

GCMS/MS 法测定化妆品中 12 种亚硝胺类 化合物



参考标准：GB/T 29669-2013

杭州谱育科技发展有限公司

浙江省杭州市临安区青山湖街道
科技大道 2466-1 号

网址：www.puyukeji.cn

前言

亚硝胺是一类分布广泛且具有很强的化学致癌性的化合物，他们容易存在于啤酒、腌菜、熏肉、烟草、工业废水、土壤以及化妆品等方面，并且有研究表明，亚硝胺可以经过皮肤吸收进入人体，诱发许多恶性肿瘤，故亚硝胺含量的检测成为了化妆品行业中一个令人关注的主要问题。目前化妆品中亚硝胺的检测多用固相萃取-气相色谱串联质谱法，其中固相萃取前处理方式存在成本高、使用复杂性等缺点，而 QuChERS 法具有快速、简单操作等特点，因此，本文建立了使用 QuChERS 法结合谱育科技的气相色谱串联三重四极杆质谱仪测定化妆品中亚硝胺类化合物的快速且高灵敏度的检测方法。

2.实验部分

2.1 仪器设备、标准品和试剂：

仪器：GC2000 气相色谱仪、EXPEC 5230 三重四极杆串联质谱仪

样品：化妆品；标准品：12 种亚硝胺混标，购自上海安谱，于-20℃冰箱保存。试剂：乙腈、正己烷和乙酸乙酯为色谱级。



2.2 气相和质谱条件

GC 条件	载气	氦气，梯度升温
	模式	恒流，1ml/min
	色谱柱	毛细管色谱柱：DB-5MS,30m*0.25mm*0.25um

	进样量	1 μ L			
	进样方式	不分流			
	进样口温度	260 $^{\circ}$ C			
	运行时间	27.5min			
	升温程序	速率 ($^{\circ}$ C/min)	温度 ($^{\circ}$ C)	保持温度 (min)	总时间 (min)
0		50	3	3	
30		80	7	11	
20		130	0	13.5	
40		210	0	15.5	
10	280	5	27.5		
MS 条件	运行模式	EI			
	灯丝电流	18V			
	离化电压	70eV			
	离子源温度	250 $^{\circ}$ C			
	质谱接口温度	280 $^{\circ}$ C			

监测模式为选择监测模式(SIM), 各化合物监测离子对、碰撞电压(CE)等参数如图所示。为提高检测灵敏度, 可根据保留时间分段监测各化合物。

化合物名称	母离子质量	子离子质量	驻留时间(s)	碰撞能量	分辨率
1 N-亚硝基二甲基胺 (NDMA)	74	44	0.005	4	Unit t-Unit t
2 N-亚硝基二甲基胺 (NDMA)	74	42.1	0.005	17	Unit t-Unit t
3 N-亚硝基甲基乙基胺 (NMEA)	85.1	71.3	0.005	3	Unit t-Unit t
4 N-亚硝基甲基乙基胺 (NMEA)	85.1	57.1	0.005	7	Unit t-Unit t
5 N-亚硝基二乙胺 (NDEA)	102.1	85.1	0.005	3	Unit t-Unit t
6 N-亚硝基二乙胺 (NDEA)	102.1	56.1	0.005	11	Unit t-Unit t
7 N-甲基-N-亚硝基苯胺 (NMFPA)	106	77	0.005	14	Unit t-Unit t
8 N-甲基-N-亚硝基苯胺 (NMFPA)	106	51.1	0.005	25	Unit t-Unit t
9 N-亚硝基吗啡 (NMOR)	116	86.1	0.005	2	Unit t-Unit t
10 N-亚硝基吗啡 (NMOR)	116	56.1	0.005	9	Unit t-Unit t
11 N-亚硝基二丙胺 (NDPA)	130.1	113.2	0.005	3	Unit t-Unit t
12 N-亚硝基二丙胺 (NDPA)	130.1	71.1	0.005	15	Unit t-Unit t
13 N-亚硝基吡啶胺 (NPPA)	100	55	0.005	10	Unit t-Unit t
14 N-亚硝基吡啶胺 (NPPA)	100	68	0.005	11	Unit t-Unit t
15 N-亚硝基吡啶胺 (NPPA)	114.1	84.1	0.005	5	Unit t-Unit t
16 N-亚硝基吡啶胺 (NPPA)	114.1	97.1	0.005	5	Unit t-Unit t
17 N-亚硝基吡啶胺 (NPPA)	100	55	0.005	10	Unit t-Unit t
18 N-亚硝基吡啶胺 (NPPA)	100	68	0.005	11	Unit t-Unit t
19 N-亚硝基-N-乙基苯胺 (NEFPA)	121.1	106.1	0.005	13	Unit t-Unit t
20 N-亚硝基-N-乙基苯胺 (NEFPA)	121.1	77.1	0.005	26	Unit t-Unit t
21 N-亚硝基二苯基胺 (NDPBA)	169.1	168.2	0.005	10	Unit t-Unit t
22 N-亚硝基二苯基胺 (NDPBA)	169.1	167.2	0.005	15	Unit t-Unit t
23 N-亚硝基二苯基胺 (NDPBA)	181.1	103.1	0.005	18	Unit t-Unit t
24 N-亚硝基二苯基胺 (NDPBA)	181.1	165.2	0.005	20	Unit t-Unit t

2.3 样品前处理及标准工作溶液配制

样品前处理方法: 1.称取 1g \pm 0.001g 样品放入 15ml 聚四氟乙烯的离心管中, 加入 10ml 乙腈: 正己烷 (4:1, v/v) 进行溶解, 在振荡器进行振荡, 混匀, 超声 30min 后, 以 6000r/min 离心 10min, 取 6ml 上清液加入 QuChERS 净化包 (150mg PSA,150mg C18,1500mg Na₂SO₄), 振荡, 以 6000r/min 离心 10min, 取 1ml 上清液进行氮吹, 吹至近干, 加入 1ml 乙酸乙酯进行复溶, 过 0.22 μ m PTFE 针式滤头, 收集在进样小瓶中, 待测。

标准工作溶液配制: 采用乙酸乙酯作为溶剂, 由标准储备溶液配制, 各化合物的浓度为

如下表 1 所示，并配置一份空白校准溶液，用 GC-MS/MS 分析校准溶液和空白校准溶液，进行定量分析，空白溶液用于扣除可能污染带来的误差。

序号	化合物名称	STD0 (ng/mL)	STD1 (ng/mL)	STD2 (ng/mL)	STD3 (ng/mL)	STD4 (ng/mL)	STD5 (ng/mL)	STD6 (ng/mL)
1	N-亚硝基二甲基胺 (NDMA)	0	10	20	50	100	150	200
2	N-亚硝基甲基乙基胺 (NMEA)	0	10	20	50	100	150	200
3	N-亚硝基二乙胺(NDEA)	0	10	20	50	100	150	200
4	N-甲基-N-亚硝基苯胺 (NMPHA)	0	10	20	50	100	150	200
5	N-亚硝基吗啉(NMOR)	0	10	20	50	100	150	200
6	N-亚硝基二丙胺(NDPA)	0	10	20	50	100	150	200
7	N-亚硝基吡咯烷(NPYR)	0	10	20	50	100	150	200
8	N-亚硝基哌啶(NPIP)	0	10	20	50	100	150	200
9	N-亚硝基-N-乙基苯胺 (NEPHA)	0	10	20	50	100	150	200
10	N-亚硝基二丁基胺(NDBA)	0	10	20	50	100	150	200
11	N-亚硝基二苯基胺 (NDPHA)	0	10	20	50	100	150	200
12	N-亚硝基二苄基胺 (NBDZA)	0	10	20	50	100	150	200

3. 结果

3.1 线性、检出限和定量限

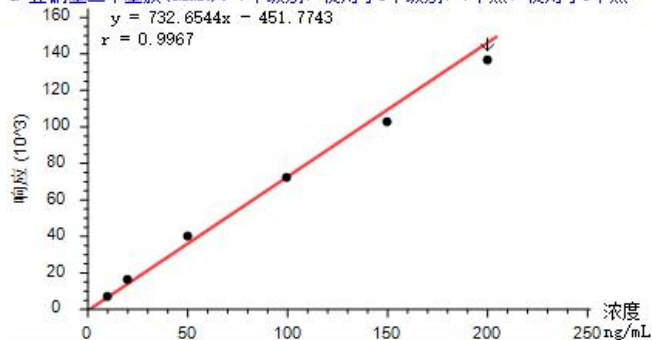
将一组梯度浓度点的标准溶液（具体浓度见 2.3 部分），按照 2.2 的采集条件进样分析，采用外标法绘制标准曲线。标曲、检出限和定量限结果见表 1，标准曲线见图 1，线性最低点的色谱图如图 2 所示。标准曲线的相关系数均大于 0.995；检出限和定量限分别是 0.02 ng/ml-2.00 ng/ml 和 0.07 ng/ml-6.67 ng/ml。

表 1 12 种亚硝胺类化合物标曲、检出限和定量限结果

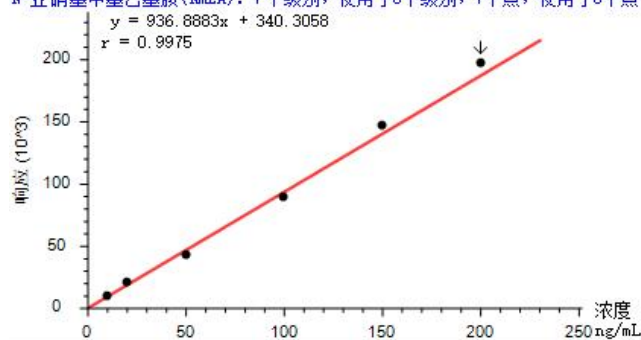
测试内容	目标物质	线性方程及	相关系数 (r)	检出限 (ng/ml)	定量限 (ng/ml)
标准曲线	NDMA	$y = 732.6544x - 451.7743$	$r = 0.9967$	2.00	6.67
	NMEA	$y = 936.8883x + 340.3058$	$r = 0.9975$	0.64	2.14
	NDEA	$y = 755.4410x + 4340.2382$	$r = 0.9994$	0.02	0.07
	NMPHA	$y = 1306.3521x + 4836.3772$	$r = 0.9990$	0.31	1.05
	NMOR	$y = 625.8885x + 4198.1605$	$r = 0.9985$	0.24	0.80

NDPA	$y = 433.7631x + 2057.2460$	$r = 0.9956$	0.42	1.39
NPYR	$y = 299.9885x + 238.0175$	$r = 0.9993$	1.24	4.12
NPIP	$y = 644.3716x + 767.5698$	$r = 0.9960$	0.93	3.08
NEPhA	$y = 3359.3551x - 1493.6449$	$r = 0.9993$	0.43	1.44
NDBA	$y = 674.2861x - 648.0996$	$r = 0.9997$	0.57	1.89
NDPhA	$y = 3183.8755x - 7800.6747$	$r = 0.9989$	0.20	0.68
NBDZA	$y = 254.1394x + 980.5776$	$r = 0.9954$	0.27	0.90

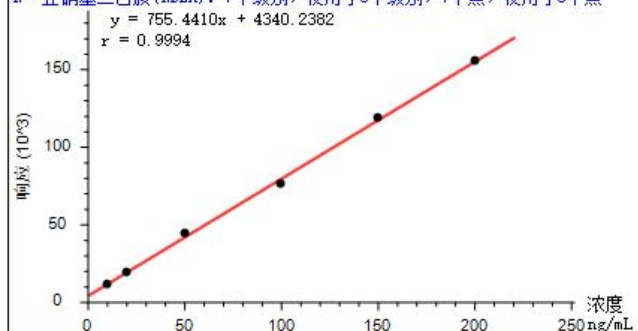
N-亚硝基二甲基胺 (NDMA): 7个级别, 使用了6个级别; 7个点, 使用了6个点



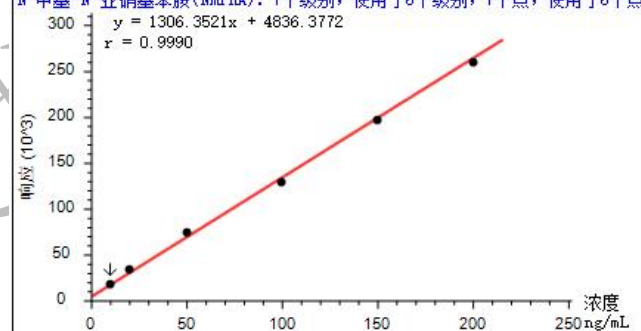
N-亚硝基甲基乙基胺 (NMMEA): 7个级别, 使用了6个级别; 7个点, 使用了6个点



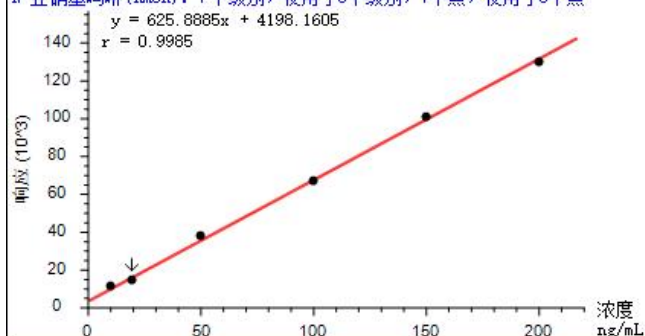
N-亚硝基二乙胺 (NDEA): 7个级别, 使用了6个级别; 7个点, 使用了6个点



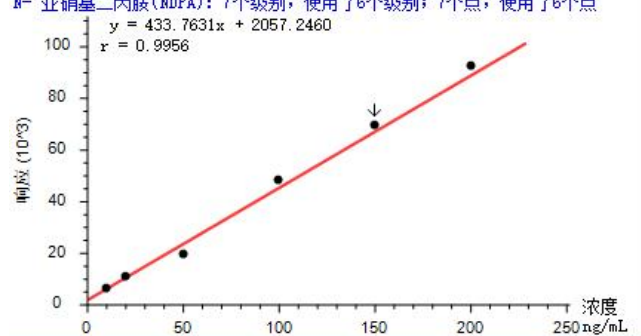
N-甲基-N-亚硝基苯胺 (NMPhA): 7个级别, 使用了6个级别; 7个点, 使用了6个点



N-亚硝基吗啉 (NMOR): 7个级别, 使用了6个级别; 7个点, 使用了6个点



N-亚硝基二丙胺 (NDPA): 7个级别, 使用了6个级别; 7个点, 使用了6个点



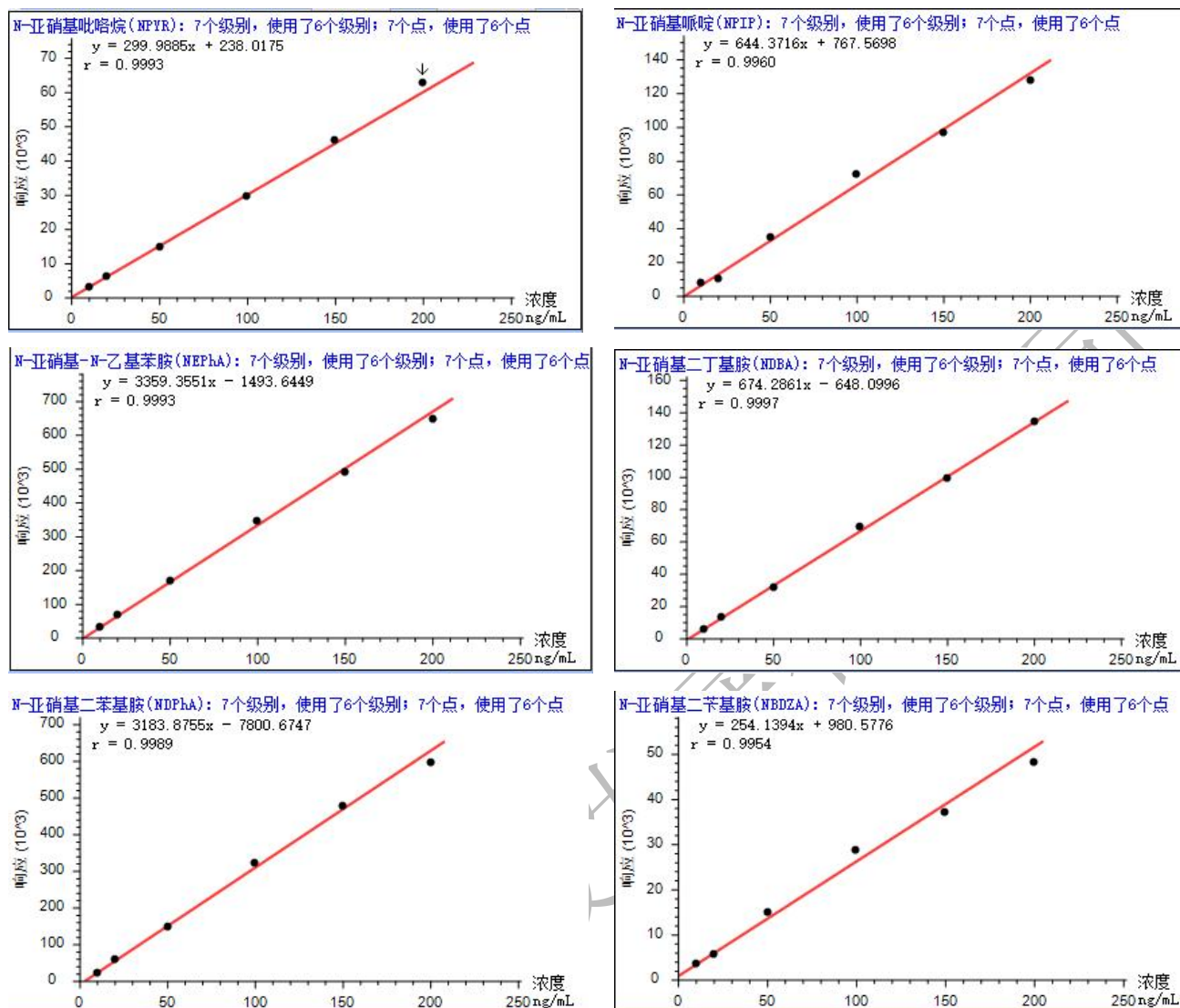


图 1 12 种亚硝胺类化合物的标准曲线

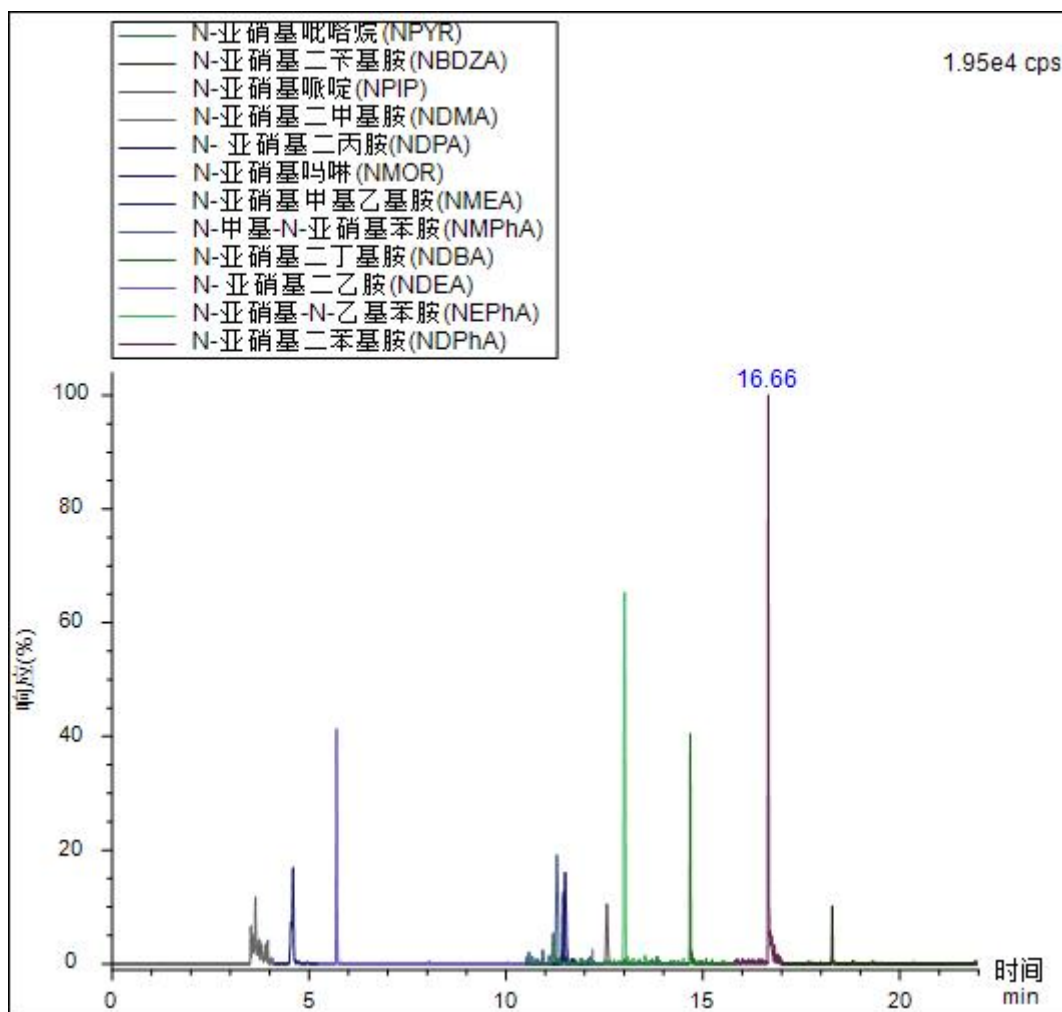


图 2 12 种亚硝胺类化合物的线性最低点色谱图（线性 1 浓度）

3.2 重复性

用 10 ng/mL、50 ng/mL 和 200 ng/mL 混标溶液，连续进样 6 次，考察保留时间和响应的重复性，结果如下所示。

10 ng/mL 混标溶液重复性：保留时间稳定性 RSD 在 0.25 % 以内，峰面积的精密度 RSD 小于 7.74%。

!	样品信息			N-亚硝基二甲胺...		N-亚硝基甲基乙基胺(...)		N-亚硝基二乙胺(...)		N-亚硝基吡咯烷(...)		N-甲基-N-亚硝基苯胺...		N-亚硝基二丙胺...		N-亚硝基吗啉(NM...		N-亚硝基哌啶(N...	
	数据文件	采集方法	定量方法	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积
1	10PPB-1	亚硝胺方法-1	亚硝胺-1	3.71	12480.82	4.65	6443.14	5.75	8431.08	11.24	3787.69	11.32	21095.59	11.49	2595.34	11.52	5221.28	12.58	3474.95
2	10PPB-2	亚硝胺方法-1	亚硝胺-1	3.69	11995.82	4.64	6246.11	5.74	8138.84	11.26	4283.10	11.34	20465.83	11.52	2298.86	11.55	6308.37	12.59	3323.09
3	10PPB-3	亚硝胺方法-1	亚硝胺-1	3.71	12850.73	4.65	6112.13	5.75	8540.50	11.27	4222.54	11.34	19132.73	11.50	2204.05	11.55	6383.38	12.59	3313.10
4	10PPB-4	亚硝胺方法-1	亚硝胺-1	3.69	11818.09	4.64	6218.61	5.73	7810.49	11.26	3782.28	11.34	19167.26	11.50	2155.62	11.55	6402.35	12.59	3499.94
5	10PPB-5	亚硝胺方法-1	亚硝胺-1	3.70	11136.45	4.64	5652.81	5.74	8469.26	11.26	4232.17	11.33	20388.04	11.50	2381.91	11.53	6095.77	12.58	3824.90
6	10PPB-6	亚硝胺方法-1	亚硝胺-1	3.70	12402.94	4.64	6292.34	5.74	8770.19	11.24	4089.05	11.32	22668.22	11.49	2116.62	11.52	6047.22	12.57	3755.63
Min				3.69	11136.45	4.64	5652.81	5.73	7810.49	11.24	3782.28	11.32	19132.73	11.49	2116.62	11.52	5221.28	12.57	3313.10
Max				3.71	12850.73	4.65	6443.14	5.75	8770.19	11.27	4283.10	11.34	22668.22	11.52	2595.34	11.55	6402.35	12.59	3824.90
AVG				3.70	12114.14	4.64	6160.86	5.74	8360.06	11.26	4066.14	11.33	20486.28	11.50	2292.07	11.54	6076.39	12.59	3531.93
SD				0.01	602.98	0.01	271.31	0.01	337.25	0.01	227.04	0.01	1320.16	0.01	177.33	0.01	444.24	0.01	215.24
RSD				0.22	4.98	0.16	4.40	0.10	4.03	0.12	5.58	0.10	6.44	0.11	7.74	0.10	7.31	0.07	6.09
IDL				0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

Table with 12 columns: Sample Info (Data File, Method, Method), and four pairs of Retention Time and Peak Area for N-Propyl-N-ethylbenzylamine, N-Propyl-N-isopropylamine, N-Propyl-N-propylamine, and N-Propyl-N-isobutylamine. Rows include individual samples 1-6, Min, Max, AVG, SD, RSD, and IDL.

50 ng/mL 混标溶液重复性: 保留时间稳定性 RSD 在 0.58 % 以内, 峰面积的精密 RSD 小于 5.2 %。

Table with 12 columns: Sample Info, and six pairs of Retention Time and Peak Area for various amine standards. Rows include individual samples 1-6, Min, Max, AVG, SD, RSD, and IDL.

Table with 12 columns: Sample Info, and four pairs of Retention Time and Peak Area for N-Propyl-N-ethylbenzylamine, N-Propyl-N-isopropylamine, N-Propyl-N-propylamine, and N-Propyl-N-isobutylamine. Rows include individual samples 1-6, Min, Max, AVG, SD, RSD, and IDL.

200 ng/mL 混标溶液重复性: 保留时间稳定性 RSD 在 0.25 % 以内, 峰面积的精密 RSD 小于 5 %。

Table with 12 columns: Sample Info, and six pairs of Retention Time and Peak Area for various amine standards. Rows include individual samples 1-6, Min, Max, AVG, SD, RSD, and IDL.

Table with 12 columns: Sample Info, and four pairs of Retention Time and Peak Area for N-Propyl-N-ethylbenzylamine, N-Propyl-N-isopropylamine, N-Propyl-N-propylamine, and N-Propyl-N-isobutylamine. Rows include individual samples 1-6, Min, Max, AVG, SD, RSD, and IDL.

可知不同浓度下所有化合物的保留时间和峰面积的精密度较好，保留时间稳定性 RSD 在 0.58 % 以内，峰面积的精密度 RSD 小于 7.74%。

3.3 回收率测试

称取 $1\text{g}\pm 0.001\text{g}$ 样品，加入亚硝胺类化合物的标准溶液，添加浓度为 $0.5\text{mg}/\text{kg}$ 。平行 6 份，按照 3.1 前处理步骤进行加标回收率试验，结果表明化妆品中 12 亚硝胺类化合物的回收率在 80.28%-113.54% 之间。

表 2 回收率结果 (n=6)

序号	化合物名称	纺织品(添加浓度 $0.5\text{mg}/\text{kg}$) 平均回收率 (%)
1	NDMA	89.57
2	NMEA	96.61
3	NDEA	101.94
4	NMPhA	108.37
5	NMOR	113.45
6	NDPA	94.99
7	NPYR	80.28
8	NPIP	109.02
9	NEPhA	101.05
10	NDBA	92.80
11	NDPhA	108.92
12	NBDZA	113.54

结论

化妆品样品经乙腈提取、QuichERS 包净化等前处理过程，使用 GC-MS/MS 系统进行测定。本文考察了方法的线性、精密度、回收率，结果表明：12 种亚硝胺类在检测范围内线性良好，相关系数均大于 0.995；检出限和定量限分别是 $0.02\text{ ng}/\text{ml}$ - $2.00\text{ ng}/\text{ml}$ 和 $0.07\text{ ng}/\text{ml}$ - $6.67\text{ ng}/\text{ml}$ 。低、中、高浓度的方法精密度在 7.74 % 以内，保留时间稳定性 RSD 小于 0.58 %。回收率在 80.28%-113.54% 之间。使用高灵敏、高抗污染能力的 EXPEC 5230 系统，可以对化妆品中 12 种亚硝胺类化合物进行灵敏、准确的定量检测。