

Exposition gegenüber entwicklungstoxischen *N*-Alkyl-2-pyrrolidonen

Biomonitoring als Element der Primärprävention



Lackierung von Kunststoffteilen in der Automobilindustrie.

Heiko U. Käfferlein, Swetlana Meier, Stephan Koslitz, Tobias Weiß, Holger M. Koch, Thomas Ronge, Thomas Brüning

N-Alkyl-2-pyrrolidone sind zyklische Amide und aufgrund ihrer hervorragenden lösungsvermittelnden Eigenschaften in wässrigen-organischen Mischphasen eine der wichtigsten industriellen Lösungsmittel. Das derzeit meist verwendete *N*-Alkyl-2-pyrrolidon ist das *N*-Methyl-2-pyrrolidon (NMP). Da seit Januar 2009 europaweit NMP und NMP-haltige Produkte mit einem Gehalt von ≥ 5 Prozent als reproduktionstoxisch gekennzeichnet werden müssen, wird in zunehmendem Maße NMP durch *N*-Ethyl-2-pyrrolidon (NEP) oder durch andere Stoffe wie Lactone ersetzt. Da bislang nur wenige Feldstudien zur beruflichen Exposition gegenüber NMP vorliegen, ging das IPA in einer Humanbiomonitoring-Studie der Frage nach, ob und in welchem Maße Beschäftigte in der Automobilindustrie, gegenüber NMP exponiert sind. Ziel der Studie war es gleichzeitig auch, neue Verfahren zum Nachweis von NEP im Körper des Menschen zu entwickeln, um in Zukunft auch solche Expositionen sicher und diagnostisch valide mittels Humanbiomonitoring erfassen zu können.

N-Alkyl-2-pyrrolidone dienen als Lösungsvermittler und ermöglichen so die Vermischung von Substanzen und Formulierungen, die sonst nicht mischbar wären. Sie sind daher eine der wichtigsten Lösungsmittel in der Industrie, insbesondere der Kunststoff-, Halbleiter-, Foto-, Automobil-, Farben-, Agrar- und Holzindustrie. Industriell eingesetzt wird überwiegend das *N*-Methyl-2-pyrrolidon – kurz NMP – welches seit 2009 als reproduktionstoxisch eingestuft ist (Verordnung EG, Nr. 790/2009) und zunehmend durch die Ethyl-Variante *N*-Ethyl-2-pyrrolidon – kurz NEP – oder andere Stoffe wie Lactone ersetzt wird.

Reproduktionstoxizität

Die Datenlage zur Reproduktionstoxizität ist insbesondere für NMP als umfangreich anzusehen (DFG 1994, 2006, 2012). Irreversible Fertilitätsveränderungen bei männlichen Ratten (Minimierung Hodengewicht, 40-70 prozentiger Zellverlust im Keimepithel) wurden nach Inhalation gegenüber hohen NMP-Aerosol-Konzentrationen ab 4.000 mg NMP/m^3 beobachtet. NMP erwies sich zusätzlich in der Ratte als auch im Kaninchen nach inhalativer, oraler und dermaler Applikation als entwicklungstoxisch. Beispielhaft ist hier das verringerte Gewicht der Feten und die Verzögerung der Verknö-

cherung (Kopf und Brustbein) bei Gabe einer für die Muttertiere nicht toxischen Dosierung von 250 mg NMP pro kg Körpergewicht (KG) und Tag zu nennen. Ab 500 mg/kg KG wurden im Muttertier zusätzlich Implantationsverluste und erhöhte Resorptionsraten beobachtet, während gleichzeitig die Feten steigende Missbildungsraten aufwiesen (Saillenfait et al. 2002). Ein ähnliches Spektrum an entwicklungstoxischen Effekten konnte auch für NEP gezeigt werden (Saillenfait et al. 2007), wobei ab 250 mg/kg KG neben einem reduziertem Fetengewicht gleichzeitig bereits Implantationsverluste beim Muttertier und erhöhte Missbildungsraten der Feten beobachtet wurden. NEP wirkte jedoch bereits ab der niedrigsten getesteten Konzentration (50 mg/kg KG) auf die Muttertiere (d.h. maternal) toxisch, so dass letztendlich eine strikte Trennung zwischen direkten entwicklungstoxischen Wirkungen durch NEP von denjenigen indirekter Wirkungen (über den „Umweg“ der maternalen Toxizität) nicht möglich war. Die insgesamt deutlich toxischere Wirkung des NEP im Vergleich zu NMP wird durch Daten zur akuten Toxizität gestützt (Ansell und Fowler, 1988). Hier erwies sich das NEP als ca. 4-fach höher akut toxisch als das NMP.

Überwachung der Exposition und Metabolismus

Da sowohl NMP als auch NEP einen niedrigen Dampfdruck besitzen aber hervorragend über die Haut resorbiert werden, stellt die dermale Aufnahme am Arbeitsplatz den hauptsächlichen Expositionsweg für den Menschen dar. Dementsprechend wird zur Überwachung der Exposition und unter dem Gesichtspunkt der Primärprävention ein Humanbiomonitoring, d.h. der Nachweis des Gefahrstoffes bzw. seiner Metaboliten in Blut und Urin des Menschen, präferiert. Bisher lagen aus analytischer und toxikokinetischer Sicht jedoch nur wissenschaftliche Daten zu NMP vor, die eine Überwachung der Exposition am Arbeitsplatz mittels eines Humanbiomonitoring ermöglichten. Die Hauptmetaboliten beim Menschen stellen das 5-Hydroxy-*N*-methyl-2-pyrrolidon (5-HNMP) sowie das 2-Hydroxy-*N*-methyl-succinimid (2-HMSI) dar (Abb. 1), wobei die Halbwertszeit von 5-HNMP zu ca. sechs Stunden und diejenige des 2-HMSI zu ca. 17 Stunden bestimmt werden konnte (Åkesson und Jönsson, 1997).

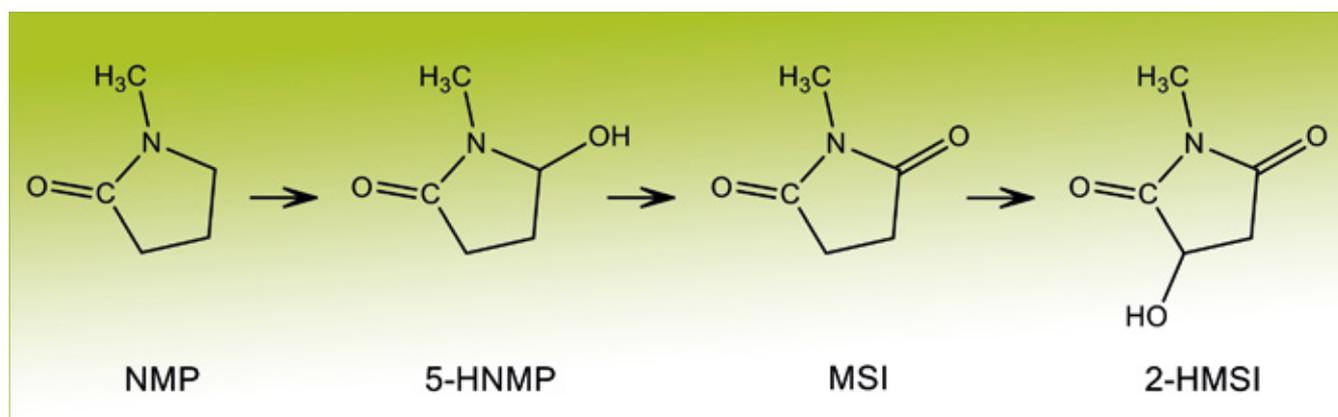


Abb. 1. Metabolismus von *N*-Methyl-2-pyrrolidon (NMP). NMP wird schrittweise oxidiert zu den Metaboliten 5-Hydroxy-*N*-methyl-2-pyrrolidon (5-HNMP), *N*-Methylsuccinimid (MSI) und 2-Hydroxy-*N*-methylsuccinimid

Mit diesem Wissen und entsprechend zusätzlich vorhandenen analytischen Verfahren (z.B. DFG 2008) konnte in der Vergangenheit die Exposition gegen NMP bei Beschäftigten in der Klebstoffindustrie (Bader et al. 2006) sowie beim Entfernen von Graffiti (Anundi et al. 2000) zuverlässig erfasst werden. Es blieben jedoch offene Fragestellungen vor allem vor dem Hintergrund der weiten Verbreitung und industriellen Anwendungsmöglichkeiten von NMP. Dazu zählen berufliche Expositionen in anderen Industriebereichen bzw. eine rein umweltbedingte Exposition der Allgemeinbevölkerung ohne beruflichen Umgang mit NMP. Zusätzlich lagen bisher keine wissenschaftlichen Basisdaten vor, die ein Humanbiomonitoring des NEP ermöglichen würden. Dazu fehlten sowohl analytische Verfahren zur Untersuchung des Metabolismus als auch Informationen zu den toxikokinetischen Eigenschaften des NEP beim Menschen.

Humanbiomonitoring von NMP und NEP

Am IPA wurde ein quantitatives analytisches Verfahren zum gleichzeitigen Nachweis der Hauptmetaboliten des NMP und NEP im Urin des Menschen entwickelt und validiert (Schindler et al. 2012). Das Verfahren auf Basis der Gaschromatographie gekoppelt mit der Massenspektrometrie (GC-MS) ermöglicht erstmals die Identifizierung von 5-Hydroxy-*N*-ethyl-2-pyrrolidon (5-HNEP) sowie des 2-Hydroxy-*N*-ethyl-succinimid (2-HESI) als Metaboliten des NEP beim Menschen. Gleichzeitig ermöglicht das Verfahren die Quantifizierung dieser Metabolite zusammen mit den entsprechenden Metaboliten des NMP im Spurenbereich. Die Ergebnisse von 56 beruflich nicht gegenüber NMP oder NEP exponierten Personen der Allgemeinbevölkerung zeigen, dass in mehr als 96 Prozent der Fälle Metabolite des NMP im Urin gefunden werden konnten, während etwa 40 Prozent der Proben ebenfalls positiv auf einen der NEP-Metabolite waren. Der niedrigere Anteil an NEP-positiven Urinproben lässt sich mit der derzeit noch geringeren Anwendung und Verbreitung von NEP erklären.

Untersuchungen in der Automobilindustrie

Mit dem etablierten Humanbiomonitoring-Verfahren wurden bereits auch berufsbezogene Fragestellungen zur Exposition gegenüber NMP am Arbeitsplatz untersucht. Dazu wurden die beiden spezifischen Metabolite des NMP, 5-HNMP und 2-HMSI, in insgesamt 60 Urinproben von 14 Beschäftigten der Kunststofflackiererei eines Automobilherstellers untersucht (Meier et al. 2013). Entsprechend der bekanntermaßen unterschiedlichen Halbwertszeiten von 5-HNMP (ca. sechs Stunden) und 2-HMSI (ca. 17 Stunden) und um die Ergebnisse mit vorhandenen europäischen Beurteilungswerten vergleichen zu können, wurden pro Person jeweils Spontanurinproben vor als auch nach der Schicht des ersten Tages sowie vor der Schicht des zweiten Arbeitstages gesammelt. Dabei wurden drei der 14 Mitarbeiter unter ansonsten identischen Arbeitsbedingungen in drei aufeinander folgenden Wochen untersucht. Mit einer mittleren Konzentration von 1,42 mg/g Kreatinin an 5-HNMP lagen die Expositionen in den Nachschichtproben der Beschäftigten deutlich unterhalb derjenigen Konzentrationen, die bei den bisher einzigen beiden Feldstudien beim Entfernen von Graffiti (3,4 mg/g Kreatinin, Anundi et al. 2000) oder in der Klebstoffindustrie (ca. 28

mg/g Kreatinin, Bader et al. 2006) ermittelt werden konnten. Zu keinem Probenahmezeitpunkt wurde der derzeitige BAT-Wert der Deutschen Forschungsgemeinschaft von 150 mg 5-HNMP/L oder der europäische Beurteilungswert des „Scientific Committee on Occupational Exposure Limits“ (SCOEL 2007) von 70 mg 5-HNMP/g Kreatinin überschritten (Abb. 2a). Dies galt auch für Personen, die im Rahmen von Reinigungsarbeiten an den Lackierdüsen direkten Umgang mit reinem NMP hatten. Analoge Resultate wurden auch für 2-HMSI in Vorschichtproben des Folgetages erhalten. Auch hier wurde zu keinem Zeitpunkt der entsprechende europäische Beurteilungswert seitens SCOEL von 20 mg 2-HMSI/g Kreatinin überschritten (Abb. 2b).

Studienausweitung und weiterer Forschungsbedarf

Vor dem Hintergrund der aktuellen Umstellung von NMP-haltigen auf NEP-haltige Formulierungen stellt sich zukünftig vor allem die Frage hinsichtlich der beruflichen Exposition von Beschäftigten gegen NEP. Dazu müssen neben diagnostisch validen Analyseverfahren auch die entsprechenden toxikokinetischen Daten zur Interpretation der erhaltenen Werte beim Menschen und zur Festsetzung von Probenahmezeitpunkten im Rahmen von Biomonitoring-Studien

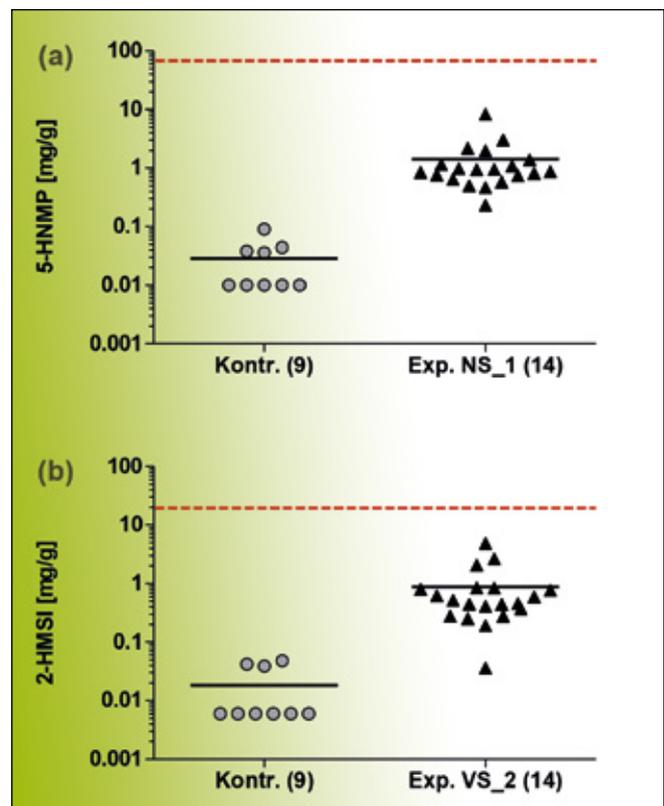


Abb. 2. Unterschiede zwischen neun nichtexponierten Kontrollprobanden und 14 gegenüber *N*-Methyl-2-pyrrolidon exponierten Beschäftigten in der Lackierabteilung eines Automobilherstellers für (a) 5-Hydroxy-*N*-methyl-2-pyrrolidon (5-HNMP) in Nachschichturinproben des 1. Tages und (b) 2-Hydroxy-*N*-methylsuccinimid in Vorschichturinproben des 2. Tages. Die roten Linien präsentieren die derzeit aktuellen europäischen Beurteilungswerte seitens des „Scientific Committee on Occupational Exposure Limits“ (SCOEL 2007).

bekannt sein. Diese Daten werden derzeit am IPA generiert. Im Rahmen der Umstellung von NMP auf NEP bieten sich auch vergleichende Untersuchungen zwischen NMP und NEP und damit zusätzliche Studien zur Expositionssituation gegen NMP in weiteren Industriesparten an. Die derzeit vorliegenden Ergebnisse aus lediglich drei Feldstudien (Entfernen von Graffiti, Klebstoff- und Automobilindustrie) sind vor dem Hintergrund der breiten Anwendung von NMP als Lösungsmittel noch nicht als ausreichend für Gefährdungsbeurteilungen in anderen Industrien bzw. bei anderen Tätigkeiten anzusehen. Insofern sind die bisher gewonnenen Erkenntnisse erst der Anfang, um das breite mögliche Spektrum der beruflichen und umweltbedingten Exposition gegenüber NMP und NEP sowie gegebenenfalls weiterer Verbindungen aus der Gruppe der *N*-Alkyl-2-pyrrolidone sicher beurteilen zu können.

Fazit für die Praxis

Die am IPA entwickelten Analyseverfahren eröffnen der betrieblichen Praxis erstmals eine valide Gefährdungsbeurteilung unterschiedlicher Tätigkeiten beim beruflichen Umgang mit zwei industriell weit verbreiteten und reproduktionstoxischen Lösungsmitteln. Die Verfahren zum Nachweis von NMP und NEP stehen allen Un-

fallversicherungsträgern sowohl für die Bewertung der Exposition als auch der Überwachung von Präventionsmaßnahmen an Ihren Arbeitsplätzen zur Verfügung.

Die Autoren

Prof. Dr. Thomas Brüning, Dr. Heiko U. Käfferlein, Dr. Holger M. Koch, Stephan Koslitz, Swetlana Meier, Dr. Tobias Weiß, IPA

Dr. Thomas Ronge,
Volkswagen AG
Brieffach 1426
38436 Wolfsburg

Beitrag als PDF



Literatur

1. Åkesson B, Jönsson BA: Major metabolic pathway for *N*-methyl-2-pyrrolidone in humans. *Occup Environ Med* 1997; 25: 267
2. Ansell JM, Fowler JA: The acute oral toxicity and primary ocular and dermal irritation of selected *N*-alkyl-2-pyrrolidones, *Food Chem Toxicol* 1988; 26: 475
3. Anundi H, Langworth S, Johanson G, Lind ML, Åkesson B, Friis L, Itkes L, Söderman E, Jönsson BAG, Edling C: Air and biological monitoring of solvent of exposure during graffiti removal. *Int Arch Occup Environ Health* 2000; 73: 561
4. Bader M, Rosenberg W, Rebe T, Keener SA, Brock TH, Hemmerling H, Wrbitzky R: Ambient monitoring and biomonitoring of workers exposed to *N*-Methyl-2-pyrrolidone in an industrial facility. *Int Arch Occup Environ Health* 2006; 79: 357
5. DFG: *N*-Methyl-2-pyrrolidon, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten. 1994; Wiley-VCH, Weinheim
6. DFG: *N*-Methyl-2-pyrrolidon, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten, Addendum, 2006; Wiley-VCH, Weinheim
7. DFG: 5-hydroxy-*N*-Methyl-2-pyrrolidon (5-HNMP) und 2-hydroxy-*N*-methylsuccinimid (2-HMSI), The MAK Collection Part IV: Biomonitoring Methods 2008; vol. 11, Wiley-VCH, Weinheim
8. DFG: *N*-Methyl-2-pyrrolidon, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten, Addendum Entwicklungstoxizität, 2012; Wiley-VCH, Weinheim
9. Meier S, Schindler BK, Koslitz S, Koch HM, Weiß T, Käfferlein HU, Brüning T: Biomonitoring of exposure to *N*-methyl-2-pyrrolidone in workers of the automobile industry. *Ann Occup Hyg* 2013; in press
10. Saillenfait AM, Gallissot F, Langonne I, Sabate JP (2000) Developmental toxicity of *N*-methyl-2-pyrrolidone administered orally to rats. *Food Chem Toxicol* 2000; 40: 1705
11. Saillenfait AM, Gallissot F, Sabate JP: Developmental toxic effect of *N*-ethyl-2-pyrrolidone administered orally to rats. *J Appl Toxicol* 2007; 27: 491
12. Schindler BK, Koslitz S, Meier S, Belov VN, Koch HM, Weiss T, Brüning T, Käfferlein HU: Quantification of four major metabolites of embryotoxic *N*-methyl- and *N*-ethyl-2-pyrrolidone in human urine by cooled-injection gas chromatography and isotope dilution mass spectrometry. *Anal Chem* 2012; 84: 3787
13. SCOEL (2007) Recommendation from the Scientific Committee on Occupational Exposure Limits for *N*-Methyl-2-Pyrrolidone. SCOEL SUM 119, Bruxelles, Belgium