



Zawartość metali ciężkich w różnych gatunkach tytoniu oraz w dymie tytoniowym

Heavy metals content in various types of tobacco and tobacco smoke

Anna Tyka^{1,A–D}, Monika Rusin^{2,A,E–F}

¹ Koło Naukowe, Katedra Zdrowia Środowiskowego, Wydział Nauk o Zdrowiu w Bytomiu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, Polska

² Katedra Zdrowia Środowiskowego, Wydział Nauk o Zdrowiu w Bytomiu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, Polska

A – Koncepcja i projekt badania, B – Gromadzenie i/lub zestawianie danych, C – Analiza i interpretacja danych, D – Napisanie artykułu, E – Krytyczne zrecenzowanie artykułu, F – Zatwierdzenie ostatecznej wersji artykułu

Tyka A, Rusin M. Zawartość metali ciężkich w różnych gatunkach tytoniu oraz w dymie tytoniowym. Med Srod. doi: 10.26444/ms/133102

■ Streszczenie

Cel pracy. Wśród substancji toksycznych obecnych w dymie tytoniowym wyróżnia się metale ciężkie, takie jak kadm (Cd), ołów (Pb) i rtęć (Hg), co może być wynikiem zanieczyszczenia tytoniu uprawianego w środowisku naturalnym. Obecność metali ciężkich w tytoniu stwarza ryzyko zdrowotne zarówno dla osób palących czynnie wyroby tytoniowe, jak i dla tych narażonych na palenie bierne. Celem pracy jest porównanie wielkości stężeń metali ciężkich (Cd, Hg, Pb) w tytoniu pochodzącym z różnego rodzaju papierosów oraz w dymie tytoniowym.

Materiał i metody. Zebrano 25 próbek tytoniu pochodzących od 8 różnych producentów papierosów. Próbkę dymu tytoniowego pobrano w trakcie wypalania 3 sztuk papierosów z każdego rodzaju. Próby tytoniu, jak i dymu tytoniowego poddano procesowi mineralizacji, a następnie oznaczono stężenie Cd, Pb i Hg. Na podstawie otrzymanych wyników dokonano analizy statystycznej zależności pomiędzy stężeniem Cd w tytoniu oraz w dymie tytoniowym.

Wyniki. Średnia zawartość Cd i Hg w badanych tytoniu była zróżnicowana i wynosiła odpowiednio 1,073–1,634 mg/kg i 0,203–0,126 mg/kg, natomiast stężenie Pb zostało oznaczone tylko w jednej próbce i wyniosło 0,221 mg/kg. W przypadku dymu tytoniowego średnia zawartość Cd wyniosła 0,023–0,054 µg/próbę, a stężenia Pb i Hg mieściły się poniżej granicy oznaczalności aparatury badawczej. Wykazano dodatnią korelację pomiędzy zawartością Cd w tytoniu a jego zawartością w dymie tytoniowym; zależność nie jest istotna statystycznie.

Wnioski. Badane próbki tytoniu charakteryzowały się zróżnicowanym stężeniem metali ciężkich w zależności od rodzaju i marki papierosów. Najwyższym stężeniem w tytoniu oraz w dymie tytoniowym cechował się Cd. Próbkę dymu tytoniowego posiadały niską zawartość Pb oraz Hg.

■ Słowa kluczowe

tytoń, kadm, metale ciężkie, ołów, dym tytoniowy, rtęć

■ Abstract

Objectives. Heavy metals, such as cadmium (Cd), lead (Pb) and mercury (Hg), are among the toxic substances present in tobacco smoke. This is the result of contamination of tobacco grown in the natural environment. The presence of heavy metals in tobacco poses health risk for active and passive smokers. The aim of the study was to compare the concentration of heavy metals (Cd, Hg, Pb) in tobacco from various types of cigarettes and in tobacco smoke.

Materials and method. 25 tobacco samples from 8 different cigarette producers were collected. Tobacco smoke samples were collected during the burning of 3 cigarettes of each type. The tobacco and tobacco smoke samples were subjected to the mineralization process, and then the concentration of Cd, Pb and Hg was determined. On the basis of the obtained results, a statistical analysis of the relationship between the concentration of Cd in tobacco and in tobacco smoke was performed.

Results. The mean content of Cd and Hg in tobacco varied and amounted to 1.073–1.634 mg/kg and 0.203–0.126 mg/kg, respectively, while the Pb concentration was determined only in one sample (0.221 mg/kg). In the case of tobacco smoke, the mean Cd content was 0.023–0.054 µg/sample, and the concentrations of Pb and Hg were below the limit of quantification. A positive correlation was found between the Cd content in tobacco and its content in tobacco smoke; the relationship was statistically insignificant.

Conclusions. Among heavy metals, the highest concentration in tobacco and in tobacco smoke was found in the case of Cd. The tested tobacco samples were characterized by different concentrations of heavy metals depending on the type and brand of cigarettes. The tobacco smoke samples were characterized by a low content of Pb and Hg.

■ Key words

tobacco, heavy metals, cadmium, mercury, lead, tobacco smoke

WPROWADZENIE

Tytoń jest najbardziej powszechnie uprawianą rośliną na świecie spośród tych, które nie są przeznaczane do celów spożywczych [1]. Światowa produkcja tytoniu opiera się na trzech odmianach uprawianych w ponad 124 krajach. Wyróżnia się odmianę Burley, Virginia oraz tytoń orientalny. Każda z wymienionych odmian tytoniu różni się specyfiką uprawy, uwzględniającą parametry klimatyczne oraz glebowe, a także metodą obróbki. Odmiana Burley uprawiana jest głównie w Stanach Zjednoczonych, Ameryce Środkowej oraz Ugandzie. Wymaga ona intensywnego nawożenia i odpowiednio nawodnionej gleby [1]. Tytoń odmiany Virginia wymaga lekkich, piaszczystych gleb oraz ciepłego klimatu zwrotnikowego, który charakterystyczny jest dla krajów będących jego głównymi producentami: Brazylii, Argentyny, Chin, Indii, Tanzanii [1, 2]. W Turcji, na Bałkanach oraz na Bliskim Wschodzie uprawiany jest tytoń orientalny, będący najrzadziej występującą odmianą tej rośliny, która do swojego wzrostu potrzebuje długookresowych wysokich temperatur powietrza [1]. Liderem światowego przemysłu tytoniowego są kraje azjatyckie (68% udziału w produkcji tytoniu), głównie Chiny. W 2013 roku wzrost produkcji tytoniu odnotowano również w Ameryce Południowej oraz Afryce [2].

Substancją działającą uzależniająco na osobę palącą tytoń jest nikotyna, która wykazuje zdolności psychoaktywne o silnym działaniu wzmacniającym ośrodkowy układ nerwowy [1, 3, 4]. W 2010 roku palenie czynne, jak i bierne było przyczyną 6,3 mln zgonów na całym świecie [3].

W trakcie procesu spalania tytoniu w papierosie emitowane są dwa rodzaje szkodliwych dymów. Pierwszym z nich jest dym pochodzący ze strumienia głównego, który dociera bezpośrednio do płuc osoby palącej. Ryzykiem zdrowotnym wynikającym z palenia czynnego obarczona jest wyłącznie osoba fizycznie paląca wyrób tytoniowy [5]. Palenie bierne natomiast stanowi zagrożenie dla wszystkich osób przebywających w otoczeniu palacza. Narażenie wynika z wdechania dymu papierosowego, określanego jako strumień boczny, w którym również obecne są substancje szkodliwe dla zdrowia, podobnie jak w dymie strumienia głównego [3, 5].

Krzewy z rodzaju *Nicotiana tabacum* pobierają z gleby wszystkie substancje korzystne dla rozwoju rośliny, a także zanieczyszczenia biochemiczne: pestycydy i nawozy sztuczne [5]. Tytoń oraz dym tytoniowy zawierają 93 szkodliwe lub potencjalnie szkodliwe substancje, co zostało udowodnione przez Amerykańską Agencję ds. Żywności i Leków (Food and Drug Administration – FDA) w 2012 roku [6]. W wyniku palenia tytoniu do organizmu człowieka wprowadzane są związki chemiczne należące do lotnych związków organicznych, a także wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA) oraz pierwiastki z grupy metali ciężkich (cynk, kadm, chrom, ołów, nikiel, arsen, rtęć) [5, 6].

Uprawa tytoniu na glebie zanieczyszczonej kadmem (Cd) stwarza ryzyko kumulacji metalu w roślinie. W trakcie palenia papierosów lotne związki Cd przedostają się do organizmu palacza. Proces bioakumulacji Cd zachodzi we wszystkich tkankach organizmu, gdzie okres jego półtrwania wynosi od 10 do 20 lat [7]. Badania sugerują, że narażenie na kadm pochodzący z dymu tytoniowego może skutkować tworzeniem się blaszek miażdżycowych [8]. Wykazano, że Cd, posiadający funkcję hamowania procesów naprawczych w komórkach, indukuje przewlekłe stany zapalne tkanek, w tym zwłóknianie tkanki płucnej, rozwój procesów nowotworowych oraz stałe

zwięźnienie dróg oddechowych, będące objawem przewlekłej obturacyjnej choroby płuc [7, 9]. Wysokie stężenia Cd we krwi są związane z rozwojem raka jamy ustnej, krtani oraz gardła u palaczy [7, 10]. Cd zawarty w dymie tytoniowym ulega kumulacji w nerkach, powodując ich dysfunkcję [11]. Całkowity poziom Cd w korze nerkowej organizmu palacza może osiągnąć wartość od 50 do 300 µg/g mokrej masy. Wykazuje on działanie nefrotoksyczne, uszkadzając kanaliki nerkowe [7].

Przedostanie się związków rtęci (Hg) do środowiska naturalnego powoduje jego zanieczyszczenie. Do eliminacji Hg z gleby wykorzystuje się m.in. transgeniczny tytoń. Fitowalatalizacja to metoda, dzięki której modyfikowany tytoń pochłania związki Hg z gleby, a następnie uwalnia pierwiastek do atmosfery. Tytoń stosowany do eliminacji ksenobiotyków ze środowiska glebowego nie powinien być wykorzystywany do produkcji wyrobów tytoniowych [12, 13]. Mimo to odnotowuje się obecność Hg w tytoniu. Długotrwałe narażenie drogą inhalacyjną na ten pierwiastek może przyczynić się do tworzenia zakrzepów krwi w naczyniach krwionośnych, przyspieszać procesy miażdżycowe oraz powodować obkurczanie naczyń krwionośnych [14].

Ołów (Pb) to srebrzystoszary metal, cechujący się wysoką toksycznością. Narażenie na ten metal drogą inhalacyjną stanowi duże ryzyko dla osób nałogowo palących wyroby tytoniowe oraz tych narażonych na bierne palenie [15]. Sytuacja ta dotyczy także kobiet ciężarnych palących tytoń w trakcie trwania ciąży. Wykazano, że wysokie stężenie ołowiu we krwi matki nałogowo palącej tytoń może mieć wpływ na obniżenie masy urodzeniowej noworodka [16]. Szacuje się, że okres półtrwania Pb w organizmie człowieka wynosi nawet 15 lat, a jego kumulacja w kościach może powodować wydłużenie tego okresu o kolejne 7 lat [16, 17]. Przewlekłe narażenie na wysokie stężenia Pb wiąże się z ryzykiem wystąpienia niedokrwiistości [15, 18]. Wykazano również zależność między podwyższonym stężeniem Pb we krwi a wzrostem ciśnienia skurczowego oraz rozkurczowego krwi [15]. Niekorzystne procesy w układzie sercowo-naczyniowym, spowodowane obecnością szkodliwych substancji w dymie papierosowym, podnoszą ryzyko wystąpienia: zawału mięśnia sercowego, choroby niedokrwiennej serca, przewlekłego nadciśnienia tętniczego, udaru mózgu, miażdżycy tętnic oraz niewydolności mięśnia sercowego [6, 19].

CEL PRACY

Celem pracy jest analiza i porównanie stężenia metali ciężkich w różnych gatunkach tytoniu oraz w uwalnianym z papierosów dymie tytoniowym.

MATERIAŁ I METODY

Dobór i zbieranie próbek

Zebrano 25 próbek tytoniu pochodzącego z papierosów. Wyroby tytoniowe zostały kupione w Polsce, posiadały akcyzę podatkową. Próby tytoniu pochodziły od ośmiu producentów wytwarzających wiodące marki papierosów, zostały one ponumerowane cyframi rzymskimi (I–VIII). W badaniu wyróżniono również siedem rodzajów papierosów, takich jak: grube „light”, grube „mocne”, grube mentolowe, grube „light” z mentolowym klikiem, cienkie „light”, cienkie mentolowe, cienkie „light” z mentolowym klikiem (tab. 1).

Tabela 1. Liczebność próbek poszczególnych marek papierosów, z uwzględnieniem ich rodzaju

Marka papierosów	Liczba próbek	Rodzaj papierosów
I	4	grube „light”, grube „mocne”, cienkie „light”, cienkie „light” z mentolowym klikkiem
II	4	grube „light”, grube „mocne”, cienkie „light”, cienkie „light” z mentolowym klikkiem
III	3	grube „light”, cienkie „light”, cienkie mentolowe
IV	3	grube „light”, grube „mocne”, cienkie mentolowe
V	5	grube „mocne”, grube „light” z mentolowym klikkiem, cienkie „light”, cienkie mentolowe, cienkie „light” z mentolowym klikkiem
VI	2	grube mentolowe, cienkie mentolowe
VII	2	cienkie „light”, cienkie mentolowe
VIII	2	cienkie mentolowe, cienkie „light” z mentolowym klikkiem

Alternatywę dla papierosów mentolowych stanowią papierosy typu „light” z mentolowym klikkiem. Różnią się one między sobą tym, iż w papierosach z mentolowym klikkiem w filtrze papierosa umieszczona jest kapsułka zawierająca mentolowy aromat. By go uzyskać, palacz musi zgnieść kapsułkę. Na mocy Dyrektywy Parlamentu Europejskiego i Rady 2014/40/UE z dnia 3 kwietnia 2014 roku w sprawie zbliżenia przepisów ustawowych, wykonawczych i administracyjnych państw członkowskich w sprawie produkcji, prezentowania i sprzedaży wyrobów tytoniowych i powiązanych wyrobów (tzw. dyrektywy tytoniowej) od 20 maja 2020 roku we wszystkich państwach członkowskich Unii Europejskiej obowiązuje zakaz sprzedaży wyrobów tytoniowych posiadających aromat mentolowy lub kapsułkę mentolową, potocznie nazywaną „klikkiem” [20]. W momencie zakupu wyrobów tytoniowych na rzecz niniejszego badania zarówno papierosy mentolowe, jak i te zawierające kapsułkę mentolową były jeszcze dostępne w sprzedaży.

Oznaczenia analityczne

Próbki tytoniu o średniej masie 0,5 g pozyskano z 3–4 sztuk papierosów (w przypadku papierosów o grubszej średnicy) lub z 4–5 sztuk papierosów (w przypadku papierosów cienkich). Każdą z 25 pobranych próbek tytoniu zmielono przy użyciu laboratoryjnego młynka wibracyjnego LMW-s firmy TESTCHEM (Polska), by uzyskać jednolite próby. Po zmieleniu każdej z próbek misa mieląca młynka była czyszczona przy użyciu wody wraz z detergentem oraz osuszana. Zmielone próbki zostały zważone w naczynkach wagowych przy pomocy wagi analitycznej PS 750/X firmy RADWAG (Polska), przy czym uzyskano naważki o masie 0,5 g materiału badawczego. Następnie każdą naważkę przesypano do naczynia teflonowego, a naczynko wagowe wypłukano z pozostałości wodą ultraczystą. Na kolejnym etapie dolano do naczynia teflonowego 8 ml 65-proc. kwasu azotowego spektralnie czystego stężonego i 1 ml 30-proc. nadtlenu wodoru. Naczynie teflonowe przełożono do mineralizatora mikrofalowego MAGNUM II firmy ERTEC (Polska), gdzie w temperaturze 295–300°C, przy 100-proc. mocy, ciśnieniu 42–45 bar, czasie mineralizacji 7 min oraz czasie schłodzenia próbek 10 min przeprowadzono proces mineralizacji. Po jego zakończeniu zmineralizowane próbki przelano do kolby miarowej o pojemności 25 i 50 ml, a także uzupełniono wodą ultraczystą do oznaczonego na kolbie poziomu. Następnie

oznaczono stężenie Pb oraz Cd w próbkach metodą bezpłomieniowej absorpcji atomowej z atomizacją elektrotermiczną (ET-AAS) na spektrometrze SavantAA Sigma firmy GBC (Australia). Natomiast stężenie Hg w próbkach oznaczono przy wykorzystaniu techniki generacji zimnych par w połączeniu z atomową spektrometrią fluorescencyjną (CV-AFS) na analizatorze rtęci Milenium Merlin 10.025 firmy PSA (Wielka Brytania).

W celu porównania zawartości metali ciężkich w tytoniu z ich stężeniem w dymie tytoniowym pobrano również 25 próbek dymu tytoniowego z każdego ww. rodzaju tytoniu. Próbki dymu tytoniowego zostały pobrane za pomocą aspiratora osobistego Gilian GilAir3 firmy Sensidyne (USA) oraz filtrów membranowych Pragopor 4 firmy PRAGOCHEM spol. s r.o. (Indie) o średnicy 35 mm. Filtr był każdorazowo wymieniany w momencie zakończenia procesu wypalania papierosów danego rodzaju. Uzyskano 25 filtrów z osadem dymu tytoniowego pochodzącego z 3 sztuk tłących się papierosów, z każdego rodzaju zebranego tytoniu. Czas pobrania dymu z każdego z tłących się papierosów wynosił 9–10 min. Za każdym razem zachowywano odstęp ok. 10–15 cm między tłącym się papierosem a aspiratorem osobistym. Proces wypalania papierosów odbywał się w pomieszczeniu zamkniętym, a po zakończeniu spalania każdego rodzaju tytoniu pomieszczenie to było dokładnie wietrzone. Filtry zawierające osadzone zanieczyszczenia pochodzące z dymu tytoniowego były następnie odpowiednio zabezpieczane folią aluminiową i przechowywane w temperaturze ok. 4–6°C. Filtry każdorazowo ważono w naczynku wagowym, a następnie przekładano do naczynia teflonowego. Dalsza procedura postępowania była taka sama jak w przypadku próbek tytoniu.

Granica oznaczalności (ang. *limit of quantification* – LOQ) aparatury pomiarowej dla Cd i Pb wynosiła 0,0035 mg/l, a w przypadku Hg – 0,0004 mg/l.

Analiza statystyczna

Do przeprowadzenia analizy statystycznej wykorzystano program Statistica wersja 13.0PL. W programie zweryfikowano normalność rozkładu zmiennych pochodzących z oznaczeń stężenia Cd w tytoniu oraz dymie tytoniowym. Normalność rozkładu zbadano za pomocą testu Shapiro-Wilka. Następnie zastosowano test nieparametryczny, ponieważ jedna z badanych cech nie należała do rozkładu normalnego ($p < 0,05$). Analiza istotności statystycznej oraz analiza korelacji pomiędzy zawartością Cd w dymie tytoniowym a zawartością tego pierwiastka w tytoniu została wykonana za pomocą testu rang Spearmana. Dla testu R Spearmana przyjęto poziom istotności $p < 0,05$. Korelacja porządku R Spearmana przyjmująca wartości od 0 do 1 świadczy o korelacji dodatniej, zaś przyjmująca wartości od -1 do 0 – o korelacji ujemnej.

WYNIKI

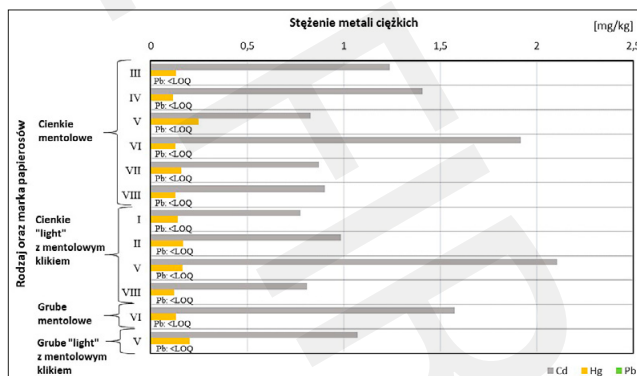
Stężenie metali ciężkich w tytoniu oraz dymie tytoniowym pochodzącym z papierosów zawierających aromat mentolowy oraz papierosów typu „light” z mentolowym klikkiem

Badany susz tytoniowy cechował się zróżnicowanym stopniem kumulacji Cd. Najwyższą zawartość Cd w podgrupie papierosów cienkich mentolowych oznaczono w papierosach marki VI (1,916 mg/kg). Wysokie stężenie Cd wykryto

także w papierosach marki IV oraz III (odpowiednio 1,407 i 1,239 mg/kg). Najniższe zawartości tego pierwiastka uzyskano w tytoniu z papierosów marki V, VII oraz VIII (odpowiednio 0,829, 0,871 i 0,901 mg/kg). W przypadku tytoniu z podgrupy papierosów cienkich „light” z mentolowym klikiem najwyższe stężenie Cd wykazano w papierosach marki V (2,104 mg/kg), natomiast najniższe – w papierosach marki I (0,777 mg/kg). Średnią koncentracją Cd cechowały się papierosy marki II oraz VIII (odpowiednio 0,985 i 0,811 mg/kg). Zawartość Cd w tytoniu pobranym z papierosów grubych mentolowych marki VI (1,576 mg/kg) była wysoka w porównaniu z próbkami pochodzącymi z papierosów grubych „light” z mentolowym klikiem marki V (1,073 mg/kg) (ryc. 1). Spośród wszystkich podgrup papierosów z dodatkiem mentolowego aromatu najwyższe średnie stężenie Cd, o wartości 1,576 mg/kg, odnotowano w tytoniu pochodzącym z papierosów grubych mentolowych. Niewielkie różnice w średniej zawartości tego pierwiastka zaobserwowano w tytoniu pobranym z papierosów cienkich mentolowych (1,193 mg/kg), cienkich typu „light” z mentolowym klikiem (1,169 mg/kg) oraz grubych „light” z mentolowym klikiem (1,073 mg/kg).

W przypadku tytoniu pochodzącego z papierosów z dodatkiem aromatu mentolowego, najwyższe stężenie Hg oznaczono w papierosach marki V, należących do podgrupy papierosów cienkich mentolowych (0,250 mg/kg). Najniższe stężenie Hg w tej podgrupie papierosów odnotowano w tytoniu marki IV (0,117 mg/kg), a nieco wyższą zawartość tego pierwiastka uzyskano w przypadku papierosów marki VI, VIII, III oraz VII (odpowiednio 0,128, 0,129, 0,133 i 0,159 mg/kg). Wysokie stężenia Hg w tytoniu pozyskanym z papierosów cienkich typu „light” z mentolowym klikiem odnotowano w próbkach marki II (0,167 mg/kg) oraz V (0,165 mg/kg). Spośród papierosów grubych najwyższą zawartością Hg cechowała się próbka tytoniu marki V, pochodząca z papierosów „light” z mentolowym klikiem (0,203 mg/kg) (ryc. 1). Średnia zawartość Hg w tytoniu pochodzącym z papierosów grubych typu „light” z mentolowym klikiem była najwyższa spośród analizowanej grupy papierosów z aromatem mentolowym i wynosiła 0,203 mg/kg. W papierosach cienkich mentolowych, cienkich „light” z mentolowym klikiem oraz grubych mentolowych średnie stężenie Hg było niższe i wynosiło odpowiednio 0,152 mg/kg, 0,148 mg/kg oraz 0,130 mg/kg.

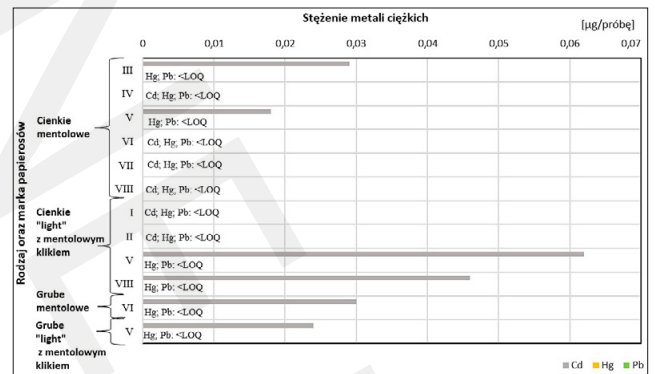
Zawartość Pb w badanym suszu tytoniowym we wszystkich podgrupach papierosów cienkich i grubych z dodatkiem aromatu mentolowego kształtowała się poniżej granicy oznaczalności (ryc. 1).



Rycina 1. Stężenie Cd, Pb, Hg [mg/kg] w tytoniu pochodzącym z papierosów cienkich oraz grubych zawierających aromat mentolowy

W dymie tytoniowym pochodzącym z papierosów cienkich mentolowych marek: IV, VI, VII oraz VIII zawartość Cd kształtowała się poniżej granicy oznaczalności. Stężenie Cd w dymie papierosowym emitowanym przez papierosy marki III (0,029 µg/próbę) było najwyższe spośród wszystkich próbek tej podgrupy. Nieco niższe stężenie Cd oznaczono w dymie pochodzącym z papierosów marki V (0,018 µg/próbę). Analizując stężenia Cd w dymie tytoniowym z papierosów cienkich typu „light” z mentolowym klikiem, można stwierdzić, że najwyższa zawartość tego pierwiastka znajdowała się w próbkach pochodzących z papierosów marki V (0,062 µg/próbę) oraz VIII (0,046 µg/próbę), natomiast w pozostałych próbkach była ona poniżej granicy oznaczalności. Stężenie Cd w dymie tytoniowym pochodzącym z papierosów grubych mentolowych marki VI (0,030 µg/próbę) było nieco wyższe od zawartości tego pierwiastka w dymie emitowanym przez papierosy grube „light” z mentolowym klikiem marki V (0,024 µg/próbę) (ryc. 2).

Zawartość Pb i Hg w dymie tytoniowym pochodzącym z papierosów cienkich oraz grubych z dodatkiem aromatu mentolowego kształtowała się poniżej granicy oznaczalności (ryc. 2).



Rycina 2. Stężenie Cd, Pb, Hg [µg/próbę] w dymie tytoniowym pochodzącym z papierosów cienkich oraz grubych zawierających aromat mentolowy

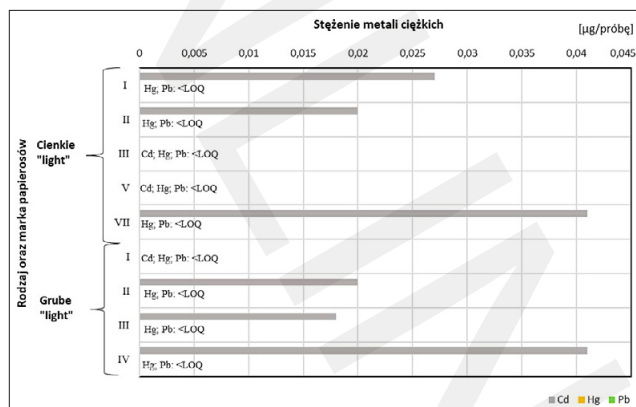
Stężenie metali ciężkich w tytoniu oraz dymie tytoniowym pochodzącym z papierosów typu „light”

Badaniu poddane zostały dwa rodzaje papierosów: cienkie oraz grube typu „light”. W obu typach papierosów zawartość Cd była zróżnicowana. W tytoniu z papierosów cienkich typu „light” najwyższe stężenie Cd oznaczono w próbkach marki I (1,725 mg/kg). Niższą zawartością Cd charakteryzowały się papierosy marki II, V oraz VII (odpowiednio 1,187, 0,948 i 0,837 mg/kg). Najniższe stężenie tego pierwiastka spośród wszystkich papierosów cienkich typu „light” odnotowano w tytoniu marki III (0,690 mg/kg). Była to jednocześnie najniższa zawartość Cd we wszystkich objętych badaniem papierosach typu „light”. W podgrupie papierosów grubych typu „light” najwyższe stężenie Cd oznaczono w tytoniu pochodzącym z papierosów marki IV (2,589 mg/kg). Była to również najwyższa wartość Cd uzyskana w trakcie analizy chemicznej tytoniu pochodzącego z papierosów cienkich i grubych typu „light”. Wysokie stężenia Cd oznaczono w tytoniu marki I oraz II (odpowiednio 1,518 i 1,498 mg/kg). Najniższą zawartość Cd w tytoniu z papierosów grubych typu „light” uzyskano w przypadku marki III (0,931 mg/kg) (ryc. 3). Zawartości Cd w papierosach cienkich typu „light” oraz w papierosach grubych typu „light” porównano za pomocą średniej arytmetycznej z uzyskanych wyników. Zauważono, że tyton

pochodzący z papierosów grubych typu „light” charakteryzuje się wyższą zawartością Cd – 1,634 mg/kg w porównaniu z papierosami cienkimi typu „light”, gdzie średnia zawartość Cd w tytoniu wynosiła 1,077 mg/kg.

W wyniku przeprowadzonej analizy chemicznej zawartości Hg w cienkich papierosach typu „light” najwyższy poziom tego pierwiastka odnotowano w tytoniu marki I (0,150 mg/kg). Wartość ta jest najwyższą spośród otrzymanych wyników zawartości Hg we wszystkich przebadanych papierosach typu „light”. Niższe stężenia Hg charakteryzowały papierosy marek: II, V, VII oraz III (odpowiednio 0,136, 0,128, 0,116 i 0,102 mg/kg). Papierosy grube typu „light” posiadały zróżnicowane stężenia Hg. Najwyższe stężenie oznaczono w tytoniu marki IV (0,145 mg/kg). Niższe stężenia uzyskano w przypadku marek I (0,134 mg/kg) i II (0,114 mg/kg). Tytoń z papierosów marki III charakteryzował się bardzo niską zawartością Hg, poniżej poziomu LOQ (ryc. 3). Na podstawie otrzymanych wyników badań można stwierdzić, że tytoń pochodzący z papierosów grubych typu „light” charakteryzował się wyższą średnią zawartością Hg (0,131 mg/kg), w porównaniu do tytoniu z papierosów cienkich typu „light”, gdzie średnia wartość tego pierwiastka wynosiła 0,126 mg/kg.

Stężenie Pb w tytoniu, który został pobrany z papierosów typu „light”, kształtowało się na poziomie poniżej granicy oznaczalności (ryc. 3).

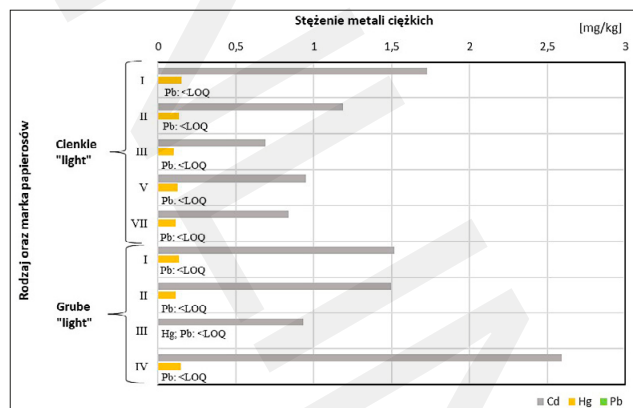


Rycina 3. Stężenie Cd, Pb, Hg [mg/kg] w tytoniu pochodzącym z papierosów cienkich i grubych typu „light”

Najwyższą zawartość Cd w dymie tytoniowym pochodzącym z papierosów cienkich typu „light” oznaczono w marce papierosów VII (0,041 µg/próbę). Niższe stężenie pierwiastka otrzymano w próbkach dymu emitowanego przez papierosy marki I (0,027 µg/próbę) oraz II (0,020 µg/próbę). W przypadku marki V oraz III stężenie Cd w dymie papierosowym mieściło się poniżej granicy oznaczalności. W dymie emitowanym przez papierosy grube typu „light” najwyższe stężenie Cd oznaczono w próbce pochodzącej z papierosów marki IV (0,041 µg/próbę). To najwyższa zawartość Cd odnotowana w trakcie analizy chemicznej dymu tytoniowego pochodzącego z papierosów cienkich i grubych typu „light”. Należy nadmienić, iż analogiczną wielkość stężenia tego pierwiastka uzyskano w dymie tytoniowym pochodzącym z papierosów cienkich marki VII. Zbliżony poziom zawartości Cd w dymie papierosowym oznaczono w marce papierosów II oraz III (odpowiednio 0,020 i 0,018 µg/próbę). W dymie tytoniowym pochodzącym z papierosów marki I Cd występował w ilości mieszczącej się poniżej granicy oznaczalności (ryc. 4). Porównując średnie stężenie Cd w dymie tytoniowym pochodzącym

z papierosów cienkich oraz grubych typu „light”, zaobserwowano niewielką różnicę w otrzymanych wielkościach. Wyższą średnią zawartością Cd cechował się dym tytoniowy emitowany przez papierosy cienkie typu „light” – wynosiła ona 0,029 µg/próbę. Nieco niższe średnie stężenie Cd (0,026 µg/próbę) uzyskano w przypadku dymu tytoniowego pochodzącego z papierosów grubych typu „light”.

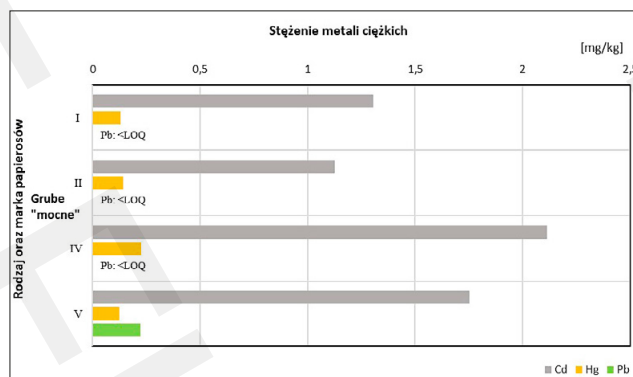
Stężenie Hg i Pb w dymie tytoniowym pochodzącym z papierosów cienkich oraz grubych typu „light” kształtowało się poniżej granicy oznaczalności.



Rycina 4. Stężenie Cd, Pb, Hg [µg/próbę] w dymie tytoniowym pochodzącym z papierosów cienkich i grubych typu „light”

Stężenie metali ciężkich w tytoniu oraz dymie tytoniowym pochodzącym z papierosów typu „mocne”

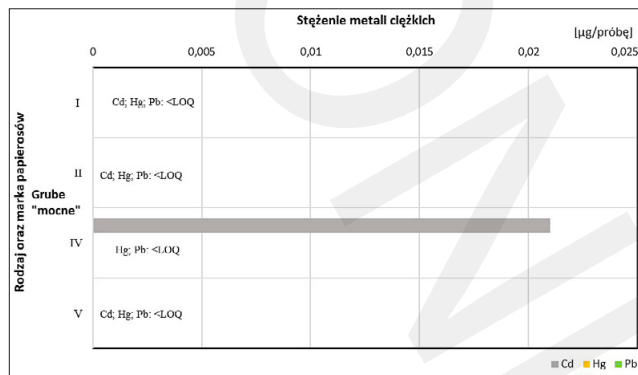
Zawartość metali ciężkich w tytoniu, który pobrany został z papierosów grubych typu „mocne”, jest zróżnicowana. Spośród wszystkich oznaczonych pierwiastków w papierosach grubych typu „mocne” marki I, II, IV i V w najwyższym stężeniu występował Cd. Wysoka zawartość Cd i Hg charakteryzowała tytoń marki IV (odpowiednio 2,112 oraz 0,224 mg/kg). Wartość Pb została oznaczona jedynie w tytoniu z papierosów marki V (0,221 mg/kg). W papierosach pozostałych badanych marek poziom Pb kształtował się poniżej granicy oznaczalności (ryc. 5).



Rycina 5. Stężenie Cd, Pb, Hg [mg/kg] w tytoniu pochodzącym z papierosów typu „mocne”

Jedyną wartość stężenia Cd, jaką otrzymano w wyniku analizy chemicznej dymu tytoniowego pochodzącego z papierosów grubych typu „mocne”, pochodziła z marki IV (0,021 µg/próbę). W próbkach uzyskanych z efektu wypalenia papierosów pozostałych marek zawartość Cd mieściła się

poniżej granicy oznaczalności. Zawartość Hg oraz Pb w dymie tytoniowym emitowanym przez papierosy omawianego rodzaju plasowała się poniżej progu oznaczalności (ryc. 6).



Rycina 6. Stężenie Cd, Pb, Hg [µg/próbę] w dymie tytoniowym pochodzącym z papierosów grubych typu „mocne”

Analiza statystyczna zależności pomiędzy stężeniem Cd w papierosach oraz w dymie tytoniowym

Aby sprawdzić, czy rozkład zmiennych losowych jest normalny, zastosowano test Shapiro-Wilka. Do analizy porównawczej zakwalifikowano 13 par zmiennych: stężenie Cd w dymie tytoniowym pochodzącym z papierosów danej marki – stężenie Cd w tytoniu pobranym z tego samego rodzaju papierosów. Stężenia Cd zarówno w próbkach dymu tytoniowego, jak i w samym tytoniu, w obrębie jednej pary, pochodziły z papierosów dobranych z tego samego opakowania. Średnie stężenie Cd w tytoniu wynosiło $1,42 \pm 0,57$ mg/kg, natomiast średnie stężenie kadmu w dymie tytoniowym – $0,03 \pm 0,01$ µg/próbę. Wartość p w przypadku zawartości Cd w dymie tytoniowym nie pozwala zaklasyfikować zbioru zmiennych do rozkładu normalnego ($p < 0,05$) (tab. 2).

Tabela 2. Analiza statystyczna weryfikująca wybrane parametry

Zawartość kadmu w tytoniu [mg/kg]			Zawartość kadmu w dymie tytoniowym [µg /próbę]		
N = 13					
śr ± SD*	min.–max.	p	śr ± SD	min.–max.	p
1,42 ± 0,57	0,811–2,589	0,172	0,03 ± 0,01	0,018–0,062	0,036

* odchylenie standardowe

Następnie, aby wykazać zależność między zawartością Cd w tytoniu oraz w dymie tytoniowym, wykonano test korelacji rang Spearmana. Uzyskany wynik wskazywał na istnienie dodatniej korelacji analizowanych zmiennych ($r = 0,226$), jednak nie był istotny statystycznie ($p = 0,457$). Oznacza to, że stężenie Cd w dymie papierosowym nie jest statystycznie zależne od stężenia Cd w papierosie (tab. 3).

Tabela 3. Zależność porządku rang Spearmana między stężeniem Cd w tytoniu a jego zawartością w dymie tytoniowym

Stężenie Cd w tytoniu i stężenie Cd w dymie tytoniowym		
N = 13		
R Spearmana	t (N – 2)*	poziom p
0,226209	0,770215	0,457395

* wartość statystyki t

DYSKUSJA

Każdego roku w Stanach Zjednoczonych z powodu palenia tytoniu umiera ok. 480 tys. osób, natomiast koszt leczenia chorób odtytoniowych wynosi ok. 96 mld dolarów [4]. W kraju tym coraz częściej po papierosy sięgają osoby poniżej 18. roku życia. Skutkuje to wzrostem liczby nałogowych palaczy w skali jednego dnia nawet o 1 tys. nieletnich osób. Ponadto, jeśli problem nikotynizmu w Stanach Zjednoczonych nie będzie malał, ponad 6 mln osób może umrzeć przedwcześnie [4]. W ramach polityki antynikotynowej skierowanej do młodzieży od lipca 2019 roku w 16 stanach USA wprowadzono zakaz sprzedaży wyrobów tytoniowych osobom poniżej 21. roku życia [21].

W przypadku Francji, w 2017 roku nałogowe palenie tytoniu zadeklarowało 30% mężczyzn i 24% kobiet, będących mieszkańcami tego kraju [22]. Ponadto w latach 2000–2014 zaobserwowano podwojenie liczby zgonów z powodu palenia w populacji kobiet [22]. W Niemczech nałóg palenia tytoniu dotyczy 28% mieszkańców tego kraju. Najliczniejszą grupę osób, które sięgają po wyroby tytoniowe, stanowią te, które borykają się z problemami o podłożu społecznym, ekonomicznym, jak i psychicznym [23].

W Polsce w 2019 roku odsetek osób palących nałogowo tytoń wyniósł 21%. Na przestrzeni lat 2011–2019 zauważono spadek o 10 pkt proc. odsetka osób z problemem nikotynizmu (z 31% w 2011 roku). Nałóg palenia tytoniu częściej jest udziałem mężczyzn niż kobiet [24].

Kluczowy, wprowadzony w celu ochrony osób biernie narażonych na dym wtórny, szczególnie w pomieszczeniach zamkniętych, jest zakaz palenia w miejscach publicznych, takich jak lokale gastronomiczne, budynki użytku publicznego, przystanki autobusowe, dworce kolejowe [3, 25]. W Polsce zakaz palenia w miejscach publicznych obowiązuje od 15 listopada 2010 roku. Zakaz uregulowano prawnie nowelizacją Ustawy o ochronie zdrowia przed następstwami używania tytoniu i wyrobów tytoniowych z dnia 9 listopada 1995 r. (Dz. U. z 2010 r. nr 81, poz. 529) [26]. Wprowadzenie obostrzeń ma na celu ograniczenie narażenia osób postronnych na palenie bierne, a tym samym obniżenie zapadalności na choroby będące skutkiem tego rodzaju narażenia, w szczególności schorzeń układu oddechowego oraz sercowo-naczyniowego. Zakaz palenia nie obejmuje jednak prywatnych pomieszczeń mieszkalnych. Badania przeprowadzone w 2017 roku dla Głównego Inspektoratu Sanitarnego (GIS) pokazują, że palenie tytoniu w pomieszczeniach domowych praktykuje 40% badanych, co świadczy o istotnym narażeniu współmieszkańców na wdychanie szkodliwego dymu [24].

Wyniki otrzymane w badaniu własnym wskazują jednoznacznie, że spośród wszystkich objętych analizą metali ciężkich to Cd charakteryzował się największym stężeniem w suszu tytoniowym. Średnia zawartość Cd w tytoniu pochodzącym z papierosów z dodatkiem aromatu mentolowego mieściła się w granicach od 1,073 do 1,576 mg/kg, a w przypadku papierosów typu „light” wynosiła od 1,077 do 1,634 mg/kg. Zbliżone stężenie Cd, o wartości 1,573 mg/kg, oznaczono w papierosach grubych typu „mocne”. Wartości Cd w tytoniu przedstawione w niniejszej pracy nie odbiegają od wyników otrzymanych przez innych badaczy polskich oraz zagranicznych. Według Fraszeza i wsp. [27] średnia zawartość Cd w suszu tytoniowym, który został pobrany z 50 papierosów różnych marek, kupionych na obszarze Stanów Zjednoczonych w 2011 roku, wynosiła od 1,0 do 1,7 mg/kg.

W badaniu przeprowadzonym przez Trojanowską i Świetlik [5] średnie stężenie Cd w tytoniu otrzymanym z 12 rodzajów papierosów wyniosło 1,64 mg/kg. Szwałec i wsp. [28] dokonali oznaczenia stężenia Cd w wysuszonych liściach tytoniu pobranych z 5 upraw na terenie Polski – z terenu województwa świętokrzyskiego oraz małopolskiego. Średnia arytmetyczna Cd w 25 próbkach ususzonych liści tytoniu kształtowała się na poziomie 1,43 mg/kg.

W badaniu własnym średnia zawartość Hg w tytoniu z papierosów z dodatkiem aromatu mentolowego wynosiła od 0,130 do 0,203 mg/kg, natomiast w papierosach typu „light” średni poziom Hg mieścił się w granicach od 0,126 do 0,131 mg/kg. W tytoniu pobranym z papierosów grubych typu „mocne” średnie stężenie Hg wynosiło 0,155 mg/kg. W badaniu przeprowadzonym na próbkach tytoniu pochodzącego w 50 różnych marek amerykańskich papierosów otrzymano wyniki dużo niższe, bowiem średnia zawartość Hg kształtowała się w granicach między 0,013 do 0,021 mg/kg [27]. Taki dysonans pomiędzy przedstawionymi wynikami może wynikać z różnic w odmianach uprawianego tytoniu, stosowaniu odmiennych praktyk nawożenia gleb, a także zróżnicowanego stopnia zanieczyszczenia gleby, na której uprawia się tytoń.

Zaobserwowano wyższe stężenia Pb w tytoniu w wynikach badań przedstawionych przez innych autorów w porównaniu z wartościami otrzymanymi w pracy własnej. Stężenie Pb w tytoniu pochodzącym z papierosów z dodatkiem aromatu mentolowego oraz z papierosów typu „light” kształtowało się poniżej granicy oznaczalności w większości oznaczonych próbek. W badaniach Fresqueza i wsp. przeprowadzonych na 50 próbkach tytoniu pochodzącego z amerykańskiego rynku sprzedaży papierosów średnia zawartość Pb kształtowała się na poziomie od 0,64 do 1,16 mg/kg [27]. Analiza zawartości Pb w liściach tytoniu pochodzących z polskich upraw pokazała, iż jego średnie stężenie w tych próbkach wyniosło 0,65 mg/kg [28].

W pracy własnej średnia zawartość Cd w dymie tytoniowym pochodzącym z papierosów z dodatkiem aromatu mentolowego kształtowała się na poziomie od 0,023 do 0,054 µg/próbę. Stężenie Cd w dymie papierosowym emitowanym przez papierosy typu „light” mieściło się w granicach od 0,026 do 0,029 µg/próbę. W przypadku papierosów typu „mocne” poziom Cd w dymie tytoniowym wyniósł 0,021 µg/próbę. W badaniach Starek i Podolak średnie stężenie Cd w dymie tytoniowym wyniosło od 0,007 do 0,35 µg/próbę w przypadku papierosów bez filtra [29]. Niepewności w stężeniach Cd w dymie tytoniowym wynikają prawdopodobnie ze zróżnicowanej zawartości tego pierwiastka w tytoniu wypalanego papierosa, a także metody pobierania dymu tytoniowego zastosowanej podczas badania.

Zawartości Pb i Hg w dymie tytoniowym w badaniu własnym oznaczono na poziomie poniżej wartości 0,00035 mg/l. W badaniach przeprowadzonych przez innych autorów otrzymano śladowe ilości Pb w dymie tytoniowym pochodzącym z papierosów bez filtra. Wówczas stężenie Pb kształtowało się na poziomie od 0,034 do 0,085 µg/g [29].

Analiza statystyczna badająca zależność między stężeniem Cd w papierosach oraz w dymie tytoniowym wykazała dodatnią korelację $r = 0,226$. Szwałec i wsp. uzyskali dodatnią korelację pomiędzy zawartością Cd w glebie a w uprawianych na niej liściach tytoniu. Wykazano także intensywną kumulację Cd w badanych liściach tytoniu [28].

WNIOSKI

1. Wykazano, że spośród wszystkich metali ciężkich (Cd, Hg, Pb) oznaczonych w próbkach suszu oraz dymu tytoniowego, najwyższą zawartością cechował się Cd.
2. Badane próbki suszu tytoniowego charakteryzowały się zróżnicowanym stężeniem metali ciężkich (Cd, Hg, Pb) w zależności od rodzaju i marki papierosów.
3. próbki dymu tytoniowego pobrane w trakcie wypalania papierosów cechowały się niską zawartością Pb oraz Hg.
4. Wykazano, że stężenie Cd w dymie papierosowym nie jest statystycznie zależne od stężenia tego pierwiastka w papierosie.

PIŚMIENICTWO

1. Bodyl MR. Ewolucja światowego rynku tytoniu i wyrobów tytoniowych. Zeszyty Naukowe SGGW w Warszawie. 2016; 16(2): 19–28. URL: [http://sj.wne.sggw.pl/pdf/PRS_2016_T16\(31\)_n2_s19.pdf](http://sj.wne.sggw.pl/pdf/PRS_2016_T16(31)_n2_s19.pdf) (dostęp: 30.10.2020).
2. Tomiło J, Dziki D, Polak R. Wybrane aspekty uprawy i przygotowania tytoniu do przetwórstwa na przykładzie odmiany Virginia. MOTROL. Comm Motor Energ Agric. 2014; 16(1): 147–152. URL: <http://yadda.icm.edu.pl/yadda/element/bwmeta1.element.agro-87f1d8b3-b99f-4853-99c4-9f8bd08901bd> (dostęp: 30.10.2020).
3. Salimzadeh H, Najafipour H, Mirzaiepour F, et al. Prevalence of Active and Passive Smoking among Adult Population: Findings of a Population-Based Survey in Kerman (KERCADRS), Iran. Addict Health. 2016; 8(1): 16–24. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4836759/> (dostęp: 20.12.2020).
4. Lazard AB, Kowitz SD, Huang LL, et al. Believability of Cigarette Warnings About Addiction: National Experiments of Adolescents And Adults. Nicotine Tob Res. 2018; 20(7): 867–875. <https://doi.org/10.1093/ntr/ntx185>
5. Trojanowska M, Świetlik R. Wpływ palenia papierosów na ryzyko zdrowotne mieszkańców miast wywołane środowiskową ekspozycją inhalacyjną na metale ciężkie (As, Cd, Ni). Environ Med. – Med Śr. 2016; 19(3): 23–30.
6. Sobczak A. Czy przejście na elektroniczne papierosy redukuje szkody w układzie sercowo-naczyniowym wywołane paleniem tytoniu? Med Rodz. 2018; 21(2): 177–184. URL: http://www.medrodzinna.pl/wp-content/uploads/2018/11/mr_2018_177-184.pdf (dostęp: 30.10.2020).
7. Richter P, Faroon O, Papuas RS. Cadmium and Cadmium/Zinc Ratios and Tobacco – Related Morbidities. Int J Environ Res Public Health. 2017; 14(10): 1154. <https://doi.org/10.3390/ijerph14101154>.
8. Kuźmiecka P, Karakiewicz B, Rotter I. Wpływ palenia tytoniu na wybrane składniki mineralne: wapń, magnez, żelazo, cynk i selen – przegląd badań. Med Og Nauk Zdr. 2012; 18(4): 409–415. URL: <http://www.monz.pl/Wplyw-palenia-tytoniu-na-wybrane-skladniki-mineralne-wapn-magnez-zelazo-cynk-i-selen,73341,0,1.html> (dostęp: 30.10.2020).
9. Kuziemski K, Barczyk A. Tiotropium w leczeniu POChP – historia i perspektywy. Adv Respir Med. 2017; 85(supl. 1): 26–37. URL: https://journals.viamedica.pl/advances_in_respiratory_medicine/article/view/50853/37595 (dostęp: 30.10.2020).
10. Majewski J, Bernat K, Jarosz MJ. Wpływ palenia tytoniu na błonę śluzową jamy ustnej, ze szczególnym uwzględnieniem leukoplakii – na podstawie piśmiennictwa. AZiCH. 2017; 2(1): 19–25. URL: <http://www.wydawnictwo.wsei.eu/index.php/azch/article/view/460/453> (dostęp: 30.10.2020)
11. Luo Y, Wei Y, Sun S, et al. Selenium Modulates the Level of Auxin to Alleviate the Toxicity of Cadmium in Tobacco. Int J Mol Sci. 2019; 20(15): 3772. <https://doi.org/10.3390/ijms20153772>.
12. Gworek B, Rateńska J. Migracja rtęci w układzie powietrze – gleba – roślina. Ochr Śr Zasobów Nat. 2009; 41: 614–623.
13. He YK, Sun JG, Feng XZ, et al. Differential mercury volatilization by tobacco organs expressing a modified bacterial merA gene. Cell Res. 2001; 11(3): 231–236. URL: <https://www.nature.com/articles/7290091> (dostęp: 30.10.2020).
14. Cyran M. Wpływ środowiskowego narażenia na rtęć na funkcjonowanie organizmu człowieka. Environ Med. – Med Śr. 2013; 16(3): 55–58. URL: <http://yadda.icm.edu.pl/yadda/element/bwmeta1.element.psjd-07e61a4a-2b23-42ea-9845-fdcd7c9c6429> (dostęp: 30.10.2020).

15. Centers for Disease Control and Prevention. Preventing Lead Poisoning in Young Children. CDC (Atlanta), 2005. URL: <https://www.cdc.gov/nceh/Lead/Publications/PrevLeadpoisoning.pdf> (dostęp: 30.10.2020)
16. Chełchowska M, Ambroszkiewicz J, Jabłonka-Salach K, et al. Tobacco smoke exposure during pregnancy increases maternal blood lead levels affecting neonate birth weight. *Biol Trace Elem Res.* 2013; 155(2): 169–175. <https://doi.org/10.1007/s12011-013-9775-8>
17. Wachulska M, Skoniecka A, Tymińska A, i wsp. Prenatalne zmiany w rozwoju płodu i łożyska indukowane paleniem tytoniu. *Ginekologia i Położnictwo.* 2015; 1(35): 9–19.
18. Puzanowska-Tarasiewicz H, Kuźmicka L, Tarasiewicz M. Funkcje biologiczne wybranych pierwiastków. III. Cynk – składnik i aktywny enzym. *Pol Merk Lek.* 2009; 27(161): 419–422. URL: <http://phytomedica.pl/pdf/cynk.pdf> (dostęp: 30.10.2020).
19. Li H, Fagerberg B, Sallsten G, et al. Smoking-induced risk of future cardiovascular disease is partly mediated by cadmium in tobacco: Malmö Diet and Cancer Cohort Study. *Environ Health.* 2019; 18(1): 56. <https://doi.org/10.1186/s12940-019-0495-1>
20. Dyrektywa Parlamentu Europejskiego i Rady 2014/40/UE z dnia 3 kwietnia 2014 r. w sprawie zbliżenia przepisów ustawowych, wykonawczych i administracyjnych państw członkowskich w sprawie produkcji, prezentowania i sprzedaży wyrobów tytoniowych i powiązanych wyrobów oraz uchylająca dyrektywę 2001/37/WE. URL: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PL/TXT/?uri=CELEX%3A32014L0040> (dostęp: 30.10.2020).
21. Dobbs PD, Chadwick G, Ungar KW, et al. Development of a tobacco 21 policy assessment tool and state-level analysis in the USA, 2015–2019. *Tab Control.* 2020; 29(5): 487–495. <http://dx.doi.org/10.1136/tobacco-control-2019-055102>
22. Olie V, Pasquereau A, Assogba FAG, et al. Changes in tobacco-related morbidity and mortality in French women: worrying trends. *Eur J Public Health.* 2020; 30(2): 380–385. <https://doi.org/10.1093/eurpub/ckz171>.
23. Kastaun S, Kotz D, Brown J, et al. Public attitudes towards healthcare policies promoting tobacco cessation in Germany: results from the representative German study on tobacco use (DEBRA study). *BMJ Open.* 2019; 9: 1–8. <http://dx.doi.org/10.1136/bmjopen-2018-026245>
24. Trząsalska A, Krassowska U. Raport z ogólnopolskiego badania ankietowego na temat postaw wobec palenia tytoniu. Główny Inspektorat Sanitarny, Warszawa, 2019. URL: https://gis.gov.pl/wp-content/uploads/2018/04/Postawy-Polak%C3%B3w-do-palenia-tytoniu_Raport-Kantar-Public-dla-GIS_2019.pdf (dostęp: 30.10.2020).
25. Główny Urząd Statystyczny. Notatka informacyjna: Zdrowie i zachowanie zdrowotne mieszkańców Polski w świetle Europejskiego Ankietowego Badania Zdrowia (EHIS) 2014 r. Warszawa, 2015. URL: <https://stat.gov.pl/obszary-tematyczne/zdrowie/zdrowie/zdrowie-i-zachowania-zdrowotne-mieszkanow-polski-w-swietle-badania-ehis-2014,10,1.html> (dostęp: 30.10.2020).
26. Ustawa z dnia 8 kwietnia 2010 r. o zmianie ustawy o ochronie zdrowia przed następstwami używania tytoniu i wyrobów tytoniowych oraz ustawy o Państwowej Inspekcji Sanitarnej (DzU z 2010 r. nr 81, poz. 529). URL: <http://isap.sejm.gov.pl/isap.nsf/download.xsp/WDU20100810529/T/D20100529L.pdf> (dostęp: 30.10.2020).
27. Fresquez MR, Pappas RS, Watson CH. Establishment of Toxic Metal Reference Range in Tobacco from U.S. Cigarettes. *J Anal Toxicol.* 2013; 37(5): 298–304. <https://doi.org/10.1093/jat/bkt021>
28. Szwałec A, Mundała P, Kędzior R. Zróżnicowanie zawartości Cd, Pb, Zn i Cu w liściach tytoniu szlachetnego (*Nicotiana tabacum* L.) uprawianego w rejonie Proszowic. *Acta Sci Pol Formatio Circumiecius.* 2016; 15(4): 331–341. <https://doi.org/10.15576/ASP.FC/2016.15.4.331>
29. Starek A, Podolak I. Rakotwórcze działanie dymu tytoniowego. *Roczn PZH* 2009; 60(4): 299–310. URL: wydawnictwa.pzh.gov.pl/roczniki_pzh/rakotworcze-dzialanie-dymu-tytoniowego?lang=pl (dostęp: 30.10.2020).