

卷烟主流烟气中碳中心自由基的自旋标记荧光表征

边照阳*, 唐纲岭, 杨 飞, 庞永强, 张洪非, 胡清源

(国家烟草质量监督检验中心, 河南 郑州 450001)

摘要: 以自旋标记荧光探针 4-(9-acridinecarbonyl) amino)-2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-oxyl (TEMPO-9-AC) 研究了卷烟主流烟气中的碳中心自由基。以吸烟机抽吸卷烟, 以弱荧光的 TEMPO-9-AC 作为捕集剂捕集卷烟主流烟气中的碳中心自由基, 生成稳定的强荧光的碳中心自由基捕集加合物, 以高效液相色谱-三重四极杆串联质谱联用仪 (HPLC-MS/MS) 对其结构进行了确认, 并建立了高效液相色谱-荧光检测 (HPLC-FLD) 的定量方法。结果表明, 方法的检出限为 0.318 nmol/cig, 相对标准偏差 (RSD) 为 3.5%~9.7%; 利用 TEMPO-9-AC 捕集体系鉴别出了 10 种碳中心自由基; 对 5 种代表性卷烟烟气中的碳中心自由基进行了定量计算, 获得了它们在主流烟气中碳中心自由基的含量数据, 并发现碳中心自由基总量与焦油释放量之间具有高度的相关性。本法检出限低, 重复性好, 适用于卷烟主流烟气中碳中心自由基的结构验证及释放量的检测分析。

关键词: 自旋标记荧光探针; 高效液相色谱-三重四极杆串联质谱; 高效液相色谱-荧光检测; 碳中心自由基; 卷烟主流烟气

中图分类号: O658

文献标识码: A

文章编号: 1000-8713(2012)06-0590-06

Determination of carbon-centred radicals in mainstream cigarette smoke using spin-labelled fluorophore

BIAN Zhaoyang*, TANG Gangling, YANG Fei, PANG Yongqiang,
ZHANG Hongfei, HU Qingyuan

(China National Tobacco Quality Supervision & Test Center, Zhengzhou 450001, China)

Abstract: A method of the determination of the carbon-centred radicals in mainstream cigarette smoke using a spin-labelled fluorophore, 4-(9-acridinecarbonyl) amino)-2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-oxyl (TEMPO-9-AC), as a fluorescent probe is presented. After being produced by smoking in International Organization for Standardization (ISO) mode, the carbon-centred radicals in mainstream cigarette smoke were trapped by TEMPO-9-AC, a carbon-centred radical probe with a low fluorescence intensity. Then the latter was transformed to a stable diamagnetic *o*-alkoxyamine, a high-fluorescence compound. Finally, high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS) was used to demonstrate the structures of the carbon-centred radicals, and high performance liquid chromatography with a fluorescence detector (HPLC-FLD) was used to determine the concentration of the carbon-centred radicals. The results showed that the 10 carbon-centred radicals were detected in the mainstream cigarette smoke, and the total carbon-centred radicals concentrations for 1R5F, 3R4F, CM6, and two Virginia type cigarettes, were 52.5 nmol/cig, 214.6 nmol/cig, 424.1 nmol/cig, 68.6 nmol/cig, and 334.2 nmol/cig, respectively; and there was positive relation between the concentrations of the total amount of carbon-centred radicals and the tar amounts in the mainstream cigarette smoke. The detection limit was 0.318 nmol/cig, and the relative standard deviations (RSDs) ranged from 3.5% to 9.7%. This method is suitable for the determination of the carbon-centred radicals in the mainstream cigarette smoke.

Key words: spin-labelled fluorophore probe; high performance liquid chromatography-tandem

* 通讯联系人: 边照阳, 硕士, 工程师, 主要从事烟草化学、烟草质量检验研究。Tel: (0371) 67672728, E-mail: zybian@126.com.

基金项目: 中国烟草总公司郑州烟草研究院院长基金项目 (No. 502009CA0340).

收稿日期: 2012-01-06

mass spectrometry (HPLC-MS/MS); high performance liquid chromatography-fluorescence detection (HPLC-FLD); carbon-centred radicals; mainstream cigarette smoke

自由基是卷烟产品中含有的一类有害物质,对人体的健康有着严重的不良影响,容易导致多种癌症、肺气肿、支气管炎等呼吸道疾病和心血管病等一些恶性疾病。研究^[1]表明:卷烟烟气中的自由基不仅通过烟草的燃烧过程产生,还会通过与烟气中的氮氧化物(NO、NO₂)或氧气(O₂)等反应生成次级碳中心自由基(carbon-centred radicals, R·)和氧中心自由基(oxygen-centred radicals, RO·)。

目前,卷烟烟气中自由基的检测方法主要是电子自旋共振(electron spin resonance, ESR)技术^[2-7],还有高效液相色谱法^[8,9],以及基于自旋捕获技术与高分辨质谱技术的烟气自由基的检测方法^[10-14],但还没有一种公认的检测烟气自由基的标准方法^[2]; ESR是测自由基最常用的仪器,但它测自由基时的精细度稍差,不能对自由基加合物进行结构确认,且定量单位为自旋数/支(spins/cig)^[4],不能准确给出自由基的具体释放量,高分辨质谱特别昂贵,普及率低。

自旋标记荧光探针与自由基反应较快,速率常数可达 $10^8 \sim 10^9 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{s})$,且与碳中心自由基反应生成稳定的烷氧胺,有利于进一步分离分析^[15,16]。本文以自旋标记荧光探针4-(9-acridin-ecarbonyl) amino)-2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-oxyl (TEMPO-9-AC)作为捕获剂捕获卷烟主流烟气中的碳中心自由基,以高效液相色谱-三重四极杆串联质谱联用仪(HPLC-MS/MS)对其结构进行确认,并以高效液相色谱(HPLC)分离、荧光检测器(FLD)定量,研究分析了卷烟主流烟气中的碳中心自由基。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Varian Cary Eclipse 荧光分光光度计(美国 Varian 公司),激发/发射狭缝宽度分别为 5 nm/5 nm; Agilent 1200 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司),配二极管阵列检测器和荧光检测器,并配 1100/1200 系列馏分收集器(Agilent: G1364-83205); API 4000 三重四极杆串联质谱仪(美国应用生物系统公司),配电喷雾离子源(ESI); Cerulean SM450 直线型吸烟机(英国 Cerulean 公司)。

自旋标记荧光探针 TEMPO-9-AC(纯度 98.0% 美国分子探针公司),偶氮二异丁腈(AIBN)

(纯度 99.0% 美国 Chem Service 公司),甲苯、甲醇(色谱纯,美国 J T Baker 公司)。

1.2 实验过程

1.2.1 TEMPO-9-AC 与 AIBN 的反应

参照文献^[10]的方法,取一厚壁特制试管作为反应管,首先用氮气赶出试管里的空气,然后在试管中依次注入 4 mL TEMPO-9-AC 甲苯溶液($5 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$),20 mg AIBN,将试管置于 95 °C 油浴中加热反应 1 h,取出试管,静置至室温后过 0.45 μm 滤膜,待测。

1.2.2 TEMPO-9-AC 捕获卷烟烟气碳中心自由基的反应

根据国际标准化组织标准 ISO 8243 选取样品烟支,按照 ISO 3402 规定,抽吸前将卷烟放在温度 22 °C、湿度 60% 条件下平衡 48 h。

根据国家推荐标准 GB/T 19609-2004 测定卷烟主流烟气的焦油释放量。

参照文献^[10]的卷烟主流烟气气相自由基的捕获装置,在捕获瓶中加入 5 mL TEMPO-9-AC 甲醇溶液($5 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$),将其连接到吸烟机上;采用 ISO 标准抽吸模式(ISO 3308)抽吸卷烟,每口抽吸 35 mL,每口抽吸期 2 s,抽吸频率 1 min;捕获过程完成后,取下捕获瓶,定容至 5 mL 后过 0.45 μm 滤膜,待分析。

1.2.3 HPLC-FLD 条件

Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C18 色谱柱(150 mm × 2.1 mm, 3.5 μm);流动相 A: 甲醇;流动相 B: 乙酸铵水溶液(pH 5.6);流速: 0.2 mL/min;梯度洗脱条件: 0 ~ 5 min, 40% A ~ 60% A; 5 ~ 10 min, 60% A ~ 70% A; 10 ~ 20 min, 70% A; 20 ~ 25 min, 70% A ~ 80% A; 25 ~ 27 min, 80% A ~ 40% A; 27 ~ 40 min, 40% A。柱温: 30 °C;进样体积: 10 μL。激发波长: 358 nm;发射波长: 435 nm。

1.2.4 HPLC-MS/MS 条件

HPLC 条件同 1.2.3 节。

质谱条件: 电喷雾离子源,喷雾电压(1S): 5 500 V;雾化气压力: 0.414 MPa;离子源温度: 500 °C;正离子扫描方式,母离子监测模式监测: 子离子 m/z 291.2,母离子监测范围 m/z 300 ~ 550;碰撞能量: 25 eV;去簇电压: 40 V。

2 结果与讨论

2.1 自旋标记荧光探针捕集简单碳中心自由基反应模型的建立

2.1.1 反应体系的荧光特征

TEMPO-9-AC 由于本身具有强烈的分子内荧光猝灭作用, 荧光量子产率较低, 但捕捉到 AIBN 在冲氮、油浴加热反应产生的异丁腈碳中心自由基 ($\cdot\text{CH}(\text{CH}_3)_2\text{CN}$) 后, 会生成稳定的化合物 $\text{CN}(\text{CH}_3)_2\text{HC-TEMPO-9-AC}$ 。由于消除了分子内荧光猝灭作用, 导致了荧光强度的显著提高(如图 1 所示)。由图 1 得到了反应体系的最大激发及最大发射波长分别为 358 nm 和 435 nm, 将其作为后续 HPLC 实验的检测波长。将反应溶液注入到 HPLC 仪中, 以荧光检测器检测, 得到相应的色谱图如图 2 所示。TEMPO-9-AC 本身荧光量子产率较低, 但 $\cdot\text{CH}(\text{CH}_3)_2\text{CN}$ 自由基的捕集产物的荧光较强, 在 HPLC 谱图的 24.769 min 处得到了响应值较强的色谱峰, 且与原来的荧光探针分离良好。

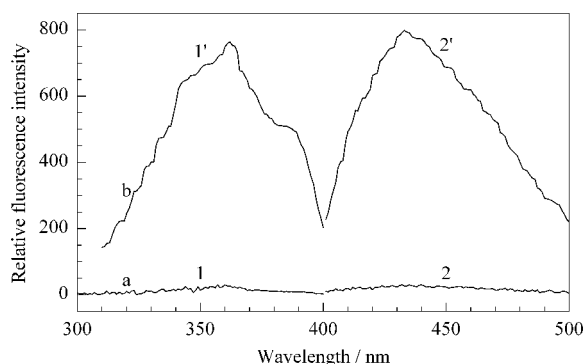


图 1 (a) TEMPO-9-AC (2×10^{-5} mol/L) 及 (b) TEMPO-9-AC 与 AIBN 反应产物的荧光(1 1') 激发和(2 2') 发射光谱
Fig. 1 Fluorescence excitation (1 1') and (2 2') emission spectra of (a) TEMPO-9-AC (2×10^{-5} mol/L) and (b) TEMPO-9-AC trapped $\cdot\text{CH}(\text{CH}_3)_2\text{CN}$ from TEMPO-9-AC and AIBN reaction

2.1.2 TEMPO-9-AC 捕集产物的结构解析

实验首先以针泵进样对 TEMPO-9-AC 的子离子在 HPLC-MS/MS 上进行了筛选, 得到的质谱图中, 主峰为 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 峰 m/z 377.3, 主要碎片离子为 m/z 291.2、207.2、140.3, 然后以其为主要子离子, 进行电离条件的优化, 确定了母离子监测参数(见 1.2.4 节的质谱参数)。

将 TEMPO-9-AC 和 AIBN 反应体系注入到 HPLC-MS/MS 进行母离子扫描, 得到的色谱图及相应的质谱图如图 3 所示, $\text{CN}(\text{CH}_3)_2\text{HC-TEMPO-9-AC}$ 的分子式为 $\text{C}_{27}\text{H}_{33}\text{N}_4\text{O}_2$, 理论相对分子质量为

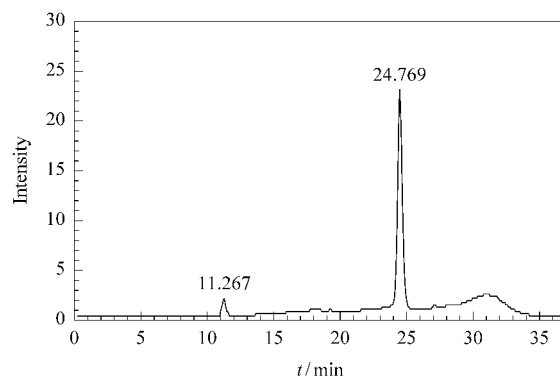


图 2 TEMPO-9-AC 捕集 $\cdot\text{CH}(\text{CH}_3)_2\text{CN}$ 反应体系的 HPLC-FLD 谱图

Fig. 2 HPLC chromatogram of reaction system of TEMPO-9-AC trapped $\cdot\text{CH}(\text{CH}_3)_2\text{CN}$ detected by FLD

Column: Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C18 column (150 mm \times 2.1 mm, 3.5 μm); mobile phases: methanol (A); ammonium acetate solution (pH 5.6) (B); elution gradient: 0–5 min, 40% A–60% A; 5–10 min, 60% A–70% A; 10–20 min, 70% A; 20–25 min, 70% A–80% A; 25–27 min, 80% A–40% A; 27–40 min, 40% A. Flow rate: 0.2 mL/min; injection volume: 10 μL ; column temperature: 30 $^\circ\text{C}$. The FLD was operated at 358 nm (excitation wavelength)/435 nm (emission wavelength).

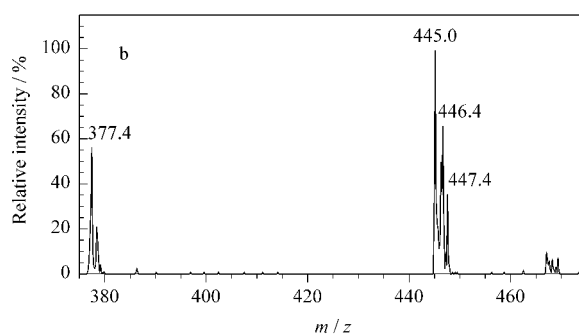
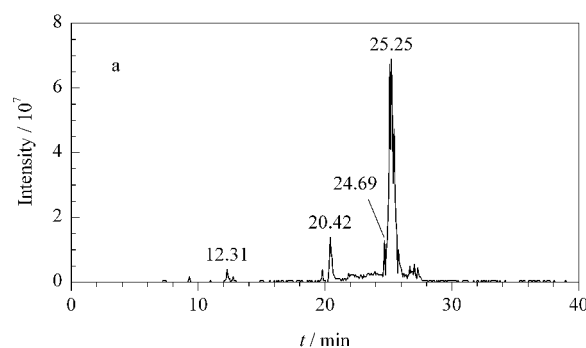


图 3 TEMPO-9-AC 和 AIBN 反应体系的 HPLC-MS/MS (a) 母离子扫描色谱图及 (b) 相应质谱图

Fig. 3 (a) HPLC-MS/MS chromatogram and (b) mass spectrum of TEMPO-9-AC trapped $\cdot\text{CH}(\text{CH}_3)_2\text{CN}$

HPLC conditions were the same as in Fig. 2. MS/MS conditions: ESI ion source, positive ion mode; ion spray voltage, 5000 V; nebulizing gas pressure, 0.414 MPa; turbo ion spray temperature, 550 $^\circ\text{C}$; declustering potential, 40 V; collision energy (CE), 25 eV; production ion, m/z 291.2; parent ion range, m/z 300–550.

445.5767, 而图3中发现的离子 m/z 446.4 为 $(\text{CH}_3)_2\text{HC-TEMPO-9-AC}$ 的 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 即证实了 $\cdot\text{CH}(\text{CH}_3)_2\text{CN}$ 的生成。

本实验也验证了文献^[13]以 HPLC-MS/MS 进行捕集产物的母离子监测来推断捕集到的碳中心自由基结构的原理, 即式(1), 其中 T 代表荧光探针, R 代表碳中心自由基, A 代表捕集产物。根据式(1), 可以通过扫描得到的母离子 $[\text{M}_{(\text{A})} + \text{H}]^+$ 来计算捕集到的碳中心自由基的相对分子质量 $\text{M}_{(\text{R})}$, 即捕集到的碳中心自由基的相对分子质量 $\text{M}_{(\text{R})}$ 等于捕集产物的相对分子质量 $\text{M}_{(\text{A})}$ 减去荧光探针的相对分子质量 $\text{M}_{(\text{T})}$ (式(2)), 然后根据得到的碳中心自由基相对分子质量来推断其可能的结构。

$$[\text{M}_{(\text{T}+\text{R})} + \text{H}]^+ = [\text{M}_{(\text{A})} + \text{H}]^+ \quad (1)$$

$$\text{M}_{(\text{R})} = \text{M}_{(\text{A})} - \text{M}_{(\text{T})} \quad (2)$$

在本实验中, $[\text{M}_{(\text{A})} + \text{H}]^+$ 为 m/z 446.4, 即 $\text{M}_{(\text{A})}$ 为 445.3921, $\text{M}_{(\text{T})}$ 为 376.4716, 通过式(2), 得到 $\text{M}_{(\text{R})}$ 为 68.9205, 接近 $\cdot\text{CH}(\text{CH}_3)_2\text{CN}$ 的理论相对分子质量 69.1051。鉴于实验所用的 API 4000 的质谱仪的分辨率/精确度不如文献所用的基质辅助激光解吸离子化-傅里叶变换离子回旋共振质谱 (MALDI-FT-ICR-MS)^[10-12] 和电场轨道阱回旋共振组合质谱仪 (LTQ Orbitrap)^[13, 14], 故可认为证实了 $\cdot\text{CH}(\text{CH}_3)_2\text{CN}$ 的生成。

2.2 自旋标记荧光探针捕集卷烟主流烟气中碳中心自由基的反应

2.2.1 主流烟气中气相自由基捕集条件的优化

本文采用的溶液捕集方法^[10]即将自旋标记荧光探针溶解在水或有机溶剂中, 形成自由基捕集剂溶液, 并将该溶液放入收集瓶中, 然后将捕集瓶连在吸烟机和卷烟夹持器之间, 卷烟夹持器中未放置剑桥滤片。点燃卷烟后开始抽吸, 烟气通过收集瓶中的自由基捕集剂溶液时, 烟气中的气相自由基被捕集。抽吸完后将反应后的溶液取样进行仪器分析。

对于剑桥滤片的使用, 文献^[11, 12, 17]显示, 虽然剑桥滤片常用来从总烟气 (whole smoke) 中分离出气相烟气 (gas smoke), 但却可能引起一些附加的副反应, 造成烟气成分的改变, 如可能引起烟气中 NO_2 含量的增加, 进而会引起烟气中自由基类型和含量的变化。故本文中未采用剑桥滤片过滤烟气。

对于抽烟支数, 由于自旋标记荧光探针的碳中心自由基捕集物有较好的稳定性, 可以通过延长时间及增加抽烟支数将产物积累, 以提高表征的灵敏度。实验结果表明, 随着抽烟支数的增加, HPLC-FLD 的色谱峰面积随着增加。综合考虑方法的灵

敏度, 选择抽吸 2 支烟来进行实验。

对烟气中的自由基捕集, 一般是将捕集剂溶解在有机溶剂 (苯、甲苯、甲醇、丙酮等) 或水^[10-14] 里, 本文所使用的 TEMPO-9-AC 的水溶性不好, 但易溶于有机溶剂。考虑到所用溶剂与后续的 HPLC 流动相的兼容性, 实验选取甲醇作为 TEMPO-9-AC 捕集体系的溶剂。

对于捕集剂浓度的选择, 为了尽可能多地捕集主流烟气中产生的气相自由基, 一般来讲, 自由基捕集剂的浓度越高、体积越多, 它捕获自由基的效率就越高。根据所用的捕集装置, 当捕集剂溶液体积大于 4 mL 时, 才能较好地浸没主流烟气导气管上的小孔, 故本实验选取 5 mL 作为自由基捕集剂溶液的体积; 确定好体积后, 根据一系列不同浓度的实验结果, 最终选择捕集剂的浓度为 5×10^{-4} mol/L。

2.2.2 HPLC-MS/MS 的结构验证

本文对卷烟主流烟气的荧光探针捕集产物进行母离子扫描, 在得到的色谱图中查找与 HPLC-FLD 出峰一致且含量较高的母离子 $[\text{M}_{(\text{A})} + \text{H}]^+$, 利用式(1), 计算检出的碳中心自由基的相对分子质量, 推断其结构, 并与文献对比确认。

将按照实验所得到的 TEMPO-9-AC 对卷烟主流烟气中的碳中心自由基的捕集溶液分别注入到 HPLC-FLD 和 HPLC-MS/MS, 得到的 HPLC-FLD 色谱图见图 4, 其中图 4a 为捕集溶液中未加入 TEMPO-9-AC 的空白色谱图, 图 4b 为捕集溶液中加入

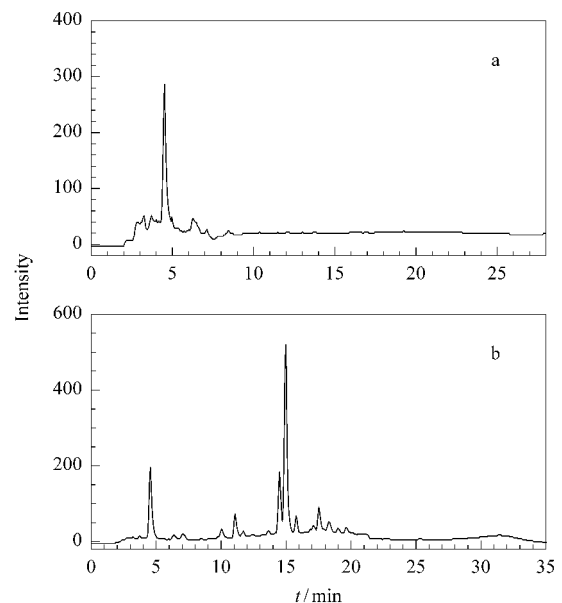


图4 TEMPO-9-AC 捕集体系的 HPLC-FLD 色谱图
Fig. 4 HPLC-FLD chromatograms of reaction system of TEMPO-9-AC with smoke

a. absence of TEMPO-9-AC in reaction system; b. presence of TEMPO-9-AC in reaction system.

TEMPO-9-AC 的实际色谱图。可以看出,空白溶液的烟气捕集物也会存在一定的荧光物质,但加入 TEMPO-9-AC 后会有更多的荧光物质存在,这些成分应该是 TEMPO-9-AC 捕集烟气中碳中心自由基的产物;在 HPLC-FLD 色谱图上各色谱峰相应保留时间得到的 HPLC-MS/MS 母离子监测 $[M_{(A)} + H]^+$ 结果见表 1。

根据式(1),通过扫描得到的母离子 $[M_{(A)} + H]^+$ 来计算捕集到的碳中心自由基的相对分子质量,进而推断其可能的结构,并与文献^[11-14]对比,确认利用 TEMPO-9-AC 捕集体系鉴别出了 10 种碳中心自由基(见表 1)。检出的自由基主要为酰基类自由基和烷基胺碳酰基类自由基两类物质,具体结构式可参见文献^[11-14]。

表 1 从卷烟主流烟气中鉴定出的碳中心自由基
Table 1 Kinds of carbon-centred radicals demonstrated in mainstream cigarette smoke

No.	Retention time in HPLC-FLD/min	$[M_{(A)} + H]^+$ obtained by HPLC-MS/MS (<i>m/z</i>)	Relative molecular mass calculated of the carbon-centred radical	Name of carbon-centred radical demonstrated	Relative molecular mass found carbon-centred radical
1	11.635	421.3	43.8126	aminocarbonyl	44.022
2	13.565	435.4	57.9126	(methylamino) carbonyl	58.0389
3	14.427	449.2	71.7126	ethylaminocarbonyl	72.054
4	14.891	406.2	28.7126	formyl	29.007
5	15.693	420.4	42.9126	acetyl	43.023
6	17.039	463.4	85.9126	(propylamino) carbonyl	86.07
7	17.436	475.2	97.7126	[(1E)-but-1-en-1-ylamino]carbonyl	98.07
8	18.213	434.3	56.8126	propionyl	57.039
9	18.948	477.2	99.7126	(butylamino) carbonyl	100.086
10	19.565	491.6	114.1126	(pentylamino) carbonyl	114.102

2.2.3 碳中心自由基的定量

2.2.3.1 标准曲线及检出限

由于碳中心自由基的种类较多,每个碳中心自由基的自旋捕集剂的捕集物的纯物质不易得到,故文献多以与捕集产物结构相似的其他物质作为标准参考物质进行定量计算。文献^[13,14]采用烟气中的烟碱作为内标,采用与捕集产物结构类似的 4-(1-pyrrolindino)-benzaldehyde 作为外部校准,获得了相关的半定量测定数据,测得肯塔基卷烟 2R4F 在 ISO 抽吸条件下碳中心自由基的产出量大约为 265 nmol/cig;文献^[12]采用自己合成的 NDA-3AP-CH₃ 作为外部校准,获得了相关的半定量测定数据,碳中心自由基的产出总量大约为 168~245 nmol/cig。

本法以分离提纯后的荧光探针自由基捕集物 CN(CH₃)₂HC-TEMPO-9-AC 作为标准参考物质配制标准溶液,做 HPLC-FLD 标准曲线,得到了其回归方程为 $Y = 18.243X - 1.0828$ (Y 为荧光探针自由基捕集物的峰面积, X 为荧光探针自由基捕集物, $\mu\text{mol/L}$) 线性相关系数 (R^2) 达到 0.9997;以 3 倍信噪比 (S/N) 确定检出限 (LOD) 为 0.038 $\mu\text{mol/L}$,以 10 倍 S/N 确定定量限 (LOQ) 为 0.127 $\mu\text{mol/L}$,进行卷烟支数换算后的 LOD 和 LOQ 分别为 0.092 nmol/cig 和 0.318 nmol/cig。

2.2.3.2 卷烟中碳中心自由基含量的测定

考虑不同焦油量及样品的代表性,实验选取

1R5F、3R4F 和 CM6 3 种参比卷烟(其焦油水平分别为 1.6、7.6 和 14.5 mg/cig)及国内的两种烤烟型卷烟(其焦油水平分别为 4.5 和 9.7 mg/cig)作实验样品。分别对 5 种卷烟进行抽吸,并以 TEMPO-9-AC 为捕集剂进行碳中心自由基的捕集,将得到的捕集溶液分别注入到 HPLC-FLD 进行定量计算;并对 5 种卷烟分别重复测定了 5 次,考察该法的重复性。实验结果显示:①每种卷烟中,氮甲酰基自由基(表 1 中 No. 1)和(甲基氨)-甲酰基自由基(表 1 中 No. 2)这两个简单的烷基胺碳酰基类自由基,及乙酰基自由基(最简单的酰基类自由基)(表 1 中 No. 5)的含量较高,一般为几十 nmol/cig,甚至超过 100 nmol/cig,其他的几种自由基的含量较低,甚至未检出,且各种卷烟之间的差异比较大;②碳中心自由基总量的范围跨度较大,1R5F、3R4F、CM6 及两种烤烟型卷烟的碳中心自由基总量分别为 52.5、214.6、424.1、68.6 和 334.2 nmol/cig,1R5F 和 3R4F 主流烟气中碳中心自由基的含量与文献^[14]报道值基本吻合,且每种卷烟 5 次重复测定结果的相对标准偏差 (RSD) 为 3.5%~9.7%,重复性良好,说明可以将 TEMPO-9-AC 体系作为卷烟主流烟气中碳中心自由基的分析体系。

2.3 碳中心自由基总量与焦油含量的相关性

实验考察了卷烟烟气中碳中心自由基总量与焦油释放量的相关性,结果如图 5 所示。TEMPO-9-

AC 体系的相关系数 R^2 为 0.9447, 说明卷烟烟气中碳中心自由基总量与焦油量之间有高度的相关性, 也就是说, 在降焦的同时也减少了烟气中碳中心自由基的释放量, 为降焦减害提供了技术支持。

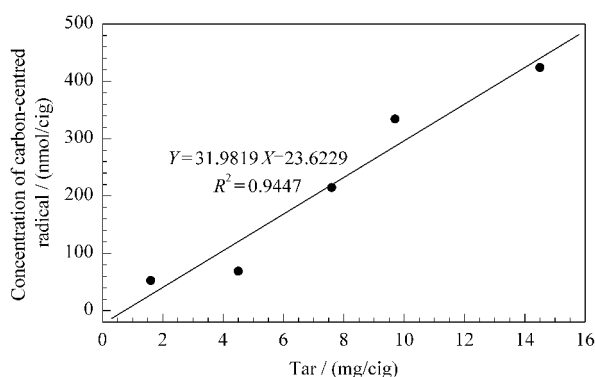


图5 TEMPO-9-AC 体系所得卷烟主流烟气中自由基总量与焦油释放量的相关性

Fig. 5 Relationship of total carbon-centred radical concentration and tar of mainstream cigarette smoke

3 结论

本文以 AIBN 的裂解反应建立了自旋标记荧光探针 TEMPO-9-AC 表征碳中心自由基的模型, 并以 TEMPO-9-AC 作为捕集剂捕集卷烟主流烟气中的碳中心自由基, 生成稳定的强荧光的碳中心自由基捕集加合物, 以 HPLC-MS/MS 对其结构进行了确认, 并建立了 HPLC-FLD 的定量方法。结果表明, 利用 TEMPO-9-AC 捕集体系鉴别出了 10 种碳中心自由基, 对 5 种代表性卷烟烟气中的碳中心自由基进行了定量计算, 获得了它们主流烟气中碳中心自由基的含量数据, 并发现碳中心自由基总量与焦油释放量之间具有高度的相关性。本法适用于卷烟主流烟气中碳中心自由基释放量的分析。

参考文献:

[1] Pryor W A, Prier D G, Church D F. *Environ Health Perspect*, 1983, 47: 345

- [2] Robinson E A, Johnson J D. *Mini-Rev Org Chem*, 2011, 8(4): 401
- [3] Zhou J, Wu K, Sun Y, et al. *Chemical Journal of Chinese Universities* (周骏, 吴可, 孙岳, 等. 高等学校化学学报), 2007, 28(10): 18
- [4] Zhou J, Wu K, Sun Y, et al. *Acta Chimica Sinica* (周骏, 吴可, 孙岳, 等. 化学学报), 2008, 66(2): 216
- [5] Chen J Y, Fan J, Wang J, et al. *Acta Tabacaria Sinica* (陈景云, 樊杰, 王菊, 等. 中国烟草学报), 2008, 14(3): 24
- [6] Mao S C, Li Z Y, Li C. *Journal of Toxicology* (毛绍春, 李竹英, 李聪. 毒理学杂志), 2008, 22(1): 40
- [7] Lü Y G, Yan B Z, Tian Q, et al. *Chinese Journal of Magnetic Resonance* (吕玉光, 严宝珍, 田秋, 等. 波谱学杂志), 2005, 22(1): 21
- [8] Flicker T M, Green S A. *Anal Chem*, 1998, 70(9): 2008
- [9] Flicker T M, Green S A. *Environ Health Perspect*, 2001, 109(8): 765
- [10] Tian Y W. [MS Thesis]. Zhengzhou: Zhengzhou Tobacco Research Institute of CNTC (田耀伟. [硕士学位论文]. 郑州: 中国烟草总公司郑州烟草研究院), 2007
- [11] Bartalis J, Chan W G, Wooten J B. *Anal Chem*, 2007, 79(13): 5103
- [12] Bartalis J, Zhao Y L, Flora J W, et al. *Anal Chem*, 2009, 81(2): 631
- [13] Gerardi A R, Coleman W M III. *New Methodologies for Qualitative and Semi-Quantitative Determination of Carbon-Centred Free Radicals in Cigarette Smoke Using Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry and Gas Chromatography-Mass Selective Detection*//Abstracts of Presentations Made at the 2009 Coresta Joint Meeting of the Smoke Science and Product Technology Study Groups. Aix-en-Provence, France, 2009: SSPT 18
- [14] Gerardi A R, Coleman W M III. *Qualitative and Relative Quantitative Determination of Carbon Centred Free Radicals in Whole Smoke from Various Cigarette Types*//Abstracts of Presentations Made at the 2009 Coresta Joint Meeting of the Smoke Science and Product Technology Study Groups. Aix-en-Provence, France, 2009: SSPT 19
- [15] Guo X Q, Yang X F, Mao Y X, et al. *Analytical Chemistry: Achievements and Challenges*. Chongqing: Southwest China Normal University Press (郭祥群, 杨小峰, 毛玉霞, 等. 分析化学的成就与挑战. 重庆: 西南师范大学出版社), 2000: 342
- [16] Yang X F. [PhD Dissertation]. Xiamen: Xiamen University (杨小峰. [博士学位论文]. 厦门: 厦门大学), 2002
- [17] Wooten J B. *Mini-Rev Org Chem*, 2011, 8(4): 412