

QuEChERS-同位素稀释-气相色谱-串联质谱法测定 动物源性食品中 9 种 *N*-亚硝胺类化合物

孔祥一^{1,2}, 庄丽丽², 方恩华², 林 鹏¹, 郑子龙³, 郑向华², 徐敦明^{1,2*}

(1. 集美大学水产学院, 福建 厦门 361021; 2. 厦门海关技术中心, 福建 厦门 361000;

3. 福建省市场监督管理局, 福建 福州 350003)

摘要 建立了同时测定动物源性食品中 9 种 *N*-亚硝胺类化合物的气相色谱-串联质谱分析方法。当下动物源性食品中 *N*-亚硝胺类化合物污染种类较多, 对人体危害较大, 但国标 GB 5009.26-2016 仅针对 *N*-二甲基亚硝胺的检测, 且存在样品前处理复杂、标准方法回收率低、再现性差等问题, 因此建立同时快速检测多种 *N*-亚硝胺类化合物的方法有一定现实意义。称取 10.0 g 样品, 置于 50 mL 离心管中, 加入 200 μ L 内标工作液和 10 mL 乙腈, 冷冻 30 min 后, 加入 4 g 硫酸镁和 1 g 氯化钠进行脱水, 以 9 000 r/min 离心 5 min。取 5 mL 上清液使用 150 mg 聚苯乙烯二乙苯 (PLS-A) 粉末净化, 再使用 1.6 g MgSO_4 和 0.4 g NaCl 脱水, 过 0.22 μ m 滤膜, 上机分析。在初始温度为 50 $^{\circ}\text{C}$ 时采用程序升温模式, 0.16 min 后, 以 900 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速率将温度升至 220 $^{\circ}\text{C}$ 。采用毛细管气相色谱柱 HP-Innowax (30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25 μ m) 分离, 使用电子轰击电离 (EI) 源检测, 在多反应监测模式下, 以保留时间和特征离子对信息进行定性和定量分析, 使用内标法定量 *N*-亚硝胺类化合物。结果表明, *N*-亚硝胺类化合物在 0.1~50.0 $\mu\text{g}/\text{L}$ 范围内具有良好的线性关系, 方法的检出限 ($S/N=3$) 和定量限 ($S/N=10$) 分别为 0.03~0.30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 0.10~1.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。对不同样品基质进行 0.5、1.0、3.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 3 个水平的加标回收试验, 9 种 *N*-亚硝胺类化合物的回收率为 80.4%~98.5%, RSD ($n=6$) 为 2.41%~12.50%。应用建立的方法检测市面上常见的动物源性食品, 除 *N*-亚硝基乙胺、*N*-亚硝基吗啡胆碱外, 其他 7 种 *N*-亚硝胺类化合物均有不同程度检出。检测结果表明, 腌制水产品中 *N*-亚硝胺类化合物含量普遍高于其他样品。研究建立的方法操作简单, 不需要长时间蒸馏提取, 可快速对动物源性食品中 *N*-亚硝胺类化合物进行定性和定量分析, 且样品和试剂的消耗量更少, 节省成本, 对环境污染小。该法的建立对我国动物源性食品中 *N*-亚硝胺类化合物残留水平的控制、检测标准的制定和采取相应的管理措施具有一定的理论和现实意义。

关键词 气相色谱-串联质谱; QuEChERS; *N*-亚硝胺类化合物; 动物源性食品

中图分类号: O658

文献标识码: A

文章编号: 1000-8713 (2021) 01-0096-08

Determination of nine *N*-nitrosamines in animal derived foods by QuEChERS-isotope dilution combined with gas chromatography-tandem mass spectrometry

KONG Xiangyi^{1,2}, ZHUANG Lili², FANG Enhua², LIN Peng¹,

ZHENG Zilong³, ZHENG Xianghua², XU Dunming^{1,2*}

(1. Fisheries College of Jimei University, Xiamen 361021, China; 2. Xiamen Customs Technology Center, Xiamen 361000, China; 3. Fujian Administration for Market Regulation, Fuzhou 350003, China)

Abstract : In this study, a comprehensive analytical method based on gas chromatography-tandem mass spectrometry (GC-MS/MS) was developed for the determination of nine *N*-nitrosamines in animal derived foods. There are many kinds of *N*-nitrosamines in foods that are harmful

收稿日期: 2020-07-03

* 通讯联系人: Tel: (0592) 6800818; E-mail: Dunmingxu@163.com.

基金项目: 国家重点研发计划 (2019YFC1605400); 食品安全国家标准项目 (spaq-2019-40); 福建省自然科学基金项目 (2017J01020).

Foundation item : National Key Research and Development Program of China (No. 2019YFC1605400); National Food Safety Standard Project (No. spaq-2019-40); Natural Science Foundation of Fujian Province (No. 2017J01020).



徐敦明 厦门海关技术中心研究员, 受聘第二届食品安全国家标准审评委员会委员, 海关总署科技委专业委员, 海关技术规范食品检验专业技术委员会委员、国家燕窝市场专业委员会专家委员、厦门市食品安全委员会专家委员会副主任委员、福建农林大学/集美大学食品安全检测与控制方向硕士生导师。长期从事食品安全研究与检测、食品安全科普, 专业于有毒有害物的分析。近年, 主持参与 35 项与食品安全相关的国家及省部级科技项目, 主持参与 28 项国家标准、行业标准的制修订。发表学术论文 60 余篇, 撰写专著 6 部, 授权专利 10 项, 获各类科技进步奖 17 项、省标准贡献奖 4 项。

to human health. However, the national standard GB 5009.26-2016 pertains only to the detection of *N*-dimethylnitrosamine; there are many drawbacks of this method, such as complicated sample preparation, low recovery rate, and poor reproducibility. Hence, it is of practical significance to establish a method for the simultaneous determination of a variety of *N*-nitrosamines. The optimal extraction conditions for the developed method were as follows: 10.0 g aliquots of the sample were placed in a 50 mL centrifuge tube, followed by the addition of 10 mL acetonitrile and 200 μ L internal working standard solutions. After 30 min of freezing treatment, 4 g magnesium sulfate and 1 g sodium chloride were added for dehydration, and the tube was centrifuged at 9 000 r/min for 5 min. After vortex centrifugation, 5 mL of the clear supernatant was purified using 150 mg polystyrene divinylbenzene (PLS-A). The purified extracts were dewatered using 1.6 g MgSO_4 and 0.4 g NaCl, and then filtered through a 0.22 μm membrane filter unit prior to GC-MS/MS analysis. Temperature-programmed was applied at an initial temperature of 50 $^{\circ}\text{C}$. After 0.16 min, the temperature was raised to 220 $^{\circ}\text{C}$ at the rate of 900 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ for 5 min. *N*-Nitrosamines were separated on an HP-Innowax column (30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25 μm). Identification and quantification were achieved using an electron impact ion (EI) source in positive ion mode with multiple reaction monitoring (MRM). The internal standard method was used to quantify the *N*-nitrosamines. Under the optimal conditions, the correlation coefficients of the standard calibration curves were not less than 0.99 in the range of 0.1–50.0 $\mu\text{g}/\text{L}$. The limits of detection were 0.03–0.30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ($S/N=3$), and limits of quantification were 0.15–1.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ($S/N=10$). At spiked levels of 0.5, 1.0, and 3.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$, the average recoveries of *N*-nitrosamines in spiked samples ranged from 80.4% to 98.5%, with relative standard deviations between 2.41% and 12.50%. This method was used to determine animal derived food products, except *N*-nitrosomethylethylamine and *N*-nitrosomorpholine, others were founded. The results showed that *N*-nitrosamines levels in salted aquatic products were generally higher than those of the other samples. The method established in this study is simple to operate, and it does not require any time-consuming distillation extraction. Furthermore, there is minimal consumption of samples and reagents; consequently, the experiment cost is reduced, and the method is environmentally friendly. This method has theoretical and practical significance for the control of *N*-nitrosamines residues in animal derived foods, establishment of detection standards, and corresponding management measures.

Key words : gas chromatography-tandem mass spectrometry (GC-MS/MS); QuEChERS; *N*-nitrosamines; animal derived foods

亚硝胺是一类含有 *N*-亚硝基 (*N*-NO) 的亚硝基化合物^[1], 广泛存在于饮用水、熏肉制品和腌制蔬菜中^[2]。蛋白质腐败分解时可以产生胺类物质, 因此蛋白质含量丰富的食物往往容易 *N*-亚硝胺类化合物含量超标, 此外经过烟熏、油炸、腌制的动物源性食品也容易产生亚硝胺^[3]。1937 年, Freund^[4] 第一次报道了两例由于职业接触 *N*-亚硝基二甲胺 (NDMA) 而导致中毒的案例, 目前已经证实亚硝胺对生物具有很强的基因毒性, 可诱导人体的食管、肝脏和肾脏等器官发生癌症^[5], 其中 NDMA、*N*-二乙基亚硝胺 (NDEA) 被国际癌症研究机构 (IRAC) 评定为 2A 级致癌物, 其他的 *N*-亚硝胺类化合物为 2B 级致癌物。目前, 我国在 GB 2762-2017 食品安全国家标准 食品中污染物限量》中也对动物源性食品中 NDMA 限量指标做了要求, 其中肉及肉制品 (肉类罐头除外) 的限量为 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 水产动物及其制品 (水产品罐头除外) 的限量为 4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。动物源性食品中的 *N*-亚硝胺类化合物严重危害人体健康, 如何控制动物源性食品生产过程中 *N*-亚硝胺类化合物的产生也是当前 *N*-亚硝胺类化合物研究的重要方向, 开发对 *N*-亚硝胺类化合物含量进行快速检测和定量的技术尤为重要^[6]。

热能分析仪作为基于化学发光设计的专门测定 *N*-亚硝胺类化合物的检测器, 具有检测快速、灵敏度高^[7, 8] 的优点, 但其价格昂贵, 应用范围窄, 且使用过程中经常需要检修和维护, 一般实验室都未配备, 故基于热能分析仪的 *N*-亚硝胺类化合物检测法未能广泛应用。此外, 针对亚硝胺的检测方法还有色谱-核磁法^[9]、电化学检测法^[10-13]、液相色谱法^[14]、液相色谱-质谱法^[15, 16]、气相色谱-氮磷检测器法^[17]、气相色谱-质谱法^[18-20] 等。其中电化学检测方法的精度和灵敏度仍有待提高, 液相色谱-串联质谱法对相对分子质量较小的 *N*-亚硝胺类化合物的响应无法达到要求, 气相色谱-质谱法容易产生 NDMA 假阳性现象, 气相色谱-串联质谱法因其高特异性和高灵敏度, 是目前针对 *N*-亚硝胺类化合物检测最为广泛使用的方法。

N-亚硝胺类化合物的前处理方法主要包括液液萃取法、水蒸气蒸馏萃取法、超临界萃取法和 QuEChERS 等。目前国内对 *N*-亚硝胺类化合物的标准检测方法为 GB 5009.26-2016《食品安全国家标准 食品中 *N*-亚硝胺类化合物的测定》, 其提取方法为水蒸气蒸馏法, 但该方法的样品需求量过大, 操

作过程复杂, 耗时较长, 且回收率波动较大; 朱萌萌等^[21] 采用蒸馏萃取法结合气相色谱-串联质谱法对肉制品中 10 种挥发性 *N*-亚硝胺类化合物进行检测, 可实现蒸馏和提取同时进行, 但仍存在耗时较长和样品用量大等问题, 在面对大量待测样品时具有一定的局限性; 何淑娟等^[22] 和高蕙文等^[23] 利用净化剂对 *N*-亚硝胺类化合物提取液进行净化后氮吹至近干, 但 *N*-亚硝胺类化合物在氮吹至近干时损失较大, 容易造成回收率较低; 李玮等^[24] 使用 *N*-丙基乙二胺 (PSA)、十八烷基键合硅胶 (C18) 和无水硫酸钠对 *N*-亚硝胺类化合物提取液进行净化和除水, 但 PSA 的净化效果较弱, 可能导致定量结果不准确, 硫酸钠除水效果较弱, 可能造成除水不彻底, 从而影响仪器性能。

QuEChERS 是近年来国际上兴起的一种新型农产品检测的快速样品前处理技术, 是利用基质分散萃取机理来吸附样品中的杂质, 从而达到保留目标物和净化样品的目的。本文通过优化样品前处理条件、色谱和质谱条件, 建立了 QuEChERS-同位素稀释-气相色谱-串联质谱同时快速测定动物源性食品中 9 种 *N*-亚硝胺类化合物的方法。该方法具有操作简单、提取高效、更加经济的优点, 可准确、快速测定动物源性食品中的 *N*-亚硝胺类化合物。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

7890 气相色谱-7000 三重四极杆质谱仪 (美国 Agilent 公司); 2-16KL 高速离心机 (德国 Sigma 公司); VORTEX 3 涡旋混匀仪 (德国 IKA 公司)。

乙腈、二氯甲烷、乙酸乙酯均为色谱纯 (德国 Merck 公司); MgSO_4 和 NaCl 均为分析纯 (广州西陇化工有限公司); 聚苯乙烯二乙烯苯聚合物 (PLS-A)、十八烷基键合硅胶吸附剂 (C18) (北京迪马公司); 增强型脂质去除 (EMR) 小柱 (美国 Agilent 公司); 实验用水由 Milli-Q 超纯水系统 (美国 Millipore 公司) 制备。

9 种 *N*-亚硝胺类化合物标准品包括 NDMA、*N*-亚硝基乙基甲基胺 (NMEA)、NDEA、*N*-亚硝基二丁胺 (NDBA)、*N*-亚硝基二丙胺 (NDPA)、*N*-亚硝基吡啶 (NPIP)、*N*-亚硝基吗啉 (NMorPh)、*N*-亚硝基二苯胺 (NDPhA) 及内标 *N*-亚硝基二甲胺- d_6 (NDMA- d_6)、*N*-亚硝基二正丙胺- d_{14} (NDPA- d_{14}) 均购自英国 LGC 公司, 质量浓度均为 1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

1.2 实验方法

1.2.1 标准溶液的配制

将 9 种 *N*-亚硝胺类化合物标准品 (1 000 $\mu\text{g/mL}$) 用乙腈稀释配制成 1.0 $\mu\text{g/mL}$ 的混合标准工作液, 低于 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 避光保存, 有效期 6 个月。

将内标标准品 (1 000 $\mu\text{g/mL}$) 用乙腈稀释配制成 1.0 $\mu\text{g/mL}$ 的内标工作液, 低于 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 避光保存, 有效期 6 个月。

1.2.2 样品前处理

液态样品摇匀后提取处理; 粉状样品直接提取处理; 其他样品取可食部分组织捣碎。将制备好的试样于 $0\sim 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冷藏保存, 待测。

提取 称取 10 g (精确至 0.01 g) 试样, 置于 50 mL 离心管中, 加入 200 μL 内标工作液和 10 mL 乙腈, 涡旋 1 min 混匀, 置于冰箱 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冷冻 30 min, 加入陶瓷均质子 2 粒、4 g MgSO_4 和 1 g NaCl, 涡旋 1 min, 于 $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以 9 000 r/min 离心 5 min, 上清液待净化。

净化 取 150 mg PLS-A 粉末和 5 mL 水, 置于

15 mL 离心管中, 振荡后加入 5 mL 上述上清液, 并涡旋 1 min, 于 $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以 9 000 r/min 离心 5 min。

除水 将净化液转移至另一 15 mL 离心管中, 加入 1.6 g MgSO_4 和 0.4 g NaCl, 涡旋 30 s, 于 $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以 9 000 r/min 离心 5 min, 取 1 mL 上层有机相过 0.22 μm 微孔滤膜, 然后移入进样瓶中上机检测。

1.2.3 分析条件

色谱柱: 毛细管气相色谱柱 HP-Innowax (30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25 μm , 美国 Agilent 公司); 进样口温度 $220\text{ }^{\circ}\text{C}$; 载气: 氦气; 流速 60 mL/min; 溶剂放空模式; 程序升温模式: 初始温度 $50\text{ }^{\circ}\text{C}$, 保持 0.16 min, 以 $900\text{ }^{\circ}\text{C/min}$ 升温至 $220\text{ }^{\circ}\text{C}$, 保持 5 min; 进样量 5 μL 。

电子轰击电离 (EI) 源; 离子源温度 $250\text{ }^{\circ}\text{C}$; 传输线温度 $250\text{ }^{\circ}\text{C}$; 溶剂延迟 6 min; 电子能量 70 eV; 采集模式: MRM 模式。9 种亚硝胺类化合物及内标的保留时间、前体离子、子离子、碰撞能量 (CE) 见表 1。

表 1 9 种 *N*-亚硝胺类化合物及 2 种内标的质谱参数

Table 1 MS/MS parameters of the nine *N*-nitrosamines and two internal standards (IS)

Compound	CAS No.	Retention time/min	Precursor ion (m/z)	Product ions (m/z)	Collision energies/eV	IS
<i>N</i> -Nitrosodimethylamine (NDMA)	62-75-9	6.29	74.0	42.1, 44.0*	19, 3	NDMA-d6
<i>N</i> -Nitrosodimethylamine-d6 (NDMA-d6)	17829-05-9	6.28	80.0	46.1, 50.1*	22, 5	-
<i>N</i> -Nitrosomethylethylamine (NMEA)	10595-95-6	6.65	88.0	42.0, 71.0*	17, 2	NDMA-d6
<i>N</i> -Nitrosodiethylamine (NDEA)	55-18-5	6.88	102.0	56.0, 85.0*	15, 2	NDMA-d6
<i>N</i> -Nitrosodi- <i>n</i> -propylamine (NDPA)	621-64-7	7.98	130.2	43.0, 113.1*	9, 7	NDPA-d14
<i>N</i> -Nitrosodi- <i>n</i> -propylamine-d14 (NDPA-d14)	93951-96-3	7.93	144.1	50.1, 126.1*	11, 1	-
<i>N</i> -Nitrosodi- <i>n</i> -butylamine (NDBA)	924-16-3	9.44	116.0	74.1, 99.0*	8, 2	NDPA-d14
<i>N</i> -Nitrosopiperidine (NPIP)	100-75-4	9.73	114.0	41.0, 84.0*	13, 5	NDPA-d14
<i>N</i> -Nitrosopyrrolidine (NPYR)	930-55-2	9.98	100.0	43.1, 55.1*	9, 5	NDPA-d14
<i>N</i> -Nitrosomorpholine (NMorPh)	59-89-2	10.37	116.2	56.0, 86.1*	11, 5	NDPA-d14
<i>N</i> -Nitrosodiphenylamine (NDPhA)	86-30-6	14.16	169.0	167.1, 168.1*	30, 17	NDPA-d14

* Quantitative ion.

2 结果与讨论

2.1 提取液的选择

N-亚硝胺类化合物相对分子质量较小, 极性较强, 在强极性溶剂中溶解性更强, 常用的提取溶剂有乙腈、二氯甲烷和乙酸乙酯^[25]。实验对这 3 种溶剂进行对比, 结果见图 1。可以看出, 乙腈对 *N*-亚硝胺类化合物的溶解性较强, 对油脂和色素等杂质溶解度相对较小, 提取效率最佳; 乙酸乙酯对极性强的 *N*-亚硝胺类化合物提取效果较差, 且容易与油脂共萃取, 从而对上机造成干扰; 二氯甲烷提取效果差, 且操作中由于挥发性极强容易造成误差。因此本实

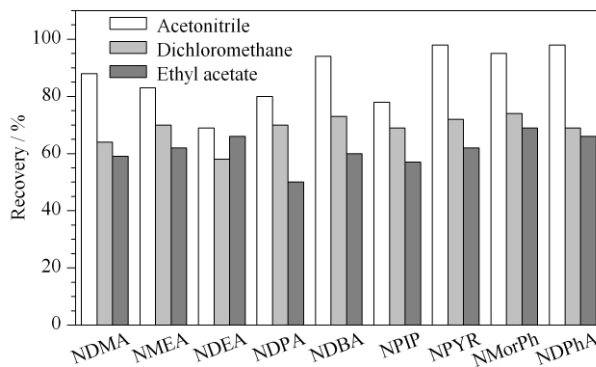


图 1 不同提取溶剂对 9 种 *N*-亚硝胺类化合物回收率的影响
Fig. 1 Effect of different extraction solvents on the recoveries of the nine *N*-nitrosamines

验选择乙腈作为提取溶剂。

2.2 吸附剂的选择

肉制品、水产品等动物源性食品通常含有色素、脂肪酸等复杂基质,很容易影响测定的准确性。C18 通常用来去除脂肪酸、色素,同时吸附非极性化合物,PLS-A 可较好地吸附有机酸、脂肪酸、糖、色素等干扰物质。根据何淑娟等^[22]的研究,本文选取 PLS-A 粉末、C18 粉末和 EMR 小柱对其净化效果进行对比。准备待测样品 3 份,将样品中加入 200 μL *N*-亚硝胺类化合物内标工作液,其中两份样品分别用 150 mg PLS-A 和 150 mg C18 进行净化处理,第三份样品采用 EMR 小柱净化,3 份样品按照 1.2.2 节进行处理,其中 EMR 小柱加入 1 mL 水进行活化后再加入 1.2.2 节的待净化液 4 mL 进行净化,样品回收率见图 2。结果表明,采用 PLS-A 时,净化效果较好,对油脂、色素等杂质的净化效果理想。因此本文采用 PLS-A 作为净化剂。

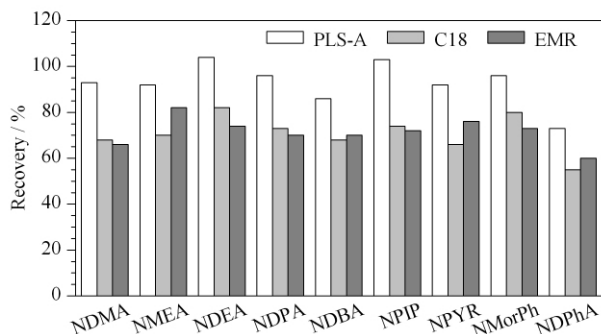


图 2 不同净化方式对 9 种 *N*-亚硝胺类化合物回收率的影响

Fig. 2 Effect of different purification methods on the recoveries of the nine *N*-nitrosamines

PLS-A: polystyrene divinylbenzene polymer; EMR: enhanced lipid removal.

经由 PLS-A 净化后的溶液含水,需除水后才能进行仪器分析。本方法采用 MgSO_4 和 NaCl 作为除水剂。 NaCl 可以增强溶液极性,减小 *N*-亚硝胺类化合物在水中的溶解度,得到更高的萃取效率。 MgSO_4 除水能力更好,但在吸水过程中会大量放热,亚硝胺在高温条件下易挥发,减少 MgSO_4 的用量可减少损失,但减少过多又容易导致除水不彻底。经对比研究最终采用 1.6 g MgSO_4 和 0.4 g NaCl 除水。

2.3 色谱、质谱条件的选择

参考翟孟婷等^[26]的研究结果,选用毛细管气相色谱柱 HP-Innowax (30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25 μm)。按 1.2.3 节条件对 9 种 *N*-亚硝胺类化合物进行测定,得到总离子流色谱图和 MRM 色谱图(见图 3)。

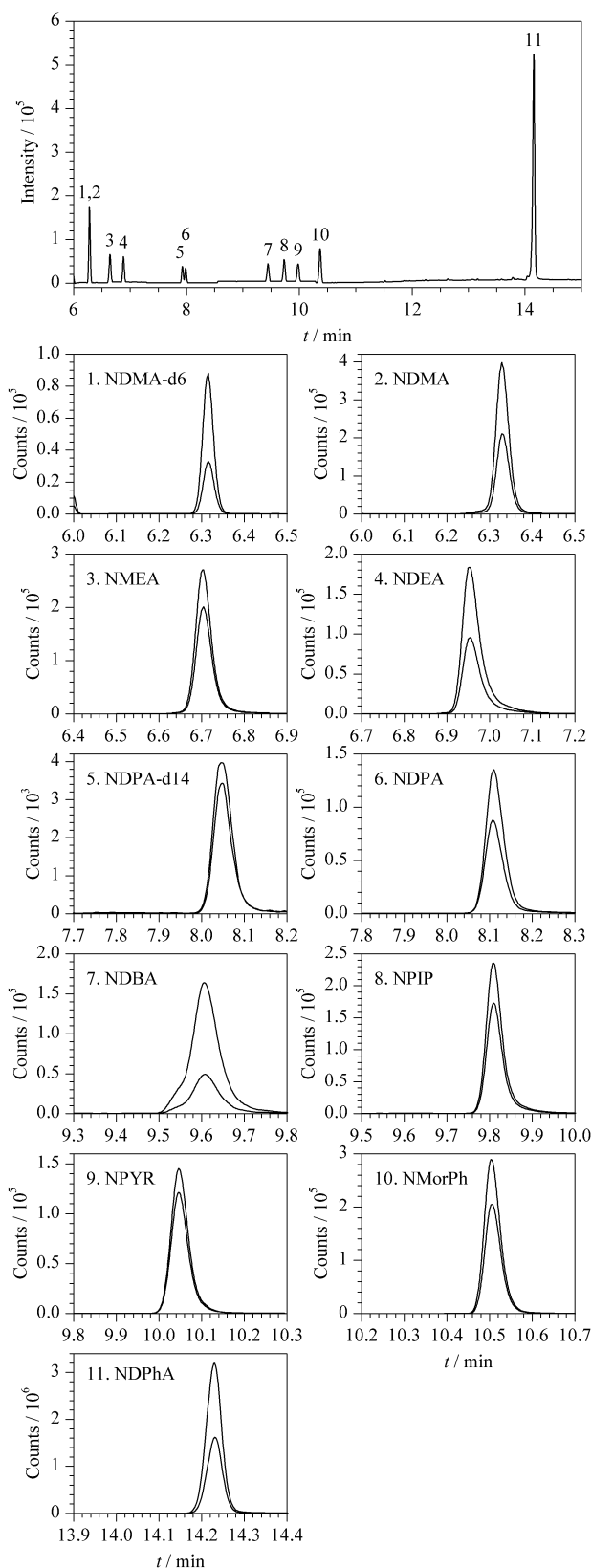


图 3 9 种 *N*-亚硝胺类化合物及其内标的总离子流和 MRM 色谱图 (10 $\mu\text{g/L}$)

Fig. 3 Total ion current and MRM chromatograms of the nine *N*-nitrosamines and their IS (10 $\mu\text{g/L}$)

2.4 基质效应

基质效应 (ME) 是指在测定过程中, 由于待测成分的离子化效应被改变, 从而信号受到增强或者抑制的现象。基质效应会影响结果的准确度。本文参考 Al-Kaseem 等^[14]的方法, 采用标准曲线法 (基质效应 = 基质匹配溶液斜率与溶剂标准溶液斜率的比值 $\times 100\%$) 来考察 *N*-亚硝胺类化合物在动物源性食品中的基质效应。ME 值在 85% ~ 115% 之间可认为该基质不存在基质效应。用空白样品提取液作为标准溶液的稀释溶液, 使标准溶液和样品溶液的离子化效应相同。结果表明, 9 种 *N*-亚硝胺类化合物的 ME 值均小于 70%, 可认为亚硝胺在动物源性食品中表现出较强的基质抑制效应, 为确保测定的准确性, 本文采用内标法进行准确定量。

2.5 标准曲线、检出限和定量限

精密吸取 9 种 *N*-亚硝胺类化合物混合标准工作液和内标工作溶液适量, 用乙腈稀释成质量浓度为 0.1、0.5、1.0、5.0、20.0 和 50.0 $\mu\text{g/L}$ 的系列混合标准溶液, 其中内标的质量浓度均为 20.0 ng/mL , 实验按浓度由低到高的顺序进样分析。以 *N*-亚硝胺类化合物及其对应氘代同位素内标的浓度比值为横坐标, 以 *N*-亚硝胺类化合物及其对应氘代同位素内标的峰面积比值为纵坐标, 绘制标准曲线, 从而获得线性方程和相关系数 (R^2), 见表 2。结果表明, 线性相关系数均不小于 0.99, 说明 *N*-亚硝胺类化合物在 0.1 ~ 50.0 $\mu\text{g/L}$ 范围内有良好的线

性关系。以定量离子信噪比 (S/N) 为 3 和 10 时的响应定义方法的检出限 (LOD) 和定量限 (LOQ), 9 种 *N*-亚硝胺类化合物的检出限和定量限分别为 0.03 ~ 0.30 $\mu\text{g/kg}$ 和 0.10 ~ 1.00 $\mu\text{g/kg}$ 。

表 2 9 种 *N*-亚硝胺类化合物的线性方程、相关系数、检出限和定量限

Table 2 Linear equations, correlation coefficients (R^2), limits of detection (LODs) and limits of quantification (LOQs) of the nine *N*-nitrosamines

Compound	Linear equation	R^2	LOD/ ($\mu\text{g/kg}$)	LOQ/ ($\mu\text{g/kg}$)
NDMA	$y = 0.96x + 0.04$	0.997	0.05	0.15
NMEA	$y = 0.87x + 0.04$	0.996	0.10	0.30
NDEA	$y = 0.68x + 0.03$	0.997	0.10	0.30
NDPA	$y = 1.57x + 0.08$	0.996	0.10	0.30
NDBA	$y = 2.76x + 0.23$	0.990	0.10	0.30
NPIP	$y = 2.92x + 0.14$	0.996	0.30	1.00
NPYR	$y = 1.80x + 0.08$	0.996	0.20	0.60
NMorPh	$y = 3.72x + 0.19$	0.996	0.10	0.30
NDPhA	$y = 37.57x + 1.68$	0.997	0.03	0.10

y : peak area ratio of the quantitative ion of the analyte to the internal standard; x : mass concentration ratio of the analyte to the internal standard.

2.6 准确度和精密度

按照前述方法, 对不含 *N*-亚硝胺类化合物的鱼肉、虾肉、牛肉和腊肠等 4 种空白样品进行添加回收试验, 设定添加水平为 0.5、1.0、3.0 $\mu\text{g/kg}$, 考察方法的准确度和精密度, 结果见表 3。结果表明, 9 种 *N*-亚硝胺类化合物的回收率为 80.4% ~ 98.5%, RSD 为 2.41% ~ 12.50%, 方法准确度和精密度良好。

表 3 9 种 *N*-亚硝胺类化合物在动物源性食品中的添加回收率和相对标准偏差 ($n=6$)

Table 3 Spiked recoveries and RSDs of the nine *N*-nitrosamines in animal derived foods ($n=6$)

Analyte	Spiked/ ($\mu\text{g/kg}$)	Fish		Shrimp		Beef		Preserved pork	
		Recovery/%	RSD/%	Recovery/%	RSD/%	Recovery/%	RSD/%	Recovery/%	RSD/%
NDMA	0.5	85.9	9.58	88.5	10.80	86.5	11.80	84.1	10.80
	1.0	85.3	3.51	96.3	8.51	84.3	7.51	82.3	6.51
	3.0	97.1	3.10	92.0	5.14	91.1	3.14	95.1	2.41
NMEA	0.5	86.5	10.20	86.5	11.50	82.4	8.11	89.5	12.50
	1.0	92.5	4.12	91.2	7.85	92.0	4.55	90.1	5.11
	3.0	96.4	2.85	97.3	2.45	96.0	2.82	95.4	2.74
NDEA	0.5	89.7	10.70	89.5	9.23	83.5	11.60	84.1	11.40
	1.0	90.4	3.57	92.4	6.88	94.1	5.98	93.1	3.78
	3.0	97.6	2.77	96.5	2.85	98.5	2.96	97.5	2.78
NDPA	0.5	91.4	11.10	88.5	9.44	89.8	9.04	85.2	11.20
	1.0	94.1	7.45	95.2	8.55	96.3	8.87	94.2	8.51
	3.0	98.4	3.74	98.5	3.25	97.2	3.71	97.2	3.28
NDBA	0.5	90.7	9.85	82.1	8.51	83.7	7.61	87.2	10.20
	1.0	92.8	7.56	91.4	7.44	92.8	7.74	91.4	7.94
	3.0	97.5	2.88	97.1	4.12	98.5	3.52	96.5	3.87

表 3 (续)
Table 3 (Continued)

Analyte	Spiked/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Fish		Shrimp		Beef		Preserved pork	
		Recovery/%	RSD/%	Recovery/%	RSD/%	Recovery/%	RSD/%	Recovery/%	RSD/%
NPIP	0.5	94.5	8.57	81.1	9.21	84.5	8.11	92.5	9.18
	1.0	93.4	8.35	92.8	6.89	97.1	7.05	95.2	9.00
	3.0	96.3	3.04	95.6	3.57	96.3	3.54	95.4	3.95
NPYR	0.5	82.5	9.88	85.2	9.77	89.7	12.40	96.5	9.04
	1.0	92.7	8.57	89.5	6.22	90.5	8.95	92.5	8.44
	3.0	97.4	3.98	95.6	5.47	96.5	3.57	95.2	4.12
NMorPh	0.5	85.5	8.35	88.5	9.02	82.8	8.93	95.4	8.21
	1.0	89.3	6.54	89.2	4.58	89.5	5.23	86.8	5.89
	3.0	95.3	3.52	94.8	3.28	95.1	4.57	90.4	3.75
NDPhA	0.5	80.4	8.04	84.3	7.81	88.5	6.83	95.4	7.98
	1.0	92.0	3.47	86.0	5.14	89.7	6.52	85.8	7.14
	3.0	98.1	3.07	94.5	2.58	97.1	2.56	85.4	2.71

2.7 实际样品检测

按照本文建立的方法对采集的 60 批动物源性食品,包括肉糜、腌制肉制品、水产制品等样品进行分析,有 18 批样品中检出 *N*-亚硝胺类化合物(见表 4)其中 NDMA、NDBA、NPIP、NPYR、NDPhA 的检出率最高,且部分腌制水产品的 NDMA 含量高出我国 GB 2762-2017《食品安全国家标准 食品中污染物限量》中的限量值($\text{NDMA} \leq 3 \mu\text{g}/\text{kg}$),其中腌制鲑鱼丝样品中的 NDMA 含量甚至高达 $7.93 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。

表 4 实际样品中 9 种 *N*-亚硝胺类化合物的检测结果
Table 4 Detected results of the nine *N*-nitrosamines in real samples

Compound	Contents/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)		
	Meat paste	Pickled bacon	Aquatic products
NDMA	0.05-1.13	0.70-4.65	0.30-7.93
NMEA	ND	ND	ND
NDEA	0-2.42	0-3.27	0.10-2.55
NDPA	0.12-1.41	0.03-0.88	0-1.33
NDBA	0-1.72	0-1.65	0-3.16
NPIP	0-1.06	0-1.95	0-1.84
NPYR	0.45-2.42	0-1.35	0-4.38
NMorPh	ND	ND	ND
NDPhA	0-2.01	0-1.84	0-2.01

ND : not detected.

3 结论

建立了 QuEChERS-同位素稀释-GC-MS/MS 测定动物源性食品中 9 种 *N*-亚硝胺类化合物残留的方法。方法的回收率和精密度良好,线性范围广,重复性好,检出限低,可以同时检测 9 种 *N*-亚硝胺类化合物快速地进行定性和定量分析,从而为动物源性食品中 *N*-亚硝胺类化合物含量的安全评价提供依据。

参考文献:

- [1] Ma Q, Xi H, Wang C, et al. Chinese J Anal Chem, 2011, 39 (8): 1201
- [2] Editorial Board. J Hazard Mater, 2011, 189 (1/2): O2
- [3] Honikel K. Meat Sci, 2008, 78 (1/2): 68
- [4] Freund H A. Ann Intern Med, 1937, 10 (8): 1144
- [5] Demirci S, Dogan A, Basak N, et al. Anti-Cancer Drug, 2015, 26 (5): 555
- [6] Anal A K, Perpetuini G, Petchkongkaew A, et al. Food Control, 2020, 109: 106922
- [7] Zhang H, Yang B G. Food Research and Development, 2014, 35 (24): 125
张红, 杨保刚. 食品研究与开发, 2014, 35 (24): 125
- [8] Andrade R, Reyes F G R, Rath S. Food Chem, 2005, 91 (1): 173
- [9] Planks C, Palacios O, Ventura F, et al. Talanta, 2008, 76 (4): 906
- [10] Irandoust M, Haghighi M, Taherpour A A, et al. Adv Mater Sci Eng: C, 2019, 99: 211
- [11] Xiang X M, Pan F P, Du Z C, et al. J Electroanal Chem, 2019, 855: 113632
- [12] Zhou Y, Ma M Y, He H P, et al. Biosens Bioelectron, 2019, 146: 111751
- [13] Liu H, Wen J, Huang Z, et al. Chinese J Anal Chem, 2019, 47 (6): e19066
- [14] Al-Kaseem M, Al-Assaf Z, Karabeet F. Pharmacology, 2014, 5 (3): 298
- [15] Kuhne F, Kappenstein O, Strabetagutl S, et al. Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess, 2018, 35 (4): 792
- [16] Zhang W W, Zhao C H, Fu M, et al. Physical Testing and Chemical Analysis Part B: Chemical Analysis, 2019, 55 (9): 1028
张伟伟, 赵春华, 付萌, 等. 理化检验 (化学分册), 2019, 55 (9): 1028
- [17] Ozel M Z, Gogus F, Yagci S, et al. Food Chem Toxicol,

- 2010, 48 (11): 3268
- [18] Zhang Q, Jin L, Zhang F, et al. Food Control, 2019, 98: 342
- [19] Roasa J, Liu H, Shao S. Food Addit Contam A, 2019, 36 (3): 396
- [20] Hong Y, Kim K H, Sang B, et al. Environ Pollut, 2017, 226: 324
- [21] Zhu M M, Ye Q, Zhou T T, et al. Chinese Journal of Chromatography, 2019, 37 (2): 207
朱萌萌, 叶群, 周婷婷, 等. 色谱, 2019, 37 (2): 207
- [22] He S J, Zhao L M, Li Q, et al. Meat Research, 2015, 29 (1): 27
何淑娟, 赵丽敏, 李强, 等. 肉类研究, 2015, 29 (1): 27
- [23] Gao H W, Lu L S, Yuan H F. Physical Testing and Chemical Analysis Part B: Chemical Analysis, 2019, 55 (6): 655
高蕙文, 陆丽莎, 袁荷芳. 理化检验 (化学分册), 2019, 55 (6): 655
- [24] Li W, Jia Y B, Li J, et al. Chinese Journal of Food Hygiene, 2019, 31 (2): 141
李玮, 贾彦博, 励炯, 等. 中国食品卫生杂志, 2019, 31 (2): 141
- [25] Zhao Z, Xu Y B, Liu X H, et al. Chinese Journal of Chromatography, 2017, 35 (10): 1086
赵庄, 许杨彪, 刘向红, 等. 色谱, 2017, 35 (10): 1086
- [26] Zhai M T, Wang Z Y, Xu R, et al. Journal of Chinese Mass Spectrometry Society, 2018, 39 (3): 351
翟孟婷, 王宗义, 徐芮, 等. 质谱学报, 2018, 39 (3): 351