

辐照对卷烟中烟草特有亚硝胺含量的影响

冯 敏 朱佳廷 杨 萍 王德宁 顾贵强

(江苏省农业科学院原子能农业利用研究所,江苏 南京 210014)

摘要:以3种市售卷烟为材料,采用0、5、10、20和30kGy 5个剂量对其进行辐照处理,研究了辐照对卷烟中TSNAs含量的影响,主要采用液相色谱/质谱联用的方法,检测了N'-亚硝基降烟碱(NNN)、N'-亚硝基新烟碱(NAT)、N'-亚硝基假木贼碱(NAB)和4-(N-甲基亚硝胺基)-1-(3-吡啶基)-1-丁酮(NNK) 4项指标的含量。研究发现:辐照可以降低卷烟主流烟气和烟丝中TSNAs的含量,但降解率高低与辐照剂量大小没有明显的线性相关性;4种TSNAs分析物NNN、NNK、NAT和NAB经相同剂量辐照后的降解幅度不同,不同卷烟中的同一种分析物辐照后的降解幅度也不完全相同;卷烟2的降解效果最好,主流烟气和烟丝中的降解率最高都达88%;烤烟型卷烟(2和3)主流烟气中和烟丝中的最高降解率接近,混合型卷烟主流烟气中的最高降解率和烟丝中相差较大。辐照对卷烟主流烟气和烟丝中TSNAs的降解效果与对TSNAs纯品的降解效果有差异。

关键词:卷烟;辐照;烟草特有亚硝胺;液相色谱/质谱联用

EFFECT OF IRRADIATION ON TSNAs IN CIGARETTE

FENG Min ZHU Jia-ting YANG Ping WANG De-ning GU Gui-qiang

(Institute for Application of Atomic Energy, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences Nanjing, Nanjing, Jiangsu 210014)

Abstract: Three brands of cigarette were used as experimental materials to investigate effect of irradiation on TSNAs by detecting their contents of NNN, NNK, NAT and NAB by method of LC-MS/MS after irradiated by different doses from 0 to 30kGy. Results showed that TSNAs detected from tobacco and mainstream smoke of three brands of cigarette irradiated by γ -rays were less than those in control, but there was no significant linear relationship between TSNAs and irradiation dose. Degradations of NNN, NNK, NAT and NAB caused by irradiation were different even treated with the same irradiation dose. In addition, for NNN, NNK, NAT or NAB, variations of their contents were also different according to different irradiation dosages. Degeneration rates of TSNAs in tobacco and mainstream smoke of cigarette2 reached more than 88%, the highest degradation rates of TSNAs were found similar in tobacco and mainstream smoke of virginia type, however those in blended type were greatly different. The effects of irradiation on TSNAs in cigarettes and TSNAs standards were so different from TSNAs single product.

Key words: cigarette; irradiation; tobacco-specific nitrosamines; LC/MS/MS

人类吸烟已有近千年的历史。早在20世纪50年代末,美国卫生署和英国皇家医学会就发表公告认为吸烟过量是产生肺癌的病因之一^[1]。为了自身的生存发展和人类健康,各国都对吸烟与健康问题开展了广泛的

研究。近年来,烟叶和烟气中的一些有害成分,特别是烟草特有亚硝胺(Tobacco-Specific Nitrosamines, TSNAs)引起了各国科学家们的极大关注。TSNAs在烟草制品和烟气中有8种,其中对N'-亚硝基降烟碱(NNN)、N'-

收稿日期:2012-02-09 接受日期:2012-06-27

基金项目:本研究得到江苏省农业科技自主创新资金项目(cx(09)107)

作者简介:冯 敏(1980-),女,江苏盐城人,硕士,助理研究员,主要从事农副产品辐照加工研究。E-mail:fengmin8156@163.com

通讯作者:朱佳廷(1955-),男,甘肃山丹人,研究员,主要从事农副产品辐照加工及标准化研究。E-mail:zjtlw@163.com

亚硝基新烟碱(NAT)、N'-亚硝基假木贼碱(NAB)和4-(N-甲基亚硝胺基)-1-(3-吡啶基)-1-丁酮(NNK)的研究最为深入。虽然近年来对TSNAs的研究已取得了长足进步,但人们最关心的如何最大限度降低烟草中TSNAs含量的问题,至今仍没有圆满的答案。对烟草行业来说,如何通过直接、有效途径降低烟叶中TSNAs含量,从而获得低TSNAs含量的烟草品种或烟草制品已成为亟待解决的关键性问题。辐照作为一项新技术已被广泛应用于多个行业,如食品加工、化工及医疗用品等,在烟草的辐照方面我国也有报道:高玲等^[2]采用微波处理成品卷烟减少烟气中的亚硝胺含量;汪安云^[3]对3个烤烟品种K326、红大、云烟85进行⁶⁰Co γ 射线辐照处理,检测鲜叶及成熟叶中TSNAs含量;张克林等^[4]在进行卷烟辐照防霉储藏试验时对卷烟中的TSNAs含量进行了测定,但鲜见系统的研究报道。陈云堂等^[5,6]的研究表明,烟草接受100kGy以内的剂量辐照后不会产生感生放射性。本研究在0~30kGy的剂量范围内研究了⁶⁰Co γ 射线辐照处理对卷烟中TSNAs含量的影响,主要检测了卷烟烟丝和主流烟气中NNN、NNK、NAT和NAB的含量,并与辐照对4种分析物纯品(标准品)的降解效果进行了比较,为辐照技术在烟草行业中的应用提供了技术依据,具有借鉴意义。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

试验材料选用3种市售卷烟,分别编号为卷烟1、卷烟2和卷烟3。其中,卷烟1为德国进口混合型卷烟,由中国烟草总公司专卖;卷烟2和3为国产烤烟型过滤嘴卷烟,由江苏中烟工业有限责任公司出品。

1.2 辐照处理

试验材料的辐照处理于南京辐照中心进行,辐照源为⁶⁰Co γ 射线,源强为0.74PBq。本研究采用了0、5、10、20和30kGy共5个剂量进行辐照处理,以未辐照的样品作为对照。

1.3 试剂与仪器

主要试剂:NNN、NNK、NAT和NAB标准品及NNN-d₄、NNK-d₄、NAT-d₄、NAB-d₄购自加拿大TRC公司(纯度>98%);甲醇为色谱纯,购自美国TEDIA公司;44mm剑桥滤片,购自德国Borgwnlat公司;浓盐酸、醋酸铵、氨水等其他试剂都为分析纯。

主要仪器:美国Aglient公司Aglient1200-G6410B液质联用仪(配有XDB C18小柱,50mm×4.6mm×1.8 μ m),合肥ABSON公司RMT轨道式摇床,德国

Borgwnlat公司RM200转盘式吸烟机,德国BINDER公司KBF240恒温恒湿箱,Agela PCX小柱(60mg/3ml)。

1.4 试验方法

1.4.1 烟气收集 按GB/T 5606.1-2004和GB/T 19609-2004的规定挑选卷烟烟支,将烟支和剑桥滤片在22℃和相对湿度60%下平衡48h;取出烟支,在吸烟机标准条件下抽吸,用剑桥滤片收集烟气。

1.4.2 TSNAs提取 将剑桥滤片或3支卷烟的烟丝放入三角瓶,加入100 μ l氘代内标混标(含4种内标各50ng),然后加入40ml醋酸铵溶液(100mmol/L),140r/min振荡提取60min。

1.4.3 提取液的净化、富集 PCX萃取小柱先分别以3ml甲醇和3ml水一次通过小柱进行活化,以浓盐酸将提取液的pH值调节至1.5左右,取5ml提取液上样,经3ml甲醇淋洗,用3ml5%氨化甲醇洗脱,洗脱液以N₂吹干,用1ml甲醇溶出待测。

1.4.4 液相色谱/质谱条件 XDB C18小柱,50mm×4.6mm×1.8 μ m,柱温为50℃,流动相为28%甲醇水(V/V)等度洗脱,流速为0.4ml/min,进样体积5 μ l;离子源ESI+,离子源温度为100℃,N₂流速为11L/min,雾化器为psi,N₂温度为350℃。

1.4.5 标准品(纯品)混合溶液的配制 将各1mg的NNN、NAT和NAB标准品及2.5mg的NNK标准品分别以1ml甲醇溶解作为母液,吸取NNN、NAT和NAB母液各100 μ l及NNK母液40 μ l于100ml容量瓶中,以甲醇定容至100ml配置为100 μ g/ml的标准品混合储备液,置于4℃保存备用。使用时将储备液稀释200倍,配置成500ng/ml的标准品(纯品)混合溶液。

2 结果与分析

2.1 液相色谱/质谱联用检测TSNAs方法的确定

对4种分析物标准品混合溶液进行扫描,得到较好的分离效果(图1),MRM(Multifile Reaction

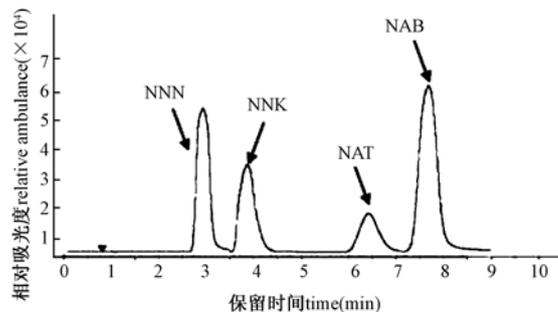


图1 TSNAs标准品色谱图

Fig. 1 Chromatograms of TSNAs standards

Monitoring) 模式参数见表 1。本方法检测 4 种分析物的检测限结果见表 2; 采用加标法计算 4 种分析物的回收率, 结果都在 95% 以上, 且其标准曲线回归方程

的 R^2 也都在 0.999 以上, 说明该方法适合卷烟烟丝和主流烟气中这些成分的定量分析。

表 1 TSNA_s MRM 参数
Table 1 MRM parameters of TSNA_s

分析物 analytes	扫描时间 run time(min)	母离子 parent ion (m/z)	定量离子 quantitative ion (m/z)	滞留时间 vdwell time(cycles/s)	碎裂电压 fragmentor (v)	碰撞能 impact energy (v)
NNN	2.5 ~ 3.5	178	148	200	50	5
			119			
NNK	3.5 ~ 4.4	208	122	200	60	4
			134			
NAT	6.0 ~ 7.0	190	160	200	60	5
			106			
NAB	7.2 ~ 8.4	192	162	200	60	5
			133			

表 2 TSNA_s 的标准曲线及检测限
Table 2 Standard curve and limit of detection (LOD) of TSNA_s

分析物 analytes	浓度范围 concentration (ng/ml)	回归方程 regression equation	R^2	检测限 limit of detection (ng/支)	回收率 recovery (%)
NNN	10 - 1000	$y = 0.0028x - 0.1092$	0.9995	0.76	95.7
NNK		$y = 0.0016x + 0.009$	0.9999	0.58	97.6
NAT		$y = 0.0049x - 0.1527$	0.9991	0.33	99.2
NAB		$y = 0.001x + 0.006$	0.9999	0.81	99.5

注: 检测限以信噪比小于等于 3 为限。

Note: The limit of detection of this method was signal to noise ratio of 3.

2.2 辐照对 TSNA_s 纯品含量的影响

对 4 种分析物纯品 (标准品) 混合溶液进行辐照, 辐照剂量分别为 5 和 10kGy。由图 2 可以看出, 辐照对 4 种 TSNA_s 都有降解效果, 其中 NAT 和 NAB 的降解趋势类似, 5kGy 辐照时效果较明显, 但 10kGy 时的降解效果与 5 kGy 时的差别不明显; NNN 和 NNK 的降

解趋势相似, 辐照剂量为 5kGy 时它们的含量较对照有所降低, 剂量为 10kGy 时它们的含量持续降低; 4 种分析物含量总和随辐照剂量的增加下降明显。10kGy 剂量辐照时, NNN、NNK、NAT、NAB 的降解率分别为 65.89%、42.67%、52.22% 和 24.8%。

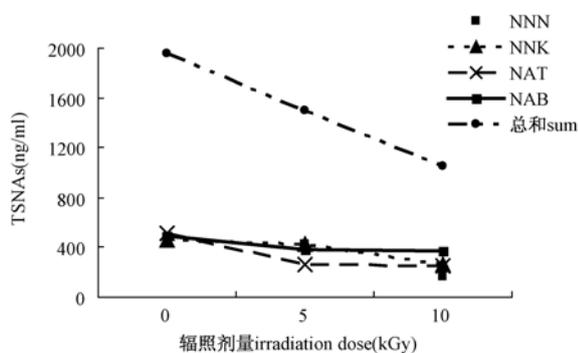


图 2 TSNA_s 标准品辐照降解效果

Fig. 2 Degradation of TSNA_s standards by irradiation

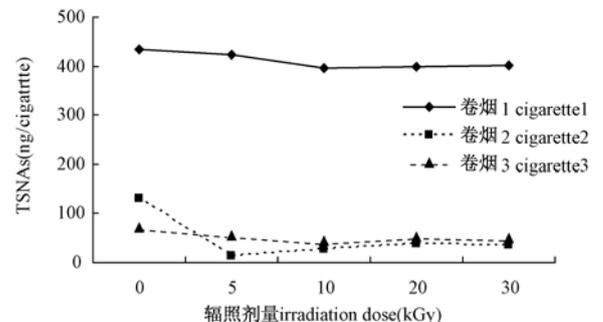


图 3 辐照对 3 种卷烟主流烟气中 TSNA_s 总量的影响

Fig. 3 Effect of irradiation on TSNA_s in mainstream smoke of three brands of cigarette

2.3 辐照对卷烟主流烟气中 TSNA_s 含量的影响

表3 不同剂量辐照后主流烟气中的TSNAs含量

Table 3 Contents of TSNAs in mainstream smoke of cigarettes irradiated by different doses

品牌 brand	剂量 dose (kGy)	分析物 analytes (ng/cigarette)				抽吸口数 puff number	湿焦油 tar (mg/cigarette)
		NNN	NNK	NAT	NAB		
卷烟1 cigarette1	0	298.99	134.39	N. D	N. D	8.47	16.24
	5	307.98	116.19	N. D	N. D	8.58	16.86
	10	280.37	114.70	N. D	N. D	8.54	16.48
	20	288.08	110.46	N. D	N. D	8.50	16.35
	30	290.37	111.12	N. D	N. D	8.53	16.73
卷烟2 cigarette2	0	27.41	12.98	72.81	16.88	7.09	7.94
	5	6.39	1.70	3.74	3.04	7.02	7.69
	10	8.51	2.23	5.86	11.21	7.00	8.01
	20	8.42	2.10	11.13	17.41	7.02	7.60
卷烟3 cigarette3	0	17.97	6.79	16.16	29.95	7.75	15.48
	5	16.24	0.43	7.68	31.38	7.77	15.55
	10	16.30	3.93	3.82	20.16	7.67	15.54
	20	14.25	1.40	7.44	29.29	7.72	15.25
	30	14.82	0.56	10.29	22.79	7.64	15.02

注: N. D 表示低于检测限, 下表同。

Note: N. D means the result is under the detection limit.

从表3可以看出, 卷烟1的主流烟气中的NAT和NAB含量低于检测限, 卷烟1中检出的分析物(NNN和NNK)的含量明显高于卷烟2和卷烟3中相应分析物的含量。辐照对TSNAs的降解程度在3种卷烟主流烟气中不完全相同: 卷烟1中, NNN的含量在剂量为5kGy时略高于CK中的含量, 其他剂量都低于对照中的含量, NNK的含量辐照后都低于CK中的含量, 辐照对2种分析物的降解率都不高; 卷烟2中, 4种分析物在剂量为5kGy时即可达到很高的降解率, 但NNN、NNK及NAT的含量在辐照剂量超过5kGy后变化不大, 而NAB的含量随着剂量的增加却有所增加, 当辐照剂量达到30kGy时其含量高于CK中的含量; 卷烟3中, NNK及NAB的降解效果与卷烟2相似, NAT的降解率在剂量为10kGy时达到最高, 剂量增加后其含量也有所增加, 但未超过CK中的含量, NNN的降解率总体也不高。由图3还可以看出, 辐照对卷烟2主流烟气中TSNAs总降解率最高, 3种卷烟主流烟气中TSNAs的降解率分别在10kGy、5kGy和10kGy时最高, 为8.84%、88.57%和37.61%, 降解率高低与辐照剂量大小都没有明显的线性相关性。

2.4 辐照对卷烟烟丝中TSNAs含量的影响

如表4所示, 辐照对3种卷烟烟丝中各种TSNAs含量的影响(图4)与对主流烟气中的影响基本一致, 但也不完全相同: 3种卷烟的烟丝中均未检出NNK, 10kGy以下剂量辐照时卷烟2和卷烟3中NAB也均未检出。3种卷烟主流烟气中TSNAs的降解率都是在30kGy时最高, 分别为79.83%、88.53%和36.35%。

表4 不同剂量辐照后烟丝中的TSNAs含量

Table 4 Contents of TSNAs in tobacco of cigarettes irradiated by different doses

品牌 brand	分析物 analytes	剂量 dose (kGy)				
		0	5	10	20	30
卷烟1 cigarette1	NNN	0.350	0.334	0.701	0.477	0.225
	NNK	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
	NAT	0.824	0.292	0.375	0.061	0.015
	NAB	0.132	0.206	0.073	0.017	0.014
卷烟2 cigarette2	NNN	0.031	0.029	0.027	0.030	0.016
	NNK	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
	NAT	0.314	0.112	0.029	0.012	0.012
	NAB	N. D	N. D	N. D	0.041	0.014
卷烟3 cigarette3	NNN	0.028	0.027	0.026	0.023	0.028
	NNK	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
	NAT	0.146	0.111	0.097	0.074	0.068
	NAB	N. D	N. D	N. D	0.013	0.023

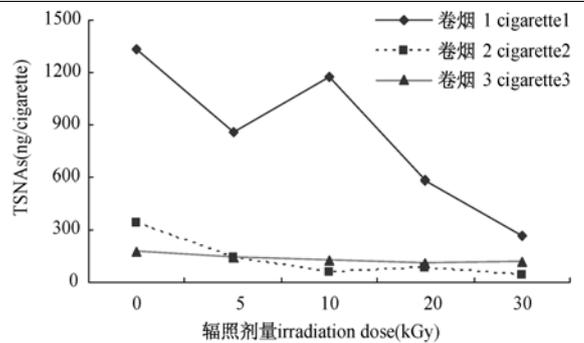


图4 辐照对3种卷烟烟丝中TSNAs总量的影响

Fig. 4 Effect of irradiation on TSNAs in tobacco of three brands of cigarette

3 讨论

在检测辐照对卷烟中 TSNA_s 含量的影响前先检测了辐照对 TSNA_s 纯品含量的影响。在 0~10kGy 的剂量范围内,4 种 TSNA_s 标准品总量随辐照剂量的增加线性降低,但在对卷烟的主流烟气和烟丝的测定结果中未出现这样的趋势,说明卷烟中的其他成分对辐照降解 TSNA_s 的效果产生了影响。庞永强^[7]、吴少雄^[8]及谢复炜^[9]等的研究都表明混合型卷烟中的 TSNA_s 含量高于烤烟型卷烟中的含量,与本研究的结果一致。卷烟烟丝中的 TSNA_s 含量显著高于主流烟气中的含量,这是因为卷烟在抽吸过程中除形成主流烟气外,还会产生侧流烟气,一部分 TSNA_s 会随着侧流烟气排入环境中,与报道的结果也一致。在辐照剂量低于 10kGy 的卷烟烟丝中未检出 NAB,但主流烟气中都有检出,可能是由于在抽吸过程中高温使烟丝中的亚硝酸盐分解形成了 NAB;3 种卷烟的烟丝中都未检出 NNK 而主流烟气中都有检出,这究竟是在抽吸过程中形成还是因试验误差造成的还有待进一步研究。卷烟 1 烟丝中检出了大量的 NAT 和 NAB,主流烟气中未检出,其原因也有待进一步研究。

4 结论

(1)辐照可以降低卷烟主流烟气和烟丝中 TSNA_s 的含量,卷烟 2 的降解效果最好,主流烟气和烟丝中的降解率最高都达 88%;烤烟型卷烟(2 和 3)主流烟气中的最高降解率和烟丝中的接近,混合型卷烟主流烟气中的最高降解率和烟丝中的相差较大;辐照对 TSNA_s 的降解率高低与辐照剂量大小没有明显的线性相关性。

(2)4 种 TSNA_s 分析物 NNN、NNK、NAT 和 NAB 经相同的剂量辐照后降解幅度不同,不同卷烟中的同一种分析物辐照后的降解幅度也不完全相同。

(3)辐照对卷烟主流烟气和烟丝中 TSNA_s 的降解效果与对纯品的降解效果有差异。

(4)混合型卷烟中的 TSNA_s 含量高于烤烟型卷烟中的含量,卷烟烟丝中的 TSNA_s 含量显著高于主流烟气中的含量。

参考文献:

- [1] 朱大恒. 烟叶化学成分与安全性研究动态[A]. 跨世纪烟草农业科技展望和持续发展战略研讨会论文集[C]. 北京: 中国农业出版社, 1999: 90-109
- [2] 高玲,王英,徐杨,曹毅,洪超,朱建华. 微波辐射法减少卷烟烟气中的亚硝胺含量[J]. 江苏化工, 2008, 36(6): 19-21
- [3] 汪安云. ⁶⁰Co γ 辐照对烤烟品种 TSNA 累积的影响[J]. 中国农学通报, 2007, 23(11): 188-191
- [4] 张克林,谢宗传,纪光博. 卷烟辐照防霉储藏试验[J]. 仓储管理与技术, 1991, (6): 31-32, 44
- [5] 陈云堂,郭东权,王娟娟. 辐照技术在我国烟草中的应用研究进展[J]. 中国烟草科学, 2011, 32(2): 90-95
- [6] 陈云堂,王应昌,马伯录,彭桂新,于建春,张高峰,樊连杰,李庆廷. 烟叶和卷烟辐照醇化效果的研究[J]. 核农学报, 1999, 13(4): 214-218
- [7] 庞永强,陈再根,侯宏卫,唐纲岭,高汉华,刘克建,严丙杭. 抽吸方式对卷烟主流烟气烟草特有亚硝胺释放量的影响[J]. 烟草化学, 2009, (2): 46-49
- [8] 吴少雄,王保兴,郭祀远,李琳. 卷烟制品中烟草特有亚硝胺(TSNA)研究[J]. 中国公共卫生, 2005, 21(8): 917-918
- [9] 谢复炜,金永明,赵明月,王昇,刘克建,苏庆德. 国内外主要品牌卷烟主流烟气中烟草特有 N-亚硝胺的对比分析[J]. 中国烟草学报, 2004, 10(5): 8-15, 42

(责任编辑 邱爱枝)