氮素形态和烘烤处理对烟草特有亚硝胺及其前体物的影响

潘建斌,宋朝鹏,王卫峰,李少鹏,宫长荣
(河南农业大学 农学院,河南 郑州 450002)

[摘 要] 探讨了氮素形态、变黄温度、烘烤设备等因素对烤烟烟叶中硝酸盐、亚硝酸盐和烟草特有亚硝胺(TSNA)含量的影响。结果表明,烤烟烟叶中硝酸盐、亚硝酸盐和 TSNA 含量基本呈现出随肥料中硝态氮比例增加而增加的趋势;低温拉长变黄处理烤后烟叶 TSNA 含量最高,其次为低温变黄,高温变黄最低;密集烤房对 TSNA 含量的影响最大,水泥预制板平板式换热器烤房影响较小。烤烟烟叶内 TSNA 含量与硝酸盐、亚硝酸盐含量均显著或极显著正相关,但与亚硝酸盐的关系更为密切。

[关键词] 烤烟;氮素形态;变黄温度;烟草特有亚硝胺
[中图分类号] TS41+1 [文献标识码] A [文章编号] 1671-9387(2005)11-0009-04

随着人们对吸烟与健康问题的普遍重视,烟草及其制品中的一些有害成分,特别是致癌性的烟草特有亚硝胺(TSNA)引起了全世界的广泛关注[1~3]。TSNA 已被确认与肺部、口腔、食道、胰脏、肝脏等部位肿瘤的产生有关,它主要包括 N-亚硝基去甲基烟碱(NNN)、4-(N-甲基-N-亚硝胺)-1(3-吡啶基)-丁酮(NNK)、N-亚硝基假木贼碱(NAB)、N-亚硝基新烟草碱(NAT),其直接前体物是生物碱和亚硝酸盐[4~6]。

多年来,TSNA 的研究多集中在白肋烟和卷烟烟气上,而对烤烟烟叶中 TSNA 的研究几乎是空白。本研究探讨了氮素形态、变黄温度、烘烤设备等因素对烤烟烟叶中硝酸盐、亚硝酸盐和 TSNA 含量的影响,旨在为进一步研究降低 TSNA,提高烟草安全性的技术措施提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

试验于 2003~2004 年进行。试验材料来自云南省陆良县。供试品种为 K326,试验田土壤肥力中等,规范化栽培管理,以中部叶(第 11~12 位叶)为试验材料,烟叶成熟时采收。

1.2 试验处理

1.2.1 烟田氮素营养设计 采用单因素试验,设 5 个处理(表 1)。用河南农业大学设计制造的电热式温湿度自控烤烟箱烘烤,按烤烟三段式烘烤工艺操作。

表 1 不同试验处理的硝态氮和氨态氮含量

Table 1 Content of NO_3^--N and NH_4^+-N by different treatments

处理 Treatment	NO_3^--N/(kg·hm^{-2})	NH_4^+-N/(kg·hm^{-2})	NO_3^--N/NH_4^+-N
A1	0	264	0∶100
A2	84	198	25∶75
A3	168	132	50∶50
A4	249	66	75∶25
A5	330	0	100∶0

1.2.2 烘烤温度试验设计 设 B1 高温变黄(38~42 ℃变黄),B2 低温变黄(35~38 ℃变黄),B3 低温拉长变黄(35~38 ℃变黄,达转火点时再延长变黄时间 12 h)3 个变黄温度处理。用河南农业大学设计制造的电热式温湿度自控烤烟箱烘烤,各处理变黄阶段相对湿度均为 85%~90%;定色阶段干球温度控制在 54 ℃以下,湿球温度控制在 37~39 ℃;干筋阶段干球温度控制在 68 ℃以下,湿球温度控制在 40~42 ℃。

1.2.3 烘烤设备试验设计 设 C1 水泥预制板平板式换热器烤房,C2 密集烤房,C3 立式炉普通烤房 3 个烘烤设备处理。按烤烟三段式烘烤工艺操作。

[收稿日期] 2005-01-24
[基金项目] 国家烟草专卖局科技攻关项目(110200302007)
[作者简介] 潘建斌(1962-),男,河南伊川人,副教授,主要从事烟草调制研究。E-mail:panjb01@163.com
[通讯作者] 宫长荣(1948-),男,河南荥阳人,教授,主要从事烟草调制生理研究。E-mail:gongchr009@126.com

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

1.3 样品制备

在烤烟调制结束后取样,去除叶尖和叶基部,留中间部分于60 ℃烘干,磨碎后过孔径450 μm筛,冰箱保存,用于试验指标测定。

1.4 测定项目与方法

1.4.1 含氮化合物的测定 硝酸盐和亚硝酸盐含量用比色法[17]测定。

1.4.2 TSNA含量的测定 称取5 g中部叶样品,放入250 mL锥形瓶中,加入200 mL缓冲溶液,用超声波萃取1 h(水温不能超过40 ℃),萃取液在5 000 r/min离心15 min,取上清液10 mL于硅藻土层析柱上,待柱头无液体时加入200 mL重蒸二氯甲烷进行洗脱。收集洗脱液,加入20 g无水硫酸钠干燥过夜后,加入内标(二丙基亚硝胺),在浓缩仪上通氮气保护浓缩至1 mL。然后采用配有氮磷检测器(NPD)的安捷伦气相色谱仪6890测定,毛细管柱为DB-5,30 m×0.32 mm×1 μm,进样口温度250 ℃,检测器温度280 ℃。程序升温:初温50 ℃保持4 min;5 ℃/min升温至200 ℃,保持4 min;20 ℃/min升温至260 ℃,保持20 min。载气流速3 mL/min,辅助气流速20 mL/min,氢气流速3 mL/min,空气流速120 mL/min,分流比20∶1,进样量1 μL。

1.4.3 数据分析与处理 利用SPSS 12.0软件对试验数据进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 氮素形态对烤烟烟叶TSNA及其前体物的影响

表2结果表明,烤烟烟叶中硝酸盐含量随肥料中硝态氮比例的增加而增加,亚硝酸盐和TSNA含量除处理A3外也呈现出相似的规律,在组成TSNA的4种主要亚硝胺中,NAB因含量太少未能测出,NNN,NAT,NNK含量变化起伏较大。

表2 不同氮素形态对烤烟烟叶NO_3^-、NO_2^-和TSNA含量的影响

Table 2 Effect of different nitrogen formation on the content of nitrate, nitrite and TSNA in flue-cured tobacco leaf

处理 Treatment	NO_3^-/(mg·g^{-1})	NO_2^-/(μg·g^{-1})	TSNA/(ng·g^{-1})			
			NNN	NAT	NNK	合计 Total
A1	4.01	6.40	70.07	99.19	147.03	316.29
A2	4.24	6.75	115.23	107.23	104.82	327.28
A3	4.50	6.46	109.53	91.57	121.85	322.95
A4	4.64	7.65	103.48	92.13	137.36	332.97
A5	4.67	8.18	122.97	88.48	124.89	336.34

2.2 变黄温度对烤烟烟叶TSNA及其前体物的影响

由表3可知,处理B2、B3的硝酸盐和亚硝酸盐含量显著高于B1,其中B3最高,NNN,NAT,NNK和TSNA也表现出相似的规律,说明低温变黄有利于亚硝酸盐和TSNA的快速积累。烤后烟叶TSNA及其前体物含量的变化规律为处理B3>处理B2>处理B1。

表3 不同变黄温度对烤烟烟叶NO_3^-、NO_2^-和TSNA含量的影响

Table 3 Effect of yellowing temperature on the nitrate, nitrite and TSNA content in flue-cured tobacco leaf

处理 Treatment	NO_3^-/(mg·g^{-1})	NO_2^-/(μg·g^{-1})	TSNA/(ng·g^{-1})			
			NNN	NAT	NNK	合计 Total
B1	2.49a	2.04a	104.04a	tr a	98.34a	202.38a
B2	2.89b	6.11b	128.28b	104.54b	101.98b	334.8b
B3	3.59c	11.4c	130.79b	108.26c	109.74c	348.79c

注:同列数据后标不同字母者表示差异显著($P<0.05$),下表同;tr表示痕量。

Note: The data in the same column with different letters represents significant difference ($P<0.05$); tr represents trace quantity.

2.3 烘烤设备对烤烟烟叶TSNA及其前体物的影响

烤房设备的性能直接影响烟叶烘烤质量的优劣。表4结果表明,烘烤设备也会影响硝酸盐、亚硝酸盐和TSNA的积累。对于不同处理来说,烤后烟叶TSNA及其前体物含量的变化规律为C2>C3>C1。

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表 4　不同烘烤设备对烤烟烟叶 NO_3^-、NO_2^- 和 TSNA 含量的影响

Table 4　Effects of curing-barn on the nitrate, nitrite and TSNA content in flue-cured tobacco leaf

处理 Treatment	NO_3^- / (mg·g^{-1})	NO_2^- / (μg·g^{-1})	TSNA (ng·g^{-1})			
			NNN	NAT	NNK	总计 Total
C1	2.77a	5.15a	82.03a	93.42a	92.11a	267.56a
C2	3.50b	8.96c	142.94c	123.12c	97.26b	363.32c
C3	2.90a	7.58b	135.37b	106.47b	113.09c	354.93b

2.4　烟草特有亚硝胺与其前体物的相关关系

以上研究表明，烤后烟叶中硝酸盐、亚硝酸盐、TSNA 的含量变化一致。为了进一步阐明 TSNA 与两者的关系，将烤后烟叶 TSNA 含量(y)与硝酸盐、亚硝酸盐含量(x)进行相关分析，其相关系数和关系式列于表 5。从表 5 可以看出，烤后烟叶 TSNA 含量与硝酸盐、亚硝酸盐含量呈显著或极显著正相关，且 TSNA 含量与亚硝酸盐含量的相关性高于 TSNA 与硝酸盐含量的相关性。由此可见，亚硝酸盐是 TSNA 更直接的前体物。

表 5　烤烟烟叶 NO_3^-、NO_2^- 和 TSNA 含量之间的相关关系

Table 5　Relationship between the content of nitrate, nitrite and TSNA in flue-cured tobacco leaf

	NO_3^-	NO_2^-
NNN	$y=20.298x-18.739$ $r=0.655\ 1^{*}$	$y=10.173x+28.79$ $r=0.701\ 7^{**}$
NAT	$y=6.609x-49.392$ $r=0.125\ 7$	$y=6.9047x-35.566$ $r=0.284\ 4$
NNK	$y=27.327x-22.324$ $r=0.587\ 2$	$y=16.984x-21.724$ $r=0.750\ 3^{**}$
TSNA	$y=55.295x-89.147$ $r=0.785\ 7^{**}$	$y=31.915x-90.819$ $r=0.863\ 1^{**}$

注：** 1%显著水平，* 5%显著水平。

Note: ** represents the 1% level of significance, * represents the 5% level of significance.

3　讨　论

本研究结果表明：不同氮素形态配比，烤后烟叶中硝酸盐、亚硝酸盐及 TSNA 的含量差异较大，除处理 A3 外，亚硝酸盐和 TSNA 含量均随硝态氮比例的增加而增加。处理 A3 的亚硝酸盐和 TSNA 含量最低的原因目前还不清楚。从降低 TSNA 含量上看，硝态氮比例越低越好。由于土壤氮素营养的供应是一个十分复杂的问题，不同土壤有机质含量以及不同氮素形态配比对 TSNA 和烟叶的综合质量均有一定影响，因此需要对此进行更深入的研究。

本研究结果还表明，低温拉长变黄有利于 TSNA 的形成和积累。这可能是由于变黄阶段是大分子物质降解的关键时期，变黄温度不仅影响主要酶类的活性和作用时间，也影响碳氮等大分子物质的降解。低温时间越长，越有利于硝酸盐和亚硝酸盐的快速积累，但同时高温变黄会导致烟叶内物质降解不充分，各组分之间不协调等[8,9]。另外，低温拉长变黄导致细胞膜透性变大、电解质外渗量增加，细胞内各种物质混杂在一起，并且持续时间较长，为叶内微生物的活动提供了有利条件，促使硝酸盐向亚硝酸盐转化，进而使烘烤后的 TSNA 含量较高[6,10]。因此，在烘烤过程中采用合理的调控措施，延缓细胞质体和膜结构的衰老，能够减少 TSNA 含量。

本研究结果表明，不同烤房设备烤后烟叶 TSNA、硝酸盐和亚硝酸盐含量表现为：密集烤房＞立式炉普通烤房＞水泥预制板平板式换热器烤房。这可能是由于密集烤房内空气相对湿度大，变黄阶段持续的时间长；而立式炉普通烤房内部温湿度不均匀，烟叶变黄时间不一致；水泥预制板平板式换热器烤房内部温湿度差异较小，变黄阶段低温持续的时间又相对较短。因此，降低 TSNA 含量可采用适当的烘烤设备。

烟叶内 TSNA 含量只是烟草综合质量的一个方面，如何在不降低烟叶可用性的前提下降低 TSNA 含量还需要进一步研究。

[参考文献]

[1] Torgny R, Elisabeth O, Anna W. Potential nitrite scavengers as inhibitions of the formation of N-nitrosamines in solution and tobacco matrix systems[J]. Journal of Agricu ture and Food Chemistry, 2000, 48: 4381-4388.

[2] Burton H R, Dye N K, Bush L P. Relationship between tobacco specific nitrosamines and nitrite from different air-cured tobacco varieties[J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 1994, 42: 2007-2011.

[3] Andersen R A, Fleming P D, Hamilton-kemp T R. pH changes in smokeless tobacco undergoing nitrosation during prolonged storage: effects of moisture, temperature, and duration[J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 1993, 41: 968-972.

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

[4] MacKown C T, Douglas B, Bush L P. Tobacco specific nitrosamines: formation during processing of midrib and lamina fines[J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 1988, 36: 1031 - 1035.

[5] Anna W, Alex C, Lennart J. Effect of air curing on the chemical composition of tobacco[J]. Recent Advance in Tobacco Science, 1995, 21: 39 - 80.

[6] Bush L P, Cui M, Shi H, et al. Formation of tobacco specific nitrosamines in air cured tobacco[J]. Recent Advance in Tobacco Science, 2001, 27: 23 - 46.

[7] 白宝璋. 植物生理学测试技术[M]. 北京: 中国科学技术出版社, 1993.

[8] Burton H R, Nacwanna K D, Lowell P B. Distribution of tobacco constituents in tobacco leaf tissue. I. Tobacco special nitrosamines, nitrite, and alkaloidas[J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 1992, 40: 1050 - 1055.

[9] Burton H R, Childs G H, Anderson R A. Changes in chemical composition of burley tobacco during senescence and curing. 3. Tobacco specific nitrosamines[J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 1989, 37: 126 - 130.

[10] Parsons L L, Smith M S, Hamilton J L. Nitrate reduction during curing and processing of burley tobacco[J]. Tobacco Science, 1986, 30: 100 - 103.

Effects of nitrogen form and baking on tobacco-specific nitrosmaines (TSNA) and precursor

PAN Jian-bin, SONG Zhao-peng, WANG Wei-feng, LI Shao-peng, GONG Chang-rong

(*Agronomy College of Henan Agricultural University, Henan Province, Zhengzhou, Henan 450002, China*)

Abstract: The effect of nitrogen form, yellowing temperature, curing facility on the content of nitrate, nitrite and Tobacco-specific nitrosmaines (TSNA) were studied. The results showed that the nitrate, nitrite and TSNA content increased with the nitrate nitrogen content increasing in the fertilizer; while low temperature and yellowing postponing condition resulted in the highest content of TSNA, followed by low temperature yellowing condition and high temperature yellowing condition; the bulk curing barn had biggest effect on the TSNA content, while cement slab surface plate type barn had little effect. There were prominent relations between TSNA, nitrate and nitrite content in flue-curing tobacco leaf, and the relationship between TSNA and nitrite content was much closer.

Key words: flue-cured tobacco; nitrogen form; yellowing temperature; tobacco-specific nitrosamines

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net