

邵明华, 马海建, 张 腾, 等. 基于冷冻技术的 QuEChERS 方法结合 GC-MS 测定腊肠中 7 种亚硝胺含量[J]. 江苏农业学报, 2017, 33(4): 938-944.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2017.04.033

## 基于冷冻技术的 QuEChERS 方法结合 GC-MS 测定腊肠中 7 种亚硝胺含量

邵明华, 马海建, 张 腾, 江晨舟

(上海安谱实验科技股份有限公司, 上海 201600)

**摘要:** 本研究建立了气相色谱-质谱联用仪(GC-MS)快速测定腊肠肉制品中 7 种 *N*-亚硝胺类化合物的分析方法, 建立并优化了冷冻液液萃取结合 QuEChERS 方法的前处理条件, 考察了色谱柱、提取溶剂、固相吸附填料以及冷冻液液萃取对检测结果的影响。结果表明, 优化后的检测方法操作简便, 7 种 *N*-亚硝胺检出限均在 0.001  $\mu\text{g/g}$  左右, 线性范围在 0.01~0.50  $\mu\text{g/g}$ , 线性相关系数可达 0.999 2 以上, 回收率达到 82.20%~105.15%, 相对标准偏差为 2.56%~3.89%, 重现性良好。该方法可操作性强, 稳定性好, 适用于肉制品中 *N*-亚硝胺类化合物的批量检测分析。

**关键词:** 腊肠; 气相色谱-质谱法(GC-MS); 冷冻液液萃取; *N*-亚硝胺类化合物

中图分类号: O657.7<sup>+</sup>1 文献标识码: A 文章编号: 1000-4440(2017)04-0938-07

## Determination of seven nitrosamines in sausages by frozen liquid-liquid extraction-QuEChERS method combined with GC-MS

SHAO Ming-hua, MA Hai-jian, ZHANG Teng, JIANG Chen-zhou

(ANPEL Laboratory Technologies <Shanghai> Inc., Shanghai 201600, China)

**Abstract:** In this study, an optimized analytical method of gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) combining frozen liquid-liquid extraction-QuEChERS for sample pretreatment was established for the determination of seven *N*-nitrosamines in sausage meat products. The limits of detections of seven *N*-nitrosamines were about 0.001  $\mu\text{g/g}$ , with the linear range of 0.01–0.50  $\mu\text{g/g}$ , and the linear correlation coefficient more than 0.999 2. The recoveries of seven *N*-nitrosamines were 82.20%–105.15% with the relative standard deviations of 2.56%–3.89%. The method is easy to operate and stable, suitable for batch analysis of *N*-nitrosamines in meat products.

**Key words:** sausage; gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS); frozen liquid-liquid extraction; *N*-nitrosamines

*N*-亚硝胺类化合物是一类食物中危害性极高的化合物, 亚硝胺和苯并芘、黄曲霉毒素并称世界三大

强致癌物质, 其在饮用水、肉制品、腌制蔬菜等食品中均有存在<sup>[1-3]</sup>。其一般结构为  $\text{R}_2(\text{R}_1)\text{N}-\text{N}=\text{O}$ , 其中 *N*-二甲基亚硝胺和 *N*-二乙基亚硝胺极易导致人体器官发生癌变, 影响人体的消化及代谢系统, 在经烟熏、油炸、烘烤和腌制等加工和贮藏之后的食品中较容易产生<sup>[2]</sup>。腊肠在中国有悠久的历史, 因其腌制食品的独特风味, 以及具有相对较长保鲜期的优

收稿日期: 2017-02-12

作者简介: 邵明华(1968-), 男, 上海松江人, 学士, 工程师, 研究方向为分析化学。(E-mail) shaominghua@anpel.com.cn

通讯作者: 江晨舟, (E-mail) brucehom@126.com

点,深受中国消费者和生产厂商的喜爱。其制作工艺中经常会使用到硝酸盐和亚硝酸盐,作为防腐剂和发色剂,腌制和贮藏过程中在微生物的作用下会发生蛋白质和氨基酸降解产生胺类物质,在适宜的条件下,亚硝酸盐与胺类发生亚硝基化作用从而生成具有强致癌性的 *N*-亚硝胺物质<sup>[3]</sup>。有报道指出中国一些地区胃癌和食管癌发病率较高可能和当地居民喜欢食用烟熏肉和腌制食品等习惯有关<sup>[4-5]</sup>。

目前,*N*-亚硝胺类化合物的检测方法有气相色谱法<sup>[6]</sup>、气相色谱-质谱法<sup>[7-9]</sup>、高效液相色谱-质谱法<sup>[10]</sup>、气相色谱-热能分析法<sup>[11]</sup>等。国标 GB/T 5009.26-2003《食品中 *N*-亚硝胺类的测定》<sup>[11]</sup>中气相色谱-热能检测器的检测方法其前处理较为复杂耗时,仪器成本较高,实际可操作性并不强,而气相色谱-质谱联用法(Gas chromatography-mass spectrometer, GC-MS)是目前较为常见的亚硝胺类化合物检测方法。常见食品中亚硝胺的提取纯化方法主要有水蒸气蒸馏法<sup>[12-13]</sup>、低温真空蒸馏法<sup>[14]</sup>、液液萃取法<sup>[15]</sup>、超声波萃取法<sup>[16]</sup>、固相萃取法<sup>[17]</sup>及固相微萃取法<sup>[9]</sup>等。冷冻液液萃取是在常规液液萃取的基础上加入低温净化的步骤,依据区域熔炼技术的原理,利用目标化合物和脂肪、蛋白质等物质在熔点上的差别,使干扰物会在低温下的水相中凝结成冰,而目标化合物则在有机相中得到富集<sup>[18]</sup>。Rübensam 等<sup>[19]</sup>运用液液萃取-低温净化的方法对牛奶中 5 种大环内酯类抗生素的提取进行了优化。另外,冷冻液液萃取技术在水产品<sup>[20]</sup>、蔬菜<sup>[21]</sup>和油<sup>[22]</sup>等食品农药残留或兽药残留检测中的应用在文献中也有所报道。QuEChERS(Quick, easy, cheap, effective, rugged, safe)方法也是一种在果蔬和肉制品的农药残留和兽药残留检测中常用的简便有效、稳定快速的前处理方法,是利用基质分散萃取机理将固相萃取吸附剂分散到样品的萃取液中,从而达到吸附干扰物,保留目标物,净化样品的目的<sup>[23-24]</sup>。由于肉类食品基质的复杂性,特别是油脂含量大,合适的前处理方法对亚硝胺准确检测非常重要,目前,已有报道中关于固相萃取方法净化食品中亚硝胺类化合物的研究相对较多<sup>[2,17]</sup>。本研究拟建立一种基于冷冻技术的 QuEChERS 的方法对腊肠中亚硝胺类化合物进行提取,GC-MS 分析检测的新方法,为腊肠等肉类食品中亚硝胺类化合物的检测提供新方法。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

市售腊肠,2016 年 6 月购买于上海市松江区叶榭镇一心玛特超市。

7 种 *N*-亚硝胺类化合物混标,其中含有 *N*-亚硝基二甲胺(*N*-nitrosodimethylamine, NDMA)、*N*-亚硝基甲乙胺(*N*-nitrosomethylethylamine, NMEA)、*N*-亚硝基二乙胺(*N*-nitrosodiethylamine, NDEA)、*N*-亚硝基二丙胺(*N*-nitrosodi-n-propylamine, NDPA)、*N*-亚硝基二正丁胺(*N*-nitrosodi-n-butylamine, NDBA)、*N*-亚硝基哌啶(*N*-nitrosopiperidine, NPPI)、*N*-亚硝基吡咯烷(*N*-nitrosopyrrolidine, NPYR),二氯甲烷(色谱纯),乙酸乙酯(色谱纯),乙腈(色谱纯),甲酸铵(分析纯),硫酸镁(分析纯),C<sub>18</sub>填料,乙二胺-*N*-丙基硅烷(primary secondary amine, PSA)填料均购自上海安谱实验科技股份有限公司。

### 1.2 仪器与设备

Thermo ISQ1300 气质联用仪(美国赛默飞世尔科技公司生产),TDL-40C 台式大容量离心机(上海安亭科学仪器厂生产),旋涡混合仪(美国 Talboys 公司生产),XS105 电子天平(瑞士梅特勒公司生产)。

### 1.3 方法

1.3.1 样品前处理 准确称取经绞碎混匀后的腊肠样品 5.0 g,置于 50 ml 离心管中,加入 10 ml 超纯水和 10 ml 萃取溶剂,再加入 3 g 甲酸铵,旋涡混合 2 min,超声 30 min,然后于 4 000 r/min 条件下离心 10 min,将样品置于 -20 ℃ 冰箱中冷冻 16 h,进行冷冻液液萃取。

取出冷冻后的样品,迅速量取 5 ml 上层乙腈溶液置于 15 ml 离心管中,加入 QuEChERS 基质分散净化填料(500 mg PSA, 300 mg C<sub>18</sub>, 100 mg MgSO<sub>4</sub>),涡旋混合 2 min,4 000 r/min 条件下离心 5 min,取上清液进行上机检测。

1.3.2 标准溶液的制备 取适量的 7 种亚硝胺混合标准品用乙腈溶解定容,得到 10 μg/ml 的混合标准储备液。分别移取适量体积的储备液,用乙腈稀释配制得到 0.01 μg/ml、0.02 μg/ml、0.05 μg/ml、0.10 μg/ml、0.50 μg/ml 系列浓度的标准工作液。于 4 ℃、避光条件下冷藏保存。

1.3.3 基质标准溶液的制备 按照方法 1.3.1 对腊

肠基质样品进行提取纯化,用此提取液对 7 种亚硝胺混合标准品进行稀释溶解定容,分别配制得到 0.01  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、0.02  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、0.05  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、0.10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、0.50  $\mu\text{g}/\text{ml}$  系列浓度的基质标准溶液。其基质效应 (Matrix Effect, ME) 采用以下公式进行评价:

$$ME = (\text{基质标准曲线斜率} / \text{溶剂标准曲线斜率} - 1) \times 100\%$$

### 1.3.4 检测方法

1.3.4.1 色谱条件 进样口温度 250  $^{\circ}\text{C}$ ,不分流进样,进样量 1.0  $\mu\text{l}$ ,恒流模式,流速 1  $\text{ml}/\text{min}$ ;色谱

柱:CD-WAX,30  $\text{m} \times 0.32 \text{ mm} \times 1.0 \mu\text{m}$ ;程序升温:初始温度 38  $^{\circ}\text{C}$ ,保持 4 min,以 8  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  的速率升至 83  $^{\circ}\text{C}$ ,保持 4 min,以 15  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  的速率升至 240  $^{\circ}\text{C}$ ,保持 2 min。

1.3.4.2 质谱条件 采用电子轰击离子源 (Electron ionization, EI) 方式,电子能量 70 eV,离子源温度 250  $^{\circ}\text{C}$ ,传输线温度 250  $^{\circ}\text{C}$ ,四极杆温度 150  $^{\circ}\text{C}$ ,接口温度 240  $^{\circ}\text{C}$ ,选择离子扫描模式 (Selected ion monitoring, SIM)。7 种 *N*-亚硝胺类化合物的保留时间、定性离子和定量离子如表 1 所示。

表 1 GC-MS 测定 7 种 *N*-亚硝胺类化合物的保留时间、定性及定量离子

Table 1 Retention time and qualitative and quantitative ions for the seven *N*-nitrosamines by GC-MS

名 称	CAS 登记号	保留时间 (min)	定性离子 (m/z)	定量离子 (m/z)
<i>N</i> -亚硝基二甲胺 (NDMA)	62-75-9	11.21	74, 75, 59	74
<i>N</i> -亚硝基甲乙胺 (NMEA)	10595-95-6	12.63	56, 71, 88	88
<i>N</i> -亚硝基二乙胺 (NDEA)	55-18-5	13.64	56, 57, 102	102
<i>N</i> -亚硝基二丙胺 (NDPA)	621-64-7	16.71	70, 113, 130	70
<i>N</i> -亚硝基二正丁胺 (NDBA)	924-16-3	18.92	84, 116, 141	84
<i>N</i> -亚硝基哌啶 (NPIP)	100-75-4	19.08	55, 56, 114	114
<i>N</i> -亚硝基吡咯烷 (NPYR)	930-55-2	19.41	68, 69, 100	100

## 2 结果与分析

### 2.1 色谱柱的优化

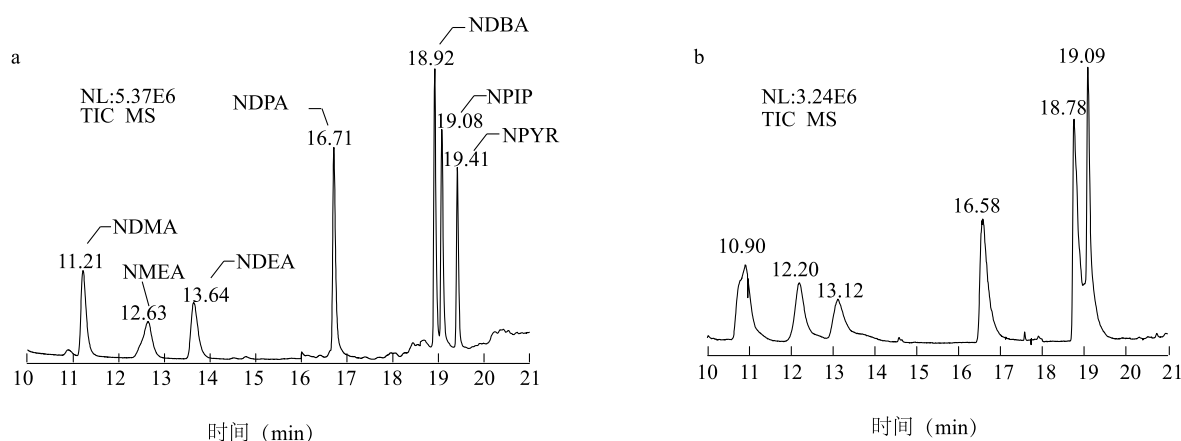
本试验对非极性柱 CD-5MS (30  $\text{m} \times 0.25 \text{ mm} \times 0.25 \mu\text{m}$ ) 和强极性柱 CD-WAX (30  $\text{m} \times 0.25 \text{ mm} \times 0.25 \mu\text{m}$ ) 2 种毛细管色谱柱对 7 种 *N*-亚硝胺类物质混合标准品的分离情况进行了考察,得到 7 种 *N*-亚硝胺类物质混标的总离子流图。结果 (图 1) 表明,选用非极性柱时, *N*-亚硝基二甲胺的色谱峰受溶剂峰影响较大,峰型较宽,有分叉,其他物质的色谱峰也有不同程度的拖尾现象,且分离度不好,只有 6 个明显出峰;而选用强极性柱 CD-WAX 时,得到的色谱峰峰形尖锐对称,分离效果较好,定量准确且重现性好。这是由于亚硝胺类物质具有强极性和强挥发性,选用强极性柱 CD-WAX 时有利于 7 种物质很好的分离<sup>[3]</sup>。因此本试验选用 CD-WAX 作为色谱柱。

### 2.2 样品前处理方法的优化

食品中亚硝胺类化合物的常用提取方法有水蒸气蒸馏法、真空蒸馏法和固相萃取法,传统的提取方法存在操作较繁琐、耗费大量有机溶剂、样品用量

大、回收率不稳定以及不利于批量处理等缺点。冷冻液液萃取在液液萃取基础上可利用密封体系内水凝结成冰产生的压力来提高萃取效率,并利用目标化合物和脂肪、蛋白质等物质在熔点上的差别,同时达到除杂的目的<sup>[25]</sup>。QuEChERS 方法也是一种目前在水果和蔬菜农药残留检测中常用前处理净化方法<sup>[26]</sup>。因此本研究建立并优化了冷冻液液萃取结合 QuEChERS 的方法对腊肠中的亚硝胺类物质进行提取和净化。

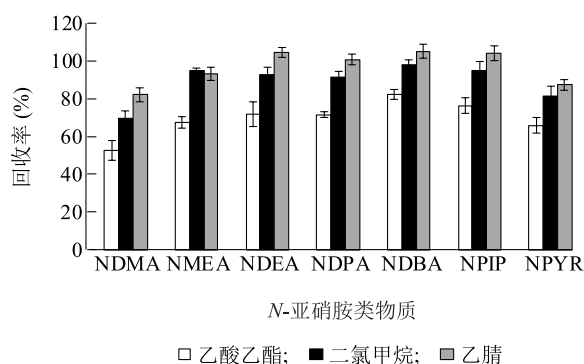
2.2.1 萃取溶剂的选择 本研究中分别选用二氯甲烷、乙酸乙酯和乙腈作为提取溶剂进行试验。结果 (图 2) 表明,用二氯甲烷和乙腈做溶剂时,目标物质的回收率差别相对较小,且均明显大于用乙酸乙酯做溶剂时目标物的回收率。二氯甲烷是在 *N*-亚硝胺类物质检测中常用的提取溶剂<sup>[2-3]</sup>,但在本试验中,样品在进行冷冻分层后二氯甲烷层在离心管的最下层,对后续取样造成不便,可能导致平行性较差,而用乙腈做溶剂,在冷冻后, *N*-亚硝胺类物质被富集在上层的乙腈中,操作方便,同时二氯甲烷的毒性相对较大。综合考虑本试验选用乙腈作为提取溶剂。



NDMA; *N*-亚硝基二甲胺; NMEA; *N*-亚硝基甲乙胺; NDEA; *N*-亚硝基二乙胺; NDPA; *N*-亚硝基二丙胺; NDBA; *N*-亚硝基二正丁胺; NPIP; *N*-亚硝基哌啶; NPYR; *N*-亚硝基吡咯烷。a: CD-WAX; b: CD-5MS。

图 1 离子扫描模式下 7 种 *N*-亚硝胺混合标准溶液 (0.1 μg/ml) 的总离子流图

Fig.1 Total ion chromatogram of a mixed solution of seven *N*-nitrosamine standard solution (0.1 μg/ml) in SIM mode



NDMA; *N*-亚硝基二甲胺; NMEA; *N*-亚硝基甲乙胺; NDEA; *N*-亚硝基二乙胺; NDPA; *N*-亚硝基二丙胺; NDBA; *N*-亚硝基二正丁胺; NPIP; *N*-亚硝基哌啶; NPYR; *N*-亚硝基吡咯烷。

图 2 不同萃取溶剂对 7 种 *N*-亚硝胺化合物回收率的影响

Fig.2 Effect of different solvents on the recovery rates of the seven *N*-nitrosamines

**2.2.2 QuEChERS 填料的优化** 腊肠样品经冷冻液液萃取后,离心管中的样品被分为 4 层,最上层是乙腈提取液,第二层是被冻住的腊肠中的白色油脂,第三层是腊肠样品的红肉部分,最下层是被冻住的水溶液。经冷冻液液萃取后样品中的 *N*-亚硝胺类物质被富集提取到乙腈溶液中,而样品中大部分的油脂杂质被冷冻分离,表明冷冻液液萃取能很好地除去样品的脂肪和蛋白质等干扰物质,但得到的乙腈提取溶液仍较为浑浊,不适宜直接上机检测,因此本试验研究了使用 QuEChERS 方法进一步对提取液

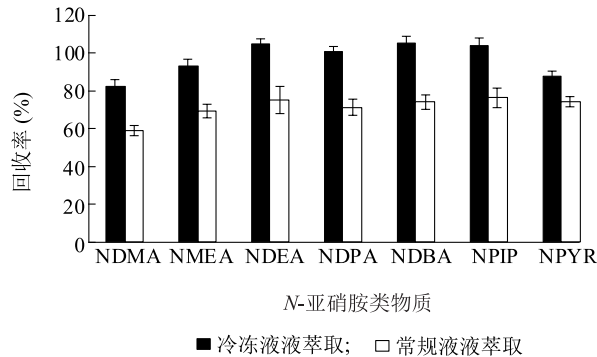
进行净化处理的效果。

PSA 填料为一种弱阴离子交换吸附剂,主要去除脂肪酸、有机酸、一些极性色素和糖类干扰物;  $C_{18}$  填料具有疏水作用,可去除油脂和非极性极强的干扰物;石墨化炭黑 (GCB) 填料主要用于去除样品中的色素;硫酸镁可用于除去水分<sup>[26]</sup>。目前这几种填料较为广泛应用于食品等农药残留检测的 QuEChERS 方法中。本研究分别单独试验了 PSA、 $C_{18}$  和 GCB 3 种填料对冷冻液液萃取得到的乙腈提取液的净化除杂效果,结果表明,加入 GCB 填料后离心会产生乳化现象,提取液将 GCB 小颗粒包裹起来,达不到净化的效果;而 PSA 和  $C_{18}$  填料可较好地对待提取液进行进一步净化除杂,得到澄清透明的溶液,使样品更加适合上机分析。相比单独使用,使用 PSA 和  $C_{18}$  的混合填料,其谱图更加干净,除杂净化效果更好。因此本试验选用 PSA、 $C_{18}$  和硫酸镁的混合填料进行 QuEChERS 处理,对添加每种填料的质量配比进行试验对比,最终确定 500 mg PSA, 300 mg  $C_{18}$ , 100 mg  $MgSO_4$  的填料配比,在此条件下填料的除杂效果相对较好,且较为稳定,平行性较好。

**2.2.3 冷冻液液萃取和常规液液萃取的比较** 本试验分析比较了冷冻液液萃取-QuEChERS 方法以及常规液液萃取-QuEChERS 方法提取 *N*-亚硝胺类物质的回收率,结果如图 3 所示。冷冻液液萃取-QuEChERS 方法处理的 7 种 *N*-亚硝胺化合物回收率



均显著高于常规液液萃取-QuEChERS 方法处理,冷冻液液萃取-QuEChERS 方法处理的样品谱图中杂质峰也相对较少,表明冷冻液液萃取-QuEChERS 方法可有效除杂净化,增强对 *N*-亚硝胺类物质的有效富集,提高回收率。



NDMA; *N*-亚硝基二甲胺; NMEA; *N*-亚硝基甲乙胺; NDEA; *N*-亚硝基二乙胺; NDPA; *N*-亚硝基二丙胺; NDBA; *N*-亚硝基二正丁胺; NPIP; *N*-亚硝基哌啶; NPYR; *N*-亚硝基吡咯烷。

图3 冷冻液液萃取和常规液液萃取 7 种 *N*-亚硝胺化合物的回收率

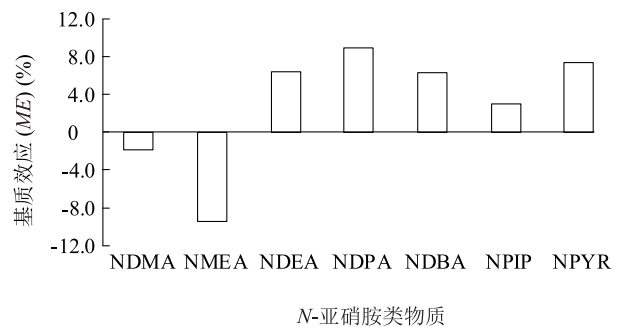
Fig.3 Recovery rates of the seven *N*-nitrosamines by frozen liquid-liquid extraction and conventional liquid-liquid extraction

### 2.3 基质效应检验

GC-MS 分析检测中常存在基质效应。在复杂基质的分析中,以溶解于纯溶剂中的目标物的分析信号为参照,处于目标物周围的所有非目标物质会对同样的目标物的分析信号产生扩大或抑制的影响,这种影响被称为基质效应 (Matrix effect, ME),  $|ME| \leq 20\%$  即可认为基质效应是在可接受的合理范围内<sup>[27]</sup>。按照方法 1.3.1 对腊肠基质样品进行提取纯化后,用其配置标准溶液,得到腊肠样品的基质效应 (图 4),本次试验的腊肠基质对 NDMA 和 NMEA 的响应有抑制作用,而对其他 5 种亚硝胺物质的响应有增强作用,但 ME 均在 10% 以内,因此本试验腊肠样品的基质效应相对较小,在可接受范围内。

### 2.4 标准曲线和灵敏度

采用外标法定量,每个浓度的标准溶液样品重复 3 次。以定量离子的峰面积 ( $Y$ ) 为纵坐标,以目标物的质量浓度 ( $X, \mu\text{g}/\text{kg}$ ) 为横坐标进行线性回归,得到 7 种 *N*-亚硝胺类化合物的线性方程和



NDMA; *N*-亚硝基二甲胺; NMEA; *N*-亚硝基甲乙胺; NDEA; *N*-亚硝基二乙胺; NDPA; *N*-亚硝基二丙胺; NDBA; *N*-亚硝基二正丁胺; NPIP; *N*-亚硝基哌啶; NPYR; *N*-亚硝基吡咯烷。

图4 冷冻液液萃取-QuEChERS 方法的基质效应

Fig.4 Matrix effect of the frozen liquid-liquid extraction combined with the QuEChERS method

相关系数,根据 3 倍信噪比 ( $S/N$ ) 得到检出限 ( $LOD$ ),根据 10 倍信噪比 ( $S/N$ ) 得到定量限 ( $LOQ$ )。由表 2 可知,7 种 *N*-亚硝胺类化合物的定量限在 0.003 3~0.004 7  $\mu\text{g}/\text{g}$ ,检出限均在 0.001  $\mu\text{g}/\text{g}$  左右,灵敏度相对较高,且该方法呈良好的线性关系,线性范围在 0.01~0.50  $\mu\text{g}/\text{g}$ ,相关系数达 0.999 2 以上,可满足腊肠等肉制品中 *N*-亚硝胺类物质的检测要求。

表2 7 种 *N*-亚硝胺类化合物的线性方程、相关系数、线性范围及检出限和定量限

Table 2 Regression equations, correlation coefficients ( $R^2$ ), linear ranges, limits of detection ( $LOD$ ) and limits of quantitation ( $LOQ$ ) for the seven *N*-nitrosamines

名称	线性方程	$R^2$	检出限 ( $\mu\text{g}/\text{g}$ )	定量限 ( $\mu\text{g}/\text{g}$ )
NDMA	$Y=23\ 855.0x-19\ 882.4$	0.999 9	0.001 0	0.003 3
NMEA	$Y=19\ 152.6x-11\ 055.5$	0.999 2	0.001 4	0.004 7
NDEA	$Y=20\ 470.5x+21\ 487.1$	0.999 5	0.001 0	0.003 3
NDPA	$Y=30\ 539.7x-22\ 241.8$	0.999 5	0.001 3	0.004 3
NDBA	$Y=30\ 415.0x+16\ 889.4$	0.999 3	0.001 2	0.004 0
NPIP	$Y=26\ 154.2x+6\ 149.2$	0.999 7	0.000 9	0.003 0
NPYR	$Y=20\ 717.9x-19\ 688.3$	0.999 4	0.001 1	0.003 7

NDMA; *N*-亚硝基二甲胺; NMEA; *N*-亚硝基甲乙胺; NDEA; *N*-亚硝基二乙胺; NDPA; *N*-亚硝基二丙胺; NDBA; *N*-亚硝基二正丁胺; NPIP; *N*-亚硝基哌啶; NPYR; *N*-亚硝基吡咯烷。

## 2.5 回收率和精密度

在空白腊肠样品中添加 7 种 *N*-亚硝胺类化合物的混合标准溶液(添加水平为 0.1  $\mu\text{g/g}$ )进行加标回收试验,平行测定 6 次,同时做空白样品试验,结果见表 3。在腊肠空白样品中只检测到 NDPA,其他均未检出,7 种 *N*-亚硝胺类化合物的加标回收率为 82.20%~105.15%,相对标准偏差为 2.56%~3.89%,重现性良好,可满足检测的要求,此方法可应用于腊肠等肉制品中亚硝胺的检测。

表 3 腊肠中 7 种 *N*-亚硝胺类化合物的加标回收率及精密度 ( $n=6$ )

Table 3 Recoveries of the seven *N*-nitrosamines in sausage ( $n=6$ )

<i>N</i> -亚硝胺类化合物	腊肠空白样品含量 ( $\mu\text{g/g}$ )	加标样品含量 ( $\mu\text{g/g}$ )	回收率 (%)	相对标准偏差 (%)
NDMA	N.D.	0.082	82.20	3.14
NMEA	N.D.	0.093	93.21	3.55
NDEA	N.D.	0.105	104.58	2.56
NDPA	0.019	0.101	100.73	2.84
NDBA	N.D.	0.105	105.15	3.52
NPIP	N.D.	0.104	104.06	3.89
NPYR	N.D.	0.088	87.54	3.24

N.D. 表示低于仪器检出限而未检出。NDMA: *N*-亚硝基二甲胺; NMEA: *N*-亚硝基甲乙胺; NDEA: *N*-亚硝基二乙胺; NDPA: *N*-亚硝基二丙胺; NDBA: *N*-亚硝基二正丁胺; NPIP: *N*-亚硝基哌啶; NPYR: *N*-亚硝基吡咯烷。

## 3 结论

本研究建立了气相色谱-质谱联用法快速检测腊肠中 7 种 *N*-亚硝胺类化合物的分析方法,建立并优化了冷冻液液萃取-QuEChERS 的前处理方法。该方法试剂危害性小,操作简便,重现性好,易于批量样品的处理,灵敏度和回收率均可满足测定要求,有良好的应用前景。本研究为肉制品等食品中 *N*-亚硝胺类化合物的批量处理分析提供了方法。

## 参考文献:

- [1] 赵 华,王秀元,王萍亚,等. 气相色谱-质谱联用法测定腌制水产品中的挥发性 *N*-亚硝胺类化合物[J]. 色谱,2013,31(3):223-227.
- [2] 杨 宁,陈颖慧,邓 莉,等. 双填料固相萃取-高效液相色谱/质谱法同时检测腌菜中 9 种 *N*-亚硝胺[J]. 分析化学,2013,41(7):1044-1049.
- [3] 何淑娟,赵丽敏,李 强,等. 气相色谱-质谱法测定肉制品中的 9 种挥发性 *N*-亚硝胺类物质[J]. 肉类研究,2015,29(1):27-30.

- [4] 吴永宁. 现代食品科学[M]. 北京:化学工业出版社,2003:43-47.
- [5] 李玉民,陈立仁,薛群基,等. 武威市腌菜中亚硝基化合物的测定及其胃癌高发原因的分析[J]. 分析测试技术与仪器,2003,9(2):88-90.
- [6] 王 瑞,马俪珍,方长发,等. 气相色谱法测定熟肉制品中挥发性 *N*-亚硝胺类化合物[J]. 中国食品学报,2007,7(2):124-127.
- [7] 李 玲,徐心莲,周光宏. 气质联用检测传统中式香肠中的九种挥发性亚硝胺[J]. 食品科学,2012,33(26):158-164.
- [8] 胡丽芳,尹德凤,周瑶敏,等. 气质联用法测定咸鱼中 *N*-二甲基亚硝胺含量[J]. 江西农业学报,2009,21(9):135-136.
- [9] 张秋菊,郭祖鹏,李明珠,等. 顶空固相微萃取-气相色谱-质谱法测定 7 种亚硝胺类化合物[J]. 中国卫生检验杂志,2009,19(6):1234-1236.
- [10] 罗 茜,王东红,王炳一,等. 超高效液相色谱串联质谱快速测定饮用水中 9 种 *N*-亚硝胺的新方法[J]. 中国科学:化学,2011,41(1):83-90.
- [11] 中华人民共和国卫生部. 食品中 *N*-亚硝胺类的测定:GB/T 5009.26-2003 [S]. 北京:中国标准出版社,2004.
- [12] DRABIK M G, DEJAEGER B, DE M E, et al. Influence of putrescine, cadaverine, spermidine or spermine on the formation of *N*-nitrosamine in heated cured pork meat [J]. Food Chemistry, 2011,126(4):1539-1545.
- [13] WEI F, XU X, ZHOU G, et al. Irradiated Chinese rugao ham: changes in volatile *N*-nitrosamine, biogenic amine and residual nitrite during ripening and post-ripening [J]. Meat Science, 2009, 81(3):451-455.
- [14] RAOUL S, GREMAUD E, BIAUDET H, et al. Rapid solid-phase extraction method for the detection of volatile nitrosamines in food [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1997,45(12):4706-4713.
- [15] CAMPILLO N, VINAS P, MARTINEZ-CASTILLO N, et al. Determination of volatile nitrosamines in meat products by microwave-assisted extraction and dispersive liquid-liquid microextraction coupled to gas chromatography-mass spectrometry [J]. Journal Chromatography A, 2011,1218(14):1815-1821.
- [16] 吴燕燕,刘法佳,李来好,等. GC-MS 检测咸鱼中 *N*-亚硝胺的条件优化[J]. 南方水产科学,2012,8(4):16-22.
- [17] GLORIA M B A, BARBOUR J F. The occurrence of volatile *N*-nitrosamines in estonian meat products [J]. Food Chemistry, 2007, 100(4):1713-1721.
- [18] 张维冰,王智聪,万 昊,等. 基于冷冻熔炼的液-液萃取样品富集技术研究[J]. 中国科学:化学,2013,43(2):209-216.
- [19] RÜBENSAM G, BARRETO F, HOFF R B, et al. A liquid-liquid extraction procedure followed by a low temperature purification step for the analysis of macrocyclic lactones in milk by liquid chromatography-tandem mass spectrometry and fluorescence detection[J]. Analytica Chimica Acta, 2011,705(1):24-29.
- [20] 贺小雨,陈树兵,俞雪钧,等. 冷冻去脂-固相萃取/气相色谱-质谱法对水产品中禾草丹、溴氰菊酯及 19 种有机氯农药残留的

- 测定[J]. 分析测试学报, 2009, 28(3): 306-309.
- [21] DE PINHO G P, NEVES A A, DE QUEIROZ M E L R, et al. Pesticide determination in tomatoes by solid-liquid extraction with purification at low temperature and gas chromatography [J]. Food Chemistry, 2010, 121(1): 251-256.
- [22] SOBHANZADEH E, BAKAR N K A, ABAS M R B, et al. Low temperature followed by matrix solid-phase dispersion-sonication procedure for the determination of multiclass pesticides in palm oil using LC-TOF-MS[J]. Journal of Hazardous Materials, 2011, 186(2): 1308-1313.
- [23] 张中印, 赵柳微, 曹葳蕤, 等. QuEChERS 前处理方法结合高效液相色谱-串联质谱测定蜂蜜和蜂王浆中 14 种喹诺酮类药物残留[J]. 食品科学, 2016, 37(16): 242-248.
- [24] 张科明, 梁飞燕, 邓 鸣, 等. QuEChERS 结合液相色谱-串联质谱法快速测定猪肉中多类兽药残留[J]. 色谱, 2016, 34(9): 860-867.
- [25] 彭俏容, 唐 涛, 于淑新, 等. 基于冷冻熔炼的液-液萃取/气相色谱法测定啤酒中的 *N*-二甲基亚硝胺[J]. 色谱, 2014, 32(4): 433-437.
- [26] 刘亚伟, 董一威, 孙宝利, 等. QuEChERS 在食品中农药多残留检测的应用研究进展[J]. 食品科学, 2009, 30(9): 285-289.
- [27] MORENO-GONZÁLEZ D, HUERTAS-PÉREZ J F, GARCÍA-CAMPAÑA A M, et al. Determination of carbamates in edible vegetable oils by ultra-high performance liquid chromatography - tandem mass spectrometry using a new clean-up based on zirconia for QuEChERS methodology [J]. Talanta, 2014, 128(2014): 299-304.

(责任编辑: 陈海霞)