



中华人民共和国国家标准

GB 5009.26—2023

食品安全国家标准

食品中 N-亚硝胺类化合物的测定

2023-09-06 发布

2024-03-06 实施

中华人民共和国国家卫生健康委员会
国 家 市 场 监 督 管 理 总 局 发 布

前　　言

本标准代替 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》。

本标准与 GB 5009.26—2016 相比,主要变化如下:

- 增加了第一法水蒸气蒸馏-气相色谱-质谱/质谱法;
- 增加了第二法 QuEChERS-气相色谱-质谱/质谱法;
- 增加了第三法水蒸气蒸馏-液相色谱-质谱/质谱法;
- 删除了气相色谱-质谱法;
- 修改了原第二法气相色谱-热能分析仪法为第四法;
- 修改了前处理蒸馏法条件、气相色谱-热能分析仪法的检出限和定量限。

食品安全国家标准

食品中 N-亚硝胺类化合物的测定

1 范围

本标准规定了食品中 N-二甲基亚硝胺(NDMA)的测定方法。

本标准适用于肉及肉制品、水产动物及其制品中 N-二甲基亚硝胺的测定。

第一法 水蒸气蒸馏-气相色谱-质谱/质谱法

2 原理

本法以 N-二甲基亚硝胺-D₆ 为内标,试样中加入内标,经水蒸气蒸馏,样品中的 N-二甲基亚硝胺通过二氯甲烷吸收,液液萃取分离,采用气相色谱-质谱仪(GC-MS/MS)测定,内标法定量。

3 试剂与材料

除非另有说明,本方法所用试剂均为分析纯,水为 GB/T 6682 规定的一级水。

3.1 试剂

3.1.1 二氯甲烷(CH₂Cl₂):色谱纯。

3.1.2 浓硫酸(H₂SO₄):18.4 mol/L。

3.1.3 异辛烷(C₈H₁₈):色谱纯。

3.1.4 无水硫酸钠(Na₂SO₄)。

3.1.5 氯化钠(NaCl):优级纯。

3.2 试剂配制

硫酸溶液(1+3):量取 30 mL 浓硫酸,缓缓倒入 90 mL 冷水中,一边搅拌使得充分散热,冷却后小心混匀。

3.3 标准品

3.3.1 N-二甲基亚硝胺标准溶液(C₂H₆N₂O,CAS 号:62-75-9):质量浓度为 1 000 μg/mL 的 N-二甲基亚硝胺甲醇溶液,或经国家认证并授予标准物质证书的标准品。

3.3.2 N-二甲基亚硝胺-D₆ 内标标准溶液(NDMA-D₆,C₂D₆N₂O,CAS 号:17829-05-9):质量浓度为 1 000 μg/mL,溶剂为甲醇。

3.4 标准溶液配制

3.4.1 N-二甲基亚硝胺标准储备液(100 μg/mL):准确吸取 1.0 mL N-二甲基亚硝胺标准溶液(1 000 μg/mL),置于 10 mL 容量瓶中,用二氯甲烷定容至刻度,混匀。将溶液转移至棕色玻璃容器内,

—18 ℃避光保存,保存期6个月。

3.4.2 N-二甲基亚硝胺标准中间液(1 μg/mL):准确吸取1.0 mL N-二甲基亚硝胺标准储备溶液(100 μg/mL),置于100 mL容量瓶中,用二氯甲烷定容至刻度,混匀。将溶液转移至棕色玻璃容器内,—18 ℃避光保存,保存期3个月。

3.4.3 N-二甲基亚硝胺-D₆内标储备液(100 μg/mL):准确吸取N-二甲基亚硝胺-D₆标准溶液1.0 mL,置于10 mL容量瓶中,用二氯甲烷定容至刻度,混匀。将溶液转移至棕色玻璃容器内,—18 ℃避光保存,保存期6个月。

3.4.4 N-二甲基亚硝胺-D₆内标中间液(1 μg/mL):准确吸取N-二甲基亚硝胺-D₆内标储备液1.0 mL,置于100 mL容量瓶中,用二氯甲烷定容至刻度,混匀。将溶液转移至棕色玻璃容器内,—18 ℃避光保存,保存期3个月。

3.4.5 N-二甲基亚硝胺标准及内标混合系列工作液:分别准确吸取N-二甲基亚硝胺标准中间液(1 μg/mL)0.1 mL、0.2 mL、0.5 mL、1.0 mL和2.0 mL,置于10 mL容量瓶中,各加内标中间液(1 μg/mL)0.4 mL,用二氯甲烷定容至刻度,混匀。N-二甲基亚硝胺标准系列工作溶液质量浓度为10 μg/L、20 μg/L、50 μg/L、100 μg/L和200 μg/L,其中内标的质量浓度均为40 μg/L。临用现配。

4 仪器和设备

4.1 气相色谱-质谱/质谱联用仪(GC-MS/MS)。

4.2 旋转蒸发仪。

4.3 全玻璃水蒸气蒸馏装置或全自动水蒸气蒸馏装置(见附录A中图A.1)。

4.4 氮吹仪。

4.5 电子天平:感量为0.001 g。

4.6 制冰机。

4.7 冷却水制备机。

4.8 水浴锅。

4.9 10 mL带刻度试管。

4.10 100 μL~1 000 μL移液器或分度吸量管。

5 分析步骤

5.1 样品前处理

5.1.1 试样制备

代表性样品取可食部分捣碎后,制备成均匀试样,装入洁净的容器,密封并做好标识。试样于—18 ℃冷冻保存,备用。

5.1.2 提取

准确称取20 g(精确到0.01 g)试样,加入N-二甲基亚硝胺内标标准中间液(1 μg/mL)40 μL,加入100 mL水和50 g氯化钠于蒸馏瓶(管)中,充分混匀。载样前后均需进行气密性检查。在250 mL三角烧瓶中加入50 mL二氯甲烷、0.5 mL异辛烷,冷凝管(冷却水温度控制在10 ℃~15 ℃)出口伸入二氯甲烷液面下,并将三角烧瓶置于冰浴中,开启蒸馏装置加热蒸馏(参考条件:自动蒸馏装置蒸汽功率设置为50%),收集200 mL~250 mL冷凝液(包含50 mL二氯甲烷提取液)后关闭加热装置,停止蒸馏。

注:蒸汽功率设置目的为控制蒸汽量,蒸汽加热样品时不致使样品暴沸至蒸馏管腔体外。

5.1.3 净化

在盛有冷凝液的三角瓶中加入 15 g 氯化钠和 2 mL 硫酸溶液, 搅拌使氯化钠完全溶解。然后将溶液转移至 500 mL 分液漏斗中, 振荡 5 min, 必要时放气, 静置分层后, 将二氯甲烷层转移至另一圆底烧瓶中, 再用 120 mL 二氯甲烷分 3 次萃取, 每次 40 mL 萃取, 合并 4 次二氯甲烷萃取液, 总体积约为 170 mL。

5.1.4 浓缩

将二氯甲烷萃取液用 10 g 无水硫酸钠脱水后, 于 5 ℃~18 ℃ 水浴温度条件下旋转蒸发浓缩至 5 mL~10 mL, 转入试管中, 控制氮吹温度在 18 ℃~25 ℃, 氮吹(参考条件: 氮吹流速 1 L/min)至近干(0.3 mL~0.8 mL), 用二氯甲烷溶解残渣, 准确定容至 1.0 mL, 上机检测。

注: 控制氮吹流速, 不致使液体飞溅管壁。

5.2 仪器参考条件

5.2.1 气相色谱条件

- a) 色谱柱: 强极性石英毛细管 WAX 柱, 固定相为聚乙二醇[30 m×0.25 mm(内径)×0.25 μm(膜厚)], 或相当者。
- b) 进样口温度: 220 ℃。
- c) 载气: 氦气, 纯度≥99.999%; 流速 1 mL/min。
- d) 进样方式: 不分流进样。
- e) 进样量: 1 μL。
- f) 升温程序: 初始温度 40 ℃, 以 10 ℃/min 升至 80 ℃, 以 1 ℃/min 升至 90 ℃, 再以 30 ℃/min 升至 240 ℃, 保持 2 min。

5.2.2 质谱/质谱条件

- a) 离子源温度: 250 ℃。
- b) 色谱与质谱接口温度: 250 ℃。
- c) 电离方式: 电子轰击源(EI 源)。
- d) 电离能量: 70 eV。
- e) 溶剂延迟: 6 min。
- f) 四级杆温度: 150 ℃。
- g) 监测模式: 多反应监测(MRM)模式, 离子对参数见表 1。

表 1 N-二甲基亚硝胺及其内标的监测离子对

目标物	定量离子对	定量离子对碰撞能/eV	定性离子对	定性离子对碰撞能/eV
NDMA	74.0/44.0	3	74.0/42.1	19
NDMA-D ₅ (内标物)	80.0/50.1	5	—	—

5.3 标准曲线的制作

将 N-二甲基亚硝胺标准及内标混合系列工作溶液按浓度由低到高的顺序注入气相色谱-质谱仪进样分析, 以 N-二甲基亚硝胺的质量浓度为横坐标, 以 N-二甲基亚硝胺及其对应氘代同位素内标的峰

面积比值为纵坐标,绘制标准曲线。*N*-二甲基亚硝胺标准溶液的色谱图参见附录 B 中图 B.1 和图 B.2。

5.4 试样溶液的测定

5.4.1 定性测定

按照 5.2 所述条件测定试样和标准系列工作溶液, 试样的质量色谱峰保留时间应与标准物质一致, 允许偏差小于 $\pm 0.5\%$, 并且在扣除背景后的样品质谱图中, 所选择的离子均出现且信噪比 ≥ 3 , 而且定性离子对的相对丰度(是用相对于最强离子丰度的强度百分比表示)与浓度相当的标准使用溶液的相对丰度允许偏差不超过表 2 规定的范围, 则可判断样品中存在对应的被测物。

表 2 定性时相对离子丰度的最大允许偏差

相对离子丰度	>50%	20%~50%(含)	10%~20%(含)	≤10%
允许的最大偏差	±20%	±25%	±30%	±50%

5.4.2 定量测定

将试样溶液注入气相色谱-质谱/质谱仪中,得到 N-二甲基亚硝胺的峰面积与对应同位素内标的峰面积的比值,根据标准曲线得到试样溶液中被测化合物的浓度。样液中 N-二甲基亚硝胺的峰面积比值应在标准曲线的线性范围内;如果含量超过标准曲线范围,需调整称样量或定容体积重新检测,若调整定容体积,应调整内标的添加量,使最终定容后内标与标准曲线内标的质量浓度一致。

5.5 空自试验

用水代替试样,按 5.1 及 5.2 所述操作步骤进行,必要时,进行环境空白的测定,空白测定值需低于该方法的定量限的 50%。

6 分析结果的表述

试样中 *N*-二甲基亚硝胺含量按式(1)计算。

$$X = \frac{(\rho - \rho_0) \times V \times 1\,000}{m \times 1\,000} \quad \dots \dots \dots \quad (1)$$

式中：

X ——试样中 N-二甲基亚硝胺的含量, 单位为微克每千克($\mu\text{g}/\text{kg}$);

ρ ——试样中 N-二甲基亚硝胺色谱峰与对应内标物色谱峰的峰面积比值,经标准曲线求得的对应 N-二甲基亚硝胺质量浓度,单位为微克每升($\mu\text{g/L}$);

ρ_0 ——空白试验溶液中 N-二甲基亚硝胺色谱峰与对应内标物色谱峰的峰面积比值,经标准曲线求得的对应 N-二甲基亚硝胺质量浓度,单位为微克每升($\mu\text{g}/\text{L}$);

V ——试液最终定容体积,单位为毫升(mL);

1 000——換算系数：

m ——试样的质量, 单位为克(g)

计算结果保留小数点后 2 位数字。

精密度

在重复性条件下获得的 2 次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 20%。

8 其他

8.1 方法检测限

称样量为 20 g, 定容体积为 1.0 mL 时, 本方法检出限为 0.30 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 定量限为 1.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

8.2 安全警示

本试验所涉及的对人体可能造成危害的试剂包括有机溶剂(如乙腈、正己烷)等。试验人员有可能因接触这些物质而带来风险, 因而, 涉及这些物质的试验操作中应在通风橱内进行, 并佩戴专业的防护工具(如手套、口罩等)。

亚硝胺类化合物是强致癌物, 试验结束后, 随意丢弃这些物质可能会对人员及环境造成损害, 同时, 在处理不当时, 试验用的 N-二甲基亚硝胺标准品及过期标准物质也可能带来风险, 因而, 在试验过程中不得随意丢弃这些物质, 应分别回收在密闭容器并保存在远离火源、通风良好的环境中。

第二法 QuEChERS-气相色谱-质谱/质谱法

9 原理

本法以 N-二甲基亚硝胺-D₆ 为内标, 试样中加入内标, 试样中的 N-二甲基亚硝胺经乙腈提取, 基质分散萃取填料净化, 采用气相色谱-质谱/质谱仪测定, 内标法定量。

10 试剂与材料

除非另有说明, 本方法所用试剂均为分析纯, 水为 GB/T 6682 规定的一级水。

10.1 试剂

10.1.1 乙腈(C₂H₃N): 色谱纯。

10.1.2 硫酸镁(MgSO₄)。

10.1.3 氯化钠(NaCl): 优级纯。

10.1.4 PLS-A 粉末: 吡咯烷酮修饰聚苯乙烯二乙烯苯聚合物粉末或 EMR-Lipid 萃取粉剂: 增强型去脂分散粉末。

10.1.5 微孔滤膜(0.22 μm), 有机相型。

10.2 标准品

同 3.3。

10.3 标准溶液配制

10.3.1 N-二甲基亚硝胺标准储备液(100 $\mu\text{g}/\text{mL}$): 准确吸取 1.0 mL N-二甲基亚硝胺标准溶液, 置于 10 mL 容量瓶中, 用乙腈定容至刻度, 混匀。将溶液转移至棕色玻璃容器内。−18 ℃避光保存, 保存期 6 个月。

10.3.2 N-二甲基亚硝胺标准中间液(1 $\mu\text{g}/\text{mL}$): 准确吸取 1.0 mL N-二甲基亚硝胺标准储备溶液(100 $\mu\text{g}/\text{mL}$), 置于 100 mL 容量瓶中, 用乙腈定容至刻度, 混匀。将溶液转移至棕色玻璃容器内。

—18 ℃避光保存,保存期3个月。

10.3.3 N-二甲基亚硝胺-D₆ 内标储备液(100 μg/mL):准确吸取N-二甲基亚硝胺-D₆ 标准溶液1.0 mL,置于10 mL容量瓶中,用乙腈定容至刻度,混匀。将溶液转移至棕色玻璃容器内。—18 ℃避光保存,保存期6个月。

10.3.4 N-二甲基亚硝胺-D₆ 内标中间液(1 μg/mL):准确吸取N-二甲基亚硝胺-D₆ 内标储备液1.0 mL,置于100 mL容量瓶中,用乙腈定容至刻度,混匀。将溶液转移至棕色玻璃容器内。—18 ℃避光保存,保存期3个月。

10.3.5 N-二甲基亚硝胺标准及内标混合系列工作液:分别准确吸取N-二甲基亚硝胺标准中间液(1 μg/mL)0.005 mL、0.01 mL、0.02 mL、0.05 mL、0.1 mL和0.2 mL,置于10 mL容量瓶中,各加入内标中间液(1 μg/mL)0.05 mL用乙腈定容至刻度,混匀。N-二甲基亚硝胺标准系列工作溶液质量浓度为0.5 μg/L、1 μg/L、2 μg/L、5 μg/L、10 μg/L和20 μg/L,其中内标的质量浓度均为5 μg/L。临用现配。

11 仪器和设备

11.1 气相色谱-质谱/质谱仪(GC-MS/MS),配备大体积程序升温进样口。

11.2 电子天平:感量为0.001 g。

11.3 振荡器。

11.4 冷冻离心机。

11.5 离心管:50 mL、15 mL。

11.6 陶瓷均质子。

12 分析步骤

12.1 样品前处理

12.1.1 试样制备

同5.1.1。

12.1.2 提取

干制品称取5 g(精确到0.01 g)于50 mL离心管,加入5 mL水,振荡混匀[鲜样品称取10 g(精确到0.01 g)置于50 mL离心管中],加入N-二甲基亚硝胺内标中间液(1 μg/mL)50 μL,向其准确加入10 mL乙腈,涡旋振荡2 min,置于—20 ℃冰箱冷冻20 min,加入陶瓷均质子1粒以及4 g硫酸镁和1 g氯化钠,涡旋振荡2 min,置于冷冻离心机中,转速9 000 r/min,10 ℃离心5 min,上清液待净化。

12.1.3 净化

称取150 mg PLS-A粉末(或1 g增强型脂质去除EMR-Lipid萃取粉剂或同级品)于15 mL离心管中,加入5 mL水涡旋振荡,立即加入5 mL 12.1.2中的上清液涡旋振荡1 min,置于冷冻离心机,9 000 r/min,10 ℃离心5 min。

12.1.4 除水

称取1.6 g硫酸镁和0.4 g氯化钠于另一15 mL离心管,加入12.1.3的净化液涡旋振荡2 min,置于冷冻离心机中,转速9 000 r/min,10 ℃离心5 min。取上层有机相经0.22 μm微孔滤膜过滤后,上机

测定。

注：试验需在通风橱中进行，并佩戴专业的防护工具（如口罩、手套等）。

12.2 仪器参考条件

12.2.1 气相色谱条件

- a) 色谱柱:强极性石英毛细管柱[30 m×0.25 mm(内径)×0.25 μm (膜厚)],或相当者。
 - b) 进样口温度:初始温度 50 °C 保留 0.16 min, 900 °C/min 升至 220 °C 保持 5 min。
 - c) 进样口溶剂放空模式:放空时间 0.16 min, 放空流量 50 mL/min。
 - d) 载气:氦气,纯度≥99.999%,流速 1 mL/min。
 - e) 进样方式:不分流进样。
 - f) 进样量:5 μL 。
 - g) 升温程序:初始温度 40 °C,以 10 °C/min 升至 80 °C,以 1 °C/min 升至 100 °C,再以 20 °C/min 升至 240 °C,保持 2 min。

12.2.2 质谱/质谱条件

- a) 离子源温度:250 °C。
 - b) 色谱与质谱接口温度:250 °C。
 - c) 电离方式:电子轰击源(EI源)。
 - d) 电离能量:70 eV。
 - e) 溶剂延迟:6 min。
 - f) 四级杆温度:150 °C。
 - g) 监测模式:多反应监测(MRM)模式,离子对参数见表3。

表 3 N-二甲基亚硝胺及其内标的监测离子对

目标物	定量离子对	定量离子对碰撞能/eV	定性离子对	定性离子对碰撞能/eV
NDMA	74.0/44.0	3	74.0/42.1	19
NDMA-D ₆ (内标物)	80.0/50.1	5	—	—

12.3 标准曲线的制作

同 5.3。

12.4 试样溶液的测定

同 5.4。

12.5 空白试验

用乙腈代替试样,按 12.1 及 12.2 所述操作步骤进行,空白测定值需低于该方法的定量限的 50%。

13 分析结果的表述

试样中 N-二甲基亚硝胺含量按式(2)计算。

式中：

- X ——试样中 N-二甲基亚硝胺的含量,单位为微克每千克($\mu\text{g}/\text{kg}$)；
 ρ ——试样中 N-二甲基亚硝胺色谱峰与对应内标物色谱峰的峰面积比值,经标准曲线求得的
 对应 N-二甲基亚硝胺质量浓度,单位为微克每升($\mu\text{g}/\text{L}$)；
 ρ_0 ——空白试验溶液中 N-二甲基亚硝胺色谱峰与对应内标物色谱峰的峰面积比值,经标准曲
 线求得的对应 N-二甲基亚硝胺质量浓度,单位为微克每升($\mu\text{g}/\text{L}$)；
 V ——试液最终定容体积,单位为毫升(mL)；
 1 000——换算系数；
 m ——试样的质量,单位为克(g)。

计算结果保留小数点后 2 位数字。

14 精密度

在重复性条件下获得的 2 次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 20%。

15 其他

15.1 方法检测限

称样量为 5 g,定容体积为 10 mL 时,检出限为 0.30 $\mu\text{g}/\text{kg}$,定量限为 1.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

称样量为 10 g,定容体积为 10 mL 时,检出限为 0.15 $\mu\text{g}/\text{kg}$,定量限为 0.50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

15.2 安全警示

本试验所涉及的对人体可能造成危害的试剂包括有机溶剂(如乙腈、正己烷)等。试验人员有可能因接触这些物质而带来风险,因而,涉及这些物质的试验操作中应在通风橱内进行,并佩戴专业的防护工具(如手套、口罩等)。

亚硝胺类化合物是强致癌物,试验结束后,随意丢弃这些物质可能会对人员及环境造成损害,同时,在处理不当时,试验用的 N-二甲基亚硝胺标准品及过期标准物质也可能带来风险,因而,在试验过程中不得随意丢弃这些物质,应分别回收在密闭容器并保存在远离火源、通风良好的环境中。

第三法 水蒸气蒸馏-液相色谱-质谱/质谱法

16 原理

本法以 N-二甲基亚硝胺-D₆ 为内标,试样中加入内标,经水蒸气蒸馏,样品中的 N-二甲基亚硝胺随着蒸气通过二氯甲烷吸收,液液萃取分离,采用液相色谱-质谱/质谱仪(LC-MS/MS)测定,内标法定量。

17 试剂和材料

除非另有说明,本方法所用试剂均为分析纯,水为 GB/T 6682 规定的一级水。

17.1 试剂

17.1.1 二氯甲烷(CH₂Cl₂):色谱纯。

17.1.2 浓硫酸(H_2SO_4):18.4 mol/L。

17.1.3 异辛烷(C_8H_{18}):色谱纯。

17.1.4 甲醇(CH_4O):色谱纯。

17.1.5 无水硫酸钠(Na_2SO_4)。

17.1.6 氯化钠(NaCl):优级纯。

17.1.7 甲酸($HCOOH$):色谱纯。

17.2 试剂配制

17.2.1 硫酸溶液(1+3):量取 30 mL 浓硫酸,缓缓倒入 90 mL 冷水中,一边搅拌使得充分散热,冷却后小心混匀。

17.2.2 0.1%甲酸水溶液:吸取 1 mL 甲酸至 1 L 容量瓶中,用水稀释并定容至刻度,临用现配。

17.3 标准溶液配制

同 3.4。

18 仪器和设备

18.1 液相色谱-质谱/质谱仪(LC-MS/MS):配 APCI 源。

18.2 其他同 4.2~4.10。

19 分析步骤

19.1 样品前处理

同 5.1。

19.2 仪器参考条件

19.2.1 液相色谱条件

- a) 色谱柱: C_{18} 柱[$150\text{ mm} \times 4.6\text{ mm(内径)} \times 3.0\text{ }\mu\text{m(填料粒径)}$]或相当者。
- b) 柱温: $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。
- c) 流速: 0.6 mL/min 。
- d) 进样量: $20\text{ }\mu\text{L}$ 。
- e) 流动相:A 相:0.1%甲酸水,B 相:甲醇,梯度洗脱程序见表 4。

表 4 梯度洗脱程序

时间/min	A/%	B/%
0.00	92	8
3.10	92	8
7.00	5	95
7.10	5	95
9.00	95	5
10.00	92	8

19.2.2 质谱/质谱条件

- a) 电离模式: 大气压化学离子化源(APCI)。
- b) 检测方式: 多反应监测。
- c) 电离电压: 2.8 kV。
- d) 接口温度: 300 °C。
- e) DL 温度: 200 °C。
- f) 雾化气流量: 3 L/min。
- g) 离子源温度: 280 °C。
- h) 加热气流量: 10 L/min。
- i) 干燥气流量: 10 L/min。
- j) 监测离子对参数情况见表 5。

表 5 N-二甲基亚硝胺及其内标的检测离子

目标物	定量离子对	定量离子对碰撞能/eV	定性离子对	定性离子对碰撞能/eV
NDMA	75.1/43.1	18	75.1/58.1	18
NDMA-D ₆ (内标物)	81.0/46.0	16	—	—

19.3 标准曲线的制作

将 N-二甲基亚硝胺标准系列工作溶液按浓度由低到高的顺序注入液相色谱-质谱/质谱仪中进样分析,以 N-二甲基亚硝胺的质量浓度为横坐标,以 N-二甲基亚硝胺及其对应氘代同位素内标的峰面积比值为纵坐标,绘制标准曲线。N-二甲基亚硝胺标准溶液的色谱图参见附录 C 中图 C.1 和图 C.2。

19.4 试样溶液的测定

19.4.1 定性测定

按照 19.2 所述条件测定试样和标准使用溶液,试样的质量色谱峰保留时间应与标准物质一致,允许偏差不超过 $\pm 2.5\%$,并且在扣除背景后的样品质谱图中,所选择的离子均出现且信噪比 ≥ 3 ,而且定性离子对的相对丰度(是用相对于最强离子丰度的强度百分比表示)与浓度相当的标准使用溶液的相对丰度允许偏差不超过表 6 规定的范围,则可判断样品中存在对应的被测物。

表 6 定性时相对离子丰度的最大允许偏差

相对离子丰度	$>50\%$	$20\% \sim 50\%(含)$	$10\% \sim 20\%(含)$	$\leq 10\%$
允许的最大偏差	$\pm 20\%$	$\pm 25\%$	$\pm 30\%$	$\pm 50\%$

19.4.2 定量测定

将试样溶液注入液相色谱-质谱/质谱仪中,得到 N-二甲基亚硝胺的峰面积与对应同位素内标的峰面积的比值,根据标准曲线得到试样溶液中被测化合物的浓度。样液中 N-二甲基亚硝胺的峰面积比值应在标准曲线的线性范围内;如果含量超过标准曲线范围,需调整称样量或定容体积重新检测,若调整定容体积,应调整内标的添加量,使最终定容后内标与标准曲线内标的质量浓度一致。

19.5 空白试验

用水代替试样,按19.1及19.2所述操作步骤进行,必要时,进行环境空白的测定。空白测定值需低于该方法的定量限的50%。

20 分析结果的表述

试样中 *N*-二甲基亚硝胺含量按式(3)计算。

$$X = \frac{(\rho - \rho_0) \times V \times 1\,000}{m \times 1\,000} \quad \dots \dots \dots \quad (3)$$

式中：

X ——试样中 *N*-二甲基亚硝胺的含量, 单位为微克每千克($\mu\text{g}/\text{kg}$);

ρ ——试样中 N-二甲基亚硝胺色谱峰与对应内标物色谱峰的峰面积比值,经标准曲线求得的
对应 N-二甲基亚硝胺质量浓度,单位为微克每升($\mu\text{g}/\text{L}$);

ρ_0 ——空白试验溶液中 N-二甲基亚硝胺色谱峰与对应内标物色谱峰的峰面积比值,经标准曲线求得的对应 N-二甲基亚硝胺质量浓度,单位为微克每升($\mu\text{g/L}$);

1 000——換算系数：

V ——试液最终定容体积, 单位为毫升(mL);

m ——试样的质量, 单位为克(g)

计算结果保留小数点后2位数字。

二、情况及

在重复性条件下获得的 2 次独立测定结果的绝对差值不得通过算术平均值的 20%。

22 其他

22.1 方法检测限

称样量 20 g, 走谷体积 1.0 mL 时, 检出限为 0.30 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 定量限为 1.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

22.2 安主言小

本试验所涉及的对人可能造成危害的试剂包括有机溶剂(如乙腈、正己烷)等。试验人员有可能因接触这些物质而带来风险,因而,涉及这些物质的试验操作中应在通风橱内进行,并佩戴专业的防护工具(如手套、口罩等)。

亚硝胺类化合物是强致癌物,试验结束后,随意丢弃这些物质可能会对人员及环境造成损害,同时,在处理不当时,试验用的N-二甲基亚硝胺标准品及过期标准物质也可能带来风险,因而,在试验过程中不得随意丢弃这些物质,应分别回收在密闭容器并保存在远离火源、通风良好的环境中。

第四法 气相色谱-热能分析仪法

23 原理

试样经水蒸气蒸馏，样品中的 N-二甲基亚硝胺随着蒸气通过二氯甲烷吸收，液液萃取分离，采用气

相色谱-热能分析仪(GC-TEA)测定,外标法定量。

24 试剂和材料

除非另有说明,本方法所用试剂均为分析纯,水为 GB/T 6682 规定的一级水。

24.1 试剂

同 3.1。

24.2 试剂配制

同 3.2。

24.3 标准品

同 3.3.1。

24.4 标准溶液配制

24.4.1 N-二甲基亚硝胺标准储备溶液(100 $\mu\text{g}/\text{mL}$):同 3.4.1。

24.4.2 N-二甲基亚硝胺标准中间溶液(1 $\mu\text{g}/\text{mL}$):同 3.4.2。

24.4.3 N-二甲基亚硝胺标准系列工作液:分别准确吸取 N-二甲基亚硝胺标准中间液(1 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 0.2 mL、0.5 mL、1.0 mL、2.0 mL 和 4.0 mL, 置于 10 mL 容量瓶中, 用二氯甲烷定容至刻度, 混匀。N-二甲基亚硝胺标准系列工作溶液质量浓度为 20 $\mu\text{g}/\text{L}$ 、50 $\mu\text{g}/\text{L}$ 、100 $\mu\text{g}/\text{L}$ 、200 $\mu\text{g}/\text{L}$ 和 400 $\mu\text{g}/\text{L}$ 。临用现配。

25 仪器和设备

25.1 气相色谱仪-热能分析仪(GC-TEA)。

25.2 其他同 4.2~4.10。

26 分析步骤

26.1 样品前处理

除不加内标外,其余同 5.1。

26.2 仪器参考条件

26.2.1 气相色谱条件

- a) 色谱柱:强极性毛细管色谱柱 [30 m×0.25 mm(内径)×0.25 μm (膜厚)]或相当者。
- b) 进样口温度:220 $^{\circ}\text{C}$ 。
- c) 程序升温条件:初始温度 60 $^{\circ}\text{C}$,保留 1 min,以 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 110 $^{\circ}\text{C}$,以 15 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 150 $^{\circ}\text{C}$,再以 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 200 $^{\circ}\text{C}$,保留 5 min。
- d) 载气:氮气(纯度 \geqslant 99.999%)。
- e) 流速:1 mL/min。

- f) 进样方式:不分流进样。
g) 进样体积:2 μ L。

26.2.2 热能分析仪条件

- a) 接口温度:250 °C。
 - b) 热解室温度:500 °C。
 - c) 真空度:59.8 Pa~66.5 Pa。
 - d) 氧气压力:2 psi(13 790 Pa)。
 - e) 臭氧水平:244。

26.3 标准曲线的制作

将 N-二甲基亚硝胺标准系列工作溶液按浓度由低到高的顺序注入气相色谱-热能分析仪中进样分析,以 N-二甲基亚硝胺的质量浓度为横坐标,以 N-二甲基亚硝胺的峰面积为纵坐标,绘制标准曲线。N-二甲基亚硝胺的色谱图参见附录 D 中图 D.1。

26.4 试样溶液的测定

将标准系列溶液和试样溶液注入 GC-TEA 中,用保留时间定性,测定试样溶液中 N-二甲基亚硝胺的峰面积,根据标准曲线得到试样溶液中 N-二甲基亚硝胺的浓度。标准工作液和样液中 N-二甲基亚硝化合物的响应值均应在仪器线性响应范围内。

26.5 空白试验

用水代替试样,按 26.1 及 26.2 所述操作步骤进行,必要时,进行环境空白的测定。空白测定值需低于该方法定量限的 50%。

27 分析结果的表述

试样中 N-二甲基亚硝胺含量按式(4)计算。

式中：

X ——试样中 N-二甲基亚硝胺的含量, 单位为微克每千克($\mu\text{g}/\text{kg}$);

ρ ——由标准曲线得到的试样中 N-二甲基亚硝胺质量浓度, 单位为微克每升($\mu\text{g}/\text{L}$);

——由标准曲线得到的空白试验溶液中 N-二甲基亚硝胺质量浓度, 单位为微克每升($\mu\text{g}/\text{L}$);

V ——试液最终定容体积,单位为毫升(mL);

1 000——换算系数：

m ——试样的质量,单位为克(g)。

计算结果保留小数点后 2 位数字。

28 精密度

在重复性条件下获得的 2 次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 20%。

29 其他

29.1 方法检测限

称样量 20 g, 定容体积 1.0 mL 时, 检出限为 0.30 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 定量限为 1.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

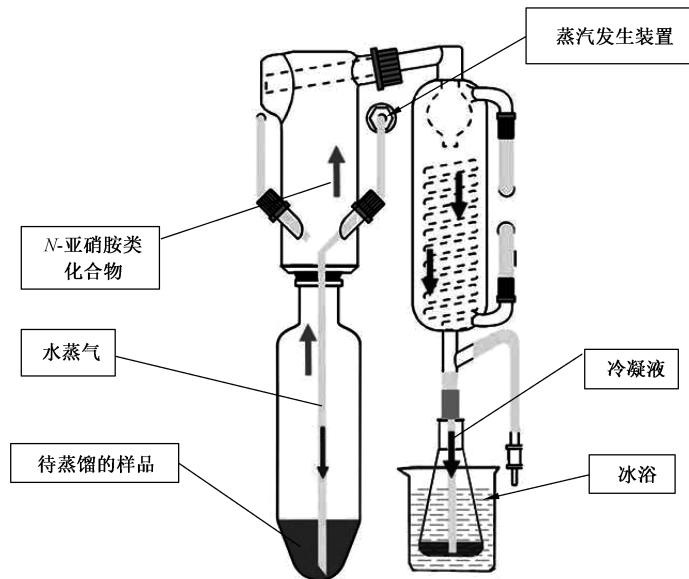
29.2 安全警示

本试验所涉及的对人体可能造成危害的试剂包括有机溶剂(如乙腈、正己烷)等。试验人员有可能因接触这些物质而带来风险,因而,涉及这些物质的试验操作中应在通风橱内进行,并佩戴专业的防护工具(如手套、口罩等)。

亚硝胺类化合物是强致癌物,试验结束后,随意丢弃这些物质可能会对人员及环境造成损害,同时,在处理不当时,试验用的 N-二甲基亚硝胺标准品及过期标准物质也可能带来风险,因而,在试验过程中不得随意丢弃这些物质,应分别回收在密闭容器并保存在远离火源、通风良好的环境中。

附录 A
水蒸气蒸馏装置图

水蒸气蒸馏装置示意图见图 A.1。



注：蒸馏时应注意控制水蒸气流量，避免样品沸腾飞溅至蒸馏管壁或收集瓶中，造成交叉污染。

图 A.1 水蒸气蒸馏装置示意图

附录 B

气相色谱-质谱/质谱色谱图

N-二甲基亚硝胺标准溶液(10 $\mu\text{g}/\text{L}$)及其同位素内标(40 $\mu\text{g}/\text{L}$)气相色谱-质谱/质谱总离子流色谱图及 MRM 图见图 B.1 和图 B.2。

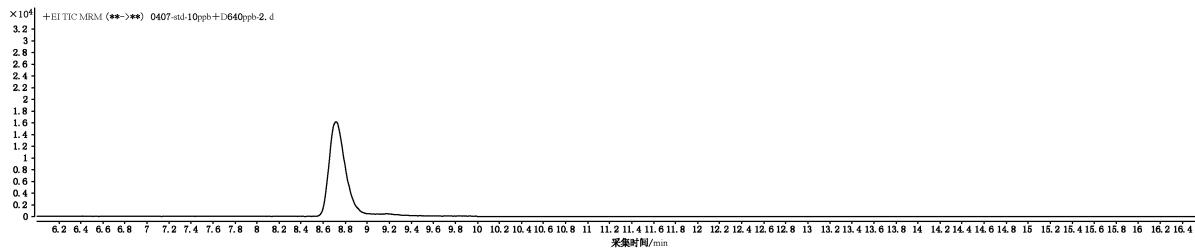


图 B.1 N-二甲基亚硝胺标准溶液(10 $\mu\text{g}/\text{L}$)及其同位素内标(40 $\mu\text{g}/\text{L}$)总离子流色谱图

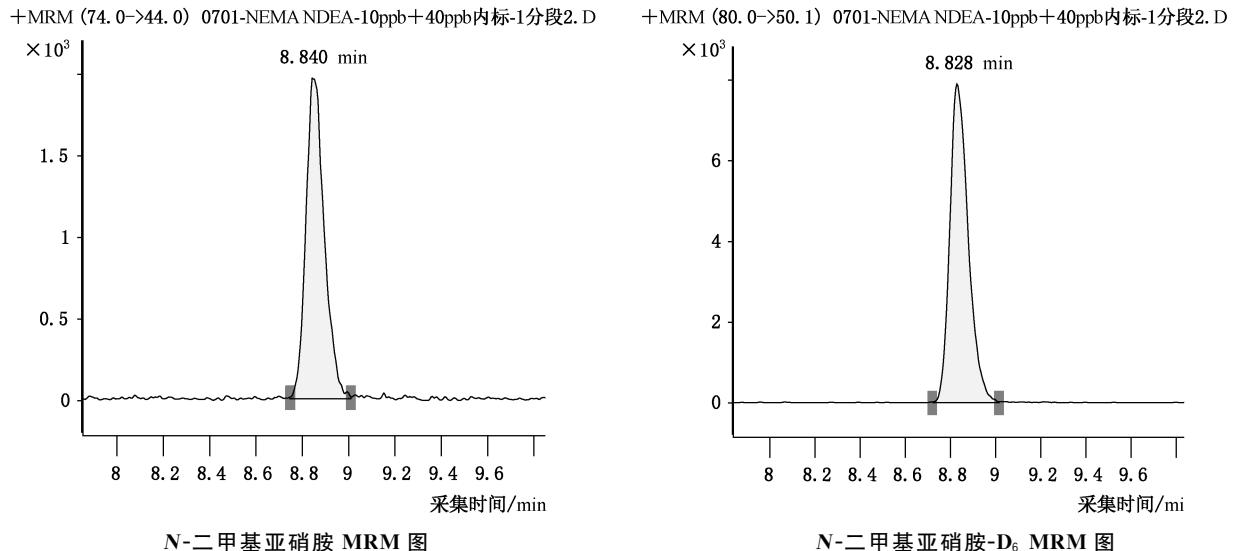


图 B.2 N-二甲基亚硝胺标准溶液(10 $\mu\text{g}/\text{L}$)及其同位素内标(40 $\mu\text{g}/\text{L}$)气相色谱-质谱/质谱 MRM 图

附录 C
液相色谱-质谱/质谱色谱图

N-二甲基亚硝胺标准溶液(100 $\mu\text{g}/\text{L}$)及其同位素内标(40 $\mu\text{g}/\text{L}$)液相色谱-质谱/质谱总离子流色谱图及 MRM 图见图 C.1 和图 C.2。

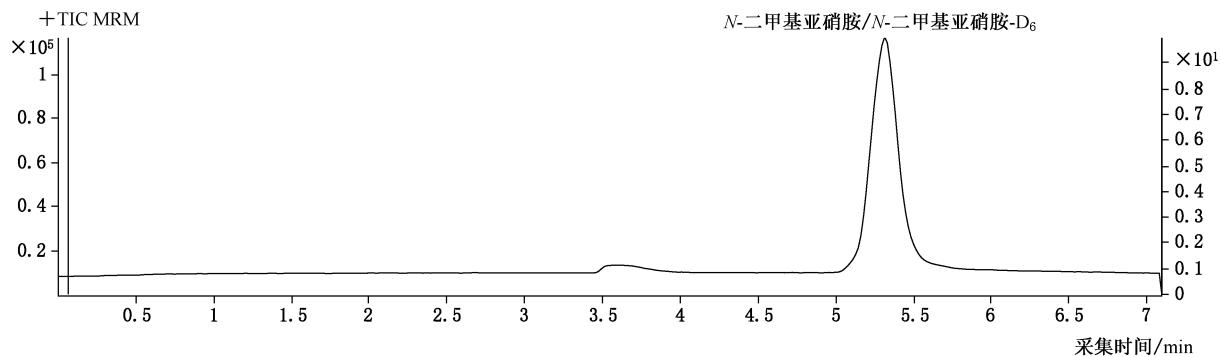


图 C.1 N-二甲基亚硝胺标准溶液(100 $\mu\text{g}/\text{L}$)及其同位素内标(40 $\mu\text{g}/\text{L}$)总离子流色谱图

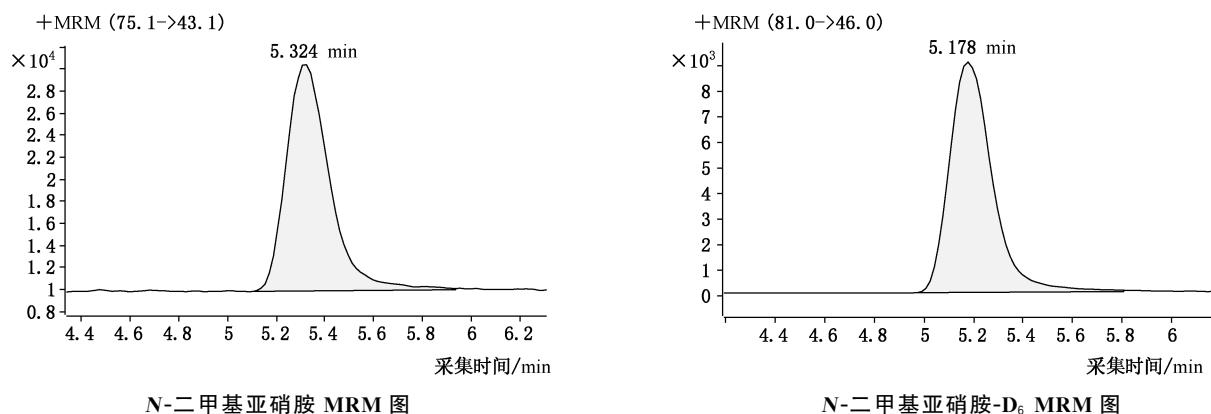


图 C.2 N-二甲基亚硝胺标准溶液(100 $\mu\text{g}/\text{L}$)及其同位素内标(40 $\mu\text{g}/\text{L}$)
液相色谱-质谱/质谱 MRM 图

附录 D
气相色谱-热能分析色谱图

N-二甲基亚硝胺标准溶液(100 $\mu\text{g}/\text{L}$)气相色谱-热能分析色谱图见图 D.1。

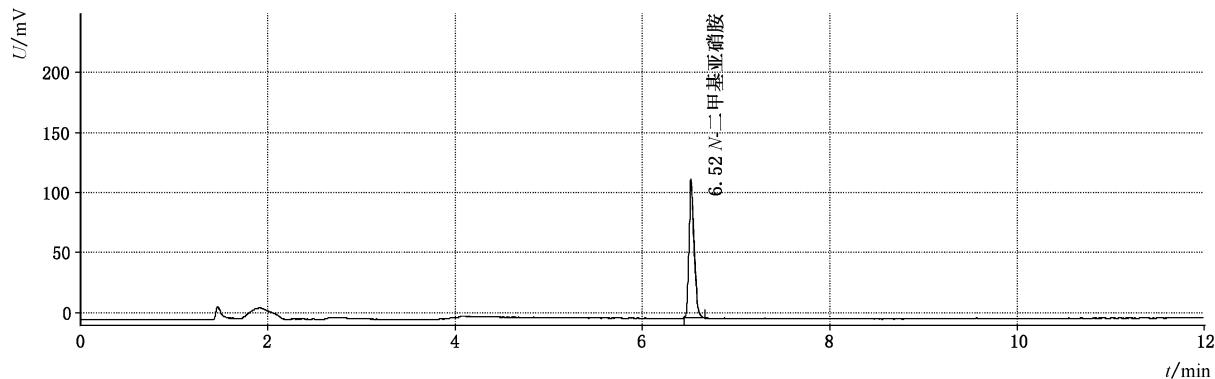


图 D.1 N-二甲基亚硝胺标准溶液(100 $\mu\text{g}/\text{L}$)气相色谱-热能分析色谱图