

白肋烟烟碱转化对烟叶中性和碱性香气成分含量的影响

史宏志, 凌爱芬, 刘国顺, 魏跃伟, 李 超

(河南农业大学 国家烟草栽培生理生化研究基地, 河南 郑州 450002)

摘要:采用 GC/MS 对白肋烟不同烟碱转化程度烟叶的中性和碱性挥发性成分进行了定性和定量分析。结果表明, 烟碱转化导致烟叶中性和碱性挥发性成分组成比例发生变化, 一些重要香气成分如巨豆三烯酮和 β -大马酮含量降低, 而一些糖和氨基酸类降解产物糠醛、糠醇含量增加, 胺类的吲哚含量增加显著。烟碱转化还导致碱性成分中的麦斯明含量大幅度增加。不同烟碱转化率样品的新植二烯、茄酮等香气成分含量差异较小。

关键词: 白肋烟; 烟碱; 降烟碱; 烟碱转化率; 香气; 中性成分; 碱性成分

中图分类号: S572.01 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2007)05-0043-04

Influence of Nicotine Conversion on the Contents of Neutral and Basic Aroma Component in Burley Tobacco

SHI Hong-zhi, LING Ai-fen, LIU Guo-shun, WEI Yue-wei, LI Chao

(National Tobacco Cultivation Physiology Biochemistry Research Center, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: Qualitative and quantitative analysis was conducted to determine the neutral and basal volatile components in cured tobacco with different degrees of nicotine to nornicotine conversion by using GC/MS. The results showed that nicotine conversion lead to the changes in the proportion of neutral and basic components in the whole volatile chemistry. The contents of some of the important aroma components such as megastigmatrienone and β -damascenone decreased as the increase of the conversion level; while some of the sugar and amino acid degraded components increased; the content of indole, an amine with unpleasant odor, also increased. Nicotine conversion resulted in the dramatic increase in myosamine content which was among the basic volatile components. The contents of neophytadiene and solanone and some other aroma components remained unchanged between different samples. The study provided material bases for the sensory evaluation results conducted with tobacco of different conversion levels.

Key words: Tobacco; Nicotine; Nornicotine; Nicotine conversion; Aroma; Neutral components; Basic components

烟碱是烟草中最主要的生物碱, 正常情况下烟碱含量占总生物碱含量的 93% 以上^[1]。但在烟株群体中, 由于基因返祖突变, 个别植株会形成烟碱去甲基能力, 烟碱在烟碱去甲基酶的作用下脱去甲基而转化成降烟碱, 导致烟碱含量显著降低, 降烟碱含量相应增加。由于降烟碱属于仲胺类生物碱, 与烟碱相比, 具有较大的不稳定性, 易于在烟叶调制和陈化过程中发生生化转化形成一系列降烟碱的衍生物。降烟碱的亚硝化反应可形成主要的烟草特有亚

硝胺 N-亚硝基降烟碱(NNN), 研究表明, 烟叶的降烟碱含量和烟碱转化率与 NNN 含量呈显著正相关^[2-4]。最近的研究还表明, 降烟碱本身对人体也有一定的危害性, 可引起人体蛋白质异常糖基化反应, 造成吸烟者血浆变性蛋白质的积累^[5]。

具有不同烟碱转化能力的白肋烟品系, 农艺性状无显著差异, 但烟叶香气品质随降烟碱含量增加显著下降, 转化型烟叶的白肋烟风格下降, 香气量减小, 香味不正, 口腔残余明显^[6]。这与烟碱转化引起

收稿日期: 2007-03-26

基金项目: 国家烟草栽培生理生化研究基地栽培重点实验室资助项目

作者简介: 史宏志(1963-), 男, 河南滑县人, 教授, 博士, 主要从事烟草生理生化研究

通讯作者: 刘国顺(1954-), 男, 河南叶县人, 教授, 博士生导师, 主要从事烟草栽培生理生化研究。

相关生化过程发生改变,造成烟叶和烟气挥发性化学成分组成和含量发生变化直接有关。前期研究表明,降烟碱的酰基化形成一系列含有1~8个碳原子酰基部分的降烟碱衍生物,氧化还可产生麦斯明^[7,8]。但从目前来看,烟碱转化对烟叶香气品质的影响仍多局限在感官水平上,尚缺乏不同转化程度烟叶挥发性香气成分含量的分析比较。本研究对白肋烟不同烟碱转化程度烟叶的碱性和中性挥发性香气成分进行了分离鉴定和定量分析,以探索烟碱转化对烟叶香气成分组成和含量的影响,为通过遗传和生物手段去除转化株,改进和提高白肋烟香气品质提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

白肋烟 TN90 和鄂烟 1 号自然晾制后,各选取 50 株编号,每株取 1 片叶进行烟碱和降烟碱含量的测定,计算烟碱转化率。

烟碱转化率 = [降烟碱含量 / (烟碱含量 + 降烟碱含量)] × 100%

根据烟碱转化率将烟株分为非转化株(烟碱转化率低于 5%)、低转化株(烟碱转化率 5% ~ 20%)、中转化株(烟碱转化率 20% ~ 50%) 和高转化株(烟碱转化率大于 50%)。将不同类型烟叶分别混合后,一部分用于测定混合样品的烟碱和降烟碱含量,其余用于挥发性成分的提取和测定。

1.2 烟碱和降烟碱的测定

采用气相色谱法,样品经烘干后粉碎,每样品称取 100 mg,用乙醚提取生物碱。气相色谱仪为 Agilent-6890,检测器为 FID,内标为喹啉,具体操作和参数设定按 Burton 等^[9]的方法进行。

1.3 中性成分的定性定量分析

称取 10 g 经低温冷冻干燥的烟叶样品,加入 0.5 g 柠檬酸,350 mL 蒸馏水和 0.3 mL 内标(硝基

苯),于 500 mL 圆底烧瓶中,再加 40 mL 二氯甲烷于另一 250 mL 圆底烧瓶中,60℃水浴加热 250 mL 圆底烧瓶,用同时蒸馏萃取仪蒸馏萃取 2.5 h。取出加入无水硫酸钠干燥有机相,60℃水浴浓缩至 1 mL 样品,最后由 GC/MS 鉴定结果和 NIST 库检索定性。

GC/MS 分析条件:HP5890-5972 气质连用仪;色谱柱为 HP- 5(60 m × 0.25 mm. i. d. × 0.25 μm d. f.);载气及流速:He 0.8 mL/min; 近样口温度:250℃;传输线温度:280℃;分流比和进样量:1: 15, 2 μL;电离能:70 eV;质量数范围:35~ 500 amu; MS 谱库:NIST02;采用内标法定量。

1.4 碱性成分的定性定量分析

称取 0.5 g 烟叶样品,加 5 mL 2 mol/L 氢氧化钠湿润后,加 0.3 mL 内标和 5 mL 乙醚震荡,进行碱性成分提取。

GC/MS 分析条件:HP5890-5972 气质连用仪;色谱柱为 HP 5(60 m × 0.25 mm i. d. × 0.25 μm d. f.);载气及流速:He 0.8 mL/min; 近样口温度:250℃;传输线温度:280℃;不分流进样,进样量 2 μL;电离能:70 eV;质量数范围:35~ 500 amu; MS 谱库: NIST02。

2 结果与分析

2.1 不同烟碱转化程度烟叶样品的烟碱转化率

白肋烟 TN90 和鄂烟 1 号调制后混合烟叶样品的烟碱、降烟碱含量和烟碱转化率测定结果见表 1。由表 1 可以看出,同一品种的不同烟碱转化率样品间总生物碱含量无显著差异,但烟碱含量和降烟碱含量呈相反趋势变化,烟碱含量的降低伴随着降烟碱含量的增加。TN90 非转化株、低转化株、中转化株、高转化株的烟碱转化率分别为 3.9%, 7.3%, 31.5% 和 71.5%,鄂烟 1 号非转化株、中转化株、高转化株的烟碱转化率分别为 3.4%, 38.1%, 53.7%。较好地代表了不同的烟碱转化类型。

表 1 TN90 和鄂烟 1 号不同样品烟叶的烟碱、降烟碱含量和烟碱转化率

Tab.1 Contents of nicotine and normicotine and nicotine conversion rate in cured tobacco samples of TN90 and Eyan 1					
品种 Variety	烟叶样品 Samples	烟碱/ % Nicotine	降烟碱/ % Normicotine	烟碱+ 降烟碱/ % Nicotine+ nor nicotine	烟碱转化率/ % Nicotine conversion rate
TN90	非转化株 Non- converter	8.10	0.326	8.426	3.9
	低转化株 Low converter	7.81	0.611	8.421	7.3
	中转化株 Medium converter	5.70	2.620	8.320	31.5
	高转化株 High converter	2.38	5.980	8.360	71.5
鄂烟 1 号	非转化株 Non- converter	4.56	0.162	4.722	3.4
Eyan 1	中转化株 Medium converter	2.78	1.71	4.490	38.1
	高转化株 High converter	2.05	2.38	4.430	53.7

2.2 烟碱转化对中性挥发性香气含量的影响

采用 GC/MS 共鉴定出 34 种中性挥发性成分

(表 2),按照与前体物的关系可分为降类胡萝卜素类,包括 4 个巨豆三烯酮异构体、β 大马酮、β 二氢紫

罗兰酮、 β -二氢紫罗兰酮、香叶基丙酮、三羟基- β -二氢大马酮、3-氧化- α -紫罗兰醇等;降西柏烷类,如茄酮等;降叶绿素类,如新植二烯;苯丙氨酸裂解类,如苯甲醛、苯甲醇、苯乙醛等;糖氨基酸非酶棕色化反应产物,如糠醛、糠醇、5-甲基-2-糠醛、6-甲基-5-庚烯-2-酮、2-戊基呋喃、吲哚等。

表2 不同烟碱转化程度烟叶的中性香气成分含量

化学成分 Components	TN90				鄂烟1号 Eyan 1		
	非转化株 Non-converted	低转化株 Low converter	中转化株 Medium converter	高转化株 High converter	非转化株 Non-converted	中转化株 Medium converter	高转化株 High converter
3-甲基-2-丁烯醛 3-methyl-2-acrolein	1.113	1.172	1.327	1.063	0.647	0.759	1.023
糠醛 Furfural	16.194	16.604	17.143	17.705	15.262	12.503	21.091
糠醇 Furfural alcohol	6.524	8.986	10.987	15.685	4.746	5.033	7.355
乙酰基呋喃 Acetyl furan	0.192	0.156	0.106	0.372	0.270	0.200	0.292
苯甲醛 Benzyldehyde	2.187	1.328	2.123	3.775	1.834	1.158	4.092
5-甲基-2-糠醛 5-methyl-2-furfural	7.675	7.814	7.165	7.763	4.692	3.515	4.774
6-甲基-5-庚烯-2-酮 6-Methyl-5-hepten-2-one	0.806	0.703	0.743	0.957	0.647	0.679	0.828
2-戊基呋喃 2-Pentyl furan	0.844	0.899	0.796	0.744	0.539	0.479	0.779
苯甲醇 Benzyl alcohol	17.345	16.799	17.090	21.161	11.541	9.987	12.859
3,4-二甲基-2,5-呋喃二酮 3,4-dimethyl-2,5-furandione	3.185	3.204	3.556	4.785	3.829	4.035	5.991
苯乙醛 Phenyl acetaldehyde	25.825	22.894	21.814	28.977	18.605	15.460	20.799
芳樟醇 Linalool	2.456	1.836	1.751	3.403	1.133	1.318	1.802
苯乙醇 Phenyl ethyl alcohol	13.507	13.479	12.260	15.419	8.952	8.589	7.794
氧化异佛尔酮 Ketone isophorone	0.652	0.508	0.796	0.851	0.485	0.759	0.925
苯丙烯醛 Cinnamic aldehyde	1.036	1.446	0.955	1.223	0.701	1.358	0.682
β -环柠檬醛 β -cymolein	0.499	0.508	0.584	0.798	0.647	0.759	0.828
吲哚 Indole	17.153	22.035	28.449	39.398	23.759	31.798	33.123
4-乙烯基-2-甲氧基苯酚 4-vinyl-2-methoxy phenol	0.192	0.117	0.106	2.499	0.216	0.080	1.948
茄酮 Solanone	145.628	183.114	159.174	156.689	139.783	112.331	102.436
β -大马酮 β -Damascone	36.685	42.780	26.272	28.413	29.283	25.207	21.481
香叶基丙酮 Geranyl acetone	4.950	4.024	4.618	5.251	3.451	3.595	4.384
类胡萝卜素类 Carotenoids	2.698	2.618	1.858	1.010	1.780	2.157	1.315
β -紫罗兰酮 β -Ionone	2.609	1.992	3.238	3.935	1.995	1.438	1.948
β -二氢紫罗兰酮 β -Dihydro-ionone	1.804	1.016	1.539	0.957	1.294	0.639	1.120
巨豆三烯酮 1 Megastigmatricone 1	7.943	7.775	7.378	7.071	7.226	5.952	6.332
巨豆三烯酮 2 Megastigmatricone 2	32.618	32.271	30.465	23.820	28.744	24.647	23.429
巨豆三烯酮 3 Megastigmatricone 3	7.828	6.954	6.634	5.423	10.031	6.791	7.063
3-羟基- β -二氢大马酮 3-hydroxy- β -damascone	4.183	3.594	4.140	5.370	4.153	2.916	5.504
巨豆三烯酮 4 Megastigmatricone 4	30.469	30.005	28.449	23.182	28.205	21.891	22.796
3-氧化- α -紫罗兰醇 3-oxo- α -ionol	2.149	2.305	1.221	2.785	2.912	1.598	2.143
十五醛 Pentadecanal	22.372	20.433	14.649	4.679	39.206	22.730	26.985
螺岩兰草酮 Solavetivone	2.571	3.438	2.813	2.286	4.476	2.557	3.507
新植二烯 Neophytadiene	483.736	490.686	530.756	531.690	539.286	499.471	487.097
法尼基丙酮 Farnesyl acetone	22.794	25.551	23.672	22.437	27.558	18.056	25.134
总计 Total	928.42	979.04	974.627	991.576	967.888	850.445	869.659

在34种成分中,含量较为丰富,对中性挥发性物质含量贡献较大的17种成分依次为新植二烯、茄酮、 β -大马酮、巨豆三烯酮2、巨豆三烯酮4、吲哚、苯乙醛、十五醛、法尼基丙酮、苯甲醇、糠醛、糠醇、巨豆三烯酮1、巨豆三烯酮3、5-甲基-2-糠醛、香叶基丙酮和三羟基- β -二氢大马酮。

由表2可知,同一品种不同烟碱转化率样品间总的中性挥发性成分含量比较接近,但各成分样含量组成比例发生了显著变化。在17种含量较为丰富的成分中,随着烟碱转化程度的提高含量逐渐降低的成分有巨豆三烯酮的4个异构体、 β -大马酮、十五醛;样品间没有显著含量变化的成分有新植二烯、

茄酮、法尼基丙酮、香叶基丙酮、5-甲基-2-糠醛、苯乙醛、苯乙醇、三羟基- β -二氢大马酮;而随烟碱转化程度提高含量显著增加的成分有吲哚、糠醛、糠醇。

巨豆三烯酮是烟叶重要香气成分,其含量比例较高是优质高香气烟叶的主要特征,烟碱转化烟叶巨豆三烯酮及其他香气成分含量的降低对烟叶香气量有直接的负面影响。吲哚为胺类挥发性成分,具有恶臭味^[10]。本试验表明,随着烟碱转化程度的提高,吲哚含量显著增加,这对烟叶的香气质有不良影响。

2.3 烟碱转化对碱性挥发性成分含量的影响
除烟碱和降烟碱外,本试验鉴定出5种碱性挥

发性成分(表3)。结果表明,TN90和鄂烟1号的麦斯明含量均随烟碱转化程度的提高大幅度增加,2个品种高转化株比非转化株的麦斯明含量分别高出

690%和569%。二烯烟碱含量有下降趋势。假木贼碱、新烟草碱和2,3-二吡啶在不同烟碱转化率样品间无显著变化。

表3 不同烟碱转化程度烟叶的碱性挥发性成分含量

Tab.3 Contents of volatile base components in cured leaves with different conversion levels								mg/g
化学成分 Components	TN90				鄂烟1号 Eyan 1			
	非转化株 Non-conver- ter	低转化株 Low converter	中转化株 Medium converter	高转化株 High converter	非转化株 Non-conver- ter	中转化株 Medium converter	高转化株 High converter	
麦斯明 Myosamine	0.230	0.326	0.654	1.817	0.218	0.589	1.458	
假木贼碱 Anatabine	0.320	0.351	0.304	0.394	0.283	0.297	0.329	
二烯烟碱 Nicotyrine	0.239	0.198	0.132	0.096	0.157	0.140	0.110	
新烟草碱 Anatabine	1.157	1.396	1.367	1.428	1.227	1.203	2.238	
2,3-二吡啶 2,3-dipyridyl	0.306	0.322	0.279	0.221	0.235	0.242	0.268	

3 结论与讨论

烟株群体中一些烟株由于基因突变形成烟碱去甲基能力,导致调制后烟叶烟碱含量降低,降烟碱含量异常增高,进而对烟叶感官评吸品质造成重要影响。本试验结果表明,烟碱转化导致烟叶的中性和碱性挥发性成分组成比例发生变化,一些重要香气成分如巨豆三烯酮和β-大马酮含量降低,表明烟碱转化与巨豆三烯酮的生化形成过程相藕联。巨豆三烯酮是类胡萝卜素降解产生的与烟叶香气量密切相关的香味成分^[10]。转化型烟叶的巨豆三烯酮含量降低与这类烟叶香气量下降有直接关系。随着烟碱转化程度的提高,一些糖和氨基酸类的降解产物如糠醛、糠醇含量增加,特别是胺类的吡咯含量增加显著,由于其具有不良气味,对烟叶的香气质量有不利影响。烟碱转化还导致碱性成分中的麦斯明含量大幅度增加。麦斯明是降烟碱氧化的产物,可赋予烟气鼠臭味^[11]。前期研究表明,烟碱转化使白肋烟风格程度显著降低,香气质下降,香气量减少,杂气增加,余味变劣^[6],本研究在一定程度上揭示了不同烟碱转化程度烟叶感官质量差异的物质基础,也进一步说明了在烟叶群体中去除转化株对提高和改进烟叶香气品质的重要性。

所鉴定的一些中性和碱性成分含量在不同烟碱转化率样品间没有显著差异,或变化没有规律,说明其与烟碱转化没有连锁关系,如新植二烯和茄酮。新植二烯虽然在挥发性成分中含量最为丰富,但由于其香气阈值较高,对香气的贡献并不大,主要起增加醇和度的作用^[10]。茄酮是烟叶重要的香气物质,但初步研究表明,茄酮含量与香气量呈负相关关系,因此其对香气质的贡献可能要大于其对香气量的贡献。

参考文献:

[1] 史宏志,张建功.烟草生物碱[M].北京:中国农业出版社,2004.

[2] Shi H, Fannin F F, Burton H R, *et al.* Factors affecting nicotine to nornicotine conversion in burley tobacco [C]//54th TSRC, Nashville, USA, 2000.

[3] Bush L P, Cui M W, Shi H, *et al.* Fomation of tobacco-specific nitrosamines in air-cured tobacco[J]. Recent Advances in Tobacco Science, 2001, 27: 23- 46.

[4] 史宏志,黄元炯, Bush L P, 等.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[J].中国烟草学报, 2002(1): 14- 19.

[5] Siminszky B, Gavilano L, Bowen S W, *et al.* Conversion of nicotine to nomicotine in Nicotiana tabacum is mediated by CYP82E4, a cytochrome P450 monooxygenase [EB/OL]. www. pnas. org/ cgi/ doi/ 10. 1073/ pnas. 0506581102.

[6] 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(2): 9- 14.

[7] 史宏志, Bush L P, Krauss K. 烟碱向降烟碱转化对烟叶麦斯明和TSNA含量的影响[J].烟草科技, 2004(10): 27- 30.

[8] Shi H, Krauss M, Bokelman G, *et al.* TSNA and precursors in tobacco with different degree of conversion [C]//Proceeding of 225th Conference of American Chemistry Association, New Orleans, USA, 2003.

[9] Burton H R, Bush L P, Djordjevic M V. Influence of temperature and humidity on accumulation of tobacco-specific nitrosamines in stored burley tobacco [J]. J Agric Food Chem, 1989, 37: 1372- 1377.

[10] 史宏志,刘国顺.烟草香味学[M].北京:中国农业出版社,1998.

[11] Roberts D L. Natural tobacco flavor[J]. Recent Adv Tob Sci, 1988, 14: 49- 81.