

烟草与烟气化学

无烟气烟草制品中 TSNA_s 的分析研究张杰^{1,2}, 王兆宇^{1,3}, 李鹏¹, 王昇¹, 宗永立¹, 谢剑平¹

1 中国烟草总公司郑州烟草研究院, 河南郑州高新区枫杨街2号 450001;

2 上海烟草(集团)公司技术中心北京工作站, 北京通州万盛南街99号 101121;

3 中国烟草总公司浙江省烟草质量监督检测站, 浙江杭州上城区将军路5号 310001

摘 要: 用 100 mmol/L 乙酸铵溶液萃取样品后, 用 0.22 μm 水相针式过滤器过滤, 采用液相色谱-电喷雾串联质谱(LC-ESI MS/MS)测定烟草特有 N-亚硝胺, 建立了无烟气烟草制品中 4 种烟草特有 N-亚硝胺(TSNA_s)的同时测定方法。利用建立的方法测定了 72 个不同品牌种类的无烟气烟草制品中 TSNA_s 的含量。结果表明, N-亚硝基降烟碱(NNN)、4-(亚硝基甲基氨基)-1-(3-吡啶基)-1-丁酮(NNK)、N-亚硝基新烟草碱(NAT)和 N-亚硝基假木贼碱(NAB)的检出限分别是 0.03、0.08、0.03 和 0.02 ng/mL, 回收率在 93.17%–105.25% 之间, 精密度在 2.03%–4.80% 之间。方法的检测限低, 特异性好, 适合于无烟气烟草制品中 TSNA_s 的检测。实验发现不同品牌的无烟气烟草制品 TSNA_s 的含量差别较大, TSNA_s 的总含量范围从 0.54 $\mu\text{g/g}$ 到 31.91 $\mu\text{g/g}$, 相差 59 倍, 平均含量为 5.06 $\mu\text{g/g}$ 。

关键词: 无烟气烟草制品; TSNA_s; 液相色谱-电喷雾串联质谱

doi: 10.3969/j.issn.1004-5708.2012.05.001

中图分类号: TS411

文献标识码: A

文章编号: 1004-5708(2012)05-0001-08

Determination of TSNA_s in smokeless tobacco products by liquid chromatography-tandem mass spectrometry

ZHANG Jie^{1,2}, WANG Zhao-yu^{1,3}, LI Peng¹, WANG Sheng¹, ZONG Yong-li¹, XIE Jian-ping¹

1 Zhengzhou Tobacco Research Institute, CNTC, Zhengzhou 450001, China;

2 Beijing Technology Centre, Shanghai Tobacco Co. Ltd., Beijing 101121, China;

3 Zhejiang Tobacco Quality Supervision & Test Centre, CNTC, Hangzhou 310001, China

Abstract: An HPLC-MS/MS method for simultaneously determining four tobacco-specific N-nitrosamines (TSNA_s) in smokeless tobacco products were developed and validated, with ammonium acetate as extracting agent. Detection limits to N-nitrosonornicotine (NNN), 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK), N-nitrosoanatabine (NAT) and N-nitrosoanabasine (NAB) are 0.03, 0.08, 0.03 and 0.02 ng/mL, respectively. Recovery rate of these TSNA_s varied from 93.17% to 105.25% with mean precision ranging from 2.03% to 4.80%. The method is suitable for quantitative analysis of TSNA_s in smokeless tobacco products. Results also indicated significant difference existed in quantity of TSNA_s between smokeless tobacco products of different brands and tastes. Total TSNA_s ranged from 0.54 $\mu\text{g/g}$ to 31.91 $\mu\text{g/g}$, with mean of 5.06 $\mu\text{g/g}$.

Keywords: smokeless tobacco products; TSNA_s; liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry (LC-ESI MS/MS)

基金项目: 国家烟草专卖局重点科研项目“无烟气烟草制品研制—袋装口含型无烟气烟草制品”(412008AA0050)

作者简介: 张杰(1985—), 硕士, 助理工程师, 研究方向为烟草分析化学研究, E-mail: zhangjie259120@163.com

通讯作者: 李鹏(1977—), 硕士, 高级工程师, 研究方向为烟用香精香料研究, E-mail: lipeng@ztri.com.cn

收稿日期: 2011-06-16

在控烟措施日益严厉的情况下,对于不愿放弃烟草消费的公众而言,无烟气烟草制品是一种重要的备选消费方式。在美国占据 2006 年无烟气烟草制品市场份额 71% 的“Moist Snuff”型含烟,7 年(2000–2006 年)内销量增加了 25.6%,2006 年的销售量已超过 10 亿盒,消费量超过 40 亿美元^[1]。在瑞典约有 24% 的成年男性、3% 的成年女性消费 Snus 型口含无烟气烟草制品^[2](2007 年)。无烟气烟草制品不经燃烧,不产生烟气,也不影响他人,对消费者健康影响也比传统卷烟小的多。但是也有 Cullen^[3] 和 Wray^[4] 研究指出使用含烟等无烟气烟草制品与口腔癌和喉癌有密切关系。目前,在无烟气烟草制品中已鉴定出约 30 种致癌物或可能致癌物,其中 N-亚硝基降烟碱(NNN)、4-(亚硝基甲基)-1-(3-吡啶基)-1-丁酮(NNK)、N-亚硝基新烟草碱(NAT)和 N-亚硝基假木贼碱(NAB)是最受关注的这一类物质^[5]。目前关于 TSNA 的检测方法主要有:气相色谱-热能分析仪(GC-TEA)^[6]、气质联用法(GC-MS)^[7-8]和液相色谱串联质谱联用法(LC-MS/MS)^[9-13]等。GC-TEA 法作为 CORESTA 推荐的检测主流烟气中 TSNA 的方法^[14],使用最为广泛,但是 TEA 不能区分 TSNA 和共同流出的其它亚硝胺化合物,并且前处理过程较为繁琐。

本文利用液相色谱-电喷雾串联质谱(LC-ESI MS/MS)技术,建立了同时检测无烟气烟草制品中 4 种 TSNA 的方法,为无烟气烟草制品中 TSNA 的检测提供参考,并应用该方法测定了 72 个不同品牌口味的无烟气烟草制品中 TSNA 的含量。

1 材料与方法

1.1 无烟气烟草制品样品

实验选取了美国、德国、瑞典、丹麦和印度等国家的 12 个公司的 72 种市场份额较大的无烟气烟草制品作为实验样品。样品包含了美式 Moist Snuff 型含烟、瑞典 Snus 型含烟、嚼烟(Chewing tobacco)和鼻烟(Nasal tobacco)等主要的无烟气烟草制品类型,实验前所有样品均密封储存在冰箱中(-18℃)。

1.2 试剂

标准品: NNK、NNN、NAB、NAT、d₄-NNK、d₄-NNN、d₄-NAB、d₄-NAT(纯度>98%,加拿大 TRC 试剂公

司);超纯水(电导率≥18.2 MO·cm);甲醇(色谱纯,美国 J&T Baker 公司);乙腈(色谱纯,美国 Fisher 公司);甲酸铵(纯度≥99%,美国 Fisher 公司);甲酸、乙酸铵(色谱纯,美国 Tedia 公司)。

1.3 仪器

Agilent 1200 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司);API4000 质谱仪(美国应用生物系统公司);Milli-Q 50 超纯水仪(美国 Millipore 公司);CP2245 分析天平(感量 0.0001 g,德国 Sartorius 公司);13 mm×0.22 μm 水相针式过滤器(上海安谱科学仪器有限公司);Sigma1-15PK 高速离心机(德国 Sigma 公司);HY-8 调速振荡器(常州国华电器有限公司)。

1.4 液相色谱操作条件与质谱检测参数

HPLC 参数: 色谱柱: Poroshell 120 SB-C18(3.0×100 mm,2.7 μm,美国 Agilent 公司);柱温: 50.0℃;进样量: 5 μL;流速: 0.30 mL/min;流动相: A: 水(含 0.1% 乙酸,体积分数),B: 甲醇(含 0.1% 乙酸,体积分数);预平衡时间: 5 min;梯度洗脱条件如表 1:

表 1 色谱梯度洗脱条件及流速

时间/min	流速/(mL/min)	流动相 A/%	流动相 B/%
0	0.30	90	10
0.5	0.30	60	40
2.5	0.30	60	40
5.0	0.30	40	60
8.0	0.30	40	60
10.0	0.30	90	10

质谱条件: 离子源: 电喷雾离子源(ESI);扫描模式: 正离子扫描;检测方式: 多反应监测(MRM);电喷雾电压(Ion Spray Voltage, IS): 5000 V;雾化气流速(GS1, N₂): 3.8 kg/cm²;辅助加热气流速(GS2, N₂): 3.8 kg/cm²;气帘气流速(Curtain gas, CUR, N₂): 1.0 kg/cm²;撞气流速(Collision gas, CAD, N₂): 0.4 kg/cm²;离子源温度(TEM): 550℃;驻留时间(Dwell Time): 50 ms;EP(Entrance Potential): 10 V;CXP(Collision Cell Exit Potential): 9 V。TSNA 的 MRM 参数见表 2:

表 2 TSNA_s 的 MRM 参数

分析物	Q1mass/amu	Q3mass/amu	Time/msec	DP/v	CE/v	EP/v	CXP/v
NNN	178. 200	148. 100	50	50	15	10	9
	178. 200	120. 100	50	50	18	10	9
NAT	190. 100	160. 000	50	50	14	10	9
	190. 100	106. 100	50	50	18	10	9
NAB	192. 100	161. 800	50	50	15	10	9
	192. 100	132. 900	50	50	19	10	9
NNK	208. 100	122. 100	50	50	14	10	9
	208. 100	148. 000	50	50	18	10	9
d ₄ -NNN	182. 200	152. 100	50	50	16	10	9
	182. 200	124. 100	50	50	19	10	9
d ₄ -NAT	194. 100	164. 000	50	50	15	10	9
	194. 100	110. 100	50	50	18	10	9
d ₄ -NAB	196. 100	166. 000	50	50	15	10	9
	196. 100	136. 100	50	50	20	10	9
d ₄ -NNK	212. 100	126. 100	50	50	16	10	9
	212. 100	152. 000	50	50	19	10	9

注: 黑体字为定量时采用的 MRM 参数, 非黑体为辅助定性所用参数。

1.5 样品前处理

分析前将待分析样品在室温下解冻 2 h, 解冻后准确称取 1.00 g 样品置于 50 mL 锥形瓶中, 然后加入 0.1 mL 2000 ng/mL 的内标溶液和 30 mL 100 mmol/L 的乙酸铵溶液, 用振荡器以 130 rpm 振荡 30 min, 然后用 0.22 μm 水相针式过滤器过滤到 2 mL 的色谱瓶中进行 LC-MS/MS 分析。

2 结果与讨论

2.1 LC-MS/MS 条件的选择

NNN、NNK、NAT 和 NAB 等 4 种烟草特有 N-亚硝胺中带有电负性较强的氮原子, 因此质谱检测选用正离子模式。无烟气烟草制品中 TSNA_s 的含量范围较宽, 不同厂家品牌产品中的含量差异较大, 且不同种类的无烟气烟草制品组成也存在较大差异, 基质较为复杂, 为确保方法的稳定性与可重复性, 对于 NNN、NNK、NAT 和 NAB 都通过选定 2 个离子对(1 个定性离子对和 1 个定量离子对) 和相应的氘代内标来确保方法的准确性, 并且每个 TSNA 都选用相应的氘代内标来对其进行准确定量, 使得定量内标在保留时间和峰形上都能与定量的离子保持较好的一致性(见表 2)。

为选择适宜的色谱条件, 实验考查了流动相中添

加乙酸对分离效果的影响。实验发现, 以纯水(A 相) 和甲醇(B 相) 为流动相时, NNK 会裂开, 形成两个色谱峰, 而以 0.1% 乙酸水溶液(A 相) 和 0.1% 乙酸甲醇溶液(B 相) 为流动相时, NNN、NNK、NAT 和 NAB 和内标都能很好地质子化, 色谱峰型均较好(见图 1)。

2.2 萃取介质的选取

烟草及烟气滤片中 TSNA_s 的萃取溶剂大多采用二氯甲烷^[15-17], 也有使用乙酸乙酯萃取的^[18]。Wagner 等^[19]提出用醋酸铵水溶液可以选择性萃取烟草中 TSNA_s, 从而简化样品处理步骤。为选择适宜的萃取介质, 实验中对二氯甲烷、乙酸乙酯、甲醇和 100 mmol/L 的乙酸铵水溶液的萃取效果进行了比较, 结果发现 4 种溶剂均能将无烟气烟草制品中的 TSNA_s 萃取完全, 但是用二氯甲烷、乙酸乙酯和甲醇提取的选择性较差, 萃取出来的物质相对较多, 且二氯甲烷、乙酸乙酯的萃取液不能直接进样, 样品前处理相对复杂, 而乙酸铵水溶液仅萃取出 TSNA_s 和少量水溶性物质, 可直接进样, 且完全萃取所用时间也相对较短。实验结果表明 20 mL 100 mmol/L 的乙酸铵水溶液在振荡器上提取 30 min 就将无烟气烟草制品中的 TSNA_s 完全萃取, 因此本文选择 20 mL 100 mmol/L 的乙酸铵水溶液为萃取液。

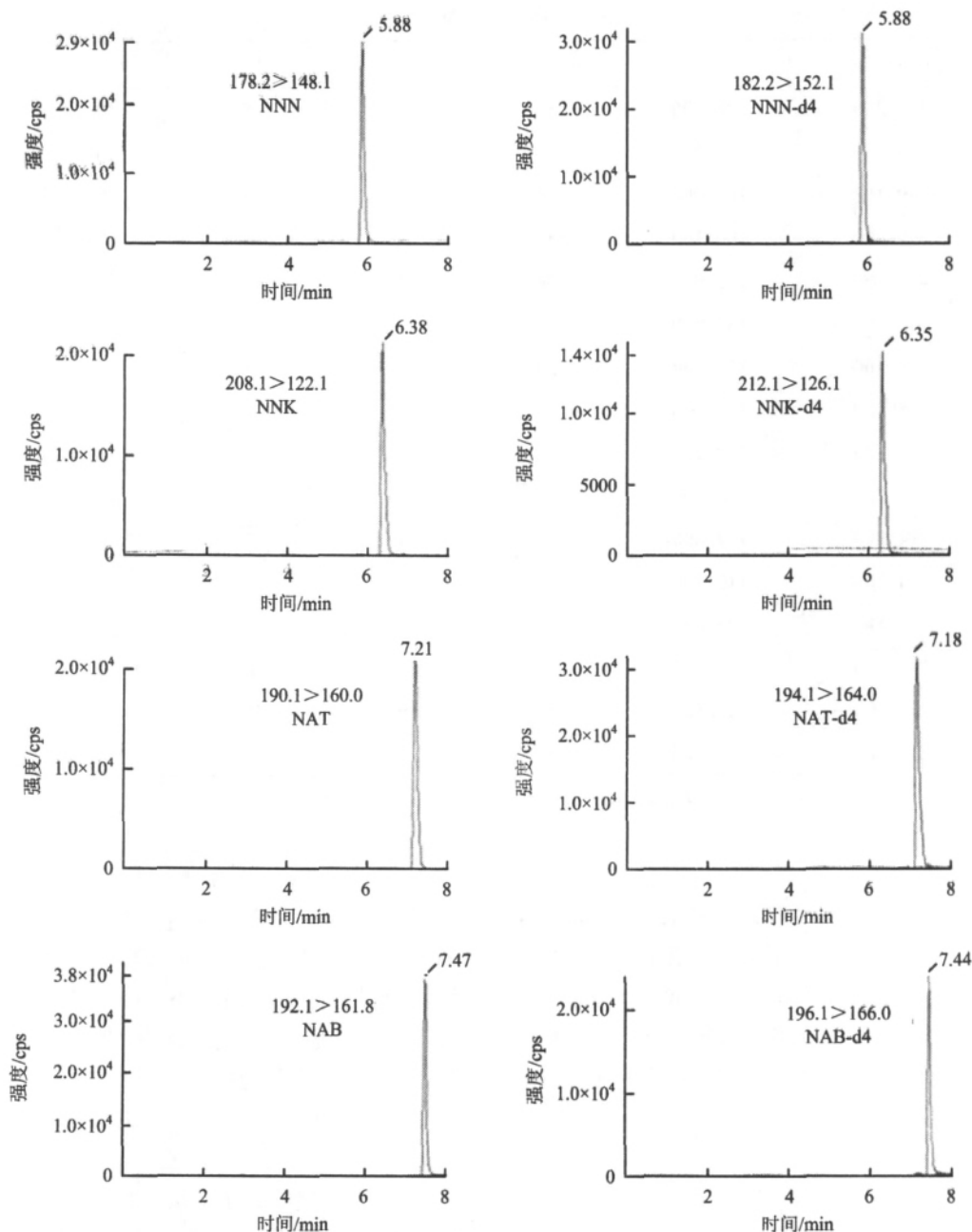


图1 NNN、NNK、NAT、NAB 及其氘代内标混合溶液(10 ng mL^{-1})的多反应监测色谱图

2.3 线性关系与检出限

用 100 mmol/L 乙酸铵水溶液准确配制浓度分别为 0.5 ng/mL 、 1.0 ng/mL 、 2.0 ng/mL 、 4.0 ng/mL 、 10.0 ng/mL 、 40.0 ng/mL 、 100.0 ng/mL 、 200.0 ng/mL 的 NNN、NNK、NAT 和 NAB 混合标准溶液,其中 NNN-d4、NNK-d4、NAT-d4 和 NAB-d4 4 种内标的浓度均为 10.0 ng/mL 。将所配制的 TSNA 标准溶液由低到高浓度进样分析,以分析物与内标物的峰面积比(Y)对相应的分析物浓度($X, \text{ ng/mL}$)进行线性回归分析,得到各分析物的工作曲线回归方程和相关系数。NNN、

NNK、NAT 和 NAB 的线性范围为 $0.5\text{--}200 \text{ ng/mL}$,线性相关系数为 $0.9995\text{--}0.9999$,表明在测定的浓度范围内具有良好的线性关系。以信噪比(S/N)不低于 3 时萃取液中 NNN、NNK、NAT 和 NAB 的最低浓度为检出限,结果见表 3。根据国家标准 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》所述 NNN、NNK、NAT 和 NAB 的检出限分别为 14.0 ng/mL 、 8.4 ng/mL 、 4.8 ng/mL 、 15.8 ng/mL 。

表 3 4 种 TSNA_s 的标准溶液曲线及方法的检测限

TSNA _s	标准曲线	R ² 值	检出限/ (ng/mL)	定量限/ (ng/mL)
NNN	Y = 0.0283X - 0.0122	r = 0.9995	0.03	0.12
NNK	Y = 0.0338X + 0.0108	r = 0.9996	0.08	0.27
NAT	Y = 0.0636X + 0.00177	r = 0.9999	0.03	0.09
NAB	Y = 0.0242X + 0.000462	r = 0.9998	0.02	0.08

2.4 回收率与精密度

取已知含量的无烟气烟草制品样品 ,分 3 份 ,分别按照低、中、高三种水平加入 NNN、NNK、NAT 和 NAB 标准品 ,每个添加水平重复测定 6 个样品。加标后的样品分别按前述前处理方法处理样品 ,在相同仪器分析条件进行样品分析 ,并由原含量、加标量以及测定量计算回收率(见表 4) 。结果表明 ,该方法测得的 NNN、NNK、NAT 和 NAB 的加标回收率分别在 93.17% -105.25% 之间 ,相对标准偏差(RSD) 分别在 2.03% -4.80% 之间 ,表明该方法均满足定量要求

2.5 不同品牌种类的无烟气烟草制品 TSNA_s 的定量结果

用上述方法对 72 个不同品牌种类的无烟气烟草制品进行测定 ,测定结果见表 5。实验发现不同品牌

种类的无烟气烟草制品 TSNA_s 的含量差别很大 ,TSNA_s 的总含量范围是 0.54 -31.91 μg/g ,平均含量为 5.06 μg/g ,最高与最低含量相差 59 倍 ,4 种 TSNA_s 含量分别是:

表 4 NNN、NNK、NAT 和 NAB 的加标回收率(n =6) 和精密度

化合物	含量/ (μg/g)	加入量/ (ng/mL)	回收率/ %	RSD/ %
NNN	0.96	5.00	94.33	3.61
		20.00	102.17	3.73
		40.00	103.58	2.67
NNK	0.37	5.00	96.00	3.14
		20.00	101.83	4.80
		40.00	105.25	2.36
NAT	0.04	5.00	94.67	4.59
		20.00	93.17	3.26
		40.00	96.08	3.88
NAB	0.35	5.00	97.90	4.28
		20.00	101.53	3.33
		40.00	104.27	2.03

表 5 72 个无烟气烟草制品 TSNA_s 含量(湿重)

编号	品牌	类型	厂家	NNN/ (μg/g)	NNK/ (μg/g)	NAT/ (μg/g)	NAB/ (μg/g)	TSNA _s 总含量/ (μg/g)
1	Skoal Bandits Mint Pouches	Moist Snuff	US Smokeless Tobacco Company	6.81	3.42	4.17	0.91	15.31
2	Husky Wintergreen Long Cut	Moist Snuff	US Smokeless Tobacco Company	2.97	0.72	0.88	0.15	4.71
3	Skoal Origina Wintergreen Fine Cut	Moist Snuff	US Smokeless Tobacco Company	6.81	4.29	3.30	0.83	15.23
4	Skoal Peach Blend Long Cut	Moist Snuff	US Smokeless Tobacco Company	2.73	0.81	0.94	0.14	4.61
5	Redseal Wintergreen Long Cut	Moist Snuff	US Smokeless Tobacco Company	4.89	1.57	1.78	0.23	8.47
6	Copenhagen Wintergreen Loose	Moist Snuff	US Smokeless Tobacco Company	2.86	0.90	0.78	0.14	4.67
7*	Skoal Bandits Black cherry Pouches	Moist Snuff	US Smokeless Tobacco Company	17.00	6.00	6.37	2.54	31.91
8	Cope Long Cut	Moist Snuff	US Smokeless Tobacco Company	2.98	0.73	0.88	0.15	4.74
9	Skoal Cherry Loose	Moist Snuff	US Smokeless Tobacco Company	7.68	3.48	6.51	1.65	19.32
10	Rooste Icy Mint Long Cut	Moist Snuff	US Smokeless Tobacco Company	2.18	0.56	0.59	0.10	3.44
11	Rooster Wintergreen Long Cut	Moist Snuff	US Smokeless Tobacco Company	2.89	0.65	1.48	0.26	5.28
12	Husky Mint Long Cut	Moist Snuff	US Smokeless Tobacco Company	4.56	2.41	3.09	0.72	10.78
13	Skoal Wintergreen Long Cut	Moist Snuff	US Smokeless Tobacco Company	2.58	0.74	0.85	0.13	4.32
14	Skoal Citrus Blend Pouches	Moist Snuff	US Smokeless Tobacco Company	1.24	0.07	0.32	0.04	1.68

(续表 5)

15	Skoal Mint Long Cut	Moist Snuff	US Smokeless Tobacco Company	2.42	0.72	0.72	0.11	3.97
16	Skoal Vanilla Blend Long Cut	Moist Snuff	US Smokeless Tobacco Company	3.66	1.10	1.32	0.18	6.26
17	Skoal Straight Long Cut	Moist Snuff	US Smokeless Tobacco Company	2.90	0.72	0.88	0.14	4.65
18	Skoal Berry Blend Pouches	Moist Snuff	US Smokeless Tobacco Company	5.31	1.31	1.35	0.14	8.10
19	SKOAL Mint Pouches	Moist Snuff	US Smokeless Tobacco Company	2.18	0.84	1.25	0.13	4.4
20	Skoal Apple Blend Pouches	Moist Snuff	US Smokeless Tobacco Company	3.01	1.66	1.3	0.18	6.15
21	Skoal Wintergreen Pouches	Moist Snuff	US Smokeless Tobacco Company	2.08	0.66	1.18	0.12	4.04
22	Skoal Straight Pouches	Moist Snuff	US Smokeless Tobacco Company	2.21	0.8	1.26	0.14	4.41
23	Skoal Bandits Wintergreen Pouches	Moist Snuff	US Smokeless Tobacco Company	2.76	1.32	1.27	0.16	5.51
24	Copenhagen Original Pouches	Moist Snuff	US Smokeless Tobacco Company	2.79	0.97	1.55	0.22	5.53
25	Skoal Regular	Dry Tobacco Packs	US Smokeless Tobacco Company	3.87	1.07	1.04	0.17	6.16
26	Skoal Cinnamon	Dry Tobacco Packs	US Smokeless Tobacco Company	2.82	0.85	0.80	0.14	4.62
27	Kodiak Premium wintergreen Pouches	Moist Snuff	American Snuff Company ,LLC	2.88	0.94	2.28	0.25	6.35
28	Grizzly wintergreen Pouches	Moist Snuff	American Snuff Company ,LLC	3.9	1.08	2.81	0.29	8.09
29	Discreet Emerald ice PACK	SNUS	American Smokeless Tobacco Co. LLC	3.51	1.08	1.10	0.09	5.78
30	Grizzly Long Cut Mint	Moist Snuff	Conwood Company	2.25	0.65	0.43	0.12	3.45
31	Hawken Wintergreen Loose	Moist Snuff	Conwood Company	2.47	0.69	0.71	0.10	3.98
32	Kodiak Ice Long Cut	Moist Snuff	Conwood Company	5.34	1.17	2.18	0.45	9.13
33	Kodiak Wintergreen Loose	Moist Snuff	Conwood Company	2.65	0.74	0.66	0.12	4.17
34	Grizzly Straight Long Cut	Moist Snuff	Conwood Company	2.75	0.50	0.88	0.17	4.30
35	Grizzly Wintergreen Fine Cut	Moist Snuff	Conwood Company	2.66	0.78	0.78	0.14	4.36
36	Silverado Wintergreen Pouches	Moist Snuff	Swisher Int. Inc	9.66	1.24	2.23	0.34	13.47
37	Kayak Wintergreen Long Cut	Moist Snuff	Swisher Int. Inc	2.41	0.62	0.77	0.11	3.92
38	Kayak Apple Long Cut	Moist Snuff	Swisher Int. Inc	2.00	0.64	0.72	0.10	3.45
39	Kayak Grape Long Cut	Moist Snuff	Swisher Int. Inc	1.20	0.14	0.31	0.04	1.69
40	Camel Frost Pouches	Snus	R. J. Reynolds Tobacco Company	1.01	0.31	0.33	0.06	1.64
41	Camel Winterchill	Snus	R. J. Reynolds Tobacco Company	1.12	0.50	0.28	0.07	1.98
42	Camel Mellow Pouches	Snus	R. J. Reynolds Tobacco Company	1.10	0.45	0.27	0.07	1.89
43	Camel Robust Pouches	Snus	R. J. Reynolds Tobacco Company	1.22	0.58	0.34	0.08	2.23
44	Marlboro Peppermint Pack	Snus	Philip Morris	0.63	0.16	0.30	0.03	1.13
45	Marlboro Rich Pack	Snus	Philip Morris	0.66	0.12	0.27	0.03	1.09
46	Marlboro Mild Pack	Snus	Philip Morris	0.65	0.18	0.27	0.04	1.14
47	Marlboro Spearmint Pack	Snus	Philip Morris	0.64	0.17	0.28	0.03	1.12
48	Longhorn Straight Pouches	Moist Snuff	Pinkerton Tobacco Co. LP	2.00	0.50	1.32	0.15	3.97
49	Timber Wolf Peach Packs	Moist Snuff	Pinkerton Tobacco Co. LP	1.51	0.39	0.97	0.1	2.97
50	Renegades Wintergreen Pouches	Moist Snuff	Pinkerton Tobacco Co. LP	1.65	0.46	1.11	0.12	3.34
51	Durango Blended Smooth	Chewing tobacco	Louisville	5.22	1.35	1.24	0.13	7.94

(续表 5)

52	Gletscher Prise Loose	Nasal tobacco	Rauchfreier Tabakgenuß Tob	1.87	0.88	0.58	0.07	3.39
53	Johnny Apricot Loose	Nasal tobacco	Rauchfreier Tabakgenuß Tob	1.61	0.70	0.58	0.07	2.95
54	Gawith Apricot Loose	Nasal tobacco	Rauchfreier Tabakgenuß Tob	1.72	0.98	0.69	0.08	3.47
55	Oionα Loose	Nasal tobacco	Rauchfreier Tabakgenuß Tob	1.47	0.58	0.55	0.07	2.67
56	L öwen-Prise Loose	Nasal tobacco	Rauchfreier Tabakgenuß Tob	1.54	1.1	0.57	0.09	3.3
57	Romeoy Julieta Pouches	Snus	Swedish Match	1.20	0.32	0.44	0.06	2.02
58	Montecristo Pouches	Snus	Swedish Match	0.96	0.20	0.28	0.05	1.49
59	Göteborgs Rapé White Portion	Snus	Swedish Match	0.31	0.11	0.11	0.01	0.54
60	Ettan Portion	Snus	Swedish Match	0.41	0.11	0.14	0.02	0.68
61	General Portion	Snus	Swedish Match	0.41	0.15	0.15	0.02	0.74
62	General White Portion	Snus	Swedish Match	0.31	0.11	0.12	0.01	0.55
63	Catch White Eucalyptus Portion	Snus	Swedish Match	0.39	0.14	0.14	0.02	0.69
64	Gotland Fläder (green) ,Portion	Snus	Swedish Match	0.70	0.17	0.22	0.04	1.13
65	Skruf Tranb	Snus	Skruf Snus	0.51	0.13	0.26	0.02	0.93
66	Skruf Stark Portion	Snus	Skruf Snus	0.47	0.11	0.24	0.03	0.85
67	Skruf Xtra Strong Portion	Snus	Skruf Snus	0.60	0.11	0.32	0.03	1.07
68	Jakobssons Wintergreen ,Strong Portion	Snus	Gotlands Snus AB	1.64	0.36	0.38	0.08	2.46
69	Thunder Xtra Strark	Snus	Gotlands Snus AB	1.55	0.25	0.69	0.08	2.57
70	Grand Prix Genuine Swedish	Snus	V2 Tobacco A/S	0.38	0.10	0.14	0.01	0.64
71	Klondike Peppermint blast Pouches	Snus	Nordic American Smokeless Inc.	1.03	0.30	0.38	0.06	1.71
72*	Kundli (Haryana) Pack	Moist Snuff	Harsh International Khaini Pvt. Ltd.	24.14	0.42	0.98	3.82	29.35

注: * 7 号样品称重 0.3 g ,其他样品称重 1 g。

- NNN 0.31-24.14 μg/g ,平均含量为 2.90 μg/g ,最高与最低含量相差 78 倍;
- NNK 0.07-6.00 μg/g ,平均含量为 0.85 μg/g ,最高与最低含量相差 86 倍;
- NAT 0.11-6.51 μg/g ,平均含量为 1.06 μg/g ,最高与最低含量相差 59 倍;
- NAB 0.01-3.82 μg/g ,平均含量为 0.25 μg/g ,最高与最低含量相差 382 倍。

对所测 40 种美式风格的湿鼻烟(Moist Snuff) 的 TSNA_s 含量和 24 种瑞典风格的湿鼻烟(Snus) 的 TSNA_s 含量做两独立样本的 t 检验 ,结果表明 ,所测美式风格的湿鼻烟 TSNA_s 平均含量为 7.33 μg/g ,瑞典风格的湿鼻烟 TSNA_s 平均含量为 1.50 μg/g ,美式风格的湿鼻烟 TSNA_s 显著高于瑞典风格的湿鼻烟 TSNA_s 含量(p < 0.001) 。这种差异的原因之一可能是由于两种湿鼻烟的制作方法不同 ,瑞典的湿鼻烟是加热处理的 ,对产品起到杀菌的作用 ,而美国的湿鼻烟是发酵

处理的 ,这个过程可能产生了较多的 TSNA_s^[20] 。

参考文献

[1] Alpert H R ,Koh H ,Connolly GN. Free nicotine content and strategic marketing of moist snuff tobacco products in the U-nited States: 2000 - 2006 [J]. Tobacco Control ,2008 ,17 (5) : 332-338.

[2] Connolly G N ,Alpert H R. Trends in the use of cigarettes and other tobacco products ,2000-2007 [J]. Jama ,2008 ,299 (22) : 2629-2630.

[3] Cullen J W ,Blot W ,Henningfield J. et al , Health conse-quences of using smokeless tobacco: summary of the Adviso-ry Committee's report to the Surgeon General [J]. Public Health Reports ,1986 ,101 (4) : 355-373.

[4] Wray A ,McGuirt W F. Smokeless tobacco usage associated with oral carcinoma: incidence , treatment , outcome [J]. Archives of Otolaryngology-Head and Neck Surgery ,1993 ,119 (9) : 929-933.

- [5] Hoffmann D , Djordjevic M V. Chemical composition and carcinogenicity of smokeless tobacco [J]. *Advances in Dental Research* ,1997 ,11 (3) : 322-329.
- [6] Hoffmann D , Adams J D. Carcinogenic tobacco-specific N-nitrosamines in snuff and in the saliva of snuff dippers [J]. *Cancer Research* ,1981 ,41 (11) : 4305-4308.
- [7] Sleiman M , Maddalena R L , Gundel L A , et al. Rapid and sensitive gas chromatography-ion-trap tandem mass spectrometry method for the determination of tobacco-specific N-nitrosamines in secondhand smoke [J]. *Journal of Chromatography A* ,2009 ,1216 (45) : 7899-7905.
- [8] Flischer S , Spiegelhalter B , Preussmann R. Preformed tobacco-specific nitrosamines tobacco—role of nitrate and influence of tobacco type [J]. *Carcinogenesis* ,1989 ,10: 1511-1517.
- [9] Wu J , Joza P , Sharifi M , et al. Quantitative method for the analysis of tobacco-specific nitrosamines in cigarette tobacco and mainstream cigarette smoke by use of isotope dilution liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *Anal Chem* ,2008 ,80 , (4) : 1341-1345.
- [10] Xiong W , Hou H , Jiang X , et al. Simultaneous Determination of Four Tobacco-Specific N-nitrosamines in Mainstream Smoke for Chinese Virginia Cigarettes by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry [J]. *Analytica Chimica Acta* ,2010 ,674: 71-78.
- [11] Kavvadias D , Scherer G , Cheung F , et al. Determination of tobacco-specific N-nitrosamines in urine of smokers and non-smokers [J]. *Biomarkers* ,2009 ,14(8) : 547-553.
- [12] Richter P , Hodge K , Stanfill S , et al. Surveillance of moist snuff: total nicotine , moisture , pH , un-ionized nicotine , and tobacco-specific nitrosamines [J]. *Nicotine & Tobacco Research* ,2008 ,10 (11) : 1645-1652.
- [13] Kavvadias D , Scherer G , Urban M , et al. Simultaneous determination of four tobacco-specific N-nitrosamines (TS-NA) in human urine [J]. *Journal of Chromatography B* ,2009 ,877 (11/12) : 1185-1192.
- [14] CORESTA Recommended Methods No. 63 Determination of Tobacco Specific Nitrosamines in Cigarette Mainstream Smoke -GC-TEA Method [S]. 2005.
- [15] Wu W , Ashley L , Watson H. Simultaneous determination of five tobacco-specific nitrosamines in mainstream cigarette smoke by isotope dilution liquid chromatography/ electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. *Anal Chem.* ,2003 ,75 (18) : 4827-4832.
- [16] Wu W , Song S , Ashley D L , et al. Assessment of tobacco-specific nitrosamines in the tobacco and mainstream smoke of Bidi cigarettes [J]. *Carcinogenesis* ,2004 ,25 (2) : 283.
- [17] Stepanov I , Carmella G , Hecht S , et al. Analysis of tobacco-specific nitrosamines in Moldovan cigarette tobacco [J]. *J Agric Food Chem* ,2002 ,50(10) : 2793-2797.
- [18] Österdahl G , Jansson C , Paccou A. Decreased levels of tobacco-specific N-nitrosamines in moist snuff on the Swedish market [J]. *J Agric Food Chem* ,2004 ,52 (16) : 5085-5088.
- [19] Wagner A , Finkel H , Fossett E , et al. Development of a quantitative method for the analysis of tobacco-specific nitrosamines in mainstream cigarette smoke using isotope dilution liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. *Anal Chem* ,2005 ,77(4) : 1001-1006.
- [20] Österdahl B , Jansson C , Paccou A. Decreased Levels of Tobacco-Specific N-Nitrosamines in Moist Snuff on the Swedish Market [J]. *J Agric Food Chem* ,2004 ,52 (16) : 5085-5088.