

Acetonitril als Biomarker zur Quantifizierung des Passivrauchens ¹⁾

von

Peter PRAZELLER, Thomas KARL, Alfons JORDAN, Armin HANSEL & Werner LINDINGER *)

Acetonitrile as a Biomarker for Quantification of Passive Smoking

Synopsis: Using acetonitrile as a biomarker, quantitative comparison between passive smoking and direct smoking was achieved by performing measurements using Proton-Transfer-Reaction Mass Spectrometry. Staying for a working day (8 hours) in a smoke laden environment, as is typical for pubs where guests are smoking heavily, is equivalent to smoking of one to four cigarettes.

1. Einleitung:

Die Gesundheitsgefährdung durch das Einatmen verrauchter Luft, das sog. Passivrauchen, wurde in den letzten Jahren zu einem viel beachteten und diskutierten Thema. Es gilt die Frage zu klären, in welchem Ausmaß Personen, die zwar selbst Nichtraucher sind, sich jedoch in mit Rauch belasteter Luft aufhalten, einem höheren Gesundheitsrisiko ausgesetzt sind als Nichtraucher ohne Rauchbelastung.

Rauchverbote in öffentlichen Gebäuden, in Restaurants und die Einführung von Nichtraucherflügen stellen die ersten Reaktionen auf diese Diskussion dar. Ebenso wird versucht, die Belastung, der ein Nichtraucher ausgesetzt ist, zu quantifizieren.

Eine Möglichkeit hierfür besteht darin, die Raumluftkonzentration ausgewählter Rauchbestandteile der Gasphase bzw. den lungengängigen Anteil ($< 2.5 \mu\text{m}$) der Partikelphase zu bestimmen und diese als Marker für die Gesamtbelastung zu verwenden (EPA Report 1992). Damit kann jedoch keine Aussage über die Dosis an Schadstoffen, die eine Person wirklich aufnimmt und die die Gesundheitsgefährdung bedingt, gemacht werden.

Eine bessere Möglichkeit der Erfassung der Belastung stellen Biomarker dar. Das sind Indikatoren für Belastung mit Schadstoffen in biologischen Medien wie menschlichem Gewebe, Blut, Speichel, Urin oder im Atem. Sie bieten den Vorteil, ein wirkliches Maß der aufgenommen Dosis widerzuspiegeln (EPA Report 1997).

Wie im Folgenden gezeigt wird, ist Acetonitril ein idealer Biomarker für Belastung mit verrauchter Luft, der sich zur Quantifizierung des Passivrauchens eignet.

2. Acetonitril als Biomarker:

Zusammen mit anderen volatilen organischen Komponenten (VOCs), die im Zigarettenrauch vorkommen, wird Acetonitril über die Lungen resorbiert und gleichmäßig in den Körperflüssigkeiten, die in etwa 70% des

1) Diese Arbeit wurde vom Fonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung, Projekt I2022, unterstützt.

*) Anschrift der Verfasser: Mag. P. Prazeller, Dipl.-Ing. T. Karl, Dr. A. Jordan, Dr. A. Hansel und Univ.-Prof. Dr. W. Lindinger, Institut für Ionenphysik der Universität Innsbruck, Technikerstraße 25, A-6020 Innsbruck, Österreich.

Körpergewichts ausmachen, verteilt. Das Verhältnis der Konzentration im Blut zur Konzentration in der Luft der Lunge wird durch das Henrysche Gesetz angegeben.

$$H_c = c_w [\text{mol/l}] / c_a [\text{atm}]$$

(c_w : molare Konzentration der gelösten Komponente im Lösungsmittel c_a : Partialdruck über dem Lösungsmittel, H_c : Henrykonstante in Einheiten von $\text{mol}(\text{l}\cdot\text{atm})^{-1}$).

Das bedeutet, dass die Konzentration, die in der ausgeatmeten Luft gemessen wird, ein direktes Maß für die Konzentration im Blut und damit im gesamten Körper darstellt. Da Acetonitril hauptsächlich über die Atmung ausgeschieden wird (KARL et al. 1998), mit einer Halbwertszeit von in etwa 2 Tagen, reichert es sich im Körper eines Rauchers bis zu einem Niveau an, an dem ein Gleichgewicht zwischen Abatmung und Einnahme erreicht ist.

Dies führt zu einer annähernd konstanten Atemacetonitrilkonzentration (AAK) eines Rauchers, die in erster Näherung nur von der Anzahl der gerauchten Zigaretten pro Tag abhängig ist. Inwiefern die bevorzugt gerauchte Zigarettenmarke ebenso einen Einfluß auf die Höhe der Acetonitrilkonzentration im Atem bewirkt, gilt es noch festzustellen.

Wenn ein Raucher das Rauchen aufgibt, dauert es laut Berechnungen und Messungen mindestens eine Woche bis die Acetonitrilkonzentration im Atem die Werte eines Nichtrauchers von weniger als 5 ppb erreicht (JORDAN et al. 1995).

Dieser lang andauernde Abfall von Acetonitril steht in starkem Kontrast zur schnellen Abbaurate aller anderen Komponenten des Tabakrauchs, die nach dem Rauchen einer Zigarette nur eine kurzfristige Änderung der Konzentration im Atem bewirken. Alle diese anderen Komponenten werden im Körper rasch metabolisiert und können daher nicht als Biomarker herangezogen werden. Nur Benzol wird ebenso wie Acetonitril hauptsächlich über Abatmung abgebaut. Die Konzentration im Atem steigt nach einer Zigarette bis auf 20 - 30 ppb an, sinkt jedoch in weniger als einer Stunde auf vernachlässigbare Werte ab (JORDAN et al. 1995). Die Henrykonstante von Benzol ist mit 0.08 M/atm (KARL p.c.) im Gegensatz zu der von Acetonitril (Henrykonstante = 19 M/atm) sehr gering, was bedeutet, dass der menschliche Körper einen sehr ineffizienten Puffer für Benzol darstellt und die Abatmung sehr rasch erfolgt.

Diese außergewöhnliche Stellung von Acetonitril als Komponente mit einer langen Aufenthaltsdauer im Körper, macht es zur interessantesten Komponente zur Quantifizierung des Passivrauchens.

3. Experimentelles:

Die Messungen wurden mittels Proton Transfer Reaktions Massen Spektrometrie (PTR-MS) durchgeführt. Diese am Institut für Ionenphysik Innsbruck entwickelte Methode erlaubt online Konzentrationsbestimmungen einer Vielzahl von VOCs bis zu einer Nachweisgrenze von 10 ppt. Genauere Beschreibungen finden sich in der Literatur (LINDINGER et al. 1998, HANSEL et al. 1995).

4. Passives Rauchen:

Zwei Testpersonen (29 Jahre, 177 cm, 79 kg bzw. 27Jahre, 189 cm, 67 kg) verbrachten 2 Stunden in einem Testraum (60 m^3), dessen Raumluft mit Rauch von 30 während der Testperiode gerauchten Zigaretten belastet war. Die Raumluftkonzentrationen von Acetonitril und anderen VOC wurden online gemessen und lagen im typischen Konzentrationsbereich von Vergleichsmessungen, die in Raucherzimmern und Gaststätten gemessen worden waren. Die AAK der Testpersonen wurden vor Betreten des Testraums und nach Ende der Belastung mit verrauchter Luft mehrfach bestimmt. Abb. 1 zeigt den Verlauf der Raumluftkonzentration und den Anstieg der AAK der Testpersonen.

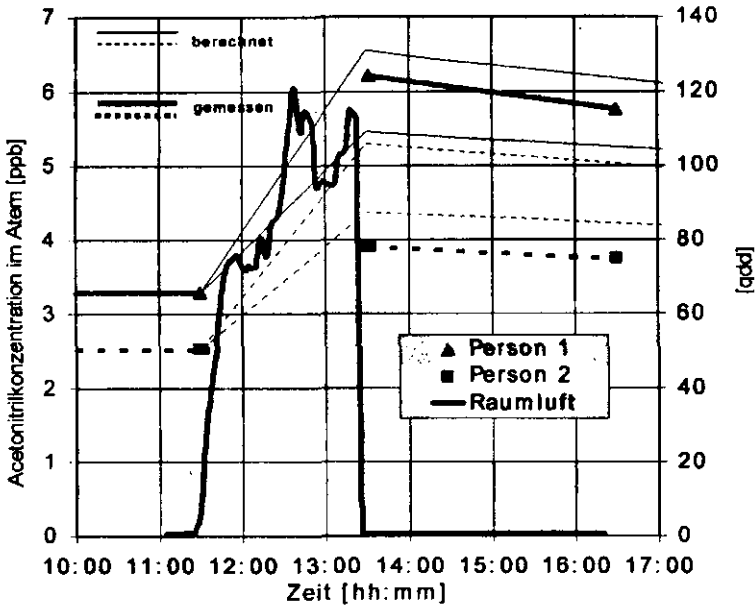


Abb. 1: Konzentration von Acetonitril im Atem zweier Testpersonen vor und nachdem sie 2 Stunden in einem verräucherten Raum verbracht. berechnete Konzentrationen und Raumlufkonzentration von Acetonitril.

Die Zunahme der AAK betrug 2.9 bzw. 1.4 ppb, was einer berechneten Einnahme von 106 bzw. 57 μg Acetonitril entspricht. Ebenso ersichtlich sind die auf Raumlufkonzentration, Körperflüssigkeit und Atemminutenvolumen basierend berechneten Konzentrationen im Atem, wobei für das Atemminutenvolumen eine Unterschranke von 5 und eine Oberschranke von 7.5 l/min angenommen wurde (HICK et al. 1997). Die erzielten Ergebnisse zeigen, dass die AAK von Person 1 gut in den Bereich der berechneten Werte, während sie bei Person 2 leicht unterhalb zu liegen kommen. Die Übereinstimmung zwischen berechneten und gemessenen Werten kann aber als gut bezeichnet werden.

Dieser Versuch wurde mehrfach mit verschiedenen Personen wiederholt und zeigte gute Reproduzierbarkeit. Die Daten sind in Tab. 1 zusammengefasst.

Tab. 1: Zunahme der Acetonitrilkonzentration im Atem während Belastung mit verräuchter Luft bei verschiedenen Experimenten, Konzentrationsangaben in ppb.

Messung	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Anfangs AAK	2.53	3.18	3.28	1.55	2.24	1.87	2.22	3.34	3.81
Ende AAK	3.91	4.85	6.20	2.53	3.01	2.86	2.62	7.38	7.46
Zunahme AAK	1.38	1.67	2.92	0.98	0.76	0.99	0.40	4.04	3.65
Berechnete Zunahme 5 L/min	2.01	1.93	2.25	1.13	1.26	-	-	-	-
Berechnete Zunahme 7.5 L/min	3.01	2.89	3.37	1.69	1.89	-	-	-	-
Zigarettenäquivalent	0.87	1.05	1.84	0.62	0.53	0.63	0.25	2.54	2.29
Dauer der Belastung [hh:mm]	2:00	2:00	2:00	2:00	2:00	2:15	2:15	2:30	6:30

Die Messungen 1 bis 7 wurden in einem Testraum durchgeführt, Messungen 8 und 9 in einem verräucherten Lokal.

5. Aktives Rauchen:

Um die gemessene Zunahme der AAK in ein Verhältnis zu wirklich gerauchten Zigaretten setzen zu können, also um Zigarettenäquivalente zu bestimmen, wurde in weiteren Versuchen ermittelt, welche Zunahme der AAK ergibt, wenn Zigaretten aktiv geraucht werden. Ein typisches Ergebnis solcher Messungen ist in Abb. 2 dargestellt.

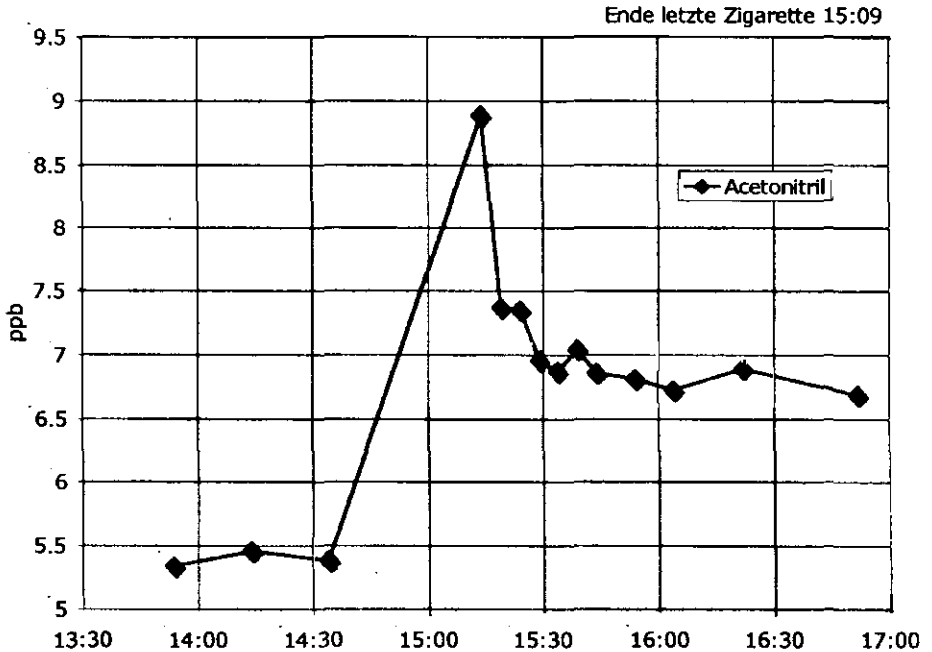


Abb. 2: Verlauf der Acetonitrilkonzentration im Atem nach dem Rauchen von 3 Zigaretten.

Eine Testperson rauchte während 30 Minuten 3 Zigaretten (Philip Morris Super Lights). In 3 Messungen wurde die AAK davor bestimmt, danach wurde in 5 Minutenabständen die AAK gemessen. Es lässt sich deutlich erkennen, dass erst 20 Minuten nach der letzten Zigarette die Acetonitrilkonzentration einen konstanten Wert erreicht. Davor sind die Werte erhöht, da sich das aufgenommene Acetonitril bis zu diesem Zeitpunkt noch nicht gleichmäßig in den Körperflüssigkeiten verteilt hat. Die durchschnittliche AAK vor dem Rauchen von 5,39 ppb stieg nach dem Rauchen der 3 Zigaretten auf 6,88 ppb an, dies entspricht einer durchschnittlichen Zunahme von 0,49 ppb pro Zigarette. Messungen dieser Art wurden mit 6 Testpersonen durchgeführt und Tab. 2 gibt einen Überblick über die Ergebnisse.

Tab. 2: Zunahme der AAK während aktivem Rauchen, Konzentrationsangaben in ppb

Messung	1	2	3	4	5	6
Anfangs AAK	5,39	3,10	24,29	50,26	68,92	1,41
Ende AAK	6,87	7,38	27,32	61,59	72,94	2,89
Zunahme AAK	1,48	4,28	3,02	11,32	4,02	1,48
Anzahl Zigaretten	3	5	2	3	3	1
Konzentrationszunahme pro Zigarette	0,50	0,86	1,51	3,78	1,34	1,48

Diese unterliegen personenabhängigen Schwankungen, die Großteils von der Tiefe und der Dauer der Inhalation abhängen. Im Fall der Abb. 2 handelte es sich um einen Nichtraucher, bei dem sowohl die Tiefe als auch die Dauer der Inhalation sicher als eher gering zu erwarten sind. Somit stellt dieser Wert eher ein Minimum der Zunahme an Acetonitril im Atem pro gerauchte Zigarette dar, der Durchschnitt liegt bei $1,58 \pm 1,05$ ppb.

Wenn man diesen Wert heranzieht, um die Zunahme der AAK beim Passivrauchen in Zigarettenäquivalente umzurechnen, ergeben sich folgende Werte, die in Tab. 1 zusammengefasst sind.

Diese Zigarettenäquivalente geben an, wieviel Zigaretten eine Person rauchen müsste, um den gleichen Anstieg der Acetonitrilkonzentration im Atem zu beobachten, d.h. die gleiche Menge an Acetonitril aufzunehmen wie während des Passivrauchens. Überraschend sind die hohen Werte der Ergebnisse. Bis auf Messung 7 entsprachen die Belastungen in allen Versuchen während ca. 2 Stunden mindestens einem Äquivalent von einer halben Zigarette. Bei Messung 8, die in einem stark verrauchten Lokal durchgeführt wurde, erreicht die Belastung mit 2,57 Zigarettenäquivalenten in 2:30 Stunden einen erstaunlich hohen Wert von etwa 1 Zigarette/Stunde.

Acrylnitril: Wie bereits schon zuvor erwähnt ist Acetonitril die einzige Komponente, die im Tabakrauch vorkommt und nach dem Rauchen einer Zigarette längerfristig erhöht bleibt, da sie fast ausschließlich über die Ausatmung aus dem Körper entfernt wird. Die meisten anderen Komponenten werden rasch abgebaut, wie dies am Beispiel von Acrylnitril demonstriert wird. Wie Abb. 3 zeigt, steigt die Konzentration von Acrylnitril nach dem Rauchen von 3 Zigaretten von durchschnittlich 0,027 ppb auf über das 15fache an, fällt jedoch rasch wieder ab und erreicht nach 80 Minuten wieder Werte unterhalb von 0,05 ppb.

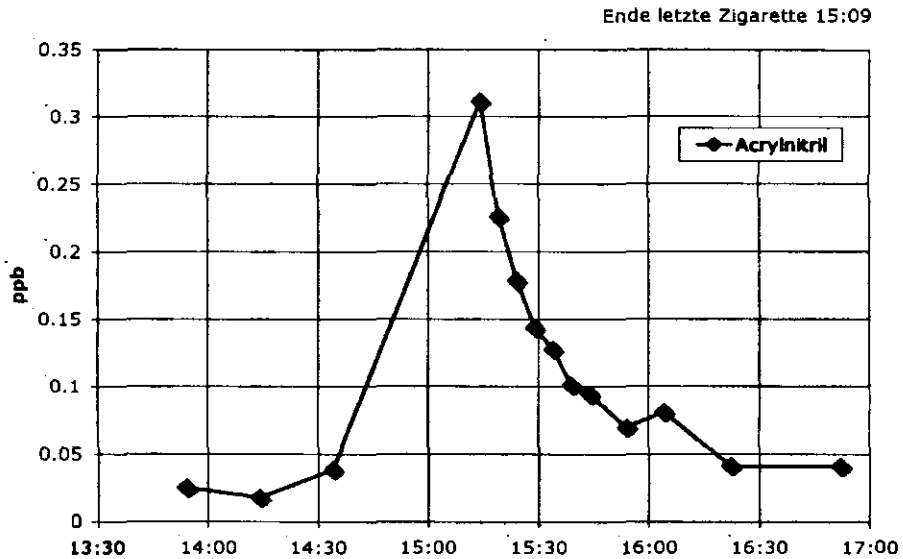


Abb. 3: Verlauf der Acrylnitrilkonzentration im Atem nach dem Rauchen von 3 Zigaretten.

Acrylnitril wurde im Atem mehrerer Testpersonen, die sich in verrauchter Umgebung befanden, gemessen. Die Ergebnisse von zwei Testpersonen sind in Abb. 4 dargestellt. In Übereinstimmung mit Abb. 3 sinkt die Konzentration rasch wieder auf den Wert vor der Rauchbelastung ab. Die mit der Henrykonstante von Acrylnitril

(11,36 M/atm) (EPA 1985) aus der Raumluftkonzentration berechneten Anstiege im Atem sind deutlich höher als die gemessenen Werte. Die Berechnung des Abfallens der Acrylnitrilkonzentration beinhaltet die Annahme, dass der Abbau nur über Abatmung vor sich geht. Im Gegensatz zu Acetonitril ist das für Acrylnitril offensichtlich nicht der Fall, was auch durch eine Studie des U.S. Department of Health and Human Services (ATSDR 1990) belegt wird. Dort wurde bei Versuchspersonen herausgefunden, dass die Hauptabbauwege über den Harn bzw. metabolisch erfolgen. Diese Umstände erklären den Unterschied zwischen Messung und Berechnung. Somit bieten diese Messungen auch die Möglichkeit durch einen Vergleich zwischen Rechnung und Messung über eine Substanz die Aussage zu treffen inwieweit sie primär durch Abatmung wieder aus dem menschlichen Körper entfernt wird (Bsp. Acetonitril) bzw. zu welchem Anteil sie Metabolisierungsprozessen unterliegt.

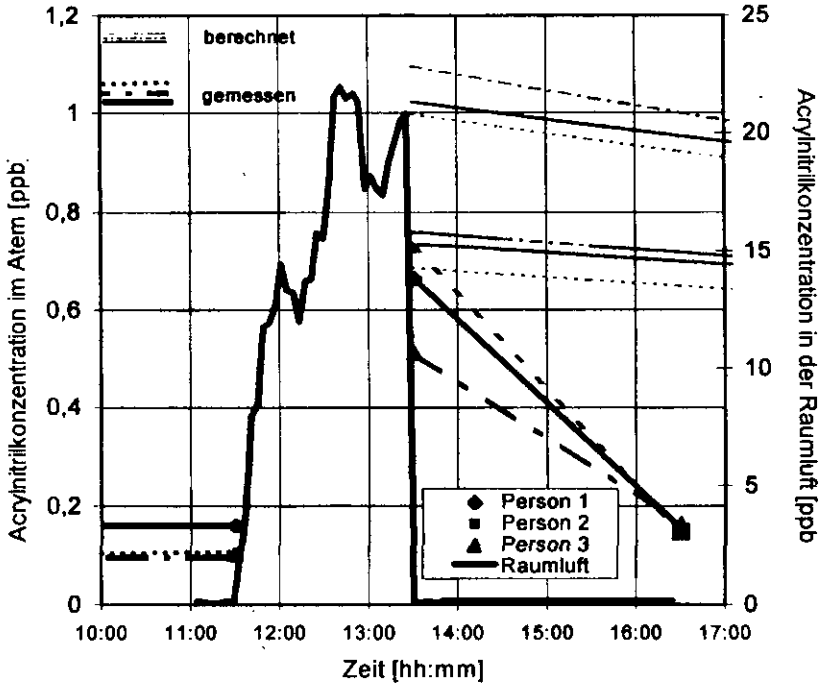


Abb. 4: Gemessene Konzentration von Acrylnitril im Atem von drei Testpersonen vor und nachdem sie 2 Stunden in einem verrauchten Raum verbrachten, berechnete Konzentrationsabnahme und Raumluftkonzentration von Acrylnitril.

6. Zusammenfassung:

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass Acetonitril gut als Biomarker für Passivrauchen verwendet werden kann. Basierend auf den ermittelten Daten ergibt sich für einen Nichtraucher, der einen ganzen Arbeitstag in einem ähnlich verrauchten Raum wie dem der Messungen verbringt, eine Belastung, die dem direkten Rauchen von 1 - 4 Zigaretten entspricht.

7. Literatur:

ATSDR. AGENCY FOR TOXIC Substances and DISEASE REGISTRY (1990): Toxicological Profile for Acrylnitrile. - ATSDR, U.S. Dept. of Health and Human Services, Chamblee, GA.

CALIFORNIA ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (1997): Health Effects of Exposure to Environmental Tobacco Smoke. Final

- Report. – Office of Environmental Health Hazard Assessment, Sacramento.U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY
- HANSEL, A., A. JORDAN, R. HOLZINGER, P. PRAZELLER, W. VOGEL & W. LINDINGER (1995): Proton transfer reaction mass spectrometry: on-line trace gas analysis at the ppb level. – *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes* **149/150**: 609 - 619.
- HICK, C. & A. HICK (1997): Physiologie. – G. Fischer, Ulm.
- JORDAN, A., A. HANSEL, R. HOLZINGER & W. LINDINGER (1995): Acetonitrile and benzene in the breath of smokers and non-smokers investigated by Proton-Transfer-Reaction Mass Spectroscopy (PTR-MS). – *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes* **148**: 191 - 241.
- KARL, T., A. JORDAN, A. HANSEL, R. HOLZINGER & W. LINDINGER (1998): Benzol und Acetonitril im Körper von Rauchern und Nichtrauchern. – *Ber. nat.-med. Verein Innsbruck* **85**: 7 - 15.
- KARL, Thomas, private communication.
- LINDINGER, W., A. HANSEL & A. JORDAN (1998): On-line monitoring of volatile organic compounds at pptv levels by means of Proton-Transfer-Reactions Mass Spectrometry (PTR-MS): Medical applications, food control and environmental research. – *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes* **173**: 191 - 241.
- U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA) (1992): Respiratory health effects of passive smoking: Lung cancer and other disorders. – EPA/600/6-90/006F.
- U.S. EPA (1985): Health and Environmental Effects Profile for Acrylnitril. – Environmental Criteria and assessment Office U.S., EPA, Cincinnati, OH