der Überführung der meist hydrophoben luftgetragenen Substanzen in ein wässriges Medium. Leuchtbakterien benötigen 2%ige Kochsalzlösung zum Wachstum, organische Lösungsmittel sind für sie toxische Substanzen, auf die sie mit Verminderung der Leuchtintensität reagieren.

Die an belasteten Arbeitsplätzen auftretenden gefährlichen Stoffe sind zum größten Teil hydrophob, d. h. sie lassen sich in Wasser nur sehr begrenzt lösen. Die Leuchtbakterien sind auf ein wässriges Medium angewiesen, tolerieren allerdings geringe Anteile von Ethanol, DMSO

und Methanol (max. 5 Vol.-%) ohne nennenswerte Verringerung des Leuchtens. Somit ergibt sich die Möglichkeit, die luftgetragenen Substanzen durch Thermodesorption in Ethanol – das die besten Wiederfindungsraten lieferte – zu überführen und diese ethanolische Lösung den Testorganismen zuzuführen.

4.1 Allgemeine Methodenbeschreibung

Die entwickelte Methode (siehe **Bild 1**) zur Bestimmung der Gesamtoxizität von gefährlichen Stoffen in der Luft setzt sich aus drei Schritten zusammen:

1. Probenahme der Substanz(en) auf speziellen Probenträgern,
2. Aufarbeitung mittels Thermodesorber mit Kryofokussierung,
3. Bestimmung der Hemmwirkung einer ethanolischen Lösung der aufgearbeiteten Substanz(en) im Leuchtbakterientest.

4.1.1 Probenahme

Für die Probenahme werden die Stoffe mit speziellen Probenahmeröhrchen (Air Toxic Tubes, Fa. PerkinElmer/Überlingen) mittels Probenahmepumpe (GilAir-5-Pumpen, Fa. Gilian/Clearwater, USA; Volumenstrom 0,33 l/min) 2 h lang gesammelt, so dass sich ein Probeluftvolumen von 40 l ergibt. Die Air Toxic Tubes bestehen aus einem Zwei-Bett-System mit modifizierter Aktivkohle und Kohlenstoff-Molekularsieb (Carbotrap/Carboxen 1008; [12]).

4.1.2 Aufarbeitung

Zur Aufarbeitung werden die Substanzen von den Probenahmeröhrchen im Thermodesorber mit Kryofokussierung (Automatic Thermal Desorption System ATD 400 mit „Air Monitoring“-Kältefalle; beides Fa. PerkinElmer/Überlingen) thermisch desorbiert und die frei werdenden gas- und dampfförmigen Stoffe in 2 ml Ethanol aufgefangen. Als geeignete Desorptionsbedingungen wurden die folgenden Parameter ermittelt:

- Desorption des Röhrchens: 350 °C/6 min, Kältefalle –30 °C,
- Desorption der Kältefalle: 350 °C/15 min.

4.1.3 Leuchtbakterientest

Das so genannte Microtox-Screening-Protokoll wurde in mehreren Parallelen und mit mehreren Kontrollen angewandt. Zur Bestimmung der Hemmwirkung der gelösten Substanzen wurde eine Teilmenge der ethanolischen Lösung im Leuchtbakterientest (Microtox®-Luminometer Model 500, Fa. Azur Environmental/Carlsbad, USA) eingesetzt.

Der Test findet in einer Glasküvette statt, die 10 µl einer Bakteriensuspension (ca. $5 \cdot 10^6$ bis 10^7 Leuchtbakterien) in 1 ml Kochsalzlösung enthält. In diese Glasküvette werden anschließend 10 µl der in Ethanol gelösten Testsubstanz gegeben. Parallel dazu wurde ein Ansatz mit Ethanol als Kontrolle vermessen. Pro Testserie wurden die Kontrollansätze mit Ethanol dreifach und die Ansätze mit ethanolischer Lösung doppelt bestimmt. Für die Berechnung der Mittelwerte der zu untersuchenden Lösungen wurden mindestens zwei Testserien durchgeführt, so dass jedem Mittelwert mindestens vier Einzelwerte zu Grunde liegen. Die Leuchtintensität wurde 5, 15 und 30 min nach Probenzugabe luminometrisch bestimmt.

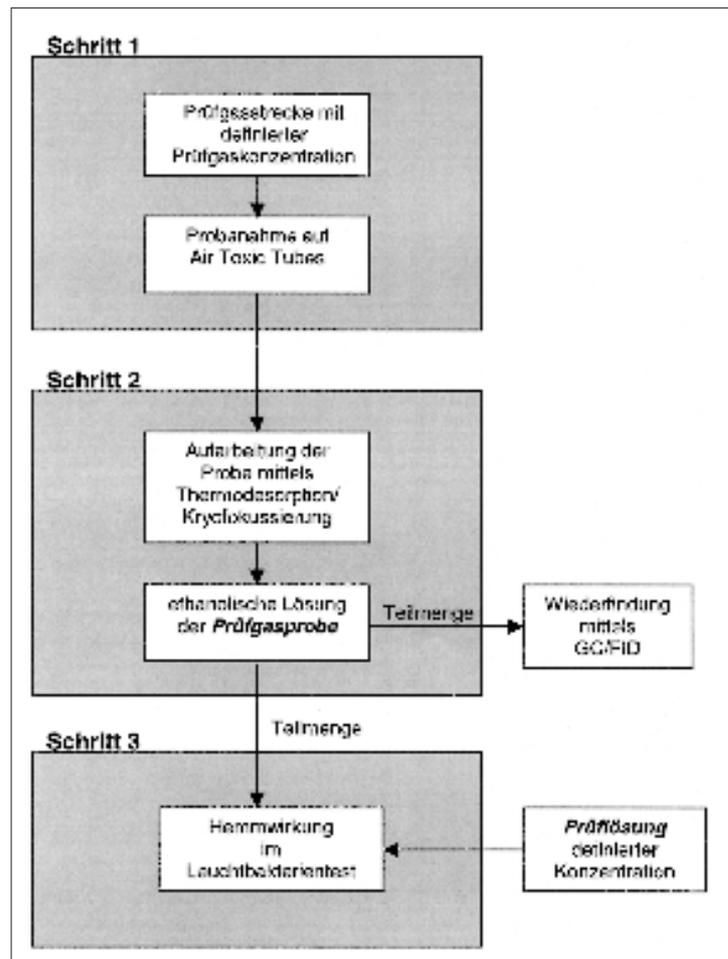


Bild 1 Schematische Darstellung der Methode zur Bestimmung der Toxizität definierter Prüfgase.

4.2 Prüfgasstrecke

Für die Untersuchungen wurden genau definierte, homogene Prüfgase hergestellt. Dies geschah in der im Berufsgenossenschaftlichen Institut für Arbeitssicherheit – BIA vorhandenen Prüfgasstrecke, wobei während der Beaufschlagung der Air Toxic Tubes die Temperatur bei 20 °C und die relative Luftfeuchtigkeit bei 50 % konstant gehalten wurden. In der Prüfgasstrecke können sowohl Einzelsubstanzen als auch Substanzgemische in beliebigen Konzentrationen und Mischungsverhältnissen als Prüfgasatmosphäre reproduzierbar hergestellt werden [13].

Nach Einstellung des Gleichgewichts der gewünschten Substanz in der Prüfgasstrecke – Online-Kontrolle der eingestellten Konzentration erfolgte mittels Fourier-Transform-Infrarot-Spektroskopie, FID und GC-FID – wurden die Probenträger eingesetzt und zwei Stunden beaufschlagt. Es wurden jeweils sechs bis acht Air Toxic Tubes parallel beaufschlagt.

4.3 Versuchsbeschreibung

4.3.1 Untersuchung von Prüfgasproben

Für erste Untersuchungen wurden Toluol, Xylol (Isomergemisch) und Ethylacetat (alle Fa. Merck/Darmstadt, p. A.) als Beispielsubstanzen mit Bedeutung am Arbeitsplatz ausgewählt. Für alle drei Stoffe wurden in der Prüfgasstrecke un-

Tabelle 3 | Wiederfindungsraten (Prüfgasproben).

	Toluol	Xylol	Ethylacetat
Konzentration des Prüfgases in mg/m ³	190	340	94
Wiederfindung in %	90,5	92,0	84,1

Tabelle 4 | Hemmung der Leuchtintensität durch Toluol (MAK: 190 mg/m³, grau unterlegt) im Leuchtbakterientest.

Konzentration in µl/2 ml EtOH	Entsprechende Luftkonzentration*		Hemmung der Leuchtintensität in %					
	in mg/m ³	in Vielfachem der MAK	t = 5 min		t = 15 min		t = 30 min	
			Prüflösung	Prüfgasprobe	Prüflösung	Prüfgasprobe	Prüflösung	Prüfgasprobe
87,4	1900	10 x	88	-	84	-	84	-
17,5	380	2 x	78	-	74	-	72	-
8,7	190	1 x	64	57	58	55	55	54
4,4	95	0,5 x	52	49	46	44	43	40
2,2	47,5	0,25 x	17	-	14	-	13	-
0,9	19	0,1 x	2	-	1	-	1	-
0,09	1,9	0,01 x	-14	-	-12	-	-10	-

* bei einem Probeluftvolumen von 40 l
MAK = Maximale Arbeitsplatzkonzentration

Tabelle 5 | Hemmung der Leuchtintensität durch Xylol (Isomeregemisch, MAK: 340 mg/m³, grau unterlegt) im Leuchtbakterientest.

Konzentration in µl/2 ml EtOH	Entsprechende Luftkonzentration*		Hemmung der Leuchtintensität in %					
	in mg/m ³	in Vielfachem der MAK	t = 5 min		t = 15 min		t = 30 min	
			Prüflösung	Prüfgasprobe	Prüflösung	Prüfgasprobe	Prüflösung	Prüfgasprobe
204,7	3400	10 x	98	-	97	-	96	-
40,9	680	2 x	96	-	94	-	93	-
20,5	340	1 x	95	94	93	92	91	92
10,2	170	0,5 x	91	-	88	-	86	-
5,1	85	0,25 x	84	-	81	-	77	-
2,1	34	0,1 x	57	-	51	-	46	-
0,2	3,4	0,01 x	-2	-	-2	-	-1	-

* bei einem Probeluftvolumen von 40 l
MAK = Maximale Arbeitsplatzkonzentration

Tabelle 6 | Hemmung der Leuchtintensität durch Ethylacetat (MAK: 1 500 mg/m³, grau unterlegt) im Leuchtbakterientest.

Konzentration in µl/2 ml EtOH	Entsprechende Luftkonzentration*		Hemmung der Leuchtintensität in %					
	in mg/m ³	in Vielfachem der MAK	t = 5 min		t = 15 min		t = 30 min	
			Prüflösung	Prüfgasprobe	Prüflösung	Prüfgasprobe	Prüflösung	Prüfgasprobe
186,3	4 500	3 x	45	-	43	-	45	-
62,1	1 500	1 x	24	-	23	-	27	-
31,0	750	0,5 x	12	-	10	-	7	-
15,5	375	0,25 x	5	-	5	-	4	-
6,2	150	0,1 x	5	6	3	2	4	-4
3,9	90	0,06 x	1	3	0	1	0	0

* bei einem Probeluftvolumen von 40 l
MAK = Maximale Arbeitsplatzkonzentration

terschiedliche Prüfgas-Konzentrationen hergestellt. Die jeweilige Grenzwertkonzentration diente als Referenz (Toluol: 190 mg/m³; Xylol (alle Isomeren): 340 mg/m³; Ethylacetat: 1 500 mg/m³ [14]). Für Ethylacetat wurden Konzentrationen deutlich unter der Grenzwertkonzentration eingestellt, da die Beaufschlagung der Air Toxic Tubes im Grenzwertbereich aufgrund der Höhe des Luftgrenzwerts zu einer Überladung der Probenahmeröhrchen führt. Probenahme und Aufarbeitung sowie die weitere Untersuchung der ethanolschen Lösung erfolgten wie in den Abschnitten 4.1.1 bis 4.1.3 beschrieben.

Zur Optimierung der Desorptionsbedingungen wurden von

den ethanolschen Lösungen der ausgewählten Substanzen die Wiederfindungsraten mittels GC-FID (Gaschromatograf HP 6890, Fa. Hewlett-Packard/Böblingen) bei verschiedenen Desorptionszeiten und -temperaturen am ATD 400 bestimmt. Hierfür wurden für die zu untersuchenden Substanzen konstante Prüfgasatmosphären in unterschiedlichen Konzentrationen hergestellt.

4.3.2 Untersuchung von Prüflösungen

Um die Empfindlichkeit der Methode und den Zusammenhang zwischen Dosis und Wirkung beurteilen zu können, erfolgten ferner Versuche mit Prüflösungen. Für die Herstellung dieser Lösungen wurden Probenahme und Aufarbeitung (vgl. Schritte 1 und 2 in Bild 1) weggelassen und die ethanolschen Lösungen durch direktes Zupipettieren der flüssigen Testsubstanzen angesetzt. Die jeweils einzusetzenden Mengen der Testsubstanz lassen sich bei Kenntnis des Probeluftvolumens (40 l) berechnen. Die Konzentrationen wurden so gewählt, dass sie einerseits direkt mit den Messungen der Prüfgasproben vergleichbar sind, auf der anderen Seite regeltechnisch relevante Konzentrationen bei Arbeitsplatzmessungen einschließen. Es sei darauf hingewiesen, dass bei der Berechnung der Konzentrationen für die Prüflösungen eine Wiederfindungsrate von 100 % angesetzt wurde, in der Realität fällt diese allerdings etwas geringer aus (vgl. Abschnitt 5).

5 Ergebnisse

Die Wiederfindungsraten der mit Thermodesorption gewonnenen ethanolschen Prüfgasprobenlösungen zeigt **Tabelle 3** (Analyse mit GC-FID).

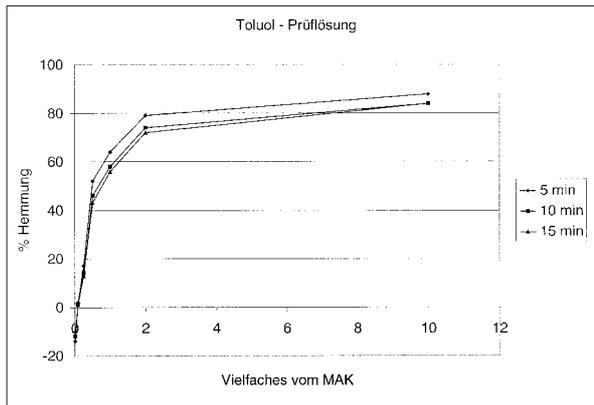


Bild 2 Hemmung der Leuchtintensität durch Toluol-Prüflösung, Konzentration in MAK-Vielfachen.

Im Leuchtbakterientest konnten die in den **Tabellen 4 bis 6** aufgeführten Hemmungen der Leuchtintensität durch die Testsubstanzen beobachtet werden, wobei pro Konzentration vier bis zwölf unabhängige Messungen durchgeführt wurden. Vereinzelt sind, besonders bei niedrigen Konzentrationen, negative Hemmwerte zu beobachten. Diese entsprechen einer Steigerung der Leuchtkraft, d. h. die jeweiligen Proben haben eine aktivierende Wirkung auf die Leuchtakterien (siehe **Bild 2**).

6 Diskussion

In diesem Pilotprojekt, das der Entwicklung eines Verfahrens zur Bestimmung der Toxizität luftgetragener Substanzen mittels eines bakteriellen Tests diente, wurden als Modellstoffe zwei aromatische Kohlenwasserstoffe und ein aliphatischer Carbonsäureester eingesetzt. Für die bislang getesteten Stoffe hat sich das Verfahren als gut anwendbar herausgestellt. Die Wiederfindungsraten bei der Herstellung von ethanolischen Lösungen der gesammelten Prüfgase sind mit 84 % bis 92 % als gut bis sehr gut anzusehen.

Die Empfindlichkeit der Leuchtakterien ist im Grenzwertbereich bei zwei der getesteten Substanzen (Toluol, Xylol) ebenfalls sehr hoch, wobei Xylol den stärksten Effekt hervorruft. Insgesamt ergeben sich für den jeweiligen Vergleich von Prüflösungen der Substanz mit der entsprechenden Prüfgasprobe relativ geringe Unterschiede in der Hemmwirkung.

Für Konzentrationen in Grenzwerthöhe liegt die Hemmung der Leuchtintensität bei Xylol weit über 90 % und im Falle des Toluols zwischen 56 % und 68 %. Dies gilt sowohl für die Prüflösungen als auch die Prüfgasproben über den gesamten Messumfang.

Aufgrund des hohen Grenzwertes von Ethylacetat (1 500 mg/m³) und der damit verbundenen hohen Konzentrationen ist die Kapazität der Probenahmeröhrchen nicht ausreichend. Daher konnten für diese Messungen in der Prüfgasstrecke nur Prüfgaskonzentrationen bis zu 1/10 der Grenzwertkonzentration hergestellt werden. Wie zu erwarten, waren die Hemmwirkungen mit einem Maximum von 6 % sehr niedrig. Um Messungen in deutlich höheren Konzentrationen durchführen zu können, wären Probenahmeröhrchen mit größerer Kapazität erforderlich, die zurzeit nicht angeboten werden. Stellt man ethanolische Prüflösungen her, deren Ethyl-

acetatgehalt demjenigen entspricht, der theoretisch nach quantitativer Probenahme unter Luftgrenzwertkonzentration erhalten würde, kann eine deutliche Hemmung der Leuchtintensität von 20 % bis 30 % gemessen werden.

Bei allen drei Substanzen ist eine Dosisabhängigkeit der Hemmwirkung zu beobachten, d. h. eine steigende Konzentration führt zu einer entsprechend stärkeren Reduktion der Leuchtintensität. Beim Vergleich der Hemmwirkungen von Prüflösungen und Prüfgasproben der gleichen Substanz bei gleicher Konzentration fällt auf, dass die Prüfgasproben in Einzelfällen geringfügig höhere Hemmwirkungen entfalten als die entsprechenden Prüflösungen. Die Unterschiede sind aber marginal und liegen im Rahmen der bei biologischen Tests üblichen Schwankungen liegen.

Ein häufig im Leuchtbakterientest zu beobachtender Effekt ist, dass sich die Leuchtakterien mit zunehmender Einwirkzeit zu „erholen“ scheinen. Dieser Effekt tritt sowohl bei Toluol als auch bei Xylol auf und führt zu einem Anstieg der Leuchtintensität mit der Testzeit, entsprechend nimmt die Hemmwirkung mit der Zeit ab. Der Anstieg ist zwar geringfügig (z. B. bei Xylol bei der Grenzwertkonzentration: Abfall von 94,4 % Hemmung nach 5 min auf 91,4 % nach 30 min), aber über alle Konzentrationsbereiche beobachtbar.

7 Ausblick

Durch nachfolgende Untersuchungen soll überprüft werden, ob die Methode für andere Substanzen – vor allem aus weiteren Substanzklassen – angewendet werden kann. Um dem angestrebten Ziel der Untersuchung und Beurteilung komplexer Stoffgemische näher zu kommen, müssen ferner Mischungen von mehreren Substanzen getestet werden.

Bislang sind nur leichtflüchtige Stoffe getestet worden. Am Arbeitsplatz muss jedoch auch mit dem Vorkommen von mittel- bis schwerflüchtigen Substanzen in der Luft gerechnet werden. Um diesem Umstand Rechnung zu tragen, ist eine Erweiterung der Methode auf diese Substanzgruppen erforderlich. Dazu könnte z. B. ein Probenahmesystem verwendet werden, bei dem Glasfaserfilter vor den Air Toxic Tubes angebracht werden, auf denen sich mittel- bis schwerflüchtige Substanzen abscheiden können. Diese Filter könnten mittels Ultraschallextraktion mit anschließender Einengung aufgearbeitet und die konzentrierten Extrakte im Leuchtbakterientest untersucht werden. Erste derartige Versuche waren Erfolg versprechend.

Am Ende der Verfahrensentwicklung und -optimierung sollen Feldversuche an realen Arbeitsplätzen stehen. Sollte sich die hier vorgestellte Methode in der Praxis bewähren, könnte sie u. a. als schnelles Screeningverfahren bei der Arbeitsplatzüberwachung und zur Erfolgskontrolle nach Durchführung von Verbesserungsmaßnahmen eingesetzt werden.

Eine erste Anwendung mit Pilotcharakter fand das Verfahren in dem von der Berufsgenossenschaft der Banken, Versicherungen, Verwaltungen, freien Berufen und besonderer Unternehmen (Verwaltungs-Berufsgenossenschaft – VBG) gemeinsam mit dem BIA durchgeführten Projekt „Farblaserdrucker/Farbfotokopierer“ [15; 16]. Als Ergebnis dieses Projektes wurde das Verfahren in die Prüfgrundsätze [17] zur Vergabe des BG-PrüfZert-Zeichens „sicher – ergonomisch – emissionsarm“ des Fachausschusses Verwaltung für Fotokopierer und Laserdrucker aufgenommen [18].

Bei der Beurteilung von Proben mittels bakterieller Toxizitätstests sollte immer bedacht werden, dass die Ergebnisse, die mit In-vitro-Tests erzielt werden, nicht bedenkenlos auf den Menschen übertragen werden können. Aufgrund des einfachen Baus einzelliger Bakterien können beispielsweise lokale Wirkungen auf bestimmte Säugetierorgane nicht abgebildet werden. Es gilt auch zu berücksichtigen, dass der hier gewählte Test nur akute toxische Wirkungen anzeigt. Testvarianten mit Leuchtbakterien, die chronische oder mutagene Effekte erfassen, sind aber bereits validiert und standardisiert und sollen demnächst ebenfalls auf ihre Eignung im Zusammenhang mit luftgetragenen Gefahrstoffen geprüft werden.

Danksagung

Die sachkundige Durchführung der chemischen Analysen bzw. Betreuung der Prüfgasstrecke lag in den Händen von Frau Ehmman, Frau Eisenhardt, Frau Fastnacht, Frau Liese, Frau Rohoff, Herrn Buchwald und Herrn Quellmalz, Berufsgenossenschaftliches Institut für Arbeitssicherheit – BIA, denen an dieser Stelle für ihr Engagement gedankt sei. Ferner danken wir Herrn Hennig und Herrn Dr. Lichtenstein (ebenfalls BIA) für die fachlichen Diskussionen.

Literatur

- [1] Kalnowski, G.; Kaufmann, M.; Vietzen, W.; Zettler, B.; Ziesmann, A.: Lumineszenz, Wachstum und Atmung als Endprodukte toxischer Wirkung bei Photobacterium phosphoreum. In: Steinhäuser, K. G.; Hansen, P.-D.: Biologische Testverfahren – Beiträge zu den Biotest-Statusseminaren 1989 und 1992. S. 675–677. Stuttgart: Gustav Fischer 1992.
- [2] Krebs, F.: Der Leuchtbakterientest für die Wassergesetzgebung. In: Steinhäuser, K. G.; Hansen, P.-D.: Biologische Testverfahren – Beiträge zu den Biotest-Statusseminaren 1989 und 1992. S. 591–624. Stuttgart: Gustav Fischer 1992.
- [3] Link, M.: Zum physiologischen Hintergrund des Leuchtbakterientests. In: Steinhäuser, K. G.; Hansen, P.-D.: Biologische Testverfahren – Beiträge zu den Biotest-Statusseminaren 1989 und 1992. S. 625–632. Stuttgart: Gustav Fischer 1992.
- [4] Kössler, F.: Physiologische Studien zur Biolumineszenz: Untersuchung über Wachstum, Atmung und Biolumineszenz von Leuchtbakterien unter

- dem Einfluß chemischer und physiologischer Faktoren. Habilitationsschrift. Humboldt-Universität Berlin (1969); zitiert in [6].
- [5] Johnson, F. H.; Eyring, H.; Stover, B. J.: The theory of rate processes in biology and medicine. New York: John Wiley 1974; zitiert in [6].
- [6] Steinhäuser, K. G.: Der Leuchtbakterientest mit selbstgezogenen und flüssiggetrockneten Bakterien. In: Steinhäuser, K. G.; Hansen, P.-D.: Biologische Testverfahren – Beiträge zu den Biotest-Statusseminaren 1989 und 1992. S. 633–652. Stuttgart: Gustav Fischer 1992.
- [7] Verordnung über Anforderungen an das Einleiten von Abwasser in Gewässer (Abwasserverordnung – AbwV) vom 21. März 1997, zul. geändert 3. Juli 1998; <http://teiresias.umsicht.fhg.de/WebTeiresias/vtdata/abwvo.html> vom 8. August 2001.
- [8] Wasserhaushaltsgesetz (WHG) in der Fassung der Bekanntmachung vom 12. November 1996; <http://bezreg-hannover.niedersachsen.de/dez502/whg96txt.html> vom 8. August 2001.
- [9] Woolfenden, E.: The thermal desorption alternative. Today's Chemist At Work 7 (1998) Nr. 3, S. 17–22.
- [10] Glover, J. H.: Thermal desorption in industrial hygiene and environmental analysis. South Godstone: Spantech Publisher 1991.
- [11] DIN ISO 16000-6: Messen von Innenraumluftverunreinigungen – Teil 6: Bestimmung von VOC in der Innenraumluft und in Prüfkammern – Probenahme auf TENAX TA, thermische Desorption und Gaschromatographie/MSD bzw. FID. Berlin: Beuth 2000.
- [12] Helmig, D.; Balsley, B.; Davis, K.; Kuck, L. R.; Jensen, M.; Bogner, J. et al.: Vertical profiling and determination of landscape fluxes of biogenic nonmethane hydrocarbons within the planetary boundary layer in the Peruvian Amazon. J. Geophys. Res. 103 (1998) No. D19, S. 25519–25532.
- [13] Buchwald, K.-E.; Siekmann, H.; Fastnacht, M.: Eignung von Prüfröhrchen-Messeinrichtungen zur Gefahrstoffmessung an Arbeitsplätzen. Gefahrstoffe – Reinhalt. Luft 61 (2001) Nr. 5, S. 187–200.
- [14] Pflaumbaum, W.; Blome, H. et al.: Grenzwerteliste 2000. BIA-Report 4/2001. Hrsg.: Hauptverband der gewerblichen Berufsgenossenschaften (HVBG), Sankt Augustin 2001.
- [15] Hohensee, H.; Flowerday, U.; Oberdick, J.: Zum Emissionsverhalten von Farbfotokopiergeräten und Farblaserdruckern – Bericht über das Forschungsprojekt Farbtoner. Die BG (2000) Nr. 11, S. 659–662.
- [16] Nies, E.; Blome, H.; Brüggemann-Prieshoff, H.: Charakterisierung von Farbtonern und Emissionen aus Farbfotokopierern/Farblaserdruckern. Gefahrstoffe – Reinhalt. Luft 60 (2000) Nr. 11/12, S. 435–441.
- [17] Prüfgrundsätze für Geräte mit elektrofotografischer Drucktechnologie. BG-Prüfzert-Zeichen Sicher Ergonomisch Emissionsarm. Hrsg.: Fachausschuss Verwaltung, Sachgebiet Büro. Hamburg 2000.
- [18] Berufsgenossenschaftliche Informationen: Laserdrucker (BGi 820). Hrsg.: Verwaltungs-Berufsgenossenschaft Hamburg. Köln: Carl Heymanns (in Vorbereitung). www.vbg.de/medien/bueroarb.htm.

Aus der Arbeit des AGS

Als Bekanntmachungen des Bundesministeriums für Arbeit und Sozialordnung (BMA) wurden im Bundesarbeitsblatt folgende Technische Regeln für Gefahrstoffe (TRGS) veröffentlicht bzw. geändert:

TRGS 440 „Ermitteln und Beurteilen der Gefährdungen durch Gefahrstoffe am Arbeitsplatz: Ermitteln von Gefahrstoffen und Methoden zur Ersatzstoffprüfung“

Die TRGS 440 gibt den Betrieben eine Hilfestellung bei der Umsetzung der Ermittlungspflicht nach § 16 der Gefahrstoffverordnung. Im März wurden einige Änderungen und Ergänzungen der technischen Regel veröffentlicht. Die Änderungen betreffen u. a. folgende Punkte:

- Für die Beurteilung der verwendeten und freigesetzten Arbeitsstoffe sollte bisher eine Einstufung und Kennzeichnung zumindest auf der Basis von Daten zur akuten Toxizität, Schleimhautreizung, Hautreizung und zum erbgutverändernden Potenzial vorliegen. Dieser Abschnitt (Nummer 4) der

TRGS 440 ist dahingehend erweitert worden, dass jetzt auch Daten zur Hautsensibilisierung und zur Toxizität bei wiederholter Applikation mit einbezogen werden sollen.

- In Anlage 2 betreffen die Änderungen das Spaltenmodell und das Wirkfaktorenmodell, die zum Vergleich von Stoffen bei der Ersatzstoffsuche herangezogen werden können.

- Neu aufgenommen wurde eine Anlage 4 „Stoff- oder verfahrensspezifische Informationen des AGS zu Ersatzstoffen“. Teil 1 enthält Hinweise über Amine, die im Urethan-Cold-Box-Kernherstellungsverfahren in Gießereien zum Einsatz kommen. Die dort aufgeführten Amine N,N-Dimethyl-n-propylamin, N,N-Dimethyl-isopropylamin und N,N-Dimethylethylamin können aus arbeitsmedizinisch-toxikologischer Sicht nicht als Ersatzstoffe für Triethylamin empfohlen werden. Um die Exposition am Arbeitsplatz zu senken, werden deshalb verschiedene technische Maßnahmen vorgestellt.

BARbL. (2002) Nr. 3, S. 68–70.

Dr. rer. nat. Wolfgang Pflaumbaum,
Berufsgenossenschaftliches Institut für Arbeitssicherheit – BIA, Sankt Augustin.