



嬰兒奶嘴中亞硝酸胺含量之檢驗方法精進研究

吳優 施宇哲 彭冠智 沈盈如 張淑涵 高雅敏 林美智 曾素香

衛生福利部食品藥物管理署研究檢驗組

摘要

亞硝酸胺為一類具亞硝基官能基之有機化合物，部分亞硝酸胺經動物實驗證實具有致癌性，生活環境中如水、食物及橡膠製用品均可發現亞硝酸胺之存在。由於部分嬰兒奶嘴由橡膠製造而成，必須對這些產品中亞硝酸胺含量進行控管以保障嬰兒健康。考量衛生福利部公告之嬰兒奶嘴中亞硝酸胺含量檢驗方法之樣品前處理流程複雜耗時，故本研究參考歐盟標準方法EN 12868中奶嘴溶出試驗，將奶嘴以人工唾液進行溶出，所得之溶出液直接以液相層析串聯質譜儀進行7項亞硝酸胺之定量分析。以奶嘴空白檢體之溶出液進行添加回收試驗，7項亞硝酸胺之平均回收率介於91.6-108.6%，變異係數介於2.3-14.7%。本方法7項亞硝酸胺之定量極限均為1.2 ppb，標準曲線之線性範圍為0.1-50 ng/mL，相關係數 r 值為0.99以上，線性關係良好。本方法簡單、快速且具良好準確性及精密度，可供各界參考使用。

關鍵詞：亞硝酸胺、嬰兒奶嘴、液相層析串聯質譜儀

前言

亞硝酸胺類化合物(*N*-Nitrosamines)為具亞硝基官能基(nitroso groups)之有機化合物，其基本結構為-N-N=O，與氮連接之基團可連接烷基、醯胺基、羧基或形成環狀結構等⁽¹⁾。部分亞硝酸胺類化合物經多種動物實驗證實具毒性及致癌性，如老鼠經*N*-Nitrosodimethylamine (NDMA)、*N*-Nitrosodiethylamine (NDEA)等亞硝酸胺曝露，可觀察到肺部、肝臟、腎臟等器官產生腫瘤及壞死，過去亦有人類因吸入及誤食NDMA造成肝硬化及肝衰竭致死的案例^(1,2)。

基於動物實驗中致癌性的研究，國際癌症研究署(International Agency for Research on Cancer, IARC)將NDMA及NDEA歸類至2A級極可能致癌因子，將*N*-Nitrosodi-

n-butylamine (NDBA)、*N*-Nitrosodi-*n*-propylamine (NDPA)、*N*-Nitrosomorpholine (NMOR)、*N*-Nitrosopiperidine (NPIP)及*N*-Nitrosopyrrolidine (NPNR)歸類至2B級可能致癌因子⁽³⁾。

亞硝酸胺通常由一及二級胺類化合物與亞硝酸化劑(如硝酸鹽、亞硝酸鹽及氮氧化物)經亞硝酸化(Nitrosation)反應生成，人類日常可能接觸亞硝酸胺的來源包含食品級橡膠材質之食品接觸材料。橡膠材質之食品接觸材料如廚房用具及奶嘴，其生產過程添加之硫化促進劑(如二硫胺甲酸)分解時產生二級胺，可與環境或工廠生產過程中氮氧化物(如亞硝酸)反應產生亞硝酸胺⁽⁴⁾。

由於部分嬰兒奶嘴是由橡膠製造，必須對這些產品中亞硝酸胺含量進行控管以保障嬰兒健

6 月日知識庫

康，經查行政院衛生署藥物食品檢驗局曾針對民國74年至86年間的市售奶嘴中亞硝胺含量進行調查，結果指出除橡膠奶嘴檢出亞硝胺外，矽膠奶嘴也曾出現亞硝胺含量不合格的案例，主要原因可能為在矽膠奶嘴(透過有機過氧化物交聯硬化)製造過程中，工廠使用相同的混合機處理橡膠與矽膠，導致矽膠中夾雜橡膠原料，或為提升矽膠奶嘴的彈性與耐用性，而添加含胺類的橡膠添加劑。為因應奶嘴中亞硝胺的風險日益受到關注，近年各國已制定相關規範，歐盟於1993年發布之指令93/11/EEC⁽⁵⁾限制橡膠奶嘴及安撫奶嘴中*N*-亞硝胺及*N*-亞硝基胺物質(*N*-Nitrosatable substances)之溶出總量分別應低於10及100 µg/kg；美國食品藥物管理局於2005年發布之遵守政策指南(Compliance policy guide (CPG), Sec 500.450)⁽⁶⁾規定奶嘴中單一亞硝胺含量應低於10 µg/kg；我國嬰兒奶嘴之亞硝胺限量標準⁽⁸⁾規定，嬰兒奶嘴之亞硝胺限量標準為10 ppb以下，與歐盟93/11/EEC⁽⁵⁾指令之規定相同。

常見用於分析奶嘴亞硝胺含量之檢驗方法有ASTM標準方法F1313-90⁽⁷⁾及歐盟標準方法EN 12868⁽⁹⁾。F1313-90方法可分析7項亞硝胺，該方法屬於材質試驗，透過加入液態氮，於低溫環境下均質奶嘴樣品，使用二氯甲烷進行索氏萃取，再測試萃取液中亞硝胺含量；EN12868之方法可分析11項亞硝胺，該方法屬於溶出試驗，使用人工唾液對奶嘴進行溶出，再以二氯甲烷對溶出液進行萃取後分析亞硝胺含量，亦有數篇研究是參考上述方法或對其微調進行^(4,10-12)。

分析儀器方面，早期文獻大多使用氣相層析儀搭配氮化學發光偵測器(Gas chromatograph-nitrogen chemiluminescence detector, GC-NCD)或氣相層析儀搭配熱能分析儀(Gas chromatograph-thermal energy analyzer, GC-TEA)進行亞硝胺分析⁽¹⁰⁾。近年因質譜分析較其他分析技術具更高靈敏度且分析成分範

圍廣，亦將LC-MS/MS作為奶嘴亞硝胺之分析儀器，如歐盟標準方法EN 12868⁽⁹⁾及韓國法規「器具、容器及包裝標準及規格」⁽¹⁴⁾。

除國際間相關研究及檢驗方法外，我國衛生福利部公告之「嬰兒奶嘴中亞硝胺含量之檢驗方法」⁽¹⁵⁾，可分析7項亞硝胺(NDMA、NPYR、NDEA、NPIP、NMOR、NDPA及NDBA)，結構式如表一，主要分析流程為將奶嘴以二氯甲烷浸泡後，以索氏萃取器進行萃取，萃取液再經濃縮供作檢液，最終以GC-TEA進行分析。考量該方法檢液之調製流程耗時較長，無法同時進行大量樣品萃取，萃取過程使用之二氯甲烷為第四類毒化物，存在人體健康危害及環境污染之疑慮，且該方法使用儀器GC-TEA較不普遍，故本研究擬參考歐盟標準方法EN 12868⁽⁹⁾建立分析方法，以人工唾液對嬰兒奶嘴進行溶出，並透過LC-MS/MS對溶出液進行7項亞硝胺含量分析。

材料與方法

一、檢體來源

本檢驗方法建立及測試所需6件矽膠嬰兒奶嘴係購自實體店面，產地分別為臺灣、德國及義大利。

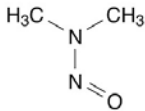
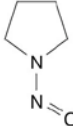
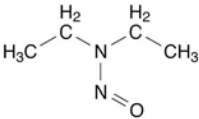
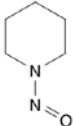
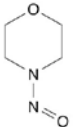
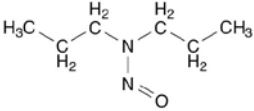
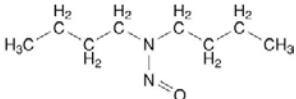
二、試藥

(一)對照標準品

亞硝胺標準品*N*-Nitrosodimethylamine (NDMA)、*N*-nitrosopyrrolidine (NPYR)、*N*-Nitrosodiethylamine (NDEA)及*N*-Nitrosodi-*n*-butylamine (NDBA)購自US Pharmacopeia (Rockville, MD, USA)，*N*-Nitrosopiperidine (NPIP)購自AccuStandard (New Haven, CT, USA)，*N*-Nitrosomorpholine (NMOR)購自Toronto Research Chemicals Inc. (Toronto, ON, Canada)，*N*-Nitrosodi-*n*-propylamine

月日知識庫

表一、7項亞硝胺之名稱及資訊

分析物	縮寫	結構式	CAS No.	IARC致癌因子分類
<i>N</i> -Nitrosodimethylamine	NDMA		62-75-9	2A
<i>N</i> -Nitrosopyrrolidine	NPYR		930-55-2	2B
<i>N</i> -Nitrosodiethylamine	NDEA		55-18-5	2A
<i>N</i> -Nitrosopiperidine	NPIP		100-75-4	2B
<i>N</i> -Nitrosomorpholine	NMOR		59-89-2	2B
<i>N</i> -Nitrosodipropylamine	NDPA		621-64-7	2B
<i>N</i> -Nitrosodibutylamine	NDBA		924-16-3	2B

(NDPA)購自European Pharmacopoeia (Strasbourg, France)。亞硝胺同位素內部標準品NDMA-d₆購自US Pharmacopeia，NPYR-d₄、NDEA-d₄、NDPA-d₁₄、NDBA-d₁₈、NMOR-d₈及NPIP-d₁₀購自Toronto Research Chemicals Inc.。

(二)試劑

甲醇及甲酸均採用液相層析級，甲醇購自Merck Ltd. (Darmstadt, Germany)，甲酸購自Honeywell International Inc. (Morristown,

NJ, USA)。鹽酸採用超純級，購自J.T. Baker (Phillipsburg, NJ, USA)。碳酸氫鈉、氫氧化鈉及碳酸鉀均採用分析級，購自Merck Ltd.。氯化鈉及亞硝酸鈉均採用分析級，購自Honeywell International Inc.。實驗過程使用比電阻於25°C可達18 MΩ·cm以上之去離子水。

三、器具及材料

(一)燒杯：500 mL。

月旦知識庫

- (二) 鑷子。
- (三) 血清瓶：30 mL，褐色。
- (四) 樣品瓶：2 mL，褐色，玻璃材質，附預切口之teflon材質瓶蓋。
- (五) 層析管柱：Acquity UPLC HSS T3，1.8 μm ，內徑2.1 mm \times 15 cm，Waters公司 (Milford, MA, USA) 產品。
- (六) 容量瓶：10 mL，褐色。
- (七) 濾膜：孔徑0.22 μm ，Nylon材質。

四、儀器設備

- (一) 加熱攪拌器：Corning PC 420 Hot Plate Stirrer，Corning Inc. (Corning, NY, USA)。
- (二) 去離子水製造機：Millipore milli-Q，Millipore (Bedford, MA, USA)。
- (三) 烘箱：Memert UIS，Memmert GmbH. (Schwabach, Germany)。
- (四) 液相層析串聯質譜儀：AB SCIEX ExionLC™ AC超高效液相層析儀(Ultra performance LC, UPLC)，搭配AB SCIEX QTRAP®5500質譜儀，搭配MultiQuant™分析與數據處理系統，AB SCIEX公司 (Framingham, MA, USA) 產品。

五、溶液之調製

- (一) 0.1 M氫氧化鈉溶液
取氫氧化鈉1 g，以去離子水溶解並定容至250 mL，攪拌至完全溶解。
- (二) 0.1 M鹽酸溶液
取35%鹽酸4.4 mL，緩慢加入去離子水450 mL中，冷卻後，以去離子水定容至500 mL。
- (三) 人工唾液
取碳酸氫鈉4.2 g、氯化鈉0.5 g、碳酸鉀0.2 g及亞硝酸鈉30 mg溶於去離子水900 mL中，以0.1 M鹽酸溶液或0.1 M氫氧化鈉溶液調整pH值至9.0，加去離子水定容至1,000 mL。

(四) 移動相溶液

1. 移動相溶液A

取甲酸1 mL，加去離子水定容至1,000 mL，以濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液A。

2. 移動相溶液B

甲醇。

(五) 標準溶液及內部標準溶液

1. 內部標準溶液

取NMOR-d₈及NPIP-d₁₀內部標準品各約2.5 mg，精確稱定，分別以甲醇溶解並定容至10 mL；取適量NDMA-d₆、NPYR-d₄、NDEA-d₄、NDPA-d₁₄及NDBA-d₈以甲醇稀釋至50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，作為內部標準原液，於-20°C避光貯存。臨用時，取適量各內部標準原液混合，以甲醇稀釋至5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，再以人工唾液稀釋至15 ng/mL，供作內部標準溶液。

2. 標準溶液

取適量各亞硝酸胺標準品，以甲醇溶解並稀釋至50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，作為標準原液，於-20°C避光貯存。臨用時，取適量各標準原液混合，以甲醇稀釋至5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，再以人工唾液稀釋至1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，作為混合標準原液，取適量混合標準原液與內部標準溶液，以人工唾液稀釋至0.1-50 ng/mL (含內部標準品濃度為5 ng/mL)，供作標準溶液。

六、試驗方法

(一) 液相層析串聯質譜儀測定條件

1. 液相層析儀

層析管為Acquity UPLC HSS T3，1.8 μm ，內徑2.1 mm \times 15 cm，管柱溫度為40°C，注入量為20 μL ，移動相A為0.1%甲酸水溶液，移動相B為甲醇，層析參數及條件如表二所示。

2. 串聯質譜儀

月日知識庫

表二、液相層析儀分析條件

Parameter	Condition		
LC column	Acquity HSS T3, 1.8 μm , 2.1 mm \times 15 cm		
Mobile phase	A: 0.1% Formic acid in H ₂ O B: Methanol		
Gradient program	Time (min)	A (%)	B (%)
	0.0 \rightarrow 10.0	70 \rightarrow 0	30 \rightarrow 100
	10.0 \rightarrow 15.0	0 \rightarrow 0	100 \rightarrow 100
	15.0 \rightarrow 15.1	0 \rightarrow 70	100 \rightarrow 30
	15.1 \rightarrow 18.0	70 \rightarrow 70	30 \rightarrow 30
Flow rate	0.2 mL/min		
Injection volume	20 μL		
Column temperature	40°C		
Analytical time	18.0 min		

表三、質譜分析條件

Parameter	Condition
Ionisation mode	APCI (+)
Nebulizer current	5.0 μA
Nebulizer gas, GS1	30.0 psi
Heated gas, GS2	55.0 psi
Temperature	220°C
Curtain gas	20 psi
Collision gas	N ₂ (medium)

離子源採用大氣壓力化學游離 (Atmospheric Pressure Chemical Ionization, APCI)，以正離子模式搭配多重反應偵測模式 (Multiple Reaction Monitoring, MRM) 進行偵測，質譜儀分析條件及MRM偵測離子對如表三及表四所示。

(二) 標準曲線之製作

精確量取標準溶液各20 μL ，分別注入液相層析串聯質譜儀中，依第六、(-)節測定條件進行分析。就亞硝酸標準品與對應內部標準品之波峰面積比，與對應之亞硝

胺濃度，製作標準曲線。標準曲線濃度點包含0.1、0.2、0.3、0.5、1、5、10及50 ng/mL。

(三) 檢液調製

沿奶嘴檢體之長軸對切，以獲得對稱切片。取檢體約5 g (若檢體超過6 g，則切除一小切片)，精確稱定，置入沸水300 mL中，加熱10分鐘，以鑷子將樣品由沸水取出並甩去多餘水分，將樣品移入血清瓶，並加入人工唾液20 mL，蓋上瓶蓋，輕晃使樣品完全浸入，置於40°C烘箱中，避光24小時後自烘箱取出，即得溶出液。取溶出液1 mL，加入內部標準溶液0.5 mL，供作檢液。

(四) 鑑別及含量測定

精確量取檢液及標準溶液各20 μL ，分別注入液相層析串聯質譜儀中，依第六、(-)節測定條件進行分析。就檢液與標準溶液所得波峰之滯留時間及多重反應偵測相對離子強度^(註)鑑別之，並依下列計算式求出檢體中各亞硝酸類化合物之含量(ppb)：



表四、7項亞硝酸胺及其同位素內部標準品之多重反應偵測模式參數

項次	分析物	前驅離子(m/z) > 產物離子(m/z)	去集簇電壓(V)	碰撞能量(eV)	內部標準品
1	NDMA	75 > 43 ^a	120	21	NDMA-d ₆
		75 > 58	80	20	
2	NPYR	101 > 55 ^a	100	22	NPYR-d ₄
		101 > 41	58	37	
3	NDEA	103 > 75 ^a	25	13	NDEA-d ₄
		103 > 47	25	29	
4	NPIP	115 > 69 ^a	42	21	NPIP-d ₁₀
		115 > 41	42	33	
5	NMOR	117 > 87 ^a	100	17	NMOR-d ₈
		117 > 86	38	20	
6	NDPA	131 > 43 ^a	59	14	NDPA-d ₁₄
		131 > 89	59	21	
7	NDBA	159 > 57 ^a	30	12	NDBA-d ₁₈
		159 > 103	100	10	
I.S.	NDMA-d ₆	81 > 46	60	21	—
I.S.	NPYR-d ₄	105 > 59	58	22	—
I.S.	NDEA-d ₄	107 > 77	25	13	—
I.S.	NPIP-d ₁₀	125 > 78	42	21	—
I.S.	NMOR-d ₈	125 > 95	38	17	—
I.S.	NDPA-d ₁₄	145 > 50	59	14	—
I.S.	NDBA-d ₁₈	177 > 66	30	12	—

^a定量離子對

檢體中各亞硝酸胺類化合物之含量(ppb) =

$$\frac{C \times V_0 \times V}{M \times V_1}$$

C：由標準曲線求得檢液中各亞硝酸胺類化合物之濃度(ng/mL)

V₀：人工唾液之體積(20 mL)

V₁：檢液中溶出液之體積(1 mL)

V：檢液之體積(1.5 mL)

M：取樣分析檢體之重量(g)

註：相對離子強度由定性離子對與定量離子對之波峰面積相除而得(≤ 100%)，容許範圍如下：

相對離子(%)	容許範圍(%)
> 50	± 20
> 20~50	± 25
> 10~20	± 30
≤ 10	± 50

(五)基質效應評估

取空白檢體，依第六、(三)節調製空白溶出液，添加適量標準溶液及內部標準溶液製作基質匹配檢量線；另取人工唾液添加適量標準溶液及內部標準溶液製作標準曲線，基質匹配檢量線及標準曲線濃度範圍均為0.3-10 ng/mL (含內部標準品濃度為1

6月日知識庫

ng/mL)，依下列計算式求得各亞硝胺成分之基質效應。

$$\text{基質效應(\%)} = (A - B)/B \times 100$$

A：基質匹配檢量線之斜率

B：標準曲線之斜率

(六)確效試驗

1. 定量極限(Limit of Quantification, LOQ)之評估

取空白檢體依第六、(三)節調製空白溶出液，加入適量標準溶液及內部標準溶液供作檢液，並以LC-MS/MS分析。以所設定化合物之定量離子S/N ratio ≥ 10 ，定性離子S/N ratio ≥ 3 所對應之濃度為評估基礎，同時方法之回收率與變異係數符合衛生福利部食品藥物管理署(下稱食藥署)「食品化學檢驗方法之確效規範」⁽¹⁶⁾之最低濃度作為定量極限。

2. 添加回收試驗及重複性試驗

取空白檢體依第六、(三)節調製空白溶出液，加入適量標準溶液及內部標準溶液供作檢液，使檢液中各亞硝胺含量分別為0.2及1.0 ng/mL (對應檢體中含量為1.2及6.0 ppb)，依所建立之方法進行同日內回收試驗，計算5重複試驗間之平均回收率及變異係數(Coefficient of Variation, CV)；異日試驗部分，於不同分析日期重複上述實驗，求得平均回收率及變異係數(n=5)結果，並比較異日間實驗結果(n=10)。添加濃度與回收率及變異係數之容許範圍對應食藥署「食品化學檢驗方法之確效規範」⁽¹⁶⁾如下：

(1)準確度(Accuracy)

濃度範圍(mg/kg)	回收率(%)
> 0.001~0.01	60~125

$$\text{回收率(\%)} = \frac{C_C}{C_A} \times 100$$

C_C ：由標準曲線求得檢體中各亞硝

胺之測量值(ppb)

C_A ：檢體中各亞硝胺之添加量(ppb)

(2)精密度(Precision)

濃度範圍(mg/kg)	CV (%)	
	重複性	中間精密度
> 0.001~0.01	30	32

$$\text{變異係數(\%)} = \frac{\text{標準偏差}}{\text{平均值}} \times 100$$

(七)統計分析

平均值、標準偏差及變異係數等數值以Microsoft Excel 2021軟體進行計算；線性迴歸及相關係數(Correlation Coefficient, r)則由MultiQuantTM數據分析軟體運算產生。

結果與討論

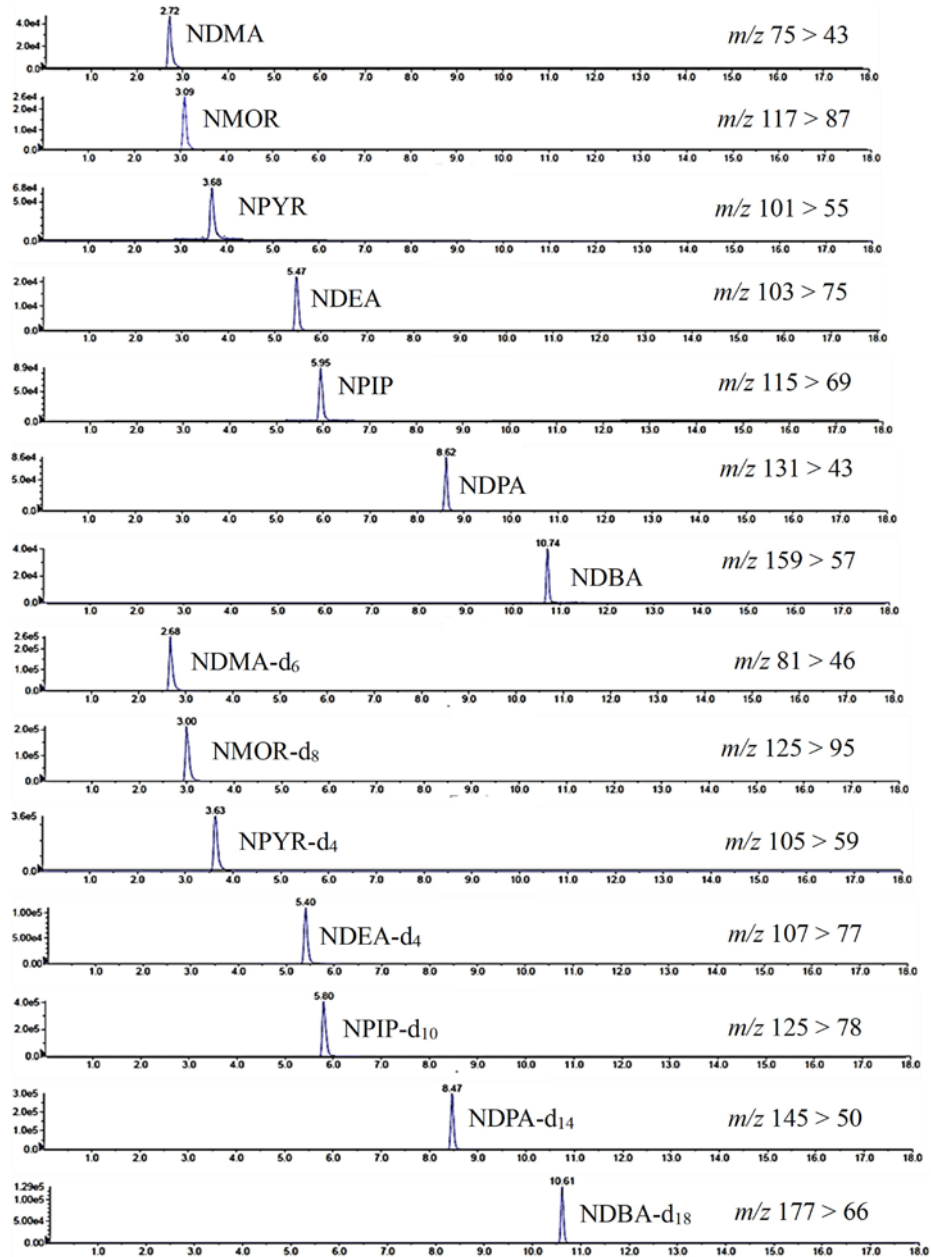
一、儀器條件參數評估

韓國食品藥物安全部(Ministry of Food and Drug Safety, MFDS)於2023年⁽¹³⁾發表有關奶嘴中亞硝胺之檢驗方法文獻，提及依據歐盟EC Directive 93/11/EEC⁽⁵⁾之溶出條件執行溶出試驗，可省略材質試驗之萃取時間，並透過應用LC-MS/MS搭配大氣壓化學游離法(APCI)，相較搭配電灑離子化法(Electrospray Ionization, ESI)可有效提升分析感度。本研究延續上述文獻提出的層析條件，並優化搭配線性離子阱三段串聯四極柱質譜儀AB SCIEX QTRAP[®]5500之質譜參數，開發LC-MS/MS搭配APCI模式分析奶嘴中亞硝胺。在方法開發上遇到的挑戰為NDMA感度不佳，易受背景雜訊干擾，本研究透過調整質譜參數以提高分析物之感度，去集簇電壓(Declustering Potential, DP)功能為將離子源中的帶電質子引入質譜內，透過提高DP強度，可使干擾物質直接在離子源裂解達到降低背景干擾之目的，再調整各種離子源參數，



例如：溫度、電流等以達到最佳感度，質譜參數部分，以亞硝酸胺混合標準溶液建置最佳化條件(表三)。層析條件方面，參考文獻資料⁽¹⁸⁾選擇逆相層析管柱Acquity HSS T3搭配0.1%甲酸

水溶液及甲醇作為移動相進行層析，層析參數如表二。各項亞硝酸胺於此分析條件下可得良好峰型(具對稱及窄波寬)，總分析時間為18分鐘，標準品層析圖譜如圖一。



圖一、以LC-MS/MS分析1 ng/mL 7項亞硝酸胺及其同位素內部標準品之MRM層析圖譜

月旦知識庫

二、前處理評估

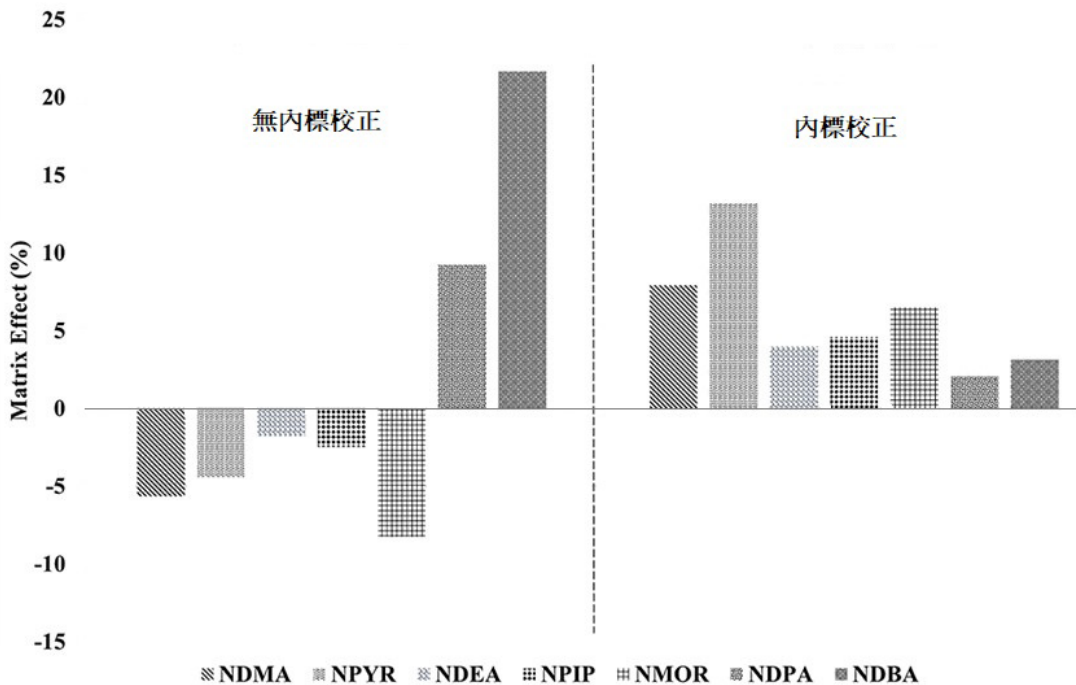
本方法之溶出條件係依循歐盟於1993年發布之指令93/11/EEC⁽⁵⁾所執行，由於溶出條件為歐盟評估符合實際使用情形所訂定之模擬條件，故本研究未更動溶出條件，而著重於所得溶出檢液之檢驗分析探討。因此本研究採用在溶出液中添加內部標準品後，直接以LC-MS/MS進行分析，前處理流程簡單，且與目前公告方法相比無須使用有機溶劑萃取，提升檢測效率與環境友善性。過去亦有文獻以溶出後人工唾液進行亞硝胺分析案例，如歐盟標準EN71-12⁽¹⁷⁾對幼童放入口腔之彈性體玩具(如嬰兒牙膠或氣球等)中亞硝胺含量進行規範，將彈性體玩具以人工唾液進行溶出一小時，完成後取溶出液1 mL加入內部標準品，再以LC-MS/MS分析；韓國食品藥品安全部於2023年之研究⁽¹³⁾建立以LC-MS/MS分析奶嘴檢體溶

出液中亞硝胺含量之方法，並檢測市售39件奶嘴檢體。綜上所述，以LC-MS/MS直接分析溶出液中亞硝胺具有其優點及可行性，故本研究以第六、(三)節之檢液調製流程進行後續確效試驗。

三、確效試驗

(一)基質效應評估

為確保分析結果準確性，本研究以上述建立之檢驗流程進行基質效應評估。以奶嘴空白檢體進行溶出試驗，取空白溶出液添加亞硝胺標準溶液及內部標準溶液配製基質匹配檢量線，另取人工唾液添加亞硝胺標準溶液及內部標準溶液配製標準曲線，以第六、(五)節之基質效應評估方法進行基質效應評估，結果如圖二，正值表示促進(Enhancement)效應，負值則為抑制(Suppression)效應；數值大小顯示



圖二、7項亞硝胺於奶嘴溶出液中之基質效應

月日知識庫

表五、7項亞硝酸胺標準品之線性迴歸方程式

Compound	Liner range (ng/mL)	$y = ax + b$	r
NDMA	0.1-50	$y = 0.94900x - 0.00234$	0.99878
NPYR	0.1-50	$y = 0.94826x - 0.00272$	0.99975
NDEA	0.1-50	$y = 1.00366x - 0.00391$	0.99718
NPIP	0.1-50	$y = 0.97866x + 0.00971$	0.99777
NMOR	0.1-50	$y = 0.61616x + 0.00321$	0.99923
NDPA	0.1-50	$y = 1.13487x + 0.00087$	0.99970
NDBA	0.1-50	$y = 1.47630x + 0.00300$	0.99990

促進或抑制程度。在無內標校正下，可發現NDBA有較明顯促進效應，其數值為21.66%，其餘6項亞硝酸胺之數值介於-8.26至9.22%間；如以內標校正，7項亞硝酸胺之數值介於2.03至13.20%間，結果顯示內標校正可改善NDBA受基質干擾之影響，故本研究以人工唾液配製之標準曲線搭配內標進行定量。

(二)標準曲線線性範圍評估

本研究將7項亞硝酸胺標準曲線之線性範圍定為0.1-50 ng/mL，結果如表五，7項亞硝酸胺標準曲線之相關係數r值皆在0.997以上，線性關係良好。

(三)添加回收試驗及定量極限評估

進行添加回收試驗，於奶嘴空白檢體之溶出液中添加1.2及6 ppb (相當於檢液濃度0.2及1.0 ng/mL)之7項亞硝酸胺，每個添加濃度進行五重複，依所建立方法進行操作，並依「食品化學檢驗方法之確效規範」⁽¹⁶⁾評估本方法之準確度及精密度。結果如表六所示，同日內添加回收試驗，兩添加回收濃度之7項亞硝酸胺之回收率介於91.6至108.6%之間，變異係數介於2.3至14.7%之間；異日間添加回收試驗，添加6 ppb之7項亞硝酸胺之回收率介於97.8至102.8%之間，變異係數介於4.0至7.6%之間，兩添加回收濃度所得之準確度及精密

表六、7項亞硝酸胺添加於空白奶嘴溶出液之平均回收率及變異係數

Compound	Spiked level (ppb)	Intraday (n=5)		Interday (n=10)	
		Recovery (%)	CV (%)	Recovery (%)	CV (%)
NDMA	1.2 ^a	104.2	6.8	-	-
	6	98.4	5.1	98.1	5.3
NPYR	1.2 ^a	104.7	5.4	-	-
	6	98.1	3.5	102.8	6.7
NDEA	1.2 ^a	108.6	3.2	-	-
	6	100.3	8.7	99.1	6.7
NPIP	1.2 ^a	91.6	14.7	-	-
	6	100.9	6.9	102.6	6.8
NMOR	1.2 ^a	92.6	5.0	-	-
	6	99.0	8.6	100.7	7.6
NDPA	1.2 ^a	93.7	2.8	-	-
	6	94.6	2.3	97.8	4.9
NDBA	1.2 ^a	97.5	2.4	-	-
	6	103.6	5.4	102.6	4.0

^a Limit of quantification, LOQ.

6月日知識庫

度皆可符合確效規範⁽²¹⁾之規定，故選擇以1.2 ppb作為本方法之定量極限，7項亞硝胺之定量離子訊噪比皆大於10，定性離子訊噪比皆大於3，符合食藥署「食品化學檢驗方法之確效規範」⁽¹⁶⁾之規定。

四、以市售產品進行檢驗方法適用性評估

考量前言已指出矽膠奶嘴仍存在亞硝胺暴露風險，而目前市售奶嘴以矽膠材質為主流，橡膠奶嘴因易變質且不易保存，已逐漸遭業者停售，致使市面難以取得。因此，本研究採用所建立之檢驗方法，針對6件市售矽膠奶嘴產品進行亞硝胺含量分析。檢驗結果NDMA等7項亞硝胺均未檢出(如表七)，符合衛生福利部食品藥物管理署訂定之「嬰兒奶嘴之亞硝胺限量標準10 ppb以下」規定。

表七、市售嬰兒奶嘴中NDMA等7項亞硝胺總和之檢驗結果

產地	材質	亞硝胺 ^a (ppb)
臺灣	矽膠	N.D.
臺灣	矽膠	N.D.
臺灣	矽膠	N.D.
臺灣	矽膠	N.D.
德國	矽膠	N.D.
義大利	矽膠	N.D.

^aNDMA等7項亞硝胺總和

結 論

本研究建立以LC-MS/MS分析嬰兒奶嘴中7項亞硝胺(NDMA、NPYR、NDEA、NPIP、NMOR、NDPA及NDBA)之檢驗方法，將奶嘴切片以人工唾液於40°C烘箱中進行24小時溶出試驗，所得之溶出液直接以LC-MS/MS進行定量分析。本研究發現7項亞硝胺中NDBA有明顯基質效應，可透過使用其同位素內部標準品

改善，故本研究使用各亞硝胺對照標準品搭配對應之同位素內部標準品進行定量。7項亞硝胺之標準曲線線性範圍介於0.1-50 ng/mL，其相關係數r值均為0.997以上，線性關係良好。方法確效部分，7項亞硝胺之定量極限均為1.2 ppb，方法準確度、重複性及定量極限均符合食藥署食品化學檢驗方法之確效規範。本研究所建立之檢驗方法，相較於目前公告的檢驗程序，需使用二氯甲烷進行索氏萃取，並以K-D濃縮裝置進行濃縮，可有效減少有機溶劑的使用，簡化前處理流程，具備環保且簡單的優勢。此外，現行公告方法尚未訂定定量極限，本研究建立之方法未來將公開作為檢驗參考依據，以提升檢測效率並確保嬰幼兒使用奶嘴產品之安全性。

參考文獻

1. National Toxicology Program. 2021. 15th Report on carcinogens *N*-nitrosamines: 15 listings. [https://ntp.niehs.nih.gov/whatwestudy/assessments/cancer/roc]
2. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. 2023. Toxicological profile for *N*-nitrosodimethylamine (NDMA). [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK601157/]
3. International Agency for Research on Cancer. 2024. Agents classified by the IARC monographs, volumes 1–137. [https://monographs.iarc.who.int/agents-classified-by-the-iarc/]
4. Mutsuga, M., Yamaguchi, M. and Kawamura, Y. 2013. Analysis of *N*-nitrosamine migration from rubber teats and soothers. *Am. J. Anal. Chem.* 4: 277-285.
5. European Union. 1993. Concerning the release



- of the *N*-nitrosamines and *N*-nitrosatable substances from elastomer or rubber teats and soothers. Commission Directive 93/11/EEC.
6. Food and Drug Administration. 2005. Volatile *N*-nitrosamines in rubber baby bottle nipples. Compliance Policy Guides. Sec 500.450.
 7. American Society for Testing and Materials. 2011. Standard specification for volatile *N*-nitrosamine levels in rubber nipples on pacifiers. F1313-90.
 8. 衛生福利部。2013。嬰兒奶嘴之亞硝酸胺限量標準。102年8月20日部授食字第1021350146號令修正。
 9. European Committee for Standardization. 2017. Child use and care articles - method for determining the release of *N*-nitrosamines and *N*-nitrosatable substances from elastomer or rubber teats and soothers. EN 12868.
 10. Anna, V., Rimma, S., Lev, O. and Jenny, G. 2011. GC determination of *N*-nitrosamines by supersonic molecular beam MS equipped with triple quadrupole analyzer, GC/SMB/QQQ/MS. *Anal. Chim. Acta* 685(2): 162-169.
 11. Santillana, M.I., Bustos, J. and Nieto, M.T. 2018. Prospective study of *N*-nitrosamines and *N*-nitrosatable substances in rubber and silicone teats and soothers. *Comité Científico*. 27: 95-106.
 12. Park, S.J., Jeong, M.J., Park, S.R., Choi, J.C. *et al.* 2018. Release of *N*-nitrosamines and *N*-nitrosatable substances from baby bottle teats and rubber kitchen tools in Korea. *Food Sci. Biotechnol.* 27: 1519-1524.
 13. Hwang, J.B., Lee, J.E., Kim, E., Eom, K.Y. *et al.* 2023. Analysis of *N*-nitrosamines and *N*-nitrosatable substances from baby bottle rubber teats by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Food Addit. Contam. Part A Chem. Anal. Control Expo. Risk Assess.* 40(4): 518-527.
 14. Ministry of Food and Drug Safety. 2019. Standards and specifications for utensils, containers and packages. 2019-2. 20190109.
 15. 衛生福利部。2013。嬰兒奶嘴中亞硝酸胺含量之檢驗方法。102年9月6日部授食字第1021950329號公告修正。
 16. 衛生福利部食品藥物管理署。2021。食品化學檢驗方法之確效規範。110年11月1日公布修正。
 17. European Committee for Standardization. 2013. Safety of toys - part 12: *N*-nitrosamines and *N*-nitrosatable substances. EN 71-12.



Optimization of Analytical Method for *N*-nitrosamines in Baby Nipple Products

WU YU, YU-CHE SHIH, GUAN-JHIH PENG, YING-RU SHEN,
SHU-HAN CHANG, YA-MIN KAO, MEI-CHIH LIN
AND SU-HSIANG TSENG

Division of Research and Analysis, TFDA, MOHW

ABSTRACT

N-nitrosamines are a class of organic compounds containing the nitroso group, some of which have been confirmed to be carcinogenic via animal experiments. Nitrosamines are present in the environment, including water, food, and rubber products. Since some of infant pacifiers are made of rubber, it is mandatory to control the nitrosamine content in these products to safeguard infant health. The Ministry of Health and Welfare in Taiwan has announced the “Method of Test for Nitrosamines on Baby Nipples”; however, this method involves a complex and time-consuming sample preparation process. Therefore, this study referred to the European standard method, EN 12868, where the migration test and a liquid chromatograph-tandem mass spectrometry coupled with APCI were employed to determine 7 nitrosamines in infant pacifiers. The recovery was tested by spiking 7 nitrosamines into the migration solution obtained from the blank sample treated with artificial saliva. The average recoveries for 7 nitrosamines ranged from 91.6% to 108.6% with coefficients of variation between 2.3% and 14.7%. The limits of quantification for 7 nitrosamines were all 1.2 ppb, and the linear range of the standard curve of each nitrosamine was in the range of 0.1 to 50 ng/mL, with correlation coefficients (r) higher than 0.99, indicating good linearity. This method was simple, rapid and exhibiting high accuracy and precision, and could serve as a reference for various laboratories.

Key words: *N*-nitrosamines, Baby Nipples, LC-MS/MS