

# 我国烟草及其制品中烟草特有亚硝胺含量\* 及与前体物的关系

史宏志 Lowell P. Bush 黄元炯 Jia Wang 刘国顺  
王彦亭 赵明钦 于建军 Harold R. Burton

## 摘要

我国主要烟叶类型烟草特有亚硝胺(TSNA)水平排序为:白肋烟>沙姆逊香料烟>烤烟>巴斯马香料烟,其平均含量分别为10.25、0.89、0.25和0.03 $\mu\text{g/g}$ 。在白肋烟和香料烟中,NNN和NAT为主要的TSNA,约占总TSNA的96%,且在总TSNA含量较高的烟样中,NNN占有较大比例。在烤烟中,NNN、NAT和NNK含量水平相差较小,且以NAT含量相对较高。我国烤烟型、混合型、雪茄型卷烟和雪茄的总TSNA含量平均分别为0.211、3.302、3.39和12.66 $\mu\text{g/g}$ 。与国外样品相比,我国烤烟烟叶、烤烟型卷烟和混合型卷烟TSNA含量均显著低于国外水平。相关分析表明,烟叶和卷烟中的TSNA含量与降烟碱水平呈显著正相关,其中NNN与降烟碱相关性最大,相关系数达0.8633。

关键词: 烟叶 卷烟 烟草特有亚硝胺 前体物 相关性

中图分类号:TS411 文献标识码:A 文章编号:1004-5708(2002)01-0014-06

烟草及其制品中烟草特有亚硝胺(TSNA)的研究近年来受到广泛的关注。动物试验结果表明,烟草特有亚硝胺可以诱导小白鼠、大鼠等鼠类产生肿瘤<sup>[1~3]</sup>,因此普遍认为,烟草特有亚硝胺的含量和组成直接影响烟草制品的安全性。烟草特有亚硝胺主要有4种:亚硝基降烟碱(NNN)、亚硝基新烟草碱(NAT)、亚硝基假木贼碱(NAB)和4-(甲基亚硝胺)-1-(3-吡啶)-1-丙酮(NNK)。其中NNN和NNK具有明显的致癌活性,NAT不具有致癌性<sup>[4]</sup>。关于烟草和加工制品中TSNA的含量国内外有不少报道。Burton等<sup>[5,6]</sup>对白肋烟衰老和调制过程TSNA的变化,温度和湿度对TSNA形成和积累的影响等进行了大量研究。Djordjevic<sup>[7]</sup>研究了具有不同生物碱水平基因型TSNA含量。Chamberlain等<sup>[8]</sup>研究了调制和施肥对烤烟和白肋烟形成的影响。Brunnemann等<sup>[9]</sup>,Fischer等<sup>[10]</sup>,

MacKown等<sup>[11]</sup>分别对不同国家烟草制品的烟叶和烟气TSNA含量进行了大量分析。但尽管如此,我国烟叶和制品中烟草特有亚硝胺的研究和报道仍为空白。我国为烟草大国,烟草类型多,烟草生长环境和调制方法迥异,认识我国烟草及其制品中烟草特有亚硝胺的现状,对客观评价和进一步提高我国烟叶产品安全性具有重要意义。

生物碱和亚硝胺是烟草特有亚硝胺生物合成的直接前体<sup>[5,12]</sup>。关于TSNA形成和积累与前体物的关系已有不少报道,但结果不尽一致。Anderson等<sup>[13]</sup>观察到白肋烟调制的第16~21天,亚硝胺含量显著增加,TSNA也相应增加。Burton等<sup>[5]</sup>报道在高温高湿环境下调制的白肋烟,其TSNA和亚硝胺含量同步增加,二者存在显著正相关关系,TSNA与生物碱含量相关不明显。必须指出,这些试验是在品种内进行的,其生物碱组成和水平差异性较小。与此相反,Djordjevic等<sup>[7]</sup>采用7个具有不同生物碱水平的烤烟品系研究生物碱含量与TSNA含量的关系,发现烟叶的生物碱含量与TSNA呈显著的正相关关系,其中降烟碱与NNN的相关系数达到0.95。为了进一步明确TSNA与生物碱含量的关系,我们将我国不同类型烟叶和卷烟的TSNA和生物碱含量进行了相关分析,以

\* 史宏志,男,博士,国家烟草生理生化研究基地,郑州河南农业大学,郑州,450002

刘国顺,赵明钦,于建军,通讯地址同第一作者

Lowell P. Bush, Harold R. Burton, 美国肯塔基大学

黄元炯,河南省烟草公司

王彦亭,国家烟草专卖局科技教育司

收稿日期:2000-09-11

进一步阐明 TSNA 的形成机理,为有效降低烟叶和制品中 TSNA 含量提供理论依据。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料

试验中所用烤烟、白肋烟和香料烟烟叶样品均为 1997 年和 1998 年烟样,黄花烟和地方晾晒烟为 80 年代陈烟。样品分别由河南省烟草公司、国家烟草生理生化研究基地、安阳卷烟厂、驻马店卷烟厂、云南省烟草公司、湖南省烟草公司、新疆烟草公司提供。卷烟样品除雪茄型卷烟在市场上购置外,所有烤烟型、混合型和外香型卷烟由河南省烟草公司、河南农业大学烟草系、安阳卷烟厂提供。

### 1.2 方法

烟叶和卷烟样品中烟草特有亚硝胺和生物碱含量测定在美国肯塔基大学农学系烟草生理实验室进行。样品在冷冻干燥机干燥至恒重,粉碎后过 40 目网筛。称样后加二氯甲烷提取 TSNA,经过滤和浓缩后采用气相色谱(GC)和热能分析仪(TEA)联用方法测定 4 种 TSNA 含量。生物碱含量测定采用 HP-5890 气相色谱仪进行。TSNA 和生物碱测定具体操作和参数设定按 Burton 等<sup>[5]</sup>的方法进行。

## 2 结果与amp;讨论

### 2.1 我国不同类型烟叶中烟草特有亚硝胺含量

分析结果表明(表 1),在我国 3 种主要烟叶类型(烤烟、白肋烟和香料烟)中,白肋烟 TSNA 含量最高,平均 10.25 $\mu\text{g}/\text{g}$ 。不同产地以及同一产地不同烟叶样品 TSNA 含量相差较大,变化幅度 2.61~26.82 $\mu\text{g}/\text{g}$ 。这与国外白肋烟 TSNA 含量水平接近,如美国肯塔基州白肋烟 TSNA 含量一般在 3~20 $\mu\text{g}/\text{g}$ 。在 4 种 TSNA 中,NNN 和 NAT 含量较高,二者的含量占 TSNA 含量的 96%以上;NNK 含量约占 TSNA 的 3%~4%,为 NNN 含量的 1/10;NAB 含量最低,只有微量存在。进一步比较可以看出,NNN 和 NAT 两种 TSNA 的相对含量与烟样的总 TSNA 水平有关,在总 TSNA 含量较高的烟样中,NNN 含量显著高于 NAT,而在总 TSNA 水平较低的烟样中,NAT 含量大于 NNN 或与其接近,因此烟叶中 TSNA 水平的增加主要是 NNN 含量增高所引起的。从不同 TSNA 含量的变异情况看,NNN 含量变化幅度最大,从

1.279%~15.012%。降低 NNN 含量是降低烟叶中 TSNA 含量的关键。

我国香料烟的 TSNA 水平与香料烟的类型有关。新疆、湖北和浙江香料烟的总 TSNA 含量一般为 0.163~3.520 $\mu\text{g}/\text{g}$ ,个别烟样含量较高。与白肋烟相似,NNN 和 NAT 为主要的 TSNA,二者占总 TSNA 的比重与总 TSNA 水平有关,在高含量 TSNA 烟样中,NNN 含量远高于 NAT,而在总 TSNA 水平较低的烟样中,NAT 占有较大比重。由此可知,在香料烟中 TSNA 含量的升高也主要是 NNN 含量增高所引起的。云南巴斯马类型的香料烟 TSNA 含量较低,两个烟样平均仅有 0.03 $\mu\text{g}/\text{g}$ ,这与这种类型烟叶较低的生物碱水平是一致的。

烤烟是我国烟叶生产的主体。分析结果表明,我国主要烤烟产区不同品种烟叶的总 TSNA 含量一般为 0.156~0.42 $\mu\text{g}/\text{g}$ ,远低于白肋烟和部分香料烟。与上述两种类型烟叶相比,烤烟的 TSNA 含量变化幅度较小。4 种 TSNA 以 NAT 含量最高,NNN 和 NNK 含量水平接近或前者略高。与国外烤烟相比,我国烤烟烟叶 TSNA 含量明显较低。试验中我们同时分析了津巴布韦和巴西烤烟烟叶的 TSNA 含量,津巴布韦 NNN、NAT、NNK 和 TSNA 的含量分别为 0.348、0.146、0.088 和 0.811 $\mu\text{g}/\text{g}$ ;巴西烟叶分别为 0.183、0.482、0.146 和 0.811 $\mu\text{g}/\text{g}$ 。由此可见,我国烤烟和国外烤烟相比,具有较高的安全性。我国烤烟 TSNA 含量低的原因可能与我国烟叶的烘烤方法和燃料有关,最近研究表明,烟叶烘烤中所用的液化石油气等燃料是烤烟 TSNA 前体物亚硝酸产生的主要来源<sup>[14]</sup>。

从所分析的几个地方晾晒烟来看,四川白柳烟、新疆黄花烟具有较高的 TSNA 含量,东北晒黄烟含量较低,与烤烟水平接近。

### 2.2 我国主要类型卷烟 TSNA 含量分析

对我国 9 个牌号的烤烟型卷烟烟样 TSNA 含量分析测定(表 2),结果表明其含量水平与烤烟烟叶相近,TSNA 含量一般为 0.1~0.3 $\mu\text{g}/\text{g}$ 。NAT 含量相对较高,NNN 和 NNK 含量水平接近。与国外名牌烤烟型卷烟相比,我国 TSNA 含量较低。本试验测定表明,“登喜路”(Dunhill)NNN,NAT,NNK 和总 TSNA 含量分别为 0.37、0.62、0.41 和 1.40 $\mu\text{g}/\text{g}$ 。“555”分别为 0.28、0.35、0.30 和 0.93 $\mu\text{g}/\text{g}$ 。

我国 5 个牌号混合型卷烟的 TSNA 含量平均为

表1 我国不同类型烟叶的烟草特有亚硝胺含量

(μg/g)

类型	产地	品种	等级	NNN	NAT	NAB	NNK	Total
白肋烟	湖北建始		上二	2.632	4.366	tr	0.384	7.382
	湖北建始		中一	2.773	4.553	tr	0.415	7.741
	湖北建始		中二	2.759	6.180	tr	0.692	9.631
	湖北建始		中三	2.306	3.028	tr	0.300	5.634
	湖北建始		上一	15.012	11.003	0.096	0.723	26.819
	四川		上三	5.166	4.391	tr	0.399	9.956
	四川		中三	7.025	2.873	tr	0.220	10.118
	河南西峡		中二	12.406	5.854	0.111	0.607	18.978
	四川达县		上一	1.279	1.111	0.077	0.138	2.605
	四川达县		中一	1.477	1.798	0.118	0.259	3.652
	平均			5.282	4.515	0.040	0.414	10.252
	标准差			4.799	2.800	0.053	0.201	7.371
	烤烟	河南襄县	NC89	B2F	0.149	0.215	tr	0.056
河南襄县		NC89	C3F	0.072	0.140	tr	0.038	0.250
山东		NC89	B2F	0.055	0.125	0.043	0.107	0.330
湖南		K326	B2F	0.100	0.196	tr	0.082	0.378
湖南		K326	C3F	0.064	0.094	tr	0.056	0.214
河南许昌		RG17	C3F	0.069	0.192	tr	0.047	0.308
河南南阳		G80	C3F	0.089	0.128	0.017	0.036	0.270
河南洛阳		红大	B2F	0.047	0.138	tr	0.065	0.250
河南洛阳		红大	C3F	0.088	0.148	tr	0.083	0.319
河南泌阳		K326	B2F	0.057	0.105	0.030	0.041	0.233
河南泌阳		K326	C3F	0.085	0.129	tr	0.095	0.309
云南		K326	B2F	0.045	0.098	tr	0.056	0.199
云南		K326	C3F	0.068	0.056	tr	0.051	0.185
云南		红大	B2F	0.055	0.081	tr	0.020	0.156
云南		红大	C3F	0.032	0.052	0.013	0.025	0.157
平均			0.067	0.124	0.006	0.057	0.254	
标准差			0.032	0.052	0.013	0.025	0.094	
香料烟 (Samsun)	新疆		A1	0.326	0.176	tr	0.033	0.535
	新疆		A2	0.057	0.106	tr	tr	0.163
	新疆		B1	0.155	0.111	tr	tr	0.266
	新疆		B2	0.137	0.224	tr	0.024	0.385
	湖北		B1	0.892	0.251	tr	0.061	1.204
	湖北		B2	2.363	0.852	0.043	0.262	3.520
	浙江		A1	0.187	0.293	tr	0.091	0.571
	浙江		B1	0.177	0.252	tr	0.072	0.501
	平均			0.537	0.283	0.005	0.068	0.893
	标准差			0.783	0.240	0.015	0.085	1.106
香料烟 (Basma)	云南		B1	0.017	0.013	tr	tr	0.030
	云南		B2	0.019	0.016	tr	tr	0.035
	平均			0.018	0.015	tr	tr	0.033
四川白柳烟				2.790	3.203	0.246	6.288	12.527
新疆黄花烟				1.390	2.511	0.378	1.303	5.582
东北晒黄烟				0.093	0.216	tr	tr	0.309

表 2 我国不同类型卷烟的烟草特有亚硝胺含量

( $\mu\text{g/g}$ )

类型	牌号	烟厂	NNN	NAT	NAB	NNK	总 TSNA
烤烟型	中华	上海	0.115	0.121	0.000	0.070	0.306
	哈德门	青岛	0.016	0.034	0.000	0.028	0.078
	红旗渠	安阳	0.043	0.083	0.000	0.017	0.143
	许昌	许昌	0.019	0.114	0.000	0.060	0.193
	黄金叶	郑州	0.084	0.216	0.000	0.021	0.321
	金沙	长沙	0.050	0.196	0.000	0.046	0.292
	红塔山	玉溪	0.010	0.078	0.000	0.085	0.173
	云烟	昆明	0.041	0.089	0.005	0.105	0.135
	茶花	昆明	0.021	0.055	0.005	0.071	0.131
	平均		0.044	0.110	0.001	0.056	0.197
	标准差		0.035	0.061	0.002	0.030	0.088
混合型	中南海	北京	1.735	1.211	0.035	0.015	3.131
	中美	中美	1.453	1.698	0.000	0.102	3.252
	长乐	北京	1.379	1.421	0.000	0.099	2.899
	丝绸之路	安阳	1.651	1.886	0.051	0.152	3.740
	853	安阳	1.545	1.777	0.045	0.119	3.486
	平均		1.552	1.599	0.026	0.124	3.302
	标准差		0.144	0.277	0.025	0.025	0.324
外香型	凤凰	上海	0.356	0.289	0.000	0.045	0.690
	银象	常德	0.527	0.523	0.000	0.031	1.081
	双叶	杭州	0.123	0.201	0.000	0.075	0.399
雪茄型	松烟	邓州	2.032	1.215	0.071	0.035	3.672
	凤烟	新乡	2.149	0.813	0.027	0.141	3.130
	红山茶	光山	1.394	1.599	0.059	0.278	3.330
雪茄	新疆	蒙城	5.010	6.000	0.080	1.576	12.656

3.  $302\mu\text{g/g}$ ,不同牌号之间差异较小。其中 NNN 和 NAT 为主要 TSNA,二者含量水平相当,二者之和约占总 TSNA 含量的 94%。从本试验结果来看,我国混合型卷烟的 TSNA 含量明显低于国外名牌混合型卷烟,如两个型号的“万宝路”总 TSNA 含量分别为  $9.91$  和  $7.70\mu\text{g/g}$ ,NNN 含量分别为  $4.12$  和  $3.18\mu\text{g/g}$ ,NAT 含量分别为  $4.37$  和  $3.20\mu\text{g/g}$ ,NNK 含量分别为  $1.42$  和  $1.32\mu\text{g/g}$ ;“骆驼”的 NNN,NAT,NNK 和总 TSNA 含量分别为  $2.19$ 、 $2.50$ 、 $1.11$  和  $5.80\mu\text{g/g}$ 。国外混合型卷烟 TSNA 含量一般比我国同类型卷烟高 2~3 倍。

我国外香型卷烟 TSNA 含量高于烤烟型卷烟,这可能与工艺配方有关。雪茄型卷烟的总 TSNA 含量水平与混合型卷烟接近。新疆蒙城雪茄 TSNA 含量较高,总 TSNA 含量达到  $12.7\mu\text{g/g}$ 。

### 2.3 TSNA 含量与生物碱含量的相关性

生物碱是 TSNA 的前体物之一,为了进一步阐明 TSNA 与 4 种主要生物碱之间的关系,我们将 59 个不同类型的具有不同生物碱水平的烟叶和卷烟样品的 TSNA 和生物碱含量进行了相关分析,其相关系数如表 3。结果表明,烟叶的降烟碱含量与 NNN 和总 TSNA 含量相关性最大,相关系数分别为  $0.8633$  和  $0.7889$ ,达到极显著水平。图 1 表示了所有烟叶和卷烟样品的降烟碱含量与 NNN 含量的关系。进一步我们只选用烟叶样品对降烟碱与 NNN 含量进行相关分析,二者的相关系数增至  $0.8996$ ,仅用 10 个降烟碱水平具有显著差异的白肋烟烟叶样品对 NNN 和降烟碱进行相关分析,其相关系数达到  $0.9330$ ,表明在采用相同的调制方法下,烟叶的降烟碱含量是决定 NNN 水平的关键因素。降烟碱是由烟碱去甲基形成的,正常

烟叶的降烟碱含量占总生物碱含量的比例较低,但转化型烟叶的降烟碱含量和比例大幅度增加。前期研究表明,我国烟叶,尤其是白肋烟和香料烟普遍存在烟碱向降烟碱转化问题。因此,最大限度地去除转化型烟叶,降低烟叶的总体降烟碱水平是降低烟叶 TSNA 水平的有效途径。

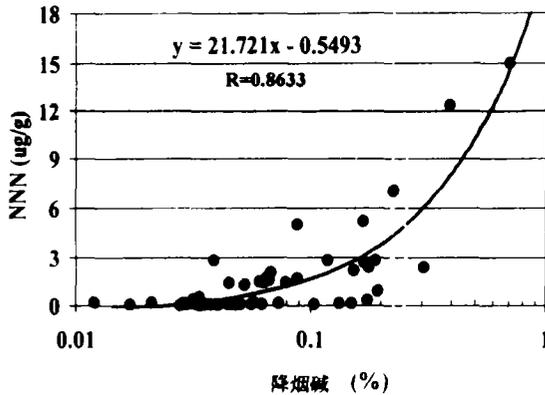


图1 降烟碱与NNN含量的关系(所有样品)

表3 我国烤烟和烟叶烟草特有亚硝胺与生物碱的相关系数

	NNN	NAT	NAB	NNK	总TSNA
烟碱	0.4074	0.5753*	0.2274	0.0316	0.4091
降烟碱	0.8633**	0.7420**	0.1559	0.0640	0.7889**
假木贼碱	0.5102*	0.6973**	0.4909*	0.2287	0.4241
新烟草碱	0.6058*	0.7866**	0.0714	0.0671	0.7111**
总生物碱	0.5187*	0.6358*	0.2341	0.0424	0.5362*

\* \* 1%显著水平, \* 5%显著水平。

此外,新烟草碱与NAT含量存在显著的正相关关系,表明新烟草碱是NAT的有效前体物,新烟草碱含量高时有利于NAT的生物合成,进而提高TSNA含量。NNK与生物碱含量不存在明显的相关关系。NAB除与假木贼碱含量相关性较大外,与其它生物碱和总生物碱含量无相关性。

综合以往的研究结果可以看出,烟叶TSNA的形成受生物碱有效性和亚硝酸有效性的双重影响。在亚硝酸水平相对稳定的条件下,TSNA含量的差异主要是由生物碱尤其是降烟碱水平的不同所造成的;而在生物碱水平相对稳定的条件下,亚硝酸的供应则是决定TSNA形成的关键。亚硝酸含量是环境影响的结果,而生物碱的组成和含量,特别是降烟碱水平则主要由基因所决定。因此,降低TSNA水平必须从环境改

善和遗传改良两方面入手。

#### 参考文献

- 1 Boyland E, Roy F J C and Corrod J W et al. Induction of pulmonary tumors in mice by nitrosornicotine, a possible constituent of tobacco smoke. *Nature*, 1964,202,1126.
- 2 Hecht S S, Chen C B, Ohmori T et al. Comparative carcinogenicity in F-344 rats of the tobacco-specific nitrosamine, N-nitrosornicotine and 4-(methyl-N-nitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone. *Cancer Res.*, 1980,40:298~302.
- 3 U. S. Surgeon General. The health consequences of smoking-cancer. U. S. Surgeon general; Washington D. C. DHHS (PHS), 82:50179,1982,181~235.
- 4 Hoffmann D, Adams J D, Brunnemann K D and Hecht S S. Formation, occurrence, and carcinogenicity of N-nitrosamines in tobacco products. N-nitro compounds. ACS Symposium Series. 1981,174:247~259.
- 5 Burton H R, Bush L P and Djordjevic M V. Influence of temperature and humidity on accumulation of tobacco-specific nitrosamines in stored burley tobacco. *J. Agric. Food Chem.*, 1989a,37:1372~1377.
- 6 Burton H R, Childs G H, Anderson R A and Fleming P D. Changes in chemical composition of burley tobacco during senescence and curing. 3. Tobacco-specific nitrosamines. *J. Agric. Food Chem.*, 1989b,37:426~430.
- 7 Djordjevic M V, Gay S L, Bush L P and Chaplin J F. Tobacco-specific nitrosamines accumulation and distribution in flue-cured tobacco alkaloid isolines. *J. Agric. Food Chem.*, 1989,37:752~756.
- 8 Chamberlain W J and Chorcyk O T. Effects of curing and fertilization on nitrosamine formation in bright and burley tobacco. *Beitrag Tabakforsch*, 1992,15:87~92.
- 9 Brunnemann K D, Masaryk J, Hoffmann D. Role of tobacco stems in the formation of N-nitrosamines in tobacco and mainstream and sidestream smoke. *J. Agric. Food Chem.*, 1983,31:1221~1224.
- 10 Fischer S, Spiegelhalder B and Preussmann R. Preformed tobacco-specific nitrosamines in tobacco: role of nitrate and influence of tobacco type. *Carcinogenesis*, 1989,10:1511~1517.
- 11 MacKown C T, Douglas B and Bush L P. Tobacco-specific nitrosamines: Formation during processing of midrib and lamina fines. *J. Agric. Food Chem.*, 1988,36:

- 1031~1035.
- 12 Bush L P, Fannin F F, Chelvarajan R L and Burton H R. Biosynthesis and metabolism of nicotine and related alkaloids. In: Gorrod J W and Wahren J (eds). *Nicotine and Related Alkaloids: Absorption, Distribution, Metabolism and Excretion*, Chapman & Hall, London. 1993, 1~30.
- 13 Andersen R A, Fleming P D, Burton H R et al. Effect of air-curing environment on alkaloid-derived nitrosamines in tobacco. In: Bartsch H, O'Neill I K, Schulte-Herrmann R (eds). *Relevance of N-Nitroso Compounds to Human Cancer. Exposure and Mechanisms*, IARC Science Publ., 1987, 84:451~455.
- 14 Peele D M, Edwards M E, Gentry J S and Nestor T B. Formation of tobacco specific nitrosamines in flue-cured tobacco. *Tobacco Sci. Res. Conf.*, 1999, 53, 88.

### TSNA contents in Chinese tobacco and cigarettes and their correlation with precursors

Shi Hongzhi<sup>1</sup> Lowell P. Bush<sup>2</sup> Huang Yuanjiong<sup>3</sup> Wang Jia<sup>2</sup> Liu Guoshun<sup>1</sup>

Wang Yanting<sup>4</sup> Yu Jianjun<sup>1</sup> Zhao Mingqin<sup>1</sup> Harold R. Burton<sup>2</sup>

1 China National Tobacco Cultivation Physiology and Biochemistry Research Center, Zhengzhou 450002

2 University of Kentucky, USA

3 Henan Provincial Tobacco Company

4 China State Tobacco Monopoly Administration

#### Abstract

The order of TSNA levels in major Chinese tobacco types is determined to be burley > Oriental (Samsun) > Flue-cured > Oriental (Basma) with the average total TSNA content of 10.25, 0.89, 0.25 and 0.03  $\mu\text{g/g}$ , respectively. NNN and NAT are the principal nitrosamines in burley and Samsun tobacco. NNN content is always the greatest in samples with higher levels of TSNA. In flue-cured tobacco no big difference among the levels of NNN, NNK and NAT was found. TSNA contents in virginia, blended, cigarillo and cigar were 0.21, 3.03, 3.39 and 12.66  $\mu\text{g/g}$ , respectively. Correlation of individual alkaloids to individual TSNA with all samples indicated that NNN with nornicotine has highest correlation coefficient of 0.8633.

**Key words:** Tobacco Cigarette TSNA