

Section of posterior pituitary gland, osmium-fixed and embedded in Vestopal, stained 20 min in 10% w/v tungstoboric acid in ethanol.  $\times 45,000$ .

In aqueous solution the stain is strongly acidic, but in ethanol this acidity is suppressed so that, at room temperature, it is some hours before a copper grid shows evidence of being attacked. Various ways have been tried to counteract the acidity, and it seems adequate to stand the ethanolic solution over solid sodium bicarbonate. Unfortunately, neutralizing the acidity also decreases the staining intensity, particularly with respect to cytoplasmic material.

The stain will not mordent subsequent staining with lead salts<sup>2</sup> in the way that uranium does; nor can it equal the staining intensity of uranium-lead, or lead staining at its best. Nevertheless, trials have so far shown that it is a convenient general stain, giving clean, finely-stained results with Araldite-, Epikote-, and Vestopal-embedded tissues such as blood platelets, human skin, and posterior pituitary gland.

*Zusammenfassung.* Die Kontrastierung von elektronenmikroskopischen Gewebsschnitten mit einer 10%igen alkoholischen Lösung von Dodekatungstoborsäure wird beschrieben. Diese Säure wird von der atmosphärischen Kohlensäure nicht beeinflusst.

A. CHARLES

*Medical Research Council, Unit for Research on the Experimental Pathology of the Skin, Medical School, University of Birmingham (England), June 9, 1966.*

<sup>2</sup> J. M. FRASCA and V. R. PARKS, J. Cell Biol. 25, 157 (1965).

## PRO EXPERIMENTIS

### Elektronenoptische Untersuchungen des Hauptstrom-Rauchkondensats der Partikelphase des Zigaretten- und Cigarrenrauchs

Cigarrenrauchteilchen kamen wohl erstmalig durch RUSKA<sup>1</sup> zur direkten elektronenoptischen Untersuchung. HARRIS und KAY<sup>2</sup> untersuchten ebenfalls nativen Tabakrauch elektronenoptisch. TRILLAT und CUZIN<sup>3</sup> bedampften niedergeschlagenen Tabakrauch mit Titan für besagte Untersuchungen. KAHLER und LLOYD<sup>4</sup> präzipitierten Zigarettenrauch elektrostatisch direkt auf den Trägerfilm und bedampften das Präparat mit Chrom.

Unterschiedliche Interpretationen der aktuellen Ergebnisse experimenteller Tabakforschung, es wurden zur Zeit ca. 500 verschiedene chemische Verbindungen im Zigarettenrauch nachgewiesen<sup>5</sup>, liessen es als aussichtsreich erscheinen, sich weiterhin des Elektronenmikroskops für die Tabakrauch-Forschung zu bedienen.

Die oben genannten Autoren und andere befassten sich mit den Partikeln selbst des nativen Tabakrauch-Aerosols, ihrer Morphologie, Teilchengrößenverteilung usw.

Eigene Untersuchungen ergaben, dass sich der Tabakrauch in vivo jedoch für elektronenoptische Fahndung nach einzelnen Bestandteilen der Partikelphase nicht eignet. Der Teer macht eine elektronenoptische Fokussierung unmöglich. Auf den Trägerfilm aufgebraachte und im Soxhletverfahren mit Solventen gewaschene Rauchkondensate erwiesen sich ebenfalls als ungeeignet. Es galt, aus einem schonend zu erhaltenden Rauchkondensat ein weit-

gehend teerfreies, für elektronenoptische Untersuchungen geeignetes Produkt zu gewinnen. Nur die Partikelphase des Hauptstromrauches interessierte, gewisse Anteile der Gasphase blieben unberücksichtigt.

In jeder Versuchsreihe wurden nacheinander 12 nicht konditionierte aus dem Handel bezogene Zigaretten, ohne und mit Filter, gleicher Marke<sup>6</sup>, bzw. 2 Cigarren<sup>7</sup> nach den international festgelegten Normen<sup>8</sup> unter Lichtausschluss abgeraucht. Die Asche wurde ca. 20 cm unterhalb des Rauchvorgangs aufgefangen und laufend beseitigt.

Der Kolben einer 50-ml-Pravazspritze wurde, bei Öffnung eines auf ihr sitzenden 3-Wegehahns ins Freie, manuell nach oben geschoben. Bei Öffnung des 3-Wegehahns zur umgearbeiteten 500-ml-Spritzflasche sank er, mit einem Gegengewicht entsprechend austariert, innerhalb von 2 sec bis zur Marke 35 ml der Spritze, arretiert, ab, 35 ml des Tabakrauchs des von einer konischen «Glaslippe» gehaltenen Rauchgutes durch einen siebartig endenden Glastubus aspirierend (Figur 1).

<sup>1</sup> H. RUSKA und E. FRÜHBRODT, Biologie 9, 69 (1940).

<sup>2</sup> E. HARRIS und H. F. KAY, Nature 183, 4663 (1959).

<sup>3</sup> J. J. TRILLAT und J. CUZIN, C. r. Acad. Sci., Paris 264, 1040 (1958).

<sup>4</sup> H. KAHLER und B. J. LLOYD, J. natn. Cancer. Inst. 18, 217 (1957).

<sup>5</sup> Smoking and Health, U.S. Dept. of Pub. Health Serv. Nr. 1103, 1964.

<sup>6</sup> Overstolz-Zigaretten ohne und mit Filter, 12er Packung.

<sup>7</sup> Cigarre Schimmelpenninck, rolled by hand from natural leaves with especially chosen Habana, finest Corona, Gewicht ca. 8 g.

<sup>8</sup> Beiträge z. Tabakforsch., Hamburg, H 8, S. 307, 1962.

Innerhalb 1 min «Zugpause» kondensierte der Rauch ohne Kühlung (anfänglich fand flüssiger Stickstoff Verwendung) und ohne Einleitung in einen Solventen am Boden und an der unteren Innenfläche der Spritzflasche sowie innen und aussen am perforierten Glastubus ohne nennenswerten Verlust, festgestellt durch eine dem Rauchvorgang nachgeschaltete Glaskühlspirale. Das Rauchkondensat wurde jeweils in 10,0 ml einer Benzol-Äthanol-Mischung (2:1) aufgenommen, zentrifugiert und das Sedi-

ment durch Waschen mit dem Solventen weitgehend von teerhaltigen Bestandteilen befreit, so dass es nach Verneblung (Ultraschall – 3 Mhz) für elektronenoptische Untersuchungen geeignet war.

Elektronenoptisch konnten im Sediment des sofort und auch erst nach 8 Tagen weiter verarbeiteten Rauchkondensats der Zigarette (mit und ohne Filter) wie in dem der Cigarre (Figur 2) längliche Gebilde nachgewiesen werden, die sich mit der Elektronenfeinbereichsbeugung<sup>9</sup> als Kristalle erwiesen (Figur 3).

Als Nebenfund kamen rundliche Gebilde, wie sie von VON ARDENNE<sup>10</sup> aus frischem Russ einer Zedernholzölflamme elektronenoptisch nachgewiesen wurden, oft gemeinsam mit den Kristallen, zur Beobachtung. Die 1962 begonnenen Arbeiten werden fortgesetzt<sup>11</sup>.

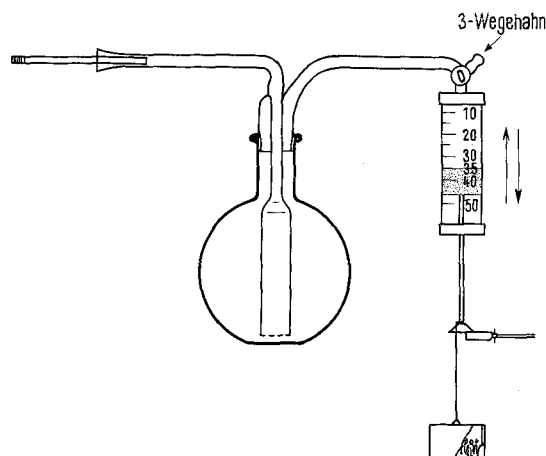


Fig. 1



Fig. 2. Kristalle des Rauchkondensats (Cigarre).

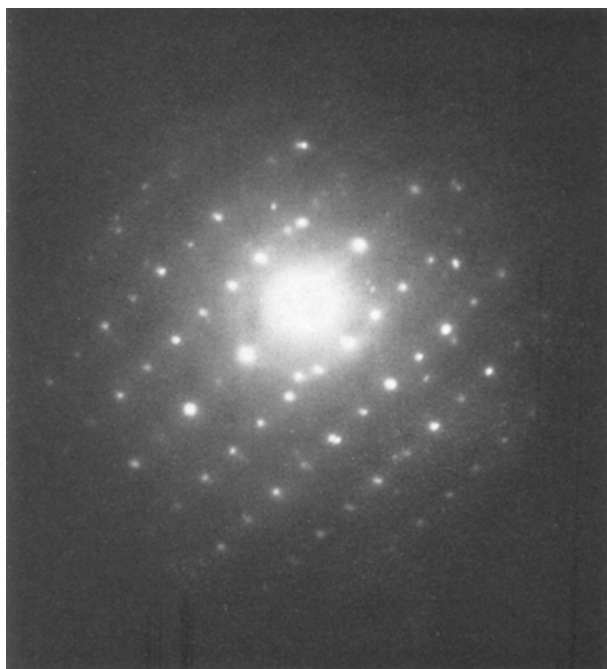


Fig. 3. Elektronenfeinbereichsbeugung. Kristall des Rauchkondensats (Cigarette ohne Filter).

**Summary.** Report on a method to produce, without refrigeration and solvents, a tobacco smoke condensate of the tobacco main-stream smoke of the particulate phase. Identification obtained by the electron fine beam diffraction of crystals in the sediment of the smoke condensate of cigarettes and cigars.

E. A. HEIDE<sup>12</sup>

Innstrasse 44, 1 Berlin 44 (Deutschland), 9. Mai 1966.

<sup>9</sup> Für die Ausführung der Elektronen-Feinbereichsbeugung bin ich Frau Dr. A.D'ANS vom Institut für Elektronenmikroskopie des Fritz-Haber-Instituts der Max-Planck-Gesellschaft zu grossem Dank verpflichtet.

<sup>10</sup> M. VON ARDENNE, Naturwissenschaften 28, 113 (1940).

<sup>11</sup> Für das Zustandekommen der Arbeit ist zu danken: Bundesministerium für wissenschaftliche Forschung, Deutscher Akademischer Austauschdienst, Herrn Prof. Dr. Ing. E. RUSKA, Herrn Prof. Dr. Ing. E. WIESENBERGER, Herrn Dr. rer. nat. G. KOSSMEHL. Frü technische Assistenz Frau SCHRÖER, Frl. KETTELHACK.

<sup>12</sup> Wissenschaftlicher Gast am Institut für Elektronenmikroskopie des Fritz-Haber-Instituts der Max-Planck-Gesellschaft.