

Acrylnitril und *N,N*-Dimethylformamid – Bestimmung von *S*-(2-Cyanoethyl)mercaptursäure und *S*-(*N*-methylcarbamoyl)-mercaptursäure in Urin mittels LC-MS/MS

Biomonitoring-Methode

Keywords

Acrylnitril; *N,N*-Dimethylformamid; CEMA; AMCC; Biomonitoring; Urin; LC-MS/MS

E. Eckert¹

T. Göen^{1,2,*}

R. Mercadante³

F. Catuogno³

S. Fustinoni³

A. Hartwig^{4,*}

MAK Commission^{5,*}

¹ Methodenentwicklung, Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Institut und Poliklinik für Arbeits-, Sozial- und Umweltmedizin, Henkestraße 9–11, 91054 Erlangen

² 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, Henkestraße 9–11, 91054 Erlangen

³ Methodenprüfung, Laboratory of Environmental and Occupational Toxicology, Department of Clinical Sciences and Community Health, Dipartimento di Eccellenza 2023-2027, University of Milan, Via Francesco Sforza 35, 20122 Mailand, Italien

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.goen@fau.de), A. Hartwig (andrea.hartwig@kit.edu), MAK Commission (arbeitsstoffkommission@dfg.de)

Citation Note:

Eckert E, Göen T, Mercadante R, Catuogno F, Fustinoni S, Hartwig A, MAK Commission. Acrylnitril und *N,N*-Dimethylformamid – Bestimmung von *S*-(2-Cyanoethyl)mercaptursäure und *S*-(*N*-methylcarbamoyl)-mercaptursäure in Urin mittels LC-MS/MS. Biomonitoring-Methode. MAK Collect Occup Health Saf. 2026 Sep;11(3):Doc055. https://doi.org/10.34865/bi10713d11_3or

Manuskript abgeschlossen:
16 Nov 2023

Publikationsdatum:
30 Sep 2026

Lizenz: Dieses Werk ist
lizenziert unter einer [Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz](#).



Abstract

The working group “Analyses in Biological Materials” of the German Senate Commission for the Investigation of Health Hazards of Chemical Compounds in the Work Area (MAK Commission) developed and verified this biomonitoring method for the simultaneous determination of the mercapturic acid of acrylonitrile (*S*-(2-cyanoethyl)mercapturic acid, CEMA) and that of *N,N*-dimethylformamide (*N*-acetyl-*S*-(*N*-methylcarbamoyl)cysteine, AMCC) in urine by LC-MS/MS. For determination, the urine samples are buffered to a pH value of 2.5 and online enrichment is performed. Using integrated, automatic column-switching, the analytes are transferred in back-flush mode onto the analytical column and quantified by tandem mass spectrometry. Calibration is carried out using calibration standards prepared in pooled urine and processed analogously to the samples. The isotope-labelled mercapturic acids, CEMA-D₃ and AMCC-D₃, are used as internal standards. The method provides reliable and accurate analytical results, as shown by the good precision data with standard deviations no greater than 10%. Good accuracy data were obtained with mean relative recoveries in the range of 102–105%. Limits of quantitation of 6.0 µg CEMA/l and 7.5 µg AMCC/l were calculated. The method thus enables the biomonitoring of acrylonitrile and DMF in occupational and environmental exposure ranges.

1 Kenndaten der Methode

Matrix und analytisches Messprinzip

Matrix Urin

Analytisches Messprinzip Flüssigkeitschromatographie mit Tandem-Massenspektrometrie (LC-MS/MS)

Parameter und entsprechende Arbeitsstoffe

Arbeitsstoff	CAS-Nr.	Parameter	CAS-Nr.
Acrylnitril	107-13-1	S-(2-Cyanoethyl)mercaptursäure (CEMA)	74514-75-3
N,N-Dimethylformamid (DMF)	68-12-2	N-Acetyl-S-(N-methylcarbamoyl)cystein (AMCC)	103974-29-4

Zuverlässigkeitskriterien

CEMA

Präzision in der Serie:	Standardabweichung (rel.) Streubereich bei einer Konzentration von 35 µg oder 425 µg CEMA pro Liter Urin und n = 8 Bestimmungen	$s_w = 4,8\%$ bzw. $3,3\%$ $u = 11,4\%$ bzw. $7,8\%$
Präzision von Tag zu Tag:	Standardabweichung (rel.) Streubereich bei einer Konzentration von 36 µg oder 454 µg CEMA pro Liter Urin und n = 10 Bestimmungen	$s_w = 6,4\%$ bzw. $3,2\%$ $u = 14,5\%$ bzw. $7,2\%$
Richtigkeit:	Wiederfindung (rel.) bei einer dotierten Konzentration von 31 µg oder 412 µg CEMA pro Liter Urin und n = 8 Bestimmungen	$r = 105\%$ bzw. 103%
Nachweisgrenze:	2,0 µg CEMA pro Liter Urin	
Bestimmungsgrenze:	6,0 µg CEMA pro Liter Urin	

AMCC

Präzision in der Serie:	Standardabweichung (rel.) Streubereich bei einer Konzentration von 46 µg oder 454 µg AMCC pro Liter Urin und n = 8 Bestimmungen	$s_w = 5,9\%$ bzw. $3,4\%$ $u = 14,0\%$ bzw. $8,0\%$
Präzision von Tag zu Tag:	Standardabweichung (rel.) Streubereich bei einer Konzentration von 44 µg oder 442 µg AMCC pro Liter Urin und n = 10 Bestimmungen	$s_w = 8,6\%$ bzw. $9,6\%$ $u = 19,5\%$ bzw. $21,7\%$

Richtigkeit:	Wiederfindung (rel.) bei einer dotierten Konzentration von 34 µg oder 428 µg AMCC pro Liter Urin und n = 8 Bestimmungen	$r = 102\%$ bzw. 104%
Nachweisgrenze:	2,5 µg AMCC pro Liter Urin	
Bestimmungsgrenze:	7,5 µg AMCC pro Liter Urin	

2 Allgemeine Informationen zu Acrylnitril und Dimethylformamid

Acrylnitril

Acrylnitril liegt bei Raumtemperatur als eine farblose, leichtflüchtige Flüssigkeit mit stechendem Geruch vor und neigt zur spontanen Polymerisation (IFA 2026). Es dient in großem Umfang als Ausgangsstoff für die Herstellung von Polyacrylnitril und dessen Copolymeren, wie beispielsweise Styrol-Acrylnitril, Acrylnitril-Butadien-Styrol oder Acrylnitril-Butadien-Kautschuk (Stayner et al. 2024). Weiterhin wird Acrylnitril für die industrielle Herstellung von Acrylsäure, Acrylestern und Acrylamid verwendet (IARC 1999, 2025) und auch als Insektizid eingesetzt (Brazdil 2026). Außerdem ist Acrylnitril Bestandteil des Tabakrauchs (IARC 1999; Kraus et al. 2010). Acrylnitril ist von der Kommission in Kategorie 2 der krebserzeugenden Arbeitsstoffe eingestuft und mit einer H-Markierung (Gefahr durch Hautresorption) sowie einer Sh-Markierung (Gefahr der Sensibilisierung der Haut) gekennzeichnet worden (DFG 2026). Die IARC stuft Acrylnitril als krebserzeugend für den Menschen ein (Gruppe 1), da hinreichende Nachweise vorliegen, dass eine Exposition gegen Acrylnitril Lungenkrebs verursacht (IARC 2025; Stayner et al. 2024). Eine Zusammenfassung der toxischen Eigenschaften von Acrylnitril kann den entsprechenden Dokumentationen entnommen werden (Greim 1999; Henschler 1978; IARC 2025).

Neben der beruflichen Exposition in der chemischen Industrie, kann die Allgemeinbevölkerung durch Tabakrauch und in geringerem Ausmaß auch durch den Konsum von E-Zigaretten gegen Acrylnitril exponiert sein (Chen et al. 2023; Stayner et al. 2024). Acrylnitril wird nach oraler, dermaler oder inhalativer Aufnahme rasch resorbiert und im gesamten Körper verteilt (Greim 1999). Im Tierversuch konnte gezeigt werden, dass eine oral verabreichte Acrylnitrildosis innerhalb von 24 Stunden zu 40–100 % mit dem Urin ausgeschieden wird. Von deutlich geringerer Bedeutung ist die Ausscheidung über die Lunge und die Faeces (Kraus et al. 2010). Für die Elimination über die Niere ist die Konjugation von Acrylnitril und dessen Metaboliten mit Glutathion und die daraus resultierende Bildung von Mercaptursäuren von großer Bedeutung. **Abbildung 1** zeigt ein vereinfachtes Metabolismusschema von Acrylnitril im Menschen (nach Fennell et al. (1991) und Sumner et al. (1999)). Durch Konjugation mit Glutathion und weitere metabolische Umwandlung dieser Konjugate entsteht die S-(2-Cyanoethyl)mercaptursäure (CEMA). Weitere Mercaptursäuren, die im Tierversuch nach Exposition gegen Acrylnitril nachgewiesen wurden, sind N-Acetyl-S-(1-cyano-2-hydroxyethyl)cystein und N-Acetyl-S-(2-hydroxyethyl)cystein (Kraus et al. 2010). Die Eliminationshalbwertszeit von CEMA wird mit etwa 8 Stunden angegeben (Jakubowski et al. 1987). CEMA stellt daher einen klassischen Kurzzeitbiomarker für Acrylnitrilbelastungen dar. Als direkt alkylierend wirkendes Agens bindet in den Körper aufgenommenes Acrylnitril auch leicht an Makromoleküle, wie DNA, Proteine oder Hämoglobin (Greim 1999; IARC 1999; Kraus et al. 2010). Als Langzeitmarker einer Acrylnitrilexposition kann daher auch das Hämoglobinaddukt N-(2-Cyanoethyl)valin bestimmt werden. Methoden zur Bestimmung von N-(2-Cyanoethyl)valin in Blut wurden von der Kommission bereits publiziert (Christ et al. 2023; Schettgen et al. 2016; van Sittert et al. 1996).

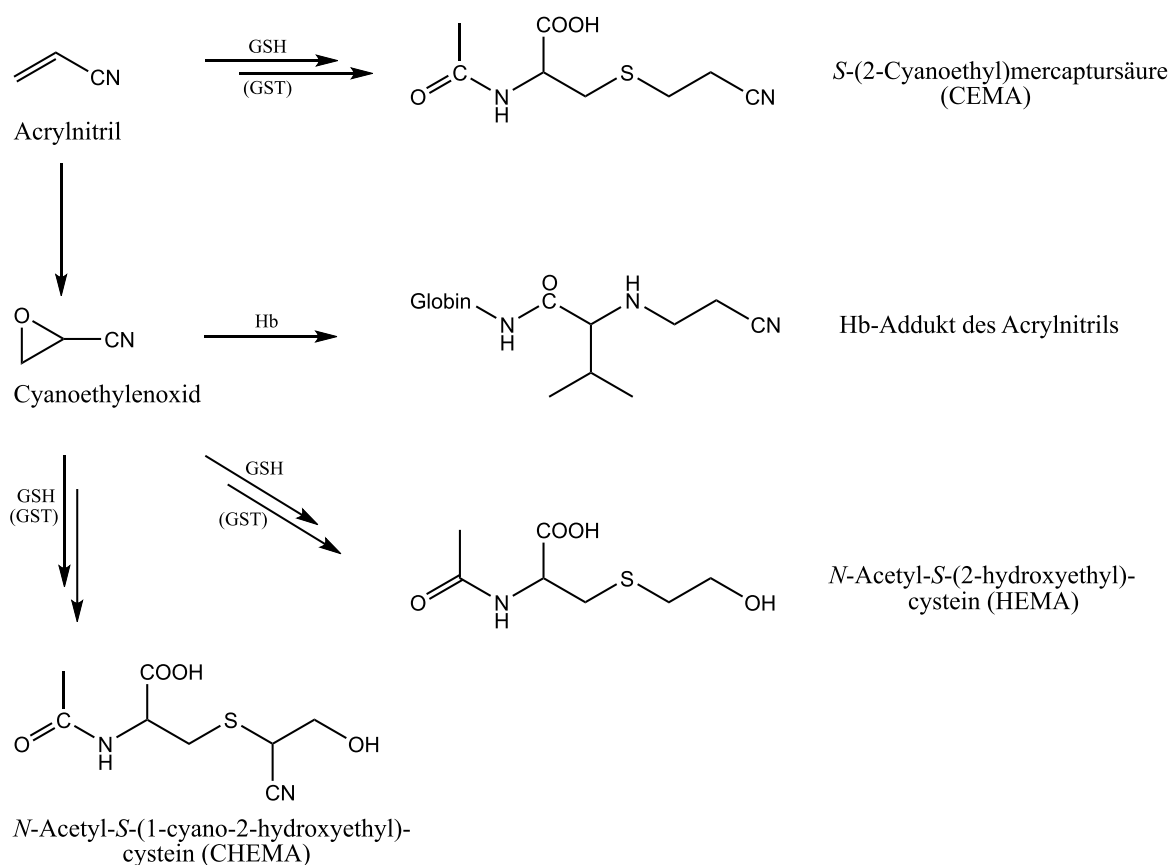


Abb. 1 Vereinfachtes Metabolismusschema des Acrylnitrils (nach Fennell et al. (1991) und Sumner et al. (1999))

Von der Kommission wurden für Acrylnitril zwei Biologische Arbeitsstoff-Referenzwerte (BAR) als Beurteilungswerte im biologischen Material festgelegt: 15 µg/g Kreatinin für die Mercaptursäure CEMA in Urin, wobei die Probenahme am Schichtende erfolgen sollte, sowie 12 pmol/g Globin für das Hämoglobinaddukt *N*-(2-Cyanoethyl)valin, wobei die Probenahme nach mindestens drei Monaten Exposition erfolgen sollte. Für *N*-(2-Cyanoethyl)valin liegen auch Expositionsäquivalente für krebserzeugende Arbeitsstoffe (EKA) vor (DFG 2026). Beide BAR wurden für Nichtraucher abgeleitet, da sowohl Raucher als auch Nichtraucher in der Regel höhere Werte aufweisen (Schettgen et al. 2009). Angaben zur CEMA-Hintergrundbelastung von Rauchern und Nichtrauchern der Allgemeinbevölkerung können der Begründung zum BAR bzw. EKA von 2021 entnommen werden (Jäger et al. 2021). Neuere Daten zu CEMA-Gehalten im Urin der beruflich nichtexponierten Allgemeinbevölkerung sind in Tabelle 1 dargestellt. In Tabelle 2 sind CEMA-Gehalte im Urin beruflich gegen Acrylnitril exponierter Arbeiter zusammengestellt.

Tab. 1 CEMA im Urin der beruflich nichtexponierten Allgemeinbevölkerung

Studienkollektiv (Land; n; Probe)	QF [%]	NWG [µg/l]	BG [µg/l]	Mittelwert (SD)	GM	Median	P95	Min-Max	Literatur
Zigarettenraucher (China; 12; 24 h-Sammelurin)	–	–	–	316 (203) µg/24 h	–	–	–	–	Li et al. 2024
E-Zigarettenraucher (China; 11; 24 h-Sammelurin)	–	–	–	306 (230) µg/24 h	–	–	–	–	
Nichtraucher (USA; 63; Spontanurin)	–	–	–	–	0,376 µg/l	–	–	< NWG–8,85 µg/l	Chen et al. 2023
Zigarettenraucher (USA; 22; Spontanurin)	–	–	0,015	–	0,588 µg/l	–	–	4,11–2056 µg/l	
E-Zigarettenraucher (USA; 33; Spontanurin)	–	–	–	–	115 µg/l	–	–	< NWG–128 µg/l	
Nichtraucher (Spanien; 25; Spontanurin)	–	–	–	< NWG	–	< NWG	< NWG	< NWG	Gallart-Mateu et al. 2023
Zigarettenraucher (USA; 14; Spontanurin)	–	3,3	11,0	180 (80) µg/g Kreatinin	–	169 µg/g Kreatinin	52 µg/g Kreatinin	41–370 µg/g Kreatinin	
E-Zigarettenraucher (USA; 63; Spontanurin)	–	–	–	< NWG	–	< NWG	< NWG	< NWG	
Nichtraucher (Italien; 38; Spontanurin)	63	–	–	–	–	0,9 µg/g Kreatinin	2,1 µg/g Kreatinin	–	Frigerio et al. 2020 b
Zigarettenraucher (Italien; 22; Spontanurin)	100	–	0,9	–	–	163 µg/g Kreatinin	358 µg/g Kreatinin	–	
E-Zigarettenraucher (Italien; 7; Spontanurin)	86	–	–	–	–	2,7 µg/g Kreatinin	36,5 µg/g Kreatinin	–	
Nichtraucher (Taiwan; 381; Spontanurin)	–	–	–	2,98 (6,91) µg/l; 2,09 (6,65) µg/g Kreatinin	–	–	–	–	Lin et al. 2018
Passivraucher (Taiwan; 326; Spontanurin)	–	0,077	–	2,98 (6,86) µg/l; 1,99 (5,99) µg/g Kreatinin	–	–	–	–	
Zigarettenraucher (Taiwan; 36; Spontanurin)	–	–	–	98,8 (2,52) µg/l; 76,8 (2,35) µg/g Kreatinin	–	–	–	–	

BG: Bestimmungsgrenze; GM: geometrischer Mittelwert; n: Probenanzahl; NWG: Nachweisgrenze; P95: 95. Perzentil; QF: Bestimmungshäufigkeit (*quantitation frequency*, gemessene Werte oberhalb der BG)

Tab. 2 CEMA im Urin beruflich exponierter Arbeiter

Studienkollektiv (Land; n; Probe)	QF [%]	NWG [$\mu\text{g/l}$]	BG [$\mu\text{g/l}$]	Mittelwert (SD)	GM	Median	P95	Min-Max	Literatur
Kokereiarbeiter, Nichtraucher (Polen; 49; Spontanurin nach der Schicht)	88	–	0,9	3,7 $\mu\text{g/l}$	–	–	9,6 $\mu\text{g/l}$	–	Frigerio et al. 2020 a
Kontrollen, Nichtraucher (Polen; 49; Spontanurin)	98	–		1,4 $\mu\text{g/l}$	–	–	16,6 $\mu\text{g/l}$	–	
Hoch exponierte Arbeiter (Taiwan; 26; Spontanurin nach der Schicht)	–	–	–	–	230 $\mu\text{g/g}$ Kreatinin	–	–	3,43–2460 $\mu\text{g/g}$ Kreatinin	Wu et al. 2023
Gering exponierte Arbeiter (Taiwan; 53, davon ca. 1/3 Raucher; Spontanurin nach der Schicht)	–	0,05	0,1	–	14,3 $\mu\text{g/g}$ Kreatinin	–	–	0,10–289 $\mu\text{g/g}$ Kreatinin	
Kontrollen (Taiwan; 18, davon 2 Raucher; Spontanurin)	–	–	–	–	1,26 $\mu\text{g/g}$ Kreatinin	–	–	< NWG–61,3 $\mu\text{g/g}$ Kreatinin	

BG: Bestimmungsgrenze; GM: geometrischer Mittelwert; n: Probenanzahl; NWG: Nachweisgrenze; P95: 95. Perzentil; QF: Bestimmungshäufigkeit (*quantitation frequency*, gemessene Werte oberhalb der BG)

Dimethylformamid (DMF)

DMF liegt bei Raumtemperatur als farblose, schwerflüchtige Flüssigkeit vor, die mit Wasser und vielen organischen Lösungsmitteln mischbar ist. DMF wird vorrangig als Lösungsmittel verwendet. Von großer industrieller Bedeutung ist der Einsatz von DMF als Lösungsmittel bei der Herstellung von Polyacrylnitril (IARC 2018). An diesen Arbeitsplätzen ist eine Mischexposition der Beschäftigten gegen DMF und Acrylnitril zu erwarten. Die IARC stuft DMF als wahrscheinlich krebserzeugend beim Menschen ein (Gruppe 2A) (IARC 2018). DMF ist von der Kommission in Kategorie 4 der krebserzeugenden Arbeitsstoffe eingestuft und mit einer H-Markierung (Gefahr durch Hautresorption) gekennzeichnet worden. Der von der Kommission festgelegte MAK-Wert liegt bei 5 ml/m^3 (15 mg/m^3) (DFG 2026). Weiterhin ist DMF der Schwangerschaftsgruppe B zugeordnet. Der Hinweis auf Voraussetzung für die Schwangerschaftsgruppe C kann der entsprechenden Begründung der Kommission entnommen werden (Hartwig und MAK Commission 2017). Eine Zusammenfassung der toxischen Eigenschaften von DMF kann den entsprechenden Dokumentationen entnommen werden (Greim 2006; Hartwig und MAK Commission 2016, 2019; Henschler 1992; IARC 2018).

DMF wird nach oraler, inhalativer oder dermalen Exposition leicht resorbiert und im Körper verteilt (Henschler 1992). Beim Menschen wird etwa die Hälfte einer inhalativ aufgenommenen Dosis über den Urin wieder ausgeschieden (IARC 2018). Wichtige DMF-Metaboliten im Urin sind *N*-Methylformamid (NMF), *N*-Hydroxymethyl-*N*-methylformamid (HMMF) sowie *N*-Acetyl-S-(*N*-methylcarbamoyl)cystein (AMCC). Die Halbwertszeit von NMF und HMMF beträgt jeweils 2–7 Stunden. Die Halbwertszeit von AMCC ist mit 23–36 Stunden deutlich länger (IARC 2018; Kätterlein et al. 2005), wodurch bei regelmäßiger beruflicher Exposition gegen DMF auch eine Akkumulation von AMCC über die Arbeitswoche beobachtet wird (IARC 2018; Seitz et al. 2018). Die Halbwertszeit von DMF im Blut wird mit 1–2 Stunden angegeben (Greim 2006). Abbildung 2 zeigt ein vereinfachtes Schema des DMF-Metabolismus im Menschen (nach IARC (2018) und Kätterlein et al. (2005)). Studien am Menschen und tierexperimentelle Ergebnisse belegen, dass durch enzymatische Oxidation zuerst HMMF gebildet wird. Unter Formaldehydabspaltung entsteht NMF, das weiter zu *N*-Hydroxymethylformamid oxidiert wird, welches unter Formaldehydabspaltung zu Formamid weiterreagiert. Die Mercaptursäure AMCC wird durch Glutathionkonjugation eines reaktiven Intermediats (Methylisocyanat) gebildet, das durch Oxidation des NMF gebildet wird. Das Glutathionkonjugat S-(*N*-Methylcarbamoyl)glutathion durchläuft den Mercaptursäure-Stoffwechselweg und wird als AMCC mit dem Urin ausgeschieden. Methylisocyanat kann auch mit Makromolekülen reagieren und beispielsweise Hämoglobinaddukte bilden.

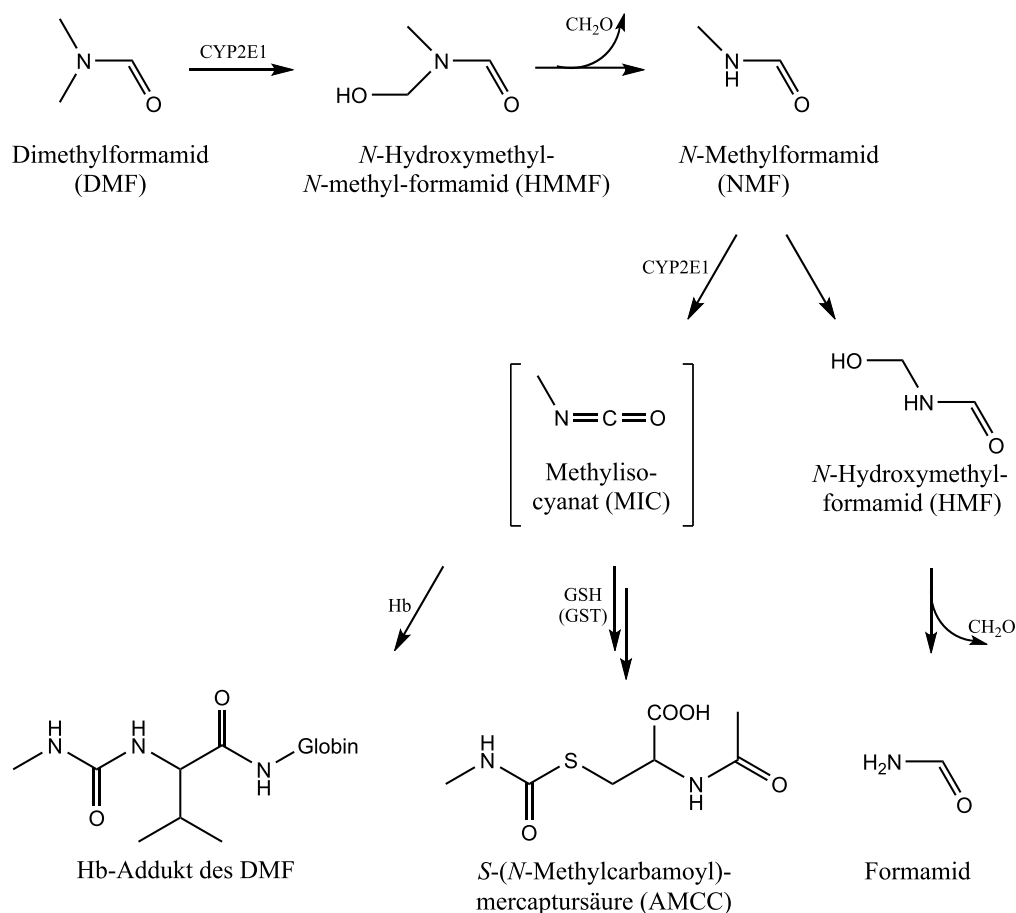


Abb. 2 Vereinfachtes Metabolismusschema von DMF (nach IARC (2018) und Käfferlein et al. (2005))

Auch die mit dem Urin ausgeschiedenen Metaboliten NMF und HMMF eignen sich als Biomarker, um eine Belastung mit DMF zu erfassen. Für die Bestimmung dieser Parameter im Urin hat die Kommission bereits valide Analysemethoden publiziert (Käfferlein et al. 2012; Scherer et al. 2018; Will et al. 2016). Bei HMMF, NMF und AMCC handelt es sich um Kurzzeitbiomarker, die als Indikatoren für eine DMF-Exposition dienen, die innerhalb der letzten Stunden bis Tage vor der Probenahme stattgefunden hat (Käfferlein et al. 2016).

Nach DMF-Exposition wird ferner die Bildung des Hämoglobinaddukts *N*-(Methylcarbamoyl)valin (NMVal) beobachtet, das ebenfalls ein Reaktionsprodukt des intermediär gebildeten Methylisocyanats ist (Angerer et al. 1998; Seitz et al. 2018). NMVal wird als Biomarker für die kumulative DMF-Belastung in den letzten drei Monaten vor der Probenahme eingesetzt. Eine Methode zur Bestimmung von NMVal in Blut nach Überführung in das entsprechende Hydantoinderivat 3-Methyl-5-isopropylhydantoin (MIH) wurde von der Kommission bereits publiziert (Käfferlein et al. 2016).

Als Beurteilungswerte im biologischen Material wurden von der Kommission für DMF zwei Biologische Arbeitsstoff-Toleranzwerte (BAT) festgelegt: für die Summe aus NMF und HMMF 20 mg/l Urin, sowie für die Mercaptursäure AMCC 25 mg/g Kreatinin. Die Probenahme sollte jeweils am Schichtende bzw. nach mehreren vorangegangenen Schichten erfolgen (DFG 2026). Den Hinweis auf Voraussetzung für die Schwangerschaftsgruppe C sowie Angaben zu Hintergrundgehalten der gängigen DMF-Biomarker können der entsprechenden BAT-Begründung der Kommission entnommen werden (Göen et al. 2019).

Daten zum AMCC-Gehalt im Urin der beruflich nichtexponierten Allgemeinbevölkerung sind in Tabelle 3 dargestellt. In Tabelle 4 sind AMCC-Gehalte im Urin beruflich gegen DMF exponierter Arbeiter gegeben.

Tab. 3 AMCC im Urin der beruflich nichtexponierten Allgemeinbevölkerung

Raucherstatus (Land; n; Probe)	QF [%]	NWG [$\mu\text{g/l}$]	BG [$\mu\text{g/l}$]	Mittelwert (SD)	GM	Median	P95	Min–Max	Literatur
Nichtraucher (USA; 1377; Spontanurin)	–	–	6,26	–	0,11 mg/l	–	0,47 mg/l	–	NCEH 2021
Raucher (USA; 779; Spontanurin)	–	–		–	0,39 mg/l	–	1,58 mg/l	–	
Nichtraucher (Italien; 38; Spontanurin)	100	–	2	–	–	0,142 mg/g Kreatinin	0,434 mg/g Kreatinin	–	Frigerio et al. 2020 b
Zigarettenraucher (Italien; 22; Spontanurin)	100	–		–	–	0,405 mg/g Kreatinin	0,844 mg/g Kreatinin	–	
E-Zigarettenraucher (Italien; 7; Spontanurin)	100	–		–	–	0,243 mg/g Kreatinin	0,519 mg/g Kreatinin	–	
Nichtraucher (Deutschland; 14; Spontanurin)	–	–	5,0	–	–	0,11 mg/l (0,10 mg/g Kreatinin)	–	< BG–0,50 mg/l (0,047–0,45 mg/g Kreatinin)	Schettgen et al. 2008
Raucher (Deutschland; 14; Spontanurin)	–	–		–	–	0,82 mg/l (0,59 mg/g Kreatinin)	–	0,12–1,45 mg/l (0,20–1,15 mg/g Kreatinin)	
Nichtraucher (Italien; 21; Spontanurin)	–	–	1800	5 (2,5) mg/l	4,5 mg/l	3,8 mg/l	–	1,9–10,5 mg/l	Perbellini et al. 2001
Raucher (Italien; 19; Spontanurin)	–	–		4,5 (1,6) mg/l	4,2 mg/l	4,4 mg/l	–	1,8–7,3 mg/l	

BG: Bestimmungsgrenze; GM: geometrischer Mittelwert; n: Probenanzahl; NWG: Nachweisgrenze; P95: 95. Perzentil; QF: Bestimmungshäufigkeit (*quantitation frequency*, gemessene Werte oberhalb der BG)

Tab. 4 AMCC im Urin beruflich exponierter Arbeiter

Studienkollektiv (Land; n; Probe)	QF [%]	NWG [$\mu\text{g/l}$]	BG [$\mu\text{g/l}$]	Mittelwert (SD)	GM	Median	P95	Min–Max	Literatur
Arbeiter in einer Kunstlederfabrik (China; 263; Spontanurin)	–	–	200	–	–	84,8 mg/l	278 mg/l	–	Wu et al. 2017
Arbeiter in der Herstellung von Kunstfasern (Deutschland; 208; Spontanurin)	–	5,0	15	9,42 (10,4) mg/g Kreatinin	–	4,84 mg/g Kreatinin	–	< BG–49,6 mg/g Kreatinin	Kilo et al. 2016
Kontrollen in der Herstellung von Kunstfasern (Deutschland; 174; Spontanurin)	–			0,28 (0,21) mg/g Kreatinin	–	0,21 mg/g Kreatinin	–	< BG–1,16 mg/g Kreatinin	
Hoch exponierte Arbeiter in einer organisch-chemischen Fabrik (China; 22; Spontanurin)	–	–	400	–	45,5 mg/l (19,6 mg/g Kreatinin)	–	–	7,4–145,7 mg/l	He et al. 2010
Arbeiter in der Polyacrylfaserindustrie (Deutschland; 34; Spontanurin)	–	–	1000	22,5 mg/l	–	12,4 mg/l	73,9 mg/l	1,0–134 mg/l	Käfferlein et al. 2004
	–	–	30	20,2 mg/l	–	11,4 mg/l	64,4 mg/l	0,6–117 mg/l	
Arbeiter in einer Kunstlederfabrik, (Italien; 20; Spontanurin)	–	–	1,8 mg/l	63,5 mg/l	55,2 mg/l	59,1 mg/l	–	16–170 mg/l	Perbellini et al. 2001

Tab. 4 (Fortsetzung)

Studienkollektiv (Land; n; Probe)	QF [%]	NWG [$\mu\text{g/l}$]	BG [$\mu\text{g/l}$]	Mittelwert (SD)	GM	Median	P95	Min-Max	Literatur
Arbeiter in der Polyacrylfaserindustrie (Deutschland; 92; Spontanurin)	–	–	0,5 mg/l	14,2 (15,6) mg/g Kreatinin	–	8,78 mg/g Kreatinin	46,8 mg/g Kreatinin	< BG–82,1 mg/g Kreatinin	Käfferlein et al. 2000
Arbeiter in der Polyurethanproduktion (Japan; 10; Spontanurin)	–	–	–	22,0 (4,6) mg/g Kreatinin	–	–	–	–	Sakai et al. 1995

BG: Bestimmungsgrenze; GM: geometrischer Mittelwert; n: Probenanzahl; NWG: Nachweisgrenze; P95: 95. Perzentil; QF: Bestimmungshäufigkeit (quantitation frequency, gemessene Werte oberhalb der BG)

3 Grundlage des Verfahrens

Das hier beschriebene Verfahren dient der simultanen Erfassung der Mercaptursäuren von Acrylnitril (S-2-Cyanoethyl)mercaptursäure, CEMA) und Dimethylformamid (N-Acetyl-S-(N-methylcarbamoyl)cystein, AMCC) in Urin. Zur Bestimmung werden die auf pH 2,5 gepufferten Urinproben einer Online-Anreicherung unterzogen. Durch integrierte automatische Säulenschaltung werden die Analyten im Backflush-Modus auf die analytische Säule überführt, wo sie chromatographisch aufgetrennt werden. Die Quantifizierung erfolgt mit Tandem-Massenspektrometrie. Die Kalibrierung erfolgt mit Kalibrierstandards, die in Poolurin angesetzt und in der gleichen Weise aufgearbeitet werden, wie die zu analysierenden Proben. Als interne Standards werden den Urinproben die isotoopenmarkierten Mercaptursäuren CEMA-D₃ und AMCC-D₃ zugesetzt.

4 Geräte, Chemikalien und Lösungen

4.1 Geräte

- HPLC-Anlage mit einer binären und einer quaternären Pumpe, Vakuumentgaser und Autosampler (z. B. Series 1100 mit G 1311 A, G 1322 A und G 1313 A, Agilent Technologies Deutschland GmbH, Waldbronn)
- Triple-Quadrupol-Massenspektrometer (z. B. API 2000, AB SCIEX Germany GmbH, Darmstadt)
- Analytische HPLC-Säule (z. B. Nr. 00F-4337-Y0, Synergi™ MaxRP C12 (3,0 mm × 150 mm, 4 μm) mit C12-Vorsäule, Phenomenex Ltd. Deutschland, Aschaffenburg)
- Vorsäulenfilter (4,6 mm × 3 mm, Porengröße: 0,5 μm) mit Kartusche (z. B. Nr. 57 677 und Nr. 57675U, Restek Corporation, Bellefonte, USA)
- Kartuschenhalter (z. B. Nr. 150017, manu-CART® für LiChroCart® 25-4 HPLC, Merck KGaA, Darmstadt)
- Nicht mehr erhältliche Anreicherungssäule, die bei der Methodenentwicklung verwendet wurde (Nr. 150947, *restricted access material* (RAM)-Phase, LiChrospher RP-18 ADS LiChroCart® 25-4 (25 mm × 4 mm, 25 μm), Merck KGaA, Darmstadt)
- Anreicherungssäule, die bei der Methodenprüfung verwendet wurde (Nr. 00M-S036-B0-CB, Strata™-X 25 μm On-Line Extraction (20 × 2,0 mm), *restricted access material* (RAM)-Phase, Phenomenex Ltd. Deutschland, Aschaffenburg)
- Laborzentrifuge (z. B. Megafuge™, Heraeus Holding GmbH, Hanau)
- Vortex-Schüttler (z. B. Vortex 2, IKA-Werke GmbH & Co. KG, Staufen)
- 1,8-ml-Gewindefläschchen, klar, mit 8-mm-Schraubdeckeln mit PTFE-kaschierten Septen (z. B. Nr. 548-0018 und Nr. 548-0024, VWR International GmbH, Darmstadt)

- 13-ml-Kunststoffröhrchen mit Deckel (z. B. Nr. HERE1130708, VWR International GmbH, Darmstadt)
- Mikroliterpipetten, variabel einstellbar (z. B. Eppendorf AG, Hamburg)
- Multipetten® (z. B. M4, Eppendorf AG, Hamburg)
- Verschiedene Messkolben und Bechergläser (z. B. DURAN®, Schott AG, Mainz)
- 1000-ml-HPLC-Fließmittelflaschen (z. B. DURAN®, Schott AG, Mainz)
- Magnetrührer (z. B. RSM-10HS, Phoenix Instrument GmbH, Garbsen)
- pH-Meter (z. B. Mettler-Toledo GmbH, Gießen)
- Urinsammelbecher (z. B. aus Polypropylen) (z. B. Sarstedt AG & Co. KG, Nümbrecht)

4.2 Chemikalien

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

- AMCC (*N*-Acetyl-*S*-(*N*-methylcarbamoyl)cystein) (z. B. Nr. 90914, Merck KGaA, Darmstadt)
- CEMA (*N*-Acetyl-*S*-(cyanoethyl)cystein) (z. B. Auftragssynthese, Max-Planck-Institut für Multidisziplinäre Naturwissenschaften, Abteilung für Synthesechemie, Göttingen)
- AMCC-D₃ (z. B. Nr. A186 627, Toronto Research Chemicals Inc., Toronto, Kanada)
- CEMA-D₃ (z. B. Nr. A172087, Toronto Research Chemicals Inc., Toronto, Kanada)
- Ameisensäure 98–100 %, für die Analyse, EMSURE® ACS (z. B. Nr. 1.00264, Merck KGaA, Darmstadt)
- Ammoniumformiat ≥ 99,0 %, LiChropur™ (z. B. Nr. 70221, Merck KGaA, Darmstadt)
- Essigsäure (Eisessig) 100 %, wasserfrei für die Analyse, EMSURE® ACS (z. B. Nr. 1.00063, Merck KGaA, Darmstadt)
- Hochreines Wasser (z. B. Nr. 83645-320, VWR International GmbH, Darmstadt)
- Methanol ≥ 99,9 %, LiChrosolv™ (z. B. Nr. 1.06035, Merck KGaA, Darmstadt)

4.3 Lösungen

- Ammoniumformiatpuffer (50 mmol/l, pH 2,5)
In einem Becherglas werden genau 1,58 g Ammoniumformiat eingewogen und in etwa 400 ml hochreinem Wasser gelöst. Mittels pH-Meter erfolgt im Anschluss die Einstellung auf pH 2,5 mit Ameisensäure. Die Lösung wird quantitativ in einen 500-ml-Messkolben überführt und der Messkolben bis zur Markierung mit hochreinem Wasser aufgefüllt.
- Wässrige Essigsäure (1 %)
In einem 1000-ml-Messkolben werden etwa 800 ml hochreines Wasser vorgelegt und 10 ml Eisessig zugegeben. Anschließend wird der Messkolben bis zur Markierung mit hochreinem Wasser aufgefüllt.

Die Lösungen sind bei Raumtemperatur mindestens drei Monate stabil.

4.4 Interne Standards (ISTDs)

- ISTD-Stammlösungen (1000 mg/l)
In je einem 10-ml-Messkolben werden je 10 mg AMCC-D₃ bzw. CEMA-D₃ genau eingewogen und in Methanol gelöst. Die Kolben werden anschließend mit Methanol bis zur Markierung aufgefüllt.

- ISTD-Dotierlösung (30 mg/l AMCC-D₃ und 10 mg/l CEMA-D₃)
In einen 10-ml-Messkolben werden 300 µl der AMCC-D₃-Stammlösung sowie 100 µl der CEMA-D₃-Stammlösung pipettiert. Der Kolben wird anschließend mit Methanol bis zur Markierung aufgefüllt.

Die ISTD-Stammlösungen und die ISTD-Dotierlösung werden bei –20 °C gelagert und sind unter diesen Bedingungen mindestens sechs Monate stabil.

4.5 Kalibrierstandards

- Stammlösungen (1000 mg/l)
In jeweils einem 10-ml-Messkolben werden 10 mg CEMA bzw. AMCC genau eingewogen und in Methanol gelöst. Die Kolben werden anschließend mit Methanol bis zur Markierung aufgefüllt.
- Dotierlösung I (10 mg/l)
In einen 10-ml-Messkolben werden jeweils 100 µl der Stammlösungen pipettiert. Der Kolben wird anschließend mit Methanol bis zur Markierung aufgefüllt.
- Dotierlösung II (1 mg/l)
In einen 10-ml-Messkolben wird 1 ml der Dotierlösung I pipettiert. Der Kolben wird anschließend mit Methanol bis zur Markierung aufgefüllt.

Die Stamm- und Dotierlösungen werden bei –20 °C gelagert und sind unter diesen Bedingungen mindestens sechs Monate stabil.

Für die Kalibrierung wird Poolurin von beruflich nicht gegen die Arbeitsstoffe belasteten Personen verwendet. Für die Herstellung der Kalibrierstandards wird der Urin nach dem in [Tabelle 5](#) dargestellten Pipettierschema mit den Dotierlösungen der Analyten versetzt. Zur Ermittlung des Leerwerts wird undotierter Poolurin mitgeführt. Hintergrundgehalte der jeweiligen Analyten in diesem Urin werden durch Subtraktion berücksichtigt.

Tab. 5 Pipettierschema zur Herstellung der Kalibrierstandards für die Bestimmung von CEMA und AMCC in Urin

Kalibrierstandard	Dotierlösung II [µl]	Dotierlösung I [µl]	Poolurin [µl]	Analytkonzentration [µg/l]
0	0	–	1000	0
1	10	–	990	10
2	50	–	950	50
3	–	10	990	100
4	–	25	975	250
5	–	50	950	500
6	–	100	900	1000

Die Kalibrierstandards können auch in einem größeren Ansatz hergestellt werden. In diesem Fall werden die Kalibrierstandards nach der Herstellung zu 1 ml in 13-ml-Kunststoffröhrchen aliquotiert und bei –20 °C gelagert. Unter diesen Bedingungen sind die Kalibrierstandards mindestens sechs Monate stabil.

5 Probenahme und Probenaufbereitung

5.1 Probenahme

Die Urinproben werden in verschließbaren Urinsammelbechern gesammelt und bis zur Probenaufbereitung bei -20°C gelagert. So gelagert sind die Analyten im Urin mindestens ein halbes Jahr stabil.

5.2 Probenaufbereitung

Vor der Analyse werden die Urinproben bei Raumtemperatur aufgetaut und gut durchmischt. Ein Aliquot von 1 ml Urin wird in ein 13-ml-Kunststoffröhrchen überführt und mit 1 ml des Ammoniumformiatpuffers, 20 μl Ameisensäure sowie 20 μl der ISTD-Dotierlösung versetzt. Die Probe wird auf einem Vortex-Schüttler gut durchmischt und bei $1500 \times g$ für 10 min zentrifugiert. Anschließend wird 1 ml des Überstandes in ein 1,8-ml-Vial überführt. Zur Analyse werden jeweils 100 μl der Probe in das LC-MS/MS-Gerät injiziert.

6 Instrumentelle Arbeitsbedingungen

Die analytischen Messungen erfolgten an einer Gerätekombination bestehend aus einer HPLC-Anlage und einem Tandemmassenspektrometer. Für die Online-Probenaufarbeitung und Trennung mittels HPLC werden zwei HPLC-Pumpen benötigt (hier: isokratische Pumpe P1 und quaternäre Pumpe P2). Die Anreicherungssäule und die analytische Säule werden über ein Sechs-Wege-Ventil miteinander gekoppelt ([Abbildung 3](#)).

6.1 Flüssigkeitschromatographie

Anreicherungssäule:	LiChrospher RP-18 ADS (25 mm $\times$ 4 mm, 25 μm)
Analytische Säule:	Synergi TM MaxRP C12 (3,0 $\times$ 150 mm, 4 μm)
Trennprinzip:	Umkehrphase (<i>reversed phase</i>)
Mobile Phase der Pumpe P1:	Eluent A: wässrige Essigsäure (1 %)
Mobile Phasen der Pumpe P2:	Eluent B: hochreines Wasser Eluent C: Methanol Eluent D: wässrige Essigsäure (1 %)
Flussrate der Pumpe P1:	0,5 ml/min
Flussrate der Pumpe P2:	0,4 ml/min
Injektionsvolumen:	100 μl
Gradientenprogramm für Pumpe P2:	siehe Tabelle 6
Schaltprogramm des Ventils:	siehe Tabelle 7

Tab. 6 Gradientenprogramm der quaternären Pumpe P2 zur chromatographischen Trennung der Analyten

Zeit [min]	Eluent B [%]	Eluent C [%]	Eluent D [%]
0	75	5	20
1,5	75	5	20
6,5	30	50	20
9,0	30	50	20
11,0	10	70	20
13,0	10	70	20
16,0	75	5	20
23,0	75	5	20

Tab. 7 Schaltprogramm des Sechs-Wege-Ventils (siehe auch [Abbildung 3](#))

Zeit [min]	Schaltposition	Beschreibung
0,0–1,5	A	Anreicherung der Analyten auf der RAM-Phase über Pumpe P1, Equilibrierung der analytischen Säule über Pumpe P2
1,5–13,0	B	Überführung der Analyten von der RAM-Phase auf analytische Säule über Pumpe P2, chromatographische Trennung der Analyten
13,0–23,0	A	Rekonditionierung der RAM-Phase über Pumpe P1, Equilibrierung beider Säulen

Es empfiehlt sich, vor die RAM-Phase einen Partikelfilter einzufügen, um Verstopfungen der RAM-Phase zu vermeiden. Alle anderen Parameter sind nach Herstellerangaben zu optimieren. In [Abbildung 3](#) ist eine schematische Skizze der Schaltpositionen dargestellt.

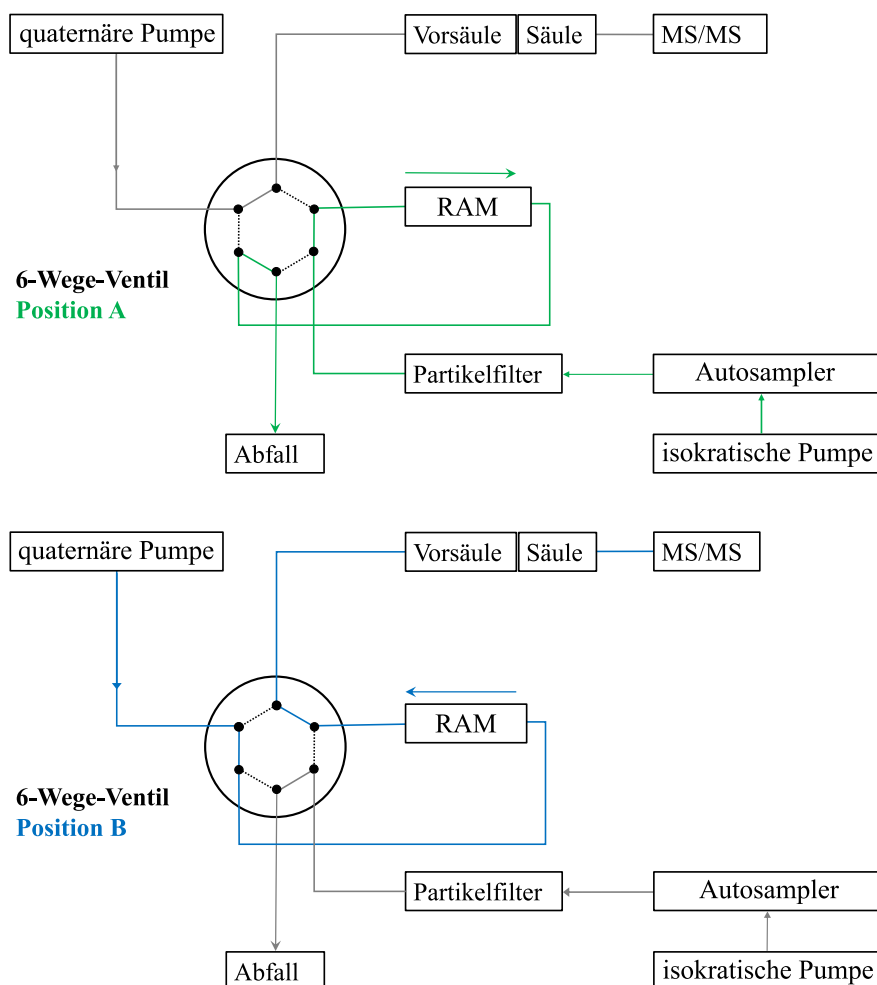


Abb. 3 Skizze der LC-MS/MS-Apparatur mit Illustration der Schaltoptionen A (grün) und B (blau) des Sechs-Wege-Ventils

6.2 Tandem-Massenspektrometrie

Ionisierung:	Elektrospray, negativ (ESI ⁻)
Ionenspray-Spannung:	-4500 V
Quellentemperatur:	475 °C
Dwelltime:	100 ms
Curtain-Gas:	Stickstoff, 241 kPa
Nebuliser-Gas:	Stickstoff, 241 kPa
Turbo-Heater-Gas:	Stickstoff, 483 kPa
Kollisionsgas:	Stickstoff, 3 Instrumenteneinheiten
Detektionsmodus:	Multiple Reaction Monitoring (MRM)
Parameterspezifische Einstellungen:	siehe Tabelle 8

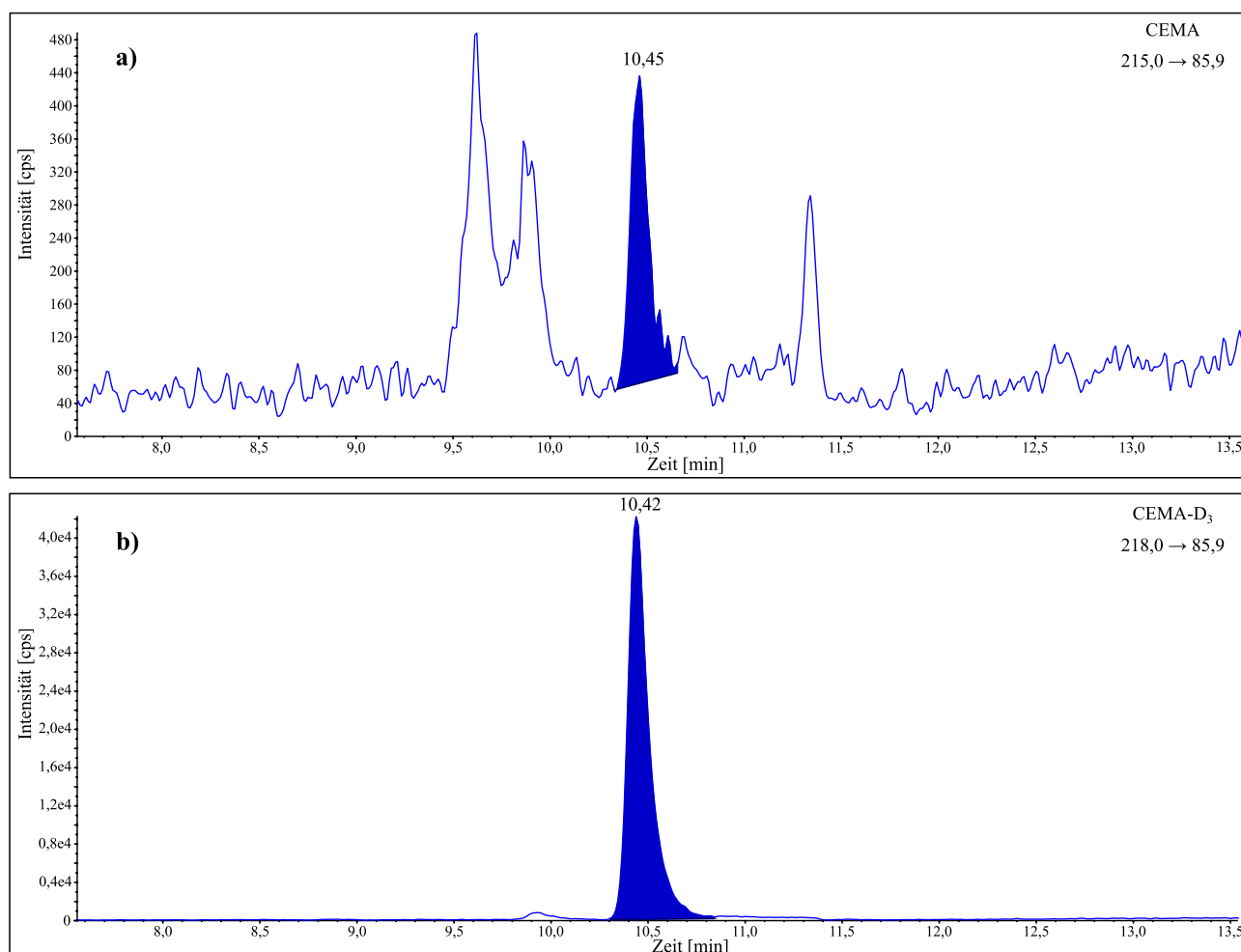
Die gerätespezifischen Parameter müssen vom Anwender individuell für das eingesetzte MS/MS-System ermittelt und eingestellt werden. Die in diesem Abschnitt genannten gerätespezifischen Parameter sind für das während der Methodenentwicklung verwendete System bestimmt und optimiert worden.

Tab. 8 Parameterspezifische Einstellungen und Retentionszeiten der Analyten

Analyt oder ISTD	Vorläufer-Ion (<i>m/z</i>)	Produkt-Ion (<i>m/z</i>)	Kollisionsenergie [V]	Retentionszeit [min]
AMCC	219,0	84,0	-24	10,03
		161,9	-12	
CEMA	215,0	85,9	-18	10,48
		162,0	-13	
AMCC-D ₃	222,0	165,2	-10	10,01
CEMA-D ₃	218,0	85,9	-20	10,43

Die in [Tabelle 8](#) angegebenen Retentionszeiten können nur als Anhaltspunkt dienen. Der Anwender der Methode hat sich selbst von der Trennleistung der von ihm verwendeten analytischen Säule und dem daraus resultierenden Retentionsverhalten der Substanzen zu überzeugen.

In den [Abbildungen 4](#) und [5](#) sind beispielhaft Chromatogramme aufgearbeiteter nativer Urinproben dargestellt.

**Abb. 4** Chromatogramm einer aufgearbeiteten nativen Urinprobe (ermittelte Gehalte: CEMA 4,2 µg/l; AMCC < NWG)

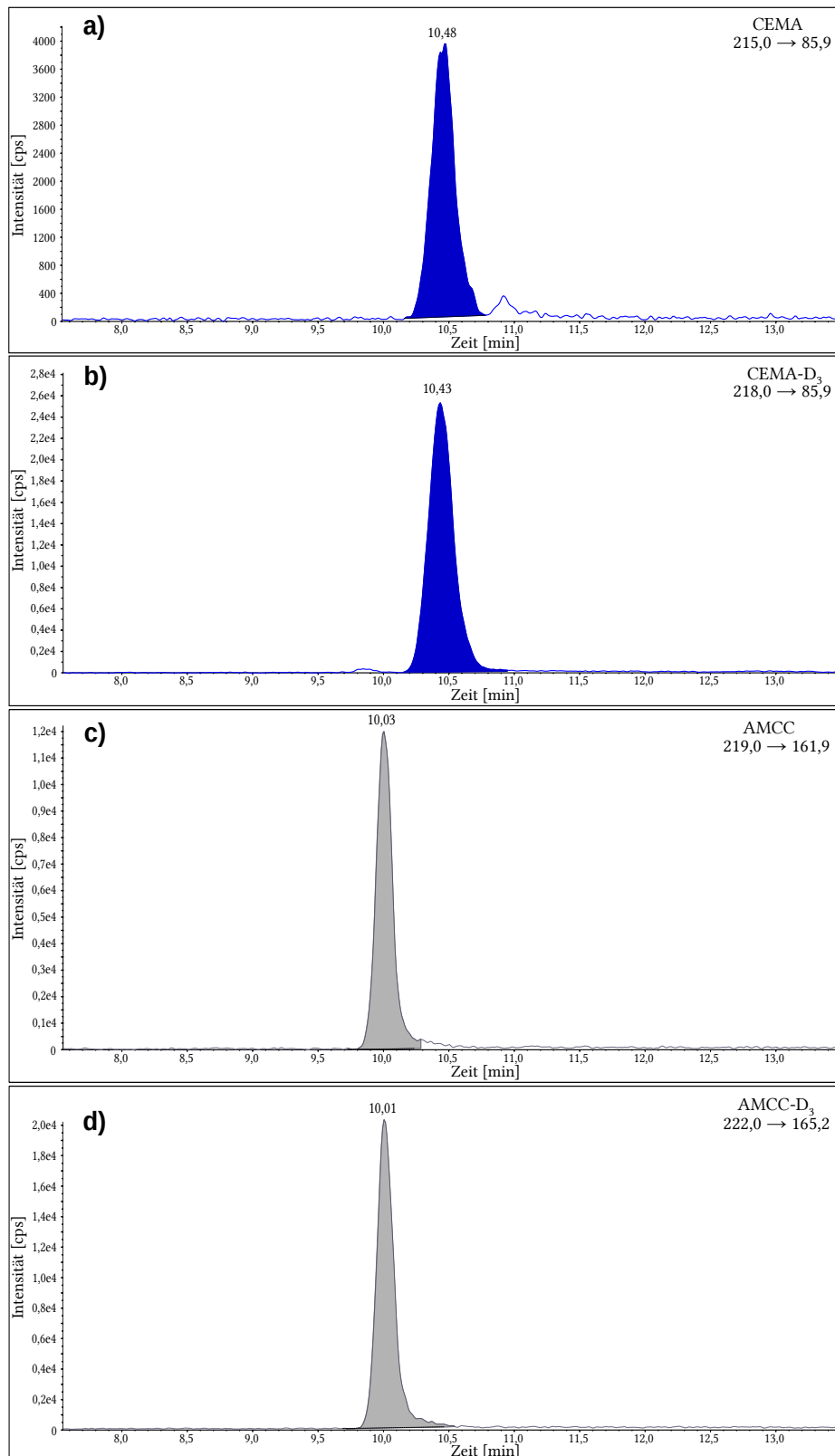


Abb. 5 Chromatogramm einer aufgearbeiteten nativen Urinprobe (ermittelte Gehalte: CEMA 74,4 µg/l; AMCC 249,1 µg/l)

7 Analytische Bestimmung

Zur analytischen Bestimmung der nach [Abschnitt 5.2](#) aufgearbeiteten Urinproben wird ein Aliquot von 100 µl mittels Autosampler in das LC-MS/MS-System injiziert. Nach Online-Anreicherung und chromatographischer Trennung der Analyten werden diese anhand der Retentionszeiten sowie der charakteristischen Ionenspuren identifiziert (siehe [Tabelle 8](#)). Bei jeder Analysenserie wird Poolurin als Leerwert sowie mindestens eine Qualitätskontrollprobe mitanalysiert.

8 Kalibrierung

Die Kalibrierstandards (siehe [Abschnitt 4.5](#)) werden analog zu den Urinproben gemäß [Abschnitt 5](#) aufgearbeitet und entsprechend den [Abschnitten 6 und 7](#) analysiert. Die Kalibriergeraden werden erstellt, indem die Quotienten aus den Peakflächen des Analyten und des jeweiligen ISTDs gegen die dotierten Konzentrationen der Kalibrierstandards aufgetragen werden. Die Kalibriergeraden sind im Bereich von der Nachweisgrenze bis 1000 µg/l linear. Beispielhafte Kalibriergeraden sind in [Abbildung 6](#) gegeben.

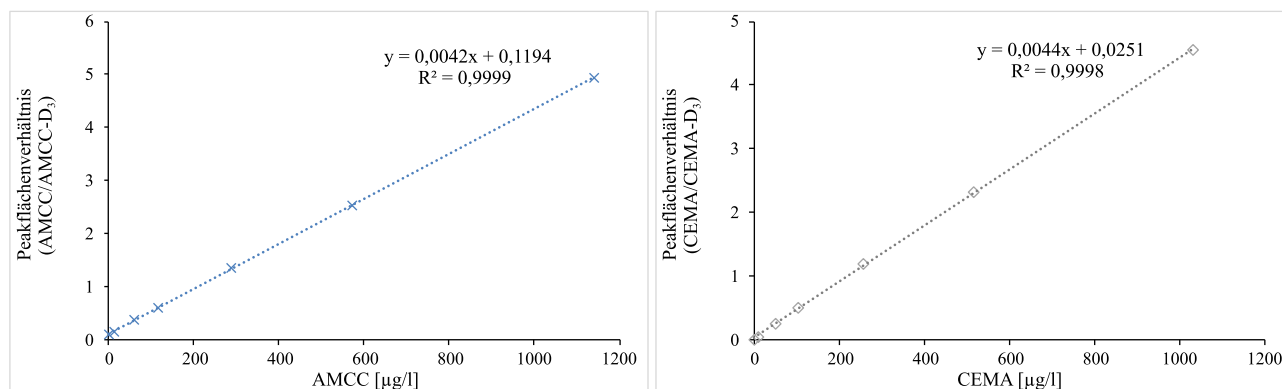


Abb. 6 Beispielhafte Kalibriergeraden zur Bestimmung von CEMA und AMCC in Urin

9 Berechnung der Analysenergebnisse

Der Analytgehalt einer Probe wird bestimmt, indem der Quotient aus der Peakfläche des Analyten und der Peakfläche des dazugehörigen ISTDs gebildet und in die Kalibrierfunktion des zugehörigen Analysenlaufs eingesetzt wird, wobei die Analytkonzentration in µg/l erhalten wird. Eventuell auftretende Reagenzienleerwerte werden durch Subtraktion berücksichtigt.

10 Standardisierung der Messergebnisse und Qualitätssicherung

Zur Sicherung der Qualität der Analysenergebnisse wird gemäß den Richtlinien der Bundesärztekammer und den Angaben in dem von der Kommission veröffentlichten allgemeinen Kapitel verfahren (Bader et al. 2010; Bundesärztekammer 2023).

Zur Präzisionskontrolle werden mit jeder Analysenserie mindestens zwei Urinproben, die bekannte und konstante Analytkonzentrationen aufweisen, als Qualitätskontrolle untersucht. Da ein derartiges Qualitätskontrollmaterial kommerziell nicht erhältlich ist, muss es selbst im Labor hergestellt werden. Dazu wird Poolurin mit einer definierten Menge der Analyten dotiert, aliquotiert und bei -20 °C gelagert. Von diesem Kontrollmaterial werden je Analyt zwei Konzentrationen

onsstufen hergestellt, so dass die Konzentration des Kontrollmaterials im entscheidungsrelevanten Konzentrationsbereich liegt (z. B. 40 µg/l und 400 µg/l). Die Sollwerte und die Toleranzbereiche der Qualitätskontrollmaterialien werden im Rahmen einer Vorperiode (an zehn Tagen je eine Analyse der Kontrollmaterialien) ermittelt (Bader et al. 2010).

Zusätzlich wird bei jeder Analysenserie ein Reagenzienleerwert, bestehend aus 1000 µl hochreinem Wasser, mitgeführt. Der Reagenzienleerwert wird analog zu den Urinproben aufgearbeitet und analysiert.

11 Beurteilung des Verfahrens

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

11.1 Präzision

Zur Bestimmung der Präzision in der Serie wurde das nach [Abschnitt 10](#) hergestellte Qualitätskontrollmaterial parallel aufgearbeitet und vermessen. Bei der achtfachen Bestimmung dieser Urinproben ergaben sich die in [Tabelle 9](#) dokumentierten Präzisionsdaten.

Tab. 9 Präzision in der Serie für die Bestimmung von CEMA und AMCC in Urin (n = 8)

Analyt	Gemessene Konzentration [µg/l]	Standardabweichung (rel.) s_w [%]	Streubereich u [%]
CEMA	35,4	4,8	11,4
	425	3,3	7,8
AMCC	45,9	5,9	14,0
	454	3,4	8,0

Zur Ermittlung der Präzision von Tag zu Tag wurden die Qualitätskontrollproben an zehn unterschiedlichen Tagen aufgearbeitet und analysiert. Daraus ergaben sich die in [Tabelle 10](#) dokumentierten Präzisionsdaten.

Tab. 10 Präzision von Tag zu Tag für die Bestimmung von CEMA und AMCC in Urin (n = 10)

Analyt	Gemessene Konzentration [µg/l]	Standardabweichung (rel.) s_w [%]	Streubereich u [%]
CEMA	35,9	6,4	14,5
	454	3,2	7,2
AMCC	43,8	8,6	19,5
	442	9,6	21,7

11.2 Richtigkeit

Die Bestimmung der Richtigkeit erfolgte anhand der Daten zur Präzision in der Serie unter Berücksichtigung der im Poolurin enthaltenen Hintergrundgehalte der Analyten. Die so berechneten relativen Wiederfindungen sind in [Tabelle 11](#) dargestellt.

Tab. 11 Mittlere relative Wiederfindungen bei der Bestimmung von CEMA und AMCC in Urin (n = 8)

Analyt	Dotierte Konzentration [µg/l]	Mittlere Wiederfindung (rel.) r [%]	Bereich [%]
CEMA	30,9	105	98,7–114
	412	103	99,0–110
AMCC	34,2	102	91,6–112
	428	104	98,2–110

11.3 Nachweis- und Bestimmungsgrenzen

Die Nachweisgrenze wurde aus dem dreifachen Signal/Rausch-Verhältnis abgeschätzt. Die Bestimmungsgrenze wurde analog berechnet aus dem neunfachen Signal/Rausch-Verhältnis. [Tabelle 12](#) zeigt die so ermittelten Nachweis- und Bestimmungsgrenzen der einzelnen Analyten.

Tab. 12 Nachweis- und Bestimmungsgrenzen für die Bestimmung von CEMA und AMCC in Urin

Analyt	Nachweisgrenze [µg/l]	Bestimmungsgrenze [µg/l]
CEMA	2,0	6,0
AMCC	2,5	7,5

11.4 Störeinflüsse

Bei stark matrixbelasteten Urinproben kann ein Quenching-Effekt auftreten, der die Ionisierung der Analyten supprimiert und so in manchen Fällen zu höheren Nachweisgrenzen als angegeben führt. Durch den Einsatz der isotoptenmarkierten internen Standards können die gegebenenfalls auftretenden Matrixeffekte jedoch effizient kompensiert werden.

Um die gute chromatographische Auflösung aufrechtzuerhalten, sollten nach ca. 100 Injektionen sowohl die Vorsäule als auch der Partikelfilter erneuert werden. Bei der Prüfung der Methode wurde auf den Einsatz eines Vorsäulenfilters ganz verzichtet.

Da die bei der Methodenentwicklung eingesetzte Anreicherungssäule (LiChrospher RP-18 ADS LiChroCart® 25-4 (25 mm × 4 mm, 25 µm), Merck KGaA, Darmstadt) zum Zeitpunkt der Prüfung nicht mehr kommerziell erhältlich war, wurde eine andere Säule (Strata™-X 25 µm On-Line Extraction (20 × 2,0 mm), Phenomenex Ltd. Deutschland, Aschaffenburg) verwendet. Darüber hinaus wurden bei der Prüfung statt 100 µl nur 20 µl der Probe injiziert, da sich dadurch eine bessere Peakform ergab. Auch mit diesen Änderungen ließ sich die Methode gut nachstellen. Zur Bestimmung sehr geringer Analytgehalte sollte allerdings ein Injektionsvolumen von 100 µl eingesetzt werden.

12 Diskussion der Methode

Das vorgestellte analytische Verfahren ermöglicht die simultane Bestimmung der Mercaptursäuren CEMA und AMCC als spezifische Biomarker der Arbeitsstoffe Acrylnitril und DMF in humanen Urinproben. Dies ist insbesondere für das Biomonitoring von Beschäftigten in der Polyacrylnitrilfaserproduktion von Bedeutung, in der eine simultane Exposition gegen beide Stoffe zu erwarten ist (IARC 2018).

Generell zeichnet sich das Verfahren durch eine einfache Probenvorbereitung aus, da die Proben nach Verdünnung mit Puffer mittels Online-SPE mit automatischer Säulenschaltung angereichert und aufgereinigt werden; hierdurch wird ein hoher Probendurchsatz möglich. Die erhobenen Validierungsdaten belegen eine gute Reproduzierbarkeit und Richtigkeit der Methode, mit relativen Standardabweichungen unter 6 % bei Messung in der Serie und unter 10 % bei

Messung von Tag zu Tag. Auch die Richtigkeit mit mittleren relativen Wiederfindungen zwischen 102 % und 105 % ist als sehr gut zu bezeichnen.

Mit einer Bestimmungsgrenze von 7,5 µg AMCC und 6,0 µg CEMA pro Liter Urin lässt sich die AMCC-Hintergrundbelastung und zum Teil auch die CEMA-Hintergrundbelastung der nichtrauchenden, beruflich nicht belasteten Allgemeinbevölkerung sensitiv erfassen. Die durchweg sehr guten Validierungsdaten wurden bei der externen Prüfung der Methode in einem zweiten, unabhängigen Labor bestätigt.

Bei älteren Methoden zur Bestimmung von AMCC in Urin ist die erreichte Sensitivität deutlich geringer als die der hier beschriebenen Methode. So ermittelten Perbellini et al. (2001) für ihre HPLC-UV-Methode eine Bestimmungsgrenze für AMCC von 1800 µg/l. He et al. (2010) gaben für AMCC eine Bestimmungsgrenze in einem ähnlichen Bereich an, wobei dort die Urinprobe nach SPE mit HPLC und Photodioden-Array-Detektor analysiert wurde. Die Bestimmung von AMCC mittels UPLC-MS/MS führte zu einer Nachweisgrenze von 200 µg/l (Sohn et al. 2005; Wu et al. 2017). Mittels HPLC-MS/MS konnten Schettgen et al. (2012) AMCC in Urin mit einer Bestimmungsgrenze von 15 µg/l nachweisen. Eine noch höhere Sensitivität wurde hingegen von Frigerio et al. (2019) beschrieben, die neben AMCC und CEMA auch noch weitere Mercaptursäuren simultan im Urin bestimmt haben. Mittels LC-MS/MS wurden hier Bestimmungsgrenzen von 2 µg/l (AMCC) sowie 0,9 µg/l (CEMA) erreicht.

Insgesamt eignet sich das hier beschriebene Verfahren sehr gut, um eine simultane Exposition gegen Acrylnitril und DMF am Arbeitsplatz über eine Bestimmung spezifischer Metaboliten im Urin zu erfassen und die Einhaltung der aktuellen biologischen Beurteilungswerte für beide Arbeitsstoffe zu überprüfen. Auch zur Differenzierung zwischen Rauchern und Nichtrauchern anhand der CEMA-Konzentration im Urin ist das Verfahren gut geeignet.

Verwendete Messgeräte HPLC-Anlage (Series 1100) mit einer binären und einer quaternären Pumpe (G 1311 A), Vakuum-Entgaser (G 1322 A) und Autosampler (G 1313 A) (Agilent Technologies Deutschland GmbH, Waldbronn); Triple-Quadrupol-Massenspektrometer (API 2000, AB SCIEX Germany GmbH, Darmstadt)

Anmerkungen

Interessenkonflikte

Die in der Kommission etablierten Regelungen und Maßnahmen zur Vermeidung von Interessenkonflikten (www.dfg.de/mak/interessenkonflikte) stellen sicher, dass die Inhalte und Schlussfolgerungen der Publikation ausschließlich wissenschaftliche Aspekte berücksichtigen.

Die Autoren beteiligen sich ad personam in ihrer Eigenschaft als sachkundige Experten und nicht als Vertretung der Institutionen oder Unternehmen, in denen sie tätig sind.

Literatur

- Angerer J, Göen T, Krämer A, Kätterlein HU (1998) N-methylcarbamoyl adducts at the N-terminal valine of globin in workers exposed to N,N-dimethylformamide. Arch Toxicol 72(5): 309–313. <https://doi.org/10.1007/s002040050507>
- Bader M, Barr D, Göen T, Schaller KH, Scherer G, Angerer J (2010) Allgemeine Vorbemerkungen. Zuverlässigkeitskriterien einer analytischen Methode. In: Angerer J, Hartwig A, Hrsg. Analytische Methoden zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe. Band 2: Analysen in biologischem Material. 19. Lieferung. Weinheim: Wiley-VCH. S. 284–336. Auch erhältlich unter <https://doi.org/10.1002/3527600418.bireliabd0019>
- Brazdil JF (2026) Acrylonitrile. In: Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, 7. Aufl. Weinheim: Wiley-VCH. S. 1–10. https://doi.org/10.1002/14356007.a01_177.pub3
- Bundesärztekammer (2023) Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen. Dtsch Arztebl 120(21–22): 1–37. https://doi.org/10.3238/arztebl.2023.rili_baek_QS_Labor
- Chen M, Carmella SG, Lindgren BR, Luo X, Ikuemonisan J, Niesen B, Thomson NM, Murphy SE, Hatsukami DK, Hecht SS (2023) Increased levels of the acrolein metabolite 3-hydroxypropyl mercapturic acid in the urine of e-cigarette users. Chem Res Toxicol 36(4): 583–588. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.2c00145>

- Christ T, Ellrich D, Leng G, Schmidtkunz C, Gries W, Pilz F, Scherer G, Göen T, Hartwig A, MAK Commission (2023) Alkylierende Substanzen – Bestimmung von Hämoglobin-Addukten als N-Methylvalin, N-Ethylvalin, N-Propylvalin, N-Butylvalin, N-(2-Hydroxypropyl)valin, N-(2-Hydroxyethyl)valin, N-(2-Cyanoethyl)valin, N-Benzylvalin und N-(2-Carbamoyl-ethyl)valin in der Erythrozytenfraktion des Vollblutes mittels GC-MS/MS. Biomonitoring-Methode. MAK Collect Occup Health Saf 8(3): Doc073. https://doi.org/10.34865/bi33488d8_3or
- DFG (Deutsche Forschungsgemeinschaft), Hrsg (2026) MAK- und BAT-Werte-Liste 2026. Maximale Arbeitsplatzkonzentrationen und Beurteilungswerte in biologischem Material. Ständige Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Mitteilung 62. Düsseldorf: German Medical Science. https://doi.org/10.34865/mbwl_2026_deu
- Fennell TR, Kedderis GL, Sumner SCJ (1991) Urinary metabolites of [1,2,3-¹³C]acrylonitrile in rats and mice detected by ¹³C nuclear magnetic resonance spectroscopy. Chem Res Toxicol 4(6): 678–687. <https://doi.org/10.1021/tx00024a013>
- Frigerio G, Mercadante R, Polledri E, Missineo P, Campo L, Fustinoni S (2019) An LC-MS/MS method to profile urinary mercapturic acids, metabolites of electrophilic intermediates of occupational and environmental toxicants. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci 1117: 66–76. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2019.04.015>
- Frigerio G, Campo L, Mercadante R, Mielżyńska-Śvach D, Pavanello S, Fustinoni S (2020 a) Urinary mercapturic acids to assess exposure to benzene and other volatile organic compounds in coke oven workers. Int J Environ Res Public Health 17(5): 1801. <https://doi.org/10.3390/ijerph17051801>
- Frigerio G, Mercadante R, Campo L, Polledri E, Boniardi L, Olgiati L, Missineo P, Fustinoni S (2020 b) Urinary biomonitoring of subjects with different smoking habits. Part I: profiling mercapturic acids. Toxicol Lett 327: 48–57. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2020.03.010>
- Gallart-Mateu D, Dualde P, Coscollà C, Soriano JM, Garrigues S, de la Guardia M (2023) Biomarkers of exposure in urine of active smokers, non-smokers, and vapers. Anal Bioanal Chem 415(27): 6677–6688. <https://doi.org/10.1007/s00216-023-04943-w>
- Göen T, Drexler H, Hartwig A, MAK Commission (2019) Addendum zu N,N-Dimethylformamid. Beurteilungswerte in biologischem Material. MAK Collect Occup Health Saf 4(3): 1651–1663. [Korrigierte Neuveröffentlichung ohne inhaltliche Bearbeitung. Düsseldorf: German Medical Science; 2025. Erhältlich unter https://doi.org/10.34865/bb6812d0024_w]
- Greim H, Hrsg (1999) Acrylnitril. In: Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten. 28. Lieferung. Weinheim: Wiley-VCH. Auch erhältlich unter <https://doi.org/10.1002/3527600418.mb10713d0028>
- Greim H, Hrsg (2006) N,N-Dimethylformamid. In: Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten. 40. Lieferung. Weinheim: Wiley-VCH. Auch erhältlich unter <https://doi.org/10.1002/3527600418.mb6812d0040>
- Hartwig A, MAK Commission (2016) N,N-Dimethylformamid. MAK Value Documentation in German language. MAK Collect Occup Health Saf 1(2): 995–1007. <https://doi.org/10.1002/3527600418.mb6812d0060>
- Hartwig A, MAK Commission (2017) N,N-Dimethylformamid. MAK-Begründung, Nachtrag. MAK Collect Occup Health Saf 2(1): 122–123. [Korrigierte Neuveröffentlichung ohne inhaltliche Bearbeitung. Düsseldorf: German Medical Science; 2026. Erhältlich unter https://doi.org/10.34865/mb6812d0062_w]
- Hartwig A, MAK Commission (2019) N,N-Dimethylformamid. MAK-Begründung, Nachtrag. MAK Collect Occup Health Saf 4(2): 670–685. [Korrigierte Neuveröffentlichung ohne inhaltliche Bearbeitung. Düsseldorf: German Medical Science; 2025. Erhältlich unter https://doi.org/10.34865/mb6812d0067_w]
- He J, Wang P, Zhu J, Wu G, Ji J, Xue Y (2010) Role of urinary biomarkers of N,N-dimethylformamide in the early detection of hepatic injury among occupational exposed workers. Int Arch Occup Environ Health 83(4): 399–406. <https://doi.org/10.1007/s00420-010-0520-8>
- Henschler D (1978) Acrylnitril. In: Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten. 6. Lieferung. Weinheim: VCH. Auch erhältlich unter <https://doi.org/10.1002/3527600418.mb10713d0006>
- Henschler D (1992) Dimethylformamid. In: Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten. 18. Lieferung. Weinheim: VCH. Auch erhältlich unter <https://doi.org/10.1002/3527600418.mb6812d0018>
- IARC (International Agency for Research on Cancer) (1999) Acrylonitrile. In: Re-evaluation of some organic chemicals, hydrazine and hydrogen peroxide. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Band 71. Lyon: IARC Press. S. 43–108. <https://publications.iarc.who.int/download/mono71.pdf>, abgerufen am 12 Mai 2026
- IARC (International Agency for Research on Cancer) (2018) N,N-Dimethylformamide. In: Some industrial chemicals. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Band 115. Lyon: IARC Press. S. 119–170. <https://publications.iarc.who.int/download/Vol115-BOOK.pdf>, abgerufen am 12 Mai 2026
- IARC (International Agency for Research on Cancer) (2025) Acrylonitrile. In: Talc and acrylonitrile. IARC monographs on the identification of carcinogenic hazards to humans. Band 136. Lyon: IARC Press. S. 471–778. https://publications.iarc.who.int/download/Volume136_Nov2025.pdf, abgerufen am 28 Mai 2026
- IFA (Institut für Arbeitsschutz der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung) (2026) Acrylnitril. GESTIS-Stoffdatenbank. <https://gestis.dguv.de/data?name=011410>, abgerufen am 12 Mai 2026
- Jäger T, Drexler H, Hartwig A, MAK Commission (2021) Acrylnitril – Addendum zur Reevaluierung von EKA und BAR. Beurteilungswerte in biologischem Material. MAK Collect Occup Health Saf 6(1): Doc011. https://doi.org/10.34865/bb10713d6_1ad
- Jakubowski M, Linhart I, Pielas G, Kopecký J (1987) 2-Cyanoethylmercaptopuric acid (CEMA) in the urine as a possible indicator of exposure to acrylonitrile. Br J Ind Med 44(12): 834–840. <https://doi.org/10.1136/oem.44.12.834>
- Käfferlein HU, Göen T, Müller J, Wrbitzky R, Angerer J (2000) Biological monitoring of workers exposed to N,N-dimethylformamide in the synthetic fibre industry. Int Arch Occup Environ Health 73(2): 113–120. <https://doi.org/10.1007/s004200050016>

- Käfferlein HU, Mráz J, Ferstl C, Angerer J (2004) Analysis of metabolites of N,N-dimethylformamide in urine samples. *Int Arch Occup Environ Health* 77(6): 427–432. <https://doi.org/10.1007/s00420-004-0538-x>
- Käfferlein HU, Ferstl C, Burkhart-Reichl A, Hennebrüder K, Drexler H, Brüning T, Angerer J (2005) The use of biomarkers of exposure of N,N-dimethylformamide in health risk assessment and occupational hygiene in the polyacrylic fibre industry. *Occup Environ Med* 62(5): 330–336. <https://doi.org/10.1136/oem.2004.017129>
- Käfferlein HU, Angerer J, Leng G (2012) N-Acetyl-S-(N-methylcarbamoyl)cystein (AMCC), N-Hydroxymethyl-N-methylformamid (HMMF) und N-Methylformamid (NMF) in Urin. In: Göen T, Hartwig A, Hrsg. Analytische Methoden zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe. Band 2: Analysen in biologischem Material. 20. Lieferung. Weinheim: Wiley-VCH. Auch erhältlich unter <https://doi.org/10.1002/3527600418.bi6812d0020>
- Käfferlein HU, Angerer J, Leng G, Gries W, Eckert E, Ferstl C, Göen T, Hartwig A, MAK Commission (2016) 3-Methyl-5-isopropylhydantoin als Hämoglobinaddukt des N,N-Dimethylformamids und Methylisocyanats. *Biomonitoring-Methode. MAK Collect Occup Health Saf* 1(3): 2309–2331. <https://doi.org/10.1002/3527600418.bi6812d0021a>
- Kilo S, Göen T, Drexler H (2016) Cross-sectional study on N,N-dimethylformamide (DMF); effects on liver and alcohol intolerance. *Int Arch Occup Environ Health* 89(8): 1309–1320. <https://doi.org/10.1007/s00420-016-1164-0>
- Kraus T, Angerer J, Bader M, Schettgen T (2010) Addendum zu Acrylnitril. In: Drexler H, Hartwig A, Hrsg. Biologische Arbeitsstoff-Toleranz-Werte (BAT-Werte), Expositionsäquivalente für krebserzeugende Arbeitsstoffe (EKA), Biologische Leitwerte (BLW) und Biologische Arbeitsstoff-Referenzwerte (BAR). 17. Lieferung. Weinheim: Wiley-VCH. S. 17–26. Auch erhältlich unter <https://doi.org/10.1002/3527600418.bb10713d0017>
- Li C, Guo Y, Duan K, Wang Z, Wu Z, Jiang X, Yang L, Hu S, Li S, Huang M, Zhong G (2024) Changes in biomarkers of exposure and withdrawal symptom among Chinese adult smokers after completely or partially switching from combustible cigarettes to an electronic nicotine delivery system. *Intern Emerg Med* 19(3): 669–679. <https://doi.org/10.1007/s11739-023-03518-y>
- Lin C-Y, Lee H-L, Sung F-C, Su T-C (2018) Investigating the association between urinary levels of acrylonitrile metabolite N-acetyl-S-(2-cyanoethyl)-L-cysteine and the oxidative stress product 8-hydroxydeoxyguanosine in adolescents and young adults. *Environ Pollut* 239: 493–498. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.04.010>
- NCEH (National Center for Environmental Health (U.S.). Division of Laboratory Sciences) (2021) Fourth national report on human exposure to environmental chemicals. Updated tables, March 2021, Volume four: analysis of chemicals found in cigarette smoke in a special sample of U.S. adults, NHANES 2011–2016. Atlanta, GA: CDC. https://stacks.cdc.gov/view/cdc/105343/cdc_105343_DS1.pdf, abgerufen am 28 Mai 2026
- Perbellini L, Maestri L, Veronese N, Romani S, Brugnone F (2001) Analysis of urinary N-acetyl-S-(N-methylcarbamoyl)cysteine, the mercapturic acid derived from N,N-dimethylformamide. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 759(2): 349–354. [https://doi.org/10.1016/s0378-4347\(01\)00242-0](https://doi.org/10.1016/s0378-4347(01)00242-0)
- Sakai T, Kageyama H, Araki T, Yosida T, Kuribayashi T, Masuyama Y (1995) Biological monitoring of workers exposed to N,N-dimethylformamide by determination of the urinary metabolites, N-methylformamide and N-acetyl-S-(N-methylcarbamoyl) cysteine. *Int Arch Occup Environ Health* 67(2): 125–129. <https://doi.org/10.1007/BF00572236>
- Scherer G, Gilch G, Aust B, Blaszkewicz M, Göen T, Hartwig A, MAK Commission (2018) Formamid, Dimethylformamid – Bestimmung von Formamid in Urin mittels Gaschromatographie-Massenspektrometrie. *Biomonitoring-Methode. MAK Collect Occup Health Saf* 3(1): 418–433. [Korrigierte Neuveröffentlichung ohne inhaltliche Bearbeitung. Düsseldorf: German Medical Science; 2025. Erhältlich unter https://doi.org/10.34865/bi7512d0022_w]
- Schettgen T, Musiol A, Kraus T (2008) Simultaneous determination of mercapturic acids derived from ethylene oxide (HEMA), propylene oxide (2-HPMA), acrolein (3-HPMA), acrylamide (AAMA) and N,N-dimethylformamide (AMCC) in human urine using liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom* 22(17): 2629–2638. <https://doi.org/10.1002/rcm.3659>
- Schettgen T, Musiol A, Alt A, Ochsmann E, Kraus T (2009) A method for the quantification of biomarkers of exposure to acrylonitrile and 1,3-butadiene in human urine by column-switching liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem* 393(3): 969–981. <https://doi.org/10.1007/s00216-008-2510-1>
- Schettgen T, Scherer G, Sterz K (2012) Mercaptursäuren (N-Acetyl-S-2-carbamoylthylcystein, N-Acetyl-S-2-hydroxyethylcystein, N-Acetyl-S-3-hydroxypropylcystein, N-Acetyl-S-2-hydroxypropylcystein, N-Acetyl-S-(N-methylcarbamoyl)cystein) in Urin. In: Göen T, Hartwig A, Hrsg. Analytische Methoden zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe. Band 2: Analysen in biologischem Material. 20. Lieferung. Weinheim: Wiley-VCH. Auch erhältlich unter <https://doi.org/10.1002/3527600418.bi0mercapad0020>
- Schettgen T, Müller J, Ferstl C, Angerer J, Weiss T, Leng G, Göen T, Hartwig A, MAK Commission (2016) Hämoglobinaddukte von Ethylenoxid (N-(2-Hydroxyethyl)valin), Propylenoxid (N-(2-Hydroxypropyl)valin), Acrylnitril (N-(2-Cyanoethyl)valin), Acrylamid (N-(2-Carbonamidethyl)valin) und Glycidamid (N-(2-Hydroxy-2-carbonamidethyl)valin). *Biomonitoring-Methode. MAK Collect Occup Health Saf* 1(3): 2221–2253. <https://doi.org/10.1002/3527600418.bi7521d0021>
- Seitz M, Kilo S, Eckert E, Müller J, Drexler H, Göen T (2018) Validity of different biomonitoring parameters for the assessment of occupational exposure to N,N-dimethylformamide (DMF). *Arch Toxicol* 92(7): 2183–2193. <https://doi.org/10.1007/s00204-018-2219-7>
- van Sittert NJ, Angerer J, Bader M, Blaszkewicz M, Ellrich D, Krämer A, Lewalter J (1996) N-2-Cyanoethyl-Valin, N-2-Hydroxyethyl-Valin, N-Methyl-Valin (zum Nachweis einer Belastung/Beanspruchung durch Acrylnitril, Ethylenoxid sowie methylierende Substanzen). In: Angerer J, Schaller KH, Greim H, Hrsg. Analytische Methoden zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe. Band 2: Analysen in biologischem Material. 12. Lieferung. Weinheim: VCH. Auch erhältlich unter <https://doi.org/10.1002/3527600418.bi0nmvld0012>

- Sohn JH, Han MJ, Lee MY, Kang S-K, Yang JS (2005) Simultaneous determination of N-hydroxymethyl-N-methylformamide, N-methylformamide and N-acetyl-S-(N-methylcarbamoyl)cysteine in urine samples from workers exposed to N,N-dimethylformamide by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Pharm Biomed Anal* 37(1): 165–170. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2004.10.001>
- Stayner LT, Carreón-Valencia T, Demers PA, Fritz JM, Sim MR, Stewart P, Tsuda H, Cardenas A, Consonni D, Davies L, De Matteis S, Felley-Bosco E, Ghio AJ, Göen T, Grosse Y, Gualtieri AF, Josephy PD, Koutros S, Linhart I, Louro H, O'Brien KM, Panzacchi S, Peña L, Rössner P, Schildkraut JM, Stefaniak AB, Wentzensen N, Wild P, Xu Y, de Conti A, Facchin C, Wedekind R, Ahmadi A, Blanco J, Chittiboyina S, Kulasingam S, MacLehose R, Motlhale M, Shah S, Suonio E, Mattock H, Kunzmann A, Madia F, Pasqual E, Benbrahim-Tallaa L, Schubauer-Berigan MK (2024) Carcinogenicity of talc and acrylonitrile. *Lancet Oncol* 25(8): 962–963. [https://doi.org/10.1016/s1470-2045\(24\)00384-x](https://doi.org/10.1016/s1470-2045(24)00384-x)
- Sumner SC, Fennell TR, Moore TA, Chanas B, Gonzalez F, Ghanayem BI (1999) Role of cytochrome P450 2E1 in the metabolism of acrylamide and acrylonitrile in mice. *Chem Res Toxicol* 12(11): 1110–1116. <https://doi.org/10.1021/tx990040k>
- Will W, Bader M, Göen T, Hartwig A, MAK Commission (2016) N-Methylformamid und N-Methylacetamid in Urin. *Biomonitoring-Methode. MAK Collect Occup Health Saf* 1(3): 2291–2308. <https://doi.org/10.1002/3527600418.bi6812d0021b>
- Wu Z, Liu Q, Wang C, Xu B, Guan M, Ye M, Jiang H, Zheng M, Zhang M, Zhao W, Jiang X, Leng S, Cheng J (2017) A comparative benchmark dose study for N, N-dimethylformamide induced liver injury in a Chinese occupational cohort. *Toxicol Sci* 158(1): 140–150. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfx076>
- Wu K-Y, Wu C-F, Luo Y-S, Huang Y-F, Uang S-N, Lee Y-Y, Chiang S-Y (2023) Study of urinary mercapturic acids as biomarkers of human acrylonitrile exposure. *Toxicol Lett* 373: 141–147. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2022.11.006>