

PTV-GC-MS/MS 法测定肉制品中 N- 亚硝胺

GCMSMS-102

摘要：本文建立了程序升温进样 – 三重四极杆气相色谱质谱联用仪 (PTV-GC-MS/MS) 同时测定肉制品中 9 种 N- 亚硝胺类化合物含量的内标方法。结果表明：在 5~200 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内，各组分线性相关系数 r 均在 0.9992 以上。对 5 $\mu\text{g/L}$ N- 亚硝胺类化合物标准溶液进行重复性实验，各组分与内标物峰面积比值的相对标准偏差 (RSD%) 在 5.27% ($n=5$) 以下，9 种 N- 亚硝胺类化合物的最低检出限 (LOD) 分布在 1.13 $\mu\text{g/L}$ 以下，在 5 $\mu\text{g/kg}$ 加标浓度下，各组分的回收率分布在 63.2~98.3% 之间，此方法可为肉制品中 N- 亚硝胺类化合物的准确测定提供参考。

关键词：PTV GC-MS/MS N- 亚硝胺 肉制品

亚硝胺类化合物是具有 $\text{R}_2(\text{R}_1)\text{N}-\text{N}=\text{O}$ ，结构的强致癌有机化合物，在食品加工和贮藏过程中，由亚硝酸盐和次级胺类物质经过一定的反应生成，常见于腌制、烟熏和烘烤等肉制品中。GB 2762-2012 《食品安全国家标准 食品中污染物限量》规定肉及肉制品中 N- 二甲基亚硝胺含量不得超过 3 $\mu\text{g/kg}$ 。

N- 亚硝胺检测方法有气相色谱热能分析仪联用法 (GC-TEA)、气相色谱质谱联用法 (GC-MS)、气相色谱串联质谱法 (GC-MS/MS)、液相色谱法 (HPLC)、液相色谱串联质谱法 (LC-MS/MS)。GB/T 5009.26-2003

《食品中 N- 亚硝胺类的测定》采用 GC-TEA 和高分辨 GC-MS 两种方法检测食品中 N- 亚硝胺，两种方法，样品前处理浓缩倍数高，操作复杂。

本文基于岛津程序升温进样 – 三重四极杆气相色谱质谱联用仪 PTV-GCMS-TQ8040，建立了测定肉制品中 9 种 N- 亚硝胺类化合物的内标方法。此方法的优点是样品前处理操作简单，实验结果受化学干扰小，灵敏度高，可为肉制品中 N- 亚硝胺类化合物快速准确地测定提供参考。

实验部分

1.1 仪器

GCMS-TQ8040 三重四极杆气质联用仪

1.2 分析条件

PTV 进样口温度程序：40 $^{\circ}\text{C}$ (0.07 min)_200 $^{\circ}\text{C}$ /
min_240 $^{\circ}\text{C}$ (17 min)

分流阀分流程序：0-0.06 min 分流比 10:1
0.06-2.5 min 分流阀关闭
2.5 min- 分析结束 分流比 10:1

GC-MS 条件：

色谱柱：WondaCAP WAX, 30 m \times 0.25 mm
 \times 0.25 μm

柱温程序：40 $^{\circ}\text{C}$ (2.5 min)_20 $^{\circ}\text{C}$ /min_100 $^{\circ}\text{C}$ _10 $^{\circ}\text{C}$ /
min _190 $^{\circ}\text{C}$ _20 $^{\circ}\text{C}$ /min_250(6 min)

柱流量：1.0 mL/min

溶剂切割时间：6.5 min

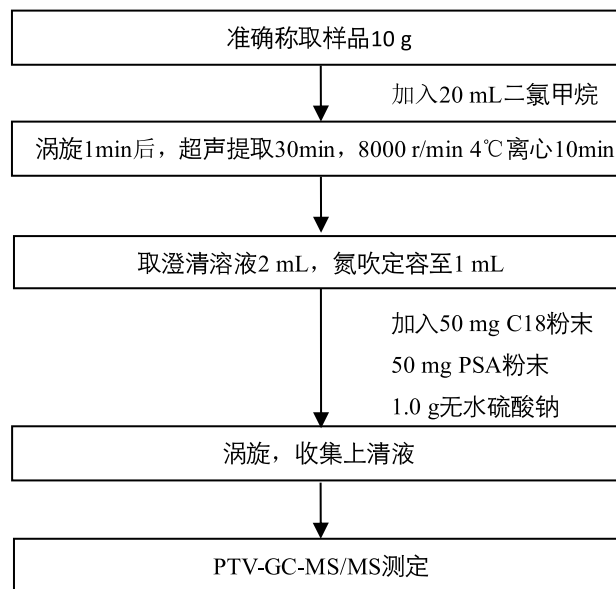
检测器电压：调谐电压 +0.6 kV

离子源温度：200 $^{\circ}\text{C}$

接口温度：240 $^{\circ}\text{C}$

采集方式：MRM，见表 1

1.2 样品前处理



■ 结果讨论

2.1 标准样品的 MRM 图

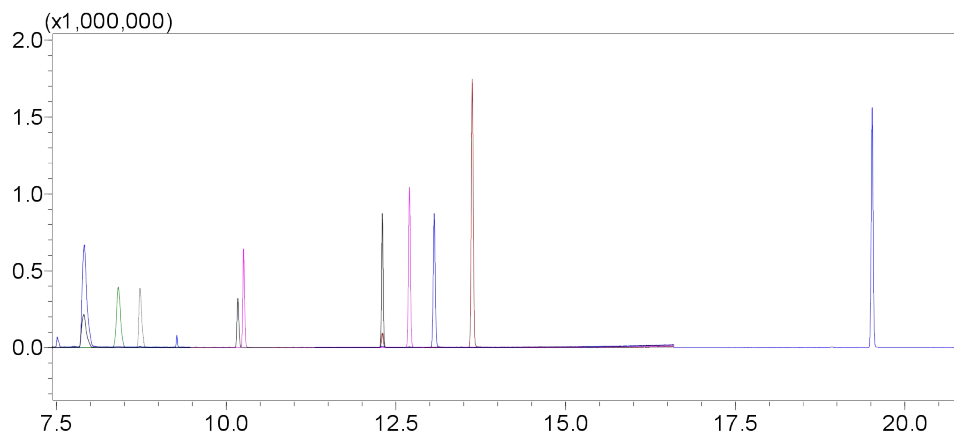


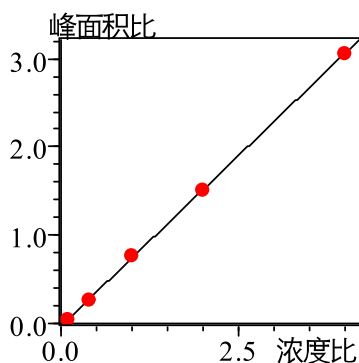
图1 N-亚硝胺类化合物MRM图 (200 $\mu\text{g/L}$)

表1 N-亚硝胺类化合物及内标物保留时间及MRM参数

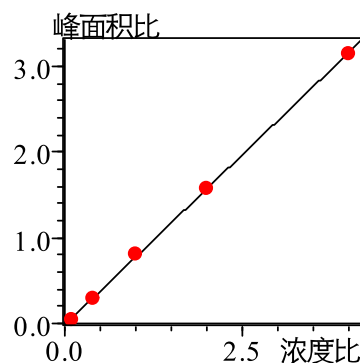
No.	化合物	英文名称	CAS 号	英文缩写	保留时间 (min)	定量离子对	CE	定性离子对	CE
1	N-二甲基亚硝胺-d6	N-Nitrosodimethylamine-d6	17829-05-9	NDMA-d6	7.915	80.00>50.10	8	80.00>46.10	18
2	N-二甲基亚硝胺	N-Nitrosodimethylamine	62-75-9	NDMA	7.925	74.00>44.00	7	74.00>42.10	18
3	N-甲基乙基亚硝胺	N-Nitrosomethylamine	10595-95-6	NMEA	8.425	88.00>71.10	6	88.00>73.10	8
4	N-二乙基亚硝胺	N-Nitrosodiethylamine	55-18-5	NDEA	8.745	102.00>85.10	6	102.00>87.10	8
5	N-二丙基亚硝胺-d14	N-Nitrosodipropylamine-d14	93951-96-3	NDPA-d14	10.185	144.00>126.20	4	144.00>50.10	12
6	N-二丙基亚硝胺	N-Nitrosodipropylamine	621-64-7	NDPA	10.270	130.00>113.10	4	130.00>88.10	4
7	N-二丁基亚硝胺	N-Nitrosodibutylamine	924-16-3	NDBA	12.320	158.00>99.10	8	158.00>141.20	4
8	N-亚硝基哌啶	N-Nitrosopiperidine	100-75-4	NPIP	12.730	114.00>84.10	8	114.00>55.10	20
9	N-亚硝基吡咯烷	N-Nitrosopyrrolidine	930-55-2	NPYR	13.095	100.00>55.10	8	100.00>70.10	8
10	N-亚硝基吗啉	N-Nitrosomorpholine	59-89-2	NMorPh	13.655	116.00>86.10	4	86.00>56.10	8
11	N-二苯基亚硝胺	N-Nitrosodiphenylamine	86-30-6	NDPhA	19.545	169.00>167.10	26	168.00>166.10	28

2.2 标准曲线与质量色谱图

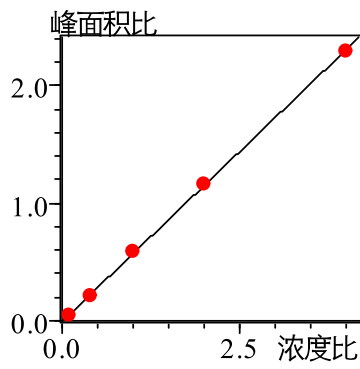
用二氯甲烷配置浓度为 5、20、50、100、200 $\mu\text{g/L}$ 的混合标准溶液，取 2 μL 标准溶液进样，以目标组分与内标物浓度比值为横坐标，目标组分与内标物峰面积比值为纵坐标，绘制标准曲线，9 种 N-亚硝胺类化合物标准曲线及质量色谱图如图 2 所示；浓度为 5 $\mu\text{g/L}$ 的混标连续进样 6 针，计算各组分峰面积的重复性。标准曲线方程、线性相关系数、检出限及重复性结果见表 2。



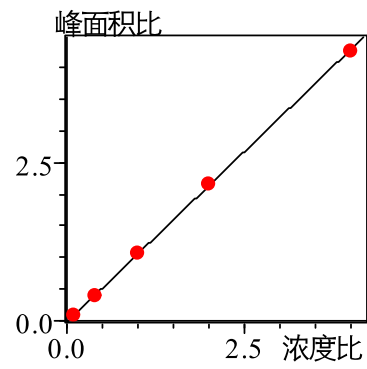
NDMA



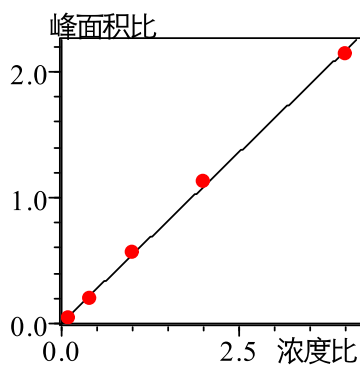
NMEA



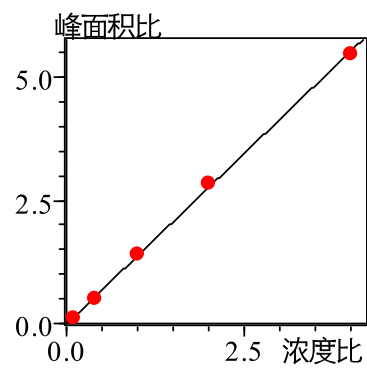
NDEA



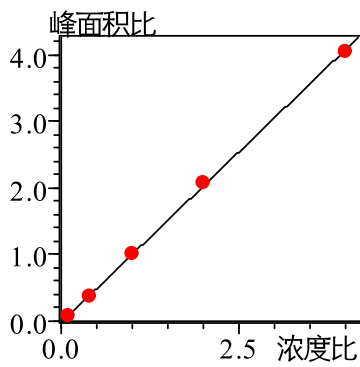
NDPA



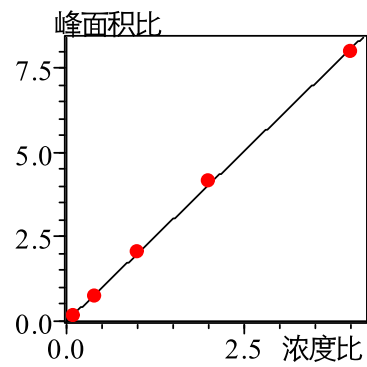
NDBA



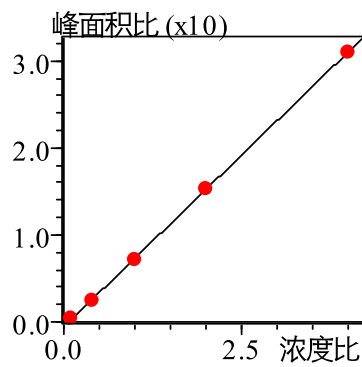
NPIP



NPYR



NMorPh



NDPhA

2.3 重复性实验

对浓度为 5 $\mu\text{g/L}$ 的 9 种 N-亚硝胺标准混合溶液连续进样 6 次，考察重复性，测定结果见表 2 中峰面积比 RSD%。

2.4 回收率

在待测样品中添加 9 种 N-亚硝胺标准混合溶液，添加水平为 5 $\mu\text{g/kg}$ ，加标样品平行处理 3 份，样品的加标回收率结果见表 3。

表3 回收率实验结果

No.	化合物	添加浓度 5 $\mu\text{g/kg}$	
		平均回收率(%)	RSD (%) (n=3)
1	N-二甲基亚硝胺	74.4	3.98
2	N-甲基乙基亚硝胺	68.8	1.53
3	N-二乙基亚硝胺	69.3	4.47
4	N-二丙基亚硝胺	80.7	3.41
5	N-二丁基亚硝胺	63.2	4.58
6	N-亚硝基哌啶	69.5	5.62
7	N-亚硝基吡咯烷	65.5	4.22
8	N-亚硝基吗啉	75.0	3.12
9	N-二苯基亚硝胺	63.0	2.70

2.5 样品测试结果

取待测样品 10 g，按 1.2 样品前处理流程处进行样品前处理，PTV-GC-MS/MS 测定，样品定量结果如图 4 和表 4 所示。

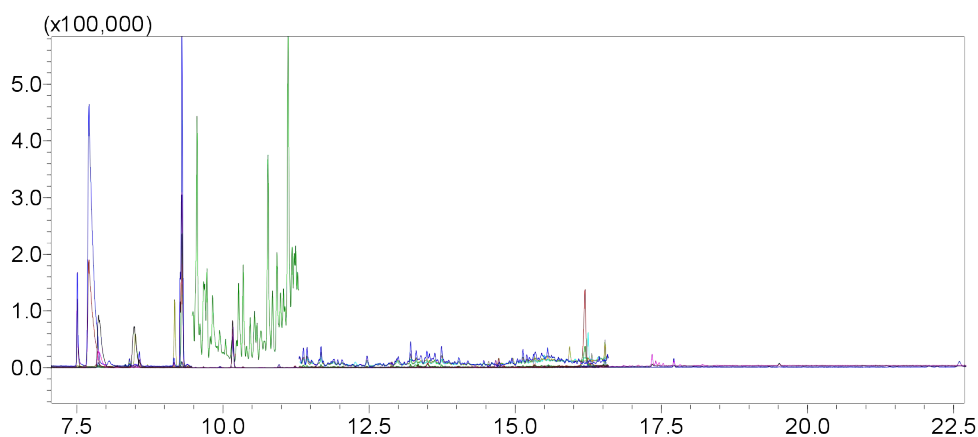


图4 样品MRM图

表4 样品测试结果

No.	化合物	定量结果 (μg/kg)
1	N-二甲基亚硝胺	N.D.
2	N-甲基乙基亚硝胺	1.48
3	N-二乙基亚硝胺	N.D.
4	N-二丙基亚硝胺	N.D.
5	N-二丁基亚硝胺	N.D.
6	N-亚硝基哌啶	N.D.
7	N-亚硝基吡咯烷	N.D.
8	N-亚硝基吗啉	N.D.
9	N-二苯基亚硝胺	1.11

N.D.表示未检出

■ 结论

采用岛津公司程序升温进样口 – 三重四极杆气相色谱质谱联用仪 (PTV-GCMS-TQ8040) 对肉制品中 9 种 N-亚硝胺类化合物进行测定。通过 PTV 进样口将二氯甲烷溶剂去除, 结合串联质谱多反应监测 (MRM) 模式, 在简化样品前处理过程的前提下, 可有效去除溶剂和基质干扰, 9 种 N-亚硝胺类化合物的检测限分布在 1.13 μg/L 及以下, 在 5 μg/kg 加标浓度下, 各组分加标回收率分布在 63.2~80.7% 之间, 此方法定量准确、灵敏度高, 可满足肉制品中 N-亚硝胺类化合物的检测要求。