

## Nachweis von Acetamid beim thermischen Abbau von Chitin

Peter Köll und Jürgen Metzger

Fachbereich 4 (Naturwissenschaften) der Universität Oldenburg, Ammerländer Heerstr. 67-99, D-2900 Oldenburg, Bundesrepublik Deutschland

### Detection of Acetamide in the Thermal Degradation Products of Chitin

**Summary.** Thermal degradation of chitin, which is a constituent of some foods, yields as main volatile compound acetamide (9% of dry weight), a fact with possible physiological implications. Thermal analysis shows decomposition beginning at 200 °C.

**Zusammenfassung.** Beim thermischen Abbau von Chitin, das auch Bestandteil einiger Nahrungsmittel ist, wird als flüchtige organische Hauptkomponente Acetamid gefunden (9% des Trockengewichtes), was möglicherweise von physiologischer Bedeutung ist. Thermoanalysen zeigen, daß die Zersetzung bereits bei 200 °C beginnt.

Chitin, das erstmals im Jahre 1811 von Braconnot aus Champignons isoliert wurde [1], ist ein  $\beta$ -1,4-verknüpftes Polymeres des N-Acetylglucosamins und stellt die Hauptgerüstsubstanz in Pilzen (*Fungi*) und Gliederfüßern (*Arthropoda*: Krebse, Insekten, Spinnen) dar. Daneben ist es in einer Reihe weiterer Tierarten nachgewiesen (z. B. Tintenfischen) [2]. Eine ganze Anzahl dieser Chitin enthaltenden Organismen dienen dem Menschen als Nahrungsmittel, wobei die Zubereitung häufig im Braten besteht. Weiterhin wurde in jüngster Zeit Chitin, das weltweit in erheblichen Mengen preiswert zugänglich ist [2], als Tabakersatzstoff diskutiert [3, 4]. Aus diesen Gründen halten wir es für notwendig, über eigene Untersuchungen zum thermischen Verhalten von Chitin zu berichten, die Acetamid (neben Wasser) als wesentliches flüchtiges Pyrolyseprodukt ausweisen. Zwar hat bereits Braconnot Chitin trocken destilliert [1] und konnte durch Basenbehandlung des Pyrolysates den Stickstoffgehalt dieses Polymeren nachweisen, doch wurde eine systematische Produktanalyse erst in

Zusammenhang mit den genannten Tabakuntersuchungen durchgeführt [4]. Diese Autoren konnten eine Vielzahl von Substanzen identifizieren, merkwürdigerweise wurde Acetamid aber von ihnen nicht gefunden. Ohne selbst irgendwelche Schlußfolgerungen zu ziehen, noch diese nahelegen zu wollen, müssen wir darauf hinweisen, daß Acetamid zumindest bei Ratten nach Verfütterung Lebertumore induziert [5-7]. Entsprechende Untersuchungen an anderen Tierarten sind allem Anschein nach nicht durchgeführt worden [8, 9], ebenso sind uns keine Berichte über Schädigungen der genannten Art beim Menschen bekannt [10].

### Methoden

**Material:** Chitin aus Krabben (Fluka AG) und pulverisiert. Wassergehalt ca. 7%, Anorganische Bestandteile ca. 5%.

**Thermoanalysen:** Thermogravimetrie mit 4-mg-Proben unter Stickstoff (20 ml/min) bei Aufheizraten von 11 °C/min auf Thermoanalytatorsystem SETARAM (Mikrowaage MTB 10-8).

**Analytische Pyrolysen:** a) 0,5 mg Chitin im Thermalchromatographen Chromalytics MP-3 (Spex Industries) [11], bei Aufheizraten von 20 °C/min im Heliumstrom (20 ml/min) pyrolysieren. Gaschromatographische Trennung des Pyrolysates auf gleichem Chromatographen an gepackter Säule (Porapak QS, 2 m 1,6 mm A.D.). Säulentemperatur 220 °C. Trägergas: 20 ml He/min. Flammenionisationsdetektor. Propionamid als interner Standard bei Berücksichtigung unterschiedlicher Response-Faktoren. Auswertung der chromatographischen Trennungen mit Integrator Hewlett-Packard 3380 A.

b) 0,5 mg Chitin in einer leeren GC-Säule eines GC-MS-Systems (VARIAN-MAT 111) bei Aufheizraten von 8 °C/min von Z. T. bis 260 °C im Helium-Strom (20 ml/min) thermisch abbauen. Die flüchtigen Pyrolyseprodukte über einen Trenner (Spalt-Separator) in das Massenspektrometer einlassen. Massenspektrometrische Meßbedingungen: Elektronenenergie 80 eV, Quelle geheizt.

**Präparative Pyrolysen:** 32 g lufttrockenes Chitin in einen mit Innenthermometer und Destillationsbrücke versehenen 250 ml Rundkolben geben und unter Stickstoff solange auf 320-350 °C erhitzen (ca. 1 Std), bis kein Destillat mehr übergeht. Im Kolben verbleibt ein Rückstand von 12,9 g (40,3%). Das Destillat am Rotationsverdampfer i. Vak. bei einer Badtemperatur von 30 °C einengen. Den Rückstand, 3,2 g, in 20 ml Aceton aufnehmen. Es kristallisieren 0,45 g Ammoniumacetat aus. Gaschromatographische Bestimmung (s. o.)

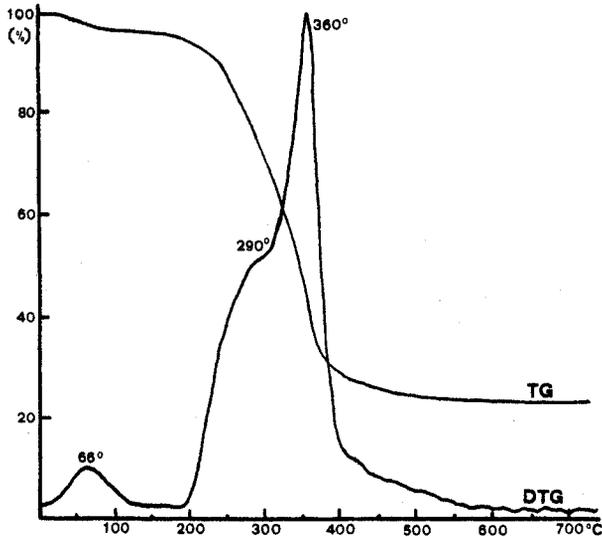


Abb. 1. Thermogravimetrische Untersuchung von Chitin (Aufheizrate 11 °C/min). Der Ordinatenmaßstab gilt nicht für die DTG-Kurve (1. Ableitung der TG-Kurve)

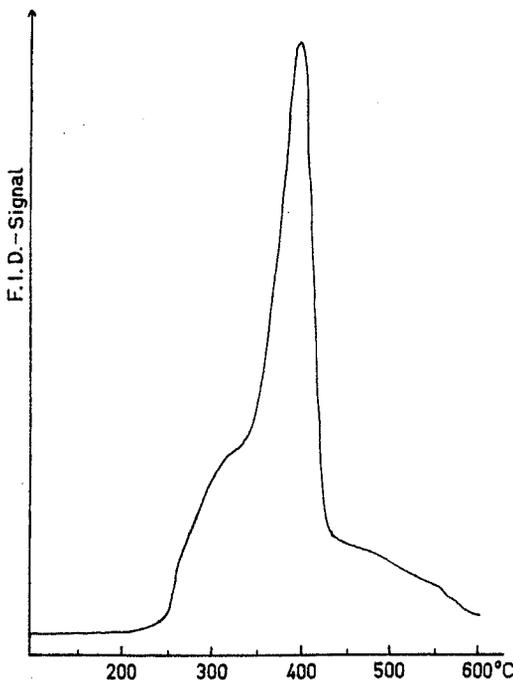


Abb. 2. Thermalchromatogramm von Chitin (Aufheizrate 20 °C/min)

des Acetamidanteils im schwerflüchtigen Pyrolysatanteil ergab einen Wert von 22%.

### Ergebnisse und Diskussion

Beim thermischen Abbau von Chitin in superkritischem Aceton fanden wir unter den erhaltenen Produkten erhebliche Mengen Acetamid und Diacetamid

[12]. Dies war Anlaß, das thermische Verhalten von Chitin insbesondere im Hinblick auf das Auftreten von Acetamid auch unter üblichen Bedingungen zu untersuchen.

Abbildung 1 zeigt die durch Thermogravimetrie (TG) gewonnene Pyrolysekurve. Diese Kurve zeigt, daß ca. 75% des Chitins im Temperaturbereich von 200–400 °C (im Stickstoff-Strom) in flüchtige Produkte übergehen. Der restliche Anteil verbleibt als kohlearziger Rückstand. Die erste Ableitung der TG-Kurve (DTG), die ebenfalls in Abb. 1 wiedergegeben ist, zeigt, daß zwei deutliche Bereiche maximalen Abbaus zu verzeichnen sind, nämlich bei 290 °C und bei 360 °C (ein weiteres Maximum bei 66 °C entspricht der Abgabe der in lufttrockenem Chitin enthaltenen Feuchtigkeit). Die von uns erhaltene DTG-Kurve weicht deutlich von derjenigen ab, die von einem Poly-N-acetyl-D-glucosamin aufgenommen wurde, das durch Reacetylierung von Chitosan gewonnen wurde [13].

Um auch eine Produktanalyse vornehmen zu können, wurde die Pyrolyse massenspektrometrisch verfolgt. Ab 220–260 °C (bei dieser Temperatur wurde die MS-Untersuchung abgebrochen) wurde das Massenspektrum durch das Zerfallsmuster des Acetamids bestimmt. Acetamid muß die organische Hauptkomponente des Pyrolysates sein.

Zur quantitativen Bestimmung des Acetamids wurde die Pyrolyse in einem sog. Thermalchromatographen [11] vorgenommen. Dieses Gerät gestattet die kontrollierte Pyrolyse einer Substanz im Helium-Strom, wobei ein Teil der entstehenden flüchtigen Produkte einem Flammen-Ionisationsdetektor (F.I.D.) zugeführt wird, während die Hauptmenge des Pyrolysates zunächst in eine Falle (Tenax-GC) kondensiert wird. Das erhaltene F.I.D.-Signal ist ein Maß für die Menge der pro Zeiteinheit verflüchtigten Substanz. Die erhaltenen Pyrolysekurven haben daher, wie Abb. 2 zeigt, große Ähnlichkeit mit den entsprechenden DTG-Kurven (vgl. Abb. 1). Allerdings werden nichtbrennbare Substanzen, wie z. B. Wasser, aufgrund des gewählten Nachweissystems nicht angezeigt. Die Verschiebung der Abbaumaxima in Abb. 2 um ca. 40 °C zu höheren Temperaturen gegenüber Abb. 1 dürften zum einen darauf zurückzuführen sein, daß ein steilerer Temperaturanstieg gewählt wurde und zum anderen in Abb. 2 nur die Ofentemperatur angegeben ist, während bei der Thermogravimetrie die Temperatur in der Probe selbst gemessen wurde. Diese Temperaturwerte sind somit zuverlässiger. Nach Beendigung der Thermolyse werden die in der Falle des Thermalchromatographen gesammelten Substanzen durch schnelles Aufheizen auf 300 °C erneut verflüchtigt, an einer geeigneten Säule gaschromatographisch getrennt und unter Bezug auf einen internen Standard quantitativ bestimmt. Die gaschromatographische Trennung von Amiden ist nicht

ganz unproblematisch, gelang jedoch an Porapak QS [14]. Im Mittel wurden 8,2% der Chitinprobe als Acetamid gefunden, bzw. – korrigiert unter Anrechnung von 7% Wasser und 5% anorganische Begleitstoffe im eingesetzten Chitin – 9,3%. Bei vollständiger Eliminierung der Acetamidgruppen im Chitin als Acetamid wären 26,9% möglich. Dies bedeutet, daß immerhin 34,5% der theoretischen Ausbeute an Acetamid gefunden wurden. Damit kann Acetamid als eines der Hauptbestandteile des Chitin-Pyrollysates gelten. Die Anteile anderer Substanzen, die bisher, allerdings nur in der etherlöslichen Fraktion des Pyrollysates, nachgewiesen und quantitativ bestimmt wurden [4], liegen im besten Falle mehr als eine Zehnerpotenz darunter (Phenol und Essigsäure).

Wird Chitin in präparativem Maßstab (30 g) im Stickstoffstrom in einer normalen Destillationsapparatur auf ca. 320–350 °C erhitzt, so wird aufgrund des wesentlich schlechteren Wärmeübergangs in einer derartig großen Probe das Chitin nur zu ca. 60% in flüchtige Produkte umgewandelt. Einengen des Pyrollysates, das zu einem wesentlichen Teil aus Wasser besteht, im Vakuum bei 30 °C liefert lediglich 10% schwerflüchtige Substanzen. Hiervon stellt Acetamid einen Anteil von ca. 22% (2,2% des eingesetzten Chitins). Daneben lassen sich aber nach Aufnehmen dieses Pyrollysates in Aceton nicht unerhebliche Mengen Ammoniumacetat auskristallisieren (14% des Pyrollysates; 1,4% des Chitins). Dies ist insofern interessant, als auf Grund dieser Beobachtung anzunehmen ist, daß bei Anwesenheit genügender Mengen Wasser und hinreichend hoher Temperaturen das zunächst gebildete Acetamid zu einem nicht unwesentlichen Teil in Ammoniumacetat, das physiologisch anscheinend unbedenklich ist [7], übergeführt wird. Acetamid sollte daher möglicherweise in normal zubereiteten chitinhaltigen Nahrungsmitteln nicht anzutreffen sein. Doch wäre dies noch zu untersuchen. Wir meinen jedoch, daß die vorstehende Untersuchung eindeutig den Einsatz von Chitin als Tabakerersatzstoff verbietet, zumindest solange keine zweifelsfreien Hinweise existieren, daß Acetamid eine für den

Menschen harmlose Substanz darstellt. Der im Tabakkondensat üblicherweise gefundene Gehalt an Acetamid liegt im 10 ppm Bereich [15] und dürfte sich bei Chitin-Zusatz massiv um mehrere Zehnerpotenzen erhöhen.

*Dank.* Herrn cand. chem. H. Riemann danken wir für die Durchführung der thermogravimetrischen Untersuchungen, Herrn H. Kommander für techn. Assistenz

## Literatur

1. Braconnot, H.: Ann. Chi. Phys. **79**, 265 (1811)
2. Muzzarelli, R.A.A.: Chitin. Oxford, New York: Pergamon Press 1977
3. Pariser, E.R., Bock, S.: M.I.T. – Report No. SG 73-2, Cambridge, Mass. 1972
4. Schlotzhauer, W.S., Chortyk, O.T., Austin, P.R.: J. Agr. Food Chem. **24**, 177 (1976); Austin, P.R.: U.S.-Pat. 3,987,802, zit. nach Chem. Abstr. **85**, 189444 (1976)
5. Jackson, B., Dessau, F.I.: Lab. Invest. **10**, 909 (1961)
6. Jackson, B.A., Richter, G.W.: Arch. Pathol. **86**, 142 (1968)
7. Weisburger, J.H., Yamamoto, R.S., Glass, R.M., Frankel, H.H.: Toxicol. Appl. Pharmacol. **14**, 163 (1969)
8. WHO: IARC-monographs on the evaluation of carcinogenic risk of chemicals to man. Lyon: International Agency for Research on Cancer 1974
9. Acetamid ist als Futter für Rinder untersucht worden [vgl. z. B. Bergner, H., Piatkowski, B., Boldnau, G., Voigt, J., Steger, H., Bloedow, G.: Tagungsber. Akad. Landwirtschaftswiss. D.D.R. **124**, 203 (1974)], zit. nach Chem. Abstr. **83**, 26655 (1975)
10. Die notwendige Literaturrecherche wurde u. a. durch Inanspruchnahme des Datenmaterials des Deutschen Instituts für Medizinische Dokumentation und Information („DIMDI“) vorgenommen.
11. Uden, P.C., Henderson, D.E., Lloyd, R.J.: Analytical pyrolysis. Jones, C.E.R., Cramers, C.A. (eds.). Amsterdam: Elsevier 1977
12. Köll, P., Metzger, J.: Angew. Chem. **90**, 802 (1978); Angew. Chem. Int. Ed. Engl. **17**, 754 (1978)
13. Bihari-Varga, M., Sepulchre, C., Moczár, E.: J. Thermal Anal. **7**, 675 (1975)
14. Kubecová, V., Novák, J., Janák, J.: J. Chromatog. **110**, 63 (1975)
15. Johnson, W.R., Hale, R.H., Nedlock, J.W.: Tob. Sci. **17**, 73 (1973)

Eingegangen am 15. März 1979