

ROCZNIKI PAŃSTWOWEGO ZAKŁADU HIGIENY

POŚWIĘCONE WSZYSTKIM DZIAŁOM HIGIENY, ZAGADNIENIOM BADANIA ARTYKUŁÓW ŻYWNOSCI
I PRZEDMIOTÓW UŻYTKU, INŻYNIERII SANITARNEJ I INNYM DZIEDZINOM POKREWNYM

HALINA WYSZYŃSKA, KONRAD KOSIŃSKI

OZNACZENIE METODĄ CHROMATOGRAFICZNĄ SKŁADNIKÓW
SUBSTANCJI SMOLISTYCH ZAWARTYCH W ZANIECZYSZCZENIU
PYŁOWYM POWIETRZA ATMOSFERYCZNEGO M. ST. WARSZAWY

OZNACZENIE JAKOŚCIOWE 3,4 BENZOPIRENU W PYLE ŁATWOOPADAJĄCYM

*Podano metodę jakościowego oznaczania 3,4 benzopirenu
znajdującego się w pyłe powietrza atmosferycznego, jednego
z głównych czynników wywołujących raka.*

I. WSTĘP

Powszechnie stosowanymi wskaźnikami zanieczyszczeń powietrza atmosferycznego są: zapylenie i dwutlenek siarki — w wielu wypadkach wskaźniki te są niewystarczające. Pomijając specyficzne warunki atmosferyczne różnych terenów, wynikające z usytuowania w nich specjalnych obiektów przemysłowych, wyrzucających określone składniki do atmosfery, należy między innymi zwrócić uwagę na istniejące i zwiększające się coraz bardziej niebezpieczeństwo występowania substancji rakotwórczych.

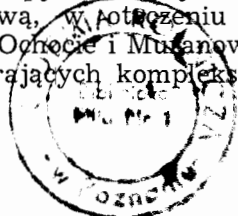
Podjęte w obecnym stuleciu w wielu krajach badania nad określeniem przyczyn tego niebezpieczeństwa doprowadziły do stwierdzenia, że najbardziej powszechnym i potencjalnie groźnym jest węglowodór policykliczny, 3,4-benzopiren. Źródłem jego są niekompletnie spalane paliwa płynne, stałe i gazowe oraz pył powstały ze ścierania opon gumowych (1).

Wychodząc z podanego wyżej założenia podjęto w niniejszej pracy badania nad stwierdzeniem obecności tego składnika w łatwoopadającym pyłe powietrza atmosferycznego m. st. Warszawy. Ze względów obiektywnych ograniczono się w tej pracy do stwierdzenia jakościowego obecności 3,4 benzopirenu w pyłe łatwoopadającym.

Biologiczne badania dadzą wyniki oddziaływania wszystkich substancji powodujących rakotwórczość, a znajdujących się w otrzymanym materiale.

II. MATERIAŁ DO BADAŃ

Materiałem do badań był pył zbierany w czasie trzyletnich badań (1956—1958) metodą osadową, w potroczniu elektrocieplowni na Powiślu oraz kotłowni c. o. na Ocońcu i Muszowie, a składający się z substancji smolistych zawierających kompleksową mieszaninę węglowodorów aromatycznych.



F10-2148



Substancje smoliste stanowiły frakcję substancji organicznych, rozpuszczalną w benzenie w temperaturze jego wrzenia.

Ekstrakcja prowadzona była w aparacie-mikrosoxlecie wg *W. Hermanowicza* i *J. Matejakowej*, z użyciem benzenu (2).

Substancje smoliste po odparowaniu benzenu na łaźni wodnej, rozpuszczane były w niewielkiej określonej ilości cykloheksanu i oczyszczane głównie od fenoli i związków azotowych przez kolejne wytrącanie z roztworami 2n KOH i 2n H₂SO₄ w rozdzielaczu i oddzielenie od warstwy wodnej.

Z podawanych przez wielu badaczy rozpuszczalników do ekstrakcji, wydaje się, że najodpowiedniejszym jest cykloheksan przy ekstrakcji prowadzonej w temperaturze pokojowej, z użyciem mieszadła magnetycznego oraz przy zagęszczeniu ekstraktu do małych objętości w atmosferze azotu (3).

III. ZASTOSOWANIE CHROMATOGRAFII BIBUŁOWEJ DO BADAŃ SKŁADNIKÓW SUBSTANCJI SMOLISTYCH

Węglowodory aromatyczne prócz cech wspólnych dla całej grupy wykazują pewne właściwości, zależne od rodzaju i liczby podstawników, podwójnych wiązań w pierścieniach oraz od konfiguracji przestrzennej cząsteczki. Właściwości te mogą być wykorzystane do przeprowadzenia badań chromatograficznych tych związków.

Chromatograficzny proces ich rozdzielenia na bibule opiera się zarówno na zjawisku adsorpcji, jak i podziału między dwie fazy ciekłe nie mieszające się ze sobą. W czasie procesu rozdzielania badanych substancji między dwie fazy ciekłe nie mieszające się ze sobą a stanowiące rozpuszczalnik, zachodzi zjawisko częściowej adsorpcji ciał badanych na bibule. Węglowodory aromatyczne są mało rozpuszczalne w wodzie i proces chromatograficzny rozdzielenia prowadzi się na bibule nasyczonej polarną substancją organiczną za pomocą niepolarnego rozpuszczalnika organicznego, nasyconego tą samą substancją polarną. O zdolności adsorbowania związków polarnych na niepolarnych decyduje głównie rodzaj, liczba i położenie grup polarnych występujących w cząsteczce danego związku oraz liczba podwójnych wiązań, w mniejszym stopniu wielkość i struktura cząsteczki. Im większa jest polarność substancji, tym silniejsza jest jej adsorpcja na polarnym adsorbencie z niepolarnego rozpuszczalnika i odwrotnie. Dobór więc odpowiednich rozpuszczalników i adsorbentów jest sprawą bardzo ważną. Rozdział węglowodorów aromatycznych utrudnia w znacznym stopniu ich na ogół niewielką ruchliwość w kapilarach bibuły (niskie wartości R_F).

Prowadzenie procesu systemem przepływowym i oznaczenie względnego współczynnika ruchliwości węglowodoru (R_B) w odniesieniu do substancji wzorcowej rozwiązuje w znacznym stopniu te trudności. Przeciuprąd uzyskuje się przez przesączenie roztworu fazy ruchomej przez porowatą fazę nieruchomą, względem której substancje rozpuszczane wykazują pewne powinowactwo. Podczas ruchu roztworu z niejednakową szybkością zachodzi podział substancji rozpuszczonych pomiędzy fazę ruchomą a nieruchomą, w zależności od stopnia ich powinowactwa do fazy nieruchomej (3, 4, 9, 10).

Bibuła chromatograficzna, układ rozpuszczalników

Do prac niniejszych zastosowano bibułę Whatman 4, charakteryzującą się szybkim przepływem rozpuszczalnika i nadającą się dobrze do celów orientacyjnych. Węglowodory aromatyczne wielopierścieniowe wchodzące w skład substancji smolistych są stosunkowo mało polarne i słabo lub zupełnie nierozpuszczalne w wodzie.

Dla oznaczenia ich stosuje się układy rozpuszczalników słabo mieszających się ze sobą, a do impregnacji składnik bardziej polarny. W oparciu o dane z piśmiennictwa przebadano różne układy rozpuszczalników i substancji impregnujących i wybrano do impregnacji (bibuły Whatman 4) 10⁰/o-owy roztwór oleju parafinowego w eterze naftowym, a jako układ rozpuszczalników zastosowano mieszaninę oleju parafinowego z alkoholem metylowym w stosunku 1 : 10. Dla osiągnięcia wartości stałej dyfuzji fazy ruchomej zastosowano kondycjonowanie impregnowanej bibuły, czyli nasycenie jej przed procesem chromatograficznym parami rozpuszczalników (3, 4, 9, 10).

Aparatura

Do badań stosowano technikę występującą, odznaczającą się mało skomplikowaną aparaturą i stosunkowo krótkim czasem rozwijania chromatogramu.

Jako komory użyto wysokie akwarium (50 cm) oraz cylinder szklany 1 l. (wys. 41 cm), których krawędzie dla uszczelnienia pokrywane były wazeliną przed przykryciem ich płytkami szklanymi.

Komory powyższe napełniane były na parę godzin przed doświadczeniem rozpuszczalnikami w celu nasycenia zawartości komory parami tych związków (3, 4, 10).

Technika chromatografii bibułowej wstępującej i opis procesu chromatograficznego

Paski bibuły odpowiedniej długości i szerokości 4 cm, z zaznaczoną ołówkiem zwykłym linią startową i nakraplane w odległości 6 cm od dolnego końca badanymi roztworami, zawieszane były na pręcie szklanym i zanurzone w roztworze rozpuszczalników (ryc. 1).

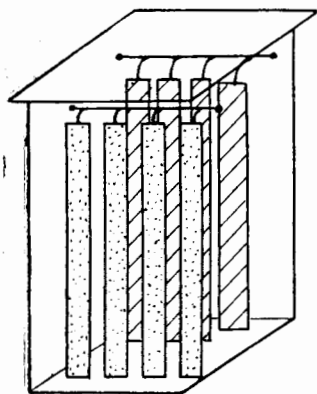
Na pasku bibuły przeznaczonej do rozwinięcia chromatogramu z zaznaczoną linią startową, oznaczano poszczególne punkty startowe w odległościach co 2,5 cm. Za pomocą odpowiednio kalibrowanej mikropipetki nakraplano, trzymając pipetkę prostopadle do bibuły, po 1 kropli i suszono wilgotną plamę ciepłym powietrzem przed wprowadzeniem następnego kropli.

Ilość wymaganego przy tej pracy materiału fluorescencyjnego, jaki przedstawiają węglowodory aromatyczne wielopierścieniowe dla plamy na chromatogramie, jest rzędu 1 μ g, zawartego w kółku o średnicy w przybliżeniu 2 cm. Ilość ta jest bardzo ważna ze względu na mogące występować zjawisko samotłumienia czy autoabsorpcji. Sama jednak technika chromatografii bibułowej powoduje konieczność pracy z ilościami, które są poniżej wartości krytycznych.

Zmiany temperaturowe w czasie trwania procesu chromatograficznego wpływają na zmianę składu faz. Pożądane jest zabezpieczenie stałości

temperatury podczas doświadczenia, przy czym wahania temp. nie powinny przekraczać 2—5°.

Zastosowany w niniejszych badaniach układ — olej parafinowy — alkohol metylowy — dał dość dobre wyniki. Rozpuszczalniki te winny posiadać wysoki stopień czystości i być sprawdzone na obecność substancji fluoryzujących przed użyciem ich do badań.



Ryc. 1.

Czas rozwijania chromatogramu wynosił 2 do 20 godz., w niniejszych próbach zastosowano głównie dla większości badań czas 4 godzin. Na wysokość wznoszenia rozpuszczalnika wpływają siły kapilarne działające w kierunku przeciwnym do siły ciężkości (przy zastosowaniu techniki wstępującej), co powoduje wzniesienie się czoła rozpuszczalnika na niewielką wysokość (20—25 cm) w czasie 4 godzin.

Po 4 godzinach chromatogramy wyjmowano i po zaznaczeniu na bibule czoła rozpuszczalnika suszono je ciepłym powietrzem w ciągu 15 min. Ponieważ proces chromatograficzny substancji smolistych powinien być prowadzony w pomieszczeniu chronionym od dopływu światła (3, 4, 5, 6), komory chromatograficzne oklejane były ciemnym papierem i część pomieszczenia laboratoryjnego zaciemniana.

Wywoływanie chromatogramów i elucja plam do ponownego chromatografowania

Z braku odpowiednich odczynników do wywoływania sposobem chemicznym barwnych plam bezbarwnego materiału rozdzielonego na chromatogramie, początkowo zastosowano w większości prób do wywoływania plam sposób fizyczny, czyli absorpcję w ultrafiolecie ze względu na właściwości fluoryzujące węglowodorów. Do badań w świetle ultrafioletowym zastosowano lampę rtęciową dającą linie widmowe o długości fali 2600—3650 Å (bliski nadfiolet).

Lampa posiadała przystosowany do niej filtr Wooda (zawierający tlenek niklu) przepuszczający część widma koniecznego do wzbudzenia fluorescencji (między 3200 Å a 4000 Å). Maksimum transmisji odpowiada długości fali 3600 Å. Zaobserwowana barwa poszczególnych węglowodorów aromatycznych zależy od długości fali oświetlającego światła. Pomijając sam charakter oświetlenia, różnice w barwie, widziane przez różne osoby mogą być subiektywnie oceniane. Wydaje się, że aktualna barwa plamy fluorescencyjnej powiązana jest też i z ilością materiału i zależna od jego czystości. Odczyt na chromatogramie w świetle ultrafioletowym należy przeprowadzać bezpośrednio po wyjęciu i wysuszeniu chromatogramów z zachowaniem wszelkich ostrożności, ogromnej czystości operowania i unikając wystawiania preparatów na działanie tlenu, który powoduje zniszczenie układu rezonansowego węglowodorów wielopierścieniowych aromatycznych i tym samym wygaszanie fluorescencji. Występujące mikrogramowe ilości związków węglowodorów aromatycznych na bibule są niestałe.

Istnieje tendencja do zanikania plam i przechodzenia ich przy kontakcie na inne arkusze bibuły. Plamy na bibule widoczne przy oświetleniu lampą kwarcową obrysowywano zwykłym ołówkiem.

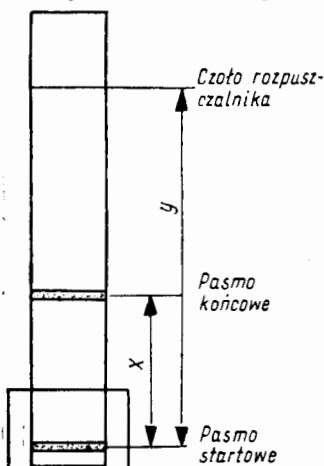
Ze względu na słaby rozdział badanego materiału (zachodzenie plam na siebie, tworzenie smug i ogonów oraz postacię ciągłych pasm) obrysowywane plamy lub pasma wycinano i rozpuszczano w stosowanym uprzednio rozpuszczalniku, cykloheksanie; otrzymane eluaty chromatografowano powtórnie. Eluowanie wyciętych pasm i plam prowadzono w małych naczynkach wagowych z małą określoną ilością rozpuszczalnika w ciągu 1 godz., przyspieszając dyfuzję i desorpcję substancji przez wstrząsanie i chroniąc naczynka od światła. Oznaczenia w eluatach dokonano przez ponowne nakrapianie eluatów na bibułę chromatograficzną, chromatografowanie w takich samych warunkach, jak uprzednio i ponowne wywoływanie chromatogramu.

Ponowny rozdział badanego materiału dał wyniki znacznie korzystniejsze i dokładniejsze, pomimo bezwzględnych strat, trudnych do uniknięcia w czasie eluowania (3, 4, 5).

Wzorce węglowodorów policyklicznych aromatycznych

Równoległe z prowadzonym procesem chromatograficznym substancji smolistych wykonywano chromatografię substancji wzorcowej 3,4 benzopirenu (ryc. 2).

Dokładność i identyfikacja związków węglowodorów wielopierścieniowych związana jest również z oceną ilościową wzorców, które jednak są zazwyczaj mało czyste. Wzorce te *in substantia*, jak i w roztworze (cykloheksanu) przechowywano w ciemnych flaszkach i słoikach w chłodni. Stosowano roztwory wzorcowe 0,1 i 0,01% (w 1 ml — 1 i 0,1 mg substancji) w cykloheksanie, a wprowadzano na papier chromatograficzny 1—10 μg substancji (3, 4, 9, 10, 11, 12).



Ryc. 2.

Obliczanie współczynników R_F i R_B

Z wywołanych chromatogramów obliczono odległość od linii startu do czoła rozpuszczalnika i od linii startu do plamy (ryc. 3) i określano współczynnik R_F . Charakteryzuje on prędkość przesuwania się maksimum stężenia pasma danego składnika (x) w stosunku do prędkości przepływu rozpuszczalnika (y) podczas procesu rozwijania chromatogramu:

$$R_F = \frac{x}{y} \cdot \cdot \cdot \cdot (1)$$

Wartości R_F dla poszczególnych węglowodorów są zmienne i różnice w wartościach zależne od wielu parametrów, głównie od czystości

wzorców, od różnic w zachowaniu się różnych arkuszy bibuły, od zmian temperaturowych.

Wartości R_F dla 3, 4 benzopirenu są jedne z mniejszych wśród spotykanych dla węglowodorów aromatycznych. Mniej uzależnionymi od różnych wpływów i bardziej odtwarzalnymi wielkościami są wartości względnego współczynnika ruchliwości (R_B) *Wieland, Kracht*) w odniesieniu do 3,4 benzopirenu.

Wartość R_B wyliczano wg wzoru (2):

$$R_B = \frac{R_F(p)}{R_F(w)} \dots \dots \dots (2),$$

gdzie $R_F(p)$ jest współczynnikiem dla 3,4 benzopirenu w badanej próbie, a $R_F(w)$ — współczynnikiem dla wzorca 3,4 benzopirenu.

Podawane przez różnych badaczy wartości R_F dla 3,4 benzopirenu zestawione są w tabeli I (3, 4, 6, 8, 10, 13).

Tabela I

Nazwiska autorów	Piśmiennictwo	Papier chromatograficzny	Rozpuszczalnik dla 3,4 benzopirenu	Układ rozpuszczalników	Czas rozwijania chromatogramu	R_F
A. Pietsch Dresden	Pharmazie, 12,24/1957/	Bibuła acetylowana <i>Schleicher i Schüll</i> 2040 a, 2043 a i b	Dioksan	Matanol-woda 9:1	17 godz.	0,47-0,54
E. Maly	Nature, 181,688 /1958/	Bibuła Whatman 4 impregnowana olejem parafinowym + eter naftowy	Benzen lub cykloheksan	Olej parafinowy-alkohol metylowy 1:10	4 „	0,28
L. Dubois, A. Corkery, I.L. Monkman	Int. J. Air Pollut., 2,236/1960/	Papier acetylowany 2043	Cykloheksan	Toluen-metanol-woda 1:10:1	—	0,10
T.M. Spotswood	J. Chromatographie 2,90 /1959/	Bibuła Whatman 1 a/wysoko acetylowana b/ częściowo acetylowana	Benzen	Etanol-toluen woda 17:4:1	8—16 godz.	a/0,093 b/0,310
D.S. Tarbell, E.C. Brookes, A. Vanterpool, W. Conway, C.L. Claus, T.J. Hall	J. Amer. Chem. Soc. 77,767 /1955/	Bibuła Whatman 1 impregnowana dwumetyloformamidem	Heksan	Heksan nasycony dwumetyloformamidem	8—10 godz.	0,54

Tabela II

Data badania	Pochodzenie substancji smolistych	Cas rozwijania chromatogramu w godzinach	R _F dla 3,4-benzopirenu z substancji smolistych	R _F wzorcowego 3,4-benzopirenu	R _B	Barwa fluorescencji przy naswietleniu ultrafioletowym z filtrem Wooda	Barwa plamy po spryskaniu reagentem rozwijającym
7.V.60	Materiał z badań trzy-letnich 1956—58	4	0,38	0,37	1,03	niebiesko-fioletowa	—
11.V.60	„	4	0,39	0,38	1,02	„	—
13.V.60	„	4	0,39	0,41	0,95	„	—
14.V.60	„	4	0,35	0,37	0,94	„	—
14.V.60	„	4	0,40	0,37	1,09	„	—
16.V.60	„	4	0,32	0,39	0,83	„	—
17.V.60	„	4	0,45	0,35	1,28	„	—
18.V.60	„	4	0,26	0,32	0,81	„	—
20.V.60	„	4	0,43	0,39	1,1	„	—
20.V.60	„	2	0,23	0,24	1,0	„	—
28.V.60.	Materiał z ul. Żelazna, Świerczewskiego	4	0,27	0,31	0,9	„	—
21.VI.60	ul. Filtrowa	18	0,42	0,40	1,05	„	—
21.VI.60.	Materiał z badań trzy-letnich	4	0,39	0,39	1,0	„	—
13.X.60.	ul. Świętokrzyska	16	0,37	0,35	1,05	„	—
14.X.60	ul. Dobra	4	0,39	0,41	0,95	„	—
18.X.60	ul. Madalińskiego, Kwiatowa	18	0,32	0,35	0,91	„	—
19.X.60	Materiał z badań trzy-letnich	4	0,35	0,35	1,0	„	—
20.X.60	ul. Wiatraczna	4	0,32	0,30	1,06	„	—
21.X.60	Materiał z badań trzy-letnich	4	0,35	0,36	0,96	„	—
24.X.60	ul. Mokotowska, Koszykowa	4	0,37	0,33	1,1	„	—
24.X.60	Materiał z badań trzy-letnich	4	0,31	0,30	1,03	„	—
3.XI.60	ul. Żelazna, Świerczewskiego	4	0,38	0,37	1,02	„	ceglasta
4.XI.60	ul. Puławska, Ksawerów	4	0,41	0,36	1,1	„	„
5.XI.60	ul. Radzywińska	4	0,38	0,37	1,02	„	„
14.XI.60	ul. Twarda, Marchlewskiego	2	0,24	0,26	0,93	„	„
16.XI.60	ul. Żółkiewskiego, Ossowska	2	0,26	0,24	1,07	„	„
24.XI.60	ul. Grzybowska, Wronia	2	0,23	0,22	1,04	„	„
8.XII.60	Materiał z badań trzy-letnich	2	0,21	0,21	1,0	„	„

IV. OTRZYMANE WYNIKI I ICH OCENA

Uzyskane wyniki przedstawiono w tabeli II. Wyniki te otrzymano w oparciu o następujące kryteria:

1. Obserwacje barwy plamy przy naświetlaniu światłem ultrafioletowym.

2. Obserwacje zmiany barwy plamy pod natryskiem reagenta wywołującego (w miesiącu listopadzie 1960 r. otrzymano ten odczynnik i ostatnie badania można było oprzeć o to kryterium). Jako odczynnik wywołujący barwną reakcję zastosowano bezwodnik czterochloroftalowy, rozpuszczony w mieszaninie acetonu i jednoclorobenzenu (10 : 1) w proporcji — 4 g w 200 ml (*Spotswood 1959*) (3). Reagent ten daje z 3,4 benzopirenem zabarwienie ceglaste przy świetle dziennym. Bezwodnik czterochloroftalowy jest szkodliwy dla zdrowia i należy spryskiwać nim bibułę pod dobrze działającym wyciągiem.

3. Określenie wartości R_F i R_B , które ze względu na niemożliwość utrzymania stałych warunków doświadczenia i wyeliminowania wpływu różnych parametrów nie zawsze były całkowicie powtarzalne.

Tabela III

	R_F dla wzorca R_F (w)	R_F dla próby badanej R_F (p)	R_F
Wartość maksymalna (aM)	0,41	0,45	1,28
Wartość minimalna (am)	0,30	0,26	0,81
Wartość średnia (\bar{a})	0,360	0,365	1,01
Odchylenie standartowe (s)	$\pm 0,03$	$\pm 0,05$	$\pm 0,10$
Wskaźnik zmienności (w %)	8,3	13,7	9,9

W tabeli III zestawiono ocenę statystyczną wartości R_F i R_B uzyskanych dla 4-godzinnego czasu rozwijania.

Dla wyliczenia niektórych wartości podanych w tabeli III stosowano następujące wzory:

$$\bar{a} = \frac{\sum_{i=1}^n a_i}{n} \dots \dots \dots (3)$$

gdzie:

a — jest średnią arytmetyczną danej grupy wielkości;

a_i — jest poszczególnym pomiarem;

n — ilością pomiarów.

Odchylenie standartowe (S) obliczano wg wzoru (4):

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (a_i - \bar{a})^2}{n - 1}} \dots \dots \dots (4)$$

a procentowy wskaźnik zmienności (w) wg wzoru (5)

$$W = \frac{100 S}{\bar{a}} \dots \dots \dots (5)$$

Na podstawie tabeli III można stwierdzić, że wartości współczynnika ruchliwości (R_F) otrzymane w danej metodzie są na ogół stałe. Dla wzorca 3,4-benzopirenu otrzymano średnią wartość 0,36, a odchylenie standardowe $\pm 0,03$, tzn., że większość wyników zawiera się w granicach od 0,33 do 0,39. Dla próbek pyłowych otrzymano nieco większy rozrzut wyników R_F dla 3,4-benzopirenu ($S = \pm 0,05$). Większość wyników zawiera się więc w granicach od 0,315 do 0,415. Procentowy wskaźnik zmienności dla wzorca wynosił 8,3%, a dla próbek badanych — 13,7%. Świadczy to również o większym względnym rozrzucie wyników uzyskanych dla próbek pyłu.

Wskaźnik zmienności dla względnego współczynnika ruchliwości (R_B) wynosił 9,9%, co oznacza większy rozrzut jego niż R_F (w), a mniejszy niż R_F (p). Wartości uzyskane dla próbek i dla wzorca są bardzo zbliżone, a średnie różnią się bardzo nieznacznie.

Ocena statystyczna tych dwóch szeregów wartości wykazała, że nie ma istotnej różnicy między nimi i że wyniki obydwu można przyjąć jako należące do jednej populacji. (Posługiwano się testem t studenta dla prawdopodobieństwa 95%). To samo potwierdza średnia wartość R_B , która jest bardzo bliska jedności (1,01).

V. WNIOSKI

Metoda chromatografii bibułowej nadaje się do badań jakościowych składników substancji smolistych zawartych w pyłe powietrza atmosferycznego, które mogą mieć własności rakotwórcze.

Dla zidentyfikowania substancji stosowane są następujące kryteria: a) określenie wartości R_F i R_B ; b) obserwacje barwy plam w świetle ultrafioletowym ($\lambda = 2600\text{—}3650 \text{ \AA}$), c) obserwacje zmian barwy plam pod natryskiem z użyciem roztworu bezwodnika czterochloroftalowego w acetonie i chlorobenzenie; d) określanie absorpcji widma ultrafioletowego plam w porównaniu z adsorpcją miejsca bibuły bez plam, e) określenie widma fluorescencyjnego plam, f) określenie widma absorpcyjnego ultrafioletu eluatów plam wyciętych z chromatogramów, g) obserwacje różnic w lotności plam i intensywności barw.

Stosując a), b) i c) stwierdzono obecność 3,4-benzopirenu w pyłe powietrza atmosferycznego Warszawy na wszystkich stanowiskach badanych.

Wartości R_F dla 3,4-benzopirenu były na ogół dość stałe ($0,365 \pm 0,05$) dla wszystkich próbek i nie różniły się istotnie od wartości uzyskanych dla wzorców ($0,360 \pm 0,03$). W następnych pracach będą podjęte próby oznaczenia jakościowego substancji rakotwórczych w drobniejszych frakcjach pyłu powietrza atmosferycznego (tzw. pyłe zawieszonym) oraz oznaczenia ilościowe, (metodą chromatografii oraz spektrometrii).

W badaniach nad identyfikacją substancji o właściwościach rakotwórczych szczególnie ważna jest odpowiednia czystość wzorców.

Х. Вышиньска, К. Косиньски

ОБОЗНАЧЕНИЕ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИМ МЕТОДОМ СМОЛИСТЫХ ЭЛЕМЕНТОВ НАХОДЯЩИХСЯ В ЗАПЫЛЕННОМ АТМОСФЕРНОМ ВОЗДУХЕ ГОРОДА ВАРШАВЫ. КАЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ 3,4-БЕНЗОПИРЕНА В ПЫЛИ АТМОСФЕРНОГО ВОЗДУХА

Представлен метод бумажной хроматографии в применении к 3,4-бензопирена, находящегося в легко опадающей пыли атмосферного воздуха города Варшавы. Из проб пыли собранной в разных частях города извлекали при помощи бензола смолистые элементы вмещающие комплексную смесь ароматических углеводородов. Бензол выпаривают, остаток растворяют в небольшом количестве циклогексана и подвергают бумажной хроматографии на фильтрационной бумаге Whatmann 4, насыщенной 10%-ым раствором парафина в петролейном эфире. Восходящей фазой была смесь парафина и метилового спирта в отношении 1:10. Время развития хроматограмма колебалось от 2 до 18 часов (чаще всего 4 часа). Отождествление полученных пятен вели в ультрафиолетовом освещении, используя цветную реакцию ароматических канцерогенных углеводородов с четыреххлористых фталевым ангидридом, растворенным в смеси ацетона и хлорбензола. Во всех пробах пыли находящейся в атмосферном воздухе взятых в 1956 — 60 годах констатировано 3,4-бензопирен, для которого коэффициент подвижности ((RF) вообще был постоянным ($0,360 \pm 0,05$) и не отличался от стоимости полученных для образцов ($0,360 \pm 0,03$).

H. Wyszynska, K. Kosiński

CHROMATOGRAPHIC SEPARATION OF TAR SUBSTANCES CONTAINED IN THE AIR POLLUTIONS FROM WARSAW. QUALITATIVE ESTIMATION OF 3,4-BENZPIRENE IN THE DUST

A paper chromatography method for 3, 4-benzpirene in the air pollution is presented. A mixture of polycyclic tar substances is extracted from the dust by means of benzene. After evaporation of the benzene the residue is dissolved in small amount of cyclohexane and run on the Whatman paper No 4, which has been prepared by impregnation with 10% paraffin oil in naphta ether. The 1:10 mixture of paraffin oil and methyl alcohol is an ascending solvent. 4 hours (2 to 18) is the average time of development. For identification the ultraviolet or the colour reaction with tetrachlorophthalic anhydride (dissolved in the mixture of acetone and monochlorobenzene) is applied. The 3, 4-benzpirene has been found in each sample of the air pollution collected over the period from 1956 up to 1960. The Rf ratio for the compound was $0,37 \pm 0,05$ in the samples, as compared with $0,36 \pm 0,03$ for standard.

PISMIENICTWO

1. Falk H. L., Kotin P., Miller A.: Int. J. Air Pollut, 2, 201, 1960. — 2. Zwoliński J., Wyszynska H., Misiakiewicz Z.: Metodyka badania powietrza atmosferycznego, nr 1, 1957. — 3. Dubois L., Corkery A., Monkman I. L.: Int. J. Air Pollut, 2, 236, 1960. — 4. Blauth-Opieńska J.: Chromatografia, Warszawa 1957. — 5. Walter R. E.: Brit. J. Canc., 6, 8, 1952. — 6. Maly E.: Nature, 181, 688, 1958. — 7. Thomas J. F., Tebbens B. D., Sanborn E. N. Cripps: Int. J. Air Pollut, 2, 210, 1960. — 8. Wieland Th, Kracht W.: Angew. Chemie, 69, 172, 1957. — 9. Pietsch A.: Pharmazie, 12, 24, 1957. — 10. Commis B. T.: Analyst, 83, 386, 1958.
11. Fieser L. F., Fieser M.: Chemia organiczna, Warszawa 1958. — 12. Tarbell D. S., Brookes E. C., Vanterpool A., Conway W., Claus C. J., Hall T. J.: J. Amer. Chem. Soc., 77, 767, 1955. — 13. Spotswood T. M.: J. Chromatographie, 2, 90, 1959.

Wpłynęło: 20.II.1961 r.