

EIN SPEZIFISCHES ANALYTISCHES NACHWEISVERFAHREN FÜR NITROSAMINE  
DURCH KOMBINATION VON  
GASCHROMATOGRAPHIE MIT DER MASSENSPEKTROMETRIE

K. Heyns und H. Röper

Institut für Organische Chemie und Biochemie, Universität Hamburg

(Received in Germany 29 December 1969; received in UK for publication 26 January 1970)

Seit der Entdeckung der krebserregenden Wirkung von Dimethylnitrosamin durch Magee und Barnes<sup>1)</sup> stehen die N-Nitrosamine im Mittelpunkt der Krebsforschung. Mehrere Arbeitskreise beschäftigten sich mit ihren organspezifischen karzinogenen Wirkungen. Das Vorkommen von Nitrosaminen wurde in Naturprodukten und Nahrungsmitteln beschrieben, so u.a. im Pilz *Clitocybe suavolens*, in *Streptomyceen* und *Solanaceen*, in Weizenpflanzen und Weizenmehl, in Tabak und Tabakrauch, in pasteurisierter Milch und Käse, in Pökelfleisch und Heringsmehl<sup>2)</sup>.

Als analytische Nachweisverfahren dienten bisher die Dünnschichtchromatographie<sup>3)</sup>, die Colorimetrie<sup>4)</sup>, die UV-<sup>4, 5)</sup>, IR-<sup>6)</sup> und Fluoreszenzspektroskopie<sup>6)</sup>, die Polarographie<sup>7, 8)</sup> und die Gaschromatographie<sup>9-13)</sup> mit gepackten Säulen. Diese Verfahren sind für die Analytik komplizierter Stoffgemische überwiegend nicht genügend spezifisch.

Wir haben als empfindliches und substanzspezifisches kombiniertes Trenn- und Nachweisverfahren für Nitrosamine die Kopplung von Kapillargaschromatographie und Massenspektrometrie ausgearbeitet. Folgende Nitrosamine wurden dargestellt - in Tab. 1 in Reihenfolge steigender Retentionswerte aufgeführt - und in zwei Modellgemischen gaschromatographisch untersucht:

Tabelle 1

a.) R-Säule (Gemisch 1)	b.) PDEGS-Säule (Gemisch 2)
0.05 µl/pro Substanz	0.05 µl/pro Substanz
1. Dimethyl-N-NO	1. n-Pentyl-methyl-N-NO
2. Diäthyl-N-NO	2. N-Nitrosopiperidin
3. Di-isopropyl-N-NO	3. Phenyl-n-butyl-N-NO
4. n-Propyl-i-propyl-N-NO	4. N-Nitrosomorpholin
5. Di-n-propyl-N-NO	5. Cyclohexyl-methyl-N-NO
6. Äthyl-n-butyl-N-NO	6. Di-n-hexyl N-NO
7. Di-isobutyl-N-NO	7. Benzyl-methyl-N-NO
8. n-Pentyl-äthyl-N-NO	
9. sec-Butyl-n-butyl-N-NO	
10. n-Pentyl-i-propyl-N-NO	
11. Di-n-butyl-N-NO	
12. n-Pentyl-n-propyl-N-NO	
13. n-Pentyl-sec-butyl-N-NO	
14. Di-isopentyl-N-NO	
15. n-Pentyl-n-butyl-N-NO	
16. n-Pentyl-iso-pentyl-N-NO	
17. Di-n-Pentyl-N-NO	
18. Di-n-Hexyl-N-NO	

Kapillarsäulen unter Anwendung eines Temperaturprogramms erwiesen sich für die Trennung der beiden Gemische als geeignet. Eine 25 m PDEGS-Säule lieferte wegen ihrer hohen Temperaturbelastbarkeit für die Trennung höher siedender aliphatischer, cyclo-aliphatischer und ar-aliphatischer Nitrosamine gute Ergebnisse (Gemisch 2). Eine nach Cieplinski<sup>14)</sup> alkalisierte Polypropylenglykol-Säule (UCON LB 550 X) = R-Säule, bei der die geringere Temperaturbelastbarkeit die Trennung höher siedender Substanzen ausschloß, zeigte gute Trennleistung (Gemisch 1). Die Alkalisierung erfolgte wegen der sonst störenden Bandenschweifung.

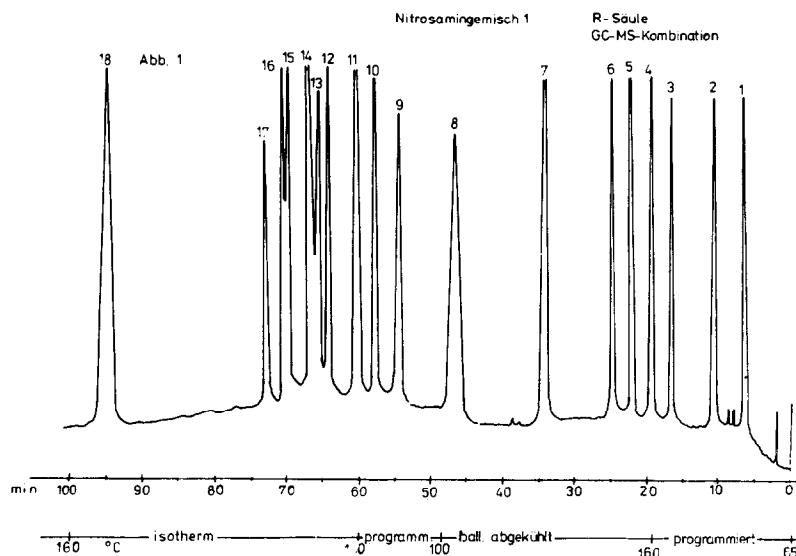
Von allen Nitrosaminen wurden die Massenspektren an einem doppelfokussierenden Massenspektrometer (MA 1 SM 1) bei 70 eV/300µA (Auflösung ca 20000) aufgenommen und zugleich genaue Massenbestimmungen von typischen Fragment-Ionen nach der Peak-Match-Methode durchgeführt. Die einzelnen Nitrosamine zeigten charakteristische und reproduzierbare Spektren, die eine eindeutige Zuordnung erlaubten.

Der Zerfall von Nitrosaminen im Massenspektrometer wurde durch Messungen metastabiler Ionen und mit den Massenspektren spezifisch deuterierter Nitrosamine eingehend untersucht. Die aufgefundenen Gesetzmäßigkeiten geben die Möglichkeit einer massenspektrometrischen Analyse unbekannter Nitrosamine und ermöglichen das Vorliegen von Vertretern anderer Substanzklassen auszuschließen.

Durch die Kombination der Kapillargaschromatographie mit einem schnell registrierenden Massenspektrometer (ATLAS CH 4), wobei der Säulenausgang direkt über eine Schubstange in die Ionenquelle des Massenspektrometers führt, wurde eine eindeutige Zuordnung der einzelnen Peaks ermöglicht. Diese Kombination erlaubt eine sichere Trennung und Identifizierung verschiedener Substanzen, deren Retentionszeiten nur um wenige Sekunden differieren.

Abb. 1 zeigt das Gaschromatogramm der Kombination Gaschromatographie-Massen-spektrometrie von Gemisch 1, wobei das zu jedem Peak gehörende Massenspektrum die eindeutige Zuordnung ermöglicht. Gemisch 2 verhält sich analog. Auch komplizierte Isomerengemische von Nitrosaminen lassen sich damit einwandfrei trennen und ein-deutig zuordnen.

Unter den Arbeitsbedingungen der gaschromatographischen Trennung von Gemisch 1 (Abb. 1) liegt die Erfassungsgrenze im Bereich  $0.2 - 0.5 \mu\text{g}/\text{pro Substanz}$ . Durch eine Änderung des Teilungsverhältnisses könnte die Erfassungsgrenze zwar noch heruntergesetzt werden, allerdings nur auf Kosten der guten Trennleistung. Die Erfassungsgrenze für den massenspektrometrischen Nachweis liegt bei  $0.01 \mu\text{g}/\text{pro Substanz}$  in der Ionenquelle.



Literatur

- 1.) P.N. Magee und J.M. Barnes, Brit. Journ. Canc. 10, 114 (1956)
- 2.) G. Eisenbrand und P. Marquardt, Med. u. Ernährung 10, 73 (1969)
- 3.) R. Preussmann, G. Neurath, G. Wulf-Lorentzen, D. Daiber und H. Hengy, Z. anal. Chem. 348, 852 (1967)
- 4.) D. Daiber und R. Preussmann, Z. anal. Chem. 206, 344 (1964)
- 5.) F. Ender, G. Havre et al., Naturwiss. 51, 637 (1964)
- 6.) K. Möhler und O. Mayrhofer, Z. Lebensmittelunters. u. Forsch. 135, 313 (1968)
- 7.) D. F. Heath und J.A.E. Jarvis, Analyst 80, 613 (1955)
- 8.) D.L. Lydersen und K. Nagy, Z. anal. Chem. 230, 277 (1967)
- 9.) L. Hedler und P. Marquardt, Fd Cosmet. Toxicol. Vol. 6, 341 (1968)
- 10.) W.J. Serfontein und J.H. Smit, Nature 214, 169 (1967)
- 11.) E. Kröller, Dtsch. Lebensmittel-Rundschau 63, 303 (1967)
- 12.) O.L. Mayrhofer und K. Möhler, Z. Lebensmittelunters. u. Forsch. 134, 246 (1967)
- 13.) H.J. Petrowitz, Arzneimittel-Forsch. 18, 1486 - 1487 (1968)
- 14.) E. W. Cieplinsky, Anal. Chem. 38, 928 (1966).