

不同类型卷烟焦油致突变性的研究*

刘宝法 张忠锋 侯建玲 陈刚 周显升

摘要

通过对3种不同类型4种牌号卷烟(烤烟型、中焦油混合型、新混合型、低焦油混合型)和不同等级烤烟型卷烟(A类、B类、C类)焦油致突变性的研究表明:(1)3种不同等级烤烟型卷烟经回归分析,焦油加入量 $\mu\text{g}/\text{皿}$ 与突变菌落数 $\mu\text{g}/\text{皿}$ 之间存在线性关系,随着焦油加入量的增加,其致突变性增强。但对A类、B类、C类3种不同等级烤烟型卷烟来说,在焦油剂量相同(500 $\mu\text{g}/\text{皿}$)的前提下,其致突变性差异不显著。(2)不同类型卷烟焦油与回复突变菌落数之间存在线性关系,其焦油的致突变性强弱依次为:烤烟型 \geq 中焦油混合型 $>$ 新混合型 $>$ 低焦油混合型。(3)不同类型卷烟焦油致突变性两两差异比较表现不一致,其中烤烟型、中焦油混合型两种牌号卷烟焦油的致突变性差异不显著,其余两两之间差异均达显著(极显著)水平。

关键词:卷烟 焦油 致突变性

中图分类号:TS458 文献标识码:B 文章编号:1004-5708(2001)01-0009-04

近代吸烟与健康关系的研究,推动了“安全烟”的研究与发展。已有的研究表明:吸烟对人体健康的影响不仅表现在焦油输送量上,也表现在生物活性上^[1]。美、日等国在安全烟的研究中,除研究继续降低焦油输送量外,还在研究降低烟草焦油生物活性的技术。美国肯塔基大学烟草与健康研究所于70年代末期建立了生物活性实验室,农业科技人员采用Ames试验和同位素示踪方法进行烟气冷凝物及其个别化学成分的毒性、致突变和致癌试验,对烟草品种以及可能生产安全烟的方法进行研究。日本正在研制低焦油、低烟碱和低生物活性的安全烟。我国在探讨烟草减毒方面也做了大量工作,就降低焦油和其他有害成分来说,通过采取改进烟叶品质、推广膨胀烟丝、烟草薄片、激光打孔等新工艺、新技术,对降低焦油量和有害成分起了积极作用,提高了卷烟的安全性^[2]。但由于我国对此研究起步较晚,加之技术不配套等原因,有些方面的研究尚不系统、不深入。

本研究是在不同类型烟草焦油致突变性研究的基础上,检测卷烟中焦油生物活性的现状及焦油的致突变性,以求降低其危害,为安全烟的研制提供依据。

1 材料和方法

1.1 供试材料

选择烤烟型、中焦油混合型、新混合型、低焦油混合型3种不同类型4种牌号卷烟和A类(普通滤嘴)、B类(无滤嘴)、C类(无滤嘴)3种不同等级烤烟型卷烟各1个品牌作测定样品。

1.2 仪器设备与试剂

1.2.1 主要仪器设备 ① Filtrona302型吸烟机(英国);② 烟支阻力测定仪;③ TN扭力天平;④ CST-4超声波发生器;⑤ ZFQ旋转薄膜蒸发器;⑥ 氮气;⑦ 高压消毒器;⑧ 电热恒温水浴锅;⑨ 低温冰箱;⑩ 低温高速离心机;⑪ 培养箱;⑫ 干燥箱;⑬ DL302型恒温恒湿箱;⑭ 菌落计数器;⑮ 万分之一天平。

1.2.2 主要试剂 丙酮、二甲基亚砜、纯化琼脂、组氨酸、生物素、6-磷酸葡萄糖、氧化型辅酶II、正定霉素、叠氮化钠、二氨基苄。

1.3 烟气总粒相物(TPM)的收集

按ISO-3308进行。将收集在玻璃纤维滤片上的TPM用丙酮洗脱,洗脱液旋转减压蒸发,提取物以干氮气吹干(操作时温度控制在40 $^{\circ}\text{C}$ 以下),溶于二甲基亚砜,贮于-20 $^{\circ}\text{C}$ 备用。

1.4 致突变试验方法

1.4.1 菌株 选取鼠伤寒沙门氏菌TA98和TA100

* 刘宝法,男,大学,副研究员,青州烟草研究所,青州,262500

张忠锋,侯建玲,陈刚,通讯地址同第一作者

周显升,济南卷烟厂

收稿日期:2000-01-16

菌株为试验菌株。菌株由山东省劳动厅卫生职业病防治研究所提供。试验前按 Ames 实验规定方法对菌株进行鉴定,经鉴定合乎试验要求。

1.4.2 微粒体酶制备 用 Aroclor 1254 诱导大鼠,按 Ames 法制备 S9 混合液。

1.4.3 提取物致突变性测定 采用标准皿掺入法在加 S9 和不加 S9 活化系统下进行试验。即在预先保温 45℃ 的 2mL 软琼脂中加入 0.1mL 焦油溶液,0.1mL 测试菌株,0.5mL S9 混合物(或不加),充分混匀后倒入底层培养基上铺平。每一提取物做 3 个平皿,每皿提

取物加入量分别为 62.5 125 250 500 μ g,用空白玻璃纤维滤膜提取物和二甲基亚砜做阴性对照物;正定霉素,叠氮化钠,二氨基芬做阳性对照物。最后将试验平皿放入温箱内,37℃ 培养 72h,分别记录回变菌落数并取其平均值,其数目的多少表示致突变特性的强弱。

2 结果与分析

2.1 不同等级烤烟型卷烟焦油与突变菌落数的关系
对 A 类、B 类、C 类 3 种不同等级烤烟型卷烟的焦油致突变性进行测定。结果列入表 1。

表 1 不同等级烤烟型卷烟焦油的致突变菌落数 (TA98 加 S9) 的变化 (个/皿)

等级	焦油剂量 (μ g/皿)					重量 (g/支)	吸阻 (Pa/支)	TMP (mg/支)	吸口 (口数/支)
	0	62.5	125	250	500				
A 类	25.3	64.7	95.0	121.0	138.3	1.04	460.6	27.76	12
B 类	25.3	67.0	101.3	125.0	147.0	1.09	205.8	35.22	13
C 类	25.3	63.3	99.7	126.0	144.7	1.05	186.2	37.09	15

注:致突变菌落数为 3 次重复平均值。

2.1.1 不同等级烤烟型卷烟焦油与突变菌落数的相关回归分析 对 A 类、B 类、C 类 3 种不同等级烤烟型卷烟的焦油加入量 x 与 TA98 菌株(加 S9)回复突变菌落数 y 进行直线相关分析,求得各自相关系数为: A 类 $r = 0.9635$, B 类 $r = 0.9013$, C 类 $r = 0.8985$
 $P_{0.05(3)} = 0.878$, $P_{0.01(3)} = 0.959$

显著水平; B 类、C 类 $r > P_{0.05(3)}$, 达显著水平。3 种不同等级卷烟的焦油加入量与突变菌落数均存在显著(极显著)的正相关关系。焦油加入量 x 与突变菌落数 y 经直线回归分析,得各自回归方程,作相应曲线如图 1。

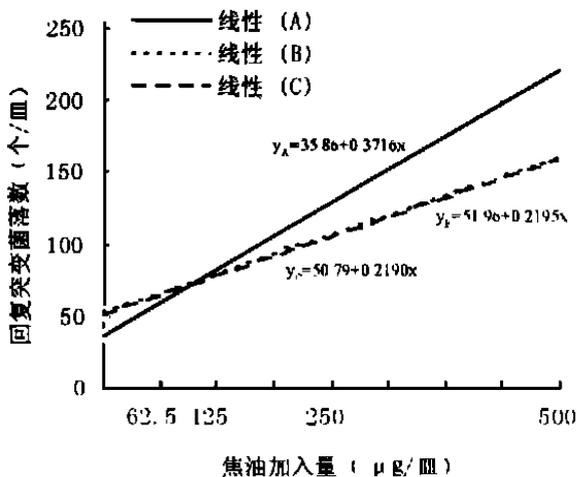


图 1 不同等级卷烟焦油加入量 x 与致突变菌落数 y 的回归关系

经相关系数的显著性检验, A 类 $r > P_{0.01(3)}$, 达极

显著水平。对于烤烟型卷烟来说,降低其焦油量,可以降低卷烟焦油的致突变性。

2.1.2 不同等级烤烟型卷烟焦油与突变菌落数之间的方差分析 A 类、B 类、C 类 3 种不同等级卷烟焦油在 500 μ g/皿条件下, TA98(加 S9)菌株致突变菌落数进行方差分析, $F = 1.2284 < F_{0.05(2,4)} = 6.94$, 说明 A 类、B 类、C 类 3 种不同等级烤烟型卷烟在焦油剂量相同(500 μ g/皿)的前提下,其致突变性差异不显著。A 类烤烟型卷烟是普通过滤嘴卷烟, B 类、C 类卷烟是无滤嘴卷烟,在质量、焦油量等方面均存在差异,而其致突变性却表现为差异不显著。表明普通过滤嘴只对降低焦油量有良好的效果,而对降低焦油的生物活性直接作用不明显。普通过滤嘴在提高卷烟的安全性方面,是以降低卷烟焦油量为主要途径的^[3]。

2.2 不同类型卷烟焦油与突变菌落数的关系

对烤烟型、中焦油混合型、新混合型、低焦油混合型等 3 种不同类型 4 种牌号卷烟的焦油对 TA98 菌株

(加 S9)致突变性进行了研究,其不同剂量 (0, 62.5, 125, 250, 500 μ g/皿)的致突变性试验结果列入表 2

表 2 不同类型卷烟焦油的致突变菌落数 (TA98加 S9)的变化 (个/皿)

类型	焦油剂量 (μ g/皿)					重量 (g/支)	吸阻 (Pa/支)	TMP (mg/支)	吸口 (口数/支)
	0	62.5	125	250	500				
烤烟型	25.3	64.7	95.0	121.0	138.3	1.04	460.6	27.76	12
中焦油混合型	24.7	63.0	84.0	112.7	127.0	0.96	441.0	27.40	11
新混合型	24.7	55.0	76.0	82.0	114.0	1.12	450.8	30.32	10
低焦油混合型	24.7	48.0	65.3	75.0	96.0	0.96	294.0	14.41	9

注: 致突变菌落数为 3 次重复平均值。

2.2.1 不同类型卷烟焦油与致突变菌落数之间的相关回归分析 对烤烟型、中焦油混合型、新混合型、低焦油混合型 3 种类型 4 种卷烟牌号焦油的每皿加入量与 TA98(加 S9)菌株突变菌落数/皿进行相关分析,结果表明,烤烟型 $r = 0.9635$,中焦油混合型 $r = 0.9017$,新混合型 $r = 0.9350$,低焦油混合型 $r = 0.9347$ $P_{0.05(3)} = 0.878$, $P_{0.01(3)} = 0.959$

从相关系数可以看出,4 种不同牌号卷烟的焦油加入量/皿与突变菌落数/皿均存在正相关关系,对相关系数进行显著检验,烤烟型 $r > P_{0.01(3)}$,达极显著水平,中焦油混合型、新混合型、低焦油混合型 $r > P_{0.05(3)}$,达显著水平,表明其卷烟的焦油加入量与突变菌落数均存在显著(极显著)的正相关关系。焦油加入量/皿与突变菌落数/皿经直线回归分析,得各自回归方程:烤烟型, $Y = 35.86 + 0.3716x$;中焦油混合型, $Y = 47.47 + 0.1854x$;新混合型, $Y = 40.95 + 0.1568x$;低焦油混合型, $Y = 37.83 + 0.1278x$ (图 2)

图 2 看出,烤烟型、中焦油混合型、新混合型、低焦油混合型 4 种不同类型卷烟的焦油与回复突变菌落数均存在线性关系,说明不论是那种类型的卷烟,降低焦油量,对于降低其致突变性,增加卷烟安全性,均具有十分显著的效果,焦油量越低,安全性越大^[3,4]。

2.2.2 不同类型卷烟焦油的致突变菌落数方差分析 在 500 μ g/皿焦油含量下,烤烟型、中焦油混合型、新混合型、低焦油混合型 3 种不同类型 4 种牌号卷烟对 TA98 菌株致突变菌落数进行方差分析, $F = 23.84 > F_{0.01(3,6)} = 9.78$,差异极显著。

对 4 种不同牌号卷烟的焦油在 500 μ g/皿下,对

TA98 菌株致突变菌落数进行两两差异比较,结果列于表 3

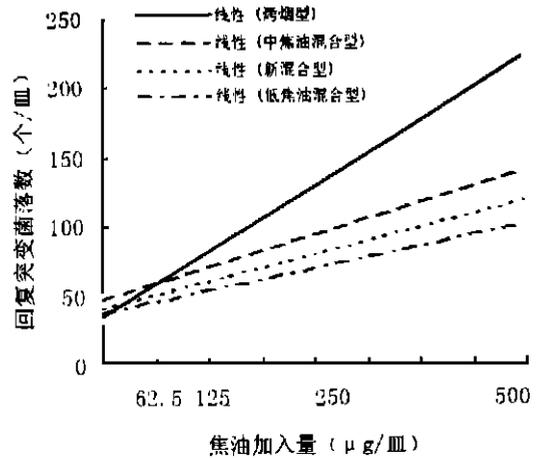


图 2 不同类型卷烟焦油加入量/皿与致突变菌落数/皿的回归关系表 3 不同类型卷烟焦油的致突变性差异比较

卷烟类型	回复突变菌落数(个/皿)			相 差	
	烤烟型	中焦油混合型	新混合型	烤烟型	中焦油混合型
烤烟型	138.3				
中焦油混合型	127.0	11.3			
新混合型	114.0	24.3*	13*		
低焦油混合型	96.0	42.3*	31*	18	

LSD_{0.05} = 12.89 LSD_{0.01} = 19.52

由表 3 可知,对烤烟型、中焦油混合型、新混合型、低焦油混合型 4 种不同牌号卷烟来说,除烤烟型、中焦油混合型 2 种卷烟焦油的致突变性差异达不到显著水平外,

其余 2种之间差异均达显著(极显著)水平。即对于这 4种不同牌号卷烟来说,其焦油的致突变性强弱依次为:烤烟型>中焦油混合型>新混合型>低焦油混合型

新混合型卷烟的焦油表现出较低的致突变性,这可能是由于在该卷烟品牌中加入了一定数量的罗布麻所致,罗布麻具有降低焦油致突变性的作用^[5]。低焦油混合型卷烟焦油表现出低致突变性,这可能是由于该卷烟滤嘴上打孔,使得某些具有较强致突变性的成分在侧流烟气中的比重加大,在主流烟气中的比重减少,从而降低了焦油的致突变性。

3 讨论

3.1 在同一培养皿中,随着焦油加入量的增加,其致突变性增强。表明通过采取工艺技术措施,降低卷烟焦油量,可以降低致突变性,对提高卷烟安全性是有效的。

3.2 A类、B类、C类 3种不同等级烤烟型卷烟,在焦油剂量相同(500 μ g/皿)的前提下,其致突变性差异不显著。A类烤烟型卷烟是普通过滤嘴卷烟,B类和C类卷烟是无滤嘴卷烟,在质量、焦油量等方面均存在差异,而其焦油致突变性却表现为差异不显著。说明普通过滤嘴只对降低焦油量有良好的效果,而对降低焦油的生物活性直接作用不明显。普通过滤嘴在提高卷烟的安全性方面,是以降低卷烟焦油量为主要途径的。

3.3 烤烟型、中焦油混合型、新混合型、低焦油混合型 3种不同类型 4种牌号卷烟,以烤烟型的焦油生物活性最高,低焦油混合型卷烟的焦油生物活性最低。4种卷烟焦油的致突变性差异显著(极显著),其强弱依次为烤烟型>中焦油混合型>新混合型>低焦油混合型。据我所对不同类型烟草致突变性的测定结果看,烤烟烟叶焦油的致突变性最高,依次为晒黄烟、晒红烟、香料烟、白肋烟。中焦油混合型卷烟原料中加入一定比

例的白肋烟、香料烟,对降低单位剂量焦油的致突变性应该是有效的^[6]。但在本试验中,烤烟型卷烟牌号与中焦油混合型卷烟牌号焦油致突变性差异却未达显著水平,可能是由于在中焦油混合型卷烟牌号中加入白肋烟、香料烟的量较少所致。

3.4 新混合型卷烟在试验中表现出较低的致突变性。据分析,主要是在该牌号中加入罗布麻减毒所致,罗布麻具有降低焦油的致突变性作用。国内外已有许多资料表明,自由基是吸烟导致癌症和其他多种疾病的主要原因。通过深入研究探讨一种降低卷烟中自由基含量,尤其是降低气相自由基含量的新途径,可以有效降低吸烟对人体健康的危害。

3.5 低焦油混合型牌号焦油致突变性最低。一方面是由于在该牌号中加入了一定比例的香料烟、白肋烟,在一定程度上降低了焦油的生物活性;另外一个原因是该牌号是激光打孔卷烟,相对无打孔卷烟,其侧流烟气比重加大,减少了主流烟气中致突变成分的含量。

参考文献

- 1 黄幸纾,等. 环境化学物致突变、致畸、致癌试验方法. 浙江科技出版社, 1985.
- 2 朱尊权. 浅谈卷烟的焦油含量. 烟草科技, 1982(1): 1~ 6.
- 3 Kameswara Rao BV et al. Effect of additives on tobacco smoke particulate matter and its mutagenicity. Tobacco Research, 1989(1): 76~ 79.
- 4 吉田大辅. 降低烟草致突变性. 日本专利公报, 昭 57-5505.
- 5 宋广舜. 罗布麻卷烟致突变的初步观察. 烟草科技, 1981(4): 33~ 34.
- 6 刘宝法,等. 不同类型烟草焦油致突变性的研究. 中国烟草, 1996(1): 15~ 21.

Study on mutagenicity of tar from different types of cigarettes

Liu Baofa¹ Zhang Zhongfeng¹ Hou Jianling¹ Chen Gang¹ Zhou Xiansheng²

1 Qingzhou Tobacco Research Institute, Qingzhou 262500

2 Jinan Cigarette Factory

Abstract

The mutagenicity effect of tar collected from different types of cigarettes was studied. These cigarettes included virginia type, full flavor American blended, light American blended and newly developed American blended cigarettes. Results show that there exists differences as far as the effect of mutagenicity is concerned. Further investigation is needed to further quantify.

Key words: Cigarette Tar Mutagenicity