

Untersuchung der „Semi-Volatiles“ des Cigarettenrauches*

von G. Neurath, M. Dünger und I. Küstermann

Forschungslaboratorium der Wissenschaftlichen Abteilung, H. F. & Ph. F. Reemtsma, Hamburg

EINLEITUNG

Die Definition „Semi-Volatiles“ des Tabakrauches wurde erstmalig von *Williamson, Graham und Allman* in deren Arbeit über die Beeinflussung des Cigarettenrauches durch Filter (1) den Verbindungen, die von einem Cambridge-Filter wieder verflüchtigt werden können („those substances which are retained on a Cambridge filter but which can be volatilized from it“), zugeordnet.

Arbeiten über Probleme der Filterselektivität zeigten, daß die Möglichkeit, Inhaltsstoffe aus dem Cigarettenrauch gezielt zu entfernen, auf Substanzen beschränkt ist, die bei Raumtemperatur einen meßbaren Dampfdruck haben — mit anderen Worten auf die „Semi-Volatiles“.

Weiterhin erscheint die Untersuchung dieser chemisch so unterschiedlichen Verbindungen, deren einzige Gemeinsamkeit der Siedepunkt ist, interessant, weil sie relativ einfach zu identifizieren sind und damit Hinweise auf nichtflüchtige Substanzklassen mit größeren Molekülen geben können.

Mit unterschiedlichen Methoden und Bedingungen wurde versucht, diese Verbindungsgruppe aufzuklären. *Williamson et al.* (1) isolierten die Semi-Volatiles, indem sie ein Cambridge-Filter, das vorher mit Kondensat beladen worden war, in einem Ofen auf 180° bis 190° C erhitzen. Mit Hilfe eines Argonstromes wurden die Semi-Volatiles aus dem Cambridge-Filter in eine Kühlfalle abgetrieben.

Levins und Ikeda (2) beschrieben eine Methode, bei der sie das kondensatbeladene Cambridge-Filter direkt in den Einspritzblock des Gaschromatographen einbringen.

Graham (3) benutzte in einer neueren Arbeit eine Zweistufen-Gas/Flüssig-Chromatographie. Elektronisch gesteuert werden dabei von der ersten Säule Fraktionen gesammelt und auf einer zweiten Säule mit anderer Polarität weiter aufgetrennt. Beide Gruppen arbeiten mit gepackten Säulen (Carbowax).

Grob (4) erhielt die Semi-Volatiles durch Erhitzen eines mit Kondensat beladenen Aktivkohlefilters auf 120° C und weitere Auftrennung auf einer Glaskapillare (Emulphor).

Obgleich eine Artefaktbildung durch Hydrolyse bei der Wasserdampfdestillation nicht ausgeschlossen werden kann, entschieden wir uns für diese relativ schonende Arbeitsweise. Normales Tabakrauchkondensat aus Trockeneis/Aceton-Fallen wurde wasserdampfdestilliert, an Silikagel säulenchromatographisch vorgetrennt und über die Kombination Gaschromatographie/Massenspektrometrie identifiziert.

Diese Aufarbeitung entspricht in keiner Weise den ursprünglichen Absichten von *Grob*, der — wenn immer möglich — den Rauch direkt gaschromatographisch trennt. Doch auch er benutzte zuletzt eine Lösung, indem er anschließend die Vorteile des „solvent-bypassing“ nutzt.

EXPERIMENTELLER TEIL

1. Kondensataufbereitung

366 g Kühlkondensat, die durch Verrauchen von filterlosen Strangcigaretten einer handelsüblichen deutschen Blendmischung nach den *Einheitlichen Vorschriften* des Verbandes der Cigarettenindustrie (1 Zug/min., 2 sec. Zugdauer, 35 ml Zugvolumen, 23 mm Stummellänge, Konditionierung bei 65% relativer Luftfeuchtigkeit) auf einer Rauchmaschine RM 30/65 mit 30 Kanälen (5) gewonnen und in einer Trockeneis/Aceton-Kühlfalle (6) niedergeschlagen worden waren, wurden mit Wasserdampf destilliert.

4 l Destillat wurden aufgefangen, mit Natriumchlorid versetzt und dreimal mit Äther erschöpfend extrahiert. Die vereinigten Ätherphasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und zur Trockne eingedampft.

Ausbeute: 27,3 g = 7,46%.

2. Säulenchromatographie

Der Abdampfrückstand wurde auf eine 800 mm lange Säule mit 50 mm Durchmesser aus 550 g Silikagel (0,05–0,2 mm/70–325 mesh ASTM, Merck AG, Darm-

* Vortrag anlässlich des 5. Internationalen Wissenschaftlichen Tabak-Kongresses, Hamburg, September 1970.

stadt, Nr. 7734), das mit Hexan eingeschlämmt worden war, gegeben. Den Verlauf der Säulenchromatographie zeigt die Tabelle 1. Die Fraktionen 2 und 3 unterschieden sich optisch. Sie wurden daher einzeln aufgearbeitet. Die Elution wurde mit dem Lösungsmittel Essigester abgebrochen und hatte zu diesem Zeitpunkt ca. 67,9% Ausbeute erbracht.

Tabelle 1. Verlauf der Säulenchromatographie.

Fraktion Nr.	Lösungsmittel	Menge l	Eluat g	% des wasserdampf- flüchtigen Anteiles des Tabakrauch- kondensates
1	n-Hexan	2	1,72	6,30
2	Benzol	0,2	0,782	2,86
3	Benzol	1,8	0,943	3,45
4	Diisopropyläther	2	9,657	35,37
5	Äther	2	4,806	17,60
6	Essigester	2	0,627	2,30
			18,535 g	67,88 %

3. Gaschromatographie/Massenspektrometrie

3 µl des Abdampfrückstandes der einzelnen Fraktionen wurden in einen Gaschromatographen, Modell 810 der Firma Perkin-Elmer, eingegeben, der mit einer 100-m-Emulphor-Kapillare mit einem Durchmesser von 0,5 mm ausgestattet war. Als Trägergas diente Helium (3 ml/min.). Die Auftrennung wurde temperaturprogrammiert zwischen 90° und 180° C bei 1,25° Temperaturerhöhung pro Minute durchgeführt. Vor der Säule wurde im Verhältnis 1:20 gespalten. Der Säulenausgang war über ein T-Stück mit dem FID und einem Massenspektrometer RMU 6D der Firma Hitachi-Perkin-Elmer verbunden. Der Strom wurde nach der Säule im Verhältnis 5:1 zugunsten des FID gespalten. Die Massenspektren wurden mit einer Durchlaufzeit von 5 sec. für 300 Masseneinheiten aufgezeichnet. Auf eine Abbildung der Totalionenstromanzeige wurde verzichtet.

4. Auswertung

Die Identifizierung der angegebenen Verbindungen (s. Seiten 14 bis 19) erfolgte durch Interpretation der Massenspektren und Vergleichen der Retentionszahlen. Zu diesem Zweck waren sämtliche identifizierten Substanzen synthetisch hergestellt worden. In einigen Fällen war an Hand der Massenspektren die genaue Struktur einer Verbindung nicht bestimmbar, so fehlen z. B. Angaben über mögliche Verzweigungen bei Kohlenwasserstoffen oder bei alkylierten Aromaten.

ERGEBNISSE

In den 6 Fraktionen, die 67,9% der wasserdampf-
flüchtigen Anteile des Tabakrauchkondensates, d. h. 5,1% des Gesamtkondensates, umfassen, konnten ca. 320 Verbindungen angesprochen werden. Von den 215 identi-

fizierten Substanzen waren bisher 69 im Tabakrauch noch nicht berichtet worden. Die Abbildungen 1 bis 6 zeigen die Gaschromatogramme der einzelnen Fraktionen (Bedingungen s. unter Experimenteller Teil). Die identifizierten Verbindungen sind in den jeweiligen Tabellen angegeben.

Im einzelnen kann folgendes festgestellt werden: Das Fehlen der stark basischen Stoffe, wie der Alkaloide, die sicher einen erheblichen Anteil der 32% der fehlenden Ausbeute ausmachen, ist auf die sauren Eigenschaften der Kieselsäule zurückzuführen.

Fraktion 1 (n-Hexan) enthält, wie erwartet, aliphatische, gesättigte und ungesättigte Kohlenwasserstoffe sowie einige cyclische Kohlenwasserstoffe. Quantitativ ragen die Farnesene und Phytadiene in dieser Fraktion hervor.

Die Benzolfraktion 2 besteht hauptsächlich aus niederen aromatischen Kohlenwasserstoffen und Furanverbindungen. Auf das Vorkommen einer im Tabakrauch neuen Substanzklasse, der Difurylmethane, sei hier hingewiesen. Naphthaline und Indene sind quantitativ die Hauptvertreter.

Die Anzahl und die Mengen der aromatischen Cyanide und der Indole in der Benzolfraktion 3 überraschen. Das Auftreten von N-(Furfuryl-2'-)pyrrol als erste furfuryl-substituierte Pyrrolverbindung im Tabakrauch — eine bisher recht selten beschriebene Verbindungsklasse — ist interessant.

Quantitativ sind Phenole die Hauptvertreter der Diisopropylätherfraktion 4, während Furane und aromatische Carbonylverbindungen zahlenmäßig überwiegen. Das Vorkommen von Isophoron und Ketoisophoron als Abbauprodukte der Carotinoide sei hier erwähnt.

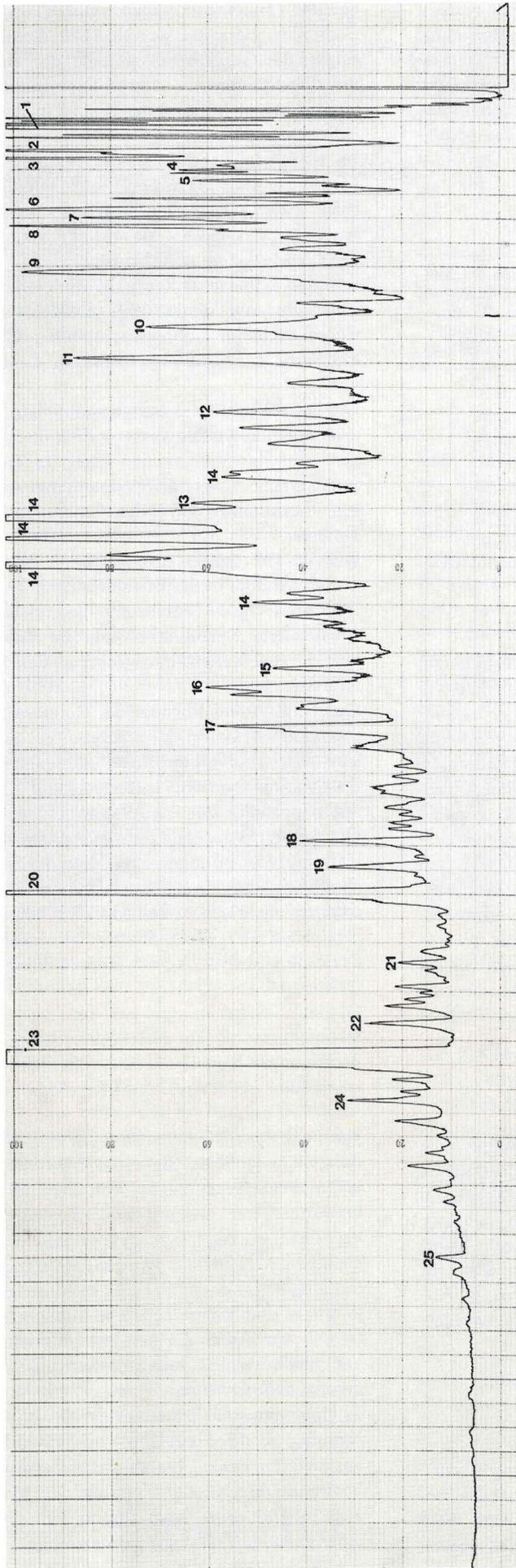
Die Ätherfraktion 5 besteht aus einem Konglomerat von Carbonylverbindungen und Heterocyclen, wie Furanen, Pyridinen und Pyrazinen. Acetoxypropanon und Acetoxbutanon treten in beträchtlichen Mengen auf. Heterocyclische Verbindungen, bei denen die Anzahl der Pyridine und Pyrazine dominieren, bilden die Essigesterfraktion 6.

Ogleich zwischen der von uns verwendeten Säulenchromatographie als erstem Verteilungsschritt und den Bedingungen von *Grob* ein großer Unterschied besteht, ist es doch von Interesse, die Ergebnisse zu vergleichen.

350 Peaks von *Grob* stehen 320 verschiedenen Verbindungen gegenüber, die unser Massenspektrometer anzeigte. Wenn man die 133 von *Grob* identifizierten Verbindungen mit unseren 215 zugeordneten Substanzen vergleicht, so zeigt sich, daß 57 Inhaltstoffe von beiden Gruppen identifiziert wurden, während *Grob* 76 Verbindungen fand, die bei uns nicht aufgefunden werden konnten, und andererseits 158 Substanzen auftraten, die *Grob* nicht erwähnt. Das Ergebnis ist die Aufklärung von mehr als 290 Inhaltsstoffen aus 320 bis 350 insgesamt beobachteten.

In einer neueren Arbeit spricht *Grob* (7) von einer Zuordnung von 400 bis 450 Verbindungen aus über 800 angezeigten Peaks. Durch Verbesserung der Analysenbedingungen und Optimierung der Methoden wird es also möglich sein, auch diesen Teil des Tabakrauches einer genauen Prüfung zu unterziehen.

Abbildung 1. Fraktion 1 — Lösungsmittel n-Hexan (Bedingungen s. Experimenteller Teil).



- 1 Limonen
- 2 $C_{12}H_{26}$
- 3 $\Delta^2-C_{12}H_{24}$
- 4 $C_{13}H_{26}$
- 5 $C_{14}H_{30}$
- 6 n-Tridecan
- 7 $\Delta^2-C_{14}H_{28}$
- 8 n-Tridecen-2
- 9 $C_{15}H_{30}$

- 10 n-Tetradecan
- 11 n-Tetradecen-2
- 12 $C_{14}H_{34}$
- 13 n-Pentadecan
- 14 5 Isomere des Farnesen $C_{15}H_{24}$
- 15 n-Hexadecan
- 16 $C_{15}H_{26}$
- 17 $C_{17}H_{34}$
- 18 n-Heptadecan

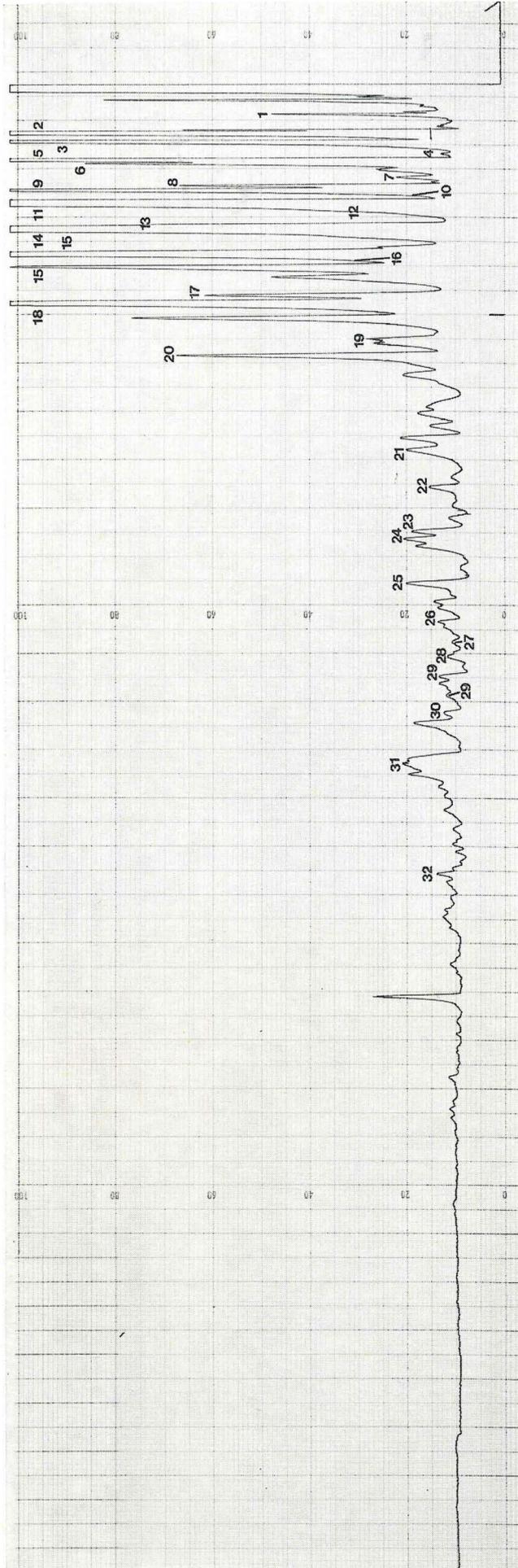
- 19 Dimethylnaphthalin
- 20 2,6,10,14-Tetramethylpentadecen-6
- 21 8-Methylheptadecan
- 22 3-Methylen-7,11,15-trimethylhexadecan
- 23 Neophytadien
- 24 (3-Methylen-7,11,15-trimethylhexadecen-1)
- 24 Phytadien
- 25 (3,7,11,15-Tetramethylhexadecadien-1,9)
- 25 4-Methylen-8,12,16-trimethylheptadecen-2

+ + +

+

+: Erstmals im Tabakrauch nachgewiesen.

Abbildung 5. Fraktion 5 — Lösungsmittel Äther (Bedingungen s. Experimenteller Teil).



1	Methyltetrahydrofuran	+	12	3-Methylcyclopenten-2-on	+	23	Chinolin
2	Cyclopenten-2-on	+	13	2,6-Diäthylpyrazin		24	Dimethylcyanopyridin
3	2-Methylcyclopenten-2-on	+	14	C ₇ H ₁₀ O		25	Furyl-2'-pyrazin
4	Äthylpyrazin	+	15	2 Isomere des C ₈ H ₁₂ O		26	6-Methyl-2-(furyl-2'-)pyrazin
5	Acetoxipropanon	+	16	Tetramethylpyrazin		27	Methylchinolin
6	Cyclohexen-2-on	+	17	C ₈ H ₈ O ₂		28	5-Methyl-2-(furyl-2'-)pyrazin
7	5- oder 6-Methyl-2-äthylpyrazin	+	18	Δ ¹ -Tetrahydrobenzaldehyd	+	29	2 Isomere des Dimethylchinolin
8	2-Acetylfuran		19	3-Vinylpyridin		30	5,6-Dimethyl-2-(furyl-2'-)pyrazin
9	C ₇ H ₁₀ O		20	C ₅ H ₆ O ₂		31	2-Acetylpyrrol
10	2,5-Diäthylpyrazin	+	21	3-Cyanopyridin		32	3-Phenylpyridin
11	1-Acetoxybutanon-2	+	22	Methylcyanopyridin	+		

+: Erstmals im Tabakrauch nachgewiesen.

ZUSAMMENFASSUNG

Die wasserdampfflüchtigen Anteile des Tabakrauchkondensates (Semi-Volatiles) wurden über eine Kieselsäule in 6 Fraktionen zerlegt und mit der Kombination Gaschromatographie/Massenspektrometrie vermessen. Rund 320 Verbindungen konnten angesprochen werden. Von den identifizierten 215 Substanzen sind bisher 69 im Tabakrauch unberichtet.

SUMMARY

Six fractions of the steam volatiles of tobacco smoke condensate (semi-volatiles) are formed by column chromatography on silica gel. The constituents are identified by means of a combination of gas chromatography and mass spectrometry. About 320 compounds are indicated. Out of the 215 substances identified 69 have not been previously reported in cigarette smoke.

RESUME

Six fractions de composés semi-volatils de la fumée de tabac ont été constituées au moyen de la chromatographie sur colonne de silicagel. En combinant la chromatographie gazeuse et la spectrométrie de masse on a

décelé la présence de près de 320 composés dont 215 ont été identifiés; parmi eux 69 n'avaient pas encore été signalés comme présents dans la fumée de cigarettes.

LITERATUR

1. Williamson, J. T., Graham, J. F., und Allman, D. R.: Beitr. Tabakforsch. 3 (1965) 233.
2. Levins, R. J., und Ikeda, R. M.: J. Gaschrom. 6 (1968) 331.
3. Graham, J. F.: Beitr. Tabakforsch. 5 (1969) 43.
4. Grob, K., und Völlmin, J. A.: Beitr. Tabakforsch. 5 (1969) 52.
5. Seehofer, F., Miller, J. E., und Elmenhorst, H.: Beitr. Tabakforsch. 3 (1965) 75.
6. Elmenhorst, H.: Beitr. Tabakforsch. 3 (1965) 101.
7. Grob, K., und Grob, G.: High resolution gas chromatography of headspace vapors from tobacco (Introduction to a new method); Vortrag anlässlich des 5. Internationalen Wissenschaftlichen Tabak-Kongresses, Hamburg, September 1970.

Anschrift der Verfasser:

*H. F. & Ph. F. Reemtsma, Wissenschaftliche Abteilung,
2 Hamburg 50, Luruper Chaussee 145.*