

本文引用格式:周睿,胡江玲,汪生,等.生物样本中可替宁检测技术的研究进展[J].安徽医学,2023,44(12):  
1525-1530.DOI:10.3969/j.issn.1000-0399.2023.12.021

· 综述 ·

## 生物样本中可替宁检测技术的研究进展

周睿 胡江玲 汪生 冯蕊

**[摘要]** 可替宁是目前评价环境烟草烟雾暴露的最佳生物标志物,检测生物样本中的可替宁,可以获得人体烟草暴露的相关信息。根据研究的生物样本类型和特点,选择适宜的前处理和检测方法尤为重要。本文从可替宁检测的应用、研究思路、常见检测样本类型和特点、生物样本中可替宁检测难点、样品前处理方法和检测方法6个方面进行总结,阐述了生物样本中可替宁检测技术的研究进展,为生物样本中可替宁的检测提供参考。

**[关键词]** 可替宁;环境烟草烟雾暴露;生物样本;检测技术;研究进展

doi:10.3969/j.issn.1000-0399.2023.12.021

我国烟民数量全球占比高达23%,居世界第一位<sup>[1]</sup>,高频率、长时间的烟草暴露与肺癌、口腔癌、鼻咽癌、食管癌、乳腺癌、子宫癌、结直肠癌等疾病密切相关<sup>[2-4]</sup>,合理有效的控烟及二手烟暴露干预具有十分重要的意义。科学测量烟草暴露则是烟草暴露与健康相关性研究、控烟效果评价和二手烟暴露干预效果评价的基础<sup>[5]</sup>。

可替宁是烟草暴露的重要生物标志物之一<sup>[6]</sup>,它是尼古丁经人体细胞色素氧化酶代谢转化后的产物<sup>[7]</sup>。可替宁在人体组织中的分配速度缓慢、半衰期较长,能反映人体3~4天的环境烟草烟雾(environmental tobacco smoke, ETS)暴露情况<sup>[8]</sup>,是测量烟草暴露的重要指标。故测定生物样本中可替宁浓度对于评估人体烟草暴露的剂量和程度具有重要意义。

用于可替宁检测的生物样本种类多,包括尿液、血液、唾液、头发等<sup>[9]</sup>,且这些样本成分性质复杂。如何简单、准确地测定特定生物样本中可替宁的浓度,是研究的重点和难点。本文从可替宁检测的应用、研究思路、常见检测样本类型和特点、生物样本中可替宁检测难点、样品前处理方法和检测方法6个方面进行总结,为生物样本中可替宁的检测研究提供一定的理论依据和参考。

### 1 可替宁检测的应用

可替宁的浓度能够直接反映人体烟草暴露的剂量

和程度,可用于评价人体的健康状况、被动吸烟的程度、生活状况及生理特征等,具有多种应用场景,反映了测定生物样本可替宁浓度所具有的价值,本文将可替宁的应用总结为以下3个方面。

**1.1 健康指标评定** 可替宁作为一个客观的生物学标志物,反映吸烟的暴露水平,帮助了解吸烟者的身体健康状况,与血脂异常、骨质异常等具有相关性,是了解吸烟应激状态的一种常规测定指标<sup>[10-11]</sup>。

**1.2 被动吸烟评价** 被动吸烟,俗称二手烟,是指由卷烟或其他烟草产品燃烧端释放出的及由吸烟者呼出的烟草烟雾所形成的混合烟雾,与非吸烟者肺癌风险等相关联<sup>[12]</sup>。通过对人体可替宁的检测,可用来评价ETS暴露,从而及时有效地控制此类污染,减低对人体的损害<sup>[13]</sup>。

**1.3 法医毒物分析** 案件现场或物证上留存的生物样本,可能含有烟碱、毒品和药物成分,可替宁是可能含有的成分之一。对样本中可替宁的检验可提供涉案者相关生活和生理特征信息<sup>[14]</sup>。

### 2 可替宁检测的研究思路

本文总结出可替宁检测的具体研究思路如下:①确定生物样本的种类及采集对象等。②根据不同生物样本的特点,分析选择适合的样本前处理方法。③优化生物样本中可替宁的检测方法。④建立专属性强、稳定性好、灵敏度高、分析速度快的分析方法,并进行

基金项目:2021年度安徽高校自然科学研究重点项目(编号:KJ2021A0268);2021年度安徽医科大学校科研基金(编号:2021xkj013);安徽医科大学大学生创新创业项目(编号:S202310366092)

作者单位:230032 安徽合肥 安徽医科大学药学院(炎症免疫性疾病安徽省实验室)(周睿,胡江玲,冯蕊);科研实验中心(汪生)

通信作者:冯蕊, fengruicpu@126.com

方法学验证。⑤对采集样本进行检测,得出样本中可替宁浓度,从而应用、获取其它信息。根据该研究思

路,总结出生物样本中可替宁检测技术研究决策树。见图1。

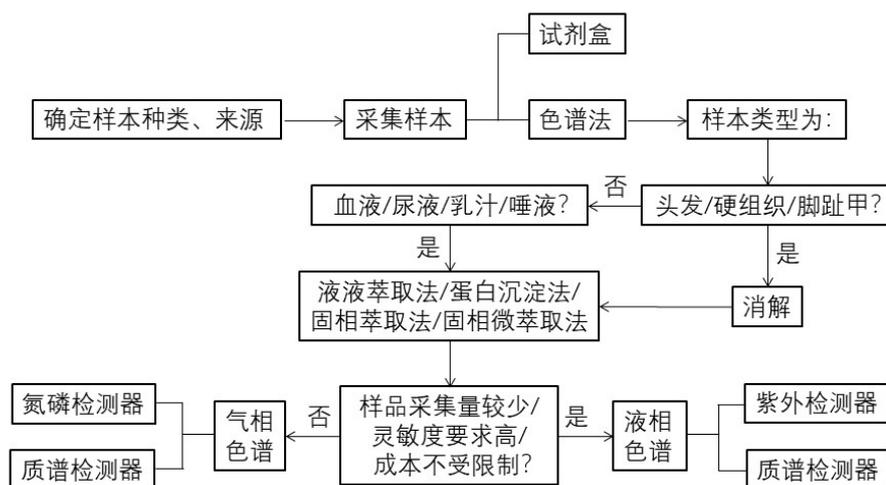


图1 生物样本中可替宁检测技术研究决策树

### 3 可替宁检测的常见生物样本

进入人体的可替宁存在于多个部位和基质中,了解不同的样本类型及其特点,有利于对样本的选择及处理。本文对可替宁检测相关研究中常见的生物样本及各自特点进行以下总结:

**3.1 血浆/血清** 可替宁由尼古丁在肝脏转化而释放入血,因此血中可替宁含量最能反映人体从 ETS 中吸收的尼古丁含量,即最能准确反映人体 ETS 暴露<sup>[15]</sup>。邱天等<sup>[16]</sup>用液液萃取-液相色谱-质谱法测定法,成功测定出血浆样本中的可替宁含量。丁昌明等<sup>[17]</sup>用固相萃取-液相色谱-质谱(Liquid Chromatography-MS, LC-MS)法成功测定出血清样本中的可替宁含量。该类样本适用于非吸烟人群及主动吸烟人群体内中可替宁含量的测定。

**3.2 头发** 头发对可替宁具有蓄积作用,因此测定头发样中可替宁的含量,可以反映人体较长时间的 ETS 暴露情况,并有研究证实头发中的可替宁含量与个体吸烟史有很强的相关性<sup>[15]</sup>。朱婧等<sup>[9]</sup>采用亲水作用液相色谱串联质谱法测定头发中的可替宁含量,头发在氢氧化钠溶液中水解,二氯甲烷萃取,氮气吹干,流动相复溶后注入色谱-质谱系统分析。该方法中可替宁的检出限为 0.0044 μg/g,能够满足人群烟草暴露评价的需要。

**3.3 尿液** 尿液样品采集方便,对受试者侵害性小,是研究中非常理想的生物样品,通过测定尿液中可替宁的浓度也可对人体烟草暴露的剂量和程度进行评

估<sup>[11]</sup>。李晶等<sup>[18]</sup>采用萃取-LC-MS 法成功对吸烟者尿液中的可替宁进行测定,为通过尿液烟草暴露生物标记物的快速准确测定提供有效技术支持。

**3.4 乳汁** 孕妇受吸烟状况的影响,母乳被污染,而尼古丁和可替宁很容易通过母乳进入婴儿体内。母乳中可替宁的含量,可以作为对吸烟孕妇进行具体的戒烟教育及授乳指导的指标。金森京子等<sup>[19]</sup>测定母乳中尼古丁和可替宁的浓度,结果显示尼古丁从肺中经血液吸收后很容易进入母乳,其中尼古丁代谢成可替宁而在体内蓄积。

**3.5 唾液** 烟草生物碱作为吸烟者唾液中重要的化学成分,准确测定其含量,对探求卷烟抽吸时的感官感受机理有重要的意义<sup>[20]</sup>。沈虹等<sup>[20]</sup>采用 LC-MS 法测定人唾液中可替宁和 3-羟基可替宁的浓度,可替宁的线性范围为 0.1~1000 ng/mL,可替宁的平均提取回收率为 95%,该方法操作便捷,适用于临床人唾液中可替宁快速检测。

**3.6 硬组织** 硬组织是生物体内通过生物矿化而形成的组织(如骨骼、牙齿等),是介于无机物和有机物之间的特殊物质。吸烟后,口腔硬组织中会遗留可替宁,由此可探究可替宁在被动吸烟口腔硬组织中的分布规律与致病作用,评价停止被动吸烟后可替宁在口腔硬组织中的蓄积变化。冯瑾等<sup>[21]</sup>通过 LC-MS 法检测出大鼠牙和牙槽骨中可替宁浓度,比较可替宁在牙槽骨与胫骨中的分布差异,发现牙槽骨相较胫骨对可替宁具有较强的蓄积能力,沉积量与牙槽骨骨矿物密度负相关。

3.7 脚趾甲 脚趾甲独立于黑色素且生长缓慢,每月约生长 0.1 cm,脚趾甲中烟草生物碱的含量反映了超过 1 个月的平均风险敞口。因此,脚趾甲不仅可以作为可替宁检测的样本,并且由于它不依赖于黑色素、生长缓慢的特点,可以反映一个多月的平均暴露,这是其分析相较头发样本的优势所在<sup>[22]</sup>。

#### 4 生物样本中可替宁检测的难点

可替宁检测受到样本种类、个体差异、样本采集、测定技术等多方面的影响,在检测过程中受到多种因素的制约,生物样本中可替宁检测技术难点总结如下:①可替宁检测的生物样本类型多,如血液、唾液、尿液、母乳。不同的生物样本具有各自的检测特点和应用,可能需要不同的前处理方法。②可替宁检测还在很大程度上受到性别、年龄、美容、个人卫生习惯和民族风俗等多种因素的影响与干扰<sup>[15]</sup>。③血液、唾液和乳汁等生物样本中可替宁检测应用前景广,但是血液是创伤性采样,乳汁和唾液等受限于严格的采集时间和条件,并且需要相对较大的样本量,还需要考虑受试者能否配合。④LC-MS 和气相色谱-质谱联用(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)法是生物样本可替宁检测的首选方法,在前处理可能涉及到固相萃取等步骤,导致前处理时间长,检测成本高。开发便捷、高效、高灵敏的检测方法,是此类研究中的关键技术难点。

#### 5 样品前处理方法

生物样品基体复杂,通常不能直接进行测定,必须通过一些前处理方法将待测物净化或浓缩。一方面可以减少基体成分对测定的干扰,另一方面可以使待测物转变成适合仪器检测的形式,同时还能够改善分析的环境。样品前处理的方法包括蛋白沉淀法、固相萃取、液相萃取等,对于头发、指甲、硬组织这类固性物质,还需要先进行消解,才能将其中的可替宁释放出来<sup>[23]</sup>。本文将可替宁检测生物样本的前处理方法进行了概述,并将各方法的优缺点加以总结(见表 1):

5.1 蛋白沉淀法 Mohamed A. El Mubarak 等<sup>[24]</sup>曾使用蛋白沉淀法对血浆样本进行处理:取 80  $\mu\text{L}$  血浆,采用预冷的乙腈(含 1% 氨水)300  $\mu\text{L}$  为沉淀剂,离心后取上清在冷阱冻干后,使用 1 000  $\mu\text{L}$  流动相 A 复溶后 LC-MS 分析。范茂林等<sup>[25]</sup>曾使用蛋白沉淀法对尿液样本进行处理:取尿样 5 mL,加入内标溶液,用氨水调节 pH 至 8。加入 4 mL 乙腈和 5 g 无水硫酸镁后,立即剧烈振摇,离心,GC-MS 法测定。

5.2 液液萃取法 朱敏绮等<sup>[26]</sup>曾使用液液萃取法对

尿液样本进行处理:采用甲基叔丁基醚(MTBE)为萃取剂,在弱酸条件下萃取尿液中的可替宁。何怡等<sup>[23]</sup>使用该法对人类唾液、头发样本进行处理:取 1 mL 的唾液于试管中,NaOH 溶液碱化处理后,加入 0.5 mL 含有内标物二苯胺的三氯甲烷萃取。涡旋、静置分层后弃去上层水相,下层有机相 GC-MS 法测定;头发样本一般需要进行消解处理:取约 500 mg 的头发依次用纯水、二氯甲烷洗涤,晾干后剪碎,取 100 mg 头发样本,加入 3 mL 1.5 mol/L NaOH 溶液,超声 30 min 后水浴 37 $^{\circ}\text{C}$ 消解 3 h。取消解液 2 mL,加入 1 mL 含有二苯胺(内标)的三氯甲烷萃取,静置分层后取下层有机相 GC-MS 法检测。

5.3 固相微萃取法 王俊<sup>[27]</sup>曾使用固相微萃取法对人类尿液样本进行处理:将尿样 0.5 mL,用纯水稀释至 5 mL 备用。在 15 mL 顶空瓶中依次加入磁力搅拌子、1.3 g  $\text{K}_2\text{CO}_3$ ,加入预处理的尿液 1 mL,旋紧瓶盖,置于 80 $^{\circ}\text{C}$ 固相微萃取(solid phase microextraction, SPME)采样台,进行顶空萃取 20 min,SPME 纤维在 270 $^{\circ}\text{C}$ 条件下解吸 5 min,GC-MS 法测定。

5.4 固相萃取法 丁昌明等<sup>[17]</sup>曾使用固相微萃取法对人类血清样本进行处理:取 0.10 mL 血清,加入 40  $\mu\text{L}$  混合内标使用液、1.0 mL 饱和的乙酸铵-氨水缓冲溶液(pH=10.0),涡旋、离心,得样品处理液,再经过固相萃取后检测,LC-MS 法检测。

#### 6 检测方法

处理后的样本需要根据待测物的含量,选择适合的检测方法。GC、LC 被广泛应用在生物样本可替宁的分析中,并随着分析技术的发展不断完善。除了利用仪器进行检测外,还出现了一些简易试剂盒可用于生物样本中可替宁的检测,本文将常见生物样本中可替宁检测方法进行总结,并将各类方法进行比较。见表 2。

6.1 GC-MS 法 张凤梅等<sup>[28]</sup>采用顶空-固相微萃取-GC-MS 法测定唾液中可替宁等生物碱的浓度,检出限可达 0.3 ng/mL,本方法适用于吸烟者唾液中可替宁等多种生物碱的快速测定。何怡等<sup>[23]</sup>用碱化萃取 GC-MS 法测定唾液中的尼古丁和可替宁,其检出限为分别为 6.5、14.5 ng/mL,测定下限分别为 22、48 ng/mL,能够满足基层控烟工作中人体烟草暴露评价的需要。陆强等<sup>[29]</sup>使用 GC-MS 法定量检测人群尿液可替宁含量,客观反映人群烟草暴露水平;通过 ROC 曲线分析得到人群可替宁截断值为 73.06  $\mu\text{g/g Cr}$ ,有效识别被动吸烟者。

6.2 LC-MS 法 沈虹等<sup>[20]</sup>采用 LC-MS 法测定唾液中

表 1 可替宁不同前处理方法的优缺点比较

前处理方法	优点(特点)	缺点
蛋白沉淀法	1. 操作简便 2. 成本低 3. 易于实施	1. 仅除去蛋白质杂质,样品中可能仍留有其它杂质,对测定造成干扰,还可能影响仪器的寿命 2. 处理中样品会被稀释,不利于低浓度、低响应的样品的检测
液液萃取法	1. 经济实用 2. 可去除大部分内源性杂质 3. 可使样品富集	1. 可能会导致样品乳化 2. 可能会造成环境污染 3. 较为繁琐、费时
固相微萃取法	1. 不需任何溶剂,消除溶剂耗费和对环境的污染 2. 所需样品量少	1. 萃取头寿命较短,增加成本 2. 液膜种类较少,限制样品种类
固相萃取法	1. 检测灵敏度高 2. 提高样品处理量,溶剂消耗量小 3. 重现性好	1. 成本较高 2. 对吸附剂要求较高

可替宁浓度。唾液中可替宁的线性范围为 0.1 ~ 1 000 ng/mL,可替宁定量下限为 0.1 ng/mL。金光祥等<sup>[30]</sup>采用 LC-MS 同时测定大鼠血浆中烟碱、可替宁对映异构体,并开展药代动力学研究。其定量限为 0.5 μg/L。杨明岐等<sup>[31]</sup>采用 LC-MS 法测定尿液中可替宁含量,方法检出限分别为 0.064 μg/L 和 0.035 μg/L;定量限分别为 0.21 μg/L 和 0.12 μg/L。

6.3 氮磷检测-气相色谱法(gas chromatography-nitrogen phosphorus detector, GC-NPD) 朱琳等<sup>[32]</sup>采用 GC-NPD 法测尿液中的尼古丁和可替宁。尼古丁和可替宁的检测范围分别为 0.017 ~ 5 μg/mL 和 0.024 ~ 5 μg/mL,本方法测定尼古丁和可替宁时,在进样 1 μL 条件下,检出限分别为 0.005 μg/mL 和 0.007 μg/mL,测定下限分别为 0.017 μg/mL 和 0.024 μg/mL。

6.4 紫外检测-高效液相色谱法(high performance liquid chromatography-ultraviolet detection, HPLC-UV) Page-Sharp 等<sup>[33]</sup>采用 HPLC-UV 法测定母乳中的可替宁。1 mL 母乳中加入内标,NaOH 碱化后,8 mL 二氯甲烷萃取,再用盐酸反萃取有机相后,水相继续用 8 mL 二氯甲烷萃取,有机相酸化后氮气流下吹干,复溶进行 HPLC 分析。尼古丁和可替宁的定量限分别为 10 μg/L、12 μg/L,尼古丁和可替宁的检测限分别为 8 μg/L、10 μg/L。Makoto Yasuda 等<sup>[34]</sup>通过离子对反相高效液相荧光检测与柱后 UV-光辐射系统同时测定血清中的尼古丁和可替宁。5 μL 血清样品中加入内标 6-氨基喹啉,NaOH 碱化后,100 μL 氯仿萃取;再用盐酸反萃取有机相后,将酸化水相直接注入离子对反相 HPLC 体系中进行分析。尼古丁的线性范围为 0.30 ~ 1 000 ng,可替宁的相关系数为 0.06 ~ 1 000 ng。可替宁的检测限为 0.02 ng,定量限为 0.06 ng。Nelly Jacob 等<sup>[35]</sup>采用通过液相色谱和紫外线检测测定方法,测定唾液与母乳中的可替宁和尼古丁。0.5 ~ 1.0 mL 唾液样品加

入内标,NaOH 碱化后,二氯甲烷超声萃取;将有机层蒸发至干,残余物溶解在 200 μL 流动相中,一式两份注入 50 μL 体积的溶解残留物。0.5 ~ 1.0 mL 母乳加入内标,NaOH 碱化后,二氯甲烷超声萃取,经盐酸回提取、二氯甲烷萃取后,有机层蒸发至干,残余物溶解在 200 μL 流动相中,一式两份地注入 50 μL 体积的溶解残留物。尼古丁和可替宁的检出限分别为 1.7 μg/L 和 1.3 μg/L。

6.5 酶联免疫吸附测定法 雷雅静等<sup>[36]</sup>成功建立一种间接竞争酶联免疫吸附测定法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA),方法检测限为 0.1 ng/mL,可快速、可靠地检测人体尿液中可替宁含量,可作为环境烟草烟雾在人体内暴露程度的有效检测方法。

## 7 总结与展望

综上,检测生物样本中可替宁含量可用于判定人体的健康状况、被动吸烟的程度、生活状况及生理特征等。研究需要从样本种类、前处理方法、检测方法等多方面进行考虑。实验可采取的生物样本种类多,血液、尿液、头发等是可替宁检测的理想生物样本。其中血液可以最直观、准确地反映出体内的可替宁含量,但需要进行创伤性采样;尿液采集方便,对受试者侵害性小;头发对待测物有蓄积作用,可以反映人体较长时间的 ETS 暴露情况。此外,乳汁、唾液、硬组织、脚趾甲也可用作可替宁检测的生物样本,并且可以满足一些特定的检测需求。这些样本的前处理方法主要包括蛋白沉淀、固相萃取、液相萃取等,而对于头发、指甲、硬组织这类固性物质,还需要先进行消解。GC、LC 等是可替宁常见的检测方法,也可通过试剂盒进行简便的分析,设计实验时应综合考量、择优选择。

在可替宁检测中,生物样本前处理方法的选择是生物样本中可替宁检测的一大难点,如何开发便捷、高

表2 可替宁不同检测方法的优缺点比较

分离手段/检测方法	优点(特点)	缺点
GC或GC-MS	1. 技术成熟,稳定性和重复性好 2. 基质效应干扰小 3. 分离度高,灵敏度达到ng级别 4. 适合热稳定,沸点低的物质 5. 固相萃取适合复杂基质样本分析	1. 前处理(萃取、固相萃取或衍生化)耗时长,成本高 2. 不适合沸点高,热不稳定以及分子量大的物质 3. 灵敏度一般没有LC-MS高
LC-MS	1. 专属性和重现性好 2. 灵敏度更高,可达pg级别 3. 样品前处理快、便捷,适用于大样本的快速检测。	1. 基质效应可能严重影响测定的准确性 2. 极性物质的保留难度大
试剂盒	1. 操作简单,商品化 2. 样本用量少 3. 分析速度快	1. 灵敏度差 2. 专属性不强,同类物质干扰

注:GC为气相色谱,GC-MS为气相色谱-质谱联用,LC-MS为液相色谱-质谱联用。

效、高灵敏的检测方法,也是此类研究中的主要问题,同时在选择样本类型时,还需考虑检测对象、采集方式等多方面的因素。另外,在评价烟草暴露等指标中,有时还需要测定生物样本中尼古丁或尼古丁其它代谢产物的含量,综合这些数据来满足评价的需要,使检测更加复杂。因此,要建立一套简单、灵敏、可一次性满足测定需要的生物样本中可替宁及其代谢物的检测方法,还需要继续探索。

参考文献

[1] 石倩,王建青. 不同职业人群吸烟行为、认知和态度分析[J]. 中国卫生产业,2020,17(12):175-177.  
[2] 徐学琴,张瑞,陈玉龙,等. 吸烟人群食管癌发病风险及其影响因素研究[J]. 中医学报,2022,37(12):2593-2597.  
[3] 陈小丹,曾彩雯,杨小荣,等. 吸烟与子宫内膜癌发病风险的关系(一项基于前瞻性队列研究的meta分析)[J]. 中国卫生工程学,2022,21(5):748-753.  
[4] 郭伟,胡凌煜,王晓光. 香烟烟雾与胰腺癌的相关研究进展[J]. 中国当代医药,2023,30(8):43-47.  
[5] 罗敏红,马丽娜,李慧敏,等. 孕妇家庭吸烟者的控烟干预效果评价[J]. 预防医学情报杂志,2023,39(3):288-296.  
[6] RAMDZAN N A,ALMEIDA G I M,MCCULLOUGH J M, et al. Determination of salivary cotinine as tobacco smoking biomarker[J].Trac-Trend Anal Chem,2018,105:89-97.  
[7] 宋美毅,李贤,刘美霞,等. 香烟烟雾对大鼠血压和可替宁含量影响的实验研究[J]. 现代预防医学,2020,47(21):3968-3970.  
[8] 祝慧维,肖千一,何静怡,等. 学龄前儿童尿液可替宁浓度与家长吸烟行为的相关性[J]. 复旦学报(医学版),2021,48(4):469-475.  
[9] 朱婧,任建伟,杨明岐,等. 亲水作用液相色谱串联质谱法测定头发中尼古丁和可替宁[J]. 四川大学学报(医学版),2019,

50(5):731-736.  
[10] 朱青青. 尿尼古丁代谢物水平与血脂异常风险的相关性及影响因素研究[D]. 武汉:华中科技大学,2021.  
[11] 袁春节. 基于尿尼古丁及其代谢物浓度评判烟草烟雾暴露及与骨质异常的关联研究[D]. 武汉:华中科技大学,2021.  
[12] 叶秀,许宁. 被动吸烟与非吸烟女性肺癌关系队列研究的Meta分析[J]. 环境卫生学杂志,2022,12(6):428-435,442.  
[13] 毛志成,张莉,陈颖,等. 咸宁城区被动吸烟人群尿中可替宁和3-羟基可替宁的检测[J]. 职业与健康,2020,36(9):1184-1187,1192.  
[14] 向丽君,张云峰,薛敏,等. UPLC-MS/MS法检测血痕中常见烟草、毒品和药物成分[J]. 中国法医学杂志,2014,29(3):206-213.  
[15] 王俊,宋瑞金. 人体内可替宁检测技术研究进展[J]. 环境与健康杂志,2008,25(12):1111-1114.  
[16] 邱天,王君,林少彬,等. 血浆中可替宁的固体介质液液萃取-液相色谱-串联质谱测定法[J]. 环境与健康杂志,2018,35(1):78-80.  
[17] 丁昌明,邢方潇,郑磊,等. 血清中的尼古丁和可替宁固相萃取-液相色谱-电喷雾离子阱串联质谱测定法[J]. 环境与健康杂志,2010,27(11):1002-1004.  
[18] 李晶,梁梦洁,刘欣,等. 超高效液相色谱-串联质谱法快速测定吸烟者尿液中尼古丁和可替宁[J]. 理化检验(化学分册),2019,55(11):1287-1291.  
[19] 金森京子,高桥里玄,藤田贵美枝. 关于吸烟孕妇母乳的探讨-初乳中的尼古丁及可替宁浓度的测定:第九届中日护理学术交流会议论文汇编[C]. 重庆:中华护理学会,2004:289-290.  
[20] 沈虹,王国才,于灵凤,等. LC-MS/MS法测定人唾液中可替宁和3-羟基可替宁的浓度:第11届亚太控烟大会论文集[C]. 北京:中国控制吸烟协会,2016:53.  
[21] 冯瑾,曾福磊,张莉,等. 可替宁在被动吸烟大鼠口腔硬组

- 织中的分布:2019年中华口腔医学会老年口腔医学专业委员会第十四次全国老年口腔医学学术年会[C].济南:中华口腔医学会,2019:79.
- [22] KATHARINA S, W C H, ANNE-KATHRIN H, et al. Analysis of myosmine, cotinine and nicotine in human toenail, plasma and saliva[J]. *Biomarkers*, 2009, 14(5):347-353.
- [23] 何怡, 徐东群. 尿液和头发及唾液中尼古丁及其代谢物可替宁的气相色谱-质谱同时测定法[J]. *环境与健康杂志*, 2011, 28(2):150-153.
- [24] A M M E, CHARIKLEIA D, CHARLYNE C, et al. In vivo quantification and pharmacokinetic studies of cotinine in mice after smoke exposure by LC-MS/MS[J]. *Biomed Chromatogr*, 2020, 34(2):e4752.
- [25] 范茂林, 杨旭东, 艾雨, 等. 尿液中尼古丁和可替宁 QuEChERS 预处理气相色谱测定法建立[J]. *中国公共卫生*, 2017, 33(2):333-337.
- [26] 朱敏琦, 于进, 王毅超. 高效液相色谱-串联质谱法测定尿中可替宁[J]. *中国卫生检验杂志*, 2021, 31(17):2070-2072.
- [27] 王俊. 尿中可替宁和尼古丁的 SPME-GC/MS 测定方法研究[D]. 北京:中国疾病预防控制中心, 2009.
- [28] 张凤梅, 蒋薇, 刘春波, 等. HS-SPME-GC-MS/MS 法测定不同吸烟者唾液中的 7 种生物碱[J]. *烟草科技*, 2018, 51(7):46-53.
- [29] 陆强. 人群尿液可替宁快速检测方法的建立及初步应用[D]. 南京:东南大学, 2021.
- [30] 金光祥, 韩书磊, 陈欢, 等. HPLC-MS/MS 同时测定大鼠血浆中烟碱、可替宁对映体及其药代动力学研究[J]. *质谱学报*, 2021, 42(2):172-180.
- [31] 杨明岐, 袁悦, 任建伟, 等. 同位素稀释-亲水作用色谱串联质谱快速测定尿液中 8-羟基脱氧鸟苷和可替宁的研究[J]. *四川大学学报(医学版)*, 2020, 51(1):74-80.
- [32] 朱琳, 杨丽君, 孙丽艳. 尿液和头发中尼古丁和可替宁的毛细管气相色谱测定法[J]. *环境与健康杂志*, 2011, 28(7):626-628.
- [33] PAGE-SHARP M, HALE W T, HACKETT L, et al. Measurement of nicotine and cotinine in human milk by high-performance liquid chromatography with ultraviolet absorbance detection[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2003, 796(1):173-180.
- [34] YASUDA M, OTA T, MORIKAWA A, et al. Simultaneous determination of nicotine and cotinine in serum using high-performance liquid chromatography with fluorometric detection and postcolumn UV-photoirradiation system[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2013, 93:441-445.
- [35] NELLY J, JEAN-LOUIS G, IVAN B. Relationships between nicotine and cotinine concentrations in maternal milk and saliva[J]. *Acta Paediatr*, 2015, 104(8):e360-e366.
- [36] 雷雅静, 周丽芳, 王安行, 等. 可替宁单克隆抗体的制备及其在免疫学检测中的应用[J]. *浙江大学学报(医学版)*, 2020, 49(6):765-771.

(2023-05-03 收稿)

(本文编校:朱岚, 张迪)