

烟丝中添加天然植物制剂 AML-1 降低卷烟焦油致突变性的研究^{*}

天建华 蔡 荣 倪朝敏 陈辉敏

云南烟草科学研究院 昆明 650106

摘 要

Ames 试验结果表明,卷烟烟丝中添加适量天然植物制剂 AML-1,卷烟焦油诱发 TA98 菌株的回变菌落数比对照烟下降,并具有统计学意义;其中 AML-1 添加量为 0.5% 时,回变菌落数比对照烟下降了 31%。SCE 试验也进一步表明,添加了 AML-1 的卷烟,其焦油诱发人转化淋巴细胞姐妹染色单体互换率比对照烟有显著下降($P < 0.01$)。卷烟评吸结果表明,适量添加 AML-1 时卷烟无异味,并对香味和吃味有一定改善作用。AML-1 作为卷烟添加剂使用时,在降低卷烟焦油的致突变危害方面具有很好的应用前景。

关键词: 卷烟焦油 致突变作用 抗突变作用 Ames 试验 SCE 试验

国内外大量科学研究表明^[1,2],卷烟烟气冷凝物中含有微量致突变物质,这些物质具有致突变作用,对人类健康有潜在危害。因此,开发研究能降低卷烟焦油致突变性的安全卷烟对保护吸烟者的健康具有重大意义。国内外许多科学工作者都在进行积极的探索^[2,3,4]。

我们的研究已表明了天然植物制剂 AML-1 在体外对 3,4-苯并芘和卷烟焦油的致突变作用具有很强的抑制作用^[5]。在本研究中,我们将不同剂量的 AML-1 添加到烟丝中卷制成卷烟,用吸烟机收集卷烟燃烧后的焦油,采用鼠伤寒沙门氏菌/哺乳动物微粒体酶试验(Ames 试验)和人类转化淋巴细胞姐妹染色单体互换试验(SCE 试验),检验其焦油致突变性的变化,并对添加 AML-1 的香烟进行评吸,以考察 AML-1 在制造低致突变危害卷烟方面是否具有工业应用价值。

1 材料和方法

1.1 天然植物制剂 AML-1

又名普乐液,采用桑叶、侧柏叶、苏叶等多种天然植物精制而成。由哈尔滨金都普乐实业有限公司李政俭先生研制并提供。

1.2 卷烟

选取云南烟叶中一、中二、中三、中四、上一、上二

和上三按不同比例组成叶组,将 AML-1 按烟丝重量的 0.1%、0.5% 和 1% 添加量分别均匀喷洒在烟丝上,对照烟喷洒等量蒸馏水,分别密闭储存 24h 后在 MK-95 卷烟机上卷烟,加 AML-1 的简称试验烟,加蒸馏水的简称对照烟。试验烟和对照烟均不加香加料。

1.3 卷烟焦油收集

将试验烟和对照烟在恒温恒湿箱中平衡 24h(温度 $22 \pm 1^\circ\text{C}$, 相对湿度 $65\% \pm 2\%$),选取相同重量($1.02 \pm 0.02\text{g/支}$)和相同吸阻($1100 \pm 5\text{Pa/支}$)的卷烟,按国际标准 ISO-3308 的要求,在 SM-302 自动吸烟机上吸烟,称取湿焦油的重量。将收集于剑桥滤片上的卷烟焦油用二甲基亚砜(DMSO)浸提(7.2mg/mL DMSO),贮于 4°C 冰箱中备用。

1.4 卷烟焦油的致突变性分析

鼠伤寒沙门氏菌/哺乳动物微粒体酶试验(Ames 试验):资料报道^[4]及预试验表明,TA98 菌株能很好地检测出卷烟焦油的致突变作用,故本研究选用 TA98 作为测试菌株,采用标准平皿掺入法在加 S_9 (酶激活系统,下同)和不加 S_9 进行试验。 S_9 为自制,经检验活性合格,用量为 $50\mu\text{L/皿}$ 。阳性对照物为 2-AF,用量为 $10\mu\text{g/皿}$ 。溶剂对照为空白剑桥滤片的 DMSO 提取液。样品添加量为每 0.1mL DMSO 提取液(相当于 0.72mg/皿 或 $720\mu\text{g/皿}$ 焦油)。

人转化淋巴细胞姐妹染色单体互换试验(SCE 试

验):采用人转化淋巴细胞体外培养法,培养液中卷烟焦油添加量约为 80μg/mL。采用 Giemsa 染色,每个浓度组镜检 50 个中期分裂相。

2 结果和分析

2.1 Ames 试验结果

烟丝中添加 AML-1 的试验烟与对照烟的焦油致突变性检测结果见表 1。从表 1 结果可以看出,卷烟焦油在不加 S₀ 时无致突变作用,而经 S₀ 活化后即具有明显的致突变作用,说明卷烟焦油中的致突变物是需经代谢活化的致突变物,该结果与国内外研究报道一致。从添加了 AML-1 的试验烟焦油与未加 AML-1 的对照烟焦油所诱导的回复突变菌落数结果看,试验烟焦油的致突变作用较对照烟明显降低,有显著性或极显著性差异;其中在 AML-1 添加量为 0.5% 时,其回复突变菌落数比对照烟降低了 31%。因此,Ames 试验表明,卷烟中添加一定剂量的 AML-1 能明显降低卷烟焦油的致突变性。

表 1 Ames 试验结果($\bar{X} \pm S_D$)			
AML-1 添加量(%)	TA98		P 值
	- S ₀	+ S ₀	
0	34.3 ± 4.6	206.3 ± 11.5	-
0.1	32.0 ± 6.3	168.8 ± 21.9	P<0.05
0.5	36.3 ± 6.2	142.0 ± 6.7	P<0.01
1.0	30.5 ± 6.7	158.8 ± 8.4	P<0.01
自发回复突变	23.8 ± 5.6	36.6 ± 5.3	-
溶剂对照	26.8 ± 3.7	36.6 ± 6.0	-

2.2 SCE 试验结果

采用人类转化淋巴细胞姐妹染色单体互换试验,检测了试验烟和对照烟焦油的致突变性,结果见表 2。从表 2 结果可看出,对照烟焦油诱发 SCE 率与溶剂对照相比有极显著性差异,呈阳性结果,说明卷烟焦油有致突变性,该结果与国内外文献报道一致^[6]。而烟丝中添加了 0.5% 和 1.0% 剂量的 AML-1,能使试验烟焦油诱发的 SCE 率与溶剂对照趋于相近,且比对照烟明显降低,二者有极显著性差异(P<0.01),SCE 试验结果表明,烟丝中添加一定剂量 AML-1 能显著降低卷烟焦油的致突变作用。

表 2 SCE 试验结果				
组 别	AML-1 添加量(%)	镜 检 细胞数	SCE 率 ($\bar{X} \pm S_D$)	P 值
对照组	0	50	11.40 ± 0.44	-
试验烟	0.5	50	7.86 ± 0.45	P<0.01
试验烟	1.0	50	7.80 ± 0.36	P<0.01
溶剂对照	-	50	6.48 ± 0.39	P<0.01

2.3 AML-1 对卷烟内在品质的影响

卷烟中添加 AML-1 对卷烟香味吃味是否有影响及其能否为消费者接受关系到 AML-1 在卷烟工业中的实际应用。为此,我们组织云南有关的卷烟评吸人员对试验烟和对照烟进行了双盲法评吸,结果表明,添加了 AML-1 的试验烟无任何异味,而且卷烟中添加适量的 AML-1 对卷烟的吃味和香味还有一定改善作用,其中添加量为 0.5% 时与卷烟的香味和吃味协调最好。

3 讨论

为了保护吸烟者的身体健康,国内外许多科学工作者都致力于降低卷烟焦油致突变性的研究。日本学者 Shigeakisato 等^[3]将烟叶分别浸入蔗糖、乳糖、半乳糖、葡萄糖、果糖及山梨糖等糖液中,发现果糖及山梨糖能显著降低卷烟烟气冷凝物的致突变作用。日本另一研究表明^[7],在香烟过滤嘴中添加过氧化物酶、高铁血红素等物质,可使烟气总粒相物的致突变性失活。中国刘宝法研究发现^[8],在烟丝中加入一定量的鞣酸可降低卷烟焦油含量及焦油的致突变性。胡小迪等人^[2]研究也发现,一种高氏特效解烟毒的营养保健液对烟焦油的致突变作用具有拮抗作用。但许多研究都处于试验阶段或还未作为卷烟添加剂试验,因而不具备在卷烟工业生产中的实用价值。

AML-1 是一种很好的天然抗突变物质,对一些强致突变物和致癌物的致突变性具有很强的抑制作用^[5]。本次采用原核生物检测方法和真核生物检测方法,试验结果一致表明,卷烟中添加 AML-1 经燃烧后焦油的致突变性下降。评吸结果也表明了卷烟添加 AML-1 无任何异味,对卷烟香味和吃味有一定改善作用。也就是说,AML-1 既能降低卷烟焦油的致突变性,又有一定的香精香料的作用。其中以 AML-1 添加量为 0.5% 时效果最好。因此,AML-1 可作为卷烟添

加剂使用,在降低卷烟焦油的致突变危害方面具有巨大的实际应用价值。

参考文献

- 1 David M. Demarini. Genotoxicity of tobacco smoke and tobacco smoke condensate. Mutation Research. 1983, 114:58.
- 2 胡小迪,张慧娟,周光云,等. 高氏特效解烟毒保健营养液及其抗香烟凝集物致突变性研究. 湖北预防医学杂志. 1995, 6(1):29.
- 3 Shigeaki sato, Tomoko ohka, Minako nagao, et al. Reduction in mutagenicity of cigarette smoke condensate by added sugars. Mutation Research, 1979, 60:155.
- 4 Chin K. Lee, David J. Doolittle, Gary T. Burge, et al. Comparative genotoxicity testing of mainstream whole smoke from cigarette which burn or beat tobacco. Mutation Research, 1990, 242:37.
- 5 蔡荣, 天建华, 贺小琼, 等. 天然植物制剂 AML-1 体外抑制苯并(a)芘致突变作用. 卫生毒理学杂志, 1998, 12(3):191.
- 6 Salomao S, M. Sorsa. Induction of SCES by cigarette smoke condensates. Mutation Research, 1985, 147:317.
- 7 Chemistry Abstract, 110, 447, 1989.
- 8 刘宝法, 张忠峰. 鞣酸添加剂对降低卷烟焦油致突变性的研究. 中国烟草, 1993(4), 40~44.

The effect of adding natural plant extract AML-1 to tobacco in the reduction of mutagenicity of cigarette smoke condensate

Yao Jianhua Cai Rong Ni Chaomin Chen Huimin
Yunnan Academy of Tobacco Science Kunming 650106

Abstract

The result of Ames test indicated that the Mutagenicity of cigarette Smoke Condensate (CSC) from cigarettes added the natural plant extract AML-1 to the tobacco was reduced significantly compared with the control cigarette in TA98 strain. The revertants decreased 31 % as AML-1 added 0.5 %. In SCE test, CSC from cigarette added AML-1 induced less SCE frequency than the control cigarette ($P < 0.01$). Otherwise, AML-1 has good effects on tobacco taste and flavour by smoking. These studies showed that AML-1 has a future as cigarette additive to anti mutagenicity against CSC for decreasing some harmful effects on health from smoking.

Key word: Cigarette Smoke Condensate Mutagenicity Antimutagenicity Ames test SCE test