

建立快速高效地测定化妆品以及个人护理产品中亚硝胺的方法

孙小杰, 李立军, 靳文海

SCIEX, 亚太应用支持中心 (北京), 中国

引言

N-亚硝胺是一类已知对动物模型具有致癌和致突变作用的化合物, 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, 消费品、化妆品和个人护理产品配方中都有可能形成亚硝胺。如果产品中除了硝化剂 (例如亚硝酸、亚硝酸盐或氮氧化物) 之外还存在仲胺, 就会形成N-亚硝胺 (一般在酸性条件下)。

化妆品、个人护理产品和消费品中亚硝胺含量的分析应当被纳入产品安全性评估流程, 以确保符合新的《化妆品和消费品法规》。此外还有研究表明, 存放超过五年的化妆品与同种产品的新鲜样品相比, 其N-亚硝胺浓度更高。这说明N-亚硝胺的形成是化妆品保质期的限制因素, 我们应对其进行评估并将其纳入化妆品的常规安全性评估中。

在美国和欧盟, 消费品制造商在产品商业化之前必须确保产品的安全性, 在产品标签上列出所有成分并遵守有关成分和产品的所有既有限制条款。产品的任何潜在风险都会作为安全性评估的一部分进行评价。在欧盟, 2013年生效欧盟指令1223/2009提高了对化妆品安全性的要求, 并且为该领域的所有分析人员简化了分析方案。EU 1223/2009的附件 II 和附件 III 规定, 化妆品中N-亚硝胺 (及其它污染物) 的浓度不得超过50 µg/kg。在美国, 《食品、药品和化妆品法案》(1938) 和《公平包装与标签法》(1966) 规定, 任何含有N-亚硝胺的化妆品均被视作掺假产品, 因此美国FDA有权据此查封和清除市场上的此类产品。在亚洲, 东盟国家效仿上述欧盟法规制定了《东盟化妆品指令》中国、印度和日本也通过相同的方式监管化妆品。

本应用纪要介绍了采用Sciex ExionLC AD超高效液相系统与QTRAP5500联用的方法对此前曾在化妆品和个人护理产品配方中检出的8种挥发性及非挥发性N-亚硝胺进行的分析。该方法具有以下优点:

1. 该方法体现了SCIEX APCI源的高灵敏度。亚硝胺的灵敏度均优于比色法和ESI-MS方法。此方法能够定量分析浓度在法规限值50 µg/kg以下的亚硝胺。

2. 本方法使用APCI源进行电离, 抗基质干扰能力强, 适用于化妆品和洗护用品等复杂基质中亚硝胺类物质的检测。
3. 该方法运行时间比HPLC和GC方法更短, 有效节省了时间和成本。

前处理方法:

1. 样品提取介质

- a. 使用甲醇:丙酮 (1:1) 作为超声提取制备液体和凝胶样品。
- b. 使用乙醇:丙酮 (4:1) 作为固体和半固化化妆品的提取介质。

2. 超声提取方案

- a. 借助涡旋混合, 将1g个人护理产品样品溶解于5.0mL, 然后超声处理30min
- b. 所得提取溶液以6000转离心15min
- c. 在40°C的恒定氮气流中将2mL上清液挥干, 然后将其复溶于2mL10%甲醇水溶液中以备固相萃取处理。

3. 固相萃取

- a. 活化: 将Cleanert PEP固相萃取柱 (60 mg / 3 mL) 依次使用3 mL甲醇和3 mL水活化固相萃取柱。
- b. 上样: 将样品加载到SPE小柱上。
- c. 淋洗: 3 mL 10%甲醇水溶液淋洗。
- d. 洗脱: 3mL甲醇进行洗脱。
- e. 氮吹后使用0.1%甲酸水进行溶解, 待上机分析。

液相条件

色谱柱: Phenomenex Analytical Column,

Kinetex 2.6 µm F5 100 Å, 100 × 3.0 mm

流动相: A相为0.1%的甲酸水; B相为甲醇

流速：0.5mL/min；

柱温：40°C；

流动相梯度：

时间 (min)	流速 (mL/min)	%A 0.1%FA	% BMeOH
0	0.5	85	15
4	0.5	5	95
5	0.5	5	95
5.1	0.5	85	15
7	0.5	85	15

质谱方法：

扫描方式：MRM；

APCI+电离源参数：

气帘气CUR：30psi； 碰撞气CAD：Medium；

NC电流：0.6； 源温度：280°C；

雾化气GAS1：40psi；

结果与讨论：

将MRM模式的5500（APCI正离子电离模式）与ExionLC AD系统联用，分析此前曾在化妆品配方中检出的8种N-亚硝胺。使用Analyst与Multiquant软件进行方法优化以及数据处理。图1所示为0.1 ng/mL标准品系列色谱图；图2为50 ng/mL基质加标系列色谱图，标准品采用化妆品基质制备，其中目标物含量相当于法规要求的50 µg/kg。

将所有被测化合物制备成0.1 ng/mL-0.2 µg/mL混合标准溶液进行分析，结果表明所有亚硝胺在1 ng/mL-0.2 µg/mL（法规限值的4倍）内均有良好的线性关系。

化妆品和个人护理品样品的分析：

采用各种化妆品和个人护理产品（包括洗发水、洗手液）制备样品，测试所有样品中是否含有N-亚硝胺，结果发现样品中均不含N-亚硝胺。

为了测试方法的适用性，将浓度为规定限值的亚硝胺加标至空白基质样品中。在下面图3所示的示例中，洗发水样品在制备完成后加标浓度为0.05ppm（µg/mL）的N-亚硝基二丙胺。经超声萃

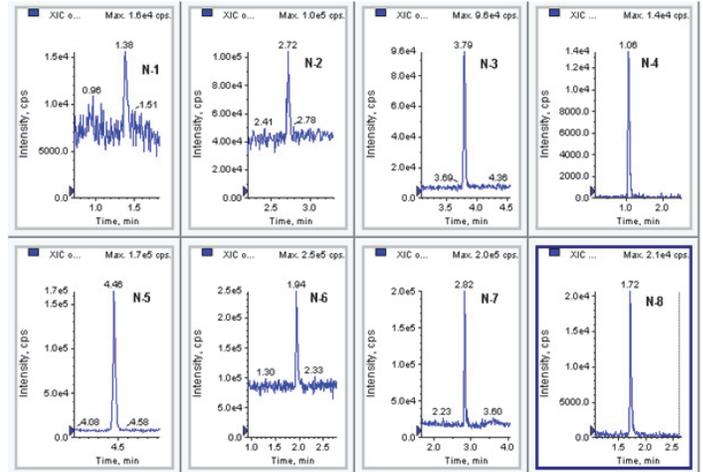


图1. 0.1ng/mL标准品8种亚硝胺提取离子流色谱图。

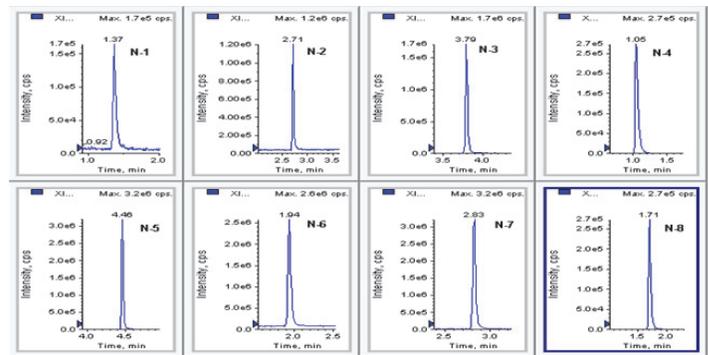


图2. 50ng/mL基质加标8种亚硝胺提取离子流色谱图。

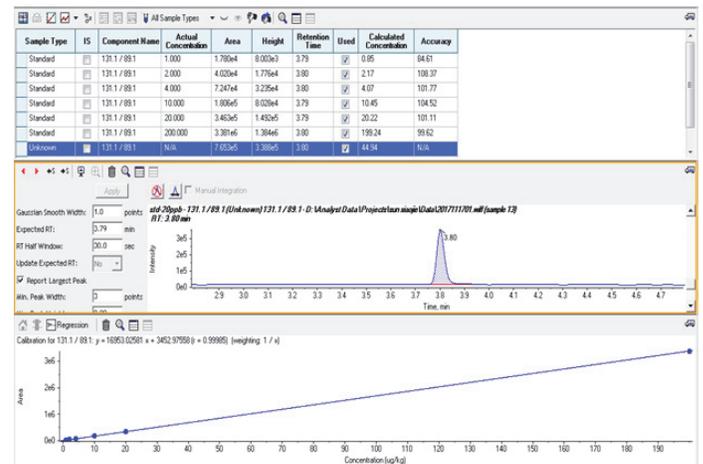


图3. 0.05ppm N-亚二丙胺加标计算结果。

取和SPE后，使用MQ软件对样品与基质标准品进行分析。使用MQ软件对数据进行定量分析以测定含量。经过计算，该方法得到所有加标样品结果的准确度在待测配方（包括洗发水、洗手液）预期结果的98%至102%范围内。

在下面图4所示的示例中，是某品牌洗发水实际测定结果，从提取离子流图中可以看出，除了N-亚硝基二丁胺有少量检出（含量低于0.1ng/mL）以外，此洗发水中未检出其它7种亚硝胺类化合物。

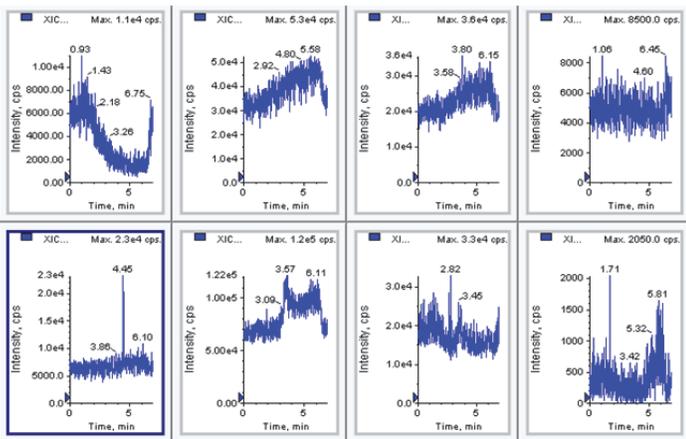


图4. 某品牌洗发水中8种亚硝胺提取离子流色谱图。

结论：

本文开发出一种快速检测和定量分析消费品配方中八种常见亚硝胺的LC-APCI-MS-MS方法。化妆品配方以及个人护理品浓度不超过规定限值50 µg/kg的所有分析物均可得到定量。本文对两种化妆品配方中是否含有亚硝胺进行了测试。对洗发水和洗手液配方的测试结果表明其中不含亚硝胺。

此方法快速简便，并且在满足美国和欧盟法规的前提下，方法还适用于口红，婴幼儿奶瓶奶嘴等相关的化妆品和个人护理用品的检测。同时该方法也适用与过期化妆品以及个人用品的检测，给生产厂家提供了判定产品有效期的一种有效途径。

SCIEX临床诊断产品线仅用于体外诊断。仅凭处方销售。这些产品并非在所有国家地区都提供销售。

获取有关具体可用信息，请联系当地销售代表或查阅 <https://sciex.com.cn/diagnostics>。所有其他产品仅用于研究。不用于临床诊断。

本文提及的商标和/或注册商标的所有权，归属于AB Sciex Pte. Ltd. 或在美国和/或某些其他国家地区的各权利所有人。AB SCIEX™ 商标经许可使用。

© 2017 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. RUO-MKT-02-7117-ZH-A



SCIEX中国公司

北京分公司
地址：北京市朝阳区酒仙桥中路24号院
1号楼5层
电话：010-5808 1388
传真：010-5808 1390

上海公司及中国区应用支持中心
地址：上海市长宁区福泉北路518号
1座502室
电话：021-2419 7200
传真：021-2419 7333

广州分公司
地址：广州市天河区珠江江西路15号
珠江城1907室
电话：020-8510 0200
传真：020-3876 0835

全国免费垂询电话：800 820 3488, 400 821 3897 网址：sciex.com.cn 官方微信：ABSciex-China