

Hochschule für Angewandte Wissenschaften Hamburg

Fakultät *Life Sciences*

**Weiterentwicklung und Validierung von *in-vitro* Löslichkeitsuntersuchungen zur
Abschätzung der Biopersistenz von anorganischen faserförmigen Partikeln aus
Isoliermaterialien (künstliche Mineralfasern) mittels Rasterelektronenmikroskopie**

Bachelorarbeit

Studiengang: Umwelttechnik (B.Sc.)

Vorgelegt von

Jens Jankowski – Matrikelnummer XXXXXXXXXX

Hamburg

Am 06. September 2019

1. Gutachterin: Prof. Dr. Carolin Floeter
2. Gutachter: Dipl. Umweltwiss. Sebastian Bien

Diese Abschlussarbeit wurde betreut und erstellt in der Abteilung „Abwasser-, Boden-,
Lufthygiene“ im Hygiene-Institut des Ruhrgebiets in Gelsenkirchen

„Alle Dinge sind Gift, und nichts ist ohne Gift; allein die Dosis macht, dass ein Ding kein Gift sei“

Philippus Theophrastus Bombast von Hohenheim

(Westhoff, 2016)

Vorwort

Wie es das Deckblatt bereits verrät, finden Sie vor sich die Bachelorarbeit mit dem Titel „Weiterentwicklung und Validierung von *in-vitro* Löslichkeitsuntersuchungen zur Abschätzung der Biopersistenz von anorganischen faserförmigen Partikeln aus Isoliermaterialien (künstliche Mineralfasern) mittels Rasterelektronenmikroskopie“. Sie wurde in Kooperation mit dem Hygiene-Institut des Ruhrgebiets in Gelsenkirchen und der Firma Rath GmbH in Mönchengladbach, Hauptsitz in Meißen erstellt.

Diese Bachelorarbeit stellt den Abschluss meines Studiums im Fach Umwelttechnik, an der Hochschule für Angewandte Wissenschaften in Hamburg dar und wurde direkt im Anschluss an mein Hauptpraktikum im Hygiene-Institut des Ruhrgebiets verfasst. Das Ziel, welches ich mit dieser Arbeit erreichen möchte, ist es, die Möglichkeiten von *in-vitro* Untersuchungen bezüglich künstlicher Mineralfasern oder anderer anorganischer faserförmiger Partikeln, voranzubringen und zu verbessern. Der Erstellungszeitraum der Arbeit war von Juli 2019, bis September 2019.

Die Entwicklung der allgemeinen Konzeption und der Fragestellung erfolgte zusammen mit meinen Betreuer/innen, Frau Prof. Dr. Carolin Floeter und Dipl. Umweltwiss. Sebastian Bien. Durch ihre Fachkenntnisse im Bereich der Umweltwissenschaften konnten sie mir hilfreiche und wichtige und wertvolle Einblicke in die gegebene Materie geben. Während meines Versuches zur *in-vitro* Persistenz waren meine beiden Betreuer/innen stets für meine Fragen offen und gaben mir nützliche Tipps für die weitere Vorgehensweise, sodass ich meine Arbeit zielgerichtet fortführen konnte.

Aus diesem Grund möchte ich mich hiermit bei meinen Betreuer/innen Frau Prof. Dr. Carolin Floeter und Herr Dipl. Umweltwiss. Sebastian Bien für ihre gute Unterstützung und Anleitung während des Erstellungsprozesses dieser Arbeit bedanken. Im gleichen Zuge möchte ich mich auch bei meinen Arbeitskollegen/innen aus der Abteilung Abwasser-, Boden-, Lufthygiene bedanken, welche durch ihre langjährige Erfahrung im Bereich der Faseranalytik, ebenfalls stets für Fragen bezüglich der Ausführung und Analyse zur Verfügung standen.

Ich wünsche Ihnen viel Freude beim Lesen dieser Bachelorarbeit.

Jens Jankowski

Gelsenkirchen, 06. September 2019

I. Inhalt

Vorwort	0
II. Abkürzungsverzeichnis	3
III. Begriffserklärung	3
IV. Abbildungsverzeichnis	4
V. Tabellenverzeichnis	5
Zusammenfassung.....	6
Abstract	7
1. Einleitung und Theoretische Grundlagen	8
1.1. Fragestellung und Hypothese.....	8
1.2. Asbest	9
1.2.1. Stoffeigenschaften und Einsatzbereich.....	10
1.2.2. Freisetzung von Asbestfasern und Gesundheitsgefahren	10
1.2.3. Sanierung, Entsorgung und Verbote	12
1.3. Künstliche Mineralfasern als Ersatz für Asbest	13
1.3.1. Prüfverfahren	14
1.3.2. Gesundheitsgefahren	16
1.3.3. Entsorgung von künstlichen Mineralfasern	16
1.3.4. In dieser Arbeit behandelte künstliche Mineralfasern	16
2. Material und Methoden	19
2.1. Verwendete Geräte	19
2.2. Verwendete Chemikalien	20
2.3. Versuchsaufbau und Durchführung	21
2.3.1. Ansetzen der interstitiellen Flüssigkeit (Ringer-Lösung).....	21
2.3.2. Ansetzen der Prüf- und Referenzsuspensionen	21
2.3.3. Filtrieren der Suspensionen	22
2.3.4. Präparation der Filter	22
2.3.5. Auswertung am Rasterelektronenmikroskop nach VDI 3492.....	23
2.3.6. Berechnung der Halbwertszeit.....	25
3. Ergebnisse.....	27
3.1. Referenzmaterial A.....	27
3.1.1. Ermittelte Faserzahlen der Referenzfasern A	27
3.1.2. Länge Durchmesser der Referenzfasern A.....	28
3.1.3. pH-Wert und Leitfähigkeit der Referenzsuspensionen A	29

3.2.	Prüfmaterial B.....	31
3.2.1.	Ermittelte Faserzahlen der Prüffasern B.....	31
3.2.2.	Länge und Durchmesser der Prüffasern B	32
3.2.3.	pH-Wert und Leitfähigkeit der Prüfsuspensionen B	33
4.	Diskussion	34
4.1.	Referenzmaterial A.....	34
4.1.1.	Ist eine Änderung der Faserzahl der Referenzfasern A erkennbar?	34
4.1.2.	Ist eine Änderung der Faserlängen und Durchmesser der Referenzfasern A zu erkennen?.....	35
4.1.3.	Sind Abweichungen der pH-Werte und der Leitfähigkeit in den Referenzsuspensionen A festzustellen?.....	36
4.1.4.	Sind Veränderungen der Faseroberflächen und Faserstruktur der Referenzfasern A zu beobachten?	36
4.2.	Prüfmaterial B.....	38
4.2.1.	Ist eine Änderung der Faserzahl in Prüfmaterial B erkennbar?.....	38
4.2.2.	Ist eine Änderung der Faserlängen und Durchmesser der Prüffasern B zu erkennen?.....	39
4.2.3.	Sind Abweichungen der pH-Werte und der Leitfähigkeit in den Prüfsuspensionen B festzustellen?	40
4.2.4.	Sind Veränderungen der Faseroberflächen und Faserstruktur der Prüffasern B zu beobachten?	40
4.3.	Vergleich der beiden Fasertypen.....	42
4.4.	Fehlerdiskussion	43
5.	Schlussfolgerung und Ausblick	44
5.1.	Sind die gemachten Hypothesen zutreffend?.....	44
5.2.	Sind weitere Untersuchungen und Verbesserungen empfehlenswert?.....	46
6.	Literaturverzeichnis	48
VI.	Eidesstattliche Erklärung	53
VII.	Anhang.....	54
	Anhang 1: Signifikanzprüfung der Faserzahlentwicklung von Referenzmaterial A und Prüfmaterial B über einen Zeitraum von 42 Tagen	54
	Anhang 2: Zusammensetzung der von Cannizzaro et al. (2019) untersuchten Fasern (Cannizzaro et al., 2019)	54
	Anhang 3: Signifikanzprüfung der Faserlänge und Faserdurchmesser (Referenzansatz A). 55	
	Anhang 4: Signifikanzprüfung der Faserlänge und Faserdurchmesser (Prüfansatz B)	57
	Anhang 5: EDX-Elementbestimmung 1 von Prüfmaterial B Ansatz 1 (28 Tage)	59

Anhang 6: EDX-Elementbestimmung 2 von Prüfmaterial B Ansatz 1 (28 Tage)	59
Anhang 7: EDX-Elementbestimmung 3 von Prüfmaterial B Ansatz 1 (28 Tage)	59

II. Abkürzungsverzeichnis

AES:	Erdalkali-Silicat
ASW:	Aluminiumsilikatwolle
BAuA:	Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin
DGUV:	Deutsche Gesetzliche Unfallversicherung
EDX:	Energiedispersive Röntgenspektroskopie
HTW:	Hochtemperaturwolle
ICP-OES:	Optische Emissionsspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma
KI:	Kanzerogenitätsindex
KMF:	Künstliche Mineralfasern
MMMMF:	Man Made Mineral Fibres
PCW:	Polykristalline Wollen
RCF:	Keramikfaser
REM:	Rasterelektronenmikroskop
RPMI:	Roswell Park Memorial Institute
SDD:	Siliziumdrift-detektor
TRGS:	Technische Regeln für Gefahrstoffe

III. Begriffserklärung

WHO-Fasern:	Fasern mit einer Länge von $l > 5 \mu\text{m}$ und einem Durchmesser von $d < 3 \mu\text{m}$, sowie einem Länge-/Durchmesser-Verhältnis von $> 3:1$ (VDI 3492, 2013)
-------------	---

IV. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1	Chrysotilasbest bei Betrachtung mit dem REM.	9
Abbildung 2	Amphibolasbest bei Betrachtung mit dem REM.....	9
Abbildung 3	Gesamtübersicht künstlich hergestellter Mineralfasern (Asam, 2011).....	13
Abbildung 4	Prüfmateriale B (AES) bei einer Vergrößerung von 2000:1.	18
Abbildung 5	Referenzmateriale A (RCF/ASW) bei einer Vergrößerung von 2000:1.	18
Abbildung 6	Versuchsaufbau im Heizschrank: Abgebildet sind die sechs verwendeten Glasflaschen im verwendeten Heizschrank.....	21
Abbildung 7	Im Versuch verwendete Filtrierapparatur bestehend aus: Trichter, Kernporenfilter, Stützfilter, Fritte, Auffangbehälter, Zange und Saugpumpe. .	22
Abbildung 8	Präparierter Probenahmeteller mit Filter.....	22
Abbildung 9	Referenzmateriale A mit einem für RCF/ASW Fasern charakteristischen Spektrum: Hoher Aluminium und Silicium Peak.	24
Abbildung 10	Prüfmateriale B mit einem für AES Fasern charakteristischen Spektrum: Hoher Silicium und Calcium Peak.	24
Abbildung 11	links: Referenzfasern A bei Versuchsbeginn. Rechts: Referenzfasern A nach 28 tägiger Behandlung in interstitieller Flüssigkeit. Beide Bilder wurden bei einer Vergrößerung von 2000:1 aufgenommen.	36
Abbildung 12	RCF Fasern nach 28 tägiger Behandlung in einer der Lungenflüssigkeit nachempfundenen Lösung, bei einer Vergrößerung von 1000:1 und einem pH-Wert von 7,4 (Cannizzaro et al., 2019).	37
Abbildung 13	Auswertung der Referenzfasern A nach 42 Tagen Versuchslaufzeit. Auf einigen Fasern des Referenzmaterials A konnte eine Beschichtung bzw. Film beobachtet werden. Aufnahme erfolgt bei verschiedenen Vergrößerungen. .	38
Abbildung 14	Filteroberfläche von Prüfmateriale B nach 14 Tagen. Neben den Fasern sind weitere Partikelförmige Objekte zu erkennen. Aufgenommen bei einer Vergrößerung von 2000:1.....	39
Abbildung 15	Prüfmateriale B nach 14 tägiger Behandlung bei pH 7,5: Rissbildung entlang der Faser-Querachse (links) und korrodierte Oberfläche (rechts). Die Aufnahmen erfolgten bei unterschiedlichen Vergrößerungsstufen.	41
Abbildung 16	REM Bild bei 1.500-facher Vergrößerung. Dargestellt sind die von Cannizzaro et al. (2019) untersuchten AES 1 Fasern nach 28 tätiger Behandlung bei pH 4,5. Zu erkennen sind Rissbildungen entlang der Faser- Querachse (Cannizzaro et al., 2019).....	41
Abbildung 17	REM Bild der von Ursini et al. (2019) untersuchten AES Fasern nach 24 h Behandlung in einer Zellfreien RPMI 1640 Medium bei einer Konzentration von 100 µg·l ⁻¹ . Zu erkennen ist eine Rissbildung entlang der Querachse der Fasern (Ursini et al., 2019).....	42
Abbildung 18	Gebogene Fasern erschweren die Auswertung der Faserlängen- und Durchmesser. Aufnahme bei einer Vergrößerung von 2500:1.	43

Alle in dieser Arbeit verwendeten Abbildungen ohne Quellenangabe wurden selbst, während der Erstellung der Arbeit, im Rasterelektronenmikroskopischen Labor, am Hygiene-Institut des Ruhrgebiets erstellt.

V. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1	Verteilung der Todesfälle aufgrund von Berufskrankheiten nach Krankheitsart in Deutschland in den Jahren 2013 bis 2017 (BAuA, 2019).	12
Tabelle 2	Zusammensetzung der im Versuch verwendeten interstitiellen Lösung.	21
Tabelle 3	Kriterien zur Spektren Interpretation nach VDI 3492. Fasern werden je nach Spektrum, einer der fünf Klassen zugeordnet (VDI 3492, 2013).	24
Tabelle 4	Protokoll der Faserauswertung (exemplarisch).....	25
Tabelle 5	Ermittelte Referenz-Faserzahlen auf einer Filterfläche von 0,5 mm ² (64 Bildfelder): Auf der Ordinate ist die Faserzahl aufgetragen. Auf der Abszisse ist die Versuchslaufzeit aufgetragen.	27
Tabelle 6	Faserzahlentwicklung der Referenzfasern A über die Versuchslaufzeit von 42 Tagen. Die ermittelte Zunahme der Faserzahlen bezieht sich auf die jeweils zu Beginn ermittelten Faserzahlen	28
Tabelle 7	Arithmetische Mittelwerte der Faserlängen und Durchmesser für die Referenzfasern A, Länge und Durchmesser in µm. Ausgewertet wurden jeweils alle Ansätze bei Versuchsbeginn und alle Ansätze bei Versuchsende nach 42 Tagen. Die Zwischenauswertung nach 14 und 28 Tagen erfolgte nur für die Fasern des ersten Ansatzes.	29
Tabelle 8	Ergebnisse der pH-Wert Messung und der Leitfähigkeitsmessung der Referenzfasern A. Gemessen im Abstand von 14 Tagen.	30
Tabelle 9	Ermittelte Faserzahlen der Prüfsuspensionen auf einer Filterfläche von 0,5 mm ² (64 Bildfelder): Auf der Ordinate ist die Faserzahl abgebildet. Auf der Abszissenachse ist die Versuchslaufzeit abgebildet.....	31
Tabelle 10	Faserzahlentwicklung der Prüffasern B über die Versuchslaufzeit von 42 Tagen. Die ermittelte Abnahme der Faserzahlen bezieht sich auf die jeweils zu Beginn ermittelten Faserzahlen	32
Tabelle 11	Arithmetische Mittelwerte der Faserlängen und Durchmesser für die Prüffasern B, Länge und Durchmesser in µm. Ausgewertet wurden jeweils alle Ansätze bei Versuchsbeginn und alle Ansätze bei Versuchsende nach 42 Tagen. Die Zwischenauswertung nach 14 und 28 Tagen erfolgte nur für die Fasern des ersten Ansatzes.	32
Tabelle 12	pH und Leitfähigkeit der Prüffasern B im Abstand von 14 Tagen.	33

Alle in dieser Arbeit verwendeten Tabellen ohne Quellenangabe wurden selbst, während der Erstellung der Arbeit, im Rasterelektronenmikroskopischen Labor, am Hygiene-Institut des Ruhrgebiets erstellt.

Zusammenfassung

Lange Zeit galt Asbest als Mineral der tausend Möglichkeiten. Asbest ist persistent gegenüber der meisten Säuren und Laugen. Zusätzlich ist Asbest hitze- und kälteunempfindlich. Aus diesen Gründen fand der Stoff in vielen Bereichen Anwendung. Mit der Zeit wurde jedoch festgestellt, dass Asbest durch seine feinfaserige, lungengängige Struktur sehr gesundheitsschädlich ist. Im Jahr 1993 wurde Asbest in der Bundesrepublik Deutschland verboten. Im Jahr 2005 folgte schließlich das Verbot in der gesamten Europäischen Union. Als Substitutions-Stoffe für Asbest werden heutzutage z.B. sogenannte künstliche Mineralfasern (KMF) verwendet. KMF sind vielgestaltige Synthefasern, welche aus der mineralischen Schmelze über Schleuder- oder Düsenverfahren gewonnen werden. KMF die nach 2000 eine Marktzulassung, als Dämmprodukte im Hochbau, erhalten haben, müssen biolöslich sein. Jedoch können KMF, welche vor 2000 eine Marktzulassung erhalten haben, eine Gesundheitsgefahr für den Menschen durch lungengängige Fasern darstellen. Daher muss jeder Stoff vor Marktzulassung Prüfverfahren absolvieren. Diese Prüfverfahren werden heutzutage im Wesentlichen *in-vivo* durchgeführt.

Die in diesem Versuch untersuchten KMF sind der Kategorie der HTW (Hochtemperaturwolle) zuzuordnen. Referenzmaterial A gehört zur Gruppe der RCF/ASW (Keramikfaser/Aluminiumsilikatwolle) Fasern, Prüfmaterial B zur Gruppe der AES (Erdalkali-Silicat) Fasern. Ziel dieser Bachelorarbeit ist die Weiterentwicklung und Validierung einer *in-vitro* Löslichkeitsuntersuchung zur Ermittlung der Biopersistenz von KMF. Untersucht wird die Abnahme der Faserzahl über einen Zeitraum von 42 Tagen. Der Test erfolgt in einer künstlich hergestellten interstitiellen Flüssigkeit, welcher die Fasern zugegeben werden. Die Suspensionen werden über die ganze Versuchslaufzeit auf einer Temperatur von 37 ± 1 °C gehalten. Zu Beginn des Versuchs und im Abstand von 14 Tagen werden der pH-Wert und die Leitfähigkeit der Suspensionen bestimmt. Ebenfalls wird aus jedem Glas eine aliquote Teilmenge filtriert. Die Filter werden anschließend rasterelektronenmikroskopisch hinsichtlich Faserzahl, Faserlänge und Faserdurchmesser ausgewertet.

Bei Referenzmaterial A ist keine Abnahme der Faserzahl zu beobachten. Eine signifikante Steigerung der Faserlängen und Faserdurchmesser ist in Ansatz A2 und A3 zu beobachten. Eine Veränderung der Faserstruktur und Faseroberfläche ist nicht zu beobachten. Die pH- und Leitfähigkeitswerte erhöhen sich nur leicht. Bei Prüfmaterial B ist eine signifikante Abnahme der Faserzahlen festzustellen. Eine Zunahme kann bei den Faserlängen und Faserdurchmessern kann nur bei Prüfansatz B3 beobachtet werden. Die Fasern zeigen Rissbildungen und die Oberflächen vieler Fasern scheinen angegriffen. Der pH-Wert ist bei Überprüfungen stets deutlich im alkalischen Bereich und muss alle 14 Tage eingestellt werden. Die Leitfähigkeit ist von Beginn an sehr hoch und steigt über den Versuchszeitraum nur leicht an. Die Einstufung als potenziell karzinogen in die Kategorie 1B der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008 scheint für Referenzmaterial A hinsichtlich der Versuchsergebnisse plausibel. Prüfmaterial B ist freigezeichnet nach Anmerkung Q der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008. Dies scheint hinsichtlich der Versuchsergebnisse ebenfalls plausibel.

Empfehlungen für weiterführende Untersuchungen bestehen darin, zusätzlich zur Abnahme der Faserzahl, die Untersuchung auf weitere Parameter, wie z.B. Löslichkeitsprodukte der Fasern zu erweitern. Der im Rahmen dieser Arbeit durchgeführte Versuch hat gezeigt, dass durch *in-vitro* Versuche erste Aussagen bezüglich der Biopersistenz von KMF möglich sind.

Abstract

For a long time, asbestos was regarded as the mineral of the thousand possibilities. Asbestos is persistent against most acids and alkalis. Asbestos is also insensitive to heat and cold. For these reasons the material was used in many applications. Over time, however, it was discovered that asbestos was very harmful to health due to its fine-grained, respirable structure. In 1993, asbestos at last was banned in the Federal Republic of Germany. In 2005 it was finally banned throughout the European Union.

Nowadays, so-called „Man Made Mineral Fibers“ (MMMF) are used as substitutes for asbestos. MMMF are various synthetic fibers, which are obtained from the mineral melt by centrifugal or nozzle processes. MMMF, which have received market approval after 2000 must be bio soluble. However, MMMF, which received market approval before 2000, can pose a health hazard to humans due to respirable fibers. Therefore, every substance must undergo certain test procedures before it can be marketed. These test procedures are nowadays mainly carried out *in-vivo*, i.e. on live animals.

The MMMF examined in this experiment belong to the HTW (High temperature wool) category. Reference material A belongs to the group of RCF/ASW (Refractory ceramic fibers/Alumina silicate wool) fibers. Test material B to the group of AES (Alkaline earth silicate) fibers. The aim of this bachelor thesis is the further development and validation of an *in-vitro* solubility test to determine the bio persistence of MMMF. The decrease of the number of fibers over a period of 42 days is investigated. The test is carried out in an artificially produced interstitial liquid to which the fibers are added. The suspensions are kept at a temperature of 37 ± 1 °C throughout the duration of the test. PH and conductivity are determined at the beginning of the test and every 14 days. An aliquot partial quantity is also taken from each glass and filtered. The filters are evaluated by scanning electron microscopy with regard to fiber number, fiber length and fiber diameter.

For reference material A, no decrease in the number of fibers can be observed. A significant increase in fiber lengths and fiber diameters can be observed in batch A2 and A3. A change in the fiber structure and fiber surface is not observed. The pH and conductivity values increase only slightly. For test material B, a significant decrease in the number of fibers can be observed. An increase in fiber lengths and fiber diameters can only be observed with test batch B3. The fibers show crack formations along the transverse axis and the surfaces of many fibers appear to be attacked. The pH value during tests is always clearly allocated to an alkaline environment and must be adjusted every 14 days. The conductivity is very high right from the start and increases only slightly over the test period.

The classification as potentially carcinogenic in category 1B of Regulation (EC) No 1272/2008 seems plausible for reference material A with regard to the test results. Test material B is signed free according to Note Q of Regulation (EC) No 1272/2008. This also seems plausible regarding the test results.

Recommendations for further investigations consist in extending the investigation to further parameters such as solubility products of the fibers in addition to the decrease in the number of fibers. The carried-out test has shown that, first statements regarding the bio persistence of MMMF are possible through *in-vitro* experiments.

1. Einleitung und Theoretische Grundlagen

Die Produktionsmenge künstlicher Mineralfasern im Jahr 2009 betrug in Deutschland 673,1 tausend Tonnen (Statistisches Bundesamt, 2018). 2013 wurden bereits 950,4 tausend Tonnen produziert, im Jahr 2017 1.022,5 tausend Tonnen (Statistisches Bundesamt, 2019). Obwohl seit Juni 2000 alle für den Hochbau neu zugelassenen künstlichen Mineralfasern gefahrstoffrechtlich freigezeichnet sein müssen, gibt es bis heute aufgrund fehlender Standardisierung keine verifizierte *in-vitro*-Methode zur Bestimmung der Biopersistenz von künstlichen Mineralfasern. Dies hat zur Folge, dass diese Tests heutzutage *in-vivo* durch Inhalationstests oder durch intraperitoneale Injektion – meist an Nagetieren – durchgeführt werden.

Das im Rahmen dieser Bachelorarbeit durchgeführte *in-vitro* Experiment fand im Labor für Rasterelektronenmikroskopie (REM-Labor) des Hygiene-Instituts des Ruhrgebiets in Kooperation mit der Rath GmbH statt.

1.1. Fragestellung und Hypothese

Ziel dieser Arbeit ist die Validierung und Weiterentwicklung einer *in-vitro* Löslichkeitsuntersuchung zur Abschätzung der Biopersistenz von anorganischen faserförmigen Partikeln.

Es soll untersucht werden, ob bereits bei der Forschung und Entwicklung von Isolations-Produkten, durch *in-vitro* Versuche abgeschätzt werden kann, inwiefern sich die gewählten Zusammensetzungen der künstlichen Mineralfasern auf die Biopersistenz der enthaltenen WHO-Fasern (Fasern mit einer Länge von $l > 5 \mu\text{m}$ und einem Durchmesser von $d < 3 \mu\text{m}$, sowie einem Länge-/Durchmesser-Verhältnis von $> 3:1$ (VDI 3492, 2013)) auswirkt (Prüfbericht Nr. A-306974-18-Bi, Bien, 2018).

Die Überprüfung der Hypothesen erfolgt anhand von zwei Hochtemperaturdämmwollen (A und B) unterschiedlicher Zusammensetzung und der sich daraus ergebenden Beständigkeit. Anhand der Abnahme der Faserzahlen soll die Zerfalls-Halbwertszeit dieser abgeschätzt werden (Prüfbericht Nr. A-306974-18-Bi, Bien, 2018).

Neben der Ermittlung der Faserzahl werden zusätzlich die Faserlängen, Faserdurchmesser, Veränderungen der Faseroberflächen, der Faserstruktur, der pH-Wert und die Leitfähigkeit als Begleitparameter aufgezeichnet.

Die im Rahmen dieser Arbeit überprüften Hypothesen lauten wie folgt:

- Es kann analog der gefahrstoffrechtlichen Freizeichnung eine Abnahme der Faserzahlen von Material B in der verwendeten interstitiellen Flüssigkeit über einen Zeitraum von 42 Tagen festgestellt werden.
- Die Faserzahl von Material A nimmt über einen Zeitraum von 42 Tagen in der verwendeten interstitiellen Flüssigkeit nicht wesentlich ab.
- Die aus den Ergebnissen dieser Arbeit abgeleiteten Schlussfolgerungen stimmen mit der Einordnung der Stoffe nach Verordnung (EG) Nr. 1272/2008 überein.

1.2. Asbest

Im altgriechischen bedeutet Asbest so viel wie „unvergänglich oder unauslöschlich“. Lange galt Asbest als „Mineral der tausend Möglichkeiten“ (Berufsgenossenschaft der Bauwirtschaft, 2015). Der Begriff „Asbest“ bezeichnet zwei Gruppen silikatischer Minerale (Stroh et al, 2018). Zum einen Serpentin-asbest: Chrysotil Asbest (Weißasbest), dem alkalihaltigen Amphibol Asbest: Krokydolith (Blauasbest) und den alkalifreien bzw. alkaliarmen Amphibol Asbesten: Amosit, Aktinolith, Tremolit und Anthophyllit (Braunasbest) (Stroh et al., 2018). Quantitativ betrachtet nahm Chrysotil (Weißasbest) mit über 90 % die Spitzenposition im Asbestverbrauch ein. An zweiter und dritter Stelle standen Krokydolith und Amosit (Stroh et al., 2018). Der Verbrauch in den alten Bundesländern in Deutschland betrug zwischen 1950 – 1985 etwa 4,4 Millionen Tonnen (Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Medizin - BAuA 2015). In den folgenden Abbildungen 1 und 2 sind die typischen Erscheinungsbilder der zwei Asbestgruppen Chrysotil und Amphibol dargestellt. Chrysotil Asbest sieht sehr fein und gebogen aus, während die Gruppe der Amphibol Asbeste eher nadelförmig aussieht und einen rechteckigen Querschnitt besitzt (Umweltbundesamt, 2016). In den folgenden drei Kapiteln werden die Stoffeigenschaften, der Einsatzbereich, die Gesundheitsgefahren und die damit einhergegangenen Regulierungen und Verbote betrachtet.

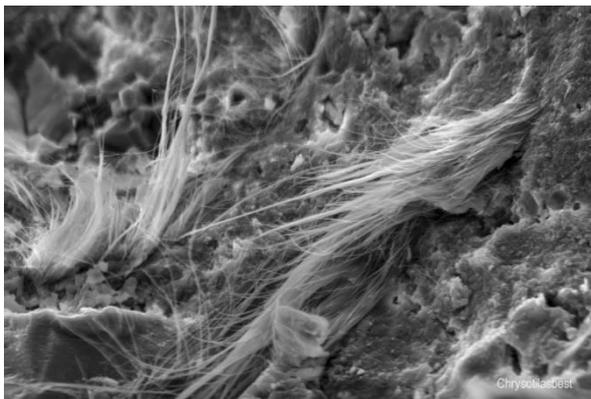


Abbildung 1 Chrysotilasbest bei Betrachtung mit dem REM.

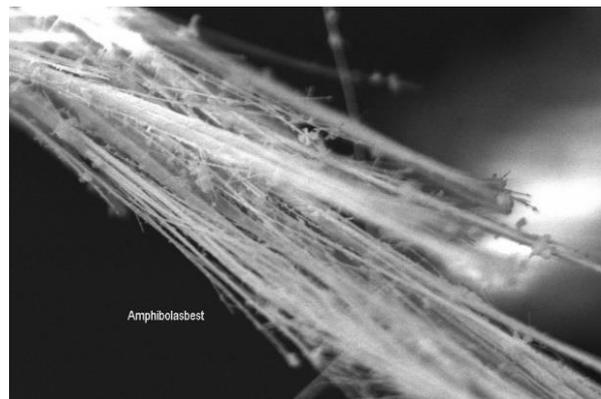


Abbildung 2 Amphibolasbest bei Betrachtung mit dem REM.

1.2.1. Stoffeigenschaften und Einsatzbereich

Ein für Asbest typisches Verhalten ist die Aufspaltung entlang der Längsachse der Fasern (Stroh et al., 2018). Durch diese Art der Aufspaltung besitzen Asbestfasern häufig einen so geringen Durchmesser, dass sie im Lichtmikroskop nicht mehr zu erkennen sind (Stroh et al., 2018). Trotzdem ist Asbest ein sehr beständiges Produkt und besitzt hervorragende Eigenschaften, wie z.B. eine hohe thermische-, chemische- und biologische Beständigkeit (Umweltbundesamt, 2016). Die wichtigsten Eigenschaften, die den großflächigen Einsatz von Asbest begründeten, sind im Folgenden Stichpunktartig aufgeführt: Faserstruktur, geringe dichte, hohe Elastizität, geringe und thermische Leitfähigkeit, hohe Hitzebeständigkeit, gute chemische Resistenz gegenüber Säuren (Krokydolith) und Laugen (Chrysotil) (Berufsgenossenschaft der Bauwirtschaft, 2015). Bis heute enthalten viele alte verbaute Produkte Asbest (Stroh et al., 2018). Hierbei wird grundsätzlich zwischen zwei Arten von Asbest unterschieden, für die es zeitweise mehr als 3.000 verschiedene Anwendungsmöglichkeiten gab. Unterschieden wird hierbei zwischen zwei Verarbeitungsformen:

- Fest gebundener Asbest (z.B. Asbestzement): Diese Verarbeitungsform enthält i.d.R. zwischen zehn und 15 % Asbest und Zement als Bindemittel (Stroh et al., 2018). Anwendung fand Asbestzement z.B. in Welldachplatten und Fassadenschindeln (sog. Eternit-Platten) (Stroh et al., 2018).
- Schwach gebundener Asbest (z.B. Spritzasbest): Diese Verarbeitungsform enthält meistens 25-40 % Asbest (Krokydolith) und weniger Bindemittel als festgebundener Asbest. Bei dieser Form werden bei mechanischer Beanspruchung sehr leicht Fasern freigesetzt, dadurch kann die Raumluft stoßweise stark belastet werden. Anwendung fand Spritzasbest vor allem im Hitzeschutz und bei Stahlskelettbauten (Stroh et al., 2018).

Häufig ist Asbest bis heute noch in alten Bodenbelägen (z.B. PVC in Verbindung mit einer Trägerschicht aus Asbestpappe) vorzufinden, da diese in den 1970er-Jahren einen Marktanteil von ca. 70 % innehatten (Stroh et al., 2018). Diese können Asbest sowohl in schwachgebundener als auch festgebundener Form enthalten. Einige Beispiele hierfür sind: Vinyl-Asbest Fliesen, Flex-Platten, Cushion-Vinyl-Beläge und Asbesthartfliesen. Vereinzelt wird Asbest auch in neuen Produkten eingesetzt, meist jedoch illegal, z.B. in Thermoskannen, Dichtungen und Wasserkochern (Stroh et al., 2018). Auch wenn Asbest viele positive Eigenschaften besitzt, wurde mit der Zeit festgestellt, dass die negativen Faktoren, die der Stoff mit sich bringt, deutlich überwiegen. Im nachfolgenden Unterpunkt wird auf die Freisetzung von Asbestfasern an die Umgebung, die damit einhergehende Gesundheitsgefahr für den Menschen und die dafür geschaffenen, nationalen und internationalen Verbote und Entsorgungsvorschriften eingegangen.

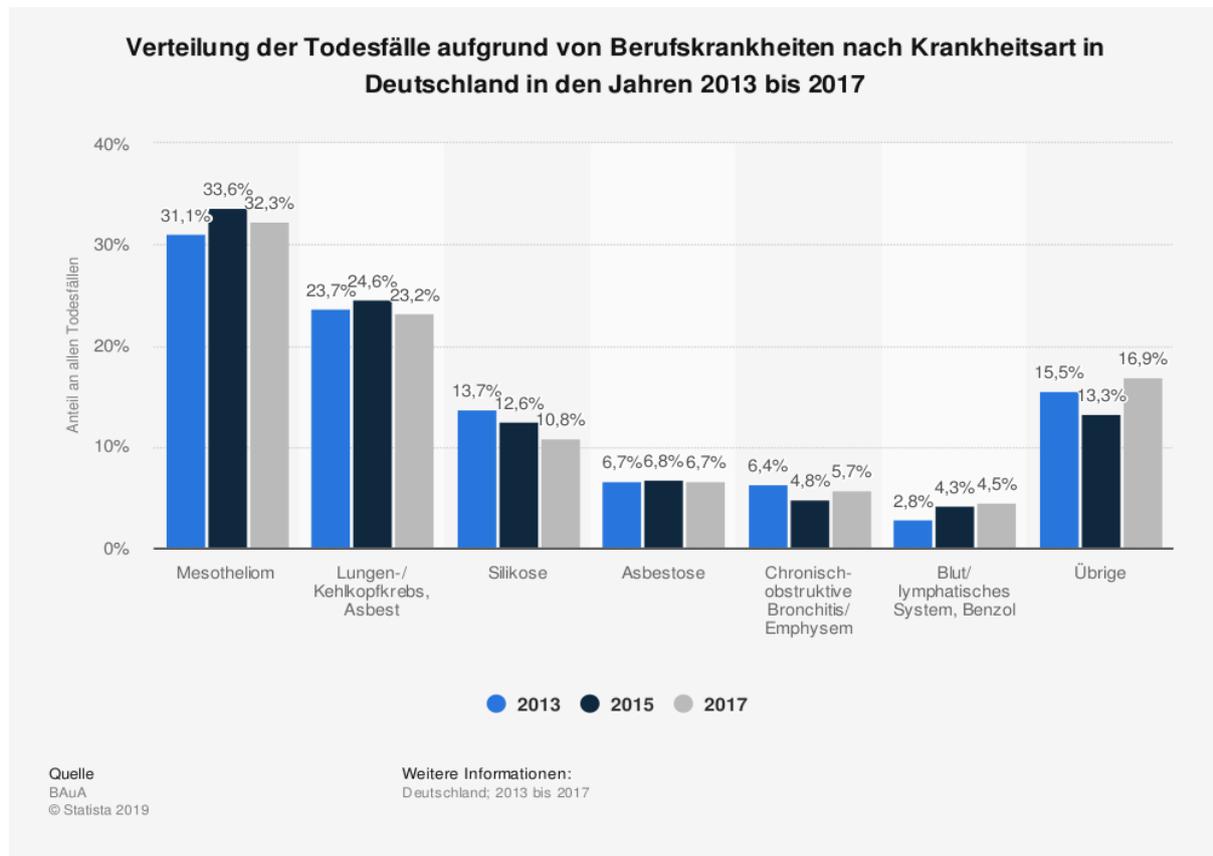
1.2.2. Freisetzung von Asbestfasern und Gesundheitsgefahren

Da eine gesundheitliche Beeinträchtigung durch Asbest vor allem durch lungengängige Fasern erzeugt wird, ist es wesentlich, diesen Punkt zu betrachten. Eine Freisetzung von Asbestfasern in die Umgebungsluft ist durch äußere Einflüsse, Verwitterung des Bindemittels, oder durch mechanische Belastung möglich (Herr, 2010). Selbst weit entfernt von Belastungsquellen

kann stets eine gewisse „Hintergrundbelastung“ von etwa 100 – 150 Fasern pro m³ gemessen werden (Stroh et al., 2018). Schätzungsweise werden 500 Tonnen pro Jahr und 20 Millionen Fasern pro Tag, durch Verwitterung aus verbauten Produkten freigesetzt. Die größte Gefahr stellt jedoch die unsachgemäße Bearbeitung von z.B. Asbestzement dar. Wird dieser zerbrochen, zerschlagen oder anderweitig mechanisch beansprucht, z.B. durch schleifen oder fräsen, so können dadurch bis zu zehn Millionen Fasern pro m³ freigesetzt werden. Da in Innenräumen Asbestzementprodukte nicht der Witterung ausgesetzt sind, werden hier i.d.R. keine Fasern freigesetzt. Allerdings muss bei Umbauarbeiten oder einer Entfernung von asbesthaltigen Bauteilen darauf geachtet werden, Innenräume nicht zu kontaminieren. Bei einer sachgemäßen Entsorgung von asbesthaltigen Abfällen auf Deponien kommt es nur zu einer minimalen Faserbelastung in der näheren Umgebung (Stroh et al., 2018).

Bereits im Jahr 1973 wurde Asbest von der Deutschen Forschungsgemeinschaft als krebserzeugend eingestuft (Mittmann, 2010). Haupttodesursachen asbestbedingter Erkrankungen in den Industriestaaten sind durch Asbestfaserstaub verursachter Lungenkrebs, Asbestose und das Mesotheliom (Mittmann et al., 2010). Die Wahrscheinlichkeit zu erkranken hängt im Wesentlichen vom Lebensalter, der individuellen Disposition sowie der im Körper aufgenommenen WHO-Fasern ab (BAuA, 1997). Im Folgenden werden die genannten Krankheiten kurz beschrieben. Durch Asbest verursachter Lungenkrebs weist keine bedeutsamen Unterscheidungsmerkmale gegenüber Lungenkrebs anderer Ursachen auf. Charakteristisch sind hierbei Reizhusten und blutiger Auswurf (BAuA, 1997). Bei der Asbestose (Asbeststaublunge) entstehen großflächige Vernarbungen im Gewebe der Lunge durch eingeatmeten Asbestfaserstaub (Abigail, 2019). Charakteristische Symptome für Asbestose sind: Kurzatmigkeit, Verringerung der körperlichen Belastungsfähigkeit und Husten. Die genannten Symptome zeigen sich jedoch erst wenn bereits große Teile der Lunge vernarbt sind (Abigail, 2019). Das Mesotheliom ist ein Krebs der dünnen, transparenten, zweischichtigen Membran, welche die Brustwand und den Bauchraum nach innen auskleidet (Abigail, 2018). Die häufigsten Symptome bei einem Mesotheliom sind anhaltende Schmerzen im Brustbereich sowie Kurzatmigkeit. Breitet sich das Mesotheliom aus, so kann es z.B. zu starken Schmerzen, Heiserkeit, Schluckbeschwerden, Schwäche und Empfindungsstörungen in Armen und Händen oder zu Schwellungen des Bauchraums kommen (Abigail, 2018). Im Mittel dauert es 30 Jahre bis sich asbestbedingte Krankheiten entwickeln (Stroh et al., 2018). Auch der Schwankungsbereich ist mit 10 bis 60 Jahren sehr groß (Stroh et al., 2018). Tabelle 1 zeigt die Verteilung der Todesfälle aufgrund von Berufskrankheiten nach Krankheitsart (BAuA, 2019). Im Jahr 2017 gab es nach der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung (DGUV) insgesamt 2580 Todesfälle infolge einer Berufskrankheit (DGUV, 2018). Hieraus kann mit Hilfe von Tabelle 1 abgeleitet werden, dass im Jahr 2017 insgesamt 833 Menschen an einem Mesotheliom, 599 Menschen an Lungen-/Kehlkopfkrebs und 163 Menschen infolge von Asbestose starben.

Tabelle 1 Verteilung der Todesfälle aufgrund von Berufskrankheiten nach Krankheitsart in Deutschland in den Jahren 2013 bis 2017 (BAuA, 2019).



1.2.3. Sanierung, Entsorgung und Verbote

Trotz der vielen positiven Eigenschaften von Asbest, welche im Kapitel 1.2.1. „Einsatzbereich und Stoffeigenschaften“ ausführlich beschrieben werden, überwiegen die negativen Eigenschaften des Minerals auf die Gesundheit. Dies führte dazu, dass Asbest 1993 in der Bundesrepublik Deutschland und 2005 in der gesamten Europäischen Union verboten wurde (Kroker, 2012). Weltweit haben bis Ende 2013 mehr als 50 Länder die Verwendung von Asbest verboten (Stroh et al., 2018). Nichts desto trotz liegt die aktuell abgebaute Menge von Asbest in Russland, China, Brasilien und Kasachstan, bei derzeit über zwei Millionen Tonnen pro Jahr (Stroh et al., 2018).

Im Folgenden werden die Regelungen für Sanierungsarbeiten und Entsorgung asbesthaltiger Materialien beschrieben.

In der Technischen Regel für Gefahrstoffe 519 (TRGS) ist der aktuelle Stand der Technik bei Staubminderung und Gefahrenabwehr festgelegt (Stroh et al., 2018). Hiernach dürfen nur zertifizierte Betriebe Sanierungs- und Abbrucharbeiten durchführen (Stroh et al., 2018). Asbesthaltige Abfälle sind in dafür geeigneten, sicher verschließbaren und gekennzeichneten Behältnissen zu sammeln (Umweltbundesamt, 2016). Nach Anhang III der Richtlinie 2008/98/EG, sind alle asbesthaltigen Abfälle des Europäischen Abfallverzeichnisses sog. gefährliche Abfälle. Für die Entsorgung dieser Abfälle gelten spezielle Bestimmungen. In Deutschland wird die Entsorgung asbesthaltiger Abfälle durch Regelungen der einzelnen Bundesländer festgelegt (Umweltbundesamt, 2016). Das Deponieren asbesthaltiger Abfälle

darf nur in abfallrechtlich dafür zugelassenen Deponien erfolgen (Berufsgenossenschaft der Bauwirtschaft, 2015).

Heutzutage wird Asbest häufig durch künstliche Mineralfasern ersetzt, da diese ähnliche technische Eigenschaften besitzen und in vielen Fällen unbedenklich für die menschliche Gesundheit sind (Strohe et al., 2018).

1.3. Künstliche Mineralfasern als Ersatz für Asbest

Umgangssprachlich werden künstliche Mineralfasern als Glaswolle, Steinwolle, Kamilit oder Mineralwolle bezeichnet (Stroh et al., 2018). Unter der Bezeichnung „künstliche Mineralfasern“ (KMF) wird eine Gruppe von synthetisch hergestellten Fasern anorganischer Basis zusammengefasst (Asam, 2011). Nach EU-Richtlinie 97/69/EG lautet die Definition von KMF wie folgt: „Künstliche Mineralfasern, die aus ungerichteten glasigen (Silikat-) Fasern mit einem Massengehalt von über 18 % an Oxiden von Natrium, Kalium, Calcium, Magnesium und Barium bestehen“ (Asam, 2011).

KMF werden aus der mineralischen Schmelze über verschiedene Schleuder- oder Düsenverfahren gewonnen (Stroh et al, 2018). KMF finden meist Anwendung im Bereich der Wärmedämmung, als Brand- und Kälteschutz. Typische Verwendungsformen für KMF sind daher Platten, Matten und Filze, an Dächern, Decken, Wänden, Rohr- und Lüftungsleitungen (Stroh et al., 2018). In Abbildung 3 ist eine übersichtliche Zusammenfassung der verschiedenen Arten von KMF dargestellt.

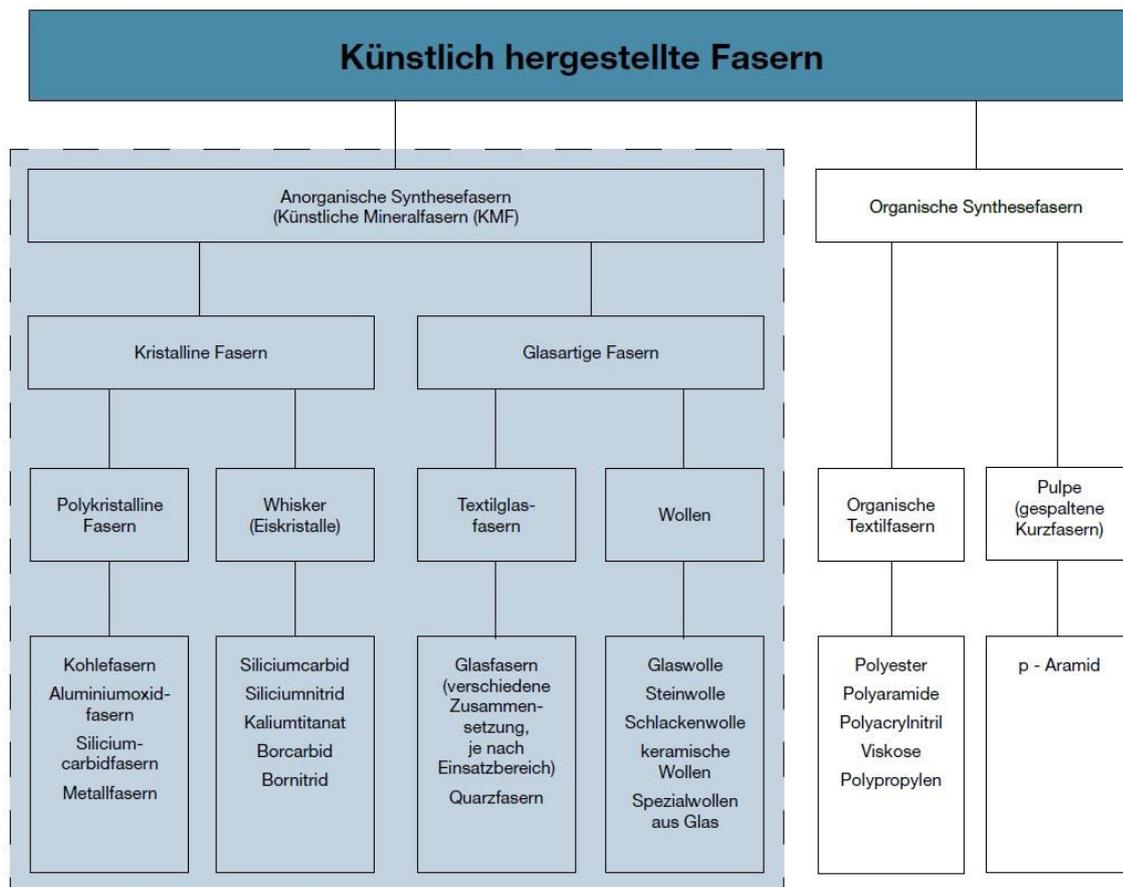


Abbildung 3 Gesamtübersicht künstlich hergestellter Mineralfasern (Asam, 2011).

Heutzutage wird nach TRGS 521 zwischen „Alter Mineralwolle“ und „Neuer Mineralwolle“ unterschieden (TRGS 521, 2008). Diese Begriffe dienen zur Umschreibung der Einstufung der Fasern als karzinogen (alte Mineralwolle) und nicht karzinogen (neue Mineralwolle). Für alte Mineralwolle gilt seit Juni 2000 ein Verwendungs- und Herstellungsverbot nach Anhang IV Nr. 22 der Gefahrstoffverordnung (Asam, 2011). Mineralwolle aus künstlichen Mineralfasern mit einem Herstellungsdatum ab ungefähr 1996 bezeichnet man als neue Mineralwolle (TRGS 21, 2008). Neue Mineralwolle muss die Freizeichnungskriterien des Anhangs IV Nr. 22 der Gefahrstoffverordnung erfüllen (TRGS 521, 2008).

Im folgenden Kapitel werden die verschiedenen Prüfverfahren zur gesundheitlichen Unbedenklichkeit von KMF genauer betrachtet.

1.3.1. Prüfverfahren

Soll die gesundheitliche Unbedenklichkeit für ein KMF-Produkt nachgewiesen werden, so gibt es dafür verschiedene Möglichkeiten. Nach deutschem Recht ist eine Prüfung nach Gefahrstoffverordnung bzw. Chemikalien-Verbotsverordnung vorgesehen (Asam, 2011). Nach europäischem Recht nach EG-Verordnung Nr. 1272/2008 CLP-VO (Asam, 2011).

Die Einstufung von Mineralfasern als potenziell karzinogen nach EG-Verordnung Nr. 1272/2008 CLP-VO erfolgt anhand der Aussagekraft der Nachweise, also der Beweiskraft der Daten (EG-Verordnung Nr. 1272/2008, 2008). Die betreffenden Stoffe werden hierbei in zwei Kategorien unterteilt.

- Kategorie 1 werden Stoffe zugeordnet, die bekanntermaßen oder wahrscheinlich eine karzinogene Wirkung haben. Die Stoffe werden in zwei weitere Unterkategorien aufgeteilt:
 - Kategorie 1A ist für Stoffe, die bekanntermaßen beim Menschen karzinogen sind. Hierzu zählt z.B. Asbest und Zigarettenrauch. Wesentlich ist hierbei, dass die Einstufung überwiegend aufgrund von Nachweisen bei Menschen erfolgt.
 - Kategorie 1B werden Stoffe zugeordnet, die wahrscheinlich karzinogen beim Menschen sind. Hierbei ist es wesentlich, dass die Einstufung überwiegend durch den Nachweis an Tieren erbracht wird.
- In Kategorie 2 fallen Stoffe, bei denen ein Verdacht auf karzinogene Wirkung beim Menschen besteht. Eingestuft werden die Stoffe in Kategorie 2 aufgrund von Nachweisen die an Menschen und/oder Tieren erbracht wurden und deren Aussagekraft nicht hinreichend für eine Einteilung in Kategorie 1A, oder 1B ist (EG-Verordnung Nr. 1272/2008, 2008).

Betrachtet man die Gefahrstoffverordnung, so stehen drei Prüfverfahren zur Auswahl, um die karzinogene Wirkung eines Stoffes zu überprüfen (Asam, 2011). Diese lauten wie folgt:

- Ein geeigneter intraperitoneal Test hat keine Anzeichen von übermäßiger Karzinogenität erbracht.
- Die Halbwertszeit nach intratrachealer Instillation von 2 mg einer Fasersuspension für WHO-Fasern beträgt höchstens 40 Tage.
- Der Kanzerogenitätsindex (KI), der sich aus der Differenz zwischen der Summe der Massengehalte (in %) folgender Oxide von Natrium, Kalium, Bor, Calcium, Magnesium, Barium und dem doppelten Massengehalt (in %) von Aluminiumoxid ergibt, ist bei künstlichen Mineralfasern mindestens 40.

$KI > 40$: Stoff gilt als nicht krebserzeugend

$KI > 30 \ \& \ \leq 40$: möglicherweise Krebserzeugend - Kategorie 3 der TRGS 558

$KI < 30$: Kategorie 2 der TRGS 558 (Krebserzeugend)

Erfolgt die Beurteilung zur Freizeichnung/Freigabe nach der EG-Verordnung Nr. 1272/2008, stehen vier Verfahren zur Auswahl (Asam, 2011). Diese sind in der EG-Verordnung Nr. 1272/2008 CLP-VO unter Anmerkung Q wie folgt definiert:

- Ein geeigneter intraperitoneal Test hat keine Anzeichen von übermäßiger Karzinogenität erbracht.
- Mit einem kurzfristigen Inhalationsbiopersistenztest wurde nachgewiesen, dass die gewichtete Halbwertszeit der Fasern mit einer Länge von über 20 μm weniger als 10 Tage beträgt.
- Mit einem kurzfristigen Intratrachealbiopersistenz-test wurde nachgewiesen, dass die gewichtete Halbwertszeit der Fasern mit einer Länge von über 20 μm weniger als 40 Tage beträgt
- Abwesenheit von relevanter Pathogenität oder von neo-plastischen Veränderungen bei einem geeigneten Langzeitinhalationstest.

Zusätzlich gelten in Deutschland für faserige Stäube Vorschriften gemäß der TRGS 905 (Brown et al., 2012). In dieser ist eine Liste von Stoffen enthalten, die ggf. Stäube freisetzen können, welche als krebserregend eingestuft sind. Sie umfasst Stäube, die aus Stoffen oder Zubereitungen stammen und möglicherweise nicht von der EU eingestuft wurden (Brown et al., 2012).

Durch die Einführung der Chemikalien-Verbotsverordnung im Jahr 2000 wurden die Anforderungen an die Freizeichnung von KMF abgeändert (Asam, 2011). Alle KMF-Typen müssen seitdem kumulativ, sowohl die europäischen Freizeichnungskriterien erfüllen als auch die deutschen. Da die Kumulierung auch gleiche Testverfahren erlaubt, wird in der Praxis der intraperitoneale Test bevorzugt angewandt. Dies hat den Grund, dass dieser als einziger Test in beiden Verordnungen gefordert wird. Eine Freizeichnung z.B. nur über den KI, ist seitdem nicht mehr möglich.

1.3.2. Gesundheitsgefahren

Schon im Jahr 1972 wurden Nachweise veröffentlicht, dass KMF für den Menschen gesundheitsschädigend sein können (Asam, 2011). Die karzinogene Wirkung der WHO-Fasern ist abhängig von der Verweildauer in der Lunge und der Biobeständigkeit der Fasern (Stroh et al., 2018). Fasern mit WHO-Abmessungen können, wenn sie biobeständig sind, Lungen- und Kehlkopfkrebs auslösen (Stroh et al., 2018). Nach einem neuen Bewertungsschema für KMF des Ausschusses für Gefahrstoffe von 1994, sind nichtmehr nur die geometrischen Verhältnisse von Faserlänge zu Faserdurchmesser von Bedeutung, sondern entscheidend ist die Beständigkeit der Fasern im Körper. Je schneller sich also die Fasern im Körper auflösen, desto geringer ist die gesundheitliche Beeinträchtigung. KMF können erst ab einer bestimmten Verweildauer im Körpergewebe eine Tumorbildung hervorrufen (Asam, 2011). Diese Mindestbeständigkeit hierfür ist nicht genau bekannt (Stroh et al., 2018). Ausgegangen wird daher von einer zulässigen Halbwertszeit von höchstens 40 Tagen (Asam, 2011). Die Biopersistenz der Fasern ist durch deren chemische Zusammensetzung vorgegeben. Bei neuen KMF werden daher vermehrt Materialien verwendet von denen Bekannt ist, dass sie biolöslich sind (z.B. Natrium-, Kalium-, Calcium-, Magnesium- und Bariumoxide). Die Anteile an schwerlöslichen Materialien werden hingegen verringert (Silizium- und Aluminiumoxid) (Asam, 2011).

Die heutzutage vorherrschende Meinung ist, dass die Fasertoxizität hauptsächlich eine Funktion der Dosis, Dimension und Haltbarkeit ist.

1.3.3. Entsorgung von künstlichen Mineralfasern

KMF-haltige Abfälle sind in dafür geeignete Behältnisse zu verpacken, z.B. staubdichte und reißfeste Bigbags (Stroh et al., 2018). Zusätzlich müssen die Säcke mit einer Kennzeichnung bezüglich ihres Inhaltes versehen werden. Viele Landkreise ermöglichen die Abgabe KMF-haltiger Abfälle an Wertstoffhöfen oder hierfür zugelassenen Deponien. Eine grundlegende Charakterisierung der chemischen Bestandteile, ist für alle KMF-Abfälle vorgeschrieben. Die KMF-Abfälle werden i.d.R. binnen einer Woche mit mineralischen Abfällen (z.B. Aschen aus der Hausmüllverbrennung, Gleisschotter oder Bauschutt) überdeckt (Stroh et al., 2018).

1.3.4. In dieser Arbeit behandelte künstliche Mineralfasern

Die in dieser Bachelorarbeit untersuchten KMF gehören zur sogenannten Gruppe der Hochtemperaturwollen (HTW). Unter den Begriff der Hochtemperaturwolle werden nach TRGS 558 „Tätigkeiten mit Hochtemperaturwolle“, alle Produkte aus künstlich hergestellten Mineralwollen, welche bis über 600 °C Temperaturstabil sind, zusammengefasst (TRGS 558, 2010). Zur Klasse der HTW gehören Aluminiumsilikatwollen (RCF/ASW), amorphe Erdalkalisilikatwollen (AES) sowie polykristalline Wollen (PCW) mit einer Klassifikationstemperatur von > 1000 °C (TRGS 558, 2010).

Bei den in dieser Arbeit untersuchten Referenz- und Prüfmustern handelt es sich um zwei Hochtemperaturwollen der Rath GmbH, Meißen. Die beiden Materialien wurden in Form von Dämmmatten zur Verfügung gestellt. Beschrieben werden können die Materialien als weiß bis beige gefärbte Matten (Prüfbericht Nr. A-306974-18-Bi, Bien, 2018).

Zur Bestimmung der Elementzusammensetzung der Materialien wurde in einem vorangegangenen Versuch gemäß DIN ISO 22309:2015-11 eine Charakterisierung der Materialien durchgeführt (Prüfbericht Nr. A-306974-18-Bi, Bien, 2018). Die Ergebnisse der Elementbestimmung werden nachfolgend dargestellt.

- Referenzmaterial A:
 - Aluminiumsilikatfaser: Sauerstoff (O) = 50,2 m%, Aluminiumoxid (Al_2O_3) = 26,18 m%, Siliziumdioxid (SiO_2) = 23,62 m%.
- Prüfmaterial B:
 - Calciumsilikatfaser: Siliziumdioxid (SiO_2) = 23,86 m%, Calciumoxid (CaO) = 11,46 m%, Kohlenstoffdioxid (CO_2) = 7,92 m%, Kaliumoxid (K_2O) = 0,41 m%, Aluminiumoxid (Al_2O_3) = 0,33 m%, Magnesiumoxid, (MgO) = 0,19 m%, Gold(III)-oxid (Au_2O_3) = 2,22 m% (Gold(III)-oxid ist präparationsbedingt enthalten).

Referenzmaterial A ist aufgrund seiner hohen Siliziumdioxid (SiO_2) und Aluminiumoxid (Al_2O_3) Bestandteile der Gruppe der Keramikfasern (RCF) oder der Aluminiumsilikatswolle (ASW) Fasern zuzuordnen. KMF der Gruppe RCF/ASW haben mehrere physikalische Eigenschaften, die ihren Einsatz als Werkstoff begründen (Utell et al., 2010). Dazu gehören z.B. eine geringe thermische Leitfähigkeit, geringe Wärmespeicherkapazität, ausgezeichnete Temperaturwechselbeständigkeit, zusätzlich ist das Material sehr leicht und einfach zu installieren. Aufgrund dieser Eigenschaften findet das Material häufig Anwendung im industriellen Bereich als Ofenauskleidung z.B. in der Chemie-, Düngemittel-, Stahl-, Glas- und Keramik Industrie. Zusätzlich findet es Anwendung in der Automobilindustrie (z.B. Katalysatoren und Hitzeschilde). Die sich hieraus ergebenden Vorteile sind geringere Energiekosten und damit geringere Treibhausgasemissionen (Utell et al., 2010).

Prüfmaterial B ist aufgrund seiner hohen Siliziumdioxid (SiO_2), Calciumoxid (CaO) und Magnesiumoxid (MgO) Bestandteile der Gruppe der Erdalkali-Silicat (AES) Fasern zuzuordnen. Während die ersten RCF-Fasern bereits 1940 entwickelt wurden, gehören AES-Fasern zu einer relativ neuen Gruppe von HTW (Utell et al., 2010). Diese sind biolöslicher als RCF, haben ähnliche physikalische Eigenschaften wie RCF/ASW-Fasern und können RCF/ASW-Fasern in einigen, aber nicht allen Anwendungsbereichen ersetzen (Utell et al., 2011).

RCF/ASW- und AES Wollen sind als Nischenprodukte einzuordnen, da die verkauften Mengen nur ungefähr ein bis zwei Prozent im Markt der KMF ausmachen (Utell et al., 2010).

Sowohl Referenzmaterial A als auch Prüfmaterial B wurden gemäß der EG-Verordnung Nr. 1272/2008 CLP-VO bewertet. Die hierfür im Sicherheitsdatenblatt der Firma Rath GmbH aufgeführten Bewertungen lauten wie folgt:

- Referenzmaterial A ist als ein Karzinogen der Kategorie 1B klassifiziert („Vermutlich karzinogen für den Menschen, die Einstufung beruht größtenteils auf Tierversuchen“)
- Prüfmaterial B ist aufgrund seiner Zuordnung als AES, als nicht karzinogen zu klassifizieren (Freizeichnung nach Anmerkung Q).

Abbildung 4 zeigt, die im Rahmen dieser Arbeit untersuchten AES Calciumsilikatfasern (Prüfmaterial B). In Abbildung 5 sind die im Rahmen dieser Arbeit untersuchten RCF/ASW Aluminiumsilikatfasern (Referenzfasern A) dargestellt. Beide Bilder wurden bei der ersten Auswertung zu Versuchsbeginn aufgenommen und zeigen die Fasern bei einer Vergrößerung von 2000:1.

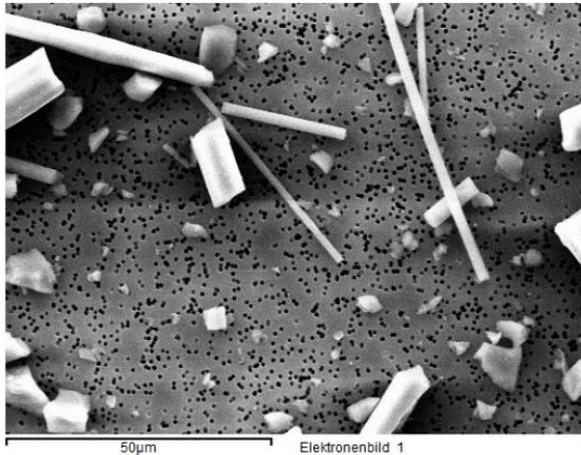


Abbildung 4 Prüfmaterial B (AES) bei einer Vergrößerung von 2000:1.

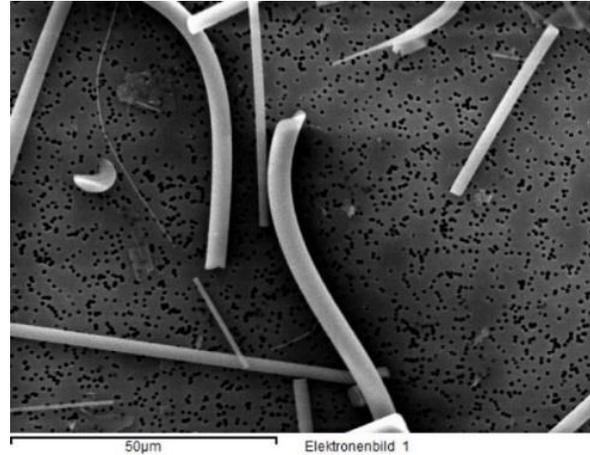


Abbildung 5 Referenzmaterial A (RCF/ASW) bei einer Vergrößerung von 2000:1.

2. Material und Methoden

Auf der Basis der dargestellten bewertungsrelevanten Eigenschaften von KMF soll der Versuch unternommen werden, diese auch in einer künstlichen Prüflösung nachbilden zu können. Die hierfür verwendeten Geräte und Chemikalien sind in diesem Kapitel tabellarisch aufgeführt. Anschließend erfolgt die Beschreibung der Versuchsdurchführung.

2.1. Verwendete Geräte

Die im Rahmen des Versuches verwendeten Materialien, können folgender Liste entnommen werden:

- **Versuchsvorbereitung**

- Präzisionswaage:
 - Hersteller: KERN
 - Name: ARJ 220-4M
- Sechs Labor-Glasflaschen mit Plastikdeckel mit einem Volumen von $V = 250$ ml
- Eine Labor-Glasflasche mit einem Volumen von $V = 250$ ml
- Messzylinder aus Glas mit einem Volumen von $V = 250$ ml
- Plastik-Petrischalen zum einwiegen der für die Lösung verwendeten Salze
- Filtrierapparatur bestehend aus Fritte, Zange, Glastrichter und Auffangbehälter
- Glaspipette mit einem Volumen von $V = 10$ ml
- Messfilter: Polycarbonatmembran-Kernporenfilter mit 25 mm Durchmesser und $0,8 \mu\text{m}$ Porenweite, zu beaufschlagende Seite mit 40 nm Goldauflage, Rückseite mit 20 nm Goldauflage.
- Saugpumpe zum Filtrieren der Suspensionen
 - Hersteller: KNF Neuberger, Freiburg
 - Name: N 035. 3 AN. 18
- Niederdruck Plasmaveraschungsanlage zur Entfernung evtl. störender Organik auf den Messfiltern:
 - Hersteller: Diener electronic GmbH & Co. KG, Ebhausen
 - Name: Zepto B
- Compact Coating Unit
 - Hersteller: safematic GmbH, Bad Ragaz
 - Name: CCU-010
- Stützfilter: Nitrocellulosefilter mit einem Durchmesser von 25 mm
- Probenteller: Aluminium Stiftprobenteller mit einem Durchmesser von 2,5 mm
- Klebepads: Leit-C-Pads zum Befestigen der Kernporenfilter auf den Probenteller mit einem Durchmesser von 12,5 mm

- **Versuchsauswertung**

- Digitales Rasterelektronenmikroskop
 - Hersteller: ZEISS SMT AG, Oberkochen
 - Name: ZEISS EVO MA 10
- Energiedispersive Elektronenstrahlmikrosonde
 - Hersteller: Fa. Oxford-Instruments, Wiesbaden
 - Name: INCAx-act stickstofffreier, Peltier-gekühlter SDD
- Windows-PC mit institutseigener Auswertungssoftware

2.2. Verwendete Chemikalien

Die für den Versuch verwendeten Chemikalien und KMF sind in folgender Liste dargestellt.

- Interstitielle-Lösung
 - Calciumchlorid:
 - Hersteller: Sigma-Aldrich
 - Lot: #SZBF015AV
 - Kaliumchlorid:
 - Hersteller: Emsure
 - Lot: K50807136902
 - Natriumchlorid:
 - Hersteller: Emsure
 - Lot: K48737404722
 - Natriumhydrogencarbonat:
 - Hersteller: Emsure
 - Lot: K50807136902
 - Salzsäure
 - Hersteller: Bernd Kraft
 - Lot: 1848403
 - Entmineralisiertes Wasser
- Referenzmuster A (Aluminiumsilikatwolle)
- Prüfmuster B (Calciumsilikatwolle)

2.3. Versuchsaufbau und Durchführung

In den folgenden Unterkapiteln werden der Versuchsaufbau, die Versuchsdurchführung und Versuchsauswertung genau betrachtet.

2.3.1. Ansetzen der interstitiellen Flüssigkeit (Ringer-Lösung)

Zu Beginn des Versuches werden 2 l der künstlichen interstitiellen Flüssigkeit zur Simulation der extrazellulären Umgebung in der Lunge hergestellt. Hierzu wird mit Hilfe eines Messzylinders 1 l entmineralisiertes Wasser in die vorbereitete 2 l Glasflasche gefüllt. Im Anschluss daran werden die für die Lösung benötigten Salze mit der Präzisionswaage eingewogen. Nachfolgend werden die Salze in die 2 l Glasflasche gegeben. Die Plastik-Petrischalen werden anschließend mit entmineralisiertem Wasser gespült und die Glasflasche auf 2 l aufgefüllt. Damit die Salze sich vollständig lösen, wird die Glasflasche für 30 Minuten mit Hilfe einer Rührplatte und einem Magnetrührstab durchmischt. Aus Tabelle 2 kann die exakte Zusammensetzung der verwendeten Lösung entnommen werden.

Tabelle 2 Zusammensetzung der im Versuch verwendeten interstitiellen Lösung.

Verwendete Salze	Einwaage [g/l]
Natriumchlorid	8,6
Calciumchlorid	0,435
Kaliumchlorid	0,300
Natriumhydrogencarbonat	0,100

2.3.2. Ansetzen der Prüf- und Referenzsuspensionen

Jeweils 100 ml der interstitiellen Flüssigkeit werden mit Hilfe eines Messzylinders auf die sechs 250 ml Glasflaschen verteilt. Die KMF werden zuerst gemörsert und anschließend auf < 0,1 mm gesiebt. Dies ist wesentlich, um eine ausreichende Anzahl an lungengängigen Fasern für die spätere Untersuchung am REM zu erhalten. Untersucht werden jeweils drei Parallelansätze (A1 – A3 und B1 – B3). Die Einwaage der Feinfraktion beträgt 30 mg pro Glas. Nach Hinzugabe der Fasern in die einzelnen Glasflaschen werden diese auf 250 ml aufgefüllt und für 20 Minuten im Ultraschallbad behandelt. Die benötigte Einwaage für eine optimale Filterbelegung wurde durch Vorversuche ermittelt.

Nach erfolgreichem Ansetzen der Referenz- und Prüfsuspensionen, werden diese in einen Wärmeschrank gestellt und über die gesamte Versuchsdauer von 42 Tagen auf 37 ± 1 °C temperiert. In Abbildung 6 sind die drei Parallelansätze des Versuches im verwendeten Heizschrank abgebildet. Die Suspensionen werden zweimal täglich, an sechs Tagen in der Woche kräftig geschüttelt. Hierbei ist darauf zu achten, dass der gesamte Bodensatz der Suspensionen aufgewirbelt wird. Zusätzlich werden zu Beginn des Versuches und im



Abbildung 6 Versuchsaufbau im Heizschrank: Abgebildet sind die sechs verwendeten Glasflaschen im verwendeten Heizschrank.

Abstand von 14 Tagen der pH-Wert und die Leitfähigkeit der Suspensionen ermittelt und protokolliert. Fällt bei den Kontrollen des pH-Wertes auf, dass dieser zu stark von $7,5 \pm 0,5$ abweicht, so wird dieser mittels Zugabe von HCL oder NaOH eingestellt. Aufgezeichnet werden hierbei die Werte vor und nach dem Einstellen, sowie die Zugabe an HCL bzw. NaOH.

2.3.3. Filtrieren der Suspensionen

Das Filtrieren der Suspensionen erfolgt wie im Verfahren „Verfahren zur analytischen Bestimmung geringer Massengehalte von Asbestfasern in Pulvern, Pudern und Stäuben mit REM/EDX“ (Messung von Gefahrstoffen – IFA Arbeitsmappe, 18. Lfg. IV/97, Kennziffer 7487) beschrieben. Wichtig ist es, darauf zu achten, dass der jeweilige Kernporenfilter gleichmäßig belegt ist und keine Inselbildung entsteht. Um eine gleichmäßige Verteilung zu fördern, wird zwischen Fritte und verwendetem Kernporenfilter ein Nitrocellulose-Stützfilter gelegt. Die Filtrierapparatur wird mit der verwendeten Saugpumpe verbunden. Vor dem Pipettieren werden die Suspensionen kräftig geschüttelt. Nun werden 10 ml Suspension aus der Mitte der Glasflaschen abpipettiert. Nach dem Pipettieren der Suspensionen, werden die Pipette und der Filter mit 20 ml destilliertem Wasser gespült. Um die Oberflächenspannung zu reduzieren und die gleichmäßige Filterbelegung zu unterstützen, wird etwas Netzmittel in Form von verdünntem Spülmittel in die Filtrierapparatur gegeben. Die Wandung der Filtrierapparatur wird zum Schluss vorsichtig mit destilliertem Wasser gespült. Anschließend werden die Filter zum Trocknen unter Zuhilfenahme einer Pinzette vorsichtig in eine Petrischale überführt. In Abbildung 7 ist der komplette Aufbau der verwendeten Filtrierapparatur dargestellt.



Abbildung 7 Im Versuch verwendete Filtrierapparatur bestehend aus: Trichter, Kernporenfilter, Stützfilter, Fritte, Auffangbehälter, Zange und Saugpumpe.

2.3.4. Präparation der Filter

Die Präparation der Filter erfolgt nach VDI 3492 „Messen von Innenraumluftverunreinigungen - Messen von Immissionen - Messen anorganischer faserförmiger Partikel - Rasterelektronenmikroskopisches Verfahren“ (VDI 3492:2013-06) beschrieben. In Abbildung 8 ist ein fertig präparierter Filter dargestellt. Vor dem Aufbringen der Filter auf den Probenahmeteller werden die Filter unter einem Lichtmikroskop auf eine gleichmäßige Filterbelegung überprüft (VDI 3492, 2013). Anschließend wird ein Teilstück des Filters mit einem Skalpell vorsichtig abgetrennt und mit einer

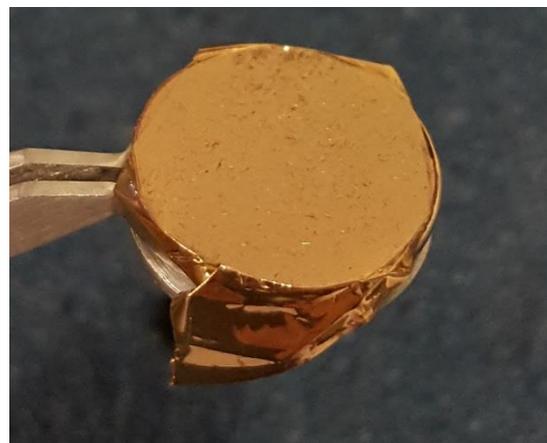


Abbildung 8 Präparierter Probenahmeteller mit Filter.

Pinzette auf den zuvor mit einem Leit-C-Pad versehenen Probenahmeteller abgerollt. Hierbei muss darauf geachtet werden, dass keine Luftblasen zwischen Filter und Probenahmeteller entstehen und der Filter die volle Oberfläche des Probenahmetellers bedeckt. Um eventuell störendes organisches Material zu entfernen, werden die Filter im Plasma-Kaltveraschungsgerät für 20 Minuten einem Sauerstoffplasma ausgesetzt (VDI 3492, 2013). Ergänzend zur Filterpräparation nach VDI 3492 werden die Filter mit einer 6 nm dicken Schicht aus reinem Gold „besputtert“ („bestäubt“). Dadurch erhöht sich die Leitfähigkeit der Fasern auf den Filtern, woraus ein kontrastreicheres Bild bei der REM-Auswertung resultiert (Universitätsmedizin Rostock, kein Datum).

2.3.5. Auswertung am Rasterelektronenmikroskop nach VDI 3492

Die Auswertung der faserförmigen Partikel erfolgt elektronenmikroskopisch bei einer Vergrößerung von 2000:1 und einer Beschleunigungsspannung von 20 kV (Prüfbericht Nr. A-306974-18-Bi, Bien, 2018). Bei dieser Vergrößerung entspricht ein Bildfeld einer Fläche von 0,0078 mm². Pro Filter wird eine Filterfläche von 0,5 mm² (64 Bildfelder) ausgewertet. Um eine Überlappung der Bildfelder zu vermeiden, wird jeder Filter wie in der VDI 3492 empfohlen mäanderförmig von oben links nach unten rechts abgerastert (VDI 3492, 2013). Erfasst werden hierbei nur Fasern, die die WHO-Kriterien von lungengängigen Fasern erfüllen. Ebenfalls müssen die zu wertenden Fasern gemäß DIN ISO 22309:2015-11 signifikante Peaks im Elementspektrum ab $Z \geq 11$ (Natrium) aufweisen (Prüfbericht Nr. A-306974-18-Bi, Bien, 2018). Die Gewichtung der Fasern erfolgt nach den Kriterien der VDI 3492. Diese werden nachfolgend stichpunktartig aufgeführt:

- Fasern mit beiden Enden im Bildfeld werden gezählt und mit dem Faktor 1 gewichtet.
- Fasern mit einem Ende außerhalb des Bildfeldes werden gezählt und mit 0,5 gewichtet.
- Fasern mit beiden Enden außerhalb des Bildfeldes werden nicht gewertet.

Abweichend zur VDI 3492, werden auch Bildfelder gewertet, deren Belegung über 1/8 der Bildfläche beträgt. Diese Abweichung ist nötig um eine ausreichend hohe Faserzahl zu erreichen. Zur Identifizierung der Fasern wird pro Filter exemplarisch bei einer Faser eine EDX-Elementbestimmung durchgeführt (VDI 3492, 2013). Hierbei wird zunächst die Höhe der Elementsignale anhand des Verhältnisses von Signal- zu Untergrundrauschen bewertet (VDI 3492, 2013). Die Einordnung in eine von drei möglichen Kategorien erfolgt mit folgender Formel:

$$K = \frac{(S+U)}{(U)}$$

Die drei Kategorien sind wie folgt definiert:

K = Kategorie

- Kategorie A: $S \geq 3 \cdot U$
- Kategorie B: $U \leq S < 3 \cdot U$
- Kategorie C: $S < U$

S = Signalstrahlung

U = Untergrundstrahlung

Anorganische Fasern sind hierbei alle Fasern, die ein Elementspektrum der Kategorie A oder B enthalten (VDI 3492, 2013). Zu berücksichtigen sind nur Elemente mit der Ordnungszahl $Z > 11$ einschließlich Na (VDI 3492, 2013). Tabelle 3 zeigt die Kriterien zur Einordnung der Faserklassen nach VDI 3492.

Tabelle 3 Kriterien zur Spektren Interpretation nach VDI 3492. Fasern werden je nach Spektrum, einer der fünf Klassen zugeordnet (VDI 3492, 2013).

Chrysotil ^{a)}	Mg- und Si-Peak: Kategorie A oder B Fe-, Mn- und Al-Peak: Kategorie C (je nach Begleitsubstanz sind weitere Peaks möglich, z.B. Ca, Cl)
Amphibolasbeste ^{b)} (Amosit, Krokydololith)	Si- und Fe-Peak: Kategorie A oder B Mn-, Mg-, Na-Peak: Kategorie C möglich (je nach Begleitsubstanz sind weitere Peaks möglich, z.B. Ca, Cl)
Calciumsulfat (Gips)	Ca-Peak deutlich, S-Peak vorhanden (bei nicht chemisch reinem Calciumsulfat sind weitere Peaks möglich)
Sonstige anorganische Fasern	Faser mit einem Spektrum, das die obigen Kriterien nicht erfüllt, jedoch mindestens einen Elementpeak der Kategorie A oder B oberhalb von $Z \geq 11$ enthält
Organische Fasern	Fasern mit einem Spektrum, das keinen Elementpeak der Kategorie A oder B für $Z \geq 11$ enthält

In Abbildung 9 und Abbildung 10 sind exemplarisch die Element-Spektren der beiden im Versuch verwendeten KMF dargestellt. Die beiden Abbildungen zeigen das jeweils typische Spektrum für RCF/ASW-Fasern (Material A) mit einem charakteristischem sehr hohen Aluminium und Silicium Anteil, während sich die AES-Fasern (Prüfmaterial B) durch einen hohen Silicium und Calcium Peak auszeichnen.

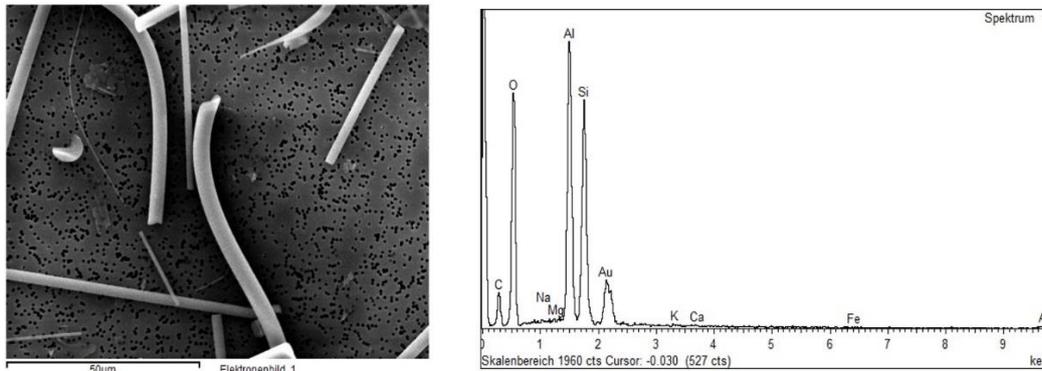


Abbildung 9 Referenzmaterial A mit einem für RCF/ASW Fasern charakteristischem Spektrum: Hoher Aluminium und Silicium Peak.

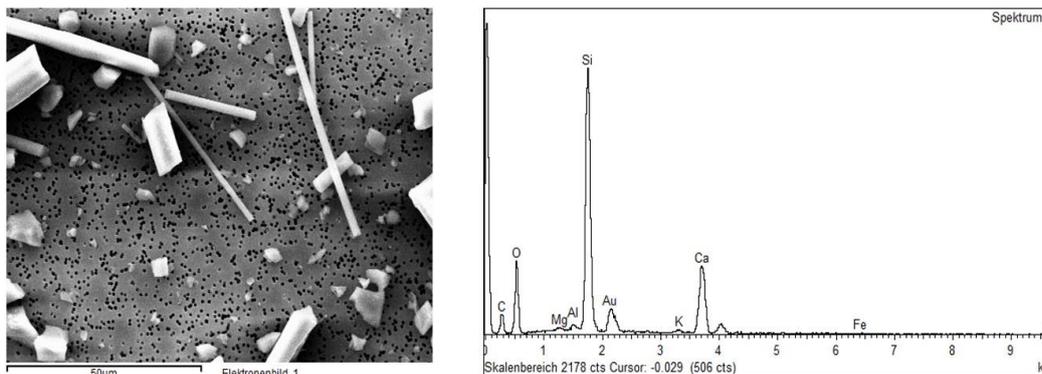


Abbildung 10 Prüfmaterial B mit einem für AES Fasern charakteristischem Spektrum: Hoher Silicium und Calcium Peak.

Da jede einzelne Faser „von Hand“ vermessen werden muss, beträgt der hierfür benötigte Zeitaufwand für die vollständige Vermessung der Fasern eines Filters ca. drei bis vier Stunden. Um den Arbeitsaufwand hierbei einzuschränken, erfolgt die Erst- und Endauswertung der Filter A1-A3, B1-B3 vollständig. Bei den Zwischenauswertungen, nach 14 und 28 Tagen, wird nur der jeweils erste Filter der Suspensionen A1, B1 vollständig vermessen und gezählt. Die Filter A2, A3 und B2, B3 werden vollständig gezählt, jedoch werden für Länge und Durchmesser aller Fasern, die gleichen „Platzhalter-Zahlen“ eingefügt. Dies ist nötig, da die Faserzahlprotokolle automatisch erstellt werden und dort nur Fasern aufgenommen werden, welche die WHO-Kriterien erfüllen. Fasern, bei denen nicht deutlich zu erkennen ist, ob sie die WHO-Kriterien erfüllen, werden vermessen, um Irrtümer auszuschließen.

Alle gefundenen Fasern werden protokolliert und, wie in Tabelle 4 exemplarisch dargestellt, im sog. Urprotokoll abgespeichert. Zusätzlich wird von jedem Filter ein Faserspektrum erstellt und ein Übersichtsbild bei einer Vergrößerung von 2000:1 aufgenommen.

Tabelle 4 Protokoll der Faserauswertung (exemplarisch).

Bildfeld	Länge μm	Dicke μm	Länge / Dicke	Zählwert	Elementzusammensetzung	Fasertyp
1	43,4	2,9	15,0	1	Al, Si	KMF
2	102,8	1,2	85,7	0,5	Al, Si	KMF

2.3.6. Berechnung der Halbwertszeit

Um die aufgestellten Hypothesen aus Kapitel 1.1. besser überprüfen zu können, erfolgt im Zuge der Bewertung der aufgestellten Hypothesen in Kapitel 5.1. die Berechnung der Halbwertszeit der Fasern. Unter der Halbwertszeit versteht man die Zeit, in der die Hälfte der vorhandenen Fasern in den untersuchten Suspensionen gelöst wird.

Als Ausgangsformel wird die Abklingfunktion aus der mathematischen Formelsammlung von Lothar Papula verwendet (Papula, 2014). Diese wird anschließend unter Zuhilfenahme des Taschenbuchs der Physik von Horst Kuchling (Kuchling, 2014) umgestellt, um somit die Halbwertszeit der Faserauflösung berechnen zu können.

Als Ausgangsformel dient die exponentielle Abklingfunktion (Papula, 2014).

$$N(t) = N_0 \cdot e^{-\Lambda \cdot t} \quad (\text{Papula, 2014})$$

Wird durch N_0 geteilt, erhält man:

$$\frac{N(t)}{N_0} = e^{-\Lambda \cdot t}$$

Durch logarithmieren erhält man:

$$\ln\left(\frac{N(t)}{N_0}\right) = -\Lambda \cdot t \quad \text{oder} \quad \ln\left(\frac{N_0}{N(t)}\right) = \Lambda \cdot t$$

Für die Zerfallskonstante Λ gilt:

$$\Lambda = \frac{\ln(2)}{t_H} \quad (\text{Kuchling, 2014})$$

Somit erhält man:

$$\ln\left(\frac{N_0}{N(t)}\right) = \frac{\ln(2)}{t_H} \cdot t$$

Umgestellt nach t_H ergibt sich die Formel zur Berechnung der Halbwertszeit:

$$t_H = \frac{\ln(2)}{\ln\left(\frac{N_0}{N(t)}\right)} \cdot t$$

Variablendefinition:

N_0 : Anzahl der zu Beginn des Versuchs vorhandenen Fasern.

$N(t)$: Anzahl der Fasern, die nach 42 Tagen Versuchslaufzeit noch vorhanden sind.

Λ : Zerfallskonstante (In einem bestimmten Zeitabschnitt dt zerfallenen Fasern dN)
(Kuchling, 2014).

t_H : Halbwertszeit.

t : Versuchslaufzeit (In diesem Fall 42 Tage).

3. Ergebnisse

In diesem Kapitel werden die Versuchsergebnisse übersichtlich, tabellarisch und grafisch dargestellt und ausführlich beschrieben. Die untersuchten Parameter belaufen sich hierbei auf: ermittelte Faserzahlen, Faserlänge und Faserdurchmesser, pH-Wert und Leitfähigkeit.

3.1. Referenzmaterial A

3.1.1. Ermittelte Faserzahlen der Referenzfasern A

In Tabelle 5 sind die mit Hilfe des REM ausgewerteten Faserzahlen der Referenzfasern A grafisch dargestellt.

Die Erstauswertung der Faserzahlen ergab für Ansatz A1: 124 Fasern. In Ansatz A2 wurden 170 Fasern gezählt. Die Auswertung des Ansatzes A3 ergab eine Faserzahl von 188 Fasern.

Die Auswertung nach 14 Tagen Versuchslaufzeit ergab für Ansatz A1 eine Faserzahl von 146,5 Fasern. Für Ansatz A2 ergab die Zählung 192,5 Fasern. In Ansatz A3 konnten 203 Fasern gezählt werden.

Bei der Auswertung nach 28 Tagen wurden in Ansatz A1 141,5 Fasern gezählt. In Ansatz A2 konnten 193 Fasern gezählt werden. Für Ansatz A3 ergab die Faserzählung einen Wert von 209,5 Fasern.

Bei der Auswertung zum Versuchsende wurden in Ansatz A1 138,5 Fasern gezählt. Für Ansatz A2 ergab die Faserzählung einen Wert von 202,5 Fasern. Die Zählung der Fasern des Ansatzes A3 ergab einen Wert von 198 Fasern.

Tabelle 5 Ermittelte Referenz-Faserzahlen auf einer Filterfläche von 0,5 mm² (64 Bildfelder): Auf der Ordinate ist die Faserzahl aufgetragen. Auf der Abszisse ist die Versuchslaufzeit aufgetragen.

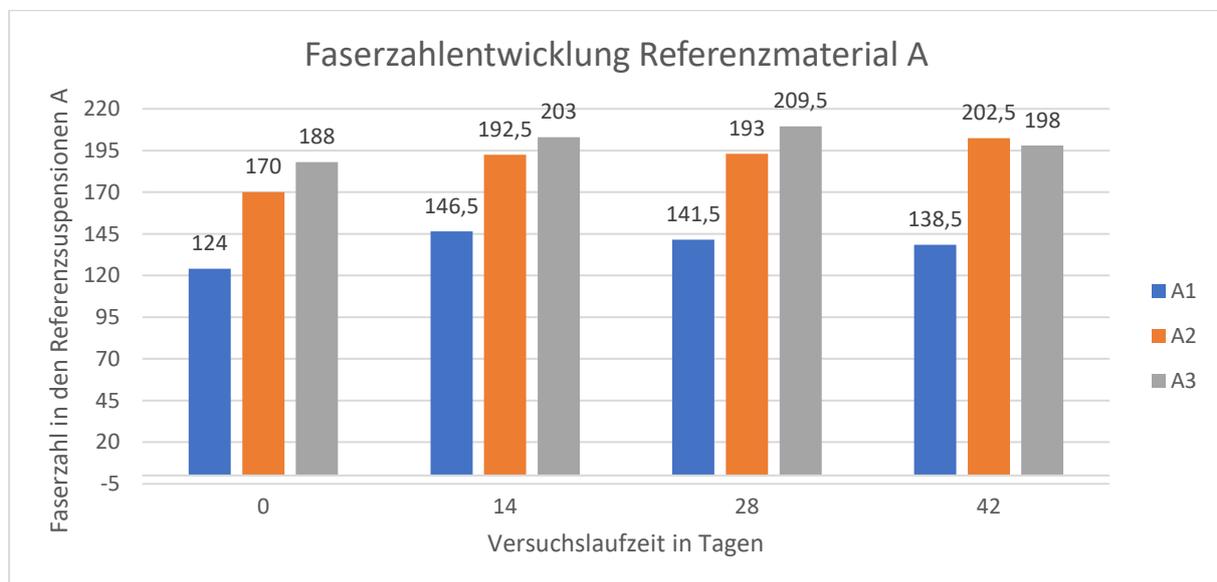


Tabelle 6 zeigt die Faserzahlentwicklung der Referenzfasern A über den Versuchszeitraum von 42 Tagen in Prozent. Die ermittelte Zunahme der Faserzahlen bezieht sich auf die jeweils zu Beginn ermittelten Faserzahlen.

Während der ersten 14 Tage Versuchslaufzeit steigerte sich die ausgewertete Faserzahl im Ansatz der Referenzsuspension A1 um 18,1 %. In Ansatz A2 wurde eine Steigerung der Faserzahl um 13,2 % errechnet. In Ansatz A3 der Referenzsuspension wurden nach 14 Tagen ebenfalls mehr Fasern gefunden. Hier beträgt die Steigerung 7,9 %.

Die Auswertung der Faserzahlen nach 28 Tagen Versuchslaufzeit, ergab für Referenzsuspension A1 eine prozentuale Steigerung im Vergleich zur ermittelten Faserzahl bei Versuchsbeginn um 14,1 %. Für Referenzsuspension A2 wurde eine Steigerung der Faserzahl um 13,5 % berechnet. Für Ansatz A3 ergibt die Berechnung einen Wert von 11,4 %. Die Auswertung der Faserzahlen zu Versuchsende ergab für Ansatz A1 der Referenzsuspension eine Steigerung von 11,7 %. Für Ansatz A2 der Referenzsuspension wurde aus den gemessenen Werten eine prozentuale Steigerung von 19,1 % ermittelt. Die Auswertung des Ansatzes A3 der Referenzsuspension ergab eine Steigerung der Faserzahl von 5,3 % im Vergleich zur Faserzahl bei Versuchsbeginn.

Tabelle 6 Faserzahlentwicklung der Referenzfasern A über die Versuchslaufzeit von 42 Tagen. Die ermittelte Zunahme der Faserzahlen bezieht sich auf die jeweils zu Beginn ermittelten Faserzahlen

Referenzmaterial	Analysen im 2-Wochen-Rhythmus		
	14 Tage	28 Tage	42 Tage
	Zunahme [%]	Zunahme [%]	Zunahme [%]
A1	18,1	14,1	11,7
A2	13,2	13,5	19,1
A3	7,9	11,4	5,3

3.1.2. Länge Durchmesser der Referenzfasern A

In Tabelle 7 sind die im Rhythmus von 14 Tagen gemessenen und berechneten arithmetischen Mittelwerte der Faserlängen und Durchmesser der Referenzfasern A dargestellt. Die erste Auswertung der Faserlängen- und Durchmesser zu Versuchsbeginn ergab für den Ansatz A1 eine durchschnittliche Länge von 50,55 μm und einen Durchmesser von 1,54 μm . Für den Ansatz A2 ergab die Auswertung eine Länge von 31,66 μm und einen Durchmesser von 1,41 μm . Die Auswertung des Ansatzes A3 ergab eine Länge von 33,18 μm und einen Durchmesser von 1,4 μm .

Die Auszählung für A1 ergab nach 14 Tagen Versuchslaufzeit eine Länge von 57,91 μm und einen Durchmesser von 1,67 μm .

Nach 28 Tagen Versuchslaufzeit ergab sich für A1 eine Länge von 52,87 μm und ein Durchmesser von 1,39 μm .

Bei der Auswertung der Faserlängen und Durchmesser zum Versuchsende nach 42 Tagen wurden für A1 eine Länge von 48,73 μm und ein Durchmesser von 1,49 μm ermittelt. Für A2 konnte eine Länge von 45,36 μm gemessen werden; das messen der Durchmesser ergab einen Wert von 1,62 μm . Im Ansatz A3 wurde eine Länge von 44,02 μm und ein Durchmesser von 1,55 μm gemessen.

Tabelle 7 Arithmetische Mittelwerte der Faserlängen und Durchmesser für die Referenzfasern A, Länge und Durchmesser in μm . Ausgewertet wurden jeweils alle Ansätze bei Versuchsbeginn und alle Ansätze bei Versuchsende nach 42 Tagen. Die Zwischenauswertung nach 14 und 28 Tagen erfolgte nur für die Fasern des ersten Ansatzes.

Proben	Tag 0		Tag 14		Tag 28		Tag 42	
	Länge [μm]	Durchmesser [μm]						
A1	50,55	1,54	57,91	1,67	52,87	1,39	48,73	1,49
A2	31,66	1,41	-	-	-	-	45,36	1,62
A3	33,18	1,4	-	-	-	-	44,02	1,55

Das Verhältnis von Länge zu Durchmesser in Ansatz A1 beträgt zu Versuchsbeginn 32,82. Nach 14 Tagen erhöht sich bei Ansatz A1 der Wert auf 34,68. Die Auswertung nach 28 Tagen ergab einen Wert für Ansatz A1 von 38,03. Die Auswertung zu Versuchsende ergab für Ansatz A1 einen Wert von 32,70.

Zu Beginn des Versuches wurde für Ansatz A2 ein Verhältnis von 22,45 berechnet. Für Ansatz A3 beträgt der errechnete Wert 23,7. Zu Versuchsende beträgt das Verhältnis in Ansatz A2 28,0 und in Ansatz A3 28,4.

3.1.3. pH-Wert und Leitfähigkeit der Referenzsuspensionen A

Die im Rhythmus von 14 Tagen gemessenen Leitfähigkeits- und pH-Werte der Referenzsuspensionen A können Tabelle 8 entnommen werden.

Für die Referenzfasern A wurden bei der Erstbestimmung der pH-Werte und Leitfähigkeitswerte, für A1 ein pH-Wert von 7,25 und eine Leitfähigkeit von $15.980 \mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$ gemessen. Die Erstbestimmung für A2 ergab einen pH-Wert von 7,32 und eine Leitfähigkeit von $16.010 \mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$. Die Messung des Ansatzes A3 ergab einen pH-Wert von 7,51 und eine Leitfähigkeit der Suspension von $16.040 \mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$.

Nach 14 Tagen Versuchslaufzeit, wurde in Ansatz A1 ein pH-Wert von 8,02 und eine Leitfähigkeit von $16.090 \mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$ gemessen. Die Messung für A2 ergab einen pH-Wert von 8,12 und eine Leitfähigkeit von $16.280 \mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$. Bei Ansatz A3 ergab die Messung einen pH-Wert von 8,15. Für die Leitfähigkeit wurde ein Wert von $16.070 \mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$ gemessen.

Die Auswertung nach 28 Tagen ergab für den pH-Wert des Ansatzes A1 8,34 und eine Leitfähigkeit von $16.200 \mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$. Der pH-Wert von A2 betrug 8,46 die Leitfähigkeit $16.650 \mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$. Die Messung für A3 ergab einen pH-Wert von 8,65 und eine Leitfähigkeit der Suspension von $16.260 \mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$.

Bei der Endauswertung des Versuchs wurde in A1 ein pH-Wert von 7,78 gemessen. Die Leitfähigkeit des Ansatzes A1 betrug $16.450 \mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$. Für Ansatz A2 betrug der pH-Wert 8,20 und die Leitfähigkeit $17.100 \mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$. Die Messung des Ansatzes A3 ergab einen pH-Wert von 8,51 und eine Leitfähigkeit von $16.500 \mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$. Nach 28 Tagen Versuchslaufzeit wurde die pH-Werte der Referenzsuspensionen A auf ca. 7,5 eingestellt.

Tabelle 8 Ergebnisse der pH-Wert Messung und der Leitfähigkeitsmessung der Referenzfasern A. Gemessen im Abstand von 14 Tagen.

A1	Tag 0	Tag 14	Tag 28	Tag 42
pH-Wert	7,25	8,02	8,34	7,78
Leitfähigkeit [$\mu\text{s}/\text{cm}$]	15.980	16.090	16.200	16.450
A2	Tag 0	Tag 14	Tag 28	Tag 42
pH-Wert	7,32	8,12	8,46	8,20
Leitfähigkeit [$\mu\text{s}/\text{cm}$]	16.010	16.280	16.650	17.100
A3	Tag 0	Tag 14	Tag 28	Tag 42
pH-Wert	7,51	8,15	8,65	8,51
Leitfähigkeit [$\mu\text{s}/\text{cm}$]	16.040	16.070	16.260	16.500

3.2. Prüfmaterial B

3.2.1. Ermittelte Faserzahlen der Prüffasern B

In Tabelle 9 sind die im Rhythmus von 14 Tagen, mit Hilfe des REM, ermittelten Faserzahlen der jeweiligen Prüfmaterialproben B1, B2 und B3 dargestellt.

Bei der Erstauszählung zu Versuchsbeginn wurden in Ansatz B1 151 Fasern gezählt. In Ansatz B2 wurden 155 Fasern gezählt. Für Ansatz B3 ergab die Faserzählung einen Wert von 185,5 Fasern.

Die Auswertung der Faserzahlen nach 14 Tagen ergab für Ansatz B1 129,5 Fasern. Auf dem Filter des Ansatzes B2 wurden 139,5 Fasern gezählt. Die Zählung der Fasern für Ansatz B3 ergab einen Wert von 125 Fasern.

Bei der Auswertung nach 28 Tagen wurden auf dem Filter des Ansatzes B1 96 Fasern gezählt. Auf dem Filter des Ansatzes B2 beträgt die Faserzahl 95,5. Für Ansatz B3 beträgt die ermittelte Faserzahl 90 Fasern.

Die Auswertung zu Versuchsende nach 42 Tagen ergab für Ansatz B1 70,5 Fasern. In Ansatz B2 wurde eine Faserzahl von 71 ermittelt. Die Zählung für Ansatz B3 ergab einen Wert von 64,5 Fasern.

Tabelle 9 Ermittelte Faserzahlen der Prüfsuspensionen auf einer Filterfläche von 0,5 mm² (64 Bildfelder): Auf der Ordinate ist die Faserzahl abgebildet. Auf der Abszissenachse ist die Versuchslaufzeit abgebildet.

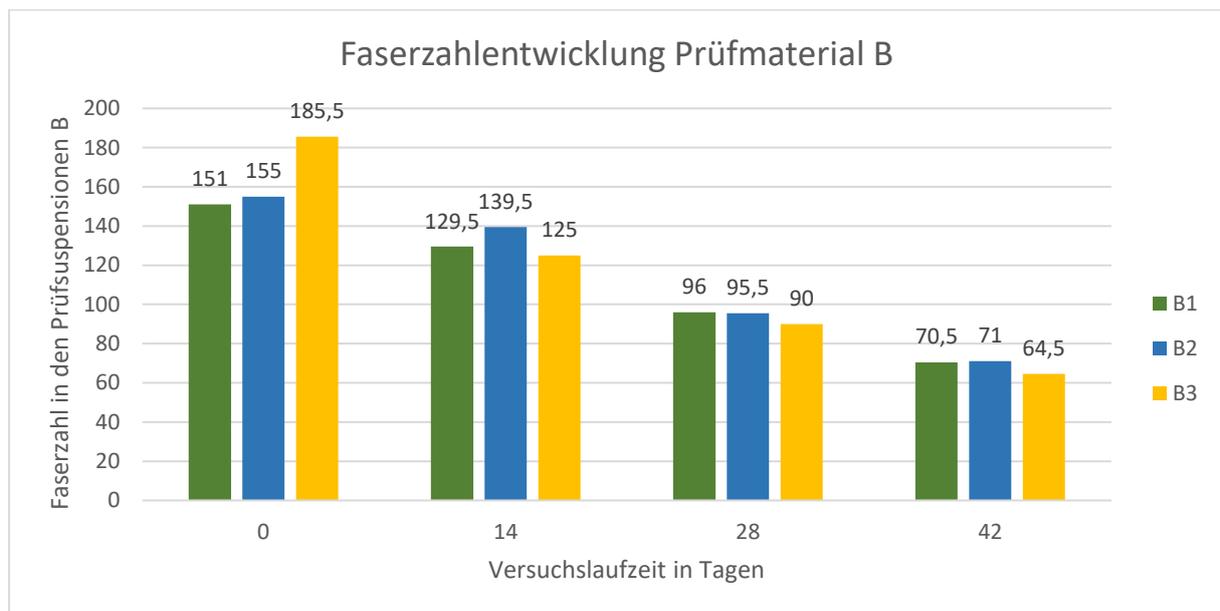


Tabelle 10 zeigt die Faserzahlentwicklung der Prüffasern B über den versuchszeitraum von 42 Tagen in Prozent. Die ermittelte Abnahme der Faserzahlen, bezieht sich auf die jeweils zu Beginn ermittelten Faserzahlen.

Während der ersten 14 Tage Versuchslaufzeit betrug die gemessene, prozentuale Abnahme der Faserzahl in der Prüfsuspension B1 14,2 %. In Prüfsuspension B2 konnte nach 14 Tagen eine Abnahme der Faserzahlen von 10 % aus den gemessenen Werten berechnet werden. In Prüfsuspension B3 beträgt die berechnete Abnahme der Faserzahl nach 14 Tagen Versuchslaufzeit 32,6 %.

Nach 28 Tagen Versuchslaufzeit beträgt die, aus den Messwerten berechnete, Abnahme der Faserzahl in Prüfsuspension B1 36,4 %. In Prüfsuspension B2 beträgt die aus den gemessenen

Werten berechnete Abnahme der Faserzahl 38,3 %. Die aus den Messwerten berechnete Abnahme der Faserzahl in Prüfsuspension B3 beträgt nach 28 Tagen Versuchslaufzeit 51,5 %. Die Auswertung der Faserzahlabnahme nach 42 Tagen ergab für Prüfsuspension B1 eine Abnahme von 53,3 %. Für Prüfsuspension B2 beträgt die berechnete prozentuale Abnahme der Faserzahlen zu Versuchsende 54,1 %. Für Prüfsuspension B3 wurde eine prozentuale Abnahme der Faserzahlen von 65,2 % errechnet.

Tabelle 10 Faserzahlentwicklung der Prüffasern B über die Versuchslaufzeit von 42 Tagen. Die ermittelte Abnahme der Faserzahlen bezieht sich auf die jeweils zu Beginn ermittelten Faserzahlen

Prüfmaterial B	Analysen im 2-Wochen-Rhythmus		
	14 Tage	28 Tage	42 Tage
	Abnahme [%]	Abnahme [%]	Abnahme [%]
B1	14,2	36,4	53,3
B2	10	38,3	54,1
B3	32,6	51,5	65,2

3.2.2. Länge und Durchmesser der Prüffasern B

In Tabelle 11 sind die im Rhythmus von 14 Tagen gemessen und berechneten arithmetischen Mittelwerte der Faserlängen und Durchmesser der Prüffasern B dargestellt. Die Faserzählung zu Versuchsbeginn ergab für B1 eine Länge von 19,98 μm und einen Durchmesser von 1,71 μm . Für B2 wurde eine Länge von 18,4 μm und ein Durchmesser von 1,74 μm gemessen. Für den Ansatz B3 betrug die durchschnittliche Länge 17,3 μm und der Durchmesser 1,62 μm . Die Auswertung nach 14 Tagen Versuchslaufzeit ergab für B1 eine Länge von 19,43 μm und einen Durchmesser von 1,76 μm .

Nach 28 Tagen wurde bei Ansatz B1 eine durchschnittliche Länge von 20,15 μm und ein Durchmesser von 1,8 μm gemessen.

Die Endauswertung nach 42 Tagen Versuchslaufzeit ergab für B1 eine Länge von 22,07 μm und einen Durchmesser von 1,69 μm . Für B2 ergab die Endauswertung eine Länge von 19,85 μm und einen Durchmesser von 1,79 μm . Bei Ansatz B3 wurde eine Länge von 23,81 μm und ein Durchmesser von 2,01 μm gemessen.

Tabelle 11 Arithmetische Mittelwerte der Faserlängen und Durchmesser für die Prüffasern B, Länge und Durchmesser in μm . Ausgewertet wurden jeweils alle Ansätze bei Versuchsbeginn und alle Ansätze bei Versuchsende nach 42 Tagen. Die Zwischenauswertung nach 14 und 28 Tagen erfolgte nur für die Fasern des ersten Ansatzes.

Proben	Tag 0		Tag 14		Tag 28		Tag 42	
	Länge [μm]	Durchmesser [μm]	Länge [μm]	Durchmesser [μm]	Länge [μm]	Durchmesser [μm]	Länge [μm]	Durchmesser [μm]
B1	19,98	1,71	19,43	1,76	20,15	1,8	22,07	1,69
B2	18,4	1,74	-	-	-	-	19,85	1,79
B3	17,3	1,62	-	-	-	-	23,81	2,01

Das Verhältnis von Länge zu Durchmesser beträgt in Ansatz B1 zu Versuchsbeginn 11,68. In Prüfansatz B2 beträgt das Verhältnis zu Versuchsbeginn 10,57. In Prüfansatz B3 10,67. Nach 14 Tagen Versuchslaufzeit wurde für Ansatz B1 ein Wert von 11,04 errechnet. Nach 28 Tagen Versuchslaufzeit beträgt das Verhältnis für Prüfansatz B1 11,2. Zu Versuchsende beträgt das berechnete Verhältnis in Ansatz B1 13,06, in Prüfansatz B2 11,08 und in Prüfansatz B3 11,84.

3.2.3. pH-Wert und Leitfähigkeit der Prüfsuspensionen B

Die im Rhythmus von 14 Tagen gemessenen Leitfähigkeits- und pH-Werte der Prüffasern B können Tabelle 12 entnommen werden.

Zu Versuchsbeginn wurde in Ansatz B1 ein pH-Wert von 7,46 und eine Leitfähigkeit der Suspension von $16.260 \mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$ gemessen. Für Ansatz B2 ergab die pH-Wert Messung einen Wert von 8,12 und die Messung der Leitfähigkeit einen Wert von $16.240 \mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$. Die Messung für Ansatz B3 ergab einen pH-Wert von 7,92 und eine Leitfähigkeit von $16.260 \mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$.

Die zweite Messung nach 14 Tagen Versuchslaufzeit ergab für Ansatz B1 einen pH-Wert von 9,17 und eine Leitfähigkeit von $16.550 \mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$. Bei Ansatz B2 wurde ein pH-Wert von 9,19 und eine Leitfähigkeit von $16.520 \mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$ gemessen. Für Ansatz B3 ergab die Messung einen pH-Wert von 9,11 und eine Leitfähigkeit der Suspension von $16.600 \mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$. Die dritte Messung nach 28 Tagen ergab für Ansatz B1 einen pH-Wert von 9,17 und eine Leitfähigkeit von $16.680 \mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$. Für Ansatz B3 ergab die Messung des pH-Wertes 9,12. Die Leitfähigkeitsmessung ergab einen Wert von 16.790.

Bei Versuchsende nach 42 Tagen wurde in Ansatz B1 ein pH-Wert von 8,75 gemessen. Die Leitfähigkeitsmessung ergab einen Wert von $16.660 \mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$. In Ansatz B2 wurde ein pH-Wert von 8,64 und eine Leitfähigkeit von $16.750 \mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$ gemessen. Für Ansatz B3 ergab die Messung des pH-Wertes 8,59 und die Messung der Leitfähigkeit $17.160 \mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$. Die pH-Werte mussten in allen drei Prüfsuspensionen B bei jeder Kontrolle neu eingestellt werden.

Tabelle 12 pH und Leitfähigkeit der Prüffasern B im Abstand von 14 Tagen.

B1	Tag 0	Tag 14	Tag 28	Tag 42
pH-Wert	7,46	9,17	9,17	8,75
Leitfähigkeit [$\mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$]	16.260	16.550	16.680	16.660
B2	Tag 0	Tag 14	Tag 28	Tag 42
pH-Wert	8,12	9,19	9,12	8,64
Leitfähigkeit [$\mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$]	16.240	16.520	16.790	16.750
B3	Tag 0	Tag 14	Tag 28	Tag 42
pH-Wert	7,92	9,11	8,80	8,59
Leitfähigkeit [$\mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$]	16.260	16.600	16.920	17.160

4. Diskussion

In diesem Kapitel erfolgt die Interpretation der Versuchsergebnisse. Diese werden anhand der Fragestellung kritisch hinterfragt und mit Hilfe anderer Versuche zum Thema „*in-vitro* Persistenz von KMF“ diskutiert. Die Untersuchung der Faserzahlabnahme erfolgt, um eine Abbaurate der Fasern über 42 Tage ermitteln zu können. Die Faserlängen und Faserdurchmesser werden zusammen mit den Faseroberflächen und Faserstrukturen erfasst, da diese Parameter sowohl Rückschlüsse auf die Auflösung als auch auf die Reinigungsleistung der Lunge ermöglichen (Searl, 1994). Die pH-Werte werden zusammen mit der Leitfähigkeit überwacht, um eventuell auftretende Veränderungen in den Suspensionen erkennen zu können. Anschließend werden die Ergebnisse der Referenzfasern A mit den Ergebnissen der Prüffasern B verglichen. Abschließend erfolgt eine Fehlerdiskussion, in der alle Punkte der Versuchsdurchführung betrachtet werden.

4.1. Referenzmaterial A

4.1.1. Ist eine Änderung der Faserzahl der Referenzfasern A erkennbar?

Anhand der Ergebnisse ist trotz der teils merklichen Schwankungen in der ermittelten Faserzahl, keine signifikante Abnahme der Faserzahl in den untersuchten Referenzsuspensionen über den Versuchszeitraum von 42 Tagen zu erkennen (vgl. Tabelle 5 und Anhang 1). Die Schwankungen der ermittelten Faserzahlen ist vermutlich auf die in Kapitel 4.4. „Fehlerdiskussion“ beschriebenen Punkte zurückzuführen. Es fällt auf, dass die Faserzahl in Referenzansatz A1 durchgehend, trotz der gleichen Einwaage, geringer ist als die Faserzahl der Referenzansätze A2 und A3. Da sich dieses Verhalten jedoch durch den ganzen Versuch zieht und die Ergebnisse der jeweiligen Ansätze untereinander plausibel erscheinen, wird dies nicht weiter betrachtet. Aufgrund der Einstufung in die Kategorie 1B, Gemäß der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008, des verwendeten Referenzmaterials A und der Einteilung in die Gruppe der RCF/ASW-HTW ist eine hohe Biolöslichkeit der Referenzfasern A nicht zu erwarten. Die Ergebnisse sind mit den Ergebnissen eines *in-vitro* Versuches von Cannizzaro et al., (2019) vergleichbar. Ziel der Studie von Cannizzaro et al. (2019), ist die Untersuchung des Löslichkeitsverhaltens verschiedener HTW in einer simulierten Lungenflüssigkeit. Die betrachteten Parameter sind hierbei die Veränderung des Faserdurchmessers und die strukturellen Veränderungen der Fasern (Cannizzaro et al., 2019). Die von Cannizzaro et al. (2019) untersuchten RCF/ASW Fasern zeigen über einen Zeitraum von 42 Tagen keine nennenswerte Durchmesserabnahme oder anderweitige Veränderungen (Cannizzaro et al., 2019). Aus Anhang 2 kann die Zusammensetzung der vier von Cannizzaro et al. (2019) untersuchten Fasertypen entnommen werden. Es ist zu erkennen, dass die verwendeten RCF Fasern mit ihrem charakteristisch hohen Al_2O_3 und SiO_2 Anteil eine ähnliche chemische Zusammensetzung wie die Fasern des Referenzmaterials A aufweisen. Searl (1994) betrachtet in einer Studie die Zusammensetzung verschiedener KMF-Typen und deren Auswirkung auf die Persistenz. Searl (1994) kommt zum Ergebnis, dass die KMF mit einer hohen Biolöslichkeit relativ hohe Alkali- (Na und K) und Erdalkali- (Ca, Mg) Gehalte sowie niedrige Aluminiumoxid- und Borgehalte aufweisen (Searl, 1994). Die am wenigsten löslichen KMF sind Silikatfasern mit hohem Aluminiumoxidgehalt (RCF/ASW) (Searl, 1994). Morgan et al. (1994) vergleichen in einer Studie die Auswirkungen der chemischen Zusammensetzung auf die Löslichkeit von

Glasfasern und schlussfolgern hierbei ebenfalls, dass sich die Auflösungsrate von Fasern, mit zunehmenden Mengen an Al_2O_3 stark verzögert (Morgan et al., 1994).

4.1.2. Ist eine Änderung der Faserlängen und Durchmesser der Referenzfasern A zu erkennen?

Die Signifikanzprüfung der Faserlängen und Faserdurchmesser hat für Ansatz A1 ergeben, dass keine signifikante Abnahme der Faserlängen und Faserdurchmesser über einen Zeitraum von 42 Tagen festzustellen ist. In Referenzansatz A2 ist eine signifikante Steigerung der Faserlänge und der Faserdurchmesser zu beobachten. Für Referenzansatz A3 zeigt die Signifikanzprüfung ebenfalls eine signifikante Steigerung der Faserlängen und Durchmesser. Die Ergebnisse der Signifikanzprüfung können Anhang 3 entnommen werden. Auffallend ist hierbei, dass die Auswertung der Faserlängen der Referenzansätze A2 und A3 zu Versuchsbeginn, mit $31,66 \mu\text{m}$ und $33,18 \mu\text{m}$ zwar zueinander passen, sie jedoch im Mittel deutlich kürzer sind als die Referenzfasern des Ansatzes A1. Das gleiche Verhalten lässt sich jedoch nicht bei den Faserdurchmessern beobachten. Hierbei sind die Faserdurchmesser der Referenzansätze A2 und A3 mit im Mittel $1,41 \mu\text{m}$ und $1,4 \mu\text{m}$ zu Versuchsbeginn vergleichbar mit dem mittleren Durchmesser des Referenzansatzes A1 mit $1,54 \mu\text{m}$. Die Auswertung der Ansätze A1 bis A3 zu Versuchsende zeigt, dass die Fasern der Ansätze A2 und A3 im Mittel $45,36 \mu\text{m}$ und $44,02 \mu\text{m}$ vergleichbar mit der Faserlänge des Ansatzes A1 von $48,73 \mu\text{m}$ sind. Bei den Faserdurchmessern der Referenzansätze A2 und A3 ist selbiges zu beobachten. Die gemittelten Durchmesser der Fasern aus den Ansätzen A2 und A3 sind mit $1,62 \mu\text{m}$ und $1,55 \mu\text{m}$ vergleichbar mit den Fasern des Ansatzes A1 mit $1,49 \mu\text{m}$.

Da in diesem Versuch nur die sog. WHO-Fasern betrachtet werden, zeichnen sich alle Fasern durch einen Durchmesser von $d < 3 \mu\text{m}$ aus. Bezogen auf den Faserdurchmesser sind hierbei alle erfassten Fasern alveolengängig. Interessant ist hierbei jedoch eher, dass die Länge einen bedeutenden Einfluss auf die Toxizität zu haben scheint (Greim et al., 2014). Nach Krombach et al., (1997), sind alveolare Makrophagen grundsätzlich an der Entfernung inhalierter Fasern aus der Lunge beteiligt. Einer der Hauptmechanismen, durch welche die alveolären Epithelzellen gegen die Wirkung von Fasern geschützt sind, ist die Phagozytose (Fremdkörperaufnahme). WHO-Fasern einer Länge von $< 21,2 \pm 0,3 \mu\text{m}$, sollen hierbei von Makrophagen vollständig phagozytiert werden (Krombach et al., 1997).

Die Ergebnisse der Faserlängen-Messung für Referenzmaterial A zeigen, dass die Fasern des Ansatzes A1 über die gesamte Versuchslaufzeit eine Länge von $l > 45 \mu\text{m}$ aufweisen. Die Ergebnisse der Faserlängen-Messung für Ansatz A2 und A3 ergeben zu Versuchsbeginn eine Länge von $l > 30 \mu\text{m}$ und zu Versuchsende eine Länge von $l > 40 \mu\text{m}$. Das bedeutet, dass die vermessenen Fasern des Referenzansatzes A im Mittel zu lang sind, um durch Phagozytose aus der Lunge entfernt werden zu können.

4.1.3. Sind Abweichungen der pH-Werte und der Leitfähigkeit in den Referenzsuspensionen A festzustellen?

Die pH-Werte der Referenzsuspensionen A1 bis A3 waren zu Versuchsbeginn zwischen 7,3 und 7,55. Über den gesamten Versuchszeitraum erhöhten sich die gemessenen pH-Werte und Leitfähigkeitswerte leicht. Ein möglicher Erklärungsversuch hierfür stellt das Auslaugen von Silicium aus den Fasern da. Faserbestandteile wie Aluminium sind nur in stark sauren Lösungen ($\text{pH} < 3$) löslich (Searl, 1994). Im Gegensatz hierzu ist Silicium nahezu unlöslich in Säuren. Ab einem $\text{pH} > 9$ werden sowohl Silicium als auch Aluminium stark löslich. Diese pH-Bereiche sind in der Lunge jedoch normalerweise nicht anzutreffen (Searl, 1994). Aufgrund der in Kapitel 1.3.4. dargestellten Zusammensetzung der untersuchten Referenzfasern A erscheint der sich nur geringfügig ändernde pH-Wert als plausibel.

4.1.4. Sind Veränderungen der Faseroberflächen und Faserstruktur der Referenzfasern A zu beobachten?

Über einen Zeitraum von 28 Tagen, konnte keine bemerkbare Veränderung der Faseroberflächen und Faserstrukturen festgestellt werden. In Abbildung 11 sind zum besseren Verständnis zwei REM Aufnahmen des Referenzmaterials A abgebildet. Das linke Bild wurde hierbei zu Versuchsbeginn aufgenommen, das rechte Bild zeigt die Referenzfasern A nach 28-tägiger Behandlung in der interstitiellen Flüssigkeit. Dieses Verhalten der Referenzfasern A ist vergleichbar mit dem Versuch zur Biolöslichkeit von HTWs in simulierten Lungenflüssigkeiten von Cannizzaro et al., (2019).

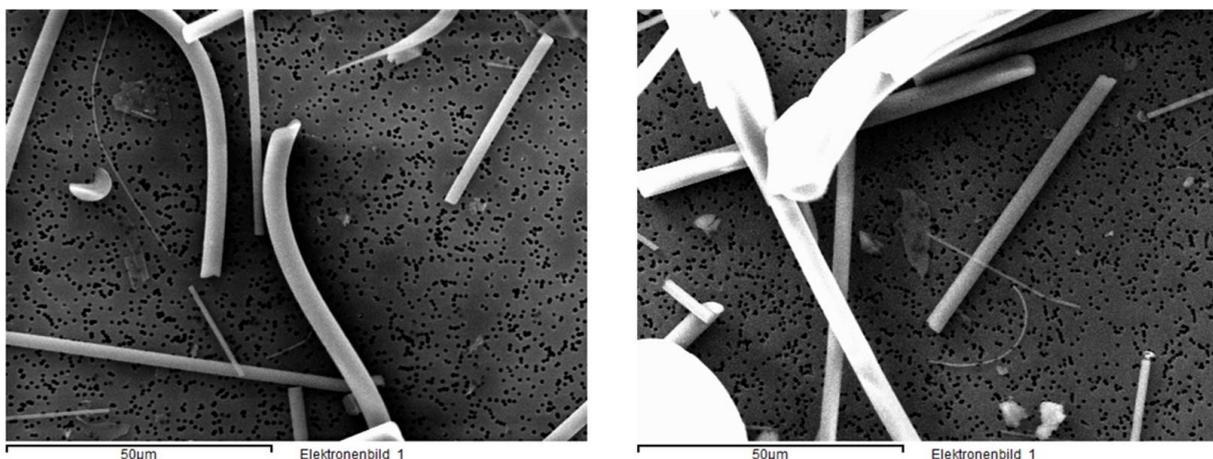


Abbildung 11 links: Referenzfasern A bei Versuchsbeginn. Rechts: Referenzfasern A nach 28 tägiger Behandlung in interstitieller Flüssigkeit. Beide Bilder wurden bei einer Vergrößerung von 2000:1 aufgenommen.

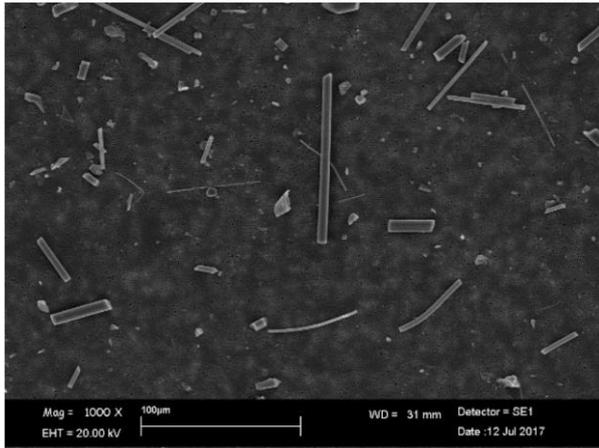


Abbildung 12 RCF Fasern nach 28 tägiger Behandlung in einer der Lungenflüssigkeit nachempfundenen Lösung, bei einer Vergrößerung von 1000:1 und einem pH-Wert von 7,4 (Cannizzaro et al., 2019).

Cannizzaro et al. (2019) verwendeten in ihren Versuchen sowohl eine statische Testmethode als auch RCF/ASW-Fasern einer ähnlichen Zusammensetzung der in diesem Versuch betrachteten RCF/ASW Fasern (vgl. Anhang 2). Abbildung 12 zeigt, dass die RCF Fasern des Versuchs von Cannizzaro et al. (2019), ebenfalls keine merklichen Veränderungen der Oberfläche nach 28 Tagen Versuchslaufzeit bei pH 7,4 aufweisen. Eine Veränderung der Faseroberflächen des Referenzmaterials A ist erst bei der Auswertung nach 42 Tagen zu beobachten. Auf einigen Fasern des Referenzmaterials A bildet sich eine Art Oberflächenbeschichtung. Diese Oberflächenbeschichtung könnte eine

mögliche Erklärung für das Ausbleiben weiterer Veränderungen der Faserstruktur liefern. Die Erklärung hierfür kann einem Artikel von Searl (1994) aus der Zeitschrift „The Annals of Occupational Hygiene“ entnommen werden. Hiernach haben faserige Materialien ein großes Verhältnis von Oberfläche zu Volumen, welches mit hoher Wahrscheinlichkeit eine große Rolle im Verlauf der Faserauflösung spielt (Searl, 1994). Die Oberflächenstruktur eines Materials unterscheidet sich von der inneren Struktur und bestimmt wie leicht Atome, Ionen oder Moleküle gelöst werden können. Betrachtet man die Makroskala, so haben raue Oberflächen eine größere Oberfläche als glatte und interagieren daher auch stärker mit dem Lösungsmedium. Betrachtet man die atomare Ebene, so benötigt die Lösung ein Atom, Ion oder Molekül, um die vorhandenen Bindungen zum Festkörper zu brechen, um sich schwach an die Lösungsmoleküle zu binden, während andere Komponenten des Fluids an die Faseroberfläche binden können und dadurch ein weiteres Auflösen verhindern. Dies kann dazu führen, dass z.B. Al aus der Lösung an teilweise gelöste Glasoberflächen adsorbiert, was zur Entwicklung eines unlöslichen Aluminiumsilikatgels führt, welches eine weitere Auflösung verhindert (Searl, 1994).

Morgan et al. (1986), betrachten in einer Studie die Vergleichbarkeit von *in-vivo* und *in-vitro* Löslichkeitsuntersuchungen von KMF (Morgan et al., 1986). Hierbei wird beschrieben, dass die Beschichtung von Fasern nur *in-vitro* zu beobachten sei und dies vermutlich aufgrund fehlender Komplexbildner, wie sie in der Lunge vorkommen, zurückzuführen sei (Morgan et al., 1984). Abbildung 13 zeigt anhand zweier Bilder, die beobachtete Beschichtung der Referenzfasern A nach 42 Tagen Versuchslaufzeit.

Trifft diese Beobachtung zu, dann bedeutet das, dass die Beurteilung der *in-vitro* Löslichkeit anhand der Faserstruktur und Oberfläche nur eingeschränkt erfolgen kann und aus diesem Grund mit Vorsicht zu betrachten ist.

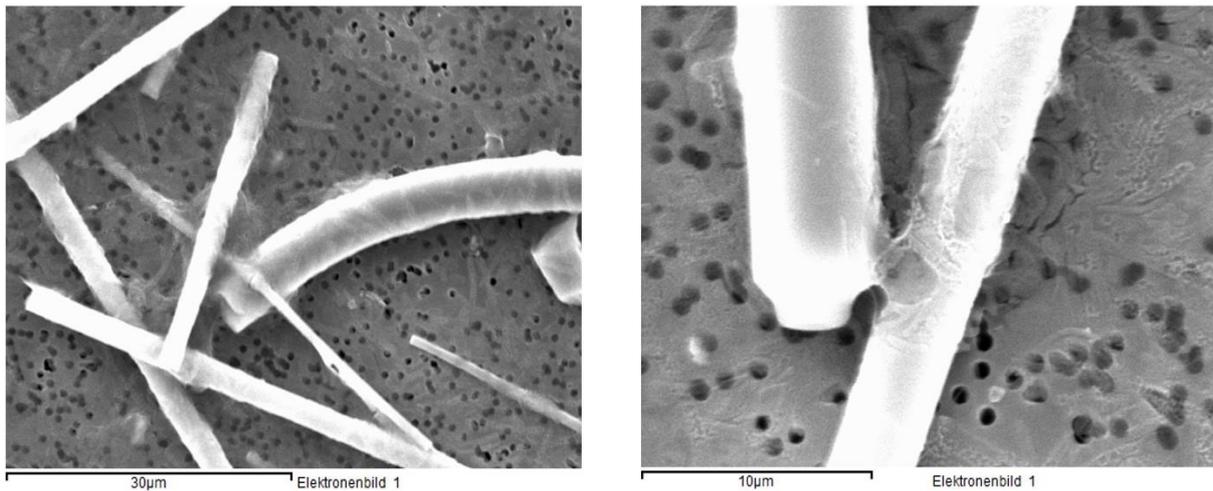


Abbildung 13 Auswertung der Referenzfasern A nach 42 Tagen Versuchslaufzeit. Auf einigen Fasern des Referenzmaterials A konnte eine Beschichtung bzw. Film beobachtet werden. Aufnahme erfolgt bei verschiedenen Vergrößerungen.

4.2. Prüfmaterial B

4.2.1. Ist eine Änderung der Faserzahl in Prüfmaterial B erkennbar?

Anhand der gemessenen Faserzahlen ist trotz der Schwankungen in den Zählergebnissen über die gesamte Versuchslaufzeit ein signifikanter Rückgang der Faserzahl in den Ansätzen der Prüfsuspension B festzustellen (vgl. Tabelle 9 und Anhang 1). Das Löslichkeitsverhalten der Prüffasern stimmt mit den Erwartungen, die an das Prüfmaterial gestellt wurden, überein. Bei Prüfmaterial B handelt sich um eine AES-HTW, die bereits nach Anmerkung Q der EG-Verordnung Nr. 1272/2008 CLP-VO freigezeichnet ist, d.h. sie hat bereits im Vorfeld einen *in-vivo* Biopersistenz-Test durchlaufen und bestanden (vgl. Kapitel 1.3.4.). Ebenfalls stimmt das Löslichkeitsverhalten von Prüfmaterial B zu großen Teilen mit dem Löslichkeitsverhalten der von Cannizzaro et al. (2019) untersuchten AES 1 Wolle überein, deren Zusammensetzung in etwa der des Prüfmaterials B entspricht (s. Anhang 2). Im Löslichkeitsversuch von Cannizzaro et al. (2019) löste sich die verwendete AES 1 Wolle bereits nach 14 Tagen Versuchslaufzeit komplett auf (Cannizzaro et al., 2019). Ein weiterer Punkt, der nicht außer Acht gelassen werden sollte, ist, dass AES Wollen aus Materialien bestehen (Na, K, Ca, Mg), welche speziell auf eine geringe Biopersistenz ausgelegt sind und diese dadurch meist eine geringes Gefährdungspotential aufweisen (Cannizzaro et al., 2019).

4.2.2. Ist eine Änderung der Faserlängen und Durchmesser der Prüffasern B zu erkennen?

Die Signifikanzprüfung der Faserlängen und Faserdurchmesser zeigt, dass in Prüfsuspension B1 und B2 über den Versuchszeitraum von 42 Tagen, keine signifikante Änderung der Faserlängen und Faserdurchmesser feststellbar ist. In Prüfsuspension B3 zeigt die Signifikanzprüfung, dass sowohl die Faserlänge als auch der Faserdurchmesser über den Versuchszeitraum größer geworden sind. Die Ergebnisse der Signifikanzprüfung sind in Anhang 4 dargestellt. Dennoch sind in zwei der drei Prüfansätze B keine signifikanten Veränderungen der Faserlängen und Faserdurchmesser zu beobachten. Dieser Effekt war nicht zu erwarten. Es wurde erwartet, dass sowohl die Faserlänge als auch der Faserdurchmesser über die Versuchslaufzeit in allen drei Prüfansätzen B abnimmt. Der hohe Calciumgehalt der Wolle sollte diese sehr gut löslich machen, da das Calcium sehr leicht durch das Fasernetzwerk diffundiert und durch Auswaschen in die Lösung aufgenommen wird (Ursini et al., 2019). Cannizzaro et al. (2019) stellten in ihrem Versuch zur *in-vitro* Persistenz fest, dass die untersuchten AES 1 Fasern (s. Anhang 2, in saurer Umgebung (pH 4,5) nach 14 Tagen Versuchslaufzeit einen größeren mittleren Durchmesser aufweisen, was sie auf eine bessere Löslichkeit von dünnen Fasern schließen lässt (Cannizzaro et al., 2019). Dies könnte eine Erklärung für die Veränderung der Faserlänge und der Faserdurchmesser in Prüfansatz B3 sein. Eine mögliche Erklärung für das Ausbleiben einer Veränderung der Faserlängen und Faserdurchmesser ist in Abbildung 14 dargestellt. Es ist zu erkennen, dass sich zusätzlich zu den Fasern, auch viele andere Partikel auf der Filteroberfläche befinden. Ergänzend kann bei einigen Fasern des Prüfmaterials B eine Rissbildung entlang der Querachse beobachtet werden

(vgl. Kapitel 4.2.4.). In Anbetracht der Beobachtungen kann das Ausbleiben einer Faserlängen- und Faserdurchmesser Veränderung vermutlich darauf zurückgeführt werden, dass die Prüffasern bereits nach kurzer Zeit und bevor eine Veränderung der Faserlängen und Faserdurchmesser beobachtbar werden, in viele kleinere Partikel zerfallen. Diese Partikel sind später nicht als Faser am REM zu identifizieren.

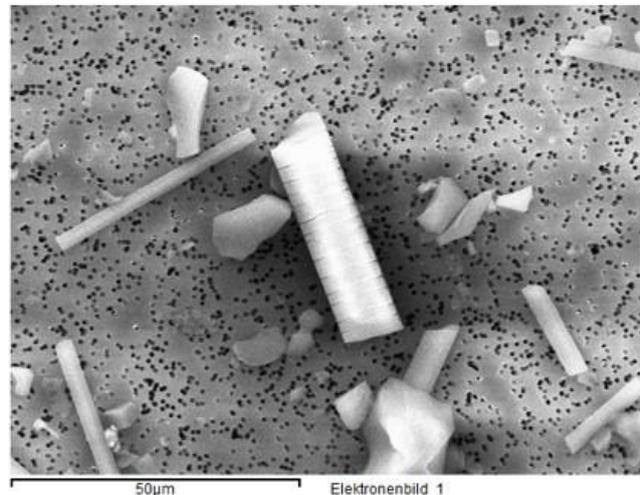


Abbildung 14 Filteroberfläche von Prüfmaterial B nach 14 Tagen. Neben den Fasern sind weitere Partikelförmige Objekte zu erkennen. Aufgenommen bei einer Vergrößerung von 2000:1.

4.2.3. Sind Abweichungen der pH-Werte und der Leitfähigkeit in den Prüfsuspensionen B festzustellen?

Wie in Kapitel 3.2.3 und Tabelle 12 dargestellt, betrug der pH-Wert zu Beginn der Messung in allen untersuchten Suspensionen der Prüffasern B zwischen $7,5 \pm 0,5$. Bereits nach 14 tägiger Behandlung in der interstitiellen Lösung ist der pH-Wert in allen Suspensionen mit $\text{pH} > 9$, deutlich in den alkalischen Bereich gewandert. Dies ist wahrscheinlich auf ein selektives Auslaugen des in den Fasern enthaltenen Calciums zurückzuführen (Cannizzaro et al., 2019). Nach weiteren 14 Tagen Versuchslaufzeit sind die gemessenen pH-Werte der einzelnen Prüfsuspensionen wieder $> \text{pH} 9$. Die pH-Wert Änderung tritt trotz vorangegangenen Einstellens mittels $0,01 \text{ mol/l HCL}$, auf $\text{pH} 7,5$, auf. Um das Phänomen der Auslaugung zu überprüfen, werden nach 28 Tagen Versuchslaufzeit im Zuge der routinemäßigen Faserzahlbestimmung, zusätzlich drei EDX-Elementbestimmungen einzelner Fasern durchgeführt. Dies geschieht, um zu überprüfen ob sich der Calciumgehalt der Prüffasern B im Vergleich zu den ursprünglichen $11,46 \text{ m\%}$ verringert hat. Diese sind den Anhängen 5-7 dieser Arbeit beigelegt. Aus den einzelnen EDX-Elementbestimmungen (Energiedispersive Röntgenspektroskopie) ist deutlich zu erkennen, dass in allen drei EDX-Elementbestimmungen der Calciumgehalt in den Fasern mit $1,27 \text{ \%}$ (s. Anhang 5) und $0,69 \text{ \%}$ (s. Anhang 6) deutlich geringer ausfällt oder wie in Anhang 7 dargestellt, gar nicht mehr nachweisbar ist.

Die gemessenen Leitfähigkeitswerte sind durch die Salzkonzentration in den Suspensionen schon zu Versuchsbeginn mit ca. $16.000 \mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$ auf einem sehr hohen Niveau. Die Werte erhöhten sich über den gesamten Versuchszeitraum nur um wenige $100 \mu\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$. Die Steigerung der Leitfähigkeit, ist vermutlich auf die Zugabe von HCL, zum Einstellen des pH-Wertes und die beschriebenen Auslaugungsprozesse, zurückzuführen.

4.2.4. Sind Veränderungen der Faseroberflächen und Faserstruktur der Prüffasern B zu beobachten?

Bereits nach 14 tägiger Behandlung in der interstitiellen Flüssigkeit sind diverse Veränderungen der Oberfläche und Faserstruktur der Prüffasern B erkennbar, diese sind in folgender Abbildung 15 anhand zweier Aufnahmen gut erkennbar dargestellt. In der linken Aufnahme sind Risse quer zur Faserrichtung zu erkennen. Die rechte Aufnahme zeigt die stark korrodierte Oberfläche einer weiteren Faser. Die gemachten Beobachtungen decken sich mit den in Abbildung 16 dargestellten Beobachtungen von Cannizzaro et al. (2019). Diese beobachteten in ihrer Veröffentlichung zur Biolöslichkeit in simulierten Lungenflüssigkeiten bei den Untersuchten AES 1 Fasern mit ähnlicher Zusammensetzung (vgl. Anhang 1) ebenfalls eine Rissbildung entlang der Querachse, sowie eine angegriffene Oberfläche, allerdings erst nach 28 Tagen (Cannizzaro et al., 2019). Zusätzlich muss hierbei angemerkt werden, dass die Behandlung der Fasern bei Cannizzaro et al. in Abbildung 16 bei einem pH-Wert von $4,5$ erfolgte und nicht wie in dieser Arbeit bei einem pH-Wert von $7,5$.

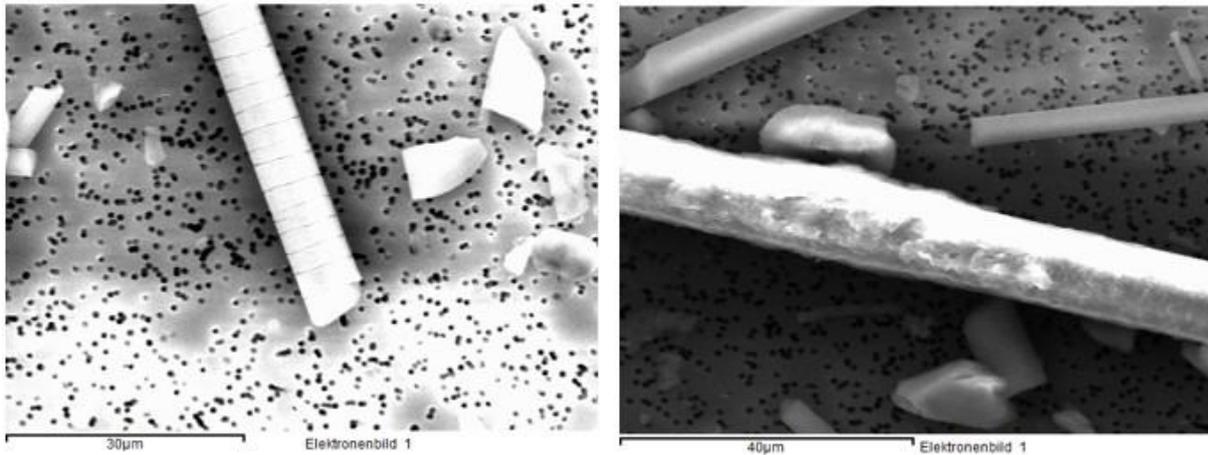


Abbildung 15 Prüfmaterial B nach 14 tägiger Behandlung bei pH 7,5: Rissbildung entlang der Faser-Querachse (links) und korrodierte Oberfläche (rechts). Die Aufnahmen erfolgten bei unterschiedlichen Vergrößerungsstufen.

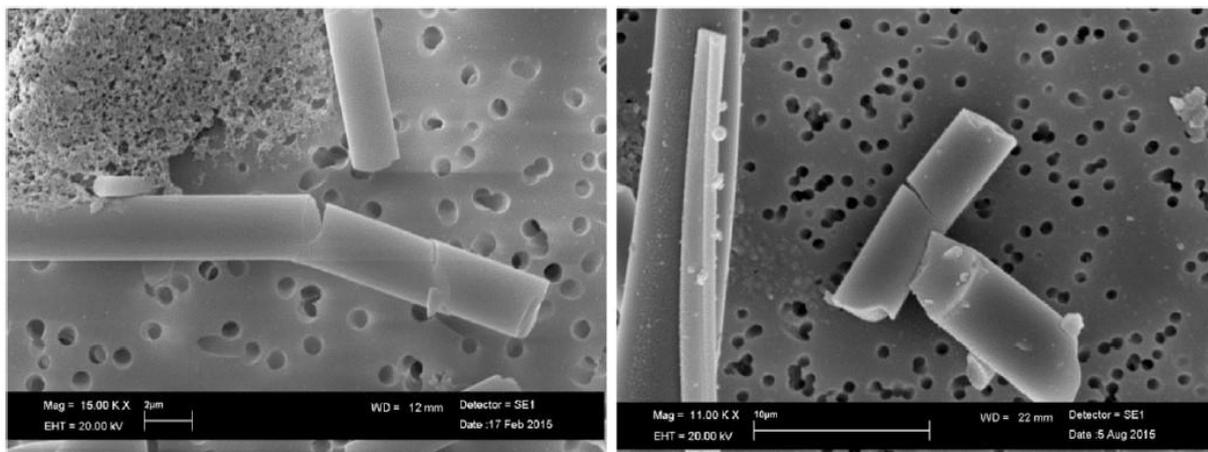


Abbildung 16 REM Bild bei 1.500-facher Vergrößerung. Dargestellt sind die von Cannizzaro et al. (2019) untersuchten AES 1 Fasern nach 28 tägiger Behandlung bei pH 4,5. Zu erkennen sind Rissbildungen entlang der Faser-Querachse (Cannizzaro et al., 2019).

Ursini et al. (2019) untersuchen in einer Studie mit dem Titel: „Alkaline earth silicate (AES) wools: evaluation of potential cytogenotoxic and inflammatory effects on human respiratory cells“ AES-Fasern, welche nach Anmerkung Q der EG-Verordnung Nr. 1272/2008 CLP-VO freigezeichnet sind (Ursini et al., 2019). In dieser Studie konnte ebenfalls festgestellt werden, dass die untersuchten AES-Fasern mit einem hohen Anteil an Calciumoxid eine Rissbildung entlang der Querachse aufweisen. Durchgeführt wurde dieser Test in einer zellfreien RPMI (Roswell Park Memorial Institute) 1640 Lösung (Ursini et. Al., 2019). Abbildung 17 zeigt die Rissbildung der AES Fasern in der von Ursini et al. (2019) durchgeführten Studie.

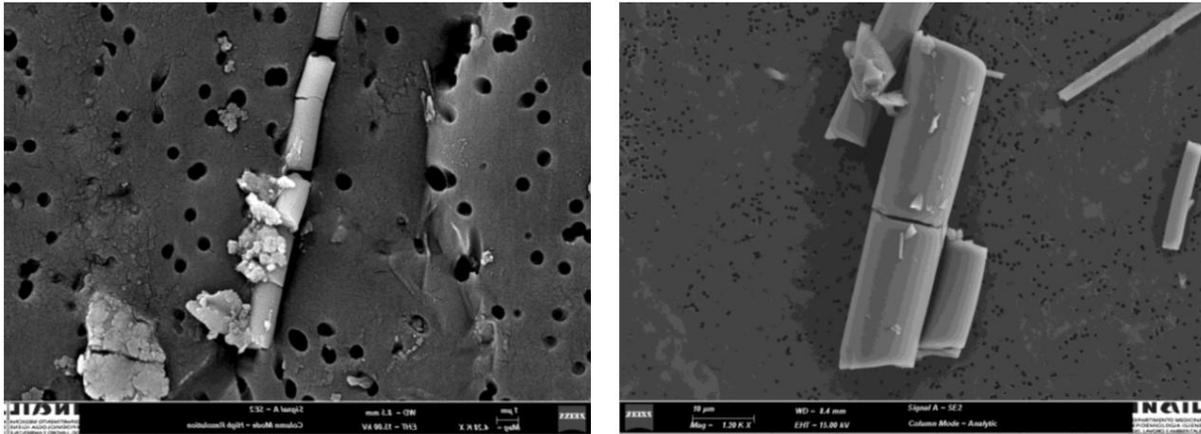


Abbildung 17 REM Bild der von Ursini et al. (2019) untersuchten AES Fasern nach 24 h Behandlung in einer Zellfreien RPMI 1640 Medium bei einer Konzentration von $100 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$. Zu erkennen ist eine Rissbildung entlang der Querachse der Fasern (Ursini et al., 2019).

4.3. Vergleich der beiden Fasertypen

Im direkten Vergleich der in diesem Versuch untersuchten Referenzfasern A und Prüffasern B hinsichtlich des Löslichkeitsverhaltens, der Änderungen Faserlängen und Faserdurchmesser, des pH-Wertes, der Leitfähigkeit und der Oberflächen und Struktur der Fasern ist Folgendes festzustellen:

Während bei den Referenzfasern A der Gruppe RCF/ASW kein signifikanter Faserrückgang über 42 Tage festzustellen ist, so kann bei Prüfmaterial B der Gruppe AES ein signifikanter Rückgang der Faserzahlen über den betrachteten Zeitraum festgestellt werden. Dies ist auf die unterschiedlichen Zusammensetzungen der Fasern A und B zurückzuführen.

Bei Referenzmaterial A konnte in Ansatz A1 keine signifikante Änderung der Faserlängen und Durchmesser festgestellt werden. In den Referenzansätzen A2 und A3 ist über die Versuchslaufzeit von 42 Tagen eine signifikante Zunahme der Faserlänge und Faserdurchmesser zu beobachten. Die Auswertung des Prüfmaterials B ergibt, dass in den Ansätzen B1 und B2 keine signifikante Veränderung der Faserlängen und Faserdurchmesser zu beobachten ist. In Prüfansatz B3 ist eine signifikante Erhöhung der Faserlänge und des Faserdurchmessers festzustellen. Interessant ist hierbei, dass die Faserlänge der Referenzfasern A – gemittelt über den ganzen Versuchszeitraum – deutlich länger ist (30-60 μm) als die der Prüffasern B (19-23 μm). Nach Krombach et al. (1997), sind Fasern mit einer Länge über 20 μm zu groß, um von Makrophagen entfernt werden zu können (Krombach et al., 1997).

Die pH-Werte der Referenzfaseransätze A steigen über die gesamte Versuchslaufzeit nur leicht an und verbleiben durchgehend unter einem pH-Wert von 9. Vermutlich ist dies auf die geringe Biolöslichkeit und damit einhergehend geringe Auslaugungsprozesse der Fasern zurückzuführen (Cannizzaro et al., 2019). Die gemessenen pH-Werte der Prüffasern B sind bereits nach 14 Tagen Versuchslaufzeit bei über 9,1. Dies ist mit hoher Wahrscheinlichkeit auf Calcium-Auslaugungsprozesse in den Prüffasern zurückzuführen (Cannizzaro et al., 2019). Sowohl in den drei Referenzansätzen A als auch bei den Prüfansätzen B ist ein leichter Anstieg der Leitfähigkeit in den Suspensionen über einen Zeitraum von 42 Tagen festzustellen.

Bei Referenzmaterial A sind während der ersten 28 Tage Versuchslaufzeit keine Unterschiede bezüglich der Faserflächen und Rissbildung in den Fasern selbst zu erkennen. Erst die

Auswertung nach 48 Tagen ergab, dass sich auf einigen Fasern eine Art „Beschichtung“ erkennbar ist. Die Fasern des Prüfmateri als B weisen im Gegensatz dazu bereits nach 14 Tagen eine deutliche Rissbildung quer zum Faserverlauf auf. Ebenfalls wirkt die Oberfläche der Fasern angegriffen. Dies ist mit hoher Wahrscheinlichkeit auf die jeweilige chemische Zusammensetzung und die Oberflächenbeschaffenheit der beiden Fasertypen zurückzuführen (Searl, 1994).

4.4. Fehlerdiskussion

Im Folgenden Kapitel werden Abweichungen bei der Versuchsdurchführung und dadurch möglicherweise verursachte Fehler bei der Auswertung des Versuchs am REM betrachtet. Während der Versuchsdurchführung wurde sehr darauf geachtet, alle Schritte mit größtmöglicher Sorgfalt und auf die exakt selbe Weise durchzuführen, um reproduzierbare Ergebnisse zu erzeugen.

Die Gläser wurden vor jedem Filtrationsvorgang kräftig geschüttelt, um eine möglichst homogene Verteilung der Fasern in der Suspension zu erhalten. In wenigen Fällen führte dies dazu, dass etwas Flüssigkeit aus der Öffnung der Glasflaschen ausgetreten ist. Eine weitere Abweichung stellt das Pipettieren der Suspensionen dar. Auch wenn hier wieder mit größtmöglicher Sorgfalt vorgegangen wurde, konnte zum einen nicht sichergestellt werden, dass die Fasern in der Flüssigkeit, trotz vorangegangenen Schüttelns, eine vollständige homogene Verteilung aufweisen, zum anderen gab es geringe Abweichungen beim pipettierten Volumen selbst. Eine ebenfalls nicht zu verhindernde Abweichung, ist die nicht komplett homogene Verteilung der Fasern auf den Kernporenfiltern, auch wenn dies durch Zugabe von Netzmittel (in Form von „Spülmittelwasser“) in den Filtriertrichter größtenteils unterbunden wurde.

Geringe Abweichungen bei der Auswertung der Faserlängen- und Durchmesser am REM entstanden durch die manuelle Ermittlung der Längen und Durchmesser der Fasern. Durch das verwendete Messwerkzeug in Form eines „Strich-Tools“, konnten nur gerade Fasern exakt vermessen werden. Um die Länge bei gebogenen Fasern möglichst exakt erfassen zu können, wurden diese in kleine Abschnitte aufgeteilt, welche später aufaddiert wurden. Bei sehr langen Fasern war es erforderlich, diese bei einer geringeren Vergrößerung zu messen, was zu einer zusätzlichen Abweichung der Längenmessung führt. In Abbildung 18 ist exemplarisch eine stark gebogene Faser dargestellt.

Um den Fehler bei den Durchmesser Messungen möglichst gering zu halten, wurden diese nach der in der Verordnung (EG) Nr. 761/2009 beschriebenen Methode durchgeführt (Verordnung (EG) Nr. 761/2009, 2009). Alle Fasern mit uneinheitlichen Querschnitten wurden hierbei am durchschnittlichen Faserquerschnitt vermessen (Verordnung (EG) Nr. 761/2009, 2009).

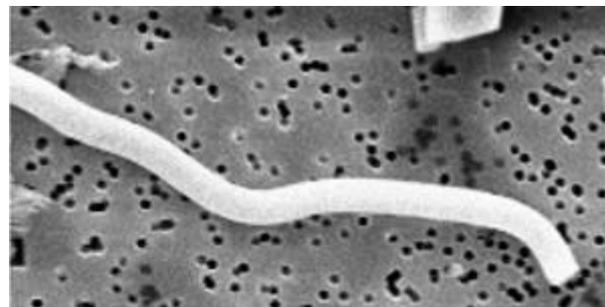


Abbildung 18 Gebogene Fasern erschweren die Auswertung der Faserlängen- und Durchmesser. Aufnahme bei einer Vergrößerung von 2500:1.

5. Schlussfolgerung und Ausblick

In diesem Kapitel werden die Hypothesen geprüft. Im zweiten Teil des Kapitels erfolgt eine Beschreibung einiger anderer Versuche zur *in-vitro* Persistenz von KMF. Dadurch soll aufgezeigt werden, welche alternativen Möglichkeiten neben dem in dieser Arbeit durchgeführten Versuch bestehen, die *in-vitro* Persistenz von KMF zu überprüfen und zu bewerten. Zusätzlich werden einfach umzusetzende Verbesserungen für den im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Versuch beschrieben und Empfehlungen für die Zukunft ausgesprochen. Abschließend erfolgt eine allgemeine Einschätzung zur Ermittlung der Biopersistenz von KMF durch *in-vitro* Versuche.

5.1. Sind die gemachten Hypothesen zutreffend?

1. Es kann eine Abnahme der Faserzahlen von Material B in der verwendeten interstitiellen Flüssigkeit über einen Zeitraum von 42 Tagen festgestellt werden.

In den Ansätzen der Prüfsuspensionen B ist ein signifikanter Rückgang der Faserzahlen zu beobachten (vgl. Tabelle 10 und Anhang 1). Der aus der prozentualen Faserzahlabnahme nach 42 Tagen errechnete Mittelwert ergibt für die Prüffasern B eine Abnahme von 57,5 %. Die Berechnung der Halbwertszeiten (vgl. Kapitel 2.3.6.) führen zu folgenden Ergebnissen: Für Prüfsuspension B1 ergibt die Berechnung eine Halbwertszeit der Fasern von 38,2 Tagen. Die Berechnung der Halbwertszeit für Prüfsuspension B2 ergibt eine Halbwertszeit der Fasern von 37,3 Tagen. In Prüfsuspension B3 wurde eine Halbwertszeit von 27,6 Tagen berechnet. Das hieraus gebildete arithmetische Mittel ergibt eine Halbwertszeit der Prüffasern B von 34,4 Tagen.

Aufgrund der ermittelten signifikanten Abnahme der Faserzahl, der berechneten Halbwertszeit und den aufgezeichneten Begleitparametern (pH-Wert, Leitfähigkeit, Faseroberfläche und Faserstruktur) kann diese Hypothese als bestätigt betrachtet werden.

2. Die Faserzahl von Referenzmaterial A nimmt über einen Zeitraum von 42 Tagen in der verwendeten interstitiellen Flüssigkeit nicht wesentlich ab.

In keiner der betrachteten Referenzsuspensionen A kann ein signifikanter Rückgang der Faserzahlen festgestellt werden (vgl. Tabelle 6 und Anhang 1).

Der aus der prozentualen Faserzahlentwicklung, nach 42 Tagen errechnete Mittelwert ergibt für die Referenzfasern A eine Zunahme der Faserzahl von 12 %.

Die Berechnung der Halbwertszeiten (vgl. Kapitel 2.3.6.) der Referenzansätze A1-A3 ergibt hinsichtlich der ermittelten Faserzahlen keinen Sinn. Da in den Referenzsuspensionen über die komplette Versuchslaufzeit eine Steigerung der Faserzahl gemessen wurde und das Ergebnis der Halbwertszeit somit negativ ausfallen würde.

Über den gesamten Versuchszeitraum ist eine Steigerung in den ermittelten Werten zu erkennen. Im Hinblick auf die Ergebnisse und den aufgezeichneten Begleitparametern (pH-Wert, Leitfähigkeit, Faseroberfläche und Faserstruktur) kann die aufgestellte Hypothese als bestätigt betrachtet werden.

3. Die aus den Ergebnissen dieser Arbeit abgeleiteten Schlussfolgerungen, stimmen mit der Einordnung der Stoffe nach Verordnung (EG) Nr. 1272/2008 überein.

Referenzmaterial A ist aufgrund seiner chemischen Zusammensetzung der Gruppe der RCF/ASW Wollen zuzuordnen und deshalb nach Verordnung (EG) Nr. 1272/2008 als karzinogen der Kategorie 1B klassifiziert.

Durch die in diesem Versuch erbrachten Ergebnisse und den aus der Diskussion abgeleiteten Schlussfolgerungen, ist es wesentlich festzuhalten, dass keine abnehmende Faserzahl über einen Zeitraum von 42 Tagen zu beobachten ist. Die Faserlänge und Faserdurchmesser erhöhten sich in Referenzansatz A2 und A3 signifikant. Eine Veränderung der Faserstruktur hinsichtlich einer Rissbildung, oder einer angegriffenen Oberfläche konnte nicht erfasst werden. Die gemessenen pH- und Leitfähigkeitswerte stiegen zwar kontinuierlich leicht an, erreichten aber über die ganze Versuchslaufzeit betrachtet keinen Wert der als auffällig zu bezeichnen wäre. Unter Berücksichtigung all dieser Punkte kann gesagt werden, dass die untersuchten Referenzfasern A sich in der interstitiellen Lösung sehr biopersistent verhalten. Die Einstufung der Fasern in die Kategorie 1B der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008 CLP-VO erscheint schlüssig.

Prüfmaterial B ist aufgrund seiner chemischen Zusammensetzung, der Gruppe der AES Wollen zuzuordnen und aus diesem Grund nach Verordnung (EG) Nr. 1272/2008 CLP-VO unter Anmerkung Q freigezeichnet und als nicht karzinogen eingestuft.

Aus den Ergebnissen des im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Versuches und den aus der Diskussion getroffenen Schlussfolgerungen kann Folgendes festgehalten werden: Es kann eine signifikante Abnahme der Faserzahlen über einen Zeitraum von 42 Tagen beobachtet werden. Bei den Faserdurchmessern und den Faserlängen konnte über die gesamte Versuchsdauer in den Prüfansätzen B1 und B2 kein signifikanter Unterschied festgestellt werden. In Prüfansatz B3 ist eine signifikante Erhöhung der Faserlänge und der Faserdurchmesser zu beobachten. Die Fasern des Prüfmaterials B wiesen bereits nach 14 tägiger Behandlung in der interstitiellen Flüssigkeit eine starke Veränderung auf. Es sind Rissbildungen entlang der horizontalen Achse zu beobachten. Zusätzlich war bei einigen Fasern eine Korrosion der Faseroberfläche zu erkennen. Die pH-Werte der Prüfsuspensionen sind ebenfalls bereits nach 14 Tagen deutlich ins alkalische gewandert. Dies ist vermutlich auf ein Auslaugen von Calcium in den Prüffasern B zurückzuführen. Die Leitfähigkeit erhöht sich über den ganzen Versuchszeitraum nur leicht.

In Anbetracht der aufgezählten Punkte, allen voran die Abnahme der Faserzahl in den Prüfsuspensionen B, ist festzuhalten, dass die Fasern des Prüfmaterials B sich in der interstitiellen Lösung biolöslich verhalten und die Freizeichnung nach Anmerkung Q der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008 CLP-VO, hinsichtlich des in dieser Arbeit durchgeführten Versuches und der betrachteten Parameter, als gerechtfertigt erscheint.

5.2. Sind weitere Untersuchungen und Verbesserungen empfehlenswert?

Die Biopersistenz der Fasern in der Lunge wird hauptsächlich durch zwei Parameter bestimmt (Nguea et al., 2008). Den ersten Parameter bildet die Faserauflösung d.h. das Austreten ihrer chemischen Komponenten wie z.B. Silicium, Calcium oder Aluminiumoxid und Eisen. Der zweite Parameter ist der Faserabbau und Bruch in kleine Partikeln. Diese können dann durch Phagozytose oder durch das Lymphdrainage-System entfernt werden (Nguea et al., 2008). Alle der im Rahmen der Recherche für diese Arbeit gefundenen Versuche zur *in-vitro* Biopersistenz von KMF bauen auf diesen zwei Parametern auf. Der Schwerpunkt des im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Versuches liegt in der Betrachtung des Faserabbaus. Als neues Kriterium wird in dieser Arbeit die Verringerung der Faserzahl betrachtet, um somit die Zerfalls-Halbwertszeit der untersuchten Fasern abschätzen zu können.

Im Folgenden werden einige alternative Versuche dargestellt und beschrieben.

Nguea et al. (2008) beschreiben in ihrer Studie die Entwicklung eines *in-vitro* zellulären Modells, um *in-vitro* Versuche weiter zu verfeinern und dadurch *in-vivo* Versuche irgendwann ersetzen zu können (Nguea et al., 2008). Aus diesem Grund entwickelte die Gruppe einen eigenen *in-vitro* Versuch unter Verwendung einer humanen monozytischen Zelllinie (U-937), hiermit wurde dann versucht, den Abbau einer Steinwolffaser zu bewerten. Untersucht wurde hierbei die Fähigkeit einer Monozyten-Zelllinie (U-937), mit verschiedenen KMF und Naturmineralfasern zu interagieren. Die Auswertung erfolgte hierbei durch Analyse der Fasern am REM (Nguea et al., 2008).

Der im Rahmen dieser Bachelorarbeit durchgeführte Versuch findet unter statischen Bedingungen statt. Hierbei ergeben sich gewisse Einschränkungen, wie z.B. das geringe Volumen der Suspensionen und die sich daraus ergebende Veränderung der chemischen Zusammensetzung, des pH-Wertes und der Leitfähigkeit der Suspension (Cannizzaro et al., 2019). Die Vorteile einer statischen Methode bestehen darin, dass es sich um eine einfache, relativ schnelle und kostengünstige Methode handelt. Diese kann zur ersten Bewertung von Fasern verwendet werden, die entweder leicht löslich oder schwer löslich sind. Eine Bewertung für Fasern mittlerer Löslichkeit kann jedoch nicht zuverlässig erfolgen (Cannizzaro et al., 2019).

Um die Schwachstellen eines statischen Versuches zu umgehen, kann ein Versuch unter Durchflussbedingungen durchgeführt werden. Thélohan et al. (1994) beschreiben einen solchen Versuch zur Ermittlung der *in-vitro* Löslichkeit von KMF unter Durchflussbedingungen (Thélohan et al., 1994). In diesem Test durchfließt die interstitielle Flüssigkeit mit einer durch eine Peristaltikpumpe fest eingestellten Durchflussmenge eine Zelle, welche die Fasern bei 37 °C enthält. Die Abwasserlösung wird anschließend wöchentlich mittels ICP-OES (Optische Emissionsspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma) auf SiO₂, CaO und andere Ionen analysiert, um daraus die Löslichkeit der Fasern zu bestimmen. Die Versuchslaufzeit beträgt hierbei drei bis sechs Wochen. Zu Versuchsende werden die Fasern auf Gewichtsverlust überprüft und am REM analysiert (Thélohan et al., 1994). Die Ergebnisangabe solcher Löslichkeitsversuche erfolgt meist in $(\frac{ng}{cm^2})/h$ (Utell et al., 2010).

Der Betrachtungsschwerpunkt des in dieser Bachelorarbeit durchgeführten Versuches lag in der Ermittlung der Faserzahlabnahme in den untersuchten Prüf- und Referenzsuspensionen. Zusätzlich und ohne erheblichen Mehraufwand könnte, um das Löslichkeitsverhalten in der Lunge besser zu simulieren, wie im Versuch zur Bestimmung der *in-vitro* Persistenz von KMF

von Campopiano et al. (2014) beschrieben, neben einer interstitiellen Lösung mit einem pH-Wert von 7,4, zusätzlich ein Ansatz mit einem pH-Wert von 4,5 verwendet werden (Campopiano et al., 2014). Dies ist sinnvoll, da es mindestens zwei pH- Umgebungen in der Lunge gibt: pH 7,4 simuliert hierbei die nahezu neutrale Umgebung der extrazellulären Flüssigkeit und pH 4,5 imitiert das saure Milieu der Phagolysosomen der Makrophagen (Cannizzaro et al., 2019).

Abschließend kann gesagt werden, dass auch wenn sich die Hypothesen aus dieser Arbeit bestätigt haben, mehr Forschung erforderlich ist, um die Ergebnisse von *in-vitro* und *in-vivo* Studien zur Faserlöslichkeit richtig in Beziehung setzen zu können (Morgan et al., 1986). Nach Morgan et al. (1986) ist es mit *in-vitro* Versuchen nahezu unmöglich, die unterschiedlichen pH-Werte und Konzentrationen von Komplexbildnern, auf die Fasern in der intrazellulären und extrazellulären Umgebung der Lunge vollständig nachzubilden (Morgan et al., 1986). Zusätzlich wird die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse dadurch erschwert, dass die Löslichkeit von KMF stark von ihrer jeweiligen Zusammensetzung abhängig ist (Zoitos et al., 1997). Dies führt dazu, dass trotz der Einteilung der Fasern in verschiedene Gruppen wie z.B. AES, RCF/ASW und PCW die Vergleichbarkeit mit anderen Studien eingeschränkt wird (Searl, 1994). Die in dieser Bachelorarbeit durchgeführten Untersuchungen haben anhand der verschiedenen Parameter (Faserabnahme, Faserdimension, pH-Wert und Leitfähigkeit, Faseroberfläche- und Struktur) dennoch gezeigt, dass sich durch *in-vitro* Untersuchungen, durchaus zutreffende Prognosen für die betrachteten Fasertypen ergeben, durch welche eine erste Einschätzung zur Biolöslichkeit erfolgen kann.

Wird durch einen *in-vitro* Versuch eine eindeutige Aussage ermittelt, so könnte dies dazu beitragen, dass die Notwendigkeit von *in-vivo* Versuchen verringert wird, auch wenn hierfür sicherlich noch eine ausführlichere Datenlage benötigt wird.

6. Literaturverzeichnis

Abigail R. Lara, 2018. MSD Manual. [Online]

Available at: <https://www.msmanuals.com/de-de/heim/lungen-und-atemwegserkrankungen/umweltbedingte-lungenerkrankungen/mesotheliom>
[Zugriff am 05 07 2019].

Abigail R. Lara, 2019. MSD Manual. [Online]

Available at: <https://www.msmanuals.com/de-de/heim/lungen-und-atemwegserkrankungen/umweltbedingte-lungenerkrankungen/asbestose>
[Zugriff am 05 07 2019].

AGS - Ausschuss für Gefahrstoffe , 2008. TRGS 521 Abbruch-, Sanierungs- und Instandhaltungsarbeiten mit alter Mineralwolle. Berlin: Bundesministerium für Arbeit und Soziales (BMAS).

AGS - Ausschuss für Gefahrstoffe , 2010. TRGS 558 Tätigkeiten mit Hochtemperaturwolle. Berlin: Bundesministerium für Arbeit und Soziales.

AGS - Ausschuss für Gefahrstoffe , 2016. TRGS 905 Verzeichnis krebserzeugender, keimzellmutagener oder repro- duktionstoxischer Stoffe. Berlin: GMBI.

Anon., 2015. Mikrobereichsanalyse - Quantitative Analyse mittels energiedispersiver Spektroskopie (EDS) für Elemente mit der Ordnungszahl 11 (Na) oder höher (ISO 22309:2011) , s.l.: Beuth.

Anon., kein Datum BIA 7487: Verfahren zur analytischen Bestimmung geringer Massengehalte von Asbestfasern in Pulvern, Pudern und Stäuben mit REM/EDX; BIA- Arbeitsmappe 38. Lfg. IV/07, jetzt IFA-Arbeitsmappe "Messung von Gefahrstoffen". s.l.:s.n.

Asam Claus, 2011. Künstliche Mineralfaserdämmstoffe, Bonn: Bundesinstitut für Bau-, Stadt- und Raumforschung (BBSR)im Bundesamt für Bauwesen und Raumordnung (BBR).

BAuA - Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin, 1997. Merkblatt zur BK Nr. 4104: Lungenkrebs oder Kehlkopfkrebs. [Online]

Available at: <https://www.baua.de/DE/Angebote/Rechtstexte-und-Technische-Regeln/Berufskrankheiten/pdf/Merkblatt-4104.pdf? blob=publicationFile&v=2>
[Zugriff am 05 07 2019].

BAuA - Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin, 2015. Nationales Asbest-Profil Deutschland. [Online]

Available at: <https://www.baua.de/DE/Angebote/Publikationen/Berichte/Gd80-2.pdf? blob=publicationFile&v=5>
[Zugriff am 04 07 2019].

BAuA - Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin, 2019. Verteilung der Todesfälle aufgrund von Berufskrankheiten nach Krankheitsart in Deutschland in den Jahren 2013 bis 2017. [Online]

Available at: <https://de.statista.com/statistik/daten/studie/241384/umfrage/verteilung-der-todesfaelle-aufgrund-von-berufskrankheiten-nach-krankheitsart/>
[Zugriff am 05 07 2019].

BG BAU - Berufsgenossenschaft der Bauwirtschaft, 2015. ASBEST Informationen über Abbruch, Sanierungs- und Instandhaltungsarbeiten. [Online]

Available at: https://www.bgbau.de/fileadmin/Medien-Objekte/Medien/Broschuere_Flyer/asbest.pdf
[Zugriff am 05 07 2019].

Bien Sebastian, 2018. Prüfbericht Nr. 306974: In-vitro Löslichkeitsuntersuchungen zur Biopersistenz von lungengängigen, faserförmigen Partikeln mittels Rasterelektronenmikroskopie, Gelsenkirchen: Hygiene-Institut des Ruhrgebiets.

Brown Robert C., Harrison Paul T.C., 2012. Alkaline earth silicate wools – A new generation of high temperature insulation. Regulatory Toxicology and Pharmacology - Volume 64, Issue 2, 11, pp. 296-304.

Campopiano Antonella, Cannizzaro Annapaola, Angelosanto Federica, Ramires Deborah, Olori Angelo, Canepari Silvia, Lavicoli Sergio, 2014. Dissolution of glass wool, rock wool and alkaline earth silicate. Regulatory Toxicology and Pharmacology, Volume 70, Issue 1, 10, pp. 393-406.

Cannizzaro Annapaola, Angelosanto Federica, Barrese Elena, Campopiano Antonella, 2019. Biosolubility of high temperature insulation wools in simulated lung fluids. Journal of Occupational Medicine and Toxicology, 14 05, p. Article number 15.

DGUV - Deutsche Gesetzliche Unfallversicherung, 2018. Todesfälle infolge einer Berufskrankheit in der gesetzlichen Unfallversicherung in Deutschland von 2005 bis 2017. [Online]

Available at: <https://de.statista.com/statistik/daten/studie/38217/umfrage/todesfaelle-infolge-einer-berufskrankheit-in-der-gesetzlichen-unfallversicherung/>
[Zugriff am 10 07 2019].

Europäischer Rat und Europäisches Parlament, 2008. Verordnung (EG) Nr. 1272/2008. [Online]

Available at: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/DE/TXT/?uri=celex%3A32008R1272>
[Zugriff am 26 07 2019].

Europäischer Rat und Europäisches Parlament, 2009. Verordnung (EG) Nr. 761/2009.
[Online]
Available at: <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2009:220:0001:0094:de:PDF>
[Zugriff am 26 08 2019].

Europäischer Rat und Europäisches Parlament, 2009. Verordnung (EG) Nr. 761/2009.
[Online]
Available at: <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2009:220:0001:0094:de:PDF>
[Zugriff am 03 09 2019].

Greim Helmut, Utell Mark J., Maxim Daniel L., Niebo Ron, 2014. Perspectives on refractory ceramic fiber (RCF) carcinogenicity: comparisons with other fibers. *Inhalation Toxicology* - 26(13), 29 November, pp. 789-810.

Herr Roland, 2010. Gefahrstoff Asbest, Bonn: Bundesinstitut für Bau-, Stadt- und Raumforschung (BBSR) im Bundesamt für Bauwesen und Raumordnung (BBR).

Kroker, 2012. Welt: Der getarnte Killer Asbest ist allgegenwärtig. [Online]
Available at: <https://www.welt.de/gesundheit/article106291129/Der-getarnte-Killer-Asbest-ist-allgegenwaertig.html>
[Zugriff am 05 07 2019].

Krombach Fritz, Munzing Silvia, Allmeling Anne-Marie, Gerlach J. Tilman, Behr Jürgen, Dörger Martina, 1997. Cell Size of Alveolar Macrophages: An Interspecies Comparison. *Environmental Health Perspectives*, 09, pp. 1261-1263.

Kuchling, H., 2014. Taschenbuch der Physik. 21 Hrsg. München: Fachbuchverlag Leipzig im Carl Hanser Verlag.

Mittmann Michaela, Berger Hendrik, Neis Oliver, Buchter Axel, 2008. Arbeitsmedizinisches Fortbildungs-Symposium „Asbest: Eine Bilanz aus arbeitsmedizinischer Sicht“, Homburg: Institut und Poliklinik für Arbeitsmedizin der Universität des Saarlandes und Präventivmedizinisches Zentrum für arbeits- und umweltbedingte Erkrankungen.

Morgan A., Davis J. A., Mattson S. M., Morris K. J. , 1994. Effect of chemical composition on the solubility of glass fibres in vivo and in vitro. *Annals of Occupational Hygiene* Vol. 38, 01, pp. 609-617.

Morgan A., Holmes A., 1986. Solubility of Asbestos and Man-Made Mineral Fibers in Vitro and in Vivo: Its Significance in Lung Disease. *Environmental Research* Volume 39 - Issue 2, April, pp. 475-484.

Nguea Hermine Dika, de Reydellet Aymon, Lehuédé Patrice, de Méringo Alain, Robé Anne, Le Faou Alain, Rihn Bertrand H., 2008. A new in vitro cellular system for the analysis of mineral fiber biopersistence. Archives of toxicology 82(7), 07, pp. 435-443.

Papula, L., 2014. Mathematische Formelsammlung. 11 Hrsg. Wiesbaden, Deutschland: Springer Vieweg.

Searl Alison, 1994. A Review of the durability of inhaled fibres and options for the design of safer fibres. The Annals of Occupational Hygiene, 6 December, pp. 839-855.

Statistisches Bundesamt; Bundesverband Glasindustrie , 2018. Produktionsmenge von Mineralfasern in Deutschland in den Jahren 2009 bis 2017 (in 1.000 Tonnen). [Online] Available at: <https://de.statista.com/statistik/daten/studie/368581/umfrage/produktionsmenge-von-mineralfasern-in-deutschland/> [Zugriff am 12 07 2019].

Stroh Katharina, Axmann Michael, Fromme Hermann, 2018. Künstliche Mineralfasern. [Online] Available at: https://www.lfu.bayern.de/buerger/doc/uw_32_kuenstliche_mineralfasern.pdf [Zugriff am 03 07 2019].

Stroh Katharina, A. M., 2018. Bayerisches Landesamt für Umwelt, UmweltWissen-Abfall Asbest. [Online] Available at: https://www.lfu.bayern.de/buerger/doc/uw_9_asbest.pdf [Zugriff am 04 07 2019].

Thelohan Sylvie , de Meringo Alain , 1994. In vitro dynamic solubility test: influence of various parameters. Environ Health Perspectives, 10, pp. 91-96.

Umweltbundesamt, 2016. Asbesthaltige Abfälle. [Online] Available at: <https://www.umweltbundesamt.de/themen/abfall-ressourcen/abfallwirtschaft/abfallarten/gefaehrliche-abfaelle/asbesthaltige-abfaelle> [Zugriff am 04 07 2019].

Universitätsmedizin Rostock, kein Datum Elektronenmikroskopisches Zentrum (EMZ) Arbeitsbereich Medizinische Biologie. [Online] Available at: <https://emz.med.uni-rostock.de/ausstattung/praeparation-rem> [Zugriff am 03 07 2019].

Ursini Cincia L., Campopiano Antonella, Fresegna Anna M., Ciervo Aureliano, Cannizzaro Annapaola, Angelosanto Federica, Maiello Raffaele, Lavicoli Sergio, Cavallo Delia, 2019. Alkaline earth silicate (AES) wools: Evaluation of potential cyto-genotoxic and inflammatory effects on human respiratory cells. Toxicology in Vitro - Volume 59, 09, pp. 228-237.

Utell Mark J., Maxim Daniel L., 2010. Refractory ceramic fiber (RCF) toxicity and epidemiology: A review. *Inhalation Toxicology* - 22(6), May, pp. 500-521.

VDI 3492:2013-06, 2013. Messen von Innenraumlufiverunreinigungen - Messen von Immissionen - Messen anorganischer faserförmiger Partikel - Rasterelektronenmikroskopisches Verfahren. Düsseldorf: VDI Verein Deutscher Ingenieure e.V..

Westhoff Andrea, 2016. Deutschlandfunk. [Online]
Available at: https://www.deutschlandfunk.de/arzt-paracelsus-zwischen-wissenschaft-und-allmachtsfantasien.871.de.html?dram:article_id=366667
[Zugriff am 02 09 2019].

Zoitos Bruce K., De Meringo Alain, Rouyer Elisabeth, Thelohan Sylvie, Bauer Jon, Law Bruce, Boymel Paul M., Olson James R., Christensen Vermund R., Guldborg Marianne, Koenig Alan R., Perander Michael, 1997. In vitro measurement of fiber dissolution rate relevant to biopersistence at neutral pH: an interlaboratory round robin. *Inhalation Toxicology - International Forum for Respiratory Research Volume 9 - Issue 6*, pp. 525-540.

VI. Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig verfasst und dabei keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel benutzt habe. Sämtliche Stellen der Arbeit, die im Wortlaut oder dem Sinn nach Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren entnommen sind, habe ich als solche kenntlich gemacht.

Ort, Datum, Unterschrift

VII. Anhang

Anhang 1: Signifikanzprüfung der Faserzahlentwicklung von Referenzmaterial A und Prüfmaterial B über einen Zeitraum von 42 Tagen

Zweistichproben t-Test unter der Annahme unterschiedlicher Varianzen		
Faserzahlen A 0 Tage und 42 Tage		
	A 0 Tage	A 42 Tage
Mittelwert	160,666667	179,666667
Varianz	1089,333333	1276,083333
Beobachtungen	3	3
Hypothetische Differenz der Mittelwerte	0	
Freiheitsgrade (df)	4	
t-Statistik	-0,67664426	
P(T<=t) einseitig	0,26787047	
Kritischer t-Wert bei einseitigem t-Test	2,13184679	
P(T<=t) zweiseitig	0,53574095	
Kritischer t-Wert bei zweiseitigem t-Test	2,77644511	

Zweistichproben t-Test unter der Annahme unterschiedlicher Varianzen		
Faserzahlen B 0 Tage und 42 Tage		
	B 0 Tage	B 42 Tage
Mittelwert	163,833333	68,666667
Varianz	356,083333	13,083333
Beobachtungen	3	3
Hypothetische Differenz der Mittelwerte	0	
Freiheitsgrade (df)	2	
t-Statistik	8,57895214	
P(T<=t) einseitig	0,00665823	
Kritischer t-Wert bei einseitigem t-Test	2,91998558	
P(T<=t) zweiseitig	0,01331645	
Kritischer t-Wert bei zweiseitigem t-Test	4,30265273	

Anhang 2: Zusammensetzung der von Cannizzaro et al. (2019) untersuchten Fasern (Cannizzaro et al., 2019)

	RCF	AES 1	AES2	PCW
SiO ₂	50–58	61–67	70–80	27
Al ₂ O ₃	42–50	< 1	–	≥72
Fe ₂ O ₃	–	< 0.6	–	–
MgO	–	2.5–6.5	> 18–27	–
CaO	–	27–33	–	–

Anhang 3: Signifikanzprüfung der Faserlänge und Faserdurchmesser (Referenzansatz A)

Zweistichproben t-Test unter der Annahme unterschiedlicher Varianzen		
Vergleich Länge A1 0 Tage und A1 42 Tage		
	A1_0	A1_42
Mittelwert	50,5525974	48,7270115
Varianz	1368,43872	1324,46811
Beobachtungen	154	174
Hypothetische Differenz der Mittelwerte	0	
Freiheitsgrade (df)	320	
t-Statistik	0,44945745	
P(T<=t) einseitig	0,32670298	
Kritischer t-Wert bei einseitigem t-Test	1,6496293	
P(T<=t) zweiseitig	0,65340597	
Kritischer t-Wert bei zweiseitigem t-Test	1,96740497	

Zweistichproben t-Test unter der Annahme unterschiedlicher Varianzen		
Vergleich Durchmesser A1 0 Tage und A1 42 Tage		
	A1_0	A1_42
Mittelwert	1,54415584	1,4862069
Varianz	0,49084798	0,28766992
Beobachtungen	154	174
Hypothetische Differenz der Mittelwerte	0	
Freiheitsgrade (df)	285	
t-Statistik	0,83290594	
P(T<=t) einseitig	0,20279761	
Kritischer t-Wert bei einseitigem t-Test	1,65021771	
P(T<=t) zweiseitig	0,40559521	
Kritischer t-Wert bei zweiseitigem t-Test	1,9683226	

Zweistichproben t-Test unter der Annahme unterschiedlicher Varianzen		
Vergleich Länge A2 0 Tage und A2 42 Tage		
	A2_0	A2_42
Mittelwert	31,6620192	45,358427
Varianz	455,954637	1218,39003
Beobachtungen	208	267
Hypothetische Differenz der Mittelwerte	0	
Freiheitsgrade (df)	450	
t-Statistik	-5,26966258	
P(T<=t) einseitig	1,0622E-07	
Kritischer t-Wert bei einseitigem t-Test	1,6482468	
P(T<=t) zweiseitig	2,1244E-07	
Kritischer t-Wert bei zweiseitigem t-Test	1,96524966	

Zweistichproben t-Test unter der Annahme unterschiedlicher Varianzen		
Vergleich Durchmesser A2 0 Tage und A2 42 Tage		
	A2_0	A2_42
Mittelwert	1,40961538	1,62097378
Varianz	0,37604236	0,42594942
Beobachtungen	208	267
Hypothetische Differenz der Mittelwerte	0	
Freiheitsgrade (df)	457	
t-Statistik	-3,62305557	
P(T<=t) einseitig	0,0001619	
Kritischer t-Wert bei einseitigem t-Test	1,64819472	
P(T<=t) zweiseitig	0,0003238	
Kritischer t-Wert bei zweiseitigem t-Test	1,96516849	

Zweistichproben t-Test unter der Annahme unterschiedlicher Varianzen		
Vergleich Länge A3 0 Tage und A3 42 Tage		
	A3_0	A3_42
Mittelwert	33,1755869	44,0199187
Varianz	508,455628	919,443806
Beobachtungen	213	246
Hypothetische Differenz der Mittelwerte	0	
Freiheitsgrade (df)	447	
t-Statistik	-4,38188191	
P(T<=t) einseitig	7,3387E-06	
Kritischer t-Wert bei einseitigem t-Test	1,64826963	
P(T<=t) zweiseitig	1,4677E-05	
Kritischer t-Wert bei zweiseitigem t-Test	1,96528523	

Zweistichproben t-Test unter der Annahme unterschiedlicher Varianzen		
Vergleich Durchmesser A3 0 Tage und A3 42 Tage		
	A3_0	A3_42
Mittelwert	1,39624413	1,54796748
Varianz	0,38885375	0,40879177
Beobachtungen	213	246
Hypothetische Differenz der Mittelwerte	0	
Freiheitsgrade (df)	451	
t-Statistik	-2,5692363	
P(T<=t) einseitig	0,00525636	
Kritischer t-Wert bei einseitigem t-Test	1,64823927	
P(T<=t) zweiseitig	0,01051272	
Kritischer t-Wert bei zweiseitigem t-Test	1,96523791	

Anhang 4: Signifikanzprüfung der Faserlänge und Faserdurchmesser (Prüfansatz B)

Zweistichproben t-Test unter der Annahme unterschiedlicher Varianzen		
Vergleich Länge B1 0 Tage und B1 42 Tage		
	B1_0	B1_42
Mittelwert	19,9840237	22,0705882
Varianz	198,943255	182,043768
Beobachtungen	169	85
Hypothetische Differenz der Mittelwerte	0	
Freiheitsgrade (df)	175	
t-Statistik	-1,14534594	
P(T<=t) einseitig	0,12681489	
Kritischer t-Wert bei einseitigem t-Test	1,65360744	
P(T<=t) zweiseitig	0,25362979	
Kritischer t-Wert bei zweiseitigem t-Test	1,97361246	

Zweistichproben t-Test unter der Annahme unterschiedlicher Varianzen		
Vergleich Durchmesser B1 0 Tage und B2 42 Tage		
	B1_0	B1_42
Mittelwert	1,70650888	1,68941176
Varianz	0,392755	0,30048179
Beobachtungen	169	85
Hypothetische Differenz der Mittelwerte	0	
Freiheitsgrade (df)	190	
t-Statistik	0,22336146	
P(T<=t) einseitig	0,41174708	
Kritischer t-Wert bei einseitigem t-Test	1,65291295	
P(T<=t) zweiseitig	0,82349416	
Kritischer t-Wert bei zweiseitigem t-Test	1,97252818	

Zweistichproben t-Test unter der Annahme unterschiedlicher Varianzen		
Vergleich Länge B2 0 Tage und 42 Tage		
	B2_0	B2_42
Mittelwert	18,4017442	19,8464286
Varianz	191,089529	174,412638
Beobachtungen	172	84
Hypothetische Differenz der Mittelwerte	0	
Freiheitsgrade (df)	172	
t-Statistik	-0,80920712	
P(T<=t) einseitig	0,209757	
Kritischer t-Wert bei einseitigem t-Test	1,65376095	
P(T<=t) zweiseitig	0,41951399	
Kritischer t-Wert bei zweiseitigem t-Test	1,97385217	

Zweistichproben t-Test unter der Annahme unterschiedlicher Varianzen		
Vergleich Durchmesser B2 0 Tage und 42 Tage		
	B2_0	B2_42
Mittelwert	1,74302326	1,79285714
Varianz	0,35123759	0,37946644
Beobachtungen	172	84
Hypothetische Differenz der Mittelwerte	0	
Freiheitsgrade (df)	159	
t-Statistik	-0,6153018	
P(T<=t) einseitig	0,26961755	
Kritischer t-Wert bei einseitigem t-Test	1,6544935	
P(T<=t) zweiseitig	0,5392351	
Kritischer t-Wert bei zweiseitigem t-Test	1,97499621	

Zweistichproben t-Test unter der Annahme unterschiedlicher Varianzen		
Vergleich Länge B3 0 Tage und 42 Tage		
	B3_0	B3_42
Mittelwert	17,3019608	23,8133333
Varianz	212,166203	174,926306
Beobachtungen	204	75
Hypothetische Differenz der Mittelwerte	0	
Freiheitsgrade (df)	144	
t-Statistik	-3,54571821	
P(T<=t) einseitig	0,00026432	
Kritischer t-Wert bei einseitigem t-Test	1,65550418	
P(T<=t) zweiseitig	0,00052865	
Kritischer t-Wert bei zweiseitigem t-Test	1,97657507	

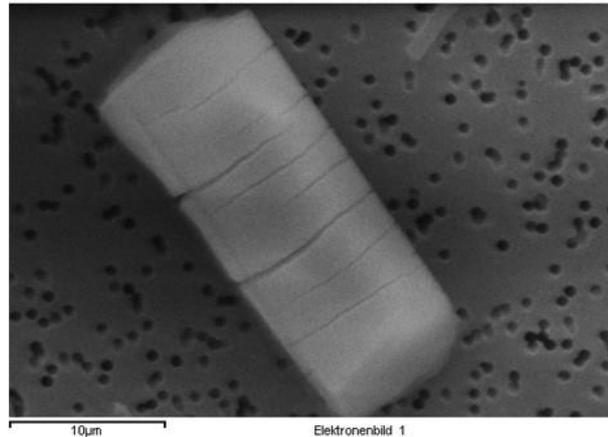
Zweistichproben t-Test unter der Annahme unterschiedlicher Varianzen		
Vergleich Durchmesser B3 0 Tage und B3 42 Tage		
	B3_0	B3_42
Mittelwert	1,62352941	2,00533333
Varianz	0,38643871	0,29726847
Beobachtungen	204	75
Hypothetische Differenz der Mittelwerte	0	
Freiheitsgrade (df)	149	
t-Statistik	-4,98849901	
P(T<=t) einseitig	8,3711E-07	
Kritischer t-Wert bei einseitigem t-Test	1,65514453	
P(T<=t) zweiseitig	1,6742E-06	
Kritischer t-Wert bei zweiseitigem t-Test	1,97601318	

Anhang 5: EDX-Elementbestimmung 1 von Prüfmaterial B Ansatz 1 (28 Tage)

Standard:

O	SiO ₂	1-Jun-1999 12:00 AM
Al	Al ₂ O ₃	1-Jun-1999 12:00 AM
Si	SiO ₂	1-Jun-1999 12:00 AM
K	MAD-10 Feldspar	1-Jun-1999 12:00 AM
Ca	Wollastonite	1-Jun-1999 12:00 AM
Au	Au	1-Jun-1999 12:00 AM

Element	Massen%	Atom%
O	51.71	71.03
Al	1.49	1.22
Si	32.32	25.29
K	0.65	0.36
Ca	1.27	0.70
Au	12.55	1.40
Insgesamt	100.00	

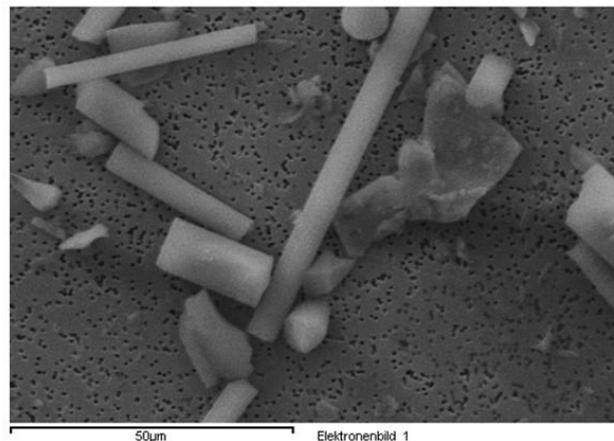


Anhang 6: EDX-Elementbestimmung 2 von Prüfmaterial B Ansatz 1 (28 Tage)

Standard:

O	SiO ₂	1-Jun-1999 12:00 AM
Al	Al ₂ O ₃	1-Jun-1999 12:00 AM
Si	SiO ₂	1-Jun-1999 12:00 AM
K	MAD-10 Feldspar	1-Jun-1999 12:00 AM
Ca	Wollastonite	1-Jun-1999 12:00 AM
Au	Au	1-Jun-1999 12:00 AM

Element	Massen%	Atom%
O	48.91	72.10
Al	1.68	1.47
Si	27.60	23.18
K	0.65	0.39
Ca	0.69	0.40
Au	20.47	2.45
Insgesamt	100.00	



Anhang 7: EDX-Elementbestimmung 3 von Prüfmaterial B Ansatz 1 (28 Tage)

Standard :

O	SiO ₂	1-Jun-1999 12:00 AM
Al	Al ₂ O ₃	1-Jun-1999 12:00 AM
Si	SiO ₂	1-Jun-1999 12:00 AM
K	MAD-10 Feldspar	1-Jun-1999 12:00 AM
Au	Au	1-Jun-1999 12:00 AM

Element	Massen%	Atom%
O	47.71	71.18
Al	1.38	1.23
Si	28.86	24.52
K	0.81	0.49
Au	21.24	2.57
Insgesamt	100.00	

