

The MAK Collection for Occupational Health and Safety

Methyl-*tert*-butylether – Bestimmung von Methyl-*tert*-butylether in Blut und Urin mittels Headspace-Gaschromatographie-Massenspektrometrie

Biomonitoring-Methode

H.-W. Hoppe¹, M. Zarniko¹, J. Müller², T. Göen^{3,*}, A. Hartwig^{4,*}, MAK Commission^{5,*}

¹ Methodenentwicklung, Medizinisches Labor Bremen, Haferwende 12, 28357 Bremen

² Methodenprüfung, Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Institut und Poliklinik für Arbeits-, Sozial- und Umweltmedizin, Schillerstraße 25 und 29, 91054 Erlangen

³ Methodenprüfung, Leitung der Arbeitsgruppe „Analysen in biologischem Material“ der Ständigen Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Institut und Poliklinik für Arbeits-, Sozial- und Umweltmedizin, Schillerstraße 25 und 29, 91054 Erlangen

⁴ Vorsitz der Ständigen Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Institut für Angewandte Biowissenschaften, Abteilung Lebensmittelchemie und Toxikologie, Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Adenauerring 20a, Geb. 50.41, 76131 Karlsruhe

⁵ Ständige Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Kennedyallee 40, 53175 Bonn

* E-Mail: T. Göen (thomas.goeen@fau.de), A. Hartwig (andrea.hartwig@kit.edu), MAK Commission (arbeitsstoffkommission@dfg.de)

Keywords: Methyl-*tert*-butylether; MTBE; Biomonitoring; Blut; Urin; Headspace-GC-MS

Citation Note: Hoppe H-W, Zarniko M, Müller J, Göen T, Hartwig A, MAK Commission. Methyl-*tert*-butylether – Bestimmung von Methyl-*tert*-butylether in Blut und Urin mittels Headspace-Gaschromatographie-Massenspektrometrie. Biomonitoring-Methode. MAK Collect Occup Health Saf [Original-Ausgabe. Weinheim: Wiley-VCH; 2018 Jan;3(1):434-454]. Korrigierte Neuveröffentlichung ohne inhaltliche Bearbeitung. Düsseldorf: German Medical Science; 2025. https://doi.org/10.34865/bi163404d0022_w

Neuveröffentlichung (Online): 12 Dez 2025

Vormals erschienen bei Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA; <https://doi.org/10.1002/3527600418.bi163404d0022>

Manuskript abgeschlossen: 10 Okt 2013

Erstveröffentlichung (Online): 24 Jan 2018

Zur Vermeidung von Interessenkonflikten hat die Kommission Regelungen und Maßnahmen etabliert.



Dieses Werk ist lizenziert unter einer
Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz.

Methyl tert-butyl ether (MTBE) – Determination of methyl tert-butyl ether (MTBE) in blood and urine using headspace gas chromatography mass spectrometry

[Methyl-tert-butylether – Bestimmung von Methyl-tert-butylether in Blut und Urin mittels Headspace-Gaschromatographie-Massenspektrometrie]

Biomonitoring Methods in German language

H.-W. Hoppe¹, M. Zarniko¹, J. Müller², T. Göen^{2,3,*}, A. Hartwig^{4,*}, MAK Commission^{5,*}

DOI: 10.1002/3527600418.bi163404d0022

Abstract

The working group “Analyses in Biological Materials” of the Permanent Senate Commission for the Investigation of Health Hazards of Chemical Compounds in the Work Area verified the present biomonitoring method. The described analytical method allows the specific and sensitive determination of methyl tert-butyl ether (MTBE) in blood and urine of persons occupationally exposed to this substance. The volatile MTBE is determined using static headspace GC-MS. Before analysing an aliquot of the headspace, the urine and blood samples are diluted 1:10 with water, spiked with internal standard and incubated for 45 min at 60 °C. The isotope-labelled d₅-MTBE serves as internal standard. Aqueous standard solutions are used for calibration. The method was extensively validated and the reliability data were confirmed by an independent laboratory, which has established and cross-checked the whole procedure.

Keywords

Methyl-tert-butylether; MTBE; Urin; Blut; Biomonitoring; Analysen in biologischem Material; Headspace-Gaschromatographie-Massenspektrometrie; HS-GC-MS

Author Information

¹ Entwickler der Methode, Medizinisches Labor Bremen, Haferwende 12, 28357 Bremen

² Prüfer der Methode, Institut und Poliklinik für Arbeits-, Sozial- und Umweltmedizin, Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Schillerstraße 25 und 29, 91054 Erlangen

³ Leiter der Arbeitsgruppe „Analysen in biologischem Material“, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Institut und Poliklinik für Arbeits-, Sozial- und Umweltmedizin, Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Schillerstraße 25 und 29, 91054 Erlangen

⁴ Vorsitzende der Ständigen Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Institut für angewandte Biowissenschaften, Abteilung Lebensmittelchemie und Toxikologie, Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Adenauerring 20a, Geb. 50.41, 76131 Karlsruhe

⁵ Ständige Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Kennedyallee 40, 53175 Bonn

* Email: T. Göen (thomas.goeen@fau.de), A. Hartwig (andrea.hartwig@kit.edu),
MAK Commission (arbeitsstoffkommission@dfg.de)

Methyl-*tert*-butylether (MTBE) – Bestimmung von Methyl-*tert*-butylether (MTBE) in Blut und Urin mittels Headspace-Gaschromatographie-Massenspektrometrie

Matrix:	Blut und Urin
Arbeitsstoffe:	Methyl- <i>tert</i> -butylether
Analyt. Messprinzip:	Headspace-Gaschromatographie mit massenselektiver Detektion (HS-GC-MS)
Abgeschlossen im:	Oktober 2013

Übersicht über die mit dieser Methode erfassbaren Parameter und die entsprechenden Arbeitsstoffe:

Arbeitsstoff	CAS	Parameter	CAS
Methyl- <i>tert</i> -butylether	1634-04-4	Methyl- <i>tert</i> -butylether	1634-04-4

Zusammenfassung

Das nachfolgend beschriebene Analysenverfahren erlaubt die empfindliche und spezifische Bestimmung von Methyl-*tert*-butylether (MTBE) in Blut und Urin von berufsbedingt gegen diese Substanz exponierten Personen. Der flüchtige MTBE wird mit dem Verfahren der statischen Headspace-GC-MS bestimmt. Dazu werden die Urin- bzw. Blutproben 1:10 mit Wasser verdünnt, mit internem Standard versetzt und ein Aliquot des Dampfraumes wird nach 45-minütiger Inkubation bei 60 °C analysiert. Als interner Standard wird die isotopenmarkierte Verbindung d₃-MTBE verwendet. Die Kalibrierung erfolgt mit wässrigen Standardlösungen.

Zuverlässigkeitsskriterien der Methode. Methyl-tert-butylether (MTBE) in Urin

Präzision in der Serie:	Standardabweichung (rel.)	$s_w = 1,8 \%$; $2,1 \%$ bzw. $0,6 \%$
	Streubereich	$u = 4,1 \%$; $4,8 \%$ bzw. $1,3 \%$
		bei einer dotierten Konzentration von $0,10$; $0,75$ bzw. $2,5 \text{ mg MTBE pro Liter Urin und } n = 10 \text{ Bestimmungen}$
Präzision von Tag zu Tag:	Standardabweichung (rel.)	$s_w = 7,1 \%$ bzw. $5,9 \%$
	Streubereich	$u = 18,3 \%$ bzw. $15,2 \%$
		bei einer dotierten Konzentration von $0,25$ bzw. $2,5 \text{ mg MTBE pro Liter Urin und } n = 6 \text{ Bestimmungen}$
Richtigkeit:	Wiederfindungsrate (rel.)	$r = 95,5\text{--}97,6 \%$
		bei einer dotierten Konzentration von $0,5 \text{ mg MTBE pro Liter Urin und } n = 10 \text{ Bestimmungen}$
Nachweisgrenze:	1,8 $\mu\text{g MTBE pro Liter Urin}$	
Bestimmungsgrenze:	6 $\mu\text{g MTBE pro Liter Urin}$	

Methyl-tert-butylether (MTBE) in Blut

Präzision in der Serie:	Standardabweichung (rel.)	$s_w = 1,5 \%$; $1,4 \%$ bzw. $0,8 \%$
	Streubereich	$u = 3,5 \%$; $3,1 \%$ bzw. $1,8 \%$
		bei einer dotierten Konzentration von $0,10$; $0,75$ bzw. $2,5 \text{ mg MTBE pro Liter Blut und } n = 10 \text{ Bestimmungen}$
Präzision von Tag zu Tag:	Standardabweichung (rel.)	$s_w = 6,7 \%$ bzw. $5,2 \%$
	Streubereich	$u = 17,2 \%$ bzw. $13,4 \%$
		bei einer dotierten Konzentration von $0,25$ bzw. $2,5 \text{ mg MTBE pro Liter Blut und } n = 6 \text{ Bestimmungen}$
Richtigkeit:	Wiederfindungsrate (rel.)	$r = 98,1\text{--}102 \%$
		bei einer dotierten Konzentration von $0,5 \text{ mg MTBE pro Liter Blut und } n = 10 \text{ Bestimmungen}$
Nachweisgrenze:	1,2 $\mu\text{g MTBE pro Liter Blut}$	
Bestimmungsgrenze:	4 $\mu\text{g MTBE pro Liter Blut}$	

Allgemeine Informationen zu Methyl-tert-butylether

Methyl-tert-butylether (MTBE) ist eine farblose, flüchtige Flüssigkeit mit einem charakteristischen ätherischen Geruch. Für den Menschen wird die mittlere Ge-

ruchsschwelle in der Luft mit 0,32–0,47 mL/m³ angegeben. Die Wasserlöslichkeit beträgt 42 g/L.

MTBE wird fast ausschließlich als Additiv für Kraftfahrzeugtreibstoffe verwendet. Als Treibstoffzusatz verbessert MTBE die Verbrennung und führt dadurch zu geringeren CO₂-Emissionen. Die MTBE-Konzentrationen im Benzin liegen in der Regel zwischen 2 und 5 % (w/w), wobei den Kraftstoffen maximal 15 % (w/w) MTBE zugesetzt werden [Römpf 2017]. Im Europäischen Wirtschaftsraum werden jährlich 1 000 000–10 000 000 t MTBE hergestellt bzw. in den EWR importiert [ECHA 2017].

Methyl-*tert*-butylether wird inhalativ und oral gut resorbiert, wohingegen die dermale Resorption bei offenem Hautkontakt wegen des hohen Dampfdruckes der Substanz vergleichsweise gering sein dürfte. Am Arbeitsplatz steht somit die inhalative Aufnahme im Vordergrund [Greim 2000]. Die pulmonale Retention von Methyl-*tert*-butylether beträgt beim Menschen für Expositionskonzentrationen von 5, 25 oder 50 mL/m³ unter leichter körperlicher Betätigung (2 Stunden, 50 Watt) ca. 40 % [Nihlén et al. 1998].

Das aufgenommene MTBE wird zum größten Teil oxidativ demethyliert, wobei die resultierenden Metabolite abgeatmet oder auch renal eliminiert werden. Das wichtigste Stoffwechselprodukt ist dabei der tertiäre Butylalkohol. Diese Verbindung kann weiter verstoffwechselt werden, wie zum 2-Methyl-1,2-propandiol, zur α-Hydroxyisobuttersäure und zum Formaldehyd [Brady et al. 1990; Nihlén et al. 1999]. Etwa 20 % des Methyl-*tert*-butylethers werden unverändert abgeatmet. Dabei liegt die Halbwertszeit für die Elimination über die Ausatemluft in der ersten Phase im Bereich von 1,3–2,9 min [Lindstrom und Pleil 1996]. Zu einem geringen Teil wird unverändertes MTBE auch renal eliminiert [Johanson et al. 1995; Nihlén et al. 1998].

Insgesamt werden weniger als 1 % der aufgenommenen MTBE-Menge unverändert oder in Form des *tert*-Butanols mit dem Urin ausgeschieden [Amberg et al. 1999; Johanson et al. 1995; Nihlén et al. 1998]. Die Ausscheidung von Methyl-*tert*-butylether bzw. der entsprechenden Metaboliten ist nach einmaliger Applikation innerhalb von 24 h weitgehend abgeschlossen. Bei Probanden wurde nach zweistündiger Exposition gegen 5, 25 oder 50 mL/m³ eine dreiphasige [Johanson et al. 1995] bzw. vierphasige [Nihlén et al. 1998] Elimination von Methyl-*tert*-butylether aus dem Blut mit Halbwertszeiten von ca. 10 und 90 min sowie 20 h bzw. 1, 10 und 90 min sowie 19 h beobachtet. Andere Autoren bestimmten bei Probanden, die vier Stunden gegen 4 oder 40 mL Methyl-*tert*-butylether/m³ exponiert wurden, für die Elimination aus dem Plasma eine Gesamthalbwertszeit von ca. 1,8 bzw. 2,6 h [Amberg et al. 1999]. Die Elimination mit dem Urin zeigt einen zweiphasigen Verlauf mit Halbwertszeiten von 0,3 und 3 h [Johanson et al. 1995; Nihlén et al. 1998].

Eine Akkumulation bei wiederholten Expositionen gegen MTBE ist wegen der raschen Verstoffwechslung und Elimination nicht zu erwarten.

Mit einer beruflichen Belastung gegen MTBE ist vor allem bei der Kraftstoffraf- fination, beim Transport des MTBE-versetzten Benzins sowie bei der Belieferung von Tankstellen zu rechnen. So wurden in einer finnischen Studie bei zwölf Tankwagenfahrern mittlere MTBE-Konzentrationen von $10 \pm 6,7 \mu\text{g}/\text{L}$ in Nachschicht-urinproben bestimmt [Saarinen et al. 1998]. Vainiotalo et al. [1998] untersuchten ebenfalls die MTBE-Belastung von Tankwagenfahrern und fanden im August bzw. Oktober mittlere Konzentrationen von 18,8 µg bzw. 12,6 µg MTBE pro Liter Blut

und 9,8 µg bzw. 4,1 µg MTBE pro Liter Urin. Aufgrund unterschiedlichen Studiendesigns hinsichtlich Expositionshöhe bzw. Expositionsdauer, Auswahl der Parameter und Zeitpunkt der Probenahme konnte aus diesen und auch aus weiteren Feldstudien bzw. Laboruntersuchungen kein BAT-Wert abgeleitet werden.

Die einzelnen Feldstudien und Laboruntersuchungen werden in der BAT-Dokumentation vergleichend dargestellt und ausführlich diskutiert [Drexler und Greim 2006]. In Blut- und Urinproben von beruflich nicht belasteten Personen konnten in der Regel keine Hintergrundbelastungen – weder für MTBE noch für seine Metaboliten – erfasst werden [Drexler und Greim 2006].

Eine ausführliche Darstellung der Toxizität von MTBE ist dem Concawe Report Nr. 97/54 [McKee et al. 1997], der TLV-Begründung für MTBE [ACGIH 2001], der ECETOC-Dokumentation [1997] sowie dem WHO-Report [1998] zu entnehmen.

Die aktuelle arbeitsmedizinisch-toxikologische Begründung des MAK-Wertes für MTBE basiert auf diesen Zusammenstellungen toxikologischer Daten und wurde durch neuere Daten ergänzt [Greim 2000]. Der MAK-Wert für MTBE wurde von der Kommission auf 50 mL/m³ bzw. 180 mg/m³ festgelegt. Darüber hinaus wurde MTBE in die Kategorie 3B des Abschnitts III (krebszerzeugende Arbeitsstoffe) der MAK- und BAT-Werte-Liste eingestuft [DFG 2017]. Eine Übersicht über die toxikologische Einstufung der Substanz durch die Kommission ist Tabelle 1 zu entnehmen.

Tab. 1 Einstufung von Methyl-tert-butylether durch die Kommission [DFG 2017].

Substanz	MAK-Wert	H-, S- Mark.	Krebs- erzeug. Kat.	Fruchtschädig. Kat.	Keimzell- mutagen Kat.	BW
Methyl-tert- butylether	50 mL/m ³ (ppm)	–	3B	C	–	–

BW: Beurteilungswerte in biologischem Material (BAT/EKA/BLW/BAR)

H: Gefahr der Hautresorption

S: Gefahr der Sensibilisierung

3B, C: siehe MAK- und BAT-Werte-Liste [DFG 2017]

Inhaltsverzeichnis

1	Grundlage des Verfahrens	439
2	Geräte, Chemikalien und Lösungen	439
2.1	Geräte	439
2.2	Chemikalien	440
2.3	Lösungen	440
3	Probenahme und Probenaufbereitung	442
3.1	Probenahme	442
3.2	Probenaufbereitung	442
4	Instrumentelle Arbeitsbedingungen	442
4.1	Headspace-Probenaufgabesystem	442
4.2	Gaschromatographie	443
4.3	Massenspektrometrie	443

5	Analytische Bestimmung	443
6	Kalibrierung	444
7	Berechnung der Analysenergebnisse	444
8	Standardisierung der Messergebnisse und Qualitätssicherung	445
9	Beurteilung des Verfahrens	445
9.1	Präzision	445
9.2	Richtigkeit	446
9.3	Nachweis- und Bestimmungsgrenzen	447
9.4	Störeinflüsse	448
10	Diskussion der Methode	448
11	Literatur	449
12	Anhang	451

1 Grundlage des Verfahrens

Das nachfolgend beschriebene Analysenverfahren erlaubt die empfindliche und spezifische Bestimmung von Methyl-*tert*-butylether (MTBE) in Blut und Urin von berufsbedingt gegen diese Substanz exponierten Personen. Der flüchtige MTBE wird mit dem Verfahren der statischen Headspace-GC-MS bestimmt. Dazu werden die Urin- bzw. Blutproben 1:10 mit Wasser verdünnt, mit internem Standard versetzt und ein Aliquot des Dampfraumes wird nach 45-minütiger Inkubation bei 60 °C analysiert. Als interner Standard wird die isotopenmarkierte Verbindung d₃-MTBE verwendet. Die Kalibrierung erfolgt mit wässrigen Standardlösungen.

2 Geräte, Chemikalien und Lösungen

2.1 Geräte

- Gaschromatograph mit massenselektivem Detektor, Headspace-Autosampler und Datensystem zur Auswertung
- Kapillargaschromatographische Säule: stationäre Phase: 5 %-Diphenyl-95 %-Dimethylpolysiloxan; Länge: 60 m; innerer Durchmesser: 0,32 mm; Filmdicke: 1 µm (z. B. Rtx-5, Restek Nr. 10257)
- Vortex (z. B. VTX-3000 L Mixer UZUSIO, LMS, Japan)
- Mikroliterpipetten, variabel zwischen 10 und 100 µL sowie zwischen 100 und 1000 µL mit passenden Pipettenspitzen (z. B. Eppendorf)
- Elektronische Pipette (z. B. Eppendorf Multipette®)
- 20 mL-Headspace-Gläschen (z. B. Macherey-Nagel)
- Aluminiumbördelkappen mit teflonkaschierten Butylgummisepten (z. B. Macherey-Nagel)
- Verschluss- und Öffnungszangen (z. B. Macherey-Nagel)

440 Biomonitoring Methods

- 10-mL-Messkolben (z. B. Brand)
- Analysenwaage (z. B. Sartorius)
- 10-mL-Urinröhren (z. B. Sarstedt Urin-Monovette®)
- 10-mL-EDTA-Blutentnahmeröhrchen (z. B. Sarstedt S-Monovette®)

2.2 Chemikalien

Wenn nicht anders angegeben, sind alle genannten Chemikalien von mindestens p.a.-Qualität zu verwenden.

- Methyl-*tert*-butylether (z. B. Merck, Nr. 101995)
- d₃-Methyl-*tert*-butylether (z. B. Aldrich, Nr. 434132)
- Methanol (z. B. Merck, Nr. 106009)
- Hochreines Wasser für die Chromatographie (z. B. Merck, Nr. 115333)
- Helium 4.6 (z. B. Linde)
- Urin von Personen ohne bekannte Exposition gegen MTBE
- Blut von Personen ohne bekannte Exposition gegen MTBE
- Rinderblut defibriniert, steril (z. B. ACILA, Nr. 2201025)

2.3 Lösungen

Interner Standard

• d₃-MTBE-Ausgangslösung (5 g/L)

50 mg d₃-MTBE werden in einen 10-mL-Messkolben eingewogen, in dem ca. 8 mL Methanol vorgelegt wurden. Es wird mit Methanol zur Marke aufgefüllt und gut gemischt. Die so angesetzte Lösung wird in gut schließenden Vials gelagert und ist bei -18 °C für mindestens sechs Monate stabil.

• d₃-MTBE-Dotierlösung (2,5 mg/L)

5 µL der d₃-MTBE-Ausgangslösung werden zu 10 mL hochreinem Wasser pipettiert. Die so angesetzte Lösung wird gut durchmischt.

Vergleichsstandards

• MTBE-Ausgangslösung (10 g/L)

In einen 10-mL-Messkolben werden ca. 8 mL Methanol vorgelegt. Dann werden 100 mg MTBE eingewogen. Es wird mit Methanol zur Marke aufgefüllt und gut durchmischt. Die so angesetzte Lösung ist bei -18 °C für mindestens sechs Monate stabil.

• MTBE-Arbeitslösung (100 mg/L)

In einen 10-mL-Messkolben werden ca. 8 mL Methanol vorgelegt. Dann werden 100 µL der Ausgangslösung hinzu pipettiert. Es wird mit Methanol zur Marke aufgefüllt und gut durchmischt. Die so angesetzte Lösung ist bei -18 °C für mindestens sechs Monate stabil.

- MTBE-Dotierlösung I (1 mg/L)

100 µL der Arbeitslösung werden in einen 10-mL-Messkolben pipettiert, in dem Wasser vorgelegt wurde. Es wird mit Wasser zur Marke aufgefüllt und gut durchmischt. Die so hergestellte MTBE-Dotierlösung I ist bei Raumtemperatur zwei Tage haltbar.

- MTBE-Dotierlösung II (0,1 mg/L)

1 mL der Dotierlösung I werden in einen 10-mL-Messkolben pipettiert. Es wird mit Wasser zur Marke aufgefüllt und homogenisiert. Die so hergestellte MTBE-Dotierlösung II ist bei Raumtemperatur zwei Tage haltbar.

Kalibrierlösungen

Die Kalibrierstandards werden jeweils frisch in Wasser angesetzt. Dazu werden die MTBE-Dotierlösungen gemäß dem in Tabelle 2 angegebenen Pipettierschema in 20-mL-Headspace-Vials mit hochreinem Wasser gemischt. Nach Zugabe von 50 µL der Dotierlösung des internen Standards werden die Kalibrierlösungen im Headspace-Autosampler inkubiert und mittels HS-GC-MS vermessen (siehe Abschnitt 3.2).

Tab. 2 Pipettierschema zur Herstellung der wässrigen Kalibrierstandards. Die angegebenen MTBE-Konzentrationen berücksichtigen bereits die 1:10 Verdünnung des Probenmaterials (siehe Abschnitt 3.2).

Kalibrierpunkt	Dotierung [mg/L]	Volumen Dotierlösung [µL]		Volumen Wasser [µL]
		I	II	
0	0	–	–	2000
1	0,01	–	20	1980
2	0,025	–	50	1950
3	0,05	–	100	1900
4	0,1	–	200	1800
5	0,25	50	–	1950
6	0,5	100	–	1900
7	0,75	150	–	1850
8	1,0	200	–	1800
9	1,5	300	–	1700
10	2,5	500	–	1500
11	5,0	1000	–	1000

3 Probenahme und Probenaufbereitung

3.1 Probenahme

Urin- und Blutproben beruflich exponierter Arbeiter sollten aufgrund der schnellen Elimination des nicht-metabolisierten MTBE unmittelbar nach Exposition genommen werden.

Die Urinproben werden in verschließbaren Urinbechern gesammelt und – sofern für den Versand notwendig – auf Urin-Monovetten gezogen. Die genommenen Urinproben sind eine Woche bei Raumtemperatur und zwei Wochen bei Lagerung im Kühlschrank ($5\text{--}8^\circ\text{C}$) stabil. Eine Lagerung der Urinproben bei -18°C wurde im Rahmen der Methodenentwicklung nicht getestet.

Für die Blutproben werden unter Verwendung von EDTA-Blutentnahmeröhrchen ca. 5 mL Vollblut aus der Armvene entnommen und die mit EDTA präparierten Monovetten gründlich gemischt. Die genommenen Blutproben sind eine Woche bei Raumtemperatur und zwei Wochen bei Lagerung im Kühlschrank ($5\text{--}8^\circ\text{C}$) stabil, dürfen aber nicht eingefroren werden.

3.2 Probenaufbereitung

Vor der Analyse werden die Proben auf Raumtemperatur gebracht und gut durchmischt. In einem 20-mL-Headspace-Gläschen werden zu 1,8 mL Wasser 0,2 mL der Probe (Blut oder Urin) und 50 μL der Dotierlösung des internen Standards gegeben. Das Gläschen wird verschlossen und die Probe auf einem Vortex-Mixer gut durchmischt. Die so erhaltenen Messlösungen sind mindestens 48 h bei Raumtemperatur stabil. Die Probe wird nun mittels statischer Headspace-GC-MS analysiert. Im Headspace-Autosampler wird die Probe dazu für 45 min bei 60°C inkubiert, damit sich für MTBE das Verteilungsgleichgewicht zwischen der flüssigen Phase und der Dampfraumphase einstellt.

4 Instrumentelle Arbeitsbedingungen

4.1 Headspace-Probenaufgabesystem

Equilibrierungszeit: 45 min bei 60°C

Transfer line: 130°C

Druckaufbau: 125 kPa während 30 s

Injektionszeit: 0,08 min

4.2 Gaschromatographie

Kapillarsäule:	Material:	Fused Silica
	Stationäre Phase:	Rtx-5 (5 %-Diphenyl-95 %-Dimethylpolysiloxan)
Länge:	60 m	
Innerer Durchmesser:	0,32 mm	
Filmdicke:	1 µm	
Detektor:	Massenselektiver Detektor (MSD)	
Temperaturen:	Säule:	Ausgangstemperatur 75 °C, 3 min isotherm, Anstieg mit 20 °C/min auf 190 °C, dann mit 40 °C/min auf 250 °C, 4 min isotherm bei Endtemperatur
	Injektor:	130 °C
	Interface:	230 °C
Trägergas:	Helium 4.6	
Fluss:	1,4 mL/min (Anfangsdruck: 58 kPa)	
Injectio:	Split ratio 2	

4.3 Massenspektrometrie

Ionisationsart:	Elektronenstoßionisation (EI)
Ionisationsenergie:	70 eV
Quellentemperatur:	200 °C
Quadrupoltemperatur:	150 °C
Dwell time:	30 ms
Elektronenmultiplier:	1,0 kV
Detektionsmodus:	Selected Ion Monitoring (SIM)

Alle anderen Parameter sind individuell vom Anwender der Methode zu optimieren. Die oben angeführten Parameter können nur als Anhaltspunkt dienen.

5 Analytische Bestimmung

Zur analytischen Bestimmung der nach Abschnitt 3 aufbereiteten Urinproben wird jeweils 1 mL der Headspace-Gashase in das GC-MS-System injiziert. Die beobachteten Retentionszeiten des Analyten und des internen Standards sowie die charakteristischen Massenspuren sind in Tabelle 3 gegeben.

Tab. 3 Retentionszeiten und detektierte Ionen.

Analyt	Retentionszeit [min]	Detektierte Ionen [m/z]
MTBE	5,60	73 ^a 74
d ₃ -MTBE	5,58	76 ^a 77

^a zur Quantifizierung herangezogene Ionenspur

Die in Tabelle 3 angegebenen Retentionszeiten können nur als Anhaltspunkt dienen. Der Anwender hat sich selbst von der Trennleistung der verwendeten Säule und des daraus resultierenden Retentionsverhaltens der Substanzen zu überzeugen. In Abbildung 1 ist beispielhaft das GC-MS-Chromatogramm eines mit 3,7 µg MTBE/L dotierten Poolurins abgebildet. Abbildung 2 zeigt das Chromatogramm einer mit 3,7 µg MTBE/L dotierten Humanblutprobe.

6 Kalibrierung

Zur Kalibrierung der Methode werden die unter Abschnitt 2.3 beschriebenen wässrigen Kalibrierlösungen mit internem Standard versetzt und mittels Headspace-GC-MS analysiert. Die Kalibriergerade wird erstellt, indem das Verhältnis der Peakflächen des Analyten und des internen Standards gegen die Analytkonzentration aufgetragen wird. Die Kalibriergerade ist unter den beschriebenen Analysenbedingungen im betrachteten Konzentrationsbereich zwischen der Nachweisgrenze und 5 mg/L linear. Abbildung 3 (im Anhang) zeigt exemplarisch Kalibriergeraden für MTBE im Konzentrationsbereich von 0,01 mg/L bis 5 mg/L, die in Wasser, Humanurin bzw. Humanblut angesetzt wurden. Unter Routinebedingungen wird auf wässriger Basis kalibriert.

7 Berechnung der Analysenergebnisse

Die Berechnung des Analytgehaltes in den Urin- bzw. Blutproben erfolgt mithilfe der zur Analysenserie gehörenden Kalibrierfunktion (Abschnitt 6). Mit dem ermittelten Quotienten der Peakflächen des MTBE und des internen Standards d₃-MTBE wird der Analytgehalt von der GC-MS-Auswertesoftware automatisch errechnet. Ermittelte Reagenzienleerwerte sind von den Analyseergebnissen der Realproben zu subtrahieren.

Wenn der Messwert einer Probe außerhalb des kalibrierten Arbeitsbereiches liegt, wird die jeweilige Probe in geeigneter Verdünnung erneut aufgearbeitet und gemessen.

8 Standardisierung der Messergebnisse und Qualitätssicherung

Zur Sicherung der Qualität der Analysenergebnisse wird gemäß den Richtlinien der Bundesärztekammer und den speziellen Vorbemerkungen dieser Methodensammlung verfahren [Bundesärztekammer 2008; Bader et al. 2010]. Zur Präzisionskontrolle werden bei jeder Analysenserie zwei Qualitätskontrollproben, eine mit niedriger (Q_{low}) und eine mit hoher (Q_{high}) Analytkonzentration, mitgeführt. Ein solches Referenzmaterial ist kommerziell nicht erhältlich und muss selbst hergestellt werden. Die Konzentration des Kontrollmaterials sollte innerhalb des relevanten Konzentrationsbereiches liegen.

Für die Qualitätskontrollprobe Q_{low} wird Rinderblut bzw. Humanurin mit 0,25 mg/L MTBE dotiert. Zur Herstellung der Qualitätskontrollprobe Q_{high} erfolgt eine Dotierung mit 2,5 mg/L MTBE. Das hergestellte Qualitätskontrollmaterial wird zu je 200 µL in Headspace-Gläschen aliquotiert und bis zur Analyse bei –18 °C tiefgefroren.

Bei jeder Analysenserie werden die Qualitätskontrollproben sowie ein Reagenzienleerwert, bestehend aus 2 mL hochreinem Wasser, mitanalysiert. Der Sollwert und die Toleranzbereiche des Qualitätskontrollmaterials werden im Rahmen einer Vorperiode ermittelt [Bader et al. 2010].

9 Beurteilung des Verfahrens

Die Zuverlässigkeit des Verfahrens wurde durch eine umfassende Validierung sowie durch Nachstellung und Validierung der Methode in einem zweiten, unabhängigen Labor bewiesen.

9.1 Präzision

Zur Ermittlung der Präzision in Serie wurde eine Poolurin- und eine Humanblutprobe mit MTBE in den Konzentrationen 0,10 mg/L, 0,75 mg/L und 2,5 mg/L dotiert, aufgearbeitet und analysiert. Die MTBE-Hintergrundgehalte betrugen im Urin < 0,003 mg/L und im Blut < 0,03 mg/L. Bei zehnfacher Bestimmung dieser Proben ergaben sich die in Tabelle 4 dokumentierten Präzisionen in Serie.

446 Biomonitoring Methods

Tab. 4 Präzision in Serie für die Bestimmung von Methyl-*tert*-butylether in Urin und Blut ($n = 10$).

Analyt	Dotierte Konzentration [mg/L]	Wiederfindung (rel.) [%]	Standardabweichung (rel.) s_w [%]	Streubereich u [%]
MTBE in Urin	0,10	101–107	1,8	4,1
	0,75	96,4–121	2,1	4,8
	2,5	97,6–99,4	0,6	1,3
MTBE in Blut	0,1	99,0–104	1,5	3,5
	0,75	102–105	1,4	3,1
	2,5	101–103	0,8	1,8

Die Bestimmung der Präzision von Tag zu Tag erfolgte durch Aufarbeitung und Analyse der Qualitätskontrollproben Q_{low} und Q_{high} an sechs unterschiedlichen Tagen. Die ermittelten Präzisionsdaten sind der Tabelle 5 zu entnehmen.

Tab. 5 Präzision von Tag zu Tag für die Bestimmung von Methyl-*tert*-butylether in Urin und Blut ($n = 6$).

Analyt	Dotierte Konzentration [mg/L]	Standardabweichung (rel.) s_w [%]	Streubereich u [%]
MTBE in Urin	0,25	7,1	18,3
	2,5	5,9	15,2
MTBE in Blut	0,25	6,7	17,2
	2,5	5,2	13,4

9.2 Richtigkeit

Zur Prüfung der Richtigkeit des Verfahrens wurden Wiederfindungsversuche durchgeführt. Dazu wurden je zehn verschiedene Urin- und Blutproben in einer Konzentration von 0,5 mg/L mit dem Analyten dotiert und analysiert. Die Ergebnisse zur relativen Wiederfindung sind in Tabelle 6 und die zur absoluten Wiederfindung in Tabelle 7 zusammengestellt.

Tab. 6 Relative Wiederfindung bei der Bestimmung von Methyl-*tert*-butylether in Urin und Blut ($n = 10$).

Analyt	Dotierte Konzentration [mg/L]	Wiederfindung (rel.)	
		Standardabweichung (rel.) [%]	Mittelwert (Bereich)
MTBE in Urin	0,5	0,7	98,9 (95,5–97,6)
MTBE in Blut	0,5	1,2	99,7 (98,1–102)

Tab. 7 Absolute Wiederfindung bei der Bestimmung von Methyl-*tert*-butylether in Urin und Blut ($n = 10$).

Analyt	Dotierte Konzentration [mg/L]	Wiederfindung (abs.)	
		Standardabweichung (rel.) [%]	Mittelwert (Bereich)
MTBE in Urin	0,5	2,3	103,6 (101–108)
MTBE in Blut	0,5	5,3	91,7 (88–96,8)

9.3 Nachweis- und Bestimmungsgrenzen

Die Nachweis- und Bestimmungsgrenzen von MTBE wurden nach DIN 32645 [1994] bestimmt. Dazu wurde eine äquidistante 10-Punkt-Kalibrierung im Konzentrationsbereich von 5 bis 50 µg/L in gepooltem Urin bzw. Blut erstellt und analysiert. Die errechneten Nachweis- und Bestimmungsgrenzen des Analyten sind in Tabelle 8 aufgeführt.

Tab. 8 Nachweis- und Bestimmungsgrenze des Methyl-*tert*-butylethers nach DIN 32645 [1994] ($n = 3$).

Analyt	Nachweisgrenze [µg/L]	Bestimmungsgrenze [µg/L]
MTBE in Urin	1,8	6
MTBE in Blut	1,2	4

9.4 Störeinflüsse

Bei Verwendung von Lösungsmitteln und Reagenzien des angegebenen Reinheitsgrades treten keine Störungen des MTBE-Nachweises auf. Eine Querempfindlichkeit gegenüber Diethylether, Diisopropylether, Tetrahydrofuran, 1,4-Dioxan, Methanol, Ethanol, n- und iso-Propanol, iso-Butanol, 1-Butanol, 2-Butanol, Aceton, Methylethylketon, Methylbutylketon und Methyl-iso-butylketon besteht nachweislich nicht. Mit der beschriebenen Methode werden routinemäßig Analysen von leichtflüchtigen halogenierten Kohlenwasserstoffen und BTX-Aromaten im Blut durchgeführt. Gegenseitige Störungen wurden nicht beobachtet. Da MTBE im analytischen Labor ein verbreitetes Lösungsmittel ist, muss konsequent auf Blindwerte geprüft werden.

10 Diskussion der Methode

Der leichtflüchtige aliphatische Ether MTBE kann vorteilhaft mit statischer Headspace-GC-MS analysiert werden. Durch den Wegfall von Flüssigextraktions- und Reinigungsschritten reduziert sich die Probenvorbereitung auf ein Minimum. Die hohe Empfindlichkeit der MS-Detektion erlaubt es, die Proben in 1:10-Verdünnung zu messen. Dadurch reduziert sich das benötigte Untersuchungsmaterial auf nur 200 µL und mögliche Matrixeffekte werden minimiert. Der Linearitätsbereich erstreckt sich von mindestens 0,005 bis 5 mg/L. Das Verfahren ist arbeitsmedizinisch ausgerichtet. Die Nachweisempfindlichkeit kann durch den Einsatz von 2 mL statt 0,2 mL Untersuchungsmaterial ca. fünf- bis zehnfach gesteigert werden.

Die Kalibrierung erfolgt für beide Untersuchungsmaterialien auf Wasserbasis. Simultan in Wasser und Humanblut angesetzte Kalibrierkurven waren linear und verliefen parallel (Abbildung 3, im Anhang). Dies bedeutet, dass Matrixeffekte keine signifikante Rolle spielen. Die sehr gute relative und absolute Wiederfindung in individuellen Urin- und Blutproben bestätigt diese Beobachtung (Tabelle 6 und 7).

Die Verwendung des strukturidentischen deuterierten d_3 -MTBE als internen Standard hat sich bewährt. Insbesondere die sehr hohe Wiederfindung und Präzision des Verfahrens ist darauf zurückzuführen. Abbildung 4 (im Anhang) zeigt die Massenspektren von nativem und deuteriertem MTBE. Selektive Massen sind demnach m/z 73 (Quantifier) und m/z 74 (Qualifier) für MTBE sowie m/z 76 für d_3 -MTBE. Falls zusätzliche Massen als Identitätsbeleg für MTBE benötigt werden, muss die Probe ohne d_3 -MTBE Zugabe erneut analysiert werden.

Das GC-MS-Verfahren ist hochselektiv. Als Trennsäule hat sich die Rtx-5 (5 %-Diphenyl-95 %-Dimethylpolysiloxan) bewährt. Vergleichbare Ergebnisse können auch auf einer Rtx-1701 (14 %-Cyanopropylphenyl-86 %-Dimethylpolysiloxan) und einer Rtx-624 (6 %-Cyanopropylphenyl-94 %-Dimethylpolysiloxan) erzielt werden. Unter Routinebedingungen wird aber der Rtx-5-Trennsäule Vorzug gegeben, da sie ein sehr geringes Säulenbluten und eine hohe thermische Belastbarkeit aufweist. Das Verfahren kann leicht um weitere Ether (u. a. THF, Diisopropylether, Diethylether), Alkohole und Ketone erweitert werden.

Die Nachweisgrenzen der Methode genügen nicht, um umweltbedingte MTBE-Belastungen beim Menschen zu erfassen, die im unteren ng/L-Bereich liegen. Zum sicheren Nachweis dieser sehr niedrigen Konzentrationen werden dynamische Headspace- [Bonin, 1995] oder Headspace-SPME-Verfahren [Scibetta, 2007] empfohlen.

Verwendete Messgeräte:

Headspace-Autosampler Turbomatrix (Perkin-Elmer) gekoppelt mit GC-MS-System QP2010+ (Shimadzu)

11 Literatur

- ACGIH (American Conference of Governmental Industrial Hygienists) (2001) Methyl tert-butyl-ether. In: Documentation of the Threshold Limit Values and Biological Exposure Indices, 7th Edition, Volume 1, ACGIH, Cincinnati, Ohio
- Amberg A, Rosner E, Dekant W (1999) Biotransformation and kinetics of excretion of methyl-tert-butyl ether in rats and humans. *Toxicol Sci* 51: 1–8
- Bader M, Barr D, Göen Th, Schaller KH, Scherer G, Angerer J, Arbeitsgruppe Analysen in biologischem Material (2010) Zuverlässigkeitsskriterien einer analytischen Methode. In: Angerer J und Hartwig A (Hrsg): Analytische Methoden zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Band 2: Analysen in biologischem Material, 19. Lieferung, Wiley-VCH, Weinheim
<https://doi.org/10.1002/3527600418.bireliabd0019>
- Bonin MA, Ashley DL, Cardinali FL, McCraw JM, Wooten JV (1995) Measurement of methyl tert-butyl ether and tert-butyl alcohol in human blood by purge-and-trap gas chromatography-mass spectrometry using an isotope-dilution method. *J Anal Toxicol* 19:187-191
- Brady JE, Xiao F, Ning SM, Yang CS (1990) Metabolism of methyl tertiary-butyl ether by rat hepatic microsomes. *Arch Toxicol* 64: 157–160
- Bundesärztekammer (2008) Richtlinien der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen. Dt Ärztebl 105: A341–355
- DFG (Deutsche Forschungsgemeinschaft) (2017) MAK- und BAT-Werte-Liste 2017, Ständige Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Mitteilung Nr. 53, Wiley-VCH, Weinheim
<https://doi.org/10.1002/9783527812110>
- Deutsche Industrie-Norm 32645 (1994) Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze, Beuth-Verlag, Berlin
- Drexler H und Greim H (Hrsg) (2006) Methyl-tert-butylether, Biologische Arbeitsstoff-Toleranz-Werte (BAT-Werte) und Expositionssäquivalente für krebserzeugende Arbeitsstoffe (EKA), 13. Lieferung, Wiley-VCH, Weinheim
<https://doi.org/10.1002/3527600418.bb163404d0013>
- ECETOC (European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals) (1997) Methyl tert-butyl ether (MTBE)-health risk characterisation. Technical Report (TR) 72, ECETOC, Brüssel
- ECHA (European Chemicals Agency) (2017) Information on registered substances. tert-butyl methyl ether (CAS Number 1634-04-4)
<https://echa.europa.eu/substance-information/-/substanceinfo/100.015.140>
(aufgerufen am 11.10.2017)

450 Biomonitoring Methods

- Greim H (Hrsg) (2000) Methyl-tert-butylether, Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten, 30. Lieferung, Wiley-VCH, Weinheim
<https://doi.org/10.1002/3527600418.mb163404d0030>
- Johanson G, Nihlen A, Löf A (1995) Toxicokinetics and acute effects of MTBE and ETBE in male volunteers. *Toxicol Lett* 82/83: 713–718
- Lindstrom AB, Pleil JD (1996) Alveolar breath sampling and analysis to assess exposure to methyl tertiary butyl ether (MTBE) during motor vehicle refueling. *J Air Waste Manag Assoc* 46: 676–682
- McKee R, Molyneux M, Simpson BJ (1997) The health hazards and exposures associated with gasoline containing MTBE. Report No 97/54, Concawe (The Oil Companies' European Organization for Environment, Health and Safety), Brüssel
- Nihlén A, Löf A, Johanson G (1998) Experimental exposure to methyl tertiary-butyl ether. I. Toxicokinetics in humans. *Toxicol Appl Pharmacol* 148: 274–280
- Nihlén A, Sumner SC, Löf A, Johanson G (1999) ¹³C(2)-labeled methyl tert-butyl ether: toxicokinetics and characterization of urinary metabolites in humans. *Chem Res Toxicol* 12: 822–830
- Römpp (2017) Thieme Römpf Online Lexikon, Georg Thieme Verlag KG, Stuttgart
- Saarinen L, Hakkola M, Pekari K, Lappalainen K, Aitio A (1998) Exposure of gasoline roadtanker drivers to methyl tert-butyl ether and methyl tert-amyl ether. *Int Arch Occup Environ Health* 71: 143–147
- Scibetta L, Campo L, Mercadante R, Foà V, Fustinoni S (2007) Determination of low level methyl tert-butyl ether, ethyl tert-butyl ether and methyl tert-amyl ether in human urine by HS-SPME gas chromatography/mass spectrometry. *Anal Chim Acta* 581: 53–62
- Vainiotalo S, Pekari K, Aitio A (1998) Exposure to methyl tert-butyl ether and tert-amyl methyl ether from gasoline during tank lorry loading and its measurement using biological monitoring. *Int Arch Occup Environ Health* 71: 391–396
- WHO (World Health Organization) (1998) Methyl-tertiary-butyl ether. Environmental Health Criteria 206, WHO, Genf

Entwickler der Methode: H.-W. Hoppe, M. Zarniko

Prüfer der Methode: Th. Göen, J. Müller

Leiter der Arbeitsgruppe „Analysen in biologischem Material“, Deutsche Forschungsgemeinschaft: Th. Göen

Vorsitzende der „Ständigen Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe“, Deutsche Forschungsgemeinschaft: A. Hartwig

Ständige Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Deutsche Forschungsgemeinschaft: MAK-Kommission

12 Anhang

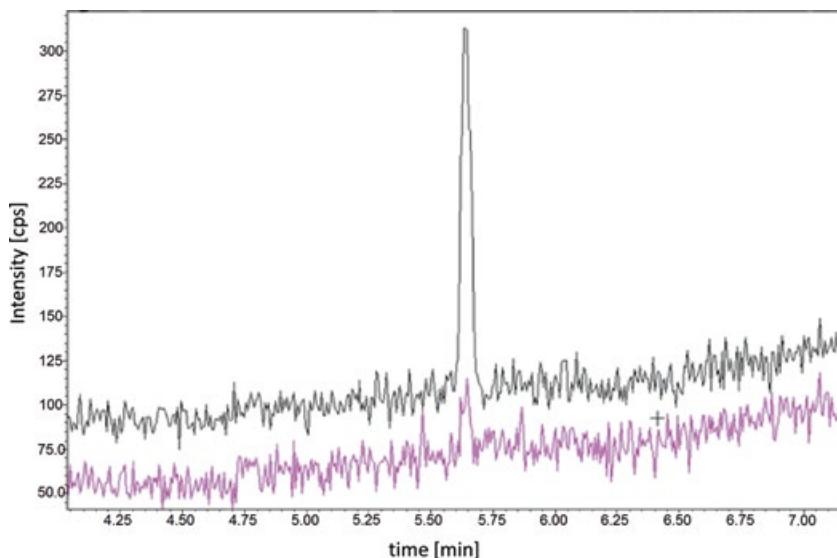


Abb. 1 GC-MS-Chromatogramm eines dotierten ($3,7 \mu\text{g/L}$) und eines undotierten Poolurins auf der Massenspur m/z 73.

452 Biomonitoring Methods

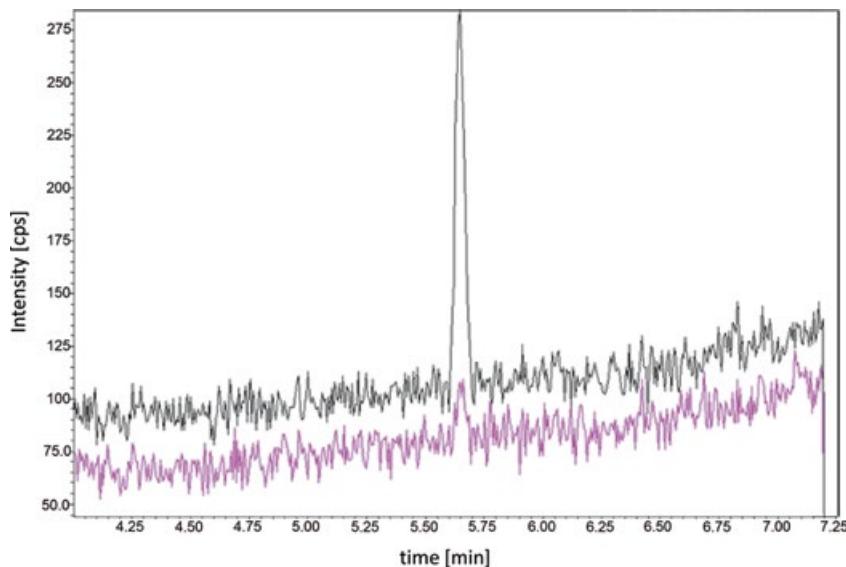


Abb. 2 GC-MS-Chromatogramm einer dotierten ($3,7 \mu\text{g/L}$) und einer undotierten Humanblutprobe auf der Massenspur m/z 73.

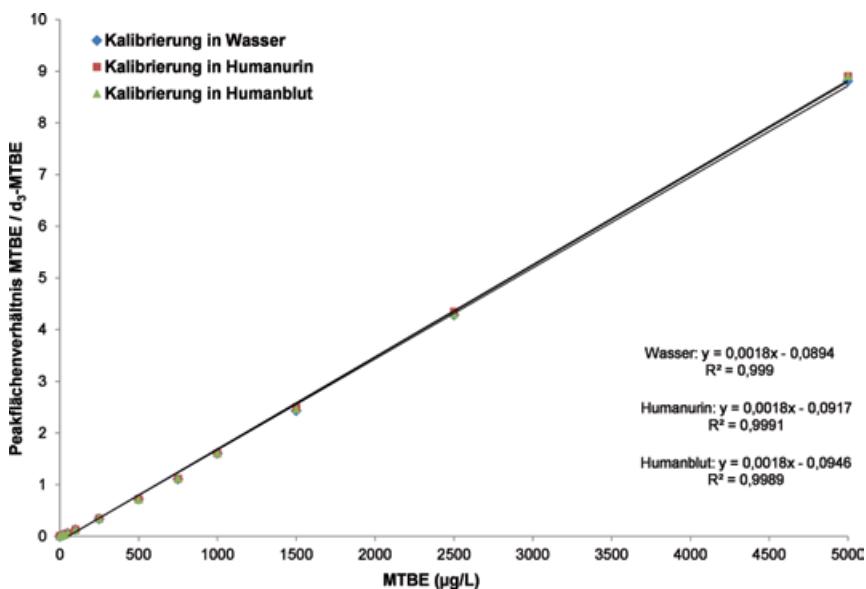


Abb. 3 Vergleich der Kalibriergeraden in Wasser, in gepooltem Humanurin sowie gepooltem Humanblut.

454 Biomonitoring Methods

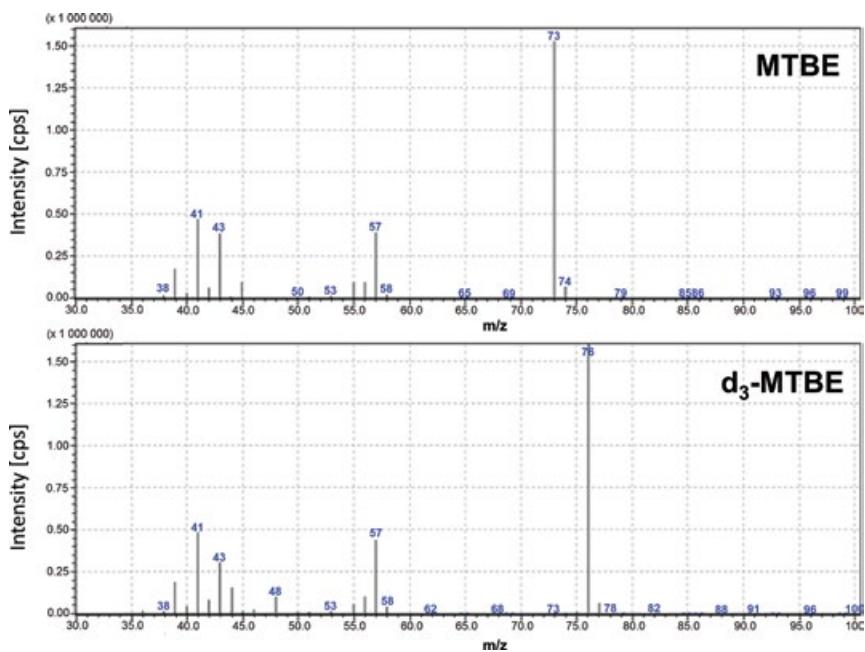


Abb. 4 EI-Massenspektren von MTBE und d_3 -MTBE.