

张梦玥, 刘德水, 王俊, 等. 烟草贮藏过程中包装方式对TSNAs形成的影响[J]. 中国烟草学报, 2021, 27(2). ZHANG Mengyue, LIU Deshui, WANG Jun, et al. Effects of packaging methods on the formation of TSNAs in tobacco during storage [J]. Acta Tabacaria Sinica, 2021, 27(2). doi: 10.16472/j.chinatobacco.2020.319

烟草贮藏过程中包装方式对 TSNAs 形成的影响

张梦玥¹, 刘德水², 王俊^{1,3}, 赵园园¹, 周骏², 马雁军², 鲁喜梅¹, 史宏志^{1*}

1 河南农业大学烟草学院/烟草农业减害研究中心, 郑州 450002;

2 上海烟草集团北京卷烟厂有限公司, 北京 100024;

3 郑州大学, 郑州 450002

摘 要: 贮藏阶段是烟叶和烟梗内烟草特有亚硝胺 (TSNAs) 形成的重要时期, 为探索有效抑制贮藏期间 TSNAs 形成的方法, 以白肋烟、烤烟、雪茄茄芯和茄衣烟叶叶片和烟梗为材料, 研究了不同包装方式对常温贮藏烟叶和高温贮藏烟叶 TSNAs 含量的影响。结果表明, 白肋烟烟叶采用不同包装方式常温条件下贮藏一年后 TSNAs 增加幅度差异显著, 真空包装烟叶 TSNAs 含量最低, 分别比纸箱包装烟叶和塑料袋包装烟叶降低 45.45% 和 46.02%, 且真空包装后烟叶中性致香成分含量较高。将不同类型的烟叶叶片和烟梗进行高温贮藏后常规包装 (纸箱包装) 的叶片和烟梗的 TSNAs 含量均大幅上升, 但真空包装的不同类型烟叶样品中 TSNAs 增加幅度显著降低, 高温贮藏条件下, 真空包装的雪茄茄芯叶片和烟梗 TSNAs 总量分别比常规包装叶片和烟梗降低 38.52%、44.80%, 茄衣叶片和烟梗分别降低 28.57%、35.86%、白肋烟叶片和烟梗分别降低 40.65%、20.84%, 且以上三种类型烟叶烟梗 TSNAs 含量显著高于叶片; 烤烟叶片和烟梗 TSNAs 总量分别比常规包装烟叶降低 21.52%、38.29%, 叶片 TSNAs 含量显著高于烟梗。采用真空包装贮藏后, 可有效地隔绝氧气, 有效抑制贮藏过程中 TSNAs 的形成和积累。

关键词: 烟草, 贮藏, 烟草特有亚硝胺, 真空包装

烟草贮藏是烟叶加工利用的重要环节, 调制后的烟叶必须经过 2 年左右的贮藏和陈化才能被用于卷烟生产^[1-3]。烟叶在贮藏过程中, 多糖、色素、蛋白质、萜醇等大分子香气前体物质在酶或非酶作用下进一步降解转化, 形成对香味品质有利的成分, 杂气和刺激性降低, 余味改善, 质量提升。但另一方面, 在烟叶贮藏过程中一些有害成分也不断形成和积累^[4-5]。烟叶中的硝态氮可在贮藏温度较高时产生挥发性的氮氧化物, 并与生物碱发生亚硝化反应生成烟草特有亚硝胺 (Tobacco-Specific Nitrosamines, TSNAs)。烟草特有亚硝胺是存在于烟草、烟草制品及烟气中一类有害物质^[6-8], NNN 和 NNK 对啮齿动物具有强致癌性, 可诱发小鼠、大鼠等的肺癌和腺癌, 其中 NNK 导致肺癌的活性最强^[9-12]。2007 年, NNN 和 NNK 被

国际癌症研究署 (IARC) 列为 I 类致癌物^[13]。据报道 NNK 可使动物和人体组织中的 DNA 出现甲基化, 引发肿瘤的可能性增大^[14-15]。迄今为止, 已分离鉴定出的 TSNAs 共有 8 种^[16], 目前研究较深入的主要有 NNN、NAT、NNK 和 NAB, 一般来说, TSNAs 在烟叶成熟前和新鲜烟叶中含量极低, 其形成和积累主要在烟草调制、贮藏和燃吸过程中^[8-9, 16-17]。TSNAs 的直接前体物是生物碱和亚硝酸, 烟叶生物碱的含量和组成及硝酸盐含量与 TSNAs 的形成密切相关^[18-20]。在烟叶调制过程中, 叶面微生物可把烟叶中的硝态氮还原成亚硝酸, 进而发生亚硝化反应^[21-22]。调制中的烟叶暴露于微量的 NOx 即可生成 TSNAs^[23-24]; 烤烟明火烘烤过程中, 燃料燃烧能够产生一定浓度的燃烧副产物 NOx, 明显地促进烟叶烘烤过程中 TSNAs 的

基金项目: 上海烟草集团北京卷烟厂有限公司科技项目“烟草硝酸盐积累机理及降低硝酸盐含量调节技术研究”(合同号 2019110004340244)

作者简介: 张梦玥 (1993—), 在读博士研究生, 主要从事烟草栽培生理研究。Email: myzhang93@163.com

通讯作者: 史宏志 (1963—), 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事烟草栽培生理研究。Email: shihongzhi88@163.com

收稿日期: 2020-11-20; **网络出版日期:** 2021-04-16

形成^[25]。烟叶贮藏过程也是 TSNA 形成的主要时期, Shi 等研究得出, 在自然贮藏条件下, 白肋烟和晒烟中 TSNA 含量在 1 年内显著增加, 两种类型烟叶总 TSNA 含量均增加了 215% 左右, 上升最快的时期是高温季节^[26-28]。王俊等^[28]通过使烟叶与硝酸盐/亚硝酸盐隔离共处后, 测定样品的 TSNA 含量及周围环境的 NO_x 含量以及通过 ¹⁵N 元素示踪实验得出了烟草在贮藏过程中 TSNA 的生成途径为 NO³-N 和 NO²-N 在高温环境下产生氮氧化物 (NO_x), 进而与生物碱反应形成 TSNA; 烟叶生物碱亚硝化生成 TSNA 的反应为氧化还原反应^[29, 25], 在贮藏袋中充入臭氧可大幅度提高 TSNA 含量, 综上所述, 去除贮藏环境中的氧化剂和气态氮氧化物 (NO_x) 有利于抑制 TSNA 的形成^[30-31]。

烟叶由叶片和烟梗两部分组成, 除叶片外, 烟梗也是卷烟配方的主要原料之一, 梗丝在卷烟配方中占比为 8%~30%^[32]。烟叶的叶片和烟梗在化学组成上差异很大, 一般而言, 叶片生物碱和香气物质含量显著高于叶梗, 但烟梗的硝态氮含量显著高于叶片^[33-34], 在烟叶贮藏过程中烟梗 TSNA 含量增加显著, 因此探究贮藏过程中烟叶和烟梗 TSNA 的形成和抑制技术很有必要。虽然烟叶贮藏一般 2~3 年较为有利, 但在实际生产中, 由于库存压力等各种原因, 烟叶实际贮藏时间可达 5 年以上, 以往有关烟叶贮藏研究多基于短期贮藏试验, 关于抑制 TSNA 形成的技术也局限于温湿度的控制^[35-37]。本研究以烤烟、白肋烟和雪茄烟叶为材料, 探索了真空包装等不同贮藏方式对降低烟叶叶片和烟梗贮藏过程中 TSNA 形成的效果, 旨在为优质低害烟叶和卷烟生产提供新的思路和方法。

1 材料与方法

1.1 供试材料

本试验所用白肋烟品种为 TN86 (产自湖北省恩施市烟草公司)、烤烟品种为中烟 100 (产自河南省许昌市烟草公司)、雪茄茄芯烟叶品种为什烟 1 号 (四川省德阳市烟草公司) 以及雪茄茄衣品种为德雪 3 号 (四川省德阳市烟草公司)。将样品叶片和烟梗分离, 叶片切成 0.5 cm² 大小的碎片, 烟梗切成长 0.5 cm 左右混匀备用。置于 4℃ 储存待用。

1.2 试验方法

1.2.1 包装方式对常温条件下烟叶 TSNA 及中性致香成分含量的影响

称取 400 g 的白肋烟样品 3 份, 分别采用塑料袋

包装、纸箱包装、真空包装袋抽真空处理后包装, (真空时间 17 s, 充气时间 10 s, 封口时间 2 s, 冷却时间 1.5 s, 封口温度中温, 真空度: 0.085 Mpa) 将 3 份样品存放在实验室的自然环境下贮藏一年, 另一份样品 4℃ 低温保存作为对照。处理结束后, 测定烟叶 TSNA 含量和中性香气成分。

1.2.2 真空包装对不同类型烟叶样品叶片和烟梗 TSNA 含量的影响

分别称取 50 g 不同类型烟叶的叶片、烟梗 (主脉) 4 份, 取两份样品, 其中一份采用真空包装袋包装并进行抽真空处理, 另一份使用纸箱包装作为常规包装均放入恒温恒湿箱内于 45℃ 下处理 15 d, 其余两份样品, 一份于常温下使用纸箱包装作为常规包装处理 15 d, 另一份样品 4℃ 低温保存作为贮藏前样品对照, 取出后分别进行冷冻干燥磨碎, 磨碎后过 250 μm 筛, 测定处理前后 TSNA 变化, 每个处理设置 3 次重复。

1.3 化学成分测定

1.3.1 TSNA 含量测定

样品均由上海烟草集团北京卷烟厂进行测定。测定方法为在线 SPE-液相色谱质谱联用 (SPE-LC-MS/MS) 法 (SPE-LC: Spark Holland, Symbiosis (Pico); MS/MS: AB Sciex triple quad 5500)。称取 1.0 g 烟样, 将其放入 50 mL 锥形瓶中, 加入 40 μL 4 种氘代 TSNA (内标) 溶液 (5 000 ng/mL) 和 30 mL 100 mmol/L 乙酸铵水溶液, 在室温下用振荡器 (200 r/min) 萃取 1 小时, 萃取液过 0.45 μm 水相滤膜后使用 LC-MS/MS 检测 TSNA 含量^[19]。NNN、NNK、NAT 和 NAB 含量之和即为 TSNA 总量。

1.3.2 中性致香成分测定

采用同时蒸馏萃取仪提取香气物质, 气质联用仪进行分析 (GC/MS: Agilent 7890A-5975C, Agilent Technologies, USA), 内标法 (硝基苯) 进行测定。称 20.000 g 烟样放入 100 mL 圆底烧瓶中, 依次加入 2.0 g 柠檬酸、0.5 mL 内标和 500 mL 去离子水, 充分摇匀。以 40 mL 的二氯甲烷为萃取剂, 采用同时蒸馏萃取的方法收集有机相, 并将样品浓缩至 1 mL 左右, 备用。样品由 GC/MS 鉴定结果和 NIST08 库检索定性^[38]。

1.4 数据分析

采用 Excel 2007 进行基础数据处理和绘图、SPSS 20.0 进行方差分析, 分析不同包装方式烟叶 TSNA、中性致香成分差异以及不同温度、不同类型烟叶处理后叶片和烟梗 TSNA 差异的显著性。

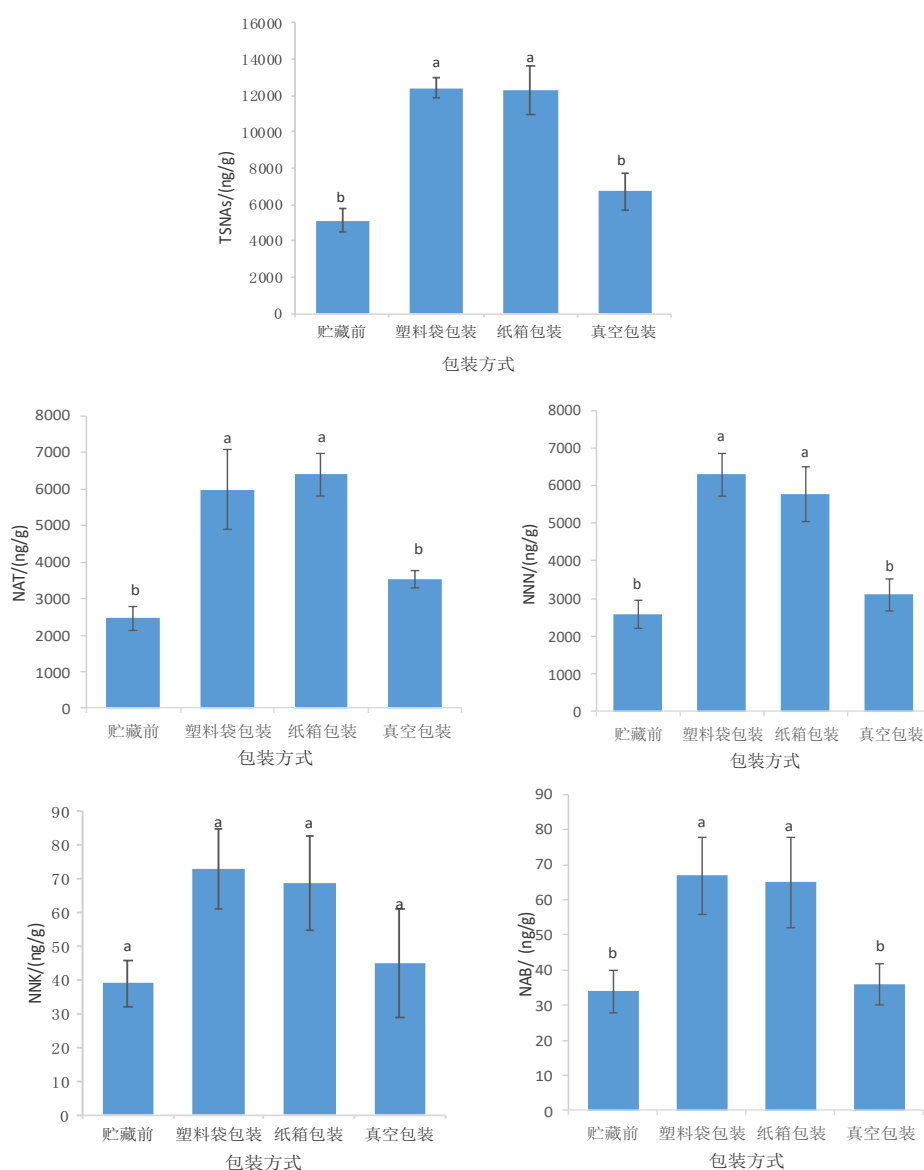
2 结果与分析

2.1 包装方式对常温条件下烟叶 TSNAs 及中性致香成分含量的影响

2.1.1 包装方式对常温条件下烟叶 TSNAs 的影响

白肋烟烟叶采用不同包装方式常温条件下贮藏一年后, TSNAs 含量的变化见图 1。与贮藏前相比, 贮藏后样品 TSNAs 的含量均有所增加, 塑料袋包装的样品 4 种 TSNA 的含量与对照相比显著增加 ($P < 0.05$), TSNAs 总量增加了 128.72%, 其中 NNN 和 NNK 含量分别增加了 139.02% 和 119.85%; 纸箱包装的样品 TSNAs

含量与塑料袋包装的无显著的差异 ($P > 0.05$)。真空包装处理的烟叶 TSNAs 增加幅度最小, TSNAs 总量与对照相比提高了 23.56%, NNN 和 NNK 含量仅增加了 17.67% 和 29.65%, 差异不显著 ($P > 0.05$); 与纸箱包装贮藏的烟叶相比, TSNAs 总量降低了 45.4%, NNN 和 NNK 含量分别减少了 46.3% 和 34.7%, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。研究结果表明, 在常温贮藏过程中, 与塑料袋包装、纸箱包装相比, 采用真空包装处理能更好地抑制 TSNAs 的形成和积累。



注: 图中不同小写字母表示组间差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 下同。

Note: Different lowercase letters in the figure indicate statistically significant differences between groups ($P < 0.05$), the same below.

图 1 包装方式对白肋烟 TSNAs 形成的影响 (ng/g)

Fig. 1 Effect of packaging method on TSNAs formation of burley tobacco

2.1.2 贮藏方式对常温条件下烟叶中性香气成分的影响
不同贮藏方式烟叶的中性香气成分含量如表 1 所示, 经过一年的贮藏后, 贮藏方式不同中性香气物质含量差异较大, 其中真空包装处理的烟叶总香气含量最高为 632.9 $\mu\text{g/g}$, 显著高于其它处理 ($P < 0.05$), 塑料包装的香气物质总量次之, 为 563.77 $\mu\text{g/g}$, 而纸

箱包装的烟叶香气物质含量最低, 为 547.75 $\mu\text{g/g}$ 。贮藏方式不同, 5 类中性香气物质的含量各不相同, 其中真空包装烟叶的类胡萝卜素降解物类、类西柏烷类、苯丙氨酸类、新植二烯含量最高。由此可见, 烟叶采用真空包装在一定程度上可抑制 TSNA_s 的形成和积累, 且烟叶香气品质较好。

表 1 不同包装方式的白肋烟中性香气成分的变化
Tab. 1 Changes of neutral aroma constituents in burley tobacco under different packaging methods

香气物质 类型	中性致香成分	含量 / ($\mu\text{g/g}$)			
		贮藏前	纸箱包装	塑料袋包装	真空包装
类胡萝卜素降解物类	二氢猕猴桃内酯	3.53	3.79	3.29	4.44
	3- 羟基 - β - 二氢大马酮	6.12	2.71	3.09	6.07
	氧化异佛尔酮	0.30	0.29	0.32	0.52
	巨豆三烯酮 1	2.27	2.40	2.74	5.03
	巨豆三烯酮 2	10.93	11.38	13.29	24.64
	巨豆三烯酮 3	0.96	1.36	2.35	1.96
	巨豆三烯酮 4	10.49	13.12	14.57	25.91
	β - 大马酮	10.21	13.36	13.46	13.07
	6- 甲基 -5- 庚烯 -2- 酮	1.10	1.24	1.20	1.16
	6- 甲基 -5- 庚烯 -2- 醇	0.25	0.24	0.25	0.28
	香叶基丙酮	2.58	2.01	2.11	2.88
	法尼基丙酮	11.83	12.05	11.78	13.22
	芳樟醇	1.83	1.72	1.46	1.39
	螺岩兰草酮	0.27	0.36	0.56	0.54
	β - 二氢大马酮	11.03	10.83	10.15	10.90
	小计	73.70b	76.86b	80.62a	112.00a
类西柏烷类	茄酮	33.05	28.45	27.07	32.13
苯丙氨酸类	苯甲醛	1.41	1.72	2.10	2.48
	苯甲醇	4.20	4.11	3.02	3.34
	苯乙醛	17.13	17.48	19.73	19.17
	苯乙醇	6.41	6.08	5.16	6.40
	小计	29.15	29.38	30.01	31.40
棕色化产物类	糠醛	9.35	9.06	8.94	8.74
	糠醇	3.64	3.59	2.98	3.13
	5- 甲基糠醛	4.75	6.32	5.57	5.39
	3,4- 二甲基 -2,5- 呋喃二酮	0.43	0.98	0.95	0.92
	小计	18.17	19.95	18.44	18.18
叶绿素降解产物	新植二烯	456.30	393.12	407.64	439.20
总计		610.37a	547.75b	563.77b	632.90a

注: 表中的数据代表平均值, 同行不同小写字母表示组间差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 下同。
Note: The data in the table represent the average value. Different lowercase letters in the same group indicate statistically significant differences between groups ($P < 0.05$), the same below.

2.2 真空包装对不同类型烟叶样品叶片和烟梗 TSNA_s 含量的影响

2.2.1 真空包装对不同类型烟叶样品叶片和烟梗 NNN 含量的影响

将不同类型烟叶常规包装（纸箱包装）和真空包装的叶片和烟梗样品分别在高温条件下贮藏 15 d 后测定 NNN 含量（图 2），结果表明，4 种类型经常规包装的烟叶样品在高温贮藏后 NNN 含量显著增加（ $P < 0.05$ ），真空包装样品 NNN 含量增加幅度显著降低（ $P < 0.05$ ），其中雪茄茄芯、茄衣、烤烟和白肋烟叶片 NNN 含量与常规包装样品相比分别降低

39.27%、29.03%、17.62%、29.55%，烟梗 NNN 含量分别降低 50.75%、28.94%、50.43%、32.29%，差异均具有统计学意义（ $P < 0.05$ ）。真空包装样品高温贮藏后的 NNN 的含量一般接近常温条件下常规包装的含量。从图中可知，烤烟叶片中 NNN 含量高于烟梗，雪茄茄芯、雪茄茄衣和白肋烟内两部分含量呈现相反趋势，贮藏前烤烟叶片中 NNN 含量是烟梗的 14.70 倍。雪茄茄芯叶片中 NNN 含量最高，且高于雪茄茄衣和烤烟叶片内 NNN 含量，烟梗内 NNN 含量大小排序为雪茄茄芯 > 雪茄茄衣 > 白肋烟 > 烤烟。

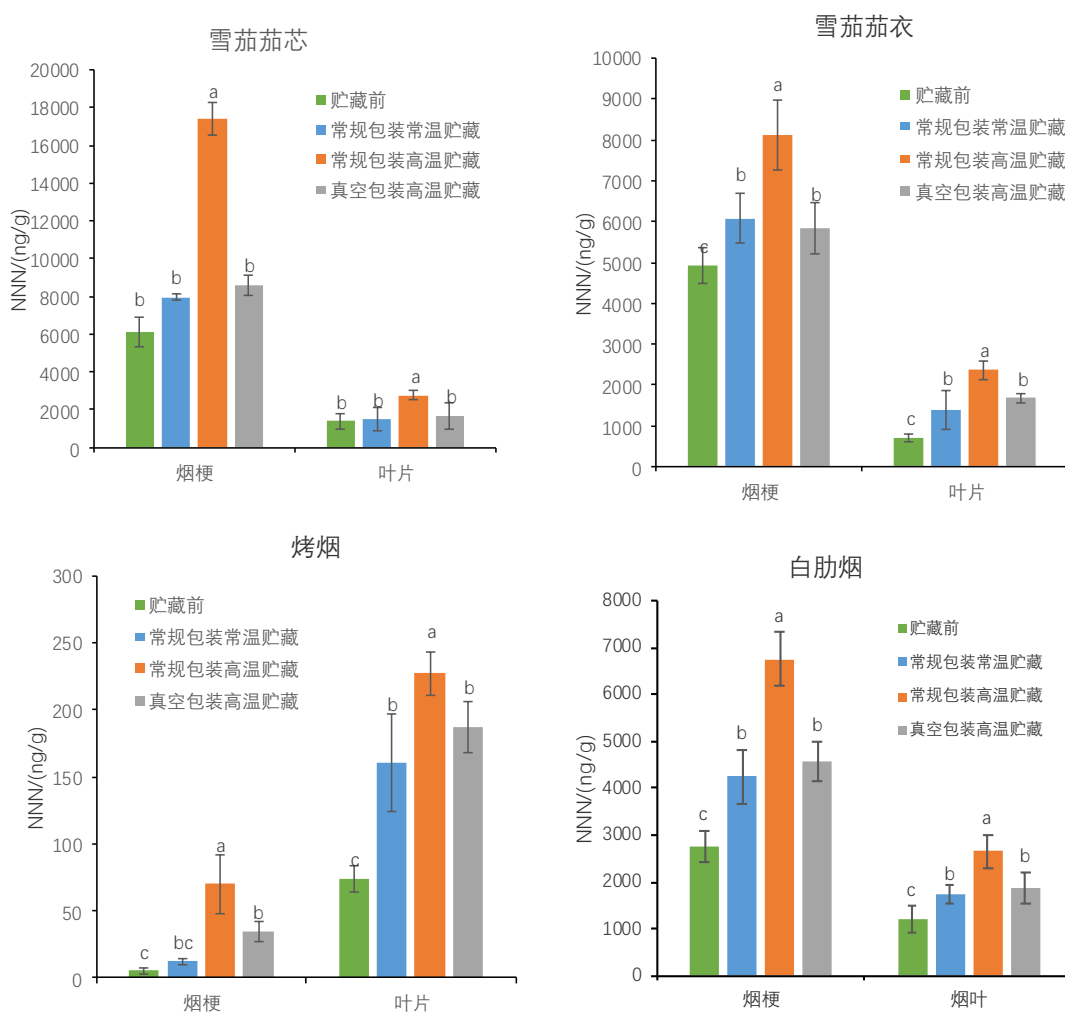


图 2 真空包装对不同类型烟叶样品叶片和烟梗 NNN 含量的影响

Fig. 2 Effect of vacuum packaging on NNN content in leaves and stems of different types of tobacco samples

2.2.2 真空包装对不同类型烟叶样品叶片和烟梗 NAT 含量的影响

不同类型烟叶叶片和烟梗 NAT 含量的测定结果表明（图 3），4 种类型烟叶在高温环境下经真空包装

后 NAT 含量均较常规包装（纸箱包装）有所降低，雪茄茄衣烟梗经真空包装后效果更显著（ $P < 0.05$ ），较常规包装降低 53.78%，雪茄茄芯、白肋烟、烤烟烟梗分别较高温常规包装下降 35.00%、33.33%、

13.90%。叶片以白肋烟经真空包装后 NAT 含量下降幅度更大,较常规包装下降 44.10%,达显著水平 ($P < 0.05$)。雪茄茄衣、烤烟和雪茄茄芯叶片经真空包装后较常规包装分别下降 15.01%、24.24%、42.31%,且差异均具有统计学意义 ($P < 0.05$)。烟梗中 NAT 含量存在差异,白肋烟烟梗中 NAT 含量最高,其次是雪茄茄芯,烤烟烟梗中 NAT 含量最低。

不同类型烟叶叶片和烟梗中 NAT 含量高低有所差异,贮藏前烤烟叶片中 NAT 含量高于烟梗中 NAT 含量,高温贮藏后烤烟烟梗中 NAT 含量增加幅度较大,造成烟梗中 NAT 含量高于叶片。雪茄茄芯、雪茄茄衣、白肋烟烟梗中 NAT 含量显著高于叶片;高温贮藏后的雪茄茄衣烟梗、白肋烟叶片内 NAT 含量增加幅度较大。

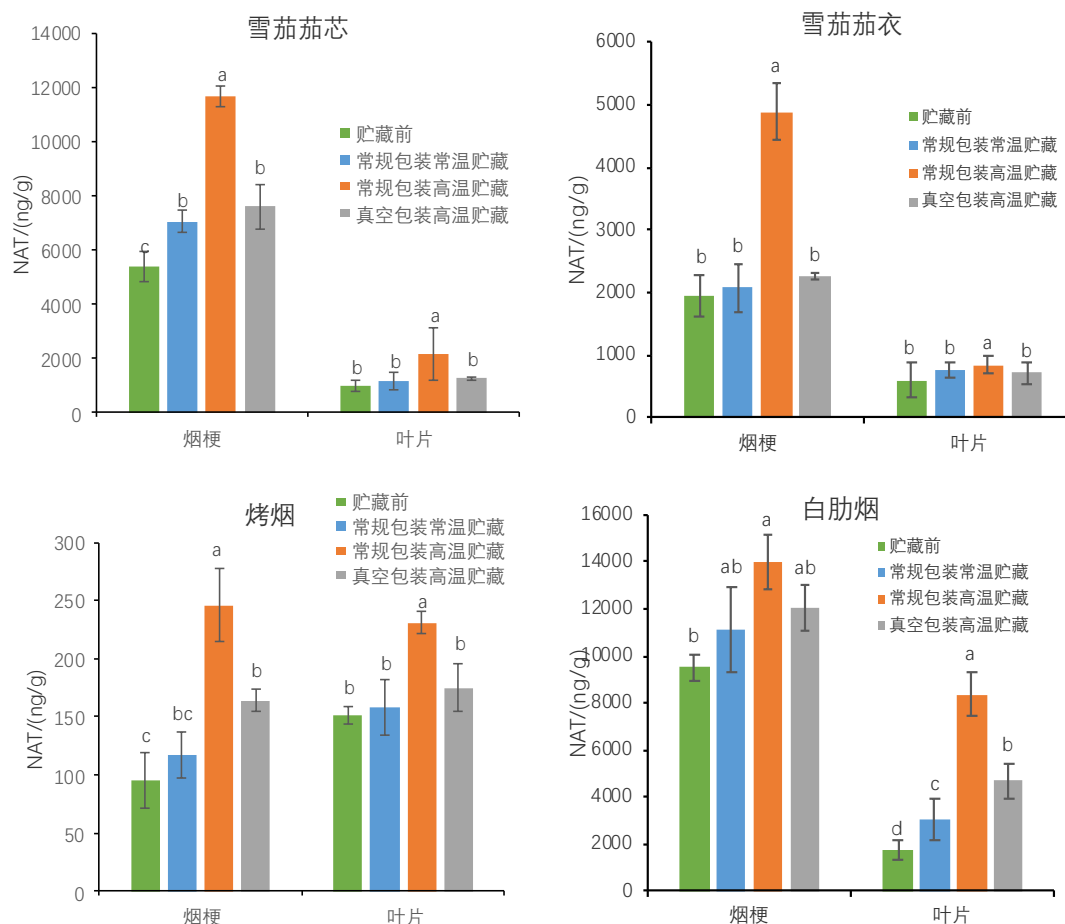


图 3 真空包装对不同类型烟叶样品叶片和烟梗 NAT 含量的影响

Fig. 3 Effect of vacuum packaging on NAT content in leaves and stems of different types of tobacco samples

2.2.3 真空包装对不同类型烟叶样品叶片和烟梗 NNK 含量的影响

测定不同类型烟叶样品的叶片和烟梗 NNK 含量如图 4 所示,4 种类型烟叶抽真空处理后 NNK 含量均有所降低,且下降幅度均达到显著水平 ($P < 0.05$),白肋烟降低幅度较大,叶片和烟梗经真空包装后 NNK 含量较常规包装(纸箱包装)显著降低 45.05% 和 50.19% ($P < 0.05$),雪茄茄衣叶片和雪茄茄芯、烤烟烟梗经真空包装后较常规包装分别下降 52.61%、

56.72%、52.65%,下降率达 50% 以上,差异均具有统计学意义 ($P < 0.05$)。烤烟烟梗中 NNK 含量低于叶片中 NNK 含量,雪茄茄芯、雪茄茄衣、白肋烟叶片 NNK 含量高于烟梗,贮藏前,雪茄茄衣烟梗内 NNK 含量为叶片的 6.88 倍。雪茄茄衣烟梗中 NNK 含量最高,其次是雪茄茄芯,两者显著高于其他两种烟叶,烤烟中 NNK 含量最低。高温贮藏后的烟叶样品内 NNK 含量升高效果较常温贮藏更加显著。

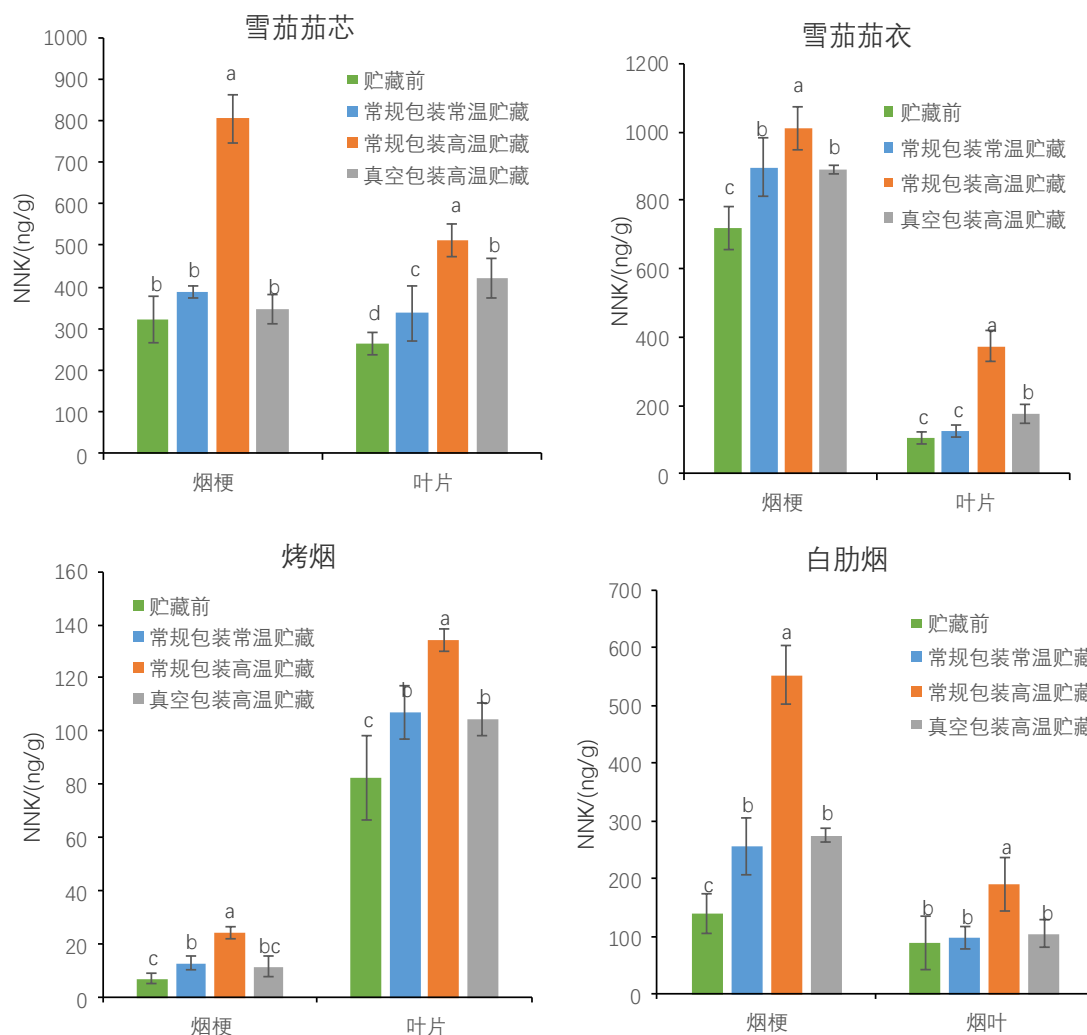


图4 真空包装对不同类型烟叶样品叶片和烟梗 NNK 含量的影响

Fig. 4 Effect of vacuum packaging on NNK content in leaves and stems of different types of tobacco samples

2.2.4 真空包装对不同类型烟叶样品叶片和烟梗 NAB 含量的影响

测定不同类型烟叶叶片和烟梗贮藏 15 d 后 NAB 含量如图 5, 从图中可以看出不同类型烟叶在高温环境下使用真空包装与常规包装(纸箱包装)后, 叶片和烟梗内 NAB 含量的差异均达到显著水平 ($P < 0.05$), 且使用真空包装后 NAB 含量的下降程度有所不同, 雪茄茄衣的叶片进行抽真空后 NAB 含量较高温贮藏下降 64.72%, 下降效果最显著 ($P < 0.05$), 其次是白肋烟和雪茄茄芯烟梗,

与常规包装贮藏的烟叶相比分别降低了 58.21% 和 57.63%, 且差异均具有统计学意义 ($P < 0.05$); 四种类型烟叶叶片和烟梗经真空包装后 NAB 含量与常温贮藏后 NAB 含量差异均未达到显著水平 ($P > 0.05$)。在两种不同温度贮藏条件下 NAB 含量增加情况存在差异, 在高温环境下, 4 种烟叶内 NAB 含量均呈大幅度增加。白肋烟烟梗 NAB 含量最高, 烤烟叶片和烟梗内 NAB 含量最低。雪茄茄衣、茄芯、白肋烟烟梗 NAB 含量显著高于叶片内 NAB 含量, 烤烟则相反。

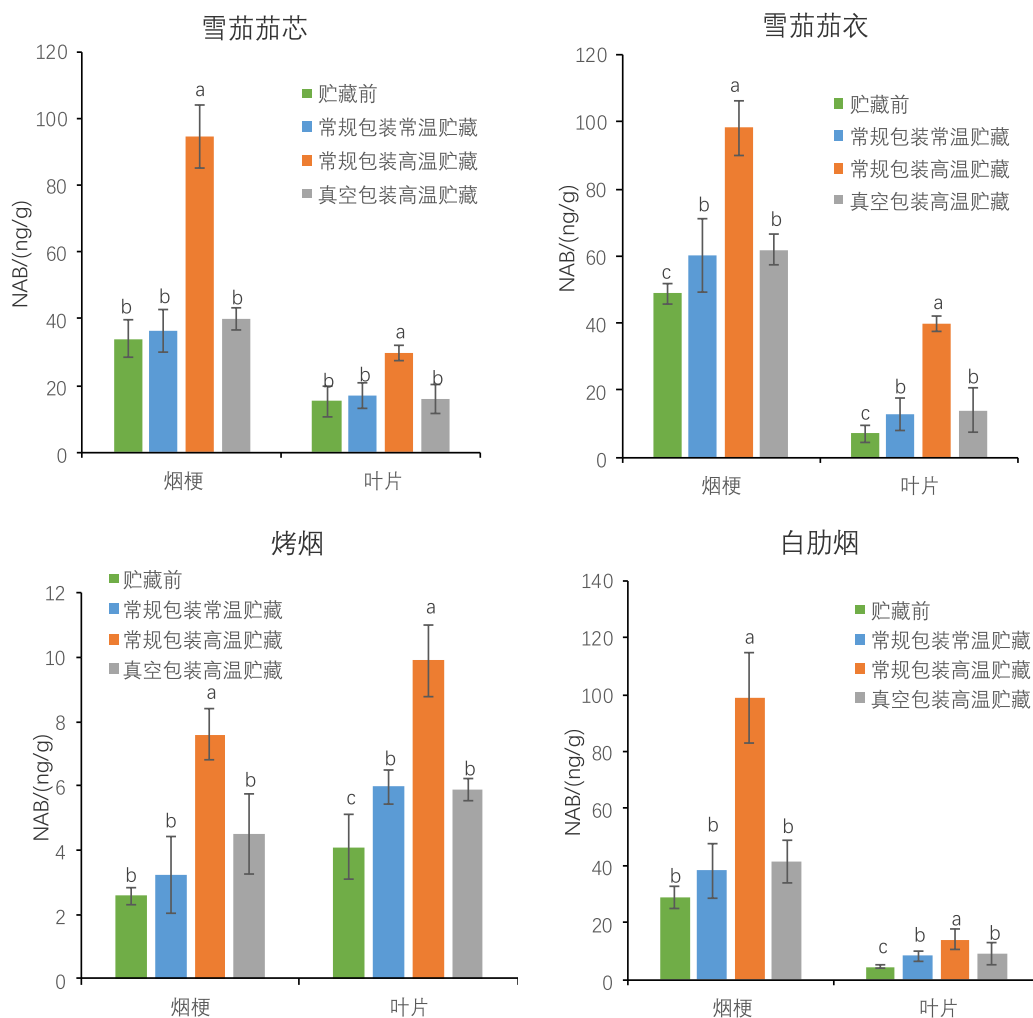


图 5 真空包装对不同类型烟叶样品叶片和烟梗 NAB 含量的影响

Fig. 5 Effect of vacuum packaging on NAB content in leaves and stems of different types of tobacco samples

2.2.5 真空包装对不同类型烟叶样品叶片和烟梗 TSNA 总量的影响

将不同类型烟叶常规包装（纸箱包装）和真空包装的叶片和烟梗样品分别在高温条件下贮藏 15 d 后测定 TSNA 总量（图 6），不同类型烟叶的叶片和烟梗在经过真空包装后，TSNA 总量较常规包装得到了不同程度的降低，且下降程度均达到显著水平（ $P < 0.05$ ），以雪茄茄芯烟梗下降幅度最大，较高温贮藏显著下降 44.80%（ $P < 0.05$ ），雪茄茄衣、烤烟和白肋烟烟梗 TSNA 总量别较常规包装降低 35.86%、38.29%、20.84%，差异均具有统计学意义

（ $P < 0.05$ ）。烟叶叶片以白肋烟下降幅度最大，较常规包装高温贮藏显著降低 40.65%（ $P < 0.05$ ），雪茄茄芯、雪茄茄衣、烤烟叶片内 TSNA 总量分别下降 38.52%、28.57%、21.52%。不同类型烟叶内叶片和烟梗中 TSNA 总量高低情况与 NNN、NAB、NAT、NNK 相似，雪茄茄衣、雪茄茄芯、白肋烟烟梗 TSNA 总量高于叶片，烤烟叶片内 TSNA 含量较高。4 种烟叶样品烟梗 TSNA 总量大小排列如下：白肋烟 > 雪茄茄芯 > 雪茄茄衣 > 烤烟。不同类型烟叶样品 TSNA 总量于高温贮藏后含量大幅度增加，与 4 种 TSNA 情况相似。

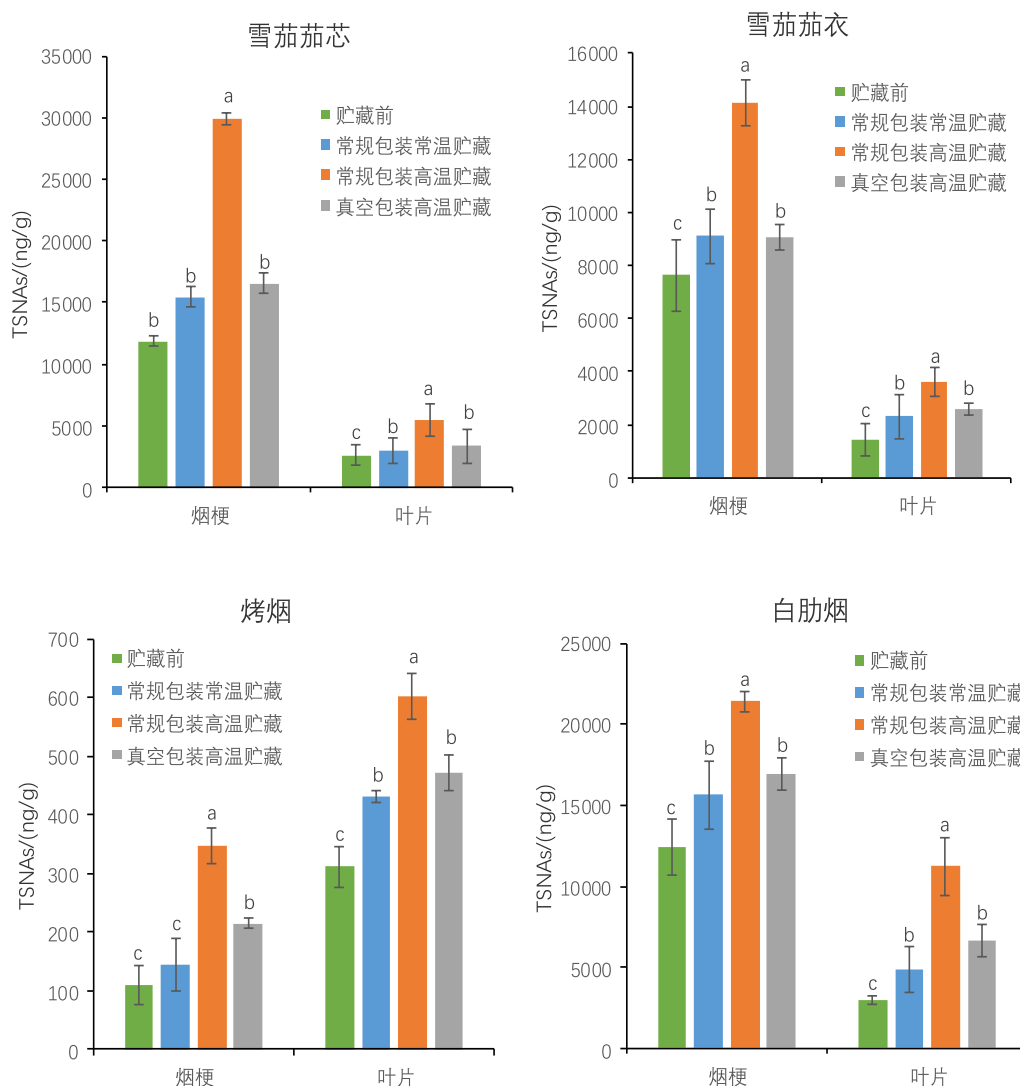


图 6 真空包装对不同类型烟叶样品叶片和烟梗 TSNA 含量的影响

Fig. 6 Effect of vacuum packaging on TSNA content in leaves and stems of different types of tobacco samples

3 讨论

烟草特有亚硝胺是烟叶中重要的特有的有害成分,在长期贮藏过程中烟草特有亚硝胺含量表现出持续增加的趋势,表明贮藏环节是 TSNA 形成的主要时期之一,也是采取人工措施降低烟叶 TSNA 积累的关键时期^[39, 27-28]。不同类型烟叶以及烟叶的叶片和烟梗之间 TSNA 含量差异很大,这一方面体现在新调制后的烟叶 TSNA 含量有差异,另一方面也体现在烟叶贮藏过程中 TSNA 形成量的不同。不同类型烟叶相比,烤烟 TSNA 含量较低,且在烟叶贮藏过程中增加幅度较小,这与其烟叶采用烘烤的方式进行

调制和烟叶硝态氮含量较低有关^[40, 33],白肋烟、雪茄烟采用自然条件下晾制的调制方法,调制时间长,且烟叶硝态氮含量高,因此调制后和贮藏后的烟叶 TSNA 含量增加幅度较大。烟叶叶片和烟梗都可用于卷烟生产,二者在化学组成上差别较大,烟梗的硝态氮含量显著高于叶片,但生物碱含量却低于叶片^[41, 34],这直接影响到贮藏前和贮藏过程中 TSNA 的形成,其中烤烟叶片的 TSNA 含量高于烟梗,但白肋烟和雪茄烟等晾晒烟则是烟梗的 TSNA 含量显著高于叶片,这种差异性主要与调制方式有关,但无论是烤烟还是晾晒烟,在贮藏过程中 TSNA 的增幅都表现为烟梗大于叶片,这可能主要是由于烟梗硝态

氮含量远高于叶片所致,特别是在高温贮藏条件下,本实验室前期研究表明,高温促使硝态氮产生气态氮氧化物,进而与生物碱发生亚硝化反应是高温贮藏过程 TSNA 形成的主要机理^[28,35]。

前人研究表明,由生物碱发生亚硝化反应生成 TSNA 的反应是一种氧化反应,需要氧的参与^[29-31],去除贮藏环境中的 NO_x 和氧气可能会对抑制 TSNA 的形成有一定的作用。该研究中,无论是在高温环境中还是常温的条件下,经过真空包装后贮藏的不同类型的烟叶叶片烟梗中 TSNA 的含量显著低于未经真空包装的烟叶。经过一年贮藏后,经真空包装处理后贮藏的白肋烟叶与另外两种贮藏方式相比较,其 TSNA 的增幅最小,由此可见烟叶真空状态在一定程度上可抑制 TSNA 的生成,这可能与采用真空包装后有效地隔绝空气,减少空气的氧化作用有关。该研究为在烟叶贮藏阶段降低 TSNA 的生成,进而提高烟叶及制品的安全性提供了新的思路和方法。

4 结论

烟叶和烟梗采用真空包装方式进行贮藏,可有效地隔绝空气,显著抑制 TSNA 的形成和积累,TSNA 增加量显著低于未经真空包装的烟叶,且烟叶中性致香成分含量较高。因此在雪茄烟、白肋烟和烤烟烟叶和烟梗长期贮藏过程中,采用真空包装有利于减少有害物质的形成,提升优质低害烟叶原料保障水平。

参考文献

- [1] 郭俊成,程晓蕾,肖厚荣,等. 皖南烤烟陈化研究[J]. 中国烟草, 1996(2):16-17.
GUO Juncheng, CHENG Xiaolei, XIAO Hourong, et al. Study on the aging of flue cured tobacco in southern Anhui Province[J]. Chinese Tobacco Science, 1996(2):16-17.
- [2] 陈红华. 不同陈化条件对河南烤烟理化特性及品质效应的影响[D]. 河南农业大学, 2007.
CHEN Honghua. Effects of different ageing conditions on the physiological and characteristics and quality of flue-cured tobacco in Henan[D]. Zhengzhou: Henan agricultural university, 2010.
- [3] 王晓辉,赵云川,李炎强,等. 陈化过程中云南烤烟复烤片烟 B2F 和 C3F 某些理化指标的变化[J]. 烟草科技, 2004(10):18-20.
WANG Xiaohui, ZHAO Yunchuan, LI Yanqiang, et al. Changes of some physical and chemical indexes of redried Yunnan flue-cured strips, B2F and C3F during ageing[J]. Tobacco Science & Technology, 2004(10):18-20.
- [4] 赵铭钦,汪耀富,杜士彬. 陈化期间烟叶香气成份消长规律的研究[J]. 中国农业大学学报, 1997(03):73-77.
ZHAO Mingqin, WANG Yaofu, DU Shibin. Study on the changing characteristics of Aroma components in tobacco leaves during aging[J]. Journal of China Agricultural University, 1997(03):73-77.
- [5] 王卫峰,章友爱,陈子枫,等. 自然醇化对烟叶化学组分及致香物质的影响[J]. 广西农学报, 2016, 31(2):8-13.
WANG Weifeng, ZHANG Youai, CHEN Zifeng, et al. Impact of natural alcoholization on main chemical compositions and aroma constituents in tobacco[J]. Journal of Guangxi Agriculture, 2016, 31(2):8-13.
- [6] 王玉华. 醇化过程中烟叶重要中性致香物质变化研究[D]. 北京: 中国农业科学院研究生院, 2014.
WANG Yuhua. Study on variation of important neutral aroma constituents in tobacco leaf during aging [D]. Beijing: Graduate School of Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2014.
- [7] 史宏志,张建勋. 烟草生物碱[M]. 北京: 中国农业出版社, 2004: 106-108.
SHI Hongzhi, ZHANG Jianxun. Tobacco alkaloids[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2004: 106-108.
- [8] 史宏志,李进平, Bush L P, 等. 烟碱转化率与卷烟感官评吸品质和烟气 TSNA 含量的关系[J]. 中国烟草学报, 2005, (02): 9-14.
SHI Hongzhi, LI Jinping, L. P. Bush, et al. Relationship of percent nicotine conversion with sensory evaluation scores and TSNA contents in cut tobacco and cigarette smoke[J]. Acta Tabacaria Sinica, 2005, (02): 9-14.
- [9] Peele D M. Formation of tobacco specific nitrosamines in flue-cured tobacco[C]. 1999 CORESTA Congress, October 13, 1999.
- [10] Boyland E, Roe F J C, Gorrod J W, et al. Induction of pulmonary tumors in mice by nitro so-nornicotine, a possible constituent of tobacco smoke [J]. Nature, 1964, 202: 1126.
- [11] El-Bayoumy K, Latropoulos M, Amin S, et al. Increased expression of cyclooxygenase in rat lung tumors induced by the tobacco specific nitrosamine 4-(Methylnitrosamino)-4-(3-pyridyl)-1-butanone: the impact of a high-fat diet [J]. Cancer Research, 1999, 59: 1400-1403.
- [12] USDHHS. Harmful and potentially harmful constituents in tobacco products and tobacco smoke: Established list; US Food and Drug Administration: 2012. <http://www.Fda.Gov/tobaccoproducts/guidancecompliance/regulatoryinformation/ucm297786.Htm>.
- [13] 吴建军. NNK 诱导肺癌发生过程中循环 microRNA 标志物研究[D]. 广州: 南方医科大学, 2013.
WU Jianjun. Study on circulating microRNA as biomarker for NNK induced lung carcinogenesis [D]. Guangzhou: Southern Medical University, 2013.
- [14] International Agency for Research on Cancer. Smokeless tobacco and tobacco-specific nitrosamines; IARC Monograph on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans 89. Lyon, France: IARC, 2007.
- [15] Hecht S S, Chen CH B, Hoffmann D. A study of tobacco carcinogenesis. 17. tobacco-specific nitrosamines: occurrence, formation, carcinogenicity, and metabolism[J]. Accounts of Chemical Research, 1979, 12(3): 92-98.
- [16] Hennningfield, J. E., Slade, J., tobacco-dependence medications: public health and regulatory issues. Food and Drug Law Journal, 1998, 53 (Suppl.), 75 ~ 114.
- [17] Hecht S S, Hoffmann D. Tobacco-specific nitrosamines, an important group of carcinogens in tobacco and tobacco smoke [J]. Commentary American Health Foundation, 1988, 9(6):875-884.
- [18] 史宏志,刘国顺. 白肋烟烟碱转化及烟草特有亚硝胺形成[J]. 中国烟草学报, 2008, 14(S1):41-46.
SHI Hongzhi, LIU Guoshun. Nicotine conversion and formation of

- tobacco-specific nitrosamines in burley tobacco [J]. *Acta Tabacaria Sinica*, 2008, 14(S1): 41-46.
- [19] 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 Agricultural and Food Chemistry*, 1994, 42(9): 2007-2011.
- [20] Hoffmann D, Brunnemann K D, Prokopczyk B D, et al. Tobacco specific N-nitrosamines and areca-derived N-nitrosamines chemistry, biochemistry, carcinogenicity, and relevance to humans[J]. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 1994, 41(1): 1-52.
- [21] Spott O, Russow R, Stange C F. Formation of hybrid N₂O and hybrid N₂ due to codenitrification: First review of a barely considered process of microbially mediated N-nitrosation[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2011, 43(10): 1995-2011.
- [22] Calmels S, Ohshima H, Bartsch H. Nitrosamine formation by denitrifying and non-denitrifying bacteria: implication of nitrite reductase and nitrate reductase in nitrosation catalysis[J]. *Journal of General Microbiology*, 1988, 134(1): 221-226.
- [23] 曾凡海, 李卫, 周冀衡, 等. 烟草特有亚硝胺 (TSNA) 的研究进展 [J]. *中国农学通报*, 2010, 26(10): 82-86.
ZENG Fanhai, LI Wei, ZHOU Jiheng, et al. Research progress of tobacco specific nitrosamines (TSNA)[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2010, 26(10): 82-86.
- [24] Fischer S, Spiegelhalder B, Eisenbarth J, et al. Investigation on the origin of tobacco-specific nitrosamines in main stream smoke of cigarettes [J]. *Carcinogenesis*, 1990, 11:723-730.
- [25] Bush L P, Cui M, Shi H, et al. Formation of tobacco-specific nitrosamines in air-cured tobacco[J]. *Recent Advances in Tobacco Science*, 2001, 27:23-46.
- [26] Shi H, Wang R, Bush L P, et al. Changes in TSNA contents during tobacco storage and the effect of temperature and nitrate level on TSNA formation[J]. *J Agric Food Chem*, 2013, 61(47):11588-11594.
- [27] 王瑞云. 烟草贮藏过程中 TSNA 形成及与温度和硝酸盐含量的关系 [D]. 郑州: 河南农业大学, 2014.
WANG Ruiyun. Formation of TSNA during tobacco storage and the relationship with temperature and nitrate contents [D]. Zhengzhou: Henan agricultural university, 2014.
- [28] 王俊. 烟叶贮藏过程中 TSNA 的形成机理及抑制技术研究. 河南农业大学, 郑州, 2017.
WANG Jun. Study on the Formation Mechanism and Inhibitory Technologies of TSNA in Storing Tobacco Leaves. Henan Agricultural University, Zhengzhou, 2017.
- [29] Bush L, Hempfling W P, Burton H. Biosynthesis of nicotine and related compounds[J]. *ELSEVIER*, 1999.
- [30] Nestor T B. Role of oxides of nitrogen in tobacco-specific nitrosamine formation in flue-cured tobacco[J]. *Beiträge zur Tabakforschung International*, 2003, 20(7): 467-475.
- [31] 孙槿淑, 王瑞云, 周骏, 等. 氧化剂和抗氧化剂处理对高温贮藏白肋烟 TSNA 形成的影响 [J]. *烟草科技*, 2015, 48(04):19-22+31.
SUN Wenshu, WANG Ruiyun, ZHOU Jun, et al. Effects of oxidant and antioxidant treatment on the formation of TSNA in burley tobacco stored at high temperature[J]. *Tobacco Science and Technology*, 2015, 48(04): 19-22+31.
- [32] 丁伟, 闫洪喜, 陆扬, 等. 掺配比例对烟丝主要化学成分含量及指标值的相关性研究 [C]// 中国烟草学会工业专业委员会烟草工艺学术研讨会. 2010.
DING Wei, YAN Hongxi, LU Yang, et al. Study on the correlation between the content and index value of main chemical components in cut tobacco[C] // Symposium on tobacco technology of Industrial Committee of China Tobacco Society. 2010.
- [33] 靳彤, 史宏志, 周骏, 等. 不同初烤烟叶叶片和烟梗 TSNA 含量及高温贮藏后的变化研究 [J]. *中国烟草学报*, 2017, 23(02): 69-77.
JIN Tong, SHI Hongzhi, ZHOU Jun, et al. TSNA contents in lamina and midrib of flue-cured tobacco and their changes after high temperature storage [J]. *Acta Tabacaria Sinica*, 2017, 23(02):69-77.
- [34] 刘扣珠, 靳彤, 王俊, 等. 自然贮藏条件下烤烟叶片和烟梗中 TSNA 及其前体物含量的变化 [J]. *烟草科技*, 2018, 51(10):27-32+38.
LIU Kouzhu, JIN Tong, WANG Jun, et al. TSNA Contents and their precursors in lamina and midrib of flue-cured tobacco stored under natural conditions[J]. *Tobacco Science & Technology*, 2018, 51(10):27-32+38.
- [35] Jun W, Huijuan Y, Hongzhi S, et al. Nitrate and Nitrite Promote Formation of Tobacco-Specific Nitrosamines via Nitrogen Oxides Intermediates during Postcured Storage under Warm Temperature[J]. *Journal of Chemistry*, 2017, (2017-3-29), 2017, 2017:1-11.
- [36] U.S. Congress. Family Smoking Prevention and Tobacco Control Act. U.S. Government Printing Office; 2009.Retrieved from[https://www.fda.gov/tobaccoproducts/labeling/rules regulations guidance/ucm237092.htm](https://www.fda.gov/tobaccoproducts/labeling/rules%20regulations%20guidance/ucm237092.htm). Accessed November 1, 2017.
- [37] 王俊, 孙槿淑, 周骏, 等. 贮藏温度和烟叶含水率互作对白肋烟贮藏期间 TSNA 形成的影响 [J]. *烟草科技*, 2016, 49(09):8-14.
WANG Jun, SUN Wenshu, ZHOU Jun, et al. Interaction of storage temperature and moisture content in tobacco leaf on TSNA formation in burley tobacco during storage[J]. *Tobacco Science & Technology*, 2016, 49(09):8-14.
- [38] 周海燕, 苏菲, 孙军伟, 等. 生态环境对白肋烟上部叶的品质和中性香气成分的影响 [J]. *中国生态农业学报*, 2013, 21(7): 844-852.
ZHOU Haiyan, SU Fei, SUN Junwei, et al. Effects of ecological environment on quality and neutral aroma components of upper leaves of Burley Tobacco[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2013, 21(7): 844-852.
- [39] 张梦玥, 史宏志, 周骏, 等. 三种类型烟叶五年贮藏过程中 TSNA 及其前体物含量变化趋势分析 [J]. *中国烟草学报*, 2017, 23(06): 77-87+93.
ZHANG Mengyue, SHI Hongzhi, ZHOU Jun, et al. Analysis of changing trends of TSNA and their precursors contents in three types of tobacco during five years storage[J]. *Acta Tabacaria Sinica*, 2017, 23(06):77-87+93.
- [40] 孙槿淑, 王俊, 周骏, 等. 硝态氮含量对烟叶高温贮藏过程中 TSNA 形成的影响 [J]. *中国烟草学报*, 2015, 21(2):53-58.
SUN Wenshu, WANG Jun, ZHOU Jun, et al. Effect of nitrate nitrogen level in tobacco leaves on TSNA formation during high temperature storage[J]. *Acta Tabacaria Sinica*, 2015, 21(2):53-58.
- [41] 赵德清, 戴亚, 冯广林, 等. 烟梗、烟叶碎片和烟末的化学成分与纤维形态 [J]. *烟草科技*, 2016, 49(03):91-98.
ZHAO Deqing, DAI Ya, FENG Guanlin, et al. Chemical composition and fiber morphology of tobacco stem, scrap and dust[J]. *Tobacco Science & Technology*, 2016, 49(03):91-98.

Effects of packaging methods on the formation of TSNAs in tobacco during storage

ZHANG Mengyue¹, LIU Deshui², WANG Jun^{1,3}, ZHAO Yuanyuan¹,
ZHOU Jun², MA Yanjun², LU Ximei¹, SHI Hongzhi^{1*}

1 Tobacco College of Henan Agricultural University/Tobacco Agriculture Harm Reduction Research Center, Zhengzhou 450002, China;
2 Beijing Cigarette Factory of Shanghai Tobacco Group Co., Ltd., Beijing 100024, China;
3 Zhengzhou University, Zhengzhou 450002, China

Abstract: The storage stage of tobacco leaves and stems is an important period for the formation of tobacco specific nitrosamines (TSNAs). In order to explore the effective methods to inhibit the formation of TSNAs during storage, the effects of different conventional packaging methods and vacuum packaging on TSNAs content in tobacco leaves stored at room temperature and high temperature were studied using burley tobacco, flue-cured tobacco, cigar core leaves and stems as the material. The results showed that the TSNAs content in burley tobacco leaves after natural storage with different packaging methods was significantly different. The content of TSNAs in tobacco leaves after vacuum packaging was the lowest, which was 45.45% and 46.02% lower than that of carton packaging and plastic packaging, respectively, and the content of neutral aroma components in vacuum-packaged tobacco leaves was higher. After different types of tobacco leaves and stems were stored at high temperature, the content of TSNAs in leaves and stems after conventional packaging increased significantly, but the increase range of TSNAs in different types of tobacco leaves under vacuum packaging was significantly reduced. Compared with tobacco leaves stored at high temperature under conventional packaging, the total TSNAs content in cigar core leaves and stems decreased by 38.52% and 44.80%, respectively that of cigar jacket leaves and stems decreased by 28.57% and 35.86%, respectively, and that of burley tobacco leaves and stems decreased by 40.65% and 20.84%, respectively. The TSNAs content in stems of the above three types of tobacco was significantly higher than that in leaves. The total TSNAs contents in leaves and stems of flue-cured tobacco under vacuum packaging were 21.52% and 38.29% lower than those in leaves and stems under conventional packaging, and the TSNAs content in leaves was significantly higher than that in stems. Vacuum packaging can effectively isolate oxygen and inhibit the formation and accumulation of TSNAs during storage.

Keywords: tobacco; storage; tobacco-specific nitrosamines; vacuum packing

*Corresponding author. Email: shihongzhi88@163.com

《烟草科技》2021 年第 3 期目次

· 烟草农学	卷烟燃烧锥面孔率与主流烟气 CO 释放量的关系
NtCycB2 基因表达对烟草抗旱性的影响	王 亮, 银董红, 秦亮生, 等
.....关扬扬, 郑淑心, 刘向阳, 等	基于单料片烟互信息的卷烟配方维护方法
烟叶中微量元素差异及其与外观品质关联分析	冯润泽, 雒兴刚, 张忠良, 等
.....王 林, 周红审, 王 昊, 等	
上 6 片烟叶烘烤过程中水分与颜色及化学成分的协同变化	
.....张佳佳, 过伟民, 段卫东, 等	
· 烟草化学	· 仪器与设备
自制装置加热下不同烟叶原料香味成分释放差异	基于烟丝近红外光谱的卷烟品牌识别方法
.....赵国豪, 郭国宁, 黄 龙, 等	谢有超, 彭黔荣, 杨 敏, 等
电加热卷烟烟芯段温度分布和烟气关键成分逐口变化:	卷烟成品物流往复穿梭车一轨双车运行模式的实现
第 1 部分实验.....王 乐, 王亚林, 李志强, 等	陶培胜, 刀荣贵, 赵 杰, 等
不同长度、圆周、切丝宽度卷烟主流烟气常规指标释放量	PROTOS MAX-M8 滤嘴接装机供胶装置的改进
及其变化.....李 超, 崔柱文, 蔡洁云, 等	余宇文, 李德法, 赵 龙
· 烟草工艺	· 综述
加热卷烟“降温低截留”滤棒的制备及应用	植物及烟草表型组学大数据研究进展
.....罗 玮, 谢兰英, 秦亮生, 等	卢 鹏, 金静静, 曹培健, 等
	卷烟烟气苯酚释放影响因素及其调控技术研究进展
	王大伟, 王 燃, 夏玉珍, 等