

• 研究论文 •

一种测定主流卷烟烟气中固相自由基总量的新方法

周骏^{a,b} 吴可^c 孙岳^b 丛建波^c
王长振^c 常翔^b 先宏^c 朱永法^{*,a}^(a) 清华大学化学系 北京 100084)^(b) 北京卷烟厂技术中心 北京 100024)^(c) 北京放射医学研究所 北京 100850)

摘要 研究了一种准确测定主流卷烟烟气中固相自由基总量的新方法。通常人们采用剑桥滤片来捕集主流卷烟烟气中的固相自由基,但它并不适合用于准确测定主流卷烟烟气中的固相自由基的总量,研究发现超过20%的主流卷烟烟气中的固相自由基可以透过剑桥滤片。找到了一种电子顺磁共振波谱(EPR)信号很小的、适合用来捕集主流卷烟烟气中的固相自由基总量的过滤片。采用了以在相同条件下测得的1,1-二苯基-2-苦基肼基(1,1-Diphenyl-2-picryl-hydrazyl,简称DPPH)的EPR信号强度与强煤的EPR信号强度相比得到的相对EPR信号强度与自由基的自旋数建立校准曲线的方法来计算烟气固相自由基的量,降低了使用不同的电子自旋共振波谱仪造成的对同一种检测样品测定结果的差异。通过不同实验室内和实验室间的验证实验,证明了此方法有很好的重复性和重现性。

关键词 测定; 主流卷烟烟气; 固相自由基; 电子顺磁共振

A Novel Method for Quantitative Analysis of Total Particulate-phase Free Radicals in Mainstream Cigarette Smoke

ZHOU, Jun^{a,b} WU, Ke^c SUN, Yue^b CONG, Jian-Bo^c WANG, Chang-Zhen^c
CHANG, Xiang^b XIAN, Hong^c ZHU, Yong-Fa^{*,a}^(a) Department of Chemistry, Tsinghua University, Beijing 100084)^(b) R&D Department and Testing Center, Beijing Cigarette Factory, Beijing 100024)^(c) Beijing Institute of Radiation Medicine, Beijing 100850)

Abstract A method has been developed to accurately determine total particulate-phase free radicals in mainstream cigarette smoke. Cambridge filter pad (CFP) was usually employed to collect particulate-phase free radicals in mainstream cigarette smoke, but it was found that it was not suitable for the accurate determination of total particulate-phase free radicals in mainstream cigarette smoke. More than 20% of particulate-phase free radicals in the mainstream cigarette smoke were observed breaking through Cambridge filter pads in our experiments. A special filter pad with tiny electron paramagnetic resonance (EPR) signal was found out that was suitable for the quantitative analysis of total particulate-phase free radicals in the mainstream cigarette smoke. To reduce the difference between test results brought about by using different EPR spectrometers, a new calibration method was developed by using the ratios of EPR signal intensities of DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl) standard samples to those of high pitch and the spin number of the DPPH standard samples to make calibration curve. This method has been validated through intra- and inter-laboratory studies and has shown excellent repeatability and reproducibility.

Keywords quantitative analysis; mainstream cigarette smoke; particulate-phase free radical; electron

* E-mail: zhuyf@tsinghua.edu.cn

Received April 30, 2007; revised September 14, 2007; accepted September 29, 2007.

国家烟草专卖局烟草科学研究与技术开发(No. 0707-5)资助项目。

paramagnetic resonance

随着对卷烟烟气中有害成分的研究工作的深入,人们发现卷烟烟气中的自由基对人体有很大的危害^[1~5]. 卷烟烟气中的自由基可分为两类:一类是固相自由基,或称焦油相自由基,另一类是气相自由基. 固相自由基的颗粒直径一般大于 0.3 μm ,可以用普通的醋纤滤嘴有效地去除,通过剑桥滤片(Cambridge Filter)可以收集到. 它们主要由醌/半醌类自由基、多环芳烃自由基、石墨碳自由基和磷自由基组成,其中后 3 种约占 15%. 醌/半醌类自由基约占 85%,其 EPR 信号一般在 2 mW 就可以饱和,很容易观察到;多环芳烃自由基的 EPR 信号的饱和功率为 100 mW,但室温下不易观察到;石墨碳自由基的 EPR 信号具有各向异性和不对称性,低场部分较宽;无机磷自由基的 EPR 也是各向异性波谱^[4]. 通常人们所说的固相自由基,指的就是醌/半醌类自由基. 它们比较稳定,可用 EPR 直接观测. 醌/半醌类自由基在人肺中可以同氧反应生成活性氧自由基,从而导致一系列毒理反应. 其它固相自由基也有不同程度的毒性. 对卷烟烟气中自由基检测方法的研究主要开始于 20 世纪 50, 60 年代^[6]. 在过去的 20 多年中,国内外许多科学家对卷烟烟气中自由基检测方法做了大量的研究工作,如 Seliger, Pryor, Stavrides, Balkley 教授等^[7~11]对卷烟烟气中的自由基进行过检测研究,忻文娟、赵保路课题组^[12,13]和北京卷烟厂合作,比较全面地对主流卷烟烟气(吸烟时通过卷烟过滤嘴的那部分烟气)中的气相自由基进行了检测研究,用自制的非标准吸烟机和 EPR 研究建立了一套卷烟烟气中气相自由基的检测方法. 然而他们对卷烟烟气中自由基的分析主要是定性分析,个别的定量分析方法,差异很大,甚至连卷烟的抽吸方法都不一致,也没有与卷烟烟气分析中卷烟抽吸的国际标准方法一致. 由于分析方法不统一,造成了在判断和衡量降低卷烟烟气中自由基效果上的混乱^[9,11,14]. 近年来,对卷烟烟气中自由基的测定方法的研究有了新的进展. Baum 等^[15]和 Muller 等^[16]分别提出了用直线型吸烟机和转盘式吸烟机捕集卷烟烟气中自由基进行测定的方法,这些方法比以前有了很大的改进,但仍然有较大的缺陷.

在烟气中固相自由基的测定方面,一直用来捕集卷烟烟气中固相自由基的剑桥滤片,若用于 EPR 的直接测定很不方便,必须经过裁切(由于其有 2 mm 左右的厚度,卷起后直径太大不能放入实验所需规格的石英管),若用于溶剂萃取后测量,往往测定灵敏度不够^[15],而且

本研究发现剑桥滤片的 EPR 本身有很强的 EPR 信号,用 EPR 直接测定时,本底信号太高,影响测定的准确性;各个批次间的差异导致测定固相自由基结果有很大差异,有些情况下,有高达 20% 以上的固相自由基可以透过剑桥滤片,因此,剑桥滤片不适宜用于测定卷烟烟气中固相自由基的总量,需要找到一种可以完全捕集固相自由基而本身的 EPR 信号较小,方便用于 EPR 的直接测定的滤片. 另外,定量计算方法的不一致和种种缺陷^[9,11,14],使得使用不同的电子自旋共振波谱仪(EPR)测定同一样品,得到的结果有很大差异. 由于煤的 EPR 信号强度在很长时期内是稳定的,若将强煤作为校准样品用于卷烟烟气中固相自由基的测定则可能降低乃至消除这种差异.

由于固相自由基和气相自由基是卷烟烟气中比较重要的有害物质,而且其分析方法存在许多问题,国家烟草专卖局于 2002 年下发标准化项目研究计划,要求研究建立卷烟烟气中固相自由基和气相自由基的测定标准方法. 此标准测定方法的建立,将为国家有效控制卷烟烟气中固相自由基和气相自由基的释放量提供技术保证.

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

碳酸钙(分析纯),大于等于 200 目;强煤粉(Bruker); 1,1-二苯基-2-苦基肼基(1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl, 简称 DPPH),纯度 $\geq 98\%$ (Aldrich); 甲苯(分析纯).

SM-5 直线型常规分析用吸烟机(KC Automation); 皂膜流量计(Cerulean); 烟支重量分选仪(Cerulean); 吸阻与透气度测定仪(Cerulean); 1M1000 恒温恒湿箱(Claison), ESP-300 型和 EMX-6 型电子顺磁共振波谱仪(Bruker), KYKY2800 扫描电镜(北京中科科仪技术有限公司).

1.2 抽吸卷烟试样的制备

将烟支在温度(22 ± 1) $^{\circ}\text{C}$,相对湿度 $60\% \pm 2\%$ 的条件下,在恒温恒湿箱平衡 48 h 以上,取 200 支称重并求出烟支重量平均值. 用重量分选仪选取平均烟支重量 ± 0.02 g 范围以内的烟支为重量合格烟支. 将重量分选的合格烟支进行吸阻测定,并求出平均值. 选取平均吸阻 ± 49 Pa 范围内的烟支为抽吸卷烟,进行烟蒂长度的标记.

1.3 主流卷烟烟气中的固相自由基的捕集方法

1.3.1 用剑桥滤片直接捕集主流卷烟烟气中的固相自由基

将已在测试大气中调节至少 12 h 的剑桥滤片 (Cerulean or Borgwaldt) 放入烟气捕集器中, 剑桥滤片的粗糙面应面对烟气进入的方向, 合上烟气捕集器, 检查烟气捕集器, 应装配妥当不漏气. 按 ISO 4387^[17] 的方法进行吸烟实验, 吸烟后将剑桥滤片取下, 在实验环境 (温度 22 ± 2 °C, 相对湿度 $60\% \pm 5\%$) 下平衡 60 min 左右, 裁下一定比例 (图 1), 此实验中为 10.17 分之一的滤片装入 3 mm 直径的高精度石英管中进行 EPR 检测. 将已在测试大气中调节至少 12 h 的空白剑桥滤片同样进行处理和检测.

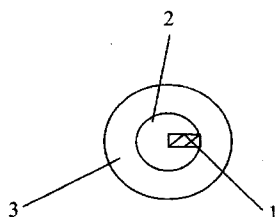


图 1 捕集了固相自由基的剑桥滤片的裁切方法示意图

Figure 1 Cutting of the Cambridge filter pad that had captured particulate-phase free radicals

(1) piece cut for EPR detection, 0.5 cm × 2.0 cm; (2) area with particulate-phase free radicals, 10.17 cm²; (3) area without particulate-phase free radicals

1.3.2 用固相自由基滤片捕集主流卷烟烟气中的固相自由基

将已在测试大气中调节至少 12 h 的剑桥滤片和固相自由基滤片 (尼龙 66 材质, Whatman) 先后放入烟气捕集器中, 剑桥滤片的粗糙面应面对烟气进入的方向, 使自由基过滤片先接触烟气, 合上烟气捕集器, 检查烟气捕集器, 应装配妥当不漏气. 按 ISO 4387 的方法进行吸烟实验^[17], 吸烟后将自由基滤片取下, 在实验环境 (温度 22 ± 2 °C, 相对湿度 $60\% \pm 5\%$) 下平衡 30~60 min, 装入 3 mm 直径的高精度石英管中进行 EPR 检测. 将已在测试大气中调节至少 12 h 的空白固相自由基滤片同样进行处理和检测.

1.4 固相自由基的 EPR 检测条件

采用 EMX-6 型电子顺磁共振波谱仪 (北京卷烟厂实验使用), 测试温度: 295 K, 调制频率: 100 kHz, 调制幅度: 0.10 mT, 扫场宽度: 10.0 mT, 扫描时间: 83.89 s, 中心磁场: 351.9 mT, 微波功率: 5 mW, 时间常数: 10.24 ms, 累加扫描 2 次, X 波段.

采用 ESP-300 型电子顺磁共振波谱仪 (北京放射医

学研究所实验使用), 测试温度: 295 K, 调制频率: 25 kHz, 调制幅度: 0.10 mT, 扫场宽度: 10.0 mT, 扫描时间: 82.00 s, 中心磁场: 347.0 mT, 微波功率: 5 mW, 时间常数: 20.00 ms, 累加扫描 2 次, X 波段.

1.5 标准回归曲线的制作及固相自由基的定量方法

1.5.1 标准样品的配制

用甲苯配制成约 1000.000, 500.000, 250.000, 125.000, 62.500, 31.250, 15.625 μmol/L 的 DPPH 标准溶液, 用微量注射器移取 3 μL DPPH 标准溶液滴加在滤纸上并使之挥发干燥, 制成固态 DPPH 标准样品.

1.5.2 标准样品和强煤的测定

将固态 DPPH 标准样品在 1.4 节所述条件下进行测定, 记录其双积分信号强度. 用碳酸钙稀释强煤使其 EPR 信号强度小于最高浓度的固态 DPPH 标准样品的双积分信号强度, 作为校准样品, 记录其双积分信号强度.

1.5.3 用剑桥滤片直接捕集主流卷烟烟气中固相自由基的定量方法

将 DPPH 标准溶液各浓度点按下列表达式 (1) 换算为自旋数 (N).

$$N = C \times 6.023 \times 10^{23} \times V \quad (1)$$

式 (1) 中: C = DPPH 标准溶液浓度 (mol/L); V = DPPH 标准溶液体积 (L).

测量各浓度 DPPH 标准样品与空白滤纸的 EPR 双积分信号强度差和强煤的 EPR 双积分信号强度 I_1 和 I_2 . 以比值 $R_1 = \frac{I_1}{I_2}$ 对 DPPH 标准溶液各浓度对应的自旋数 (N) 做回归曲线, 回归分析关系方程式如下:

$$R = aN + b \quad (2)$$

其中 a , b 分别为回归曲线的斜率和截距. N 的单位为: 10^{14} 自旋数 (spins).

测量按图 1 裁下的捕集了烟气固相自由基的剑桥滤片的 EPR 双积分信号强度 I_{11} 和空白剑桥滤片 EPR 双积分信号强度 I_{12} . 一张剑桥滤片捕集到的卷烟烟气固相自由基的 EPR 双积分信号强度 $I_{01} = (I_{11} - I_{12}) \times 10.17$. 将 I_{01} 与同时测量的煤样品的 EPR 双积分信号强度 I_2 的比值 $R_{01} = \frac{I_{01}}{I_2}$ 代入表达式 (2), 则得到固相自由基的含量, 单位为自旋数/支 (spins/cig).

1.5.4 用固相自由基滤片直接捕集的主流卷烟烟气中固相自由基的定量方法

按 1.5.3 节中所述获得回归分析关系方程式 (2), 测量捕集了烟气固相自由基的固相自由基滤片的 EPR 双积分强度 I_{21} 和空白固相自由基滤片的 EPR 双积分强度

I_{22} . 一张固相自由基滤片捕集到的卷烟样品烟气固相自由基的 EPR 双积分信号强度 $I_{02}=I_{21}-I_{22}$. 将 I_{02} 与同时测量的煤样品 EPR 双积分信号强度 I_2 的比值 $R_{02}=\frac{I_{02}}{I_2}$ 代入关系方程(2), 则得到固相自由基的含量, 单位为自旋数/支(spins/cig).

2 结果与讨论

2.1 捕集方法及效果

2.1.1 用剑桥滤片捕集主流卷烟烟气中固相自由基的效果

在实验中发现剑桥滤片具有较强的 EPR 本底信号. 为了进一步确定其对实验的影响, 本研究对剑桥滤片的本底信号按实验部分所述的方法用 ESP-300 型电子顺磁共振波谱仪进行了实验测定, 对购自英国 Cerulean 公司的剑桥滤片(Filter-E)和两批购自德国 Borgwaldt 公司的剑桥滤片(Filter-G₁, Filter-G₂)的 EPR 本底信号进行了测量对比, 并对用这些滤片捕集红中南海牌卷烟(北京卷烟厂, $n=15$)烟气中固相自由基的结果采用显著性检验的统计方法进行分析对比(表 1). 由表 1 中的数据经过计算可知, 3 种剑桥滤片(Filter-E, Filter-G₁, Filter-G₂)的本底信号强度分别为捕集了红中南海牌卷烟烟气中固相自由基的剑桥滤片 EPR 信号强度的大约 70%, 72% 和 42%, 说明其 EPR 本底信号确实很高, 若用剑桥滤片捕集卷烟烟气中固相自由基, 很可能影响测定结果的准确性; 不同产地的剑桥滤片(Filter-E 与 Filter-G₁, Filter-G₂)的本底信号强度有显著性差异(t 值分别为 48.34, 33.37, $P<0.005$), 相同产地不同批次的剑桥滤片(Filter-G₁ 与 Filter-G₂)的本底信号强度也有显著性差异(t 值为 14.28, $P<0.005$); 采用不同产地的剑桥滤片捕集红中南海牌卷烟烟气中固相自由基的结果有显著性差异(t 值分别为 7.55, 13.76, $P<0.005$), 采用相同产地不同批次的剑桥滤片(Filter-G₁ 与 Filter-G₂)捕集红中南海牌卷烟烟气中固相自由基的结果也有显著性差异(t 值为 3.37, $P<0.005$). 将剑桥滤片放在固相自由基滤片上面并放入烟气捕集器, 合上烟气捕集器, 按 ISO 4387 的方法进行吸烟实验^[17], 将吸烟后的剑桥滤片和固相自由基滤片取

出, 按实验部分所述方法进行(spins/cig)检测, 以测得的固相自由基滤片捕集的固相自由基数量除以上述两种滤片捕集的固相自由基数量之和, 得到使用剑桥滤片的固相自由基透过率为 $20.8\% \pm 1.6\%$ ($n=9$), 说明有大量的固相自由基没有被剑桥滤片捕集到. 综上所述, 不宜采用以剑桥滤片捕集固相自由基的方式定量检测固相自由基.

2.1.2 用固相自由基滤片捕集主流卷烟烟气中固相自由基的效果

取 10 张单层固相自由基滤片按实验部分所述的方法进行捕集烟气固相自由基实验, 测得其相对于空白固相自由基滤片的 EPR 信号强度($\times 10^7$)为: 1.619 ± 0.176 . 取双层固相自由基滤片进行捕集烟气固相自由基实验($n=10$), 测得其相对于空白固相自由基滤片的 EPR 信号强度($\times 10^7$)为: 第一层: 1.645 ± 0.115 , 第二层: -0.33 ± 0.336 , 负值是检测误差所致. 由以上实验结果可以断定, 固相自由基没有透过第一层滤片. 这说明单层固相自由基滤片即可完全将烟气固相自由基捕集. 另外, 因为空白固相自由基滤片的 EPR 信号强度与捕集了红中南海牌卷烟烟气中固相自由基的固相自由基滤片的 EPR 信号强度相差 3 个数量级以上, 所以空白固相自由基滤片的 EPR 信号对固相自由基的测定影响是比较小的.

为了进一步探讨固相自由基滤片可以完全将烟气固相自由基捕集而剑桥滤片不行的原因, 本研究通过扫描电镜对固相自由基滤片和剑桥滤片的结构进行了观察. 通过分析扫描电镜照片(图 2, 放大 5000 倍), 发现固相自由基滤片的物理结构比剑桥滤片紧密得多, 因此, 固相自由基滤片对固相自由基的过滤(捕集)能力比剑桥滤片要强得多, 从而可以几乎完全将烟气固相自由基捕集.

2.2 影响固相自由基测定的因素

2.2.1 烟气颗粒物中的水分对固相自由基测定结果的影响

将捕集了红中南海牌卷烟烟气固相自由基的 5 张固相自由基滤片按实验部分所述的方法在相同的 EPR 测定条件下分别测定其在检测环境中平衡 30 min 时在在硅

表 1 不同剑桥滤片捕集卷烟烟气中固相自由基的效果^a

Table 1 The EPR detection results of Zhongnanhai cigarettes using different lots cambridge filter pads ($n=15$)^a

Cambridge filter Pad	EPR signal intensity ($\times 10^7$) blank	EPR signal intensity ($\times 10^7$) after capture	EPR signal intensity ($\times 10^7$) increased
Filter-G ₁	1.269 ± 0.042	1.805 ± 0.106	0.536 ± 0.114
Filter-G ₂	1.050 ± 0.042	1.458 ± 0.083	0.408 ± 0.093
Filter-E	0.562 ± 0.038	1.337 ± 0.025	0.775 ± 0.045

^a The experiment was performed with ESP-300 EPR spectrometer in the laboratory of Beijing Institute of Radiation Medicine. Filter-E: Cambridge Filter pads that were bought from Cerulean (England). Filter-G₁ and Filter-G₂: Cambridge Filter Pads that were bought from Borgwaldt (Germany) but belonged to different lots.

胶干燥器中平衡 24 h 后的 EPR 信号强度, 发现其信号强度分别为 $(21.28 \pm 0.41) \times 10^7$ 和 $(20.64 \pm 0.28) \times 10^7$. 这表明在检测环境中平衡 30 min 后, 卷烟烟气相物中的水并没有导致固相自由基测定信号强度降低.

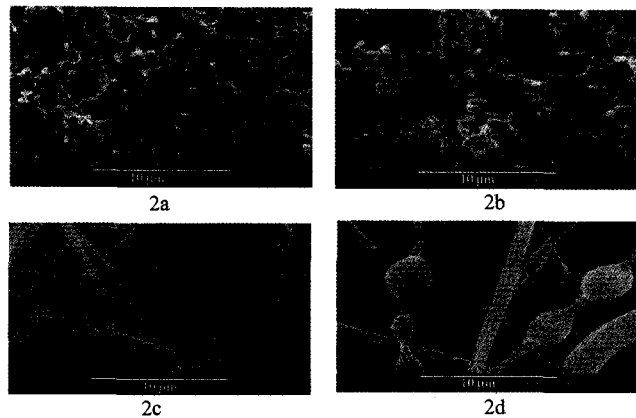


图 2 固相自由基滤片和剑桥滤片的扫描电镜照片(放大 5000 倍)

Figure 2 SEM images of particulate-phase free radical filter pads and Cambridge filter pads with and without particulate-phase free radicals

2a: Particulate-phase free radical filter pad without particulate-phase free radicals; 2b: Particulate-phase free radical filter pad with particulate-phase free radicals; 2c: Cambridge filter pad without particulate-phase free radicals; 2d: Cambridge filter pad with particulate-phase free radicals

将捕集了固相自由基的 5 张固相自由基滤片在检测环境中平衡不同的时间, 按实验部分所述的方法在相同的 EPR 测定条件下分别进行测定, 其信号强度的变化见图 3. 从图 3 可以看出, 固相自由基滤片在检测环境中平衡 30 min 后, 其 EPR 信号趋于稳定, 因此, 在检测样品以前, 将膜片在室温下放置 30~60 min, 平衡其含

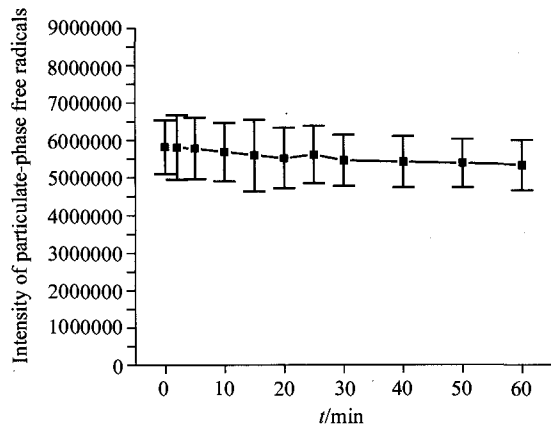


图 3 不同平衡时间固相自由基 EPR(双积分)信号强度的变化
Figure 3 The change of EPR signal intensity of particulate-phase free radicals with the conditioning time ($n=5$)

水量, 则可克服水分的影响.

2.2.2 固相自由基测定的其它影响因素及测定方法的优化

以往烟气固相自由基测定中采取不同的计算方法^[9,11,14], 往往导致用不同的电子自旋共振波谱仪测定同一卷烟样品时得到不一致的结果; 即便是使用同一仪器, 也需要每天校准以获得较好的重复性. 本研究采用以在相同条件下测得的 DPPH 的 EPR 信号强度与强煤的 EPR 信号强度相比得到的相对 EPR 信号强度与自由基的自旋数分别为纵坐标和横坐标建立校准曲线的方法来计算烟气固相自由基的量, 最终消除了使用不同的电子自旋共振波谱仪导致的测定结果差异.

Muller 等^[16]采用先以溶剂萃取剑桥滤片上捕集的烟气固相自由基再进行 EPR 检测的方式测定烟气固相自由基, 可以得到本底很小的烟气固相自由基的 EPR 波谱图. 但本研究发现用这种方法在测定低含量的烟气固相自由基的卷烟样品时, 检测灵敏度不够, Baum 等^[15]也建议采取对滤片直接进行 EPR 检测的方法测定烟气固相自由基, 以提高检测灵敏度, 于是本研究最终采取直接测定捕集了烟气固相自由基的固相自由基滤片的方法.

为了达到最好的检测灵敏度, 应根据不同型号实验仪器的具体情况进行 EPR 测定参数的选择, EPR 测定参数的设置可以略有不同, EMX-6 和 ESP-300 型电子顺磁共振波谱仪的最终优化测定条件见 1.4 节.

实验中还发现, 使用不同的石英管对测定结果的重复性有影响. 为了获得好的重复性, 应采用高精度石英管, 最好在实验中采用同一支石英管.

2.3 固相自由基测定方法的验证与应用

2.3.1 固相自由基测定方法的验证

在北京卷烟厂技术中心实际测量得到的回归分析关系方程为: $R = 6.648 \times 10^{-16} - 0.01139$ ($R^2 = 0.9999$, $n=5$), 其中, R 为相对 EPR 信号强度, N 为 DPPH 各浓度对应的自旋数, 范围 $2.82 \times 10^{13} \sim 1.81 \times 10^{15}$ spins. 实际测量得到的回归曲线见图 4. 在北京放射医学研究所实际测量得到的回归分析关系方程的回归系数也很高 ($R = 3.32 \times 10^{-16} + 1.102$, $R^2 = 0.9998$, $n=5$).

以测定最低浓度的 DPPH 标准样品时, 经过 5 次重复测定得到的对应于固相自由基浓度的标准偏差的 3 倍, 作为测定方法的检出限, 实际测得的检出限为 2.046×10^{13} spins/cig, 小于最低焦油量参比样品烟 1R5F (焦油量为 1 mg/cig, University of Kentucky) 的烟气固相自由基的释放量 (大约 6.4×10^{13} spins/cig). 按实验部分所述方法, 用固相自由基滤片捕集参比样品烟

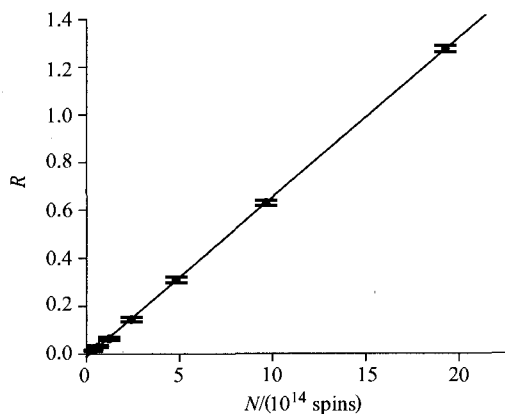


图 4 用固相自由基滤片捕集方法测定固相自由基的回归曲线

Figure 4 Calibration curve for the determination of particulate-phase free radicals

2R4F (University of Kentucky)烟气中的固相自由基进行测定得到的 EPR 波谱图($g=2.0032$)见图 5.

在北京放射医学研究所和北京卷烟厂技术中心的实验室用相同的方法, 分别采用 ESP-300 型和 EMX-6 型电子自旋共振波谱仪测定红中南海牌卷烟, 测定结果见表 2. 从表 2 可以看出, 以上两个实验室采用此方法测定红中南海牌卷烟的相对标准偏差(RSD)分别为 3.4%和 3.5%, 说明此方法有很好的重复性, 在 95%的置信度下, 在上述两个实验室测定得到的两组数据的 $F_{计算}(1.44) < F_{表}(9.60)$, 说明两个实验室测定结果的精密性无显著性差异; $t_{计算}(0.476) < t_{表}(2.78)$, 说明两个实验室测定结果的平均值无显著性差异, 以上充分说明采用此方法测定同一样品, 在两个实验室间有很好的重现性.

由于目前没有卷烟烟气固相自由基的标准样品, 因此, 目前所有对于卷烟烟气固相自由基测定方法的研究中都无法提供方法回收率的实验结果.

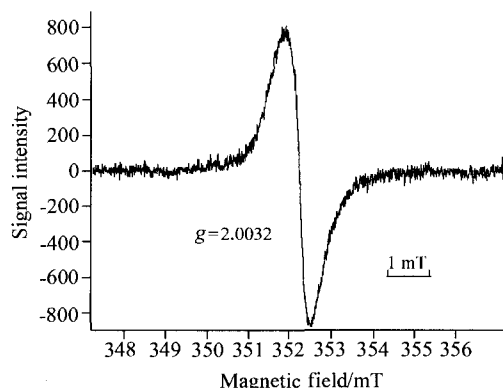


图 5 用固相自由基滤片捕集参比样品烟 2R4F 烟气中的固相自由基进行测定得到的 EPR 波谱图($g=2.0032$)

Figure 5 EPR spectrum of particulate-phase free radicals for only one piece of 2R4F reference cigarette collected on a particulate-phase free radical filter pad ($g=2.0032$)

The spectrum was obtained at 295 K with EMX-6 using following settings: modulation amplitude, 0.10 mT at 100 kHz; field scan range, 10.0 mT; scan time, 83.89 s; center field, 351.9 mT; time constant, 10.24 ms; scans, 2 and microwave power 5 mW in the laboratory of Beijing Cigarette Factory

2.3.2 部分市售卷烟烟气中固相自由基的测定结果

用本论文研究的固相自由基测定方法对市场上销售的 20 个牌号的卷烟进行了检测, 这些卷烟包括了 6 种国产烤烟型卷烟, 6 种国产混合性卷烟, 2 种外国产烤烟型卷烟, 6 种外国产混合性卷烟, 每种卷烟的检测数量都是 20 支, 具体结果见表 3.

表 2 烟气固相自由基测定方法的重复性和重现性

Table 2 Method repeatability and reproducibility

Group	Number of cigarettes ^a	Particulate-phase free radical ($\times 10^{14}$ spins/cigarette) ^a	Number of cigarettes ^b	Particulate-phase free radical ($\times 10^{14}$ spins/cigarette) ^b
1	15	1.86 \pm 0.19	15	1.76 \pm 0.17
2	15	1.82 \pm 0.23	15	1.72 \pm 0.17
3	15	1.77 \pm 0.22	15	1.70 \pm 0.16
4	15	1.88 \pm 0.12	15	1.86 \pm 0.13
5	15	1.73 \pm 0.15	15	1.76 \pm 0.12
Average		1.81 \pm 0.18		1.76 \pm 0.15
RSD		3.4%		3.5%

^a ESP-300 EPR spectrometer in the laboratory of Beijing institute of radiation medicine. ^b EMX-6 EPR spectrometer in the laboratory of Beijing Cigarette Factory.

表 3 20 种市售卷烟烟气固相自由基测定结果($n=20$)

Table 3 Concentrations of particulate-phase free radicals determined for some commercial cigarettes ($n=20$)

卷烟产品名称	固相自由基量($\times 10^{13}$ spins/cig)	盒标焦油量(mg/cig)
1 mg 中南海	8.09 \pm 0.82	1
3 mg 中南海	9.00 \pm 0.85	3
5 mg 中南海	8.91 \pm 0.62	5

续表

卷烟产品名称	固相自由基量($\times 10^{13}$ spins/cig)	盒标焦油量(mg/cig)
8 mg 中南海	12.90 \pm 0.59	8
10 mg 中南海	16.60 \pm 1.50	10
浓味中南海	21.10 \pm 1.48	14
Davidoff one	7.24 \pm 0.87	1
Merit	10.10 \pm 0.99	3
Davidoff lights	8.40 \pm 1.03	6
Parliament	12.00 \pm 0.92	9
Davidoff classic	9.05 \pm 1.01	12
Lark	12.8 \pm 0.53	12
红中南海(软)	8.91 \pm 0.28	12
红北京	17.81 \pm 1.29	12
大前门	12.31 \pm 0.61	13
特制高级中南海	11.83 \pm 1.16	14
20 mm 红中南海	9.49 \pm 1.19	15
金北京	16.52 \pm 1.14	15
555	11.54 \pm 1.15	12
Davidoff virginia	10.12 \pm 0.53	12

References

- 1 Pryor, W. A.; Church, D. F.; Evans, M. D.; et al. *Free Radical Biol. Med.* **1990**, 8(3), 275.
- 2 Pryor, W. A. *Br. J. Cancer.* **1997**, (Suppl. 8), 19.
- 3 Culcasi, M.; Muller, A.; Mercier, A.; Clement, J. L.; Payet, O.; Rockenbauer, A.; Marchanad, V.; Pietri, S. *Chem. Biol. Interat.* **2006**, 164(3), 215.
- 4 Church, D. F.; Pryor, W. A. *Environ. Health Perspect.* **1985**, 65, 111.
- 5 Kodama, M.; Kaneko, M.; Aida, M.; Inoue, F.; Nakayama, T.; Akimoto, M. *Anticancer* **1997**, 17, 433.
- 6 Forbes, W. F.; Robinson, J. C.; Wright, G. F. *Can. J. Biochem.* **1967**, 45, 1087.
- 7 Seliger, H. H.; Biggley, W. H.; Hamman, J. P. *Science* **1974**, 185, 253.
- 8 Pryor, W. A.; Prier, D. G.; Church, D. F. *Environ. Health Perspect.* **1983**, 47, 345.
- 9 Deliconstantinos, G.; Villiotou, V.; Stavrides, J. C. *Anti-cancer Res.* **1994**, 14, 2717.
- 10 Pryor, W. A. *Free Radical Biol. Med.* **1992**, 13, 659.
- 11 Blakley, R. L.; Henry, D. D.; Smith, C. J. *Food Chem. Toxicol.* **2001**, 39, 401
- 12 Zhou, J.; Dong, J.-X.; Qi, W.-C.; Cao, F.-J. In *Proceedings of the CORESTA Congress, Yokohama, 1996*.
- 13 Yang, F.-J.; Zhao, B. L.; Xin, W.-J. *Environ. Chem.* **1992**, 11, 50-55.
- 14 Emami, I.; Masselot, D.; Vandoolaege, P.; Gac, S.; Rolando, C. In *Proceedings of the CORESTA ST Joint Meeting, Freiburg, 2003*.
- 15 Baum, S. L.; Anderson, I. G. M.; Baker, R. R.; Murphy, D. M.; Rowlands, C. C. *Anal. Chim. Acta* **2003**, 481, 1.
- 16 Muller, C.; Intorp, M. In *Proceedings of the CORESTA ST Joint Meeting, Freiburg, 2003*.
- 17 ISO 4387: 2000(E). *Cigarettes-Determination of Total and Nicotine-Free Dry Particulate Matter Using A Routine Analytical Smoking Machine*, Geneva, Switzerland, **2000**.

(A0704271 QIN, X. Q.; LING, J.)