

中国市售天然乳胶避孕套中亚硝胺迁移量的检测分析

封棣^{1,2},程雪莲²,张苓俐²,刘福均²,郑玉梅²,王介东²,杨全力^{2*}

(1. 中国协和医科大学研究生院,北京 100730 2. 国家人口计生委科学技术研究所,北京 100081)

[摘要] 目的:用《ISO/CD 29941委员会草案》的标准方法对中国 10种市售天然避孕套中致癌物亚硝胺的迁移量进行检测分析,为制定乳胶避孕套中亚硝胺迁移量的国家标准检测方法提供了可靠的依据。方法:从中国市场上随机购买了 10种天然乳胶避孕套,用《ISO/CD 29941委员会草案》标准方法,将避孕套在水中浸提 10 min 后,用二氯甲烷萃取,再经干燥和浓缩后利用气相色谱-热能分析仪检测从乳胶避孕套中迁移出的亚硝胺含量。结果:二甲基亚硝胺(NDMA)、二乙基亚硝胺(NDEA)和二丁基亚硝胺(NDBA)被检出。在 10 min 之内,从 10种天然乳胶避孕套中 NDMA 的迁移量为 0~18.74 μg/kg, NDEA 的迁移量为 1.53~14.69 μg/kg, NDBA 的迁移量为 0~39.54 μg/kg, 总亚硝胺迁移量为 9.87~50.52 μg/kg, 仅有一种样品符合 93/11/EEC 的亚硝胺限量标准。结论:我国市售天然乳胶避孕套中亚硝胺迁移量较高,建议制定乳胶避孕套中亚硝胺迁移量检测的国家标准方法及迁移量的限量标准。

[关键词] 亚硝胺;天然乳胶避孕套;气相色谱-热能分析仪;迁移量

[中图分类号] TS411 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1004-8685(2009)03-0483-03

Detection nitrosamines migration from nature latex condoms in China market

FENG Di^{1,2}, CHENG Xue-lin², ZHANG Ling-li², LIU Fu-jun², ZHENG Yu-mei², WANG Jie-dong², YANG Quan-li^{2*}

(1. Peking Union Medical College, Beijing 100730, China 2. National Research Institute for Family Planning, Beijing 100081, China)

[Abstract] **Objective** To detect nitrosamines migration from nature latex condoms in the China market and provide basis for constituting national standard. **Methods** Nitrosamines migration from 10 nature latex condoms was monitored according ISO/CD 29941 Committee Draft. **Results** N-nitrosodimethylamine (NDMA), N-nitrosodiethylamine (NDEA) and N-nitrosobutylamine (NDBA) were found in 10 samples. The migration level of NDMA, NDEA and NDBA varied was 0~18.74 μg/kg, 1.53~14.69 μg/kg and 0~39.54 μg/kg respectively. The migration level of total nitrosamines varied was 9.87~50.52 μg/kg. **Conclusion** In view of high content and potential toxicity of nitrosamines migration from latex condoms, it is suggested that a national standard and a prescribed limit should be imposed.

[Key words] Nitrosamines; Nature latex condoms; GC-TEA; Migration

亚硝胺是一类强致癌物,已发现的亚硝胺中 90% 左右可以诱发动不同器官的肿瘤。动物试验表明,多次长期摄入量和一次冲击量均可产生肿瘤。在天然乳胶避孕套的生产中,亚硝胺产生于硫化过程中,通过具有仲胺基的硫化催化剂与空气中的氮氧化物(主要是 NO₂)进行亚硝基化反应生成^[1,2]。另外,乳胶制品在存储及使用中也会产生亚硝胺^[3-5]。在国外乳胶制品中的亚硝胺早已引起了人们的注意,研究人员在婴儿奶嘴、气球、避孕套、手套中均已经检测出亚硝胺的迁移^[3-8]。1993年,欧洲经济共同体颁布 93/11/EEC 的委员会指示,规定了婴儿乳胶奶嘴及抚慰品中亚硝胺的迁移量不超过 10 μg/kg^[9]。

避孕套是很好的避孕以及避免性交疾病的器具,中国每年消耗超过 2亿只避孕套,全球每年消耗超过 30亿只避孕套。

[基金项目] 国家人口计生委专项基础科研费(2007GJSSJKA02)资助

[作者简介] 封棣(1980-),女,博士研究生,主要从事分析化学研究。

* 通讯联系人, E-mail: quanliyang2008@gnail.com

由于乳胶避孕套在使用过程中与人的生殖器官密切接触,因此对避孕套中致癌物亚硝胺的迁移量的检测具有重要意义。2008年,国际标准化委员会出台了《ISO/CD 29941委员会草案:从天然乳胶避孕套迁移到介质中的亚硝胺的检测》^[10]。本研究用上述标准方法对中国 10种市售天然避孕套中致癌物亚硝胺的迁移量进行检测分析,为制定乳胶避孕套中亚硝胺迁移量的国家标准检测方法提供了可靠的依据。该研究尚未见报道。

1 材料与方法

1.1 试剂

碳酸氢钠(AR,北京化学试剂公司);无水硫酸钠(二氯甲烷洗,AR,北京化工厂);三级蒸馏水;二氯甲烷(重蒸,AR,北京化学试剂公司);正己烷(重蒸,AR,北京化学试剂公司);甲醇(色谱纯,迪马公司);盐酸溶液(浓度为 1 mol/L);氢氧化钠溶液(浓度为 1 mol/L)。

亚硝胺标准品: N-亚硝基二甲胺(NDMA)、N-亚硝基二甲胺(NDEA)、N-亚硝基二丙胺(NDPA)、N-亚硝基异丙胺(NDPA)、N-亚硝基二丁胺(NDBA)、N-亚硝基哌啶

(NPIP)、N-亚硝基吡咯烷(NPYR)、N-亚硝基吗啉(NMOR)、N-甲基乙基亚硝胺(NMEA)共9种亚硝胺标准溶液(美国Sigma试剂公司),浓度均为100 mg/ml纯度均为99.5%。亚硝胺标准品用甲醇稀释成适用浓度的标准储备液,铝箔包裹避光,4℃冰箱密闭保存。

样品:2007年从中国市场上随机购得10种不同厂家的天然乳胶避孕套。

1.2 仪器与设备

Agilent 7890A 气相色谱仪(美国Agilent仪器公司);610型热能分析仪(美国热电公司);弹性石英毛细管柱(DB-FFAP, 30 m × 0.53 mm × 0.1 μm, J&W);CSR-4-10型超纯水器(北京爱思泰克科技开发有限公司);MTN-2800D型氮吹仪(天津奥特赛思科技有限公司);QZX-C型空气浴振荡器(哈尔滨市东明医疗仪器厂);RE-2000型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂);SHZ-D(III)型循环水式真空泵(巩义市英峪予华仪器厂);PHS-2C精密酸度计(上海理达仪器厂)。

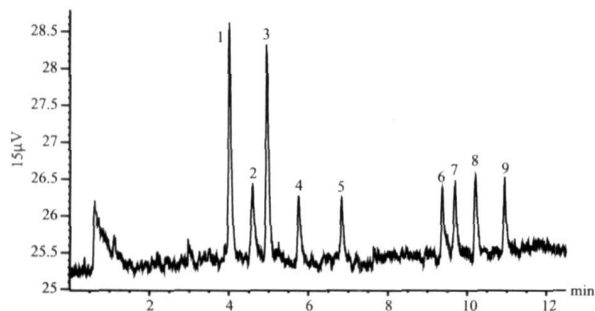
1.3 方法

1.3.1 样品处理 称量重约5 g的预备好的避孕套(擦去避孕套里外的附着物),将其转至50 ml的锥形瓶中,用移液管加入40 ml蒸馏水,用玻璃塞塞住锥形瓶,40℃持续10 min,将溶液从锥形瓶转移至50 ml具塞容量瓶中,用4 ml蒸馏水润洗避孕套后转至容量瓶中,加蒸馏水至刻度,混匀。用移液管在容量瓶中加入1 ml氢氧化钠溶液。缓慢地将试液转至分液漏斗中,加入20 ml二氯甲烷,振摇至少1 min,待分层后,将下层溶液经过30 g预洗过的无水硫酸钠,重复萃取三次,转至旋转蒸发瓶中。用25 ml二氯甲烷清洗硫酸钠,合并至旋蒸瓶中,加入2 ml正己烷和2~3粒沸石,浓缩至4~6 ml转至氮吹仪,小心氮吹浓缩至1 ml以备GC-TEA检测。每个样品平行处理三份,结果取平均值。

1.3.2 样品检测条件 载气:(高纯He)10 ml/min(恒流方式);不分流进样;进样量10 μl进样口温度250℃;传输线温度230℃;裂解炉温度500℃;柱升温程序:初始温度60℃,以8℃/min升至160℃。外标法定量。

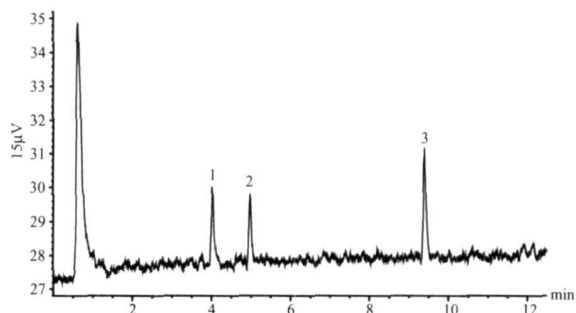
2 结果与讨论

按“1.3.1”和“1.3.2”项操作进行测定,亚硝胺标准品色谱图见图1,避孕套C10中迁移出的亚硝胺色谱图见图2,测得10种避孕套中亚硝胺迁移量结果,见表1。



1. NDMA; 2. NMEA; 3. NDEA; 4. NDPA;
5. NDPA; 6. NPYR; 7. NMOR; 8. NPPE; 9. NDPA

图1 亚硝胺标准品色谱图



1. NDMA; 2. NDEA; 3. NDPA

图2 避孕套C10中迁移出的亚硝胺色谱图

表1 从天然乳胶避孕套中迁移出的亚硝胺含量

样品	NDMA(μg/kg)	NDEA(μg/kg)	NDPA(μg/kg)	Total(μg/kg)
C01	3.29	7.69	39.54	50.52
C02	7.13	8.51	15.80	31.44
C03	2.24	9.18	-	11.42
C04	1.61	8.26	-	9.87
C05	1.35	1.53	12.48	15.36
C06	-	14.69	25.36	40.05
C07	4.33	11.24	-	15.57
C08	18.74	10.53	10.02	39.29
C09	-	12.87	-	12.87
C10	8.86	8.14	30.57	47.57

注:“-”未检出

从表1中可看出,NDMA在8个样品中被检出,迁移量为0~18.74 μg/kg NDEA在10个样品中全被检出,迁移量为1.53~14.69 μg/kg NDPA在6个样品中被检出,迁移量为0~39.54 μg/kg 总亚硝胺迁移量为9.88~50.52 μg/kg,以93/11/EEC中婴儿乳胶奶嘴及抚慰品中亚硝胺的迁移量不超过10 μg/kg的限量标准为依据,检测的10种天然乳胶避孕套的亚硝胺迁移量中仅有1种样品符合限量标准,其余全部超标。

在国外,天然乳胶避孕套中致癌物亚硝胺的迁移早已引起人们的重视,并且正在积极地制定标准检测方法,但在国内,有关乳胶避孕套中亚硝胺的研究尚属空白。本研究为制定乳胶避孕套中亚硝胺迁移量的国家标准检测方法提供了可靠的依据。由于我国市售天然乳胶避孕套中亚硝胺迁移量较高,对人体健康有潜在的危害,因此建议制定其相应的国家标准检测方法及迁移量限制。

[参考文献]

- [1] Fajen JM, Carson GA, Rounbehler DP, *et al*. Nitrosamines in rubber and tire industry[J]. Science 1979, 205: 1262-1264.
- [2] Spiegelhader B, Preussmann R. Occupational nitrosamine exposures [J]. IRubber Tyre Industry Carcinogenesis 1983; 4: 1147-1152.
- [3] Baudet H, Mouillet L, Debry G. Migration of nitrosamines from condoms to physiological secretions [J]. Bull Environ Contam Toxicol 1997, 59: 847-853.

(下转第581页)

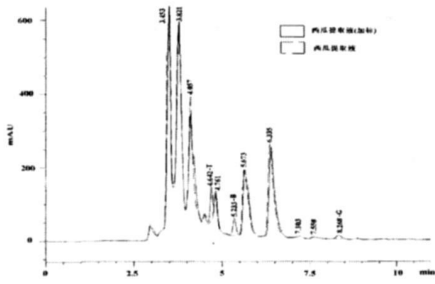


图 1 西瓜样品和加标样品色谱图

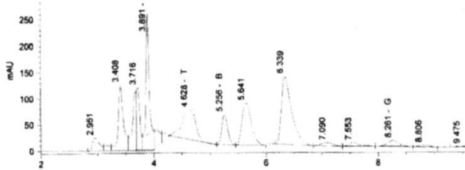


图 2 加标西瓜样品经 HLB 萃取后的色谱图(甲醇:水=3:1)

2.2 标准曲线、线性范围及最低检出限

标准系列浓度为 0, 0.001, 0.005, 0.01, 0.05, 0.10 mg/ml 进样量 10 μl 以峰面积对浓度作图得标准曲线, 峰面积与浓度呈良好线性关系, 回归方程赤霉素为 $I = 13358.46 \times C + 1.69$, 相关系数 $r = 0.9999$, 苯甲酸为 $I = 5783.44 \times C + 4.67$, 相关系数 $r = 0.9996$, 糖精钠为 $I = 12466.01 \times C + 4.31$, 相关系数 $r = 0.9997$, 胭脂红为 $I = 76482.56 \times C - 3.11$, 相关系数 $r = 0.9995$.

结果表明 4 种物质在 0.001~0.10 mg/ml 浓度范围内具有良好的线性关系, 以信噪比为 3 时, 4 种物质的最低检出限分别为赤霉素 0.11 μg/ml, 苯甲酸 0.27 μg/ml, 糖精钠 0.14 μg/ml 和胭脂红 0.39 μg/ml.

2.3 样品测定结果分析

在市场上抽取西瓜、草莓和樱桃番茄各 20 份样品进行检测, 对含有目标化合物样品的色谱图, 采用二极管阵列检测器进行紫外光谱扫描, 以确认样品所含物质为目标化合物.

表 2 为不同场所样品的阳性检出率, 表 3 为不同样品中赤霉素、苯甲酸、糖精钠和胭脂红的检出率, 结果表明在大型超市购买的样品, 检出率低, 在专门水果店的样品, 部分含有赤霉素和糖精钠, 而在菜市场的样品, 阳性检出率较高. 针对不同的样品, 发现西瓜、草莓中含有糖精钠和赤霉素, 樱桃番茄中一般不含有赤霉素、苯甲酸、糖精钠和胭脂红.

表 2 为不同场所样品的阳性检出

采样场所	样品数 (份)	阳性检出(份)			
		赤霉素	苯甲酸	糖精钠	胭脂红
大型超市	20	0	0	1	0
水果店	20	3	0	2	0
菜市场	20	4	0	5	0

表 3 不同样品中赤霉素、苯甲酸、糖精钠和胭脂红的检出率

样品名称	样品数 (份)	阳性检出(份)			
		赤霉素	苯甲酸	糖精钠	胭脂红
西瓜	20	5	0	6	0
草莓	20	2	0	1	0
樱桃番茄	20	0	0	0	0

3 小结

试验以甲醇/水为提取液, 用 HLB 固相萃取柱有效去除样品中的干扰物质, 浓缩萃取目标化合物, 用高效液相色谱仪有效分离、测定水果中的赤霉素、苯甲酸、糖精钠和胭脂红. 本方法将纯化、富集微量组分的新技术—固相萃取技术应用于水果中赤霉素、苯甲酸、糖精钠和胭脂红的分离检测, 采用高效的 HPLC 法进行分析, 实现了高效、准确测定 4 种物质的目的. 该方法提取率高、灵敏度高, 定量准确, 较全面的反映水果中有害成分的情况, 可用于卫生、质检、食品等相关部门的检测实验室, 对鉴别水果的有害成分提供科学依据, 为提高食品安全监管提供有效监测技术.

[参考文献]

[1] 张有林, 党娅, 等. 高效液相色谱法同时测定银凤桃中的赤霉素和脱落酸 [J]. 西北植物学报, 2005, 25(7): 1467-1471.
 [2] 中国农科院植保保护研究所, 等编. 农药分析 [M]. 北京: 化学工业出版社, 1998.
 [3] 湛社霞, 孙世宏, 等. 高效液相色谱法测定水果中的赤霉素、苯甲酸、糖精钠和胭脂红 [J]. 中国卫生检验杂志, 2008, 18(7): 1330-1332.
 [4] 黄红林, 张桃芝, 等. SPE-GC-MS 选择离子法直接测定果品中赤霉素残留量 [J]. 理化检验-化学分册, 2006, 42(3): 194-196.

(收稿日期: 2008-12-31)

(上接第 484 页)

[4] Report ND1TOY01/01. Migration of nitrosamines and nitrosatable substances from balloons [J]. Inspectorate for Health Protection and Veterinary Public Health of Netherlands 2002.
 [5] Pensabene JW, Fidler W, Gates RA. Nitrosamine formation and penetration in hams processed in elastic rubber nettings. N-Nitrosodibutylamine and N-Nitrosodibenzylamine [J]. Agric Food Chem, 1995, 43: 1919-1922.
 [6] Altkofer W, Braune S, Ellendt K, et al. Migration of nitrosamines from rubber products are balloons and condoms harmful to the human health? [J]. Mol Nutr Food Res 2005, 49: 235-238.
 [7] Boum A K, Schothorst RC. Identification of extractable substances from

rubber nettings used to package meat products [J]. Food Addit Contam, 2003, 20: 300-307.
 [8] Gloria MB. Levels of volatile N-nitrosamines in baby bottle rubber nipples commercialized in Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil [J]. Bull Environ Contam Toxicol 1991, 47: 120-125.
 [9] Commission Directive 93/11/EEC, 1993. The release of N-nitrosamines and N-nitrosatable substances from elastomer or rubber teats and soothers Official Journal of the European Communities No. L 93/37.
 [10] ISO /CD (29941). Condoms- Determination of nitrosamines migrating from natural rubber latex condoms into various media 2008.

(收稿日期: 2009-01-10)