

技术交流

腌腊肉制品中的亚硝胺测定

陈丹丹,丁红梅*,杨俊,张霞

(南通市产品质量监督检验所,江苏 南通 226011)

摘要:本文研究了利用水蒸气蒸馏及浓缩的方法测定腌腊肉制品中的4种挥发性N-亚硝胺,利用气相色谱-质谱仪采用选择离子法(SIM)进行定性定量检测。本方法的各项技术指标均达到国家标准规定的要求,线性相关系数分别可达0.9991、0.9991、0.9990、0.9995,线性范围分别可达0~250 $\mu\text{g/mL}$,方法重现性良好,RSD可达1.19%~2.54%,回收率可达85.0%~110.0%,灵敏度高,检测限分别为0.04 $\mu\text{g/kg}$ 、0.025 $\mu\text{g/kg}$ 、0.05 $\mu\text{g/kg}$ 、0.01 $\mu\text{g/kg}$ 。

关键词:腌腊肉制品,亚硝胺,选择离子法(SIM),测定

中图分类号:X657.63 文献标识码:A 文章编号:1009-8143(2011)00-0030-06

Determination of Nitrosamines in Cured Meat Products

Chen dan-dan, Ding hong-mei, Yang Jun, Zhang xia

(Nantong Produce Quality Supervision and Testing Bureau, Nantong, Jiangsu 226011, China)

Abstract: In this paper, used steam distillation and concentration to determine the 4 kinds of volatile N-nitrosamines in cured meat products by gas chromatography-mass spectrometry in selected ion method (SIM) for qualitative and quantitative testing. This detection method of the technical indicators had reached the national standard requirements. The linear correlations were 0.9991, 0.9991, 0.9990, 0.9995 respectively. The liner ranges were 0~250 $\mu\text{g/mL}$. the reproducibility was good and the RSD was 1.49%~1.94%. The average recoveries were 85.0%~110.0%. The detection limits were 0.04 $\mu\text{g/kg}$, 0.025 $\mu\text{g/kg}$, 0.05 $\mu\text{g/kg}$, 0.01 $\mu\text{g/kg}$ respectively.

Keywords: cured meat; nitrosamines; selection ion method(SIM); determination

南通是一个沿海城市,千百年来有腌制肉类产品的习惯,而南通的启东地区是全国乃至全世界有名的肝癌高发区,这是值得关注的现象。N-亚硝胺是一类很强的化学致癌物质,自1954年发现二甲基亚硝胺(NDMA)使人肝硬变以来,经大量动物包括灵长目动物实验证明,在100多种N-亚硝基化合物中约80%具有致癌作用,它几乎能引起动物所有的重要脏器和组织的各种肿瘤,以N-亚硝胺进行动物体内代谢试验的研究结果表明,人和家鼠肝脏中的代谢机制极为相似,同时核酸水平的甲基化也是相似的^[1,2]。大量的工艺实验数据证明在腌制肉类和腌制的生食水产品中N-亚硝胺普遍存在,尽

管其含量较低,但由于其在体内特殊的反应机理引起科研人员的广泛关注。

目前,食品中挥发性亚硝胺的检测方法有热能分析仪与气相色谱氮磷检测器(GC-NPD)法,这些方法都能取得令人满意的效果,但由于热能分析仪和氮磷检测器价格昂贵且专用性强,一般实验室很难配备。本试验利用气相色谱联用仪对测定腌制肉中的4种N-亚硝胺含量的测定条件进行了优化,得出了较满意的测定结果。

1 实验部分

收稿日期 2011-3-14

基金项目 江苏省质量技术监督局科技项目(项目编号 2010ZB011),江苏省南通市科技项目(项目编号 S2009003)

作者简介 陈丹丹(1985-),女,助理工程师,从事食品有毒有害物质检测工作。

*通信作者:丁红梅。Email: dhm7801@163.com

1.1 主要仪器与试剂

Agilent 7890A/5975C 气相色谱 - 质谱仪(美国 Agilent 公司) 配备 7683B 自动进样器、增强型化学工作站; 色谱柱: HP-5MS 毛细管色谱柱 (30m×0.25mm×0.32μm) 超声波清洗仪 FS-1012FPM(常州市富怡达超声波设备有限公司); 全玻璃重蒸装置。

二氯甲烷(分析纯)、无水硫酸钠(分析纯)、氯化钠(分析纯)、硫酸(优级纯)均采购于国药集团化学试剂有限公司;

标准品: N-二甲基亚硝胺(99.9%)、N-二乙基亚硝胺(99.9%)、N-亚硝基吡咯烷(99.5%)、N-二丙基亚硝胺(99.8%) 均采购于上海安谱科学仪器有限公司。

1.2 样品

腌腊肉制品香肠、火腿, 采购于南通本地的肉类加工企业。

1.3 样品前处理

称取 200g 切碎后的样品, 置于水蒸气蒸馏装置的蒸馏瓶中, 加 100mL 水 摇匀。在蒸馏瓶中加入 120g 氯化钠, 充分摇匀, 使氯化钠溶解。将蒸馏瓶与水蒸气发生器及冷凝器连接好, 并在锥形瓶中加入 40mL 二氯甲烷及少量冰块, 收集 400mL 馏出液, 在锥形接收瓶中加入 80g 氯化钠和 3mL 的硫酸(1:3) 搅拌使氯化钠完全溶解。然后转移到 500mL 的分液漏斗中, 振荡 5min, 静止分层, 将二氯甲烷分至另一锥形瓶中, 再用 120mL 二氯甲烷分 3 次提取水层, 合并 4 次提取液, 总体积为 160mL。将收集的有机层用 10g 无水硫酸钠脱水转移至三角瓶中, 于真空干燥箱中 50℃、0.05 的真空度下浓缩至 2mL, 再转移至 5mL 的刻度试管中, 并用 1mL 二氯甲烷溶

剂冲洗三角瓶 3 次合并至刻度试管中, 总体积为 5mL, 继续在相同条件下浓缩至 0.5mL。

1.4 标准溶液处理

N-亚硝胺标准混合贮备液: 准确称取 4 种 N-亚硝胺即 N-二甲基亚硝胺、N-二乙基亚硝胺、N-亚硝基吡咯烷、N-二丙基亚硝胺标准品各 0.1g (精确到 0.0001g) 用重蒸二氯甲烷定容至 100mL, 得 N-亚硝胺储备液, 浓度 1.0mg/mL。

1.5 色谱条件

HP-5MS 毛细管色谱柱, 进样口温度 200℃, 分流进样, 分流比 5:1, 载气为氦气(纯度 99.999%), 流速 1mL/min; 程序升温: 40℃ 下保持 1min, 以 9℃/min 升至 200℃, 保持 1min, 全部程序时间 19.7min, 自动进样, 进样量 1μL。

1.6 质谱条件

电子轰击(EI)离子源; 电子倍增器电压 1301eV; 电离电压 70eV; 离子源温度 230℃; 四极杆温度 150℃; 接口温度 250℃, SIM 全扫描(SCAN) 采集模式, 扫描质量范围 m/z 30~150, 溶剂延迟时间 3min, 采样频率 2。

2 结果与讨论

2.1 定性与定量

采用保留时间和 MS/SCAN 方法来定性。

标样和样品溶液同时上机测定, 分别进样 1μL。利用选择特征离子 N-二甲基亚硝胺 m/z (42、43、74), N-二乙基亚硝胺 m/z (42、56、102); N-亚硝基吡咯烷 m/z (41、68、100), N-二丙基亚硝胺: m/z (70、43、130), 采用外标法进行定量计算。

标准品的总离子图见图 1~图 4。

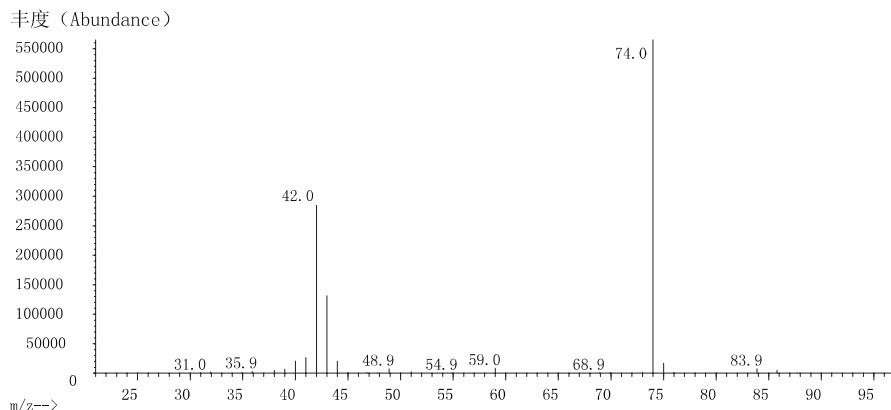


图1 N-二甲基亚硝胺质谱图

Fig.1 The mass spectrum of N-dimethylnitrosamine

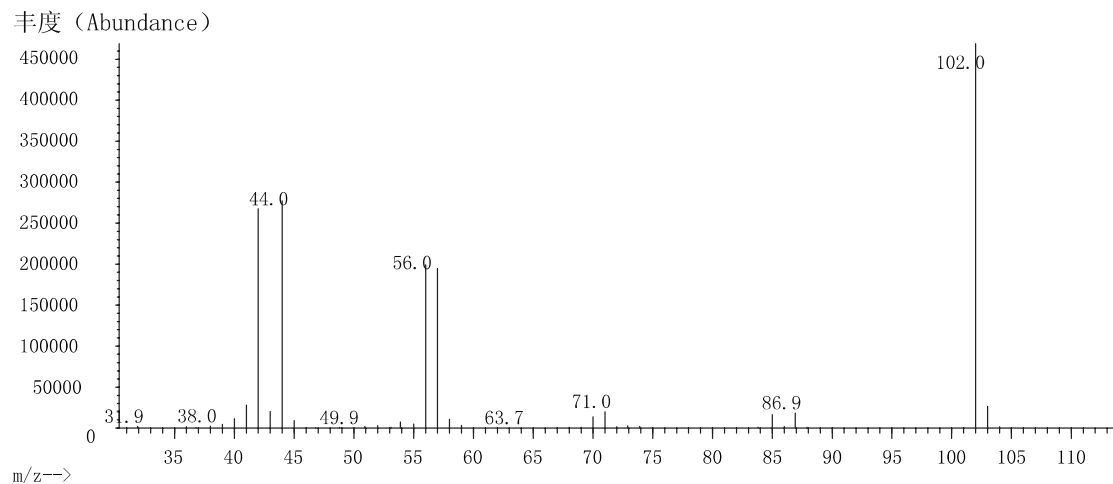


图2 N-二乙基亚硝酸胺质谱图

Fig.2 The mass spectrum of N-diethylnitrosamine

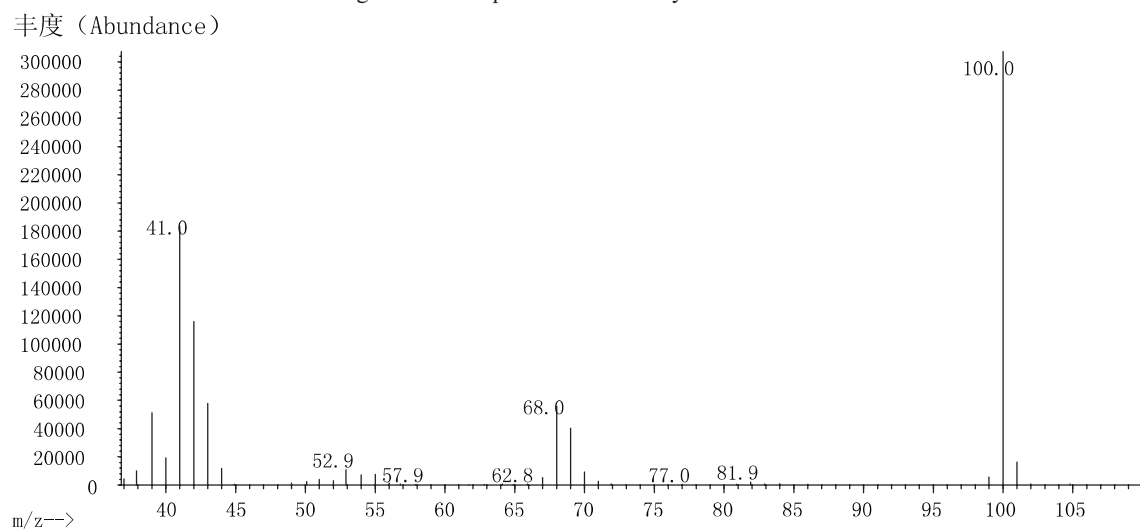


图3 N-亚硝基吡咯烷质谱图

Fig.3 The mass spectrum of N-nitroso-pyrrolidine

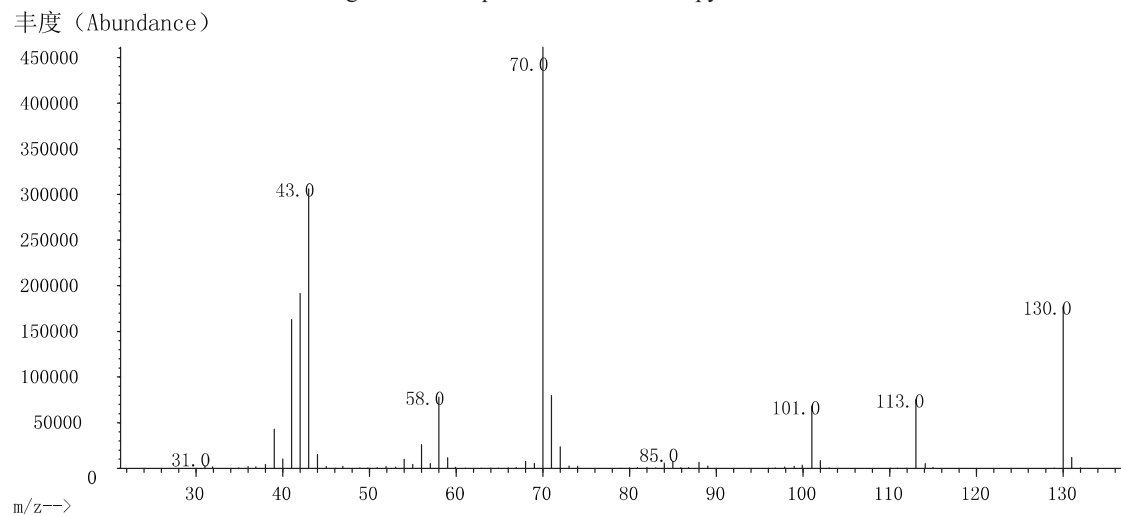


图4 N-二丙基亚硝酸胺质谱图

Fig.4 The mass spectrum of N-nitrosamines

4 种亚硝胺混合标准品及样品质谱图见图 5~图 7。

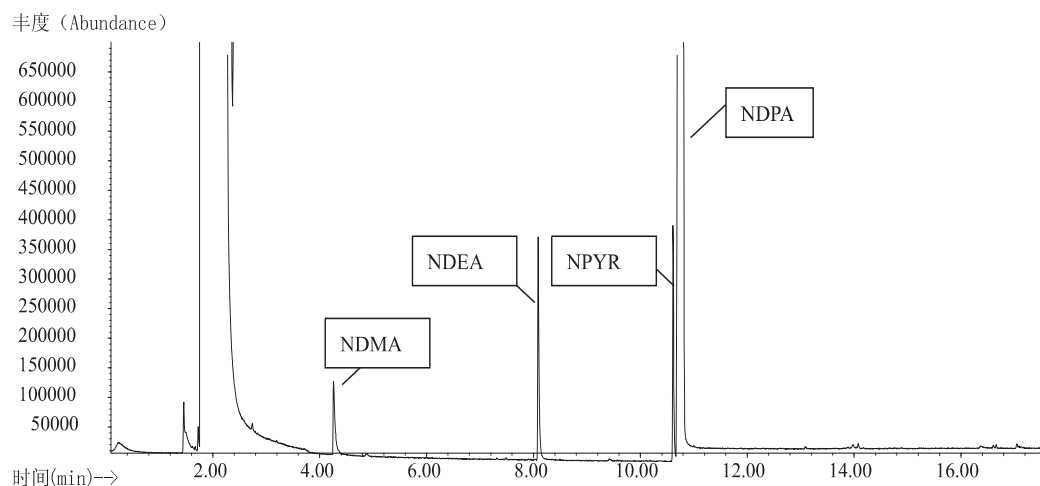


图5 4种混合标准品总离子图

Fig.5 4 mixture of standard quality total ion map

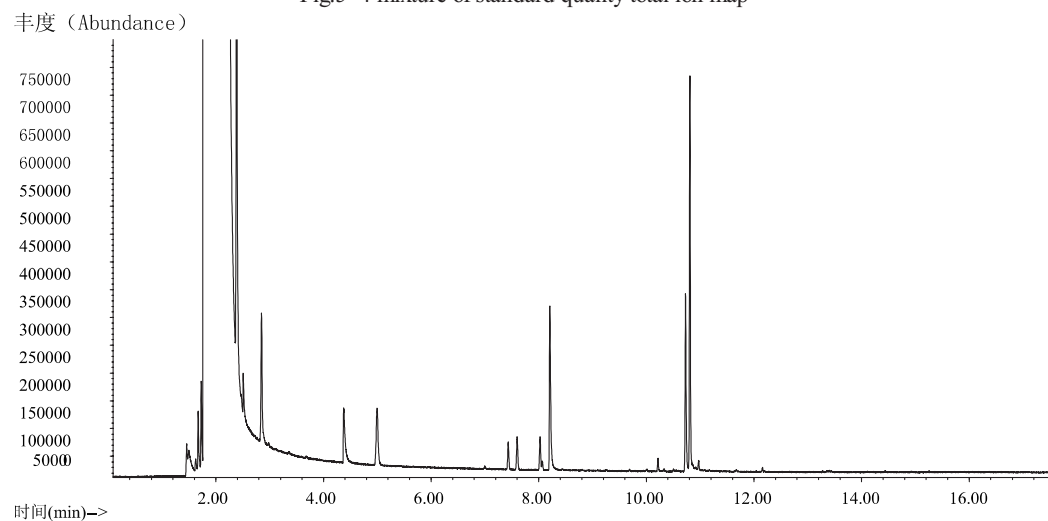


图6 香肠样品总离子图

Fig.6 The total ion map of sausage samples

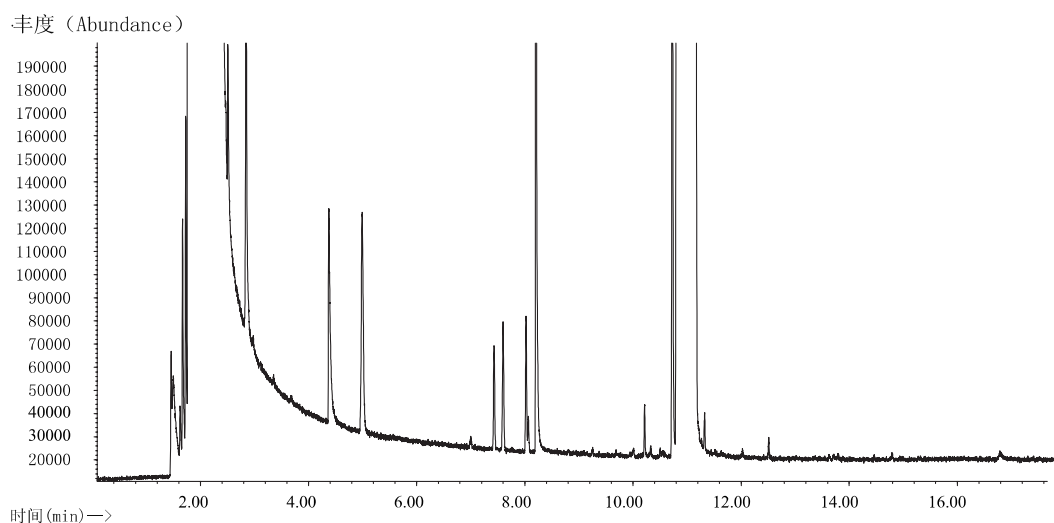


图7 火腿样品总离子图

Fig.7 The total ion map of drunken Shrimp samples

2.2 线性关系

用重蒸二氯甲烷配制 4 种挥发性 N- 亚硝胺标准溶液系列 $0\mu\text{g/mL}$ 、 $1.0\mu\text{g/mL}$ 、 $5.0\mu\text{g/mL}$ 、 $50.0\mu\text{g/mL}$ 、 $100.0\mu\text{g/mL}$ 、 $250.0\mu\text{g/mL}$,利用定量离子峰面积绘制标准曲线,结果见表 1。

2.3 准确度实验

取香肠和火腿两种样品各 200g 加入 100ng/mL 的标液 2mL(加标量为 $1.00\mu\text{g/kg}$) ,进行加标回收试验,试验结果见表 2。

由表 2 可知本文的检测方法能够达到国家标准 GB/T5009.26- 2003 中规定的“在重复条件下获得

两次独立测定结果的绝对差值不得超过 16%”。

2.4 精密度实验

取腌腊肉制品样品采用本文方法处理后进行测定,结果见表 3。

2.5 检出限

取 $10\mu\text{g/mL}$ 的 N- 亚硝胺的标样,进样量为 $1\mu\text{L}$,测得信噪比,检测限以 3 倍噪声计算,得到 N- 亚硝胺的仪器检测限;以 20.0g 称样量,最后定容体积为 1mL ,进样量 $1\mu\text{L}$ (同标样)计,得本方法的各个 N- 亚硝胺检测限,结果见表 4。

表1 4种挥发性亚硝胺的标准曲线及线性范围

Table 1 4 volatLe nitrosamines and the Linear range of standard curve

化合物名称	线性方程	相关系数	线性范围
N- 二甲基亚硝胺	$Y=3.014\times 10^4X-1.172\times 10^4$	0.9991	$0\sim 250\mu\text{g/mL}$
N- 二乙基亚硝胺	$Y=3.697\times 10^4X-2.014\times 10^4$	0.9991	$0\sim 250\mu\text{g/mL}$
N- 亚硝基吡咯烷	$Y=2.141\times 10^4X+1.008\times 10^4$	0.9990	$0\sim 250\mu\text{g/mL}$
N- 二丙基亚硝胺	$Y=4.537\times 10^4X+1.023\times 10^4$	0.9995	$0\sim 250\mu\text{g/mL}$

表2 回收率实验

样品名称	N-二甲基亚硝胺			N-二乙基亚硝胺			N-亚硝基吡咯烷			N-二丙基亚硝胺		
	本底值/ $\mu\text{g/kg}$	检测值/ $\mu\text{g/kg}$	回收率/ %	本底值/ $\mu\text{g/kg}$	检测值/ $\mu\text{g/kg}$	回收率/ %	本底值/ $\mu\text{g/kg}$	检测值/ $\mu\text{g/kg}$	回收率/ %	本底值/ $\mu\text{g/kg}$	检测值/ $\mu\text{g/kg}$	回收率/ %
香肠	2.81	3.46	90.8	2.23	3.39	105.0	1.68	2.42	90.3	1.16	2.37	109.7
	2.79	3.42	90.2	2.21	3.36	104.7	1.66	2.40	90.2	1.16	2.37	109.7
火腿	3.89	4.16	85.1	4.79	5.23	90.3	3.68	4.85	103.6	4.83	5.64	96.7
	3.90	4.17	85.1	4.78	5.22	90.3	3.67	4.85	103.9	4.82	5.65	97.1

表3 精密度试验(n=6)

Table 3 The precision experiment

样品名称	N-二甲基亚硝胺		N-二乙基亚硝胺		N-亚硝基吡咯烷		N-二丙基亚硝胺	
	平均检测值/ $(\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1})$	RSD/%	平均检测值/ $(\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1})$	RSD/%	平均检测值/ $(\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1})$	RSD/%	平均检测值/ $(\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1})$	RSD/%
香肠	2.78	1.75	2.21	1.77	1.67	1.69	1.14	2.54
火腿	3.89	1.19	4.78	1.72	3.67	1.86	4.82	1.90

表4 仪器和方法检出限

Table 4 Instrument and method detection Limit

化合物名称	仪器检出限/(ng/mL)	方法检出限/($\mu\text{g/kg}$)
N- 二甲基亚硝胺	0.8	0.04
N- 二乙基亚硝胺	0.5	0.025
N- 亚硝基吡咯烷	1	0.05
N- 二丙基亚硝胺	0.2	0.01

本文所采用的方法检出限已经达到国家标准 GB/T5009.26-2003 中规定的“在取样量为 20g, 浓缩体积为 1.0mL, 进样体积为 5 μ L 时, 本方法最低检出浓度为 1.0 μ g/kg”。

RSD 值小于 3%, 回收率为 85.0%~110.0%, 线性范围在 0~250 μ g/mL 之间, 随着气质联用仪的在各级实验室的普及, 本文方法是应急食品安全事件的快速检测方法的首选。

3 结 论

通过以上实验数据表明, 本文所建立的气相色谱-质谱测定食品中的 N-亚硝胺的检测方法在检出限和绝对相差等技术要求上能够达到国家标准规定的要求, 而且本文所采用的检测方法重现性

参考文献

- [1] 许牡丹, 毛跟年. 食品安全性与分析检测[M]. 北京: 化学工业出版社, 2003: 23-25.
- [2] 吴永宁. 现代食品安全科学 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2003: 248-259.

2011 年有机质谱系列培训计划

2010 年信立方质谱培训中心举办的有机质谱培训已圆满结束。本年度中心共开办 8 期有机质谱培训班, 培训学员 233 人, 学员涉及各大高校、科研单位、企事业单位、分析检测中心和仪器厂商。课程内容备受广大学员好评。培训期间共有 24 位学员获得了培训班的优秀学员奖励。

为了满足更多广大分析技术工作者的需求, 2011 年培训中心将继续举办此系列质谱培训班, 并适当增加培训内容, 现将 2011 年培训中心拟举办有机质谱系列培训班情况公布如下, 欢迎有志于提高有机质谱分析应用技术水平人员前来参加。

【培训计划】气质联用应用技术培训提高班(新)

液质联用应用技术培训班

有机质谱谱图解析技术专题培训班

有机质谱在石油石化领域应用技术培训班

气质联用工作站使用及数据分析处理培训班(网络)

液质联用在医药行业应用技术培训班(新)

【课程特色】

- 1、独有的有机质谱应用技术水平测试题, 可清楚对比学习前后的技术水平;
- 2、学员专享网上社区, 互动交流, 免费下载资料, 参加网上答疑活动;
- 3、培训结束后学员均送仪器信息网 VIP 积分 2000 分, 以下载资料或换取礼品。
- 4、每个培训班均设三个优秀学员, 颁发优秀学员奖励

【报名方式】

电话: 010-51299927-101、13269178446

传真: 010-51413697

联系人: 张老师

Email: training@instrument.com.cn

更多内容及详细课程设置请查阅 <http://www.instrument.com.cn/training/>

(仪器信息网供稿)