



## Nachweis und Aufreinigung von Aminen in Trinkwasser und komplexen wässrigen Matrices

Sabine Johann ([sabine.johann@ibp.fraunhofer.de](mailto:sabine.johann@ibp.fraunhofer.de)),  
Andreas Schmohl ([andreas.schmohl@ibp.fraunhofer.de](mailto:andreas.schmohl@ibp.fraunhofer.de))

### Zusammenfassung

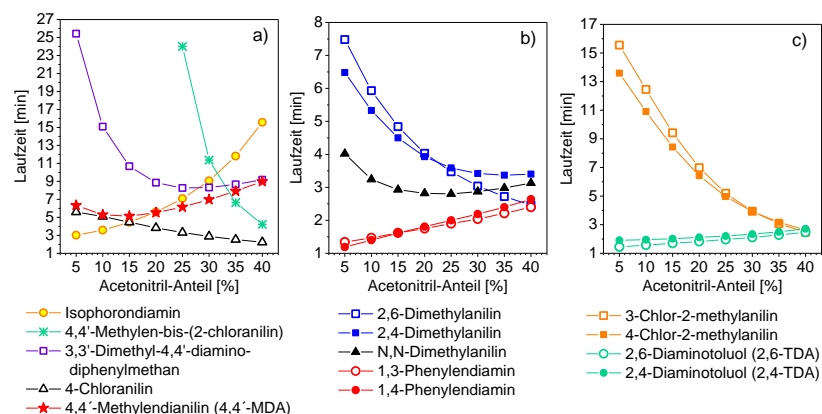
Der Nachweis von Aminen in Wasserproben kann mittels UPLC-MS/MS ohne Derivatisierung erfolgen. Proben mit geringer Matrixbelastung können direkt injiziert werden. Für die Aufreinigung matrixbelasteter Proben steht die Festphasenextraktion (SPE) über Umkehrphasen (RP) oder Kationentauscher (XC) zur Verfügung. Mit der XC-SPE können Amine mit Eigenschaften von hochpolar bis hydrophob erfasst werden. Auch Matrix-Amine werden durch die XC-SPE angereichert; diese können bei hohen Konzentrationen die Analytik stören. Für die Spurenanalytik hydrophober Amine ist daher die RP-SPE vorteilhafter. Das Analysenverfahren ist besonders für aromatische Amine geeignet. 4,4'-Methylen-dianilin (4,4'-MDA) weist bei Direktinjektion eine Nachweisgrenze unter 0,01 µg/l auf.

### Einleitung und Ausgangssituation

Bei Kontakt von Bau- und Werkstoffen mit Wasser können Inhaltsstoffe ins Wasser übergehen und einen negativen Einfluss auf die menschliche Gesundheit oder auf die Umwelt ausüben. Eine potenzielle Freisetzung von kanzerogenen aromatischen Aminen ist beispielsweise bei der Applikation von Baustoffen auf Polyurethanbasis oder in Zusammenhang mit Beschichtungen in Betracht zu ziehen.<sup>[1]</sup>

4,4'-Methylen-diphenyldiisocyanat (4,4'-MDI) und Toluoldiisocyanate (2,4- und 2,6-TDI) sind die Hauptkomponenten von Polyurethanrezepturen. Die Isocyanate reagieren mit Alkoholen zu Urethanen, mit Aminen zu Harnstoffderivaten oder hydrolysieren zum korrespondierenden Amin [4,4'-Methylen-dianilin (4,4'-MDA); 2,4-Diaminotoluol (2,4-TDA); 2,6-Diaminotoluol (2,6-TDA)]. Im Baubereich werden hauptsächlich MDI-Rezepturen eingesetzt.

Aufgrund der hohen MDI-Weltjahresproduktion (> 1 Mio. t/a) liegt auch zum MDA als korrespondierendem Amin



**Abb. 1:** Laufzeit aufgetragen gegen den Acetonitril-Anteil: a) Beispiele für das sehr unterschiedliche chromatographische Verhalten verschiedener Amine, b) und c) chromatographische Trennung verschiedener Isomerenpaare.

umfangreiches Datenmaterial zu ökotoxikologischen Effekten vor.<sup>[2]</sup> Aromatische Amine werden sowohl irreversibel als auch reversibel an verschiedene Bodenbestandteile gebunden, wodurch die Einschätzung der ökotoxikologischen Relevanz erschwert wird.<sup>[2]</sup>

### Methoden und Vorgehensweise

Wasserproben wurden mittels Ultrahochleistungsflüssigchromatografie gekoppelt mit Tandem-Massenspektrometrie (Aquity UPLC I-Class; Xevo® TQ-S; Waters GmbH, Eschborn) untersucht. Als stationäre Phase wurde eine Pentafluorphenyl-Phase (Acquity UPLC® HSS PFP 1.8 µm; 2.1 x 100 mm; Waters GmbH, Eschborn) und als Laufmittel eine Acetonitril-Wasser-Mischung mit 0,02 Vol.-% Ameisensäure eingesetzt<sup>[1]</sup>. Mit einem auf die Isomeren-trennung (Abb. 1b und c) optimierten Laufmittelgradienten (4 min 7 %, 4 min linear von 7 % auf 40 %, 5 min 40 %, 1 min linear von 40 % auf 7 %, 1 min 7 %; Angaben in Vol.-% Acetonitril) gelingt zugleich die effektive Abtrennung von polaren Begleitstoffen, da mit einem hohen Wasseranteil gestartet wird. Eine isokratische Methode mit 34,8 % Acetonitrilanteil ist für sehr polare Amine wie 2,4-TDA, 2,6-TDA oder 1,3-Phenylendiamin besser geeignet.

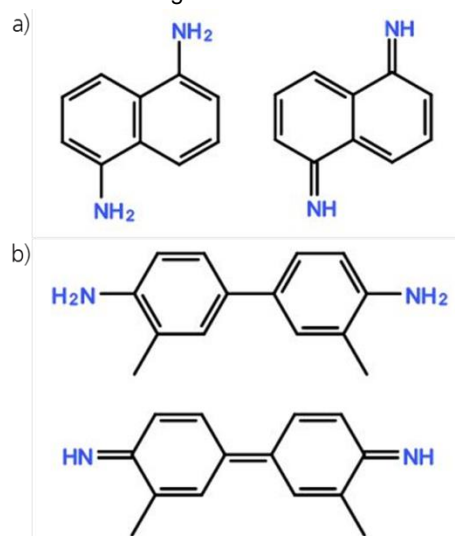
Tabelle 1 enthält für 16 Amine, die bei der Direktinjektion erfasst werden, die Massenübergänge, die Retentionszeiten für die Gradientenmethode und die Signal-Rausch-Verhältnisse bei Direktinjektion. Die Nachweisgrenze liegt bei direkter Probeninjektion von 100 µl je nach Amin im Bereich von < 0,01 bis ca. 0,1 µg/l. Eine Nachweisgrenze unter 0,01 µg/l wird für 4,4'-MDA und fünf weitere Amine aus Tabelle 1 erreicht. Zur Quantifizierung von Matrixeffekten kann die Standardaddition eingesetzt werden.

**Tabelle 1:** 16 Amine mit Massenübergängen, Retentionszeiten für die Gradientenmethode sowie Konzentrationen mit Signal-Rausch-Verhältnis > 3 bei direkter Injektion von 100 µL Probe bzw. Kalibrierlösung.

Amin/Diamin	CAS-Nr.	M+1	M+1-ΔM	RT [min]	S/N > 3 [µg/L]
Anilin	62-53-3	94	77	2,01	0,012
d5-Anilin (als interner Standard)	4165-61-1	99	82	1,99	0,011
2,4-Dimethylanilin	95-68-1	122	105	6,54	< 0,011
2,6-Dimethylanilin	87-62-7	122	105	6,12	0,022
N,N-Dimethylanilin	121-69-7	122	105	3,76	0,024
4-Chloranilin	106-47-8	128	93	5,51	< 0,004
2,4,5-Trimethylanilin	137-17-7	137	77	8,55	0,020
3-Chlor-2-methylanilin	87-60-5	142	107	8,58	<< 0,007
4-Chlor-2-methylanilin	95-69-2	142	107	8,37	<< 0,004
2-Phenylimidazolin	936-49-2	147	44	3,86	< 0,010
Isophorondiamin	2855-13-2	171	154	3,48	0,021
4,4'-Methyldianilin = 4,4'-MDA	101-77-9	199	106	6,13	<< 0,011
4,4'-Oxydianilin	101-80-4	201	80	4,93	< 0,031
4,4'-Diaminodiphenylsulfid	139-65-1	217	124	9,72	<< 0,008
3,3'-Dimethyl-4,4'-diaminodiphenylmethan	838-88-0	227	120	12,07	<< 0,010
4,4'-Methylen-bis-(2-chloranilin)	101-14-4	267	140	11,66	<< 0,012

## Stabilität der Amine und Verschleppungseffekte

Aromatische Amine, die durch Dehydrierung in ein chinoides System übergehen können (Abb. 2), sind besonders oxidationsempfindlich. Bei diesen Aminen müssen die zu analysierenden Proben und die Kalibrationslösungen immer frisch angesetzt und verarbeitet werden, denn sie sind nur wenige Stunden bis Tage haltbar.



**Abb. 2:** Beispiele für leicht oxidierbare Amine vor und nach der Oxidation bzw. Dehydrierung: a) 1,5-Naphthalendiamin [2243-62-1] b) 3,3'-Dimethyl-4,4'-diaminobiphenyl (o-Tolidin) [119-93-7].

Weitere instabile Amine sind beispielsweise 1,4-Phenylendiamin [106-50-3] > 2,4-TDA [95-80-7] > 2,6-TDA [823-40-5] > 1,3-Phenylendiamin [108-45-2]. Die 16 Amine aus Tabelle 1 waren in Acetonitril über mehrere Monate stabil. Bei 4,4'-Diaminodiphenylsulfid und insbesondere bei Isophorondiamin ist zu beachten, dass starke Verschleppungseffekte zu falsch positiven Ergebnissen führen können.

## Festphasenextraktion

Bei Trinkwasserproben kann i.d.R. die Direktinjektion angewendet werden. Bei der Detektion von Aminen in wässrigen Baustoff-Eluaten wurde jedoch teilweise eine starke Signalunterdrückung (Reduktion > 95 %) festgestellt. Eine Abtrennung der Amine von den Matrixkomponenten kann daher erforderlich sein.

Für die Methodenentwicklung wurden sowohl sehr unpolare Amine ( $\log K_{ow} \approx 3,7$ ) als auch hochpolare Amine ( $\log K_{ow} \approx -0,3$ ) in Betracht gezogen. Die  $pK_s$ -Werte der (protonierten) Amine reichen von 4,0 bis 10,6. Der große Bereich der physikalisch-chemischen Eigenschaften hat Auswirkungen sowohl auf die Chromatographie (Abb. 1) als auch auf die SPE. Enthält die Matrix keine größeren Mengen an störenden Aminen und sollen auch die hochpolaren und stark basischen Amine erfasst werden, dann ist die XC-SPE zielführend. Das Vorliegen als Kation im sauren Milieu ist das entscheidende Unterscheidungsmerkmal im Vergleich zu anderen organischen Stoffgruppen. Daher können Matrixbestandteile – mit Ausnahme anderer Amine – effektiv abgetrennt werden.

Alle 16 in Tabelle 1 aufgeführten Amine zzgl. 2,4- und 2,6-TDA konnten auf einer CHROMABOND® HR-XC-Kartusche (Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Düren) gebunden werden. Bei Aufgabe einer mit Reinstwasser verdünnten und anschließend auf pH 2 eingestellten Probe (50 ml Leitungswasser als Probe zzgl. 200 ml Reinstwasser) wurde bei keinem der untersuchten Amine ein Durchbrechen beobachtet. Die Adsorption an der Festphase stellte sich als außerordentlich stark heraus. Dadurch sind ausgiebige Waschprozesse möglich. Aliphatische Amine sind noch fester an die Festphase gebunden als aromatische Amine. Den kritischen Schritt in Bezug auf die Wiederfindung stellt die Elution dar. Mit einer 1M Isopropylamin-Lösung (IPA) in Methanol konnten gute Wiederfindungen erzielt werden. Eine 1M Methylamin-Lösung in Methanol als Elutionsmittel ergab für 2-Phenylimidazolium und Isophorondiamin unzureichende Wiederfindungen.

Durch Zugabe von 2 ml Acetonitril und anschließendem Abdampfen der Lösung im Stickstoffstrom bei 45°C kann das IPA nahezu vollständig entfernt werden. Zur Ermittlung der Rest-IPA-Konzentration können von (ca.) 1 ml Lösung 10 µl entnommen und zu 240 µl einer methanolischen Bromthymolblaulösung hinzugegeben werden. Bleibt die Lösung nach der Zugabe gelb, ist die IPA-Konzentration ausreichend gering. Der Abdampfprozess kann bei Bedarf wiederholt werden. Ergibt sich auch nach dem zweiten Abdampfen eine Grünfärbung, so ist dies ein Hinweis auf hohe Konzentrationen an Aminen als Matrixbestandteile (> 40 µmol/L Aminogruppen in der Probe).

Vor dem letzten Eindampfen auf 1 ml wird der Acetonitril-Lösung 700 µl verdünnte Ameisensäure (0,03 %) zugegeben, um die Mischung dem Laufmittel anzupassen und um das Abdampfen leichtflüchtiger Amine (z. B. Anilin) zu unterbinden. Bei einer Aufkonzentrierung um Faktor 50, einer (angenommenen) Wiederfindung von 50 % und einem Injektionsvolumen von 5 µl ist das Verfahren ähnlich nachweisstark wie bei einer Direktinjektion von 100 µl.

Enthält die Probenmatrix größere Mengen an störenden Aminen (z. B. Aminoalkohole) und/oder sind vorrangig bzw. ausschließlich die weniger polaren und geringer basischen Amine zu bestimmen, ist der Einsatz der RP-SPE in Kombination mit einem hohen pH-Wert der Probenlösung die bessere Alternative.<sup>[3]</sup> Der entscheidende Vorteil liegt im Elutionsmittel (Methanol/Acetonitril 1:1) begründet, bei dem kein anschließender Abdampfprozess notwendig ist.

## Diskussion und Ausblick

Durch das vorgestellte Analysenverfahren können Amine im Spurenbereich in wässrigen Proben sehr effektiv nachgewiesen werden. Auf eine Derivatisierung kann vollständig, auf

eine Anreicherung weitgehend und auf Reinigungsschritte häufig verzichtet werden.

Amine können aufgrund der hohen Bindungsselektivität aus hoch matrixbelasteten Wasserproben selektiv an eine Kationentauscher-Festphase gebunden werden. Das Verfahren dient vorrangig der Abtrennung störender Matrixbestandteile. Aufgrund von möglichen Matrixeffekten durch Verunreinigungen im Isopropylamin sind höhere UPLC-Injektionsvolumina nicht empfehlenswert, so dass die Empfindlichkeit des Gesamtverfahrens nicht wesentlich gesteigert werden kann. Wenn die Matrix hohe Konzentrationen an störenden weiteren Aminen enthält, so ist zu prüfen, ob diese Amine den wesentlichen (öko)toxikologischen Beitrag liefern. Das Verfahren kann auf weitere Aufgabenstellungen, wie bspw. der Analyse von Aminoalkoholen, übertragen werden.

Danksagung

## Danksagung

Die Autoren danken dem Deutschen Institut für Bautechnik (DIBt) für die Förderung des Forschungsvorhabens „Freisetzung von aromatischen Aminen aus Bauwerksabdichtungen – Erarbeitung eines Verfahrens zur analytischen Quantifizierung und Bewertung im Rahmen der abZ“ (Fördernummer: P 52-5-20.85.1). Der Forschungsbericht wird bzw. ist im Fraunhofer IRB Verlag veröffentlicht.

## Literatur

- [1] Andreas Schmohl, Christian Scherer: „Freisetzung von Isocyanaten und Aminen aus Bauwerksabdichtungen“; Bauforschung, Band T 3343, Fraunhofer IRB Verlag (2016), 82 Seiten; ISBN 978-3-8167-9853-8
- [2] T. Schupp, H. Allmendinger, B.T.A. Bossuyt, B. Hidding, B. Tury, and R.J. West. „Review of the Ecotoxicological Properties of the Methylenedianiline Substances“; Reviews of Environmental Contamination and Toxicology 241 (2016); S. 39 – 72
- [3] Andreas Schmohl, Sabine Hübner: „Freisetzung von aromatischen Aminen aus Bauwerksabdichtungen“; Bauforschung, Fraunhofer IRB Verlag (2018), 77 Seiten; Veröffentlichung in Vorbereitung

## Korrespondenzadresse

M.Sc. Sabine Johann  
Gruppenleiterin Ökologische Chemie und Mikrobiologie  
Abteilung Umwelt, Hygiene und Sensorik  
Fraunhofer-Institut für Bauphysik IBP, Standort Holzkirchen  
Fraunhoferstr. 10  
83626 Valley  
E-Mail: [sabine.johann@ibp.fraunhofer.de](mailto:sabine.johann@ibp.fraunhofer.de)