

Über das Vorkommen aromatischer Amine im Zigarettenrauch

(Vorläufige Mitteilung)

Von

M. Pailer,* W. J. Hübsch* und H. Kuhn**

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Universität Wien*, und dem
Forschungslaboratorium der Austria Tabakwerke AG**, Wien

(Eingegangen am 2. September 1966)

Noch vor wenigen Jahren berichteten *Bonnet* und *Neukomm*¹, im Tabakrauch seien keine diazotierbaren, aromatischen Amine vorhanden. Hingegen hat man eine Anzahl aliphatischer Basen nachweisen können^{2,3,4} und es lag daher die Vermutung nahe, daß das Rauchkondensat auch aromatische Amine enthielte.

Wie uns durch eine private Mitteilung⁵ bekannt wurde, haben *Neurath* et al. in einer systematischen Arbeit über die flüchtigen Basen des Tabaks und Tabakrauches kürzlich Anilin nachweisen können. Andere aromatische Amine haben sie bei der von ihnen gewählten säulen- und dünnschichtchromatographischen Auftrennung der p-Nitroazobenzolcarbonsäureamidderivate nicht gefunden.

Durch Verfeinerung der Trennmethode und Anwendung der Kombination Gaschromatographie/Massenspektrometrie gelang es uns ebenfalls, Anilin, und darüber hinaus eine Reihe weiterer aromatischer Amine, nachzuweisen.

¹ *J. Bonnet* und *S. Neukomm*, *Helv. Chim. Acta* **40**, 113 (1956).

² T. R. C. The Const. of Tob. Sm. An Annotated Bibliography Research Papers No 3, 1959, First Suppl. 1960. Sec. Suppl. 1963.

³ *G. Neurath*, *B. Pirmann*, *W. Lüttich* und *H. Wichern*, *Beitr. Tabakforsch.* **3**, (4), 251 (1965).

⁴ *G. Neurath*, *B. Pirmann* und *M. Dünger*, *Beitr. Tabakforsch.* **3**, (2) 129 (1965).

⁵ *G. Neurath*, *A. Krull*, *B. Pirmann* und *K. Wandrey*, Untersuchung der flüchtigen Basen des Tabaks II (in Druck); *G. Neurath*, *M. Dünger*, *J. Gewe*, *W. Lüttich* und *H. Wichern*, Untersuchung der flüchtigen Basen des Tabakrauches (in Druck).

Die Vereinigung der Gaschromatographie auf Kapillarsäulen mit der hochauflösenden Massenspektrometrie ermöglicht heute die elegante Trennung und Charakterisierung der einzelnen Substanzen eines komplexen Vielstoffgemisches, wie es z. B. eben die basische Fraktion des Zigarettenrauches darstellt.

Folgende Überlegungen waren für die Aufstellung einer Aufarbeitungsmethode richtungsweisend.

Die wahrscheinlich in kleinsten Mengen im Tabakrauch vorkommenden aromatischen Amine, die bekanntlich eine sehr große Reaktionsfähigkeit besitzen, sollten möglichst rasch in definierte, stabile Derivate übergeführt werden. Eine weitere Eigenschaft dieser Verbindungen sollte eine genügend große Flüchtigkeit sein, um sie auf Kapillarsäulen gut und ohne „tailling“ trennen zu können.

Diese Anforderungen wurden durch die Überführung der freien Amine in Trifluoracetylderivate erfüllt. Die Trifluoracetylierung der Amine mit Trifluoressigsäureanhydrid läßt sich in der Kälte schonend und quantitativ durchführen. Nötigenfalls kann der Trifluoracetylrest auch wieder unter schonenden Bedingungen, durch milde alkalische Verseifung, abgespalten werden.

Zum genauen Studium unseres Problems haben wir Trifluoracetyl-derivate von fast 150 primären und sekundären Aminen dargestellt, über deren gaschromatographisches Verhalten auf verschiedenen stationären Phasen und Säulentypen wir in einer gesonderten Veröffentlichung⁶ berichten.

Zur Aufarbeitung des Zigarettenrauchkondensates setzten wir die basische Fraktion, die wir durch Salzsäureausschüttelung und Absorption an einem Ionenaustauscher erhalten hatten, mit Trifluoressigsäureanhydrid um, und entfernten nach vollendeter Reaktion die tertiären Amine durch Ausschütteln mit Salzsäure. Die flüchtigen Trifluoracetamide destillierten wir im Vakuum von hochmolekularen, schwerflüchtigen Amidverbindungen ab und trennten sie gaschromatographisch auf. Die einzelnen Komponenten wurden dann direkt massenspektrometrisch erfaßt. Aus unseren Vergleichschromatogrammen waren uns die Retentionszeiten der Trifluoracetamide bekannt, so daß eine eindeutige Zuordnung der Massenspektren von Isomeren möglich ist. Bis jetzt haben wir folgende aliphatische und aromatische Amine in Form ihrer Trifluoracetamide nachgewiesen: Methylamin, iso-Butylamin, n-Butylamin, iso-Amylamin, n-Amylamin, n-Hexylamin, Anilin, o-Toluidin, m-Toluidin und p-Toluidin. Das Vorhandensein von zwei Dimethyl- oder Äthylanilinen und einem Trimethylanilin wurde festgestellt, jedoch muß ihre genaue Identifizierung noch erfolgen.

⁶ M. Pailer und W. J. Hübsch, *Mh. Chem.* **97** (1966), im Druck.

Da die bisherige Auftrennung für die Massenspektrometrie auf einer relativ unpolaren Kapillarsäule mit fluoriertem Silikonöl (FS 1265, QF 1) als stationäre Phase erfolgte, wird der Einsatz einer polaren, gut trennenden Polyphenyläthersäule, und wenn nötig einer „support coated open tubular column“ mit einer Mischphase von *MBMA* (Meta-bis-metaphenoxyphenoxy-benzol mit Apiezon L) und Igepal CO 880 aller Voraussicht nach zu einer weiteren Identifizierung neuer aliphatischer und aromatischer Amine führen.

Wir werden über diese endgültigen Ergebnisse in den „Fachlichen Mitteilungen der Österreichischen Tabakregie“ in einer ausführlichen Arbeit berichten.

Wir danken Herrn Prof. Dr. *W. Simon* und Herrn Dr. *J. Völlmin* (Laboratorium für organische Chemie der Eidgen. Technischen Hochschule Zürich) für die Durchführung der Analyse, die auf Grund eingehender Untersuchungen von *J. Völlmin*, *I. Omura*, *J. Seibl*, *K. Grob* und *W. Simon* (Helv. chim. Acta, im Druck) über die Anwendung der Kopplung von Gaschromatographie und Massenspektrometrie möglich war.

Experimenteller Teil

Die verwendeten, filterlosen 80 mm langen, aus einer handelsüblichen Blendmischung hergestellten Zigaretten (durchschnittliches Gewicht 1,30 g) wurden vor dem Abrauchen über gesättigter Ammonnitratlösung klimatisiert.

Das Abrauchen erfolgte nach den internationalen Standardbedingungen und wurde auf zwei von *Barkemeyer* und *Seehofer*⁷ angegebenen Maschinen mit Kondensationskühlfallen nach *Elmenhorst*⁸ gleichzeitig durchgeführt. Für eine Bestimmung wurden insgesamt 3000 Zigaretten abgeraucht.

1. Das erhaltene Kondensat wurde in 500 ml Äther aufgenommen, einmal mit 200 ml und dann weitere zehnmal mit je 100 ml 10proz. HCl ausgeschüttelt.

2. Die vereinigten Salzsäurefraktionen wurden 2 mal mit Äther geschüttelt, mit Eis—Kochsalz gekühlt und vorsichtig mit konz. NaOH unter Rühren neutralisiert, so daß die Temp. nicht über 10° C stieg. Die Lösung wurde nun mit 200 ml Äther überschichtet und auf pH 12—13 gebracht. Nach Sättigung mit NaCl wurde weitere neunmal mit je 100 ml Äther ausgeschüttelt.

3. Die vereinigten Ätherfraktionen wurden mit Na₂SO₄ (p. a.) getrocknet und langsam durch eine Säule, gefüllt mit 200 ml Ionenaustauscher Amberlyst 15 (H-Form) laufen gelassen. Der Ionenaustauscher wurde in der H-Form vor dem Aufbringen der Basen zuerst mit Wasser, dann mit Methanol und zuletzt mehrere Male mit Äther gewaschen.

4. Nach Absorption der Basen wurde der Ionenaustauscher mit Äther gewaschen und die Basen mit 10proz. HCl eluiert.

⁷ *H. Barkemeyer* und *F. Seehofer*, Beitr. Tabakforsch. **3**, (3), 93 (1961).

⁸ *H. Elmenhorst*, Beitr. Tabakforsch. **3**, (2), 101 (1965).

5. Die Salzsäure wurde wie bei Schritt 2 alkalisiert und mit Äther ausgeschüttelt.

6. Nach Trocknen mit Na_2SO_4 wurde die Ätherlösung mit 3 ml Trifluoressigsäureanhydrid versetzt und über eine Kolonne auf ungefähr 20 ml eingengt.

7. Die verbleibende Lösung wurde nun mit Eis—Kochsalz auf -5°C abgekühlt und weitere 15 ml Trifluoressigsäureanhydrid zugegeben.

8. Nach 1stdg. Stehen wurde in einem kleinen Scheidetrichter mit Wasser einmal gewaschen, und dann fünfmal mit je 20 ml 10proz. HCl ausgeschüttelt.

9. Die Ätherschicht wurde mit Wasser, gesättigter NaHCO_3 -Lösung und wieder mit Wasser gewaschen, mit wenig Na_2SO_4 getrocknet und eingedampft.

10. Die so erhaltenen Trifluoracetylderivate der primären und sekundären Amine wurden in einem kleinen Kugelrohr bei einem fallenden Druck von 0,1 bis 0,001 Torr zwischen 80 und 150°C destilliert.

11. Das Destillat wurde der gaschromatographischen Auftrennung und nachfolgenden massenspektrometrischen Charakterisierung unterworfen.

Zur Aufnahme der Vergleichschromatogramme diente ein Gaschromatograph der Bodenseewerk Perkin-Elmer G. m. b. H. Modell F 7 HF. Die Auftrennung für das Massenspektrometer Type RMU 6 D Hitachi-Perkin-Elmer erfolgte auf einem Gaschromatographen Modell 800 der Perkin-Elmer Corp., Norwalk. Die genauen Betriebsdaten werden wir in der oben erwähnten zusammenfassenden Arbeit angeben.