

吹扫捕集-气相色谱-质谱法测定啤酒中 8种亚硝胺类化合物

朱铭洪*

(江苏省疾病预防控制中心, 南京 210009)

摘要: **目的** 建立吹扫捕集-气相色谱-质谱法测定啤酒中8种亚硝胺类化合物的含量。**方法** 啤酒通过吹扫捕集并经毛细管色谱柱分离, 采用气相色谱-质谱法检测, 以内标法定量。**结果** 8种亚硝胺类化合物(包括 N-亚硝基二甲胺、N-亚硝基甲乙胺、N-亚硝基二乙胺、N-亚硝基二丙胺、N-亚硝基吡咯烷、N-亚硝基哌啶、N-亚硝基二丁胺和 N-亚硝基二苯胺)在 0.5~100.0 $\mu\text{g/L}$ 的线性范围内呈现较好的线性关系, 相关系数 r 均大于 0.99。方法的检出限为 0.20~0.35 $\mu\text{g/L}$, 平均回收率在 78.1%~95.7%之间, 相对标准偏差在 2.5%~9.8%之间。**结论** 该方法操作简单快捷, 灵敏度和准确度均较高, 可满足啤酒 8种亚硝胺类化合物的检测。

关键词: N-亚硝胺化合物; 吹扫捕集; 气相色谱-质谱; 啤酒

Determination of 8 kinds of N-nitrosamine compounds in beer by purge-trap and gas chromatography-mass spectrometry

ZHU Ming-Hong*

(Jiangsu Provincial Center for Disease Control and Prevention, Nanjing 210009, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the determination of 8 kinds of N-nitrosamine compounds in beer by gas chromatography and mass spectrometry with purge-trap. **Methods** Beer samples were separated by capillary chromatographic column after purge-trap technique, and then determined by gas chromatography and mass spectrometry. Internal standard method was used for quantitative analysis. **Results** Eight kinds of N-nitrosamine compounds(including N-nitrosodimethylamine (NDMA), N-nitroso-Methyl ethylamine (NMEA), N-Nitrosodiethylamine (NDEA), N-nitrosodipropylamine (NDPA), Nitrosopyrrolidine (NPYR), Nitrosopiperidine (NPIP), N-Nitrosodibutylamine (NDBA) and N-nitrosodiphenylamine (NPYL) had good linear relationships in the ranges of 0.5~100.0 $\mu\text{g/L}$, coefficients of 8 kinds of N-nitrosamine compounds were greater than 0.99. The limits of detection were between 0.2~0.35 $\mu\text{g/L}$, the average recoveries were in the range of 78.1%~95.7%, and the relative standard deviations were in the range of 2.5%~9.8%. **Conclusion** The method is simple, fast, sensitive and accurate, which can be used for the determination of 8 kinds of N-nitrosamine compounds in beer.

KEY WORDS: N-nitrosamine compounds; purge-trap; gas chromatography and mass spectrometry; beer

基金项目: 江苏省科技厅科技支撑计划项目(BE2010745)、江苏省卫生厅“十二五”科教兴卫工程支撑项目(ZX201109)

Fund: Supported by Jiangsu Provincial Science and Technology Support Project (BE2010745) and Jiangsu Provincial 12th Five-Year Health Development Project with Science and Education (ZX201109)

*通讯作者: 朱铭洪, 副主任技师, 主要研究方向是食品时水质的理化检验。E-mail: zhuminghong98811@163.com.

*Corresponding author: ZHU Ming-Hong, Associate Chief Technician, Jiangsu Provincial Center for Disease Control and Prevention, Nanjing 210009, China. E-mail: zhuminghong98811@163.com

1 引言

亚硝胺类是一种强致癌物质,广泛存在于水体、食品、日常消费品及受污染的空气中^[1]。自从上世纪60年代起,各国化学家和毒理学家开始对亚硝胺进行研究^[2]。亚硝胺主要来源于食物^[3]和工业制品特别是啤酒^[4]、熏肉^[5]、烟草^[6]和橡胶制品^[7,8]中。人体每天都需要摄入大量的粮食、蔬菜、鱼肉和蛋奶等,使亚硝酸盐随着这些食物摄入人体,可能与蛋白反应生成亚硝胺。这类物质及其前提物质的种类和数量是恶性肿瘤流行病学和病因的重要内容,具有强致癌性,对人类的健康和生态环境具有很大的危害,美国环境保护署(Environmental Protection Agency, EPA)已确定7 ng/L N-亚硝基二甲胺就会致癌^[9],因此对亚硝胺类化合物的监控非常重要。然而由于亚硝胺类化合物含量低,且大多数化合物具有水溶性^[10]、种类复杂多样及现有技术的限制,导致对于其分析比较困难,因此需要研究如何快速、灵敏和准确地测定N-亚硝胺类化合物的方法^[11]。

目前国内关于水中亚硝胺类测定的研究报道不多,目前测定N-亚硝胺类的方法有液液萃取气相色谱法^[12-14]、固相萃取气相色谱-质谱法^[15],这些方法的缺点是需要大量的样品和污染环境的试剂,且提取和浓缩的时间较长。气相色谱定性能力差,热能仪应用范围窄。顶空固相微萃取气谱联用法对萃取头选择和活化的要求比较苛刻,且价格昂贵。本研究采用吹扫捕集气质联法对啤酒基质中亚硝胺类进行测定,并通过优化吹扫的温度、时间和溶液的离子强度等实验条件,检测样品中的N-亚硝基二甲胺(NDMA)、N-亚硝基甲乙胺(NMEA)、N-亚硝基二乙胺(NDEA)、N-亚硝基二丙胺(NDPA)、N-亚硝基吡咯烷(NPYP)、N-亚硝基哌啶(NPIP)、N-亚硝基二丁胺(NDBA)以及N-亚硝基二苯胺(NdPhA)含量。

2 材料与方法

2.1 仪器与试剂

O.I Analytical 4660 吹扫捕集仪(美国O.I公司);气相色谱仪6890A-质谱仪5975C(美国安捷伦公司);DB-INNOWAX毛细管色谱柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μm, 美国安捷伦公司)。

甲醇(HPLC级,美国Fisher公司),氯化钠(分析纯,南京化学试剂有限公司),8种亚硝胺类化合物的标准溶液(2000 mg/L,美国Restek公司),内标溶液4-溴氟苯(2000 mg/L,德国Dr.Ehrenstorfer公司)。

2.2 实验方法

2.2.1 标准曲线的配制

将8种亚硝胺类化合物的标准品用甲醇配制成1000 μg/L的中间溶液;4℃以下避光保存,现配现用。临用前用

甲醇稀释成浓度为0.5、2.0、5.0、10.0、50.0和100.0 μg/L的标准系列溶液;内标物浓度为2.0 μg/L。

以各组分定量离子峰面积与其浓度之比为纵坐标,以4-溴氟苯的定量离子峰面积与其浓度之比为横坐标绘制标准曲线。采用选择离子质谱图对组分进行定性分析,采用内标法定量。图1为8种N-亚硝胺类化合物的选择离子色谱图。

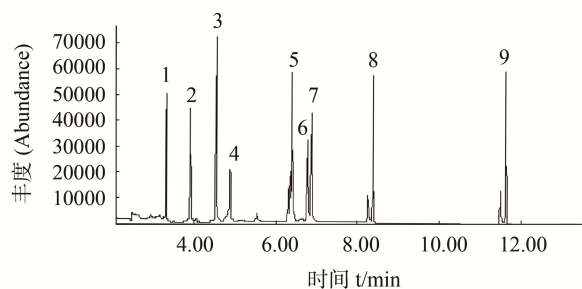


图1 8种N-亚硝胺类化合物的选择离子色谱图

Fig. 1 Selective ion chromatogram of the 8 kinds of compounds of N-nitrosamine

注: 1: N-亚硝基二甲胺(NDMA); 2: N-亚硝基甲乙胺(NMEA); 3: N-亚硝基二乙胺(NDEA); 4: 4-溴氟苯; 5: N-亚硝基二丙胺(NDPA); 6: N-亚硝基吡咯烷(NPYP); 7: N-亚硝基哌啶(NPIP); 8: N-亚硝基二丁胺(NDBA); 9: N-亚硝基二苯胺(NdPhA)。

2.2.2 样品前处理

取10 mL啤酒样于样品瓶中,加2.0 μg/L内标液,并加入NaCl至饱和;将啤酒样品加热至65℃,吹扫捕集12 min后进样,进行GC-MS分析。

2.2.3 仪器条件

(1)气相色谱条件

色谱柱: DB-INNOWAX 色谱柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μm);柱温采用程序升温: 50℃保持2 min,以15℃/min升至300℃,保持1 min;载气为高纯氦气,柱流量为1.5 mL/min,进样口温度为180℃,进样方式为不分流进样。

(2)质谱条件

采用EI离子源,电子轰击能量70 eV,扫描方式为选择离子扫描(segment selected ion monitoring, SIM),扫描条件为45~500 amu,溶剂延迟2 min。离子源温度为280℃,界面传输温度为280℃,扫描时间为0.1 s。在SIM条件中在其保留时间内只选择N-亚硝胺类化合物的特征离子(见表1),以提高灵敏度。

3 结果与讨论

3.1 吹扫捕集温度、时间以及NaCl添加量优化

亚硝胺类混合标准挥发性随吹扫温度的升高而峰面

积增大。分别考察了在 30、50、65、80 °C 时的吹扫捕集效果, 结果显示, 随着吹扫温度的升高, 8 种 N-亚硝胺类化合物的峰面积呈增大趋势。考虑到温度太高, 吹扫管温度不易平衡且水分挥发过强会影响水质管理器寿命, 所以吹扫温度选择为 65 °C。

分别考察了吹扫 5、7、12 min 时的吹扫捕集效果。结果显示, 随着吹扫时间的延长, 8 种 N-亚硝胺类化合物的峰面积呈增大趋势。由于 12 min 时的峰面积不再增加, 说明 8 种 N-亚硝胺类化合物已全吹出, 所以选择吹扫时间为 12 min。

试验用 NaCl 作为离子强度调节剂, 考察了其添加量分别为 0、0.3、0.5 g/mL(饱和)3 种不同离子浓度对萃取效果的影响; 结果显示, 当 NaCl 溶液处于饱和状态时, 离子强度最大, 便于亚硝胺的挥发, 吹扫效果较好。因此, 选择 NaCl 的添加量为 0.5 g/mL。

3.2 色谱柱的选择

分别比较了 DB-INNOWAX(30 m×0.25 mm, 0.25 μm, 美国安捷伦公司)、HP-5(30 m×0.25 mm, 0.25 μm, 美国安捷伦公司)、FFAP(30 m×0.25 mm, 0.25 μm, 美国安捷伦公司)3 种毛细管色谱柱。发现 N-亚硝胺类化合物在 DB-INNOWAX 上出峰较快、峰形最好且灵敏度最高。

3.3 线性范围、回归方程、相关系数与检出限

在 0.5~100 μg/L 的线性范围内, 所得 8 种 N-亚硝胺的回归方程均呈较好的线性关系, $r > 0.99$, 检出限为 0.20 ~ 0.35 μg/L, 见表 2。

3.4 加标回收实验

向不含本底的啤酒中添加 0.5、20.0 和 50.0 μg/L 的标准溶液进行加标回收试验, 每个水平重复 7 次, 结果见表 3。测得 8 种 N-亚硝胺类化合物的平均回收率为 78.1%~95.7%, RSD 为 2.5%~9.8%。

表 1 亚硝胺标样和内标的定性定量离子表

Table 1 Qualitative and quantitative ion meter of the nitrosamine standard and internal standard

化合物	保留时间/min	定量离子 m/z
N-亚硝基二甲胺(NDMA)	3.345	42, 75 ^a
N-亚硝基甲乙胺(NMEA)	3.927	42, 89 ^a
N-亚硝基二乙胺(NDEA)	4.551	44, 103 ^a
N-亚硝基二丙胺(NDPA)	6.398	131 ^a , 113, 70
N-亚硝基吡咯烷(NPYP)	6.767	100 ^a
N-亚硝基哌啶(NPIP)	6.863	115 ^a
N-亚硝基二丁胺(NDBA)	8.347	159 ^a , 84, 99
N-亚硝基二苯胺(NdPhA)	11.579	170 ^a , 199
内标 4-溴氟苯	5.549	95 ^a , 174, 176

注: ^a 为定量离子

表 2 8 种亚硝胺的线性范围、回归方程和检出限

Table 2. Linear range, regression equation and limit of detection of 8 kinds of n-nitrosamine

化合物	线性范围(μg/L)	回归方程	相关系数	检出限(μg/L)
N-亚硝基二甲胺(NDMA)	0.5 ~ 100	$Y=0.0057X+0.0678$	0.9979	0.24
N-亚硝基甲乙胺(NMEA)	0.5 ~ 100	$Y=0.0050X+0.0475$	0.9981	0.24
N-亚硝基二乙胺(NDEA)	0.5 ~ 100	$Y=0.0134X+0.0651$	0.9978	0.24
N-亚硝基二丙胺(NDPA)	0.5 ~ 100	$Y=0.0198X+0.0123$	0.9984	0.35
N-亚硝基吡咯烷(NPYP)	0.5 ~ 100	$Y=0.0179X+0.0612$	0.9989	0.35
N-亚硝基哌啶(NPIP)	0.5 ~ 100	$Y=0.0103X+0.0231$	0.9980	0.35
N-亚硝基二丁胺(NDBA)	0.5 ~ 100	$Y=0.0134X+0.0832$	0.9991	0.20
N-亚硝基二苯胺(NdPhA)	0.5 ~ 100	$Y=0.0147X+0.0678$	0.9997	0.20

表 3 啤酒中 8 种 N-亚硝胺类化合物的加标回收实验结果($n=7$)
Table 3 Recoveries of the 8 kinds of n-nitrosamines in beer sample($n=7$)

亚硝胺	加标 0.5 $\mu\text{g/L}$			加标 20.0 $\mu\text{g/L}$			加标 50.0 $\mu\text{g/L}$		
	测定值 $\bar{x} \pm s, \mu\text{g/L}$	平均 回收率 (%)	RSD (%)	测定值 $\bar{x} \pm s, \mu\text{g/L}$	平均 回收率 (%)	RSD (%)	测定值 $\bar{x} \pm s, \mu\text{g/L}$	平均 回收率 (%)	RSD (%)
N-亚硝基二甲胺(NDMA)	0.45 \pm 0.045	89.1	5.5	20.0 \pm 2.92	93.0	5.1	45.0 \pm 4.13	93.1	4.7
N-亚硝基甲乙胺(NMEA)	0.45 \pm 0.040	87.0	6.2	19.0 \pm 3.47	91.1	5.4	46.0 \pm 3.24	93.8	4.9
N-亚硝基二乙胺(NDEA)	0.45 \pm 0.036	87.1	5.4	19.1 \pm 2.34	91.7	4.3	47.0 \pm 4.13	94.0	3.9
N-亚硝基二丙胺(NDPA)	0.45 \pm 0.050	85.5	9.8	18.7 \pm 4.98	88.0	8.4	46.1 \pm 3.22	89.2	7.7
N-亚硝基吡咯烷(NPYP)	0.45 \pm 0.078	78.1	8.8	17.3 \pm 4.05	88.2	7.2	46.5 \pm 4.40	90.5	6.2
N-亚硝基哌啶 (NPIP)	0.45 \pm 0.052	88.3	8.0	17.8 \pm 3.18	91.7	7.1	47.6 \pm 3.11	90.4	6.3
N-亚硝基二丁胺(NDBA)	0.45 \pm 0.028	88.3	5.9	19.0 \pm 2.10	91.0	4.7	50.5 \pm 3.10	95.1	2.5
N-亚硝基二苯胺(NdPhA)	0.45 \pm 0.029	89.1	6.0	20.4 \pm 3.10	92.3	5.1	50.7 \pm 2.10	95.7	3.1

3.5 实际样品的测定

对江苏省 13 个市的啤酒进行调研, 共检测样品 40 份, 除 N-亚硝基二甲胺(NDMA)、N-亚硝基二丙胺(NDPA)和 N-亚硝基二丁胺(NDBA)3 个亚硝胺类化合物检出, 但均未超标, 其余 5 个亚硝胺化合物均未检出。

4 结论

本研究建立了啤酒中 8 种 N-亚硝胺类化合物的吹扫捕集-气相色谱-质谱法同时测定。该方法操作简单、快捷, 灵敏度和准确度均较高、精密度较好, 适用于啤酒中 N-亚硝胺类化合物的测定。

参考文献

- [1] 楚文海, 高乃云. 饮用水含氮消毒副产物 NDMA 的形成与去除研究进展[J]. 化学通报, 2009, 72(5): 388-393. Chu WH, Gao NY. Research Progress on the formation and removal of the nitrogenous disinfection by product DMA in drinking water [J]. J Chem Commun, 2009, 72(5): 388-393.
- [2] National Cancer Institute. Report on the carcinogenesis bioassay of chloroform [R]. National Cancer Institute. TR-000 NTIS Rpt No. PB264018, 1976.
- [3] 魏法山, 徐幸莲, 周光宏. 挥发性 N-亚硝基化合物的分析方法[J]. 食品科学, 2008, 29(7): 479-484. Wei FS, Xu XL, Zhou GH. The analysis method of volatile n-nitrosamines compounds [J]. J Food Sci, 2008, 29(7): 479-484.
- [4] 桃燕飞, 黄红林, 张桃芝. 啤酒中 N-亚硝胺的-GC-MS 分析[J]. 分析测试学报, 2003(5): 82-84. Tao YF, Huang HL, Zhang TZ. Gas chromatography-mass spectrometry analysis of n-nitrosamines in beer sample [J]. J Instrum Anal, 2003(5): 82-84.
- [5] 王瑞, 马佃珍, 方长发. 毛细管气相色谱法对冷却猪肉中挥发性 N-亚硝胺类化合物含量的测定分析[J]. 天津农学院学报, 2006, (1): 9-12. Wang R, Ma LZ, Fang CF. A capillary gas chromatography method to test and analyze the volatile n-nitrosamine contents in chilling pork [J]. J Tianjing Agric Univ, 2006, (1): 9-12.
- [6] 赵明月, 谢复伟, 王昇, 等. 毛细管气相色谱法测定烟草中的亚硝胺[J]. 烟气与化学, 2000, (3): 1-6. Zhao MY, Xie FW, Wang S, et al. Determination of N-nitrosamines in tobacco by capillary gas chromatography [J]. Acta Tabacaria Sinica, 2000, (3): 1-6.
- [7] 幸苑娜, 王欣. 气相色谱-正化学源质谱法测定家用橡胶手套中 7 种 N-亚硝胺及其前体物的迁移量[J]. 分析测试学报, 2011, 30(5): 503-508. Xing YN, Wang X. Determination of migration levels of the 7 n-nitrosamines and their precursors in rubber gloves by gas chromatography- positive chemical ionization mass spectrometry [J]. J Instrum Anal, 2011, 30(5): 503-508.
- [8] 幸苑娜, 倪宏刚. 气相色谱-正化学源质谱法测定橡胶中 N-亚硝胺及其前体物的迁移量[J]. 分析化学, 2011, 39(7): 1065-1070. Xing YN, Ni HG. Determination of migration levels of n-nitrosamines and their precursors in rubbers by gas chromatography- positive chemical ionization mass spectrometry [J]. Chin J Anal Chem, 2011, 39(7): 1065-1070.
- [9] Gerecke AC, Sedlak DL. Precursors of N-nitrosodimethylamine in natural waters [J]. Environ Sci Technol, 2003, 37(7): 1331-1336. Gerecke AC, Sedlak DL. 天然水中的 N-亚硝胺前体物[J]. 美国环境科学与技术, 2003, 37(7): 1331-1336.
- [10] Mitch WA, Sharp JO, Trussell RR, et al. N-nitrosodimethylamine (NDMA) as a drinking water contaminant: a review [J]. Environ Eng Sci, 2003, 20(5): 3890-4041

- Mitch WA, Sharp JO, Trussell R R, *et al.* N-亚硝基二甲胺作为饮用水的污染物-综述[J]. 环境工程科学杂志, 2003, 20(5): 389-4041.
- [11] 尚晓玲, 李咏梅. 典型含氮消毒副产物的形成及去除的研究进展[J]. 环境科学与技术, 2010, 33(4): 60-64.
Shang XL, Li YM. Research progress on the formation and removal of a typical nitrogenous disinfection by product [J]. Environ Sci Technol, 2010, 33(4): 60-64.
- [12] 刘树萍. 吹扫捕集和气相色谱联用测定水中 N-亚硝基[J]. 净水技术, 2012, 31(1): 68-69.
Liu SP. Determination of N-nitrosamines in water using purge-trap and gas chromatography Method [J]. J Pur Technol, 2012, 31(1): 68-69.
- [13] 陆荫. 气相色谱法测定水中的 N-亚硝基[J]. 甘肃科技, 2014, 23(30): 71-74.
LU Meng. Determination of N-nitrosamines in water using gas chromatography method [J]. Gansu Sci Technol, 2014, 23(30): 71-74.
- [14] 陈祖辉. 氮磷检测器气相色谱法测定水中痕量 N-亚硝胺[J]. 分析化学, 1980, 9(6): 631-635.
Chen ZH. Determination of volatile n-nitrosamines in water at trace lever by gas chromatography with nitrogen-phosphorus detector [J]. Chin J Anal Chem, 1980, 9(6): 631-635.
- [15] 张秋菊, 郭祖鹏, 李明珠. 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.
Zhang QJ, Guo ZP, Li MZ. Determination of 7 N-nitrosamines by headspace solid phase microextraction, gas chromatography and mass spectrometry [J]. Chin J Health Lab Technol, 2009, 19(6): 1234-1236.

(责任编辑: 姚菲)

作者简介



朱铭洪, 副主任技师, 主要研究方向是食品时水质的理化检验。
E-mail: zhuminghong98811@163.com