

**Human-experimentelle Untersuchungen zur  
Toxikokinetik von Ethyltoluol als Grundlage der  
Evaluierung eines Biologischen Monitoring**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin  
des Fachbereiches Medizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von Eva-Maria Gisela Coester  
aus Diez/Rhein-Lahn-Kreis

Gießen 2008

Aus dem Institut und der Poliklinik für Arbeits- und Sozialmedizin  
Geschäftsführender Leiter: PD Dr. med J. Schneider

Direktor des Zentrums für Ökologie:  
Prof. Dr. med. T. Eikmann

Gutachter: PD Dr. Dr. U. Knecht

Gutachter: PD Dr. G. Lochnit

Tag der Disputation: 04.12.2008

„Ich erkläre: Ich habe die vorgelegte Dissertation selbständig, ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.“

Meinen Eltern und meiner Großmutter Käthe  
in Liebe und Dankbarkeit

# Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
1.1	Prävention in der Arbeitsmedizin.....	1
1.1.1	Primäre Prävention.....	1
1.1.1.1	Das Ambient Monitoring und die Luftgrenzwerte.....	1
1.1.1.2	Bestimmung des Luftgrenzwerts für Ethyltoluol.....	2
1.1.2	Sekundäre Prävention.....	2
1.1.2.1	Das Biologische Monitoring.....	2
1.1.2.2	Biologische Arbeitsstoff-Toleranzwerte (BAT-Werte).....	3
1.1.2.3	Vorteile und Grenzen des Biologischen Monitoring.....	4
1.2	Ethyltoluol.....	6
1.2.1	Verwendung und Vorkommen von Ethyltoluol.....	6
1.2.2	Chemische und physikalische Eigenschaften von Ethyltoluol.....	7
1.2.3	Toxizität von Ethyltoluol.....	8
1.3	Toxikokinetik aromatischer Kohlenwasserstoffe.....	10
1.3.1	Resorption.....	10
1.3.2	Distribution.....	11
1.3.3	Allgemeiner Metabolismus aromatischer Kohlenwasserstoffe.....	13
1.3.4	Metabolismus von Toluol.....	15
1.3.5	Metabolismus von Ethylbenzol .....	16
1.3.6	Vermuteter Metabolismus von Ethyltoluol.....	19
1.3.7	Elimination.....	20
2	Fragestellung.....	22
3	Methodik und Material.....	23
3.1	Durchführung von Kammerversuchen.....	23
3.2	Standardisierte Expositionsbedingungen.....	24
3.3	Kollektivbeschreibung.....	25
3.4	Durchführung der Exposition.....	25
3.4.1	Kollektiv A.....	25
3.4.2	Kollektiv B.....	26
3.5	Probengewinnung.....	27
3.5.1	Gewinnung der Kammerluftproben.....	27
3.5.2	Gewinnung der Blutproben.....	27
3.5.3	Gewinnung der Urinproben.....	28

3.6	Analytik.....	28
3.6.1	Analyse der Kammerluftproben.....	28
3.6.2	Analyse der Blutproben.....	29
3.6.3	Analyse der Urinproben.....	30
3.7	Gaschromatographische Arbeitsmethoden.....	30
3.7.1	Analytisches Procedere.....	30
3.7.1.1	Qualitative Analytik.....	31
3.7.1.2	Quantitative Analytik.....	31
3.7.1.3	Standardisierung der Messergebnisse und Qualitätssicherung.....	32
3.7.1.4	Beurteilung des Verfahrens.....	32
3.7.1.5	Kreatininbestimmungen.....	32
3.8	Material und Geräte.....	33
3.9	Chemikalien.....	34
4	Ergebnisse.....	36
4.1	Gaschromatographische Validitätskriterien.....	36
4.1.1	Qualitatives Metabolitenspektrum.....	36
4.1.2	Qualitätssicherung und Standardisierung der Messergebnisse.....	39
4.1.3	Präzision.....	42
4.1.4	Richtigkeit.....	45
4.1.5	Nachweisgrenzen.....	47
4.2	Ethyltoluol in der Kammerluft.....	48
4.2.1	Konzentration von Ethyltoluol in der Kammerluft.....	48
4.3	Ethyltoluol im Blut.....	52
4.3.1	Einstellung des steady state.....	52
4.3.2	Eliminationskinetik der isomeren Ethyltoluole.....	55
4.3.2.1	4-Ethyltoluol.....	55
4.3.2.2	3-Ethyltoluol.....	56
4.3.2.3	2-Ethyltoluol.....	58
4.4	Ethyltoluolmetabolite im Urin.....	60
4.4.1	4-Ethyltoluolmetabolite im Urin.....	60
4.4.1.1	Konzentration der 4-Ethyltoluolmetabolite bezogen auf das Urinvolumen (mg/l Urin).....	61
4.4.1.2	Konzentration der 4-Ethyltoluolmetabolite bezogen auf den Kreatiningehalt (mg/g Kreatinin).....	66
4.4.1.3	Elimination und Halbwertszeit der 4-Ethyltoluolmetabolite.....	69

4.4.2	3-Ethyltoluolmetabolite im Urin.....	71
4.4.2.1	Konzentration der 3-Ethyltoluolmetabolite bezogen auf das Urinvolumen (mg/l Urin).....	71
4.4.2.2	Konzentration der 3-Ethyltoluolmetabolite bezogen auf den Kreatiningehalt (mg/g Kreatinin).....	76
4.4.2.3	Elimination und Halbwertszeit der 3-Ethyltoluolmetabolite.....	79
4.4.3	2-Ethyltoluolmetabolite im Urin .....	80
4.4.3.1	Konzentration der 2-Ethyltoluolmetabolite bezogen auf das Urinvolumen [mg/l].....	81
4.4.3.2	Konzentration der 2-Ethyltoluolmetabolite bezogen auf den Kreatiningehalt [mg/g Kreatinin].....	85
4.4.3.3	Elimination und Halbwertszeit der 2-Ethyltoluolmetabolite.....	88
5	Diskussion.....	89
5.1	Analytische Methode.....	89
5.2	Ergebnisse.....	89
5.2.1	Konzentration von Ethyltoluol in der Kammerluft.....	89
5.2.2	Konzentration von Ethyltoluol im Blut.....	90
5.2.3	Metabolismus von Ethyltoluol und Metabolite im Urin.....	93
5.3	Vorschlag für einen zukünftigen BAT-Wert für Ethyltoluol.....	101
6	Zusammenfassung.....	104
7	Summary.....	106
8	Anhang.....	108
8.1	Konzentration der relevanten isomeren Ethyltoluolmetabolite bezogen auf das Urinvolumen [mg/l Urin].....	108
8.2	Konzentrationen der relevanten isomeren Ethyltoluolmetabolite bezogen auf ..... den Kreatiningehalt [mg/g Kreatinin].....	114
8.3	Werte der nach Logarithmierung erhaltenen Regressionsgeraden und Halbwertszeiten der isomeren Ethyltoluole.....	120
8.4	Darstellung der Elimination der isomeren Ethyltoluolmetabolite im Urin.....	122
9	Literaturverzeichnis.....	127
10	Danksagung.....	138
11	Lebenslauf.....	139

# 1 Einleitung

## 1.1 Prävention in der Arbeitsmedizin

Zu den Aufgaben der Arbeitsmedizin zählt die Verhinderung gesundheitlicher Schäden von Arbeitnehmern als Folge ihrer Arbeitsbedingungen (Valentin et al. 1979).

Um diese Aufgaben zu erfüllen, bedient sich die Arbeitsmedizin unter anderem zweier Verfahren, dem „Ambient Monitoring“ als sicherheitstechnische Primärprävention und dem „Biologischen Monitoring“ als medizinische Sekundärprävention.

### 1.1.1 Primäre Prävention

#### 1.1.1.1 Das Ambient Monitoring und die Luftgrenzwerte

Das Ambient Monitoring erfasst die Arbeitsstoffkonzentration in der Luft am Arbeitsplatz. Dabei geben die Messwerte den Anteil eines Arbeitsstoffes wieder, der von den Arbeitnehmern inhalativ aufgenommen werden kann. Andere Aufnahmewege, wie die perkutane oder gastrointestinale Aufnahme, können bei diesem Verfahren nicht berücksichtigt werden. Zur Verhinderung von Gesundheitsschäden bei Arbeitnehmern wurden von der DFG-Kommission „Maximale Arbeitsstoff-Toleranzwerte“ (MAK-Werte) erarbeitet. Der MAK-Wert ist definiert als „die höchstzulässige Konzentration eines Arbeitsstoffes als Gas, Dampf oder Schwebstoff in der Luft am Arbeitsplatz, die nach dem gegenwärtigen Stand der Kenntnis auch bei wiederholter und langfristiger, in der Regel 8-stündiger Einwirkung, jedoch bei Einhaltung einer durchschnittlichen Wochenarbeitszeit bis zu 40 Stunden im Allgemeinen die Gesundheit der Beschäftigten nicht beeinträchtigt und diese nicht unangemessen belästigt“ (Valentin et al. 1979). MAK-Werte werden als Durchschnittswerte der Arbeitsstoffkonzentration bei 8-stündiger Exposition verstanden und gelten für gesunde Personen im arbeitsfähigen Alter. Grundlage für die Luftgrenzwerte für Kohlenwasserstoffgemische ist die additive Berechnung gemäß American Conference of Industrial and Governmental Hygienists (ACGIH). Je nach seinem Anteil an Aromaten, n-Hexan und Cyclohexan wird ein Kohlenwasserstoffgemisch einer von 5 Gruppen zugeteilt, für die unterschiedliche Grenzwerte ermittelt wurden. Für Kohlenwasserstoffgemische mit einem Aromatengehalt über 25% ist ein Luftgrenzwert von 100 mg/m<sup>3</sup> festgesetzt (Bundesarbeitsblatt 2003). Derzeit enthält die MAK-Werte-Liste bereits über 400 Stoffe (DFG 2007). Dabei steht jeder Stoff permanent unter Revision. Bei Auftreten neuer toxikologisch-arbeitsmedizinischer Erkenntnisse werden Reevaluierungen der MAK-Werte vorgenommen (Valentin et al. 1979).

### 1.1.1.2 Bestimmung des Luftgrenzwerts für Ethyltoluol

Ethyltoluol kommt in der Regel in Kohlenwasserstoffgemischen vor. Ein Luftgrenzwert für Ethyltoluol als Reinstoff existiert derzeit nicht. Grundlage für die Luftgrenzwerte für Kohlenwasserstoffgemische ist die oben genannte additive Berechnung. Je nach seinem Anteil an Aromaten, aliphatischen und cycloaliphatischen Verbindungen wird ein Kohlenwasserstoffgemisch einer von 5 Gruppen zugeteilt, für die unterschiedliche Grenzwerte ermittelt wurden. Uhlich konnte anhand analytischer Untersuchungen von drei aromatenreichen Kohlenwasserstoffgemischen unterschiedlicher Hersteller unter Zugrundelegung der Technischen Regeln für Gefahrstoffe (TRGS) 901 für die isomeren Ethyltoluole einen prozentualen Volumenanteil von durchschnittlich 35% ermitteln, was in Tabelle 1 gezeigt wird. Aus diesen Ergebnissen kann für die reinen isomeren Ethyltoluole ein Luftgrenzwert von 35 mg/m<sup>3</sup> abgeleitet werden (TRGS 901, 2003; Uhlich 2006).

**Tabelle 1:** Ethyltoluol-Gehalte als Volumenanteile in den drei analysierten Kohlenwasserstoffgemischen (Uhlich 2006)

	Volumenanteil Ethyltoluol im Kohlenwasserstoffgemisch [%]			
	1	2	3	$\bar{x} \pm s$
2-Ethyltoluol	6,2	7,3	7,9	7,1 ± 0,9
3-/4-Ethyltoluol*	16,9	27,9	31,4	25,3 ± 7,5
Summe	23,1	35,2	39,3	32,4 ± 8,4

\*gaschromatographisch nur unzureichend in Einzelkomponenten auftrennbar, daher wird der Summenwert angegeben

## 1.1.2 Sekundäre Prävention

### 1.1.2.1 Das Biologische Monitoring

„Das Biologische Monitoring (Biomonitoring) erfasst die aus einer äußeren Gefahrstoffbelastung resultierende innere Gefahrstoffbelastung oder Beanspruchung eines Arbeitnehmers durch Analysen in biologischem Material wie z. B. Blut, Urin, Ausatemluft“ (Drexler et al. 2000). Neben der Erfassung der Gesundheitsgefährdung von Arbeitnehmern zählt es zu den Aufgaben des Biomonitoring, die erhaltenen Analysenwerte mit entsprechenden Grenzwerten, den „Biologischen Arbeitsstoff-Toleranzwerten“ (BAT-Werten), zu vergleichen und geeignete Maßnahmen vorzuschlagen, um die Belastung und

die Gesundheitsgefährdung zu reduzieren (TRGS 710, 2000). Da die Analysenergebnisse des Biologischen Monitoring individualmedizinische Befunde darstellen, unterliegen diese im Gegensatz zu den Luftmesswerten der ärztlichen Schweigepflicht (Drexler et al. 2000). Während das biologische Monitoring in der Arbeitsmedizin bereits zu einem festen Bestandteil der arbeitsmedizinischen Vorsorge gefährstoffexponierter Personen geworden ist (Schaller et al. 1996, Berufsgenossenschaftliche Grundsätze für arbeitsmedizinische Vorsorgeuntersuchungen 2004), gewinnt es auch in der Umweltmedizin zunehmend an Bedeutung.

Urin und Blut stellen die bevorzugten Untersuchungsmaterialien des Biomonitoring dar. Die Messung von Gefahrstoffkonzentrationen im Blut und Urin ist analytisch und diagnostisch valide. Die Aussagekraft der Ergebnisse aus Urinproben kann insofern eingeschränkt sein, da sich die Aufnahme unterschiedlicher Flüssigkeitsvolumina z. B. forcierte Diurese oder interindividuelle Unterschiede in der Nierenfunktion direkt in den Konzentrationen der Metaboliten äußert (Weihrauch et al. 1998). Um diese diuresebedingten Schwankungen zu relativieren, wird empfohlen, als Bezugsgrößen zur Bestimmung der Stoffkonzentrationen den Kreatiningehalt oder das spezifische Gewicht zu verwenden (Schaller et al. 1995). Demgegenüber konnte sich die Atemluftanalyse als Untersuchungsmedium nicht durchsetzen, da Entnahme, Transport und Lagerung nicht reproduzierbar sind und zu verfälschten Ergebnissen führen können.

Entgegen der nicht selten geäußerten Meinung, das arbeitsmedizinische Biomonitoring habe keine solide Rechtsgrundlage, kann festgestellt werden, dass dieses Verfahren in der Technischen Regel für Gefahrstoffe (TRGS 710) der Gefahrstoffverordnung, im Sozialgesetzbuch XII, im Arbeitsschutzgesetz und im Arbeitssicherheitsgesetz seine rechtliche Legitimation findet (Drexler et al. 2000). Daneben wird das Biologische Monitoring in den Empfehlungen der Europäischen Union als hilfreiches Verfahren zur Festsetzung von Expositionen gegenüber chemischen Substanzen und damit zur Prävention von nachteiligen Gesundheitseffekten genannt (Jakubowski et al. 2005).

#### **1.1.2.2 Biologische Arbeitsstoff-Toleranzwerte (BAT-Werte)**

Seit 1979 werden von einer speziell dafür eingerichteten Arbeitsgruppe der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) so genannte „Biologische Arbeitsstoff-Toleranzwerte“ (BAT-Werte) evaluiert. Anhand dieser Werte kann die Bedenklichkeit oder Unbedenklichkeit vom Organismus aufgenommener Stoffmengen beurteilt werden. Auf diese Weise dienen sie dem Schutz der Gesundheit am Arbeitsplatz (TRGS 903; 2004). Zur Aufstellung von BAT-Werten sind Kenntnisse über die Kinetik eines Stoffes

(Resorption, Distribution, Metabolismus, Elimination), mögliche biologische bzw. biochemische Effekte sowie die Beeinflussung durch andere Stoffe oder Gewohnheiten (z.B. Medikamente, Alkohol oder Rauchen) erforderlich (Miksche et al. 1993). Die ersten BAT-Werte wurden von der DFG 1982 in die MAK-Werte-Liste aufgenommen (Henschler 2001). Heute existieren für ca. 50 Stoffe oder Stoffgruppen BAT-Werte (DFG 2007).

Der BAT-Wert wird in der MAK- und BAT-Werte-Liste definiert als „die beim Menschen höchstzulässige Quantität eines Arbeitsstoffes bzw. Arbeitsstoffmetaboliten oder die dadurch ausgelöste Abweichung eines biologischen Indikators von seiner Norm, die nach dem gegenwärtigen Stand der wissenschaftlichen Kenntnis im Allgemeinen die Gesundheit der Beschäftigten auch dann nicht beeinträchtigt, wenn sie durch Einflüsse des Arbeitsplatzes regelhaft erzielt wird“ (DFG 2007).

Dabei werden BAT-Werte als Höchstwerte für gesunde Einzelpersonen verstanden und sind in der Regel wie auch die MAK-Werte für eine Arbeitsbelastung von maximal 8 Stunden täglich und 40 Stunden wöchentlich vorgesehen. Definiert sein können sie als Konzentrationen, Bildungs- oder Ausscheidungsraten (Menge/Zeiteinheit) (DFG 2007). Wichtig zu erwähnen ist auch die Tatsache, dass BAT-Werte für eine Belastung mit reinen Stoffen konzipiert wurden und deshalb nicht ohne Weiteres auf Stoffgemische angewendet werden können (DFG 2004). Allerdings gelten für Lösungsmittelgemische, deren Einzelkomponentenkonzentrationen unterhalb der Hälfte des MAK-Wertes liegen, die BAT-Werte, wie sie für den reinen Stoff festgesetzt sind. Für Stoffgemische, deren äußere Belastung oberhalb des halben MAK-Wertes liegt oder für sich gegenseitig interferierende Arbeitsstoffe trifft dies jedoch nicht zu. In solchen Fällen ist es notwendig, das Ausmaß toxikokinetischer Interaktionen zu untersuchen, was beispielsweise durch paralleles Messen von Lösungsmittel und Metabolit und Vergleiche mit dem Verhältnis der entsprechenden BAT- Werte erfolgen kann (Schaller et al. 1996).

### **1.1.2.3 Vorteile und Grenzen des Biologischen Monitoring**

Das Biologische Monitoring erfasst im Gegensatz zum Ambient Monitoring die innere Belastung eines einzelnen Arbeitnehmers und dient auf diese Weise dem individuellen Gesundheitsschutz am Arbeitsplatz. Zu den Vorteilen des Biomonitoring zählt, dass neben der inhalativen auch die perkutane sowie die gastrointestinale Resorption erfasst werden können. Des Weiteren äußern sich eine Steigerung des Atemminutenvolumens und die daraus resultierende erhöhte Gefahrstoffresorption infolge physischer Belastung in den Ergebnissen des Biomonitoring (Drexler et al. 2000). Ferner können der individuelle Polymorphismus bei Stoffwechselfvorgängen und Änderungen im toxikokinetischen

Verhalten sowie eine Gefahrstoffkumulation und synergistische Gefahrstoffwirkungen berücksichtigt werden. Auch Faktoren, wie beispielsweise Alter, Geschlecht und Vorerkrankungen haben einen Einfluss auf die Resultate des Biologischen Monitoring. Ebenso ermöglicht dieses Verfahren durch den Vergleich der Individualwerte mit dem Gruppendurchschnitt einerseits Erkenntnisse über die unterschiedliche Belastung an einzelnen Arbeitsplätzen oder bei bestimmten Tätigkeiten, andererseits Rückschlüsse auf die individuelle Beachtung der Arbeitshygiene und die Benutzung von Arbeitsschutzmitteln. Zu den Grenzen des Biologischen Monitoring zählt, dass bei vielen Gefahrstoffen Kenntnislücken über deren Kinetik oder Dynamik vorliegen und deshalb bis heute nur für ca. 50 Stoffe BAT-Werte festgesetzt werden konnten. Ein weiterer Nachteil besteht in der Erfassbarkeit von Stoffen mit kurzen Halbwertszeiten, die sich durch ihren schnellen Abbau und ihre schnelle Ausscheidung dem Biomonitoring entziehen. Neben den bisher genannten Problemen des Biologischen Monitoring muss auch erwähnt werden, dass Tabak- und Alkoholkonsum sowie die Einnahme bestimmter Medikamente, wie beispielsweise Barbiturate und Antiepileptika, die Ergebnisse dieses Verfahrens beeinflussen können (Bolt et al. 2000). In diesem Zusammenhang konnte z.B. Reske feststellen, dass unter Alkoholgenuss ein verzögerter Ethylbenzol-Abbau und ein verändertes Ausscheidungsverhalten der Ethylbenzol-Metabolite vorliegen. Dieses Ergebnis ist als Ausdruck einer kompetitiven Hemmung des Ethylbenzol-Metabolismus bei gleichzeitiger Exposition gegenüber Ethylbenzol und Ethanol zu verzeichnen (u. a. Reske 1996). Auch die körperliche Belastung muss beim Biologischen Monitoring berücksichtigt werden. Hinlänglich bekannt ist, dass bei Expositionen gegenüber gasförmigen Stoffen, die schnell metabolisiert werden und deren Blut-/Luft-Verteilungskoeffizient größer als 10 ist, die resultierenden Blut-Gewebekonzentrationen mit der Intensität der körperlichen Arbeit positiv korrelieren ( DFG 2007).

## 1.2 Ethyltoluol

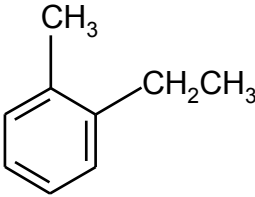
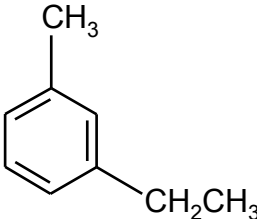
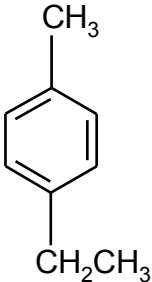
### 1.2.1 Verwendung und Vorkommen von Ethyltoluol

Bei der katalytischen Gewinnung von Benzintreibstoffen aus Erdöl entsteht unter anderem der Stoff Ethyltoluol. Neben Benzintreibstoffen enthalten auch Flugtreibstoffe, wie beispielsweise JP-1, JP-3 und JP-5, unter ihren 10-20% aromatischen Kohlenwasserstoffen Ethyltoluol (Gerarde 1960). Das erklärt z. B., dass Ethyltoluol bei Luftmessungen in 6 Städten der ehemaligen UdSSR sowie in Zentral-London und in der Nähe des Londoner Flughafens Gatwick nachgewiesen werden konnte (Ioffe et al. 1979, Tsani-Bazaca et al. 1982).

In der Arbeitswelt wird Ethyltoluol als Lösungsmittel verwendet, wobei es in der Regel Bestandteil von Lösungsmittelgemischen, wie beispielsweise Solvesso, Shellsol, Jolasol und Farbasol ist (Świercz et al. 2000). Farbasol, das zu 40% aus Ethyltoluol besteht, wird bevorzugt als Lösungsmittelgemisch in der Farb- und Lackproduktion eingesetzt (Indulski et al. 1996). Auch unter den Lösungsmitteln, die in Druckfarben vorkommen, konnte Ethyltoluol nachgewiesen werden (Kiesswetter et al. 1992). Das Vorkommen von Ethyltoluol als Lösungsmittel in Kunstharzlacken wird von Triebig in der „Erlanger Spritzlackierstudie“ beschrieben. Dabei ist Ethyltoluol neben Xylol und Ethylbenzol einer der dominierenden aromatischen Kohlenwasserstoffe (Triebig 1989). Neben dem Vorkommen in Farben und Lacken bildet Ethyltoluol auch einen Bestandteil von Pestiziden (Clark et al. 1989). Insgesamt kann festgestellt werden, dass Ethyltoluol in der Arbeits- und Umwelt große Anwendung findet und weit verbreitet ist.

## 1.2.2 Chemische und physikalische Eigenschaften von Ethyltoluol

**Tabelle 2:** Chemische und physikalische Eigenschaften der isomeren Ethyltoluole

	2-Ethyltoluol	3-Ethyltoluol	4-Ethyltoluol
Synonym	o-Ethyltoluol 2-Ethyl-methyl- benzol	m-Ethyltoluol 3-Ethyl-methyl- benzol	p-Ethyltoluol 4-Ethyl-methyl- benzol
Summenformel	C <sub>9</sub> H <sub>12</sub>	C <sub>9</sub> H <sub>12</sub>	C <sub>9</sub> H <sub>12</sub>
Strukturformel			
CAS-Nr.	611-14-3	620-14-4	622-96-8
Molekulargewicht (g/mol)	120,20	120,20	120,20
Schmelzpunkt (°C)	-17	-95,5	-62,3
Siedepunkt (°C)	165,1	159	161
Dichte bei 20°C (g/cm <sup>3</sup> )	0,8807	0,8645	0,8614
Dampfdruck bei 20°C (mbar)	2,8	3,2	3,2
Dampfsättigungs- konzentration bei 20°C (g/m <sup>3</sup> )	14	16	16
Flammpunkt (°C)	43	39	39
Zündtemperatur (°C)	440	480	535
Löslichkeit in Wasser (20°C)	unlöslich	unlöslich	unlöslich

2-, 3- und 4-Ethyltoluol sind farblose, entzündliche Flüssigkeiten mit aromatischem Geruch. Sie sind leichter als Wasser und wasserunlöslich. Die Dämpfe sind schwerer als Luft. Beim Erhitzen der Stoffe über ihren Flammpunkt können die Dämpfe mit Luft ein explosionsfähiges Gemisch bilden.

### 1.2.3 Toxizität von Ethyltoluol

Untersuchungen von Angerer zufolge resultieren aus akuten und chronischen Expositionen gegenüber Alkylbenzolen hauptsächlich Wirkungen auf das zentrale Nervensystem (Angerer 1983). Dies kann durch eine Untersuchung an Arbeitern bestätigt werden, die langjährig in der Farb- und Lackherstellung beschäftigt waren, in welcher Ethyltoluol einen großen Anteil der Lösungsmittel ausmacht. Obwohl die Konzentrationen der Lösungsmittel unterhalb des MAK-Wertes lagen oder diesen nur leicht überschritten, wurden von den Arbeitern subjektive Beschwerden, wie Kopfschmerzen, Schwindel, Dysmnese, Konzentrationsschwierigkeiten, Schlafstörungen sowie eine ansteigende emotionale Reizbarkeit und Stimmungsschwankungen angegeben. Diese Symptome können als Gesundheitseffekte auf das Nervensystem gewertet werden. Auch eine Studie mit Arbeitern einer Druckerei, die durchschnittlich über einen Zeitraum von 15 Jahren gegenüber einem Lösungsmittelgemisch, das unter anderem Ethyltoluol enthielt, ausgesetzt waren, zeigt einen Einfluss auf das zentrale Nervensystem. Hier konnten bei den Exponierten trotz einer Unterschreitung des MAK-Wertes Verhaltensbeeinträchtigungen, wie Müdigkeit und Reizbarkeit sowie neurotoxische Beschwerden, wie psycho-neurovegetative Labilität, Konzentrations- und Gedächtnisstörungen und neurologische Symptome, festgestellt werden (Golka et al. 1992). Organische Veränderungen des Nervensystems, die die Diagnose einer toxischen Enzephalopathie oder einer Polyneuropathie rechtfertigen, sind bislang nicht bekannt (Indulski et al. 1996). Elektrophysiologische Untersuchungen der Hirnrinde und des Hippocampus nach intraperitonealer Injektion von Ethyltoluol bei Tieren zeigen einen hemmenden Effekt auf das zentrale Nervensystem und bestätigen somit eine Neurotoxizität (Tomas et al. 1997). Demgegenüber konnte Triebig in einer an Spritzlackierern durchgeführten Querschnittstudie, die unter anderem gegenüber dem Lösungsmittel Ethyltoluol exponiert waren, keine Hinweise für lösungsmittelinduzierte neurotoxische Effekte auf das zentrale oder periphere Nervensystem finden (Triebig 1989).

Bei einer Untersuchung, durch welche ermittelt werden sollte, ob chronische Lösungsmittelbelastungen einen Einfluss auf das autonome Nervensystem haben, kamen Böckelmann et al. zu dem Ergebnis, dass eine langjährige Einwirkung von Lösungsmitteln in Siebdruckereien zu einer Schädigung des autonomen Nervensystems führt, die sich in einer Einschränkung der Herzfrequenzvariabilität äußert (Böckelmann et al. 2004). Da Ethyltoluol als Lösungsmittel in Druckfarben enthalten ist, kann vermutlich dieses Ergebnis auch auf Ethyltoluol zutreffen.

Auch wenn Ethyltoluol hauptsächlich inhalativ aufgenommen wird, kann es im Rahmen

von Unfällen zu einer gastrointestinalen Resorption kommen. In diesem Zusammenhang konnte festgestellt werden, dass eine orale Intoxikation mit höheren Alkylbenzolen, wie beispielsweise mit Ethyltoluol, zu einer reversiblen Beeinträchtigung zentralnervöser Funktionen führt, die sich unter anderem in Benommenheit und Desorientierung äußern (Rettenmaier et al. 1993). Eine Studie an Ratten zeigt nach oraler Intoxikation mit Ethyltoluol eine relativ hohe Mortalität (Gerarde 1960). Inwieweit dieses Ergebnis auch für den Menschen gilt, bedarf weiterer Untersuchungen.

Neben seinen Wirkungen auf das Nervensystem konnte für Ethyltoluol ferner ein chemisch-irritativer Effekt auf Haut und Augen sowohl bei Tieren (Świercz et al. 2000) als auch beim Menschen (Seeber et al. 1993) nachgewiesen werden. Irritationen auf den Respirationstrakt als Folge einer Inhalation von Ethyltoluol werden im Tierversuch nur nach sehr hohen Konzentrationen des Lösungsmittels beobachtet (Świercz et al. 2000). Im Rahmen einer Studie zu Kurzzeiteffekten von Lösungsmittelgemischen mit Ethyltoluol als Bestandteil werden auch für den Menschen Irritationen des Nasen- und Rachenraums beschrieben (Seeber et al. 1993).

Untersuchungen zur Genotoxizität von Ethyltoluol an *Salmonella typhimurium*- Stämmen sowie zur Zytotoxizität und zum Einfluss von Ethyltoluol auf den Schwester-Chromatid-Austausch in Knochenmarkzellen bei Mäusen belegen, dass Ethyltoluol weder gen- noch zytotoxisch ist, aber einen Schwester-Chromatid-Austausch induziert (Janik Spiechowicz et al. 1998). Ob diese Ergebnisse auf den Menschen übertragbar sind, muss in weiteren Untersuchungen geklärt werden.

Über die Teratogenität von Ethyltoluol als Reinstoff ist bisher nichts bekannt. Allerdings wurde im Rahmen von Tierversuchen zu den embryotoxischen Effekten von Aromatol, einem aromatischen Kohlenwasserstoffgemisch, das auch Ethyltoluol enthält, herausgefunden, dass alle Bestandteile von Aromatol, also auch Ethyltoluol, plazentargängig sind. Bei Konzentrationen von 2000 mg/m<sup>3</sup> zeigt Aromatol einen geringen missbildenden Effekt (Ungváry et al. 1983). Ob dies auch für Ethyltoluol als Reinstoff zutrifft, muss noch weiter abgeklärt werden.

## 1.3 Toxikokinetik aromatischer Kohlenwasserstoffe

Die Toxikokinetik eines Stoffes beschreibt die Resorption, Distribution, den Metabolismus und die Elimination von toxischen Stoffen im Organismus und ermöglicht den Zusammenhang zwischen äußerer Belastung in der Atemluft und innerer Belastung in Blut und Urin darzustellen.

### 1.3.1 Resorption

Toxische Stoffe, die in der Arbeits- und Umwelt vorkommen, können inhalativ, dermal oder gastrointestinal resorbiert werden (Parmeggiani 1983). In der Industrie haben der inhalative und der dermale Aufnahmeweg die größte Bedeutung (Gerarde 1960).

Die inhalative Aufnahme  $U$  (mg) eines Stoffes kann durch folgende Gleichung ausgedrückt werden (Pezzagno et al. 1988):

$$U = k \times V \times C_i \times R \times T$$

Dabei steht  $k$  für eine Konstante,  $V$  für die pulmonale Ventilation (l/min),  $C_i$  für die Luftkonzentration ( $\text{mg}/\text{m}^3$ ),  $R$  für den Retentionsindex (Differenz zwischen den Stoffkonzentrationen in inhalierter und exhalierter Luft) und  $T$  für die Expositionszeit (h) (Nomiyama et al. 1974). Neben diesen Einflussfaktoren auf die pulmonale Resorption eines Stoffes ist diese auch vom Blutfluss durch die Lunge, von der Löslichkeit des Stoffes im Blut, von der Metabolisierungsrate und vom stoffspezifischen thermodynamischen Blut-/Luft- Verteilungskoeffizienten ( $P_{B:L}$ ) abhängig (Parmeggiani 1983, Csanády et al. 2001). Bei Stoffen mit einem  $P_{B:L}$  größer als 10 ist die inhalative Aufnahmegeschwindigkeit annähernd proportional zur alveolären Ventilation (DFG 2004). Durch zunehmende Alkylsubstitution der Aromaten nimmt dessen Lipophilie und somit auch der  $P_{B:L}$  zu. Beispielsweise werden in der Literatur für Toluol ein  $P_{B:L}$  von 15,6, für Ethylbenzol ein  $P_{B:L}$  von 28,4 und für 1, 2, 3-Trimethylbenzol ein  $P_{B:L}$  von 66,5 angegeben (Sato et al. 1979, Järnberg et al. 1995, Jang et al. 2001). Demnach kann für Ethyltoluol ein  $P_{B:L}$  deutlich größer als 20 vermutet werden. Einen weiteren Einflussfaktor auf die inhalative Resorption eines Stoffes stellt die körperliche Arbeitsbelastung dar, die jeweils am Arbeitsplatz vorherrscht. In diesem Zusammenhang konnte eine lineare Korrelation zwischen ansteigender Arbeitsbelastung und pulmonaler Aufnahme für Verbindungen mit einem  $P_{B:L}$  von mindestens 10 ermittelt werden (Jakubowski et al. 1988). Untersuchungen von Knecht et al. belegen ebenfalls, dass bei Expositionen gegenüber gasförmigen Stoffen, die schnell metabolisiert werden und für die der Blut-/Luft-Verteilungskoeffizient größer als 10 ist, die Konzentrationen der Stoffe in Blut und Gewebe positiv mit der Höhe der körperlichen

Aktivität korrelieren (Knecht et al. 1999). Allerdings kann die inhalative Aufnahmegeschwindigkeit für Stoffe mit einem  $P_{B:L}$  größer 10 maximal um das 6,7-fache zunehmen, wenn die Arbeitsleistung von Ruhebedingungen auf 100 Watt – dieser Wert entspricht einer starken körperlichen Belastung – zunimmt (DFG 2004). Nach Åstrand et al. ist die pulmonale Aufnahme von Stoffen, die sich leicht in Blut und Gewebe lösen, 2- 3-fach größer für körperlich aktive Arbeiter als für Arbeiter in sitzender Position (Åstrand et al. 1978).

Die perkutane Resorption eines Stoffes kann entweder durch direkten Hautkontakt oder über die Umgebungsluft erfolgen. Aufgrund der Depotfunktion von Kleidung und Körperoberfläche ist auch nach Beendigung der Exposition eine Hautresorption nicht auszuschließen (Drexler et al. 2000). Da die Barriere für die perkutane Penetration eines Stoffes durch das Stratum corneum gebildet wird, das aus einem Lipidnetz und polaren Regionen besteht, ist nachvollziehbar, dass die Permeabilität einer toxischen Substanz von deren Fettlöslichkeit, polaren Eigenschaften, molekularer Größe und der Dissoziation abhängt (Scheuplein et al. 1971, Parmeggiani 1983). Weitere Einflussfaktoren auf die dermale Resorption eines Stoffes stellen die Hautbeschaffenheit der exponierten Stelle sowie die Feuchtigkeit und Temperatur am Arbeitsplatz dar (Marzulli et al. 1983). Die Hautpenetrationsrate für eine Ethylbenzol gesättigte wässrige Lösung wird auf 0,53 mg/cm<sup>2</sup>/h, die dermale Aufnahme von Toluol aus einer gesättigten wässrigen Lösung auf 0,69 mg/cm<sup>2</sup>/h geschätzt (Fiserova-Bergerova et al. 1990). Neben Ethylbenzol und Toluol wird auch anderen Aromaten, wie beispielsweise Cumol sowie den isomeren Xylole und Trimethylbenzolen, ein gutes dermales Resorptionspotential zugeschrieben. Allerdings haben diese Substanzen kein derartiges dermales Toxizitätspotential, wie es beispielsweise für Benzol zutrifft (Fiserova-Bergerova et al. 1990).

Die gastrointestinale Aufnahme von Gefahrstoffen ist zwar im Rahmen von Arbeitsunfällen möglich, hat allerdings in der Arbeitswelt eine geringere Bedeutung als in der Umwelt im Rahmen von akzidentiellen Vergiftungen. Anhand von tierexperimentellen Studien konnten die gastrointestinale Resorptionsfähigkeit und das Resorptionsausmaß von aromatischen Kohlenwasserstoffen gezeigt werden (Gerarde et al. 1959, Pykkö et al. 1977).

### **1.3.2 Distribution**

Nach ihrer Resorption liegen die toxischen Stoffe im Blut vor. Dort können sie entweder ungebunden vorkommen oder eine Bindung mit Blutbestandteilen, wie Erythrozyten oder Transportproteinen, eingehen. Der Transport im Plasma kann entweder über eine Bindung an Plasmaproteine (Albumin, Globuline, Fibrinogen) oder über eine Komplexbildung mit

organischen Säuren im Plasma erfolgen (Parmeggiani 1983). Nach Gerarde und Lam et al. sind die meisten resorbierten Kohlenwasserstoffe aufgrund ihrer Lipophilie zunächst an Erythrozyten gebunden (Gerarde 1960, Lam et al. 1990). Aufgrund einer Untersuchung mit 5 typischen organischen Lösungsmitteln, unter anderem Toluol, Styrol und Xylol spielen nach deren Inkorporation die Erythrozyten als Transportmedium eine bedeutende Rolle. Dabei kommt dem Hämoglobin für den Transport die bedeutendste Trägerfunktion zu. Flüchtige lipophile organische Lösungsmittel werden wahrscheinlich über die hydrophoben Areale der Blutproteine aufgenommen. Ferner konnte in der Studie gezeigt werden, dass hydrophobe Lösungsmittel im Blut hauptsächlich an Erythrozyten gebunden sind, die stärker wasserlöslichen Lösungsmittel zu gleichen Anteilen an Erythrozyten und im Plasma transportiert werden (Lam et al. 1990).

Die Distribution eines Stoffes im Organismus ist von seiner Konzentration im Blut, dem Herzzeitvolumen (HZV), der Gewebsdurchblutung, dem Blut-/Gewebe-Verteilungskoeffizienten, dem Gewebsvolumen und der Fähigkeit des Gewebes, den Stoff zurückzuhalten und zu metabolisieren, abhängig (Carlsson 1982, Fiserova-Bergerova 1983, Parmeggiani 1983).

Körperliche Belastung führt zu einem ansteigenden HZV und einer ansteigenden Gewebsdurchblutung. Dies zeigt eine Studie, bei der Probanden gegenüber 300 mg/m<sup>3</sup> Toluol in Ruhe und während Belastung exponiert wurden. Dabei konnte festgestellt werden, dass bei Belastung sowohl die Durchblutung im subkutanen Fettgewebe als auch die Toluolkonzentration im arteriellen Blut anstieg (Carlsson 1982). Auch Fiserova-Bergerova gibt an, dass der durchschnittliche Blutfluss im Fettgewebe für einen Mann mit 10 kg Körperfett von 0,15 l/min in Ruhe auf 0,45 bis 0,7 l/min bei leichter bis mäßiger körperlicher Belastung zunimmt (Fiserova-Bergerova 1983).

Der Blut-/Gewebe-Verteilungskoeffizient für einen speziellen Stoff gibt das Verhältnis zwischen der Konzentration im Blut und der Konzentration im Gewebe üblicherweise bei einer Temperatur von 37°C und im Gleichgewicht an (Carlsson et al. 1977). Die Löslichkeit eines Stoffes im Gewebe nimmt mit ansteigendem Gewebe-Gas-Verteilungskoeffizienten zu (Fiserova-Bergerova 1984).

Aufgrund ihrer Lipophilie reichern sich die meisten Lösungsmittel in fettreichen Geweben, wie beispielsweise im Gehirn, an (Carlsson 1982). Dies zeigt auch eine Studie, in der Ratten gegenüber 1950 mg/m<sup>3</sup> Toluol exponiert wurden und die höchsten Toluolkonzentrationen im weißen Fettgewebe gefolgt von Konzentrationen in der Niere und Nebenniere, in der Leber sowie im Groß- und Kleinhirn nachgewiesen werden konnten. Ferner zeigt die Studie eine statistisch signifikante Korrelation zwischen der

totalen Toluolaufnahme und der Menge an Körperfett (Carlsson et al. 1977).

Ein steady state im Blut wird erreicht, wenn die pulmonale Aufnahme gleich der Elimination ist. Für in Blut und Gewebe schlecht lösliche Stoffe stellt sich schon nach kurzer Zeit ein Gleichgewichtszustand ein. Leicht lösliche Stoffe hingegen benötigen mehr als einen Tag und sehr lösliche Stoffe mehr als ein Jahr, um einen Gleichgewichtszustand herzustellen. In schlanken Personen wird ein steady state schneller erreicht als in fettleibigen Personen (Fiserova-Bergerova 1984). Untersuchungen mit aromatischen Kohlenwasserstoffen ergaben, dass sich bei dieser Stoffgruppe nach ca. 4 Stunden ein steady state im Blut einstellt.

Wenn die Resorption größer als die Elimination ist, kommt es zu einer Akkumulation einer toxischen Substanz in einem Kompartiment (Parmeggiani 1983). Die Akkumulation wird durch Unterschiede im Metabolismus und das Potential an Enzyminduktion beeinflusst (Zahlsen et al. 1992). In Blut und Gewebe schlecht lösliche Stoffe zeigen während einer Beschäftigungsphase keine Akkumulation. Hingegen tendieren lösliche und sehr lösliche Stoffe dazu, im Organismus während einer Beschäftigungsphase zu akkumulieren, da die Unterbrechungen zwischen den Expositionen nicht lang genug sind, um den Stoff aus dem Fettgewebe zu eliminieren (Fiserova-Bergerova 1984). Aufgrund ihrer Lipophilie neigen aromatische Kohlenwasserstoffe dazu, in Geweben in Proportion zu deren Fettgehalt zu akkumulieren (Gerarde 1960).

### **1.3.3 Allgemeiner Metabolismus aromatischer Kohlenwasserstoffe**

Der Metabolismus von aromatischen Kohlenwasserstoffen ist insofern von großem Interesse, da diese als industrielle Lösungsmittel weit verbreitet sind (Bakke et al. 1970). Hauptsächlich erfolgt der Metabolismus in der Leber, wobei extrahepatische Metabolismen (z.B. in der Lunge) ebenfalls vorkommen können (Droz 1989). Anhand von Untersuchungen zum Metabolismus von 27 organischen Lösungsmitteln in Lebermikrosomen von Ratten mit NADPH und Sauerstoff konnte gezeigt werden, dass diese durch das Cytochrom P 450-Enzymsystem metabolisiert werden (u. a. Nakajima et al. 1979, Sato et al. 1980, Sato et al. 1987). Dieses Enzymsystem besteht aus zahlreichen polymorphen Isoenzymen, von denen für den Metabolismus von Kohlenwasserstoffen beim Menschen das Isoenzym CYP 2E1 essentiell ist (Nakajima 1997). Aufgrund der Existenz polymorpher Isoenzyme und der Fähigkeit von einzelnen Isoenzymen, sich Substraten ungleicher chemischer Struktur anzupassen, besitzt dieses Enzymsystem eine breite Substratspezifität (White et al. 1980).

Zunächst werden die aromatischen Kohlenwasserstoffe in einer „Phase I“- Reaktion am

mikrosomalen Cytochrom P-450-Enzymsystem der Leber hydroxyliert. Dabei kann die Oxidation von Alkylbenzolen sowohl an der aliphatischen Seitenkette als auch am aromatischen Ring erfolgen, wobei die Seitenkettenoxidation deutlich überwiegt. Im Falle einer Seitenkettenoxidation entstehen über Alkohol- und Aldehydzwischenstufen die entsprechenden Carbonsäurederivate, im Falle einer Ringoxidation die entsprechenden Phenolderivate. Toxikologisch von Bedeutung sind die bei einer Ringoxidation als Zwischenprodukt entstehenden Epoxide, die unter Ausbildung kovalenter Bindungen mit der Desoxyribonucleinsäure reagieren können, wobei cancerogene Wirkungen nicht auszuschließen sind. Einigen der Phenolderivate, wie beispielsweise dem Cresol als Endprodukt der Ringoxidation von Toluol, werden zusätzlich toxische Eigenschaften zugeschrieben (u. a. Greim et al. 1996, Marquardt et al. 2004). Epoxidationen des aromatischen Ringes konnten beim Metabolismus von Ethyltoluol allerdings nicht nachgewiesen werden. Im Gegensatz zum Metabolismus von Benzol werden bei alkylierten Benzolen aufgrund der sehr schwach ausgeprägten Ringoxidationen sowohl die Epoxide als auch die Phenolderivate nur in sehr geringen Mengen gebildet (u. a. Bakke et al. 1970, Angerer 1983). In diesem Zusammenhang muss allerdings erwähnt werden, dass eine zunehmende Alkylsubstitution des Benzols nicht nur die Seitenkettenoxidation, sondern auch die Oxidation des aromatischen Rings begünstigt (Angerer 1983). Die in der „Phase I“-Reaktion entstandenen Metaboliten können entweder unverändert renal eliminiert werden oder in einer „Phase II“-Reaktion einer Konjugation unterliegen (u. a. Greim et al. 1996, Marquardt et al. 2004). Der Vorteil einer Konjugation liegt einerseits in der zunehmenden Polarität und Wasserlöslichkeit des Metaboliten und damit in einer besseren renalen Ausscheidung, andererseits in einer abnehmenden Toxizität. Dabei werden Carbonsäurederivate größtenteils an Glycin gebunden eliminiert. Ein weiterer Teil wird auch an Glucuronsäure konjugiert. Phenolderivate werden im niedrigem Konzentrationsbereich vornehmlich sulfatiert, im hohen Konzentrationsbereich überwiegt die Konjugation mit Glucuronsäure (u. a. Greim et al. 1996, Marquardt et al. 2004).

Das Cytochrom P-450 Enzymsystem kann durch verschiedene Faktoren beeinflusst werden. Zu diesen Faktoren zählen Alter und Geschlecht, das Expositionslevel, körperliche Aktivität, genetische Faktoren, Medikamenteneinnahme sowie Lifestylefaktoren wie vorwiegend Rauchen und Alkoholkonsum (Droz 1989). Diese Faktoren können zu einer Induktion oder Inhibition des Enzymsystems führen. Zu den Induktoren zählen Medikamente, wie z. B. Barbiturate oder Antiepileptika, zu den Inhibitoren Medikamente, wie Cimetidin und Erythromycin (Kitteringham et al. 1998). In einer Tierstudie konnte gezeigt werden, dass auch aromatische Kohlenwasserstoffe selbst, wie Benzol, Toluol und

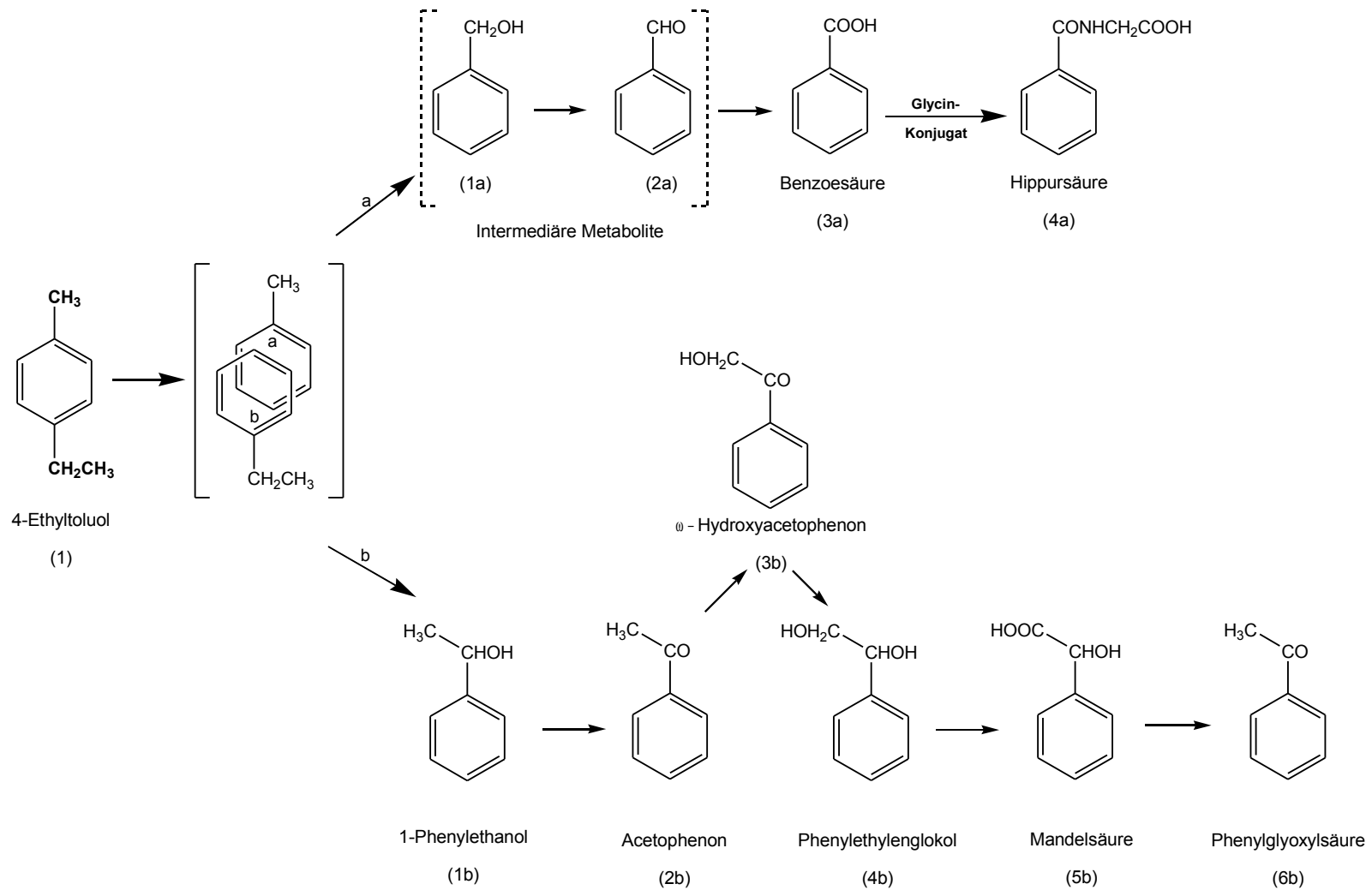
Ethylbenzol, das P-450 Enzymsystem induzieren können (Backes et al. 1993). Während Alkohol in niedrigen Konzentrationen das Cytochrom P-450 Enzymsystem induziert, wirkt es in hohen Konzentrationen als kompetitiver Inhibitor des Metabolismus von anderen organischen Substanzen (Fiserova-Bergerova 1993). Ferner wird die Metabolisierung eines Fremdstoffes durch körperliche Belastung beeinflusst. In diesem Fall kommt es allerdings zu keiner Einschränkung der metabolisierenden Enzyme, sondern die Metabolisierungsrate ist von physiologischen Faktoren wie z. B. der alveolären Ventilation, des kardialen Outputs sowie der Durchblutung metabolisierender Organe abhängig (Csanády et al. 2001).

#### **1.3.4 Metabolismus von Toluol**

Im Gegensatz zu Benzol wird Toluol im menschlichen Körper größtenteils durch die Oxidation der Seitenkette verstoffwechselt. Dabei führt der Angriff von Monooxygenasen auf die Methylgruppe zur Bildung von Benzylalkohol, welcher durch Alkohol- und Aldehyddehydrogenasen über Benzaldehyd zu Benzoesäure umgewandelt wird. Der größte Teil der Benzoesäure wird an Glycin gebunden und als N-Benzoylglycin, d. h. Hippursäure, im Urin ausgeschieden. Ein kleiner Teil der Benzoesäure wird an Glucuronsäure konjugiert (Angerer 1983). In diesem Zusammenhang wurde festgestellt, dass ungefähr 80% der absorbierten Toluolmenge als Metaboliten im Urin ausgeschieden werden, wobei die Hippursäure mit 68% den größten Teil der Metaboliten bildet. Ungefähr 20% der insgesamt aufgenommenen Toluolmenge werden unverändert abgeatmet (Bakke et al. 1970, Nomiyama et al. 1974, Carlsson 1982, Parmeggiani 1983). Die Hippursäure, die den Hauptmetaboliten des Toluols darstellt, wird nach Beendigung der Toluolexposition mit einer Halbwertszeit von 2 - 3 Stunden ausgeschieden, so dass 24 Stunden nach Expositionsbeginn wieder von einer normalen Hippursäureausscheidung von durchschnittlich 0,5 - 2,5 g/24 h ausgegangen werden kann (Baselt 1980, Angerer 1983, Parmeggiani 1983). Neben Hippursäure und Benzoylglucuronsäure werden im Urin Toluol-exponierter Menschen auch zwischen 0,04% und 0,2% der aufgenommenen Toluolmenge o-Cresol gebildet (Angerer 1983, Lauwerys et al. 1993). Im Tierversuch konnten Bakke et al. nach Toluolexposition auch p-Cresol als Metaboliten nachweisen (Bakke et al. 1970). Dies beweist, dass geringe Mengen des aufgenommenen Toluols durch eine Ringoxidation metabolisiert werden, bei der als Zwischenprodukt toxische Epoxide entstehen. O-Cresol und p-Cresol werden an Glucuronsäure oder Sulfat konjugiert ausgeschieden (Antti-Poika et al. 1987).

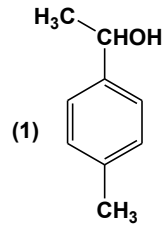
### 1.3.5 Metabolismus von Ethylbenzol

Der überwiegende Anteil des aufgenommenen Ethylbenzols unterliegt einer schrittweisen Oxidation durch das Cytochrom P 450-Enzymsystem in der Leber (Engström 1984, Engström et al. 1984, Sequeira et al. 1992, Backes et al. 1993). Dabei steht sowohl im menschlichen als auch im tierischen Organismus quantitativ die Oxidation der aliphatischen Seitenkette im Vordergrund (Baselt 1980, Angerer 1983, Engström et al. 1984). Im Hauptabbauweg des Ethylbenzols entsteht zunächst durch die Oxidation am C1-Atom 1-Phenylethanol, das weiter zu Acetophenon oxidiert. Das nach Oxidation des Acetophenons entstehende  $\omega$ -Hydroxyacetophenon führt über den Intermediärmetaboliten Phenyl-1,2-ethandiol zu den renal eliminierbaren Metaboliten Mandelsäure und Phenylglyoxylsäure (Engström et al. 1984). Diese stehen im Urin miteinander in einem Redoxgleichgewicht und sind als Hauptmetabolite des Ethylbenzol-Metabolismus zu deuten (Baselt 1980, Angerer 1983, Engström et al. 1984), wobei der überwiegende Anteil des retinierten Ethylbenzols zu Mandelsäure metabolisiert wird (Bardodej et al. 1970, Engström et al. 1984). In geringen Mengen kann Acetophenon auch am aromatischen Ring zu m- und p-Hydroxyacetophenon oxidiert und diese anschließend renal eliminiert werden (Engström et al. 1984). Neben der Oxidation der Seitenkette besteht auch die Möglichkeit der Ringoxidation des Ethylbenzols zu 4-Ethylphenol, das einen Anteil von 0,6% der entstehenden Metaboliten bildet (Angerer 1983, Engström 1984, Engström et al. 1984). Angerer et al. konnten im Urin beruflich Ethylbenzol-exponierter Arbeitnehmer 2-Ethylphenol als Metabolite des Ethylbenzols nach Oxidation am aromatischen Ring nachweisen (Angerer et al. 1979). Neben der renalen Elimination der Mandelsäure, Phenylglyoxylsäure, p- und m-Hydroxyacetophenon sowie den Ethylphenolisomeren besteht auch die Möglichkeit, dass  $\omega$ -Hydroxyacetophenon und 1-Phenyl-1,2-ethandiol nach der Konjugation als Glucuronide oder Sulfat über die Niere ausgeschieden werden (Engström et al. 1984). Nach Expositionsende beträgt die biologische Halbwertszeit beim Menschen für Mandelsäure ungefähr 5 Stunden, für Phenylglyoxylsäure ungefähr 7 Stunden (Angerer 1983, Reske 1996). Es kann davon ausgegangen werden, dass innerhalb 24 Stunden nach Expositionsbeginn weit über 90% der Metaboliten im Urin ausgeschieden werden (Angerer 1983).

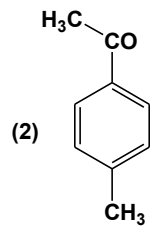


**Abbildung 1:** Vermuteter Metabolismus von p- Ethyltoluol\* basierend auf der Kombination der beiden Grundstrukturen (a) Methyl- und (b) Ethylbenzol

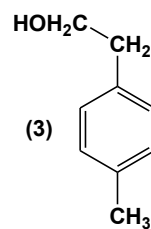
\* gilt ebenso für seine beiden kongeneren o- und m- Verbindung



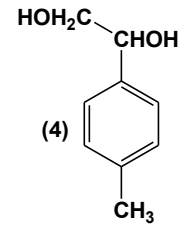
**4-(1-Hydroxyethyl)-toluol**  
( $C_9H_{12}O$ ; Mol.-Gew.: 136)



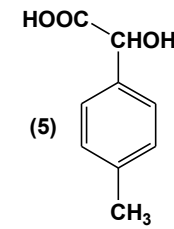
**4-Methylacetophenon**  
( $C_9H_{10}O$ ; Mol.-Gew.: 134)



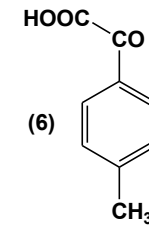
**2-(4-Methylphenyl)-ethanol**  
( $C_9H_{12}O$ ; Mol.-Gew.: 136)



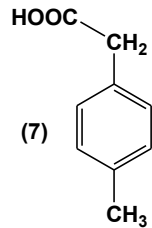
**4-Tolyl-ethylenglykol**  
( $C_9H_{12}O_2$ ; Mol.-Gew.: 152)



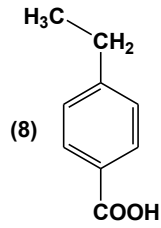
**4-Methylmandelsäure**  
( $C_9H_{10}O_3$ ; Mol.-Gew.: 166)



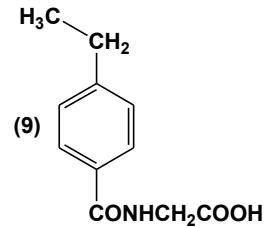
**4-Methylphenylglyoxylsäure**  
( $C_9H_8O_3$ ; Mol.-Gew.: 164)



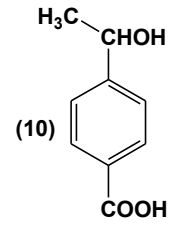
**4-Tolylessigsäure**  
( $C_9H_{10}O_2$ ; Mol.-Gew.: 150)



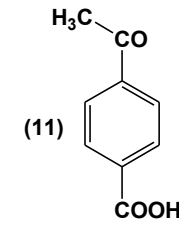
**4-Ethylbenzoesäure**  
( $C_9H_{10}O$ ; Mol.-Gew.: 150)



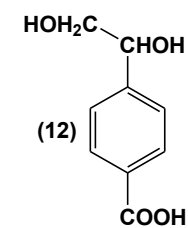
**4-Ethylhippursäure**  
( $C_{11}H_{13}NO_3$ ; Mol.-Gew.: 207)



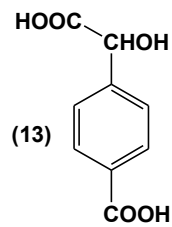
**4-(1-Hydroxyethyl)-benzoesäure**  
( $C_9H_{10}O_3$ ; Mol.-Gew.: 166)



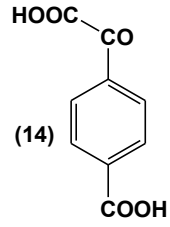
**4-Acetylbenzoesäure**  
( $C_9H_8O_3$ ; Mol.-Gew.: 164)



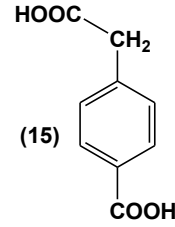
**4-Carboxyphenylethylenglykol**  
( $C_9H_{10}O_4$ ; Mol.-Gew.: 182)



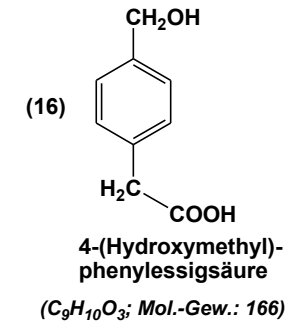
**4-Carboxyphenylmandelsäure**  
( $C_9H_8O_5$ ; Mol.-Gew.: 196)



**4-Carboxyphenylglyoxylsäure**  
( $C_9H_6O_5$ ; Mol.-Gew.: 194)



**4-Carboxyphenyl-essigsäure**  
( $C_9H_8O_4$ ; Mol.-Gew.: 180)



**Abbildung 2:** Denkbare renale Ausscheidungsprodukte nach Inkorporation von p-Ethyltoluol\*

\* gilt ebenso für seine kongeneren Verbindungen

### 1.3.6 Vermuteter Metabolismus von Ethyltoluol

Die Datenlage zum Metabolismus und somit zur Exkretion harnpflichtiger Metabolite nach Ethyltoluol-Einwirkung ist defizitär. Verwertbare Literaturhinweise fehlen derzeit.

Stellvertretend für die isomeren Ethyltoluole kann zur Aufklärung der Biotransformation zunächst der in der Abbildung 1 dargestellte hypothetische Metabolismus von 4-Ethyltoluol hilfreich sein, das infolge seiner beiden Substituenten als eine Kombination aus den beiden aromatischen Kohlenwasserstoffen (a) Methylbenzol (=Toluol) und (b) Ethylbenzol angesehen werden kann. Von diesen beiden Aromaten ist der Metabolismus in den Kapiteln 1.3.4 und 1.3.5 detailliert beschrieben und sollte daher grundlegende Erkenntnisse zur Biotransformation von Ethyltoluol beitragen, wobei die durch Ringoxidation gebildeten phenolischen Metabolite wegen ihrer äußerst geringen Bildungsrate für die vorliegende Fragestellung der Arbeit keine weitere Relevanz haben dürften. Während die primär entstehenden Oxidationsprodukte des Methylsubstituenten des Toluols 1a und 2a im intermediären Stoffwechsel als sehr kurzlebige Metabolite auftreten, sind die Benzoesäure (3a) und insbesondere dessen Glycin-Konjugat Hippursäure (4a) analytisch leicht nachweisbar und haben bekanntlich hohe renale Ausscheidungsraten.

Demgegenüber lassen sich sämtliche Cytochrom-P<sub>450</sub>-oxidierten Substituenten des Ethylbenzols (1b – 6b) im Rahmen des Biomonitoring analysieren, wobei nach Inkorporation dieses Aromaten die Mandelsäure und in deutlich abgeschwächter Konzentration gefolgt von der Phenylglyoxylsäure die höchsten renalen Konzentrationen aufweisen.

Als mögliche Metabolite von 4-Ethyltoluol – und das trifft ebenfalls auf die beiden anderen isomeren 3- und 2-Ethyltoluole zu – sollten daher aromatische Grundkörper in Erwägung gezogen werden, die solche verstoffwechselten Substituenten einbeziehen, wie sie in Abbildung 1 dargestellt sind. Dabei sind prinzipiell Molekülstrukturen denkbar, die kombiniert einerseits metabolisch nicht verstoffwechselte Methylgruppen und veränderte Ethylsubstituenten und umgekehrt veränderte Methyl- und unveränderte Ethylgruppen im Molekül aufweisen. Abbildung 2 zeigt das Spektrum der in Betracht zu ziehenden relevanten Metabolite von Ethyltoluol. So enthalten die Strukturen (1) – (7) im Molekül den nicht verstoffwechselten Methylsubstituenten des Ethyltoluols, während der 2. Substituent denkbare biotransformierte Ethylgruppierungen kennzeichnet. Demgegenüber liegt in den Metaboliten (8) und (9) die Ethylgruppe in der nicht verstoffwechselten Form und die Methylgruppe in der als Stoffwechsel-Endprodukt gebildeten Carboxylgruppe vor. Darüber hinaus war abzuklären, ob und in welchem Ausmaß harnpflichtige Metabolite gebildet

werden, die im Molekül beide Substituenten – siehe Molekülstrukturen (10) - (16) – metabolisch umgewandelt enthalten, wobei die Struktur (16) insofern eine Besonderheit darstellt, da sie Hinweise geben sollte, ob gegebenenfalls auch intermediäre Metabolite, siehe Abbildung 1; Struktur 1a, entstehen können. Der Abbildung 2 sind ferner die Summenformeln und Mol.-Gewichte der zu diskutierenden Metabolite zu entnehmen, da sie aus analytischer Sicht für die massenspektrometrische Identifizierung in den Urinproben der Versuchspersonen von Bedeutung sind.

### **1.3.7 Elimination**

Aromatische Kohlenwasserstoffe werden aus dem Körper entweder pulmonal oder renal eliminiert, wobei die renale Elimination dominiert (Gerarde 1960, Engström et al. 1984). In sehr geringen Mengen können Kohlenwasserstoffe auch unverändert renal eliminiert werden. Die Menge von unveränderten Kohlenwasserstoffen, die abgeatmet werden, ist hauptsächlich von deren Konzentration im Blut und dem Dampfdruck der Kohlenwasserstoffe abhängig. Dabei führt eine hohe metabolische Umwandlung zu niedrigen Kohlenwasserstoffkonzentrationen im Blut und folglich zu geringer pulmonaler Elimination. Eine niedrige Biotransformation hat den gegenteiligen Effekt (Gerarde 1960). Die pulmonale Clearance von fettlöslichen Dämpfen wird auch durch das Körpergewicht beeinflusst. Dabei haben nach Exposition gegenüber den gleichen Stoffmengen dünne Menschen eine schnellere pulmonale Clearance von diesen Dämpfen als fettleibige Menschen (Fiserova-Bergerova et al. 1980). Einen weiteren Einflussfaktor auf die pulmonale Elimination aromatischer Kohlenwasserstoffe stellt die körperliche Belastung dar. In diesem Zusammenhang kam Carlsson zu dem Ergebnis, dass die Exhalation von unverändertem Toluol über den Respirationstrakt während Belastung um den Faktor 2,5 höher ist als in Ruhe (Carlsson 1982). Fiserova-Bergerova stellte fest, dass Lösungsmittel mit einer hohen Blut- und Fettlöslichkeit aufgrund der Biotransformation in einer relativ kurzen Zeit eliminiert werden können (Fiserova-Bergerova 1983). Neben den bisher genannten Einflussfaktoren ist die Eliminationsgeschwindigkeit von aromatischen Kohlenwasserstoffen auch von der Absorptionsart, dem Gewebe und der Lokalisation der Alkylgruppe am Benzolring abhängig. In diesem Zusammenhang kommen Pyykkö et al. zu dem Ergebnis, dass die Elimination nach inhalativer Aufnahme schneller als nach oraler Aufnahme und aus dem Fettgewebe langsamer als aus anderen Geweben erfolgt (Pyykkö et al. 1977). Nach perkutaner Absorption von Xylol und Styrol konnte eine verzögerte Elimination beobachtet werden (Riihimäki et al. 1978). Untersuchungen mit Alkylbenzolen, wie Ethylbenzol und Cumol, zeigten, dass der überwiegende Teil einer inhalativ

resorbierten Alkylbenzolmenge aus dem Blut innerhalb 24 Stunden eliminiert ist (Reske 1996, Grimm 2000).

## 2 Fragestellung

Während die im Rahmen des Ambient Monitoring gemessenen MAK- bzw. Luftgrenzwerte der Kontrolle der äußeren Gefahrstoffbelastung am Arbeitsplatz dienen, erfassen die im Rahmen des Biologischen Monitoring gemessenen BAT-Werte die innere Belastung eines einzelnen Arbeiters durch einen Stoff und dienen auf diese Weise dem individuellen Gesundheitsschutz.

Zur Aufstellung von BAT-Werten sind Kenntnisse über die Kinetik eines Stoffes, wie die Resorption, Distribution, der Metabolismus und die Elimination erforderlich. Da die Datenlage zur Kinetik vieler Stoffe defizitär ist, existieren derzeit nur für ca. 50 Stoffe oder Stoffgruppen BAT-Werte und sind somit im Vergleich zu den über 400 festgesetzten MAK-Werten deutlich unterrepräsentiert.

Das weit verbreitete Vorkommen von Ethyltoluol in der Arbeits- und Umwelt und die durch diesen Stoff hervorgerufenen gesundheitlichen Beeinträchtigungen machen es notwendig, für diesen Stoff im Rahmen des Biomonitoring Grenzwerte in Luft und Blut und für dessen Metaboliten im Urin festzusetzen. Aufgrund mangelnder Kenntnis über die Kinetik konnten für Ethyltoluol bisher keine BAT-Werte festgesetzt werden. Um diese Lücke zu schließen, waren die Ziele dieser Dissertationsarbeit:

- der Frage möglicher Metabolite von Ethyltoluol nachzugehen
- laborsynthetisch Metabolite herzustellen und deren chemisch physikalische Identifizierung vorzunehmen
- ein Analyseverfahren zu entwickeln, das für den qualitativen und quantitativen Nachweis der Ethyltoluol-Metabolite valide ist
- die Einflussfaktoren Expositionszeit und körperliche Belastung beim Biologischen Monitoring einzubeziehen, um auf diese Weise einen unmittelbaren Vergleich mit der beruflichen Ethyltoluol-Exposition am Arbeitsplatz zu ermöglichen
- anhand der nachgewiesenen Metabolite und anhand des Metabolismus der Alkylbenzole Ethylbenzol und Toluol die Kinetik von Ethyltoluol zu rekonstruieren
- auf der Grundlage der ermittelten Kinetik BAT-Werte für Ethyltoluol vorzuschlagen

## **3 Methodik und Material**

### **3.1 Durchführung von Kammerversuchen**

Der hier durchgeführten Studie lagen standardisierte human-experimentelle Untersuchungen in einer Expositions-kammer zugrunde.

Im Gegensatz zu Feldstudien lassen sich mittels derartiger Expositionsversuche in einer Untersuchungskammer reproduzierbare quantitative Beziehungen zwischen äußerer und innerer Belastung herleiten. Sie können somit eine Verknüpfung zwischen MAK- und BAT-Werten darstellen, da unter laborexperimentellen Bedingungen bei inhalativer Aufnahme im Fließgleichgewicht eines Arbeitsstoffes mit Funktionen der Pharmakokinetik formulierbare Beziehungen zwischen äußerer und innerer Belastung bestehen. Anhand von standardisierten Expositionen können vorteilhaft Randbedingungen am Arbeitsplatz, wie der Einfluss körperlicher Arbeit oder Abweichungen des individuellen Stoffwechsel- und Ausscheidungsverhaltens eines Gefahrstoffes, z. B. durch konkurrierende Einwirkung mit Alkohol, berücksichtigt und im Untersuchungsansatz quantifiziert werden. Bei der Evaluierung von Feldstudien, die Beziehungen zwischen innerer und äußerer Belastung beschreiben, bestehen besondere Probleme bei direktem Kontakt mit dermal resorbierbaren Arbeitsstoffen. Erfahrungsgemäß treten bei solchen Stoffen häufig Diskrepanzen zwischen verschiedenen Studien auf, die zumeist auf die unterschiedlich stark ausgeprägte dermale Inkorporation zurückgeführt werden können.

Der Arbeitskreis unter der Leitung von Herrn Priv. Doz. Dr. Dr. U. Knecht der Arbeits- und Sozialmedizin Gießen besitzt auf dem Gebiet der standardisierten Expositionsversuche langjährige Erfahrungen. Im Institut wurden bislang umfangreiche Expositionsversuche zur Evaluierung bzw. Re-Evaluierung von BAT-Werten durchgeführt, die von der Ethikkommission genehmigt wurden (z. B. Knecht et al. 1989, Knecht 1990, Knecht et al. 1996, Knecht 1998, Knecht et al. 1999, Knecht et al. 2000, Knecht et al. 2000, Zenser et al. 1997). Berücksichtigt wurden dabei insbesondere Untersuchungen zur Bilanzierung möglicher Hautresorptionen über die Gasphase, der Einfluss schwerer körperlicher Arbeit sowie der konkurrierende Einfluss von Alkohol auf das Metabolisierungsverhalten von Gefahrstoffen.

### 3.2 Standardisierte Expositionsbedingungen

Die Untersuchungsreihen wurden in einer ca. 17,5 m<sup>3</sup> großen Expositions-kammer durchgeführt, deren Innenwände mit Aluminiumfolie ausgekleidet waren, um eine Adsorption des Lösungsmittels zu vermeiden. Ein Sichtfenster stellte den visuellen und eine Telefonverbindung den akustischen Kontakt zwischen Versuchsleiterin und Versuchsperson her. Die Kammer war mit einem Tisch, einem Stuhl und einem Fahrradergometer ausgestattet. Auf dem Fahrrad musste der Proband jeweils halbstündlich praxisorientiert eine 10-minütige körperliche Belastung von 75 Watt erbringen. Zu Beginn jedes Versuchs wurde eine bestimmte Menge Ethyltoluol in der Versuchskammer verdampft und mittels eines Ventilators gleichmäßig in der Kammerluft verteilt, um eine Luftkonzentration von 35 mg/m<sup>3</sup> herzustellen. Die kontinuierliche Messung der Luftkonzentration von Ethyltoluol erfolgte über eine Dosierpumpe, die mit einem mit Aktivkohle gefüllten Glasröhrchen verbunden war. An einem Thermo-Hygrometer wurden Temperatur und Luftfeuchtigkeit stündlich vom Probanden abgelesen. Die Abbildung 3 zeigt die Innenansicht der Expositions-kammer.



**Abbildung 3:** Expositions-kammer mit Fahrradergometer, Ventilator und Luftprobenahme-Vorrichtung und Sichtfenster im Hintergrund.

### **3.3 Kollektivbeschreibung**

Insgesamt nahmen 30 Versuchspersonen an der Expositionsstudie teil. Davon gehörten 9 Kollektiv A und 21 Kollektiv B (s. Kapitel 3.4) an. 16 Probanden waren weiblich, 14 waren männlich. Das durchschnittliche Alter der Probanden in Kollektiv A betrug  $31 \pm 10$  Jahre. Im Kollektiv B waren die Probanden durchschnittlich  $28 \pm 12$  Jahre alt. Keine der Versuchspersonen hatte bekannte akute oder chronische Erkrankungen, und niemand hatte beruflich oder außerberuflich Kontakt mit Ethyltoluol. Alle Probanden erfüllten die Bedingung, 24 Stunden prä- bis 24 Stunden postexpositionell keinen Alkohol zu konsumieren. Mögliche Medikamenteneinnahmen wurden von allen Probanden verneint.

Zur Information über den Versuchsablauf, den exponierten Stoff Ethyltoluol und möglicherweise auftretende Symptome, wie Reizungen an Haut, Schleim- und Bindehäuten, erhielten die Probanden vor der Teilnahme ein ausführliches Informationsschreiben. In einem persönlichen Gespräch klärte die Versuchsleiterin über etwaige Fragen auf und versicherte die Anonymität der Versuchsergebnisse. Die Einwilligung zur freiwilligen Teilnahme und Verwertung der Versuchsergebnisse gaben die Probanden durch ihre Unterschrift.

Die Expositionsversuche in Höhe des Luftgrenzwerts von  $35 \text{ mg/m}^3$  wurden von der Ethikkommission des Universitätsklinikums der Justus-Liebig-Universität genehmigt.

### **3.4 Durchführung der Exposition**

#### **3.4.1 Kollektiv A**

Es wurde eine 1-, 2- und 3-stündige Exposition gegenüber 2-, 3- und 4-Ethyltoluol an einzelnen Probanden durchgeführt.

Tabelle 3 zeigt, zu welchen Zeitpunkten bei diesen Expositionen Luft-, Blut- und Urinproben entnommen wurden.

**Tabelle 3:** Probenahmezeiten von Luft, Blut und Urin über einen Zeitraum von bis zu 3 Stunden nach Expositionsbeginn

Probe	Probenahme nach Expositionsbeginn [h]		
	1	2	3
Luft	x	x	x
Blut	x	x	x
Urin	x	x	x

### 3.4.2 Kollektiv B

Die Expositionen wurden in 3 Gruppen von jeweils 7 Probanden vorgenommen, wobei jede Gruppe gegenüber einem bestimmten der 3 isomeren Ethyltoluole exponiert wurde. Im Kollektiv B betrug in Anlehnung an einen normalen Arbeitstag die Expositionsdauer eines Probanden 8 Stunden. Nach 4 Stunden (1. Expositionsphase) erfolgte eine 45-minütige Pause außerhalb der Expositionskammer, während der die Kammerluft neu konditioniert wurde. Anschließend wurden die Probanden erneut 4 Stunden exponiert (2. Expositionsphase). Während der Exposition sollte der Proband die Kammer nicht verlassen.

Wie unter 1.1.1.2 beschrieben, wurde für Ethyltoluol ein Luftgrenzwert von 35 mg/m<sup>3</sup> bestimmt. Vorversuche gaben darüber Aufschluss, welche Menge und wie häufig Ethyltoluol verdampft werden musste, um diesen Luftgrenzwert kontinuierlich in der Versuchskammer während der Expositionen einzuhalten.

Tabelle 4 fasst die Probenahmezeiten von Luft und Blut des Kollektiv B zusammen.

**Tabelle 4:** Probenahmezeiten von Luft und Blut über einen Zeitraum von bis zu 60 Minuten nach Expositionsende

Probe	Probenahme		Probenahme nach Expositionsende [min]		
	nach 4 h	Expositions- ende	20	40	60
Luft	x	x			
Blut	x	x	x	x	x

Tabelle 5 gibt die Zeitpunkte wieder, an denen Urinproben vom Kollektiv B abgegeben wurden.

**Tabelle 5:** Probenahmezeiten von Urin über einen Zeitraum von bis zu 24 Stunden nach Expositionsbeginn

Probe	Probenahme nach Expositionsbeginn [h]				
	0	4	8,75	fraktionierte Sammlung des Urins mit Notiz der jeweiligen Uhrzeit	24
Urin	x	x	x	x	x

### 3.5 Probengewinnung

#### 3.5.1 Gewinnung der Kammerluftproben

Die Entnahme der Kammerluftproben von Ethyltoluol erfolgte mittels eines Personal Air Sampler. Dieser bestand aus einer Pumpe mit einem konstanten Volumenfluss von 2 l Luft/min durch ein Glasröhrchen, das mit 100 mg Aktivkohle als Adsorbens gefüllt war. Die Kohleröhrchen wurden jeweils nach Versuchsende beidseitig mit Plastikkappen verschlossen und bis zur Analyse bei Raumtemperatur aufbewahrt.

#### 3.5.2 Gewinnung der Blutproben

##### Kollektiv A:

Zur Ermittlung der Anflutung von Ethyltoluol im Blut und des „steady state“ wurden an jeweils einem Probanden 1-, 2- und 3-stündige Expositionen mit dem jeweiligen isomeren Ethyltoluol durchgeführt. Den Abschluss jeder Exposition bildete eine venöse Blutabnahme, die tiefgefroren asserviert wurde.

##### Kollektiv B:

Zur Bestimmung der Ethyltoluol-Blutkonzentrationen sowie der Eliminationskinetik mittels der Berechnung der biologischen Halbwertszeit  $t_{1/2}$  im Blut nach 8-stündiger Belastung wurden bei 21 Probanden jeweils 5 Blutproben von je 6 ml entnommen. Die Blutabnahmen erfolgten jeweils nach 4 und 8 Stunden Exposition sowie 20-, 40- und 60 Minuten postexpositionell. Die Abnahme wurde entweder mittels 5 venöser Punktionen mit einem Einmalbesteck oder über eine venöse Verweilkanüle (Braunüle) durchgeführt. Anschließend wurde das Blut umgehend in ein mit 10 mg Ammoniumoxalat als Antikoagulans gefülltes Blutröhrchen injiziert und dieses kräftig geschüttelt. Bis zur Analyse wurden die Blutröhrchen tiefgefroren asserviert.

### **3.5.3 Gewinnung der Urinproben**

#### Kollektiv A:

Die bereits erwähnten 1-, 2- und 3-stündigen Expositionen wurden vorgenommen, um die Anflutungsphase in den ersten Stunden zu erfassen und festzustellen, ob sich in diesen Zeiträumen bereits ein steady state einstellt.

Von jedem Probanden wurden eine prä- und eine postexpositionelle Urinprobe von etwa 50 ml genommen und diese tiefgefroren asserviert.

#### Kollektiv B:

Die Urinproben von Kollektiv B dienen einerseits der qualitativen Erkenntnis des Metabolitenspektrums nach 8-stündiger Belastung im Urin und andererseits der quantitativen Bestimmung der Einzelkomponenten und der biologischen Halbwertszeit zur Evaluierung eines zukünftigen BAT-Wertes.

Vor der Exposition gaben die Probanden eine Urinprobe ab. Weitere Urinproben erfolgten nach 4-stündiger Exposition und am Expositionsende (8,75 Stunden nach Expositionsbeginn). Vom Expositionsende an sammelten die Probanden fraktioniert den Urin und notierten jeweils die Uhrzeit. Die letzte Urinprobe war auf 24 Stunden nach Expositionsbeginn festgelegt. Jede Urinprobe umfasste ein Volumen von mindestens 50 ml. Bis zu ihrer Analyse wurden die Urinproben in dafür vorgesehenen Plastikbechern tiefgefroren asserviert.

## **3.6 Analytik**

### **3.6.1 Analyse der Kammerluftproben**

Zur Bestimmung der Ethyltoluolkonzentration in der Kammerluft wurde der Inhalt des Aktivkohleröhrchens mit 10 ml Schwefelkohlenstoff ( $\text{CS}_2$ ) als Desorptionsmittel versetzt, das 2,5 mg 1,3-Dichlorbenzol als internen Standard (ISTD) enthielt. Nach einer Äquilibrierungsphase von 1 Stunde bei Raumtemperatur folgte die automatische Injektion von 1  $\mu\text{l}$  des Eluats in den Kapillargaschromatographen. Die Analyse wurde unter folgenden Arbeitsbedingungen durchgeführt:

**Tabelle 6:** Gaschromatographische Arbeitsbedingungen

<b>Inlet:</b>	EPC-Split-Splitness Inlet		
	Verdampfer:		250 °C
	Druck:		65,9 kPa
	Totaler Fluss:		15,8 ml/min
	Split-Rate:		10:1
	Split-Fluss:		12,1 ml/min
<b>Trennsäule:</b>	Zebtron ZB 5	Länge:	30 m
		innerer Durchmesser:	0,25 mm
		Filmdicke	0,25 µm
<b>GC:</b>	Säulenparameter:	Flussrate:	1,2 ml/min
		Average Velocity:	40 cm/sec
		Inlet:	back
		Detektor:	MSD
		Outlet:	Vakuum
	Temperaturen:	Ofen:	45 °C/ 5 min isotherm 5 °C/min auf 60 °C 60 °C/ 5 min isotherm 5 °C/min auf 100 °C 100 °C/ 30 min isotherm
		MSD Transfer-Line:	280 °C
		Injektorblock:	120 °C
		Detektor:	200 °C
		Säulendruck:	50 kPa
<b>Trägergas:</b>	gereinigtes Helium	Flussrate:	1,2 ml/min
<b>Detektor:</b>	MSD (Mass Selective Detector) mit EI		

### 3.6.2 Analyse der Blutproben

Nach dem Auftauen wurde 1 ml jeder Blutprobe in ein Head Space Gläschen injiziert und 100 µl der ISTD-Lösung dazugegeben. Diese bestand aus 5 µg 1,3- Dichlorbenzol/ml Methanol. Die Äquilibrierung erfolgte bei einer Head-Space-Temperatur von 75 °C. Nach der automatischen Injektion von 1 ml der Gasphase in den Gaschromatographen wurde die Ethyltoluolkonzentration im Blut unter den gleichen Arbeitsbedingungen wie unter Punkt 3.6.1 analysiert.

### **3.6.3 Analyse der Urinproben**

Nach dem Auftauen der Urinproben und 10-minütigem Schütteln auf einem Automaten wurde jeweils 1 ml jeder Urinprobe mit 50 g NaCl versetzt, um über diesen Aussalzungseffekt eine Anreicherung der Analyten in der nachgeschalteten Extraktionsphase zu erreichen. Als nächste Schritte folgten die Zugabe von 100 µl ISTD-Lösung mit dem internen Standard n-Undecansäure als Referenz und die Zugabe von 0,5 ml 37%-iger rauchender HCl-Lösung zur sauren Hydrolyse der konjugierten Metabolite. Nach luftdichtem Verschluss der Gefäße erfolgte eine 1-stündige Inkubation bei 100 °C im temperierbaren Trockenschrank. Nach Abkühlen der Proben wurden anschließend jeweils 3 ml Diethylether zur Extraktion und 100 µl Bis-Trimethylsilyl-Trifluoroacetamid (BSTFA) zur Derivatisierung der Metaboliten injiziert und nach 10-minütigem Schütteln kurz bei 1000 Umdrehungen/min zentrifugiert. Danach wurde das Abpipettieren der Etherphase in Gläschen und das 20-minütige Eindampfen bei 70 °C unter N<sub>2</sub>-Zufluss vorgenommen. Nach Zugabe von 100 µl Pyridin zur Lösung der Präzipitate und Transfer der Lösung in 0,2 ml Reduziereinsätze, die in HS-Gläschen eingebettet waren, erfolgte die GC-MS mit der unter Punkt 3.6.1 beschriebenen Geräteeinstellung.

Zur Herstellung der ISTD-Lösung wurden 100 mg des internen Standards n-Undecansäure durch Zugabe von Acetonitril ad 10 ml in Lösung gebracht. Nach Injektion von 1 ml dieser Lösung in einen Messkolben, wurde dieser mit 0,5 ml 11 N NaOH versetzt und mit Aqua dest. ad 20 ml aufgefüllt. Auf diese Weise konnten als ISTD-Lösung 500 µg/n-Undecansäure ml hergestellt werden.

Zur Verbesserung der chromatographischen Eigenschaften, der Maskierung funktionell polarer Gruppen mit Reduktion chemischer Umsetzungen und speziell zur Volatilisierung höhermolekularer polarer Metaboliten wurde die BSTFA-Derivatisierung in die thermisch stabilen, chemisch inerten und leichtflüchtigen Trimethylsilylester bzw. -ether vorgenommen.

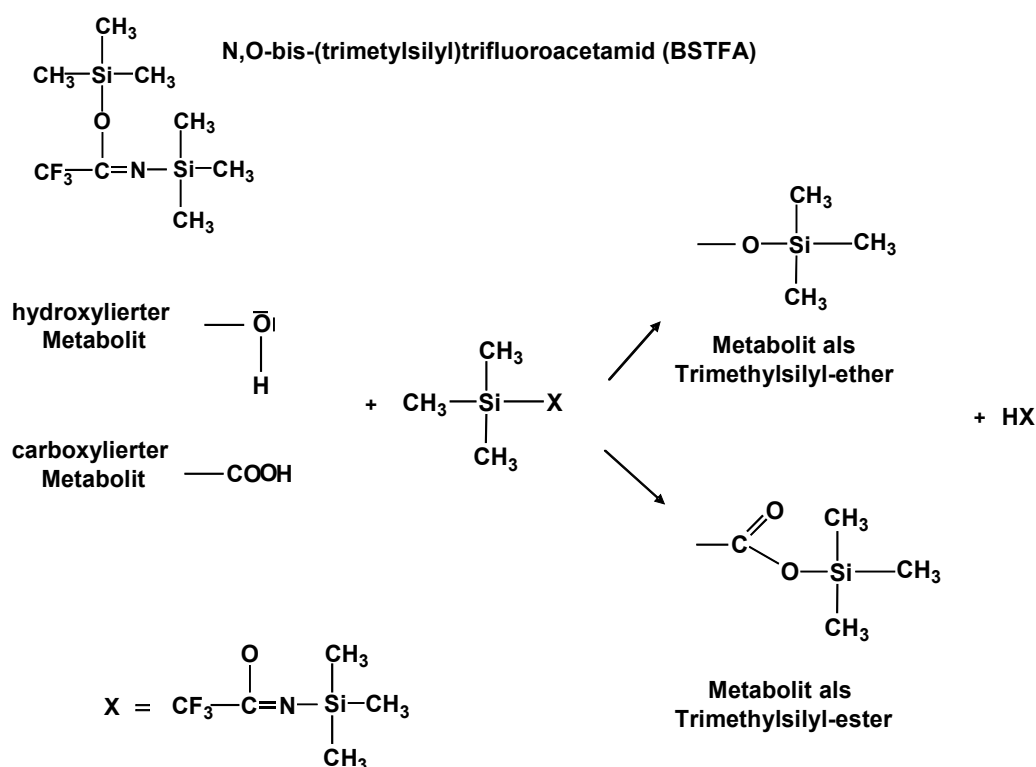
## **3.7 Gaschromatographische Arbeitsmethoden**

### **3.7.1 Analytisches Procedere**

Die qualitative und quantitative Analytik der Luft-, Blut- und der metabolisch gebildeten Ausscheidungsprodukte im Urin wurde mittels der Gaschromatographie in Kombination mit der massenspektrometrischen Detektion durchgeführt.

### 3.7.1.1 Qualitative Analytik

Um detaillierte Kenntnis zum Metabolismus der isomeren Ethyltoluol-Komponenten erhalten zu können, wurden die in Abbildung 2 dargestellten Metabolite größtenteils synthetisiert, teils konnten sie kommerziell erhalten werden. Von diesen vor der instrumentellen Analytik gemäß Abbildung 4 mit N,O-bis-(trimethylsilyl)trifluoroacetamid (BSTFA) derivatisierten Substanzen wurden die gaschromatographischen Retentionszeiten ermittelt sowie die Massenspektren der Trimethylsilyl-ether- bzw. -ester-derivate aufgenommen, um anhand dieser Daten nach entsprechender Aufarbeitung der Urinproben hieraus eine eindeutige Identifizierung des ausgeschiedenen Metaboliten-spektrums vornehmen zu können.



**Abbildung 4:** N,O-bis-(trimethylsilyl)trifluoroacetamid (BSTFA) und seine Wirkungsweise als Derivatisierungsreagenz für hydroxylierte und carboxylierte Verbindungen zur gaschromatographisch-massenspektrometrischen Detektion.

### 3.7.1.2 Quantitative Analytik

Zur Erstellung von Kalibrierkurven für die quantitative Bestimmung der isomeren Ethyltoluole in Blut wurden Vergleichsstandards in Schafsblut angesetzt, das speziell für Analysen im Spurenbereich geeignet ist. Basierend auf den Ergebnissen der qualitativen Urinanalysen wurden von den identifizierten Komponenten entsprechende Kalibrierkurven für die quantitative Bestimmung der renal ausgeschiedenen Metabolite mittels

Vergleichsstandards aus unbelastetem Pool-Urin erstellt. In beiden Fällen lagen die Dotierungen der Standards in vergleichbar hohen Konzentrationen, wie sie unter den Gegebenheiten der standardisierten Expositionen bei den Probanden zu erwarten waren. Man erhält die Kalibriergeraden, indem der Quotient der Peakflächen der jeweiligen Ethyltoluole bzw. ihrer Metabolite und der der Peakfläche des internen Standards gegen die dotierten Konzentrationen des Kontrollmaterials aufträgt.

Mit den ermittelten Quotienten der Peakflächen des Analyten und des internen Standards geht man in die entsprechende Kalibrierkurve und ermittelt die dazugehörige Konzentration der Metaboliten in mg pro Liter Harn. Ermittelte Reagenzienleerwerte sind vom Ergebnis der Realproben zu subtrahieren.

### **3.7.1.3 Standardisierung der Messergebnisse und Qualitätssicherung**

Zur Sicherung der Qualität der Analysenergebnisse wird gemäß den Richtlinien der Bundesärztekammer verfahren (Richtlinie der Bundesärztekammer 2003). Zur Präzisionskontrolle wird bei jeder Analysenserie eine Blut- bzw. Urinkontrollprobe mit untersucht, die eine vorgegebene Konzentration an den Ethyltoluolen bzw. ihrer Metaboliten aufweist.

### **3.7.1.4 Beurteilung des Verfahrens**

Zur Bestimmung der *Präzision* in der Serie und von Tag zu Tag wird Schafsblut und Pool-Urin beruflich nicht belasteter Probanden mit definierten Mengen der Ethyltoluole bzw. deren Metabolite versetzt, aufgearbeitet und analysiert. Es wurden jeweils 10-fache Analysen vorgenommen.

Zur Prüfung der *Richtigkeit* des Verfahrens erfolgte die Bestimmung der aufarbeitungsbedingten Verluste. Dazu wurde Schafsblut und Poolurin nicht belasteter Personen mit definierten Konzentrationen der Ethyltoluole sowie deren Metaboliten hergestellt, aliquotiert und 10 mal nach Aufarbeitung analysiert. Daneben erfolgte die Herstellung von Standards in Aceton, die die gleichen Konzentrationen in Blut und Urin aufwiesen und die direkt gaschromatographisch analysiert werden konnten. Durch den Vergleich der Peakflächen der Aceton-Standards mit den entsprechenden Peakflächen der aufgearbeiteten Blut- und Urin-Vergleichsstandards ist der aufarbeitungsbedingte Verlust der einzelnen Analyten ersichtlich.

### **3.7.1.5 Kreatininbestimmungen**

Um diuresebedingte Schwankungen auszugleichen, wurde als Bezugsgröße zur Bestimmung der Metabolitenkonzentrationen im Urin der Kreatiningehalt jeder Urinprobe verwendet (Wehrauch et al. 1998). Die Kreatininbestimmung erfolgte anhand von 2 ml

jeder Urinprobe enzymatisch in einem Probenautomaten.

### 3.8 Material und Geräte

- Personal Air Sampler Alpha-1
- Aktivkohle-Adsorptionsröhrchen
- TSI Flowmeter (Modell 4140/4143)
- Fahrrad-Ergometer AX-1
- Temperierbarer Magnetrührer zur kontinuierlichen Verdampfung von Ethyltoluol
- Vasocan Braunülen u. Mandrins Vasofix-Vasocan 18 G und 20 G
- 10 ml Injektionsspritzen nach Braun
- Neolus 27 G Kanülen
- mit Al-Lochkappen und PTFE-kaschierten Butylgummi-Dichtungen verschlossene gasdichte HS-Gläschen (hitzesterilisiert, evakuiert und mit N<sub>2</sub> gefüllt)
- Urinprobengefäße
- 10 ml Kabavetten mit Ansaugeschlauch

#### *GC-HS (Luft- Blutanalytik):*

- Hewlett Packard 19395 A Headspace Sampler
- Hewlett Packard 5890 A Gas Chromatograph
- Kapillarsäule (Chrompack International) CP-Sil 19 CB, ID 0,53 mm, Filmdicke 2 µm, Länge 50 m
- FID (Flame Ionization Detector)
- Rechenintegrator SP 4100

#### *GC-MSD (Produkt-und Spontanurinanalytik):*

- Gerstel MPS 2 (Multi-Purpose-Sampler)
- EPC-Split-Splitless-Injektor
- Gaschromatograph MS
- Kapillarsäule Zebron ZB 5, ID 0,25 mm, Filmdicke 0,25 µm, Länge 30 m
- Hewlett Packard 5973 Mass Selective Detector
- Mettler A E 100 Waage und Mettler Toledo Waage
- HS-Gläschen 20 ml, 10 ml, 5 ml und 2 ml mit 10 mm Al-Lochkappen und Butylgummi/PTFE-Septen

- Gasdichte Injektionsspritzen
- Gilson- und Eppendorf-Pipetten (justierbare und nicht justierbare): 1000 µl, 500 µl, 250 µl, 200 µl, und 100 µl
- Vollpipetten: 20 ml, 10 ml, 5 ml
- Erlenmeyer-Messkolben 20 ml
- Heraeus Sepatech Labofuge GL
- Schüttelmaschine KS 500

### 3.9 Chemikalien

#### *Luftanalytik:*

- 1,3-Dichlorbenzol, 99,8%, CAS-Nr.: 541-73-1
- Schwefelkohlenstoff z. A.; 99,9%; CAS-Nr.: 75-15-0

#### *Blutanalytik:*

- 4-Ethyltoluol, CAS-Nr.: 622-96-8
- 3-Ethyltoluol, CAS-Nr.: 620-14-4
- 2-Ethyltoluol, CAS-Nr.: 611-14-3
- im Blutentnahmegefäß:
- Ammoniumoxalat zur Analyse (z. A.); 99,5%, CAS-Nr.: 6009-70-7 als Antikoagulans
- 1,3-Dichlorbenzol, 99,8%, CAS-Nr.: 541-71-1
- Schafsblut
- Uvasol, Methanol für die Spektroskopie, CAS-Nr.: 67-56-1

#### *Urinanalytik:*

- Metabolite der isomeren Ethyltoluole (siehe Abbildung 2)
- Acetonitril (Methylcyanid), 99,8%, CAS-Nr.: 75-05-8
- Aqua dest.
- BSTFA (Bis-Trimethylsilyl-Trifluoroacetamid), „Regisil RC-1“ als Derivatisierungsreagenz
- Diethylether, 99,5%, CAS-Nr.: 60-29-7
- HCl 37%; CAS-Nr.: 7647-01-0
- NaCl z. A.; 9,5%; CAS-Nr.: 60-29-7
- NaOH-Monohydrat ; 99,9%, CAS-Nr. : 1310-73-2

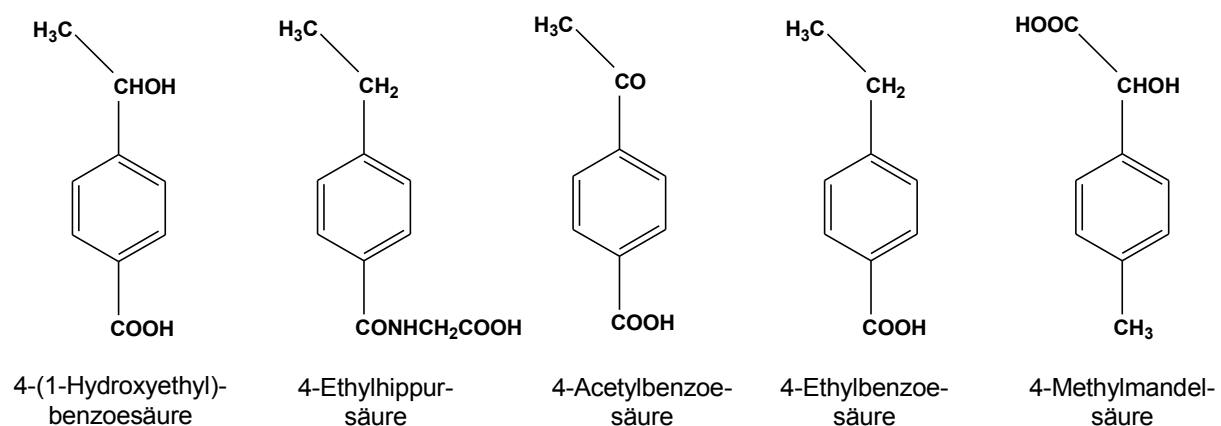
- 11 N NaOH (44 g NaOH ad 100 ml Aqua dest.)
- Pyridin; 99,9%; CAS-Nr.: 110-86-1
- n-Undecansäure und n-Nonansäure
- Helium als Trägergas für die Gaschromatographie/Massenspektroskopie (GC-MSD)
- N<sub>2</sub> als Trägergas im GC-HS
- Aceton zur Reinigung der gasdichten Injektionsspritzen

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Gaschromatographische Validitätskriterien

#### 4.1.1 Qualitatives Metabolitenspektrum

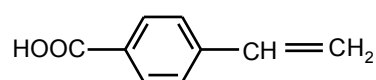
Von den in der Abbildung. 2 dargestellten Substanzen, die als denkbare Metabolite nach einer 4-Ethyltoluol-Exposition renal ausgeschieden werden sollten, ließen sich die in Abbildung 5 abgebildeten Komponenten im Urin in nennenswerten Konzentrationen eindeutig massenspektroskopisch und gaschromatographisch analysieren.



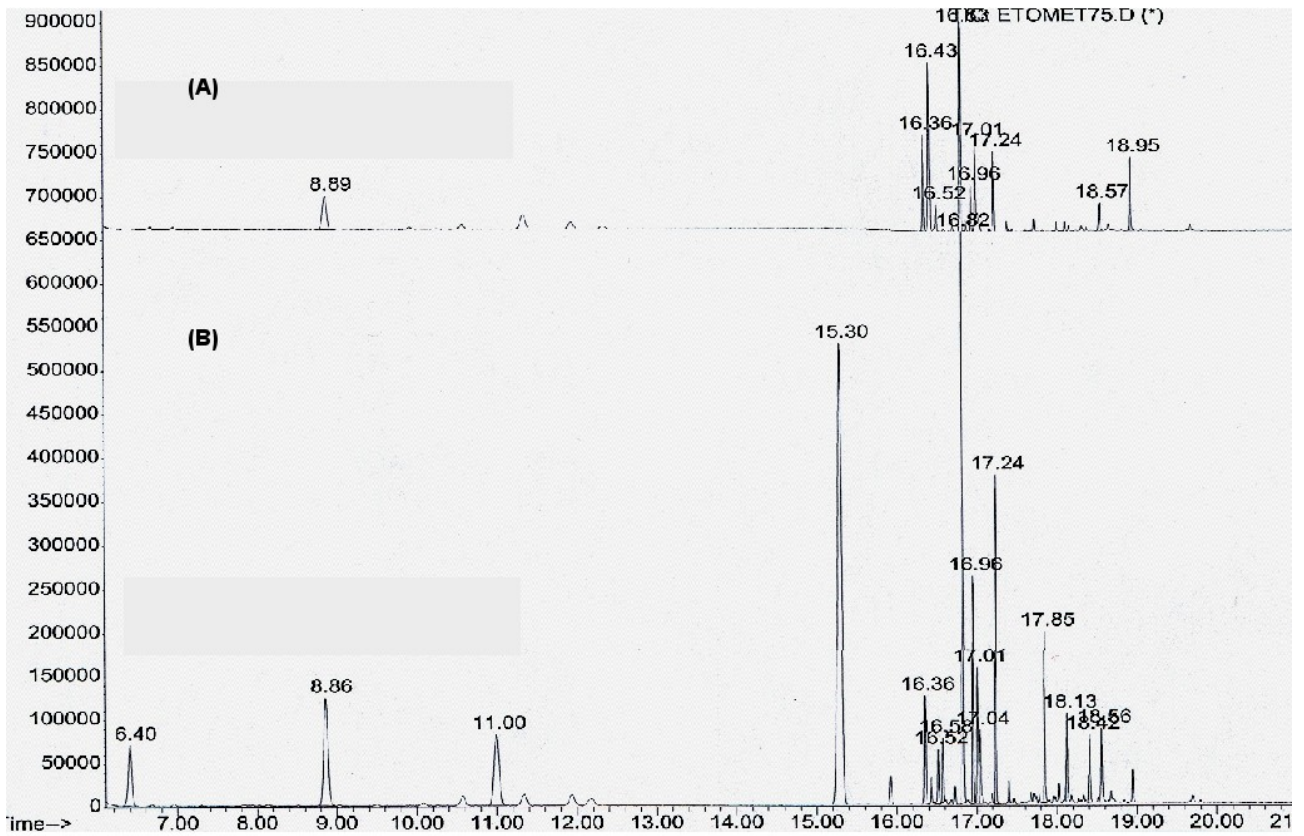
**Abbildung 5:** Im Urin von gegenüber 4-Ethyltoluol exponierten Probanden gaschromatographisch-massenspektrometrisch nachgewiesene Metabolite

Die Abbildungen 6 bzw. 7 zeigen Chromatogramme von aufgearbeiteten Urinproben eines Probanden vor und nach Exposition gegen 4-Ethyltoluol bzw. das resultierende Chromatogramm nach Exposition mit den anhand von Massenspektren nachgewiesenen Metaboliten.

Darüber hinaus konnte ferner eine weitere Komponente analysiert werden, die nicht dem hypothetischem Metabolitenspektrum (s. Abbildung 2) zuzuordnen war. Es handelte sich dabei um folgende Verbindung:

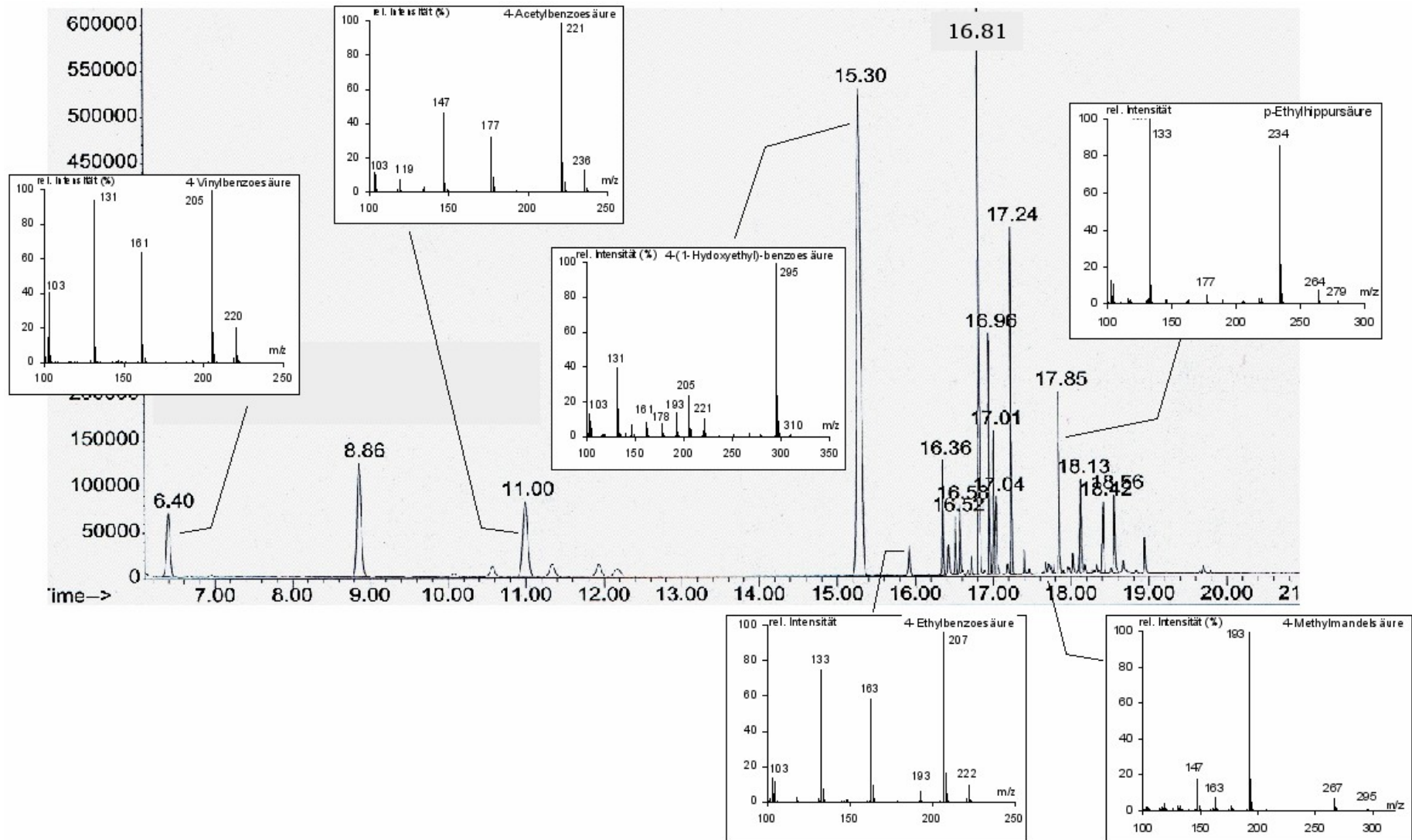


4-Vinylbenzoic acid



**Abbildung 6:** Gaschromatogramme aufgearbeiteter Urinproben eines Probanden vor (A) und nach 8-stündiger Exposition (B) gegenüber 4-Ethyltoluol

Qualitativ vergleichbare Ergebnisse resultierten bei den nach Expositionen gegenüber 3- bzw. 2-Ethyltoluol erhaltenen Urinproben.



**Abbildung 7:** Gaschromatogramm (B) bei der Abbildung 6 mit den über die Retentionszeiten und speziell anhand der Massenspektren\* eindeutig identifizierten relevanten Ethyltoluol-Metabolite

\*Dargestellt sind die Massenspektren der Trimethylsilyl-ether bzw. -ester der einzelnen Metabolite.

#### 4.1.2 Qualitätssicherung und Standardisierung der Messergebnisse

Das zur Sicherung der Qualität der Analyseergebnisse hergestellte Kontrollmaterial auf Basis von Vergleichsstandards zeigt die in den folgenden Abbildungen 8 und 9 dargestellten Kalibrierkurven für die isomeren Ethyltoluole in Luft und Blut.

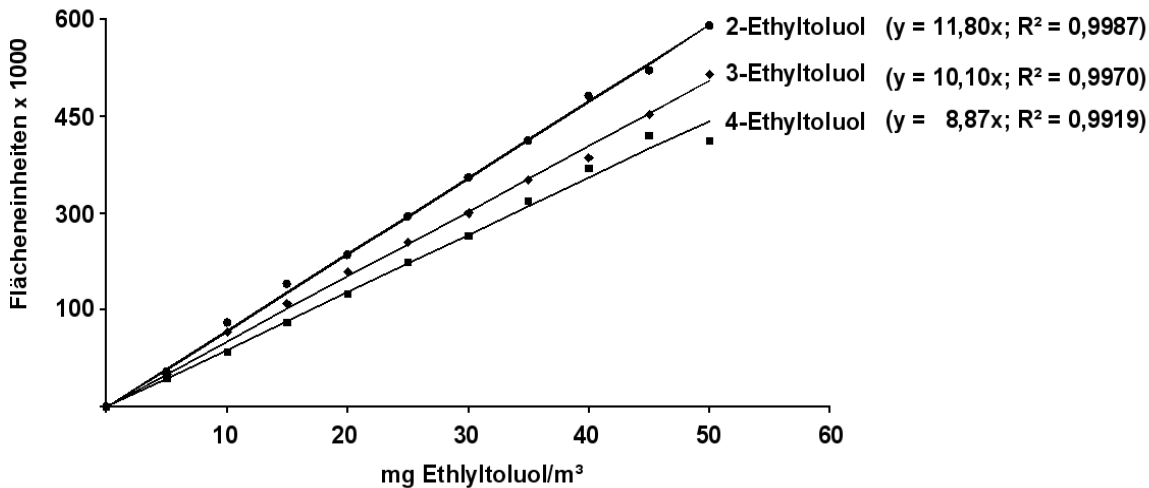


Abbildung 8: Kalibrierkurven für die isomeren Ethyltoluole in Luft

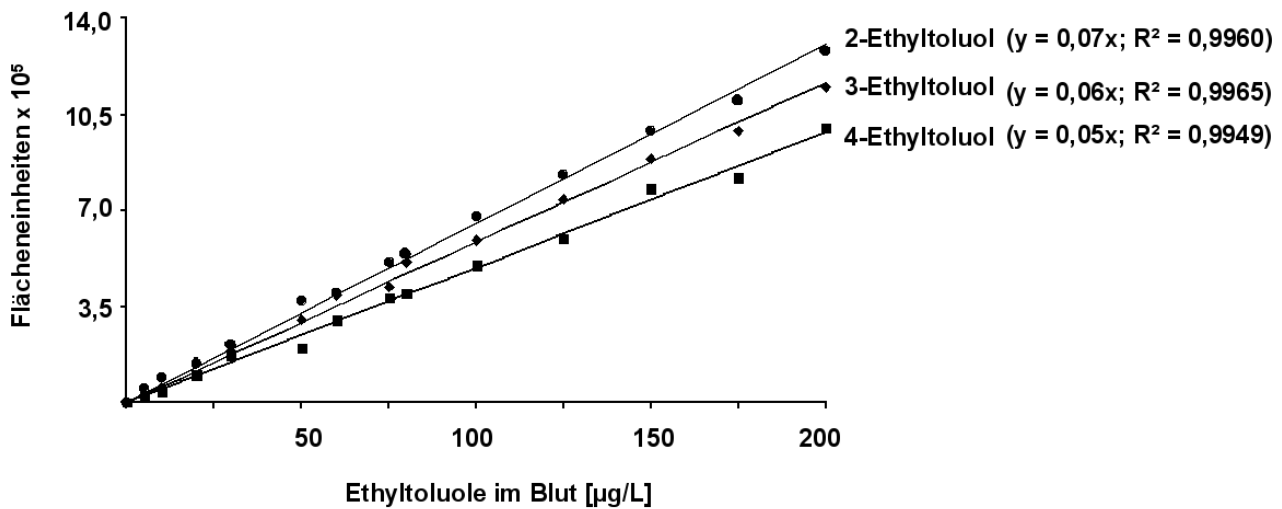


Abbildung 9: Kalibrierkurven für die isomeren Ethyltoluole im Blut

Des Weiteren sind aus den folgenden Abbildungen 10 – 15 die resultierenden Kalibrierkurven der mit Kontrollmaterialien der o. g. Metabolite dotierten Urine ersichtlich.

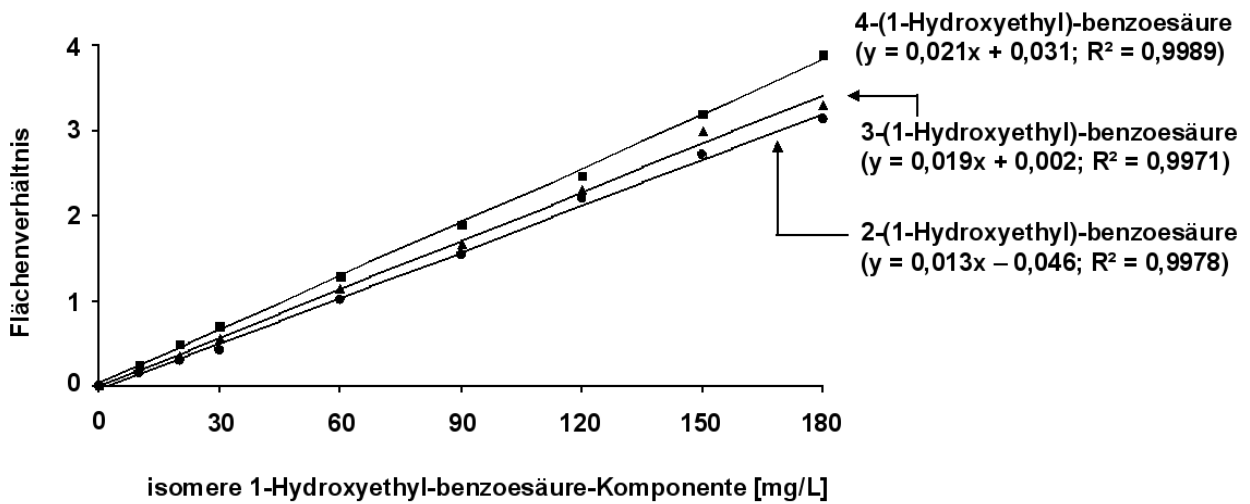


Abbildung 10: Kalibrierkurven der isomeren 1-Hydroxyethyl-benzoessäuren im Urin

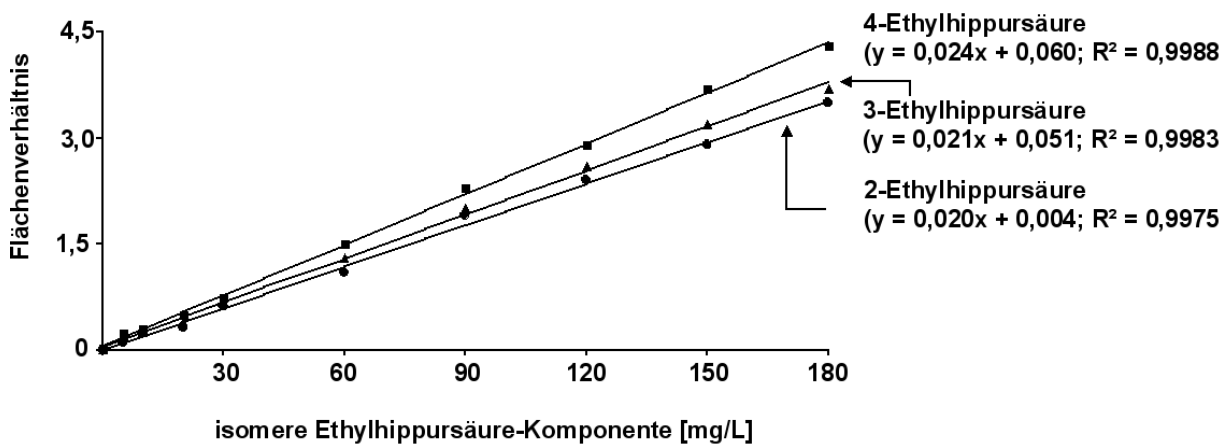


Abbildung 11: Kalibrierkurven der isomeren Ethylhippursäuren im Urin

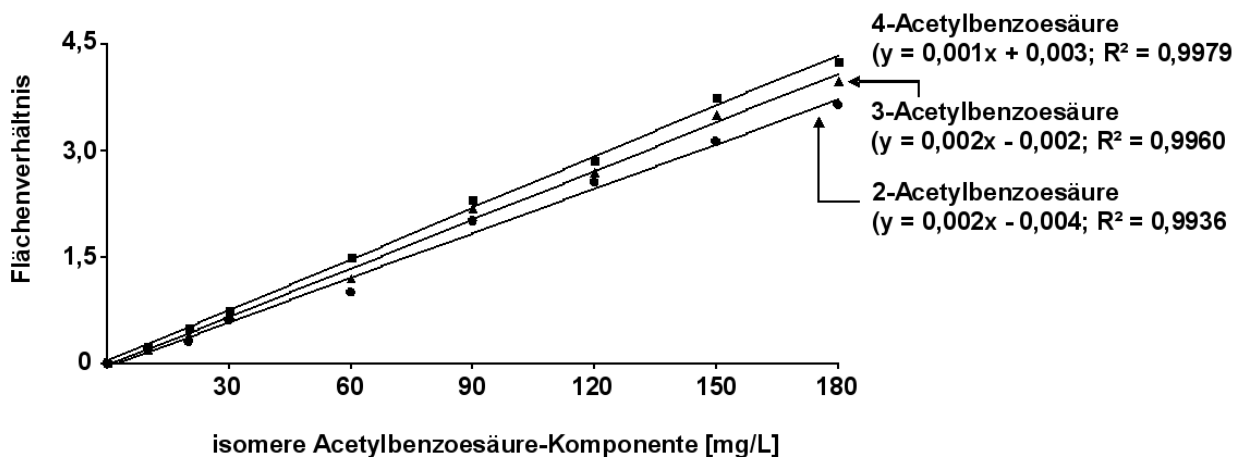
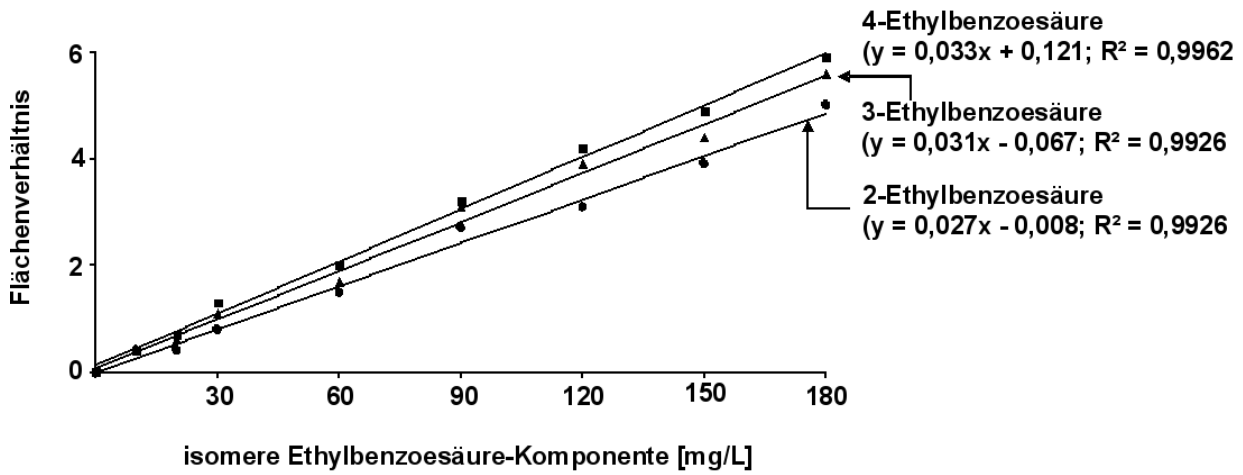
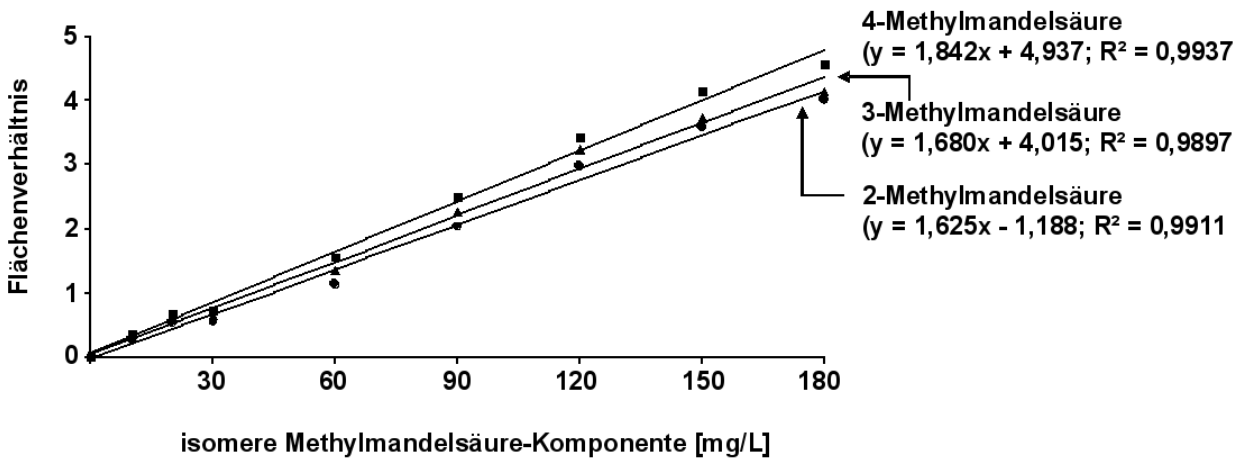


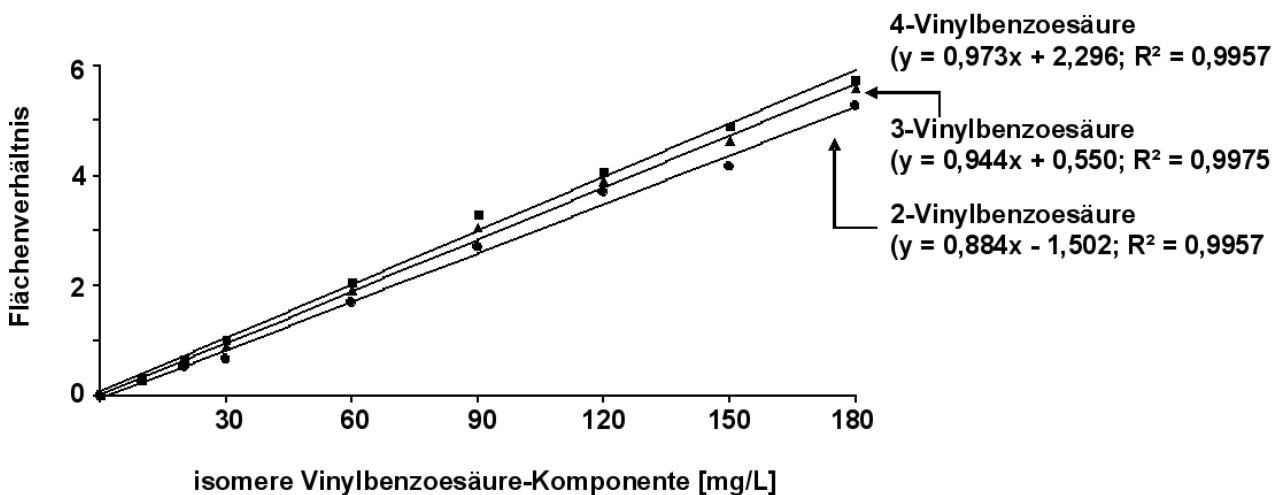
Abbildung 12: Kalibrierkurven der isomeren Acetylbenzoessäuren im Urin



**Abbildung 13:** Kalibrierkurven der isomeren Ethylbenzoesäuren im Urin



**Abbildung 14:** Kalibrierkurven der isomeren Methylmandelsäuren im Urin



**Abbildung 15:** Kalibrierkurven der isomeren Vinylbenzoesäuren im Urin

### 4.1.3 Präzision

In Tabelle 7 sind die Ergebnisse der Präzision in Serie und in Tabelle 8 von Tag zu Tag für die Bestimmungen von den isomeren Ethyltoluolen in Luft bzw. Blut dargestellt. Zur Präzisionsbestimmung in der Luft wurden solche Vergleichsstandards eingesetzt, deren Konzentrationen jeweils äußeren Ethyltoluol-Expositionen im Bereich des MAK-Wertes angepasst waren. Die Vergleichsstandards im Blut lagen im Konzentrationsbereich extremer Belastungen.

**Tabelle 7:** Präzision in der Serie für n = 10 Bestimmungen unterschiedlicher Konzentrationen der isomeren Ethyltoluole in Luft und Blut.

	Konzentration des Vergleichsstandards	Standardabweichung (rel.) [%]	Streubereich [%]
<i>Luft</i>	35 mg/m <sup>3</sup>		
4-Ethyltoluol		7,3	16,1
3-Ethyltoluol		8,1	17,4
2-Ethyltoluol		5,9	12,9
<i>Blut</i>	10 µg/L		
4-Ethyltoluol		3,4	6,8
3-Ethyltoluol		2,9	5,9
2-Ethyltoluol		4,8	9,7
<i>Blut</i>	200 µg/L		
4-Ethyltoluol		2,9	6,8
3-Ethyltoluol		3,8	7,9
2-Ethyltoluol		3,3	7,2

Für die Ermittlung der Präzision von Tag zu Tag wurden die gleichen Vergleichsstandards eingesetzt. Die Analysen wurden an 14 aufeinanderfolgenden Tagen durchgeführt. Der Tabelle 8 sind die resultierenden Daten zu entnehmen.

**Tabelle 8:** Präzision von Tag zu Tag für n = 10 Bestimmungen unterschiedlicher Konzentrationen der isomeren Ethyltoluole in Luft und Blut

	Konzentration des Vergleichsstandards	Standardabweichung (rel.) [%]	Streubereich [%]
<i>Luft</i>	35 mg/m <sup>3</sup>		
4-Ethyltoluol		9,3	19,1
3-Ethyltoluol		8,8	18,7
2-Ethyltoluol		6,8	14,1
<i>Blut</i>	10 µg/L		
4-Ethyltoluol		5,9	12,8
3-Ethyltoluol		4,8	10,1
2-Ethyltoluol		6,8	14,0
<i>Blut</i>	200 µg/L		
4-Ethyltoluol		4,5	10,5
3-Ethyltoluol		6,9	14,2
2-Ethyltoluol		5,3	11,7

Zur Bestimmung der Präzision in der Serie wie auch von Tag zu Tag wurde Poolurin mit Vergleichsstandards der Metabolite mit hohen und niedrigen Konzentrationen dotiert und analysiert. Tabelle 9 zeigt die sich ergebenden Standardabweichungen und Streubereiche.

**Tabelle 9:** Präzision in Serie für n = 7 Bestimmungen der Konzentrationen von 1 bzw. 100 mg des jeweiligen Vergleichsstandards der isomeren Ethyltoluol-Metabolite im Urin

Konzentration des Vergleichsstandards [mg/L]	Standardabweichung (rel.) [%]		Streubereich [%]	
	1	100	1	100
4-(1-Hydroxyethyl)-benzoesäure	3,3	2,9	7,9	7,0
4-Ethylhippursäure	3,8	2,7	9,1	6,5
4-Acetylbenzoesäure	6,6	2,9	15,8	7,0
4-Ethylbenzoesäure	7,9	2,5	19,0	6,0
4-Methylmandelsäure	5,9	2,7	14,1	6,5
4-Vinylbenzoesäure	3,4	1,8	8,1	4,3
3-(1-Hydroxyethyl)-benzoesäure	3,5	6,0	7,8	13,4
3-Ethylhippursäure	5,0	4,8	11,1	10,7
3-Acetylbenzoesäure	2,0	4,4	4,5	8,9
3-Ethylbenzoesäure	4,7	3,2	0,5	7,1
3-Methylmandelsäure	4,0	7,7	8,9	17,2
3-Vinylbenzoesäure	6,0	5,9	13,4	13,2
2-(1-Hydroxyethyl)-benzoesäure	8,0	4,5	19,1	10,1
2-Ethylhippursäure	5,3	5,0	13,6	11,8
2-Acetylbenzoesäure	8,8	4,1	22,6	9,5
2-Ethylbenzoesäure	3,6	2,7	9,3	6,1
2-Methylmandelsäure	6,6	5,4	17,0	11,9
2-Vinylbenzoesäure	4,4	4,6	11,3	10,3

**Tabelle 10:** Präzision von Tag zu Tag für n = 6 Bestimmungen der Konzentrationen von 1 bzw. 100 mg des jeweiligen Vergleichsstandards der isomeren Ethyltoluol-Metabolite im Urin

Konzentration des Vergleichsstandards  [mg/L]	Standardabweichung (rel.) [%]		Streubereich [%]	
	1	100	1	100
	4-(1-Hydroxyethyl)-benzoesäure	3,0	11,9	7,7
4-Ethylhippursäure	4,9	9,9	12,6	25,4
4-Acetylbenzoesäure	8,0	9,2	20,6	23,6
4-Ethylbenzoesäure	8,8	6,6	22,6	17,0
4-Methylmandelsäure	12,9	12,8	33,2	33,9
4-Vinylbenzoesäure	5,3	4,9	13,6	12,6
3-(1-Hydroxyethyl)-benzoesäure	4,5	6,5	11,6	16,7
3-Ethylhippursäure	6,1	5,3	15,6	13,6
3-Acetylbenzoesäure	3,0	5,3	7,7	13,6
3-Ethylbenzoesäure	5,9	4,8	15,2	12,3
3-Methylmandelsäure	6,3	8,4	16,2	21,6
3-Vinylbenzoesäure	7,3	6,9	18,8	17,7
2-(1-Hydroxyethyl)-benzoesäure	11,9	7,1	30,2	18,2
2-Ethylhippursäure	8,0	8,2	20,5	21,0
2-Acetylbenzoesäure	10,1	7,0	25,9	17,9
2-Ethylbenzoesäure	5,3	6,0	13,6	15,4
2-Methylmandelsäure	8,8	8,8	22,5	22,5
2-Vinylbenzoesäure	5,3	5,9	13,6	15,1

#### 4.1.4 Richtigkeit

Die Prüfung der Richtigkeit des Verfahrens infolge des Vergleichs aufarbeitungsbedingter Verluste von Luftproben und biologischem Material mit direkt analysierbaren, nicht der Probenaufarbeitung unterworfenen Vergleichsstandards ergaben die in Tabelle 11 aufgelisteten absoluten Wiederfindungsraten.

**Tabelle 11:** Absolute Wiederfindungsraten für n = 10 Bestimmungen unterschiedlicher Konzentrationen der isomeren Ethyltoluole in Luft und Blut sowie ihrer Metabolite im Urin

	Konzentration des Vergleichsstandards	abs. Wiederfindung [%]
<i>Luft</i>	35 mg/m <sup>3</sup>	
4-Ethyltoluol		97,5 – 102,6
3-Ethyltoluol		94,8 – 101,7
2-Ethyltoluol		96,7 – 100,9
<i>Blut</i>	10 µg/L	
4-Ethyltoluol		93,7 – 99,9
3-Ethyltoluol		96,1 – 100,8
2-Ethyltoluol		91,5 – 101,9
<i>Blut</i>	200 µg/L	
4-Ethyltoluol		98,5 – 105,8
3-Ethyltoluol		92,7 – 110,1
2-Ethyltoluol		96,6 – 106,3

Die Tabelle 12 zeigt die entsprechenden Wiederfindungsraten der Metabolite im Urin.

**Tabelle 12:** Absolute Wiederfindungsraten für n = 10 Bestimmungen der Metabolite der isomeren Ethyltoluole im Urin.

Konzentration des Vergleichsstandards [mg/L]	abs. Wiederfindung [%]	
	1	100
4-(1-Hydroxyethyl)-benzoesäure	86,8 – 107,8	89,9 – 110,2
4-Ethylhippursäure	89,9 – 100,9	92,7 – 108,2
4-Acetylbenzoesäure	92,7 – 110,5	98,1 – 110,5
4-Ethylbenzoesäure	89,6 – 108,4	87,6 – 112,0
4-Methylmandelsäure	93,1 – 111,1	91,0 – 100,9
4-Vinylbenzoesäure	91,2 – 102,7	95,5 – 105,5
3-(1-Hydroxyethyl)-benzoesäure	89,7 – 108,1	91,9 – 105,2
3-Ethylhippursäure	88,8 – 103,9	98,9 – 113,9
3-Acetylbenzoesäure	90,2 – 112,8	90,2 – 100,8
3-Ethylbenzoesäure	93,3 – 108,2	87,4 – 107,3
3-Methylmandelsäure	89,1 – 108,7	92,7 – 110,7
3-Vinylbenzoesäure	91,3 – 105,6	94,2 – 104,2
2-(1-Hydroxyethyl)-benzoesäure	83,2 – 110,6	91,8 – 109,6
2-Ethylhippursäure	87,3 – 108,6	83,2 – 116,9
2-Acetylbenzoesäure	91,1 – 114,2	88,8 – 107,9
2-Ethylbenzoesäure	92,8 – 106,8	91,8 – 105,9
2-Methylmandelsäure	83,5 – 107,9	82,5 – 113,9
2-Vinylbenzoesäure	90,1 – 106,2	92,7 – 107,7

#### 4.1.5 Nachweisgrenzen

Unter den angegebenen Bedingungen der Probenaufbereitung und der chromatographischen Bestimmung beträgt die analytische Nachweisgrenze für die isomeren Ethyltoluole in Luft 0,1 mg/m<sup>3</sup> und in Blut ca. 1 µg/L. Für die Metaboliten konnten Nachweisgrenzen von etwa 0,5 mg/L Urin ermittelt werden. Zur Ermittlung der Nachweisgrenze wurde ein dreifaches Signal/Rausch-Verhältnis zugrunde gelegt.

## 4.2 Ethyltoluol in der Kammerluft

### 4.2.1 Konzentration von Ethyltoluol in der Kammerluft

#### Kollektiv A:

Tabelle 13 zeigt die Kammerluftkonzentrationen von 2-, 3- und 4-Ethyltoluol nach 1-, 2- und 3-stündigen Expositionen gegenüber dem jeweiligen isomeren Ethyltoluol in Höhe des Luftgrenzwerts von 35 mg/m<sup>3</sup>.

**Tabelle 13:** Ethyltoluolkonzentrationen in der Expositions-kammer als Einzelwerte [mg/m<sup>3</sup>] nach 1-, 2- und 3-stündigen Expositionen gegenüber den isomeren Ethyltoluolen in Höhe des Luftgrenzwerts von 35 mg/m<sup>3</sup>

Zeit nach Expositionsbeginn [h]	Ethyltoluolkonzentration in der Expositions-kammer [mg/m <sup>3</sup> ]		
	2-Ethyltoluol	3-Ethyltoluol	4-Ethyltoluol
1	7,1	9,3	8,1
2	10,7	18,0	17,9
3	26,6	29,9	27,8

Anhand der Tabelle wird deutlich, dass die Ethyltoluolkonzentrationen aller Isomere stündlich ansteigen und nach 3-stündigen Expositionen bereits fast den Luftgrenzwert für Ethyltoluol von 35 mg/m<sup>3</sup> erreicht haben.

#### Kollektiv B:

Den Tabellen 14 - 16 können die Einzel- und Mittelwerte der isomeren Ethyltoluole in der Expositions-kammer entnommen werden, die nach 4 und 8 Stunden Exposition gegenüber dem jeweiligen Isomer in Höhe des Luftgrenzwerts von 35 mg/m<sup>3</sup> gemessen wurden.

**Tabelle 14:** 4-Ethyltoluolkonzentrationen in der Versuchskammer als Einzel- und Mittelwerte der gesamten Exposition [mg/m<sup>3</sup>] nach 4- und 8-stündigen Expositionen gegenüber 4-Ethyltoluol in Höhe des Luftgrenzwerts von 35 mg/m<sup>3</sup>

Proband Nr.	4-Ethyltoluolkonzentration in der Expositionskammer [mg/m <sup>3</sup> ]		
	nach 4 h	Expositionsende	Mittelwert
1	35,8	38,1	37,0
2	37,9	41,8	39,9
3	37,8	39,3	38,6
4	33,8	36,6	35,2
5	32,8	34,2	33,5
6	32,7	37,3	35,0
7	30,6	32,8	31,7
$\bar{x} \pm s$	34,5 ± 2,8	37,2 ± 3,0	35,8 ± 2,9

**Tabelle 15:** 3-Ethyltoluolkonzentrationen in der Versuchskammer als Einzel- und Mittelwerte der gesamten Exposition [mg/m<sup>3</sup>] nach 4- und 8-stündigen Expositionen gegenüber 3-Ethyltoluol in Höhe des Luftgrenzwerts von 35 mg/m<sup>3</sup>

Proband Nr.	3-Ethyltoluolkonzentration in der Expositionskammer [mg/m <sup>3</sup> ]		
	nach 4 h	Expositionsende	Mittelwert
8	34,3	36,9	35,6
9	33,5	34,8	34,2
10	30,7	34,1	32,4
11	30,9	32,7	31,8
12	32,0	32,9	32,5
13	28,4	29,6	29,0
14	27,6	45,8	36,7
$\bar{x} \pm s$	31,1 ± 2,5	35,3 ± 5,2	33,2 ± 2,6

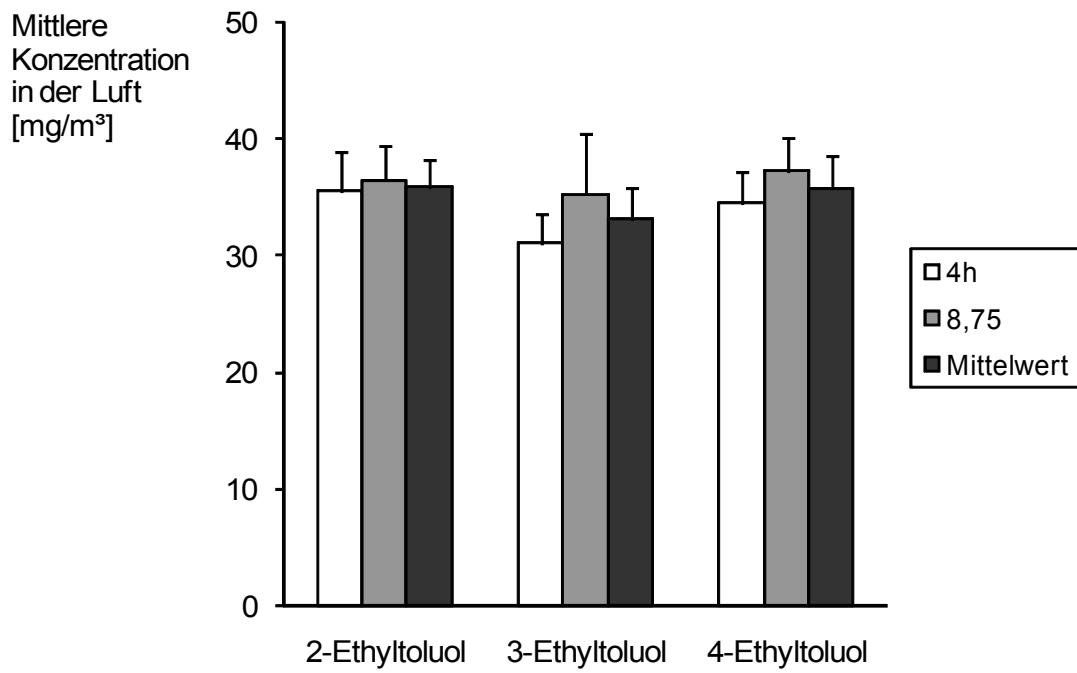
**Tabelle 16:** 2-Ethyltoluolkonzentrationen in der Expositions-kammer als Einzel- und Mittelwerte der gesamten Exposition [mg/m<sup>3</sup>] nach 4- und 8-stündigen Expositionen gegenüber 2-Ethyltoluol in Höhe des Luftgrenzwerts von 35 mg/m<sup>3</sup>

Proband Nr.	2-Ethyltoluolkonzentration in der Expositions-kammer [mg/m <sup>3</sup> ]		
	nach 4 h	Expositionsende	Mittelwert
15	39,5	39,4	39,5
16	37,2	37,8	37,5
17	37,2	32,2	34,7
18	31,7	34,8	33,3
19	30,6	38,1	34,4
20	*	*	*
21	36,5	*	*
$\bar{x} \pm s$	35,5 ± 3,5	36,5 ± 2,9	35,9 ± 2,3

\* es lag keine auswertbare Probe vor

Die Werte der Tabellen 14 - 16 zeigen, dass der für Ethyltoluol errechnete Luftgrenzwert von 35 mg/m<sup>3</sup> für alle isomeren Ethyltoluole als 8-stündige Durchschnittskonzentration in der Kammerluft eingehalten wurde.

Die Abbildung 16 fasst die Durchschnittskonzentrationen der isomeren Ethyltoluole in der Kammerluft nach 4 und 8 Stunden und den über den gesamten Zeitraum resultierenden Mittelwert zusammen.



**Abbildung 16:** Mittlere Luftkonzentration der isomeren Ethyltoluole sowie der jeweils resultierende Mittelwert nach 4 Stunden und am Expositionsende

## 4.3 Ethyltoluol im Blut

### 4.3.1 Einstellung des steady state

#### Kollektiv A:

In Tabelle 17 sind die Ethyltoluol-Konzentrationen einzelner Probanden im Blut aufgelistet, die nach 1-, 2- und 3-stündigen Expositionen gegenüber Luftkonzentrationen von 35 mg/m<sup>3</sup> des jeweiligen isomeren Ethyltoluols gemessen wurden.

**Tabelle 17:** Ethyltoluol-Konzentrationen einzelner Probanden im Blut [µg/l] nach 1-, 2- und 3-stündigen Expositionen gegenüber den isomeren Ethyltoluolen in Höhe ihres Luftgrenzwerts von 35 mg/m<sup>3</sup>

Zeit nach Expositionsbeginn [h]	Ethyltoluol-Konzentration im Blut [µg/l]		
	2-Ethyltoluol Proband 1	3-Ethyltoluol Proband 2	4-Ethyltoluol Proband 3
1	74,0	*	98,7
2	89,2	107,1	112,7
3	133,0	134,1	153,6

Es ist ersichtlich, dass bereits nach einer einstündigen Exposition für alle Isomere deutlich messbare Ethyltoluol-Konzentrationen im Blut nachgewiesen werden können.

#### Kollektiv B:

Die Tabellen 18 - 20 zeigen die nach 4- und 8-stündigen Expositionen gemessenen Einzel- und Mittelwerte der isomeren Ethyltoluol-Konzentrationen im Blut [µg/l].

**Tabelle 18:** 4-Ethyltoluol-Konzentrationen im Blut [ $\mu\text{g/l}$ ] als Einzel- und Mittelwerte nach 4- und 8-stündigen Expositionen gegenüber 4-Ethyltoluol in Höhe des Luftgrenzwerts von 35  $\text{mg/m}^3$

Proband Nr.	4-Ethyltoluol-Konzentration im Blut [ $\mu\text{g/l}$ ]	
	Zeit nach Expositionsbeginn [h]	
	4	8,75
1	111,2	75,8
2	130,9	106,3
3	128,7	110,2
4	76,2	81,0
5	73,4	114,5
6	120,4	138,8
7	96,8	100,7
$\bar{x} \pm s$	$105,4 \pm 23,8$	$103,9 \pm 21,2$

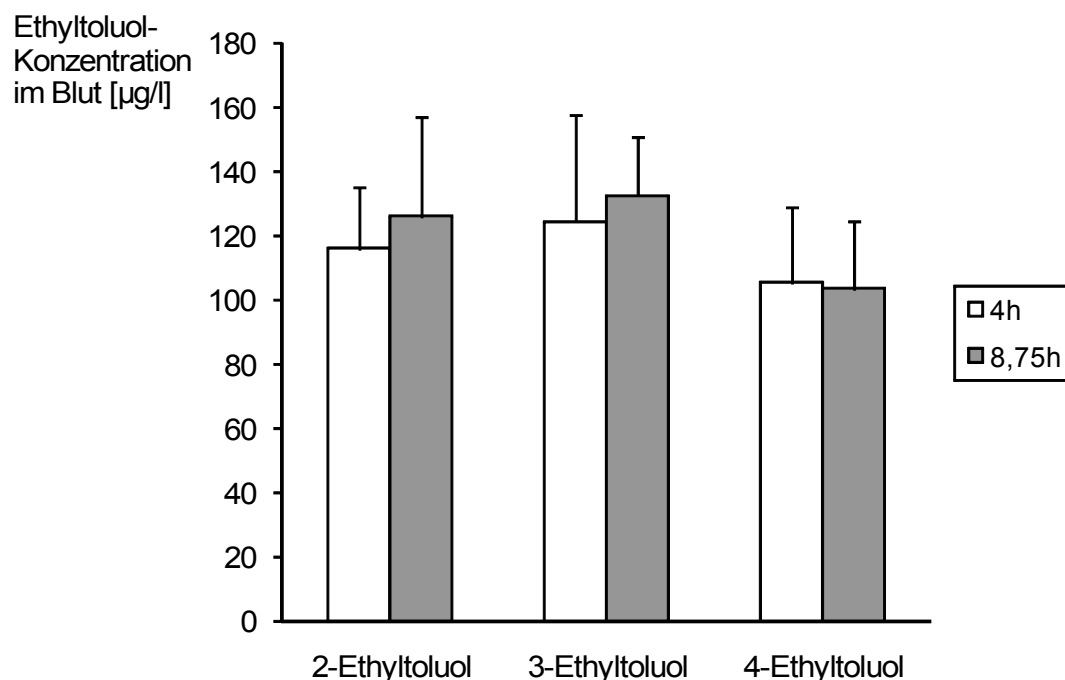
**Tabelle 19:** 3-Ethyltoluol-Konzentrationen im Blut [ $\mu\text{g/l}$ ] als Einzel- und Mittelwerte nach 4- und 8-stündigen Expositionen gegenüber 3-Ethyltoluol in Höhe des Luftgrenzwerts von 35  $\text{mg/m}^3$

Proband Nr.	3-Ethyltoluol-Konzentration im Blut [ $\mu\text{g/l}$ ]	
	Zeit nach Expositionsbeginn [h]	
	4	8,75
8	129,1	130,3
9	93,6	105,7
10	156,5	151,3
11	165,0	128,6
12	129,7	134,7
13	69,4	118,6
14	128,8	160,0
$\bar{x} \pm s$	$124,6 \pm 33,5$	$132,7 \pm 18,5$

**Tabelle 20:** 2-Ethyltoluol-Konzentrationen [ $\mu\text{g/l}$ ] im Blut als Einzel- und Mittelwerte nach 4- und 8-stündigen Expositionen gegenüber 2-Ethyltoluol in Höhe des Luftgrenzwerts von  $35 \text{ mg/m}^3$

Proband Nr.	2-Ethyltoluolkonzentration im Blut [ $\mu\text{g/l}$ ]	
	Zeit nach Expositionsbeginn [h]	
	4	8,75
15	115,4	99,1
16	110,6	98,8
17	96,2	97,3
18	112,5	124,5
19	103,2	126,2
20	156,8	166,7
21	117,4	169,1
$\bar{x} \pm s$	$116,0 \pm 19,4$	$126,0 \pm 31,1$

In Abbildung 17 ist die durchschnittliche Konzentration der isomeren Ethyltoluole im Blut nach 4 Stunden Exposition und am Expositionsende dargestellt.



**Abbildung 17:** Mittlere Konzentrationen der isomeren Ethyltoluole im Blut [ $\mu\text{g/l}$ ] nach 4- und 8-stündiger Exposition gegenüber den isomeren Ethyltoluolen in Höhe ihres Luftgrenzwerts von  $35 \text{ mg/m}^3$

### 4.3.2 Eliminationskinetik der isomeren Ethyltoluole

Zur Darstellung der Elimination und Berechnung der biologischen Halbwertszeiten der isomeren Ethyltoluole im Blut wurden die Blutkonzentrationen des jeweiligen Isomers, die in 20-minütlichen Intervallen während insgesamt einer Stunde nach Expositionsende gewonnen worden waren, gegen die Zeit aufgetragen.

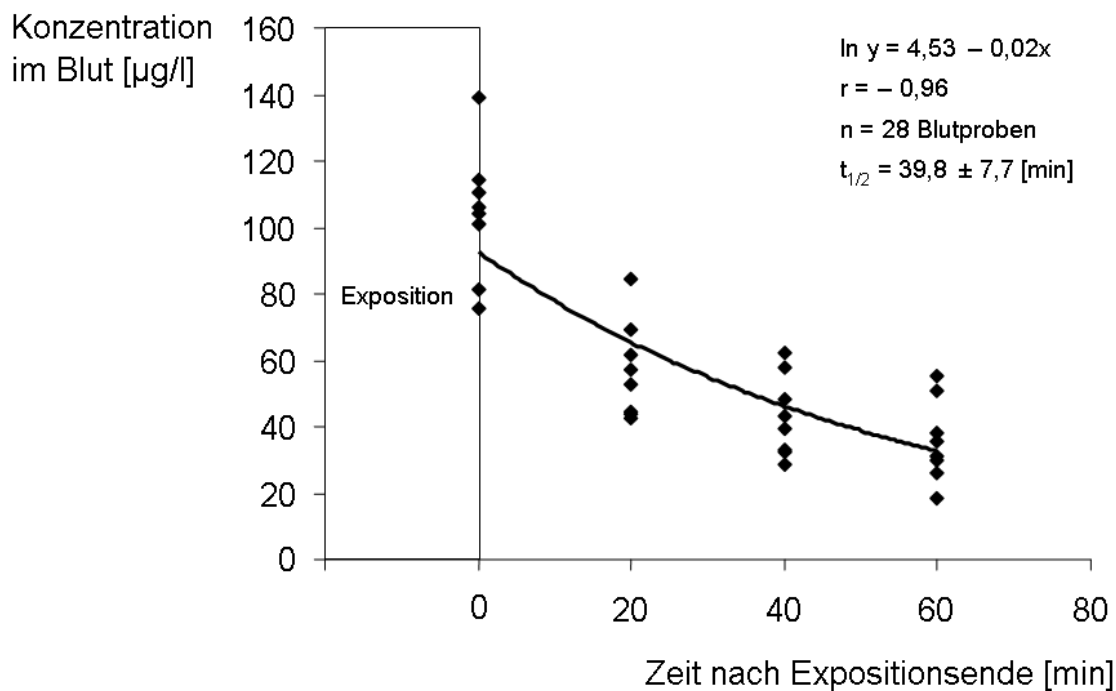
#### 4.3.2.1 4-Ethyltoluol

Tabelle 21 zeigt die Einzel- und Mittelwerte des isomeren 4-Ethyltoluols im Blut [ $\mu\text{g/l}$ ], die über ein Zeitintervall von 1 Stunde unmittelbar nach Expositionsende gemessen wurden.

**Tabelle 21:** Konzentrationen von 4-Ethyltoluol im Blut [ $\mu\text{g/l}$ ] als Einzel- und Mittelwerte nach Expositionen in Höhe des Luftgrenzwerts über ein Zeitintervall von 60 Minuten nach Expositionsende

Proband Nr.	Expositionsende	4-Ethyltoluolkonzentration [ $\mu\text{g/l}$ ]		
		Zeit nach Expositionsende [min]		
		20	40	60
1	75,8	42,5	28,4	18,6
2	106,3	69,5	57,9	50,6
3	110,2	84,7	62,0	55,3
4	81,0	43,8	32,6	26,0
5	114,5	44,4	33,0	30,0
6	138,8	61,7	48,2	37,9
7	100,7	52,6	39,6	31,3
$\bar{x} \pm s$	$103,9 \pm 21,2$	$57,0 \pm 15,9$	$43,1 \pm 13,2$	$35,7 \pm 13,3$

Die exponentiell verlaufende Eliminationskurve der mittleren 4-Ethyltoluolkonzentrationen im Blut ist in der Abbildung 18 dargestellt.



**Abbildung 18:** Eliminationskurve der mittleren 4-Ethyltoluol-Konzentrationen im Blut [ $\mu\text{g/l}$ ] von  $n = 7$  Probanden nach standardisierten Expositionen gegenüber  $35 \text{ mg 4-Ethyltoluol/m}^3$  Luft

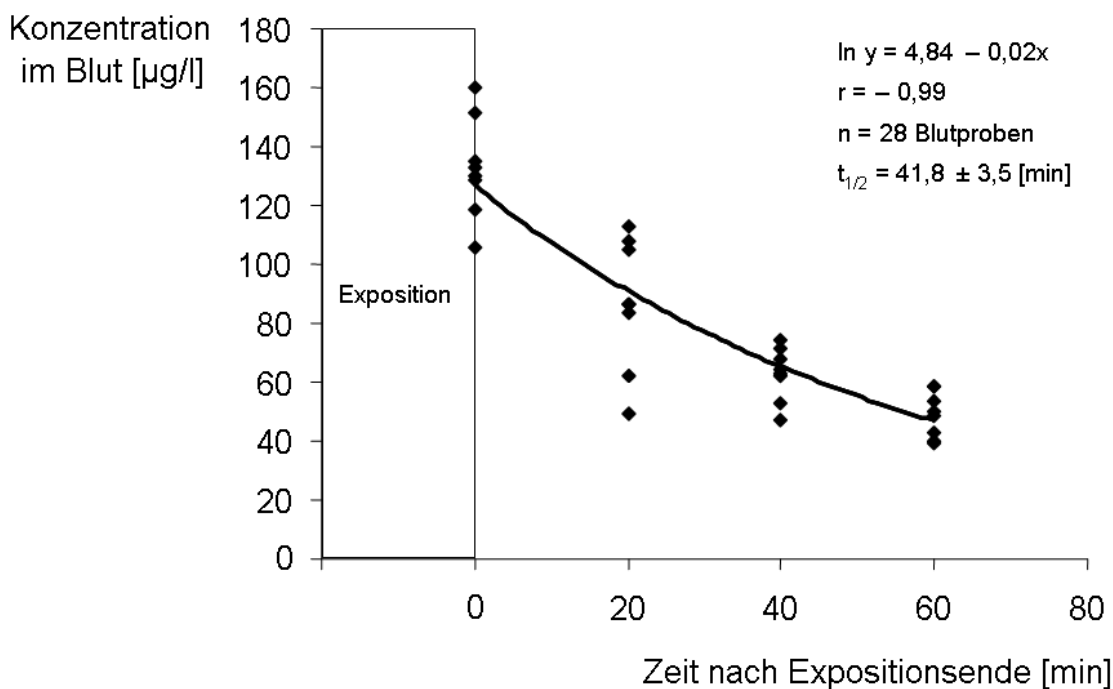
#### 4.3.2.2 3-Ethyltoluol

Tabelle 22 können die Einzel- und Mittelwerte von 3-Ethyltoluol im Blut [ $\mu\text{g/l}$ ] entnommen werden, die über einen Zeitraum von 1 Stunde unmittelbar nach Expositionsende gemessen wurden.

**Tabelle 22:** Konzentrationen von 3-Ethyltoluol im Blut [ $\mu\text{g/l}$ ] als Einzel- und Mittelwerte nach Expositionen in Höhe des Luftgrenzwerts über ein Zeitintervall von 60 Minuten nach Expositionsende

Proband Nr.	3-Ethyltoluolkonzentration [ $\mu\text{g/l}$ ]			
	Expositionsende	Zeit nach Expositionsende [min]		
		20	40	60
8	130,3	83,7	62,1	42,8
9	105,7	61,8	52,7	39,1
10	151,3	86,3	64,0	53,6
11	128,6	108,0	67,9	50,2
12	134,7	105,0	71,3	58,3
13	118,6	49,3	47,1	39,9
14	160,0	112,9	74,1	58,3
$\bar{x} \pm s$	$132,7 \pm 18,5$	$86,7 \pm 24,2$	$62,7 \pm 9,8$	$48,9 \pm 8,3$

Die exponentiell verlaufende Eliminationskurve der mittleren 3-Ethyltoluol-Konzentrationen im Blut zeigt die Abbildung 19.



**Abbildung 19:** Eliminationskurve der mittleren 3-Ethyltoluol-Konzentrationen im Blut [ $\mu\text{g/l}$ ] von  $n = 7$  Probanden nach standardisierten Expositionen gegenüber  $35 \text{ mg } 3\text{-Ethyltoluol/m}^3$  Luft

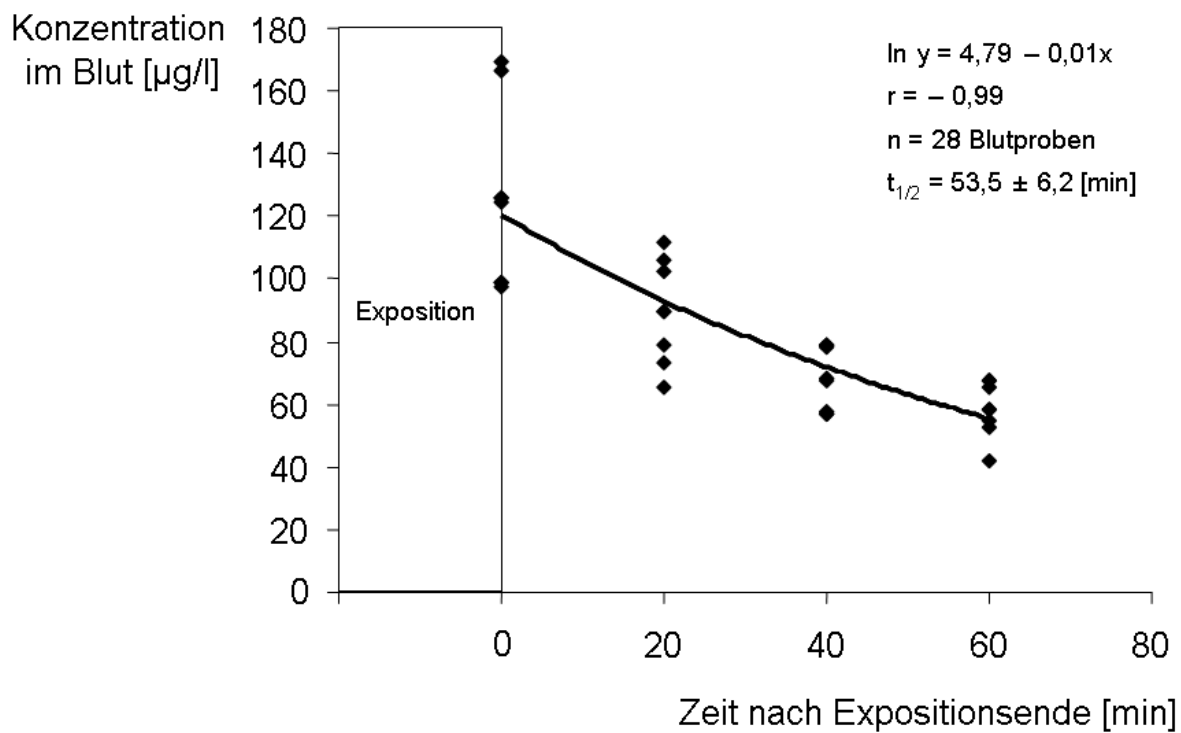
### 4.3.2.3 2-Ethyltoluol

Tabelle 23 können die Einzel- und Mittelwerte von 2-Ethyltoluol im Blut [ $\mu\text{g/l}$ ] entnommen werden, die über einen Zeitraum von 1 Stunde unmittelbar nach Expositionsende gemessen wurden.

**Tabelle 23:** Konzentrationen von 2-Ethyltoluol im Blut [ $\mu\text{g/l}$ ] als Einzel- und Mittelwerte nach Expositionen in Höhe des Luftgrenzwerts über ein Zeitintervall von 60 Minuten nach Expositionsende

Proband Nr.	2-Ethyltoluolkonzentration [ $\mu\text{g/l}$ ]			
	Expositionsende	Zeit nach Expositionsende [min]		
		20	40	60
15	99,1	78,9	68,5	58,5
16	98,8	90,0	56,6	54,6
17	97,3	65,4	56,6	52,4
18	124,5	73,1	57,7	41,8
19	126,2	111,9	78,7	65,8
20	166,7	105,7	79,3	67,7
21	169,1	102,3	78,2	67,4
$\bar{x} \pm s$	$126,0 \pm 31,1$	$89,6 \pm 17,7$	$67,9 \pm 10,9$	$58,3 \pm 9,6$

Die exponentiell verlaufende Eliminationskurve der mittleren 2-Ethyltoluol-Konzentrationen im Blut wird in Abbildung 20 gezeigt.



**Abbildung 20:** Eliminationskurve der mittleren 2-Ethyltoluol-Konzentrationen im Blut [µg/l] von n = 7 Probanden nach standardisierten Expositionen gegenüber 35 mg 2-Ethyltoluol/m<sup>3</sup> Luft

## 4.4 Ethyltoluolmetabolite im Urin

Abbildung 2 zeigt denkbar renal ausscheidbare Metabolite nach Inkorporation von Ethyltoluol. Den Tabellen 24, 34 und 42 kann entnommen werden, welche der angenommenen Metabolite bei Expositionen gegenüber dem jeweiligen isomeren Ethyltoluol im Urin nachgewiesen werden konnten.

### 4.4.1 4-Ethyltoluolmetabolite im Urin

**Tabelle 24:** Nachgewiesene bzw. in sehr geringen Konzentrationen nachgewiesene 4-Ethyltoluol-Metabolite im Urin bei Expositionen gegenüber 4-Ethyltoluol in Höhe des Luftgrenzwerts von 35 mg/m<sup>3</sup>

	4-Ethyltoluol-Metabolite	
	nachgewiesen	in sehr geringen Konzentrationen nachgewiesen
4-(1-Hydroxyethyl)-benzoesäure	×	
4-Vinylbenzoesäure	×	
4-Ethylhippursäure	×	
4-Acetylbenzoesäure	×	
4-Ethylbenzoesäure	×	
4-Methylmandelsäure	×	
4-Tolylessigsäure		×
4-Hydroxymethylphenyl-essigsäure		×

#### 4.4.1.1 Konzentration der 4-Ethyltoluolmetabolite bezogen auf das Urinvolumen (mg/l Urin)

In den Urinproben vor Expositionsbeginn wurde keiner der in Tabelle 24 aufgeführten 4-Ethyltoluolmetabolite nachgewiesen.

##### Kollektiv A:

In Tabelle 25 sind die Einzelwerte der 4-Ethyltoluolmetabolite zusammengefasst, die innerhalb der ersten 3 Expositionsstunden im Urin gemessen wurden. Es ist ersichtlich, dass bereits in diesem Zeitintervall eine deutlich messbare renale Ausscheidung der nachgewiesenen 4-Ethyltoluolmetabolite im Urin erfolgt.

**Tabelle 25:** 4-Ethyltoluolmetabolite im Urin als Einzelwerte [mg/l] von jeweils einer Versuchsperson nach 1-, 2- und 3-stündigen Expositionen gegenüber 4-Ethyltoluol in Höhe von 35 mg/m<sup>3</sup>

Metabolit	4-Ethyltoluolmetabolite [mg/l Urin]		
	Zeit nach Expositionsbeginn [h]		
	1	2	3
4-(1-Hydroxyethyl)-benzoesäure	2,4	9,9	12,6
4-Vinylbenzoesäure	0,5	1,2	11,2
4-Ethylhippursäure	0,4	5,2	17,3
4-Acetylbenzoesäure	1,8	4,2	14,1
4-Ethylbenzoesäure	1,9	2,7	8,4
4-Methylmandelsäure	*	0,2	0,5

##### Kollektiv B:

In Tabelle 26 sind die mittleren Konzentrationen der 4-Ethyltoluolmetabolite dargestellt, die nach 4- und 8-stündigen Expositionen gegenüber 35 mg/m<sup>3</sup> 4-Ethyltoluol gemessen wurden.

**Tabelle 26:** Mittlere Konzentration der 4-Ethyltoluolmetabolite im Urin [mg/l] nach 4- und 8-stündigen Expositionen gegenüber 4-Ethyltoluol in Höhe des Luftgrenzwerts von 35 mg/m<sup>3</sup>

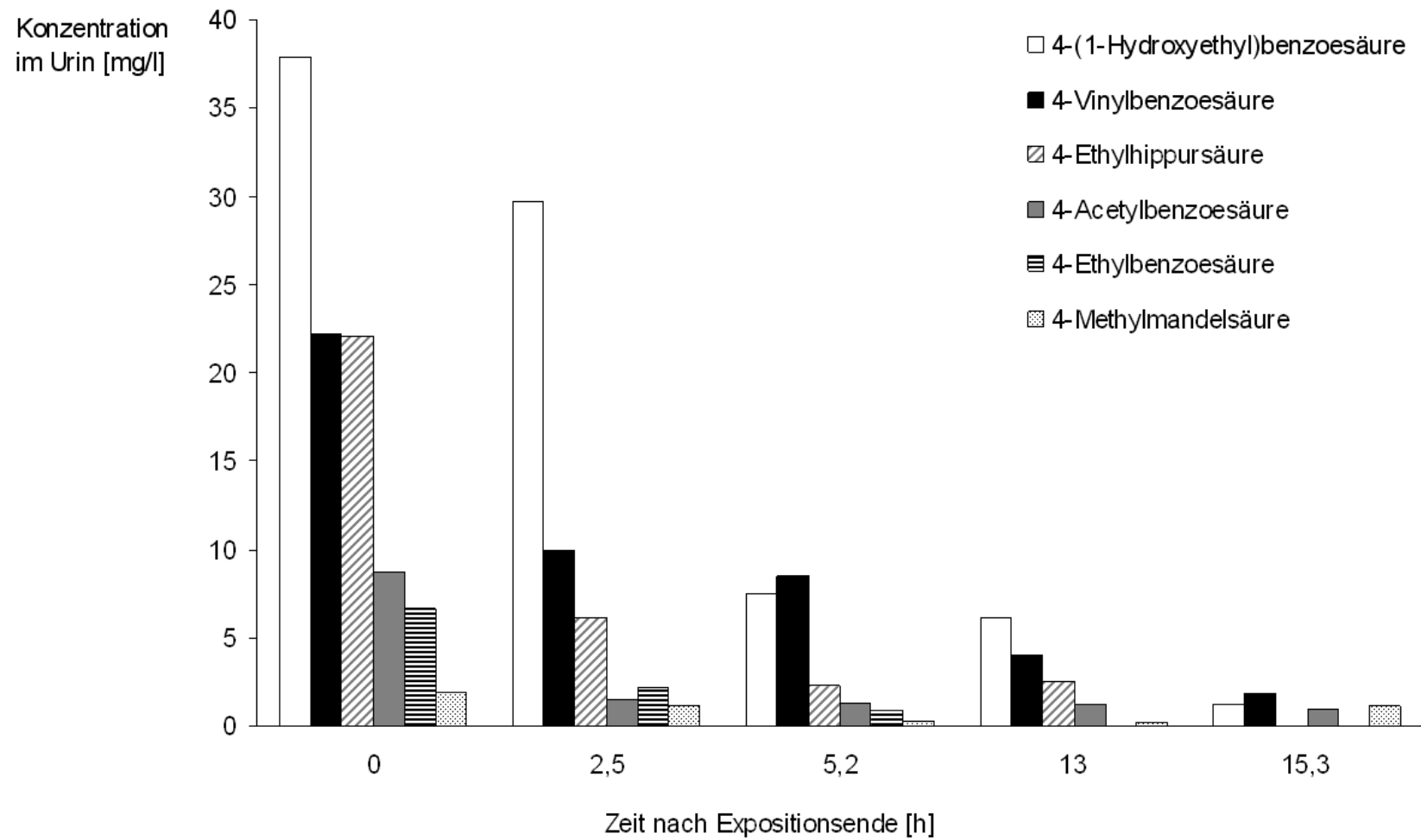
Metabolit	4-Ethyltoluolmetabolite [mg/l Urin]	
	Zeit nach Expositionsbeginn [h]	
	4	8,75
4-(1-Hydroxyethyl)-benzoesäure	45,0 ± 25,7	108,5 ± 45,3
4-Vinylbenzoesäure	24,3 ± 16,1	65,9 ± 38,3
4-Ethylhippursäure	28,1 ± 17,7	50,2 ± 16,5
4-Acetylbenzoesäure	17,8 ± 10,8	41,0 ± 18,7
4-Ethylbenzoesäure	4,8 ± 2,3	9,5 ± 2,6
4-Methylmandelsäure	0,5 ± 0,2	1,5 ± 0,5

Der Tabelle 27 sind die Einzelwerte der 4-Ethyltoluolmetabolite von Proband 6 zu entnehmen, die über ein Zeitintervall von 15,3 Stunden nach Expositionsende im Urin gemessen wurden. Mittlere Konzentrationen der 4-Ethyltoluolmetabolite, die in diesem Zeitraum ausgeschieden wurden, konnten nicht ermittelt werden, da von den anderen gegenüber 4-Ethyltoluol exponierten Probanden für diesen Zeitraum keine genauen Zeitangaben für die einzelnen Urinproben vorlagen.

**Tabelle 27:** Konzentration der 4-Ethyltoluolmetabolite im Urin als Einzelwerte [mg/l] nach Expositionen in Höhe des Luftgrenzwerts von 35 mg/m<sup>3</sup> 4-Ethyltoluol über ein Zeitintervall von 15,3 Stunden nach Expositionsende

Metabolit	4-Ethyltoluolmetabolite [mg/l Urin]				
	Zeit nach Expositionsende [h]				
	0	2,5	5,2	13,0	15,3
4-(1-Hydroxyethyl)-benzoesäure	37,9	29,7	7,5	6,1	1,2
4-Vinylbenzoesäure	22,2	10,0	8,5	4,0	1,8
4-Ethylhippursäure	22,1	6,1	2,3	2,5	*
4-Acetylbenzoesäure	8,7	1,5	1,3	1,2	1,0
4-Ethylbenzoesäure	6,6	2,2	0,9	*	*
4-Methylmandelsäure	1,9	1,1	0,3	0,2	1,1

Abbildung 21 zeigt die Einzelkonzentrationen der 4-Ethyltoluolmetabolite, die über ein Zeitintervall von 15,3 Stunden nach Expositionsende nach Exposition gegenüber 35 mg 4-Ethyltoluol/m<sup>3</sup> Luft im Urin gemessen wurden.



**Abbildung 21:** Einzelkonzentrationen der 4-Ethyltoluolmetabolite im Urin [mg/l] über ein Zeitintervall von 15,3 Stunden nach Expositionsende nach Expositionen gegenüber 35 mg 4-Ethyltoluol/m<sup>3</sup> Luft

Tabelle 28 vergleicht die durchschnittlichen Konzentrationen der 4-Ethyltoluolmetabolite am Expositionsende und 15,3 Stunden danach.

**Tabelle 28:** Mittlere Konzentrationen der 4-Ethyltoluolmetabolite im Urin [mg/l] für n = 7 Probanden nach Expositionen gegenüber 4-Ethyltoluol in Höhe des Luftgrenzwerts von 35 mg/m<sup>3</sup> am Expositionsende und 15,3 Stunden danach

Metabolit	4-Ethyltoluolmetabolite [mg/l Urin] Zeit nach Expositionsende [h]	
	0	15,3
4-(1-Hydroxyethyl)-benzoesäure	108,5 ± 45,3	6,6 ± 5,0
4-Vinylbenzoesäure	65,9 ± 38,3	4,3 ± 2,4
4-Ethylhippursäure	50,2 ± 16,5	3,0 ± 2,5
4-Acetylbenzoesäure	41,0 ± 18,7	1,9 ± 0,9
4-Ethylbenzoesäure	9,5 ± 2,6	1,7 ± 1,2
4-Methylmandelsäure	1,5 ± 0,5	0,7 ± 0,5

#### 4.4.1.2 Konzentration der 4-Ethyltoluolmetabolite bezogen auf den Kreatiningehalt (mg/g Kreatinin)

Die auf mg/g Kreatinin bezogenen Ergebnisse der 4-Ethyltoluolmetabolite im Urin sind den Tabellen 29 - 32 zu entnehmen.

##### Kollektiv A:

**Tabelle 29:** 4-Ethyltoluolmetabolite im Urin als Einzelwerte [mg/g Kreatinin] von jeweils einer Versuchsperson nach 1-, 2- und 3-stündigen Expositionen gegenüber 4-Ethyltoluol in Höhe von 35 mg/m<sup>3</sup>

Metabolit	4-Ethyltoluolmetabolite [mg/g Kreatinin]		
	Zeit nach Expositionsbeginn [h]		
	1	2	3
4-(1-Hydroxyethyl)-benzoesäure	8,6	42,5	38,8
4-Vinylbenzoesäure	1,8	5,2	34,5
4-Ethylhippursäure	1,5	22,3	53,2
4-Acetylbenzoesäure	6,6	18,0	43,4
4-Ethylbenzoesäure	7,0	11,6	25,8
4-Methylmandelsäure	*	0,9	1,5

Kollektiv B:

**Tabelle 30:** Mittlere Konzentration der 4-Ethyltoluolmetabolite im Urin [mg/g Kreatinin] nach 4- und 8-stündigen Expositionen gegenüber 4-Ethyltoluol in Höhe des Luftgrenzwerts von 35 mg/m<sup>3</sup>

Metabolit	4-Ethyltoluolmetabolite [mg/g Kreatinin]	
	Zeit nach Expositionsbeginn [h]	
	4	8,75
4-(1-Hydroxyethyl)-benzoesäure	38,9 ± 18,8	76,9 ± 13,2
4-Vinylbenzoesäure	20,2 ± 11,5	44,5 ± 14,8
4-Ethylhippursäure	22,6 ± 7,3	38,5 ± 13,0
4-Acetylbenzoesäure	17,4 ± 13,6	29,6 ± 13,5
4-Ethylbenzoesäure	4,4 ± 2,2	7,6 ± 3,2
4-Methylmandelsäure	0,5 ± 0,3	1,4 ± 1,2

**Tabelle 31:** Konzentration der 4-Ethyltoluolmetabolite im Urin als Einzelwerte [mg/g Kreatinin] von jeweils einer Versuchsperson nach Expositionen in Höhe des Luftgrenzwerts von 35 mg/m<sup>3</sup> 4-Ethyltoluol über ein Zeitintervall von 15,3 Stunden nach Expositionsende

Metabolit	4-Ethyltoluolmetabolite [mg/g Kreatinin]				
	Zeit nach Expositionsende [h]				
	0	2,5	5,2	13,0	15,3
4-(1-Hydroxyethyl)-benzoesäure	79,8	114,2	12,8	11,2	18,8
4-Vinylbenzoesäure	46,7	38,5	14,5	7,4	28,1
4-Ethylhippursäure	46,5	23,5	3,9	4,6	*
4-Acetylbenzoesäure	18,3	5,8	2,2	2,2	15,6
4-Ethylbenzoesäure	13,9	8,5	1,5	*	*
4-Methylmandelsäure	4,0	4,2	0,5	0,4	0,1

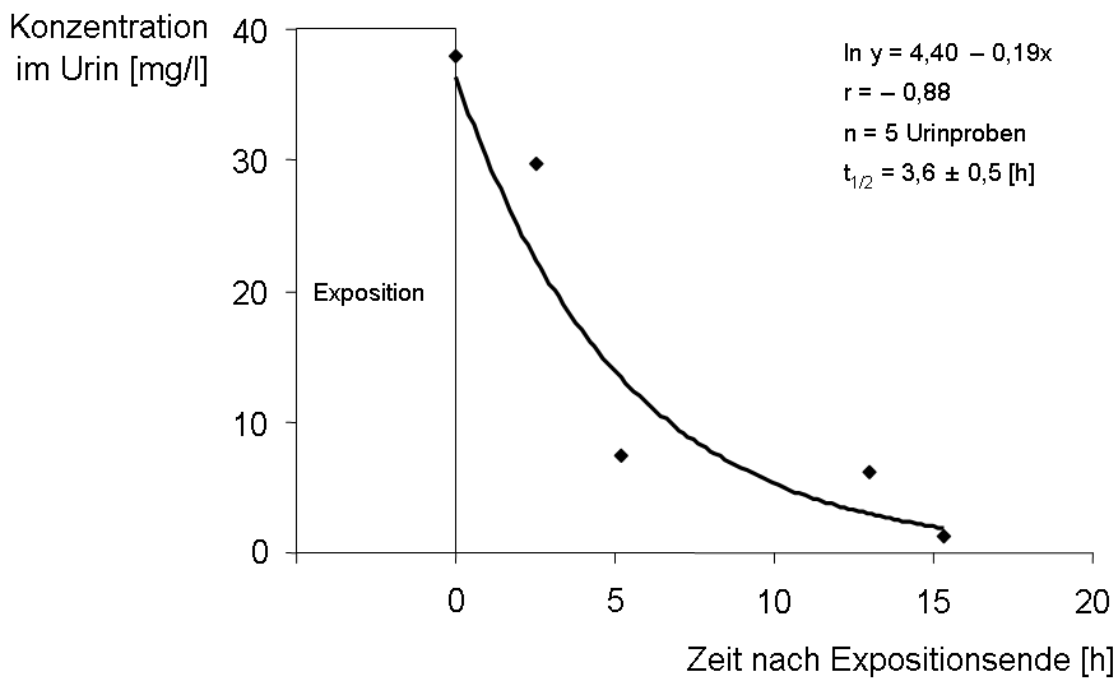
**Tabelle 32:** Konzentration der 4-Ethyltoluolmetabolite im Urin als Mittelwerte [mg/g Kreatinin] für n = 7 Probanden nach Expositionen gegenüber 4-Ethyltoluol in Höhe des Luftgrenzwerts von 35 mg/m<sup>3</sup> am Expositionsende und 15,3 Stunden danach

Metabolit	4-Ethyltoluolmetabolite [mg/g Kreatinin]	
	Zeit nach Expositionsende [h]	
	0	15,3
4-(1-Hydroxyethyl)-benzoesäure	76,9 ± 13,2	6,9 ± 5,4
4-Vinylbenzoesäure	44,5 ± 14,8	7,1 ± 9,4
4-Ethylhippursäure	38,5 ± 13,0	2,0 ± 1,2
4-Acetylbenzoesäure	29,6 ± 13,5	3,6 ± 5,3
4-Ethylbenzoesäure	7,6 ± 3,2	1,2 ± 0,7
4-Methylmandelsäure	1,4 ± 1,2	2,8 ± 6,4

#### 4.4.1.3 Elimination und Halbwertszeit der 4-Ethyltoluolmetabolite

Abbildung 22 zeigt beispielhaft die Abklingkurve der 4-(1-Hydroxyethyl)-benzoesäure-Ausscheidung im Urin [mg/l].

Die exponentiell verlaufenden Eliminationskurven der übrigen 4-Ethyltoluolmetabolite sind im Anhang dargestellt.



**Abbildung 22:** Eliminationskurve der 4-(1-Hydroxyethyl)-benzoesäure im Urin [mg/l Urin] eines Probanden nach Expositionsende nach Expositionen gegenüber 35 mg 4-Ethyltoluol/m<sup>3</sup> Luft

Tabelle 33 fasst die Korrelationskoeffizienten  $r$  der Regressionsgeraden und die Halbwertszeiten der 4-Ethyltoluolmetabolite mit der höchsten Konzentration zusammen.

**Tabelle 33:** Korrelationskoeffizienten  $r$  der Regressionsgeraden und Halbwertszeiten der relevanten 4-Ethyltoluolmetabolite

Metabolit	4- Ethyltoluol-Exposition	
	Korrelationskoeffizient $r$	Halbwertszeit $t_{1/2}$ [h]
4-(1-Hydroxyethyl)-benzoesäure	-0,88	3,63 ± 0,50
4-Vinylbenzoesäure	-0,89	4,11 ± 0,55
4-Ethylhippursäure	-0,85	3,53 ± 0,59
4-Acetylbenzoesäure	-0,81	3,84 ± 0,72

#### 4.4.2 3-Ethyltoluolmetabolite im Urin

Der Tabelle 34 können die Metabolite entnommen werden, die nach Expositionen gegenüber 35 mg/m<sup>3</sup> 3-Ethyltoluol im Urin nachgewiesen wurden.

**Tabelle 34:** Nachgewiesene 3-Ethyltoluol-Metabolite im Urin bei Expositionen gegenüber 3-Ethyltoluol in Höhe des Luftgrenzwerts von 35mg/m<sup>3</sup>

	3-Ethyltoluol-Metabolite	
	nachgewiesen	in sehr geringen Konzentrationen nachgewiesen
3-(1-Hydroxyethyl)-benzoesäure	×	
3-Vinylbenzoesäure	×	
3-Ethylhippursäure	×	
3-Acetylbenzoesäure	×	
3-Ethylbenzoesäure	×	
3-Methylmandelsäure	×	

Nach Expositionen gegenüber 3-Ethyltoluol ließen sich die Tolylessigsäure und Hydroxymethylphenylessigsäure nicht nachweisen, die nach Belastungen gegenüber 4-Ethyltoluol im Urin gemessen werden konnten.

##### 4.4.2.1 Konzentration der 3-Ethyltoluolmetabolite bezogen auf das Urinvolumen (mg/l Urin)

In den Urinproben, die vor Expositionsbeginn als Bezugswerte von den gegenüber 3-Ethyltoluol exponierten Probanden gewonnen wurden, wurde kein 3-Ethyltoluolmetabolit nachgewiesen.

Kollektiv A:

Die in Tabelle 35 aufgeführten Einzelwerte der 3-Ethyltoluolmetabolite im Urin zeigen erwartungsgemäß ebenfalls innerhalb der ersten drei Stunden Exposition gegenüber 3-Ethyltoluol eine deutlich messbare Ausscheidung der nachgewiesenen 3-Ethyltoluolmetabolite.

**Tabelle 35:** 3-Ethyltoluolmetabolite im Urin als Einzelwerte [mg/l] von jeweils einer Versuchsperson nach 1-, 2- und 3-stündigen Expositionen gegenüber 3-Ethyltoluol in Höhe von 35 mg/m<sup>3</sup>

Metabolit	3-Ethyltoluolmetabolite [mg/l Urin]		
	Zeit nach Expositionsbeginn [h]		
	1	2	3
3-(1-Hydroxyethyl)-benzoesäure	3,2	9,8	14,1
3-Vinylbenzoesäure	1,9	6,7	17,9
3-Ethylhippursäure	1,9	7,5	16,6
3-Acetylbenzoesäure	1,7	2,1	8,7
3-Ethylbenzoesäure	*	1,0	3,0
3-Methylmandelsäure	*	0,3	0,5

Kollektiv B:

Tabelle 36 fasst die mittleren Konzentrationen der 3-Ethyltoluolmetabolite zusammen, die nach 4- und 8-stündigen Expositionen gegenüber 35 mg/m<sup>3</sup> 3-Ethyltoluol gemessen wurden.

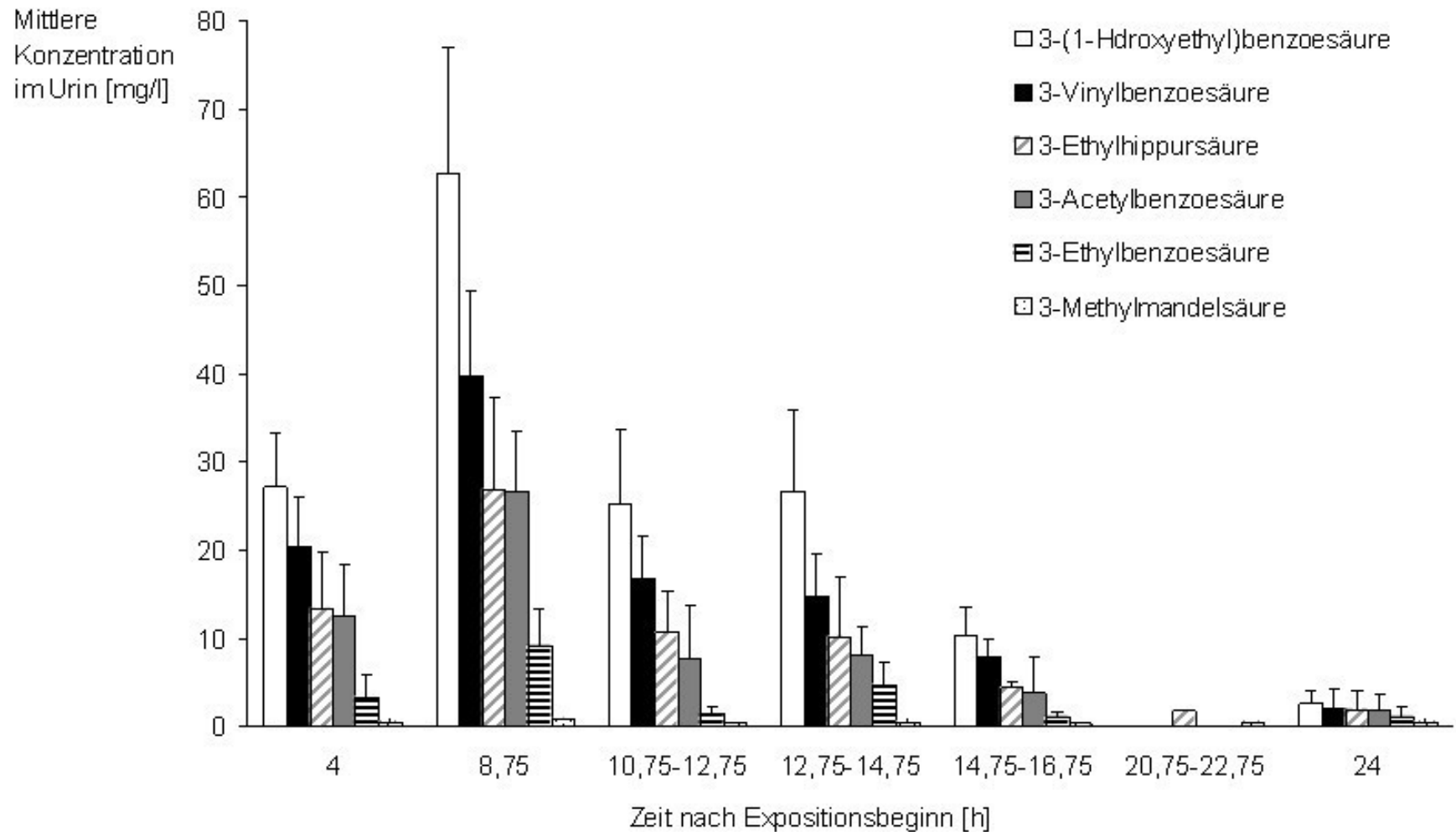
**Tabelle 36:** Mittlere Konzentration der 3-Ethyltoluolmetabolite im Urin [mg/l] nach 4- und 8-stündigen Expositionen gegenüber 3-Ethyltoluol in Höhe des Luftgrenzwerts von 35 mg/m<sup>3</sup>

Metabolit	3-Ethyltoluolmetabolite [mg/l Urin]	
	Zeit nach Expositionsbeginn [h]	
	4	8,75
3-(1-Hydroxyethyl)-benzoesäure	27,2 ± 6,2	62,6 ± 14,5
3-Vinylbenzoesäure	20,4 ± 5,5	39,6 ± 9,8
3-Ethylhippursäure	13,4 ± 6,5	26,9 ± 10,4
3-Acetylbenzoesäure	12,4 ± 6,1	26,6 ± 6,9
3-Ethylbenzoesäure	3,3 ± 2,5	9,2 ± 4,1
3-Methylmandelsäure	0,6 ± 0,3	0,9 ± 0,2

Tabelle 37 zeigt die durchschnittlichen Konzentrationen der 3-Ethyltoluolmetabolite, die über ein Zeitintervall von 15,3 Stunden nach Expositionsende im Urin bestimmt wurden. Abbildung 23 vergleicht die Durchschnittskonzentrationen der 3-Ethyltoluolmetabolite im Urin über einen Zeitraum von 24 Stunden nach Expositionsbeginn.

**Tabelle 37:** Mittlere Konzentration der 3-Ethyltoluolmetabolite im Urin [mg/l] nach Expositionen in Höhe des Luftgrenzwerts von 35 mg/m<sup>3</sup> 3-Ethyltoluol über ein Zeitintervall von 15,3 Stunden nach Expositionsende

Metabolit	3-Ethyltoluolmetabolite [mg/l Urin]					
	Zeit nach Expositionsende [h]					
	0	2 - 4	4 - 6	6 - 8	12 - 14	15,3
3-(1-Hydroxyethyl)-benzoesäure	62,6 ± 14,5	25,3 ± 8,3	26,6 ± 9,3	10,4 ± 3,1	*	2,7 ± 1,3
3-Vinylbenzoesäure	39,6 ± 9,8	16,7 ± 4,9	14,8 ± 4,8	7,9 ± 2,0	*	2,1 ± 0,9
3-Ethylhippursäure	26,9 ± 10,4	10,7 ± 4,7	10,2 ± 6,9	4,3 ± 0,8	1,7 ± 0,3	2,0 ± 1,3
3-Acetylbenzoesäure	26,6 ± 6,9	7,8 ± 5,9	8,1 ± 3,3	3,8 ± 4,1	*	1,8 ± 1,1
3-Ethylbenzoesäure	9,2 ± 4,1	1,4 ± 0,8	4,7 ± 2,6	1,1 ± 0,5	*	1,1 ± 0,4
3-Methylmandelsäure	0,9 ± 0,2	0,4 ± 0,3	0,6 ± 0,2	0,4 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,2



**Abbildung 23:** Mittlere Konzentrationen der 3-Ethyltoluolmetabolite im Urin [mg/l] über ein Zeitintervall von 24 Stunden nach Expositionsbeginn nach Expositionen gegenüber 35 mg 3-Ethyltoluol/m<sup>3</sup> Luft. (Auf der x-Achse sind neben Zeitpunkten auch Zeitintervalle angegeben, in denen von den Probanden Urinproben abgegeben wurden).

#### 4.4.2.2 Konzentration der 3-Ethyltoluolmetabolite bezogen auf den Kreatiningehalt (mg/g Kreatinin)

Die auf den Kreatiningehalt bezogenen Ergebnisse der 3-Ethyltoluolmetabolite im Urin sind den Tabellen 38 - 40 zu entnehmen.

##### Kollektiv A:

**Tabelle 38:** 3-Ethyltoluolmetabolite im Urin als Einzelwerte [mg/g Kreatinin] von jeweils einer Versuchsperson nach 1-, 2- und 3-stündigen Expositionen gegenüber 3-Ethyltoluol in Höhe von 35 mg/m<sup>3</sup>

Metabolit	3-Ethyltoluolmetabolite [mg/g Kreatinin]		
	Zeit nach Expositionsbeginn [h]		
	1	2	3
3-(1-Hydroxyethyl)-benzoesäure	2,5	22,3	11,8
3-Vinylbenzoesäure	1,5	15,3	14,9
3-Ethylhippursäure	1,5	17,1	13,8
3-Acetylbenzoesäure	1,3	4,8	7,3
3-Ethylbenzoesäure	*	2,3	2,5
3-Methylmandelsäure	*	0,7	0,4

Kollektiv B:

**Tabelle 39:** Mittlere Konzentration der 3-Ethyltoluolmetabolite im Urin [mg/g Kreatinin] nach 4- und 8-stündigen Expositionen gegenüber 3-Ethyltoluol in Höhe des Luftgrenzwerts von 35 mg/m<sup>3</sup>

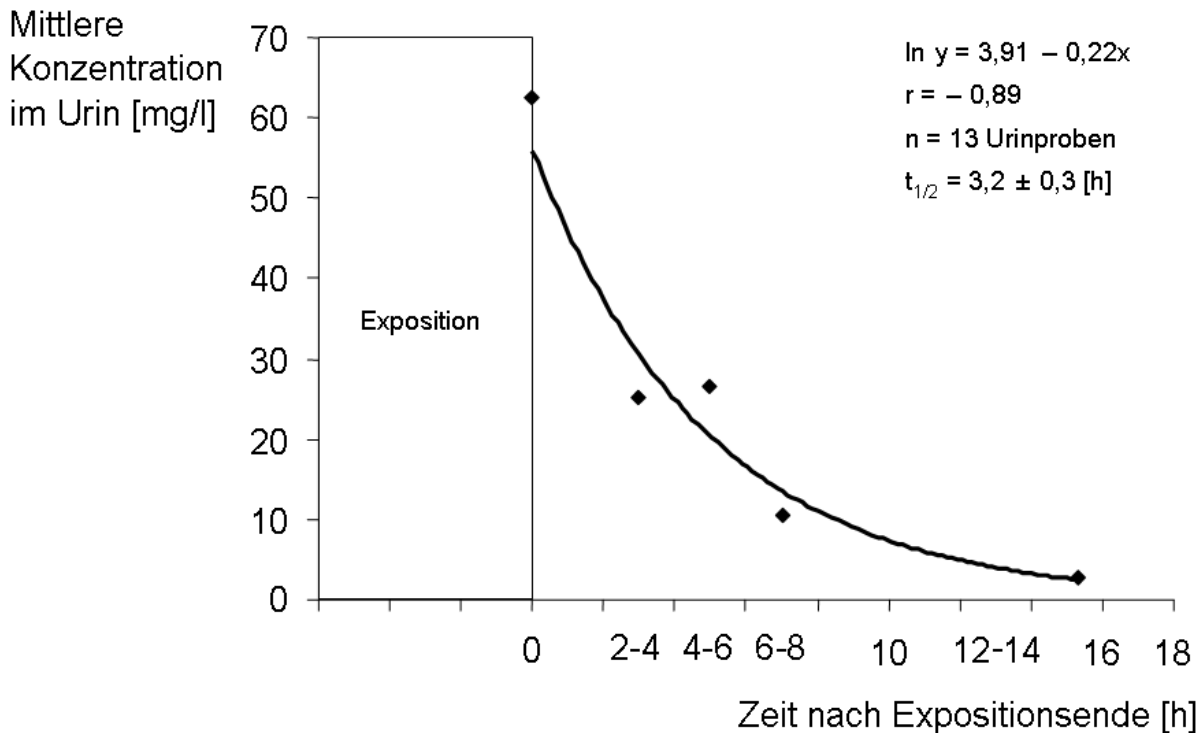
Metabolit	3-Ethyltoluolmetabolite [mg/g Kreatinin]	
	Zeit nach Expositionsbeginn [h]	
	4	8,75
3-(1-Hydroxyethyl)-benzoesäure	27,2 ± 11,3	51,1 ± 26,0
3-Vinylbenzoesäure	20,3 ± 8,4	33,3 ± 19,4
3-Ethylhippursäure	11,7 ± 3,3	22,2 ± 15,1
3-Acetylbenzoesäure	11,1 ± 3,3	20,9 ± 9,9
3-Ethylbenzoesäure	2,0 ± 1,4	6,5 ± 2,3
3-Methylmandelsäure	0,5 ± 0,3	0,8 ± 0,5

**Tabelle 40:** Mittlere Konzentration der 3-Ethyltoluolmetabolite im Urin [mg/g Kreatinin] nach Expositionen in Höhe des Luftgrenzwerts von 35 mg/m<sup>3</sup> 3-Ethyltoluol über ein Zeitintervall von 15,3 Stunden nach Expositionsende

Metabolit	3-Ethyltoluolmetabolite [mg/g Kreatinin]					
	Zeit nach Expositionsende [h]					
	0	2 - 4	4 - 6	6 - 8	12 - 14	15,3
3-(1-Hydroxyethyl)-benzoesäure	51,1 ± 26,0	21,0 ± 8,3	11,1 ± 5,5	8,3 ± 3,9	*	1,8 ± 1,2
3-Vinylbenzoesäure	33,3 ± 19,4	13,7 ± 4,9	5,7 ± 2,1	6,5 ± 2,7	*	1,3 ± 0,5
3-Ethylhippursäure	22,2 ± 15,1	8,6 ± 3,9	5,1 ± 3,3	3,5 ± 1,3	2,0 ± 0,8	1,6 ± 2,0
3-Acetylbenzoesäure	20,9 ± 9,9	6,2 ± 4,8	4,3 ± 3,2	2,3 ± 1,4	*	1,0 ± 0,7
3-Ethylbenzoesäure	6,5 ± 2,3	1,1 ± 0,6	2,5 ± 2,3	0,7 ± 0,1	*	0,6 ± 0,2
3-Methylmandelsäure	0,8 ± 0,5	0,4 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,6 ± 0,3	0,4 ± 0,3

#### 4.4.2.3 Elimination und Halbwertszeit der 3-Ethyltoluolmetabolite

Abbildung 24 zeigt beispielhaft die 3-(1-Hydroxyethyl)-benzoesäure-Ausscheidung [mg/l Urin]. Die exponentiell verlaufenden Eliminationskurven der übrigen 3-Ethyltoluolmetabolite sind im Anhang abgebildet.



**Abbildung 24:** Eliminationskurve der Durchschnittskonzentrationen der 3-(1-Hydroxyethyl)-benzoesäure im Urin [mg/l] der  $n = 7$  Probanden nach Expositionsende nach Expositionen gegenüber  $35 \text{ mg } 3\text{-Ethyltoluol/m}^3$  Luft. (Auf der x-Achse sind neben Zeitpunkten auch Zeitintervalle angegeben, in denen von den Probanden Urinproben abgegeben wurden).

Tabelle 41 zeigt die Korrelationskoeffizienten  $r$  der Regressionsgeraden sowie die Halbwertszeiten der 3-Ethyltoluolmetabolite mit der höchsten Konzentration.

**Tabelle 41:** Korrelationskoeffizienten r der Regressionsgeraden und Halbwertszeiten der relevanten 3-Ethyltoluolmetabolite

Metabolit	3-Ethyltoluol-Exposition	
	Korrelationskoeffizient r	Halbwertszeit $t_{1/2}$ [h]
3-(1-Hydroxyethyl)-benzoesäure	-0,89	3,17 ± 0,32
3-Vinylbenzoesäure	-0,94	3,56 ± 0,24
3-Ethylhippursäure	-0,87	4,06 ± 0,44
3-Acetylbenzoesäure	-0,80	3,79 ± 0,57

#### 4.4.3 2-Ethyltoluolmetabolite im Urin

Die Tabelle 42 fasst die 2-Ethyltoluolmetabolite zusammen, die im Urin nach Expositionen gegenüber 2-Ethyltoluol nachgewiesen werden konnten.

**Tabelle 42:** Nachgewiesene 2-Ethyltoluol-Metabolite im Urin bei Expositionen gegenüber 2-Ethyltoluol in Höhe des Luftgrenzwerts von 35 mg/m<sup>3</sup>

	2-Ethyltoluol-Metabolite	
	nachgewiesen	in sehr geringen Konzentrationen nachgewiesen
2-(1-Hydroxyethyl)benzoesäure	×	
2-Vinylbenzoesäure	×	
2-Ethylhippursäure	×	
2-Acetylbenzoesäure	×	

Bei Expositionen gegenüber 2-Ethyltoluol ließen sich die Ethylbenzoesäure, Methylmandelsäure, Tolylessigsäure und Hydroxymethylphenylessigsäure nicht nachweisen.

#### 4.4.3.1 Konzentration der 2-Ethyltoluolmetabolite bezogen auf das Urinvolumen [mg/l]

Eine Belastung mit 2-Ethyltoluolmetaboliten der vor den Expositionsversuchen gewonnenen Urinproben konnte nicht festgestellt werden.

##### Kollektiv A:

Die in Tabelle 43 aufgeführten Einzelwerte der 2-Ethyltoluolmetabolite im Urin zeigen, dass die Metabolite von 2-Ethyltoluol bereits innerhalb der ersten 3 Expositionsstunden in deutlich messbaren Konzentrationen im Urin eliminiert werden.

**Tabelle 43:** 2-Ethyltoluolmetabolite im Urin als Einzelwerte [mg/l] von jeweils einer Versuchsperson nach 1-, 2- und 3-stündigen Expositionen gegenüber 2-Ethyltoluol in Höhe von 35 mg/m<sup>3</sup>

Metabolit	2-Ethyltoluolmetabolite [mg/l Urin]		
	Zeit nach Expositionsbeginn [h]		
	1	2	3
2-(1-Hydroxyethyl)-benzoesäure	2,0	4,1	6,7
2-Vinylbenzoesäure	1,2	2,9	4,6
2-Ethylhippursäure	0,3	1,1	3,2
2-Acetylbenzoesäure	0,9	1,5	4,4
2-Ethylbenzoesäure	*	*	*
2-Methylmandelsäure	*	*	*

Kollektiv B:

Tabelle 44 fasst die mittleren Konzentrationen der 2-Ethyltoluolmetabolite zusammen, die nach 4- und 8-stündigen Expositionen gegenüber 35 mg/m<sup>3</sup> 2-Ethyltoluol gemessen wurden.

**Tabelle 44:** Mittlere Konzentration der 2-Ethyltoluolmetabolite im Urin [mg/l] nach 4- und 8-stündigen Expositionen gegenüber 2-Ethyltoluol in Höhe des Luftgrenzwerts von 35 mg/m<sup>3</sup>

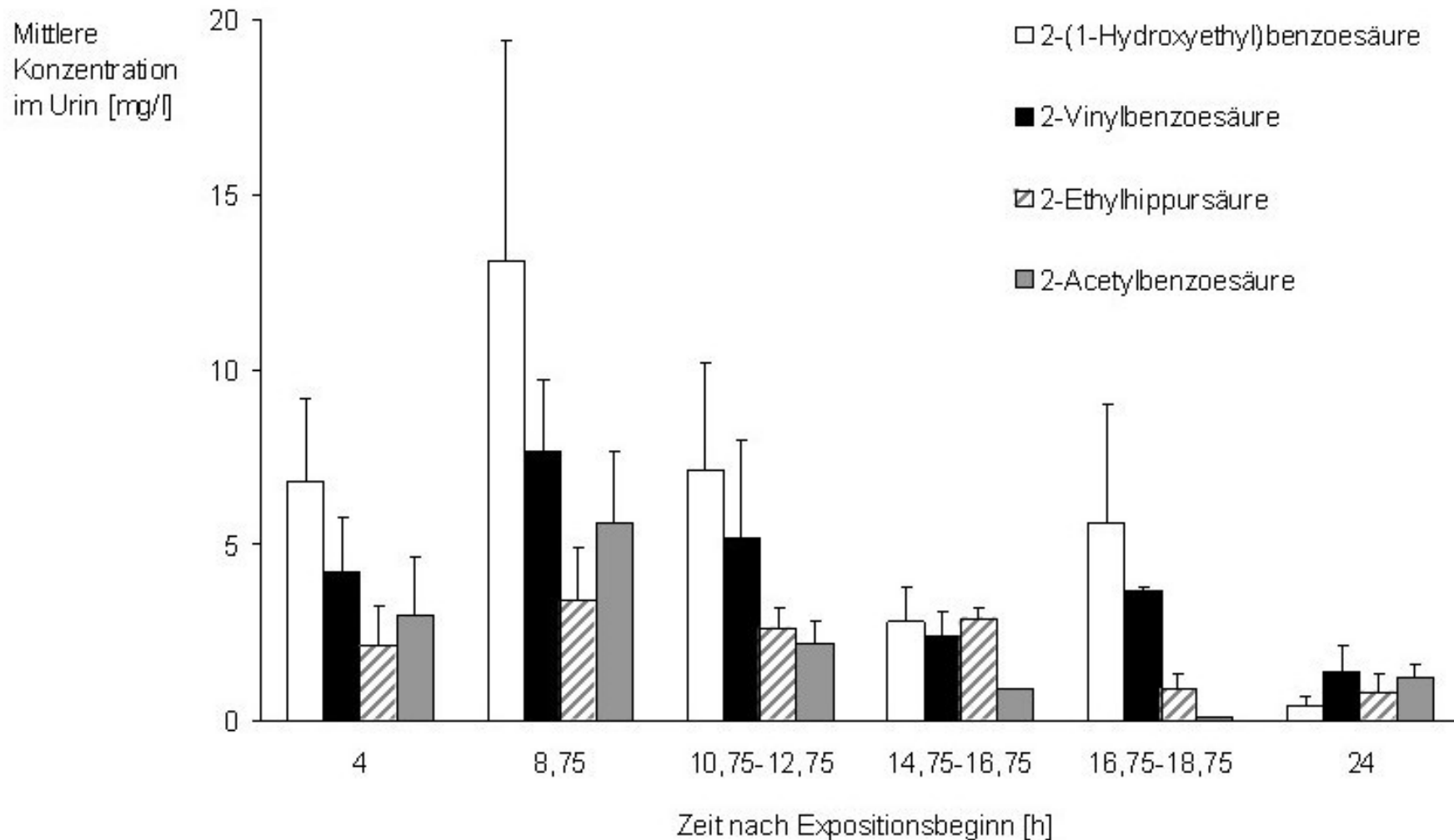
Metabolit	2-Ethyltoluolmetabolite [mg/l Urin] Zeit nach Expositionsbeginn [h]	
	4	8,75
2-(1-Hydroxyethyl)-benzoesäure	6,8 ± 2,4	13,1 ± 6,3
2-Vinylbenzoesäure	4,2 ± 1,6	7,7 ± 2,0
2-Ethylhippursäure	2,1 ± 1,2	3,4 ± 1,5
2-Acetylbenzoesäure	3,0 ± 1,7	5,6 ± 2,1

Tabelle 45 zeigt die durchschnittlichen Konzentrationen der 2-Ethyltoluolmetabolite, die über ein Zeitintervall von 15,3 Stunden nach Expositionsende im Urin nachgewiesen wurden.

Abbildung 25 vergleicht die durchschnittlichen Konzentrationen der 2-Ethyltoluolmetabolite im Urin über ein Zeitintervall von 24 Stunden nach Expositionsbeginn.

**Tabelle 45:** Mittlere Konzentration der 2-Ethyltoluolmetabolite im Urin [mg/l] nach Expositionen in Höhe des Luftgrenzwerts von 35 mg 2-Ethyltoluol/m<sup>3</sup> über ein Zeitintervall von 15,3 Stunden nach Expositionsende

Metabolit	2-Ethyltoluolmetabolite [mg/l Urin]				
	Zeit nach Expositionsende [h]				
	0	2 - 4	6 - 8	8 - 10	15,3
2-(1-Hydroxyethyl)-benzoesäure	13,1 ± 6,3	7,1 ± 3,1	2,8 ± 1,0	5,6 ± 3,4	0,4 ± 0,3
2-Vinylbenzoesäure	7,7 ± 2,0	5,2 ± 2,8	2,4 ± 0,7	3,7 ± 0,1	1,4 ± 0,7
2-Ethylhippursäure	3,4 ± 1,5	2,6 ± 0,6	2,9 ± 0,3	0,9 ± 0,4	0,8 ± 0,5
2-Acetylbenzoesäure	5,6 ± 2,1	2,2 ± 0,6	0,9 ± 0	0,1 ± 0	1,2 ± 0,4



**Abbildung 25:** Mittlere Konzentrationen der 2-Ethyltoluolmetabolite im Urin [mg/l] über ein Zeitintervall von 24 Stunden nach Expositionsbeginn nach Expositionen gegenüber 35 mg 2-Ethyltoluol/m<sup>3</sup> Luft. (Auf der x-Achse sind neben Zeitpunkten auch Zeitintervalle angegeben, in denen von den Probanden Urinproben abgegeben wurden).

#### 4.4.3.2 Konzentration der 2-Ethyltoluolmetabolite bezogen auf den Kreatiningehalt [mg/g Kreatinin]

Die auf den Kreatiningehalt bezogenen Ergebnisse der 2-Ethyltoluolmetabolite sind in den Tabellen 46 - 48 dargestellt.

##### Kollektiv A:

**Tabelle 46:** 2-Ethyltoluolmetabolite im Urin als Einzelwerte [mg/g Kreatinin] von jeweils einer Versuchsperson nach 1-, 2- und 3-stündigen Expositionen gegenüber 2-Ethyltoluol in Höhe von 35 mg/m<sup>3</sup>

Metabolit	2-Ethyltoluolmetabolite [mg/g Kreatinin]		
	Zeit nach Expositionsbeginn [h]		
	1	2	3
2-(1-Hydroxyethyl)-benzoesäure	2,5	6,6	3,8
2-Vinylbenzoesäure	1,5	4,7	2,6
2-Ethylhippursäure	0,4	1,8	1,8
2-Acetylbenzoesäure	1,1	2,4	2,5

Kollektiv B:

**Tabelle 47:** Mittlere Konzentration der 2-Ethyltoluolmetabolite im Urin [mg/g Kreatinin] nach 4- und 8-stündigen Expositionen gegenüber 2-Ethyltoluol in Höhe des Luftgrenzwerts von 35 mg/m<sup>3</sup>

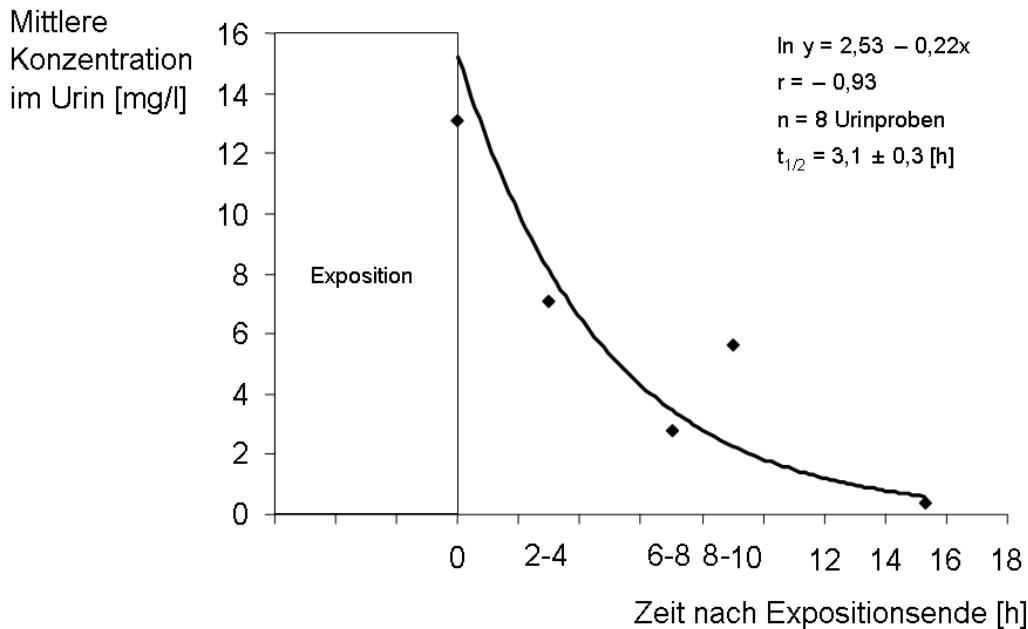
Metabolit	2-Ethyltoluolmetabolite [mg/g Kreatinin]	
	Zeit nach Expositionsbeginn [h]	
	4	8,75
2-(1-Hydroxyethyl)-benzoesäure	11,3 ± 10,6	27,3 ± 45,2
2-Vinylbenzoesäure	6,6 ± 5,1	19,2 ± 35,2
2-Ethylhippursäure	4,5 ± 5,4	8,0 ± 14,1
2-Acetylbenzoesäure	4,5 ± 4,1	13,3 ± 24,6

**Tabelle 48:** Mittlere Konzentration der 2-Ethyltoluolmetabolite im Urin [mg/g Kreatinin] nach Expositionen in Höhe des Luftgrenzwerts von 35 mg 2-Ethyltoluol/m<sup>3</sup> über ein Zeitintervall von 15,3 Stunden nach Expositionsende

Metabolit	2-Ethyltoluolmetabolite [mg/g Kreatinin]				
	Zeit nach Expositionsende [h]				
	0	2 - 4	6 - 8	8 - 10	15,3
2-(1-Hydroxyethyl)-benzoesäure	27,3 ± 45,2	10,6 ± 8,3	1,5 ± 0,6	3,7 ± 0,8	0,3 ± 0,3
2-Vinylbenzoesäure	19,2 ± 35,2	7,8 ± 6,6	1,3 ± 0,4	2,8 ± 1,2	1,0 ± 0,8
2-Ethylhippursäure	8,0 ± 14,1	3,3 ± 0,6	1,6 ± 0,2	0,8 ± 0,6	0,5 ± 0,3
2-Acetylbenzoesäure	13,3 ± 24,6	3,2 ± 2,1	0,5 ± 0	0,9 ± 0,4	0,8 ± 0,5

#### 4.4.3.3 Elimination und Halbwertszeit der 2-Ethyltoluolmetabolite

Abbildung 26 zeigt beispielhaft die 2-(1-Hydroxyethyl)-benzoesäure-Ausscheidung [mg/l Urin]. Die exponentiell verlaufenden Eliminationskurven der übrigen 2-Ethyltoluolmetabolite sind dem Anhang zu entnehmen.



**Abbildung 26:** Eliminationskurve der Durchschnittskonzentrationen der 2-(1-Hydroxyethyl)-benzoesäure im Urin [mg/l] der  $n = 7$  Probanden nach Expositionsende nach Expositionen gegenüber  $35 \text{ mg 2-Ethyltoluol/m}^3$  Luft. (Auf der x-Achse sind neben Zeitpunkten auch Zeitintervalle angegeben, in denen von den Probanden Urinproben abgegeben wurden).

Tabelle 49 fasst die Korrelationskoeffizienten  $r$  der Regressionsgeraden sowie die Halbwertszeiten der 2-Ethyltoluolmetabolite zusammen.

**Tabelle 49:** Korrelationskoeffizienten  $r$  der Regressionsgeraden und Halbwertszeiten der 2-Ethyltoluolmetabolite

Metabolit	2- Ethyltoluol	
	Korrelationskoeffizient $r$	Halbwertszeit $t_{1/2}$ [h]
2-(1-Hydroxyethyl)-benzoesäure	-0,93	$3,14 \pm 0,28$
2-Vinylbenzoesäure	-0,89	$5,93 \pm 0,68$
2-Ethylhippursäure	-0,76	$6,42 \pm 1,21$
2-Acetylbenzoesäure	-0,75	$7,45 \pm 1,49$

## **5 Diskussion**

Ziel der Arbeit war es, ein Analysenverfahren zu evaluieren, das es ermöglicht, die Exposition von Arbeitnehmern gegenüber Ethyltoluol anhand des Biologischen Monitoring quantifizierbar zu machen, um darauf aufbauend eine berufliche Risikoabschätzung vornehmen zu können. Aufgrund der human-experimentellen Untersuchungen konnten ferner erstmalig Daten gewonnen werden, die es ermöglichen, notwendige Voraussetzungen zur Aufstellung eines BAT-Wertes zu schaffen.

### **5.1 Analytische Methode**

Die Bestimmung der isomeren Ethyltoluole in Luftproben erweist sich im Rahmen der sicherheitstechnischen Primärprävention als ein probates Vorgehen zur Abschätzung externer Ethyltoluol-Belastungen am Arbeitsplatz.

Demgegenüber lässt sich hingegen das Biomonitoring im Blut und insbesondere aber im Urin zur Bewertung einer inneren Belastung vorteilhaft heranziehen. So erweist sich die Bestimmung der isomeren Ethyltoluole im Blut sowie ihrer Metabolite im Urin als eine äußerst praktikable Methode zur Quantifizierung der resorbierten und verstoffwechselten Ethyltoluole. Speziell das hier angewandte Analysenverfahren im Urin erlaubt die zuverlässige, empfindliche und richtige Bestimmung der Metabolite von Personen, die an ihrem Arbeitsplatz gegenüber Ethyltoluolen exponiert sind. Insgesamt erweist sich die vorliegende analytische Methode als äußerst geeignet. Die Zuverlässigkeitskriterien des Verfahrens sind als sehr gut zu bezeichnen. Die nur geringen aufarbeitungsbedingten Verluste bestätigen die Richtigkeit der Analytik. Nach dem derzeitigen Kenntnisstand ist das hier evaluierte Verfahren das derzeit einzige zur Bestimmung der Ethyltoluol-Metabolite und sollte wegen der leichten Anwendung auch von anderen arbeitsmedizinisch-analytisch orientierten Laboratorien ohne weiteres nachvollzogen werden können.

### **5.2 Ergebnisse**

#### **5.2.1 Konzentration von Ethyltoluol in der Kammerluft**

Um den Metabolismus eines Stoffes und demzufolge seinen BAT-Wert im Blut und den

seiner Metabolite im Urin zu bestimmen, müssen Expositionen in Höhe seines Luftgrenzwerts durchgeführt werden. Da Ethyltoluol fast ausschließlich in Kohlenwasserstoffgemischen vorkommt, existiert für Ethyltoluol als Reinstoff kein Luftgrenzwert. Auf der Grundlage der Untersuchungen von Uhlich unter Zugrundelegung der TRGS 901 konnte für die reinen isomeren Ethyltoluole ein Luftgrenzwert von 35 mg/m<sup>3</sup> abgeleitet werden. Anhand der 1-, 2- und 3-stündigen Expositionen, die gegenüber dem jeweiligen Isomer in Höhe des Luftgrenzwerts von 35 mg/m<sup>3</sup> durchgeführt wurden, konnte gezeigt werden, dass die Kammerluftkonzentrationen der isomeren Ethyltoluole mit Werten von 26,6 mg/m<sup>3</sup>, 27,8 mg/m<sup>3</sup>, 29,9 mg/m<sup>3</sup> nach 3-stündigen Expositionen bereits nahezu den Luftgrenzwert für Ethyltoluol von 35 mg/m<sup>3</sup> erreichen.

Für die 8-stündigen Expositionen konnte für 4-Ethyltoluol eine Durchschnittskonzentration von 35,8 ± 2,9 mg/m<sup>3</sup>, für 3-Ethyltoluol von 33,2 ± 2,6 mg/m<sup>3</sup> und für 2-Ethyltoluol von 36,0 ± 2,3 mg/m<sup>3</sup> ermittelt werden. Diese Ergebnisse zeigen, dass für alle isomeren Ethyltoluole die errechnete 8-stündige Durchschnittskonzentration von 35 mg/m<sup>3</sup> in der Kammerluft eingehalten wurde und somit die Voraussetzung zur Etablierung eines BAT-Wertes für Ethyltoluol im Blut und seiner Metabolite im Urin gegeben ist.

### **5.2.2 Konzentration von Ethyltoluol im Blut**

Blut zählt zu den bevorzugten Untersuchungsmaterialien des Biologischen Monitoring. Die Bestimmung von Aromaten im Blut gilt als eine analytisch und diagnostisch valide Möglichkeit, die individuelle gesundheitliche Belastung durch Gefahrstoffe zu erfassen (Angerer 1983). Dabei lassen sich insbesondere individuelle Expositionsbedingungen wie perkutane Resorption, unterschiedliche Atemminutenvolumina und Pharmakokinetik in unterschiedlich hohen Gefahrstoffkonzentrationen im Blut berücksichtigen. Für Stoffe wie Ethyltoluol, für die noch kein BAT-Wert bestimmt wurde, kann die Gefahrstoffmessung im Blut zur Ermittlung der Stoffkinetik im Organismus dienen. Kenntnisse über die Kinetik eines Stoffes sind Grundlage zur Festsetzung eines BAT-Wertes im Blut. Da bei vielen Gefahrstoffen Kenntnislücken über deren Kinetik vorliegen, konnten bis heute nur für ca. 50 Stoffe BAT-Werte festgesetzt werden.

Anhand der Einzelwerte für Ethyltoluol im Blut (siehe Tabelle 17 auf Seite 52) ist ersichtlich, dass für alle isomeren Ethyltoluole nach Expositionen in Höhe des Luftgrenzwerts von 35 mg/m<sup>3</sup> bereits nach einstündigen Expositionen deutlich messbare Ethyltoluolkonzentrationen im Blut nachgewiesen werden konnten. Diese Beobachtung zeigt, dass Ethyltoluol nach inhalativer Aufnahme sehr schnell ins Blut diffundiert. Der Grund für diese gute Diffusionsfähigkeit liegt darin, dass Phospholipide den

Grundbestandteil der Alveolarmembran bilden und daher lipophile Stoffe wie Ethyltoluol diese leicht durchdringen können (Klinke et al. 1996, Doenecke et al. 2005).

Aufgrund seiner guten Diffusionsfähigkeit ins Blut muss davon ausgegangen werden, dass der vermutete Blut- /Luft-Verteilungskoeffizient ( $P_{B:L}$ ) für Ethyltoluol in gleicher Größenordnung wie für andere Aromaten liegt, also größer als 20 ist. Des Weiteren wird die pulmonale Resorption eines Stoffes von der körperlichen Belastung beeinflusst, der Arbeiter in der Regel ausgesetzt sind. Um die Ergebnisse der Studie auf die Situation am Arbeitsplatz übertragen zu können, mussten die Probanden stündlich eine 10-minütige Belastung von 75 Watt auf einem Fahrradergometer erbringen, die einer mittelschweren körperlichen Aktivität entspricht. Da für Ethyltoluol ein  $P_{B:L}$  deutlich größer als 20 angenommen wird, ist für diesen Stoff eine lineare Korrelation zwischen ansteigender Arbeitsbelastung und pulmonaler Aufnahme zu erwarten, wie dies für Verbindungen mit einem  $P_{B:L}$  von mindestens 10 von Jakuboski et al. sowie Knecht et al. ermittelt wurde (Jakubowski et al. 1988, Knecht et al. 1999).

Neben der inhalativen Resorption aromatischer Kohlenwasserstoffe werden geringe Mengen auch dermal resorbiert (Parmeggiani 1983). Grund dafür ist, dass lipophile aromatische Kohlenwasserstoffe das Lipidnetzwerk des Stratum Corneum durchdringen können. Demnach kann neben anderen Aromaten, wie beispielsweise Ethylbenzol, Toluol, Cumol, den isomeren Xylole und Trimethylbenzolen auch Ethyltoluol aufgrund seines lipophilen Charakters ein gutes dermales Resorptionspotential zugeschrieben werden.

Nach seiner Resorption liegt Ethyltoluol im Blut vor. Gerarde und Lam et al. kamen zu dem Ergebnis, dass die meisten resorbierten Kohlenwasserstoffe aufgrund ihrer Lipophilie im Blut an das Hämoglobin der Erythrozyten gebunden transportiert werden (Gerarde 1960, Lam et al. 1990). Dabei binden lipophile Verbindungen an das Porphyringerüst des Hämoglobins (Löffler et al. 2003). Es ist zu erwarten, dass auch Ethyltoluol aufgrund seiner Lipophilie im Blut an Hämoglobin gebunden transportiert wird. Allerdings darf der Transport von lipophilen Lösungsmitteln im Plasma nicht vernachlässigt werden, wobei Albumin und Globuline als Transportproteine fungieren (Parmeggiani 1983, Doenecke et al. 2005). In diesem Zusammenhang konnten Lam et al. in einer Studie zeigen, dass hydrophobe Lösungsmittel im Blut hauptsächlich an Erythrozyten gebunden werden, die stärker wasserlöslichen Lösungsmittel dagegen zu gleichen Anteilen an Erythrozyten und im Plasma transportiert werden (Lam et al. 1990). Aufgrund seines lipophilen Charakters liegt die Vermutung nahe, dass der Transport von Ethyltoluol hauptsächlich durch eine Bindung an das Hämoglobin der Erythrozyten erfolgt, und ein geringer Teil an Transportproteine bindet.

Wie in Abbildung 17 auf Seite 54 dargestellt, betragen die Blutkonzentrationen nach 4-stündigen Expositionen bereits zwischen 92% und 101% der am Expositionsende resultierenden Werte. Diese Beobachtung zeigt, dass sich bereits nach 4-stündiger Exposition gegenüber dem jeweiligen Isomer ein steady state eingestellt hat, wie es bereits in früheren Untersuchungen an aromatischen Kohlenwasserstoffen wie Ethylbenzol und Cumol herausgefunden wurde (u. a. Reske 1996, Grimm 2000). Die nach der 1. und 2. Expositionsphase gemessenen geringfügigen Konzentrationsunterschiede sollten eher auf die analytische Schwankungsbreite des Messverfahrens zurückgeführt werden.

Bei Betrachtung der einzelnen nach 4- bzw. 8-stündiger Exposition resultierenden Schwankungsbreiten der Messwerte der isomeren Ethyltoluole im Blut müssen individuelle Gegebenheiten wie Unterschiede in der Resorption und Elimination berücksichtigt werden. Während die Resorption u. a. von der pulmonalen Ventilation abhängt, die v. a. unter Belastung je nach körperlicher Aktivität (Körpergewicht, Ausdauer) unterschiedlich ist, ist die Elimination u. a. durch die metabolische Kapazität des verantwortlichen Enzymsystems limitiert. Die metabolische Kapazität kann u. a. durch genetische Faktoren, Alter und Geschlecht beeinflusst werden, was zu den oben genannten Unterschieden in den Ethyltoluol-Blutkonzentrationen führen kann (Droz 1989).

In der vorliegenden Studie erfolgten die Blutabnahmen nach dem Expositionsende in 20-minütlichen Abständen über ein Zeitintervall von insgesamt 1 Stunde. Die Abbildungen 18, 19 und 20 auf den Seiten 56, 57 und 59 zeigen, dass die exponentielle Elimination für alle isomeren Ethyltoluole monophasisch verlief. Die durchschnittlichen Halbwertszeiten von  $t_{1/2} = 39,8 \pm 7,7$  min für 4-Ethyltoluol, von  $t_{1/2} = 41,8 \pm 3,5$  min für 3-Ethyltoluol und von  $t_{1/2} = 53,5 \pm 6,2$  min für 2-Ethyltoluol liegen alle etwa im gleichen zeitlichen Intervall. Denkbar wäre, dass bei einem längeren postexpositionellen Blutentnahmezeitraum die exponentiellen Eliminationskurven mehrphasisch verlaufen. Beispielsweise konnten Nise et al. für Toluol eine triphasische exponentielle Eliminationskurve zeigen, wobei mittlere Halbwertszeiten von 9 Minuten, 2 Stunden und 90 Stunden ermittelt wurden (Nise et al. 1988). Grund dafür ist eine verzögerte Freisetzung eines Stoffes aus tieferen Kompartimenten, insbesondere aus Fettgewebe, für die die Halbwertszeiten im Bereich von einigen Stunden nach Expositionsende liegen. Es ist davon auszugehen, dass Ethyltoluol aufgrund seiner Lipophilie leicht in Gewebe, v. a. das Fettgewebe, penetriert. Demzufolge wird es möglicherweise zu einer verzögerten Elimination von Ethyltoluol aus diesen Geweben kommen, die allerdings in dieser Studie wegen der kurzen postexpositionellen Entnahmezeiträume nicht erfasst wurde.

Im Vergleich zu den am Expositionsende gemessenen isomeren Ethyltoluol-

konzentrationen konnten eine Stunde nach Expositionsende im Mittel noch 34% der 4-Ethyltoluol-, 37% der 3-Ethyltoluol- und 47% der 2-Ethyltoluolkonzentration im Blut gemessen werden. Aufgrund dieser deutlich geringeren Ethyltoluol-Konzentrationen, die bereits eine Stunde nach Expositionsende im Blut vorlagen, und der nicht langen Halbwertszeiten ist es sehr wahrscheinlich, dass die isomeren Ethyltoluole 24 Stunden nach Expositionsbeginn – vergleichbar mit dem Beginn eines neuen Arbeitstages – im Blut nicht mehr nachgewiesen werden können. Auch Grimm und Reske kamen zu dem Ergebnis, dass der überwiegende Teil einer inhalativ resorbierten Alkylbenzolmenge aus dem Blut innerhalb 24 Stunden aus dem Blut eliminiert ist (Reske 1996, Grimm 2000). Demzufolge ist eine Kumulation von Ethyltoluol bei arbeitstäglicher Belastung eher auszuschließen.

Ziel dieser Arbeit war es unter anderem, auf der Grundlage der gewonnenen Ethyltoluolkonzentrationen im Blut, einen BAT-Wert festzusetzen. Da die maximalen mittleren Ethyltoluolkonzentrationen jeweils am Expositionsende – was verglichen mit einem Arbeitstag dem Schichtende entspricht – gemessen werden konnten, sollten die BAT-Werte auf der Grundlage dieser Werte festgesetzt werden, um die Beurteilung der gesundheitlichen Belastung mit dem jeweiligen Isomer über die gesamte Arbeitsschicht zu gewährleisten.

### **5.2.3 Metabolismus von Ethyltoluol und Metabolite im Urin**

Wie hinlänglich bekannt, werden aromatische Kohlenwasserstoffe hauptsächlich am mikrosomalen Cytochrom P450-Enzymsystem der Leber verstoffwechselt. Da Ethyltoluol ein aromatischer Kohlenwasserstoff ist, kann dies auch für Ethyltoluol angenommen werden. Im Gegensatz zum Metabolismus von Benzol erfolgt die Oxidation der Alkylbenzole hauptsächlich an der aliphatischen Seitenkette. Die durch die Ringoxidation gebildeten phenolischen Metabolite spielen wegen ihrer äußerst geringen Bildungsrate beim Metabolismus von Ethyltoluol eine untergeordnete Rolle und wurden deshalb nicht näher im Urin bestimmt.

Die Elimination aromatischer Kohlenwasserstoffe aus dem Körper erfolgt nicht verstoffwechselt pulmonal, vorwiegend jedoch renal (Gerarde 1960, Engström et al. 1984). Im Urin werden sie größtenteils als wasserlösliche Metaboliten ausgeschieden, die an Glycin, Glucuronsäure oder Schwefelsäure gebunden sind. Während der Metabolismus und demzufolge die urinpflchtigen Metaboliten vieler aromatischer Kohlenwasserstoffe, wie beispielsweise von Ethylbenzol oder Toluol, hinreichend bekannt sind, ist die Datenlage zum Metabolismus und somit zur Ausscheidung urinpflchtiger Metabolite nach

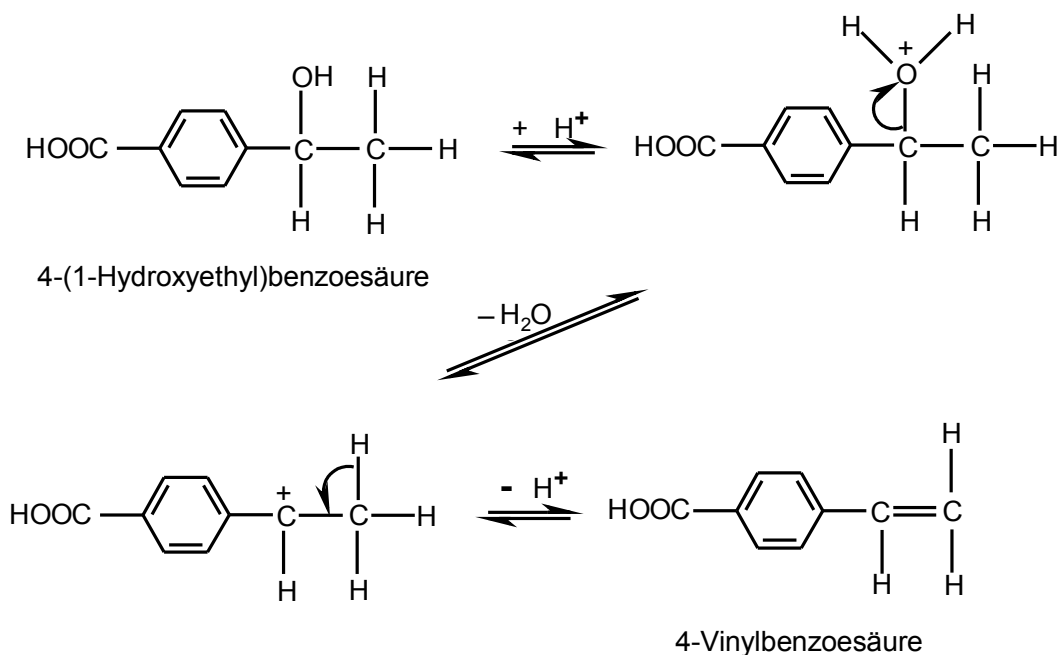
Ethyltoluolexposition defizitär. Zwar konnte Uhlich nach Expositionen gegenüber unterschiedlichen Kohlenwasserstoffgemischen mit Ethyltoluol-Anteilen deren Metabolismus ansatzweise erörtern, ohne jedoch Einzelheiten qualitativer und quantitativer Art benennen zu können (Uhlich 2006).

In der vorliegenden Studie konnten nach Expositionen gegenüber den isomeren Ethyltoluolen als Metabolite die isomeren 1-Hydroxyethyl-benzoessäuren, Vinylbenzoessäuren, Ethylhippursäuren und Acetylbenzoessäuren in vergleichsweise hohen Konzentrationen im Urin nachgewiesen werden. Sie sollten deshalb als relevante Metabolite des Ethyltoluolmetabolismus im Rahmen des Biomonitoring als Parameter einer beruflichen Risikoabschätzung als Grundlage dienen. Neben diesen Metaboliten konnten nach Expositionen gegenüber 3- und 4-Ethyltoluol in geringen Konzentrationen die isomeren Ethylbenzoessäuren und Methylmandelsäuren im Urin gemessen werden. Für 2-Ethyltoluol waren diese Metabolite nicht nachweisbar. An dieser Stelle können auch die 4-Tolylessigsäure und die 4-Hydroxymethylphenylessigsäure genannt werden, die nach 4-Ethyltoluolexpositionen vereinzelt in äußerst geringen Konzentrationen im Urin nachweisbar waren. Dem Nachweis der geringfügig ausgeschiedenen Metabolite wurde keine weitere Bedeutung beigemessen, da sie für ein zukünftiges Biologisches Monitoring bzw. die Festsetzung eines zukünftigen BAT-Werts nicht relevant sind.

Abbildung 1 auf Seite 17 zeigt den vermuteten Metabolismus von Ethyltoluol, der auf dem Metabolismus von Toluol und Ethylbenzol basiert. Demnach gibt es für die Seitenkettenreaktion beim Ethyltoluolmetabolismus drei verschiedene Möglichkeiten: den alleinigen Metabolismus des Methylsubstituenten, den alleinigen Metabolismus des Ethylsubstituenten und die metabolische Umwandlung beider Substituenten. Bei 3 der relevanten Metabolite handelt es sich um Stoffwechselprodukte, bei denen beide Substituenten des Ethyltoluols in biotransformierter Form vorliegen. Hingegen resultiert die entstehende Ethylhippursäure aus der Biotransformation des Methylsubstituenten. Auffällig ist, dass nur bei diesem Metabolit die Carboxylgruppe mit Glycin konjugiert nachgewiesen werden konnte. Der Grund dafür kann darin gesehen werden, dass diese Hippursäure sehr beständig ist und bei der sauren Probenaufbereitung zur instrumentellen Analyse nicht dekonjugiert wird, wie es wahrscheinlich bei den anderen 3 Metaboliten der Fall ist. Da jedoch auch die unsubstituierte Hippursäure als Metabolit von Toluol und die Methylhippursäuren der Xylol-Isomere äußerst säurestabile Metabolite sind, ist eher davon auszugehen, dass die 1-Hydroxyethyl-benzoessäuren, die Acetylbenzoessäuren und die Vinylbenzoessäuren keine Glycinkonjugation durchlaufen, sondern möglicherweise glucuroniert oder sulfatiert werden. Die Beobachtung, dass die 4-Methylmandelsäure nur

nach Exposition gegenüber 4-Ethyltoluol in geringer Konzentration nachgewiesen werden konnte, zeigt, dass die alleinige Biotransformation des Ethylsubstituenten beim Ethyltoluolmetabolismus nur eine untergeordnete Rolle spielt.

Zur Diskussion Anlass gibt das Auftreten der Vinylbenzoesäure in sämtlichen Urinproben. Diese Substanz konnte eindeutig gaschromatographisch-massenspektrometrisch nachgewiesen werden. Die Bildung einer Vinylgruppe als Substituent in einer Verbindung schließt biochemische Reaktionen im Rahmen des Metabolismus aus und deutet vielmehr auf chemische Molekülumwandlungen während der präanalytischen und/oder instrumentellen Analytik hin. Diese Vermutung wird gestützt durch die bei der Biotransformation der Ethyltoluole als Metabolite ausgeschiedenen isomeren 1-Hydroxyethyl-benzoesäuren, die unter bestimmten Konditionen zur Dehydratisierung neigen. Hinlänglich bekannt ist die Säure-katalysierte Wasserabspaltung bei sekundären (wie auch bei tertiären) Alkoholen, zu denen die isomeren 1-Hydroxyethyl-benzoesäuren zählen. Die resultierende Alken-Bildung, im vorliegenden Falle die Vinyl-Bildung, ist besonders bei hohen Temperaturen begünstigt. Der Mechanismus derartiger unimolekularer Dehydratisierungsreaktionen ist in der folgenden Abbildung dargestellt.



**Abbildung 27:** Mechanismus der säurekatalysierten unimolekularen Dehydratisierung am Beispiel der 4-(1-Hydroxyethyl)benzoesäure unter Bildung der 4-Vinylbenzoesäure

Bei der Probenaufbereitung sind die Voraussetzungen für die Wasserabspaltung optimal gegeben, da die Urinproben im sauren Milieu bei einem pH-Wert von 1 und bei ca. 100°C

dekonjugiert werden, um sie anschließend nach entsprechender Derivatisierung der instrumentellen Analytik zu unterwerfen. Wie aus der Reaktionsgleichung ersichtlich ist, handelt es sich dabei um Gleichgewichtsreaktionen. Dies erklärt die Existenz des reinen Metaboliten 4-(1-Hydroxyethyl)-benzoesäure sowie des Pseudometaboliten 4-Vinylbenzoesäure nebeneinander in den aufgearbeiteten Urinproben.

Experimentell konnte abgeklärt werden, dass das Verhältnis beider Substanzen zueinander stets in der gleichen Größenordnung rangierte, da die Probenvorbereitung immer unter den gleichen Bedingungen vorgenommen wurde.

Wie auf Seite 94 bereits erwähnt, konnten nach Exposition gegenüber 2-Ethyltoluol die 2-Ethylbenzoesäure und die 2-Methylmandelsäure im Urin nicht nachgewiesen werden. Aufgrund der Annahme, dass der Metabolismus von 2-Ethyltoluol analog dem von 3- und 4-Ethyltoluol verläuft, ist davon auszugehen, dass diese Metabolite beim 2-Ethyltoluolmetabolismus auch gebildet werden. Da im allgemeinen bei der 1,2-Substitution in der 2-Ethyltoluolverbindung die Tendenz zur Bildung der entsprechenden Metabolite durch die sterische Hinderung deutlich reduziert ist, sind die Konzentrationen der 2-Ethylbenzoesäure und der 2-Methylmandelsäure wahrscheinlich so gering, dass sie sich dem Nachweis entziehen. Darüber hinaus ist vermutlich im Falle der 2-Ethylbenzoesäure das dynamische Gleichgewicht nahezu vollständig zur 2-Ethylhippursäure hin verschoben. Des Weiteren zeigen die Untersuchungen deutlich höhere Ausscheidungskonzentrationen der 3- und 4-Ethyltoluolmetabolite als der 2-Ethyltoluolmetabolite. Eine Erklärung dafür könnte sein, dass es im Falle der 2-Ethyltoluolverbindung durch die vicinale Anordnung der Substituenten im Metabolismus ebenfalls zu einer Art sterischen Hinderung kommen kann, sodass die Bildung der jeweiligen Metaboliten in einer deutlich geringeren Konzentration zu erwarten ist. Diese Vermutung wird auch durch die vorliegenden Ergebnisse untermauert. Bei 3- und 4-Ethyltoluol sind diese Effekte nicht zu erwarten.

Die Konzentrationen der Ethyltoluolmetabolite wurde nicht nur auf mg/l Urin, sondern auch auf mg/g Kreatinin bezogen, um diuresebedingte Schwankungen zu reduzieren. Allerdings kann die Kreatininausscheidung auch ausgeprägten inter- und intraindividuellen Schwankungen unterworfen sein (Bolm-Audorff et al. 1986).

Das für den Metabolismus aromatischer Kohlenwasserstoffe verantwortliche Cytochrom P450-Enzymsystem kann durch verschiedene Faktoren beeinflusst werden. Zu diesen Faktoren zählen Alter und Geschlecht, das Expositionslevel, körperliche Aktivität, genetische Faktoren, Medikamenteneinnahme sowie Lifestylefaktoren wie vorwiegend Rauchen und Alkoholkonsum (Droz 1989). Diese Faktoren können das Enzymsystem inhibieren oder induzieren und somit zu unterschiedlichen Konzentrationen der Metabolite

im Urin der einzelnen Probanden führen. Während die Expositionen alle unter der gleichen Raumlufkonzentration von 35 mg/m<sup>3</sup> Ethyltoluol durchgeführt wurden und die Medikamenteneinnahme sowie der Alkoholkonsum von allen Probanden verneint wurde, konnten Alter, Geschlecht, genetische Faktoren, Rauchen und körperliche Aktivität als Einflussfaktoren auf den Metabolismus nicht ausgeschaltet werden. Demnach können die Konzentrationsschwankungen der gleichen Metabolite zwischen den einzelnen Probanden zusätzlich auf den Einfluss dieser Faktoren zurückzuführen sein.

Die Tabellen 25, 29, 35, 38, 43 und 46 auf den Seiten 61, 66, 72, 76, 81 und 85 zeigen, dass bereits innerhalb der ersten 3 Expositionsstunden sowohl auf das Urinvolumen als auch auf den Kreatiningehalt korrigiert gut messbare Konzentrationen der isomeren 1-Hydroxyethyl-benzoensäuren, Vinylbenzoensäuren, Ethylhippursäuren und Acetylbenzoensäuren im Urin nachgewiesen werden konnten. Dies spricht für eine schnelle Eliminationsgeschwindigkeit der isomeren Ethyltoluole. In diesem Zusammenhang stellte Fiserova-Bergerova fest, dass Lösungsmittel mit einer hohen Blut- und Fettlöslichkeit aufgrund der Biotransformation in einer relativ kurzen Zeit eliminiert werden können (Fiserova-Bergerova 1983), was demnach auch für die isomeren Ethyltoluole zutrifft.

Die maximale Durchschnittskonzentration der oben genannten isomeren Hauptmetabolite konnte jeweils am Expositionsende gemessen werden. Verglichen mit einem Arbeitstag stellt dieser Zeitpunkt das Schichtende dar. Demnach erlauben Probenahmen am Schichtende die Beurteilung des gesundheitlichen Risikos einer über die gesamte Arbeitsschicht erfolgten äußeren Belastung mit den isomeren Ethyltoluolen. Tabelle 50 zeigt synoptisch die am Expositionsende ermittelten Durchschnittskonzentrationen der relevanten Metabolite für die isomeren Ethyltoluole bezogen auf das Urinvolumen und auf den Kreatiningehalt.

**Tabelle 50:** Für ein Biomonitoring relevante Metabolite für die 3 isomeren Ethyltoluole [mg/l Urin und mg/g Kreatinin] am Expositionsende

Metabolit	4-Ethyltoluol		3-Ethyltoluol		2-Ethyltoluol	
	mg/l Urin	mg/g Kreatinin	mg/l Urin	mg/g Kreatinin	mg/l Urin	mg/g Kreatinin
1-Hydroxyethylbenzoesäure	108,5 ± 45,3 (167)*	76,9 ± 13,2 (91)*	62,6 ± 14,5 (84)*	51,1 ± 26,0 (84)*	13,1 ± 6,3 (23)*	27,3 ± 45,2 (96)*
Vinylbenzoesäure	65,9 ± 38,3 (113)*	44,5 ± 14,8 (65)*	39,6 ± 9,8 (55)*	33,3 ± 19,4 (61)*	7,7 ± 2,0 (10)*	19,2 ± 35,2 (72)*
Ethylhippursäure	50,2 ± 16,5 (70)*	38,5 ± 13,0 (52)*	26,9 ± 10,4 (43)*	22,2 ± 15,1 (45)*	3,4 ± 1,5 (5)*	8,0 ± 14,1 (29)*
Acetylbenzoesäure	41,0 ± 18,7 (62)*	29,6 ± 13,5 (49)*	26,6 ± 6,9 (34)*	20,9 ± 9,9 (35)*	5,6 ± 2,1 (8)*	13,3 ± 24,6 (50)*

\* In Klammer: 95-Perzentil

Analog der Ausscheidung anderer Alkylbenzolmetabolite, wie beispielsweise die Mandelsäure als Ethylbenzolmetabolit, 2-Phenyl-2- und 2-Phenyl-1-propanol und die 2-Phenylpropionsäure als Cumol-Metabolite erfolgt auch die Elimination der isomeren Ethyltoluolmetabolite nach Erreichen der maximalen Durchschnittskonzentration am Expositionsende exponentiell. Dabei konnten für die relevanten Metabolite von 4-Ethyltoluol biologische Halbwertszeiten zwischen 3,5 Stunden und 4,1 Stunden ermittelt werden. Etwa gleich schnell wurden die relevanten Metabolite von 3-Ethyltoluol eliminiert, deren biologische Halbwertszeiten zwischen 3,2 Stunden und 4,1 Stunden lagen. Hingegen wurden die relevanten Metabolite von 2-Ethyltoluol mit biologischen Halbwertszeiten zwischen 3,1 Stunden und 7,5 Stunden etwas langsamer ausgeschieden. Tabelle 51 fasst die durchschnittlichen Konzentrationen der relevanten Ethyltoluolmetabolite zusammen, die 24 Stunden nach Expositionsbeginn im Urin noch messbar waren.

**Tabelle 51:** Für ein Biomonitoring relevante Metabolite für die 3 isomeren Ethyltoluole [mg/l Urin und mg/g Kreatinin] 24 Stunden nach Expositionsbeginn

Metabolit	4-Ethyltoluol		3-Ethyltoluol		2-Ethyltoluol	
	mg/l Urin	mg/g Kreatinin	mg/l Urin	mg/g Kreatinin	mg/l Urin	mg/g Kreatinin
1-Hydroxyethylbenzoesäure	6,6 ± 5,0	6,9 ± 5,4	2,7 ± 1,3	1,8 ± 1,2	0,4 ± 0,3	0,3 ± 0,3
Vinylbenzoesäure	4,3 ± 2,4	7,1 ± 9,4	2,1 ± 0,9	1,3 ± 0,5	1,4 ± 0,7	1,0 ± 0,8
Ethylhippursäure	3,0 ± 2,5	2,0 ± 1,2	2,0 ± 1,3	1,6 ± 2,0	0,8 ± 0,5	0,5 ± 0,3
Acetylbenzoesäure	1,9 ± 0,9	3,6 ± 5,3	1,8 ± 1,1	1,0 ± 0,7	1,2 ± 0,4	0,8 ± 0,5

Wie aus Tabelle 51 ersichtlich, konnten 24 Stunden nach Expositionsbeginn und damit praxisorientiert zu Beginn einer neuen Arbeitsschicht nur noch sehr geringe Konzentrationen der isomeren relevanten Metabolite von Ethyltoluol im Urin nachgewiesen werden. Nach Gerarde neigen aromatische Kohlenwasserstoffe aufgrund ihrer Lipophilie dazu, in Geweben in Proportion zu deren Fettgehalt zu akkumulieren (Gerarde 1960). Das kann aufgrund ihrer Lipophilie auch für die isomeren Ethyltoluole vermutet werden. Allerdings zeigen die oben genannten kurzen Halbwertszeiten und die ca 16 Stunden nach Expositionsende gemessenen, sehr geringen Konzentrationen der isomeren Ethyltoluolmetabolite, dass die Zeit zwischen 2 Arbeitsschichten ausreicht, um Ethyltoluol nahezu vollständig aus dem Körper zu eliminieren. Demzufolge ist eine Kumulation bei arbeitstäglicher Belastung, wie sie von Bolt und Drexler für Stoffe mit langer biologischer Halbwertszeit beschrieben wurde (Bolt et al. 2000), für Ethyltoluol und dessen Metaboliten unwahrscheinlich.

### **5.3 Vorschlag für einen zukünftigen BAT-Wert für Ethyltoluol**

Die Untersuchungen wurden hauptsächlich deswegen vorgenommen, um Daten zur Evaluierung eines zukünftigen BAT-Wertes für Ethyltoluol zu erhalten, der von der Arbeitsgruppe „Aufstellung von Grenzwerten in biologischem Material“ der Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe der DFG publiziert wird. Die durch diese Studie erhaltenen Ergebnisse wurden unter Berücksichtigung des 95. Perzentil ermittelt und sind in den nachfolgenden Tabellen ersichtlich. Angegeben ist die Metabolitenausscheidung sowohl volumen- als auch kreatininbezogen, um beispielsweise eine hitzebedingte forcierte Diurese am Arbeitsplatz berücksichtigen zu können. Die eingehaltene 8-stündige Expositionszeit und die auf einem Fahrrad erbrachte mittelschwere Belastung ermöglichen einen unmittelbaren Vergleich mit der beruflichen Ethyltoluol-Exposition am Arbeitsplatz, wodurch die resultierenden BAT-Werte auf die Situation am Arbeitsplatz übertragbar sind.

Den folgenden Tabellen sind die vorgeschlagenen BAT-Werte für das jeweilige Isomer im Blut und für dessen Metabolite im Urin zu entnehmen.

**Tabelle 52:** Vorschlag eines zukünftigen BAT-Wertes für Ethyltoluol im Blut

Ethyltoluolisomer	Ethyltoluol im Blut [ $\mu\text{g/l}$ ]
4-Ethyltoluol	130
3-Ethyltoluol	160
2-Ethyltoluol	170

**Tabelle 53:** Vorschlag eines zukünftigen BAT-Wertes für die Metabolite von 4-Ethyltoluol

Metabolit	4-Ethyltoluol-Metabolite	
	mg/l Urin	mg/g Kreatinin
4-(1-Hydroxyethyl)-benzoesäure	170	90
4-Vinylbenzoesäure	110	70
4-Ethylhippursäure	70	50
4-Acetylbenzoesäure	60	50

**Tabelle 54:** Vorschlag eines zukünftigen BAT-Wertes für die Metabolite von 3-Ethyltoluol

Metabolit	3-Ethyltoluol-Metabolite	
	mg/l Urin	mg/g Kreatinin
3-(1-Hydroxyethyl)-benzoesäure	80	80
3-Vinylbenzoesäure	60	60
3-Ethylhippursäure	40	50
3-Acetylbenzoesäure	30	40

**Tabelle 55:** Vorschlag eines zukünftigen BAT-Wertes für die Metabolite von 2-Ethyltoluol

Metabolit	2-Ethyltoluol-Metabolit	
	mg/l Urin	mg/g Kreatinin
2-(1-Hydroxyethyl)-benzoesäure	20	100
2-Vinylbenzoesäure	10	70
2-Ethylhippursäure	10	30
2-Acetylbenzoesäure	10	50

Die BAT-Werte, die in den Tabellen 52 – 55 vorgeschlagen werden, wurden unter Zugrundelegung von Expositionen gegenüber 100% des jeweiligen Isomers in Höhe seines Luftgrenzwerts von 35 mg/m<sup>3</sup> festgesetzt. Wie in Tabelle 52 ersichtlich, beträgt bei einer Belastung gegenüber 100% 4-Ethyltoluol der BAT- Wert im Blut 130 µg/l. Die BAT-Werte der einzelnen Metabolite im Urin, die für Expositionen gegenüber 100% 4-Ethyltoluol gelten, zeigt Tabelle 53. Wenn die Ethyltoluole in der Luft als Stoffgemisch auftreten, muss unter Berücksichtigung des prozentualen Anteils des jeweiligen Isomers in der Luft und der o. g. BAT-Werte, die für Expositionen gegenüber 100% des jeweiligen Isomers festgesetzt wurden, prozentual der Ausscheidungsanteil des jeweiligen Isomers im Blut und der Metabolite im Urin errechnet werden.

Da für alle isomeren Ethyltoluole festgestellt werden konnte, dass das Ausscheidungsverhältnis der 4 relevanten Metabolite für die einzelnen Probanden vergleichbar ist, kann stellvertretend für alle relevanten Metabolite die jeweilige 1-Hydroxyethylbenzoesäure als Substanz mit der höchsten Ausscheidung im Urin bestimmt werden.

## 6 Zusammenfassung

Ethyltoluol ist als Lösungsmittel in der Arbeits- und Umwelt weit verbreitet. Aus diesem Grund ist es notwendig, für die isomeren Ethyltoluole im Rahmen des Biomonitoring Grenzwerte in Luft sowie Blut und für dessen Metabolite im Urin festzusetzen. Da Ethyltoluol fast ausschließlich in Kohlenwasserstoffgemischen vorkommt, existiert für Ethyltoluol als Reinstoff kein Luftgrenzwert. Im Rahmen der Primärprävention konnte bereits unter Zugrundelegung der TRGS 901 (Technische Regeln für Gefahrstoffe 901) für die reinen isomeren Ethyltoluole ein Luftgrenzwert von  $35 \text{ mg/m}^3$  abgeleitet werden. Aufgrund mangelnder Kenntnis über die Kinetik von Ethyltoluol ließen sich für diesen Stoff bisher keine BAT-Werte festsetzen. Um dem arbeitsmedizinischen Anspruch der medizinischen Sekundärprävention gerecht zu werden, wurden in der vorliegenden Arbeit Daten zur Kinetik von Ethyltoluol evaluiert, um auf der Grundlage der ermittelten Kinetik Biologische-Arbeitsstoff-Toleranzwerte (BAT-Werte) vorzuschlagen. Dazu wurden unter standardisierten Bedingungen jeweils  $n = 7$  Probanden über 8 Stunden gegenüber 2-, 3- und 4- Ethyltoluol in Höhe seines Luftgrenzwerts von  $35 \text{ mg/m}^3$  exponiert. Zur Simulation einer mittleren Arbeitsbelastung war von den Probanden jeweils halbstündlich eine 10-minütige körperliche Leistung von 75 Watt auf einem Fahrrad zu erbringen. Zusätzlich wurden eine 1-, 2- und 3- stündige Exposition einer Einzelperson gegenüber den isomeren Ethyltoluolen durchgeführt, um die Anflutungsphase in den ersten Stunden zu erfassen und zu sehen, ob sich bereits in diesen Zeiträumen ein steady state einstellt. Die Analyse der isomeren Ethyltoluol-Konzentrationen im Blut und der isomeren Metaboliten-Konzentrationen im Urin erfolgte gaschromatographisch-massenspektrometrisch.

Anhand der 1-, 2- und 3- stündig durchgeführten Expositionen konnten bereits nach einstündigen Expositionen deutlich messbare Ethyltoluolkonzentrationen im Blut nachgewiesen werden. Bei den über 8 Stunden exponierten Probanden resultierten am Expositionsende im Blut durchschnittliche 2-Ethyltoluolkonzentrationen von  $126,0 \pm 31,1 \text{ } \mu\text{g/l}$ , im Falle von 3-Ethyltoluol Durchschnittskonzentrationen von  $132,7 \pm 18,5 \text{ } \mu\text{g/l}$  und durchschnittliche 4-Ethyltoluolkonzentrationen von  $103,9 \pm 21,2 \text{ } \mu\text{g/l}$ . Die Untersuchungen zeigten, dass sich bereits nach 4 Stunden Exposition im Blut ein steady state eingestellt hat. Aufgrund mittlerer Halbwertszeiten für alle isomeren Ethyltoluole von unter 1 Stunde nach Expositionsende ist eine Kumulation von Ethyltoluol im Blut bei arbeitstäglicher Belastung auszuschließen.

Im Urin resultierten nach 8-stündigen Expositionen gegenüber dem jeweiligen Isomer

durchschnittliche 2-, 3- und 4-(1-Hydroxyethyl)-benzoesäure-Konzentrationen in Höhe von  $13,1 \pm 6,3$  mg/l bzw.  $27,3 \pm 45,2$  mg/g Kreatinin,  $62,6 \pm 14,5$  mg/l bzw.  $51,1 \pm 26,0$  mg/g Kreatinin und  $108,5 \pm 45,3$  mg/l bzw.  $76,9 \pm 13,2$  mg/g Kreatinin. Im Falle der Vinylbenzoesäure ließen sich zu diesem Zeitpunkt Durchschnittskonzentrationen für die 2-Vinylbenzoesäure in Höhe von  $7,7 \pm 2,0$  mg/l bzw.  $19,2 \pm 35,2$  mg/g Kreatinin, für die 3-Vinylbenzoesäure in Höhe von  $39,6 \pm 9,8$  mg/l bzw.  $33,3 \pm 19,4$  mg/g Kreatinin und für die 4-Vinylbenzoesäure in Höhe von  $65,9 \pm 38,3$  mg/l bzw.  $44,5 \pm 14,8$  mg/g Kreatinin nachweisen. Ferner konnten noch durchschnittliche Konzentrationen der 2-, 3- und 4-Ethylhippursäure in Höhe von  $3,4 \pm 1,5$  mg/l bzw.  $8,0 \pm 14,1$  mg/g Kreatinin,  $26,9 \pm 10,4$  mg/l bzw.  $22,2 \pm 15,1$  mg/g Kreatinin und  $50,2 \pm 16,5$  mg/l bzw.  $38,5 \pm 13,0$  mg/g Kreatinin sowie durchschnittliche Konzentrationen der 2-, 3- und 4-Acetylbenzoesäure in Höhe von  $5,6 \pm 2,1$  mg/l bzw.  $13,3 \pm 24,6$  mg/g Kreatinin,  $26,6 \pm 6,9$  mg/l bzw.  $20,9 \pm 9,9$  mg/g Kreatinin und  $41,0 \pm 18,7$  mg/l bzw.  $29,6 \pm 13,5$  mg/g Kreatinin im Urin gemessen werden. Da die oben genannten Metabolite in deutlich messbaren Konzentrationen im Urin ausgeschieden werden, sind sie als relevante Metabolite im Ethyltoluolmetabolismus anzusehen. Die durchschnittliche Ausscheidungskonzentration der jeweiligen Metabolite war am Expositionsende maximal.

Die Elimination aller Ethyltoluolmetabolite erfolgte exponentiell. Da für die isomeren relevanten Metabolite Halbwertszeiten zwischen 3,1 und 7,5 Stunden ermittelt wurden und ca. 16 Stunden nach Expositionsende nur noch sehr geringe Konzentrationen im Urin gemessen werden konnten, sind kumulierende Effekte eher nicht zu erwarten.

Aufgrund der vorliegenden standardisierten Expositionen kann unter Berücksichtigung des 95. Perzentils für 2-, 3- und 4-Ethyltoluol im Blut ein BAT-Wert von 170 µg/l, 160 µg/l und 130 µg/l vorgeschlagen werden. Im Urin lassen sich für die 2-, 3- und 4-(1-Hydroxyethyl)-benzoesäure BAT-Werte in Höhe von 20 mg/l bzw. 100 mg/g Kreatinin, 80 mg/l bzw. 80 mg/g Kreatinin und 170 mg/l bzw. 90 mg/g Kreatinin und für die 2-, 3- und 4-Vinylbenzoesäure in Höhe von 10 mg/l bzw. 70 mg/g Kreatinin, 60 mg/l bzw. 60 mg/g Kreatinin und 110 mg/l bzw. 70 mg/g Kreatinin ableiten. Im Falle der 2-, 3- und 4-Ethylhippursäure wurden im Urin BAT-Werte in Höhe von 10 mg/l bzw. 30 mg/g Kreatinin, 40 mg/l bzw. 50 mg/g Kreatinin und 70 mg/l bzw. 50 mg/g Kreatinin und für die 2-, 3- und 4-Acetylbenzoesäure in Höhe von 10 mg/l bzw. 50 mg/g Kreatinin, 30 mg/l bzw. 40 mg/g Kreatinin und 60 mg/l bzw. 50 mg/g Kreatinin festgesetzt. Die Bestimmung der oben genannten BAT-Werte für Blut und Urin erfolgte jeweils unter Zugrundelegung von Expositionen gegenüber 100 % des jeweiligen Isomers in Höhe seines Luftgrenzwerts von 35 mg/m<sup>3</sup>.

## 7 Summary

Ethyltoluene is often used as a solvent at work places and in the environment. Therefore, it is necessary within the so called Biological Monitoring to determine limit values of the isomeric ethyltoluenes in the air and in the blood as well as of its metabolites in the urine. Since ethyltoluene almost exclusively appears in mixtures of hydrocarbons, it does not have a limit value in the air as a pure chemical substance. Within the primary prevention, based on TRGS 901 (technical rules for hazardous substances) an air limit value of 35 mg/m<sup>3</sup> for the pure isomeric ethyltoluene could already be derived. Due to lacking knowledge about the kinetics of ethyltoluene, Biological Tolerance Values (BAT-values) could not yet be determined for this substance. In order to meet the requirements of the industrial medicine for the medical secondary prevention, in this paper the kinetics of ethyltoluene were evaluated to propose BAT-values. For this purpose in each case n = 7 probands were exposed to 2-, 3- and 4-ethyltoluene at the amount of the air limit of 35 mg/m<sup>3</sup> for eight hours under standardised conditions. In order to simulate an average work load, the probands should every half an hour perform a physical burden of 75 watt for 10 minutes on an exercise bike. Additionally, a single person was exposed to the isomeric ethyltoluene for one, two and three hours, respectively, to measure the invasion in the first hours and to see if already in these periods a steady state is reached. The analysis of the isomeric ethyltoluene concentrations in the blood and of the isomeric metabolites concentrations in the urine was made by a gas chromatography-mass spectrometry.

With the exposure of one, two and three hours clearly measurable ethyltoluene concentrations could be proved in the blood after the exposure of only one hour. Concerning the probands exposed for eight hours, at the end of the exposure the average of 2-ethyltoluene concentration was 126.0 ± 31.1 µg/l, the average of 3-ethyltoluene concentration was 132.7 ± 18.5 µg/l and the average of 4-ethyltoluene concentration was 103.9 ± 21.2 µg/l. The analyses demonstrated that a steady state in the blood was already reached after an exposure of four hours. Because of the mean half-life time for all isomeric ethyltoluenes at the end of the exposure is under one hour, a cumulation of ethyltoluene in the blood over a period of work days has to be excluded.

After the exposures to the respective isomer for eight hours, in the urine the average concentrations of 2-, 3- and 4-(1-hydroxy-ethyl) benzoic acid at the amount of 13.1 ± 6.3 mg/l respectively 27.3 ± 45.2 mg/g creatinine, 62.6 ± 14.5 mg/l respectively 51.1 ± 26.0 mg/g creatinine and 108.5 ± 45.3 mg/l respectively 76.9 ± 13.2 mg/g creatinine resulted. In

the case of the vinyl benzoic acid, at that time the average concentration of 2-vinyl benzoic acid of  $7.7 \pm 2.0$  mg/l respectively  $19.2 \pm 35.2$  mg/g creatinine, of 3-vinyl benzoic acid of  $39.6 \pm 9.8$  mg/l respectively  $33.3 \pm 19.4$  mg/g creatinine and of 4-vinyl benzoic acid of  $65.9 \pm 38.3$  mg/l respectively  $44.5 \pm 14.8$  mg/g creatinine could be measured. Furthermore, average concentrations of the 2-, 3- and 4-ethyl hippuric acid of  $3.4 \pm 1.5$  mg/l respectively  $8.0 \pm 14.1$  mg/g creatinine,  $26.9 \pm 10.4$  mg/l respectively  $22.2 \pm 15.1$  mg/g creatinine and  $50.2 \pm 16.5$  mg/l respectively  $38.5 \pm 13.0$  mg/g creatinin as well as average concentrations of the 2-, 3- und 4-acetyl benzoic acid of  $5.6 \pm 2.1$  mg/l respectively  $13.3 \pm 24.6$  mg/g creatinine,  $26.6 \pm 6.9$  mg/l respectively  $20.9 \pm 9.9$  mg/g creatinine und  $41.0 \pm 18.7$  mg/l respectively  $29.6 \pm 13.5$  mg/g creatinine could be determined in the urine. Since the above-named metabolites were eliminated in clearly measurable concentrations in the urine, they have to be regarded as main metabolites in the ethyltoluene metabolism. The eliminated average concentration reached for each metabolite the maximum at the end of exposure.

The elimination of all ethyltoluene metabolites took place exponentially. Since for the isomeric relevant metabolites half-life times between 3.1 and 7.5 hours were determined and because about 16 hours after the end of the exposure only very small concentrations were measured in the urine, cumulating effects do not take place.

Based on the present standardised exposures, in consideration of the 95th percentile a Biological Tolerance Value of  $170 \mu\text{g/l}$ ,  $160 \mu\text{g/l}$  and  $130 \mu\text{g/l}$  could be proposed for 2-,3- and 4-ethyltoluene in the blood. In the urine, for the 2-,3- and 4-(1-hydroxy ethyl) benzoic acids Biological Tolerance Values at the amount of  $20 \text{ mg/l}$  respectively  $100 \text{ mg/g creatinine}$ ,  $80 \text{ mg/l}$  respectively  $80 \text{ mg/g creatinine}$  and  $170 \text{ mg/l}$  respectively  $90 \text{ mg/g creatinine}$  and for the 2-, 3- und 4-vinyl benzoic acid at the amount of  $10 \text{ mg/l}$  respectively  $70 \text{ mg/g creatinine}$ ,  $60 \text{ mg/l}$  respectively  $60 \text{ mg/g creatinine}$  and  $110 \text{ mg/l}$  respectively  $70 \text{ mg/g creatinine}$  could be derived.

In the case of the 2-,3- and 4-ethyl hippuric acids Biological Tolerance Values in the urine at the amount of  $10 \text{ mg/l}$  respectively  $30 \text{ mg/g creatinine}$ ,  $40 \text{ mg/l}$  respectively  $50 \text{ mg/g creatinine}$  and  $70 \text{ mg/l}$  respectively  $50 \text{ mg/g creatinine}$  and for the 2-, 3- and 4-acetyl benzoic acid in the amount of  $10 \text{ mg/l}$  respectively  $50 \text{ mg/g creatinine}$ ,  $30 \text{ mg/l}$  respectively  $40 \text{ mg/g creatinine}$  and  $60 \text{ mg/l}$  respectively  $50 \text{ mg/g creatinine}$  could be determined. The above-named Biological Tolerance Values in the blood and the urine were in each case determined on the basis of exposures to 100 % of the respective isomer at the amount of the air limit of  $35 \text{ mg/m}^3$ .

## 8 Anhang

### 8.1 Konzentration der relevanten isomeren Ethyltoluolmetabolite bezogen auf das Urinvolumen [mg/l Urin]

Die Tabellen 56 – 67 zeigen die Einzel- und Durchschnittskonzentrationen der relevanten isomeren Ethyltoluolmetabolite bezogen auf das Urinvolumen [mg/l].

**Tabelle 56 und 57:** Einzel- und Durchschnittskonzentrationen der 4-(1-Hydroxyethyl)-benzoesäure und 4-Vinylbenzoesäure im Urin [mg/l] für n = 7 Probanden nach Expositionen gegenüber 35 mg 4-Ethyltoluol/m<sup>3</sup> Luft über ein Zeitintervall von 24 Stunden nach Expositionsbeginn

Proband Nr.	4-(1-Hydroxyethyl)-benzoesäure [mg/l]					
	nach 4 h	Expositions- ende	Zeit nach Expositionsende [h]			
			2,5	5,2	12,9	15,3
1	57,4	119,4	*	*	*	4,8
2	50,1	118,8	*	*	*	10,4
3	87,1	179,8	*	*	*	14,3
4	56,3	135,8	*	*	*	10,1
5	30,6	88,4	*	*	*	3,3
6	10,9	37,9	29,7	7,5	6,1	1,2
7	22,6	79,3	*	*	*	2,2
$\bar{x} \pm s$	45,0 ± 25,7	108,5 ± 45,3	n. b.	n. b.	n. b.	6,6 ± 5,0

\*: es lag keine Urinprobe vor

n. b.: nicht berechenbar

Proband Nr.	4-Vinylbenzoesäure [mg/l]					
	nach 4 h	Expositions- ende	Zeit nach Expositionsende [h]			
			2,5	5,2	12,9	15,3
1	21,7	69,1	*	*	*	2,4
2	30,9	91,7	*	*	*	6,3
3	48,9	121,4	*	*	*	8,5
4	39,7	93,9	*	*	*	4,9
5	7,7	33,4	*	*	*	3,4
6	8,4	22,2	10,0	8,5	4,0	1,8
7	12,7	29,7	*	*	*	2,8
$\bar{x} \pm s$	24,3 ± 16,1	65,9 ± 38,3	n. b.	n. b.	n. b.	4,3 ± 2,4

**Tabelle 58 und 59:** Einzel- und Durchschnittskonzentrationen der 4-Ethylhippursäure und 4-Acetylbenzoesäure im Urin [mg/l] für n = 7 Probanden nach Expositionen gegenüber 35 mg 4-Ethyltoluol/m<sup>3</sup> Luft über ein Zeitintervall von 24 Stunden nach Expositionsbeginn

Proband Nr.	4-Ethylhippursäure [mg/l]					
	nach 4 h	Expositions- ende	Zeit nach Expositionsende [h]			
			2,5	5,2	12,9	15,3
1	40,2	56,3	*	*	*	0,4
2	36,7	70,5	*	*	*	4,3
3	57,8	67,1	*	*	*	4,1
4	16,6	44,4	*	*	*	6,8
5	14,4	41,2	*	*	*	1,5
6	7,2	22,1	6,1	2,3	2,5	n. n.
7	23,7	49,9	*	*	*	0,9
$\bar{x} \pm s$	28,1 ± 17,7	50,2 ± 16,5	n. b.	n. b.	n. b.	3,0 ± 2,5

n. n.: in der vorhandenen Probe nicht nachweisbar

Proband Nr.	4-Acetylbenzoesäure [mg/l]					
	nach 4 h	Expositions- ende	Zeit nach Expositionsende [h]			
			2,5	5,2	12,9	15,3
1	34,3	65,6	*	*	*	2,0
2	15,4	37,4	*	*	*	2,1
3	18,9	50,6	*	*	*	3,3
4	27,1	44,9	*	*	*	2,7
5	19,3	52,7	*	*	*	1,3
6	3,3	8,7	1,5	1,3	1,2	1,0
7	6,5	27,1	*	*	*	1,1
$\bar{x} \pm s$	17,8 ± 10,8	41,0 ± 18,7	n. b.	n. b.	n. b.	1,9 ± 0,9

**Tabelle 60 und 61:** Einzel- und Durchschnittskonzentrationen der 3-(1-Hydroxyethyl)-benzoesäure und 3-Vinylbenzoesäure im Urin [mg/l] für n = 7 Probanden nach Expositionen gegenüber 35 mg 3-Ethyltoluol/m<sup>3</sup> Luft über ein Zeitintervall von 24 Stunden nach Expositionsbeginn

Proband Nr.	3-(1-Hydroxyethyl)-benzoesäure [mg/l]						
	nach 4 h	Expositionsende	Zeit nach Expositionsende [h]				15,3
			2 - 4	4 - 6	6 - 8	12 - 14	
8	38,9	87,9	28,4	36,7	*	*	2,0
9	21,5	64,9	*	*	*	*	3,3
10	19,8	56,7	*	24,5	11,6	*	4,8
11	26,3	48,9	*	18,5	11,4	*	0,7
12	26,1	46,9	15,6	*	*	*	1,9
13	27,9	74,1	34,9	*	12,7	n. n.	3,3
14	29,7	58,7	22,2	*	5,9	n. n.	2,6
$\bar{x} \pm s$	27,2 ± 6,2	62,6 ± 14,5	25,3 ± 8,3	26,6 ± 9,3	10,4 ± 3,1	n. b.	2,7 ± 1,3

Proband Nr.	3-Vinylbenzoesäure [mg/l]						
	nach 4 h	Expositionsende	Zeit nach Expositionsende [h]				15,3
			2 - 4	4 - 6	6 - 8	12 - 14	
8	31,0	59,8	*	19,8	*	*	1,7
9	21,5	38,8	16,3	*	*	*	3,4
10	14,7	28,9	*	10,3	7,4	*	1,6
11	19,7	36,4	*	14,2	10,3	*	3,0
12	21,6	34,6	14,5	*	*	*	2,6
13	14,7	42,8	23,6	*	8,4	1,2	1,1
14	19,7	36,1	12,4	*	5,6	n. n.	1,3
$\bar{x} \pm s$	20,4 ± 5,5	39,6 ± 9,8	16,7 ± 4,9	14,8 ± 4,8	7,9 ± 2,0	n. b.	2,1 ± 0,9

**Tabelle 62 und 63:** Einzel- und Durchschnittskonzentrationen der 3-Ethylhippursäure und 3-Acetylbenzoesäure im Urin [mg/l] für n = 7 Probanden nach Expositionen gegenüber 35 mg 3-Ethyltoluol/m<sup>3</sup> Luft über ein Zeitintervall von 24 Stunden nach Expositionsbeginn

Proband Nr.	3-Ethylhippursäure [mg/l]							
	nach 4 h	Expositionsende	Zeit nach Expositionsende [h]					15,3
			2 - 4	4 - 6	6 - 8	12 - 14		
8	7,9	16,4	*	5,4	*	*	1,0	
9	7,0	18,4	6,9	*	*	*	0,7	
10	17,6	21,6	*	7,2	3,8	*	2,3	
11	25,7	47,7	*	18,1	4,9	*	2,0	
12	11,8	26,7	12,7	*	*	*	2,9	
13	9,7	27,1	6,7	*	3,4	1,5	1,0	
14	13,8	30,2	16,3	*	5,1	1,9	4,2	
$\bar{x} \pm s$	13,4 ± 6,5	26,9 ± 10,4	10,7 ± 4,7	10,2 ± 6,9	4,3 ± 0,8	1,7 ± 0,3	2,0 ± 1,3	

Proband Nr.	3-Acetylbenzoesäure [mg/l]							
	nach 4 h	Expositionsende	Zeit nach Expositionsende [h]					15,3
			2 - 4	4 - 6	6 - 8	12 - 14		
8	10,3	29,7	*	8,3	*	*	2,0	
9	11,9	33,1	16,0	*	*	*	0,8	
10	25,6	34,6	*	11,2	10,0	*	2,8	
11	8,9	18,9	*	4,7	1,7	*	0,6	
12	8,6	19,3	7,5	*	*	*	2,9	
13	9,8	19,8	2,3	*	1,4	n. n.	n. n.	
14	11,3	29,9	5,2	*	2,1	n. n.	n. n.	
$\bar{x} \pm s$	12,4 ± 6,1	26,6 ± 6,9	7,8 ± 5,9	8,1 ± 3,3	3,8 ± 4,1	n. b.	1,8 ± 1,1	

**Tabelle 64 und 65:** Einzel- und Durchschnittskonzentrationen der 2-(1-Hydroxyethyl)-benzoesäure und 2-Vinylbenzoesäure im Urin [mg/l] für n = 7 Probanden nach Expositionen gegenüber 35 mg 2-Ethyltoluol/m<sup>3</sup> Luft über ein Zeitintervall von 24 Stunden nach Expositionsbeginn

Proband Nr.	2-(1-Hydroxyethyl)-benzoesäure [mg/l]					
	nach 4 h	Expositionsende	Zeit nach Expositionsende [h]			
			2 - 4	6 - 8	8 - 10	15,3
15	7,8	13,3	9,3	*	3,2	0,3
16	9,5	25,1	*	*	8,0	1,1
17	9,9	11,0	*	*	*	0,3
18	6,1	9,3	*	2,1	*	0,4
19	4,7	9,4	*	*	*	0,3
20	3,5	6,5	4,9	3,5	*	0,2
21	6,0	17,0	*	*	*	n. n.
$\bar{x} \pm s$	6,8 ± 2,4	13,1 ± 6,3	7,1 ± 3,1	2,8 ± 1,0	5,6 ± 3,4	0,4 ± 0,

Proband Nr.	2-Vinylbenzoesäure [mg/l]					
	nach 4 h	Expositionsende	Zeit nach Expositionsende [h]			
			2 - 4	6 - 8	8 - 10	15,3
15	3,6	10,2	7,1	*	3,7	0,5
16	6,8	9,4	*	*	3,6	2,2
17	5,7	7,3	*	*	*	1,5
18	4,4	8,7	*	2,9	*	0,8
19	2,9	5,8	*	*	*	0,8
20	2,2	4,6	3,2	1,9	*	1,8
21	3,8	7,9	*	*	*	1,9
$\bar{x} \pm s$	4,2 ± 1,6	7,7 ± 2,0	5,2 ± 2,8	2,4 ± 0,7	3,7 ± 0,1	1,4 ± 0,7

**Tabelle 66 und 67:** Einzel- und Durchschnittskonzentrationen der 2-Ethylhippursäure und 2-Acetylbenzoesäure im Urin [mg/l] für n = 7 Probanden nach Expositionen gegenüber 35 mg 2-Ethyltoluol/m<sup>3</sup> Luft über ein Zeitintervall von 24 Stunden nach Expositionsbeginn

Proband Nr.	2-Ethylhippursäure [mg/l]					
	nach 4 h	Expositionsende	Zeit nach Expositionsende [h]			
			2 - 4	6 - 8	8 - 10	15,3
15	3,1	4,1	2,1	*	1,2	0,6
16	0,7	1,1	*	*	0,6	0,2
17	2,4	3,5	*	*	*	0,9
18	4,2	5,9	*	2,7	*	1,3
19	2,2	4,0	*	*	*	0,2
20	0,9	2,8	3,0	3,1	*	0,8
21	1,5	2,5	*	*	*	1,4
$\bar{x} \pm s$	2,1 ± 1,2	3,4 ± 1,5	2,6 ± 0,6	2,9 ± 0,3	0,9 ± 0,4	0,8 ± 0,5

Proband Nr.	2-Acetylbenzoesäure [mg/l]					
	nach 4 h	Expositionsende	Zeit nach Expositionsende [h]			
			2 - 4	6 - 8	8 - 10	15,3
15	3,1	7,1	2,6	*	1,1	0,9
16	4,7	5,3	*	*	1,1	1,9
17	3,9	6,8	*	*	*	1,1
18	2,2	3,6	*	0,9	*	1,0
19	5,2	8,9	*	*	*	0,8
20	1,1	2,9	1,8	0,9	*	0,9
21	0,8	4,4	*	*	*	1,7
$\bar{x} \pm s$	3,0 ± 1,7	5,6 ± 2,1	2,2 ± 0,6	0,9 ± 0	0,1 ± 0	1,2 ± 0,4

## 8.2 Konzentrationen der relevanten isomeren Ethyltoluolmetabolite bezogen auf den Kreatiningehalt [mg/g Kreatinin]

Die Tabellen 68 – 79 fassen die Einzel- und Durchschnittskonzentrationen der relevanten isomeren Ethyltoluolmetabolite bezogen auf den Kreatiningehalt [mg/g Kreatinin] zusammen.

**Tabelle 68 und 69:** Einzel- und Durchschnittskonzentrationen der 4-(1-Hydroxyethyl)-benzoesäure und 4-Vinylbenzoesäure im Urin [mg/g Kreatinin] für n = 7 Probanden nach Expositionen gegenüber 35 mg 4-Ethyltoluol/m<sup>3</sup> Luft über ein Zeitintervall von 24 Stunden nach Expositionsbeginn

Proband Nr.	4-(1-Hydroxyethyl)-benzoesäure [mg/g Kreatinin]					
	nach 4 h	Expositions- ende	Zeit nach Expositionsende [h]			
			2,5	5,2	12,9	15,3
1	32,2	90,9	*	*	*	3,1
2	44,3	90,4	*	*	*	7,1
3	30,9	51,7	*	*	*	5,1
4	61,7	71,4	*	*	*	5,1
5	64,8	77,6	*	*	*	6,0
6	17,1	79,8	114,2	12,8	11,2	18,8
7	21,3	76,3	*	*	*	3,2
$\bar{x} \pm s$	38,9 ± 18,8	76,9 ± 13,2	n. b.	n. b.	n. b.	6,9 ± 5,4

Proband Nr.	4-Vinylbenzoesäure [mg/g Kreatinin]					
	nach 4 h	Expositions- ende	Zeit nach Expositionsende [h]			
			2,5	5,2	12,9	15,3
1	12,2	52,6	*	*	*	1,6
2	27,3	69,8	*	*	*	4,3
3	17,3	34,9	*	*	*	3,0
4	43,5	49,4	*	*	*	2,5
5	16,3	29,3	*	*	*	6,2
6	13,1	46,7	38,5	14,5	7,4	28,1
7	11,9	28,9	*	*	*	4,1
$\bar{x} \pm s$	20,2 ± 11,5	44,5 ± 14,8	n. b.	n. b.	n. b.	7,1 ± 9,4

**Tabelle 70 und 71:** Einzel- und Durchschnittskonzentrationen der 4-Ethylhippursäure und 4-Acetylbenzoesäure im Urin [mg/g Kreatinin] für n = 7 Probanden nach Expositionen gegenüber 35 mg 4-Ethyltoluol/m<sup>3</sup> Luft über ein Zeitintervall von 24 Stunden nach Expositionsbeginn

Proband Nr.	4-Ethylhippursäure [mg/g Kreatinin]					
	nach 4 h	Expositions- ende	Zeit nach Expositionsende [h]			
			2,5	5,2	12,9	15,3
1	22,6	42,8	*	*	*	0,3
2	32,4	53,7	*	*	*	2,9
3	20,5	19,3	*	*	*	1,5
4	18,2	23,3	*	*	*	3,5
5	31,1	36,2	*	*	*	2,7
6	11,3	46,5	23,5	3,9	4,6	n. n.
7	22,3	48,0	*	*	*	1,3
$\bar{x} \pm s$	22,6 ± 7,3	38,5 ± 13,0	n. b.	n. b.	n. b.	2,0 ± 1,2

Proband Nr.	4-Acetylbenzoesäure [mg/g Kreatinin]					
	nach 4 h	Expositions- ende	Zeit nach Expositionsende [h]			
			2,5	5,2	12,9	15,3
1	19,3	49,8	*	*	*	1,3
2	13,6	28,5	*	*	*	1,4
3	6,7	14,5	*	*	*	1,2
4	29,7	23,6	*	*	*	1,4
5	40,9	46,3	*	*	*	2,4
6	5,2	18,3	5,8	2,2	2,2	15,6
7	6,1	26,1	*	*	*	1,6
$\bar{x} \pm s$	17,4 ± 13,6	29,6 ± 13,5	n. b.	n. b.	n. b.	3,6 ± 5,3

**Tabelle 72 und 73:** Einzel- und Durchschnittskonzentrationen der 3-(1-Hydroxyethyl)-benzoesäure und 3-Vinylbenzoesäure im Urin [mg/g Kreatinin] für n = 7 Probanden nach Expositionen gegenüber 35 mg 3-Ethyltoluol/m<sup>3</sup> Luft über ein Zeitintervall von 24 Stunden nach Expositionsbeginn

Proband Nr.	3-(1-Hydroxyethyl)-benzoesäure [mg/g Kreatinin]						
	nach 4 h	Expositionsende	Zeit nach Expositionsende [h]				15,3
			2 - 4	4 - 6	6 - 8	12 - 14	
8	37,2	65,7	23,2	7,5	*	*	0,7
9	26,0	40,2	*	*	*	*	1,6
10	9,6	21,0	*	17,4	5,1	*	2,5
11	14,2	20,0	*	8,5	9,5	*	0,3
12	32,1	92,0	10,7	*	*	*	1,3
13	38,9	63,8	30,6	*	13,4	n. n.	2,4
14	32,6	55,1	19,3	*	5,3	n. n.	3,7
$\bar{x} \pm s$	27,2 ± 11,3	51,1 ± 26,0	21,0 ± 8,3	11,1 ± 5,5	8,3 ± 3,9	n. b.	1,8 ± 1,2

Proband Nr.	3-Vinylbenzoesäure [mg/g Kreatinin]						
	nach 4 h	Expositionsende	Zeit nach Expositionsende [h]				15,3
			2 - 4	4 - 6	6 - 8	12 - 14	
8	29,6	44,7	*	3,4	*	*	0,6
9	26,0	24,0	13,3	*	*	*	1,6
10	7,2	10,7	*	7,3	3,3	*	0,8
11	10,6	14,9	*	6,5	8,6	*	1,5
12	26,6	67,8	9,9	*	*	*	1,7
13	20,5	36,9	20,7	*	8,9	2,0	0,8
14	21,6	33,9	10,8	*	5,0	n. n.	1,9
$\bar{x} \pm s$	20,3 ± 8,4	33,3 ± 19,4	13,7 ± 4,9	5,7 ± 2,1	6,5 ± 2,7	n. b.	1,3 ± 0,5

**Tabelle 74 und 75:** Einzel- und Durchschnittskonzentrationen der 3-Ethylhippursäure und 3-Acetylbenzoesäure im Urin [mg/g Kreatinin] für n = 7 Probanden nach Expositionen gegenüber 35 mg 3-Ethyltoluol/m<sup>3</sup> Luft über ein Zeitintervall von 24 Stunden nach Expositionsbeginn

Proband Nr.	3-Ethylhippursäure [mg/lg Kreatinin]						
	nach 4 h	Expositionsende	Zeit nach Expositionsende [h]				15,3
			2 - 4	4 - 6	6 - 8	12 - 14	
8	7,6	12,3	*	1,8	*	*	0,3
9	8,5	11,3	5,6	*	*	*	0,3
10	8,6	8,0	*	5,1	1,7	*	1,2
11	13,9	19,6	*	8,3	4,1	*	1,0
12	14,5	52,4	8,7	*	*	*	1,9
13	13,5	23,3	5,9	*	3,6	2,5	0,7
14	15,1	28,4	14,1	*	4,6	1,4	6,0
$\bar{x} \pm s$	11,7 ± 3,3	22,2 ± 15,1	8,6 ± 3,9	5,1 ± 3,3	3,5 ± 1,3	2,0 ± 0,8	1,6 ± 2,0

Proband Nr.	3-Acetylbenzoesäure [mg/g Kreatinin]						
	nach 4 h	Expositionsende	Zeit nach Expositionsende [h]				15,3
			2 - 4	4 - 6	6 - 8	12 - 14	
8	9,8	22,2	*	2,6	*	*	0,7
9	14,4	20,5	13,1	*	*	*	0,4
10	12,5	12,8	*	8,0	4,4	*	1,5
11	4,6	7,7	*	2,2	1,4	*	0,3
12	10,6	37,8	5,1	*	*	*	1,9
13	13,6	17,1	2,0	*	1,5	n. n.	n. n.
14	12,4	28,1	4,5	*	1,9	n. n.	n. n.
$\bar{x} \pm s$	11,1 ± 3,3	20,9 ± 9,9	6,2 ± 4,8	4,3 ± 3,2	2,3 ± 1,4	n. b.	1,0 ± 0,7

**Tabelle 76 und 77:** Einzel- und Durchschnittskonzentrationen der 2-(1-Hydroxyethyl)-benzoesäure und 2-Vinylbenzoesäure im Urin [mg/g Kreatinin] für n = 7 Probanden nach Expositionen gegenüber 35 mg 2-Ethyltoluol/m<sup>3</sup> Luft über ein Zeitintervall von 24 Stunden nach Expositionsbeginn

Proband Nr.	2-(1-Hydroxyethyl)-benzoesäure [mg/g Kreatinin]					
	nach 4 h	Expositionsende	Zeit nach Expositionsende [h]			
			2 - 4	6 - 8	8 - 10	15,3
15	33,3	129,1	16,4	*	3,1	0,2
16	6,7	19,4	*	*	4,3	1,0
17	5,6	9,8	*	*	*	0,2
18	16,5	8,0	*	1,1	*	0,2
19	3,2	3,6	*	*	*	0,1
20	8,8	10,4	4,7	1,9	*	0,2
21	5,2	10,5	*	*	*	n. n.
$\bar{x} \pm s$	11,3 ± 10,6	27,3 ± 45,2	10,6 ± 8,3	1,5 ± 0,6	3,7 ± 0,8	0,3 ± 0,3

Proband Nr.	2-Vinylbenzoesäure [mg/g Kreatinin]					
	nach 4 h	Expositionsende	Zeit nach Expositionsende [h]			
			2 - 4	6 - 8	8 - 10	15,3
15	15,4	99,0	12,5	*	2,8	0,3
16	4,8	7,3	*	*	1,2	2,0
17	3,2	6,5	*	*	*	1,0
18	11,9	7,4	*	1,5	*	0,3
19	2,0	2,3	*	*	*	0,4
20	5,5	7,3	3,1	1,0	*	2,2
21	3,3	4,9	*	*	*	1,0
$\bar{x} \pm s$	6,6 ± 5,1	19,2 ± 35,2	7,8 ± 6,6	1,3 ± 0,4	2,8 ± 1,2	1,0 ± 0,8

**Tabelle 78 und 79:** Einzel- und Durchschnittskonzentrationen der 2-Ethylhippursäure und 2-Acetylbenzoesäure im Urin [mg/g Kreatinin] für n = 7 Probanden nach Expositionen gegenüber 35 mg 2-Ethyltoluol/m<sup>3</sup> Luft über ein Zeitintervall von 24 Stunden nach Expositionsbeginn

Proband Nr.	2-Ethylhippursäure [mg/g Kreatinin]					
	nach 4 h	Expositionsende	Zeit nach Expositionsende [h]			
			2 - 4	6 - 8	8 - 10	15,3
15	13,2	39,8	3,7	*	1,2	0,3
16	0,5	0,8	*	*	0,3	0,2
17	1,4	3,1	*	*	*	0,6
18	11,4	5,0	*	1,4	*	0,5
19	1,5	1,6	*	*	*	0,1
20	2,3	4,5	2,9	1,7	*	1,0
21	1,3	1,5	*	*	*	0,7
$\bar{x} \pm s$	4,5 ± 5,4	8,0 ± 14,1	3,3 ± 0,6	1,6 ± 0,2	0,8 ± 0,6	0,5 ± 0,3

Proband Nr.	2-Acetylbenzoesäure [mg/g Kreatinin]					
	nach 4 h	Expositionsende	Zeit nach Expositionsende [h]			
			2 - 4	6 - 8	8 - 10	15,3
15	13,2	68,9	4,6	*	1,1	0,5
16	3,3	4,1	*	*	0,6	1,7
17	2,2	6,0	*	*	*	0,7
18	5,9	3,1	*	0,5	*	0,4
19	3,6	3,5	*	*	*	0,4
20	2,8	4,6	1,7	0,5	*	1,1
21	0,7	2,7	*	*	*	0,9
$\bar{x} \pm s$	4,5 ± 4,1	13,3 ± 24,6	3,2 ± 2,1	0,5 ± 0	0,9 ± 0,4	0,8 ± 0,5

### 8.3 Werte der nach Logarithmierung erhaltenen Regressionsgeraden und Halbwertszeiten der isomeren Ethyltoluole

**Tabelle 80:** Achsenabschnitte a, Steigungen b und Korrelationskoeffizienten r der Regressionsgeraden der 4-Ethyltoluolmetabolite sowie deren Halbwertszeiten

Metabolit	4-Ethyltoluol		Korrelationskoeffizient r	Halbwertszeit $t_{1/2}$ [h]
	Achsenabschnitt a	Steigung b		
4-(1-Hydroxyethyl)benzoesäure	$4,40 \pm 0,27$	$-0,19 \pm 0,03$	-0,88	$3,63 \pm 0,50$
4-Vinylbenzoesäure	$3,80 \pm 0,24$	$-0,17 \pm 0,02$	-0,89	$4,11 \pm 0,55$
4-Ethylhippursäure	$3,55 \pm 0,33$	$-0,20 \pm 0,03$	-0,85	$3,53 \pm 0,59$
4-Acetylbenzoesäure	$3,10 \pm 0,35$	$-0,18 \pm 0,03$	-0,81	$3,84 \pm 0,72$

**Tabelle 81:** Achsenabschnitte a, Steigungen b und Korrelationskoeffizienten r der Regressionsgeraden der 3-Ethyltoluolmetabolite sowie deren Halbwertszeiten

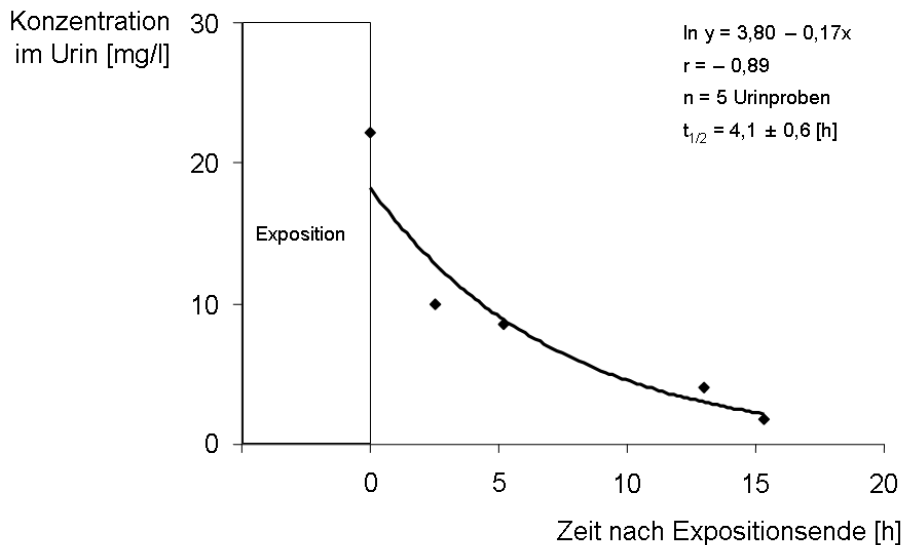
Metabolit	3-Ethyltoluol		Korrelationskoeffizient r	Halbwertszeit $t_{1/2}$ [h]
	Achsenabschnitt a	Steigung b		
3-(1-Hydroxyethyl)benzoesäure	$3,91 \pm 0,19$	$-0,22 \pm 0,02$	-0,89	$3,17 \pm 0,32$
3-Vinylbenzoesäure	$3,45 \pm 0,11$	$-0,19 \pm 0,01$	-0,94	$3,56 \pm 0,24$
3-Ethylhippursäure	$2,88 \pm 0,16$	$-0,17 \pm 0,02$	-0,87	$4,06 \pm 0,44$
3-Acetylbenzoesäure	$2,76 \pm 0,21$	$-0,18 \pm 0,03$	-0,80	$3,79 \pm 0,57$

**Tabelle 82:** Achsenabschnitte a, Steigungen b und Korrelationskoeffizienten r der Regressionsgeraden der 2-Ethyltoluolmetabolite sowie deren Halbwertszeiten

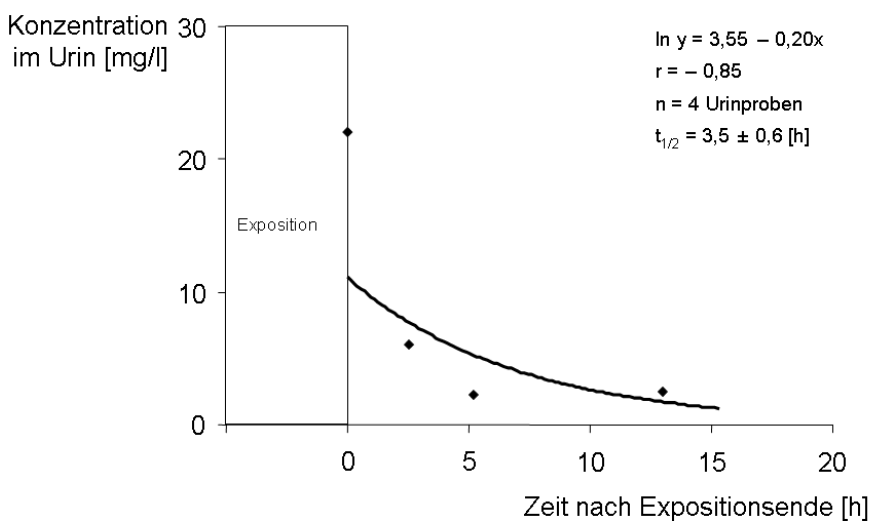
Metabolit	2-Ethyltoluol		Korrelations- koeffizient r	Halbwertszeit $t_{1/2}$ [h]
	Achsen- abschnitt a	Steigung b		
2-(1-Hydroxyethyl)- benzoesäure	2,53 ± 0,17	-0,22 ± 0,02	-0,93	3,14 ± 0,28
2-Vinylbenzoesäure	1,98 ± 0,12	-0,12 ± 0,01	-0,89	5,93 ± 0,68
2-Ethylhippursäure	1,17 ± 0,19	-0,11 ± 0,02	-0,76	6,42 ± 1,21
2-Acetylbenzoesäure	1,35 ± 0,17	-0,09 ± 0,02	-0,75	7,45 ± 1,49

## 8.4 Darstellung der Elimination der isomeren Ethyltoluolmetabolite im Urin

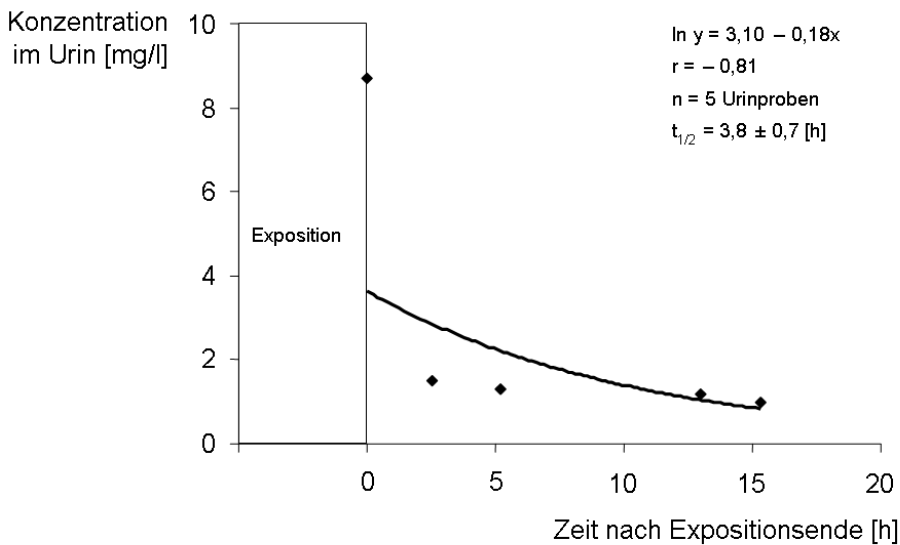
Die Elimination der isomeren 1-Hydroxyethylbenzoesäuren sind in den Abbildungen 22, 24 und 26 auf den Seiten 70, 79 und 88 im Ergebnisteil dargestellt. Die folgenden Abbildungen zeigen die Elimination der übrigen relevanten isomeren Ethyltoluolmetabolite.



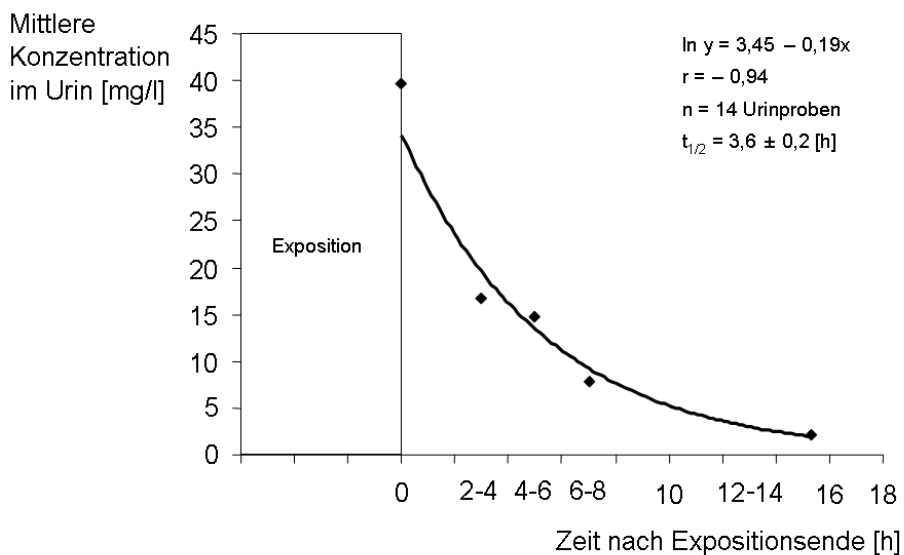
**Abbildung 28:** Eliminationskurve der 4-Vinylbenzoesäure im Urin [mg/l Urin] eines Probanden nach Expositionsende nach Expositionen gegenüber 35 mg 4-Ethyltoluol/m<sup>3</sup> Luft



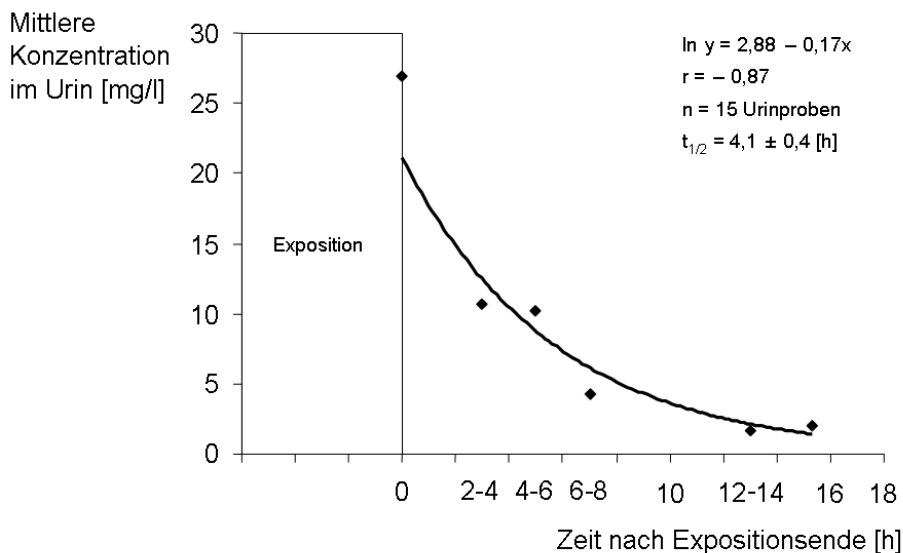
**Abbildung 29:** Eliminationskurve der 4-Ethylhippursäure im Urin [mg/l Urin] eines Probanden nach Expositionsende nach Expositionen gegenüber 35 mg 4-Ethyltoluol/m<sup>3</sup> Luft



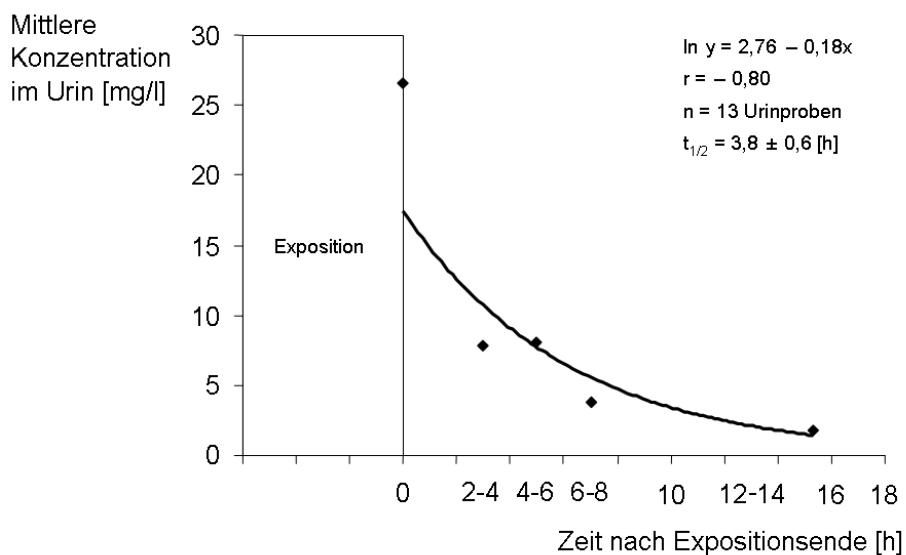
**Abbildung 30:** Eliminationskurve der 4-Acetylbenzoesäure im Urin [mg/l Urin] eines Probanden nach Expositionsende nach Expositionen gegenüber 35 mg 4-Ethyltoluol/m<sup>3</sup> Luft



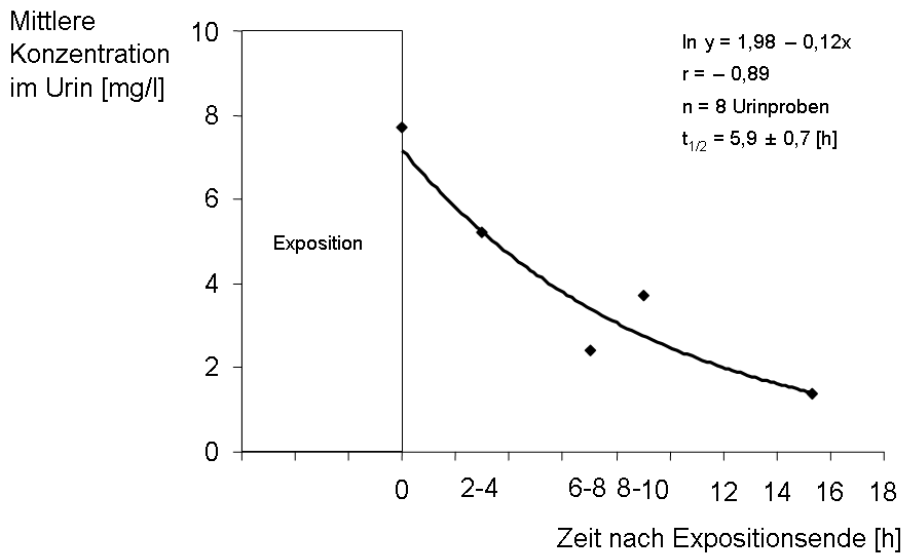
**Abbildung 31:** Eliminationskurve der Durchschnittskonzentrationen der 3-Vinylbenzoesäure im Urin [mg/l] der  $n = 7$  Probanden nach Expositionsende nach Expositionen gegenüber 35 mg 3-Ethyltoluol/m<sup>3</sup> Luft. (Auf der x-Achse sind neben Zeitpunkten auch Zeitintervalle angegeben, in denen von den Probanden Urinproben abgegeben wurden).



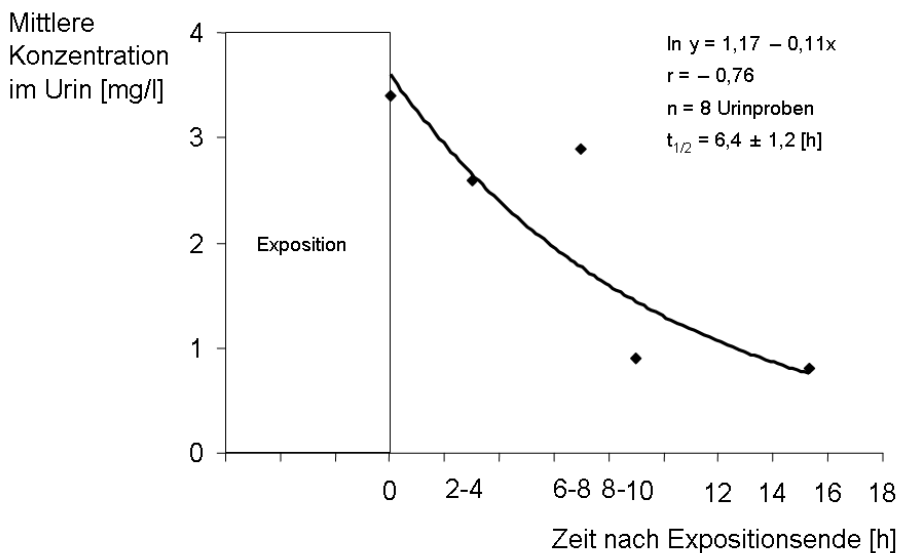
**Abbildung 32:** Eliminationskurve der Durchschnittskonzentrationen der 3-Ethylhippursäure im Urin [mg/l] der  $n = 7$  Probanden nach Expositionsende nach Expositionen gegenüber  $35 \text{ mg 3-Ethyltoluol/m}^3$  Luft. (Auf der x-Achse sind neben Zeitpunkten auch Zeitintervalle angegeben, in denen von den Probanden Urinproben abgegeben wurden).



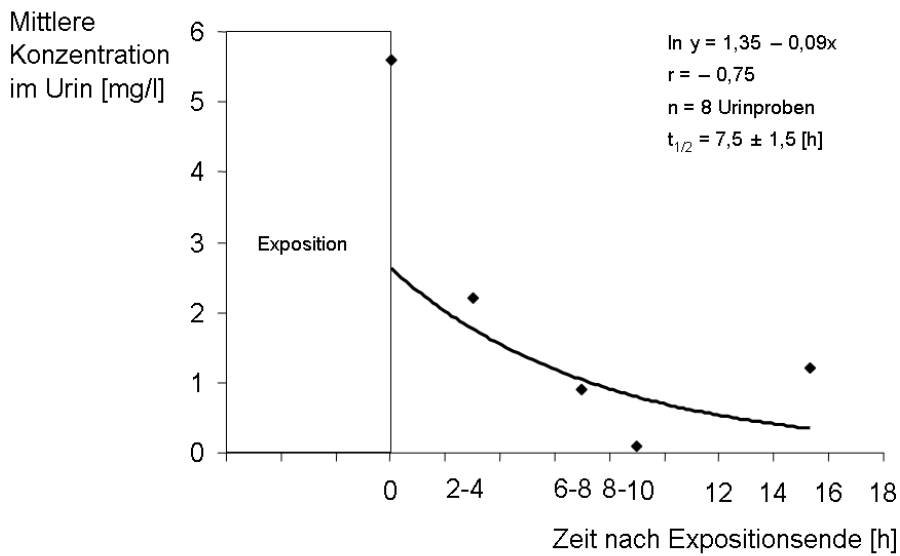
**Abbildung 33:** Eliminationskurve der Durchschnittskonzentrationen der 3-Acetylbenzoesäure im Urin [mg/l] der  $n = 7$  Probanden nach Expositionsende nach Expositionen gegenüber  $35 \text{ mg 3-Ethyltoluol/m}^3$  Luft. (Auf der x-Achse sind neben Zeitpunkten auch Zeitintervalle angegeben, in denen von den Probanden Urinproben abgegeben wurden).



**Abbildung 34:** Eliminationskurve der Durchschnittskonzentrationen der 2-Vinylbenzoesäure im Urin [mg/l] der  $n = 7$  Probanden nach Expositionsende nach Expositionen gegenüber  $35 \text{ mg 2-Ethyltoluol/m}^3$  Luft. (Auf der x-Achse sind neben Zeitpunkten auch Zeitintervalle angegeben, in denen von den Probanden Urinproben abgegeben wurden).



**Abbildung 35:** Eliminationskurve der Durchschnittskonzentrationen der 2-Ethylhippursäure im Urin [mg/l] der  $n = 7$  Probanden nach Expositionsende nach Expositionen gegenüber  $35 \text{ mg 2-Ethyltoluol/m}^3$  Luft. (Auf der x-Achse sind neben Zeitpunkten auch Zeitintervalle angegeben, in denen von den Probanden Urinproben abgegeben wurden).



**Abbildung 36:** Eliminationskurve der Durchschnittskonzentrationen der 2-Acetylbenzoesäure im Urin [mg/l] der  $n = 7$  Probanden nach Expositionsende nach Expositionen gegenüber  $35 \text{ mg 2-Ethyltoluol/m}^3$  Luft. (Auf der x-Achse sind neben Zeitpunkten auch Zeitintervalle angegeben, in denen von den Probanden Urinproben abgegeben wurden).

## 9 Literaturverzeichnis

1. Angerer J, Lehnert G. Occupational chronic exposure to organic solvents. VIII. Phenolic compounds-metabolites of alkylbenzenes in man. Simultaneous exposure to ethylbenzene and xylenes. *Int. Arch. Occup. Environ. Health.* 43:145-150, 1979
2. Angerer J. Prävention beruflich bedingter Gesundheitsschäden durch Benzol, Toluol, Xylole und Ethylbenzol. Habilitationsschrift. Gentner Verlag Stuttgart, 1983
3. Antti-Poika M, Kalliokoski P, Hänninen O. Toluene. In: Ethel Browning's Toxicity and metabolism of industrial solvents. Ed: Snyder R. Second edition. Vol 1:Hydrocarbons. Elsevier Publishing Company Amsterdam London New York, 1987
4. Åstrand I, Engström J, Övrum P. Exposure to benzene and ethylbenzene. I. Uptake, distribution and elimination in man. *Scand J Work Environ Health.* 4: 185-194, 1978
5. Åstrand I, Gamberale F. Effects on humans of solvents in the inspiratory air: A method for estimation of uptake. *Environm Res.* 15: 1-4, 1978
6. Backes W L, Sequeira D J, Cawley G F, Eyer C S. Relationship between hydrocarbon structure and induction of P 450: effects on protein levels and enzyme activities. *Xenobiotica.* 23 (12): 1353-1366, 1993
7. Bakke O M, Scheline R R. Hydroxylation of aromatic hydrocarbons in the rat. *Toxicology and Applied Pharmacology.* 16: 691-700, 1970
8. Bardodej Z, Bardodejova E. Biotransformation of Ethyl Benzene, Styrene and Alpha-Methylstyrene in Man. *Am Ind Hyg Ass J.* 31: 206-209, 1970
9. Baselt R C. Biological Monitoring Methods for Industrial Chemicals. Biomedical Publications. California. 137-139, 254-257, 1980

10. Berufsgenossenschaftliche Grundsätze für arbeitsmedizinische Vorsorgeuntersuchungen. Arbeitsmedizinische Vorsorge. 3. Auflage. Gentner Verlag Stuttgart, 2004
11. Bolm-Audorff et al.. Die Zuverlässigkeit des Kreatininbezugs von BAT-Werten im Harn. In: Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für Arbeitsmedizin e.V. 26.Jahrestagung. Hamburg. 7-10.April 1986. Gentner Verlag Stuttgart, 1986
12. Bolt H M, Drexler H. Toxikokinetische Grundlagen (Aufnahme, Verteilung, Stoffwechsel, Ausscheidung). In: Biologisches Monitoring in der Arbeitsmedizin Hrsg.: Arbeitsgruppe Aufstellung von Grenzwerten in biologischem Material.1. Auflage. Gentner Verlag Stuttgart, 2000
13. Bolt H M, Riemer F, Schaller K H. Wechselwirkungen von Arbeitsstoffen untereinander und Beeinflussung durch Lifestyle Faktoren. In: Biologisches Monitoring in der Arbeitsmedizin. Hrsg.: Arbeitsgruppe Aufstellung von Grenzwerten in biologischem Material.1. Auflage. Gentner Verlag Stuttgart, 2000
14. Böckelmann I, Peter B, Pfister E, Peters B. Herzkreislaufparameter als Beanspruchungsindikatoren bei lösemittel-exponierten Siebdruckern. In: Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für Arbeitsmedizin und Umweltmedizin e.V. gemeinsam mit der österreichischen Gesellschaft für Arbeitsmedizin. 44 Jahrestagung. Innsbruck. 21.-24. April 2004. Arbeitsmedizinisches Zentrum Hall in Tirol, 2004
15. Bundesarbeitsblatt. Teil 2. Luftgrenzwerte für Kohlenwasserstoff-Gemische (in der Regel Verwendung als Lösemittel). BArBl. 3: 74-76, 2003
16. Carlsson A, Lindqvist T. Exposure of animals and man to toluene. Scand J Work Environ and Health. 3: 135-143, 1977
17. Carlsson A. Exposure to toluene. Uptake, distribution and elimination in man. Scand J Work Environ Health. 8: 43-55, 1982

18. Clark D G, Butterworth S T, Martin J G, Roderick H R, Bird M G. Inhalation toxicity of high flash aromatic naphtha. *Toxicology and Industrial Health*. 5 (3): 415-428, 1989
19. Csanády G A, Filser J G. The relevance of physical activity for the kinetics of inhaled gaseous substances. *Arch Toxicol*. 74: 663-672, 2001
20. Deutsche Forschungsgemeinschaft. Allgemeine Vorbemerkungen. In: DFG. Biologische Arbeitsstoff-Toleranz-Werte (BAT-Werte), Expositionsäquivalente für krebserzeugende Arbeitsstoffe (EKA) und Biologische Leitwerte (BLW). Arbeitsmedizinisch-toxikologische Begründungen. Hrsg.: Drexler H, Greim H. Band 1. Wiley- VCH- Verlag, 2004
21. Deutsche Forschungsgemeinschaft. Spezielle Vorbemerkungen. Die Bedeutung der Arbeitsleistung für die Inhalationskinetik. In: DFG. Biologische Arbeitsstoff-Toleranz-Werte (BAT-Werte), Expositionsäquivalente für krebserzeugende Arbeitsstoffe (EKA) und Biologische Leitwerte (BLW). Arbeitsmedizinisch-toxikologische Begründungen. Hrsg.: Drexler H, Greim H. Band 1. Wiley-VCH-Verlag, 2004
22. Deutsche Forschungsgemeinschaft. MAK- und BAT-Werte-Liste 2007. Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe. Mitteilung 43. WILEY-VCH- Verlag Weinheim, 2007
23. Doenecke D, Koolman J, Fuchs G, Gerok W. Karlsons Biochemie und Pathobiochemie. 15. komplett überarbeitete und neu gestaltete Auflage. Georg Thieme Verlag Stuttgart New York. 343-355, 676-677, 2005
24. Drexler H, Angerer J, Schaller K H, Lehnert G. Biologische Arbeitsstoff-Toleranzwerte (Biomonitoring). Teil 1: Erfassung der individuellen Resorption. In: Biologisches Monitoring in der Arbeitsmedizin Hrsg.: Arbeitsgruppe Aufstellung von Grenzwerten in biologischem Material.1. Auflage. Gentner Verlag Stuttgart, 2000
25. Drexler H, Pinter H, Angerer J, Letzel S. Biologisches Monitoring: Rechtliche Grundlagen. In: Biologisches Monitoring in der Arbeitsmedizin Hrsg.: Arbeitsgruppe Aufstellung von Grenzwerten in biologischem Material.1. Auflage. Gentner Verlag Stuttgart, 2000

26. Droz P O. Biological Monitoring I. Sources of variability in human response to chemical exposure. *Applied Industrial Hygiene*. 4 (1): 20-26, 1989
27. Engström K. Metabolism of inhaled ethylbenzene in rats. *Scand J Work Environ Health*. 10: 83-87, 1984
28. Engström K, Riihimäki V, Laine A. Urinary disposition of ethylbenzene and m-xylene in man following separate and combined exposure. *Int Arch Occup Environ Health*. 54: 355-363, 1984
29. Fiserova-Bergerova V, Vlach J, Cassady J C. Predictable "individual differences" in uptake and excretion of gases and lipid soluble vapours simulation study. *British Journal of Industrial Medicine*. 37: 42-49, 1980
30. Fiserova-Bergerova V. Modeling of Inhalation Exposure to Vapours: Uptake, Distribution and Elimination. Volume II. CRP- Press Boca Rato Florida, 1983
31. Fiserova-Bergerova V. Effects of Biosolubility on Pulmonary Uptake and Disposition of Gases and Vapors of Lipophilic Chemicals. *Drug Metabolism Reviews*. 15 (5 & 6): 1033-1070, 1984
32. Fiserova-Bergerova V, Pierce J T, Droz P O. Dermal absorption potential of industrial chemicals: Criteria for skin notation. *American Journal of Industrial Medicine*. 17: 617-635, 1990
33. Fiserova-Bergerova V. Biological Monitoring VIII. Interference of Alcoholic Beverage Consumption with Biological Monitoring of Occupational Exposure to Industrial Chemicals. *Appl Occup Environ Hyg*. 8 (9): 757-759, 1993
34. Gerarde H W, Linden N J. Toxicological Studies on Hydrocarbons. III. The Biochemorphology of the phenylalkanes and phenylalkenes. A M A. *Archives of Industrial Health*. 19: 403-418, 1959
35. Gerarde HW. Toxicology and biochemistry of aromatic hydrocarbons. Elsevier Amsterdam, 1960

36. Golka K, Seeber A, Kiesswetter E, Bolt H M. Zur Begutachtung eines lösemittelbedingten hirnnorganischen Psychosyndroms. In: Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für Arbeitsmedizin e.V. 32 Jahrestagung, Köln, 18.-21. Mai 1992. Gentner Verlag Stuttgart, 1992
37. Greim H, Deml E. Toxikologie. Eine Einführung für Naturwissenschaftler und Mediziner. VCH-Verlag Weinheim New York Basel Cambridge Tokyo, 1996
38. Grimm A F. Standardisierte i-Propylbenzol-Exposition zur Evaluierung eines biologischen Arbeitsstoff-Toleranzwertes. Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin des Fachbereichs Humanmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen. Gießen, 2000
39. Henschler D. Bedeutung des Biologischen Monitoring. In: Biological Monitoring. Heutige und künftige Möglichkeiten in der Arbeits- und Umweltmedizin. Hrsg.: DFG. Wiley- VCH Verlag, 2001
40. Indulski J A, Sińczuk-Walczak H, Szymczak M, Wesółowski W, Neurological and neurophysiological examinations of workers occupationally exposed to organic solvent mixtures used in the paint and varnish production. International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health. 9 (3): 235-244, 1996
41. Ioffe B V, Isidorov V A, Zenkevich I G. Certain regularities in the composition of volatile organic pollutants in the urban atmosphere. Environ Sci Technol. 13: 864-868, 1979
42. Jakubowski M, Wieczorek H. The effects of physical effort on pulmonary uptake of selected organic compound vapours. Polish Journal of Occupational Medicine. 1(1): 62-71, 1988
43. Jakubowski M, Trzcinka-Ochocka M. Biological Monitoring of exposure: trends and key developments. J Occup Health. 47: 22-48, 2005
44. Jang J Y, Droz P O, Kim S. Biological Monitoring of workers exposed to ethylbenzene and coexposed to xylene. Int Arch Occup Environ Health. 74 (1): 31-37, 2001

45. Janik-Spiechowicz E, Wyszynska K. Gentoxicity of Farbasol and its component: 4-ethyltoluene. *Mutation Research*. 417: 95-100, 1998
46. Järnberg J, Johanson G. Liquid / Air Partition Coefficients of the Trimethylbenzenes. *Toxicology and Industrial Health*. 11 (1): 81-88, 1995
47. Kiesswetter E, Blaszkewicz M, Golka K, Seeber, A. Lösemittelgemische in Druckfarben: Wirkungen nach mehrjähriger Exposition. In: *Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für Arbeitsmedizin e.V. 32. Jahrestagung, Köln, 18.-21. Mai 1992*. Gentner Verlag Stuttgart, 1992
48. Kitteringham N R, Pirmohamed M, Park B K. The pharmacology of the cytochrome P 450 enzyme system. *Baillière`s Clinical Anaesthesiology*. 12 (2): 191-211, 1998
49. Klinke R, Silbernagel S. *Lehrbuch der Physiologie*. 2. neu gestaltete und überarbeitete Auflage. Georg Thieme Verlag Stuttgart New York. 247-248, 1996
50. Knecht U, Otto C, Weitowitz H J. Wirkung von Ethanol auf den n-Hexanabbau. Bericht über die 29. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Arbeitsmedizin. Gentner Verlag Stuttgart. 329-330, 1989
51. Knecht U. Solvent exposure and alcohol consumption at the workplace – An influence on the risk assessment by biological monitoring. Scientific Conference: “Actual Questions of Occupational Pathology”, 18. -20.12.1990, Riga, UdSSR. Kurzfassung. In: Izmerov N, Pankova V (eds.). *Conference Proceedings, Issue 42, Vol. 3: 4-5*. Riga, 1990
52. Knecht U, Ulshöfer A. Biomonitoring nach iso-Propylbenzol-Einwirkung. Bericht über die 36. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Arbeitsmedizin. Gentner Verlag Stuttgart. 225-227, 1996
53. Knecht U. Standardized examinations on the percutaneous absorption of solvents via gas-phase. Example: Styrene. 3<sup>rd</sup> International conference. *Global Safety. Proceedings*. Bled. Slovenien, 22. -24.06.1998

54. Knecht U, Südmeyer L, Voitowitz H J. The influence of physical activity on the conception of the MAK and BAT values. *Eur J Oncol.* 4 (5) : 599-602, 1999
55. Knecht U, Reske A., Voitowitz H J. Biological monitoring of standardized exposure to ethylbenzene: evaluation of a biological tolerance (BAT) value. *Arch. Toxicol.* 73: 632-640, 2000
56. Knecht U, Voitowitz H J. Human toxicokinetics of inhaled monochlorobenzene: latest experimental findings regarding re-evaluation of the biological tolerance value. *Int. Arch. Occup. Environ. Health.* 73: 507-518, 2000
57. Lam C W, Galen T J, Boyd J F, Pierson D. Mechanism of transport and distribution of organic solvents in blood. *Toxicology and Applied Pharmacology.* 104: 117-129, 1990
58. Lauwerys R R, Hoet P. Industrial chemical exposure. Guidelines for biological monitoring. 2<sup>nd</sup> edition. Lewis Publishers Boca Raton Ann Arbor London Tokyo, 1993
59. Löffler G, Petrides P E. Biochemie und Pathobiochemie. 7. völlig neu bearbeitete Auflage. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York. 990-992, 2003
60. Marquardt H, Schäfer S. Lehrbuch der Toxikologie. 2. Auflage. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, 2004
61. Marzulli F N, Mailbach H I. Dermatotoxicology. 2<sup>nd</sup> edition. Hemisphere Publishing Corp. Washington D C, 1983
62. Miksche L W, Meyer G, Perlebach E. Biomonitoring im Rahmen des Gesundheitsschutzes am Arbeitsplatz. *Arbeitsmed. Sozialmed. Umweltmed.* 28: 388-391, 1993
63. Nakajima T, Sato A. Enhanced activity of liver drug-metabolizing enzymes for aromatic and chlorinated hydrocarbons following food deprivation. *Toxicol Appl Pharmacol.* 50: 549-556, 1979

64. Nakajima T. Cytochrome P450 isoforms and the metabolism of volatile hydrocarbons of low relative molecular mass. *J Occup Health.* 39: 83-91, 1997
65. Nise G, Orbaek P. Toluene in venous blood during and after work in rotogravure printing. *Int. Arch. Occup. Environ. Health.* 60:31, 1988
66. Nomiyama K, Nomiyama H. Respiratory retention, uptake and excretion of organic solvents in man. *Int Arch Arbeitsmed.* 32: 75-83, 1974
67. Parmeggiani L. *Encyclopaedia of Occupational Health and Safety. A-K.* 3. Edition, Volume 1. International Labour Organisation Geneva, 1983
68. Parmeggiani L. *Encyclopaedia of Occupational Health and Safety. L-Z.* 3. Edition, Volume 2. International Labour Organisation Geneva, 1983
69. Pezzagno G, Imbriani M, Ghittori S, Capodaglio E. Urinary Concentration, Environmental Concentration, and Respiratory Uptake of Some Solvents: Effect of the Work Load. *Am Ind Hyg Assoc.* 49 (11): 546-552, 1988
70. Pyykkö K, Tähti H, Vapaatalo H. Toluene concentrations in various tissues of rats after inhalative and oral administration. *Arch Toxicol.* 38: 169-176, 1977
71. Reske A D. Biologisches Monitoring nach standardisierter Ethylbenzol-Einwirkung. Untersuchungen zur Evaluierung eines biologischen Arbeitsstoff-Toleranz-Wertes. Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin des Fachbereichs Humanmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen, 1996
72. Rettenmaier A W, Wodarz R, Drysch K, Schmahl F W. Orale Intoxikation mit Alkylbenzolen- eine Fallstudie. In: *Arbeitsmedizin und Umweltmedizin.* Hrsg.: Triebig G, Stelzner O. Bericht über die 33. Jahrestagung für Arbeits- und Umweltmedizin. Gentner Verlag Stuttgart, 1993
73. Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung quantitativer laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen. Bundesärztekammer. Dt. Ärztebl.100. A3335-A3338, 2003

74. Riihimäki V, Pfäffli P. Percutaneous absorption of solvent vapors in man. *Scand j work environ and health*. 4: 73-85, 1978
75. Sato A, Nakajima T. Partition coefficients of some aromatic hydrocarbons and ketones in water, blood and oil. *Br J Ind Med*. 36: 231-234, 1979
76. Sato A, Nakajima T, Koyama Y. Effects of chronic ethanol consumption on hepatic metabolism of aromatic and chlorinated hydrocarbons in rats. *Br J Ind Med*. 37: 382-386, 1980
77. Sato A, Nakajima T. Pharmacokinetics of organic solvent vapors in relation to their toxicity. *Scand J Work Environ Health*. 13: 81-93, 1987
78. Schiller K H, Angerer J, Lehnert G. Bio- Monitoring in der Arbeits- und Umweltmedizin. *Handbuch betriebsärztlicher Dienst*. 41. IV- 2.20.11: 25-37, Erg.-Lfg. 6/1995
79. Schaller K H, Triebig G. Biologische Arbeitsstoff-Toleranzwerte (Biomonitoring) Teil IX: Arbeitsmedizinische Bewertung von organischen Lösungsmittelgemischen. *Arbeitsmed Sozialmed Umweltmed*. 31(12), 1996
80. Scheuplein R J, Blank I H. Permeability of the skin. *Physiol rev*. 51: 702-747, 1971
81. Seeber A, Blaszkewicz M, Golka K, Kiesswetter E. Exposition gegenüber Lösemittelgemischen : Vergleich von Kurzzeit- und Langzeiteffekten an einer Stichprobe. In: *Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für Arbeitsmedizin und Umweltmedizin e.V. 33. Jahrestagung, Wiesbaden, 10.-13. Mai 1993*. Gentner Verlag Stuttgart, 1993
82. Sequeira D J, Eyer C S, Cawley G F, Nick T G, Backes W L. Ethylbenzene-mediated induction of cytochrome P 450 isozymes in male and female rats. *Biochemical Pharmacology*. 44 (6): 1171-1182, 1992

83. Świercz R, Rydzyński K, Jajte J, Stetkiewicz J, Majcherek W. Studies on dermal, ocular and respiratory effects of 4-Ethyltoluene in experimental animals. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health*. 13 (4): 307-315, 2000
84. Tomas T, Świercz R, Wiaderna D. Zmiany w czynności bioelektrycznej kory mózgowej królika po dootrzewnowych iniekcjach rozpuszczalników organicznych. *Medycyna Pracy*. 48 (3), 1997
85. TRGS 710. Biomonitoring. *BArbBL*. 2: 60-62, 2000
86. TRGS 901. Änderung der TRGS 901. 72. Luftgrenzwerte für kohlenwasserstoffhaltige Gemische. Teil 2 Luftgrenzwerte für Kohlenwasserstoff-Gemische (in der Regel Verwendung als Lösemittel). *BArBl*. 3: 72, 2003
87. TRGS 903. Biologische Arbeitsplatztoleranzwerte- BAT- Werte. *BArbBL*. 4: 53-56, 2001, zuletzt geändert 5: 62, 2004
88. Triebig G. Die Erlanger Spritzlackierer-Studie. Eine multidisziplinäre Querschnittsuntersuchung zur Neurotoxizität von organischen Lösemitteln bei Spritzlackierarbeiten. *Arbeitsmedizin Sozialmedizin Präventivmedizin Sonderheft 13*. Gentner Verlag Stuttgart, 1989
89. Tsani-Bazaca E, McIntyre A, Lester J, Perry R. Ambient concentrations and correlations of hydrocarbons and halocarbons in the vicinity of an airport. *Chemosphere*. 11 (1): 11-23, 1982
90. Uhlich H F W. Biologisches Monitoring anhand von Leitkomponenten nach standardisierten Expositionen gegenüber einem aromatischen Kohlenwasserstoffgemisch. Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin des Fachbereichs Humanmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen, 2006
91. Ungváry G, Tátrai E, Lőrincz M, Fittler Z, Fittlerzsuzsa, Barcza G. Egy új aromás C9 keverék, az Aromatol embriotoxikus hatásának vizsgálata. *Egészségtudomány*. 27: 138-148, 1983

92. Valentin H, Klosterkötter W, Lehnert G, Petry H, Rutenfranz J, Weber G, Wenzel H G, Wittgens H. Grundlagen für Prävention und Begutachtung. Band 1. Georg Thieme Verlag Stuttgart, 1979
93. White R E, Coon, M J. Oxygen activation by cytochrome P-450. Annu Rev Biochem. 49, 315-356, 1980
94. Weihrauch M, Schulze B, Schaller K H , Lehnert G. Kreatinin als Bezugsgröße für Stoffkonzentrationen im Harn. In: DFG. Biologische Arbeitsstoff-Toleranzwerte. Hrsg.: Henschler, Lehnert. Band 1: 21-31. Verlag der Chemie, 1998
95. Zahlsen K, Eide I, Nilsen A M, Nilsen OG. Inhalation kinetics of C6 to C10 aliphatic, aromatic and naphthenic hydrocarbons in rat after repeated exposures. Pharmacol Toxicol. 71(2): 144-149, 1992
96. Zenser L P, Lang A Knecht U. N-Acetyl-S-(dichlorphenyl)cysteines as suitable biomarkers for the monitoring of occupational exposure to 1,2-dichlorbenzene. Int. Arch. Occup. Environ Health. 69: 252-254, 1997

## **10 Danksagung**

Besonders danken möchte ich Herrn Privatdozent Dr. Dr. U. Knecht für die Bereitstellung des Themas, die laufende Unterstützung der Arbeit, die wertvolle Diskussion der Ergebnisse und das stets motivierende Interesse.

Postum möchte ich Herrn J. Nitsch für die vielfältigen praktischen Hilfestellungen bei den gaschromatographischen Untersuchungen danken.

Weiterhin danke ich allen Probanden, die sich für die Expositionsversuche zur Verfügung gestellt haben.

# 11 Lebenslauf

## Persönliche Daten

Name	Coester
Vorname	Eva-Maria Gisela
Geburtsdatum	25.08.1977
Geburtsort	Diez/ Rhein-Lahn-Kreis

## Schulbildung

09.1984 – 06.1988	Grundschule , Hünfelden-Dauborn
09.1988 – 06.1997	Gymnasium, Limburg/Lahn

## Hochschulbildung

10.1997 – 11.2005	Studium der Humanmedizin an der Johannes-Gutenberg-Universität, Mainz und an der Justus-Liebig-Universität, Gießen, darin 1 Semester Pädagogik an der Pädagogischen Hochschule, Ludwigsburg
08.2000	Ärztliche Vorprüfung
08.2001	Erster Abschnitt der ärztlichen Prüfung
04.2004	Zweiter Abschnitt der ärztlichen Prüfung
11.2005	Dritter Abschnitt der ärztlichen Prüfung

Seit 05.2004	Tätigkeit als Doktorandin im Arbeitskreis unter der Leitung von Herrn PD Dr. Dr. U. Knecht der Arbeits- und Sozialmedizin Gießen
04.2007 – 07.2007	Tätigkeit als Assistenzärztin in der Abteilung für Innere Medizin des Bürgerhospitals Friedberg
10.2007 – 01.2008	Tätigkeit als Assistenzärztin in der Abteilung für Innere Medizin des „Nordlandssykehuset Vesterålen“, Norwegen
seit 02.2008	Tätigkeit als Turnusärztin in der Abteilung für Chirurgie an der Vestfold Klinik Tønsberg, Norwegen