

Study on Rapid Detection of N-Nitrosodimethylamine in Duck and Poultry Meat

Jie Li, Jianhuan Li, Wei Xiang, Hui Xu, Bolong Lv, Qing Wu

Anhui Topway Testing Service Co., Ltd., Xuancheng, China

Email address:

409603309@qq.com (Jie Li)

To cite this article:

Jie Li, Jianhuan Li, Wei Xiang, Hui Xu, Bolong Lv, Qing Wu. Study on Rapid Detection of N-Nitrosodimethylamine in Duck and Poultry Meat. *Science Discovery*. Vol. 7, No. 4, 2019, pp. 227-231. doi: 10.11648/j.sd.20190704.19

Received: June 25, 2019; Accepted: August 22, 2019; Published: August 27, 2019

Abstract: Aquatic animals are susceptible to N-dimethylnitrosamine pollution in water quality or feed, which is a non-negligible problem in food safety detection. Gas chromatography/triple four-stage mass spectrometry combined with QuEChERS was used to detect N-dimethylnitrosamine in duck and poultry meat, and acetonitrile, salting-out agent and purifying agent were used to extract duck and poultry meat samples. The results of detection and analysis showed that the results were good. The standard curve was highly correlated in the range of 5ng/mL to 1000ng/mL ($R^2 > 0.9997$). The recovery of standard sample was 82.51%-115.42%, RSD was 1.89-2.99, instrument detection limit was 4.4ng/mL and method detection limit was 0.44ng/g after adding standard sample and matrix effect treatment. The results showed that the recovery of standard sample was 82.51%-115.42%, RSD was 1.89-2.99, and instrument detection limit was 4 ng/mL. Other methods can reduce the operation steps and improve the detection accuracy.

Keywords: N-Nitrosodimethylamine, Triple Quadrupole Mass Spectrometer, QuEChERS, Duck Meat Products

鸭禽肉中N-二甲基亚硝胺快速检测方法研究

李杰, 李建华, 项威, 许晖, 吕伯龙, 吴卿

安徽拓维检测服务有限公司, 宣城, 中国

邮箱

409603309@qq.com (李杰)

摘要: 水生养殖动物易受水质或饲料中N-二甲基亚硝胺污染, 是食品安全检测不可忽视的问题; 用气相色谱/三重四级杆质谱法与QuEChERS方法组合技术检测鸭禽肉中N-二甲基亚硝胺, 利用乙腈及盐析剂、净化剂等辅助试剂浸提鸭禽肉制样品检测分析方法, 结果显示效果良好; 5ng/mL~1000ng/mL浓度范围, 标准曲线呈高度相关($R^2 > 0.9997$), 经加标样及基质效应处理显示标样回收率范围在82.51%~115.42%, RSD为1.89~2.99, 仪器检测限为4.4ng/mL, 方法检测限为0.44ng/g; 比较其他方法可以减少操作步骤, 提高检测精确性。

关键词: N-二甲基亚硝胺, 气相色谱/三重四级杆质谱法, QuEChERS, 鸭肉制品

1. 引言

N-二甲基亚硝胺又名N-亚硝基二甲基胺(N-Nitrosodimethylamine, N-dimethyl Nitrosamine, NDMA),

烟熏或盐制畜禽及水产的肉中含有较多的NDMA。由于NDMA属于高毒化学物质, 经消化道、呼吸道吸收迅速, 代谢过程中可引起肝脏、肾脏损害, 而经皮肤吸收则较为缓慢, 但对眼睛、皮肤有刺激作用。NDMA与导致癌症高发有关, 长期食用会慢性中毒[1]。作为一类具有共

识的强毒性化合物, 国家已经颁布食品中NDMA食品安全国家标准和食品中污染物限量[2]。目前文献有关肉制品NDMA检测研究较多的涉及烟熏、腌制产品类, 这是基于对蛋白质分解产物二甲胺(DMA)在酸性条件下与亚硝酸作用生成的认识[3]。事实上, 环境NDMA研究认为解析NDMA的前体物来源可知, 药物及生活用品、微生物代谢物、水处理试剂及材料、管道与附属材料等均可在一定条件下生成NDMA[4]; NDMA大多为小分子的亲水物质, 有研究表明环境水质中可以通过亚硝化途径、偏二甲胍途径、氯化偏二甲胍途径等生成NDMA[5]。自来水厂、污水处理厂、地表水源及管网中都检出了NDMA前体化合物亚硝胺类物质(Nitrosamines, NAs), 其中以NDMA的检出率最高且质量浓度也相对较高, 同时NDMA是饮用水净化过程中产生的一类新型、微量、致癌消毒副产物[6]。所以, 除了烟熏、腌制肉制品外, 水产品、水禽肉制品也有NDMA污染残留的可能[7]。水产品、禽产品中含有丰富的蛋白质、脂肪, 按照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》方法, 使用二氯甲烷配制标准液对于鲜活类水产品前处理时常会产生来自于蛋白质、脂类等混杂干扰; 同时, 试样制备按照GB 5009.26-2016处理方法经提取、萃取净化、浓缩等过程耗时长、有机试剂使用量大, 更重要的问题容易造成NDMA含量损失; GC/MS也会存在离子信息少、定性不准的问题, 易造成NDMA假阳性, 不利于消除基质干扰等问题[8]。QuEChERS (Quick、Easy、Cheap、Effective、Rugged、Safe), 是近年来国际上最新发展起来的一种用于农产品检测的快速样品前处理技术[9], 具有简便易行、耗时短、分析范围广(包括极性、非极性), 乙腈加到容器后立即密封, 减少人员或其他试剂接触, 提取物干扰较少, 结合四级杆串联的GC-MS/MS二级质谱的进行肉制品NDMA检测分析, 时效快、精准度高, 加标样5ng/ml~1000ng/ml范围能够达到80~120%回收率, RSD小于3%, 获得较为满意的结果。

2. 材料与方法

2.1. 样品

市售鸭禽制品。

2.2. 主要仪器与试剂

7890B/7000D 气相色谱-三重四级杆串联质谱仪(Agilent, USA); 电子天平(感量0.01g, 上海花潮电器有限公司), DC24H-RT24位氮吹仪(上海安谱实验科技), FJ200-S数显高速均质机(常州齐威仪器公司); XZ18K-T 高速冷冻离心机(长沙湘智离心机仪器公司)。标准品: N-二甲基亚硝胺(1000 mg/L, 中国上海安谱); PSA填充料:(40-63 μ m 60A, 艾杰尔科技); C18填充料:

(50 μ m 60A, 艾杰尔科技); 乙腈(HPLC级别, 上海安谱)。

2.3. 样品与标样制备

鸭肉样品捣碎匀浆: 样品制备, 准确称取10g经捣碎的样品(精确至0.01g), 加入20mL乙腈, 15000r/min均质2min, 放置于-20 $^{\circ}$ C冰箱冷冻1h后取出, 加入5g无水硫酸镁和1g氯化钠, 剧烈振荡1min, 然后8000r/min, 0 $^{\circ}$ C离心3min, 取上清液5mL加入100mgC18, 100mgPSA和300mg无水硫酸镁, 剧烈振荡1min, 然后8000r/min, 0 $^{\circ}$ C离心3min, 取上清液1mL过膜进GC-MS/MS测定。

标准曲线配制了8个点, 分别为5ng/mL, 10 ng/mL, 20 ng/mL, 50 ng/mL, 100 ng/mL, 200 ng/mL, 500 ng/mL, 1000 ng/mL; 加标量为用20 μ g/mL的母液添加为50 μ L(4个)或100 μ L(4个)。

2.4. 气相色谱质谱条件

进样口温度: 220 $^{\circ}$ C, 色谱柱: VF-1701ms 15m \times 0.25mm \times 0.25 μ m, 载气: 氦气(纯度 \geq 99.999%, 1.2mL/min), 进样方式: 不分流, 柱箱: 40 $^{\circ}$ C保持2min, 10 $^{\circ}$ C/min升至100 $^{\circ}$ C, 40 $^{\circ}$ C/min升至240 $^{\circ}$ C, 保持2min, 电子轰击源: 70eV, 传输线温度: 240 $^{\circ}$ C, 离子源温度: 240 $^{\circ}$ C, 溶剂延迟: 7min, MRM模式: 定量离子对74.0-44.1, 定性离子对74.0-42.1, 驻留时间均为120ms, CE电压均为18eV。

2.5. 标准曲线(不含基质)

用乙腈将标准溶液储备液稀释配制成5.0 ng/ml、10.0 ng/ml、20.0 ng/ml、50.0 ng/ml、100.0 ng/ml、200.0 ng/ml、500.0 ng/ml、1000.0 ng/ml系列浓度各1mL, 分别进样测定, 绘制标准曲线。

2.6. 标准曲线(含基质)

首先按2.3步骤进行前处理, 然后将得到的样品空白基质各取1mL氮吹至干, 按2.5步骤配制好标曲, 用来溶解空白基质, 使标液和样品中所含基质的量保持一致。

空白加标回收: 在没有被测物质的空白样品基质中加入定量的标准物质, 按样品的处理步骤分析, 得到的结果与理论值的比值即为空白加标回收率。

样品加标回收: 相同的样品取两份, 其中一份加入定量的待测成分标准物质; 两份同时按相同的分析步骤分析, 加标的一份所得的结果减去未加标一份所得的结果, 其差值同加入标准物质的理论值之比即为样品加标回收率。

加标回收率的测定, 是实验室内经常用以自控的一种质量控制技术。对于它的计算方法, 给定了一个理论公式:

$$\text{加标回收率} = (\text{加标试样测定值} - \text{试样测定值}) \div \text{加标量} \times 100\%$$

3. 结果与分析

3.1. 检测前处理方法

QuEChERS方法直接处理，减少了水产品中所含脂肪、磷脂、蛋白等基质干扰物质，如何前处理样品将会直接影响检测效果，前处理液的制备通常涉及提取液、盐析剂以及净化剂等配制，由于NDMA为亲水性，在此可以简化乙腈直接萃取，盐析剂与净化剂分别由无水硫酸镁-氯化钠、PSA-MgSO₄-C18组成，试剂配制简单，大

幅度简化了GB 5009.26-2016方法要求的提取、萃取净化、浓缩过程步骤。

3.2. 标准曲线与精密度

NDMA标准品乙腈稀释为系列浓度，5ng/mL、10 ng/mL、20 ng/mL、50 ng/mL、100 ng/mL、200 ng/mL、500 ng/mL、1000 ng/mL制作标准曲线，标准曲线方程分别为含基质 $y = 19.620064x + 8.417585$ ，相关系数(r^2) = 0.9999；不含基质 $y = 16.750812x - 127.558672$ ， $r^2 = 0.9997$ (见表1)，线性良好。

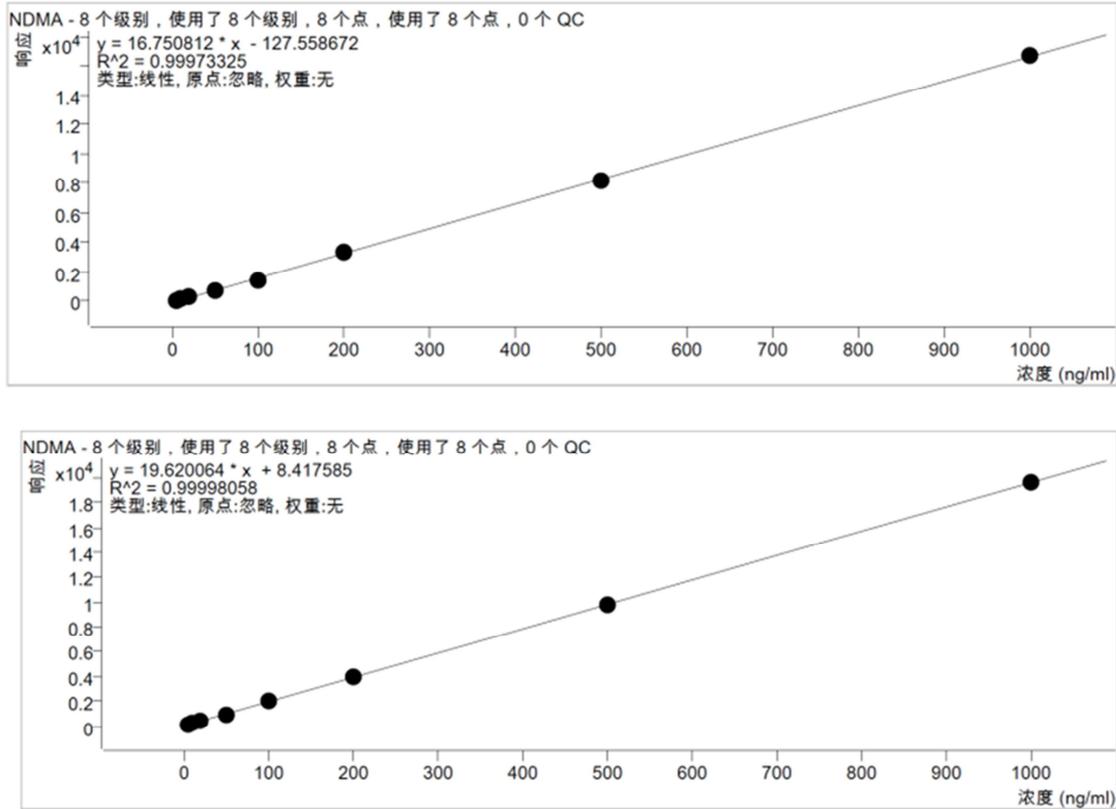


图1 7890B/7000D 气相色谱-串联质谱仪检测NDMA(鸭肉)不含基质(上)和含基质(下)。

表1 两种处理方式的线性关系。

| 处理方式 | 浓度(ng/mL) | 峰面积(响应) | 线性系数R | 线性范围(ng/mL) | 线性回归 |
|------|-----------|---------|--------------|-------------|---------------------------|
| 不含基质 | 5 | 28 | $r^2=0.9997$ | 0~1000 | $y=16.750812x-27.558672$ |
| | 10 | 103 | | | |
| | 20 | 250 | | | |
| | 50 | 687 | | | |
| | 100 | 1407 | | | |
| | 200 | 3284 | | | |
| | 500 | 8095 | | | |
| | 1000 | 16701 | | | |
| 含基质 | 5 | 118 | $r^2=0.9999$ | 0~1000 | $y=19.620064x + 8.417585$ |
| | 10 | 188 | | | |
| | 20 | 402 | | | |
| | 50 | 940 | | | |
| | 100 | 2022 | | | |
| | 200 | 3953 | | | |
| | 500 | 9795 | | | |
| | 1000 | 19633 | | | |

3.3. 加标回收率与RSD

数据中抽取50ng/mL、100ng/mL两组的四组平行检测值计算加标回收率与RSD, 结果如表2所示:

表2 不同处理同一标样检测回收率与RSD。

| 标样NDMA | 添加量ng/mL | 测定值(ng/mL) | | | | 平均 | 平均回收率 | RSD(%) |
|--------|----------|------------|----------|----------|----------|-----------------|--------|--------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | | | |
| 不含基质 | 50 | 55.3401 | 57.5362 | 56.5625 | 59.3938 | 57.2082±1.7118 | 114.41 | 2.99 |
| | 100 | 113.4397 | 116.4399 | 113.6743 | 118.1453 | 115.4248±2.2683 | 115.42 | 1.97 |
| 含基质 | 50 | 40.3166 | 42.1916 | 41.3603 | 41.1617 | 41.25755±0.7697 | 82.51 | 1.87 |
| | 100 | 89.9197 | 92.4812 | 92.5216 | 93.9372 | 92.2149±1.6732 | 92.21 | 1.91 |

3.4. 精密度分析[10]

选择同一样品二个不同水平添加量的精密度测定如表1显示RSD范围分别为1.97%~2.99%、1.89%~1.91%, 说明仪器检测过程有较好的精密度, 检测方法有良好的重现性, 可以适用鲜活类、新鲜禽肉品检测, 能够满足GB 2762-2017规定的国家检测标准。

3.5. 检出限分析[11]

以配制最小浓度5ng/mL的NDMA标样, 采取不分流进样, 进样量为1 μ L, 测得信噪比为3.43, 检测限以3倍噪声计算, 得到NDMA的仪器检测限为: 5ng/mL \times 3 \div 3.43 = 4.4ng/mL; 以10g称样量, 信噪比为10.0, 最后定容体积为1mL, 进样量为1 μ L, 则采用方法的检测限为: 5ng/mL \times 3 \times 1 \div 3.43 \div 10 = 0.44ng/g。

4. 结论

水禽动物除了自然污染因素, 其次肉制品通常经历烹饪过程, 受加工时油炸、煎烤、调味料、添加剂以及不同加热方式与温度等等影响因素, 较多地产生NDMA形成。肉制品NDMA检测技术进展经历过程中, 由于各种检测方法和前处理的差别, 检测结果普遍存在着较大差异[12]。气相色谱/三重四级杆质谱法配合QuEChERS前处理, 为各种肉制品快速、精确地检测NDMA提供了稳定且有效的评估方法。肉制品中NDMA测定及不确定度评定的研究[13], 这一技术组合分析结果认为加标平行样品是不确定度影响较大的因素, 本论文实验通过小批量检测实验, 重点控制加标这一主要影响因素, 得到较为满意的结果, QuEChERS前处理比较其他方法显著地节省了时间、试剂, 简单易行, 精确可靠。不含基质与含基质结果有一定差异, 或者说有一定的干扰[14,15]。按照参考关系: 干扰% = (基质标样曲线斜率 / 溶剂标样曲线斜率) - 1 = (19.620064/16.750812) - 1 = 17.13% (0~20%)评估, 显示为弱基质效应。

项目来源

宣城市科技计划项目宣科(2018)65号。
中图分类号: TS251.7; O657.63。

参考文献

- [1] 阎春林, 刘永东, 王云海, 钟儒刚. 二甲胺与亚硝酸反应生成N,N-二甲基亚硝胺的理论研究. 化学学报, 2007, 65(16);1568~1572。
- [2] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会、国家食品药品监督管理总局. 食品安全国家标准食品中污染物限量, GB2762-2017, 2017-03-17发布2017-09-17实施。
- [3] 阎春林, 刘永东, 王云海, 钟儒刚. 二甲胺与亚硝酸反应生成N,N-二甲基亚硝胺的理论研究. 化学学报, 2007, 65(16); 1568-1572。
- [4] 谈超群, 钟毅杰, 黄华. 二甲基亚硝胺消毒副产物的生成途径及其控制方法研究进展. 安全与环境学报, 2017, 17(6); 2292-2300。
- [5] An, D., Chen, Y.N., Gu, B., Westerhoff, P., Hanigan, D., Herckes P., and et al. Lower molecular weight fractions of PolyDADMAC coagulants disproportionately contribute to N-nitrosodimethylamine formation during water treatment. Water Research, 2019, 150; 466-472.
- [6] 张凤艳, 蒋万枫, 王蓓, 高嵩, 桑迎迎, 田玲. 水产品中N-二甲基亚硝胺气相色谱-串联质谱测定样品处理方法的改进. 中国卫生检验杂志, 2018, 28(11); 1306-1317。
- [7] Hinneh, K.D.C., Hanafi, A.E., He, K., Kosak, K., Echigo, S.Y., Asada, Y.h., Itoh, S.H. Formation of N-nitrosodimethylamine by chloramination of anthropogenic nitrogenous compounds with dimethylamine monitored by Japanese water authorities. Journal of Hazardous Materials, 2019, 367; 620-628.
- [8] Sgroia, M., Vagliasindia, F.G.A., Snyder, S.A., Roccaro, P. N-Nitrosodimethylamine (NDMA) and its precursors in water and wastewater: A review on formation and removal. Chemosphere, 2018,,191; 685-703.
- [9] Zhang, Q.X., Jin, L., Zhang, F., Yao, K., Ren, Y., Zhang, J.Q., Zhang, Q.H., He, Q., Wan, Y.P., Chi, Y.L. Analysis of 7 volatile N-nitrosamines in Chinese Sichuan salted vegetables by gas chromatography-tandem mass spectrometry coupled to modified QuEChERS extraction Food Control, 2019, 98; 342-347.

- [10] 周佳, 孙嘉茵, 李宇茜, 唐维英, 徐小平. GC-MS/MS 同位素内标法测定肉制品中 N-二甲基亚硝胺. 中国测试, 2016,42(9);46-49.
- [11] 冯秀娟, 龚慧, 张学玲. GC-MS 法测定食品中 N-二甲基亚硝胺含量. 中外食品工业, 2015;43-46.
- [12] 乔玲, 纪晗旭, 宋佳, 李榕, 胡飞杰. 肉制品中 N-二甲基亚硝胺的测定. 现代食品, 2018, 1;103-105.
- [13] 冯秀娟, 马桂娟, 王紫昕, 张文轩, 张瑶. 肉制品中 N-二甲基亚硝胺测定及不确定度评定. 食品研究与开发, 2017, 38(6);153-159.
- [14] Hu, S.P., Zhao, M., Mao, Q.Q., Fang, C.Y., Chen, D.W., Yan, P.C. Rapid one-step cleanup method to minimize matrix effects for residue analysis of alkaline pesticides in tea using liquid chromatography-high resolution mass spectrometry. Food Chemistry, 2019, Accepted Manuscript, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125146>.
- [15] Palma, C., Morgado, V., Bettencourt da Silva, R.J.N. Top-down evaluation of matrix effects uncertainty. Talanta, 2019, 192; 278-287.

作者简介



李杰 (1989-), 男, 江苏溧阳人, 工程师, 主要研究方向为农药残留、食品添加剂及污染物检测。