

## 烟草特有亚硝胺的研究进展

陈利平<sup>1</sup>, 宁 维<sup>1,2</sup>, 李 瑜<sup>2</sup>, 韩亚伟<sup>1\*</sup>

(1. 郑州轻工业学院, 河南 郑州 450002; 2. 河南农业大学, 河南 郑州 450002)

**摘要:** 综述了国内外近几十年来有关烟草亚硝胺的研究进展, 阐述了烟草亚硝胺的形成、危害及其致病机制, 分析了烟草亚硝胺的各种检测方法, 简要探讨了降低烟草中特有亚硝胺的途径, 并提出了目前该领域所面临的问题与挑战。

**关键词:** 烟草特有亚硝胺(TSNAs); 危害; 检测方法

**中图分类号:** S572      **文献标志码:** A      **文章编号:** 1004-3268(2012)12-0007-05

## Research Development of the Tobacco-specific N-nitrosamines

CHEN Li-ping<sup>1</sup>, NING Wei<sup>1,2</sup>, LI Yu<sup>2</sup>, HAN Ya-wei<sup>1\*</sup>

(1. Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450002, China;

2. Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China)

**Abstract:** The research progress of tobacco-specific N-nitrosamines both at home and abroad in recent decades was summarized in this paper, and the formation of nitrosamines, hazards and pathogenesis of TSNAs were also described. The detection methods for TSNAs were analyzed and the pathway to reduce tobacco-specific nitrosamines was discussed in detail. At last, the current problems and challenges faced in this field were presented.

**Key words:** tobacco-specific N-nitrosamines (TSNAs); hazard; detection methods

目前, 全球范围大约有 13 亿烟民, 而每年约有 500~600 万人死于与吸烟有关的疾病。由吸烟引起的死亡比例在发达国家呈现出下降趋势, 而在发展中国家却呈上升趋势<sup>[1]</sup>。其中, 约有 1%~5% 的吸烟者患有心血管疾病及其他与烟气有关的疾病, 如肺癌、胰腺癌、膀胱癌等<sup>[2]</sup>。烟气由 5 000 多种不同的化合物组成, 其中有 60 多种具有致癌性。这些致癌物主要包括有烟草特有亚硝胺(tobacco-specific N-nitrosamines, TSNAs)、多环芳烃、芳香胺类、醛类、酚类、挥发性烃类、硝基化合物以及其他的有机化合物和无机化合物, 其中 TSNAs 属于强致癌物<sup>[3-4]</sup>。TSNAs 是一类仅存在于烟草及烟草制品中的 N-亚硝基类化合物, 是由烟草生物碱亚硝化作用而产生的<sup>[5-6]</sup>。目前已经知道的

有 N-亚硝基降烟碱(NNN)、4-(N-甲基亚硝胺)-1-(3-吡啶基)-1-丁酮(NNK)、N-亚硝基新烟草碱(NAT)、N-亚硝基假木贼碱(NAB)、4-(N-甲基-N-亚硝基氨基)-1-(3-吡啶基)-丁醛(NNA)以及 NNK 和 NNA 的衍生物 4-(N-甲基-N-亚硝基氨基)-1-(3-吡啶基)-丁醇(NNAL)和 4-(N-甲基-N-亚硝基氨基)-4-(3-吡啶基)-丁醇(iso-NNAL)等。但其中研究最为深入的有以下 4 种: NNN、NNK、NAT 和 NAB<sup>[7-10]</sup>。TSNAs 具有强致癌性, 现已被确认与肺部、口腔、食道、胃、胰脏、肝脏等部位的肿瘤形成有关。因此, 对于 TSNAs 的形成、致病机制和检测技术以及降低 TSNAs 的方法等方面的研究一直是国内外烟草行业研究的重点和热点。

收稿日期: 2012-07-20

基金项目: 河南省科技厅基础研究项目(102300410109)

作者简介: 陈利平(1972-), 女, 河南永城人, 讲师, 本科, 主要从事食品安全评价研究。E-mail: opsar@163.com

\* 通讯作者: 韩亚伟(1973-), 男, 河南商丘人, 副教授, 博士, 主要从事分子生物学研究。E-mail: ywhan@zzuli.edu.cn

## 1 TSNA<sub>s</sub> 的形成、危害及致病机制

### 1.1 TSNA<sub>s</sub> 的形成

迄今为止,TSNA<sub>s</sub> 的形成过程尚未完全明确。一般认为,TSNA<sub>s</sub> 在新鲜烟叶中很少产生或几乎不产生,主要是在烟草采收后期的晾晒、调制、陈化、燃烧等过程中通过烟碱和其他烟草生物碱的亚硝化作用形成和积累起来的<sup>[11]</sup>。Wiernik 等<sup>[12]</sup>在前人的研究结果上总结并提出,烟草中与微生物活动有关的 TSNA<sub>s</sub> 的形成与烟草中的亚硝酸盐有直接关系。但 Nestor<sup>[13]</sup>的研究显示,烟叶烤制过程中 TSNA<sub>s</sub> 的形成与微生物活动关系甚微,而与明火调制过程中所产生的燃烧副产物(NO<sub>x</sub>)密切相关。

TSNA<sub>s</sub> 的形成与烟叶中的烟碱有着密不可分的关系。首先,烟叶中的烟碱可与硝酸盐反应形成环状亚硝酸盐中间体,这些环状亚硝酸盐中间体可进一步水解成自由氨,再经过亚硝化作用形成 TSNA<sub>s</sub>,或在中性条件下直接亚硝化生成 TSNA<sub>s</sub>。其次,烟碱的代谢与降解可产生次生代谢产物,如去甲基烟碱、可替宁和假氧化烟碱。其中,去甲基烟碱和假氧化烟碱分别是生成 N-亚硝基降烟碱(NNN)和 4-(N-甲基亚硝胺)-1-(3-吡啶基)-1-丁酮(NNK)的中间产物。在亚硝酸盐存在情况下,去甲基烟碱可生成 NNN,叔胺烟碱可生成 NNK,新烟碱可生成 N-亚硝基新烟草碱(NAT),假木贼碱可生成 N-亚硝基假木贼碱(NAB)<sup>[14]</sup>。

综上所述,目前烟草中 TSNA<sub>s</sub> 的形成主要有 2 种途径,一是烟叶中的硝酸盐在微生物的作用下被亚硝化,生成的亚硝酸盐再与烟碱反应形成 TSNA<sub>s</sub>;二是烟草中的烟碱与硝酸盐发生反应,形成的环状亚硝酸盐中间体进一步水解成自由氨,再经过亚硝化作用,最终形成 TSNA<sub>s</sub>。

### 1.2 TSNA<sub>s</sub> 的危害

大量研究表明,烟草烟气是引起世界范围内人类死亡和疾病高发的主要原因之一。尽管烟气成分复杂,并且与某一特定癌症之间的因果关系还不是很明确,但毋庸置疑的是,TSNA<sub>s</sub> 在致癌方面起着重要的作用。早在 1962 年,国际上就首次报道了关于烟草 TSNA<sub>s</sub> 的潜在致癌作用,其能导致人类肺部、口腔、食道、胃、胰脏、肝脏等部位形成肿瘤。Boyland 等<sup>[15]</sup>研究发现,NAB 能引起 Fischer 鼠的食道癌,NNN 可导致 Fischer 鼠的腺瘤和肺癌。Pulling 等<sup>[16]</sup>以及 Shin 等<sup>[17]</sup>研究发现,NNK 可引起动物患肝癌及胃癌。El-Bayouny 等<sup>[18]</sup>研究发现,在新陈代谢过程中,NNK 在细胞色素 P<sub>450</sub> 的催化作

用下,可使动物活体和人体组织中的 DNA 发生甲基化,而这种 DNA 的甲基化正是致癌的重要途径。研究表明,环境中所暴露的烟气中的 NNK 与人体中的 8-羟基-2'-脱氧鸟苷有关,DNA 中的脱氧鸟苷受到羟自由基( $\cdot\text{OH}$ )攻击后,其 C-8 位生成 8-羟基-脱氧鸟苷(8-OHdG),8-OHdG 的含量与环境中烟气的暴露剂量呈现出剂量依赖性的关系<sup>[19]</sup>。8-OHdG 所导致的不良反应主要是 DNA 的氧化损伤,而 DNA 氧化损伤与衰老以及癌症、心血管疾病、慢性炎症等疾病密切相关<sup>[20]</sup>。

### 1.3 TSNA<sub>s</sub> 的致病机制

1.3.1 导致 DNA 的损伤 在动物的肺部、鼻黏膜和肝脏等部位,主要发生 DNA 的烷基化反应,造成 DNA 烷基化损伤。即 NNK 和 NNAL 通过  $\alpha$ -羟基化将 DNA 中碱基,特别是嘌呤碱基烷基化。除 N7 和 N3 烷基化外,还能在 O-6 及磷酸骨架上出现烷基化。所形成的加合物主要有 7-甲基鸟嘌呤(7-mG)、3-甲基腺嘌呤(3-mA)和 O<sup>6</sup>-甲基鸟嘌呤(O<sup>6</sup>-mG)3 种形式。此外,吡啶氧化丁基加合物不但具有致癌性,而且能够阻止甲基化的修复<sup>[21-22]</sup>。

在 NNK 诱导的其他 DNA 损伤中,最常见的就是 DNA 的单链断裂(single-strand break,SSB)。SSB 是细胞 DNA 损伤的主要类型之一,是 DNA 经氧化应激或者碱基切除修复机制产生的一种常见 DNA 损伤。由 NNK 诱导的 SSB 可能是由 7-mG 和 3-mA 等加合物自发去嘌呤或酶催化去嘌呤产生的,并最终导致 DNA 的甲基化<sup>[23]</sup>。有研究显示,当产生超氧化物时,人类肺细胞中 NNK 诱发的 SSB 增加<sup>[24]</sup>。这些结果均表明,氧化性损伤对 NNK 诱导肺部致癌有一定作用。

1.3.2 可与血红蛋白结合 Skipper 等<sup>[25]</sup>研究发现,NNN 和 NNAL 可与人体中的血红蛋白结合,形成血红蛋白加合物。与 DNA 加合物相比,血红蛋白加合物缺乏修复能力。另外,由于血红蛋白的数量容易获得,而且在人体中留存的时间较长(120 d),这就有可能使加合物得到累积,从而使血红蛋白加合物更容易测定。

1.3.3 可诱导基因突变 Hecht<sup>[21]</sup>研究发现,在 NNK 诱导的动物肺癌中均出现了基因突变。在 NNK 诱导的小鼠肺癌中发现有 *Kras* 基因的 12 位密码子的转变,其中 GGT→TGT 占 12 位密码子突变的 60%,GGT→GAT 占 20%,GGT→GTT 占 15%<sup>[23]</sup>。在人类原发性肺腺癌中,*Kras* 基因 12 位密码子的突变约为 24%~50%,而这种突变在其他类型的肺癌中很少发现。与不吸烟者相比,这些突

变在吸烟者和被动吸烟者中更为常见,表明这些突变可能是由烟气中的某种成分所引起<sup>[26-27]</sup>。

## 2 TSNA<sub>s</sub> 的检测方法

TSNA<sub>s</sub> 的检测方法是随分析仪器的进步而发展起来的,早在 1964 年,Neurath 等<sup>[28]</sup>利用薄层色谱法对卷烟烟气中 N-亚硝胺进行分析,但由于受仪器条件等因素的限制,使得 TSNA<sub>s</sub> 的分析检测结果一直很不理想。直到 1975 年热能分析仪(TEA)出现后,才较好地解决了这一问题,之后 TSNA<sub>s</sub> 的各种检测方法不断得到发展。目前,检测烟草及卷烟烟气中 TSNA<sub>s</sub> 的较常用的分析方法主要有气相色谱-热能分析法(GC-TEA)、气相色谱-氮磷检测法(GC-NPD)、气相色谱-质谱法(GC-MS)、液相色谱-质谱法-质谱法(HPLC-MS-MS)和超高效液相色谱-电喷雾串联质谱法(UPLC-MS-MS)等。由于 TSNA<sub>s</sub> 均为不易挥发的亚硝胺类化合物,在进行气相色谱分析时,所采用的汽化温度和柱温均较高,易造成分析结果的偏差;同时气相色谱对样品的前处理要求高,纯化步骤多,分析周期长,为克服这些缺点,李勇等<sup>[29]</sup>建立了卷烟丝中 TSNA<sub>s</sub> 类化合物的 SPE-LC/MS/MS 分析方法,可一次性对卷烟烟丝中 4 种 TSNA<sub>s</sub> 类化合物(NNN、NAT、NAB、NNK)进行定量分析。该方法样品处理步骤简单、检出限低、重现性较好、适应范围广,可应用于国内外各种类型卷烟的分析。朱文静等<sup>[30]</sup>建立了卷烟主流烟气中 TSNA<sub>s</sub> 的超高效液相色谱-电喷雾串联质谱(UPLC-MS/MS)测定方法。该法是在标准吸烟条件下,利用剑桥滤片收集卷烟烟气中的粒相物,醋酸铵缓冲液提取粒相物,再经固相萃取净化后,以电喷雾正离子多反应监测方式,实现了烟气中 NNN、NNK、NAT 和 NAB 的基线分离和快速测定,该方法灵敏、快速、准确,适用于卷烟烟气中 TSNA<sub>s</sub> 的测定。万文亚等<sup>[31]</sup>采用鱼尾罩和剑桥滤片捕集卷烟侧流烟气中的粒相物,建立了 LC-MS-MS 法测定卷烟侧流烟气中 4 种 TSNA<sub>s</sub> 类化合物(NNN、NAT、NAB、NNK),该法检出限低,回收率高,相对标准偏差小,适合作为卷烟侧流烟气中 4 种 TSNA<sub>s</sub> 类化合物的定量分析方法。

## 3 TSNA<sub>s</sub> 含量的降低技术及其危害的预防

目前普遍认为,新鲜烟叶中几乎不含或很少含有亚硝酸盐和 TSNA<sub>s</sub>,但烟草在收获后的处理过程

中,如晾晒干燥和发酵后开始逐渐产生 TSNA<sub>s</sub>。因此,采取适当的技术对收获后的烟草进行处理,是降低烟草中亚硝酸盐或氮氧化物含量的有效措施。

### 3.1 TSNA<sub>s</sub> 含量的降低技术

3.1.1 物理技术 烟草中的 TSNA<sub>s</sub> 主要来源于调制后的烟叶。从烟叶变黄结束到完全褐变这一时期,TSNA<sub>s</sub> 量的积累较多。而在烟叶正处于变黄且尚未变褐期间,细胞还保持完整性,此时采用微波辐射可有效杀除在烟叶调制过程中产生 TSNA<sub>s</sub> 的有害细菌。魏玉玲等<sup>[32]</sup>研究发现,经微波辐射处理的烟叶中 TSNA<sub>s</sub> 含量明显降低,其中 NNN 含量甚至低于 0.05  $\mu\text{g/g}$ ,NNK 含量甚至低于 0.000 5  $\mu\text{g/g}$ 。吴军<sup>[33]</sup>采用程序升温脱附及程序升温表面反应技术研究了沸石分子筛对 NO<sub>2</sub>、亚硝胺和香烟主流烟气的吸附作用。结果发现,沸石对 NO<sub>2</sub>、吡咯烷基亚硝胺(NPYR)具有独特的吸附和催化能力,其吸附能力受孔径和比表面等因素的影响。姚二民等<sup>[34]</sup>研究发现,与普通滤嘴卷烟相比,混合型茶叶滤嘴卷烟烟气中的 NNN、NNK、NAT、NAB 分别降低了 23.04%、17.38%、11.62%、17.41%,这说明茶叶滤嘴可有效降低烟气中的 TSNA<sub>s</sub> 含量。

3.1.2 化学技术 李诗平等<sup>[35]</sup>在亚硝酸钠与降烟碱物质的量比为 1:1 的溶液(pH=5.5)中,分别添加 6 种不同的亚硝酸盐清除剂,考察各添加剂对溶液中亚硝化产物 NNN 形成的抑制效率。结果发现,抗坏血酸、咖啡酸和阿魏酸能有效阻断 NNN 的形成,当添加剂与亚硝酸盐物质的量比为 3:1 时,抑制率超过 90%;二氢咖啡酸、儿茶素、绿原酸的抑制率均超过 50%。Jiao 等<sup>[36]</sup>研究表明,有机异硫氰酸盐能抑制 NNK 对鼠肺部的致癌作用,剂量低至 0.04~0.10  $\mu\text{mol}$  时就可抑制 10  $\mu\text{mol}$  单剂量 NNK 诱发的肺肿瘤。李晓等<sup>[37]</sup>运用我国传统的中医中药理论,将辛夷、淫羊藿、芍药、川芎等制得的萃取液添加到卷烟产品中,并对其卷烟烟气中成分进行了分析,结果发现,中草药萃取液对卷烟烟气中的苯系物、多环芳烃和 TSNA<sub>s</sub> 含量均有较明显的降低作用。此外,赵华玲<sup>[38]</sup>研究发现,喷施化学药物,如维生素 C 和维生素 E,也可有效降低 TSNA<sub>s</sub> 的含量。

3.1.3 生物技术 戴亚<sup>[39]</sup>利用血红蛋白可有效截留烟气中 TSNA<sub>s</sub> 的原理,从动物鲜血中提取了血红蛋白,加入卷烟滤嘴中,并对该种卷烟烟气中的 TSNA<sub>s</sub> 含量进行了研究。结果表明,以血红蛋白为滤嘴添加剂的卷烟烟气中 N-亚硝胺的含量降低约 50%( $P<0.05$ )。祝明亮等<sup>[40]</sup>研究发现,接种内生

细菌能使白肋烟中的 TSNA<sub>s</sub> 含量降低 27.56%~99.88%。汪安云<sup>[41]</sup>于 2003—2004 年烟叶采收时用 WB5 细菌菌株对白肋烟 TN86 进行烟叶喷洒处理,并对采收后的烟叶在晾晒过程中进行 TSNA<sub>s</sub> 含量的检测,结果发现,在晾晒末期,喷洒处理烟叶中的 TSNA<sub>s</sub> 含量明显降低。此外,美国还研制出了可以有效去除卷烟烟气中的氮氧化物、亚硝基化合物、自由基、醛类等有害物质的生物滤嘴,可截留烟气中 90% 以上的有害成分<sup>[10]</sup>。

### 3.2 TSNA<sub>s</sub> 危害的预防

众所周知,TSNA<sub>s</sub> 的致癌作用主要是通过生成氮化合物间接体现的,预防的主要手段是减少 TSNA<sub>s</sub> 及其前体硝酸盐、亚硝酸盐的摄入以及阻断 TSNA<sub>s</sub> 的合成。秦亚光等<sup>[42]</sup>、韩锦峰等<sup>[43]</sup>分别研究了烤烟的叶面施钼、打顶时间对烟叶中 TSNA<sub>s</sub> 的前体物如烟碱、降烟碱、硝酸盐、亚硝酸盐等的影响,结果发现,适当施钼和适时打顶均可以使 TSNA<sub>s</sub> 的含量明显降低。

一般认为,烟草及烟草制品中含有大量的 TSNA<sub>s</sub>,因此,为了尽可能减少 TSNA<sub>s</sub> 对人体所造成的危害,应尽量减少对烟草制品的吸食。此外,烟草烟气中也含有一定量的 TSNA<sub>s</sub>,因此,也应尽量避免环境中所暴露的烟气通过呼吸进入人体内。

研究发现,维生素 C、维生素 E 以及黄绿色蔬菜、水果等均能阻断亚硝胺类在动物体内的合成,减少和预防动物肺肿瘤的发生<sup>[21]</sup>。此外,酚类和天然果汁中的某些成分可直接与亚硝酸盐发生氧化还原反应,从而阻断其与胺类物质发生亚硝基化反应,生成亚硝胺。因此,为了预防 TSNA<sub>s</sub> 对人体的危害,在日常生活中,吸烟者和被动吸烟者应多食用一些富含维生素 A、维生素 C、维生素 E 的十字花科蔬菜,如花菜、莴苣、油菜、甘蓝、芥兰、菠菜等,多吃水果,多饮用绿茶和黑茶,或适当服用一些维生素 C 片剂,以预防亚硝胺的致癌作用<sup>[24]</sup>。

## 4 TSNA<sub>s</sub> 研究所面临的问题与挑战

### 4.1 TSNA<sub>s</sub> 的致病机制

TSNA<sub>s</sub> 的致癌作用存在多种机制,而烟气含量众多,成分复杂,具体通过哪种机制导致机体产生癌症,其间的关联还不是很明确。虽然亚硝胺化合物致癌机制在许多动物试验中已得到证实,但在人体中是否有同样的效应还有待进一步研究。

### 4.2 TSNA<sub>s</sub> 的分析技术

现有分析检测技术的预处理步骤冗长、操作速度慢、重复性差、灵敏度不高且所用仪器设备昂贵,

尚缺乏一种快速、准确、灵敏度高、重现性好、成本低的 TSNA<sub>s</sub> 检测方法。

### 4.3 行业标准

烟草中 TSNA<sub>s</sub> 含量减少到何种程度才可以称为“低危害”或“无危害”,目前还没有形成明确统一的国家标准或行业标准,现急需明确一个合理的尺度进行判断衡量,以减少降害的盲目性。

### 参考文献:

- [1] Jha P. Avoidable global cancer deaths and total deaths from smoking[J]. *Nat Rev Cancer*, 2009, 9: 655-664.
- [2] Stämpfli M R, Anderson G P. How cigarette smoke skews immune responses to promote infection, lung disease and cancer[J]. *Nat Rev Immunol*, 2009, 9: 377-384.
- [3] Hecht S S. Tobacco carcinogens, their biomarkers and tobacco-induced cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2003, 3: 733-744.
- [4] Shah K A, Karnes H T. A review of the analysis of tobacco-specific nitrosamines in biological matrices[J]. *Crit Rev Toxicol*, 2010, 40: 305-327.
- [5] Holzle D, Schlobe D, Anthony R, *et al.* Mass spectrometric analysis of 4-hydroxy-1-(3-pyridyl)-1-butanone-releasing DNA adducts in human lung[J]. *Toxicology*, 2007, 232(3): 277.
- [6] Hayes J R, Meckley D R, Stavanja M S, *et al.* Effect of a flue-curing process that reduces tobacco specific nitrosamines on the tumor promotion in mice by cigarette smoke condensate[J]. *Food and Chem Toxi*, 2007, 45(3): 419.
- [7] 汪安云, 雷丽萍, 夏振远, 等. 白肋烟中烟草特有亚硝胺的研究进展[J]. *安徽农业科学*, 2010, 38(30): 16847-16849.
- [8] 赵华玲. 烟草中特有的亚硝胺化合物[J]. *烟草科技*, 1998(3): 24-26.
- [9] Peele D M. Formation of tobacco specific nitrosamines in flue-cured tobacco[J]. *CORESTA*, 1999, 207: 278.
- [10] 曾凡海, 李卫, 周冀衡, 等. 烟草特有亚硝胺(TSNA<sub>s</sub>)的研究进展[J]. *中国农学通报*, 2010, 26(10): 82-86.
- [11] 朱风鹏, 赵明月, 胡清源, 等. TSNA<sub>s</sub> 的形成、影响因素、分析及清除方法综述[J]. *烟草科技*, 2004(7): 27-30.
- [12] Wiemik A, Christakopoulos A, Johansson L, *et al.* Effect of air curing on the chemical composition of tobacco[J]. *Rec Adv Tob Sci*, 1995, 21: 39-80.
- [13] Nestor T B. Role of oxides of nitrogen in tobacco-specific nitrosamine formation in flue-cured tobacco[J]. *Beitr Tabakforsch Int*, 2003(20): 467-475.

- [14] Burton H R, Childs G H, Anderson R A, *et al.* Changes in chemical composition of tobacco during senescence and curing tobacco-specific nitrosamines[J]. Agric Food Chem, 1989, 37: 426-430.
- [15] Boyland E, Roe F J C, Gorrod J W, *et al.* Induction of pulmonary tumors in mice by nitrosamine nicotine, a possible constituent of tobacco smoke[J]. Nature, 1964, 202: 1126.
- [16] Pulling L C, Klinge D M, Belinsky S A. p16INK4a and beta-catenin alterations in rat liver tumors induced by NNK[J]. Carcinogenesis, 2001, 22: 461-466.
- [17] Shin V Y, Jin H C, Ng E K. *et al.* Nicotine and 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone induce cyclooxygenase-2 activity in human gastric cancer cells: Involvement of nicotinic acetylcholine receptor (nAChR) and beta-adrenergic receptor signaling pathways[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2008, 233: 254-261.
- [18] EI-Bayouny K, Latropoulos M, Amin S, *et al.* Increased Expression of cyclooxygenase-2 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.
- [19] Chiang Hung-Che, Huang Yung-Kai, Chen Pei-Fen, *et al.* 4-(Methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone is correlated with 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in humans after exposure to environmental tobacco smoke[J]. Science of the Total Environment, 2012, 414: 134-139.
- [20] 赵燕, 郝卫东. 8-羟基-2'-脱氧鸟苷的生物学意义及其尿中含量的测定方法[J]. 癌变·畸变·突变, 2007, 19(5): 418-420.
- [21] Hecht S S. Biochemistry, biology, and carcinogenicity of tobacco-specific Nitrosamines[J]. Chem Res Toxicol, 1998, 11: 559-603.
- [22] Hecht S S. DNA adduct formation from tobacco-specific Nitrosamines[J]. Mutat Res, 1999, 24: 127-142.
- [23] 张同梅, 赖百堂. 烟草特有亚硝胺 NNK 与肺癌的关系[J]. 中华流行病学杂志, 2005, 26(2): 140-142.
- [24] 毛友安, 魏新亮, 刘巍. 烟草特有亚硝胺的致癌作用及其抑制[J]. 环境与健康杂志, 2006, 23(5): 468-471.
- [25] Skipper P L, Tannenbaum S R. Protein adducts in the molecular dosimetry of chemical carcinogens[J]. Carcinogenesis, 1990, 11: 507-518.
- [26] Westra W H, Slebos R J C, Offerhaus C J A, *et al.* K-ras oncogene activation in lung adenocarcinomas from former smokers[J]. Cancer, 1993, 72: 432-438.
- [27] Mills X E, Fishman C L, Rom W N, *et al.* Increased prevalence of K-ras oncogene mutations in lung adenocarcinoma[J]. Cancer Res, 1995, 55: 1444-1447.
- [28] Neurath G, Pirmann B, Wichem H. Zur frage der N-nitrosoverbindungen in tabakrauch[J]. Beitr Tabakforsch Int, 1964(2): 311-319.
- [29] 李勇, 吴名剑, 练文柳, 等. SPE-LC/MS/MS 快速测定卷烟丝中的烟草特有亚硝胺化合物[J]. 分析实验室, 2007, 26(6): 65-68.
- [30] 朱文静, 杨俊, 刘百战, 等. UPLC-MS/MS 对卷烟烟气中 4 种烟草特有亚硝胺的快速测定[J]. 分析测试学报, 2010, 29(1): 26-30.
- [31] 万文亚, 周宛红, 张怡春, 等. LC-MS-MS 法测定卷烟测流烟气中的亚硝胺[J]. 分析实验室, 2012, 31(4): 69-72.
- [32] 魏玉玲. 降低烟草特有亚硝胺含量的微波处理方法综述[J]. 烟草科技, 2002(3): 18-19.
- [33] 吴军. 沸石对主流烟气中挥发性亚硝胺及 NO<sub>x</sub> 的吸附去除[J]. 化工时刊, 2006, 20(7): 36-41.
- [34] 姚二民, 张峻松, 梁永林. 茶叶对降低吸烟危害的应用研究[J]. 茶叶科学, 2009, 29(2): 127-130.
- [35] 李诗平, 舒俊生, 章存勇, 等. 亚硝酸盐清除剂阻断烟草特有亚硝胺形成的研究[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(35): 20472-2047.
- [36] Jiao D, Eklind K I, Choi C I, *et al.* Structure-activity relationships of isothiocyanates as mechanism-based inhibitors of 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone induced lung tumorigenesis in A/J mice[J]. Cancer Res, 1994, 54: 4327-4333.
- [37] 李晓, 姚光明, 杜荣杰, 等. 中草药萃取液在卷烟中的减害作用研究[J]. 河南农业科学, 2008(10): 51-54.
- [38] 赵华玲. 烟草中特有亚硝胺化合物[J]. 烟草科技, 1998(3): 24-26.
- [39] 戴亚. 血红蛋白的提取及降低卷烟烟气中 N-亚硝胺含量的初步实验[J]. 烟草科技, 2001(1): 19-21.
- [40] 祝明亮, 李天飞, 汪安云. 白肋烟内生细菌的分离鉴定及降低 N-亚硝胺含量研究[J]. 微生物学报, 2004, 44(4): 422-426.
- [41] 汪安云. 白肋烟调制期间细菌动态变化与 TSNA 的关系研究[J]. 中国农学通报, 2007, 23(11): 151-155.
- [42] 秦亚光, 王留兴, 樊青霞, 等. 施钼对烤烟硝酸盐和亚硝酸盐含量的影响[J]. 河南农业科学, 2008(7): 54-56.
- [43] 韩锦峰, 韩富根, 刘华山, 等. 打顶时间对烤烟特有亚硝胺前体物的影响[J]. 河南农业科学, 2009(7): 58-60.