

ÜBER DIE ADSORPTION UND EXTRAKTION DES 3,4-BENZOPYRENS AN BESTIMMTEN RUSS-SORTEN

von
Dr. Balys Petruskas

*Meinem Bruder
in Dankbarkeit
gewidmet*

I. Einleitung

Schon seit langer Zeit liegen klinische Beobachtungen vor, die zeigen, dass in bestimmten Berufsgruppen Krebserkrankungen gehäuft Vorkommen.

Als erster machte Percival Pott im Jahre 1775 auf die krebserregende Eigenschaft von Russ aufmerksam¹. Mit der Entwicklung der Teerindustrie im 19. Jahrhundert stieg auch der Prozentsatz der Hautkrebserkrankungen. Durch längere Applikation von Kohlentee auf das Ohrfläppchen von Kaninchen konnten Yamagiwa und Ichikawa als erste Epitheliome experimentell erzeugen^{1 2}. Auf der Rückenhaut der Maus konnte Tsutsui auf gleiche Art bösartige Tumoren her vorrufen³.

Da der Steinkohlentee ein Gemisch zahlreicher verschiedener Kohlenwasserstoffe darstellt, war die Suche nach dem krebserzeugenden Agens sehr schwierig. Bloch und Dreifuss⁴ konnten nachweisen, dass die wirksame Substanz eine stickstofffreie, neutrale und oberhalb 400° flüchtige Verbindung sein muss. Es war nun wichtig festzustellen, welche karzinogenen Stoffe sich im Tee befanden.

¹ E. Cl ar, *Aromatische Kohlenwasserstoffe*, 2. Auflage, 1952.

² K. Yamagiwa und K. Ichikawa, *Tokyo Izakkai Zasshi*, 15 (1915) 295 : *J. Cancer Research*, 3 (1918) 1.

³ Tsutsui, *Gaun.*, 12 (1918) 17.

⁴ Bl och und Dr eifuss, *Schweizer Med. Wschr.*, 51 (1921) 1033.

Eine Gruppe von Forschern wie Kennaway, Hieger n. a. entdeckten, dass die Substanzen, welche bösartige Geschwülste erzeugen, einen hohen Siedepunkt haben und ein charakteristisches Fluoreszenzspektrum zeigen⁵. Durch mühevollen Arbeit gelang es endlich Cook, Hewett und Hieger, aus dem Steinkohlenteer das bisher unbekannte 3, 4 - Benzpyren zu isolieren⁶. Gleichzeitig wurde 3, 4 - Benzpyren von Cook und Hewett synthetisch hergestellt⁷. Es zeigte starke karzinogene Wirkung. Durch Bepinseln der Haut mit 3,4 - Benzpyren lassen sich Karzinome bzw. durch Injektion Sarkome hervorrufen⁸. Es ist wegen seiner grossen Verbreitung sowie seiner starken Aktivität das heutzutage am meisten verbreitete Forschungsobjekt. 3, 4 - Benzpyren wurde im Russ der Industriestädte, in dem Abgasen der Verbrennungsmotoren⁹, bei der Gummierstellung¹⁰, in Aktivkohle¹¹ sowie in Luft¹², Erde und Wasser¹³ nachgewiesen. In diesem Zusammenhang ist zu bemerken, dass Extrakte aus dem Luftstaub, in Mäuse injiziert, karzinogene Wirkung haben¹⁴.

Überblickt man die Ergebnisse der Tierversuche, die sich mit der karzinogenen Wirkung von implantiertem Euss beschäftigen, so zeigt sich, dass dem Euss eine recht unsichere karzinogene Wirkung zugeschrieben werden kann¹⁵. Dagegen erweisen sich Extrakte, die aus diesen Bussen gewonnen werden, als höchst wirksam¹⁶. Will man jedoch die Zusammenhänge untersuchen, die für die Entstehung menschlicher Lungenkarzinome massgebend sind, so erscheinen uns reine Extraktversuche als nicht ausreichend. Praktisch enthält jeder Euss, der als Aerosol eingeatmet wird, 3, 4 - Benzpyren bzw. kanzerogene Kohlenwasserstoffe, jedoch die Menge dieser Substanzen schwankt ausserordentlich, was von verschiedenen Faktoren abhängig ist.

⁵ Kennaway E. L. und I. Hieger, *Brit. Med. Journ.*, 1930, II, 1.

⁶ Cook, Hewett und Hieger, *J. Chem. Soc.*, 1933, 395-398.

⁷ J. W. Cook und C. L. Hewett, *J. Chem. Soc.*, 1933, 395.

⁸ Barry, Cook, Haslewood, Hewett, Hieger und Kennaway, *Proc. Soc. London (B)* 117 (1935) 318.

⁹ F. Gulden, M. M. Tipler, *Brit. J. Cancer*; 3 (1949) 157.

¹⁰ H. L. Falk, P. E. Steiner, S. Goldstein, A. Breslow, und R. Hyks, *Cancer Research*, 12 (1952) 30.

¹¹ H. L. Falk, P. E. Steiner, *Cancer Research*, 12 (1952) 30.

¹² R. E. Waller, *Brit. J. Cancer*; 6 (1952) 8.

¹³ J. Borneff, *Münchener Med. Wschr.*, 24 (1963) 1237-1242.

¹⁴ J. Leiter und M. J. Shear, J. Natt, *Cancer Inst.*, 3 (1942) 167.

¹⁵ P. E. Steiner, *Cancer Research*, 14 (1954) 103.

¹⁶ P. E. Steiner, *Cancer Research*, 14 (1954) 103 ; P. J. Greenstein, *Biochemistry of Cancer*; 59 (1954) ; H. Duckrey und A. Schilbach, *Z. f. Krebsforsch.*, 65 (1963) 465-470.

Ein Extraktversuch entscheidet letzten Endes nur die qualitative Seite des Problems. Nimmt man ausreichend konzentrierte Lösungen und trägt den Extrakt oft genug auf, so wird man wohl mit jedem Eussextrakt bösartige Geschwülste erhalten. Ausserdem fehlt bei den Extraktversuchen vollständig die Mitbeteiligung des Busses, die sowohl die Wirkung der karzinogenen Substanzen — infolge der chemischen Natur des Busses — fördern, wie auch umgekehrt die biologische Wirkung der karzinogenen Substanzen durch sehr feste Adsorption an die Bussoberfläche mehr oder minder stark herabsetzen könnte.

Wenn man daher die karzinogene Wirkung verschiedener Bussarten im Hinblick auf die Pathogenese des menschlichen Lungenkrebses untersuchen will, so muss man mit der Möglichkeit rechnen, dass es auch Bussarten gibt, die, auch wenn sie lange Zeit einwirken, immer unterhalb der Schwelle bleiben, die zur Entstehung des menschlichen Lungenkrebses führt.

Hieger hat reines Benzin städtischer Luft exponiert und beobachtet, dass dasselbe ein charakteristisches 3, 4 - Benzopyrenspektrum zeigte¹⁷. Die gleiche Bestimmungsmethode benutzend, isolierten Gulden und Tipler ¹⁸ bis zu 0,03% 3, 4 - Benzopyren aus dem häuslichen Buss. Waller untersuchte den Luftstaub von neun englischen Städten und fand 0,02 bis 0,5 ug des gleichen Karzinogens pro m³ filtrierter Luft¹⁹. Alarmierend wirkt das Verhältnis zwischen Luftverseuchung und starker Zunahme von Lungenkrebskrankungen.

Wie bei aller Krebsentstehung kommen auch bei Bronchialkrebs nur endogen — erbliche, erworbene oder beide Faktoren zusammenwirkend in Betracht. Jeder Gedanke an eine erbliche Bedingtheit des Bronchialkrebses scheidet aus, wenn man die Grundtatsachen der klinischen Bronchialkrebstatistik heranzieht. Da die Lungen bei beiden Geschlechtern gleichen anatomischen Bau, gleiche Funktion und identische erbliche Determiniertheit aufweisen, so müssten bei Erbbedingtheit des Bronchialkrebsses beide Geschlechter gleich betroffen sein. In Wirklichkeit überwiegt das männliche Geschlecht in den Statistiken aller Länder westlicher Zivilisation bei weitem, in manchen Erhebungen stehen bis zu 93 % Männern nur 7 % Frauen gegenüber. Es ist die nur mit exogenen Schädigungen, die das männliche Geschlecht bevorzugt treffen, zu erklären²⁰.

¹⁷ I. Hieger, *Cancer Research*, 6 (1946) 657-670.

¹⁸ F. Gul den und M. M. Tipl er, *Brit. J. Cancer*, 3 (1949) 157-160.

¹⁹ R. E. Wal l er, *Brit. Empire Cancer Campaign*, 27 th Annual Report, 98-99 (1949).

²⁰ Stich - Bauer, *Lehrbuch der Chirurgie*, 16-17 (1958) 471.

Auf die exogene Genese weist ferner die Lokalisation der Bronchialkrebs hin. Sie entwickeln sich nur in 1-2% der Fälle peripher und zu 98-99% im Stammbronchus oder hinter dessen erster oder zweiter Gabelung, also dort, wo inhalede schädigende Substanzen ihren ersten Niederschlag auf der Schleimhaut finden. Auch die Lokalisation im Ober- und Unterlappen und das Verhältnis rechts zu links entspricht mit 51 : 49 für die Ober- und 55 : 45 für die Unterlappen genau dem Belüftungsverhältnis²¹.

Unwiderleglich bewiesen wird die exogene Genese durch den Wegweiser für alle Krebsätiologie überhaupt: durch die Fälle von Bronchialkrebs als Berufskrebs²². Die ist medizinisch wichtig, da die Latenzzeit des menschlichen Lungenkarzinoms mindestens 25 Jahre beträgt und in dieser Zeit auch mit dem schlechtesten Extraktionsmittel an den Buss adsorbiertes 3,4-Benzpyren abgelöst werden kann.

Eine sehr wichtige Untersuchung wurde von H. L. Falk und P. E. Steiner durchgeführt²³. Um die praktisch negativ verlaufenden Tierversuche zur Erzeugung von Karzinomen durch Buss zu erklären, gehen Falk und Steiner von zwei Überlegungen aus :

1. Im Organismus fehlt ein geeignetes Lösungsmittel, das die karzinogenen Substanzen aus dem Buss herauslöst.

2. Die karzinogenen Substanzen sind am Buss so fest adsorbiert, dass sie als biologisch unwirksam angesehen werden können²⁴.

Das Problem der Adsorption karzinogener Kohlenwasserstoffe prüften Falk und Steiner durch eine Versuchsreihe. Es wurde zuerst die Adsorptionsfähigkeit verschiedener Busse für 3,4-Benzpyren untersucht. Zehn verschiedene Bussproben mit Teilchengrößen von 10 μ bis 80 μ wurden mit Lösungen von 3,4-Benzpyren in Benzol behandelt. Diese Lösungen enthielten steigende Mengen von 3,4-Benzpyren in Konzentrationen von 5-500 μ g pro ml Benzol. In der vom Buss abgetrennten Lösung wurde der 3,4-Benzpyrengehalt bestimmt. Es zeigte sich, dass Bussteilchen von kleinem Durchmesser (10 μ) mehr adsorbieren als grössere Teilchen. So adsorbieren z. B. Teilchen vom Durchmesser 10 μ bis zu einer 3,4-Benzpyrenkonzentration von 250 μ g pro ml praktisch alles, während Teilchen mit einem Durchmesser von z. B. 25 μ selbst bei einer 3,4-Benzpyrenkonzentration von 5 μ g/ml nicht alles adsorbieren.

²¹ Ten pat.

²² Ten pat.

²³ H. L. Falk und P. E. Steiner, *Cancer Research*, 12 (1952) 40-43.

²⁴ H. L. Falk und P. E. Steiner, *Cancer Research*, 12 (1952) 30-39.

Eine weitere Untersuchung diente der Frage, inwieweit sich das adsorbierte 3,4-Benzopyren aus dem Russ extrahieren lässt²⁵. Verwendet wurde ein Russ (*channel black*) mit einer Teilchengrösse von 14 μ . Dieser Russ wurde mit 4 benzolischen Lösungen von 3,4-Benzopyren verschiedener Konzentration behandelt. Anschliessend wurde mit Benzol extrahiert. Waren grosse Mengen 3,4-Benzopyren am Russ adsorbiert, so konnte ein grösserer Anteil an 3,4-Benzopyren extrahiert werden. Durch eine einzelne Extraktion liess sich nur ein Bruchteil des Adsorbats extrahieren. Die Menge des Eluats war direkt proportional dem Volumen des Eluierungsmittels. Die Einwirkungsdauer des Eluierungsmittels im Bereich von 15-300 Sekunden zeigte keinen Einfluss auf die Menge des Eluats. Auffallend ist, dass nach zehnmaliger Extraktion nur ein relativ kleiner Teil abgelöst wurde, während der grösste Teil am Russ gebunden blieb. Bei einer sehr grossen Zahl von Extraktionen (bis 300 mal) blieb noch ein Rest von ca. 10 % zurück.

Falk und Steiner sind der Ansicht, dass die Extraktion von an Russen adsorbierten 3,4-Benzopyrens von der Beschaffenheit des Russes, von der Art und von dem Volumen des Lösungsmittels abhängt. Mit einer einzelnen Extraktion kann nur ein Bruchteil des Adsorbats ausgewaschen werden.

Bemerkenswert ist, dass alle quantitativen Bestimmungen des 3,4-Benzopyrens mit Hilfe des *UV-Absorptionsspektrums* durchgeführt wurden.

Eine weitere wichtige Untersuchung führten Falk, Kotin und Miller durch, in welcher gezeigt wurde, dass 3,4-Benzopyren aus dem Russ durch *Blutplasma* abgelöst wird²⁶ : sie befreiten einen Russ der mittleren Teilchengrösse von 80 μ . durch Extraktion mit Benzol von 3,4-Benzopyren und adsorbierten Kohlenwasserstoffen und reicherten ihn anschliessend mit 1 μ g reinem 3,4-Benzopyren pro 1 mg Russ an. (Eine weitere Russart mit einer mittleren Teilchengrösse von 500 μ wurde vorher keiner Extraktion unterzogen). Dann gingen sie folgendermassen vor : 10 mg-Proben des mit reinem 3,4-Benzopyren behandelten Russes wurden nun in 25 und 50 ml sterilem menschlichen Plasma suspendiert und bei 37° inkubiert. Die Inkubationsdauer variierte von 3 Stunden bis zu 8 Tagen. Die Extraktion von 3,4-Benzopyren durch das Plasma verlief sehr langsam : nach drei Tagen wurde nur 40% 3,4-Benzopyren extrahiert, nach acht

²⁵ Ten pat.

²⁶ H. L. Falk, P. Kotin und A. Miller, *Science*, 127 (1958) 474-475 ; H. L. Falk, P. Kotin und A. Miller, *Int. J. Air Poll.*, 2 (1960) 201-209.

Tagen 65%. Bei Kontrollproben mit physiologischer Kochsalzlösung liess sich kein 3,4-Benzpyren extrahieren.

II. Experimenteller Teil

Wir stellten uns nun die Frage, welche Bedeutung diesen Ergebnissen für die Pathogenese des menschlichen Lungenkarzinoms zukommt.

Kann man annehmen, dass bei sehr günstigen Bedingungen, d. h. kleine Teilchengrösse (10-80 μ) und kleine Mengen adsorbierten 3,4-Benzpyrens, dieses biologisch unwirksam bleibt, weil es so fest gebunden ist, dass es gar nicht abgelöst werden kann?

Zweifel an der Richtigkeit dieser Aussage sind berechtigt, und zwar deswegen, weil die Latenzzeit des menschlichen Lungenkarzinoms mindestens 25 Jahre, wenn nicht noch mehr beträgt. Bei so langen Versuchszeiten dürfte auch die Frage des geeigneten Lösungsmittels nur eine untergeordnete Rolle spielen. Lipide sind praktisch in jeder Zelle oder in jeder Zellmembran vorhanden, so dass eine Ablösung von adsorbiertem 3,4-Benzpyren auf jeden Fall zu erwarten ist.

In der vorliegenden Arbeit wurde ein Russ gewonnen, aus dem mit Benzol kein 3,4-Benzpyren mehr extrahierbar war. Dieser Russ wurde mit 3,4-Benzpyren beladen, erneut mit Benzol extrahiert und der extrahierbare Anteil des 3,4-Benzpyrens bestimmt. Der gleiche Versuch wurde mit einem unbehandelten Russ wiederholt, d. h. mit einem Russ, aus dem vorher kein Benzpyren extrahiert wurde.

1a. Extraktion eines Industrierusses unter Rühren zur Herstellung von 3,4-benzpyrenfreiem Russ. — Verwendet wird ein Russ der Firma Degussa, Typenbezeichnung Corax L., mittlere Teilchengrösse (arithm. Mittel) 27,7 μ . Die flüchtigen Bestandteile dieses Russes liegen bei 1%, der Azetonextrakt beträgt 0,2%, die maximale Feuchtigkeit wird mit 3% angegeben.

Corax L wird in der Untersuchung bevorzugt, weil dieser Russ in seiner Beschaffenheit einem in den Strassen der Stadt Hamburg gesammelten Busses sehr ähnlich ist²⁷.

25 g Russ Corax L werden mit 600 ml Benzol unter Rühren extrahiert. Die Extraktion wird bei Raumtemperatur durchgeführt. Während des Vorganges tritt eine leichte Temperaturerhöhung auf. Durch Messung der Fluoreszenz wird ermittelt, dass die Extraktion

²⁷ Diese Angaben verdanken wir Mitteilungen der Firma Degussa.

nach etwa 20 Stunden beendet ist. Offenbar stellt sich ein Gleichgewicht ein, denn wenn die Extraktion fortgesetzt wird und weitere Proben zur Bestimmung des 3,4-Benzpyrengehaltes entnommen werden, so stellt man fest, dass ein Teil des 3,4-Benzpyrens *wieder adsorbiert* wird, vielleicht wegen Verringerung des Extraktionsmittelvolumens durch Verdunstung.

Diese Extraktionsmethode ist nicht empfehlenswert, weil grosse Mengen Extraktionsmittel erforderlich sind und weil bei der Gewinnung des 3,4-benzpyrefreien Russes Verluste auftreten.

1b. Extraktion im Soxhlet-Gerät. — Eine geringe Menge des Busses Corax L wird in einer Soxhlet-Apparatur mit Benzol extrahiert, wobei man das Lösungsmittel dreimal erneuert. Nach einer Dauer von etwa 200 Stunden kann die Extraktion als beendet angesehen werden, da durch Fluoreszenzmessung im Benzol kein 3,4-Benzpyren mehr nachweisbar ist. Daher wird eine grössere Bussmenge der Extraktion im Soxhlet-Gerät unterworfen.

Der Buss wird 48 Stunden lang im Trockenschrank bei 115 °C und anschliessend 24 Stunden lang im Exsikkator gehalten.

68,12 g dieser so vorbereiteten Probe werden mit 750 ml Benzol p. a. im Soxhlet extrahiert. Das Benzol im Kolben wird insgesamt achtmal erneuert. Die *Gesamtdauer* der Extraktion beträgt 200 Stunden. Nach dieser Zeit lässt sich in einer entnommenen Probe mit Hilfe der Fluoreszenzmessung kein 3,4-Benzpyren mehr nachweisen. Der extrahierte Buss wird im evakuierten Exsikkator über Calciumchlorid und Paraffinschnitzeln getrocknet.

2. Eie quantitative Bestimmung des 3,4-Benzpyrens. — Die Methode, 3,4-Benzpyren mit Hilfe des UV-Absorptionsspektrums zu bestimmen, wurde bald verlassen, weil sie im Bereich sehr geringer Benzpyrenkonzentrationen nicht anwendbar war. So zeigt z. B. das UV-Absorptionsspektrum im Bereich unterhalb von 0,5 µg/ml kein 3,4-Benzpyren mehr an, während im Fluoreszenzspektrum deutlich 3,4-Benzpyren zu erkennen ist (Abb. 1, 2). Aus diesem Grunde wird in den folgenden Versuchen 3,4-Benzpyren ausschliesslich fluoreszenzspektroskopisch bestimmt. Viele Erfahrungen, die man bisher über diese Methode gewonnen hatte und die in der Literatur beschrieben worden sind, wurden verwertet²⁸.

²⁸ J. Borneff und R. Fischer, *Archiv Hygiene*, 145 (1961) 141 ; P. P. Dikun, *Voprosy Onkologii*, 7 (1961) 742-753 ; B. Van Dunren, *Analyt. Chem.*, 32, Nr. 11 (1960) 1436-1442 ; E. Sawicki und Mitarb., *J. Air Pollution*, 2 (1960) 253 ; J. H. Chaudet und W. J. Kaye, *Analyt. Chem.*, 33 (1961) 113-117 ; Hans F. Eichhof und Georg Tischank, *Erdöl und Kohle*, 11 Jg. (1958) 705-708.

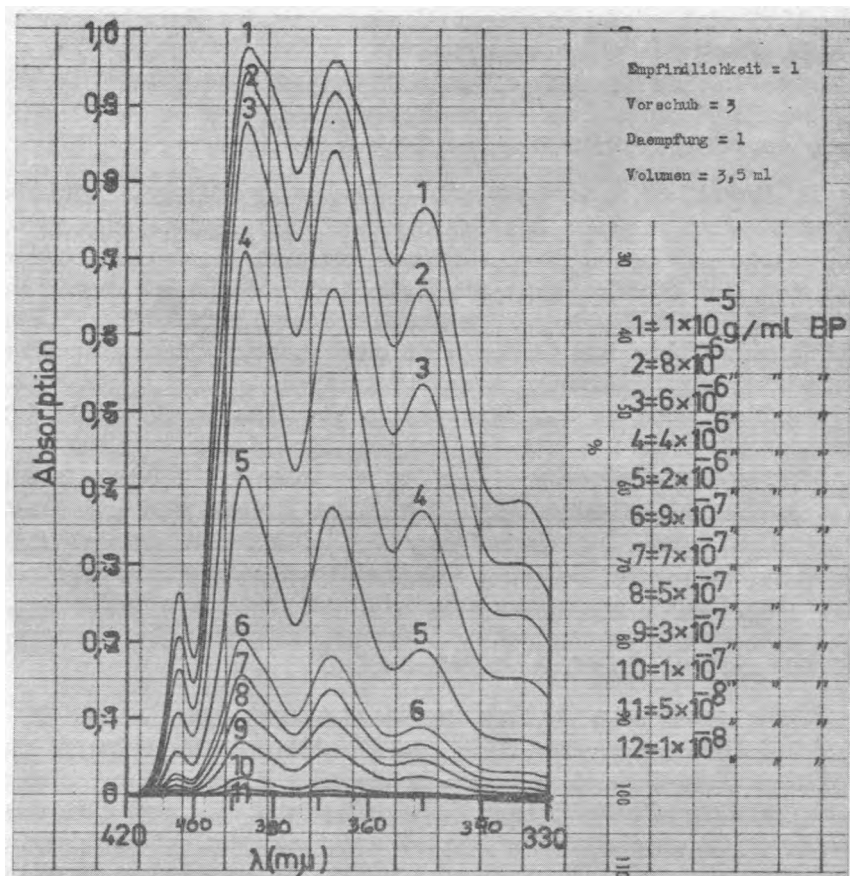


Abb. 1 UV-Absorptionsspektren des 3,4-Benzpyrens in Benzol Konzentrationsbereich $10 \mu\text{g}$ — $0,01 \mu\text{g/ml}$.

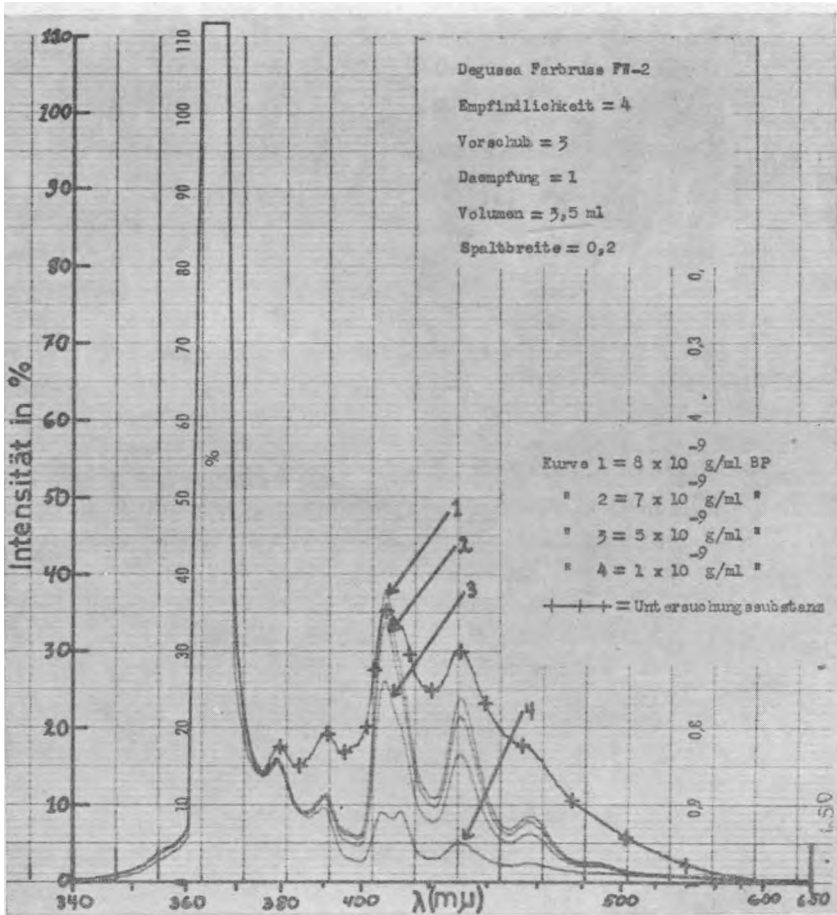


Abb. 2 Fluoreszenzspektren des 3,4-Benzopyrens in Benzol Konzentrationsbereich. $8 \cdot 10^{-3} \mu\text{g} - 10^{-3} \mu\text{g/ml}$

Wir benützen ein Gerät der Firma Carl Zeiss, ein selbstregistrierendes Spektralphotometer RPQ 20 A mit dem Fluoreszenzaufsatz ZFM 4.

Die Küvette wird zu jeder Bestimmung mit 3,5 ml der zu untersuchenden Benzol-Lösung gefüllt. Gearbeitet wird mit den Spaltbreiten von 0,02-0,09 entsprechend der Konzentration der Lösungen.

Um die Messung des Fluoreszenzspektrums quantitativ auswerten zu können, wird eine Reihe von 3,4-Benzpyren-Standard-Lösungen hergestellt.

Diese Standard-Lösungen umfassen den Konzentrationsbereich von $10 \mu\text{g} \cdot 10^{-3} \mu\text{g/ml}$. Von jeder Standard-Lösung wird das Fluoreszenzspektrum aufgenommen. Die Intensitätskurve zeigt neben anderen zwei sehr deutliche Maxima bei 407 und 430 $\text{m}\mu$. Zur Auswertung können beide Maxima herangezogen werden.

Die Auswertung geschieht nach folgendem Verfahren : Wie aus der Abb. 3 ersichtlich, liegen bei den bestimmten Wellenlängen die Maxima der relativen Intensitäten der einzelnen Standard-Lösungen auf einer Geraden, die parallel zur Intensitätsachse verläuft. Die Kurve der unbekanntes Lösung wird aufgenommen und mit den Kurven verglichen, die man aus den Standard-Lösungen erhalten hat. Die Konzentrationen dieser Standard-Lösungen werden so ausgewählt, dass auch sehr kleine 3,4-Benzpyrenmengen erfasst werden können. So zeigt die Abb. 4 Kurven, die den recht engen Konzentrationsbereich von 0,04 pg -0,02 pg - 3,4-Benzpyren je ml Lösung umfassen. Liegt die Kurve der unbekanntes Lösung zwischen zwei Kurven von Standard-Lösungen, so kann der Gehalt an 3,4-Benzpyren recht gut durch Schätzung ermittelt werden (Abb. 4, 5).

3. *Adsorption von 3,4-Benzpyren am benzpyrenfreien Degussa-Buss Corax L.* — 13 g des extrahierten Russes (mittlere Teilchengröße 27,7 $\text{m}\mu$) werden mit einer Lösung von 325 mg 3,4-Benzpyren in 1300 ml Benzol (250 $\mu\text{g/ml}$) zwei Stunden lang in einer Schüttelflasche geschüttelt. Danach wird durch eine Glasfilternutsche G 4 filtriert. Hinter der Saugflasche sind 4 Kühlfallen angebracht, die, um den Benzpyrenverlust so gering wie möglich zu halten, mit flüssiger Luft gekühlt werden. Man wäscht mit 40 ml Benzol nach. Die Kühlfallenkondensate werden gesammelt (im 1. Kühlfallenkondensat z. B. wurde fluoreszenzspektroskopisch ca. 0,1 pg 3,4-Benzpyren/ml Benzol festgestellt) und die Kühlfallen mehrere Male mit wenig Benzol ausgewaschen. Das gesamte Filtrat gibt man in einen 2-Liter-

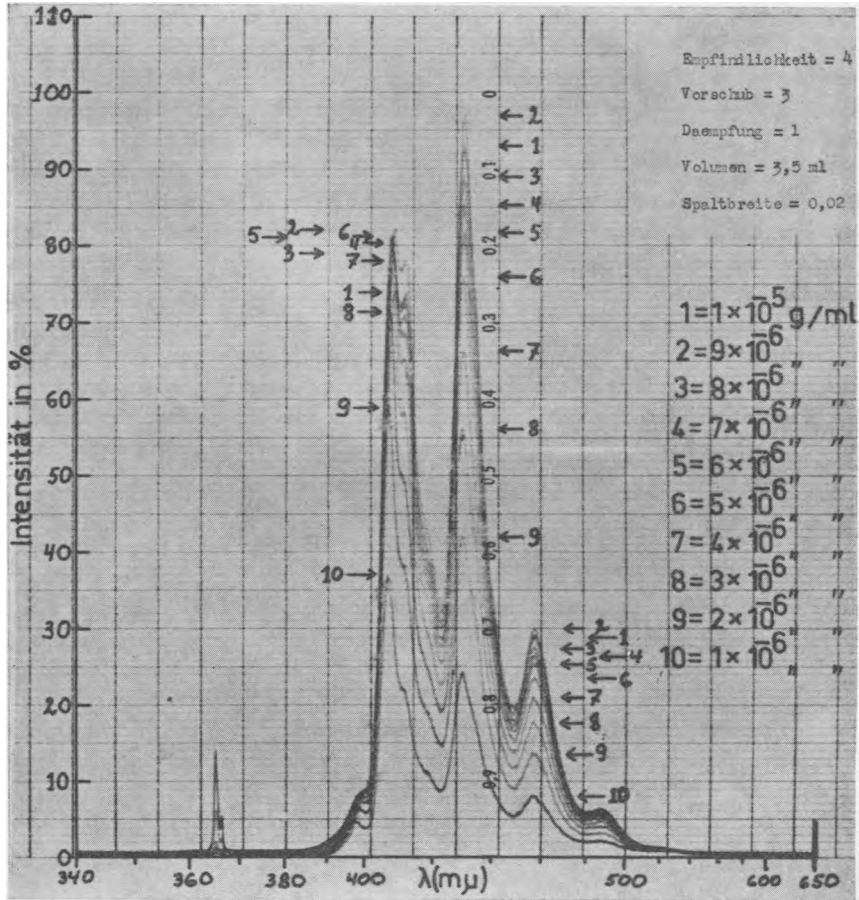


Abb. 3 Fluoreszenzspektren des 3,4-Benzopyrens in Benzol (Standard-Lösungen) Konzentrationsbereich 10 μ g/ml-1 pg/ml.

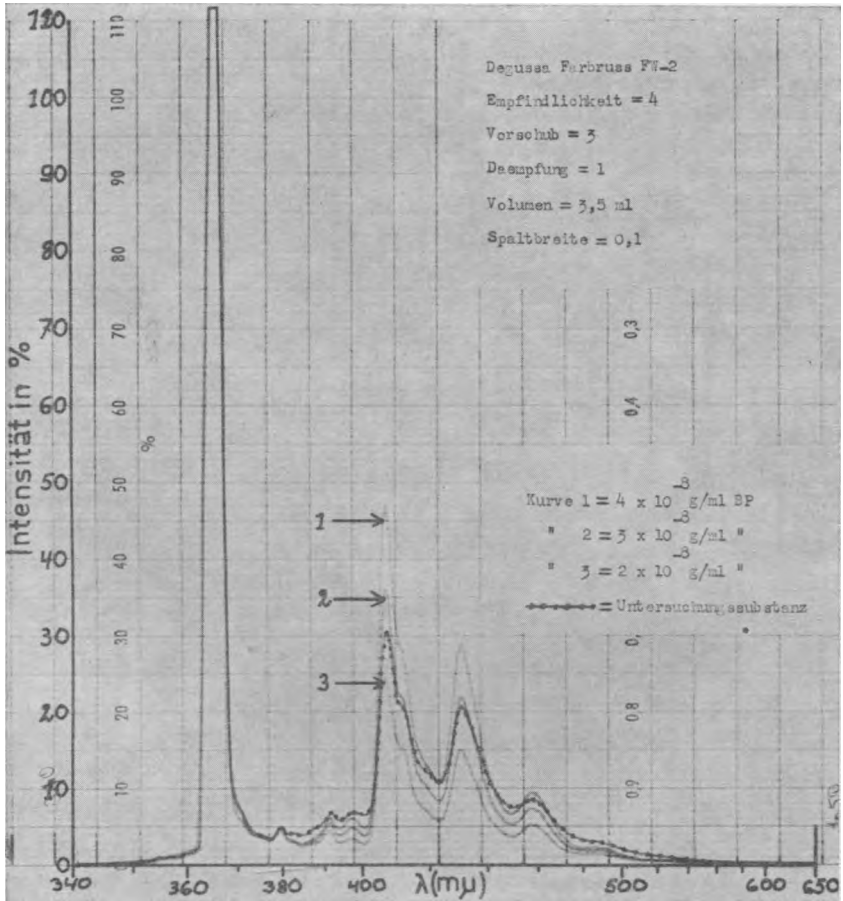


Abb. 4 Fluoreszenzspektren des 3,4-Benzopyrens in Benzol (Standard-Lösungen) Konzentrationsbereich $0,04 \mu\text{g} - 0,02 \mu\text{g/ml}$.

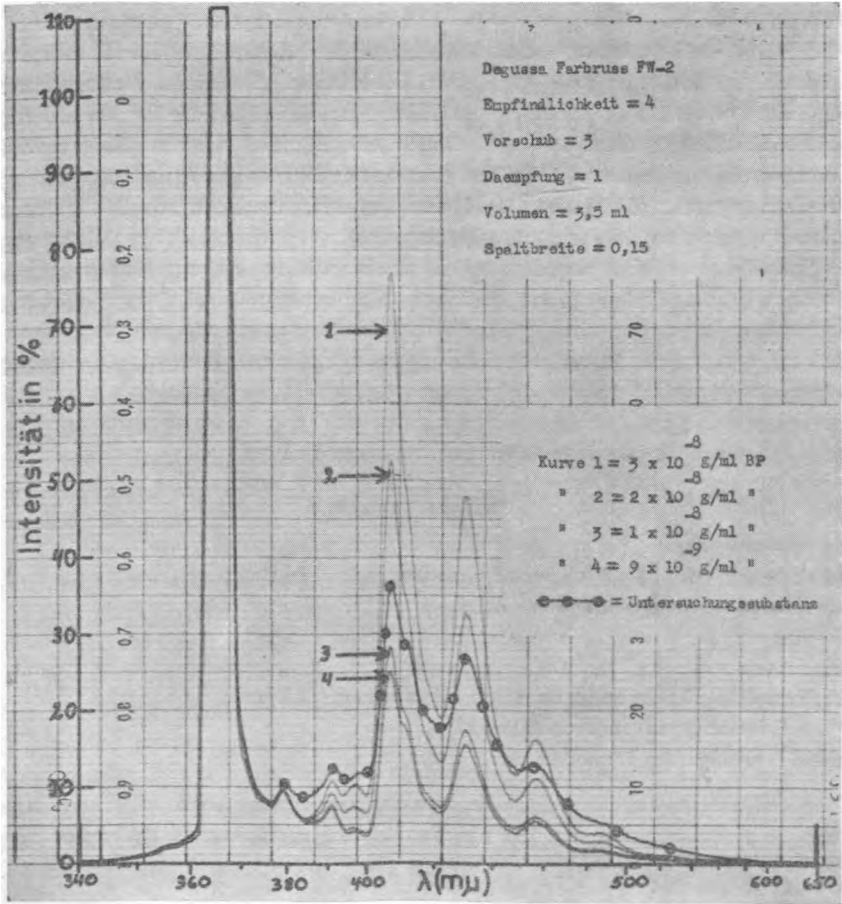


Abb. 5 Fluoreszenzspektren von 3,4-Benzopyren-Standardlösungen und einer 3,4-Benzopyrenlösung unbekanntes Gehalts.

Messkolben und füllt bis zur Marke mit Benzol auf. In diesem Sammel-Filtrat wird durch Fluoreszenzmessung die Menge an 3,4-Benzpyren ermittelt, die nicht vom Buss adsorbiert wurde. In einem solchen Versuch werden 70 µg 3,4-Benzpyren pro ml Filtrat gefunden. Aus diesem Wert wird die Menge an nicht adsorbiertem 3,4-Benzpyren berechnet:

die Gesamtmenge an nicht aufgenommenem 3,4-Benzpyren (Inhalt der Saugflasche und der Kühlfallen) beträgt, bezogen auf das Endvolumen von 2000 ml Benzol: $0,7 \cdot 10^{-4} \cdot 2 \cdot 10^3 = 140$ mg.

Im Anfangsvolumen von 1300 ml Benzol waren 325 mg 3,4-Benzpyren enthalten. Die Differenz zu 140 mg ergibt die Menge 3,4-Benzpyren, die von 13 g Buss aufgedommen wird. 13 g Buss adsorbieren also 185 mg 3,4-Benzpyren, 1 g demzufolge 14,23 mg.

In dieser Weise werden noch drei weitere Adsorptionsversuche durchgeführt. Unter sonst gleichen Bedingungen wird nur die 3,4-Benzpyrenkonzentration geändert. Die Konzentrationen betragen: 2600 mg, 5,2 und 2,8 mg 3,4-Benzpyren/1300 ml Benzol. Die ermittelten Werte sind in der folgenden Tabelle 1 aufgeführt.

Tabelle 1

Adsorption von 3,4-Benzpyren aus benzolischer Lösung durch *extrahierten* benzpyrenfreien Buss.

Buss-Sorte : Corax L, Teilchen grosse : 27, 7 mµ
 Angewandte Bussmenge in allen Versuchen : 13 g
 Benzol-Anfangsvolumen : 1300 ml
 Benzol-Endvolumen : 2000 ml

Vers. Nr.	BP-Anf.-konz. mg/1300 ml	BP µg/ml	- Endkonz. µg/ml	Ads. BP in mg/g Buss	Ads. BP in% d. Anf. - konz.
1	2600	2000	900	61,53	30,76
2	325	250	70	14,23	56,92
3	5,2	4,1	0,1	0,385	96,25
4	2,8	2,5	0,015	0,2	93,02

4. *Adsorption von 3,4-Benzopyren aus benzolischen Lösungen durch unbehandelten Russ.* — In diesem Versuch werden die Bedingungen von Falk und Steiner genau eingehalten, nur ist der verwendete Buss exakt definiert, jedoch wohl von anderer Art als der, welcher von Falk und Steiner untersucht wurde.

Bei diesem Buss handelt es sich um den in der Firma Degussa hergestellten Farbruss FW 2. Diese Bussart hat eine maximale Feuchtigkeit von 8% und eine mittlere Teilchengrösse (arithm. Mittel) von 11,8 mg. Der Azetonextrakt beträgt 0,3%, die flüchtigen Bestandteile 16%. Der grosse Unterschied zur Buss-Sorte Corax L besteht darin, dass der Farbruss FW 2 nicht eine im wesentlichen reine Kohlenstoffoberfläche besitzt (was durch den Prozentgehalt an flüchtigen Bestandteilen klar zu erkennen ist). Der höhere Gehalt an Carboxylgruppen bedingt ausserdem eine höhere Wasserbenetzbarkeit²⁹.

500 mg Degussa-Farbruss FW 2 werden in einem Zentrifugengläschen, das schon mit 5 ml Benzol beschickt ist, mit einer Lösung von 25 µg 3,4-Benzopyren in 25 ml Benzol versetzt. Die Suspension wird 1 Minute lang mit dem Glasstab gerührt, dann 15 Minuten lang zentrifugiert. Das Volumen der überstehenden Lösung wird zu 23,2 ml bestimmt. Der 3,4-Benzopyrengehalt wird durch Fluoreszenz festgestellt.

In der gleichen Weise werden noch drei weitere Versuche durchgeführt, jedoch mit Lösungen, die mehr 3,4-Benzopyren enthalten.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle 2 aufgeführt.

Tabelle 2

Adsorptionsfähigkeit des unbehandelten Degussa-Farbrusses FW 2

Durchschnittliche Teilchengrösse : 11,8 mµ

Angewandte Russmenge in allen Versuchen : 500 mg

Ads. BP = Adsorbiertes 3,4-Benzopyren

Anf. - vol. = Anfangs Volumen

Vers. Nr.	Anf. - vol ml	BPµg / 25 ml	End- vol. ml	BP in Lsg. in µg/ml	Ads.BP/500 mg Russ in µg	Nicht ads. BP in µg
1	30	25	23,2	0,0075	24,826	0,174
2	30	50	23,3	0,0128	49,70	0,298
3	30	75	23,2	0,025	74,42	0,58
4	30	100	23,8	0,0315	99,25	0,749

²⁹ Mitteilung der Firma Degussa.

Die Versuchsergebnisse werden zusammen mit den Ergebnissen aus den Versuchen von Falk und Steiner unter Abs. III besprochen.

5a. Extraktion des 3,4-Benzpyrenbeladenen Russes Corax L. — In diesem Versuch wird der in Tab. 1, Nr. 2 beschriebene Russ verwendet. Er enthält pro Gramm 14,25 mg 3,4-Benzpyren. Von diesem Russ werden 0,5063 g eingewogen und im Soxhlet mit 600 ml Benzol extrahiert. Das Benzol wird viermal erneuert. Das Endvolumen der Benzol-Lösung beträgt jedesmal 500 ml. Der Gehalt an 3,4-Benzpyren wird in den einzelnen Extrakten bestimmt. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Tabelle 3

Russ-Sorte : Degussa-Russ Corax L, 3,4-Benzpyrenbeladen
 Durchschnittliche Teilchengröße : 27,7 m μ
 Einwaage : 0,5063 g Russ mit einem 3,4-Benzpyrengehalt von 7204,6 μ g

Benzol- wechsel N r.	Zeit in Tagen	Extrahiertes Benzp.in μ g	% extrahiertes je Extrakt.	Benzpyren Gesamt %
1	2	7000	97,16	97,16
2	12)	18,7	0,26	97,42
3	30)			
4	32	2,7	0,037	97,46

5b. Extraktion des 3,4-Benzpyrenbeladenen Russes FW 2. — Dieser Russ wurde mit 3,4-Benzpyren beladen ohne vorhergehende erschöpfende Extraktion mit Benzol.

0,5 g Russ, welcher 99,25 μ g adsorbiertes 3,4-Benzpyren enthält, wird im Soxhlet 70 Stunden lang extrahiert. Nach dieser Zeit beträgt die zurückgewonnene 3,4-Benzpyrenmenge bereits 71,66 μ g, bezogen auf das adsorbierte 3,4-Benzpyren sind das 72%.

III. Diskussion

Die Bestimmung des 3,4-Benzopyrens erfolgte durch die Fluoreszenzspektroskopie. Diese Methode ist sehr empfindlich und gestattet es, sehr kleine Mengen 3,4-Benzopyren (10^{-3} μg und weniger) zu erfassen.

Russ mit einer mittleren Teilchengröße von 27,7 μm wurde mit Benzol in einer Soxhlet-Apparatur extrahiert. Nach 200 Stunden konnte aus diesem Russ kein 3,4-Benzopyren mehr extrahiert werden. Ein solch 3,4-benzopyrenfreier Russ wurde auf seine Adsorptionsfähigkeit für 3,4-Benzopyren untersucht. Es wurden vier verschiedene 3,4-Benzopyrenkonzentrationen angewandt.

Die absolute Menge an adsorbiertem 3,4-Benzopyren stieg mit der 3,4-Benzopyrenkonzentration, jedoch wurde bei keinem dieser Versuche eine vollkommene Adsorption des 3,4-Benzopyrens erreicht.

Es ist jedoch auffallend, dass bei unserem Russ die sicher unvollständige Adsorption von 99% schon bei einer 3,4-Benzopyrenkonzentration von 0,833 $\mu\text{g}/\text{ml}$ erreicht wird, während der Russ nach Falk und Steiner diese Grenze erst bei 41,66 $\mu\text{g}/\text{ml}$ überschreitet. Ein nicht extrahierter Russ mit einer Teilchengröße von 11,8 μm verhielt sich genauso. Auch bei sehr kleinen Zusätzen erfolgte keine vollständige Adsorption des 3,4-Benzopyrens.

Hier könnte sicherlich die von uns verwendete Bestimmungsmethode der Fluoreszenzmessung eine Bolle spielen. Unseren Erfahrungen nach ist sie der von Falk und Steiner verwendeten UV-Absorptionsspektroskopie überlegen, besonders bei der Erfassung ganz kleiner Mengen von 3,4-Benzopyren.

Besondere Beachtung verdient der Versuch 4, welcher unter den gleichen Bedingungen durchgeführt wurde, wie sie von Falk und Steiner in ihrer Arbeit angegeben werden³⁰. Der Degussa-Farbruss FW 2 entspricht mit seiner durchschnittlichen Teilchengröße von 11,8 μm zwei Russ-Proben (10 und 14 μm), die Falk und Steiner bei ihren Adsorptionsversuchen verwandten.

Der besseren Übersicht wegen sind die Versuchsergebnisse von Falk und Steiner unseren Ergebnissen gegenübergestellt, Tab. 4.

Nach Falk und Steiner adsorbiert ein Russ der Teilchengröße 10 und 14 μm in einem Konzentrationsbereich von 0,833 bis 33,3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ das 3,4-Benzopyren vollkommen. Erst bei einer Konzentration

*^o H. L. Falk und P. E. Steiner, Cancer Research, 12 (1952) 40-43.

von 41,66 $\mu\text{g/ml}$ wird das 3,4-Benzpyren von Buss nicht mehr vollständig aufgenommen.

Unsere Versuche zeigen, dass die Bussprobe FW 2 schon eine 3,4-Benzpyrenmenge von 0,833 $\mu\text{g/ml}$ nicht vollständig adsorbiert. Vergleicht man die Konzentrationen an 3,4-Benzpyren, die nach Falk und Steiner erforderlich sind, um die Adsorptionsfähigkeit eines Busses bis zu einer Teilchengrösse von 14 μm . zu überschreiten, mit der von uns ermittelten, so ergibt sich ein Verhältnis von 50 :1.

Aus den Ergebnissen ihrer Extraktionsversuche folgern Falk und Steiner :

1. Sind grössere Mengen an 3,4-Benzpyren am Buss adsorbiert, so kann ein grösserer Anteil extrahiert werden.

2. Aus 100 mg Buss mit einer mittleren Teilchengrösse von 10 μm , lässt sich auch unter den besten Bedingungen überhaupt kein 3,4-Benzpyren extrahieren, auch wenn 0,5 mg 3,4-Benzpyren an diesem Russ adsorbiert sind.

Tabelle 4

Vergleich der eigenen Versuchsergebnisse mit denen von Falk und Steiner

Teilchen - grösse m[μ]	I = Falk und Steiner,		II = unsere Versuche	
	Benzpyren Anf. - konz. in $\mu\text{g/ml}$	Benzpyren Endkonz., in $\mu\text{g/ml}$	Adsorbiertes Benzpyren in $\mu\text{g/ml}$	Adsorbiertes Benzpyren in%
I				
10	0,833	0	0,833	100
14	0,833	0	0,833	100
10	33,3	0	33,3	100
14	33,3	0	33,3	100
10	41,66	0,033	41,63	99,92
14	41,66	0,166	41,49	99,60
II				
11,8	0,833	0,0075	0,8255	99,09
11,8	1,66	0,0128	1,6472	99,22
11,8	2,50	0,025	2,475	99,00
11,8	3,33	0,0315	3,2985	99,05

Im Originalversuch bei Falk und Steiner betrug die eingesetzte Russmenge 100 mg. Da in unseren Versuchen je 500 mg verwendet wurden, sind die Ergebnisse von Falk und Steiner mit 5 multipliziert, um die Werte vergleichbar zu machen.

Aus 100 mg Russ (Teilchengrösse 14 μm), beladen mit 2400 μg 3,4-Benzpyren, lassen sich nach der 10. Extraktion 21,8% 3,4-Benzpyren wiedergewinnen, nach der 300. Extraktion sind es etwa 90%. Versuche mit kleineren 3,4-Benzpyrenmengen (die geringste 0,4%) werden nur bis zur 16. Extraktion beschrieben. Der extrahierte Anteil ist sehr gering.

Bei unserem Versuch wurde ein Russ benutzt, dessen Teilchengrösse mit 11,8 μm unter 14 μm liegt und der pro 100 mg *nur* 19,85 μg 3,4-Benzpyren enthält. Nach einer Extraktion im Soxhlet wurden nach 70 Stunden bereits 72% des adsorbierten 3,4-Benzpyrens zurückgewonnen. Setzt man einen Durchlauf in der Soxhlet-Apparatur einer einzelnen Extraktion gleich, so entsprechen die 70 Stunden ungefähr 350 Extraktionen.

Aus dem Russ Corax L mit einer Teilchengrösse von 27,7 μm konnte nach einer 2 Tage dauernden Extraktion das adsorbierte 3,4-Benzpyren zu 97,16% wiedergewonnen werden.

Aus unseren Versuchen kann man demzufolge den Schluss ziehen, dass sich die Ablösung des 3,4-Benzpyrens vom Russ unabhängig von der Teilchengrösse und den physikalisch-chemischen Eigenschaften des Russes vollzieht und praktisch vollständig erreicht werden kann, *wenn man genügend lange und genügend intensiv extrahiert.*

In der menschlichen Lunge sind die Bedingungen, unter denen 3,4-Benzpyren aus den Russteilchen herausgelöst werden kann, zweifellos ungünstiger und verschieden von den Versuchen *in vitro*. Immerhin ist aber bekannt, dass Blutplasma 3,4-Benzpyren aus dem Russ ablösen kann³¹. Die Annahme, dass es sich hier um einen sehr langsam ablaufenden Prozess handelt, steht im Einklang mit den klinischen Erfahrungen, denen zufolge die Latenzzeit des menschlichen Lungenkarzinoms 25 Jahre und mehr beträgt.

Nach Falk und Steiner wird in der grossen Adsorptionsfähigkeit kleiner Russteilchen für 3,4-Benzpyren und in der Unmöglichkeit, das 3,4-Benzpyren aus diesen Teilchen wieder zu extrahieren, eine Erklärung dafür gesehen, dass Russteilchen, die von Menschen eingeatmet werden, eine so geringe karzinogene Wirkung haben, dass sie als harmlos anzusehen sind.

³¹ H. L. Falk, P. Kotin und A. Miller, *Science*, 127 (1958) 474-475; H.L. Falk, P. Kotin und A. Miller, *Int. J. Air Poll.*, 2 (1960) 201-209.

Nach unseren Versuchsergebnissen muss diese mögliche Erklärung angezweifelt werden.

Die Ergebnisse von Falk und Steiner werden im allgemeinen bestätigt, jedoch dahingehend erweitert, dass die Adsorption von 3,4-Benzpyren an Russ nicht nur von der Teilchengröße, sondern wahrscheinlich auch von den physikalisch-chemischen Eigenschaften desselben abhängt. Die Bindung des 3,4-Benzpyrens am Russ ist zweifelsohne sehr fest. Doch haben wir gefunden, dass bei ausreichend langer und intensiver Extraktion das 3,4-Benzpyren praktisch vollständig abgelöst wird, gleichgültig ob es sich um Russpartikel sehr kleinen Durchmessers oder um sehr geringe adsorbierte 3,4-Benzpyrenmengen handelt.

Wenn man die sehr lange Latenzzeit des menschlichen Lungenkarzinoms in Rechnung setzt, so muss man zu dem Schluss gelangen, dass es einen biologisch inaktiven 3,4-benzpyrenhaltigen Russ nicht gibt.

Zusammenfassung

Untersucht wurde die Adsorptions- und Extraktionsfähigkeit für 3,4-Benzpyren in benzolischer Lösung an zwei Sorten von Russ, die sich in ihrer Beschaffenheit und ihrer mittleren Teilchengröße unterscheiden.

1. Russ mit einer mittleren Teilchengröße von 27,7 μm wurde 200 Stunden lang mit Benzol in einer Soxhlet-Apparatur extrahiert. Nach dieser Zeit war kein 3,4-Benzpyren mehr extrahierbar. Die Bestimmung des 3,4-Benzpyrens erfolgte durch Fluoreszenzspektroskopie.

2. Der nach 1 extrahierte Russ wurde mit 3,4-Benzpyren beladen. In 4 Versuchen wurden dabei verschiedene 3,4-Benzpyrenkonzentrationen angewandt. Die absolute Menge an adsorbiertem 3,4-Benzpyren stieg mit der 3,4-Benzpyrenkonzentration der Benzol-Lösung, mit der die Russprobe geschüttelt wurde. Bei keinem dieser Versuche wurde festgestellt, dass eine totale Adsorption des 3,4-Benzpyrens stattfindet, immer wurde nicht adsorbiertes 3,4-Benzpyren gefunden.

Ein zuvor nicht extrahierter Russ mit einer mittleren Teilchengröße von 11,8 μm verhielt sich genauso. Auch bei sehr kleinen Zusätzen wurde das 3,4-Benzpyren nicht vollständig adsorbiert, ein geringer Teil blieb in Lösung.

3. Die Extraktion der mit 3,4-Benzopyren beladenen Russ zeigte, dass sich das 3,4-Benzopyren fast quantitativ zurückgewinnen lässt.

Die Bindung des 3,4-Benzopyrens am Russ ist ohne Zweifel sehr fest. Doch haben wir gefunden, dass bei ausreichend langer und intensiver Extraktion das 3,4-Benzopyren praktisch vollständig abgelöst wird, gleichgültig, ob es sich um Busspartikel mit sehr kleinem Durchmesser oder um sehr geringe absorbierte 3,4-Benzopyrenmengen handelt.

Wenn man die sehr lange Latenzzeit des menschlichen Lungenkarzinoms in Bechnung setzt, muss man zu dem Schluss gelangen, dass es einen biologisch inaktiven 3,4-benzopyrenhaltigen Russ nicht gibt.

ANHANG

Im Zusammenhang mit dieser Arbeit wurde der von uns behandelte Russ für eine Reihe von Implantations-Tierversuchen verwendet. Dabei haben wir uns bemüht, eine geeignetere Begleitsubstanz für zu implantierenden Russ zu finden als das bisher für subkutane Injektionen verwendete Öl.

Die bisher übliche Injektionsmethode von Russ mit verschiedenen Ölen ist als ungeeignet anzusehen, da ja organische Öle fähig sind, das 3,4-Benzopyren zu eluieren, welches dann direkt als freies Benzopyren auf das Gewebe der Versuchstieres einwirkt, anstatt dass das Karzinogen aus dem Russ *direkt vom Gewebe* eluiert wird.

Um einen an Russ adsorbierten Wirkstoff wirklich quantitativ implantieren zu können, ist eine «trockene» Methode, bzw. Substanz erforderlich, welche zugleich auf den betreffenden Organismus nicht artfremd einwirkt, keine auf das betreffende Agens extrahierende Wirkung hat und sich von körpereigenen Fermenten abbauen lässt.

Für diesen Zweck schienen uns am besten Stärke-oder Gelatinekapseln geeignet, zudem sie noch billig sind.

Übliche in Apotheken erhältliche Gelatine-Kapseln implantierten wir Ratten subkutan; nach 48 Stunden war eine Erweichung festzustellen.

Eine zweite Versuchsreihe führten wir mit Küchle-Oblaten-Kapseln, K. G. Günzburg/Bayern, durch. Nach 48 Stunden war eine vollständige Auflösung dieser aus Stärke bestehenden Kapseln durch Gewebsamylase festzustellen.

Damit wäre das Problem gelöst, mit 3,4-Benzopyren beladenen Russ mit einer sich dem Benzopyren gegenüber neutral verhaltenden Begleit-substanz Versuchstieren zu implantieren, sodass die Extraktion des Karzinogens nur durch gewebeigene Flüssigkeit erfolgen kann.

Bal ys Pet kauskas

LITERATURVERZEICHNIS

- Barry, Cook, Haslewood, Hewett, Hieger und Kennaway, *Proc. Soc. London* (B) 117 (1935) 318.
- Bl och und Dreifuss, *Schweizer Med. Wschr.*, 51 (1921) 1033.
- Borneff, J., *Münchener Med. Wschr.*, 24 (1963) 1237-1242.
- Borneff, J. und Fischer, R., *Archiv Hygiene*, 145 (1961) 141.
- Chäudet, J. H. und Kaye, W. J., *Analyt. Chem.*, 33 (1961) 113-117.
- Cl ar, Erich, *Aromatische Kohlenwasserstoffe*, 2. Auflage, 1952.
- Cook, Hewett und Hieger, *J. Chem. Soc.*, 1933, 395-398.
- Cook, J. W. und Hewett, C. L., *J. Chem. Soc.*, 1933, 395.
- Dikun, P. P., *Voprosy Onkologii* 7 (1961) 742-753.
- Duckrey, H. und Schil dbach, A., *Z. f. Krebsforsch*, 65 (1963) 465-470.
- Dunren van, B., *Analyt. Chem.*, 32, Nr. 11 (1960) 1436-1442.
- Eichhof, Hans-F. und Tischak, Georg, *Erdöl und Kohle*, 11. Jg. (1958) 705-708.
- Fal k, H. L., Kotin, P. und Mil ler, A., *Science*, 127 (1958) 474-475.
- Fal k, H. L., Kotin, P. und Mil ler, A., *Int. J. Air Poll.*, 2 (1960) 201-209.
- Fal k, H. L., Steiner, P. E., Gol dfein, S., Breslow, A. und Hyks, R., *Cancer Research*, 12 (1952) 30.
- Fal k, H. L. und Steiner, P. E., *Cancer Research*, 12 (1952) 39-43.
- Greenstein, P. J., *Biochemistry of Cancer*; 59 (1954).
- Gül den, F. und Tipler, M. M., *Brit. J. Cancer*; 3 (1949) 157-160.
- Hieger, I., *Cancer Research*, 6 (1946) 657-670.
- Kennaway, E. L. und Hieger, I., *Brit. Med. Journ*, 1930 II, 1.
- Leiter, J. und Shear, M. J., Natt, J., *Cancer Inst* 3 (1942) 167.
- Sawicki, E. und Mitarb., *J. Air Pollution*, 2 (1960) 253.
- Steiner, P. E., *Cancer Research*, 14 (1954) 103.
- Stich - Bauer, *Lehrbuch der Chirurgie*, 16-17 (1958) 471.
- Tsutsui, *Gaun.*, 12, 17 (1918).
- Wal ler, R. E., *Brit. Empire Cancer Campaign*, 27th Annual Report, (1949) 98-99.
- Wal ler, R. E., *Brit. J. Cancer*; 6 (1952) 8.
- Yamagiwa, K. und Ichikawa, K., *Tokyo Izakkai Zasshi* 15 (1915) 295 ; *J. Cancer Research*, 3 (1918) 1.

ADSORPCIJA IR EKSTRAKCIJA 3,4-BENZOPYRENO IŠ TAM TIKR SUODŽI R ŠI -

(Santrauka)

Suodžiai, kaip dalis dulki m s atmosferoje, turi kintan ius kiekius benzpyreno, kuris vasar yra žemas, o ruden ir žiem pakyla iki labai augšto kiekio (2000 gamm BP*/gram suodži ir daugiau).

Amerikie iai mokslininkai tyrin jo suodži adsorpcijos paj gum benzpyrenui ir rado, kad suodžiai, kurie iš labai maž daleli susideda (nuo 10 iki 14 mg), benzpyren ypatingai stipriai pritraukia, taip kad jo jau nebegalima ekstrahuoti. Panašiai yra ir su suodži dalel m, kuri vidutiniškas skersmuo yra apie 25 mμ dydžio. Iš didesni gi suodži daleli benzpyren galima daugiau ar mažiau gerai eluuoti. Tod l buvo prieita išvados, kad benzpyrenas, kuris yra ant visai maž suodži daleli adsorbuotas, yra biologiniai neaktyvus ir tod l nustoja karcinogeninio veikimo.

Atsižvelgiant šito tvirtinimo reikšm ir svarbum kas lie ia kv - puojamo oro higien , mes nusprend me anks iau min tus tyrin jimus, ypatingai Falk ir Steiner darbus, patikrinti. Mes dirbome su dvejomis suodži r šimis, skirtingomis savo daleli vidutinišku dydžiu, 27,7 ir 11,8 mμ. Abidvi suodži r šys atitinka savo dydžiu suodžiams, kuriuos naudojo min ti amerikie iai mokslininkai.

Kvantitatyviniai benzpyreno apskai iavimai buvo atlikti fluorescencin s spektroskopijos b du. Šitas metodas yra žymiai jautresnis už Falk ir Steiner matavimus, atliktus UV-adsorpcijos-spektrais. M s darbai parod , kad kvantitatyviniam apskai iavimui ypatingai tiko bang mak-simumai prie 407 ir 430 mμ. Toliau pagaminom grynus suodžius (t. y. be benzpyreno) iš anks iau min t suodži r ši , kurie buvo labai ilg laik (200 valand ir ilgiau) nuolatin s benzolio ekstrakcijos veikiami. Suodžiuose benzpyreno nebuvimas buvo tada laikomas rodytu, kada ekstrakcijos skystis fluorescencijoje nieko nerod . Šitokie suodžiai buvo skirtingais benzpyreno kiekiais apkrauti, maišant šiuos suodžius vairiose benzpyreno koncentracijose benzoliuje. Nors benzpyreno adsorp-cija vyksta labai greitai, ji ir prie labai maž benzpyreno koncentracij yra nepilna. Tuoj pat atsiranda lygsvara, kuri priklauso nuo panaudot medžiag santykio.

* BP = Benzpyrenas.

Ant suodži adsorbuotas benzpyrenas, pasirodo, yra tada tikrai stipriai laikomas, kada ekstrakcijos laikas yra trumpas arba kada yra pavieni ekstrakcij skai ius nepakankamas (nenaudojama nuolatin ekstrakcija). Tokiu b du Talk ir Steiner prieina išvados, kad iš suodži , 10 m μ vidutiniško daleli dydžio, ir prie geriausi s lyg negalima ekstrauti benzpyreno, net ir tada, kai palyginus didelis kiekis benzpyreno (0,5 mg BP* 100 mg suodži) buvo adsorbuotas. Prie šitos išvados buvo prieita po 10 iki 16 pavieni ekstrakcij arba po vienos nuolatin s ekstrakcijos, kuri t s si apie 24 valandas.

Jeigu ekstrahuojama 70 valand ir ilgiau, tada benzpyrenas bus kvantitatyviniai visiškai ištrauktas.

Mes gal jome rodyti, kad prie pakankamai ilgos ir intensyvios ekstrakcijos iš tikr j visiškai benzpyreno ištraukimas yra galimas, neži rint ar suodži dalel s b t labai mažo skersmens arba b t adsorbuotas labai mažas kiekis benzpyreno. Viskas, kas pasakyta apie 3,4-benzpyren , tinka ir 1,2-benzpyrenui. Turint omenyje, kad plau i v žio išsvystimas užsit sia 25 metus ir ilgiau, mes prieiname išvados, kad biologiniai neaktyvaus ant suodži adsorbuoto 3,4-benzpyreno n ra.

B. Petkauskas

Chicago,

* BP = Benzpyrenas.