

# Eine Analysenmethode zur Bestimmung von Styrol in Ausatemluft für ein Biomonitoring beruflich Styrol-Exponierter

Chris-Elmo Ziener<sup>1,\*</sup>, Charleen Otto<sup>1</sup>

baua: Fokus

Der neurotoxische aromatische Kohlenwasserstoff Styrol findet eine breite Verwendung in Industrie und Handwerk. Expositionen Beschäftigter sind in einer Vielzahl von Arbeitsbereichen und bei vielen verschiedenen Tätigkeiten möglich. Ein Biomonitoring Exponierter erfolgt bisher durch die Bestimmung von Styrol-Metaboliten im Urin. Die alternative Bestimmung von Styrol in der Ausatemluft der Beschäftigten könnte den Einsatz des Biomonitorings in der betrieblichen Praxis vereinfachen und die Spezifität des Monitorings erhöhen. Jedoch mangelt es hierfür noch an der Validierung des Messparameters unter Feldbedingungen und seiner routinetauglichen Laboranalytik. Mit der vorliegenden Arbeit wird eine Analysenmethode vorgestellt, die sich aufgrund ihrer Einfachheit und ihrer hohen Automatisierung in der Routineanalytik einsetzen lässt und als Basis für die noch ausstehenden Feldstudien genutzt werden kann.

## Inhalt

1	Einleitung.....	2
1.1	Styrol – ein weitverbreiteter Gefahrstoff.....	2
1.2	Biomonitoring bei beruflicher Styrol-Exposition.....	3
2	Analysenmethode zur Bestimmung von Styrol in Ausatemluft.....	4
2.1	Grundlage der Methode.....	4
2.2	Kenndaten der Methode – Zusammenfassung.....	4
2.3	Geräte, Chemikalien, Lösungen.....	5
2.4	Herstellung der Kalibrierstandards.....	6
2.5	Herstellung der Qualitätskontrollproben.....	7
2.6	Probenahme und Probenaufbereitung.....	8
2.7	Instrumentelle Arbeitsbedingungen.....	8
2.8	Analytische Bestimmung.....	9
2.9	Kalibrierung und Berechnung der Analysenergebnisse.....	10
2.10	Qualitätssicherung.....	11
2.11	Hinweise aus Vorversuchen.....	11
2.12	Störeinflüsse.....	12
2.13	Beurteilung der Methode.....	12
2.14	Diskussion der Methode.....	15
	Literatur.....	15

<sup>1</sup> Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin

\* Korrespondenzautor. E-Mail: [ziener.chris-elmo@baua.bund.de](mailto:ziener.chris-elmo@baua.bund.de)

## 1 Einleitung

### 1.1 Styrol – ein weitverbreiteter Gefahrstoff

Der flüssige aromatische Kohlenwasserstoff Styrol, CAS-Nummer 100-42-5, ist eine wichtige Grundchemikalie der chemischen Industrie. So ist Styrol u. a. Ausgangssubstanz zur Herstellung von Kunststoffen wie Acrylnitril-Butadien-Styrol (ABS) und Polystyrol, einem in der Bauindustrie aktuell häufig eingesetzten Dämmmaterial. Darüber hinaus wird Styrol als Lösungsmittel und Reaktionspartner zum Beispiel für ungesättigte Polyesterharze und -lacke in verschiedenen gewerblichen Anwendungen genutzt. Die weltweite Styrol-Produktion erhöhte sich in den letzten Jahrzehnten stetig; betrug sie 1995 noch 16 Millionen Tonnen [1], waren es 2017 bereits 30 Millionen Tonnen [2].

#### *Toxizität im beruflichen Kontext*

Styrol wirkt neurotoxisch, besonders im Bereich des zentralen Nervensystems, und kann Reizungen an Haut und Schleimhäuten verursachen. Chronische Schädigungen zeigen sich besonders in psychomotorischen und kognitiven Funktionsstörungen [3]. Seit Jahren werden auch Beeinträchtigungen des Farbsehens sowie eine Schädigung der Hörorgane diskutiert [4]. Letzteres führte in der EU zur Einstufung von Styrol als ototoxische Substanz (STOT RE2) [5]. Styrol-Expositionen in lärmbelasteter Umgebung können durch eine Kombinationswirkung das Risiko für Gehörschädigungen erhöhen [4]. Styrol wurde als reproduktionstoxisch eingestuft (Repr 2) [5]. In Tierversuchen wurden entwicklungstoxische Effekte bei Nachkommen beobachtet [4]. Die International Agency for Research on Cancer (IARC), eine Einrichtung der WHO, stufte Styrol als wahrscheinlich karzinogen für Menschen ein. Grundlage waren eine ausreichende Evidenz für eine krebserzeugende Wirkung im Tierversuch und Hinweise auf maligne lymphohämatopoetische Erkrankungen beim Menschen [6].

Bei Einhaltung der Maximalen Arbeitsplatzkonzentration (MAK-Wert) und des Biologischen Arbeitsstoff-Toleranzwertes (BAT-Wert) für Styrol erwartet die Ständige Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe der Deutschen Forschungsgemeinschaft, kurz MAK-Kommission, nur einen sehr geringen Beitrag zum Krebsrisiko der Exponierten [7]. Analoges gilt demnach für die Einhaltung des entsprechenden Arbeitsplatzgrenzwertes bzw. biologischen Grenzwertes des Ausschusses für Gefahrstoffe des Bundesministeriums für Arbeit und Soziales [8, 9], da diese wertgleich zu den Vorgenannten sind.

#### *Berufliche Exposition*

Durch die breite Verwendung von Styrol sind berufliche Expositionen in einer Vielzahl von Arbeitsbereichen und bei vielen verschiedenen Tätigkeiten möglich [10, 11]. Höhere Expositionen mit der Gefahr von Grenzwertüberschreitungen bestehen u. a. bei handwerklichen Arbeitsverfahren, z. B. bei großflächigem Umgang mit styrolhaltigen Reaktionsharzen sowie bei Abfüll- und Umschlagsprozessen [10]. Eine Stoffaufnahme in den Organismus erfolgt, aufgrund der hohen Flüchtigkeit des Styrols, vor allem inhalativ. Jedoch können relevante dermale Aufnahmen bei großflächigem Hautkontakt nicht ausgeschlossen werden [3]. Tätigkeiten mit Styrol gehören zu den besonders gefährdenden Tätigkeiten für die die Verordnung zur arbeitsmedizinischen Vorsorge explizit eine Pflichtvorsorge vorsieht [12], wenn der Arbeitsplatzgrenzwert nach der Gefahrstoffverordnung [13] nicht eingehalten wird. Nach Ansicht der MAK-Kommission sollte die gesundheitliche Überwachung der mit Styrol umgehenden Beschäftigten intensiviert werden, da bei Überschreitung des MAK- oder BAT-Wertes mit einer Erhöhung des Krebsrisikos zu rechnen ist – s. Einstufung von Styrol in die Kategorie 5 der krebserzeugenden Stoffe [7]. Wird der Arbeitsplatzgrenzwert nicht eingehalten, „sollte Biomonitoring in verkürzten Zeitabständen durchgeführt werden“ – s. Untersuchungsgrundsatz „G45 Styrol“ der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung [3].

## 1.2 Biomonitoring bei beruflicher Styrol-Exposition

### 1.2.1 Ausgangssituation

Biomonitoring bei beruflich Styrol-Exponierten ist seit vielen Jahren in der arbeitsmedizinischen Praxis etabliert. Gemessen wird dabei bisher der Parameter „Mandelsäure plus Phenylglyoxylsäure im Urin“, für den die TRGS 903 „Biologische Grenzwerte“ [9] einen biologischen Grenzwert ausweist. Dieser Parameter ist jedoch bei bestimmten Mischexpositionen unspezifisch, da auch aus anderen Arbeitsstoffen, z. B. aus Ethylbenzol und Phenylglykol, Mandelsäure und Phenylglyoxylsäure gebildet werden [14, 15]. Außerdem kann die Bildung dieser Metaboliten durch Koexposition z. B. gegenüber Aceton [16] und Ethanol [15], die die Metabolisierung des Styrols inhibieren, beeinflusst werden. Hinzu kommt, dass für ein Biomonitoring Parameter gewählt werden sollten, die möglichst nah mit dem Wirkprinzip der Toxizität des Gefahrstoffs verbunden sind. Verner et al. [17] schlugen deshalb den Parameter „Styrol in Ausatemluft“ für das Biomonitoring vor, da die im venösen Blut bzw. in der Ausatemluft messbaren Styrolkonzentrationen die Wirkdosis für die grenzwertbestimmende Neurotoxizität besser repräsentiert. Allerdings ist die Halbwertszeit der Styrol-Konzentration in der Ausatemluft geringer als die der Styrol-Metabolitenkonzentrationen im Urin und der Zeitpunkt der Probenahmen damit kritischer. Dadurch ergibt sich jedoch nicht a priori ein Nachteil für die Nutzung dieses Parameters, da die Beschäftigten ihre Ausatemluft zu einem vorgegebenen Zeitpunkt selbst beproben können. Ein Biomonitoring in der Ausatemluft ermöglicht, aufgrund seiner hohen Akzeptanz bei den Beteiligten, einen niederschweligen Einsatz des Biomonitorings in der betrieblichen Praxis, auch in kleineren Unternehmen. Verner et al. leiteten ihren Vorschlag aus Modellrechnungen ab. Ob sich der Parameter tatsächlich für ein routinemäßiges Biomonitoring eignet, ist noch zu untersuchen. Entsprechende Feldstudien sollten dabei nicht nur die toxikokinetischen Ableitungen der Autoren durch entsprechende Messungen überprüfen, sondern auch praktische Aspekte wie z. B. die Reproduzierbarkeit und Zuverlässigkeit der Probenahmen beleuchten. Für solche Studien fehlt es bisher zunächst noch an einer geeigneten – auch grundsätzlich routinetauglichen – Messmethode für die Bestimmung von Styrol in Ausatemluft.

### 1.2.2 Zielstellung

Um die Einsetzbarkeit des Biomonitoring-Parameters „Styrol in Ausatemluft“ in der betrieblichen Praxis untersuchen zu können, sollte in einem ersten Schritt eine entsprechend geeignete Analysenmethode entwickelt werden.<sup>2</sup> Diese sollte auf dem Gassammelrohr Typ BAuA [18] basieren, welches kostengünstige Selbstbeprobungen der Beschäftigten ermöglicht und eine Vollautomatisierung der Laboranalytik zulässt [19]. Die Methode sollte Messungen mindestens im entscheidungsrelevanten Konzentrationsbereich erlauben. Dieser wurde als Mindestmessbereich über folgende Abschätzung abgeleitet:

Der Arbeitsplatzgrenzwert (AGW) für Styrol beträgt in Deutschland 20 ppm bzw. 86 mg/m<sup>3</sup> [8]. Für eine achtstündige inhalative Exposition, die diesem Schichtmittelwert entspricht, errechneten Verner et al. [17] mittels populationsbezogener physiologiebasierter Pharmakokinetik-Modellierung eine korrespondierende Styrol-Konzentration in der Ausatemluft von 0,3 ppm – umgerechnet 1,3 µg/l, bei einer Probenahme 15 Minuten nach Schichtende. Die Autoren schlugen diese Konzentration als Biologischen Grenzwert für den Parameter „Styrol in Ausatemluft“ für die Beurteilung der Styrol-Belastung beruflich Exponierter vor. Der Mindestmessbereich orientiert sich an diesem Grenzwertvorschlag und sollte einen Bereich vom 0,1-fachen bis zum dreifachen der Grenzkonzentration umfassen. Er erstreckt sich demnach von *0,13 µg Styrol pro Liter Ausatemluft bis 4 µg Styrol pro Liter Ausatemluft*.

.....  
<sup>2</sup> Die Entwicklung der Analysenmethode erfolgte im Rahmen des Projektes F2400 der Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin

## 2 Analysenmethode zur Bestimmung von Styrol in Ausatemluft

Im Folgenden wird die entwickelte Analysenmethode mit ihren Kenndaten vorgestellt. Die Art der Methodenbeschreibung orientiert sich an den Veröffentlichungen der Arbeitsgruppe „Analysen in biologischem Material“ der Ständigen Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe<sup>3</sup> der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

### 2.1 Grundlage der Methode

Das hier beschriebene Verfahren ermöglicht die Bestimmung von Styrol in menschlicher end-expiratorischer Ausatemluft. Die Probenahmen erfolgen mit Gassammelrohren Typ BAuA. Nach Anreicherung des Styrols mittels Festphasenmikroextraktion (SPME – Solid Phase Micro Extraction), die direkt in den Gassammelrohren erfolgt, wird das Extrakt gaschromatographisch analysiert. Ein Quadrupol-Massenspektrometer mit Elektronenstoßionisation im Selected-Ion-Monitoring-Modus dient der Detektion. Für die externe Kalibrierung werden mit Styrol dotierte Ausatemluftproben verwendet.

### 2.2 Kenndaten der Methode – Zusammenfassung

**Matrix:** Ausatemluft

**Analytisches Messprinzip:** GC-MS

**Parameter und entsprechender Arbeitsstoff:**

Arbeitsstoff	CAS-Nr.	Parameter	CAS-Nr.
Styrol	100-42-5	Styrol	100-42-5

**Messbereich:** 0,002 bis mindestens 7 µg Styrol pro Liter Ausatemluft

**Zuverlässigkeitskriterien** (Zusammenfassung; Details s. Abschnitt 2.13)

**Präzision in der Serie:** Standardabweichung (rel.)  $s_w = 0,85 \%$ ,  $4,6 \%$  bzw.  $2,4 \%$   
 Streubereich  $u = 1,9 \%$ ,  $10,4 \%$  bzw.  $5,4 \%$   
 bei einer dotierten Konzentration von  $0,15 \mu\text{g}$ ,  $1,3 \mu\text{g}$  bzw.  $4,4 \mu\text{g}$  Styrol pro Liter Ausatemluft und  $n = 10$  Bestimmungen

**Präzision von Tag zu Tag:** Standardabweichung (rel.)  $s_w = 13,7 \%$  bzw.  $3,6 \%$   
 Streubereich  $u = 31 \%$  bzw.  $8,1 \%$   
 bei einer dotierten Konzentration von  $0,13 \mu\text{g}$  bzw.  $1,35 \mu\text{g}$  Styrol pro Liter Ausatemluft und  $n = 10$  Bestimmungen

**Richtigkeit:** Wiederfindungsrate (rel.)  $r = 100 \%$  bzw.  $110 \%$   
 bei einer dotierten Konzentration von  $1,4 \mu\text{g}$  bzw.  $4,0 \mu\text{g}$  Styrol pro Liter Ausatemluft und  $n = 10$  Bestimmungen

**Nachweisgrenze:**  $0,0007 \mu\text{g}$  Styrol pro Liter Ausatemluft

**Bestimmungsgrenze:**  $0,002 \mu\text{g}$  Styrol pro Liter Ausatemluft

<sup>3</sup> s. MAK-Collection online unter <https://series.publisso.de/pgseries/overview/mak>

## 2.3 Geräte, Chemikalien, Lösungen

### Geräte

Analysensystem: GC-MS mit Autosampler

- Gaschromatograph mit Split-/Splitless-Injektor und Quadrupol-Massenspektrometer; hier verwendetes Gerät: Triple-Quadrupol-Massenspektrometer im Single-Quadrupol-Modus (Agilent GC 7890B mit Agilent MS-MS 7010B; Agilent Technologies Deutschland GmbH, Waldbronn)
- gaschromatographische Kapillarsäule: stationäre Phase: Polyethylenglycol, Länge: 30 m; innerer Durchmesser: 0,25 mm; Filmdicke: 0,25 µm (z. B. Agilent Technologies Deutschland GmbH, Waldbronn, HP-Innowax, Nr. 19091N-1331)
- SPME Inlet Liner, Straight Design (unpacked), 0,75 mm ID (z. B. Supelco, Bellefonte, USA, Nr. 2637505)
- Autosampler: XYZ-Roboter zur automatisierten Festphasenmikroextraktion (SPME) mit SPME-Faser-Konditionierstation; hier verwendet MPS Robotic Pro (Gerstel Inc., Mühlheim/Ruhr); eigenmodifiziertes Proben-tray zur Aufnahme der Gassammelrohre Typ BAuA
- SPME-Faser (für Autosampler): Faserlänge 1 cm, Quarzglas, 100 µm PDMS-Beschichtung, Kanüle 23 ga (z. B. Supelco, Bellefonte, USA, Nr. 57341-U)

Gassammelrohre Typ BAuA

Volumen ca. 37,5 ml, zur Beprobung der Ausatemluft gemäß den Angaben in [18], Verschlusskappen: Lochschraubkappen, Gewinde GPI 13-425, Öffnung 7 mm (z. B. Open-Top Compression Cap, Kimble-Chase, Vineland, USA, Nr. 410119-1307) mit Septen aus Silikon und einseitiger PTFE-Beschichtung, 11 mm (z. B. Supelco, Bellefonte, USA, Nr. 27369-U); Mundstücke: Lochschraubkappen, Gewinde GPI 13-425, Polypropylen, Öffnung 7,8 mm (z. B. Glastechnik Gräfenroda GmbH, Gräfenroda, Nr. G074-CR/13)

Die exakten Volumina der Gassammelrohre werden vor ihrer Nutzung gravimetrisch bestimmt.

Sonstige Geräte

- Verdünnungsflaschen für statische Gasansätze (Glaskolben mit Gewindeöffnung), ca. 2,2 l, (z. B. Static Dilution Bottle, Supelco, Bellefonte, USA, Nr. 21992), Ventilverschlusskappen (Septum-PTFE-Druckknopfventil), GPI 24-400, (z. B. Mininert® Valves mit austauschbaren Silikon-Septen, Supelco, Bellefonte, USA, Nr. 33304 bzw. 33310-U) Die exakten Volumina der Kolben werden vor ihrer Nutzung gravimetrisch bestimmt.
- gasdichte Mikroliterspritzen, nichtaustauschbare Kanülen mit Seitenlochöffnung, Volumina: 10, 25, 50, 100, 250 und 500 µl (z. B. 1700 Series Syringes, Hamilton Bonaduz AG, Bonaduz, Schweiz)
- gasdichte Spritze, 10 ml, nichtaustauschbare Kanüle mit Seitenlochöffnung (z. B. 1000 Series Syringes, Hamilton Bonaduz AG, Bonaduz, Schweiz, Nr. 6801485)
- gasdichte Mikroliterspritzen, nichtaustauschbare Kanülen mit abgeschrägter Spitze für Septumpenetrationen, Volumina: 10, 25, 50, 100, 250 und 500 µl (z. B. 1700 Series Syringes, Hamilton Bonaduz AG, Bonaduz, Schweiz)
- Einkanal-Pipetten, mechanisch, variabel: 10-100 µl, 100-1000 µl, 0,5-5 ml (z. B. Research (Plus) Serie, Eppendorf AG, Hamburg)
- Elektronische Analysenwaage (z. B. Sartorius AG, Göttingen)
- 10 ml Feingewinde-Klarglasflaschen mit Lochschraubkappen und Silikon/PTFE-Septen (z. B. Gerstel Inc., Mühlheim/Ruhr, Deutschland, Nr. 093640-038-00 bzw. Nr. 093640-040-00)
- 1,5 ml Schraubgewinde-Klarglasflaschen (z. B. Gerstel Inc., Mühlheim/Ruhr, Deutschland, Nr. 093640-046-00); Schraubverschlusskappe, Gewinde GPI 9-425, Silikon-Septen

mit einseitiger PTFE-Beschichtung (z. B. Agilent Technologies Deutschland GmbH, Waldbronn, Nr. 5 182-0728 bzw. Nr. 5 182-0730)

#### Chemikalien

- Styrol Reagent Plus®, analytischer Standard, Reinheit  $\geq 99\%$ , stabilisiert mit 4-tert-Butylcatechol (z. B. Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen, Nr. S4972-5ml)
- Helium, verdichtet, Reinheit 6.0 (z. B. Linde AG, Berlin) – Trägergas (GC)
- Stickstoff, verdichtet, Reinheit 5.0 (z. B. Linde AG, Berlin) – Faser-Reinigung (SPME), Spülung der Verdünnungsflaschen
- Methanol, Reinheit: für gaschromatographische Analysen mit massenspektrometrischer Detektion (z. B. SupraSolv®, Supelco, Bellefonte, USA, Nr. 1008371000)
- Reinstwasser (z. B. erzeugt mit Purelab flex 3, ELGA Labwater GmbH, Celle)

#### 2.4 Herstellung der Kalibrierstandards

Die Herstellung der Kalibrierstandards erfolgt im klimatisierten Labor bei 20 °C.

##### Dotiergas I (Zielkonzentration ca.<sup>4</sup> 8 mg/l)

Auf eine mit Stickstoff gespülte Verdünnungsflasche wird eine Ventilverschlusskappe aufgeschraubt. In die so vorbereitete Flasche werden für einen statischen Gasansatz 20 µl Styrol mit einer gasdichten Spritze injiziert. Die Bestimmung der injizierten Styrol-Masse erfolgt dabei durch Differenzwägung der Spritze mittels Analysenwaage – Masse der gefüllten Spritze minus Masse der entleerten Spritze nach Injektion. Das durch vollständige Verdampfung des Styrols entstehende Gas wird im Dunkeln ca. 16 Stunden, z. B. über Nacht, bei Raumtemperatur equilibriert. Das Dotiergas I wird für jeden Verwendungstag frisch erzeugt.

##### Dotiergas II (Zielkonzentration ca.<sup>4</sup> 37 µg/l)

Auf eine mit Stickstoff gespülte Verdünnungsflasche wird eine Ventilverschlusskappe aufgeschraubt. Aus der so vorbereiteten gasdicht geschlossenen Flasche werden mit einer gasdichten Spritze 10 ml Gas entnommen und verworfen. Anschließend werden 10 ml des Dotiergases I mit der gasdichten Spritze – Kanülenspitze mit Seitenloch – injiziert. Das Gas wird mindestens eine Stunde bei Raumtemperatur, aber ohne direkte Sonneneinstrahlung, equilibriert. Das Dotiergas II wird für jeden Verwendungstag frisch erzeugt.

#### Kalibrierstandards

Der Ansatz der Kalibrierstandards erfolgt in Gassammelrohren Typ BAuA, in die zuvor Ausatemluft einer Person ohne berufliche Exposition gegenüber Styrol vorgelegt wurde. Die Vorlage der Ausatemluft erfolgt dabei entsprechend der Anleitung zur Probenahme von Ausatemluft mit Gassammelrohren Typ BAuA, siehe Abschnitt 2.6. Zur Einstellung der benötigten Styrol-Konzentrationen in den Gassammelrohren wird das benötigte Volumen Dotiergas mit gasdichten Spritzen – Kanülenspitzen mit Seitenloch – in die kurzzeitig einseitig geöffneten Gassammelrohre injiziert. Tabelle 1 enthält ein beispielhaftes Dotierschema. Es basiert auf folgenden Annahmen: Styrol-Einwaage: 18,1 mg<sup>5</sup>, Volumen der Verdünnungskolben: 2200 ml, Volumen der Gassammelrohre: 37,50 ml. Bei der Abarbeitung der Methode sind statt der Annahmen die tatsächlich gravimetrisch ermittelten Massen bzw. Volumina zu verwenden.

<sup>4</sup> die exakte Konzentration ergibt sich aus der jeweiligen Styrol-Einwaage

<sup>5</sup> Dichte 0,9045 g/ml bei 20°C

**Tab. 1** Beispiel-Dotierschema zur Herstellung der Styrol-Kalibrierstandards

Kalibrierstandard <sup>a</sup>	Volumen Gassammelrohr <sup>b</sup> [ml]	Dotiervolumen [µl]		Konzentration Kalibrierstandard [µg/l]
		Dotiergas I <sup>c</sup>	Dotiergas II <sup>d</sup>	
U1	37,50		25	0,025
U2	37,50		75	0,075
U3	37,50		125	0,12
U4	37,50		175	0,17
U5	37,50		225	0,22
U6	37,50		275	0,27
M1	37,50	2		0,44
M2	37,50	4		0,88
M3	37,50	6		1,3
M4	37,50	8		1,8
M5	37,50	10		2,2
M6	37,50	12		2,6
O1	37,50	5		1,1
O2	37,50	10		2,2
O3	37,50	15		3,3
O4	37,50	20		4,4
O5	37,50	25		5,5
O6	37,50	30		6,6

<sup>a</sup> Beispiele verschiedener Konzentrationsbereiche: U – unterer; M – mittlerer, O – oberer

<sup>b</sup> styrolfreie Ausatemluft vorgelegt

<sup>c</sup> Styrol-Konzentration 8,23 mg/l

<sup>d</sup> Styrol-Konzentration 37,4 µg/l

### 2.5 Herstellung der Qualitätskontrollproben

Die Styrolkonzentrationen der Kontrollproben sollen im entscheidungsrelevanten Konzentrationsbereich liegen. Im Folgenden ist beispielhaft die Herstellung von Kontrollproben mit einer Konzentration von 1,3 µg Styrol pro Liter Ausatemluft beschrieben.

**Stammlösung I:** Mit einer Pipette werden 4980 µl Methanol in ein 10-ml-Headspace-Gläschen vorgelegt. Das Gläschen wird mit einer Septumschraubkappe verschlossen und gewogen. Anschließend werden 20 µl Styrol mit einer gasdichten Spritze durch das Septum in das Vial injiziert. Die Styrol-Einwaage wird durch Differenzwägung ermittelt.

**Stammlösung II:** Mit einer Pipette werden 4860 µl Methanol in ein 10-ml-Headspace-Gläschen vorgelegt. Das Gläschen wird mit einer Septumschraubkappe verschlossen. Anschließend werden 140 µl Stammlösung I mit einer Mikroliterspritze durch das Septum in das Vial injiziert.

**Dotierlösung:** Mit einer Pipette werden 900 µl Reinstwasser in ein 2 ml Gläschen vorgelegt. Das Gläschen wird mit einer Septumschraubkappe verschlossen. Anschließend werden 100 µl Stammlösung II mit einer Mikroliterspritze durch das Septum in das Vial injiziert.

Kontrollproben: In die Gassammelrohre werden Ausatemluftproben eines Matrixspenders ohne berufliche Styrol-Exposition vorgelegt – siehe 2.6. Für jede Probe wird durch Differenzwägung die enthaltene Wassermasse – das Atemkondensat – ermittelt. Anschließend wird die Wassermasse in den Rohren durch entsprechende Zugaben von Reinstwasser mit Hilfe einer Mikroliterpipette normiert – auf zum Beispiel 50 mg pro Gassammelrohr. Mit einer Mikroliterspritze werden jeweils 5 µl der Dotierlösung in die kurzzeitig einseitig geöffneten Gassammelrohre injiziert. Tabelle 2 zeigt ein beispielhaftes Dotierschema; angenommene Styrol-Einwaage: 18,1 mg.

Die Dotierlösungen und Kontrollproben sollten zeitnah zur Verwendung hergestellt werden. Die Stammlösungen I und II sind im Kühlschrank bei 4°C mindestens 8 Wochen haltbar. Die Arbeitsschritte zum Ansatz der Stammlösungen lassen sich überspringen, wenn stattdessen kommerziell verfügbare Styrol-in-Methanol-Lösungen geeigneter Konzentrationen eingesetzt werden (z. B. Styrol 100 µg/ml in Methanol, Dr. Ehrenstorfer, LGC Labor GmbH, Augsburg).

**Tab. 2** Beispiel-Dotierschema zur Herstellung von Kontrollproben

	Herstellung/Dotierung	Styrol-Konzentration <sup>6</sup>
Stammlösung I	4980 µl Methanol, Zugabe 20 µl Styrol-Standard	3620 mg/l
Stammlösung II	4860 µl Methanol, Zugabe 140 µl Stammlösung I	101 mg/l
Dotierlösung	900 µl Reinstwasser, Zugabe 100 µl Stammlösung II	10,1 mg/l
Kontrollprobe	37,50 ml styrolfreie Ausatemluft, Zugabe 5 µl Dotierlösung	1,3 µg/l

## 2.6 Probenahme und Probenaufbereitung

Die zu beprobende Person atmet normal, hält dann 5 s die Luft an und pustet anschließend ihre Lunge möglichst vollständig durch das beidseitig offene Gassammelrohr Typ BAuA leer. Das Rohr wird anschließend rasch mittels Septumschraubkappen gasdicht verschlossen. Zur Vermeidung eines Mund-Glaskontaktes können Lochschraubkappen als Mundstücke genutzt werden. Von jeder zu beprobenden Person werden zwei Ausatemluftproben konsekutiv gewonnen.

Die gewonnenen Ausatemluftproben können ca. eine Woche im Dunkeln ohne Kühlung gelagert werden. Die Proben werden dem Analysensystem direkt – ohne Probenaufbereitung – zugeführt.

## 2.7 Instrumentelle Arbeitsbedingungen

### Festphasenmikroextraktion (SPME)

Extraktionszeit: 6 min  
 Extraktionstemperatur: Raumtemperatur (Laborraum klimatisiert auf 20 °C)  
 Ausheizung der SPME-Faser: bei 270 °C in der Konditionierstation unter Stickstoff;  
 nach mehrstündiger Standzeit: für 30 min vor dem Start einer Messserie; innerhalb einer Messserie: für 6 min unmittelbar vor jeder Extraktion (pre-bake-out)

<sup>6</sup> die exakte Konzentration ergibt sich aus der jeweiligen Styrol-Einwaage



### *Gaschromatographie*

Injektionstechnik:	Split-Injektion; Split-Verhältnis 1:20
Injektortemperatur:	240 °C
SPME-Faser-Desorptionszeit:	2 min (Probenaufgabe, Thermodesorption)
Trägergasfluss:	1 ml Helium/min
Ofentemperatur:	Ausgangstemperatur 40 °C, 2 min halten, Anstieg mit 5 °C/min auf 60 °C, Anstieg mit 30 °C/min auf 100 °C, 2 min halten

### *Massenspektrometrie*

Transfer-Line-Temperatur:	250 °C
Ionisationsart:	Elektronenstoßionisation (EI)
Ionisationsenergie:	70 eV
Quellentemperatur:	230 °C
Quadrupoltemperatur:	150 °C
Quenchgas (Helium):	2,25 ml/min
Kollisionsgas (Stickstoff):	off
Dwell time:	100 ms
Detektionsmodus:	Single-Ion-Monitoring (SIM) im Single-Quadrupol-Modus

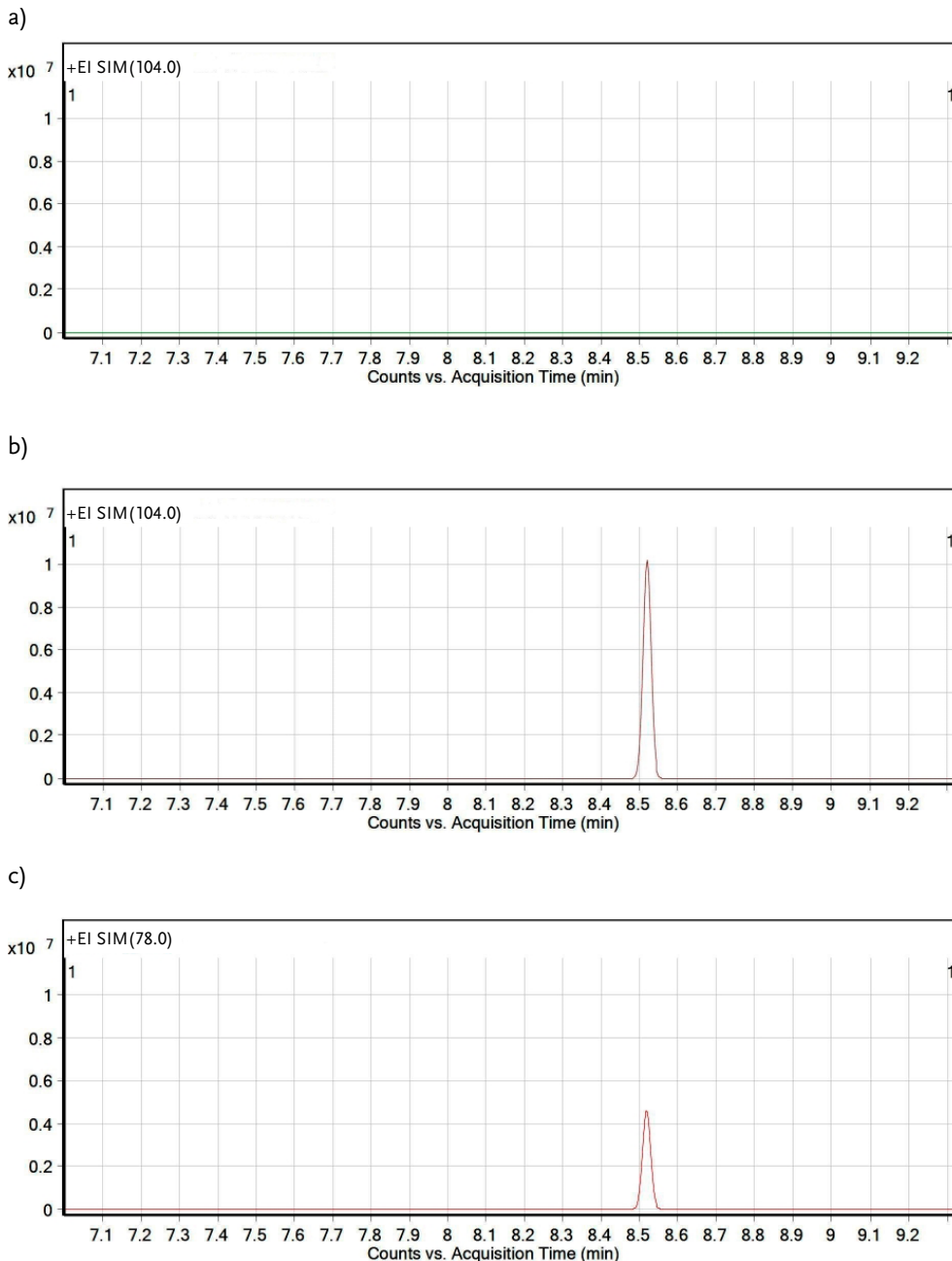
## **2.8 Analytische Bestimmung**

Styrol wird mittels Festphasenmikroextraktion angereichert, mit der SPME-Faser in den Injektor des Gaschromatographen überführt und dort thermodesorbiert.

Die Festphasenmikroextraktion erfolgt automatisiert direkt in den Gassammelrohren, die sich dabei in einem zur Aufnahme der Rohre modifizierten Tray des Autosamplers befinden.

Nach der gaschromatographischen Abtrennung des Styrols von anderen Probenbestandteilen erfolgt die massenspektrometrische Detektion. Für seine Identifizierung werden die Retentionszeit und ausgewählte Ionenspuren, siehe Tabelle 3, genutzt. Die angegebene Retentionszeit dient der Orientierung und ist vom Methoden-Anwender zu überprüfen. Abweichungen können sich aus einem Unterschied der Trennleistung der jeweils eingesetzten Säule ergeben. Abbildung 1 zeigt das Chromatogramm einer Ausatemluftprobe einer Person ohne berufliche Styrol-Exposition und eines einer Ausatemluftprobe derselben Person mit Styrol-Dotierung – Zielkonzentration 1,3 µg/l.

Es wird empfohlen jeweils beide konsekutiv gewonnenen Proben pro Person, siehe 2.6, zu analysieren. Das Analysenergebnis ergibt sich aus dem Mittelwert der beiden Messungen.



**Abb. 1** a) Chromatogramm einer Ausatemluftprobe einer Person ohne berufliche Styrol-Exposition; b) und c) Chromatogramme einer Styrol-dotierten Ausatemluftprobe derselben Person – Zielkonzentration 1,3 µg Styrol pro Liter Ausatemluft; b) Quantifier: m/z 104, c) Qualifier: m/z 78

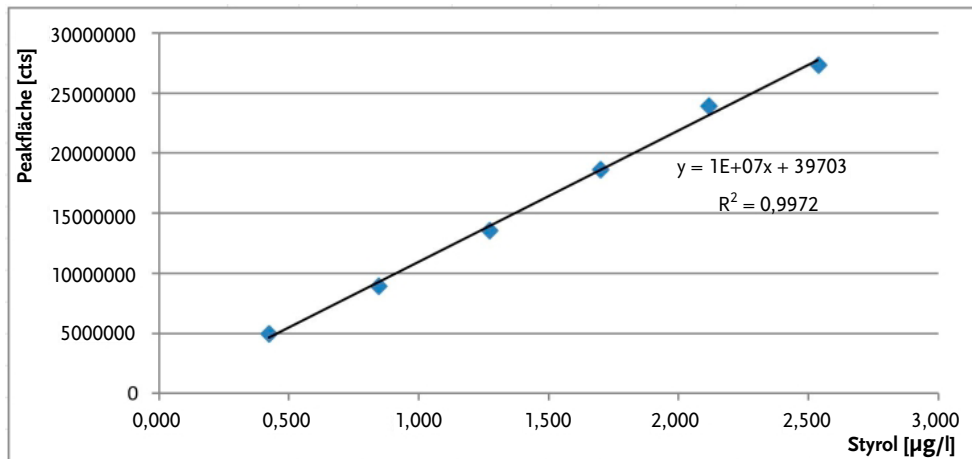
**Tab. 3** Retentionszeit und detektierte Ionenspuren von Styrol

Analyt	Trennsäule	Retentionszeit [min]	Ionenspur m/z	
			Quantifier	Qualifier
Styrol	HP-Innowax	8,5	104	78

### 2.9 Kalibrierung und Berechnung der Analyseergebnisse

Für die Kalibrierung, die extern erfolgt, werden die Kalibrierstandards wie die Proben ohne weitere Vorbehandlung direkt in den Arbeitsbereich des Autosamplers platziert und analysiert. Die Peakflächen des Styrols der Kalibrierproben werden als Funktion der jeweils eingestellten Styrol-Konzentration dargestellt. Im gesamten Arbeitsbereich der Methode konnte die Linearität der Funktion nachgewiesen werden. Die Kalibrierfunktionen werden deshalb als

Regressionsgerade berechnet. In Abbildung 2 wird beispielhaft eine so erhaltene Kalibrierfunktion gezeigt. Die zur Herstellung der Kalibrierstandards verwendete Ausatemluft ist auf ihre, im Arbeitsbereich der Methode zu erwartende, Blindwertfreiheit zu prüfen. Hierzu wird bei jeder Kalibrierung eine undotierte Ausatemluftprobe des Matrixspenders analysiert. Die Styrolpeakflächen der analysierten Proben werden über die entsprechende Kalibrierfunktion in Konzentrationseinheiten umgerechnet.



**Abb. 2** Kalibriergerade für Styrol in Ausatemluft, Kalibrierung um 1,3 µg Styrol pro Liter Ausatemluft

### 2.10 Qualitätssicherung

Zur Qualitätssicherung wird mit jeder Analysenserie mindestens eine Kontrollprobe analysiert. Da entsprechendes Kontrollprobenmaterial kommerziell nicht verfügbar ist, wird dieses selbst hergestellt. Die Herstellung erfolgt separiert und unabhängig von den Kalibrierstandards nach einem eigenständigen Ansatzverfahren, wie unter 2.5 beschrieben. Die Bewertung der Ergebnisse der Kontrollprobenanalysen erfolgt anhand laboratoriumsinterner Fehlergrenzen, die die Leistungsfähigkeit des Verfahrens und die Anforderungen, die sich aus der Analyseaufgabe ergeben, berücksichtigen.

### 2.11 Hinweise aus Vorversuchen

#### Auswahl der Trennsäule

In Vorversuchen wurde die Nutzbarkeit folgender gaschromatographischer Trennsäulen getestet:

- (a) Länge: 30 m; innerer Durchmesser: 0,25 mm; Filmdicke: 0,25 µm Polyethylenglycol (HP-Innowax, Agilent Technologies Deutschland GmbH, Waldbronn, Nr. 19091N-1331)
- (b) Länge: 30 m; innerer Durchmesser: 0,25 mm; 1 µm Film (5%-Phenyl)-methylpolysiloxan (HP-5MS, Agilent Technologies Deutschland GmbH, Waldbronn, Nr. 19091S-233)
- (c) Länge: 30 m; innerer Durchmesser: 0,25 mm; 1 µm Film 100% Dimethylpolysiloxan (HP-1MS, Agilent Technologies Deutschland GmbH, Waldbronn, Nr. 19091S-733)

Alle drei Säulen erlaubten eine Abtrennung des Styrols von Matrixbestandteilen und können jeweils alternativ verwendet werden. Die Validierung der Methode erfolgte lediglich aus labororganisatorischen Gründen mit Säule (a). Abbildung 1 in Abschnitt 2.8 zeigt beispielhaft mit dieser Säule erhaltene Chromatogramme.

#### Festphasenmikroextraktion – Faserauswahl, Festlegung der Extraktionszeit

In der Methodenentwicklung wurde die Verwendbarkeit von Carboxen/PDMS-Fasern (75 µm)<sup>7</sup>

<sup>7</sup> Faserlänge 1 cm, Quarzglas, Kanüle 23 ga (Supelco, Bellefonte, USA, Nr. 57343-U)

und PDMS-Fasern (100 µm) für den Mikroextraktionsschritt untersucht. Die Ergebnisse der Untersuchung sind in Tabelle 4 zusammengefasst.

**Tab. 4** SPME-Faser-Auswahl; Ergebnisse von Vorversuchen

Fasertyp	Extraktionsausbeute von Styrol aus einer Ausatemluftprobe	Verschleppung von Styrol; Rest-Styrolgehalt in der Faser nach einer Analyse
Carboxen/PDMS (75 µm)	sehr gut	ja, kritisch
PDMS (100 µm)	ausreichend	nein

Die Carboxen/PDMS-Faser liefert eine hohe Extraktionsausbeute, jedoch verbleiben nach der Analyse Styrol-Reste in der Faser, die die nachfolgende Analyse stören können. Eine solche Analyt-Verschleppung war bei der PDMS-Faser nicht nachweisbar, weshalb dieser Fasertyp für die Styrol-Extraktion ausgewählt wurde. Untersuchungen zur Extraktionsausbeute in Abhängigkeit von der Extraktionszeit zeigten, dass das Extraktionsgleichgewicht nach ca. 5 Minuten erreicht wird. Die Extraktionszeit wurde deshalb in Abstimmung mit den anderen Analysenschritten auf 6 Minuten festgelegt.

### 2.12 Störeinflüsse

Styrol kann schon bei Raumtemperatur polymerisieren. Deshalb enthält der in dieser Methode eingesetzte Styrol-Standard einen Inhibitor. Da sich der Inhibitor – nach Herstellerangaben<sup>8</sup> – im Laufe der Zeit erschöpft, sollte, unabhängig von den Haltbarkeitsangaben des Herstellers, der Standard vor seiner Verwendung auf Trübung, Ablagerungen und eine Farbveränderung geprüft werden.

### 2.13 Beurteilung der Methode

Zur Beurteilung der Methode wurden die nachfolgend beschriebenen Validierungsversuche durchgeführt.

#### 2.13.1 Präzision

Die Präzision in der Serie wurde bei drei verschiedenen Konzentrationen – 0,15 µg/l, 1,3 µg/l und 4,4 µg/l – untersucht. Hierzu wurden für jede Konzentrationsstufe jeweils 10 Styrol-dotierte Ausatemluftproben hergestellt und analysiert. Die Herstellung der Proben erfolgte wie unter 2.4 beschrieben – analog der Kalibrierproben-Herstellung. Die in den jeweiligen Messserien erhaltenen Präzisionen sind in Tabelle 5 aufgeführt.

**Tab. 5** Präzision in der Serie für die Bestimmung von Styrol in Ausatemluft

eingestellte Konzentration [µg/l]	Anzahl der in Serie analysierten Proben (n)	Standardabweichung (relativ) $s_w$ [%]	Streubereich $u$ (P = 95 %) [%]
0,15	10	0,85	1,9
1,3	10	4,6	10,4
4,4	10	2,4	5,4

$u = s_w \cdot t_p$ ; ( $t_p$  – Student-Faktor, zweiseitig, bei  $n = 10$  und  $P = 95\%$ : 2,262) [20]

Für die Bestimmung der Präzision von Tag zu Tag wurden Styrol-dotierte Ausatemluftproben in zwei Konzentrationsstufen – 0,13 µg/l und 1,35 µg/l – für jeden Messtag neu, wie unter 2.5 beschrieben, hergestellt. Hierzu wurden jeweils tagesfrisch erzeugte Stamm- und Dotier-

<sup>8</sup> Angabe der Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen, im „Product S4972 – Certificate of Analysis“

lösungen verwendet. An 10 Messtagen wurden jeweils zwei Proben je Konzentrationsstufe analysiert. Die erhaltenen Tag-zu-Tag-Präzisionen sind in Tabelle 6 aufgeführt.

**Tab. 6** Präzision von Tag zu Tag für die Bestimmung von Styrol in Ausatemluft

eingestellte Konzentration [µg/l]	Anzahl der Messtage (n)	Standardabweichung (relativ) $s_w$ [%]	Streubereich $u$ (P = 95 %) [%]
0,13	10	13,7	31
1,35	10	3,6	8,1

$u = s_w * t_p$ ; ( $t_p$  – Student-Faktor, zweiseitig, bei  $n = 10$  und  $P = 95 \%$ : 2,262) [20]

### 2.13.2 Richtigkeit

Die Richtigkeit der Methode wurde für die Konzentrationen 1,4 µg und 4,0 µg pro Liter Styrol ermittelt. Hierzu wurden jeweils 10 Kontrollproben, wie unter 2.5 beschrieben, hergestellt und analysiert. Die erhaltenen Wiederfindungsraten sind in Tabelle 7 aufgeführt.

**Tab. 7** Richtigkeit der Bestimmung von Styrol in Ausatemluft

eingestellte Konzentration [µg/l]	Anzahl der Messungen (n)	Standardabweichung (relativ) $s_w$ [%]	mittlere relative Wiederfindung $r$ [%]	relative Wiederfindung; Bereich [%]
1,4	10	1,8	100	98–102
4,0	10	0,72	110	109–111

### 2.13.3 Nachweis- und Bestimmungsgrenzen

Die Nachweis- und Bestimmungsgrenze, s. Tabelle 8, wurden in Anlehnung an das Kalibrierkurvenverfahren der DIN 32645 ermittelt. Hierzu wurde eine Kalibrierfunktion im Bereich der erwarteten Nachweis- und Bestimmungsgrenze aufgenommen. Die Kalibrierpunkte waren äquidistant; kleinste und größte Konzentration der Kalibrierproben unterschieden sich um den Faktor 10. Die Kalibrierproben wurden durch Dotierung von Ausatemluftproben, wie in 2.4 beschrieben, erzeugt.

**Tab. 8** Nachweis- und Bestimmungsgrenze für Styrol in Ausatemluft

	Nachweisgrenze [µg/l]	Bestimmungsgrenze [µg/l]
Styrol in Ausatemluft	0,0007	0,002

### 2.13.4 Lagerfähigkeit der Ausatemluftproben

Zur Beurteilung der Lagerfähigkeit der Ausatemluftproben erfolgten Lagerversuche bei verschiedenen Temperaturen – 4°C, 20°C und 35°C – über eine Woche. Von drei Personen ohne berufliche Styrol-Exposition wurden 216 endexpiratorische Ausatemluftproben, 72 pro Person – dreimal 24 konsekutiv – als Matrixmaterial mit Gassammelrohren Typ BAuA, wie unter 2.6 beschrieben, gewonnen. Pro Person wurden 63 Proben mit Styrol, gemäß Punkt 2.4, dotiert, zur Einstellung der Zielkonzentrationen 0,13 µg, 1,3 µg und 4,0 µg Styrol pro Liter Ausatemluft in jeweils 21 Proben. Die Styrol-Analysen erfolgten am Tag 0 (Ansatztag), 3 Proben je Person und Konzentration, sowie nach 4 und 7 Tagen, jeweils 9 Lagerproben je Person und Konzentration. Zusätzlich wurden 3 undotierte Proben pro Person und Konzentration zum Nachweis der Blindwertfreiheit analysiert.

Die Ergebnisse des Lagerversuchs sind in den Tabellen 9 und 10 dargestellt. Demnach nahmen die Styrol-Konzentrationen in den Lagerproben mit der Lagerzeit tendenziell ab. Die größten Abnahmen ergaben sich bei Proben mit der geringsten Konzentration, jedoch betragen diese maximal 20 %. Auf eine entsprechende Korrektur der Messergebnisse kann deshalb verzichtet werden. Ein Einfluss der Lagertemperatur auf die Probenstabilität ist nicht klar erkennbar. Die Proben können so, auch bei sommerlichen Temperaturen, ungekühlt transportiert und gelagert werden.

Die Analysen sollten zeitnah, möglichst innerhalb einer Woche, nach der Probenahme erfolgen. Die Lagerzeit wird, verbunden mit einem entsprechenden Hinweis auf eine mögliche Konzentrationsunterschätzung, am Messergebnis vermerkt.

**Tab. 9** Lagerstabilität von Ausatemluftproben: Einfluss der Lagerzeit auf die Styrol-Konzentration; Datenzusammenfassung ohne Unterscheidung nach der Lagertemperatur

Lagerzeit in Tagen	mittlere relative Wiederfindung in % s <sub>rel.</sub> in % (Probenanzahl)		
	Styrol-Zielkonzentration		
	0,13 µg/l	1,3 µg/l	4,0 µg/l
0	<b>100*</b> 2,4 (9)	<b>100*</b> 6,2 (9)	<b>100*</b> 2,0 (9)
4	<b>84</b> 3,1 (27)	<b>97</b> 7,6 (27)	<b>97</b> 2,3 (27)
7	<b>84</b> 3,9 (27)	<b>92</b> 5,9 (27)	<b>88</b> 3,7 (27)

\* Wertsetzung – gemessene Konzentration gleich 100 %

**Tab. 10** Lagerstabilität von Ausatemluftproben: Einfluss von Lagertemperatur und -zeit auf die Styrol-Konzentration

Lagertemperatur in °C	mittlere relative Wiederfindung in % s <sub>rel.</sub> in % (Probenanzahl)		
	Styrol-Zielkonzentration		
	0,13 µg/l	1,3 µg/l	4 µg/l
Lagerzeit 4 Tage			
4	<b>83</b> 3,3 (9)	<b>101</b> 10 (9)	<b>96</b> 2,1 (9)
20	<b>85</b> 2,6 (9)	<b>95</b> 3,1 (9)	<b>98</b> 2,0 (9)
35	<b>84</b> 3,0 (9)	<b>96</b> 6,6 (9)	<b>98</b> 2,6 (9)
Lagerzeit 7 Tage			
4	<b>85</b> 2,5 (9)	<b>89</b> 3,7 (9)	<b>88</b> 4,7 (9)
20	<b>85</b> 4,6 (9)	<b>94</b> 5,8 (9)	<b>88</b> 3,0 (9)
35	<b>81</b> 3,1 (9)	<b>92</b> 6,9 (9)	<b>89</b> 3,4 (9)

## 2.14 Diskussion der Methode

Die beschriebene Analysenmethode erlaubt die Bestimmung von Styrol in Ausatemluft im arbeitsmedizinisch relevanten Konzentrationsbereich und in einer für Expositionsbeurteilungen ausreichenden Qualität. So liegen die Präzision und Richtigkeit der Methode in vergleichbarer Größenordnung wie die der Messmethoden für den etablierten Styrol-Biomonitoring-Parameter „Mandelsäure plus Phenylglyoxylsäure im Urin“ [21, 22].

Die Methode eignet sich nur eingeschränkt zur Erfassung der Styrol-Hintergrundbelastung der Bevölkerung. Brugnone et al. [23], die diese untersuchten, fanden bei der Hälfte von 38 Klinikbeschäftigten ohne berufliche Styrol-Exposition, Belastungen unterhalb der Bestimmungsgrenze des vorgelegten Verfahrens von 2 ng Styrol pro Liter Ausatemluft. Um die Hintergrundbelastung umfassender abbilden zu können, ist eine Absenkung der Bestimmungsgrenze der vorliegenden Methode um mindestens ein bis zwei Zehnerpotenzen zu empfehlen. Was jedoch grundsätzlich, z. B. durch den Einsatz einer splitlosen Injektionstechnik und einer Verbesserung des Anreicherungsschrittes, möglich erscheint.

Die Proben werden ohne Vorbereitung in ihren ursprünglichen Probenahmegefäßen – den Gassammelrohren – in den Arbeitsbereich des Probengebers des Analysensystems platziert und vollautomatisch analysiert. Der personelle Aufwand für eine Analysenserie wird damit vor allem durch die Kalibrierung der Methode und weniger durch die Probenanzahl bestimmt – was die Analyse größerer Probenumfänge vereinfacht. Styrol lässt sich gaschromatographisch leicht von anderen Bestandteilen der Ausatemluft abtrennen. So gelingt die Trennung auch mit weit verbreiteten Standardsäulen, z. B. mit 100% Dimethylpolysiloxan- oder (5%Phenyl)-Methylpolysiloxan-Filmen.

Für die Qualitätssicherung ist bisher kein Kontrollprobenmaterial kommerziell verfügbar. Jedoch lässt sich das benötigte Material selbst herstellen. Hierzu wurde ein Verfahren entwickelt, dass sich von der Herstellung der Kalibrierstandards ausreichend unterscheidet. So werden die Kalibrierstandards mit Dotiergasen erzeugt, die Qualitätskontrollproben dagegen mit Dotierlösungen und die Verfahren starten mit separaten Styrol-Einwaagen. Die auf diese Art hergestellten Kontrollproben ermöglichen die Überwachung der Tageskalibrierungen in der Routineanalytik sowie die Validierung der Analysenmethode.

Fazit: Die vorgestellte Analysenmethode eignet sich grundsätzlich, aufgrund ihrer Einfachheit und ihrer hohen Automatisierung, für einen Einsatz im arbeitsmedizinischen Routine-Biomonitoring. Sie kann zunächst als Basis für die noch ausstehenden Feldstudien zur Validierung des Messparameters genutzt werden.

## Literatur

- [1] European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals (1995) Special Report 09 – Styrene Criteria Document. ECETOC, Brussels, Belgium
- [2] Wu Y, Hou F, Cheng X (2017) Real-Time Prediction of Styrene Production Volume Based on Machine Learning Algorithms. In: Advances in Data Mining. Applications and Theoretical Aspects. 17th Industrial Conference. ICDM 2017:301-312
- [3] Deutsche Gesetzliche Unfallversicherung (2014) G 45 Styrol. In: DGUV Grundsätze für arbeitsmedizinische Untersuchungen. 6., vollst. Neubearb. Aufl. Gentner, Stuttgart, 988 Seiten
- [4] Banton MI, Bus JS, Collins JJ, Delzell E, Gelbke HP, Kester JE, et al. (2019) Evaluation of potential health effects associated with occupational and environmental exposure to styrene – an update. J Toxicol Environ Health B Crit Rev 22:1-130

- [5] Europäische Kommission (2014) Verordnung (EU) Nr. 605/2014 der Kommission vom 5. Juni 2014. Amtsblatt der Europäischen Union L 167/36 vom 06. Juni 2014
- [6] WHO. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans (2019) Styrene, Styrene-7,8-oxide, and Quinoline. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans No. 121. International Agency for Research on Cancer, Lyon, France
- [7] Deutsche Forschungsgemeinschaft (2020) Ständige Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe: MAK- und BAT-Werte-Liste 2020. Maximale Arbeitsplatzkonzentrationen und Biologische Arbeitsstofftoleranzwerte. Mitteilung 56. German Medical Science, Düsseldorf
- [8] Ausschuss für Gefahrstoffe (2006) Technische Regeln für Gefahrstoffe. Arbeitsplatzgrenzwerte. TRGS 900. Ausgabe: Januar 2006, zuletzt geändert und ergänzt: GMBI 2020, S. 902 [Nr. 42] (vom 27.10.2020)
- [9] Ausschuss für Gefahrstoffe (2013) Technische Regeln für Gefahrstoffe. Biologische Grenzwerte (BGW). TRGS 903. Ausgabe: Februar 2013, zuletzt geändert und ergänzt: GMBI 2020 S. 200 [Nr. 9-10] vom 13.03.2020
- [10] Deutsche Gesetzliche Unfallversicherung (2009) Handlungsanleitung für die arbeitsmedizinische Vorsorge nach dem Berufsgenossenschaftlichen Grundsatz G 45 „Styrol“. BGI/GUV-I 504-45. DGUV, Sankt Augustin, 10 Seiten
- [11] Arnone M, Auras S, Beth-Hübner M, Deutsch B., Fröhlich H-P, et al. (2018) BK 1317 – Polyneuropathie oder Enzephalopathie durch organische Lösungsmittel oder deren Gemische (BK-Report 1/2018). 3. Auflage. Hrsg.: Deutsche Gesetzliche Unfallversicherung, Berlin, 133 Seiten
- [12] Verordnung zur arbeitsmedizinischen Vorsorge vom 18.12.2008 (BGBl. I, S. 2768), zuletzt geändert durch Artikel 1 der Verordnung vom 12.07.2019 (BGBl. I, S. 1082)
- [13] Verordnung zum Schutz vor Gefahrstoffen (Gefahrstoffverordnung – GefStoffV) vom 26. November 2010 (BGBl. I S 1643) zuletzt geändert durch Artikel 148 des Gesetzes vom 29. März 2017 (BGBl. I S 626)
- [14] Engström K, Riihimäki V, Laine A (1984) Urinary disposition of ethylbenzene and m-xylene in man following separate and combined exposure. *Int Arch Occup Environ Health* 54:355-63
- [15] Schaller KH, Triebig G, Valentin H (1983) Styrol. Biologische Arbeitsstoff-Toleranz-Werte (BAT-Werte) und Expositionsäquivalente für krebserzeugende Arbeitsstoffe (EKA), 5. Lieferung 1990, Wiley-VCH, Weinheim
- [16] Bonanni RC, Gatto MP, Paci E, Gordiani A, Gherardi M, Tranfo G (2015) Biomonitoring for Exposure Assessment to Styrene in the Fibreglass Reinforced Plastic Industry: Determinants and Interferents. *Ann Occup Hyg* 59:1000-11
- [17] Verner M-A, McDougall R, Johanson G (2012) Using population physiologically based pharmacokinetic modeling to determine optimal sampling times and to interpret biological exposure markers: The example of occupational exposure to styrene. *Toxicol Lett* 213:299-304
- [18] Ziener C-E, Braunsdorf P-P (2014) Trace analysis in end-exhaled air using direct solvent extraction in gas sampling tubes: tetrachloroethene in workers as an example. *Int J Anal Chem* 2014:904512
- [19] Ziener, C-E (2014) Biomonitoring in Ausatemluft am Beispiel Tetrachlorethen-Exponierter. *Zbl Arbeitsmed* 64: 397-400
- [20] Bader M, Barr D, Göen T, Schaller KH, Scherer G, Angerer J (2010) Zuverlässigkeitskriterien einer analytischen Methode. In: Angerer J, Hartwig A (Hrsg.) *Analytische Methoden zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Bd 2: Analysen in biologischem Material*, 19.Lieferung. Wiley-VCH, Weinheim, 284-336



- [21] Lewalter J, Schucht T (1985) Aromatische Carbonsäuren. In: Greim H (Hrsg) Analytische Methoden zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Bd 2: Analysen in biologischem Material, 8. Lieferung. Wiley-VCH, Weinheim, 1-16
- [22] Lewalter J, Leng G, Willmersdorf K (2006) Furan-2-carbonsäure und weitere Carbonsäuren (Phenylglyoxylsäure, Mandelsäure, t,t-Muconsäure, Benzoesäure, Hydroxybenzoesäuren, Hippursäure, Methylhippursäuren, 2,4-Dichlorbenzoesäure, 3-Methyl-4-nitro-benzoesäure, TTCA). In: Greim H (Hrsg) Analytische Methoden zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Bd 2: Analysen in biologischem Material, 17. Lieferung. Wiley-VCH, Weinheim, 1-21
- [23] Brugnone F, Perbellini L, Faccini GB, Pasini F, Maranelli G, Romeo L, et al. (1989) Breath and blood levels of benzene, toluene, cumene and styrene in non-occupational exposure. *Int Arch Occup Environ Health* 61:303-11