

Bestimmung migrierter aromatischer Amine in Lebensmittelsimulantien

Autor(en): **Baumann, U. / Marek, B. / Gysin, R.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène**

Band (Jahr): **71 (1980)**

Heft 4

PDF erstellt am: **22.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-983529>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Bestimmung migrierter aromatischer Amine in Lebensmittelsimulantien

U. Baumann und B. Marek

Bundesamt für Gesundheitswesen, Abteilung Lebensmittelkontrolle, Bern
Technische Assistenz: *R. Gysin*

Einleitung

Für die gesundheitliche Beurteilung von Kunststoffen, die mit Lebensmitteln in Kontakt kommen, ist die Prüfung auf die Abgabe von aromatischen Aminen sehr wichtig, da manche aromatische Amine als Carcinogene erkannt wurden. Das Bundesgesundheitsamt Berlin hat in einer Stellungnahme (1) gewarnt, bei der Herstellung von Innenbeschichtungen für Lebensmittelbehälter aromatische Amine als Härter für Epoxidharze zu verwenden. Die heutige Anforderung der Nicht-nachweisbarkeit aromatischer Amine in Lebensmittelsimulantien, die mit dem zu untersuchenden Kunststoff in Kontakt waren, vermag insofern nicht zu befriedigen, als die angewandte Bestimmungsmethode (2) relativ unempfindlich ist (2,5 µg primäres aromatisches Amin, berechnet als Anilinhydrochlorid, in 50 ml Prüflösung) und nur die Summe der aromatischen Amine erfaßt. Zur Beurteilung des gesundheitlichen Risikos wäre es erwünscht, eine wesentlich empfindlichere Methode anwenden zu können, die zudem noch die Spezifizierung der aromatischen Amine erlaubt.

In den letzten Jahren erschienen zahlreiche Publikationen, die Bestimmungsmethoden für aromatische Amine im Spurenbereich aufzeigen. Neben dünnschichtchromatographischen Bestimmungsmethoden (3, 4) finden sich viele HPLC-Arbeiten, die sich der UV-Detektion (5, 6, 7), bevorzugt jedoch der elektrochemischen Detektion, bedienen (7, 8, 9, 10). Extreme Nachweisempfindlichkeiten konnten auch dadurch erreicht werden, daß primäre Amine mit Fluram® derivatisiert und die Reaktionsprodukte fluorimetrisch bestimmt wurden (11, 12).

In dieser Arbeit werden 2 Bestimmungsmethoden, die sehr geringe Mengen aromatischer Amine zu bestimmen gestatten, sowie die Anwendung dieser Methoden zur Erfassung der Migration am Beispiel einer amingehärteten Epoxidbeschichtung und einer Polyurethanbeschichtung vorgestellt.

Analytik

HPLC mit elektrochemischer Detektion (LCEC)

Bei der elektrochemischen Detektion wird an den LC-Säulenausgang eine Detektorzelle angeschlossen, die eine Arbeitselektrode, eine Hilfselektrode sowie eine Bezugslektrode beherbergt. An die aus Kohle aufgebaute Arbeitselektrode wird eine konstante Spannung angelegt, und der durch die Anwesenheit eines elektrochemisch aktiven Stoffes resultierende Strom wird gemessen. Durch die leichte Oxidierbarkeit der aromatischen Amine sowie die enorme Empfindlichkeit der elektrochemischen Detektion (Picomol-Bereich) ist diese Verbindungsklasse prädestiniert, in Spuren elektrochemisch nachgewiesen zu werden. Die zu untersuchenden wässrigen Migrationslösungen wurden in Mengen von 10 µl bis 1,0 ml direkt auf eine C-18 Reversed-phase-Säule injiziert und die getrennten aromatischen Amine elektrochemisch nachgewiesen.

Apparatur

Pumpe:	Waters 6000 A
Injektionsventil:	Waters Universalinjektor U 6 K
Säule:	30 cm Stahlsäule mit einem Innendurchmesser von 3,7 mm gefüllt mit Nucleosil C-18, Korngröße 7,5 µm. Die Säule wurde auf 50 °C thermostatisiert.
Detektor:	Zelle: TL-5 (Bioanalytical Systems Inc.) mit einer Arbeitselektrode aus glasartiger Kohle (glassy carbon) und einer Referenzelektrode Ag/AgCl/KCl 3 m Strommeßgerät: LC-4 (Bioanalytical Systems Inc.) Detektorpotential: 0,9 V

Mobile Phase

Mischung aus 30% über Phosphorpentoxid destilliertem Acetonitril und 70% 0,15 m Phosphatpuffer pH 6,0
Fließgeschwindigkeit: 1,0 ml/min

Standardlösungen

Die Standardsubstanzen wurden in käuflicher Reinheit vorerst in Methanol gelöst und die Lösungen anschließend mit bidestilliertem Wasser zu Endkonzentrationen von ca. 0,2 ng/µl verdünnt. Es wurde jeweils mit frisch zubereiteten Standardlösungen gearbeitet.

Ausführung der Bestimmungen und Ueberprüfung der Linearität

1 bis 300 µl der Standardlösungen wurden direkt auf die LC-Säule aufgegeben. Der Zusammenhang Peakhöhe zu injizierter Diaminmenge wurde an den Beispielen 2,6-Diaminotoluol, 2,4-Diaminotoluol und 4,4'-Diaminodiphenylmethan

im Bereich von 0,2 ng bis 100 ng auf die Linearität überprüft. In Abbildung 1 ist der Response gegen die Diaminmenge doppeltlogarithmisch aufgetragen. Folgende Korrelationskoeffizienten wurden erhalten: 0,9992 2,6-Diaminotoluol, 0,9991 2,4-Diaminotoluol, 0,9987 4,4'-Diaminodiphenylmethan.

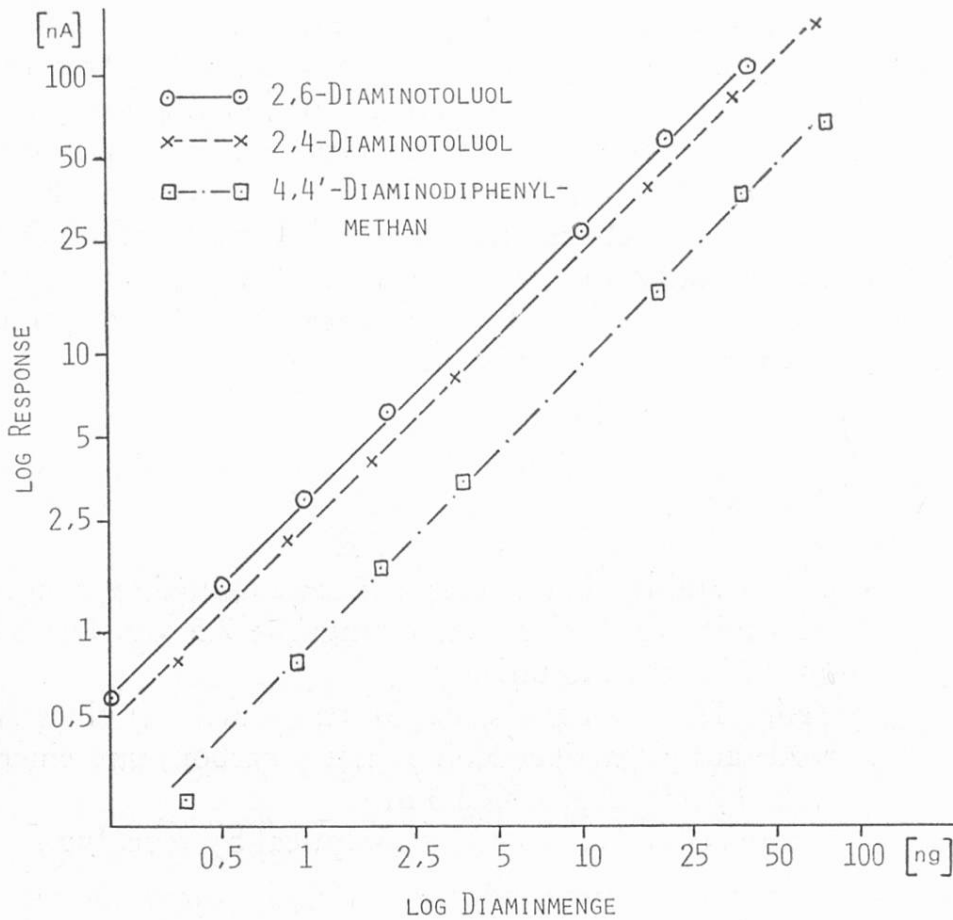


Abb. 1. Doppeltlogarithmische Darstellung des elektrochemischen Detektorresponses in Funktion der injizierten Diaminmenge

Retentionszeiten und Nachweisgrenzen

Unter den erwähnten Bedingungen wurden folgende Retentionszeiten gemessen (Abb. 2).

2,6-Diaminotoluol	4,2 min
2,4-Diaminotoluol	4,5 min
Anilin	7,3 min
Benzidin	9,8 min
4,4'-Diaminodiphenylmethan	13,7 min
o-Dianisidin	18,6 min

Als Nachweisgrenzen bei einem Injektionsvolumen von 1 ml und einem Signal zu Rausch-Verhältnis von 2 wurden ermittelt:

2,6-Diaminotoluol	0,09 ng
2,4-Diaminotoluol	0,14 ng
Anilin	0,09 ng
Benzidin	0,47 ng
4,4'-Diaminodiphenylmethan	0,21 ng
o-Dianisidin	1,25 ng

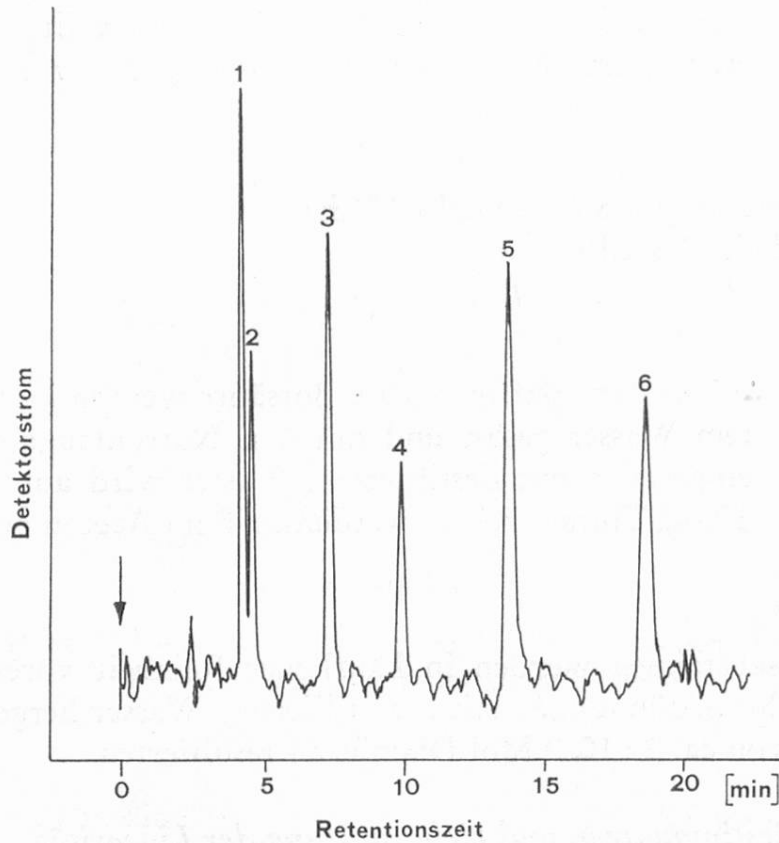


Abb. 2. LCEC einer Mischung aromatischer Amine
Nucleosil C-18. Elutionsmittel 30% Acetonitril, 70% 0,15 m Phosphatpuffer pH 6,0.
Fließgeschwindigkeit 1,0 ml/min. Oxidationspotential 0,9 V

1 = 0,62 ng 2,6-Diaminotoluol
2 = 0,55 ng 2,4-Diaminotoluol
3 = 0,49 ng Anilin

4 = 1,13 ng Benzidin
5 = 1,07 ng 4,4'-Diaminodiphenylmethan
6 = 4,18 ng o-Dianisidin

HPLC mit fluorimetrischer Detektion

Wie schon in der Einleitung erwähnt, bilden primäre Amine stark fluoreszierende Derivate mit 4-Phenylspiro(furan-2(3),1'-phthalan)-3,3-dion (Fluram®). Die leichte Durchführbarkeit der Derivatisierung, der praktisch quantitative Verlauf der Reaktion bei pH 8—9 in sehr kurzer Zeit, die hohe Nachweisempfindlichkeit der fluoreszierenden Derivate sowie die Spezifität der Reaktion ermutigten uns, die Migrationslösungen auf die Anwesenheit aromatischer Amine mit dieser Methode zu untersuchen.

Apparatur

Pumpe:	Waters 6000 A
Injektionsventil:	Waters Universalventil U 6 K
Säule:	30 cm Stahlsäule mit einem Innendurchmesser von 3,7 mm gefüllt mit LiChrosorb RP-18. Korngröße 7 μm . Die Säule wurde auf 50 °C thermostatisiert.
Detektorsystem:	Perkin-Elmer-Fluoreszenz-Detektor LC 1000 Filter auf der Anregungsseite: Interferenzfilter 399 nm Analysierte Wellenlänge am Ausgang: 500 nm

Mobile Phase

55% 0,1 m Boratpuffer pH 8,0 und 45% Methanol
Fließgeschwindigkeit: 0,8 ml/min

Reagenzien

Boratpuffer:	0,5 m Boratpuffer. 7,73 g Borsäure werden in 200 ml destilliertem Wasser gelöst und mit 6 n Natronlauge auf den pH 8,0 eingestellt, mit destilliertem Wasser wird auf 250 ml ergänzt.
Fluramlösung:	10 mg Fluram Roche werden ad 5 ml Aceton gelöst.

Standardlösungen

Die Standardsubstanzen wurden in käuflicher Reinheit vorerst in Methanol gelöst und hernach Verdünnungen mit bidestilliertem Wasser hergestellt, daß Endkonzentrationen von ca. $2 \cdot 10^{-8}$ Mol Diamin/ml resultierten.

Ausführung der Bestimmungen und Ueberprüfung der Linearität

x ml Standardlösung ($x \leq 1$ ml) wurden mit (1,00 ml — x ml) bidestilliertem Wasser sowie mit 100 μl 0,5 m Boratpuffer versetzt. Unter kräftigem Mischen wurden 20 μl Fluramlösung zugegeben. Nach einer Wartezeit von 5 min erfolgte die Injektion von 100 μl der Mischung. In Abbildung 3 ist der Response gegen die injizierte Diaminmenge doppeltlogarithmisch aufgetragen. Es wurden folgende Korrelationskoeffizienten erhalten: 0,9983 2,6-Diaminotoluol, 0,9997 2,4-Diaminotoluol, 0,9974 m-Xylylendiamin, 0,9960 Anilin, 0,974 Benzidin, 0,9976 4,4'-Diaminodiphenylmethan und 0,9980 o-Dianisidin.

Retentionszeiten und Nachweisgrenzen

Unter den beschriebenen apparativen Bedingungen wurden folgende Retentionszeiten erhalten (Abb. 4):

2,4-Diaminotoluol	4,2 min
m-Xylylendiamin	4,2 min
2,6-Diaminotoluol	4,6 min
Anilin	4,9 min

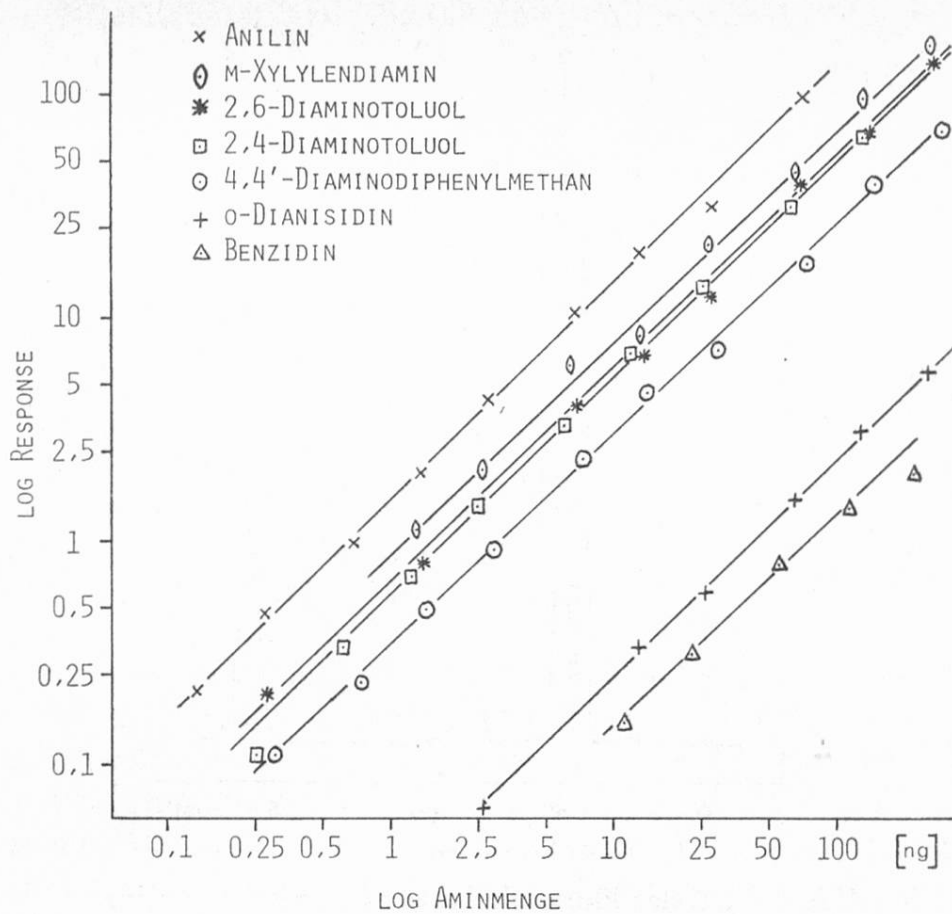


Abb. 3. Doppeltlogarithmische Darstellung des fluorimetrischen Detektorresponses in Funktion der injizierten Diaminmenge

Benzidin	8,0 min
4,4'-Diaminodiphenylmethan	8,1 min
o-Dianisidin	16,3 min

Nachstehend sind diejenigen Aminmengen aufgeführt, die bei den angegebenen apparativen Bedingungen und einer Injektionsmenge von 0,1 ml ein Signal zu Rausch-Verhältnis von ≥ 2 ergaben.

2,4-Diaminotoluol	0,2 ng
2,6-Diaminotoluol	0,1 ng
m-Xylylendiamin	0,03 ng
Anilin	0,06 ng
Benzidin	5,0 ng
4,4'-Diaminodiphenylmethan	0,3 ng
o-Dianisidin	2,5 ng

In Abbildung 4 ist ein Beispiel einer Trennung der Fluramderivate von 4 aromatischen Aminen abgebildet

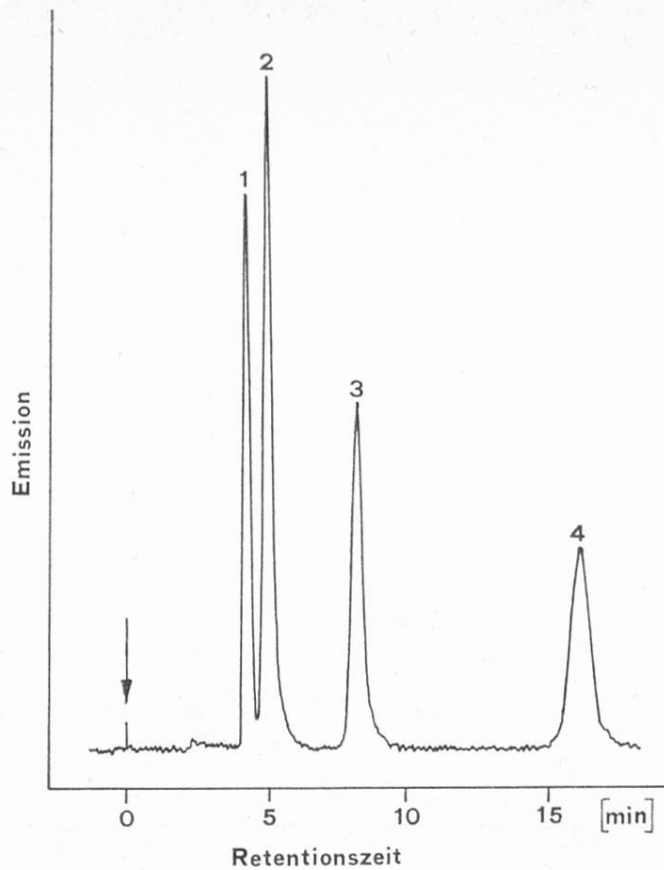


Abb. 4. LC der Fluramderivate aromatischer Amine

LiChrosorb RP-18. Elutionsmittel 55% 0,1 m Boratpuffer pH 8,0, 45% Methanol. Fließgeschwindigkeit 0,8 ml/min. Anregungslicht 399 nm, analysiertes Licht 500 nm

1 = 13,4 ng 2,4-Diaminotoluol
2 = 5,1 ng Anilin

3 = 13,4 ng 4,4'-Diaminodiphenylmethan
4 = 1/15,6 ng o-Dianisidin

Durchführung der Migrationsversuche

Weißblechstücke von 5 x 10 cm wurden vorerst einseitig mit dem nach den Angaben des Kunststoffherstellers gemischten Kunststoff beschichtet und abbinden gelassen. Die Rückseite wurde analog abgedeckt und aushärten gelassen. In 12 cm Petrischalen mit geschliffenem Rand wurde je ein beschichtetes Blechstück auf 2 Glasstäbchen (ϕ 2 mm) plaziert, mit 75 ml Prüfliquidität übergossen und das Ganze mit einer Glasplatte abgedeckt. Als Prüflösungen kamen zur Anwendung:

Bidestilliertes Wasser
Ethanol 10% (v/v)
Essigsäure 3% (m/v).

Da sich bei den Langzeitversuchen (10 Tage 40 °C) die Kunststoffbeläge teilweise vom metallischen Träger lösten und gleichzeitig eine kräftige Korrosion des Bleches einsetzte, wurden die 10tägigen Versuche wie folgt durchgeführt:

Die Kunststoffmischung wurde auf eine Polyäthylfolie ausgestrichen und nach einer Aushärtungszeit von 1 Tag vom Polyäthylenträger abgezogen. Ausgeschnittene 5 x 10 cm Folienstücke wurden in 12 cm Petrischalen auf 25 ml Prüf-

flüssigkeit aufgelegt (Kontaktfläche 0,5 dm²) und mit einer Glasplatte zugedeckt stehen gelassen.

Ergebnisse und Diskussion

Nachweis der aromatischen Amine mit elektrochemischer Detektion

Migrationsversuch an einem amingehärteten Epoxidharz

Epoxidharze werden häufig für Tankauskleidungen eingesetzt. Für unsere Versuche haben wir ein kommerziell erhältliches Epoxidharz mit dem dazugelieferten Härter (4,4'-Diaminodiphenylmethan), wie vom Hersteller angegeben, homogen gemischt und auf Weißblechstücke 5x10 cm einseitig aufgetragen. Nach einer Aushärtungszeit von 24 h wurde noch die zweite Blechseite beschichtet und aushärten gelassen. Die Migrationsversuche erfolgten wie im Teil «Analytik» beschrieben.

In den folgenden Abbildungen 5 und 6 sind die migrierten Mengen des Härters in Funktion der Migrationsbedingungen sowie der Aushärtungszeit aufgeführt.

Den Abbildungen 5 und 6 kann entnommen werden, daß die größten Aminmengen in die alkoholischen Lösungen migrieren, gefolgt von der Essigsäure und Wasser. Wie aus Abbildung 6 hervorgeht, beeinflusst die Aushärtungszeit die abgegebene Aminmenge außerordentlich stark. Einer genügend langen Aushärtung

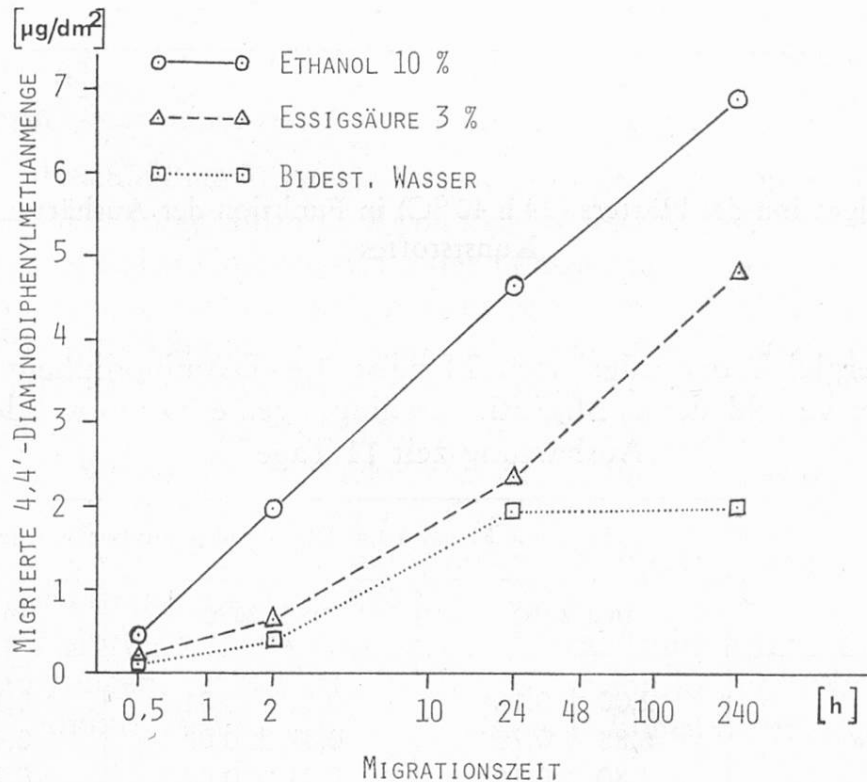


Abb. 5. Migration des Härters in verschiedene Prüflösungen bei 40 °C in Funktion der Migrationszeit. Alle eingesetzten Prüfplatten wurden vor Versuchsbeginn 11 Tage ausgehärtet

muß somit bei der Beschichtung von Lebensmittelbehältern die größte Aufmerksamkeit geschenkt werden.

In Tabelle 1 sind die nach den in europäischen Ländern üblichen Migrationsbedingungen, 10 Tage 40 °C, erhaltenen Migrationswerte den bei 48 h 20 °C bzw. 30 min 40 °C erhaltenen Werte gegenübergestellt.

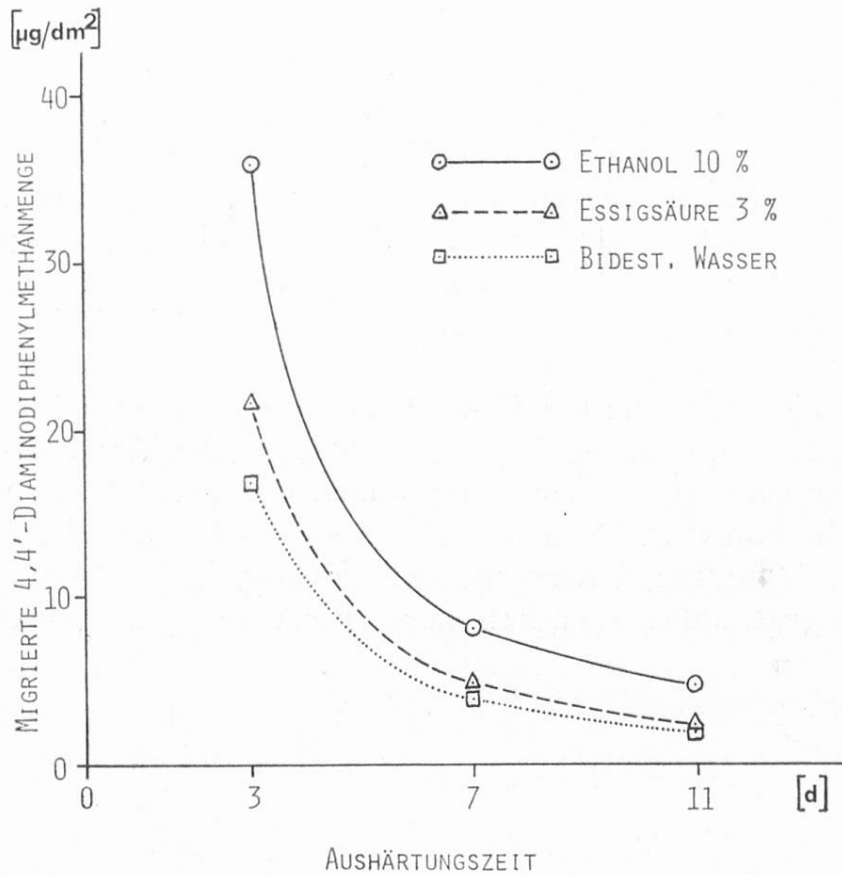


Abb. 6. Migration des Härters (24 h 40 °C) in Funktion der Aushärtungszeit des Kunststoffes

Tabelle 1. Vergleich der migrierten Mengen 4,4'-Diaminodiphenylmethan, die unter verschiedenen Migrationsbedingungen erhalten wurden
Aushärtungszeit 11 Tage

Prüflösung	Migrierte Mengen 4,4'-Diaminodiphenylmethan in µg/dm²		
	10 d 40 °C	48 h 20 °C	30 min 40 °C
Wasser	2,00 ± 0,16 ¹	0,11 ± 0,01	0,13 ± 0,01
Ethanol 10 ⁰ / ₀	6,88 ± 0,20	0,37 ± 0,02	0,47 ± 0,02
Essigsäure 3 ⁰ / ₀	4,80 ± 0,16	0,21 ± 0,02	0,20 ± 0,01

¹ $\bar{x} \pm s/\sqrt{n}$ $n = 2$ bis 3

Den Werten aus Tabelle 1 kann entnommen werden, daß zur Simulierung eines Langzeitkontaktes die Migrationsbedingung von 48 h bei 20°C in diesem Falle nicht ausreicht. Die unter den in europäischen Ländern üblichen Prüfbedingungen (10 Tage 40°C für Langzeitkontakt) erhaltenen Werte sind durchwegs um einen Faktor von rund 20 höher. Für die Beurteilung von Beschichtungen der Behälter, z. B. für Wein, wo langzeitige Kontakte in alkoholischem Milieu zu erwarten sind, ist diese Feststellung wichtig. Andererseits läßt sich zur Beurteilung kurzzeitiger Wirkungen die Expositionszeit von 48 h bei 20°C durch diejenige von 30 min bei 40°C (Empfehlung BAG für Polyurethan-Kunststoffe) in guter Näherung ersetzen, wodurch eine bedeutende Zeitersparnis erzielt wird.

In einem Versuch wurde interessehalber die Migration nach 2facher Exposition des Prüflings untersucht. Zu diesem Zwecke wurden die Prüflinge nach 1 x 24 h bei 40°C in eine frische Migrationslösung getaucht und weitere 24 h bei 40°C darin belassen. Die migrierten Mengen des Härterers nach der zweiten Exposition betragen, je nach Prüflüssigkeit, 7—13% der Werte nach der ersten Exposition. Daraus kann geschlossen werden, daß eine Vorreinigung epoxidbeschichteter Gefäße bei höherer Temperatur vorzugsweise mit verdünnten Genußsäuren (Essig-, Citronensäure) unter Umständen sinnvoll sein kann.

Absolut gesehen sind die migrierbaren Mengen im Mikrogrammbereich gering. Angesichts der Tatsache, daß bei vielen aromatischen Aminen die Toxikologie noch unklar ist, sind auch die kleinsten Mengen dieser Stoffe nach Möglichkeit von Menschen fernzuhalten. Die Empfehlung des BAG Berlin, für Epoxidbeschichtungen im Lebensmittelsektor keine aromatischen Amine als Härter einzusetzen, sollte auch in der Schweiz von der Industrie nicht unbeachtet bleiben.

Migrationsversuche an innen mit Polyurethan beschichteten Metallrohren

Polyurethanbeschichtete Wasserleitungsrohre mit einem Innendurchmesser von 10 cm wurden wie folgt auf die Aminabgabe untersucht: Rohrabschnitte von ca. 19 cm Länge wurden einseitig mit einer Glasplatte verschlossen. Das Ankitten der Glasplatte erfolgte mit demselben Kunststoff, mit welchem auch die Innenwand des Rohres ausgekleidet war. Um das Verhältnis Lösungsmittelvolumen zu Kunststoffoberfläche zu optimieren, wurde ein wassergefülltes 800-ml-Becherglas hoher Form in das Rohr gestellt. Durch diese Maßnahme traten 300 ml Prüflösung mit einer Kunststoffoberfläche von ca. 4 dm² in Kontakt. Während der Versuche wurden die Rohrabschnitte mit Glasplatten abgedeckt.

Die Untersuchungen der Migrationslösungen erfolgten wiederum durch direktes Injizieren der Lösungen auf die LC-Trennsäule.

In Tabelle 2 sind die migrierten aromatischen Aminmengen in Funktion der Migrationsbedingungen aufgeführt. In den Migrationslösungen konnten nur die aromatischen Amine Anilin und 4,4'-Diaminodiphenylmethan nachgewiesen werden.

Aus Tabelle 2 ist ersichtlich, daß in diesem Falle die größten Aminmengen jeweils in die Essigsäure migrieren. Dies ist leicht verständlich, da die Kunststoffauskleidung Calciumcarbonat enthält und somit von Säuren leicht angegriffen

Tabelle 2. Migrierte Mengen aromatische Amine aus mit Polyurethan beschichteten Metallröhren in verschiedene Prüflösungen bei unterschiedlichen Migrationsbedingungen

Prüflösung	Migrationszeit	Temp.	Anilin	4,4'-Diaminodiphenylmethan
Wasser	24 Stunden	40 °C	0,68 µg/dm ²	ca. 50 ng/dm ²
Ethanol 10 ⁰ / ₀	24 Stunden	40 °C	1,02 µg/dm ²	ca. 70 ng/dm ²
Essigsäure 3 ⁰ / ₀	24 Stunden	40 °C	2,62 µg/dm ²	ca. 110 ng/dm ²
Wasser	48 Stunden	20 °C	0,07 µg/dm ²	nn*
Ethanol 10 ⁰ / ₀	48 Stunden	20 °C	0,15 µg/dm ²	nn
Essigsäure 3 ⁰ / ₀	48 Stunden	20 °C	0,50 µg/dm ²	nn

* nn = < 20 ng/dm²

wird. Dieser Oberflächenangriff ist nach dem Kontakt mit essigsauren Prüflösungen visuell gut erkennbar.

Um die Wirksamkeit einer Waschung der Rohrabschnitte mit Citronensäurelösung zwecks Entfernung überschüssiger Aminkomponenten zu prüfen, wurde ein Rohrstück mit 2⁰/₀iger Citronensäurelösung gefüllt und 2 h bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Die Citronensäure wurde hierauf verworfen, das Rohrstück mit bidestilliertem Wasser gespült und die Aminabgabe in 10⁰/₀iges Ethanol 24 h bei 40 °C bestimmt. Dem durch diese Vorbehandlung erhaltenen Wert von 0,84 µg Anilin/dm² steht die Aminabgabe eines nicht vorbehandelten Rohres von 1,02 µg Anilin/dm² gegenüber. Dieses Wertepaar zeigt, daß durch einen verhältnismäßig kurzzeitigen Kontakt mit kalter Citronensäurelösung bei der Polyurethanbeschichtung eine nur mäßige Reduktion der Aminabgabe erreicht wurde.

Nachweis der aromatischen Amine mit fluorimetrischer Detektion

Direkte fluorimetrische Bestimmung aromatischer Amine in Migrationslösungen

Zur Ueberprüfung der fluorimetrischen Analysenmethode wurden gleiche Migrationslösungen, deren Amingehalte durch LCEC-Untersuchungen bereits bekannt waren, fluorimetrisch analysiert. Die wässrige sowie die alkoholische Migrationslösung einer Epoxidbeschichtung nach 3tägiger Aushärtung (Migration 24 h bei 40 °C) wurden wie folgt untersucht: Je 1,00 ml Migrationslösung wurde mit 100 µl 0,5 m Boratpuffer versetzt und unter kräftigem Mischen 20 µl Fluramlösung zugegeben. Nach einer Wartezeit von 5 min wurden 200 µl der Lösung injiziert.

Die untenstehenden Resultate gestatten den Vergleich der fluorimetrisch gefundenen 4,4'-Diaminodiphenylmethanmengen mit den elektrochemisch gefundenen Diaminmengen.

Prüflösung	Fluorimetrische Analyse	Elektrochemische Analyse
Wasser	$17,9 \pm 0,9 \mu\text{g}/\text{dm}^2$	$16,8 \pm 0,6 \mu\text{g}/\text{dm}^2$
Ethanol 10 ⁰ / ₀	$34,3 \pm 1,2 \mu\text{g}/\text{dm}^2$	$35,8 \pm 1,5 \mu\text{g}/\text{dm}^2$

Zur Illustration der Resultate sind in Abbildung 7 je ein der fluorimetrischen Analyse (A) bzw. der elektrochemischen Analyse (B) zugrundeliegendes Chromatogramm der ethanolischen Migrationslösung dargestellt.

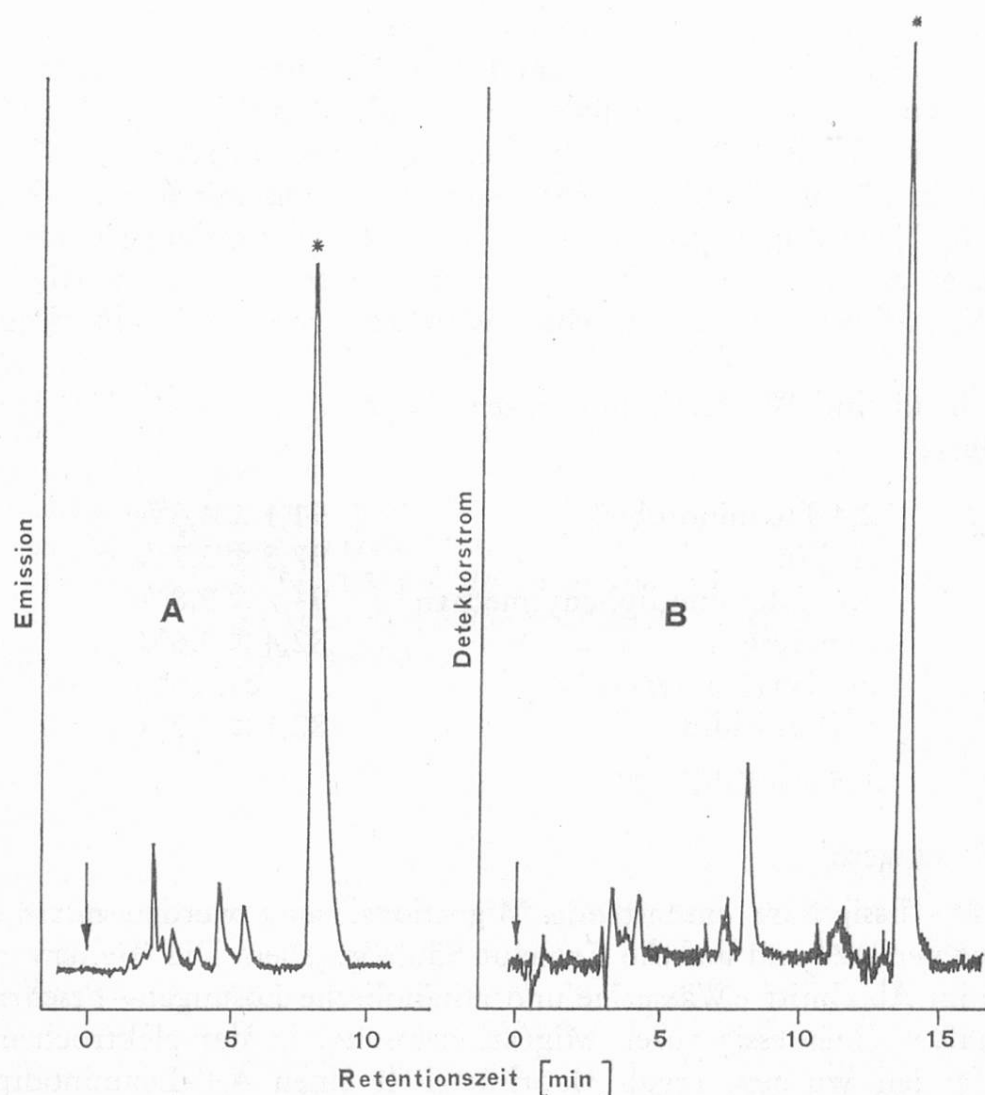


Abb. 7. Chromatogramme derselben ethanolischen Migrationslösung einer Epoxidbeschichtung (Migrationsbedingungen 24 h 40°C; 3tägige Aushärtung). Die mit einem Stern markierten Peaks stammen von 4,4'-Diaminodipenylmethan

A = fluorimetrische Detektion B = elektrochemische Detektion

Indirekte fluorimetrische Bestimmung aromatischer Amine in Migrationslösungen

Zur Untersuchung essigsaurer Prüflösungen, stark verunreinigter Migrationslösungen sowie von Lösungen mit außerordentlich geringen Aminkonzentrationen können die Amine durch den Einsatz von Extrelut®-Säulen angereichert und von Verunreinigungen abgetrennt werden. Die alkalisch gestellte Migrationslösung wird auf die Extrelut-Säule aufgezogen, die Amine werden mit Dichlormethan eluiert und die basischen Komponenten mit verdünnter Salzsäure aus dem Eluat extrahiert. Die salzsaure Lösung wird auf pH 8,0 gestellt, Fluram® zugegeben und ein aliquoter Teil der Mischung auf die LC-Säule aufgegeben. Im einzelnen wurde wie folgt vorgegangen:

Wässrige und ethanolische Lösungen:

20 ml Migrationslösung werden mit 1,0 ml 2 n Natronlauge versetzt, auf eine Extrelut-Säule aufgegeben und 10 min einziehen gelassen. Mit 50 ml Dichlormethan wird eluiert, das Eluat in einem 125-ml-Scheidetrichter aufgefangen und nach Zugabe von 2,00 ml 0,1 n Salzsäure 5 min extrahiert. 1,00 ml der salzsauren Lösung wird mit 100 µl Boratpuffer mit Säurekompensation (7,73 g Borsäure werden in 200 ml destilliertem Wasser gelöst und mit 6 n NaOH auf pH 8,0 eingestellt. Nach Zugabe von exakt 41,7 ml 6 n Natronlauge wird mit destilliertem Wasser auf 250 ml verdünnt) versetzt, unter kräftigem Mischen 20 µl Fluramlösung zugegeben und nach einer Wartezeit von 5 min ein aliquoter Teil injiziert.

Untenstehend sind Wiederfindungsraten einiger Amine aus wässrigen Lösungen aufgeführt:

2,4-Diaminotoluol	91,1 ± 4,5% ¹
Anilin	97,5 ± 3,7%
4,4'-Diaminodiphenylmethan	94,2 ± 2,8%
Benzidin	82,4 ± 3,6%
m-Xylylendiamin	ca. 15%
o-Dianisidin	80,1 ± 7,2%

¹ Siehe Tabelle 1.

Essigsäure Lösungen:

15 ml 3% Essigsäure enthaltende Migrationslösung werden mit 4,0 ml 2 n Natronlauge versetzt und auf die Extrelut-Säule gegeben. Die Weiterverarbeitung erfolgt wie im Abschnitt «Wässrige und ethanolische Lösungen» beschrieben.

Die Analyse einer essigsäuren Migrationslösung, in der elektrochemisch 21,6 µg/dm² gefunden wurden, ergab fluorimetrisch einen 4,4'-Diaminodiphenylmethangehalt von 21,5 µg/dm².

Zur weiteren Ueberprüfung der direkten und indirekten fluorimetrischen Aminbestimmungsmethode wurden die Migrationslösungen, erhalten bei der Prüfung der polyurethanbeschichteten Wasserleitungsrohre, analysiert. Untenstehend sind die Resultate einander gegenübergestellt.

Prüflösung	Fluorimetrische Analyse		Elektrochemische Analyse
	direkt	indirekt	
Wasser	0,67 $\mu\text{g}/\text{dm}^2$	2,27 $\mu\text{g}/\text{dm}^2$	0,68 $\mu\text{g}/\text{dm}^2$
Ethanol 10 ⁰ / ₀	0,99 $\mu\text{g}/\text{dm}^2$		1,02 $\mu\text{g}/\text{dm}^2$
Essigsäure 3 ⁰ / ₀			2,62 $\mu\text{g}/\text{dm}^2$

Dank

Herrn Dr. F. Kugler der Firma Ciba-Geigy AG danken wir für die Ueberlassung der Kunststoffmuster. Herr P. Bucher der Firma Paul Bucher hat uns in großzügiger Weise einen elektrochemischen Detektor zur Verfügung gestellt.

Zusammenfassung

Die Migration von primären aromatischen Aminen aus einem aminvernetzten Epoxidharz und aus einem Polyurethanüberzug in destilliertes Wasser, 3⁰/₀ Essigsäure, 10⁰/₀ Ethanol, als Lebensmittelsimulantien, wurde studiert. Der Einfluß der Migrationsbedingungen (Lebensmittelsimulantien, Kontaktzeit, Temperatur) sowie der Härtingszeit eines Epoxidharzes auf die Aminabgabe wurde mittels HPLC auf einer C₁₈ «reversed phase» Säule untersucht. Direkte elektrochemische Detektion von einigen primären aromatischen Aminen, als Referenzsubstanzen, ergab Nachweisgrenzen im Bereiche von 0,09 ppb (Anilin, 2,6-Diaminotoluol) bis 1,3 ppb (o-Dianisidin). Bei Vorkolonnderivatisierung mit Fluram® und fluorimetrischer Detektion resultierten Nachweisgrenzen von 0,34 ppb (m-Xylylendiamin) bis 56 ppb (Benzidin).

Résumé

La migration d'amines aromatiques primaires à partir d'une résine époxy avec ponts constitués par des groupements amino et d'un revêtement de polyuréthane dans l'eau distillée, l'acide acétique à 3⁰/₀, l'éthanol à 10⁰/₀ au lieu d'une denrée alimentaire a été étudié. L'influence exercée par les conditions de migration (matière de remplacement d'une denrée alimentaire, temps de contact, température) et par le temps de durcissement de la résine époxy sur la libération des amines a été examinée par chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) sur une colonne C₁₈ «reversed phase». A l'identification électrochimique directe de quelques amines aromatiques primaires, comme substances de référence, on a obtenu des limites de détection allant de 0,09 ppb (aniline, diamino-2,6 toluène) à 1,3 ppb [diméthoxy-3,3' benzidine (dianisidine)]. A la détection fluorimétrique des dérivés formés préalablement avec du Fluram®, les limites de détection se situaient entre 0,34 ppb (m-xylylènediamine) et 56 ppb (benzidine).

Summary

The migration of primary aromatic amines from an amine-crosslinked epoxy resin and from a polyurethane-coating into distilled water, 3% acetic acid and 10% ethanol, as food simulating solvents, has been studied. The influence of the migration conditions (food simulating solvents, contact time, temperature) as well as of the time of curing of the epoxy resin on the migration of the amine in question was investigated by means of HPLC on a C₁₈ reversed phase column. Using electrochemical detection, several aromatic amines, as reference substances, could be detected in the range of 0.09 (aniline, 2,6-diaminotoluene) to 1.3 ppb (o-dianisidine). With precolumn derivatisation by means of fluorescamine and fluorimetric detection it was possible to arrive at detection limits in the range of 0.34 ppb (m-xylylendiamine) to 56 ppb (benzidine).

Literatur

1. Gesundheitliche Bedenken gegen die Verwendung von aromatischen Aminen als Härter für Epoxyharz-Innenbeschichtungen von Lebensmittelbehältern. *BGesundhBl.* **13**, 263 (1970).
2. *Mitteilungen aus dem Bundesgesundheitsamt, 16. Mitteilung*: Untersuchung von Kunststoffen, soweit sie als Bedarfsgegenstände im Sinne des Lebensmittelgesetzes verwendet werden. *BGesundhBl.* **13**, 262 (1970).
3. Guthrie, J. L. and McKinney, R. W.: Determination of 2,4- und 2,6-diaminotoluene in flexible urethane foams. *Anal. Chem.* **49**, 1676—1680 (1977).
4. Wiesner, I. und Wiesnerova, L.: Ueber die quantitative Dünnschichtchromatographie von Polyaminen. *J. Chromatogr.* **114**, 411—417 (1975).
5. Rappaport, S. M. and Morales, R.: Air-sampling and analytical method for 4,4'-Methylenebis(2-chloroaniline). *Anal. Chem.* **51**, 19—23 (1979).
6. Unger, P. D. and Friedman, M. A.: High-performance liquid chromatography of 2,6- and 2,4-diaminotoluene, and its application to the determination of 2,4-diaminotoluene in urine and plasma. *J. Chromatogr.* **174**, 379—384 (1979).
7. Lores, E. M., Bristol, D. W. and Moseman, R. F.: Determination of halogenated anilines and related compounds by HPLC with electrochemical and UV detection. *J. Chromatogr. Sci.* **16**, 358—362 (1978).
8. Mefford, I., Keller, R. W. and Adams, R. N.: Liquid chromatographic determination of picomole quantities of aromatic amine carcinogens. *Anal. Chem.* **49**, 683 (1977).
9. Riggin, R. M. and Howard, C. C.: Determination of benzidine, dichlorobenzidine and diphenylhydrazine in aqueous media by high performance liquid chromatography. *Anal. Chem.* **51**, 210—214 (1979).
10. Rice, J. R. and Kissinger, P. T.: Determination of benzidine and its acetylated metabolites in urine by liquid chromatography. *J. Anal. Tox.* **3**, 64—66 (1979).
11. Samejima, K., Kawase, M., Sakamoto, S., Okada, M. and Endo Y.: A sensitive fluorimetric method for the determination of aliphatic diamines and polyamines in biological materials by high-speed liquid chromatography. *Anal. Biochem.* **76**, 392—406 (1976).

12. Samejima, K.: Separation of fluorescamine derivatives of aliphatic diamines and polyamines by high-speed liquid chromatography. *J. Chromatog.* **96**, 250—254 (1974).

Dr. U. Baumann
Dr. B. Marek
Bundesamt für Gesundheitswesen
Abteilung Lebensmittelkontrolle
Sektion Pestizidrückstände
und Kontaminationen
Postfach 2644
CH-3001 Bern