

# LC-MS/MS 法测定化妆品中 14 种亚硝胺含量

LCMSMS-819

**摘要：** 本文使用岛津三重四极杆液质联用仪建立了快速测定化妆品中 14 种亚硝胺含量的方法。14 种亚硝胺组分在相应标曲范围内，相关系数均大于 0.999，各浓度点的准确度在 85.6%~114.4% 之间，线性相关性良好。稳定性考察中，14 种组分的保留时间相和峰面积的相对标准偏差分别在 0.07%~0.97% 和 1.64%~3.14% 之间，仪器精密度良好。样品加标回收率在 82.1%~107.6% 之间，仪器检出限在 0.32~ 2.12 ng/mL 之间，可用于化妆品中 14 种亚硝胺的定性定量检测。

**关键词：** 三重四极杆液质联用仪 化妆品 亚硝胺

## 技术特点：

- ❖ 使用 LC-MS/MS 实现对化妆品中 14 种亚硝胺的快速定性定量分析。
- ❖ 扩展化妆品中亚硝胺类化合物检测的应用案例。

亚硝胺是亚硝基的氮原子与氨基中的氮原子连接的一类化合物，是已知、常见的致癌物质，与饮食密切相关。人体存在的亚硝胺类物质，几乎可诱发已知的大部分肿瘤类型，较为常见的是消化道肿瘤。食物、化妆品、啤酒、香烟中都可能含有亚硝胺。在熏腊食品中，含有大量的亚硝胺类物质，某些消化系统肿瘤，如食管癌的发病率与膳食中摄入的亚硝胺数量相关。亚硝胺能够通过多种暴露途径作用于多个不同的组织

位点。无论是在制造过程还是产品储存过程中，化妆品和个人护理产品配方中都有可能形成亚硝胺，因此有必要建立化妆品、个人护理产品和消费品中亚硝胺含量分析方法，对该类产品中亚硝胺的含量进行监测。

本文采用岛津三重四极杆液质联用仪建立了测定化妆品中 14 种亚硝胺含量的定量分析方法，为相关从业人员参考使用。

## ■ 实验部分

### 1.1 仪器

采用岛津超高效液相色谱 LC-40 X3 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 联用系统。具体配置为：

系统控制器：	CBM-40	自动进样器：	SIL-40C X3
输液泵：	LC-40B X3	质谱仪：	LCMS-8050
柱温箱：	CTO-40C	色谱工作站：	LabSolutions Ver. 5.114

### 1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱：	PFP（五氟苯基）柱（100 mm x2.1 mm I.D., 2.7 μm）		
流动相：	A-5 mM 甲酸铵 -0.1% 甲酸水溶液，B- 甲醇		
流速：	0.3 mL/min	柱温：	35°C
进样体积：	5 μL	洗脱方式：	梯度洗脱，B 初始 2%，见表 1

表 1 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value (B%)
2.0	Pumps	Pump B Conc.	2
7.0	Pumps	Pump B Conc.	25
14.0	Pumps	Pump B Conc.	98
19.0	Pumps	Pump B Conc.	98
19.1	Pumps	Pump B Conc.	2
22.0	Pumps	Pump B Conc.	2

## 质谱条件

离子源 :	ESI+	D L 温度 :	250°C
雾化气流速 :	3.0 L/min	加热模块温度 :	400°C
加热气流速 :	10.0 L/min	接口温度 :	300°C
干燥气流速 :	10.0 L/min	接口电压 :	4 kV
扫描模式 :	多反应监测 (MRM)		

表 2 MRM 参数

序号	化合物名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
1	N-亚硝基二乙醇胺	135.1	74.2*	-27	-13	-30
			104.1	-10	-10	-19
2	N-亚硝基二甲胺	75.0	43.1*	-14	-18	-17
			58.1	-18	-17	-24
3	N-亚硝基二乙胺	103.0	75.2*	-11	-14	-15
			29.05	-19	-17	-29
4	N-亚硝基二丙胺	131.1	89.15*	-28	-15	-20
			43.15	-11	-13	-10
5	N-亚硝基吗啉	117.1	87.15*	-12	-16	-14
			73.0	-10	-14	-17
6	N-亚硝基吡咯烷	101.1	55.15*	-11	-26	-16
			41.15	-12	-20	-11
7	4-(N-亚硝基-N-甲基)- -丁酸	147.1	44.1*	-13	-11	-13
			117.25	-11	-13	-17
8	N-乙基-N-异丙基亚硝胺	117.0	75.2*	-10	-11	-14
			43.1	-21	-17	-19
9	N-亚硝基二异丙胺	131.2	89.2*	-26	-12	-20
			43.15	-10	-10	-10
10	N-亚硝基-甲基十四烷基胺	257.0	57.1*	-20	-23	-25
			61.15	-11	-16	-11

11	N-亚硝基-甲基十八烷基胺	313.3	57.2*	-24	-24	-25
			71.2	-10	-21	-15
12	N-亚硝基二丁胺	159.3	57.2*	-30	-14	-24
			103.2	-10	-13	-11
13	N-(3-氨基-4-甲氧基苯基)-N-(2-羟乙基)亚硝胺	212.0	151.15*	-16	-16	-30
			182.1	-15	-9	-13
14	N-(3-羟基-4-甲基苯基)-N-(2-羟乙基)亚硝胺	197.1	149.1*	-16	-19	-29
			136.15	-10	-19	-10

\* 表示定量离子

### 1.3 混合标准溶液配置

准确称取对照品，用甲醇溶解并定容至刻度，配制成浓度约为 1 g/L 的标准储备液，精密移取上述标准储备液各 0.2 mL 于 10 mL 容量瓶中，用水稀释至刻度，配制成浓度约为 20 µg/mL 的混合标准储备液I。移取混合标准储备液I 0.5 mL 于 10 mL 容量瓶中，用水稀释至刻度，配制成浓度约为 1 µg/mL 的混合标准储备液II。取混合标准储备液II 0.01 mL、0.02 mL、0.05 mL、0.1 mL、0.2 mL、0.5 mL、1 mL、2 mL、5 mL 于 10 mL 容量瓶中，用水稀释至刻度，配制成浓度为 1.0 ng/mL、2.0 ng/mL、5.0 ng/mL、10 ng/mL、20 ng/mL、50 ng/mL、100 ng/mL、200 ng/mL、500 ng/mL 的标准系列溶液。

### 1.4 样品前处理方法

称取样品 0.5 g（精确到 0.0001g）于 50 mL 具塞比色管中，加入 20 mL 50% 甲醇水溶液，涡旋分散，超声提取 10 min，50% 甲醇水溶液定容至刻度，10000 rpm 离心 5 min，取上清液经 0.45 µm 滤膜过滤，滤液作为待测溶液。

## ■ 结果与讨论

### 2.1 标准溶液色谱图

混合标准溶液 10 ng/mL 的色谱图如图 1 所示，亚硝胺编号同表 3

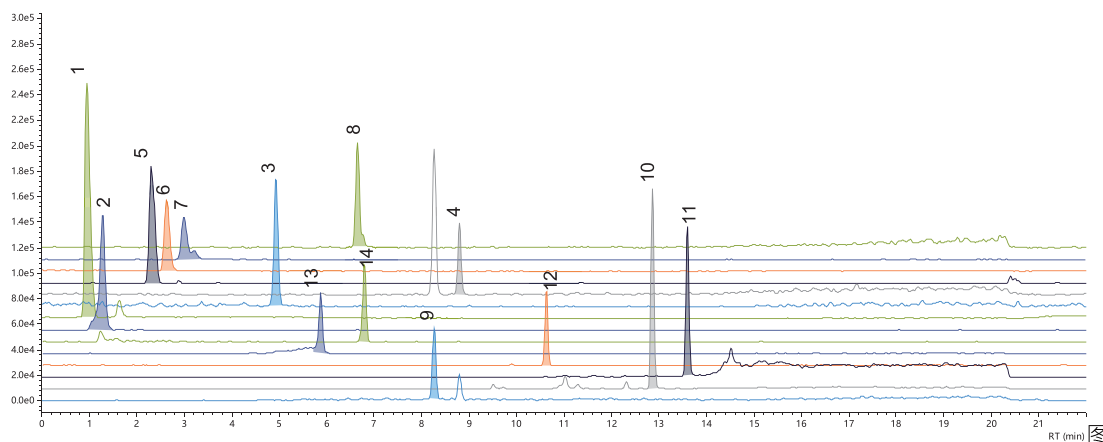


图 1 10 ng/mL 标准品溶液色谱图

## 2.2 线性范围

依据标准，将 1.3 中配制的标准溶液，按 1.4 条件进行测试，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，外标法拟合工作曲线，部分亚硝酸校准曲线见图 2。各浓度点线性回归的准确度、相关系数 r、仪器检出限（根据线性最低浓度点计算，ASTM 法，S/N=3）见表 3。结果显示，各化合物在相应线性范围内线性关系良好，相关系数 r 都大于 0.999，准确度在 85.6%~114.4% 之间，仪器检出限在 0.32~ 2.12 ng/mL 之间。

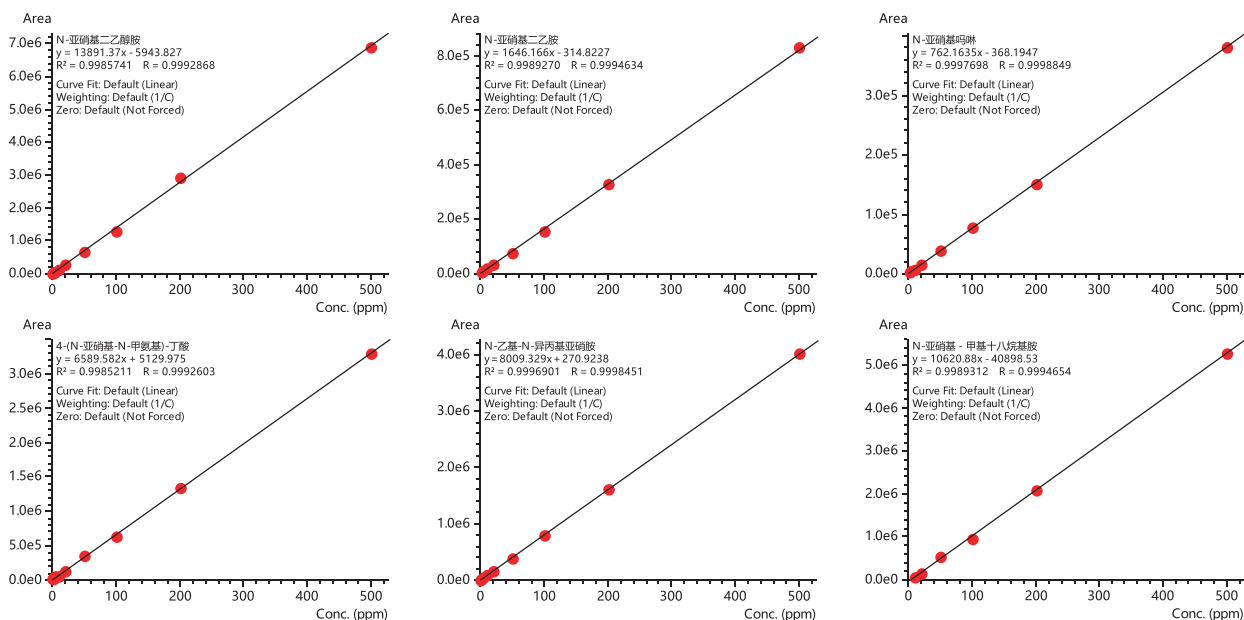


图 2 部分化合物的校准曲线

表 3 14 种亚硝酸校准曲线参数

No.	化合物名称	线性范围 (ng/mL)	相关系数 r	准确度 (%)	检出限 (ng/mL)
1	N-亚硝基二乙醇胺	1~500	0.9993	86.9~114.2	0.32
2	N-亚硝基二甲胺	5~500	0.9997	89.0~105.1	2.12
3	N-亚硝基二乙胺	5~500	0.9995	94.0~109.0	1.57
4	N-亚硝基二丙胺	5~500	0.9994	85.6~114.4	1.88
5	N-亚硝基吗啉	5~500	0.9999	90.5~113.5	2.03
6	N-亚硝基吡咯烷	2~500	0.9997	96.4~107.6	0.70
7	4-(N-亚硝基-N-甲基)-丁酸	1~500	0.9993	89.4~112.5	0.38
8	N-乙基-N-异丙基亚硝酸	5~500	0.9998	94.0~113.5	1.05
9	N-亚硝基二异丙胺	5~500	0.9995	90.5~114.2	1.53
10	N-亚硝基-甲基十四烷基胺	2~500	0.9998	86.2~101.5	0.77
11	N-亚硝基-甲基十八烷基胺	5~500	0.9995	93.0~109.6	1.46
12	N-亚硝基二丁胺	2~500	0.9996	94.1~104.0	0.89
13	N-(3-氨基-4-甲氧基苯基)-N-(2-羟乙基)亚硝酸	1~500	0.9992	85.2~109.4	0.46
14	N-(3-羟基-4-甲基苯基)-N-(2-羟乙基)亚硝酸	2~500	0.9990	86.6~112.1	0.67

### 2.3 精密度实验

不同浓度的标准品溶液连续进样 6 次，用于考察仪器的精密度，保留时间和峰面积的重复性结果如表 3 所示。结果显示，保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.07%~0.97% 之间和 1.64%~3.14% 之间，仪器精密度良好。

### 2.4 加标回收率测试

取化妆品样品（本底样品经测试未检出 15 种亚硝胺）加入一定浓度的亚硝胺标液（加标浓度如表 3 所示），按照 1.4 中样品制备方法，每个浓度平行制备 3 份样品，其中样品本底（未检出）和加标样的色谱图分别见下图 3 和 4。加标回收率测试结果显示：15 种亚硝胺的样品加标回收率在 82.1%~107.6% 之间，结果如表 4。

表 4 保留时间和峰面积重复性及回收率测试结果

No.	化合物名称	RSD% (50 ng/mL)		RSD% (100 ng/mL)		加标浓度 (1.0 µg/g)		加标浓度 (5.0 µg/g)	
		R.T.	Area	R.T.	Area	检测值 (µg/g)	回收率 (%)	检测值 (µg/g)	回收率 (%)
1	N-亚硝基乙二醇胺	0.39	2.66	0.43	2.35	0.871	87.1	4.301	86.0
2	N-亚硝基二甲胺	0.29	1.83	0.48	1.76	0.981	98.1	4.706	94.1
3	N-亚硝基二乙胺	0.22	2.74	0.31	2.07	1.066	106.6	5.365	107.3
4	N-亚硝基二丙胺	0.07	1.86	0.09	1.98	0.906	90.6	4.568	91.4
5	N-亚硝基吗啉	0.79	2.41	0.68	2.65	1.008	100.8	5.110	102.2
6	N-亚硝基吡咯烷	0.93	1.64	0.84	1.72	0.860	86.0	4.232	84.6
7	4-(N-亚硝基-N-甲基)-丁酸	0.97	2.32	0.78	2.63	0.836	83.6	4.166	83.3
8	N-乙基-N-异丙基亚硝胺	0.09	1.70	0.11	2.15	1.076	107.6	5.175	103.5
9	N-亚硝基二异丙胺	0.07	2.55	0.05	1.83	1.009	100.9	4.812	96.2
10	N-亚硝基-甲基十四烷基胺	0.12	2.04	0.24	2.88	0.821	82.1	4.420	88.4
11	N-亚硝基-甲基十八烷基胺	0.09	2.60	0.13	2.31	0.847	84.7	4.515	90.3
12	N-亚硝基二丁胺	0.12	2.69	0.08	2.88	1.026	102.6	5.096	101.9
13	N-(3-氨基-4-甲氧基苯基)-N-(2-羟乙基)亚硝胺	0.11	3.14	0.15	2.93	0.992	99.2	5.040	100.8
14	N-(3-羟基-4-甲基苯基)-N-(2-羟乙基)亚硝胺	0.08	2.59	0.09	2.72	0.979	97.9	5.022	100.4

## ■ 结论

本文使用岛津三重四极杆液质联用仪建立化妆品中 14 种亚硝胺的定量测定方法。在相应标曲范围内，各化合物的相关系数均在 0.997 以上。在分析精密度上，各化合物的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.07%~0.97% 和 1.64%~3.14% 之间；加标回收率在 82.1%~107.6% 之间，仪器检出限在 0.32~2.12 ng/mL 之间，可用于化妆品中 14 种亚硝胺的定性定量检测。

岛津应用云

