

HPLC 测定人体组织中的奥美定中 丙烯酸酰胺的含量

隋丽丽^① 孟祥军

(沈阳医学院基础医学院 沈阳市黄河北大街 146 号 110034)

摘 要 高效液相色谱法测定人体组织中的奥美定中丙烯酸酰胺的含量。采用色谱柱 Diamonsil C₁₈ (5 μ m, 4.6mm $\times$ 250mm); 甲醇-水(90:10) 为流动相; 流速为 0.6mL/min; 检测波长 210nm; 柱温为室温。丙烯酸酰胺在 20—30 μ g/mL 浓度范围内, 峰面积与浓度呈良好的线性关系, 回归方程为 $y = 19204x - 87188$, $r = 0.9997$, 平均回收率为 96.7%。该方法样品处理简单, 准确度高, 精密度高, 适合人体组织中丙烯酸酰胺含量的测定。

关键词 高效液相色谱法; 人体组织; 奥美定; 丙烯酸酰胺

中图分类号: O657.7+2

文献标识码: B

文章编号: 1004-8138(2011)02-0654-04

1 引言

奥美定, 也叫聚丙烯酰胺水凝胶, 俗称人造脂肪, 经国家药监局审批, 在我国美容界, 被作为长期植入人体的软组织填充材料, 用于注射隆胸、隆颊、隆臀等美容术。由于其见效快、创伤小、材料可塑性强的特点, 奥美定很快被广大“求美者”接受。聚丙烯酰胺水凝胶是一种化合物, 无毒^[1-4]。但构成它的单体丙烯酸酰胺有剧毒, 而且注入到人体内后, 可能会分解, 产生剧毒。由于能在人体内分解成剧毒单体分子, 毒害神经系统, 损伤肾脏, 对生命循环系统造成伤害, 世界卫生组织已将这种物质列为可疑致癌物之一。国家药品不良反应监测中心数据显示, 注射了奥美定后, 其中部分胶体物质渗入胸肌内及腋窝, 并且该物质会不断地侵入乳房腺体组织, 从而导致各种病变。如果一旦出现并发症, 约 15% 的注射物将抽不出来^[5-7]。

利用高效液相色谱法, 测定人体组织中丙烯酸酰胺的含量。本方法具有操作简单, 定性准确的特点, 可以用于组织中的丙烯酸酰胺的检测^[8,9]。

2 实验方法

2.1 仪器与试剂

LC-20A 型高效液相色谱仪(日本岛津公司); SPD-20A 检测器(日本岛津公司); FA 21004 电子分析天平(上海天平仪器厂); 甲醇(山东禹王实业有限公司化工分公司); 丙烯酸酰胺(沈阳国药集团化学试剂有限公司)。实验用水为纯净水。

2.2 色谱条件

色谱柱 Diamonsil C₁₈(5 μ m, 4.6mm $\times$ 250mm); 流动相甲醇-水(90:10), 流速为 0.6 mL/min;

① 联系人, 电话: (024) 62215711; 手机: (0) 15940150259; E-mail: sllsqy@126.com

作者简介: 隋丽丽(1980—), 女, 沈阳市人, 助教, 硕士, 主要从事药物研究工作。

收稿日期: 2010-06-08; 接受日期: 2010-07-24

柱温 25℃, 进样量为 20μL; 检测器为 SPD-20A, 检测波长为 210nm。

2.3 样品处理

准确称取样品 0.5g, 用 10mL 流动相超声提取 30min, 过滤, 即得。

2.4 标准溶液配制

准确称取丙烯酰胺 25mg, 小烧杯中溶解, 多次洗涤, 超声过滤后置于 100mL 容量瓶中, 加流动相溶解并稀释至刻度, 得储备液。吸取 1mL 储备液置于 10mL 棕色容量瓶中, 加流动相至刻度, 得浓度为 25μg/mL 溶液, 过滤, 即得。

3 结果与讨论

3.1 最佳波长的选择

取标准溶液紫外扫描, 结果在 210nm 处有特征吸收, 因此选择此波长为检测波长。

3.2 校准曲线的确定

准确称取丙烯酰胺 2.4968g, 加流动相溶解制成 250μg/mL 溶液。分别准确量取 0.8、0.9、1.0、1.1、1.2mL, 置于 10mL 容量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 分别准确量取 20μL 注入液相色谱仪, 记录色谱图。以峰面积 A 为纵坐标, 浓度 C 为横坐标, 绘制校准曲线, 得回归方程: $y = 19204x - 87188$, $r = 0.9997$, 见表 1。浓度在 20—30μg/mL 范围内线性关系良好, 见图 1。

表 1 丙烯酰胺校准曲线

序号	1	2	3	4	5
浓度(μg/mL)	20.0	22.5	25.0	27.5	30.0
峰面积 A (mV)	298285	343008	392231	442315	488677
回归方程	$y = 19204x - 87188, r = 0.9997$				

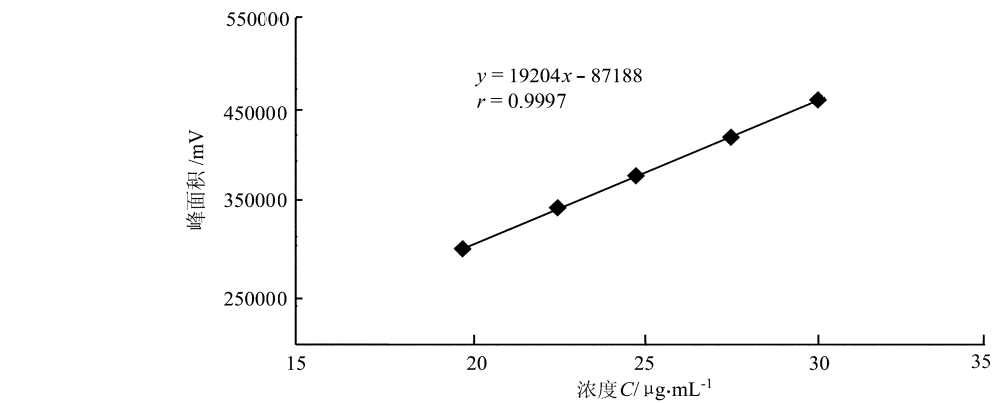


图 1 丙烯酰胺校准曲线

3.3 最低检出限

取 3.2 中丙烯酰胺的标准溶液, 加流动相溶解制成 0.01μg/mL 溶液, 准确量取 20μL 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 最低检出限为 0.2ng, 见图 2。

3.4 溶液稳定性实验

取样品溶液置于室温放置, 分别在 0、1、2、4、6h 时检测, 准确吸取 20μL 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 结果见表 2。

表 2 稳定性实验结果

时间(h)	0	1	2	4	6
峰面积(mV)	9536760	9728370	9608680	9746560	9916980

5 次进样所得峰面积的平均值为 9707470, RSD= 1.50%, 结果表明, 供试品溶液在 6h 内稳定。

3.5 精密度实验

准确吸取标准品溶液 20μL 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 连续测定 6 次, 结果见表 3。

6 次进样所得峰面积的平均值为 9786303, RSD = 1.02%, 结果表明: 本法精密度较好。

3.6 回收率实验

准确称取样品组织 0.20、0.25、0.30g 各 3 份, 在小烧杯中溶解多次洗涤后, 过滤, 分别置于 10mL 容量瓶中, 分别加入 25μg/mL 标准溶液各 5mL, 加流动相 2mL 超声提取 30min 后稀释至刻度, 摇匀, 作为样品溶液, 准确量取 20μL 注入液相色谱仪, 记录色谱图; 另准确称取丙烯酰胺适量, 加流动相溶解制成 25μg/mL 溶液, 同法测定, 按外标法以峰面积计算, 即得。计算回收率, 结果见表 4。平均回收率为 96.7%, SD= 0.0185, RSD= 1.91%。

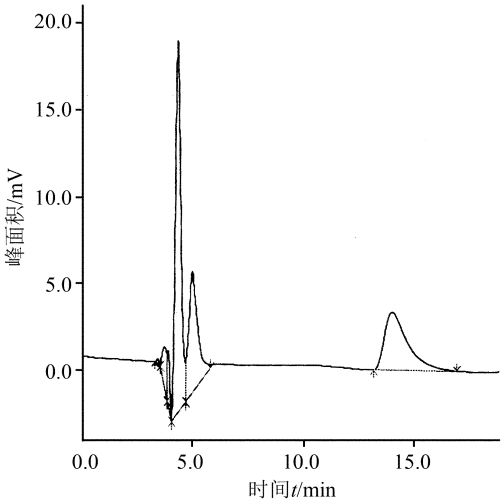


图 2 丙烯酰胺的最低检出限

表 3 精密度实验测定结果

序号	1	2	3	4	5	6
峰面积(mV)	9828140	9728370	9816990	9698970	9916980	9728370

表 4 加样回收实验

序号	样品组织质量	样品组织中丙烯酰胺	标准品加入量	测得量	回收率
	(g)	含量(mg)	(mg)	(mg)	(%)
1	0.2018	0.3875	0.125	0.5089	97.1
2	0.2030	0.3864	0.125	0.5090	98.1
3	0.2010	0.3865	0.125	0.5074	96.7
4	0.2513	0.4832	0.125	0.6052	97.6
5	0.2509	0.4825	0.125	0.6063	99.1
6	0.2519	0.4844	0.125	0.6064	97.6
7	0.3020	0.5808	0.125	0.6980	93.8
8	0.3015	0.5798	0.125	0.6978	94.4
9	0.3019	0.5806	0.125	0.7000	95.5

3.7 含量测定

准确称取样品 0.4987g, 用流动相 10mL 超声提取 30min, 过滤, 准确量取 20μL 注入液相色谱仪, 记录色谱图; 另准确称定丙烯酰胺 0.2497g, 加流动相溶解制成 25μg/mL 溶液, 同法测定, 按外标法以峰面积计算, 即得, 见图 3、图 4。

4 结论

(1) 在波峰扫描中样品在 210nm 处有最大吸收, 同时考虑流动相中甲醇的截止波长, 故选择 210nm 为检测波长。

(2) 由于选用的标准品为化学纯的丙烯酰胺, 没有经过苯的重结晶, 杂质较多, 故检测器的灵

敏度相应要提高。同时,溶解样品的试剂为甲醇,其在 4.2min 处有峰。为避免其干扰,要求使用流动相溶解、稀释。

(3) 采用 HPLC 测定丙烯酰胺的含量,结果表明回收率及校准曲线均十分理想,精密度较好,本方法具有专属性强、简便、快捷的特点。

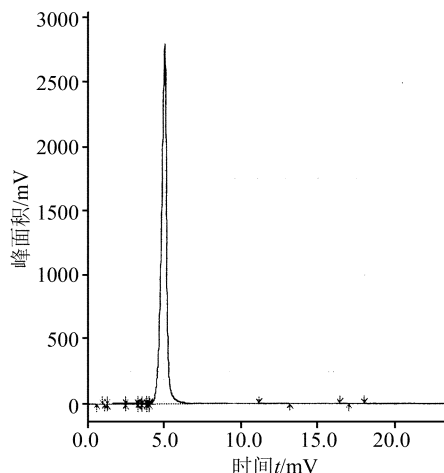


图 3 丙烯酰胺标准品色谱图

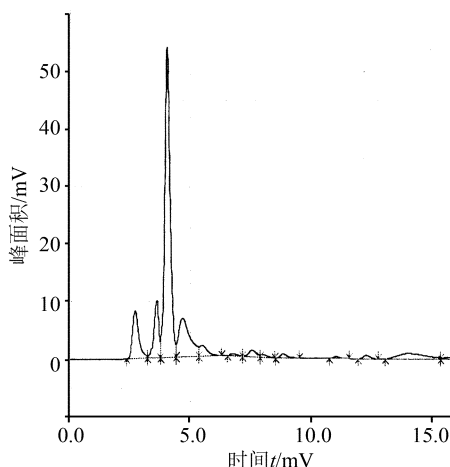


图 4 组织中的丙烯酰胺色谱图

参考文献

- [1] 高景恒, 郑刚, 王忠媛. 关于丙烯酰胺毒性的研究及相关规定[J]. 实用美容整形外科杂志, 2002, **13**(3): 148—152.
- [2] 高景恒, 曹孟君. 医用聚丙烯酰胺水凝胶基础研究与应用[J]. 中国美容医学, 2001, **10**(1): 51—53.
- [3] 高萍, 程琳, 贾文英等. 丙烯酰胺单体的细胞毒性研究[J]. 应用美容整形外科杂志, 2002, **13**(3): 163—164.
- [4] 中华人民共和国国家标准. 医疗器械生物学评价第五部分[S]. GB/T 16886-1997. 北京: 中国标准出版社, 1997. 1—12.
- [5] 赫和平. 医疗器械生物学评价标准实施指南[M]. 北京: 中国标准出版社, 2000. 100—102.
- [6] 陈九顺, 赵光. 溴化法测定聚丙烯酰胺中残留丙烯酰胺的反应条件和误差分析[J]. 黑龙江大学自然科学学报, 1991, **8**(2): 79—89.
- [7] 董占先, 张晓波, 孙路. 聚丙烯酰胺中丙烯酰胺的测定[J]. 化学工程师, 1997, **9**(2): 53.
- [8] 付晓泰, 易延超, 王淑英等. 高效液相色谱法测定聚丙烯酰胺中的丙烯酰胺[J]. 大庆石油学院学报, 1992, **16**(2): 5—7.
- [9] 麻英. 医用聚丙烯酰胺水凝胶理化性能测试[J]. 分析实验室, 2003, **22**(3): 44—46.

Determination of Acrylamide in Amazing of Human Organism by HPLC

SUI Li-Li MENG Xiang-Jun

(Department of Basical Medicine, Shenyang Medical College, Shenyang 110034, P. R. China)

Abstract The content of acrylamide in amazing of human organism was determined by HPLC with Diamonsil C₁₈ column(5 μ m, 4.6mm $\times$ 250mm), the mobile phase of methanol-water(90:10) at 210nm, room temperature, and flow rate of 0.6mL/min. Linear range of acrylamide was 20—30 μ g/mL. Regression equation was $y = 19204x - 87188$, $r = 0.9997$. The average recovery was 96.7%. This method is simple, specific, and super-precious for the assay of acrylamide in human organism.

Key words HPLC; Human Organism; Amazing; Acrylamide