

UMWELT & GESUNDHEIT

10/2015

Pretest des 5. Umwelt-Surveys

Teilvorhaben 2: HBM-Analytik

UMWELT & GESUNDHEIT 10/2015

Umweltforschungsplan des
Bundesministeriums für Umwelt,
Naturschutz, Bau und Reaktorsicherheit

Forschungskennzahl 3712 62 200 2
UBA-FB 001986

Pretest des 5. Umwelt-Surveys Teilvorhaben 2: HBM-Analytik

von

Dr. rer. nat. Holger Martin Koch
Institut für Prävention und Arbeitsmedizin der Deutschen Gesetzlichen
Unfallversicherung Institut der Ruhr-Universität-Bochum (IPA), Bochum

Im Auftrag des Umweltbundesamtes

Impressum

Herausgeber:

Umweltbundesamt
Wörlitzer Platz 1
06844 Dessau-Roßlau
Tel: +49 340-2103-0
Fax: +49 340-2103-2285
info@umweltbundesamt.de
Internet: www.umweltbundesamt.de

 /umweltbundesamt.de

 /umweltbundesamt

Durchführung der Studie:

Institut für Prävention und Arbeitsmedizin der Deutschen Gesetzlichen
Unfallversicherung Institut der Ruhr-Universität-Bochum (IPA)
Bürkle-de-la-Camp-Platz 1
44789 Bochum

Abschlussdatum:

Juni 2014

Redaktion:

Fachgebiet II 1.2 Toxikologie, Gesundheitsbezogene Umweltbeobachtung
Ulrike Fiddicke

Publikationen als pdf:

<http://www.umweltbundesamt.de/publikationen/pretest-des-5-umwelt-surveys>

ISSN 1862-4340

Dessau-Roßlau, Oktober 2015

Das diesem Bericht zu Grunde liegende Vorhaben wurde mit Mitteln des Bundesministeriums für Umwelt, Naturschutz, Bau und Reaktorsicherheit unter der Forschungskennzahl 3712 62 200 2 gefördert. Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt bei den Autorinnen und Autoren.

Kurzbeschreibung

Der Pretest des 5. Umwelt-Surveys Teilvorhaben 2 - Human-Biomonitoring Analytik dient zur Vorbereitung des 5. Umwelt-Surveys. Es wurden 52 Urinproben auf verschiedene Umweltkontaminanten bzw. Bezugsparameter (Kreatinin) analysiert. Neben dem Kreatiningehalt wurden 1OH-Pyren, N-Methylpyrrolidon und N-Ethylpyrrolidon-Metabolite, Cotinin und 2-Mercaptothiobenzol bestimmt. Die Konzentrationen von verschiedenen Phthalat-Metaboliten und Metaboliten von Phthalatersatzprodukten wurden ebenfalls analysiert. Zudem wurden Parabene und umweltrelevante Phenole, Organophosphate, Quecksilber, Cadmium, Arsen untersucht.

Abstract

The Pretest for the 5th Environmental-Survey - Part 2: HBM-Analyses was conducted in preparation of the 5th Environmental Survey. Different environmental contaminants and descriptive urinary parameters (creatinine) were analysed in 52 urine samples. Besides creatinine, concentrations 1OH-pyrene, *N*-methylpyrrolidone and *N*-ethylpyrrolidone metabolites, cotinine, 2-mercaptothiobenzene were determined. Further different phthalate metabolites and metabolites of substitution products were analysed. In addition, the concentration of different parabens and environmental relevant phenols, organophosphates, mercury, cadmium and arsenic were determined.

Inhaltsverzeichnis

Abstract.....	3
Inhaltsverzeichnis	5
Tabellenverzeichnis.....	9
Abbildungsverzeichnis	13
Abkürzungen	15
Zusammenfassung	19
Summary.....	25
2 Einleitung.....	31
2.1 Internes Kontrollmaterial	31
2.2 Kenndaten zu Präzision und Wiederfindung	32
3 Arbeitspaket 4.1 Bestimmung von Kreatinin in Urin	39
3.1 Materialien und Methoden	39
3.2 Ergebnisse	39
4 Arbeitspaket 4.2 Bestimmung von Cotinin in Urin.....	41
4.1 Materialien und Methoden	41
4.2 Ergebnisse	41
4.2.1 Cotinin-Konzentrationen in den untersuchten Urinen.....	41
4.2.1 Interne Qualitätssicherung	42
5 Arbeitspaket 4.3 Bestimmung von Pyrrolidonen (NMP und NEP) im Urin.....	43
5.1 Materialien und Methoden	43
5.2 Ergebnisse.....	43
5.2.1 Konzentrationen der Metabolite 5-HNMP, 2-HMSI, 5-HNEP und 2-HESI in den untersuchten Urinen	43
5.2.2 Interne Qualitätssicherung	44
6 Arbeitspaket 4.4 Bestimmung von Phthalaten und den Phthalatersatzstoffen in Urin - Teilpaket 4.4.1 Phthalate	45
6.1 Materialien und Methoden	45
6.2 Ergebnisse.....	46
6.2.1 Konzentrationen der Phthalat-Metabolite in den untersuchten Urinen	46
Arbeitspaket 4.4 Bestimmung von Phthalaten und den Phthalatersatzstoffen im Urin - Teilpaket 4.4.2 DINCH	49
6.3 Materialien und Methoden	49
6.4 Ergebnisse.....	49
6.4.1 Konzentrationen der DINCH-Metabolite in den untersuchten Urinen	49

6.4.2	Interne Qualitätssicherung	50
7	Arbeitspaket 4.4 Bestimmung von Phthalaten und den Phthalatersatzstoffen im Urin - Teilpaket 4.4.3 DPHP.....	51
7.1	Materialien und Methoden	51
7.2	Ergebnisse	51
7.2.1	Konzentrationen der DPHP-Metabolite in den untersuchten Urinen	51
7.2.2	Interne Qualitätssicherung	52
8	Arbeitspaket 4.5 Bestimmung von Metaboliten von polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen (PAK) in Urin.....	53
8.1	Materialien und Methoden	53
8.2	Ergebnisse	54
8.2.1	Bestimmte Konzentrationen von 1-Hydroxypyren	54
8.2.2	Interne Qualitätssicherung von 1-Hydroxypyren	54
9	Arbeitspaket 4.6 Bestimmung von Quecksilber in Urin	55
9.1	Materialien und Methoden	55
9.2	Ergebnisse	55
9.2.1	Bestimmte Quecksilber-Konzentrationen	55
9.2.2	Interne Qualitätssicherung	56
10	Arbeitspaket 4.7 Bestimmung von Metallen (Cadmium, Cd) und Edelmetallen	57
10.1	Materialien und Methoden	57
10.2	Ergebnisse	57
10.2.1	Bestimmte Cadmium-Konzentrationen	57
10.2.2	Interne Qualitätssicherung	57
11	Arbeitspaket 4.8 Bestimmung von Arsen in Urin	59
11.1	Materialien und Methoden	59
11.2	Ergebnisse	62
11.2.1	Bestimmte Arsen-Konzentrationen.....	62
11.2.2	Interne Qualitätssicherung	62
12	Arbeitspaket 4.9 Bestimmung von Organophosphaten in Urin	63
12.1	Materialien und Methoden	63
12.2	Ergebnisse	63
12.2.1	Bestimmte Konzentrationen der Organophosphate in Urin.....	63
12.2.2	Interne Qualitätssicherung	64
13	Arbeitspaket 4.10 Bestimmung von Parabenen in Urin	65
13.1	Materialien und Methoden	65

13.2	Ergebnisse	65
13.2.1	Bestimmte Konzentrationen der Parabene in Urin	65
13.2.2	Interne Qualitätssicherung	66
14	Arbeitspaket 4.11 Bestimmung 2-Mercaptobenzothiazol in Urin	67
14.1	Materialien und Methoden	67
14.2	Ergebnisse	67
14.2.1	Bestimmte Konzentrationen von 2-Mercaptobenzothiazol	67
14.2.2	Interne Qualitätssicherung	68
15	Quellenverzeichnis	69

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1	Deskriptive statistische Kenngrößen zum Nachweis von 5-HNMP, 2-HMSI, 5-HNEP und 2-HESI in Urin bei 52 Probanden.	19
Tabelle 2	Untersuchte Phthalat-Metaboliten mit den jeweiligen Bestimmungsgrenzen.	20
Tabelle 3	Deskriptive statistische Kenngrößen zum Nachweis von MEHP, 5OH-MEHP, 5oxo-MEHP, cx-MEPP (sowie die Summe aus 5OH- und 5oxo-MEHP), MnBP, OH-MnBP, MCPP, MiBP, OH-MiBP, MBzP, MEP, MMP, OH-MiNP, oxo-MiNP, cx-MiNP, OH-MiDP, oxo-MiDP, cx-MiDP, MnPeP, MnOP und MCHP in Urin bei 52 Probanden.	20
Tabelle 4	Deskriptive statistische Kenngrößen zum Nachweis von OH-MINCH, oxo-MINCH und cx-MINCH in Urin bei 52 Probanden.	21
Tabelle 5	Deskriptive statistische Kenngrößen zum Nachweis von OH-MPHP, oxo-MPHP und cx-MPHxP in Urin bei 51 Probanden.	22
Tabelle 6	Deskriptive statistische Kenngrößen zum Nachweis von 1-OH-Pyren in Urin bei 52 Probanden.	22
Tabelle 7	Deskriptive statistische Kenngrößen zum Nachweis von DMP, DMTP, DMDTP, DEP, DETP und DEDTP in Urin bei 52 Probanden.	23
Tabelle 8	Deskriptive statistische Kenngrößen zum Nachweis von MeP, EtP, iPrP, nPrP, iBuP, nBuP, TCS und TCC in Urin bei 52 Probanden.	23
Tabelle 9	Kenndaten zur Präzision von Tag zu Tag und Präzision in Serie für die Bestimmung von Cotinin.	32
Tabelle 10	Kenndaten zur Wiederfindung für die Bestimmung von Cotinin.	32
Tabelle 11	Kenndaten zur Präzision von Tag zu Tag und Präzision in Serie für die Bestimmung von 5-HNMP, 2-HMSI, 5-HNEP und 2-HESI.	32
Tabelle 12	Kenndaten zur Wiederfindung für die Bestimmung von 5-HNMP, 2-HMSI, 5-HNEP und 2-HESI.	32
Tabelle 13	Kenndaten zur Präzision von Tag zu Tag und Präzision in Serie für die Bestimmung von Phthalat-Metaboliten.	33
Tabelle 14	Kenndaten zur Wiederfindung für die Bestimmung von Phthalat-Metaboliten.	33
Tabelle 15	Kenndaten zur Präzision von Tag zu Tag und Präzision in Serie für die Bestimmung von OH-MINCH und cx-MINCH.	34
Tabelle 16	Kenndaten zur Wiederfindung für die Bestimmung von OH-MINCH und cx-MINCH.	34
Tabelle 17	Kenndaten zur Präzision von Tag zu Tag und Präzision in Serie für die Bestimmung von 1OH-Pyren.	34
Tabelle 18	Kenndaten zur Wiederfindung für die Bestimmung von 1-OH-Pyren.	34
Tabelle 19	Kenndaten zur Präzision von Tag zu Tag und Präzision in Serie für die Bestimmung der Organophosphate DMP, DMTP, DMDTP, DEP, DETP und DEDTP.	35

Tabelle 20	Kenndaten zur Wiederfindung für die Bestimmung der Organophosphate DMP, DMTP, DMDTP, DEP, DETP und DEDTP.	36
Tabelle 21	Kenndaten zur Präzision von Tag zu Tag und Präzision in Serie für die Bestimmung der Parabene und umweltrelevanten Phenole.	36
Tabelle 22	Kenndaten zur Wiederfindung für die Bestimmung der Parabene und umweltrelevanten Phenole.	37
Tabelle 23	Kenndaten zur Präzision von Tag zu Tag und Präzision in Serie für die Bestimmung der DPHP-Metabolite.....	37
Tabelle 24	Kenndaten zur Wiederfindung für die Bestimmung der DPHP-Metabolite	37
Tabelle 25	Kenndaten zur Präzision von Tag zu Tag und Präzision in Serie für die Bestimmung von MBT	38
Tabelle 26	Kenndaten zur Wiederfindung für die Bestimmung von MBT	38
Tabelle 27	Kenndaten zur Präzision für die Bestimmung von As, Cd und Hg.....	38
Tabelle 28	Statistische Auswertung zur Kreatinin-Bestimmung.	39
Tabelle 29	Deskriptive statistische Kenngrößen zum Nachweis von Cotinin in Urin bei 52 Probanden.	41
Tabelle 30	Deskriptive statistische Kenngrößen zum Nachweis von 5-HNMP, 2-HMSI, 5-HNEP und 2-HESI in Urin bei 52 Probanden.	44
Tabelle 31	Daten zur internen Qualitätssicherung für die Analyten 5-HNMP, 2-HMSI, 5-HNEP und 2-HESI.	44
Tabelle 32	Übersicht über die Phthalat-Metaboliten und deren zugehörige Bestimmungsgrenzen.....	46
Tabelle 33	Deskriptive statistische Kenngrößen zum Nachweis von MEHP, 5OH-MEHP, 5oxo-MEHP, cx-MEPP (sowie die Summe aus 5OH- und 5oxo-MEHP), MnBP, OH-MnBP, MCPP, MiBP, OH-MiBP, MBzP, MEP, MMP, OH-MiNP, oxo-MiNP, cx-MiNP, OH-MiDP, oxo-MiDP, cx-MiDP, MnPeP, MnOP und MCHP in Urin bei 52 Probanden.	46
Tabelle 34	Daten zur internen Qualitätssicherung für die Analyten MEHP, 5OH-MEHP, 5oxo-MEHP, cx-MEPP, Analyten MnBP, OH-MnBP, MCPP, OH-MiBP, MBzP, MEP, MMP, OH-MiNP, oxo-MiNP, cx-MiNP, OH-MiDP, oxo-MiDP und cx-MiDP.	48
Tabelle 35	Deskriptive statistische Kenngrößen zum Nachweis von OH-MINCH, oxo-MINCH und cx-MINCH in Urin bei 52 Probanden.	49
Tabelle 36	Deskriptive statistische Kenngrößen zum Nachweis von OH-MPHP, oxo-MPHP und cx-MPHxP in Urin bei 51 Probanden.....	52
Tabelle 37	Deskriptive statistische Kenngrößen zum Nachweis von 1-OH-Pyren in Urin bei 52 Probanden.	54
Tabelle 38	Deskriptive statistische Kenngrößen zum Nachweis von Quecksilber in Urin bei 51 Probanden.	55

Tabelle 39	Deskriptive statistische Kenngrößen zum Nachweis von Cadmium in Urin bei 52 Probanden.	57
Tabelle 40	Bestimmte Arsen-Konzentrationen für 20 Urinproben des Kinder-Umweltsurveys aus den Jahren 2003-2006. Messungen aus den Jahren 2003-2006 mittels Batchverfahren mit einer Vorreduktion mit Kaliumiodid/Ascorbinsäure und Mittelwert der Messungen aus dem Jahr 2014 mittels Fließinjektionsverfahren mit einer Vorreduktion mit L-Cystein	60
Tabelle 41	Deskriptive statistische Kenngrößen zum Nachweis von Arsen in Urin bei 48 Probanden.	62
Tabelle 42	Deskriptive statistische Kenngrößen zum Nachweis von DMP, DMTP, DMDTP, DEP, DETP und DEDTP in Urin bei 52 Probanden.	63
Tabelle 43	Daten zur internen Qualitätssicherung der Organophosphate DMP, DMTP, DMDTP, DEP, DETP und DEDTP.	64
Tabelle 44	Deskriptive statistische Kenngrößen zum Nachweis von MeP, EtP, iPrP, nPrP, iBuP, nBuP, TCS und TCC in Urin bei 52 Probanden.	66
Tabelle 45	Daten zur internen Qualitätssicherung der Parabene MeP, EtP, iPrP, nPrP, iBuP, nBuP und der umweltrelevanten Phenole TCS und TCC.	66
Tabelle 46	Deskriptive statistische Kenngrößen zum Nachweis von 2-Mercaptobenzothiazol in Urin bei 52 Probanden.	67

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1	Auftragung der mittels Fließinjektionsverfahren mit einer Vorreduktion mit L-Cystein im Jahr 2014 gegen die mittels Batchverfahren mit einer Vorreduktion mit Kaliumiodid/Ascorbinsäure in den Jahren 2003-2006 gemessenen Arsenkonzentrationen im Urin	61
Abbildung 2	Auftragung der Differenz mittels Batchverfahren mit einer Vorreduktion mit Kaliumiodid/Ascorbinsäure in den Jahren 2003-2006 und mittels Fließinjektionsverfahren mit einer Vorreduktion mit L-Cystein im Jahr 2014 gemessenen Arsenkonzentrationen im Urin gegen die Mittelwerte beider Verfahren (Bland-Altman-Diagramm)	61

Abkürzungen

%	Prozent
°C	Grad Celsius
2-HESI	2-Hydroxy- <i>N</i> -ethylsuccinimid
2-HMSI	2-Hydroxy- <i>N</i> -methylsuccinimid
2-MBT	2-Mercaptobenzothiazol
5-HNEP	5-Hydroxy- <i>N</i> -ethyl-2-pyrrolidon
5-HNMP	5-Hydroxy- <i>N</i> -methyl-2-pyrrolidon
5OH-MEHP	5-Hydroxy-mono(2-ethylhexyl)-phthalat
5oxo-MEHP	5-Oxo-mono-(2-ethylhexyl)phthalat
μ	mikro
As	Arsen
BBzP	Butylbenzylphthalat
BW	Bereich der Wiederfindung
c	Konzentration
Cd	Cadmium
cx-MEPP	5-Carboxy-mono-(2-ethylhexyl)phthalat
cx-MiDP	Mono-carboxy-iso-nonylphthalat
cx-MINCH	Cyclohexan-1,2-dicarbonsäure-mono-carboxyisooctylester
cx-MiNP	Mono-carboxy-iso-octylphthalat
cx-MPHxP	Mono-2-(propyl-6-carboxyhexyl)-phthalat
DCHP	Dicyclohexylphthalat
DEDTP	Diethyldithiophosphat
DEP	Diethylphosphat
DETP	Diethylthiophosphat
DiBP	Di-iso-butylphthalat
DiDP	Di-iso-decylphthalat
DINCH	Di(isononyl)cyclohexan-1,2-dicarbonsäureester
DiNP	Di-iso-nonylphthalat
DMDTP	Dimethyldithiophosphat
DMP	Dimethylphosphat
DMTP	Dimethylthiophosphat
DnBP	Di-n-butylphthalat
DnOP	Di-n-octyl-phthalat

DnPeP	Di-n-pentylphthalat
DPHP	Di-(2-propylheptyl)-phthalat
EtP	Ethylparaben
g	Gramm
GC	Gaschromatographie
h	Stunde
HBM	Human-Biomonitoring
Hg	Quecksilber
HMA-HMDC	Hexamethylenammonium-hexamethylendithiocarbamidat
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HRMS	High Resolution Mass Spectrometry
iBuP	<i>iso</i> -Butylparaben
iPrP	<i>iso</i> -Propylparaben
L	Liter
LOQ	Limit of Quantification
m	milli
m	Meter
M	mol
MBzP	Mono-butylbenzylphthalat
MCHP	Mono-cyclohexylphthalat
MCPP	Mono-3-carboxy-n-propylphthalat
MEHP	Mono-(2-ethylhexyl)phthalat
MeP	Methylparaben
MiBP	Mono-iso-butylphthalat
min	Minute
MMP	Mono-methylphthalat
MnBP	Mono-n-butylphthalat
MnOP	Mono-n-octylphthalat
MnPeP	Mono-n-pentylphthalat
MRM	multiple reaction monitoring
MS	Massenspektrometer
MRW	Mittlere relative Wiederfindung
n	nano
<i>n</i>	Anzahl
nBuP	<i>n</i> -Butylparaben

NEP	<i>N</i> -Ethyl-2-pyrrolidon
NMP	<i>N</i> -Methyl-2-pyrrolidon
nPrP	<i>n</i> -Propylparaben
OH	Hydroxy
OH-MiBP	Mono-hydroxy-iso-butylphthalat
OH-MiDP	Mono-hydroxy-iso-decylphthalat
OH-MINCH	Cyclohexan-1,2-dicarbonsäure-mono-hydroxyisononylester
OH-MiNP	Mono-hydroxy-iso-nonylphthalat
OH-MnBP	Mono-hydroxy- <i>n</i> -butylphthalat
OH-MPHP	Mono-2-(propyl-6-hydroxyheptyl)-phthalat
oxo-MiDP	Mono-oxo-iso-decylphthalat
oxo-MINCH	Cyclohexan-1,2-dicarbonsäure-mono-oxoisononylester
oxo-MiNP	Mono-oxo-iso-nonylphthalat
oxo-MPHP	und Mono-2-(propyl-6-oxoheptyl)-phthalat
PAK	Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe
rpm	revolutions per minute
s	Sekunde
TCC	Triclocarban
TCS	Triclosan

Zusammenfassung

Der Pretest des 5. Umwelt-Surveys Teilvorhaben 2 - Human-Biomonitoring Analytik dient zur Vorbereitung des 5. Umwelt-Surveys. Neben einigen bereits in vorhergehenden Umwelt-Surveys untersuchten Stoffen/Stoffgruppen kommen auch die im Rahmen des BMU/VCI-Kooperationsprojektes zum Human-Biomonitoring entwickelten Nachweismethoden für „neue“ Umweltkontaminanten (Pyrrolidone, DINCH, DPHP, 2-MBT) erstmals zum Einsatz. Es wurden 52 Urinproben untersucht.

Kreatinin

Kreatinin wurde mithilfe der Jaffé-Methode bestimmt. In 15 Proben konnte kein Kreatinin nachgewiesen werden. Die Kreatinin-Konzentrationen der verbleibenden 37 Proben liegen zwischen 441 mg/L und 3562 mg/L.

Cotinin

Cotinin als Marker einer Tabakrauchexposition wurde mittels HPLC-MS/MS bestimmt. Die Bestimmungsgrenze (LOQ) liegt bei 0,03 µg/L. Insgesamt wiesen 37 Proben Konzentrationen über der Bestimmungsgrenze auf. Die Konzentrationen der Proben liegen zwischen 0,02¹ µg/L (LOQ/2) und 943,24 µg/L. Der Mittelwert beträgt 26,40 µg/L und der Median 0,63 µg/L. Die Varianz der Cotinin-Konzentrationen ist 18292,77 µg/L und das 90. Perzentil 8,55 µg/L.

Pyrrolidone

Die Metabolite der Pyrrolidone (industrielle Lösungsmittel) *N*-Methyl-2-pyrrolidon (NMP) und *N*-Ethyl-2-pyrrolidon (NEP) 5-Hydroxy-*N*-methylpyrrolidon (5-HNMP) und 2-Hydroxy-*N*-methylsuccinimid (2-HMSI) sowie 5-Hydroxy-*N*-ethylpyrrolidon (5-HNEP) und 2-Hydroxy-*N*-ethylsuccinimid (2-HESI) wurden mittels GC-MS/MS analysiert. Die Bestimmungsgrenzen liegen bei 0,002 mg/L für 2-HMSI und 2-HESI sowie 0,003² mg/L für 5-HNMP und 5-HNEP. Die Probenaufarbeitung erfolgte mittels SPE mit anschließender Derivatisierung der Analyten.

Tabelle 1 Deskriptive statistische Kenngrößen zum Nachweis von 5-HNMP, 2-HMSI, 5-HNEP und 2-HESI in Urin bei 52 Probanden.

	5-HNMP [mg/L]	2-HMSI [mg/L]	5-HNEP [mg/L]	2-HESI [mg/L]
<i>n</i> > LOQ	37	36	12	36
Wertebereich	0,0012*-0,323	0,001*-0,188	0,0012*-0,418	0,001*-0,164
Mittelwert	0,070	0,046	0,019	0,020
Median	0,049	0,039	0,0012	0,006
Varianz	0,007	0,002	0,004	0,001
90. Perzentil	0,213	0,103	0,019	0,073

*LOQ/2

¹Der Wert ergibt sich aus der Bestimmungsgrenze: LOQ/2 = 0,015 µg/L, gerundet ergibt sich ein Wert von 0,02 µg/L.

² Die Bestimmungsgrenze liegt bei 0,0025 mg/L, woraus sich ein Wert von LOQ/2 von 0,00125 mg/L (gerundet 0,001 mg/L) ergibt.

Phthalate

Die Konzentrationen der Metaboliten folgender Phthalate (Kunststoff-Weichmacher) wurden mittels HPLC-MS/MS bestimmt: Di-(2-ethylhexyl)-phthalat (DEHP), Di-*n*-butylphthalat (DnBP), Di-*iso*-butylphthalat (DiBP), Butylbenzylphthalat (BBzP), Diethylphthalat (DEP), Di-*iso*-nonylphthalat (DiNP), Di-*iso*-decylphthalat (DiDP), Dimethylphthalat (DMP), Di-*n*-pentylphthalat (DnPeP), Di-*n*-octyl-phthalat (DnOP) und Dicyclohexylphthalat (DChP). Die untersuchten Metabolite mit zugehörigen Bestimmungsgrenzen sind in Tabelle 2 angegeben.

Tabelle 2 Untersuchte Phthalat-Metaboliten mit den jeweiligen Bestimmungsgrenzen.

Phthalat	Metabolite	Bestimmungsgrenzen [$\mu\text{g/L}$]
DEHP (Di-(2-ethylhexyl)-phthalat)	MEHP, 5OH-MEHP, 5oxo-MEHP, cx-MEPP	MEHP: 0,5 Alle anderen: 0,2
DnBP (Di- <i>n</i> -butylphthalat)	MnBP, OH-MnBP, MCPP	MnBP: 1,0; OH-MnBP: 0,3; MCPP: 0,5
DiBP (Di- <i>iso</i> -butylphthalat)	MiBP, OH-MiBP	MiBP: 1,0; OH-MiBP: 0,3
BBzP (Butylbenzylphthalat)	MBzP	0,2
DEP (Diethylphthalat)	MEP	0,5
DiNP (Di- <i>iso</i> -nonylphthalat)	OH-MiNP, oxo-MiNP, cx-MiNP	0,2
DiDP (Di- <i>iso</i> -decylphthalat)	OH-MiDP, oxo-MiDP, cx-MiDP	0,2
DMP (Dimethylphthalat)	MMP	1,0
DnPeP (Di- <i>n</i> -pentylphthalat)	MnPeP	0,2
DnOP (Di- <i>n</i> -octylphthalat)	MnOP	0,2
DChP (Dicyclohexylphthalat)	MCHP	0,2

Tabelle 3 Deskriptive statistische Kenngrößen zum Nachweis von MEHP, 5OH-MEHP, 5oxo-MEHP, cx-MEPP (sowie die Summe aus 5OH- und 5oxo-MEHP), MnBP, OH-MnBP, MCPP, MiBP, OH-MiBP, MBzP, MEP, MMP, OH-MiNP, oxo-MiNP, cx-MiNP, OH-MiDP, oxo-MiDP, cx-MiDP, MnPeP, MnOP und MCHP in Urin bei 52 Probanden.

	<i>n</i> > LOQ	Werte- bereich	Mittel- wert	Median	Varianz	90. Perzentil
MEHP [$\mu\text{g/L}$]	36	0,3*-20,1	2,8	1,5	17,1	6,1
5OH-MEHP [$\mu\text{g/L}$]	37	0,1*-82,6	12,6	9,6	233,3	26,2
5oxo-MEHP [$\mu\text{g/L}$]	37	0,1*-77,8	10,5	7,5	172,2	22,4
cx-MEPP [$\mu\text{g/L}$]	37	0,1*-55,4	12,9	9,6	184,2	32,6
Summe aus 5OH- und 5oxo-MEHP [$\mu\text{g/L}$]		0,2** -160,4	23,6	16,6	805	48,9
MnBP [$\mu\text{g/L}$]	37	0,5*-229,3	40,8	32,4	2230,9	96,7
OH-MnBP [$\mu\text{g/L}$]	37	0,1*-22,8	3	1,2	22,4	5,9
MCPP [$\mu\text{g/L}$]	33	0,3*-10,2	1,3	0,7	3,3	3,1
MiBP [$\mu\text{g/L}$]	36	0,5*-129,5	36,4	34	1176,1	89,1
OH-MiBP [$\mu\text{g/L}$]	37	0,1*-80,5	12,9	10,3	222,2	30,3
MBzP [$\mu\text{g/L}$]	37	0,1*-31,5	5,6	3,7	53,4	12,2
MEP [$\mu\text{g/L}$]	37	0,3*-749,4	59,7	18,5	19807,3	117
MMP [$\mu\text{g/L}$]	36	0,5*-72,8	11,5	8,7	196,1	26,3
OH-MiNP [$\mu\text{g/L}$]	37	0,1*-82,8	8,2	4,5	174,5	17,2

	n > LOQ	Werte- bereich	Mittel- wert	Median	Varianz	90. Perzentil
oxo-MiNP [$\mu\text{g/L}$]	37	0,1*-36,0	4,1	2,4	42,1	7,7
cx-MiNP [$\mu\text{g/L}$]	37	0,1*-46,7	6,4	4,1	92,1	9,9
OH-MiDP [$\mu\text{g/L}$]	36	0,1*-15,2	2,3	1,4	9,5	5,9
oxo-MiDP [$\mu\text{g/L}$]	32	0,1*-4,3	0,7	0,4	0,7	1,5
cx-MiDP [$\mu\text{g/L}$]	37	0,1*-41,4	1,9	0,8	31,7	2,8
MnPeP [$\mu\text{g/L}$]	0	0,1*	0,1	0,1	0	0,1
MnOP [$\mu\text{g/L}$]	0	0,1*	0,1	0,1	0	0,1
MCHP [$\mu\text{g/L}$]	1	0,1*-1,5	0,1	0,1	0	0,1

*LOQ/2

**ergibt sich aus der Addition von zwei LOQ/2-Werten

Für keine der untersuchten Proben lag die Summe aus 5OH- und 5oxo-MEHP über dem HBM I Wert von 500 $\mu\text{g/L}$ (für Kinder, 6-13 Jahre) sowie dem Referenzwert (RV95) von 370 $\mu\text{g/L}$ (5oxo-MEHP: 150 $\mu\text{g/L}$ plus 5OH-MEHP: 220 $\mu\text{g/L}$).

DINCH

Die spezifischen DINCH-Metabolite (DINCH ist ein Phthalat-Substitut) OH-MINCH, oxo-MINCH und cx-MINCH wurden in den Urinproben mittels HPLC-MS/MS analysiert. Dabei erfolgte die Analyse von oxo-MINCH nur semi-quantitativ. Die Bestimmungsgrenzen liegen für alle drei Metabolite bei 0,050 $\mu\text{g/L}$.

Tabelle 4 Deskriptive statistische Kenngrößen zum Nachweis von OH-MINCH, oxo-MINCH und cx-MINCH in Urin bei 52 Probanden.

	OH-MINCH [$\mu\text{g/L}$]	oxo-MINCH [$\mu\text{g/L}$]	cx-MINCH [$\mu\text{g/L}$]
n > LOQ	37	37	37
Wertebereich	0,025*-12,900	0,025*-6,296	0,025*-6,300
Mittelwert	2,401	1,085	1,242
Median	1,390	0,579	0,813
Varianz	9,512	1,085	2,214
90. Perzentil	5,769	2,684	3,651

*LOQ/2

DPHP

In 51 Urinproben aus dem Pretest zum 5. Umwelt-Survey wurden die Konzentrationen der DPHP-Metabolite (DPHP als nicht anti-androgenes Phthalat) OH-MPHP, oxo-MPHP und cx-MPHxP bestimmt. Die Analytik erfolgte mittels GC-HRMS, die Bestimmungsgrenzen lagen bei 0,300 $\mu\text{g/L}$ für OH-MPHP, 0,250 $\mu\text{g/L}$ für oxo-MPHP und 0,150 $\mu\text{g/L}$ für cx-MPHxP.

Tabelle 5 Deskriptive statistische Kenngrößen zum Nachweis von OH-MPHP, oxo-MPHP und cx-MPHxP in Urin bei 51 Probanden.

	OH-MPHP [$\mu\text{g/L}$]	oxo-MPHP [$\mu\text{g/L}$]	cx-MPHxP [$\mu\text{g/L}$]
<i>n</i> > LOQ	20	17	0
Wertebereich	0,150*-3,814	0,125*-3,269	0,075*
Mittelwert	0,507	0,404	0,075
Median	0,150	0,125	0,075
Varianz	0,529	0,381	0,000
90. Perzentil	1,113	0,921	0,075

*LOQ/2

Für den Analyten cx-MPHxP wurden ausschließlich Konzentrationen unterhalb der Bestimmungsgrenze erhalten.

PAK

Die Konzentration von 1-Hydroxypyren (1-OH-Pyren) wurde für 52 Urinproben bestimmt. Insgesamt wurden für 37 Proben Konzentrationswerte über der Bestimmungsgrenze von 0,02 $\mu\text{g/L}$ ermittelt. Die Analytik erfolgte mittels HPLC mit fluorimetrischer Detektion.

Tabelle 6 Deskriptive statistische Kenngrößen zum Nachweis von 1-OH-Pyren in Urin bei 52 Probanden.

	1-OH-Pyren [$\mu\text{g/L}$]
<i>n</i> > LOQ	37
LOQ	0,02
Wertebereich	0,01*-0,56
Mittelwert	0,12
Median	0,10
Varianz	0,01
90. Perzentil	0,21

*LOQ/2

Quecksilber

Es wurde die Quecksilberkonzentration von 51 Urinproben mittels Kaltdampf-Atomabsorptionsspektrometrie bestimmt. Für 25 Proben wurden Konzentrationen über der Bestimmungsgrenze (0,10 $\mu\text{g/L}$) erhalten. Der Konzentrationsbereich liegt zwischen 0,05 $\mu\text{g/L}$ (LOQ/2) und 0,56 $\mu\text{g/L}$ mit einem Mittelwert von 0,15 $\mu\text{g/L}$ und einem Median von 0,05 $\mu\text{g/L}$; die Varianz liegt bei 0,02 $\mu\text{g/L}$.

Cadmium

Die Cadmium-Konzentrationen von 52 Urinproben wurden mittels flammenlosen Atomabsorptionsspektrometrie bestimmt. Die Bestimmungsgrenze liegt bei 0,05 $\mu\text{g/L}$. Es wurden für 27 Proben Konzentrationen über der Bestimmungsgrenze erhalten. Der Konzentrationsbereich liegt zwischen 0,03 $\mu\text{g/L}$ (LOQ/2) und 0,27 $\mu\text{g/L}$. Der Mittelwert aller bestimmten Konzentrationen beträgt 0,07 $\mu\text{g/L}$ und der Median 0,06 $\mu\text{g/L}$. Die Varianz der Konzentrationen liegt bei 0,00 $\mu\text{g/L}$ und das zugehörige 90. Perzentil bei 0,14 $\mu\text{g/L}$.

Arsen

In 48 Urinproben wurden die Arsen-Konzentrationen mittels Fließinjektions-Hybrid-Atomabsorptionsspektrometrie (Aufarbeitung mit L-Cystein) bestimmt. Diese lagen für 14 Proben unterhalb der Bestimmungsgrenze von 0,6 µg/L. Die 34 Proben mit Konzentrationen oberhalb der Bestimmungsgrenze weisen Konzentrationen von 0,87 µg/L bis 10,15 µg/L auf. Der Mittelwert der Arsen-Konzentrationen liegt bei 3,02 µg/L und der Median bei 2,71 µg/L. Die Varianz beträgt 7,0 µg/L.

Organophosphate

Die Konzentrationen der Organophosphat-Metaboliten DMP, DMTP und DMDTP sowie DEP, DETP und DEDTP (als Biomarker für Organophosphat-Pestizide) wurden in 52 Urinproben mittels GC-MS/MS bestimmt. Die Bestimmungsgrenze der Metabolite DMP, DMTP, DMDTP, DEP, DETP liegt bei 0,10 µg/L, die Bestimmungsgrenze von DEDTP liegt bei 0,010 µg/L.

Tabelle 7 Deskriptive statistische Kenngrößen zum Nachweis von DMP, DMTP, DMDTP, DEP, DETP und DEDTP in Urin bei 52 Probanden.

	DMP [µg/L]	DMTP [µg/L]	DMDTP [µg/L]	DEP [µg/L]	DETP [µg/L]	DEDTP [µg/L]
n > LOQ	36	37	16	37	35	13
Wertebereich	0,05*-20,14	0,05*-40,07	0,05*-1,62	0,05*-28,23	0,05*-17,38	0,005*-0,072
Mittelwert	4,15	6,09	0,14	4,33	1,63	0,011
Median	2,16	4,15	0,05	1,91	0,33	0,005
Varianz	28,57	71,35	0,07	39,29	9,71	0,000
90. Perzentil	13,42	16,93	0,20	9,79	5,24	0,026

*LOQ/2

Parabene und umweltrelevante Phenole

Die Parabene Methylparaben MeP, Ethylparaben EtP, iso-Propylparaben iPrP, n-Propylparaben nPrP, iso-Butylparaben iBuP und n-Butylparaben nBuP sowie die umweltrelevanten Phenole Triclosan TCS und Triclocarban TCC wurden in 52 Urinproben mittels HPLC-MS/MS bestimmt. Die Bestimmungsgrenzen der Parabene liegen bei 0,50 µg/L, die von TCS und TCC bei 1,00 µg/L. Die Ergebnisse sind in Tabelle 8 zusammengefasst.

Tabelle 8 Deskriptive statistische Kenngrößen zum Nachweis von MeP, EtP, iPrP, nPrP, iBuP, nBuP, TCS und TCC in Urin bei 52 Probanden.

	MeP [µg/L]	EtP [µg/L]	iPrP [µg/L]	nPrP [µg/L]	iBuP [µg/L]	nBuP [µg/L]	TCS [µg/L]	TCC [µg/L]
n > LOQ	34	28	1	23	1	3	11	0
Wertebereich der Konzentrationen	0,25*-6820,00	0,25*-459,00	0,25*-2,57	0,25*-3440,00	0,25*-0,50	0,25*-2,96	0,50*-39,90	0,50*
Mittelwert	187,24	15,93	0,29	73,43	0,25	0,33	2,55	0,50
Median	4,03	0,71	0,25	0,25	0,25	0,25	0,50	0,50
Varianz	928569,70	5207,50	0,10	236193,40	0,00	0,16	47,40	0,00
90. Perzentil	166,20	8,16	0,25	15,09	0,25	0,25	6,51	0,50

*LOQ/2

2-Mercaptobenzothiazol

Die Konzentrationen von 2-Mercaptobenzothiazol 2-MBT (Vulkanisationsbeschleuniger und Alterungsschutzmittel bei der Gummiherstellung) wurden mittels HPLC-MS/MS bestimmt. Die Bestimmungsgrenze liegt bei 1,20 µg/L. Insgesamt 10 Proben wiesen 2-MBT-Konzentrationen über der Bestimmungsgrenze auf. Der Wertebereich der Konzentrationen von 2-MBT reicht von 0,60 µg/L bis 5,95 µg/L mit einem Mittelwert von 0,98 µg/L und einem Median von 0,60 µg/L. Die Varianz beträgt 0,98 µg/L und das 90. Perzentil liegt bei 1,74 µg/L.

Summary

The Pretest for the 5th Environmental-Survey - Part 2: HBM-Analyses serves as preparation of the 5th Environmental-Survey. Besides compounds and compound classes which were already investigated during the last Environmental-Survey, "new" environmental contaminants were included for the first time, where novel analysis methods were developed for within the BMUB-VCI co-operation project. 52 urine samples were investigated in the pretest.

Creatinine

Creatinine contents of the samples were determined applying the Jaffé method. Fifteen samples showed no creatinine content. Concentrations of the other 37 samples were between 441 mg/L and 3562 mg/L.

Cotinine

Cotinine was determined via HPLC-MS/MS. The limit of quantification (LOQ) was at 0.03 µg/L. The concentration of cotinine in the samples ranges from 0.02³ µg/L (LOQ/2) to 943.24 µg/L including 37 samples with concentrations greater LOQ. The mean is 26.40 µg/L and the median 0.63 µg/L. The value of the variance is 18292.77 µg/L and the 90th percentile is 8.55 µg/L.

Pyrrolidones

Metabolites of the pyrrolidones *N*-methyl-2-pyrrolidone (NMP) and *N*-ethyl-2-pyrrolidone (NEP), which were investigated via GC-MS/MS are: 5-hydroxy-*N*-methylpyrrolidone (5-HNMP) and 2-hydroxy-*N*-methylsuccinimide (2-HMSI) as well as 5-hydroxy-*N*-ethylpyrrolidone (5-HNEP) and 2-hydroxy-*N*-ethylsuccinimide (2-HESI). LOQs of 2-HMSI and 2-HESI are at 0.002 mg/L, LOQs of 5-HNMP and 5-HNEP are at 0.003⁴ mg/L. Sample preparation was done by SPE followed by a derivatization of the respective analytes.

Table 1 Descriptive and statistical parameters for the determination of 5-HNMP, 2-HMSI 5-HNEP, and 2-HESI in urine for 52 participants.

	5-HNMP [mg/L]	2-HMSI [mg/L]	5-HNEP [mg/L]	2-HESI [mg/L]
<i>n</i> > LOQ	37	36	12	36
range of concentrations	0.0012*-0.323	0.001*-0.188	0.0012*-0.418	0.001*-0.164
mean	0.070	0.046	0.019	0.020
median	0.049	0.039	0.001	0.006
variance	0.007	0.002	0.004	0.001
90 th percentile	0.213	0.103	0.019	0.073

*LOQ/2

³The value results from the limit of quantification: LOQ/2 = 0.015 µg/L, rounded as 0.02 µg/L.

⁴ Limit of quantification is 0.0025 mg/L, thus a value of 0.00125 mg/L results for LOQ/2, which is rounded 0.001 mg/L.

Phthalates

Concentrations of the metabolites of the following phthalates were determined using HPLC-MS/MS: di-(2-ethylhexyl)-phthalate (DEHP), di-*n*-butylphthalate (DnBP), di-*iso*-butylphthalate (DiBP), butylbenzylphthalate (BBzP), diethylphthalate (DEP), di-*iso*-nonylphthalate (DiNP), di-*iso*-decylphthalate (DiDP), dimethylphthalate (DMP), di-*n*-pentylphthalate (DnPeP), di-*n*-octylphthalate (DnOP), and dicyclohexylphthalate (DChP). The investigated metabolites with the respective LOQ values are given in Table 2.

Table 2 Investigated phthalate metabolites with respective limits of quantification.

Phthalat e	Metabolites	Limit of quantification [$\mu\text{g/L}$]
DEHP (di-(2-ethylhexyl)-phthalate)	MEHP, 5OH-MEHP, 5oxo-MEHP, cx-MEPP	MEHP: 0.5 others: 0.2
DnBP (di- <i>n</i> -butylphthalate)	MnBP, OH-MnBP, MCP	MnBP: 1.0; OH-MnBP: 0.3; MCP: 0.5
DiBP (di- <i>iso</i> -butylphthalate)	MiBP, OH-MiBP	MiBP: 1.0; OH-MiBP: 0.3
BBzP (butylbenzylphthalate)	MBzP	0.2
DEP (diethylphthalate)	MEP	0.5
DiNP (di- <i>iso</i> -nonylphthalate)	OH-MiNP, oxo-MiNP, cx-MiNP	0.2
DiDP (di- <i>iso</i> -decylphthalate)	OH-MiDP, oxo-MiDP, cx-MiDP	0.2
DMP (dimethylphthalate)	MMP	1.0
DnPeP(di- <i>n</i> -pentylphthalate)	MnPeP	0.2
DnOP (di- <i>n</i> -octylphthalate)	MnOP	0.2
DChP (dicyclohexylphthalate)	MChP	0.2

Table 3 Descriptive and statistical parameters for the determination MEHP, 5OH-MEHP, 5oxo-MEHP, cx-MEPP (as well as sum of 5OH- und 5oxo-MEHP), MnBP, OH-MnBP, MCP, MiBP, OH-MiBP, MBzP, MEP, MMP, OH-MiNP, oxo-MiNP, cx-MiNP, OH-MiDP, oxo-MiDP, cx-MiDP, MnPeP, MnOP, and MChP in urine for 52 participants.

	<i>n</i> > LOQ	range of concentrations	mean	median	variance	90 th percentile
MEHP [$\mu\text{g/L}$]	36	0.3*-20.1	2.8	1.5	17.1	6.1
5OH-MEHP [$\mu\text{g/L}$]	37	0.1*-82.6	12.6	9.6	233.3	26.2
5oxo-MEHP [$\mu\text{g/L}$]	37	0.1*-77.8	10.5	7.5	172.2	22.4
cx-MEPP [$\mu\text{g/L}$]	37	0.1*-55.4	12.9	9.6	184.2	32.6
Summe aus 5OH- und 5oxo-MEHP [$\mu\text{g/L}$]		0.2** -160.4	23.6	16.6	805	48.9
MnBP [$\mu\text{g/L}$]	37	0.5*-229.3	40.8	32.4	2230.9	96.7
OH-MnBP [$\mu\text{g/L}$]	37	0.1*-22.8	3	1.2	22.4	5.9
MCP [$\mu\text{g/L}$]	33	0.3*-10.2	1.3	0.7	3.3	3.1
MiBP [$\mu\text{g/L}$]	36	0.5*-129.5	36.4	34	1176.1	89.1
OH-MiBP [$\mu\text{g/L}$]	37	0.1*-80.5	12.9	10.3	222.2	30.3
MBzP [$\mu\text{g/L}$]	37	0.1*-31.5	5.6	3.7	53.4	12.2
MEP [$\mu\text{g/L}$]	37	0.3*-749.4	59.7	18.5	19807.3	117
MMP [$\mu\text{g/L}$]	36	0.5*-72.8	11.5	8.7	196.1	26.3
OH-MiNP [$\mu\text{g/L}$]	37	0.1*-82.8	8.2	4.5	174.5	17.2

	<i>n</i> > LOQ	range of concentrations	mean	median	variance	90 th percentile
oxo-MiNP [$\mu\text{g/L}$]	37	0.1*-36.0	4.1	2.4	42.1	7.7
cx-MiNP [$\mu\text{g/L}$]	37	0.1*-46.7	6.4	4.1	92.1	9.9
OH-MiDP [$\mu\text{g/L}$]	36	0.1*-15.2	2.3	1.4	9.5	5.9
oxo-MiDP [$\mu\text{g/L}$]	32	0.1*-4.3	0.7	0.4	0.7	1.5
cx-MiDP [$\mu\text{g/L}$]	37	0.1*-41.4	1.9	0.8	31.7	2.8
MnPeP [$\mu\text{g/L}$]	0	0.1*	0.1	0.1	0	0.1
MnOP [$\mu\text{g/L}$]	0	0.1*	0.1	0.1	0	0.1
MCHP [$\mu\text{g/L}$]	1	0.1*-1.5	0.1	0.1	0	0.1

*LOQ/2

**results from addition of two LOQ/2 values

There is no case where the sum of the 5OH- and 5oxo-MEHP concentration is above the HBM I value of 500 $\mu\text{g/L}$ and the reference value (RV95) of 370 $\mu\text{g/L}$ (5oxo-MEHP: 150 $\mu\text{g/L}$ plus 5OH-MEHP: 220 $\mu\text{g/L}$).

DINCH

The specific DINCH metabolites OH-MINCH, oxo-MINCH, and cx-MINCH were analysed in the urine samples via HPLC-MS/MS. Determination of oxo-MINCH was performed semi-quantitatively. The limit of quantification was at 0.050 $\mu\text{g/L}$ for the three analytes.

Table 4 Descriptive and statistical parameters for the determination of OH-MINCH, oxo-MINCH, and cx-MINCH in urine for 52 participants.

	OH-MINCH [$\mu\text{g/L}$]	oxo-MINCH [$\mu\text{g/L}$]	cx-MINCH [$\mu\text{g/L}$]
<i>n</i> > LOQ	37	37	37
range of concentrations	0.025*-12.900	0.025*-6.296	0.025*-6.300
mean	2.401	1.085	1.242
median	1.390	0.579	0.813
variance	9.512	1.085	2.214
90 th percentile	5.769	2.684	3.651

*LOQ/2

DPHP

In 51 urine samples the concentrations of the DPHP metabolites OH-MPHP, oxo-MPHP, and cx-MPHxP were determined. Analysis was done by GC-HRMS, limits of quantification were 0.300 $\mu\text{g/L}$, 0.250 $\mu\text{g/L}$, and 0.150 $\mu\text{g/L}$ for OH-MPHP, oxo-MPHP, and cx-MPHxP, respectively.

Table 5 Descriptive and statistical parameters for the determination of OH-MPHP, oxo-MPHP, and cx-MPHxP in urine for 51 participants.

	OH-MPHP [$\mu\text{g/L}$]	oxo-MPHP [$\mu\text{g/L}$]	cx-MPHxP [$\mu\text{g/L}$]
$n > \text{LOQ}$	20	17	0
range of concentrations	0.150*-3.814	0.125*-3.269	0.075*
mean	0.507	0.404	0.075
median	0.150	0.125	0.075
variance	0.529	0.381	0.000
90 th percentile	1.113	0.921	0.075

*LOQ/2

For cx-MPHxP only concentrations below the LOQ were determined.

PAH

The concentration of 1-hydroxypyrene (1-OH-Pyrene) was determined for 52 urine samples. Overall, 37 samples showed concentrations over the LOQ of 0.02 $\mu\text{g/L}$. Analysis was performed using HPLC with fluorimetric detection.

Table 6 Descriptive and statistical parameters for the determination of 1-OH-pyrene in urine for 52 participants.

	1-OH-pyrene [$\mu\text{g/L}$]
$n > \text{LOQ}$	37
LOQ	0,02
range of concentrations	0.01*-0.56
mean	0.12
median	0.10
variance	0.01
90 th percentile	0.21

*LOQ/2

Mercury

Mercury concentrations of 51 urine samples were determined via cold vapour atomic absorption spectrometry. The concentrations of 25 samples were above the limit of quantification (0.10 $\mu\text{g/L}$). Concentrations of the remaining 25 samples range from 0.12 $\mu\text{g/L}$ to 0.56 $\mu\text{g/L}$. The mean is 0.15 $\mu\text{g/L}$ and the median 0.05 $\mu\text{g/L}$. The value of the variance is 0.02 $\mu\text{g/L}$.

Cadmium

Cadmium concentrations of the 52 urine samples were determined using flameless atomic absorption spectrophotometry. Limit of quantification was 0.05 $\mu\text{g/L}$. Overall 27 samples showed concentrations above the limit of quantification. The range of concentrations of the remaining 27 urine samples is from 0.054 $\mu\text{g/L}$ to 0.27 $\mu\text{g/L}$. The mean of all concentrations is 0.068 $\mu\text{g/L}$ and the median 0.0575 $\mu\text{g/L}$. The variance of the concentrations is 0.003 $\mu\text{g/L}$ and the corresponding 90th percentile 0.139 $\mu\text{g/L}$.

Arsenic

In 48 urine samples arsenic concentrations were determined via flow injection hydrid atomic absorption spectrophotometry. Overall 34 samples showed concentrations above the limit of quantification (0.6 µg/L). The concentrations of 34 samples with concentrations greater LOQ ranged from 0.87 µg/L to 10.15 µg/L. The mean was 3.02 µg/L and the median 2.71 µg/L. The variance was 7.0 µg/L.

Organophosphates

Concentrations of the organophosphate metabolites DMP, DMTP, and DMDTP as well as DEP, DETP, and DEDTP were determined via GC-MS/MS in 52 urine samples. The limit of quantification of the metabolites DMP, DMTP, DMDTP, DEP, DETP is 0.10 µg/L, the limit of quantification for DEDTP is 0.010 µg/L.

Table 7 Descriptive and statistical parameters for the determination of DMP, DMTP, DMDTP, DEP, DETP, and DEDTP in urine for 52 participants.

	DMP [µg/L]	DMTP [µg/L]	DMDTP [µg/L]	DEP [µg/L]	DETP [µg/L]	DEDTP [µg/L]
<i>n</i> > LOQ	36	37	16	37	35	13
range of concentrations	0.05*- 20.14	0.05*- 40.07	0.05*-1.62	0.05*- 28.23	0.05*- 17.38	0.005*- 0.072
mean	4.15	6.09	0.14	4.33	1.63	0.011
median	2.16	4.15	0.05	1.91	0.33	0.005
variance	28.57	71.35	0.07	39.29	9.71	0.000
90 th percentile	13.42	16.93	0.20	9.79	5.24	0.026

*LOQ/2

Parabens and environmental relevant phenols

The parabens methylparabene MeP, ethylparabene EtP, *iso*-propylparabene iPrP, *n*-propylparabene nPrP, *iso*-butylparabene iBuP, and *n*-butylparabene nBuP as well as the environmental relevant phenols Triclosan TCS and Triclocarban TCC were determined in 52 urine samples via HPLC-MS/MS. The limit of quantification is 0.50 µg/L for the parabens, and 1.00 µg/L for TCS and TCC.

Table 8 Descriptive and statistical parameters for the determination of MeP, EtP, iPrP, nPrP, iBuP, nBuP, TCS, and TCC. in urine for 52 participants.

	MeP [µg/L]	EtP [µg/L]	iPrP [µg/L]	nPrP [µg/L]	iBuP [µg/L]	nBuP [µg/L]	TCS [µg/L]	TCC [µg/L]
<i>n</i> > LOQ	34	28	1	23	1	3	11	0
range of concentrations	0.25*- 6820.00	0.25*- 459.00	0.25*- 2.57	0.25*- 3440.00	0.25*- 0.50	0.25*- 2.96	0.50*- 39.90	0.50*
mean	187.24	15.93	0.29	73.43	0.25	0.33	2.55	0.50
median	4.03	0.71	0.25	0.25	0.25	0.25	0.50	0.50
variance	928569.70	5207.50	0.10	236193.40	0.00	0.16	47.40	0.00
90 th percentile	166.20	8.16	0.25	15.09	0.25	0.25	6.51	0.50

*LOQ/2

2-Mercaptobenzothiazole

Concentrations of 2-mercaptobenzothiazole 2-MBT were determined via HPLC-MS/MS. The limit of quantification was 1.20 µg/L. Overall 10 samples showed 2-MBT concentrations above LOQ. The values range from 0.60 µg/L to 5.95 µg/L . The mean is 0.98 µg/L and the median 0.60 µg/L. The variance is 0.98 µg/L and the corresponding 90th percentile 1.74 µg/L.

2 Einleitung

Der Pretest des 5. Umwelt-Surveys Teilvorhaben 2 - Human-Biomonitoring Analytik wurde durch das Institut für Prävention und Arbeitsmedizin der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung Institut der Ruhr-Universität-Bochum (IPA), die Abteilung für Hygiene, Sozial- und Umweltmedizin der Ruhr-Universität Bochum und die Currenta GmbH & Co. OHG durchgeführt. Die Analysen wurden im Sinne der guten Laborpraxis durchgeführt inklusive aller Maßnahmen zur internen und externen Qualitätssicherung (Ringversuch Q-EQUAS, Ringversuch COPHES). Darüber hinaus haben die Konsortiumsmitglieder am 53. Ringversuch (G-EQUAS) für die dort angebotenen und den Pre-Test betreffenden Parameter teilgenommen (Ergebnismitteilung hierzu voraussichtlich ab Q4 2014).

2.1 Internes Kontrollmaterial

Zur internen Qualitätssicherung wurden laborinterne Kontrollurine genutzt (grundsätzlich bezeichnet als Q low und Q high). Die Konzentrationen der Zielanalyten in diesen Kontroll-Urinen wurden zusammen mit den Urinproben in den jeweiligen Probenserien bestimmt. Bei den Kontrollurinen handelt es sich um Poolurine von Realproben, die bereits bei der Methodenvalidierung verwendet wurden. Die jeweiligen Stoff-Konzentrationen sind im Einklang mit dem Kalibrierbereich der Methode und repräsentieren bis dato bestimmte übliche Konzentrationen aus dem arbeitsmedizinischen und/oder umweltmedizinischen Hintergrund. Aus der Methodenvalidierung ergeben sich Sollwert und Sollwertbereich. Die laborinternen Kontrollurine werden in allen Probenserien mitbestimmt. Liegen die bestimmten Konzentrationen innerhalb des Sollwertbereichs, wird davon ausgegangen, dass die erhaltenen Ergebnisse richtig sind. Liegen die bestimmten Konzentrationen außerhalb des Sollwertbereichs, so wird die Serie wiederholt. Die Kontrollurine decken somit den gesamten Kalibrationsbereich der betreffenden analytischen Methode ab, die Q low liegt jedoch nicht immer zwingend im Bereich der niedrigen Messwerte (z.B. Werte unterhalb des Medians) eines Parameters für eine untersuchte Population (in diesem Fall Kinder). Als Beispiel liegt im Falle der NEP Metaboliten der Sollwert des Q low Standards für 5-HNEP mit 0,087 mg/L und für 2-HESI mit 0,058 mg/L höher als die bestimmten Mittelwerte (bzw. Mediane) aller analysierter Proben, jedoch deutlich im Wertebereich aller ermittelten Messwerte bzw. unterhalb der bestimmten Maximalwerte (5-HNEP: 0,001-0,418 mg/L; 2-HESI: 0,001-0,164) für umweltbedingte Hintergrundbelastungen. Hier ist jedoch auch zu bedenken, dass in der statistischen Auswertung aller Messergebnisse auch eine nicht unerhebliche Anzahl von Blind- bzw. Wasserproben enthalten gewesen sein dürfte (dem Projektnehmer nicht bekannt, da blind vermessen; bedingt durch das Studiendesign des Pretests), die zu einer deutlichen Verzerrung v.a. der Mittelwerte und Mediane zu „künstlich“ niedrigen Werten geführt haben dürfte. Es kann deshalb davon ausgegangen werden, dass die Gesamtheit der verwendeten Kontrollurine in Verbindung mit dem Kalibrationsbereich der analytischen Methode den beobachteten bzw. zu erwartenden Konzentrationsbereich der Real-Urinproben zufriedenstellend abdeckt. Ferner ist festzustellen, dass der 5. Umwelt-Survey Pretest eine Vielzahl von neuen Analyten (wie eben auch NEP) inkludiert, für die die Höhe, das Ausmaß sowie die Verteilung der Hintergrundbelastung weitgehend unbekannt ist. Diese Feststellung trifft neben der Allgemeinbevölkerung insbesondere auf die Subpopulation der Kinder zu, bei der für andere, in Populationsstudien etablierte Analyten bekannt ist, dass deren Hintergrundbelastung sowohl niedriger (z.B. Cadmium) als auch höher (z.B. Phthalate) als die Hintergrundbelastung der (erwachsenen) Allgemeinbevölkerung sein kann. Diese Betrachtung zur Auswahl und Validität der mitgeführten Kontrollurine trifft neben NEP auf Kontrollurine für andere Analyten zu.

2.2 Kenndaten zu Präzision und Wiederfindung

In den folgenden Tabellen sind die Kenndaten zur Präzision und Wiederfindung zu den jeweiligen Parametern dargestellt.

Tabelle 9 Kenndaten zur Präzision von Tag zu Tag und Präzision in Serie für die Bestimmung von Cotinin.

Cotinin	Mittelwert (MW) der Konzentration c [µg/L]	Standardabweichung (rel.) RSD [%]	MW c [µg/L]	RSD [%]
	Präzision von Tag zu Tag (n= 8)		Präzision in Serie (n= 8)	
Q low	3,73	8,9	3,76	1
Q high	836	10	826	2,7

Tabelle 10 Kenndaten zur Wiederfindung für die Bestimmung von Cotinin.

Cotinin	Native c [µg/L]	Mittlere relative Wiederfindung (MRW) [%]	Bereich der Wiederfindung (BW) [%]	MRW [%]	BW [%]
		Dotierung 4 µg/L		Dotierung 100 µg/L	
n= 8	0,07 - 37	105	98-121	97	88-102

Tabelle 11 Kenndaten zur Präzision von Tag zu Tag und Präzision in Serie für die Bestimmung von 5-HNMP, 2-HMSI, 5-HNEP und 2-HESI.

Analyt	MW c [mg/L]	RSD [%]	MW c [mg/L]	RSD [%]
	Präzision von Tag zu Tag (n=23)		Präzision in Serie (n=6)	
Q low 5-HNMP	0,051	9,8	0,049	8,3
Q low 2-HMSI	0,052	12,4	0,047	6,6
Q low 5-HNEP	0,087	12,3	0,088	8,4
Q low 2-HESI	0,058	9,0	0,056	8,5
Q high 5-HNMP	0,285	7,0	0,28	2,9
Q high 2-HMSI	0,308	10,4	0,28	2,1
Q high 5-HNEP	0,483	5,7	0,5	2,8
Q high 2-HESI	0,349	10,7	0,33	5,1

Tabelle 12 Kenndaten zur Wiederfindung für die Bestimmung von 5-HNMP, 2-HMSI, 5-HNEP und 2-HESI.

n= 10	Native c [mg/L]	MRW [%]	BW [%]	MRW [%]	BW [%]	MRW [%]	BW [%]
		Dotierung 0,05 mg/L		Dotierung 0,3 mg/L		Dotierung 0,7 mg/L	
5-HNMP	0,02-0,11	100	62-138	105	94-123	107	95-127
2-HMSI	0,02-0,12*	58*	47-72*	92	84-139	100	91-146
5-HNEP	<0,005-0,04	98	91-104	99	96-103	98	93-104
2-HESI	<0,0025-0,10	92	84-100	98	91-106	99	91-116

*Die nativ enthaltenen Stoffkonzentrationen in einzelnen dotierten Urinen erreichten bzw. überstiegen teils deutlich die dotierten Konzentrationen. Dies kann die Berechnung der relativen Wiederfindung im unteren Konzentrationsbereich deutlich negativ beeinflussen.

Tabelle 13 Kenndaten zur Präzision von Tag zu Tag und Präzision in Serie für die Bestimmung von Phthalat-Metaboliten.

Analyt	MW c Q low [µg/L]	RSD [%]	MW c Q high [µg/L]	RSD [%]	MW c Q low [µg/L]	RSD [%]	MW c Q high [µg/L]	RSD [%]
	Präzision in Serie (n=8)				Präzision von Tag zu Tag (n=23)			
MMP	1,9	11,8	15,4	8,3	2,5	33,0	35,6	23,7
MEP	35,0	4,8	538,4	7,3	37,4	7,4	642,3	5,6
MBzP	1,7	6,0	41,6	3,9	1,3	14,6	38,5	10,1
MnBP	6,9	5,2	386,7	3,3	6,2	17,0	358,4	9,0
OH-MnBP	0,5*	15,8*	41,3	4,0	0,6*	12,2*	38,2	15,1
M CPP	0,3*	19,2*	8,4	13,4	0,2*	45,7*	8,6	7,5
MiBP	6,7	5,3	79,3	4,8	7,9	7,4	89,7	9,5
OH-MiBP	4,0	3,2	27,1	6,9	4,7	18,0	31,1	9,1
MEHP	1,2*	18,2*	27,6	15,8	1,0*	10,5*	33,6	14,6
5OH-MEHP	4,8	7,5	125,5	4,7	3,6	9,0	99,7	14,6
5oxo-MEHP	2,9	3,9	77,5	4,5	3,3	7,5	85,3	7,2
5cx-MEHP	6,8	4,5	142,9	1,2	5,1	8,0	113,8	16,2
OH-MiNP	1,7	4,3	74,4	2,4	1,2	28,3	50,4	15,7
oxo-MiNP	0,8	8,5	42,0	3,1	0,6	11,4	37,3	10,1
cx-MiNP	1,9	4,4	41,2	1,4	1,5	6,9	37,4	9,4
OH-MiDP			24,6	13,9			31,5	19,4
oxo-MiDP			5,4	9,3			9,0	16,2
cx-MiDP			16,3	4,0			18,4	19,7

*Bestimmungen im Bereich der LOQ; Relative Standardabweichungen (in Serie) von 20% akzeptabel

Tabelle 14 Kenndaten zur Wiederfindung für die Bestimmung von Phthalat-Metaboliten.

n= 8	Native c [µg/L]	MRW [%]	BW [%]	MRW [%]	BW [%]
		Dotierung 20 µg/L		Dotierung 100 µg/L	
MMP	0,3	64,7	51,3 - 94,1	68,6	53,4 - 93,8
MEP	2,0	100,0	46,7 - 155,2	111,4	96,0 - 124,8
MBzP	0,6	114,8	101,0 - 127,6	112,6	94,0 - 121,4
MCHP	0,0	115,8	73,0 - 134,5	110,8	75,7 - 127,4
MnPeP	0,0	133,8	87,5 - 174,5	122,7	91,1 - 155,5
MnBP	5,8	118,2	105,7 - 129,7	121,7	117,3 - 127,0
OH-MnBP	0,4	120,9	108,6 - 131,4	125,2	110,7 - 135,2
M CPP	0,0	98,4	89,1 - 105,9	nicht dotiert	
MiBP	3,1	91,8	80,6 - 101,7	93,8	87,8 - 101,4
OH-MiBP	1,4	nicht dotiert		nicht dotiert	
MnOP	0,0	121,9	92,6 - 155,9	101,3	85,0 - 122,2
MEHP	0,2	112,1	102,2 - 128,7	99,4	89,2 - 117,5
5OH-MEHP	1,3	107,7	95,1 - 118,1	105,6	92,8 - 112,0
5oxo-MEHP	1,2	99,6	87,2 - 113,2	100,1	92,3 - 113,2

<i>n</i> = 8	Native c [µg/L]	MRW [%]	BW [%]	MRW [%]	BW [%]
5cx-MEHP	1,8	109,6	85,4 - 137,7	110,6	89,7 - 134,1
OH-MiNP	1,4	103,4	94,4 - 113,0	106,3	90,4 - 112,8
oxo-MiNP	0,5	108,4	100,3 - 115,1	114,1	106,9 - 121,9
cx-MiNP	1,8	92,9	83,8 - 106,9	101,7	96,0 - 110,7
OH-MiDP	0,1	79,2	62,6 - 97,5	85,9	78,3 - 93,6
oxo-MiDP	0,1	98,1	60,6 - 115,4	99,9	82,9 - 114,8
cx-MiDP	0,0	nicht dotiert		nicht dotiert	

Tabelle 15 Kenndaten zur Präzision von Tag zu Tag und Präzision in Serie für die Bestimmung von OH-MINCH und cx-MINCH.

Analyt	MW c [µg/l]	RSD (rel.) [%]	MW c [µg/l]	RSD [%]
	Präzision von Tag zu Tag (<i>n</i> = 8)		Präzision in Serie (<i>n</i> = 8)	
Q low OH-MINCH	9,49	6,56	8,29	7,10
Q low cx-MINCH	3,07	9,92	2,76	6,79
Q high OH-MINCH	45,64	3,63	45,99	2,67
Q high cx-MINCH	13,96	3,67	12,71	1,95

Tabelle 16 Kenndaten zur Wiederfindung für die Bestimmung von OH-MINCH und cx-MINCH.

<i>n</i> =8	Native c [µg/L]	MRW [%]	BW [%]	MRW [%]	BW [%]
		Dotierung 2 µg/L		Dotierung 10 µg/L	
OH-MINCH	<LOQ - 3.11	93,3	83,8 - 100,2	95	87,6 - 98,9
cx-MINCH	<LOQ - 2.37	97,9	87,6 - 107,7	97,4	89,0 - 105,8

Tabelle 17 Kenndaten zur Präzision von Tag zu Tag und Präzision in Serie für die Bestimmung von 1OH-Pyren.

<i>n</i> =8	c [µg/L]	RSD [%]	MW c [µg/L]	RSD [%]
	Präzision von Tag zu Tag (<i>n</i> = 8)		Präzision in Serie (<i>n</i> = 8)	
Q high 1-OH-Pyren	13,66	5,41	12,95	2,90
Q low 1-OH-Pyren	1,61	11,92	1,38	2,03

Tabelle 18 Kenndaten zur Wiederfindung für die Bestimmung von 1-OH-Pyren.

<i>n</i> = 8	MRW [%]	BW [%]	MRW [%]	BW [%]
	Dotierung 0,3 µg/L		Dotierung 100 µg/L	
1-OH-Pyren	96	87-104	105	96-112

Tabelle 19 Kenndaten zur Präzision von Tag zu Tag und Präzision in Serie für die Bestimmung der Organophosphate DMP, DMTP, DMDTP, DEP, DETP und DEDTP.

Analyt	MW c [$\mu\text{g/L}$]	RSD [%]	MW c [$\mu\text{g/L}$]	RSD [%]
	Präzision von Tag zu Tag ($n=10$)		Präzision in Serie ($n=8$)	
Q low DMP	12,48	9,5	12,63	4,4
Q low DMTP	15,42	5,0	13,76	2,1
Q low DMDTP	10,68	5,1	9,53	1,8
Q low DEP	14,41	6,6	14,74	4,1
Q low DETP	10,32	9,6	10,11	5,4
Q low DEDTP	10,97	5,0	9,41	2,2
Q high DMP	39,80	4,0	35,28	2,6
Q high DMTP	41,58	5,6	44,01	4,5
Q high DMDTP	39,89	9,5	38,52	8,0
Q high DEP	40,53	7,5	34,60	1,8
Q high DETP	38,64	7,0	41,40	3,0
Q high DEDTP	39,77	3,5	38,86	3,5

Tabelle 20 Kenndaten zur Wiederfindung für die Bestimmung der Organophosphate DMP, DMTP, DMDTP, DEP, DETP und DEDTP.

<i>n</i> = 6	Native c [µg/L]	MRW [%]	BW [%]	MRW [%]	BW [%]
		Dotierung 10 µg/L		Dotierung 50 µg/L	
DMP	0,1-7,1	68*	44-68	89	84-97
DMTP	1,2-13,4	75*	50-83	87	81-91
DMDTP	0,4-1,6	85	73-93	97	94-100
DEP	1,1-4,3	87	69-105	107	91-114
DETP	0,3-1,7	85	75-101	102	83-113
DEDTP	0,38-1,6	98	90-106	115	110-123

*Die nativ enthaltenen Stoffkonzentrationen in einzelnen dotierten Urinen erreichten bzw. überstiegen teils deutlich die dotierten Konzentrationen. Dies kann die Berechnung der relativen Wiederfindung im unteren Konzentrationsbereich deutlich negativ beeinflussen.

Tabelle 21 Kenndaten zur Präzision von Tag zu Tag und Präzision in Serie für die Bestimmung der Parabene und umweltrelevanten Phenole.

Analyt	MW c [µg/L]	RSD [%]	MW c [µg/L]	RSD [%]
	Präzision in Serie (<i>n</i> =8)		Präzision von Tag zu Tag (<i>n</i> =8)	
Q low MeP	20,2	2,8	19,3	2,6
Q low EtP	4,2	4,5	4,5	4,6
Q low iPrP	3,2	4,1	3,4	2,0
Q low nPrP	6,7	5,1	7,4	3,6
Q low iBuP	3,4	4,6	2,9	3,3
Q low nBuP	3,3	6,9	3,5	4,5
Q low TCS	4,7	3,4	4,7	6,2
Q low TCC	1,4	8,2	1,5	4,4
Q high MeP	80,6	2,2	73,0	1,2
Q high EtP	43,8	4,0	44,1	3,9
Q high iPrP	17,0	4,0	17,6	2,9
Q high nPrP	59,8	4,7	60,2	3,4
Q high iBuP	15,8	8,2	12,9	6,2
Q high nBuP	44,7	7,9	49,3	4,9
Q high TCS	32,7	4,3	33,0	4,0
Q high TCC	16,4	10,9	17,2	6,2

Tabelle 22 Kenndaten zur Wiederfindung für die Bestimmung der Parabene und umweltrelevanten Phenole.

Analyt	Native c [µg/L]	MRW [%]	BW [%]	MRW [%]	BW [%]	MRW [%]	BW [%]
n=8		Dotierung etwa 8 µg/L		Dotierung etwa 35 µg/L		Dotierung etwa 90 µg/L	
MeP	4.3 - 55.4	101	92,1 - 108,7	106	102,8 - 111,2	111	106,4 - 102,4
EtP	0.6 - 88.2	97	88,5 - 105,4	98	91,0 - 102,0	102	91,5 - 106,1
iPrP	<LOQ	79	71,6 - 85,9	77	73,0 - 81,1	83	76,6 - 90,1
nPrP	<LOQ - 12.5	95	90,7 - 100,5	99	94,5 - 104,8	99	95,0 - 102,6
iBuP	<LOQ	98	94,0 - 100,9	105	92,6 - 111,4	108	99,3 - 113,4
nBuP	<LOQ - 2.1	95	88,1 - 102,6	102	90,2 - 109,1	104	94,7 - 111,5
TCS	<LOQ - 11.6	106	106,2 - 119,7	108	102,9 - 117,1	103	100,2 - 112,3
TCC	<LOQ	121	116,2 - 131,1	105	94,3 - 111,5	-	82,1 - 93,5

Tabelle 23 Kenndaten zur Präzision von Tag zu Tag und Präzision in Serie für die Bestimmung der DPHP-Metabolite

Analyt	MW c [µg/L]	RSD [%]	MW c [µg/L]	RSD [%]
	Präzision in Serie (n=6)		Präzision von Tag zu Tag (n=6)	
Q low cx-MPHxP	1,03	4,2	1,02	0,7
Q low OH-MPHP	0,87	1,4	1,01	5,7
Q low Oxo-MPHP	0,97	5,1	0,99	6,0
Q high cx-MPHxP	4,86	6,5	5,04	2,0
Q high OH-MPHP	4,45	2,8	4,88	0,9
Q high Oxo-MPHP	5,01	3,8	5,16	4,1

Tabelle 24 Kenndaten zur Wiederfindung für die Bestimmung der DPHP-Metabolite

Analyt	Dotierung [µg/L]	MRW [%]	BW [%]	MRW [%]	BW [%]
		Präzision in Serie (n=6)		Präzision von Tag zu Tag (n=6)	
Q low cx-MPHxP	1,0	102,5	97,7-108,2	101,8	101,1-103,0
Q low OH-MPHP	1,0	86,7	85,5-88,3	101,1	95,4-109,1
Q low Oxo-MPHP	1,0	97,2	92,7-103,6	99,4	91,4-106,7
Q high cx-MPHxP	5,0	97,1	92,2-105,7	100,8	97,9-101,8
Q high OH-MPHP	5,0	89,1	85,5-92,4	97,6	96,6-99,1
Q high Oxo-MPHP	5,0	100,3	96,2-106,1	103,1	99,3-111,4

Tabelle 25 Kenndaten zur Präzision von Tag zu Tag und Präzision in Serie für die Bestimmung von MBT

Analyt	MW c [$\mu\text{g/L}$]	RSD [%]	MW c [$\mu\text{g/L}$]	RSD [%]
	Präzision in Serie ($n=6$)		Präzision von Tag zu Tag ($n=6$)	
Q low MBT	8,34	3,2	8,55	4,4
Q high MBT	89,7	3,7	92,1	4,9

Tabelle 26 Kenndaten zur Wiederfindung für die Bestimmung von MBT

Analyt	Dotierung [$\mu\text{g/L}$]	MRW [%]	BW [%]	MRW [%]	BW [%]
		Präzision in Serie ($n=6$)		Präzision von Tag zu Tag ($n=6$)	
Q low MBT	10,0	83,4	80,6-86,5	85,5	81,1-90,4
Q high MBT	100,0	89,7	86,6-95,6	92,1	87,1-99,7

Die Präzisionskenndaten zu Arsen, Cadmium und Quecksilber wurden in den Analysenserien des Pretest mithilfe des verwendeten Kontrollmaterials (RECIPE) bestimmt. Die Kenndaten dazu sind in Tabelle 27 dargestellt. Angaben zur Wiederfindung für die Analyten As, Cd und Hg sind aufgrund fehlender dotierter interner Standards aus den aktuellen Probenserien nicht möglich. Mit großer Wahrscheinlichkeit kann angenommen werden, dass bei den Messungen eine Wiederfindungsrate von mindestens 85% erzielt wurde.

Tabelle 27 Kenndaten zur Präzision für die Bestimmung von As, Cd und Hg.

Analyt	MW c [$\mu\text{g/L}$]	RSD [%]	MW c [$\mu\text{g/L}$]	RSD [%]	MW c [$\mu\text{g/L}$]	RSD [%]
	As ($n=16/17$)		Cd ($n=9$)		Hg ($n=6$)	
Recipe ClinChek Level I (Urin)	14,966	8,13	2,41	9,60	2,4	7,23
Recipe ClinChek Level II (Urin)	43,512	6,62	-	-	-	-

3 Arbeitspaket 4.1 Bestimmung von Kreatinin in Urin

Arbeitspaket 4.1 beinhaltet die Kreatinin-Bestimmung der 52 Urinproben. Die Bestimmung wurde im Probenaliquot A vorgenommen. Die Analytik wurde durch L. und P. GmbH (Universitätsstraße 64, 44789 Bochum), einem akkreditierten und zertifizierten medizinischem Labor, durchgeführt.

3.1 Materialien und Methoden

Der Kreatinin-Gehalt der Urinproben wurde über die sog. Jaffé-Methode bestimmt. Dazu wurden 700 µL Urin aliquotiert. Die Proben wurden 1:100 verdünnt und Pikrinsäure zugesetzt. Der dabei entstehende gelb-orange farbene Kreatinin-Pikrat-Komplex wurde photometrisch mit einem BeckmanCoulter AU 5822 bestimmt. Die Absorptionsabweichungsrate, welche bei 520/800 nm gemessen wird, ist proportional zur Kreatinin-Konzentration im Urin. Die Bestimmungsgrenze liegt bei 10 mg/L.

3.2 Ergebnisse

In Tabelle 28 sind die statistischen Daten zur Kreatinin-Bestimmung der 52 Urinproben angegeben. In 15 Proben konnte kein Kreatinin nachgewiesen werden. die Konzentrationen für die entsprechenden Proben wurden auf LOQ/2 gesetzt (5 mg/L).

Tabelle 28 Statistische Auswertung zur Kreatinin-Bestimmung.

	Kreatinin [mg/L]
LOQ	10
<i>n</i>	52
<i>n</i> > LOQ	37
Wertebereich der Konzentrationen	5*-3562
Mittelwert	1020
Median	870
Varianz	839674
90. Perzentil	2401

*LOQ/2

4 Arbeitspaket 4.2 Bestimmung von Cotinin in Urin

Arbeitspaket 4.2 beinhaltet die Bestimmung von Cotinin in 52 Urinproben aus dem Jahr 2013. Die Bestimmung wurde in Probenaliquot A vorgenommen.

4.1 Materialien und Methoden

Die Bestimmung der Konzentration von Cotinin im Urin erfolgte mittels Hochleistungsflüssigchromatographie gekoppelt mit massenspektrometrischer Detektion (HPLC-MS/MS). Zur Probenvorbereitung wurden 300 µL Urin, 180 µL Ammoniumacetatpuffer (0,5M; pH 5,5-6), 6 µL HP-2 β- Glucuronidase/Arylsulfatase -Lösung und 30 µL interner Standard (Deuterium markiertes Cotinin d3) in ein silanisiertes 1,8 mL Glasvial gegeben. Nach Inkubation für 3,5 Stunden im Wasserbad bei 37°C wurden die Proben über Nacht eingefroren. Nach Auftauen der Proben wurden diese für 5 Minuten bei 4000 g zentrifugiert und der Überstand in ein weiteres silanisiertes 1,8 mL Glasvial überführt. 210 µL wurden zur Injektion eingesetzt.

Die chromatographische Trennung erfolgte mit on-line Anreicherung. Als Anreicherungssäule diente eine Waters OASIS-HLB Säule (2,1 mm x 20 mm; 25 µm), zur chromatographischen Trennung wurde eine Thermo Hypercarb Säule (2.1 mm x100 mm; 3 µm) verwendet. Die Proben wurden mittels Gradientenelution analysiert. Als Laufmittel dienten eine wässrige Lösung 3 mM Ammoniumhydrogencarbonat und Acetonitril. Die massenspektrometrische Detektion erfolgte nach positiver Elektronensprayionisation im MRM-Modus (Multiple Reaction Monitoring) anhand spezifischer Fragmentionen-Übergänge. Quantifiziert wurde Cotinin mittels anhand dem Verhältnis der Peakflächen von Analyt zu isotoopenmarkiertem Standard (Isotopenverdünnungsanalyse). Die Bestimmungsgrenze liegt bei 0,03 µg/L.

4.2 Ergebnisse

4.2.1 Cotinin-Konzentrationen in den untersuchten Urinen

Die Konzentration von Cotinin wurde in 52 Urinproben bestimmt. Konzentrationswerte unter der Bestimmungsgrenze wurden auf LOQ/2 (0,02 µg/L) gesetzt. Die statistischen Daten zu den Ergebnissen der Cotinin-Bestimmung sind in Tabelle 29 gezeigt.

Tabelle 29 Deskriptive statistische Kenngrößen zum Nachweis von Cotinin in Urin bei 52 Probanden.

Konzentration [µg/L]	Cotinin
LOQ	0,03
<i>n</i>	52
<i>n</i> > LOQ	37
Wertebereich der Konzentrationen	0,02*- 943,2
Mittelwert	26,40
Median	0,63
Varianz	18292,77
90. Perzentil	8,55

*LOQ/2

4.2.1 Interne Qualitätssicherung

Zur internen Qualitätssicherung wurden zwei laborinterne Kontrollurine (Q low und Q high) genutzt. Die Konzentration von Cotinin in diesen Kontroll-Urienen wurde zusammen mit den Urinproben in der Probenserie bestimmt. Für den Q low Standard wurde eine Konzentration von 2,86 µg/L bestimmt. Der Sollwert liegt bei 3,73 µg/L mit einem zugehörigen Sollwertbereich von 2,74 µg/L bis 4,72 µg/L. Für den Q high Standard wurde eine Konzentration von 785 µg/L bestimmt. Der Sollwert liegt für den Q high Standard bei 836 µg/L (Sollwertbereich 584 µg/L bis 1085 µg/L). Die für die laborinternen Kontrollurine bestimmten Cotinin-Konzentrationen liegen innerhalb des jeweiligen Sollwertbereichs.

5 Arbeitspaket 4.3 Bestimmung von Pyrrolidonen (NMP und NEP) im Urin

Arbeitspaket 4.3 beinhaltet die Bestimmung von spezifischen Metaboliten der Pyrrolidone N-Methyl-2-pyrrolidon (NMP) und N-Ethyl-2-pyrrolidon (NEP) der 52 Urinproben. Es handelt sich um die Metabolite 5-Hydroxy-N-methyl-2-pyrrolidon (5-HNMP) und 2-Hydroxy-N-methylsuccinimid (2-HMSI) als spezifische Metabolite des NMP sowie 5-Hydroxy-N-ethylpyrrolidon (5-HNEP) und 2-Hydroxy-N-ethylsuccinimid (2-HESI) als spezifische Metabolite des NEP. Die Bestimmung wurde im Probenaliquot D vorgenommen.

5.1 Materialien und Methoden

Es wurden 600 µL Urin mit 200 µL 1% Essigsäure und 200 µL internen Standard versetzt. Als interner Standard wurden die isotonenmarkierten Standards d3-2-HMSI, d4-5-HNMP, d5-5-HNEP, d5-2-HESI genutzt. 1 mL der Probe wurde mithilfe der Festphasenextraktion (ENV+, 100 mg, 1 mL) aufgereinigt. Das Eluat wurde im Stickstoffstrom eingengt und in 30 µL Pyridin aufgenommen. Im Anschluss wurden die Analyten mithilfe von N-tert-Butyldimethylsilyl-N-methyltrifluoroacetamid bei 110°C für eine Stunde derivatisiert. Bevor die Probe mittels GC-MS/MS im MRM-Modus analysiert wurde, wurde diese mithilfe von 50 µL Ethylacetat verdünnt. Die verwendete GC-Säule ist die RTX-35 (60 m, 10 m Vorsäule). Die Bestimmungsgrenzen (LOQ) der Metabolite 2-HMSI und 2-HESI liegen bei 0,002 mg/L, die Bestimmungsgrenze der Metabolite 5-HNMP und 5-HNEP beträgt 0,003 mg/L⁵.

5.2 Ergebnisse

5.2.1 Konzentrationen der Metabolite 5-HNMP, 2-HMSI, 5-HNEP und 2-HESI in den untersuchten Urinen

In Tabelle 30 sind die statistischen Kennwerte der bestimmten Konzentrationen der NMP-Metabolite 5-HNMP und 2-HMSI sowie der NEP-Metabolite 5-HNEP und 2-HESI angegeben.

Werte unterhalb der Bestimmungsgrenzen (LOQ) der Metabolite 2-HMSI und 2-HESI (0,002 mg/L), und 5-HNMP und 5-HNEP (0,0025 mg/L) wurden mit LOQ/2 angegeben, was rechnerisch für 2-HMSI und 2-HESI einen Wert von 0,001 mg/L, sowie für 5-HNMP und 5-HNEP einen Wert von 0,00125 mg/L (gerundet 0,001 mg/L) ergibt.

⁵ Die Bestimmungsgrenze von HNEP und HNMP ist 0,0025 mg/L, was gerundet einen Wert von 0,003 mg/L ergibt.

Tabelle 30 Deskriptive statistische Kenngrößen zum Nachweis von 5-HNMP, 2-HMSI, 5-HNEP und 2-HESI in Urin bei 52 Probanden.

	5-HNMP [mg/L]	2-HMSI [mg/L]	5-HNEP [mg/L]	2-HESI [mg/L]
LOQ	0,003	0,002	0,003	0,002
n	52	52	52	52
n > LOQ	37	36	12	36
Wertebereich	0,001 ^{5*} - 0,323	0,001*- 0,188	0,001 ^{5*} - 0,418	0,001*- 0,164
Mittelwert	0,070	0,046	0,019	0,020
Median	0,049	0,039	0,001	0,006
Varianz	0,007	0,002	0,004	0,001
90. Perzentil	0,213	0,103	0,019	0,073

* LOQ/2

5.2.2 Interne Qualitätssicherung

Es wurden insgesamt sieben Serien mit jeweils einem Q low und einem Q high Wert bestimmt. Ein Q high Standard ging in einer Serie aufarbeitungsbedingt verloren. Da Q low passte, wurde auf eine Wiederholung der Serie verzichtet.

Tabelle 31 Daten zur internen Qualitätssicherung für die Analyten 5-HNMP, 2-HMSI, 5-HNEP und 2-HESI.

Konzentrationen [mg/L]	5-HNMP	2-HMSI	5-HNEP	2-HESI
Q low				
Sollwert	0,051	0,052	0,087	0,058
Sollwertbereich	0,036-0,066	0,033-0,071	0,055-0,119	0,042-0,074
Bereich der bestimmten Konzentrationen	0,045-0,058	0,051-0,069	0,070-0,099	0,051-0,072
Mittelwert	0,050	0,059	0,084	0,063
Median	0,047	0,056	0,083	0,062
Varianz	0,000	0,000	0,000	0,000
90. Perzentil	0,057	0,069	0,093	0,069
Q high				
Sollwert	0,290	0,310	0,478	0,335
Sollwertbereich	0,227-0,353	0,213-0,374	0,396-0,560	0,227-0,442
Bereich der bestimmten Konzentrationen	0,262-0,325	0,296-0,361	0,432-0,524	0,296-0,358
Mittelwert	0,289	0,334	0,472	0,333
Median	0,284	0,335	0,475	0,345
Varianz	0,000	0,001	0,001	0,001
90. Perzentil	0,312	0,361	0,505	0,357

6 Arbeitspaket 4.4 Bestimmung von Phthalaten und den Phthalatersatzstoffen in Urin – Teilpaket 4.4.1 Phthalate

Im Arbeitspaket 4.4 wurden die Konzentrationen von ausgewählten Phthalat-Metaboliten und Metaboliten von Phthalat-Ersatzstoffen bestimmt. Die Metabolite der folgenden Phthalate wurden untersucht: Di-(2-ethylhexyl)phthalat (DEHP) (Teil 1 Pretest), Di-*n*-butylphthalat (DnBP), Di-*iso*-butylphthalat (DiBP), Butylbenzylphthalat (BBzP), Diethylphthalat (DEP), Di-*iso*-nonylphthalat (DiNP), Di-*iso*-decylphthalat (DiDP), Dimethylphthalat (DMP), Di-*n*-pentylphthalat (DnPeP), Di-*n*-octylphthalat (DnOP), Dicyclohexylphthalat (DCHP). Dabei wurden folgende Metabolite betrachtet: 5-oxo-Mono-(2-ethylhexyl)phthalat (5oxo-MEHP), 5-Hydroxy-mono(2-ethylhexyl)-phthalat (5OH-MEHP) und 5-Carboxy-mono-(2-ethylhexyl)phthalat (cx-MEPP) für DEHP, Mono-*n*-butylphthalat (MnBP), Mono-hydroxy-*n*-butylphthalat (OH-MnBP) und Mono-3-carboxy-*n*-propylphthalat (MCP) für DnBP; Mono-*iso*-butylphthalat (MiBP) und Mono-Hydroxy-*iso*-butylphthalat (OH-MiBP) für DiBP; Mono-butylbenzylphthalat (MBzP) für BBzP; Mono-ethylphthalat (MEP) für DEP; Mono-hydroxy-*iso*-nonylphthalat (OH-MiNP), Mono-oxy-*iso*-nonylphthalat (oxo-MiNP), Mono-carboxy-*iso*-octylphthalat (cx-MiNP) für DiNP; Mono-hydroxy-*iso*-decylphthalat (OH-MiDP), Mono-oxy-*iso*-decylphthalat (oxo-MiDP), Mono-carboxy-*iso*-nonylphthalat (cx-MiDP) für DiDP; Mono-methylphthalat (MMP) für DMP, Mono-*n*-pentylphthalat (MnPeP) für DnPeP, Mono-*n*-octylphthalat (MnOP) für DnOP und Mono-cyclohexylphthalat (MCHP) für DCHP (siehe auch Tabelle 32).

6.1 Materialien und Methoden

Die Konzentrationen der Phthalat-Metabolite wurden über HPLC-MS/MS bestimmt.

In der Probenvorbereitung wurden zu 300 µL Urin 100 µL Ammoniumacetat (1M,) und 6 µL Glucuronidase K12-Lösung sowie 10 µL interner Standard (isotopenmarkierte Analoge) zugegeben. Nach Inkubation bei 37°C für 2 Stunden wurden 10 µL Eisessig zugegeben und die Proben eingefroren. Am darauffolgenden Tag wurden die Proben aufgetaut, bei 3000 rpm für 10 Minuten zentrifugiert und in ein Glasvial überführt. Es wurden 200 µL injiziert.

Die Analyse erfolgte mittels HPLC-MS/MS mit online Anreicherung, als Anreicherungssäule wurde eine Capcell PAK (5u C18-MG-II GuardCartridge (10 x 4mm), Phenomenex) genutzt. Bei der analytischen Säule handelt es sich um eine Atlantis dC18 (2.1 x 150mm; 3µm; Waters). Die Proben wurden im Lösungsmittelgradienten vermessen mit 0,05% Essigsäure und Acetonitril als Laufmittel.

Tandem-massenspektrometrisch wurden analytspezifische Fragmentationen-Übergänge im MRM (multiple reaction monitoring) Modus aufgenommen. Anhand dieser spezifischen Fragmentationen-Übergänge wurde über Isotopenverdünnungsanalyse (Verhältnis der Peakintensitäten Analyt zu Isotopenstandard) quantifiziert.

Tabelle 32 Übersicht über die Phthalat-Metaboliten und deren zugehörige Bestimmungsgrenzen.

Phthalate	Metabolite	Bestimmungsgrenze [$\mu\text{g/L}$]
DEHP (Di-(2-ethylhexyl)-phthalat)	MEHP, 5OH-MEHP, oxo-MEHP, 5cx-MEHP	MEHP: 0,5; alle anderen: 0,2
DnBP (Di- <i>n</i> -butylphthalat)	MnBP, OH-MnBP, MCP	MnBP: 1,0; OH-MnBP: 0,3 ⁶ ; MCP: 0,5
DiBP (Di-iso-butylphthalat)	MiBP, OH-MiBP	MiBP: 1,0; OH-MiBP: 0,36
BBzP (Butylbenzylphthalat)	MBzP	0,2
DEP (Diethylphthalat)	MEP	0,5
DiNP (Di- <i>iso</i> -nonylphthalat)	OH-MiNP, oxo-MiNP, cx-MiNP	0,2
DiDP (Di- <i>iso</i> -decylphthalat)	OH-MiDP, oxo-MiDP, cx-MiDP	0,2
DMP (Dimethylphthalat)	MMP	1
DnPeP (Di- <i>n</i> -pentylphthalat)	MnPeP	0,2
DnOP (Di- <i>n</i> -octylphthalat)	MnOP	0,2
DChP (Di-cyclohexylphthalat)	MCHP	0,2

6.2 Ergebnisse

6.2.1 Konzentrationen der Phthalat-Metabolite in den untersuchten Urinen

In 52 Urinproben wurden die Konzentrationen der Phthalat-Metaboliten der folgenden Phthalate bestimmt: Di-(2-ethylhexyl)phthalat, Di-*n*-butylphthalat (DnBP), Di-iso-butylphthalat (DiBP), Butylbenzylphthalat (BBzP), Diethylphthalat (DEP), Di-iso-nonylphthalat (DiNP), Di-iso-decylphthalat (DiDP), Dimethylphthalat (DMP), Di-*n*-pentylphthalat (DnPeP), Di-*n*-octyl-phthalat (DnOP) und Dicyclohexylphthalat (DChP). In den folgenden Tabellen sind die Ergebnisse zu den verschiedenen Phthalat-Metaboliten zusammengefasst.

Tabelle 33 Deskriptive statistische Kenngrößen zum Nachweis von MEHP, 5OH-MEHP, 5oxo-MEHP, cx-MEPP (sowie die Summe aus 5OH- und 5oxo-MEHP), MnBP, OH-MnBP, MCP, MiBP, OH-MiBP, MBzP, MEP, MMP, OH-MiNP, oxo-MiNP, cx-MiNP, OH-MiDP, oxo-MiDP, cx-MiDP, MnPeP, MnOP und MCHP in Urin bei 52 Probanden.

	LOQ [$\mu\text{g/L}$]	<i>n</i> (kein Analysenergebnis)	<i>n</i> > LOQ	Wertebereich [$\mu\text{g/L}$]	Mittelwert [$\mu\text{g/L}$]	Median [$\mu\text{g/L}$]	Varianz [$\mu\text{g/L}$]	90. Perzentil [$\mu\text{g/L}$]
MEHP	0,5	52	36	0,3*-20,1	2,8	1,5	17,1	6,1
5OH-MEHP	0,2	52	37	0,1*-82,6	12,6	9,6	233,3	26,2
5oxo-MEHP	0,2	52	37	0,1*-77,8	10,5	7,5	172,2	22,4
cx-MEPP	0,2	52	37	0,1*-55,4	12,9	9,6	184,2	32,6
Summe 5OH- und 5oxo-MEHP		52		0,2** -160,4	23,6	16,6	805	48,9
MnBP	1,0	52	37	0,5*-229,3	40,8	32,4	2230,9	96,7
OH-MnBP	0,3	52	37	0,1*-22,8	3,0	1,2	22,4	5,9

⁶ Bestimmungsgrenze liegt bei 0,25 $\mu\text{g/L}$, aufgrund der Beschränkung auf nur eine signifikante Nachkommastelle ergibt sich 0,3 $\mu\text{g/L}$. Für LOQ/2 resultiert ein Wert von 0,125 $\mu\text{g/L}$, der gerundet als 0,1 $\mu\text{g/L}$ angegeben wird.

	LOQ [µg/L]	n (kein Analyse- ergebnis)	n > LOQ	Werte- bereich [µg/L]	Mittel- wert [µg/L]	Median [µg/L]	Varianz [µg/L]	90. Perzentil [µg/L]
MCPP	0,5	52	33	0,3*-10,2	1,3	0,7	3,3	3,1
MiBP	1,0	52 (1)	36	0,5*-129,5	36,4	34	1176,1	89,1
OH-MiBP	0,3	52	37	0,1*-80,5	12,9	10,3	222,2	30,3
MBzP	0,2	52	37	0,1*-31,5	5,6	3,7	53,4	12,2
MEP	0,5	52	37	0,3*-749,4	59,7	18,5	19807,3	117
MMP	1,0	52 (1)	36	0,5*-72,8	11,5	8,7	196,1	26,3
OH-MiNP	0,2	52	37	0,1*-82,8	8,2	4,5	174,5	17,2
oxo-MiNP	0,2	52	37	0,1*-36,0	4,1	2,4	42,1	7,7
cx-MiNP	0,2	52	37	0,1*-46,7	6,4	4,1	92,1	9,9
OH-MiDP	0,2	52	36	0,1*-15,2	2,3	1,4	9,5	5,9
oxo-MiDP	0,2	52	32	0,1*-4,3	0,7	0,4	0,7	1,5
cx-MiDP	0,2	52	37	0,1*-41,4	1,9	0,8	31,7	2,8
MnPeP	0,2	52	0	0,1*	0,1	0,1	0	0,1
MnOP	0,2	52	0	0,1*	0,1	0,1	0	0,1
MCHP	0,2	52	1	0,1*-1,5	0,1	0,1	0	0,1

*LOQ/2

** Addition von zwei LOQ/2-Werten.

Für keine der untersuchten Proben lag die Summe aus 5OH- und 5oxo-MEHP über dem HBM I Wert von 500 µg/L sowie dem Referenzwert (RV95) von 370 µg/L (5oxo-MEHP: 150 µg/L plus 5OH-MEHP: 220 µg/L).

Zur internen Qualitätssicherung wurden in den zwei Analysenserien jeweils zwei laborinterne Kontrollurine mit niedriger (Q low) und hoher (Q high) Konzentration gemessen. Bei den Kontrollurinen handelt es sich um Poolurine von Realproben mit unterschiedlich nativ vorhandenen Metabolitkonzentrationen. Die jeweiligen Metabolit-Konzentrationen sind im Einklang mit dem Kalibrierbereich der Methode und repräsentieren bis dato bestimmte übliche Konzentrationen aus dem arbeitsmedizinischen und/oder umweltmedizinischen Hintergrund.

Tabelle 34 Daten zur internen Qualitätssicherung für die Analyten MEHP, 5OH-MEHP, 5oxo-MEHP, cx-MEPP, Analyten MnBP, OH-MnBP, MCPP, OH-MiBP, MBzP, MEP, MMP, OH-MiNP, oxo-MiNP, cx-MiNP, OH-MiDP, oxo-MiDP und cx-MiDP.

	Sollwert [µg/L]	Sollwertbereich [µg/L]	Bereich der bestimmten Konzentrationen [µg/L]	Sollwert [µg/L]	Sollwertbereich [µg/L]	Bereich der bestimmten Konzentrationen [µg/L]
	Q low			Q high		
MEHP	1,0	0,8-1,2	0,9-1,1	34,3	25,4-43,2	33,0-44,3
5OH-MEHP	3,5	3,0-4,0	3,5	100	79,0-120,9	99,8-102,2
5oxo-MEHP	3,4	3,2-3,7	3,2-3,3	84,8	79,6-90,1	79,4-84,7
cx-MEPP	5,3	4,5-6,1	4,7-5,2	107,8	88,4-127,3	91,2-104,4
MnBP	6,5	5,1-7,9	5,6-7,4	349,9	297,4-402,3	346,4-361,7
OH-MnBP	0,5	0,3-0,7	0,5-0,7	33,3	21,3-45,2	30,1-38,8
MCPP	0,2	0,05-0,4	0,3*	8,5	7,3-9,8	8,5-9,0
MiBP	7,4	6,3-8,5	7,2-7,4	86,3	73,3-99,2	87,1-90,5
OH-MiBP	4,1	3,5-4,7	4,0-4,2	28,9	24,5-33,2	27,5-31,3
MBzP	1,3	1,0-1,6	1,1-1,3	36,3	30,9-41,8	35,1-40,4
MEP	35,8	30,4-41,1	33,7-35,5	624,9	531,1-718,6	616,2-628,7
MMP	2,7	0,9-4,5	1,0-2,2	35,6	20,3-51,0	24,2-36,6
OH-MiNP	1,0	0,7-1,3	0,8-1,3	45,6	38,7-52,4	44,8-48,7
oxo-MiNP	0,6	0,5-0,7	0,6-0,7	35,6	29,1-42,1	39,3-39,7
cx-MiNP	1,5	1,3-1,7	1,5	35,3	30,0-40,6	34,2-35,6
OH-MiDP	-	-	-	28,6	24,3-32,9	29,1
oxo-MiDP	-	-	-	9,8	7,5-12,1	11,1-11,2
cx-MiDP	-	-	-	16,0	10,0-21,9	19,9-20,2

*Es konnte nur ein Wert bestimmt werden.

Es wurden keine Konzentrationen im Q low Standard für die drei DiDP-Metabolite bestimmt, es handelt sich bei den Kontrollurinen um native Urine, im Q low Standard lagen diese Metaboliten (aufgrund von Verdünnungs- bzw. Mischeffekten) unterhalb des LOQ.

Für die Analyten MnPeP, MnOP und MCHP wurden keine Konzentrationen für den Q low und Q high Standard bestimmt. Es handelt sich bei beiden laborinternen Kontrollurinen um nativen Urin, die Metaboliten konnten nicht detektiert werden.

Arbeitspaket 4.4 Bestimmung von Phthalaten und den Phthalatersatzstoffen im Urin – Teilpaket 4.4.2 DINCH

Arbeitspaket 4.4.2 beinhaltet die Bestimmung der spezifischen Di(isononyl)cyclohexan-1,2-dicarbonsäureester-(DINCH-)Metabolite Cyclohexan-1,2-dicarbonsäure-mono-hydroxyisononylester (OH-MINCH), Cyclohexan-1,2-dicarbonsäure-mono-carboxyisooctylester (cx-MINCH) und Cyclohexan-1,2-dicarbonsäure-mono-oxoisononylester (oxo-MINCH).

6.3 Materialien und Methoden

Die Analytik der DINCH-Metabolite im Urin erfolgte nach der wissenschaftlich publizierten Methode (Schütze et al. 2012 – siehe Quellenverzeichnis). Kurz zusammengefasst wurden MINCH, OH-MINCH und cx-MINCH sowie die deuterierten Analoga D2-MINCH, D2-cx-MINCH und D4-OH-MINCH als Standards und interne Standards synthetisiert. Für diese Zielsubstanzen erfolgte der Nachweis in Urin über eine online flüssig-flüssig Chromatographie (Agilent LC 1200) gekoppelt mit Tandem-Massenspektrometrie (AB Sciex 5500 QTrap). Zur Probenvorbereitung wurden die Urine mit einem Ammoniumacetat-Puffer auf pH 6 eingestellt, mit β -Glucuronidase (K12, Merck, Darmstadt) versetzt und bei 37°C für 2 Stunden zur Spaltung möglicher Konjugate hydrolysiert. Oxo-MINCH, für das zum Zeitpunkt der Messungen kein Standard vorlag, wurde semi-quantitativ⁷ über Fragmentmuster analog zu OH-MINCH mitbestimmt. Die Quantifizierung erfolgte über Isotopenverdünnungsanalyse. Die Bestimmungsgrenze der drei Metabolite liegt bei 0,05 $\mu\text{g/L}$.

6.4 Ergebnisse

6.4.1 Konzentrationen der DINCH-Metabolite in den untersuchten Urinen

Die Konzentrationen der spezifischen DINCH-Metabolite OH-MINCH, oxo-MINCH und cx-MINCH wurden für 52 Urinproben bestimmt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 35 zusammengefasst.

Tabelle 35 Deskriptive statistische Kenngrößen zum Nachweis von OH-MINCH, oxo-MINCH und cx-MINCH in Urin bei 52 Probanden.

	OH-MINCH [$\mu\text{g/L}$]	oxo-MINCH [$\mu\text{g/L}$]	cx-MINCH [$\mu\text{g/L}$]
LOQ	0,050	0,050	0,050
<i>n</i>	52	52	52
<i>n</i> > LOQ	37	37	37
Wertebereich	0,025*-12,900	0,025*-6,296	0,025*-6,300
Mittelwert	2,401	1,085	1,242
Median	1,390	0,579	0,813
Varianz	9,512	1,085	2,214
90. Perzentil	5,769	2,684	3,651

*LOQ/2

⁷ Die Bestimmung von oxo-MINCH erfolgt semi-quantitativ über den Quotienten zwischen der Peakfläche von oxo-MINCH und der des internen Standards von OH-MINCH. Dieser Quotient wird in Bezug zur Kalibrierung von OH-MINCH gesetzt um die Konzentration zu errechnen.

6.4.2 Interne Qualitätssicherung

Die Konzentrationen von zwei laborinternen Kontrollurinen im niedrigen und hohen Konzentrationsbereich (Q low und Q high) wurden in den zwei Probenserien für OH-MINCH und cx-MINCH ebenfalls bestimmt. Bei den Kontrollurinen handelt es sich um Poolurine von Realproben, die bereits bei der Methodvalidierung verwendet wurden. Die jeweiligen Metabolit-Konzentrationen sind im Einklang mit dem Kalibrierbereich der Methode und repräsentieren bis dato bestimmte übliche Konzentrationen aus dem arbeitsmedizinischen und/oder umweltmedizinischen Hintergrund. Für OH-MINCH wurden Konzentrationen von 9,190 µg/L und 8,820 µg/L für den niedrig konzentrierten Q low Standard (Sollwert 9,660 µg/L und Sollwertbereich 7,74 µg/L bis 11,59 µg/L) sowie 46,700 µg/L und 48,000 µg/L für den höher konzentrierten Q high Standard (Sollwert 46,090 µg/L und Sollwertbereich 41,710 µg/L bis 50,480 µg/L) bestimmt. Alle Konzentrationen liegen innerhalb des Sollwertbereichs. Für cx-MINCH wurden die Konzentrationswerte 3,310 µg/L und 3,470 µg/L für den Q low Standard bestimmt (Sollwert 3,21 µg/L, Sollwertbereich 2,47 µg/L bis 3,94 µg/L). Für den Q high Standard wurden 16,400 µg/L und 16,300 µg/L bestimmt (Sollwert 14,52 µg/L und Sollwertbereich 12,330 µg/L bis 16,700 µg/L). Alle bestimmten Konzentrationen für cx-MINCH liegen innerhalb des Soll-Konzentrationsbereichs.

7 Arbeitspaket 4.4 Bestimmung von Phthalaten und den Phthalatersatzstoffen im Urin – Teilpaket 4.4.3 DPHP

Im Teilpaket 4.4.3 wurden die Konzentrationen der Di-(2-propylheptyl)-phthalat (DHPH)-Metaboliten Mono-2-(propyl-6-hydroxyheptyl)-phthalat (OH-MPHP), Mono-2-(propyl-6-carboxyhexyl)-phthalat (cx-MPHxP) und Mono-2-(propyl-6-oxoheptyl)-phthalat (oxo-MPHP) in 51 Urinproben aus dem Jahr 2013 bestimmt. Die Analytik wurde durch den Kooperationspartner Currenta durchgeführt.

7.1 Materialien und Methoden

Die analytische Bestimmung von Mono-2-(propyl-6-hydroxyheptyl)-phthalat (OH-MPHP), Mono-2-(propyl-6-carboxyhexyl)-phthalat (cx-MPHxP) und Mono-2-(propyl-6-oxoheptyl)-phthalat (oxo-MPHP) erfolgte unter Anwendung der Kapillargaschromatographie (GC) mit anschließender Detektion mittels hochauflösender Massenspektrometrie (HRMS).

In der Probenvorbereitung wurden 1 mL Urin mit 2000 µL Ammoniumacetatpuffer (1M, pH 6.5), 10 µL der jeweils vierfach ringdeuterten analogen internen Standards (Konz: 1 mg/L) und 10 µL β -Glucuronidase (Sigma G 7017) versetzt. Im Anschluss wurden die Proben für 3 Stunden bei 37°C im Brutschrank inkubiert. Nach der durchgeführten Probenaufreinigung wurden die Komponenten mit 1,1,1,3,3,3-Hexafluorisopropanol derivatisiert. Es wurde 1 µL in das GC-HRMS-System injiziert.

Die analytische Trennung erfolgte auf einer Optima 17- fused silica Kapillarsäule (60 m x 0.25 mm, 0.25 µm, Macherey Nagel). Als Trägergas wurde Helium mit einer linearen Gasgeschwindigkeit von 30 cm/s eingesetzt. Die Trennung der Komponenten wurde mithilfe eines Temperaturprogrammes durchgeführt. Für die Detektion wurden die Massenfragmente von m/z 495.1399 (cx-MPHxP, Rt: 25.38 min), m/z 312.1762 (OH-MPHP, Rt: 32.59 min) und m/z 319.1545 (oxo-MPHP, Rt: 33.01 min) im negativen CI-mode mit Ammoniak als Reaktantgas genutzt. Die Bestimmungsgrenzen liegen bei 0,30 µg/L für OH-MPHP, 0,25 µg/L für oxo-MPHP und 0,15 µg/L für cx-MPHxP.

7.2 Ergebnisse

7.2.1 Konzentrationen der DPHP-Metabolite in den untersuchten Urinen

Es standen 51 Urinproben (Aliquot I) zur Bestimmung der Konzentrationen der DPHP-Metabolite OH-MPHP, oxo-MPHP und cx-MPHxP zur Verfügung. Die Ergebnisse sind in Tabelle 36 zusammengefasst.

Tabelle 36 Deskriptive statistische Kenngrößen zum Nachweis von OH-MPHP, oxo-MPHP und cx-MPHxP in Urin bei 51 Probanden.

	OH-MPHP [$\mu\text{g/L}$]	oxo-MPHP [$\mu\text{g/L}$]	cx-MPHxP [$\mu\text{g/L}$]
LOQ	0,30	0,25	0,15
<i>n</i>	51	51	51
<i>n</i> > LOQ	20	17	0
Wertebereich	0,150*-3,814	0,125*-3,269	0,075*
Mittelwert	0,507	0,404	0,075
Median	0,150	0,125	0,075
Varianz	0,529	0,381	0,000
90. Perzentil	1,113	0,921	0,075

*LOQ/2

7.2.2 Interne Qualitätssicherung

Zur Qualitätssicherung wurden in den sechs Probenserien jeweils zwei laborinterne Kontrollurine (QS 1, QS 5) verwendet. Der Sollwert für den QS 1 Standards beträgt für alle drei Analyten 1,00 $\mu\text{g/L}$ und der zugehörige Sollwertbereich reicht von 0,80 $\mu\text{g/L}$ bis 1,20 $\mu\text{g/L}$. Für den QS 5 Standard ist der Sollwert 5,00 $\mu\text{g/L}$ mit einem zugehörigen Sollwertbereich von 4,00 $\mu\text{g/L}$ bis 6,00 $\mu\text{g/L}$ für alle drei Analyten. Die bestimmten OH-MPHP-Konzentrationen des niedrig konzentrierten QS 1 Standards liegen zwischen 0,954 $\mu\text{g/L}$ und 1,091 $\mu\text{g/L}$. Alle bestimmten Konzentrationen liegen innerhalb des Sollwertbereichs. Die bestimmten OH-MPHP-Konzentrationen des höher konzentrierten QS 5 Standards liegen zwischen 4,829 $\mu\text{g/L}$ und 4,957 $\mu\text{g/L}$. Für den niedrig konzentrierten QS1 Standard wurden oxo-MPHP-Konzentrationen zwischen 0,914 $\mu\text{g/L}$ und 1,067 $\mu\text{g/L}$ bestimmt. Der Wertebereich der bestimmten Konzentrationen für den QS 5 Standards reicht von 4,966 $\mu\text{g/L}$ bis 5,572 $\mu\text{g/L}$ (Sollwert 5,00 $\mu\text{g/L}$ und Sollwertbereich 4,00 $\mu\text{g/L}$ bis 6,00 $\mu\text{g/L}$). Die bestimmten cx-MPHxP-Konzentrationen für den QS 1 Standard liegen zwischen 1,011 $\mu\text{g/L}$ und 1,03 $\mu\text{g/L}$ und die bestimmten Konzentrationen für den QS5 Standard liegen zwischen 4,896 $\mu\text{g/L}$ und 5,179 $\mu\text{g/L}$. Alle bestimmten Konzentrationen liegen innerhalb des jeweiligen Sollwertbereichs.

8 Arbeitspaket 4.5 Bestimmung von Metaboliten von polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen (PAK) in Urin

Arbeitspaket 4.5 beinhaltet die Bestimmung von PAK-Metaboliten. Es handelt sich dabei um 1-Hydroxypyren. Die Konzentrationen von 1-Hydroxypyren wurden im ersten Teilabschnitt des Projektes durchgeführt.

Die Hydroxyphenanthrene (It. Ausschreibung 1-Hydroxyphenanthren, 2/9-Hydroxyphenanthren, 3-Hydroxyphenanthren und 4-Hydroxyphenanthren) konnten nicht termingerech qualitätsgesichert bestimmt werden. Studien und Daten der letzten Jahre zeigten (Li et al. 2006; 2010), dass der Phenanthren-Metabolit 9-Hydroxyphenanthren während der analytisch-chemischen Aufarbeitung instabil ist und sich teilweise abbaut. Im 4. Report zum NHANES (National Health and Nutrition Examination Survey) der USA wurde 9-Hydroxyphenanthren deshalb aus dem berichteten Parameterspektrum gestrichen (CDC, Fourth National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals, 2009). Aufgrund der Problematik der 9-Hydroxyphenanthren-Bestimmung kann auch der Summenparameter aus 2/9-Hydroxyphenanthren nach bestehender Methode nicht verlässlich angegeben werden. Als Konsequenz dieser Erkenntnis wurde entschieden, eine neue Methode zur Bestimmung von 1-Hydroxy-, 2-Hydroxy-, 3-Hydroxy- und 4-Hydroxyphenanthren mittels Flüssigchromatographie zu entwickeln, die die chromatographische Abtrennung des 9-Hydroxyphenanthrens vom 2-Hydroxyphenanthren sicherstellt. Diese Methode sollte eine Alternative zu den in NHANES verwendeten Methoden darstellen (siehe oben), in der die 2-/9-Hydroxyphenanthren-Problematik aufgrund der verwendeten gas-chromatographischen Trennung nicht zum Tragen kommt. Während der Methodvalidierung zeigte sich jedoch, dass die Robustheit der Methode derzeit nicht den gestellten Anforderungen entspricht. Es konnten zudem im Bereich der erwarteten Hintergrundbelastungen keine vollständigen Daten zur Präzision und Wiederfindung erhalten werden. Die Methode konnte deshalb bis dato als solche nicht zur Bestimmung der Konzentrationen der Hydroxyphenanthrene genutzt werden.

Folglich wurden die Konzentrationen der Metabolite 1-Hydroxy-, 2-Hydroxy-, 3-Hydroxy- und 4-Hydroxyphenanthren im Pretest nicht bestimmt.

8.1 Materialien und Methoden

Die analytische Bestimmung von 1-Hydroxypyren erfolgte mithilfe der Hochleistungs-flussigchromatographie (HPLC) mit online Anreicherung und fluorimetrischer Detektion.

In der Probenvorbereitung wurden 500 μL Urin mit 500 μL Acetatpuffer (0,05 M, pH 5, 0,1% Triton X) und 5 μL β -Glucuronidase/Arylsulfatase versetzt. Im Anschluss wurden die Proben für 2,5 Stunden bei 37°C im Wasserbad inkubiert. Nach Zentrifugation bei 4000 rpm für 10 Minuten wurden die Proben in ein Glasvial überführt. Es wurden 100 μL injiziert.

Als Anreicherungssäule wurde eine Turbo Flow Phenyl-Säule (0,5 \times 50 mm, Thermo Scientific) genutzt. Zur analytischen Trennung wurde eine Sunshell C18 (3,0 \times 150 mm, 2,6 μm , Nacalai) verwendet. Als Laufmittel wurden Citronensäure (1 g/L) mit 10% Methanolanteil und Methanol eingesetzt. Die Anreicherung und die analytische Trennung erfolgten im Lösungsmittelgradienten bei 20°C und die Detektion erfolgte mittels Fluorimetrie bei Wellenlängen von $\lambda_{\text{Ex}} = 350 \text{ nm}$ und $\lambda_{\text{Em}} = 390 \text{ nm}$.

8.2 Ergebnisse

8.2.1 Bestimmte Konzentrationen von 1-Hydroxypyren

Die Ergebnisse des PAK-Metaboliten 1-Hydroxypyren (1-OH-Pyren) sind in Tabelle 37 dargestellt.

Tabelle 37 Deskriptive statistische Kenngrößen zum Nachweis von 1-OH-Pyren in Urin bei 52 Probanden.

	1-OH-Pyren [$\mu\text{g/L}$]
LOQ	0,02
<i>n</i>	52
<i>n</i> > LOQ	37
Wertebereich	0,01*-0,56
Mittelwert	0,12
Median	0,10
Varianz	0,01
90. Perzentil	0,21

*LOQ/2

8.2.2 Interne Qualitätssicherung von 1-Hydroxypyren

Zur internen Qualitätssicherung wurde Kontrollmaterial von GEQUAS (GEQUAS 50/2012) verwendet. Es wurden zwei verschiedene Konzentrationen in der Probenserie genutzt: 0,10 $\mu\text{g/L}$ und 0,84 $\mu\text{g/L}$. Der Sollbereich für den niedrig konzentrierten GEQUAS-Standard liegt zwischen 0,04 $\mu\text{g/L}$ und 0,16 $\mu\text{g/L}$, der Sollbereich für den hohen GEQUAS-Standard liegt zwischen 0,57 $\mu\text{g/L}$ und 1,11 $\mu\text{g/L}$. Die Konzentrationen der GEQUAS-Standards, die in der einen Analysenserie mitbestimmt wurden, lagen für den niedrig konzentrierten GEQUAS-Standard bei 0,12 $\mu\text{g/L}$ und für den hoch konzentrierten GEQUAS-Standard bei 0,66 $\mu\text{g/L}$.

9 Arbeitspaket 4.6 Bestimmung von Quecksilber in Urin

Im Arbeitspaket 4.6 wurde die Quecksilberkonzentration von 51 Urinproben bestimmt. Die Analytik wurde durch den Kooperationspartner Ruhr-Universität Bochum, Abteilung für Hygiene, Sozial- und Umweltmedizin durchgeführt.

9.1 Materialien und Methoden

Die Bestimmung von Quecksilber in Urinproben erfolgte mittels Kaltdampf-Atomabsorptionsspektrometrie.

Zu 1,2 mL Urin wurden 1,2 mL konzentrierte Salpetersäure in ein 15-mL-Zentrifugenröhrchen pipettiert und intensiv durchmischt. Nach 15 Minuten wurden zu den Proben 1,2 mL Mischsäure (4,2 mL konzentrierte Schwefelsäure, 8,3 mL konzentrierte Salpetersäure und 1 g Kaliumdichromat pro Liter) zugegeben und mit bidestilliertem Wasser auf 12 mL aufgefüllt.

Die Messung wurde nach der Kaltdampftechnik mit einem Atomabsorptionsspektrometer Cetac M-6000 A Mercury Analyzer mit automatischem Probengeber Cetac ASX 500 durchgeführt. Die Kalibrierung erfolgte mit wäßrigen Standardlösungen im Bereich von 50 ng/L bis 2000 ng/L. Die Bestimmungsgrenze (LOQ) liegt bei 0,1 µg/L.

9.2 Ergebnisse

9.2.1 Bestimmte Quecksilber-Konzentrationen

Insgesamt wurden 51 Urinproben untersucht. Für 25 Proben wurden Konzentrationen über der Bestimmungsgrenze erhalten.

Tabelle 38 Deskriptive statistische Kenngrößen zum Nachweis von Quecksilber in Urin bei 51 Probanden.

	Hg [µg/L]
LOQ	0,10
<i>n</i>	51
<i>n</i> > LOQ	25
Wertebereich der Konzentrationen	0,05*-0,56
Mittelwert	0,15
Median	0,05
Varianz	0,02
90. Perzentil	0,36

*LOQ/2

9.2.2 Interne Qualitätssicherung

Zur internen Qualitätssicherung wurde in den acht Analysenserien das Referenzmaterial RECIPE ClinChek Level I (Urin) Lot 122 verwendet (Sollwert: 2,48 µg Hg/L; Bereich: 1,74 bis 3,22 µg/L). Für jede der acht Messserien wurde die Konzentration an Quecksilber für eine Probe des Referenzmaterials bestimmt mit Messwerten zwischen 2,1 µg/L und 2,7 µg/L. Der Mittelwert für die Quecksilberkonzentrationen des Referenzmaterials lag bei 2,43 µg/L, der Median bei 2,45 µg/L und die Varianz bei 0,03 µg/L.

10 Arbeitspaket 4.7 Bestimmung von Metallen (Cadmium, Cd) und Edelmetallen

Im Arbeitspaket 4.7 wurde die Konzentration von Cadmium in 52 Urinproben bestimmt. Die Analytik wurde durch den Kooperationspartner Ruhr-Universität Bochum, Abteilung für Hygiene, Sozial- und Umweltmedizin durchgeführt. Die Konzentrationen der Edelmetalle Gold, Platin und Palladium wurden nicht bestimmt (siehe Angebot).

10.1 Materialien und Methoden

Die Bestimmung von Cadmium erfolgt mithilfe der flammenlosen Atomabsorptionsspektrometrie in Anlehnung an DFG, Analysen in biologischen Materialien, Cadmium, Bestimmung in Harn (Cadmium [BiomonitoringMethods in German language, 1985e]).

Zu 4 mL der mit Salpetersäure angesäuerten, gut durchmischten Proben (pH < 4) wurden 500 µL Extraktionslösung (680 mg Hexamethylenammonium-hexamethylendithiocarbamidat (HMA-HMDC) in 15 mL Xylol gelöst und mit Diisopropylketon auf 50 mL aufgefüllt) gegeben. Nach intensivem Schütteln und Zentrifugieren der Probe, wurde die organische Phase mittels GF-AAS (Geräte Perkin Elmer SIMAA 6000 bzw. 6100) analysiert. Die Kalibrierung erfolgte gegen aufgestockte und extrahierte Urinproben (Standardadditionskalibrierung). Die Bestimmungsgrenze (LOQ) liegt bei 0,05 µg/L.

10.2 Ergebnisse

10.2.1 Bestimmte Cadmium-Konzentrationen

Es wurden 52 Urinproben analysiert. Die Ergebnisse sind in Tabelle 39 dargestellt.

Tabelle 39 Deskriptive statistische Kenngrößen zum Nachweis von Cadmium in Urin bei 52 Probanden.

	Cd [µg/L]
LOQ	0,05
<i>n</i>	52
<i>n</i> > LOQ	27
Wertebereich der Konzentrationen	0,03*- 0,27
Mittelwert	0,07
Median	0,06
Varianz	0,00
90. Perzentil	0,14

*LOQ/2

10.2.2 Interne Qualitätssicherung

Zur internen Qualitätssicherung wurde in den neun Analysenserien das Referenzmaterial Recipe ClinChek Level I (Urin) Lot 122 verwendet (Sollwert 2,42 µg Cd/L; Bereich 1,94 bis 2,90 µg/L). Die bestimmten Konzentrationen in den 9 Analysenserien für das Referenzmaterial liegen zwischen 2,1 µg/L und 2,8 µg/L. Der Mittelwert für die bestimmten Konzentrationen liegt bei 2,411 µg/L, der Median bei 2,400 µg/L und die Varianz beträgt 0,054 µg/L.

11 Arbeitspaket 4.8 Bestimmung von Arsen in Urin

Das Arbeitspaket 4.8 beinhaltet die Bestimmung der Arsen-Konzentrationen in 48 Urinproben. Die Analytik wurde durch den Kooperationspartner Ruhr-Universität Bochum, Abteilung für Hygiene, Sozial- und Umweltmedizin durchgeführt.

11.1 Materialien und Methoden

Die Bestimmung von Arsen im Urin erfolgte mittels Fließinjektions-Hydrid-Atomabsorptionsspektrometrie in Anlehnung an Guo et al. (1997).

1 mL der Urinprobe wurde mit 1 mL L-Cystein-Lösung (5 g L-Cystein auf 50 ml 0,03 M HCl) und 0,2 ml 1%iger Siliconentschäumerlösung versetzt und mit 8 ml bidest. Wasser aufgefüllt. Nach frühestens 90 min wurde die Probe per Fließinjektion (Perkin-Elmer FIAS 100) mit 0,5%iger Natriumborhydridlösung in 0,05% NaOH versetzt. Das gebildete Arsenhydrid wurde per Atomabsorptionsspektrometrie (Gerät: Perkin-Elmer 1100 B) gegen wäßrige Standardlösungen (Bereich 2 bis 20 µg/L) quantifiziert. Die Bestimmungsgrenze (LOQ) liegt bei 0,6 µg/L.

Anmerkung: Entgegen dem ursprünglichen Angebot erfolgte die Bestimmung des Arsens nicht nach dem sog. Batchverfahren, sondern mittels Fließinjektion. Diese Notwendigkeit ergab sich aus der Tatsache, dass die ursprünglich für die Messung vorgesehene Versuchsanordnung auch unter Inanspruchnahme eines Servicetechnikers nicht wieder derart hergestellt werden konnte, dass die notwendigen Qualitätsanforderungen an die Messung erreicht wurden (Empfindlichkeit, Reproduzierbarkeit). Die Versuchsanordnung wurde daraufhin auf die Methode der Fließinjektion umgebaut. In einer ersten Meßserie wurde die Vorreduktion der Proben unter Anwendung von Kaliumiodid/Ascorbinsäure durchgeführt. Mit dieser Methode wurde sowohl ein Ringversuch der INSTAND erfolgreich bestanden als auch das Referenzmaterial Recipe ClinCheck Level I Urin erfolgreich vermessen. Bei Anwendung auf native Urine wurden jedoch durch das UBA Minderbefunde vermutet, da der Maximalwert bei nur 2,34 µg/L lag und damit deutlich unterhalb des Kinder-Referenzwertes von 15 µg/L. Auch in der Stoffmonographie zu Arsen der UBA- HBM-Kommission von 2003 wurde auf eventuell zu niedrige Analysewerte unter bestimmten Bedingungen bei Verwendung der Fließinjektionsmethode hingewiesen. Die Vorreduktion wurde daraufhin auf L-Cystein umgestellt, für dessen Anwendung die Arbeit von Guo, T. et al. (Analytica Chimica Acta 349 (1997) 313-318) und Applikationsberichte 15 und 36 des Gerätehersteller Perkin Elmer LAS (Germany) GmbH sprachen. Zum Vergleich mit dem Batchverfahren wurden 20 Urine aus dem Kinderumweltsurvey 2003-2006, die seinerzeit mit dem Batchverfahren vermessen worden waren, erneut wiederholt mit dem Fließinjektionsverfahren vermessen. Dabei wurden zunächst zwei Meßserien der Proben am 03.02. und 18.02.2014 durchgeführt und die Vergleichbarkeit zu den Messungen aus den Jahren 2003-2006 überprüft. Eine dritte Meßserie wurde dann parallel zu den Messungen der Preteststudie am 03./04.03.2014 durchgeführt. Die Ergebnisse aus den Messungen wurden gemittelt und dienen als Grundlage für die nachfolgenden Vergleiche (s. Tabelle 40).

Tabelle 40 Bestimmte Arsen-Konzentrationen für 20 Urinproben des Kinder-Umweltsurveys aus den Jahren 2003-2006. Messungen aus den Jahren 2003-2006 mittels Batchverfahren mit einer Vorreduktion mit Kaliumiodid/Ascorbinsäure und Mittelwert der Messungen aus dem Jahr 2014 mittels Fließinjektionsverfahren mit einer Vorreduktion mit L-Cystein

KUS-Code	Batchverfahren mit einer Vorreduktion mit Kaliumiodid/Ascorbinsäure (2003-2006)	Fließinjektionsverfahren mit einer Vorreduktion durch L-Cystein (2014)
926038	1,4	1,05
932638	2,3	5,47
933571	2,5	1,55
935389	0,8	0,78
935907	2,8	3,42
921858	4,7	4,88
925388	15	17,64
925647	7,8	6,92
925781	4,5	2,63
926036	2,4	0,91
915773	3,7	3,41
916042	6,3	3,93
919873	2,5	1,93
920299	2,3	1,60
921598	3,9	2,54
912632	3,5	2,06
914221	4,2	4,08
914343	7,4	7,02
915253	2,7	1,53
915647	3,5	2,43

Dabei wurde eine große Übereinstimmung der Werte beider Verfahren gefunden: Beim t-Test für gepaarte Stichproben wurde kein Unterschied zwischen beiden Untersuchungsreihen festgestellt (Mittelwert Batchverfahren 4,21 µg/L, Mittelwert Fließinjektionsverfahren 3,79 µg/L, p=0,177).

Beide Messreihen sind hochgradig miteinander korreliert ($r^2=0,88$, Messwert Fließinjektionsverfahren = $-0,9567 + 1,1267 * \text{Messwert Batchverfahren}$, s. Abbildung 1).

Außerdem wurde die Interkorrelation gemäß Shrout & Fleiss (Psych. Bull., 86,420-428 (1979)) bestimmt. Hier ergab sich ein Wert von 0,96 (Mittelwert). Im nachfolgenden Bland-Altman-Diagramm (Abbildung 2) ist die Differenz beider Messwerte gegen den Mittelwert aufgetragen. Abweichungen, die den $1,96*SD$ -Bereich überschreiten, wurden nur bei 2 Proben festgestellt.

Bei allen Betrachtungen muss berücksichtigt werden, dass nicht ausgeschlossen werden kann, dass sich die Proben während der z. T. mehr als zehnjährigen Lagerung in ihrer Zusammensetzung verändert haben.

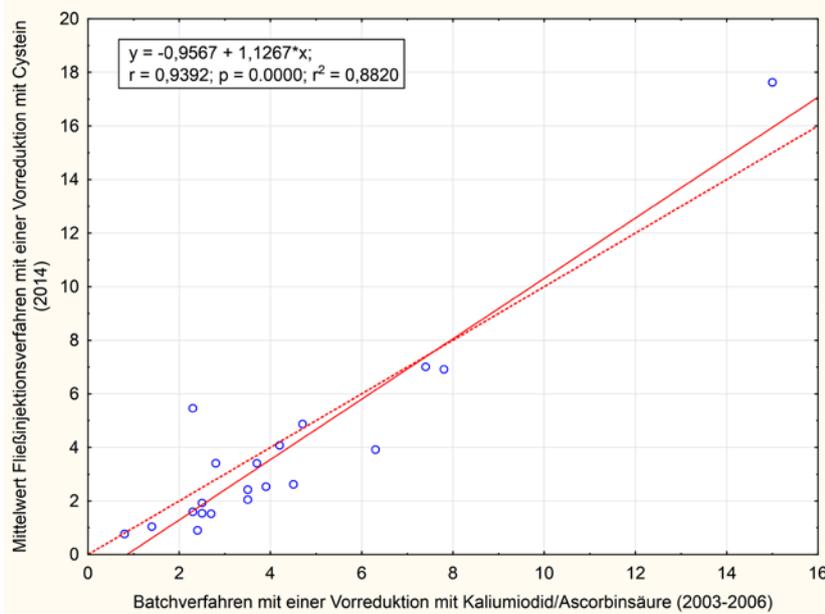


Abbildung 1 Auftragung der mittels Fließinjektionsverfahren mit einer Vorreduktion mit L-Cystein im Jahr 2014 gegen die mittels Batchverfahren mit einer Vorreduktion mit Kaliumiodid/Ascorbinsäure in den Jahren 2003-2006 gemessenen Arsenkonzentrationen im Urin

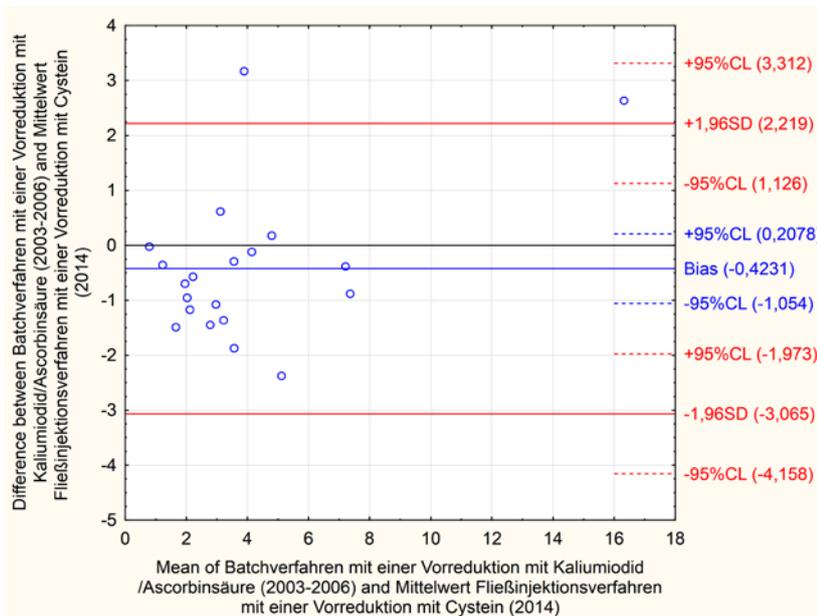


Abbildung 2 Auftragung der Differenz mittels Batchverfahren mit einer Vorreduktion mit Kaliumiodid/Ascorbinsäure in den Jahren 2003-2006 und mittels Fließinjektionsverfahren mit einer Vorreduktion mit L-Cystein im Jahr 2014 gemessenen Arsenkonzentrationen im Urin gegen die Mittelwerte beider Verfahren (Bland-Altman-Diagramm)

11.2 Ergebnisse

11.2.1 Bestimmte Arsen-Konzentrationen

Es wurden die Arsenkonzentrationen von 48 Urinproben bestimmt. Von diesen 48 Proben lagen die Konzentrationen von 14 Proben unterhalb der Bestimmungsgrenze von 0,6 µg/L und wurden somit auf LOQ/2 gesetzt (0,3 µg/L). Der Wertebereich der Proben mit Konzentrationen oberhalb der Bestimmungsgrenze liegt zwischen 0,87 µg/L und 10,15 µg/L.

Tabelle 41 Deskriptive statistische Kenngrößen zum Nachweis von Arsen in Urin bei 48 Probanden.

	Arsen [µg/L]
LOQ	0,60
<i>n</i>	48
<i>n</i> > LOQ	34
Wertebereich der Konzentrationen	0,30*-10,15
Mittelwert	3,02
Median	2,71
Varianz	7,01
90. Perzentil	6,79

*LOQ/2

11.2.2 Interne Qualitätssicherung

Zur internen Qualitätssicherung wurde das Referenzmaterial Recipe ClinChek Level I (Urin) Lot 122 verwendet (Sollwert 44,6 µg As/L; Bereich 35,7 bis 53,5 µg/L). Es wurden Werte (*n* = 16/17) von 38,9 µg/L bis 49,0 µg/L bestimmt. Der Mittelwert der Konzentrationen ist 43,51 µg/L und der Median 44,1 µg/L. Die Varianz beträgt 8,31 µg/L.

12 Arbeitspaket 4.9 Bestimmung von Organophosphaten in Urin

In 52 Urinproben wurden die Metaboliten der Organophosphat-Pestizide Chlorpyrifos und Methyl Chlorpyrifos bestimmt. Bei den Chlorpyrifos-Methyl-Metaboliten handelt es sich um Dimethylphosphat (DMP), Dimethylthiophosphat (DMTP) und Dimethyldithiophosphat (DMDTP). Die Chlorpyrifos-Metaboliten sind Diethylphosphat (DEP), Diethylthiophosphat (DETP) und Diethyldithiophosphat (DEDTP). Die Bestimmung wurde in Probenaliquot E vorgenommen. Da Probe 100118 in Probenaliquot E nicht vorhanden war, wurde diese mit aus Probenaliquot D bestimmt.

12.1 Materialien und Methoden

Es wurden 2 mL Urinprobe mit internen Standard versetzt und bei -20°C für ca. vier Stunden eingefroren. Im Anschluss wurden die Proben für 16 Stunden lyophilisiert. Im Anschluss erfolgte die Extraktion des Lyophilisates und Derivatisierung mittels Pentafluorbenzylbromid bei 40°C für 15 Stunden. Die Proben wurden im Anschluss extrahiert und mit Stickstoff eingeeengt. Die Analyse erfolgte mittels GC-MS/MS (Agilent Technologies) im Temperaturgradienten. Zur chromatographischen Trennung der Analyten wurde eine DB-35 (60 m, 10 m Vorsäule) genutzt. Die massenspektrometrische Detektion wurde im EI-Modus durchgeführt, es wurde eine MRM-Methode genutzt.

Die Bestimmungsgrenzen liegen für die Analyten DMP, DMTP, DMDTP, DEP und DETP bei $0,10\ \mu\text{g/L}$ und für den Analyten DEDTP bei $0,010\ \mu\text{g/L}$.

12.2 Ergebnisse

12.2.1 Bestimmte Konzentrationen der Organophosphate in Urin

In 52 Urinproben wurden die Konzentrationen der Organophosphate DMP, DMTP, DMDTP sowie DEP, DETP und DEDTP bestimmt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 42 zusammengefasst.

Tabelle 42 Deskriptive statistische Kenngrößen zum Nachweis von DMP, DMTP, DMDTP, DEP, DETP und DEDTP in Urin bei 52 Probanden.

	DMP [$\mu\text{g/L}$]	DMTP [$\mu\text{g/L}$]	DMDTP [$\mu\text{g/L}$]	DEP [$\mu\text{g/L}$]	DETP [$\mu\text{g/L}$]	DEDTP [$\mu\text{g/L}$]
LOQ	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,010
<i>n</i>	52	52	52	52	52	52
<i>n</i> > LOQ	36	37	16	37	35	13
Wertebereich	0,05*-20,14	0,05*-40,07	0,05*-1,62	0,05*-28,23	0,05*-17,38	0,005*-0,072
Mittelwert	4,15	6,09	0,14	4,33	1,63	0,011
Median	2,16	4,15	0,05	1,91	0,33	0,005
Varianz	28,57	71,35	0,07	39,29	9,71	0,000
90. Perzentil	13,42	16,93	0,20	9,79	5,24	0,026

*LOQ/2

12.2.2 Interne Qualitätssicherung

Zur internen Qualitätssicherung wurden in den drei Analysenserien jeweils zwei laborinterne Kontrollurine verwendet. Die Konzentrationen der Organophosphate in diesen Kontrollurinen wurden zusammen mit den Urinproben in den Probenreihen bestimmt. Bei den laborinternen Kontrollurinen handelt es sich um den niedrig konzentrierten Q low Standard und den höher konzentrierten Q high Standard. Alle bestimmten Konzentrationen liegen innerhalb der jeweiligen Sollwertbereiche.

Tabelle 43 Daten zur internen Qualitätssicherung der Organophosphate DMP, DMTP, DMDTP, DEP, DETP und DEDTP.

	DMP [µg/L]	DMTP [µg/L]	DMDTP [µg/L]	DEP [µg/L]	DETP [µg/L]	DEDTP [µg/L]
Q low						
Sollwert	13,34	14,98	9,54	14,46	9,31	10,71
Sollwertbereich	8,80- 17,88	8,88- 21,08	7,29-11,04	11,19- 17,73	7,34- 11,28	9,36-12,06
Bereich der bestimmten Konzentrationen	11,52- 14,36	13,67- 15,84	9,16-9,53	13,19- 15,34	8,77- 10,40	10,277- 11,029
Q high						
Sollwert	33,70	35,09	32,49	38,62	31,18	35,13
Sollwertbereich	14,53- 52,88	13,25- 56,93	16,22- 48,75	26,77- 50,48	17,32- 45,05	24,49-46,62
Bereich der bestimmten Konzentrationen	28,93- 34,03	32,37- 42,10	28,93- 29,39	34,23- 42,32	27,59- 30,69	32,341- 34,015

13 Arbeitspaket 4.10 Bestimmung von Parabenen in Urin

In 52 Urinproben aus dem Jahr 2013 wurden die Parabene Methylparaben (MeP), Ethylparaben (EtP), *iso*-Propylparaben (iPrP), *n*-Propylparaben (nPrP), *iso*-Butylparaben (iBuP) und *n*-Butylparaben (nBuP) sowie die umweltrelevanten Phenole Triclosan (TCS) und Triclocarban (TCC) bestimmt. Die Analyse erfolgte aus dem Probenaliquot C.

13.1 Materialien und Methoden

Es wurden 300 µL Urin mit 300 µL 1 M Ammoniumacetatpuffer (pH 5), 25 µL internen Standard und 6 µL β-Glucuronidase/Arylsulfatase-Lösung versetzt. Nach Inkubation im Wasserbad bei 37°C für 3,5 h wurden die Proben über Nacht eingefroren. Die aufgetauten Proben wurden bei 4000 x g für 15 min zentrifugiert und der Überstand in ein 1,8 mL Probengläschen überführt. Jeweils 100 µL der Lösung wurden in das HPLC-System (Agilent Technologies) injiziert.

Zur Extraktion der Analyten aus der Matrix wurde die Säulenschaltung mit zwei Säulen genutzt. Die Anreicherung erfolgte mit Hilfe der RAM-Phase (Restricted Access Material, LiChrospher RP-8 ADS (25µm) 25 x 4 mm RAM - Merck, Darmstadt, Deutschland), die chromatographische Auftrennung wurde mit einer C18-Reversed-Phase-Säule durchgeführt (Atlantis dC18 30 x 150 mm; 3 µm, Waters, Irland). Die Analytik wurde im Lösungsmittelgradienten durchgeführt.

Die Detektion der Analyten erfolgte über ein AB Sciex 5500 QTrap Tandemmassenspektrometer im Negativmodus. Die MS/MS-Messungen wurden im MRM-Modus durchgeführt. Die Quantifizierung erfolgte über Isotopenverdünnungsanalyse anhand der zu Beginn der Probenvorbereitung zugesetzten markierten internen Standardsubstanzen.

Die Bestimmungsgrenzen liegen für die Parabene (MeP, EtP, iPrP, nPrP, iBuP, nBuP) bei 0,50 µg/L und für die umweltrelevanten Phenole (TCS und TCC) bei 1,00 µg/L.

13.2 Ergebnisse

13.2.1 Bestimmte Konzentrationen der Parabene in Urin

In 52 Urinproben wurden die Konzentrationen der Parabene MeP, EtP, iPrP, nPrP, iBuP, nBuP und der umweltrelevanten Phenole TCS und TCC bestimmt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 44 zusammengefasst.

Tabelle 44 Deskriptive statistische Kenngrößen zum Nachweis von MeP, EtP, iPrP, nPrP, iBuP, nBuP, TCS und TCC in Urin bei 52 Probanden.

	MeP [µg/L]	EtP [µg/L]	iPrP [µg/L]	nPrP [µg/L]	iBuP [µg/L]	nBuP [µg/L]	TCS [µg/L]	TCC [µg/L]
LOQ	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	1,00	1,00
n (kein Analyseergebnis)	52 (3)	52	52	52	52	52	52	52
n > LOQ	34	28	1	23	1	3	11	0
Wertebereich der Konzentrationen	0,25*- 6820,00	0,25*- 459,00	0,25*- 2,57	0,25*- 3440,00	0,25*- 0,50	0,25*- 2,96	0,50*- 39,90	0,50*
Mittelwert	187,24	15,93	0,29	73,43	0,25	0,33	2,55	0,50
Median	4,03	0,71	0,25	0,25	0,25	0,25	0,50	0,50
Varianz	928569,70	5207,50	0,10	236193,40	0,00	0,16	47,40	0,00
90. Perzentil	166,20	8,16	0,25	15,09	0,25	0,25	6,51	0,50

*LOQ/2

13.2.2 Interne Qualitätssicherung

Zur internen Qualitätssicherung wurden zwei laborinterne Kontrollurine verwendet. Die Konzentrationen der Parabene MeP, EtP, iPrP, nPrP, iBuP und nBuP sowie der umweltrelevanten Phenole TCS und TCC in diesen Kontrollurinen wurden zusammen mit den Urinproben in der Probenserie bestimmt. Bei den laborinternen Kontrollurinen handelt es sich um den niedrig konzentrierten Q low Standard und den höher konzentrierten Q high Standard.

Tabelle 45 Daten zur internen Qualitätssicherung der Parabene MeP, EtP, iPrP, nPrP, iBuP, nBuP und der umweltrelevanten Phenole TCS und TCC.

Konzentration in µg/L	MeP	EtP	iPrP	nPrP	iBuP	nBuP	TCS	TCC
Q low								
Sollwert	19,70	4,30	3,40	7,20	3,30	3,40	4,70	1,40
Sollwertbereich	16,40- 23,00	3,00- 5,70	2,20- 4,60	5,10- 9,30	2,40- 4,20	2,50- 4,20	3,40- 5,90	0,80- 2,00
bestimmte Konzentration	22,60	4,45	2,70	6,77	2,97	3,24	4,23	1,21
Q high								
Sollwert	78,10	44,40	16,20	59,80	14,40	42,30	31,30	16,10
Sollwertbereich	59,50- 96,60	30,90- 58,00	10,50- 21,90	39,90- 79,60	8,80- 20,00	25,20- 59,40	21,90- 40,80	10,40- 21,80
Bestimmte Konzentration	81,80	41,60	12,20	53,40	12,20	36,80	24,10	14,70

14 Arbeitspaket 4.11 Bestimmung 2-Mercaptobenzothiazol in Urin

Arbeitspaket 4.11 beinhaltet die Konzentrationsbestimmung von 2-Mercaptobenzothiazol in 51 Urinproben (Aliquot H) aus dem Pretest zum 5. Umwelt-Survey. Die Analytik wurde durch den Kooperationspartner Currenta durchgeführt.

14.1 Materialien und Methoden

Die analytische Bestimmung von 2-Mercaptobenzothiazol (2-MBT) erfolgte unter Anwendung der Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) mit online Anreicherung und anschließender Detektion mittels Tandem-Massenspektrometrie (MS/MS).

In der Probenvorbereitung wurden 500 µL Urin mit 1000 µL Ammoniumacetatpuffer (1M, pH 6.5), 10 µL 2-MBT-d4 (ISTD: 10 mg/L) und 5 µL β-Glucuronidase (Sigma G 7017) versetzt. Im Anschluss wurden die Proben für 3 Stunden bei 37°C im Brutschrank inkubiert. Es wurden 100 µL in das HPLC-MS/MS-System injiziert.

Als Anreicherungssäule wurde eine Oasis HLB Säule (2.1 x 20 mm, 25 µm, Waters) verwendet. Die analytische Trennung erfolgte auf einer Zorbax Eclipse XDB-C8 (4.6 x 50 mm, 5 µm, Agilent). Als Laufmittel wurden Milli-Q-Wasser, Ameisensäure (1% in Milli-Q-Wasser) und Acetonitril eingesetzt. Die Anreicherung und die analytische Trennung erfolgten im Lösungsmittelgradienten bei 30°C. Für die Detektion wurden die Massenübergänge von m/z 167.93 nach m/z 135.09 (2-MBT) und m/z 171.95 nach m/z 139.11 (2-MBT-d4) im EI+-mode genutzt.

14.2 Ergebnisse

14.2.1 Bestimmte Konzentrationen von 2-Mercaptobenzothiazol

Es standen 51 Urinproben zur Bestimmung der Konzentration von 2-MBT zur Verfügung. In Tabelle 46 sind die statistischen Kennzahlen der bestimmten Konzentrationen von 2-MBT von 51 Urinproben angegeben. Konzentrationen unterhalb der Bestimmungsgrenze von 1,20 µg/L wurden auf LOQ/2 (0,60 µg/L) gesetzt. Insgesamt 10 der 51 Urinproben wiesen Konzentrationen über der Bestimmungsgrenze auf.

Tabelle 46 Deskriptive statistische Kenngrößen zum Nachweis von 2-Mercaptobenzothiazol in Urin bei 52 Probanden.

	2-MBT [µg/L]
LOQ	1,20
<i>n</i>	51
<i>n</i> > LOQ	10
Wertebereich der Konzentrationen	0,60*- 5,95
Mittelwert	0,98
Median	0,60
Varianz	0,98
90. Perzentil	1,74

*LOQ/2

14.2.2 Interne Qualitätssicherung

Zur internen Qualitätssicherung wurden in den sechs Analysenserien jeweils zwei laborinterne Kontrollurine mit verschiedenen Konzentrationen in den jeweilige Probenserien mitbestimmt. Für den niedrig konzentrierten REC 10 Standard wurden Konzentrationen von 8,06 µg/L bis 8,65 µg/L bestimmt. Der Sollwert für den Standard liegt bei 10,00 µg/L und der Sollwertbereich zwischen 8,00-12,00. Die bestimmten Konzentrationen für den REC 100 Standard liegen zwischen 86,56 µg/L und 95,61 µg/L, der Sollwert beträgt 100,00 µg/L mit einem zugehörigem Sollwertbereich von 80,00 µg/L bis 120,00 µg/L. Alle bestimmten Konzentrationen für die beiden Standards liegen innerhalb des jeweiligen Sollwertbereichs.

15 Quellenverzeichnis

Arsen [Biomonitoring Methods in German language, 1991]

Cadmium [BiomonitoringMethods in German language, 1985e]

Guo T, Baasner J, Tsalev DL, Fast automated determination of toxicologically relevant arsenic in urine by flow injection-hydride generation atomic absorption spectrometry, *Anal. Chim. Acta* 1997, 313 - 318.

Li Z, Romanoff LC, Trinidad DA, Hussain N, Jones R, Porter EN, Patterson DG jun., Sjödin A, Measurement of Urinary Monohydroxy Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Using Automated Liquid-Liquid Extraction and Gas Chromatography/Isotope Dilution High-Resolution Mass Spectrometry, *Anal. Chem.* 2006, 78, 5744-5751.

Li Z, Romanoff LC, Lewin MD, Porter EN, Trinidad DA, Needham LL, Patterson DG Jr, Sjödin A., J, Variability of urinary concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbon metabolite in general population and comparison of spot, first-morning, and 24-h void sampling, *Expo. Sci. Environ. Epidemiol.* 2010, 20(6):526-35.

Schütze A, Pälme C, Angerer J, Weiss T, Brüning T, Koch HM (2012), Quantification of biomarkers of environmental exposure to di(isononyl)cyclohexane-1,2-dicarboxylate (DINCH) in urine via HPLC-MS/MS, *J. Chromatogr. B* 2012, 895-896:123-130.