

# 超高效液相色谱三重四极杆质谱联用测定化妆品中丙烯酰胺

## LCMSMS-093

**摘要：**本文使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用建立一种外标法测定化妆品中丙烯酰胺的方法。借助超高效液相色谱 LC-30A 在 2.5 min 内实现快速分离，三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 进行定量分析，因此可以快速、准确地测定丙烯酰胺。丙烯酰胺的线性良好，相关系数均大于 0.9999；不同浓度的精密度实验结果表明：其保留时间和峰面积相对标准偏差分别在 0.09 ~ 0.28% 和 1.35 ~ 1.54% 之间，仪器精密度高；丙烯酰胺的检出限为 0.11  $\mu\text{g/L}$ ，定量限为 0.42  $\mu\text{g/L}$ ；样品加标回收率为 75.5 ~ 112.2% 之间。

**关键词：**化妆品 丙烯酰胺 超高效液相色谱仪 三重四极杆质谱仪

丙烯酰胺作为常见工业原料聚丙烯酰胺中未聚合单体残留存在于化妆品当中。丙烯酰胺经皮吸收进入人体中可转化为环丙酰胺，并与谷胱甘肽、血红蛋白和 DNA 结合，各种代谢产物经尿液排出。丙烯酰胺对啮齿类动物具有神经毒性、生殖毒性和致癌作用；职业暴露可引起人体神经毒性，但流行病学研究仍不能充分证明其是否会增加人类患恶性肿瘤的风险。但是在我国和欧盟的化妆品规范中都已将丙烯酰胺列为禁用物质。

2013 年 7 月即将全面实施的欧盟化妆品新法规 (Regulation (EC) 1223-2009) 也将丙烯酰胺列为化妆品

中的禁用物质。而对于聚丙烯酰胺中残留的丙烯酰胺单体，规定在驻留类护肤品中丙烯酰胺单体最大残留量为 0.1 mg/kg 以及在其他物品中丙烯酰胺单体最大残留量为 0.5 mg/kg。我国国家食品药品监督管理局许可 [2011]96 号文件的附件《化妆品中丙烯酰胺的检测方法》规定了测试方法。因此，本文参考此方法，使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用，建立了化妆品中丙烯酰胺的分析方法，此方法采用外标法，操作简单，分析快速、选择性强和灵敏度高，供相关检测人员参考。

## 实验部分

### 1.1 仪器

本实验使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用系统。具体配置为 LC-30AD $\times$ 2 输液泵，DGU-20A5 在线脱气机，SIL-30AC 自动进样器，CTO-30A 柱温箱，CBM-20A 系统控制器，LCMS-8040 三重四极杆质谱仪，LabSolutions Ver. 5.54 色谱工作站。

### 1.2 分析条件

#### 液相色谱条件

分析仪器：LC-30A 系统  
色谱柱：Shimadzu Shim-pack XR-ODS III  
2.0 mm I.D.  $\times$  150 mm L., 2.2  $\mu\text{m}$   
流动相：甲醇：甲酸水溶液 (30:70, v/v)  
流速：0.35 mL/min  
进样体积：5  $\mu\text{L}$

柱温：40  $^{\circ}\text{C}$

洗脱方式：等度洗脱

#### 质谱条件

分析仪器：LCMS-8040  
离子源：ESI，正离子扫描  
离子源接口电压：4.5 kV  
雾化气：氮气 3.0 L/min  
干燥气：氮气 15 L/min  
碰撞气：氩气  
脱溶剂管温度：250  $^{\circ}\text{C}$   
加热模块温度：400  $^{\circ}\text{C}$   
扫描模式：多反应监测 (MRM)  
驻留时间：100 ms  
延迟时间：3 ms  
MRM 参数：MRM 分组采集，见表 1

表 1 MRM 参数

名称	前体离子	产物离子	Q1 PreBias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
丙烯酸胺	72.1	55.0*	-12	-15	-21
		27.1	-12	-22	-29
		44.1	-12	-26	-17

\*表示定量离子

### 1.3 样品制备

标准溶液配制：用甲醇配制 1000 mg/L 的标准溶液，用乙腈：水溶液 (V/V, 10:90) 稀释成 0.5、1、5、20 和 100  $\mu\text{g/L}$  不同浓度的标准工作液。

样品前处理方法：参考国食药监许 [2011]96 号文件的附件《化妆品中丙烯酸胺的检测方法》

称取样品 0.20 g，置 5 mL 塑料离心管中，然后加 0.15 mL 0.02 mol/L 的醋酸铵水溶液，涡旋 30 s，再加 2.0 mL 乙腈，涡旋 60 s 后，以 10000 rpm 转速离心 10 min，取上清液，氮气吹干，残渣加 2 mL 乙腈：水溶液 (V/V, 10:90) 复溶，涡旋 60 s，以 10000 rpm 转速离心 5 min，经 0.45  $\mu\text{m}$  微孔滤膜过滤后，用液质分析。

## 结果讨论

### 2.1 标准样品一级质谱图和产物离子扫描质谱图

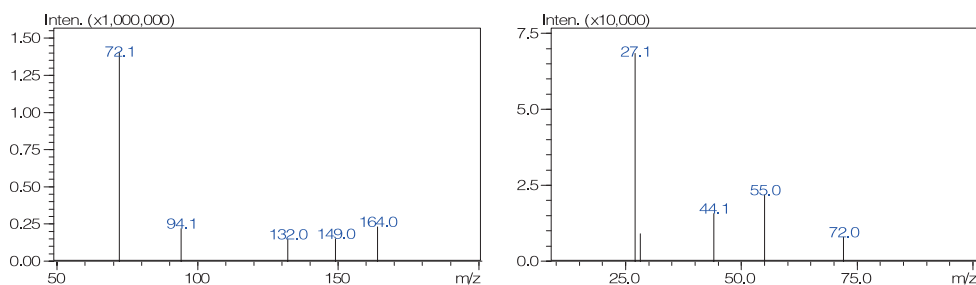


图 1 丙烯酸胺的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE 值 -35V，右图）

### 2.2 标准样品的 MRM 色谱图

标准样品的 MRM 色谱如图 2 所示。

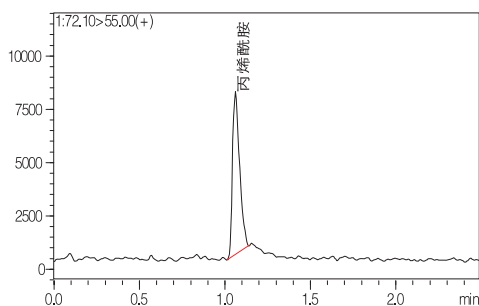


图 2 5  $\mu\text{g/L}$  标准样品的 MRM 色谱图

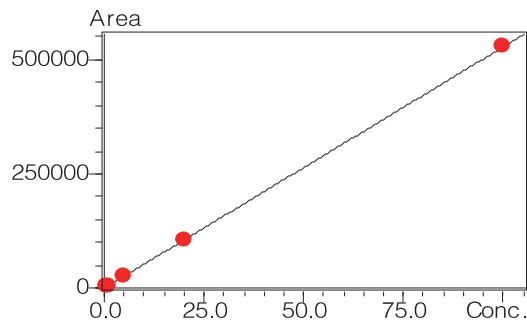


图 3 丙烯酸胺的工作曲线

### 2.3 线性关系

将浓度为 0.5、1、5、20 和 100  $\mu\text{g/L}$  丙烯酸胺的标准工作液，按 1.2 中的分析条件进行测定，外标法制作校准曲线，如图 3 所示。丙烯酸胺的线性方程为  $Y = (5290.64)X + (-772.296)$ ，相关系数为 0.9999，线性良好。

### 2.3 检出限和定量限

配制 7 份标准溶液，进样分析，对上述测定结果剔除离群值后将各自的 7 次测定结果计算其标准偏差 S，此时检出限 MDL = 3.14 × S，定量限 LOQ=4 × MDL。测定结果如表 2 所示：

表 2 丙烯酰胺的检出限和定量限

名称	浓度(μg/L)	标准偏差(S)	检出限(μg/L)	定量限(μg/L)
丙烯酰胺	1.0	0.03	0.11	0.42

### 2.4 精密度实验

配制如表 3 浓度的标液，平行进样 6 次。丙烯酰胺的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.09 ~ 0.28% 和 1.35 ~ 1.54% 之间，仪器精密度良好。

表 3 丙烯酰胺的保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

No	RSD% (1μg/L)		RSD% (5μg/L)		RSD% (50μg/L)	
	R.T	Area	R.T	Area	R.T	Area
1	1.060	4,790	1.062	23,836	1.057	257,780
2	1.066	4,995	1.061	23,266	1.056	263,987
3	1.058	4,882	1.060	23,555	1.055	255,043
4	1.062	4,878	1.061	24,075	1.056	255,986
5	1.061	4,860	1.059	23,356	1.056	262,643
6	1.058	4,875	1.061	24,117	1.058	254,835
RSD %	0.28	1.35	0.09	1.53	0.09	1.54

### 2.5 基质加标实验

在按照 1.3 中样品制备方法，样品中添加标液，加标含量如表 4，各平行 4 次。测试结果显示：紧肤水的样品加标回收率在 85.1 ~ 112.2% 之间；面霜的样品加标回收率在 75.5 ~ 84.0% 之间；具体结果如表 4。样品基体的色谱图与加标样的色谱图如图 4 ~ 7 所示。

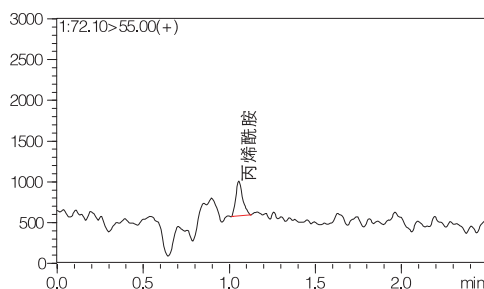


图 4 紧肤水样品的色谱图

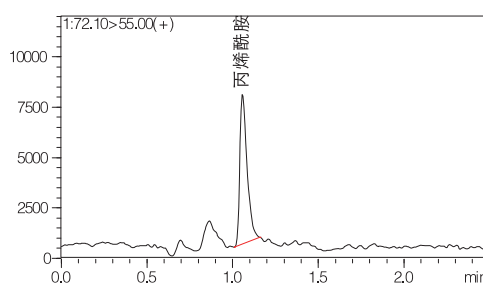


图 5 紧肤水加标样 (0.05 mg/kg) 的色谱图

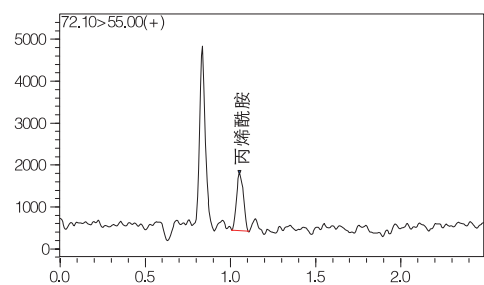


图 6 面霜样品的色谱图

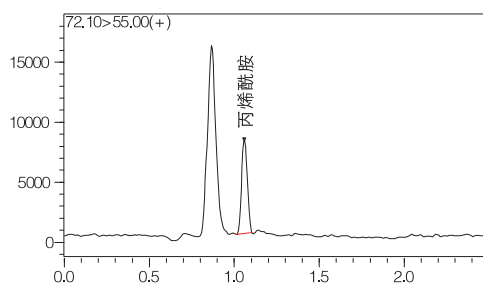


图 7 面霜加标样 (0.05 mg/kg) 的色谱图

表 4 加标样的回收率结果 (n=4)

样品名称	样品浓度 (mg/kg)	加标样的 RSD%			加标样的回收率%		
		0.01 mg/kg	0.05 mg/kg	0.5 mg/kg	0.01 mg/kg	0.05 mg/kg	0.5 mg/kg
紧肤水	0.002	2.68	2.33	1.52	85.1	112.2	98.1
面霜	0.008	2.88	2.37	1.58	75.5	84.0	79.2

## ■ 结论

使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8030 联用测定化妆品中丙烯酰胺。丙烯酰胺的线性良好, 相关系数均大于 0.9999; 检出限分别为 0.11  $\mu\text{g/L}$ (0.0011 mg/kg), 定量限分别为 0.42  $\mu\text{g/L}$ (0.0042 mg/kg); 低于国家食品药品监督管理局监许 [2011]96 号文件的附件《化妆品中丙烯酰胺的检测方法》中方法规定的检出限为 0.005 mg/kg, 最低定量限为 0.025 mg/kg; 对紧肤水和面霜两个基质进行加标, 其加标回收率在 75.5 ~ 112.2% 之间。