



中华人民共和国国家标准

GB/T XXXXX—XXXX

牙膏中丙烯酰胺的测定 高效液相色谱串联 质谱法

Determination of acrylamide in toothpaste high performance liquid chromatography
tandem mass spectrometry

(征求意见稿)

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 实施

国家市场监督管理总局
国家标准化管理委员会

发布

前 言

本文件按照 GB/T 1.1-2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中国轻工业联合会提出。

本文件由全国口腔护理用品标准化技术委员会（SAC/TC 492）归口。

本文件起草单位：***。

本文件主要起草人：***。

牙膏中丙烯酰胺的测定 高效液相色谱串联质谱法

警示——使用本文件的人员应有正规实验室工作的实践经验。本文件并未指出所有可能的安全问题。使用者有责任采取适当的安全和健康措施，并保证符合国家有关规定的条件。

1 范围

本文件描述了牙膏中丙烯酰胺的高效液相色谱串联质谱测定方法的原理、试剂和材料、仪器设备、试验步骤、结果计算、回收率和精密度、允许差等内容。

本文件适用于牙膏中丙烯酰胺的测定。

本文件中丙烯酰胺的检出限为0.01 mg/kg，定量限为0.03 mg/kg。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

牙膏中丙烯酰胺经水提取、正己烷净化后，采用高效液相色谱串联质谱仪多反应监测模式检测，以保留时间和特征碎片离子丰度比定性，内标法定量。

5 试剂和材料

除另有说明外，所用试剂均为色谱纯。

5.1 水：GB/T 6682，一级。

5.2 乙腈。

5.3 正己烷。

5.4 甲酸。

5.5 0.1%甲酸溶液（体积分数）：取1 mL甲酸（5.4），用水稀释至1 L，混合均匀。

5.6 标准品：丙烯酰胺标准品的英文名称、CAS号、分子式、相对分子质量和化学结构式见附录A表A.1，纯度不小于98%。

5.7 同位素内标： $^{13}\text{C}_3$ -丙烯酰胺的英文名称、CAS号、分子式、相对分子质量和化学结构式见附录A表A.1，纯度不小于98%。

5.8 标准储备液：准确称取丙烯酰胺标准品（5.6）10 mg（精确至 0.0001 g）于 10 mL 容量瓶中，用乙腈（5.2）溶解并稀释至刻度，即得质量浓度为 1000 $\mu\text{g/mL}$ 的标准储备液。于 2 $^{\circ}\text{C}$ ~ 8 $^{\circ}\text{C}$ 避光保存，可保存 12 个月。

5.9 标准中间液：准确移取 0.1 mL 标准储备液（5.8）于 50 mL 容量瓶中，用水稀释至刻度，即得质量浓度为 2.0 $\mu\text{g/mL}$ 的标准中间液。于 2 $^{\circ}\text{C}$ ~ 8 $^{\circ}\text{C}$ 避光保存。

5.10 内标储备液：准确称取 $^{13}\text{C}_3$ -丙烯酰胺内标 5 mg（5.7）于 10 mL 容量瓶中，用乙腈（5.2）溶解并稀释至刻度，即得质量浓度为 500 $\mu\text{g/mL}$ 的内标储备液。于 2 $^{\circ}\text{C}$ ~ 8 $^{\circ}\text{C}$ 避光保存，可保存 12 个月。

5.11 内标工作液：准确移取 0.1 mL 内标储备液（5.10）于 50 mL 容量瓶中，用水稀释至刻度，即得质量浓度为 1.0 $\mu\text{g/mL}$ 的内标工作液。于 2 $^{\circ}\text{C}$ ~ 8 $^{\circ}\text{C}$ 避光保存。

5.12 滤膜：孔径 0.22 μm ，材质为尼龙 66。

6 仪器设备

6.1 高效液相色谱串联三重四极杆质谱仪：带电喷雾离子源（ESI）。

6.2 电子天平：感量 0.001 g 和 0.000 1 g。

6.3 漩涡振荡器。

6.4 超声波清洗仪：工作频率不低于 40 kHz。

6.5 离心机：最高转速不低于 4 000 r/min。

7 试验步骤

7.1 试样处理

称取 1 g（精确至 0.001 g）试样，置于 50 mL 具塞离心管中，准确加入 0.2 mL 内标工作溶液（5.11），涡旋混合均匀。准确加入 10 mL 水，具塞后涡旋混合均匀，超声 5 min。然后加入 5 mL 正己烷（5.3），涡旋 1 min，于 4 000 r/min 离心 5 min。取下层水溶液，经微孔滤膜（5.12）过滤后待测。

7.2 测定

7.2.1 高效液相色谱参考条件

高效液相色谱测定参考条件如下：

- 色谱柱规格： C_{18} 色谱柱，1.8 μm ，100 mm \times 2.1 mm，或性能相当者；
- 流动相：乙腈（5.2）和 0.1% 甲酸溶液（5.5），梯度洗脱程序见表 1；
- 流动相流速：0.3 mL/min；
- 柱温：30 $^{\circ}\text{C}$ ；
- 进样量：5 μL 。

表 1 流动相梯度洗脱条件

时间 (min)	乙腈 (%)	0.1% 甲酸溶液 (%)
0	5	95
2	5	95
3	80	20
4.5	80	20
4.6	5	95
6	5	95

7.2.2 质谱参考条件

质谱参考条件如下：

- a) 离子源：电喷雾离子源（ESI）；
- b) 扫描方式：正离子扫描；
- c) 喷雾电压：5500 V；
- d) 离子源温度：400℃；
- e) 雾化气压力：0.345 MPa；
- f) 辅助气压力：0.414 MPa；
- g) 气帘气压力：0.138 MPa；
- h) 检测方式：多反应监测（MRM）；
- i) 去簇电压：80 V；碰撞室出口电压：10 V；
- j) 化合物母离子、子离子及碰撞能量参见表2。

表2 丙烯酸胺及其内标的质谱参数

化合物	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碰撞能量 (eV)
丙烯酸胺	71.9	55.0 ^a , 44.1	16, 26
¹³ C ₃ -丙烯酸胺	74.9	58.0	16
^a 定量离子			

7.3 标准工作曲线绘制

分别吸取适量标准中间液（5.9）0.015 mL、0.025 mL、0.050 mL、0.100 mL、0.250 mL 和 0.500 mL，以及 0.20 mL 内标中间液（5.11），用水稀释至 10 mL，得到系列标准工作溶液（现配现用）。其中丙烯酸胺的质量浓度分别为 0.003、0.005、0.010、0.020、0.050 和 0.100 μg/mL，内标浓度为 0.020 μg/mL。将系列标准工作溶液按高效液相色谱和质谱参考工作条件（7.2.1 和 7.2.2）进行测定，以目标物定量离子色谱峰的峰面积与内标离子峰面积比值为纵坐标，与其对应的溶液浓度比值为横坐标作图，绘制标准工作曲线。丙烯酸胺及其内标标准溶液的多反应监测色谱图参见附录 B 图 B.1。

7.4 试样测定

按液相色谱和质谱参考条件（7.2.1 和 7.2.2）测定试样溶液（7.1）。如果试样中待测物质的色谱峰保留时间与标准溶液的一致，并且在扣除背景后的试样质谱图中，所选择的离子均出现，而且选择离子的相对丰度与标准物质的进行比较，相对偏差不超过表 3 规定的范围，可判定为试样中含有对应的待测物。记录目标化合物定量离子和内标化合物色谱峰的峰面积，以内标法定量。试样溶液中被测物的响应值均应在标准曲线的线性范围之内，超出线性范围的试样溶液可用水稀释后进行测定。

表3 定性确证时相对离子丰度的最大允许偏差

相对离子丰度 k (%)	$k \geq 50$	$50 > k \geq 20$	$20 > k \geq 10$	$k \leq 10$
允许的最大偏差 (%)	± 20	± 25	± 30	± 50

7.5 空白试验

除不称取试样外，均按7.1~7.2步骤进行测定。

8 结果计算

试样中丙烯酰胺含量按公式（1）计算：

$$X_i = \frac{(c_i - c_0) \times V \times 1000}{m \times 1000} \times k \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中：

X_i ——试样中丙烯酰胺的含量，单位为毫克每千克（mg/kg）；

c_i ——从标准曲线得到的试样溶液中丙烯酰胺的质量浓度，单位为微克每毫升（ $\mu\text{g/mL}$ ）；

c_0 ——从标准曲线得到的空白样品溶液中丙烯酰胺的质量浓度，单位为微克每毫升（ $\mu\text{g/mL}$ ）；

V ——加入水的体积，单位为毫升（mL）；

m ——试样质量，单位为克（g）；

k ——超线性范围的稀释倍数。

计算结果以两次平行测定结果的算术平均值表示，保留三位有效数字。

9 回收率

在添加浓度为0.03 mg/kg ~ 0.5 mg/kg范围内，回收率在80% ~ 110 %之间。

10 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不应超过算术平均值的15%。

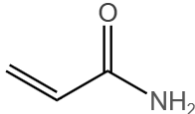
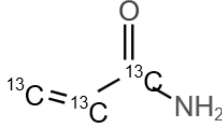
附录 A

(资料性)

丙烯酸酰胺标准品及内标信息

丙烯酸酰胺标准品及内标的中文名称、英文名称、CAS号、分子式、相对分子质量及化学结构式见表 A.1。

表 A.1 丙烯酸酰胺标准品及内标信息

序号	中文名称	英文名称	CAS 号	分子式	相对分子质量	化学结构式
1	丙烯酸酰胺	Acrylamide	79-06-1	C ₃ H ₅ NO	71.08	
2	¹³ C ₃ -丙烯酸酰胺	¹³ C ₃ -Acrylamide	287399-26-2	¹³ C ₃ H ₅ NO	74.09	

附录 B
(资料性)

丙烯酰胺及内标标准溶液的多反应监测色谱图

丙烯酰胺及内标标准溶液的多反应监测色谱图见图 B.1。

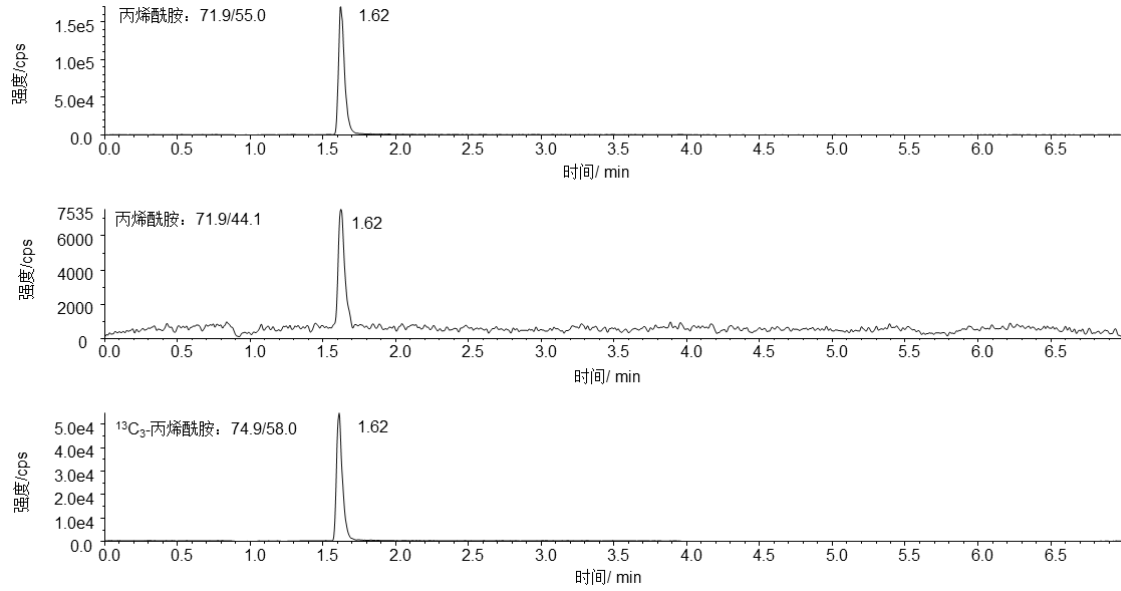


图 B.1 丙烯酰胺及其内标标准溶液的多反应监测色谱图