

Vergleich von NMR- und Headspace-Methode zur Bestimmung des freien Formaldehyds in Biozidkonzentraten

Realitäts- und wirkungsbezogene Bestimmungsmethoden zur Gefährdungsabschätzung und Grenzwertüberwachung von freiem Formaldehyd

Prof. Dr. Georg Schied

Hochschule Mannheim; Fakultät Biotechnologie

Zusammenfassung:

Die Headspace-Methode liefert für Formaldehyddonator-Konzentrate – unter Berücksichtigung der Expositionssituation und unabhängig von der Matrix – die zur Gefährdungsabschätzung notwendigen Daten, die konsequent auf die durch Inhalation verursachte cancerogene und mutagene Wirkung ausgerichtet sind. Der mittels NMR-Methode bestimmte Methylenglykolgehalt kann dagegen nur unzureichend zur Abschätzung des auf Inhalation basierten Gefahrenpotentials dienen. Vollkommen ungeeignet ist die NMR-Methode zur Bestimmung von freiem Formaldehyd in wasserfreien, lösemittelbasierten Formaldehyddonator-Konzentraten.

Einleitung:

Formaldehyddepotstoffe stellen noch immer eine verbreitete Gruppe von Konservierungsmitteln für technische Produkte dar. Diese setzen im wassergemischten Zustand bestimmungsgemäß geringe Mengen Formaldehyd (HCHO) frei, das ein äußerst wirkungsvolles Biozid darstellt. Seit 2012 ist Formaldehyd als krebserregend eingestuft. Nach heutigem Kenntnisstand ist die krebserregende Wirkung auf die inhalative Exposition beschränkt. Ab einem Gehalt von 1000 ppm freiem Formaldehyd müssen Zubereitungen wie Biozidkonzentrate mit H350 (Carcinogen 1B) sowie ab 10000 ppm mit H341 (Mutagen 2) gekennzeichnet werden. In der Praxis führt der Begriff „freier Formaldehyd“ oft zu Interpretationsproblemen:

- Was ist „freier Formaldehyd“?
- Welche CAS-Nummer steht für freien Formaldehyd (Formaldehyd, gasförmig: 50-00-0; Methylenglykol: 463-57-0; usw.)?
- Welche analytische Methode ist zur Bestimmung geeignet?

Da der Gesetzgeber eine Kennzeichnungsgrenze für freien Formaldehyd verbindlich

festgelegt hat, ergibt sich die Notwendigkeit, den Gehalt von freiem Formaldehyd in den verschiedensten Produktformulierungen mit unterschiedlichen Formaldehydkonzentrationen zu bestimmen. Dies hat zur Entwicklung einer Vielzahl von Mess- und Detektionsmethoden für freien HCHO geführt.

Methoden zur Bestimmung des freien Formaldehyds:

Die Bestimmung von freiem Formaldehyd in Gegenwart von Formaldehyddonatoren ist nach wie vor problematisch. Schon durch Lösen von Formaldehyddepotstoffen in Wasser verschiebt sich das chemische Gleichgewicht zwischen gebundenem und freiem Formaldehyd. Von besonderer Bedeutung ist die Hydrolysestabilität und Hydrolysegeschwindigkeit der verschiedenen Formaldehyddonatoren, die durch pH-Wert, Temperatur usw. stark beeinflusst werden.

NMR-Methode:

Die NMR-Spektroskopie zeigt gegenüber den meisten anderen analytischen Verfahren einen bedeutenden Vorteil: NMR-Analysen sind nicht-invasiv. Darüber hinaus ist in der Regel keine Aufarbeitung oder Isolierung des Analyten nötig, chemische Gleichgewichte werden nicht gestört.

Vor allem die hochauflösenden ¹H- und ¹³C-NMR-Methoden bieten sich als ein schnell und einfach durchzuführendes Verfahren zur quantitativen Analyse von Stoffgemischen an. Freier Formaldehyd wird über dessen Hydrat – also Methylenglykol – bestimmt.

Abbildung 1 zeigt einen Ausschnitt eines typischen ¹³C-NMR-Spektrums einer konzentrierten, wässrigen Formalinlösung. Methylenglykol erzeugt ein Signal bei 82 ppm. Weitere Signale werden durch Poly(oxymethylen)glykole (H(OCH₂)_nOH) verursacht.

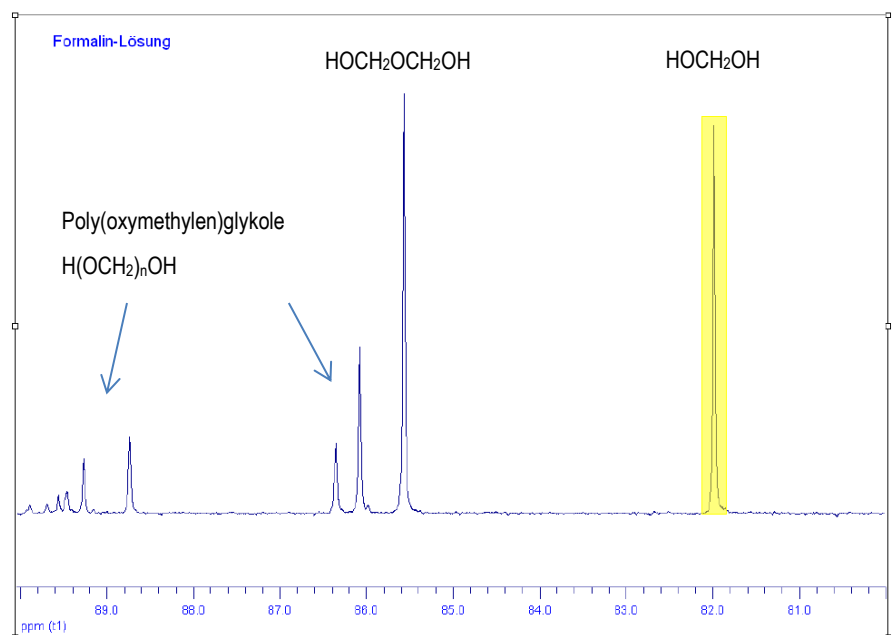


Abb. 1: ¹³C-NMR-Spektrum einer wässrigen Formalinlösung, Methylenglykol-Signal gelb markiert

Headspace-Methode:

Die Headspace-Analyse ist in Verbindung mit verschiedenen Detektionsverfahren eine leistungsstarke Analysemethode, mit der flüchtige Verbindungen ohne aufwändige Probenvorbereitung schnell und einfach quantifiziert werden können.

Bei der statischen Headspace-Methode werden Proben in Ampullen überführt und versiegelt. In den Ampullen stellt sich ein Gleichgewicht der flüchtigen Bestandteile zwischen Gasraum und Probe ein, das von der Art und Konzentration der Analyten abhängt. Im simpelsten Fall wird mit Hilfe einer gasdichten Spritze ein aliquoter Teil des Dampfraums über der Probe entnommen und zur Bestimmung des Analyten verwendet. Formaldehyd wird mit DNPH (2,4-Dinitrophenylhydrazin) derivatisiert und mittels HPLC/UV-Detektion quantifiziert. Formaldehyd kann mit dieser Methode bis in den Bereich unter 0,5 - 1 ppb bestimmt werden. Die Kalibration des Verfahrens erfolgt über definiert hergestellte Standardlösungen. Zur Auswertung können die Peakflächen von Probe und Standard direkt miteinander verglichen werden. Die Methode entspricht den üblichen Bestimmungsverfahren zur Überwachung der Raumluftkonzentrationen für Formaldehyd am Arbeitsplatz. Diese Methode ermöglicht daher einen aussagekräftigen Vergleich der gefährdungsrelevanten Formaldehydemissionen sehr unterschiedlich formulierter Formaldehydonator-Konzentrate.

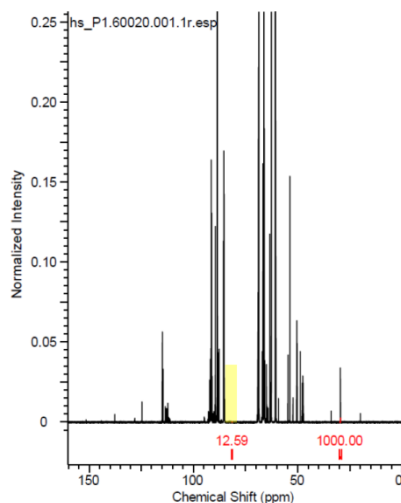
Methodenvergleich

Headspace versus NMR:

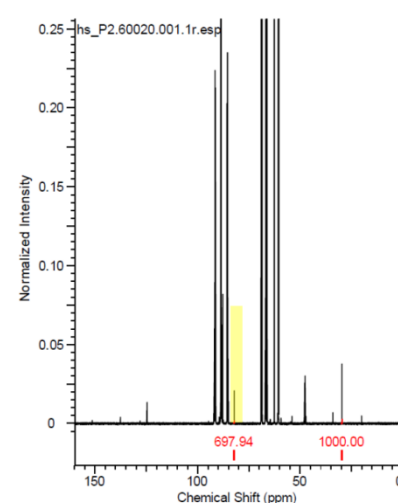
Im Rahmen einer Vergleichsstudie wurde in vier Formaldehydonator-Formulierungen der Gehalt an freiem Formaldehyd mittels ^{13}C -NMR bestimmt. Parallel dazu wurden mittels Headspace-Methode die gefährdungsrelevanten Emissionspotentiale der gleichen Proben bestimmt.

Für diese Studie wurden Biozidkonzentrate auf der Basis reiner O-Formale (Formulierung 1-3) und ein N-Formal (Formulierung 4) verwendet. Der Gesamtformaldehydgehalt der O-Formale lag bei ca. 46%, bei einem Wassergehalt von 0,12 bis 4,8%. Das verwendete N-Formal besaß einen Gesamtformaldehydgehalt von ca. 25%. Der Wassergehalt betrug ca. 34%.

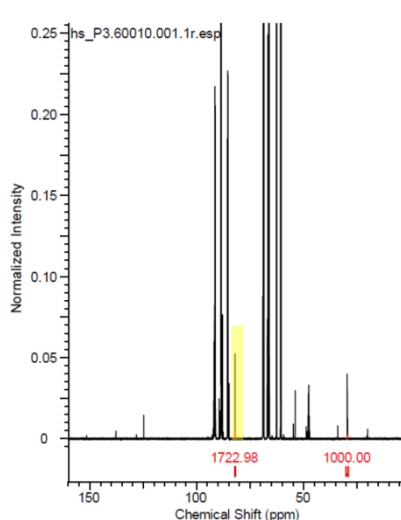
Die Untersuchungen zeigen, dass die mittels ^{13}C -NMR bestimmten Gehalte an Methylenglykol stark vom Wassergehalt der Biozidkonzentrate abhängig sind. Bei einem Wassergehalt von 0,12% (Formulierung 1) konnte spektroskopisch kein Methylenglykol nachgewiesen werden. Bei Formulierung 2 bzw. 3



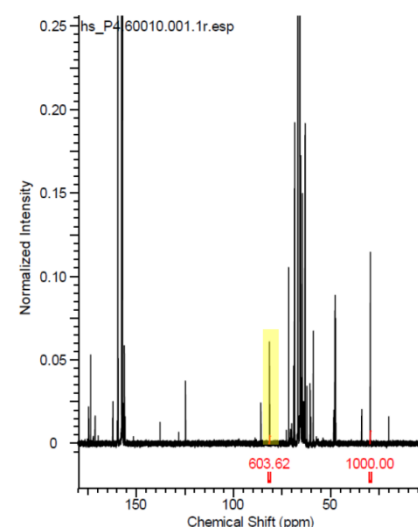
Formulierung 1 (Wassergehalt: 0,12%)



Formulierung 2 (Wassergehalt: 1,8%)



Formulierung 3 (Wassergehalt: 4,8%)



Formulierung 4 (Wassergehalt: 34%)

Abb. 2: ^{13}C -NMR-Spektren der Formulierungen 1 - 4 mit verschiedenen Wassergehalten, Bereich des Methylenglykol-Signals gelb markiert

Tab. 1: Vergleich freier Formaldehyd via Headspace und freier Formaldehyd via NMR der Formulierungen 1 - 4 sowie Emissionsfaktoren relativ zu einer Formalinlösung mit 1000 ppm Formaldehyd

Formulierung	Freier Formaldehyd Headspace (Peakfläche ¹)	Emissionsfaktor relativ zu Formalin ²	Freier Formaldehyd (NMR) [ppm]	Wassergehalt [%]	ges. HCHO [%]
1	1 040 000	94	0,01	0,12	45,0
2	1 070 000	97	2 100	1,80	46,5
3	1 130 000	103	5 500	4,80	45,5
4	39 000	4	1 850	34	25,2
Formalinlösung	11 000	1	1 000	99,9	0,1

Formulierung 1-3: O-Formale; Formulierung 4: N-Formal; Formalinlösung: 1000 ppm Formaldehyd;

1) Einheit: Peakfläche bei HPLC-Bestimmung;

2) HPLC-Peakflächenverhältnis relativ zu Formalinlösung (auf ganze Zahlen gerundet)

werden aufgrund des höheren Wassergehaltes entsprechend erhöhte Mengen Methylenglykol nachgewiesen (siehe Abbildung 2). Die Ergebnisse zeigen eine hohe

Korrelation von Methylenglykolgehalt bzw. freiem Formaldehydgehalt und Wassergehalt auf. Auf der Grundlage dieser Untersuchung wäre Formulierung 1 nicht kennzeichnungs-

pflichtig, da der freie Formaldehydgehalt <1000 ppm bestimmt wurde. Formulierung 2 und 3 würden dagegen gekennzeichnet werden müssen.

Die Headspace-Untersuchungen zeigen dagegen ein ganz anderes Bild. Im Vergleich zu einer wässrigen Formalinlösung mit 1000 ppm freiem Formaldehyd zeigen alle O-Formale sehr stark erhöhte Emissionsfaktoren im Bereich von ca. 100 die mit den spektroskopisch ermittelten Methylenglykolgehalten nicht korrelieren (siehe Tabelle 1). Vergleicht man die Ergebnisse von Formulierung 1 (O-Formal) und 4 (N-Formal) wird deutlich, dass der mittels ¹³C-NMR ermittelte Gehalt an Methylenglykol bzw. freiem Formaldehyd nicht zur Herleitung einer Kennzeichnungspflicht geeignet ist. Formulierung 4 zeigt auf der Grundlage der ¹³C-NMR-Bestimmung einen Gehalt an freiem Formaldehyd von 1850 ppm und wäre somit kennzeichnungspflichtig. Formulierung 1 enthält keinen spektroskopisch nachweisbaren freien Formaldehyd und wäre deshalb nicht kennzeichnungspflichtig. Betrachtet man nun aber die gesundheitsgefährdenden Emissionspotenziale, zeigt die kennzeichnungsfreie Formulierung ein um den Faktor 25 höheres Emissionspotential als die kennzeichnungspflichtige Formulierung 4.

In Abbildung 3 sind diese Zusammenhänge noch einmal graphisch zusammengefasst. Die Ergebnisse zeigen, dass die spektroskopische Bestimmung von Methylenglykol nicht zur Abschätzung des cancerogenen und mutagenen Potenzials von formaldehydhaltigen Biozidkonzentraten herangezogen werden kann, das nach heutigem Kenntnisstand durch inhalative Exposition verursacht ist.

Diskussion:

Das NMR-Verfahren ist ein zerstörungsfreies Verfahren, das nicht in das Gleichgewichtssystem eingreift. Für Methylenglykol ergeben sich akkurate Messergebnisse. Diese sagen aber nichts über die aus toxikologischer Sicht enorm wichtigen tatsächlichen Formaldehydemissionen aus. Im Falle von wasserfreien, lösemittelbasierten Formaldehyd-Donatorkonzentraten ist deshalb die NMR-Methode gänzlich ungeeignet, da Methylenglykol – und damit definitionsgemäß freier Formaldehyd –

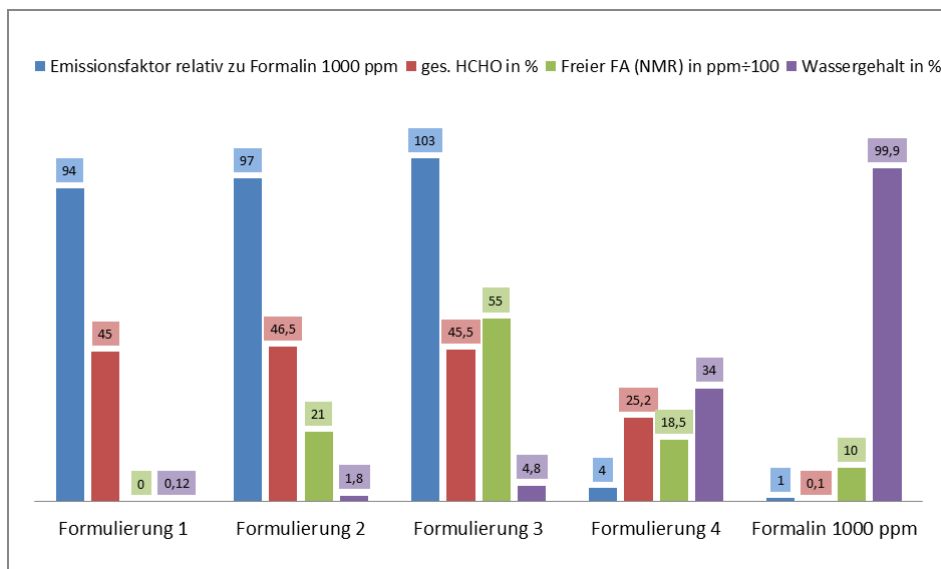


Abb. 3: Zusammenfassung und graphische Darstellung der Studienergebnisse

als Indikatorsubstanz gar nicht vorliegt. In Berufung auf den fehlenden Peak von Methylenglykol könnten allerdings solche Formulierungen kennzeichnungsfrei in den Verkehr gelangen, obwohl sie aufgrund der extrem hohen Formaldehydfreisetzung in die Gasphase ein besonderes hohes Gefährdungspotential aufweisen.

Die Headspace-Methode dagegen liefert für Formaldehyddonator-Konzentrate – unter Berücksichtigung der Expositionssituation und unabhängig von der Matrix – die zur Gefährdungsabschätzung notwendigen Daten, die konsequent auf die durch Inhalation verursachte cancerogene und mutagene Wirkung ausgerichtet sind. Die Headspace-Methode bezieht die komplexen chemischen und physikalischen Gleichgewichte mit ein, die zur Generierung von freiem HCHO in der Gasphase beitragen. Übliche formaldehydhaltige Biozidformulierungen stellen nämlich im Gegensatz zu verdünnten Formalinlösungen sehr viel komplexere Systeme mit zahlreichen Komponenten und sich überlagernden chemischen Reaktionen dar. In diesen komplexen Formaldehydspender-Systemen und insbesondere in wasserfreien Formulierungen tragen alle in der Formulierung vorhandenen Formaldehydabspaltenden Verbindungen (Formaldehyddonatoren) zum Partialdruck über der Lösung bei.

Der mit NMR bestimmte Methylenglykolgehalt kann nicht oder nur unzureichend zur Abschätzung des auf Inhalation basierten Gefahrenpotentials von Formaldehyddonator-Konzentraten dienen.

Vollkommen ungeeignet ist die qNMR zur Bestimmung von freiem Formaldehyd in wasserfreien, lösemittelbasierten Formaldehyddonator-Konzentraten.

Ein Grenzwert kann aber nur dann eine Schutzwirkung entfalten, wenn zu seiner Überwachung eine adäquat die Realität abbildende, wirkungsbezogene Bestimmungsmethode eingesetzt wird.