

综 述

# 色谱技术在烟草特有的 N-亚硝胺及其代谢产物分析中的应用进展

韩 熠<sup>1</sup>, 张承明<sup>1</sup>, 喻 坤<sup>2</sup>, 孟 霞<sup>3</sup>, 陈永宽<sup>1\*</sup>, 缪明明<sup>1</sup>

(1. 云南烟草科学研究院, 昆明 650106; 2. 昆明理工大学 化学工程学院, 昆明 650093;  
3. 中国科学院 西双版纳热带植物园, 昆明 650223)

**摘 要:** 综述了 1998—2012 年间气相色谱法、液相色谱-质谱法、毛细管电泳法、胶束电动色谱法等色谱技术在生物样品中烟草特有的 N-亚硝胺及其代谢产物分析中的应用进展(引用文献 45 篇)。

**关键词:** 烟草特有 N-亚硝胺; 色谱技术; 综述

**中图分类号:** O657.7 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-4020(2013)10-1270-06

## Recent Progress of Application of Chromatographic Technologies to Determination of Tobacco-Originated Nitrosamines and Its Metabolites

HAN Yi<sup>1</sup>, ZHANG Cheng-ming<sup>1</sup>, YU Kun<sup>2</sup>, MENG Xia<sup>3</sup>, CHEN Yong-kuan<sup>1\*</sup>, MIAO Ming-ming<sup>1</sup>

(1. Yunnan Academy of Tobacco, Kunming 650106, China;

2. College of Chemical Engineering, Kunming University of Science and Engineering, Kunming 650093, China;

3. Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650223, China)

**Abstract:** A review on the recent progress of application of chromatographic technologies, i. e., GC, LC-MS, CE and MEKC, to determination of tobacco-originated nitrosamines (TSNA's) and related metabolites in biological samples was presented, covering mainly the years from 1998 to 2012 (45 ref. cited).

**Keywords:** Tobacco-originated nitrosamines; Chromatographic technologies; Review

烟草特有 N-亚硝胺(TSNA's)是发现仅存在于烟草和烟气中的非挥发性亚硝胺。一般认为,烟草特有 N-亚硝胺是在烟草调制过程中通过烟草生物碱亚硝化作用而形成的。其中卷烟主流烟气中主要含有 4 种 TSNA's,即 N-亚硝基去甲基烟碱(NNN)、4-(甲基亚硝基氨基)-1-(3-吡啶基)-1-丁酮(NNK)、N-亚硝基假木贼碱(NAB)和 N-亚硝基新烟草碱(NAT)<sup>[1]</sup>。毒理学证明 TSNA's 是卷烟烟气中诱发癌症的主要活性物质之一,其中 NNN 和 NNK 被国际癌症研究署(IARC)归类为人体致癌

物质<sup>[2]</sup>。而 NNK 进入人体后会形成代谢产物 4-(甲基亚硝基氨基)-1-3-(吡啶基)-1-丁醇(NNAL)。目前已知的 TSNA's 及其代谢产物的化学结构式见图 1。

近年来,国内外已有多篇关于 TSNA's 形成、危害、致病机制以及分析烟叶、卷烟制品、卷烟烟气和生物样品中 TSNA's 及其代谢产物的综述性报道<sup>[3-7]</sup>,本文重点综述了近年来运用色谱技术分析 TSNA's 及其代谢产物的研究进展。

## 1 分析方法

### 1.1 气相色谱法

#### 1.1.1 气相色谱-热能分析联用仪

热能分析仪(TEA)是为检测亚硝胺类化合物

收稿日期: 2012-10-12

作者简介: 韩 熠(1976-),男,贵州威宁人,助理研究员,博士,主要从事烟草及烟气有害成分分析方法的研究。

\* 联系人。E-mail:cyk1966@163.com

• 1270 •

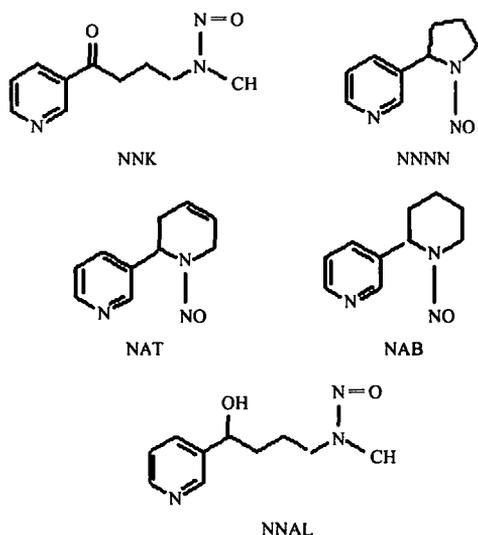


图 1 5 种 TSNA's 的化学结构

Fig. 1 Chemical Structures of 5 TSNA's

而特别设计制造的。气相色谱-热能分析联用仪(GC-TEA)的基本原理是用气相色谱对含有亚硝胺的混合物进行分离,再由载气将物质送入热能分析仪的接触热解器中,在真空条件下,含亚硝基和硝基的化合物发生化学键的裂解,释放出硝基自由基( $\cdot\text{NO}_2$ )或亚硝酰基自由基( $\text{NO}\cdot$ );在高温热解器中,硝基进一步裂解为亚硝酰基自由基。反应产物经过冷阱除去许多高温分解的副产物,真空将亚硝酰基自由基吸入反应室中,在反应室中,亚硝酰基自由基被臭氧氧化,生成二氧化氮;受激发的二氧化氮迅速衰退返回至基态,在衰退过程中发射出近红外线,射线通过光电倍增器检测。

由于 GC-TEA 对挥发性和非挥发性 N-亚硝胺有特殊响应,从 20 世纪 70 年代以来,GC-TEA 一直是分析 TSNA's 及其代谢产物的重要工具。随着仪器性能的不断改进和分析方法的日渐成熟,GC-TEA 已被列为测定 TSNA's 的标准分析方法。2005 年,烟草科学研究合作中心(CORESTA)颁布了用 GC-TEA 分析卷烟主流烟气总粒相物中 4 种 TSNA's(NNN、NAB、NAT、NNK)的推荐方法<sup>[8]</sup>。基本原理是用二氯甲烷萃取收集在滤片上的主流烟气总粒相物,萃取液用碱性氧化铝或硅胶-氧化铝净化,用 8% 甲醇-二氯甲烷洗脱,洗脱液浓缩后测定。我国在参考 CORESTA 的基础上,于 2009 年颁布了 GC-TEA 分析卷烟主流烟气中 TSNA's 的国家标准<sup>[9]</sup>。方法的检出限为 0.24~0.79 ng·支<sup>-1</sup>。

试验证明,GC-TEA 对痕量 N-亚硝基化合物有较高的选择性和灵敏度,但分析 TSNA's 含量较低

的卷烟会影响灵敏度,特别是影响 NAB 和 NNK 的准确测定。而且 TEA 检测器不能分辨共流出的其他亚硝基化合物,严重干扰 TSNA's 的测定。另外,TEA 检测器的日常维护较麻烦,这也限制了它的广泛应用。

### 1.1.2 气相色谱-质谱联用

作为一种通用仪器,单四极杆质谱与 GC 联用已成为分析 TSNA's 的另一种选择。早在 1999 年, Song 等采用超临界流体萃取(SFE),固相萃取(SPE)净化并结合气相色谱-质谱法(GC-MS)测定烟草制品中的 TSNA's<sup>[10]</sup>。试验发现,测定低含量 TSNA's 样品时,GC-MS 和 GC-TEA 的灵敏度相似。2008 年,毛友安等<sup>[11]</sup>采用选择离子监测技术(SIM)测定了主流烟气中的 NNN 和 NNK。其样品处理方法为:柠檬酸-磷酸盐缓冲溶液和环己烷共提取粒相物,提取液相继用碱性氧化铝层析柱和固相萃取进一步纯化。方法的检出限分别为 0.49 ng·支<sup>-1</sup>(NNN)和 0.85 ng·支<sup>-1</sup>(NNK),与 GC-TEA 的测定结果接近。

近年来,随着串联质谱与 GC 联用技术的发展,也有人采用气相色谱-串联质谱法(GC-MS/MS)分析 TSNA's。试验证明,与单级质谱相比,采用离子阱串联质谱能获得更好的分析灵敏度和选择性。

2007 年,Zhou 等<sup>[12]</sup>以 N-亚硝基苯基-3-氨基吡啶(NNPA)作内标,用气相色谱-离子阱串联质谱法(GC-IT-MS/MS)测定卷烟主流烟气中的 4 种 TSNA's。方法比较了乙酸乙酯、甲醇、丙酮和二氯甲烷对粒相物的萃取效果,发现在 30 min 内,这些溶剂都能获得令人满意的萃取效率和回收率,但是用乙酸乙酯能获得最佳的灵敏度和选择性。用 SPE 净化萃取液时,比较了碱性氧化铝、硅胶/碱性氧化铝和 Supelclean ENVI-Carb 3 种 SPE 小柱的净化效率,结果表明用 Supelclean ENVI-CarbSPE 小柱对 4 种 TSNA's 均有较佳的回收率和灵敏度。试验还比较了 CP-sil8 CB Low Bleed/MS 柱、VF-5MS 和 VF-17MS 柱 3 种 GC 柱,结果显示在低流失 VF-17MS 色谱柱上分离较好。试验研究了待分析物在各种串联质谱模式下的选择性和灵敏度,NAB 和 NNK 采用 MS<sup>2</sup> 离子对,NNPA 和 NNN 选择了 MS<sup>3</sup> 离子对,而 NAT 则选择了 MS<sup>1</sup> 离子对。通过保留时间、与标准谱库的匹配度和检测离子的丰度比进一步识别复杂基体中的 TSNA's。检出限在 0.01~0.06 ng·支<sup>-1</sup>之间,低于 GC-TEA 方法,

而与 LC-MS/MS 方法相似。

2009 年, Sleiman 等<sup>[13]</sup> 用 GC-IT-MS/MS 分析了二手烟中的 TSNA's。用特氟龙涂层玻璃纤维滤片主动采集二手烟气粒相物中的 TSNA's, 用矩形纤维素条被动采集二手烟气粒相物中的 TSNA's。用甲醇进行固液萃取, 离心后进行测定。识别目标物的依据包括: 保留时间与参考标准匹配、2 个特征离子的同位素比与理论值相差在 10%~15%、选择离子的信噪比大于 3。试验选择了合适的母离子/子离子并阐述了碎裂模式, 优化了 IT-MS/MS 参数。检出限在 30~300  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  之间。由于各种 TSNA's 选择了特定的离子对, 尽管没有采取净化, 方法选择性仍然令人满意。除 NNAL(加标回收率 77%) 外, 其余 3 种 TSNA's 的分析准确度较好, 作者认为这可能与样品处理和分析过程中分析物的损失有关, 建议用内标法改善 NNAL 的分析准确度。

### 1.1.3 气相色谱-氮磷检测器

考虑到 TSNA's 特殊的含氮结构, 刘万峰等<sup>[14]</sup> 尝试了用特异性氮磷检测器(NPD)分析烟草中的 TSNA's。首先超声萃取烟样, 萃取液在硅藻土层析柱上层析, 浓缩洗脱液后进行检测, 对 NAT 和 NAB 的分离较好。但实际样品的色谱图中共流出含氮化合物的干扰较大, 对 TSNA's 含量较低的样品测定造成不利影响。

## 1.2 液相色谱-质谱联用

在 1975 年, Hecht 等<sup>[15]</sup> 采用高效液相色谱法(HPLC)分析了 TSNA's, 但由于 LC-MS/MS 在 TSNA's 的分析中具有更高的分析专一性、更低的检出限、更宽的线性范围, 且样品处理方法简单, 使得液相色谱-质谱联用技术成为目前最常用的 TSNA's 分析手段。该技术在生物样品(如尿液和血清)中的 TSNA's 及其代谢物研究中应用广泛, 在烟草及卷烟烟气 TSNA's 测定中也有较多应用。

### 1.2.1 在生物样品中的应用

对 TSNA's 代谢途径的研究发现, 卷烟烟气中的 NNK 进入人体后, 部分会迅速还原为醇, 生成 NNAL。其中部分 NNAL 分别通过羟基和吡啶氮形成葡糖苷酸偶联物 NNAL-O-Gluc 和 NNAL-N-Gluc, 以上 3 种 NNK 在人体中的主要代谢物都随尿液排出体外。NNK 在人体内的代谢途径见图 2<sup>[16]</sup>。因此, 测定尿液中的 NNAL 及其葡糖苷酸可间接评估人体受卷烟烟气 NNK 危害的程度。近年来, 对动物尿液和人尿中 TSNA's 及其代谢物水

平的研究较多, 而涉及血液等其他生物样品的研究较少。

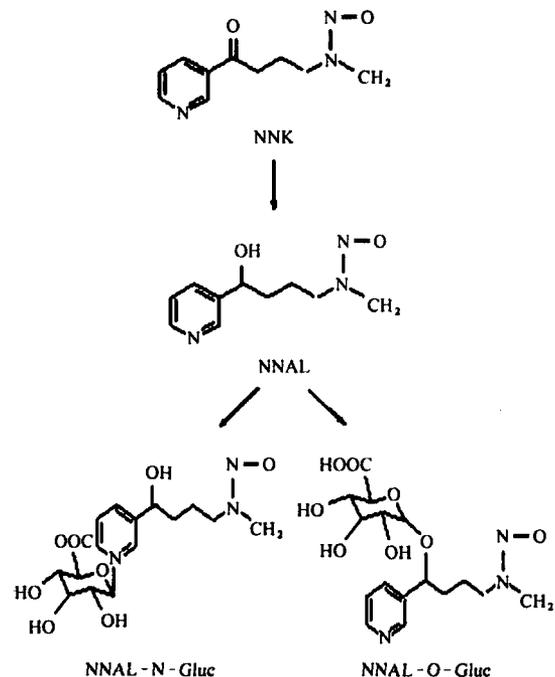


图 2 NNK 在人体内的主要代谢途径

Fig. 2 Main metabolic pathway of NNK in human body

最常用的样品处理方法是 SPE。2003 年, Byrd 等<sup>[16]</sup> 选择 Oasis MCX Vac RC 60 mg SPE 小柱萃取净化测定了吸烟者尿液中的 NNAL。通过测定尿液中总 NNAL 和游离 NNAL 的含量来计算 NNAL-葡糖苷酸的含量。采用反相色谱等度洗脱, 保留时间较短; 采用 ESI<sup>+</sup> 模式, 选择  $m/z$  210/180 为多反应监测(MRM)离子对, 可以减少低质量共流出物的干扰。方法测定下限为 20  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 对 7 位吸烟者的尿液分析结果表明, 游离 NNAL 含量在 101~256  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  之间, NNAL-葡糖苷酸含量在 247~566  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  之间。方法简单、快速、样品用量小、灵敏度高。

其他研究者采用了常用的 SPE 填料  $C_8$  或  $C_{18}$  处理样品。2006 年, Li 等<sup>[17]</sup> 用  $C_{18}$  SPE 小柱净化血清样品, 结合 LC-MS/MS 研究了 TSNA's 在兔子体内的代谢情况, 研究对象为 NNN、NAT、NAB、NNK 和 NNAL。方法用于分析兔子血清中的 TSNA's, 具有快速、简单、灵敏和选择性好的特点。在获得的代谢曲线基础上, 通过非线性拟合得到了 TSNA's 的代谢动力学方程。检出限为 0.04~0.10  $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。2007 年, Lee 等<sup>[18]</sup> 用 LC-MS/MS 同时测定了鼠尿中的 NNK 及其 5 种代谢产物。采

用  $C_8$  和  $C_{18}$  SPE 均获得了满意的回收率。检出限在  $0.01 \sim 0.12 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  之间。

由于分子印迹聚合物(MIP)对特定目标分子(模板分子)及其结构类似物具有特异性识别和选择性吸附的功能,将 MIP 用作 SPE 填料萃取净化特征目标物一直都是研究的热点。2005 年, Xia 等<sup>[19]</sup>首次制备 MIP 并采用相应的 MIP 柱萃取尿样中的 NNAL,用 LC-MS/MS 测定。方法灵敏、简单,检出限达到  $1.7 \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。随着商品化 MIP 小柱的问世,2009 年, Shah 等<sup>[20]</sup>用 Supel MIP-SPE NNAL 分子印迹聚合柱结合 LC-MS/MS 测定了人尿中的 NNAL。通过优化液相色谱条件,避免离子抑制效应,使响应增加了 25 倍,而且改善了样品通量。测定下限达到了  $20 \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。同年, Kavvadias 等<sup>[21]</sup>采用分子印迹聚合物 SPE 柱结合 LC-MS/MS 同时测定了人尿中的 NNAL、NNN、NAB 和 NAT。检出限为  $0.7 \sim 2.0 \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,测定下限在  $2 \sim 5 \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$  之间。试验证明,采用 MIP-SPE 进行样品前处理,可大大提高分析灵敏度,检出限能达到  $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$  级,优于普通的 SPE 方法。

2008 年, Jacob 等<sup>[22]</sup>采用新颖的衍生化法结合 LC-MS/MS 测定人尿中  $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$  级的 NNAL。采用液液萃取,用衍生化法将 NNAL 的羟基转变为己酸酯衍生物,除去尿样基体中的干扰成分,增加了分析灵敏度,测定下限为  $0.25 \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。文献重点阐述了将中等极性的 NNAL 衍生化为相对非极性己酸酯的优势,即非极性物质在水相和非极性有机相间分配,利于除去尿样中极性的干扰物;非极性的酯更容易在反相 HPLC 柱上保留;通过萃取和色谱分离,与尿样中的干扰离子有效分离,能降低生物基质在 ESI 模式下离子化时发生的基体抑制;与 NNAL 相比,由于具有更有效的去溶剂化,酯在 ESI 源中的离子化效率会增强,而 NNAL 的羟基会通过氢键与流动相中的水、甲醇和乙腈强烈键合;增加了相对分子质量,可以增加质谱检测的选择性,因为尿样中的干扰物质一般是小分子化合物。

### 1.2.2 在烟草制品及卷烟烟气中的应用

在用 LC-MS/MS 分析烟草及卷烟烟气中的 TSNA's 时,早期 Jansson 等<sup>[23]</sup>采用外标法检测了鼻烟中的 4 种 TSNA's,方法无需净化,只需蒸发过滤,由于找不到不含 TSNA's 的空白鼻烟样品,采用在样品中加不同浓度的基体匹配标准进行定量。检出限为  $0.005 \sim 0.01 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 。为了减少基体的

影响、提高分析的准确性和灵敏度,同位素标记内标法逐渐发展成为常用方法,其中既有采用单一内标定量法、也有采用多种内标定量法,而采用 2 种内标或 4 种内标最为常用。在内标的选择上,既有碳同位素标记内标、也有氘代内标。选择样品萃取溶剂时,多数研究者都倾向于选择乙酸铵缓冲溶液。

文献报道的采用一种内标定量的不多,其中毛友安等<sup>[24]</sup>用柠檬酸-磷酸盐缓冲溶液与环己烷共提取主流烟气颗粒物,用 SPE 进一步纯化,电喷雾正离子多反应监测。内标物为  $^{13}\text{C}$  标记咖啡因。检出限在  $0.05 \sim 0.24 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  之间。

采用 2 种内标的主要包括  $^{13}\text{C}$  同位素标记内标和氘代内标。2003 年, Wu 等<sup>[25]</sup>采用同位素稀释 LC-MS/MS 同时测定了卷烟主流烟气颗粒物中的 5 种 TSNA's。内标为  $^{13}\text{C}$ -NNN 和  $^{13}\text{C}$ -NNK。采用色谱保留时间、特定的分析物碎裂模式和两对母离子/子离子对的相对峰面积比对 TSNA's 进行识别。检出限在  $0.05 \sim 1.23 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  之间。2005 年, Wagner 等<sup>[26]</sup>建立了定量分析卷烟主流烟气中 TSNA's 的同位素标记 LC-MS/MS 方法。采用  $d_4$ -NNN 和  $d_4$ -NNK 为内标。与传统方法相比,样品处理和分析时间均缩短。用剑桥滤片收集主流烟气颗粒物,用  $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  乙酸铵缓冲溶液萃取无需净化。检出限在  $0.01 \sim 0.1 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  之间。试验发现乙酸铵的优势在于选择性萃取 TSNA's,这样使得样品干净、分析通量高。试验的另一个特点是将色谱柱温升至  $60 \text{ }^\circ\text{C}$ ,可以改善 NNN 的峰形。2005 年,丁时超等<sup>[27]</sup>采用类似的方法分析了卷烟烟丝和主流烟气中的 TSNA's,仪器检出限为  $0.002 \sim 0.005 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。2007 年,李勇等<sup>[28]</sup>采用 SPE-LC-MS/MS 测定了卷烟烟丝中的 TSNA's。检出限低于  $1.0 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ 。方法的特点是采用纯水为萃取剂,用氢氧化钠溶液调节萃取液至碱性后,用 OASIS MCX SPE 小柱净化,分析物用甲醇洗脱后进样,  $d_4$ -NNN 和  $d_4$ -NNK 同位素标记内标法检测。

2008 年, Wu 等<sup>[29]</sup>首次采用 4 个稳定同位素内标( $d_4$ -NNN、 $d_4$ -NAT、 $d_4$ -NAB 和  $d_4$ -NNK)定量烟草和主流烟气中的 TSNA's,每种分析物用单个内标定量减小了基体效应,无需样品净化。每种分析物采用 2 个离子对确证和定量,可以增加分析准确度和适用性。检出限为  $0.027 \sim 0.049 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。随后,采用 4 种氘代内标定量成为国内外研究的热点<sup>[30-31]</sup>。2011 年, CORESTA 发布了用 LC-MS/

MS测定无烟烟草制品(如湿鼻烟、嚼烟等)和原烟中4种TSNA's的推荐方法<sup>[32]</sup>。其中采用乙酸铵缓冲溶液萃取、4种氘代内标定量。

为缩短分析时间、改善色谱峰形,超高效液相色谱(UPLC)与质谱联用成为测定TSNA's的又一选择。2010年,朱文静等<sup>[33]</sup>用UPLC-MS/MS快速测定了4种TSNA's。选用了粒径1.8 μm的C<sub>18</sub>超高压柱,实现了4种化合物在7 min内的完全分离。50 ℃的色谱柱温可以消除NNN和NNK对映异构体产生的肩峰,改善了色谱峰形。2011年,Ding等<sup>[34]</sup>用UPLC-MS<sup>3</sup>快速分离测定主流烟气中的4种TSNA's。采用四极杆-离子阱(QqLIT)质谱,分析时间短、选择性好,检出限在0.023~0.067 μg·L<sup>-1</sup>之间。方法用MS<sup>3</sup>扫描模式采集数据,用Q1选择一级母离子,在碰撞池Q2中用碰撞活化解离(CAD)气碰撞碎裂得到二级母离子,在Q3质量分析器(LIT)中进一步碎裂得到定量离子(MS<sup>3</sup>离子),根据MS<sup>3</sup>离子的选择性和灵敏度选择MS<sup>3</sup>离子对。

LC-MS/MS比GC-TEA更灵敏、选择性更好。但样品的基体效应会使分析物回收率变差,降低了分析的准确度和精密度。采用液液萃取或固相萃取净化样品可以减少基体效应,但增加了分析时间、限制了样品通量。同位素标记提高了分析效率,但分析成本较高,不适合日常检测。

### 1.3 毛细管电泳和胶束电动色谱

2006年,Li等<sup>[35]</sup>用固相萃取结合毛细管区带电泳(CZE)和毛细管电泳-电喷雾电离质谱(CE-MS)测定了兔子血清中的TSNA's。方法采用甲酸铵和柠檬酸缓冲体系,优化了CZE分析条件,如缓冲溶液的酸度和浓度、毛细管长度、电压和毛细管温度等。在CE-MS中采用甲醇-水为鞘液。试验对CZE和CE-MS两种方法进行了比较,结果发现,两种方法的分析性能相似。但由于CE-MS灵敏度更高、可以获得更多的分子结构信息,所以更适合分析复杂的生物样品。采用CZE的检出限在1.0~5.0 mg·L<sup>-1</sup>之间,采用CE-MS的检出限在0.1~0.2 mg·L<sup>-1</sup>之间。

2011年,Liao等<sup>[36]</sup>用动态涂布CZE快速筛查兔子血样中的6种TSNA's。在毛细管表面动态涂覆两种缓冲溶液CElixir Reagent A和CElixir Reagent B,由于pH和浓度固定,在一定的分离条件下可以获得稳定的电渗流,保证了良好的重现性。检

出限为0.1 mg·L<sup>-1</sup>。同年,Yang等<sup>[37]</sup>采用硫酸化β-环糊精(S-β-CD)作为CE改性剂,从人体支气管上皮细胞中对映分离了NNK和NNAL。

2010年,Yang等<sup>[38]</sup>用胶束电动色谱(MEKC)分析人尿中的4种TSNA's。检出限在0.004~0.016 mg·L<sup>-1</sup>之间。尽管灵敏度比CE方法的高,但试验优化参数较多,仪器使用不普遍。

## 2 展望

由于烟草特有N-亚硝胺具有致癌活性,如何更快速、灵敏、准确地测定各种复杂样品中的微量甚至痕量TSNA's,探索合适的样品前处理方法和仪器分析方法一直是研究重点。目前,多数研究采用溶剂萃取和固相萃取净化为样品前处理手段,GC-TEA、GC-MS、GC-MS/MS和LC-MS/MS为常用检测仪器,这些方法主要存在基体干扰严重、样品分析通量不高、分析精密度和准确度不高以及不同仪器分析结果差异较大等缺陷。尽管有的分析方法(如采用分子印迹聚合物SPE小柱净化、同位素标记内标定量)可以显著提高分析的灵敏度或准确度,但这些方法样品前处理繁琐、有机试剂用量大、仪器操作复杂、成本高。针对复杂的样品基体,如何进一步提高目标物的选择性和分析灵敏度、提高分析数据的精密度和准确度,将是分析工作者今后研究的重难点。为此,可从样品前处理方法、色谱分离模式和特殊检测器研发等方面进行创新和突破,如发展对TSNA's有选择性萃取、富集或保留的多孔硅胶、沸石等<sup>[39-43]</sup>固相萃取填料或色谱柱固定相;由于TSNA's的对映异构性质,可尝试将手性色谱分离模式应用到TSNA's的分析中,另外,二维色谱分离模式也是一种可以考虑的选择;还可研究专用检测器如旋光检测器<sup>[44]</sup>和化学发光检测器<sup>[45]</sup>对TSNA's的检测性能或研发对TSNA's有特征响应且能与色谱仪器匹配的其他类型检测器。

总之,现有的TSNA's色谱分析方法仍需不断完善,相关的研究还有很大的空间。

### 参考文献:

- [1] 谢剑平.烟草与烟气化学成分[M].北京:化学工业出版社,2010:38.
- [2] International agency for research on cancer (IARC). IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. smokeless tobacco and some tobacco-specific nitrosamines. Volume 89[EB/OL]. [2013-3-



- 18]. <http://www.monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol89/mono89>.
- [3] HECHT S S. *Chem Res Toxicol*[J], 1998, 11(6): 559-603.
- [4] 陈利平, 宁维, 李瑜, 等. *河南农业科学*[J], 2012, 41(12):7-11.
- [5] 毛友安, 魏新亮, 钟科军, 等. *烟草科技*[J], 2004(7): 33-36.
- [6] 张峻松, 许小博, 陈芝飞, 等. *郑州轻工业学院学报: 自然科学版*[J], 2007, 22(4):13-16.
- [7] SHAH K A, KARNES H T. *Crit Rev Toxicol*[J], 2010, 40(4):305-327.
- [8] CORESTA recommended method No. 63, determination of tobacco specific nitrosamines in cigarette mainstream smoke-GC-TEA method [EB/OL]. <http://www.beitraege-bti.de/pdf/2012-25-04-507.pdf>.
- [9] GB/T 23228-2008 卷烟主流烟气总粒相物中烟草特有N-亚硝胺的测定 气相色谱-热能分析联用法[S].
- [10] SONG S Q, ASHLEY D L. *Anal Chem*[J], 1999, 71(7):1303-1308.
- [11] 毛友安, 钟科军, 卢红兵, 等. *理化检验-化学分册*[J], 2008, 44(6):529-531.
- [12] ZHOU Jun, BAI Ruo-shi, ZHU Yong-fa. *Rapid Commun Mass Spectrom*[J], 2007, 21:4086-4092.
- [13] SLEIMAN M, MADDALENA R L, GUNDEL L A, et al. *J Chromatogr A*[J], 2009, 1216:7899-7905.
- [14] 刘万峰, 王元英. *中国烟草科学*[J], 2003, 2:19-22.
- [15] HECHT S S, ORNAF R M, HOFFMANN D. *Anal Chem*[J], 1975, 47(12):2046-2048.
- [16] BYRD G D, OGDEN M W. *J Mass Spectrom*[J], 2003, 38:98-107.
- [17] LI Chen-chen, WEN Da-wei, ZHANG Jian-xun, et al. *Anal Bioanal Chem*[J], 2006, 386:1985-1993.
- [18] LEE H L, WANG C Y, LIN S, et al. *Talanta*[J], 2007, 73:76-80.
- [19] XIA Yang, MCGUFFEY J E, BHATTACHARYYA S, et al. *Anal Chem*[J], 2005, 77:7639-7645.
- [20] SHAH A K, HALQUIST M S, KARNES H T. *J Chromatogr B*[J], 2009, 877:1575-1582.
- [21] KAVVADIAS D, SCHERER G, URBAN M, et al. *J Chromatogr B*[J], 2009, 877:1185-1192.
- [22] JACOB III P, HAVEL C, LEE D H, et al. *Anal Chem*[J], 2008, 80:8115-8121.
- [23] JANSSON C, PACCOU A, ÖSTERDAHL B G. *J Chromatogr A*[J], 2003, 1008:135-143.
- [24] 毛友安, 钟科军, 魏万之, 等. *现代科学仪器*[J], 2006(1):88-90.
- [25] WU Wei-jia, ASHLEY D L, WATSON C H. *Anal Chem*[J], 2003, 75:4827-4832.
- [26] WAGNER K A, FINKEL N H, FOSSETT J E, et al. *Anal Chem*[J], 2005, 77:1001-1006.
- [27] 丁时超, 杜文, 任建新, 等. *中国烟草学报*[J], 2005, 11(6):17-22.
- [28] 李勇, 吴名剑, 练文柳, 等. *分析实验室*[J], 2007, 26(6):65-68.
- [29] WU Jing-cun, JOZA P, SHARIFI M, et al. *Anal Chem*[J], 2008, 80:1341-1345.
- [30] 王兆宇, 王昇, 王娟, 等. *烟草科技*[J], 2010(6):57-62.
- [31] XIONG Wei, HOU Hong-wei, JIANG Xing-yi, et al. *Anal Chim Acta*[J], 2010, 674:71-78.
- [32] CORESTA recommended method No. 72, determination of tobacco specific nitrosamines in smokeless tobacco products by LC-MS/MS [EB/OL]. [http://www.coresta.org/Recommended\\_Methods/CRM\\_72.pdf](http://www.coresta.org/Recommended_Methods/CRM_72.pdf), 2011.
- [33] 朱文静, 杨俊, 刘百战, 等. *分析测试学报*[J], 2010, 29(1):26-30.
- [34] DING Yu, YANG Jun, ZHU Wen-jing, et al. *J Chin Chem Soc*[J], 2011, 58:667-672.
- [35] LI Chen-chen, CHEN Zheng, WEN Da-wei, et al. *Electrophoresis*[J], 2006, 27:2152-2163.
- [36] LIAO Jie, PAN Yin-jin, LI Chen-chen, et al. *Chromatographia*[J], 2011, 74:415-419.
- [37] YANG You-you, YU Cong, ZHOU Meng, et al. *J Chromatogr A*[J], 2011, 1218:6505-6510.
- [38] YANG You-you, NIE Hong-gang, LI Chen-chen, et al. *Talanta*[J], 2010, 82:1797-1801.
- [39] WEI Feng, YANG Jia-yuan, GAO Ling, et al. *J Hazard Mater*[J], 2009, 172:1480-1490.
- [40] LIN Wei-gang, WEI Feng, GU Fang-na, et al. *J Colloid Interf Sci*[J], 2010, 348:621-627.
- [41] WEI Feng, GU Fang-na, ZHOU Yu, et al. *Solid State Sci*[J], 2009, 11:402-410.
- [42] YANG Jing, YANG Jia-yuan, ZHOU Yu, et al. *J Hazard Mater*[J], 2010, 179:1031-1036.
- [43] ZHOU Yu, LIN Wei-gang, WAN Mi-mi, et al. *J Mater Chem*[J], 2012, 22:23633-23641.
- [44] NAGESWARA R R, KUMAR K N, RAMAKRISHNA S. *J Chromatogr B*[J], 2011, 879:1911-1916.
- [45] RAMÍREZ N, ÖZEL M Z, LEWIS A C, et al. *J Chromatogr A*[J], 2012, 1219:180-187.