第39卷 第3期 质 谱 学 报 Vol. 39 No. 3
2018年5月 Journal of Chinese Mass Spectrometry Society May 2018

碱液处理-活性炭柱固相萃取结合 GC-MS/MS 法检测鱼干、虾皮和虾仁中 8 种 *N*-亚硝胺

翟孟婷,王宗义,徐 芮,杨 曼,马蒙蒙,王国庆

(北京农学院,食品科学与工程学院,食品质量安全北京实验室,
农产品有害微生物及农残安全检测与控制北京市重点实验室,北京 102206)

摘要:建立了碱液处理-活性炭柱固相萃取结合气相色谱-串联质谱联用(GC-MS/MS)技术检测鱼干、虾皮和虾仁中 *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*-亚硝基二正丙胺(NDPA)、*N*-亚硝基哌啶(NPIP)、*N*-亚硝基吡咯烷(NPYR)、*N*-亚硝基吗啉(NMOR)和*N*-亚硝基二正丁胺(NDBA)等有害物质。以 NDMA-d6、NDPA-d14 和 NPYR-d8 为内标,用 $Ba(OH)_2$ 溶液于 80 ℃处理样品 1 h,离心上清液,经 Sep-Pak® plus AC-2 活性炭小柱富集净化,DB-WAXUI(30 m×250 μm×0.25 μm)色谱柱分离,质谱多反应监测(MRM)模式检测。结果表明,在 1~200 μg/L 浓度范围内,8 种 *N*-亚硝胺的线性关系良好,$R^2>0.998$;检出限为 0.03~0.25 μg/kg,定量限为 0.10~0.85 μg/kg,添加回收率为 71.3%~119.0%(除 NDBA 在高添加水平时略低,为 52.1%~69.0%),相对标准偏差为 0.65%~15.4%。将该方法用于 23 种实际样品检测,在所有样品中均检出 NDMA,且含量相对较高,其他 *N*-亚硝胺仅部分检出,含量相对较低。该方法操作简单、便于高通量分析、环境友好、定性定量可靠,可为水产品中 *N*-亚硝胺类物质的检测提供参考。

关键词:气相色谱-串联质谱法(GC-MS/MS);*N*-亚硝胺;碱液处理;鱼干;虾皮;虾仁
中图分类号:O657.63 **文献标志码**:A **文章编号**:1004-2997(2018)03-0351-09
doi:10.7538/zpxb.2017.0113

Determination of 8 *N*-Nitrosamines in Dried Fish, Dried Small Shrimp and Shrimp Meat by GC-MS/MS with Alkali Solution Treating Followed Active Carbon Cartridge Solid Phase Extraction

ZHAI Meng-ting, WANG Zong-yi, XU Rui, YANG Man, MA Meng-meng, WANG Guo-qing

(*Beijing Laboratory of Food Quality and Safety, Beijing Key Laboratory of Agricultural Product Detection and Control for Spoilage Organisms and Pesticides, College of Food Sciences and Engineering, Beijing University of Agriculture, Beijing* 102206, *China*)

Abstract: *N*-nitrosodimethylamine (NDMA), *N*-nitroxymethylamine (NMEA), *N*-

收稿日期:2017-06-26;**修回日期**:2017-08-24
基金项目:北京市教委项目(PXM2017-014207-000038);北京农学院实验技术体系基金项目(1086716287)资助
作者简介:翟孟婷(1992—),女(汉族),北京人,硕士研究生,食品加工与安全专业。E-mail: zhaimengt@126.com
通信作者:王宗义(1970—),男(满族),河北人,副教授,从事食品安全检测技术研究。E-mail: wangzongyi001@sina.com
网络出版时间:2018-03-22;**网络出版地址**:http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2979.TH.20180322.1348.016.html

nitrosodiethylamine (NDEA), *N*-nitrosodipropylamine (NDPA), *N*-nitrosopiperidine (NPIP), *N*-nitrosopyrrolidine (NPYR), *N*-nitrosomorpholine (NMOR) and *N*-nitrosodibutylamine (NDBA) in dried fish, dried small shrimps and shrimp meat were determined by gas chromatography-tandem mass spectrometry (GC-MS/MS) with alkali solution treating and active carbon solid phase extraction. 10 g of sample was placed into a 50 mL screw-cap plastic centrifugation tube, and 50 μL of internal standards solution including NDMA-d6, NDPA-d14 and NPYR-d8 with each concentration of 1 mg/L, 1.0 g of $Ba(OH)_2 \cdot 8H_2O$ and distilled water with volumn to the 50 mL scale line were added. Then the tube was heated at 80 ℃ for 1 h in an oven and centrifuged at 10 000 r/min for 10 min. All the supernatant was passed through a Sep-Pak® Plus AC-2 cartridge which had been conditioned with 6 mL of dichloromethane, 6 mL of methanol and 6 mL of water in turns, and the anlytes were eluted with 5 mL of dichloromethane from the cartridges after aspiration to dryness by a vacuum pump. The eluent was concentrated further to 1 mL under nitrogen flow at 40 ℃ and was then passed through a 0.22 μm pore filter for injection. The chromatographic separation was carried on a DB WAXUI column (30 m×250 μm×0.25 μm) and detected with tandem mass spectrometry at multiple reactions monitoring mode. The calibration curves show good linearity in the range of 1-200 μg/L with the correlation coefficients (R^2) greater than 0.998. The limits of detection and quantification are in the ranges of 0.03-0.25 μg/kg and 0.10-0.85 μg/kg, respectively. The recoveries of *N*-nitrosamines are 71.3%-119.0%, except that NDBA is slightly lower at high addition levels, and the relative standard deviations (RSD) is 0.65%-15.4%. 23 samples from local supermarket including 8 ready-to-eat dried fish, 5 fresh dried fish, 4 dried small shrimp and 6 shrimp meat were detected. The results indicate that NDMA is the major *N*-nitrosamines and is detected in all samples with the highest level among of the analytes, and the other *N*-nitrosamines are detected in partial samples with relative lower levels even blow the LOQ. The samples with the highest levels of NDMA are dried fishes and the levels of ready-to-eat dried fishes are much higher than that of the fresh dried fishes, the samples with medium and the lowest levels of NDMA are dried small shrimps and shrimp meats, respectively. NDBA should be paid more attention during the relative food safety control. This method is simple, environment-friendly, easy for high-throughput detection and reliable for both qualitative and quantitative analysis.

Key words: gas chromatography-tandem mass spectrometry(GC-MS/MS); *N*-nitrosamine; alkali solution treating; dried fish; dried small shrimps; shrimp meat

N-亚硝胺(*N*-nitrosamines)主要由前体物质亚硝酸盐和胺类物质在适当条件下反应产生[1-2]。研究显示,*N*-亚硝胺可能是某些癌症发病率升高的诱因之一[3-4]。由于鱼干、虾皮和虾仁富含蛋白质,其降解产生的胺类物质为形成 *N*-亚硝胺提供了条件。目前,我国规定肉制品和水产品中 *N*-二甲基亚硝胺(NDMA)的安全限量分别为3 μg/kg和 4 μg/kg[5],尚未规定其他 *N*-亚硝胺类物质的限量值。

食品中 *N*-亚硝胺的检测方法主要有气相色谱-热能分析(GC-TEA)法[6-7],液相色谱-荧光检测(HPLC-FD)法[8],气相色谱-质谱(GC/MS)法[9-11],气相色谱-串联质谱(GC-MS/MS)法[12-13]和液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)法[14-15]等。其中 GC-MS/MS 和 LC-MS/MS 具有优异的信噪比和选择性,近年来获得了较

多应用。然而,由于样品基质复杂、目标物通常为μg/kg级,样品前处理是 *N*-亚硝胺检测的关键和难点,通常需经提取、净化和富集等复杂过程。GB/T 5009.26—2003[16] 和 GB/T 5009.26—2016[17] 采用水蒸气蒸馏提取-液液萃取净化-K-D 浓缩器浓缩或旋转蒸发-氮吹浓缩的方法,虽然具有适应性广和基质效应小等优点,但需大量的有机试剂,且耗时、费力,不能进行高通量处理。也有文献报道采用顶空固相微萃取[7,11]、固相萃取[18-19]、分散液液微萃取[20-21]、分散固相萃取[13,22] 和 QuEChERS[23-24] 等方法,用适当溶剂提取样品,但 NDMA 的检出限通常不能满足要求。

本研究拟采用碱溶液处理样品,使基质中 *N*-亚硝胺转移至水溶液中[25-26],并使用活性炭小柱对水中 *N*-亚硝胺净化富集[27-28],以稳定同位素标样为内标,GC-MS/MS 法检测分析鱼干、虾皮和虾仁中 *N*-亚硝胺,希望为食品中 *N*-亚硝胺的检测提供新途径。

1　实验部分

1.1　仪器与装置

Agilent 7890B-7000C 气相色谱-串联质谱联用仪:美国 Agilent 公司产品;Centrifuge 5810R 高速冷冻离心机:德国 Eppendorf 公司产品;12 孔固相萃取装置:上海安谱科学仪器公司产品;BF-2000 氮吹仪:北京八方科技世纪有限公司产品;MJ-WBL2501B 搅拌机:广东美的生活电器制造有限公司产品。

1.2　材料与试剂

Sep-Pak® Plus AC-2 小柱:美国 Waters 公司产品;50 mL 塑料离心管、10 mL 塑料管:美国 BD Biosciences 公司产品;鱼干、虾皮、虾仁:均购自北京回龙观地区超市。

N-亚硝基二甲胺(NDMA)、*N*-亚硝基二正丙胺(NDPA)、*N*-亚硝基二乙胺(NDEA)、*N*-亚硝基哌啶(NPIP)、*N*-亚硝基吡咯烷(NPYR)、*N*-亚硝基吗啉(NMOR)、*N*-亚硝基甲乙胺(NMEA)、*N*-亚硝基二正丁胺(NDBA)混合标准溶液(2 000 mg/L):均为美国 o2si 公司产品;NDMA-d6 甲醇溶液、NDPA-d14 甲醇溶液、NPYR-d8 甲醇溶液:均为 1 000 mg/L,美国 Accustandard Inc 公司产品;二氯甲烷、乙腈、甲醇:均为色谱纯,美国 J. T. Baker 公司产品;$Ba(OH)_2 \cdot 8H_2O$:分析纯,国药集团化学试剂有限公司产品。

1.3　标准溶液的配制

分别用二氯甲烷稀释定值混合标准溶液和 3 种定值内标溶液,得到 200 mg/L 的混合标准储备液和 100 mg/L 的混合内标储备液,于棕色贮液瓶中−18 ℃储存。

用甲醇分别稀释混合标准储备液和混合内标储备液,得到浓度为 1、0.1 mg/L 的混合标准中间工作液,和浓度为 1 mg/L 的 NDMA-d6、NDPA-d14 和 NPYR-d8 内标混合液。

向混合标准中间工作液中加入适量的内标混合液,用二氯甲烷稀释至浓度分别为 1、5、10、25、50、100、200 μg/L,内标浓度均为 50 μg/L 的标准工作液。

1.4　实验条件

1.4.1　色谱条件　色谱柱:DB-WAXUI 柱(30 m×250 μm×0.25 μm);程序升温:35 ℃保持1 min,以 10 ℃/min 升至 90 ℃,再以 30 ℃/min 升至 240 ℃,保持 6 min;载气:He(纯度＞99.999%),流速 0.9 mL/min;进样量 1 μL;进样口温度 190 ℃;不分流进样。

1.4.2　质谱条件　电子轰击(EI)离子源;电子能量 70 eV;离子源温度 230 ℃;传输线温度 250 ℃;四极杆温度 150 ℃;溶剂延迟 5 min;多反应监测(MRM)模式检测,参数列于表 1。

1.5　样品前处理

称取 10 g 破碎混匀的样品于 50 mL 离心管中,加入 50 μL 1 mg/L 的内标混合液,静置 1～5 min,使内标溶液充分吸收,加入 1 g $Ba(OH)_2 \cdot 8H_2O$,并加水至刻度线,拧紧盖子,于 80 ℃烘箱中处理 10 min,取出后涡旋混匀,再置于烘箱处理 1 h,取出后以 10 000 r/min 离心 10 min,备用。将 Sep-pak® plus AC-2 小柱置于固相萃取装置上,上接 50 mL 盛样管(底部放少许玻璃棉),依次用 6 mL 二氯甲烷、甲醇和水活化小柱,加载上清液,开启抽真空泵,控制样品溶液约 1～3 滴每秒,待全部样液流过小柱后,继续抽干 0.5 h。用 5 mL 二氯甲烷洗脱小柱,并收集流出液于10 mL离心管中,室温氮吹至 1 mL,过 0.22 μm 滤膜,待测。

表 1 8 种 *N*-亚硝胺和 3 种稳定同位素标记 *N*-亚硝胺的 MRM 参数

Table 1 MRM parameters of 8 *N*-nitrosamines and 3 stable isotope-labeled *N*-nitrosamines

分析物 Analytes	保留时间 t_R/min	母离子 Precursor ions (m/z)	子离子 Product ions (m/z)	碰撞能量 Collision energy/eV
NDMA-d6	8.259	80	46,50	15,5
NDMA	8.265	74	42,44	20,5
NMEA	8.665	88	42,71	20,5
NDEA	8.898	102	44,85.5	20,10
NDPA-d14	9.738	144	50, 126	10,8
NDPA	9.781	130	43, 113.3	3,2
NDBA	10.690	158	99.2,141.3	2,5
NPIP	10.833	114	84, 97	6,5
NPYR	10.941	100	50, 70	6,6
NPYR-d8	10.923	108	50.2,78.2	10,10
NMOR	11.139	116	56,86	2,5

2 结果与讨论

2.1 实验条件的选择

据文献报道[18,23]，食品中挥发性 *N*-亚硝胺可在中等、强极性毛细管色谱柱上获得良好分离。本实验对比了 DB-1701 柱和 DB-WAXUI 柱（均为 30 m×250 μm×0.25 μm）的分离效果。结果表明，在 DB-1701 柱上 NDMA 流出较快，NDMA 的 2 个二级离子 m/z 44、42 容易受共流出物的干扰，导致这 2 个离子信号异常，给定性和定量分析带来困难；而 DB-WAXUI 柱可有效分离 NDMA 与共流出物，*N*-亚硝胺标样（含内标）和加标浓度 3 ng/g 鱼干样品的总离子流 MRM 色谱图示于图 1a～b，二者的 NDMA 母离子 m/z 74 的 2 个子离子 m/z 42、44 对应的 MRM 色谱图分别示于图 1c～d 和图 1e～f，均可与相同质荷比的干扰离子有效分离。因此，本实验选择 DB-WAXUI 柱进行分离。此外，兼顾灵敏度和基质效应，对母离子和子离子进行了筛选，以干扰较小的离子对作为定量离子对，结果列于表 1。

2.2 样品前处理

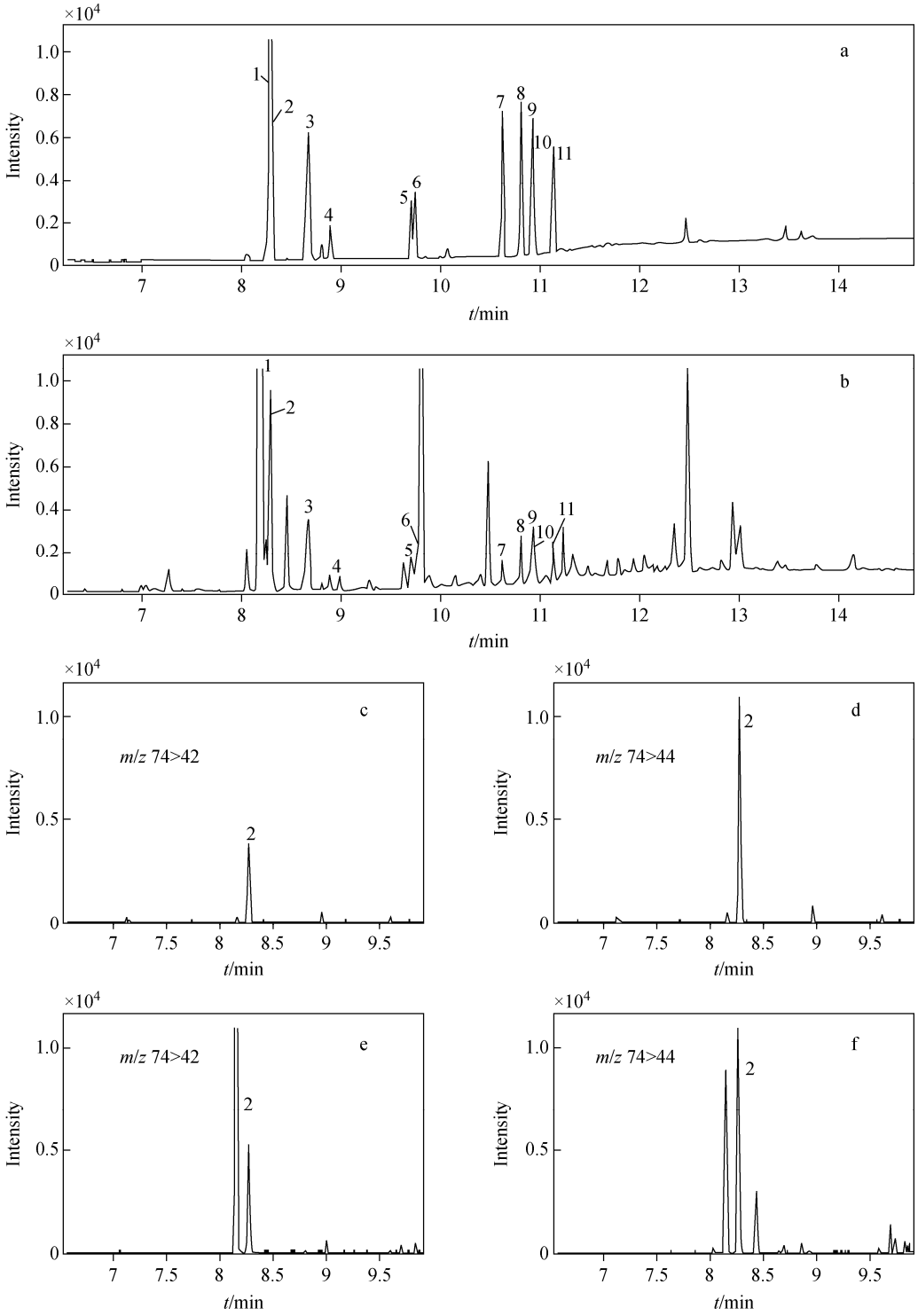
由于碱性条件不利于形成 *N*-亚硝胺[3]，使用 NaOH 溶液处理样品可使脂肪皂化，以便 *N*-亚硝胺充分转移至水溶液，但 NaOH 易使提取液浑浊、粘稠，且不易通过离心达到澄清[20-21]。本研究使用 $Ba(OH)_2$ 作为处理剂，Ba^{2+} 可促进蛋白沉淀，且 $Ba(OH)_2$ 溶解度小，当提取液冷却后，$Ba(OH)_2$ 沉淀会从溶液中析出，从而促进离心分离，使离心液澄清，所得样品溶液粘度小，有利于后续的活性炭柱净化富集。此外，$Ba(OH)_2$ 腐蚀性小，使用时以固体方式加入，操作方便。

本实验优化了 $Ba(OH)_2$ 的用量、处理时间和温度。结果表明，$Ba(OH)_2$ 用量过大容易堵塞小柱，加入 1 g 时效果较好；处理时间过长易使样液发生褐变，处理时间为 1 h 时，离心上清液中的油脂层消失，说明油脂已经皂化完全；处理温度超过 100 ℃时，离心管容易变形、漏液，故选择处理温度为 80 ℃。

水溶液中 *N*-亚硝胺的富集净化主要采用活性炭小柱，本实验选择 Sep-Pak® Plus AC-2 小柱，参考文献[28]方法富集净化样品。经碱液处理、活性炭柱固相萃取，可对 8 种 *N*-亚硝胺有效富集和净化，该方法省时、省力、环境友好，可显著提高工作效率。

2.3 方法验证

2.3.1 检出限和定量限 虽然鱼干的总离子流色谱图基质峰较虾皮、虾仁复杂，但在本方法条件下，3 类样品的 LOD 和 LOQ 区别不明显，其中 NDMA 的 LOD 和 LOQ 分别为 0.09 μg/kg 和 0.33 μg/kg，能够满足水产品中 NDMA 的监测需求。8 种 *N*-亚硝胺在 1～200 μg/L 浓度范围内的线性关系良好，线性相关系数 $R^2 \geqslant 0.998$，其结果列于表 2。



注:1. NDMA-d6;2. NDMA;3. NMEA;4. NDEA;5. NDPA-d14;
6. NDPA;7. NDBA;8. NPIP;9. NPYR-d8;10. NPYR;11. NMOR

图 1　标样(a)、加标浓度 3 ng/g 鱼干样品(b)的总离子流 MRM 色谱图,标样(c,d)和鱼干样品(e,f)NDMA 子离子对应的 MRM 色谱图

Fig. 1　Total ion chromatograms of standard samples (a) and dried fish samples (b), MRM chromatograms of NDMA in standard samples (c, d) and dried fish samples (e, f)

表 2 各分析物的线性方程、检出限和定量限

Table 2 Linear regression equations, limits of detection (LODs) and limits of quantification (LOQs) of analytes

分析物 Analytes	线性回归方程 Linear regression equations	相关系数 Correlation coefficients (R^2)	线性范围 Linear ranges/(μg/L)	检出限 LODs/(μg/kg)	定量限 LOQs/(μg/kg)
NDMA	$y=1.2098x+0.0118$	0.9993	1～200	0.09	0.33
NMEA	$y=0.5708x+0.0021$	0.9997	1～200	0.05	0.27
NDEA	$y=0.2969x-0.0015$	0.9998	1～200	0.25	0.85
NDPA	$y=1.5511x-0.0099$	0.9997	1～200	0.04	0.12
NDBA	$y=2.2561x-0.0189$	0.9998	1～200	0.19	0.62
NPIP	$y=1.2542x+0.0097$	0.9996	1～200	0.08	0.28
NPYR	$y=0.3568x+0.0138$	0.9982	1～200	0.20	0.70
NMOR	$y=3.5931x-0.0315$	0.9999	1～200	0.03	0.10

注：y 表示峰面积比；x 表示浓度比

2.3.2 准确度和精密度 在考虑样品本底值的基础上，对 3 类样品在 3 种浓度水平进行 6 次平行加标回收实验，结果列于表 3。分别以 NDMA-d6 为 NDMA、NMEA、NDEA 的内标，NDPA-d14 为 NDPA、NPIP 和 NDBA 的内标，NPYR-d8 为 NPYR、NMOR 的内标。除 NDBA 高水平添加的回收率略低（可能与 NDBA 的稳定性有关），为 52.1%～69.0%外，其他化合物的回收率均在 71.3%～119.0%之间，RSD 为 0.65%～15.4%，准确性和精密度良好。

表 3 样品中 8 种挥发性 *N*-亚硝胺的回收率及精密度

Table 3 Recoveries and precisions of 8 volatile *N*-nitrosamines

样品 Samples	分析物 Analytes	添加水平 Adding levels/(μg/kg)	回收率 Recoveries/%	精密度 RSDs/%
鱼干	NDMA	1,3,10	102.0,92.7,110.4	6.97,1.79,2.02
	NMEA	1,3,10	109.2,97.0,105.2	5.79,3.87,1.89
	NDEA	1,3,10	76.0,71.3,83.6	15.4,7.04,3.43
	NDPA	1,3,10	113.6,89.7,101.9	7.16,5.29,5.25
	NMOR	1,3,10	73.3,89.2,61.6	12.3,6.77,5.82
	NPIP	1,3,10	86.1,74.2,80.5	11.7,15.9,6.91
	NPYR	1,3,10	108.2,85.7,113.4	9.16,5.56,4.76
	NDBA	1,3,10	83.0,65.7,61.1	14.1,7.75,2.26
虾皮	NDMA	3,10,20	—,105.5,103.7	—,6.63,2.62
	NMEA	1,3,10	106.9,97.8,100.8	5.77,2.74,3.16
	NDEA	1,3,10	75.2,73.4,89.2	6.33,8.63,5.35
	NDPA	1,3,10	99.1,95.2,99.7	11.7,4.26,3.79
	NMOR	1,3,10	74.3,86.9,75.0	13.7,5.31,3.03
	NPIP	1,3,10	87.6,92.0,87.6	5.51,9.68,3.55
	NPYR	1,3,10	115.4,93.5,107.1	7.86,5.56,2.39
	NDBA	1,3,10	81.7,60.5,52.1	13.3,5.86,1.67

续表 3

样品 Samples	分析物 Analytes	添加水平 Adding levels/(μg/kg)	回收率 Recoveries/%	精密度 RSDs/%
虾仁	NDMA	1,3,10	118.4,104.1,113.0	2.97,4.23,2.17
	NMEA	1,3,10	112.7,108.7,119.0	6.72,2.42,5.04
	NDEA	1,3,10	109.0,93.3,97.8	5.22,5.34,5.87
	NDPA	1,3,10	118.6,102.6,109.4	3.75,5.94,0.65
	NMOR	1,3,10	82.4,84.4,67.9	3.18,4.64,1.47
	NPIP	1,3,10	103.4,83.3,102.6	3.36,10.2,3.15
	NPYR	1,3,10	101.5,92.1,91.5	6.79,4.14,4.62
	NDBA	1,3,10	77.1,69.0,67.0	5.56,5.33,4.14

注:—表示本底值远大于添加值,未做计算

2.4　实际样品测定

应用本方法检测了购自本地超市的鱼干、虾皮和虾仁共 23 个产品,其中包括 8 个即食鱼干、5 个生鱼干、4 个虾皮、6 个虾仁样品。每个样品平行测定 2 次,结果列于表 4。从 3 类样品中均检出 NDMA,其他 *N*-亚硝胺被不同程度检出; NDMA 在鱼干中含量最高,虾皮次之,虾仁最低,但总体均值均高于安全限量;即食鱼干中 NDMA 含量显著高于生鱼干,说明加工过程或辅料[29]促进了 NDMA 的生成。除即食食品外,这些水产品在烹饪过程中会挥发损失一部分 *N*-亚硝胺,人体摄入量相对较小。因此,NDMA 的食品安全风险还有待进一步探讨。

表 4　实际样品中 8 种 *N*-亚硝胺的含量

Table 4　Contents of eight *N*-nitrosamines in actual samples

分析物 Analytes	含量 Contents/(μg/kg)		
	鱼干 Dried fish	虾皮 Dried small shrimp	虾仁 Shrimp meat
NDMA	0.70～80.0[r],23.1[a]	3.72～25.4,11.2	0.47～9.05,5.65
NMEA	ND～1.70,1.70	ND～LOQ,—	ND,—
NDEA	0.25～1.18,0.46	< LOQ,—	< LOQ,—
NDPA	< LOQ～0.13,0.13	< LOQ～0.27,0.27	< LOQ,—
NMOR	0.13～1.17,0.34	0.10～1.1,0.4	0.10～0.17,0.13
NPIP	0.28～0.40,0.33	ND～0.59,0.59	ND～LOQ,—
NPYR	ND～3.75,3.75	ND～1.19,1.19	ND～1.19,1.19
NDBA	0.66～1.26,0.96	< LOQ～0.95,0.95	< LOQ,—

注:ND 表示未检出;r 表示含量范围;a 表示均值;—表示未计算

3　结论

本研究建立了 $Ba(OH)_2$ 溶液处理-活性炭柱固相萃取,结合 GC-MS/MS 检测鱼干、虾仁和虾皮中 8 种 *N*-亚硝胺的方法。该方法的样品处理简单、环境友好、定性定量分析可靠,可满足食品中 *N*-亚硝胺检测的需求。

参考文献:

[1] 蔡鲁峰,李娜,杜莎,等. *N*-亚硝基化合物的危害及其在体内外合成和抑制的研究进展[J]. 食品科学,2016,37(5):271-277.
CAI Lufeng, LI Na, DU Sha, et al. Progress in hazards, synthesis and inhibition of *N*-nitroso compounds in vitro and in vivo[J]. Food Science, 2016, 37(5): 271-277(in Chinese).

[2] MIRVISH S S. Formation of *N*-nitroso compounds: chemistry, kinetics, and in vivo occurrence[J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 1975, 31(3): 325-351.

[3] TRICKER A R, PREUSSMANN R. Carcinogenic *N*-nitrosamines in the diet: occurrence, formation, mechanisms and carcinogenic potential [J]. Mutation Research, 1991, 259(3/4): 277-289.

[4] BOUVARD V, LOOMIS D, GUYTON K Z, et al. Carcinogenicity of consumption of red and processed meat[J]. Lancet Oncology, 2015, 16 (16): 1 599.

[5] GB 2762—2017 食品安全国家标准食品中污染物限量[S]. 北京:中国标准出版社,2017.

[6] 张红,杨保刚. 气相色谱-热能分析仪测定水产品中 *N*-亚硝胺[J]. 食品研究与开发,2014,35 (24):125-127.
ZHANG Hong, YANG Baogang. Determination of volatile *N*-nitrosamines in aquatic products by thermal energy analyzer using gas chromatography[J]. Food Research and Development, 2014, 35(24): 125-127(in Chinese).

[7] ANDRADE R, REYES F G R, RATH S. A method for the determination of volatile *N*-nitrosamines in food by HS-SPME-GC-TEA[J]. Food Chemistry, 2005, 91(1): 173-179.

[8] KOMAROVA N V, VEIKANOY A A. Determination of volatile *N*-nitrosamines in food by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection[J]. Journal of Analytical Chemistry, 2001, 56(4): 359-363.

[9] 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.
ZHAO Hua, WANG Xiuyuan, WANG Pingya, et al. Determination of volatile *N*-nitrosamine compounds in saltedaquatic products by gas chromatography-mass spectrometry[J]. Chinese Journal of Chromatography, 2013, 31(3): 223-227(in Chinese).

[10] 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.
WU Yanyan, LIU Fajia, LI Laihao, et al. Determination and optimization of *N*-nitrosamines in salted fish by gas chromatography-mass spectrometry[J]. South China Fisheries Science, 2012, 8(4): 16-22 (in Chinese).

[11] YUAN Y, WEI M, MIAO Y T, et al. Determination of eight volatile nitrosamines in meat products by ultrasonic solvent extraction and gas chromatography-mass spectrometry method[J]. International Journal of Food Properties, 2015, 18(6): 1 181-1 190.

[12] SANNINO A, BOLZONI L. GC/CI-MS/MS method for the identification and quantification of volatile *N*-nitrosamines in meat products[J]. Food Chemistry, 2013, 141(4): 3 925-3 930.

[13] 赵博,邓美林,杨小珊,等. 分散固相萃取-气相色谱-串联质谱法测定动物源性食品中 9 种 *N*-亚硝胺类化合物[J]. 色谱,2016,34(10):998-1 004.
ZHAO Bo, DENG Meilin, YANG Xiaoshan, et al. Determination of nine *N*-nitrosamines in animal derivedfoods by dispersive solid-phase extraction-gaschromatography-tandem mass spectrometry[J]. Chinese Journal of Chromatography, 2016, 34(10): 998-1 004(in Chinese).

[14] HERRMANN S S, DUEDAHL-OlESEN L, GRANBY K. Simultaneous determination of volatile and non-volatile nitrosamines in processed meat products by liquid chromatography tandem mass spectrometry using atmospheric pressure chemical ionisation and electrospray ionisation [J]. Journal of Chromatography A, 2014, 1 330(4): 20-29.

[15] 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,(1):82-90.
LUO Qian, WANG Donghong, WANG Bingyi, et al. A new method for rapid determination of 9 *N*-nitrosamines in drinking water by ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. Chinese Science: Chemistry, 2011, (1): 82-90(in Chinese).

[16] GB/T 5009.26—2003 食品中 *N*-亚硝胺类的测定[S]. 北京:中国标准出版社,2003.

[17] GB/T 5009.26—2016 食品中 *N*-亚硝胺类的测定[S]. 北京:中国标准出版社,2016.

[18] 夏晓楠,王宗义,赵依芃,等. 水蒸气蒸馏-活性炭柱固相萃取/GC-MS/MS 法测定火腿中 8 种 *N*-亚硝胺[J]. 分析试验室,2015,34(12):1 475-1 479.
XIA Xiaonan, WANG Zongyi, ZHAO Yipeng,

et al. Steam distillation combined with active carbon solid phase extraction for the determination of eight volatile *N*-nitrosamines in ham products by GC-MS/MS[J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2015, 34(12): 1 475-1 479(in Chinese).

[19] 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.
HE Shujuan, ZHAO Limin, LI Qiang, et al. Determination of nine *N*-nitrosocompounds in meat products by gas chromatograph-mass spectrometry[J]. Meat Research, 2015, 29(1): 27-30(in Chinese).

[20] AMELIN V G, LAVRUKHIN D K. Combination of microwave heating extraction and dispersive liquid-liquid microextraction for the determination of nitrosoamines in foods using gas-liquid chromatography with a mass-spectrometric detector[J]. Journal of Analytical Chemistry, 2016, 71(4): 359-364.

[21] RAMEZANI H, HOSSEINI H, KAMANKESH M, et al. Rapid determination of nitrosamines in sausage and salami using microwave-assisted extraction and dispersive liquid-liquid microextraction followed by gas chromatography-mass spectrometry[J]. European Food Research and Technology, 2015, 240(2): 441-450.

[22] HUANG M C, CHEN H C, FU S C, et al. Determination of volatile *N*-nitrosamines in meat products by microwave-assisted extraction coupled with dispersive micro solid-phase extraction and gas chromatography-chemical ionisation mass spectrometry[J]. Food Chemistry, 2013, 138(1): 227-233.

[23] QIU Y, CHEN J H, YU W, et al. Contamination of Chinese salted fish with volatile *N*-nitrosamines as determined by QuEChERS and gas chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Food Chemistry, 2017, (232): 763-769.

[24] LEHOTAY S J, SAPOZHNIKOVA Y, HAN L, et al. Analysis of nitrosamines in cooked bacon by QuEChERS sample preparation and gas chromatography-tandem mass spectrometry with backflushing[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2015, 63(47): 10 341-10 351.

[25] CAMPILLO N, VIÑAS P, MARTÍNEZ-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 of Chromatography A, 2011, 1 218(14): 1 815-1 821.

[26] ALKASEEM M, ALASSAF Z, KARABEET F. Determination of seven volatile *N*-nitrosamines in fast food[J]. Pharmacology & Pharmacy, 2014, 5(2): 195-203.

[27] BOYD J M, HRUDEY S E, LI X F, et al. Solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography mass spectrometry analysis of nitrosamines in treated drinking water and waste water[J]. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2011, 30(9): 1 410-1 421.

[28] YOON S, NAKADA N, TANAKA H. A new method for quantifying *N*-nitrosamines in waste water samples by gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry[J]. Talanta, 2012, 97(16): 256-261.

[29] 张甜,杨华. 模拟条件下香辛类蔬菜对*N*-二甲基亚硝胺形成的影响[J]. 食品科学,2017,38(1):159-164.
ZHANG Tian, YANG Hua. Effects of spicy vegetables on the formation of *N*-nitrosodimethylamine under simulated conditions[J]. Food Science, 2017, 38(1): 159-164(in Chinese).