

超高效液相色谱 - 四极杆飞行时间质谱联用仪快速定性化妆品中的风险物质

LCMS-QTOF-046

摘要: 本文利用岛津超高效液相色谱 - 四极杆飞行时间串联质谱仪, 结合《岛津化妆品风险物质 QTOF 质谱库》建立了一种对化妆品中风险物质的快速定性分析方法。对 22 个化妆品样本中的风险物质进行定性分析, 其结果显示: 在 22 个样本中定性分析出 32 种添加化合物, 所有化合物一级质量数偏差均小于 5 ppm, 二级碎片归属良好。使用化妆品高分辨质谱库进行定性分析, 质量数准确度较高; 结合 Chemspider 库、二级碎片离子归属的功能以及自带的二级谱库可全方位实现快速定性。通过一针进样, 同时完成目标物的定性筛查, 可快速确认化妆品样本中风险物质。

关键词: 四极杆飞行时间串联质谱仪 化妆品风险物质 化妆品风险物质 QTOF 质谱库

随着社会发展的速度越来越快, 人们对于化妆品的消费从商场走向网购, 护肤、彩妆成为了生活中必不可少的课题。精致的妆容可以直观展现出一个人的精神素养, 更能彰显出女性独特的个人魅力。化妆品在给我们带来美丽的同时, 我们也需要注意到一些非法添加成分对我们身体的危害。

2021 年 5 月, 国家药监局公布了《化妆品禁用植(动)物原料目录》, 列出了 1388 项化妆品禁用组分清单, 再结合《化妆品安全技术规范(2022 年版)》(征求意见稿)中规定的防腐剂、防晒剂、染发剂以

及着色剂等化合物种类, 我们整理了 1000 种化妆品风险物质的信息, 并自建成高分辨质谱库, 形成《岛津化妆品风险物质 QTOF 质谱库》; 借此来辅助相关人员快速对化妆品中风险物质进行筛查定性。

本文使用岛津 LCMS-9030 超高效液相色谱 - 四极杆飞行时间串联质谱仪, 结合《岛津化妆品风险物质 QTOF 质谱库》, 建立了一种对化妆品中风险物质的快速定性分析方法。该方法准确可靠, 可为化妆品检测提供帮助。

■ 实验部分

1.1 仪器

岛津 LCMS-9030 超高效液相色谱四极杆飞行时间质谱联用仪, 具体配置为:

输液泵: LC-30AD×2

系统控制器: CBM-20A

自动进样器: SIL-30AC

飞行时间质谱仪: LCMS-9030

柱温箱: CTO-20AC

在线脱气机: DGU-20A_{5R}

色谱工作站: LabSolutions Ver. 5.99; LabSolutions Insight Ver. 3.7

1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱: Shim-pack GIST C18 100 mm×2.1 mm I.D., 1.9 μm (岛津(上海)实验器材有限公司, P/N: 227-30807-02)

流动相: A 相 -0.1% 甲酸水 +2 mM 甲酸铵; B 相 - 乙腈

洗针模式: 清洗泵 (R3) →清洗口 (R0)

流速: 0.25 mL/min

进样体积: 5 μL

柱温: 40°C

洗脱方式: 梯度洗脱, B 相初始浓度为 5%, 洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
0.50	泵	B.Conc	5
5.00	泵	B.Conc	30
13.00	泵	B.Conc	60
16.00	泵	B.Conc	98
18.00	泵	B.Conc	98
25.50	泵	B.Conc	5
30.00	控制器	Stop	

质谱条件

离子源: ESI+/ ESI-

雾化气流速: 3.0 L/min

加热气流速: 10.0 L/min

干燥气流速: 10.0 L/min

加热模块温度: 400°C

DL 温度: 250°C

接口温度: 300°C

扫描模式: MS Scan(m/z 50 -1000) &
DDA MS/MS (m/z 50 -1000)

1.3 试剂

乙腈: 色谱级, 室温保存。

甲酸: 色谱级, 纯度 98%, 室温保存。

甲酸铵: 色谱级, 纯度 99%, 室温保存。

实验用水: 由 Milli-Q Plus 水净化系统经去离子与二次净化制得。

1.4 样品前处理

精密称量 0.2 g 样品置于 10 mL 具塞比色管中, 加入少量乙腈, 在涡旋混合仪上振荡 30 s 至试样与提取溶剂混合均匀, 然后加入乙腈至近刻度, 超声提取 20 min, 静置至室温, 用乙腈定容至刻度, 摇匀, 以 4000 r/min 离心 10 min, 滤过 (必要时取上清液适量用 50% 乙腈溶液稀释, 稀释液经 0.22 μm 滤膜过滤), 滤液作为待测溶液。具体样品信息见下表:

表 2 样品信息表

序号	样品信息	序号	样品信息
1	柔顺护理洗发露	12	隔离防晒乳
2	去屑焗油洗发露	13	清透防晒乳
3	止痒祛屑洗发水	14	防晒润色隔离乳
4	止痒去屑洗发露	15	防晒乳
5	修护精华护发素	16	祛痘细致调理乳
6	染发膏	17	清衡调理精华液
7	染发膏	18	氨基酸美肌凝胶
8	养护染发霜	19	清痘收敛平衡水
9	染发焗油膏	20	清痘润肌调理乳
10	染发膏	21	婴儿保湿滋养润肤露
11	防晒隔离乳	22	婴幼儿爽身露

■ 结果与讨论

在对未知样品进行定性分析时，本文采用了两种方式，一种是对已收录到该 QTOF 质谱库中化合物，直接利用二级质谱库筛查定性；另一种对于未收录到 QTOF 质谱库中的化合物，可以采用 Chemspider 数据库与 Labsolution Insight Explore 软件中二级碎片离子归属的功能相结合来辅助定性未知物。以 19 号样品与 3 号样品为例分别展示这两种方式的分析流程。

2.1 对 19 号样本进行定性分析

根据《化妆品风险物质 QTOF 质谱库》中方法，使用 DDA 的模式对样品 19 进行采集。首先使用 Labsolution Insight Explore 软件，分别对正、负离子模式的 TIC 图进行提取，导入质谱库中的“风险物质筛查数据库”，初步筛选出可能的化合物（如表 3）；然后再利用“二级质谱库”对可能的化合物二级质谱图进行搜库确认。

2.1.1 19 号样本的色谱图

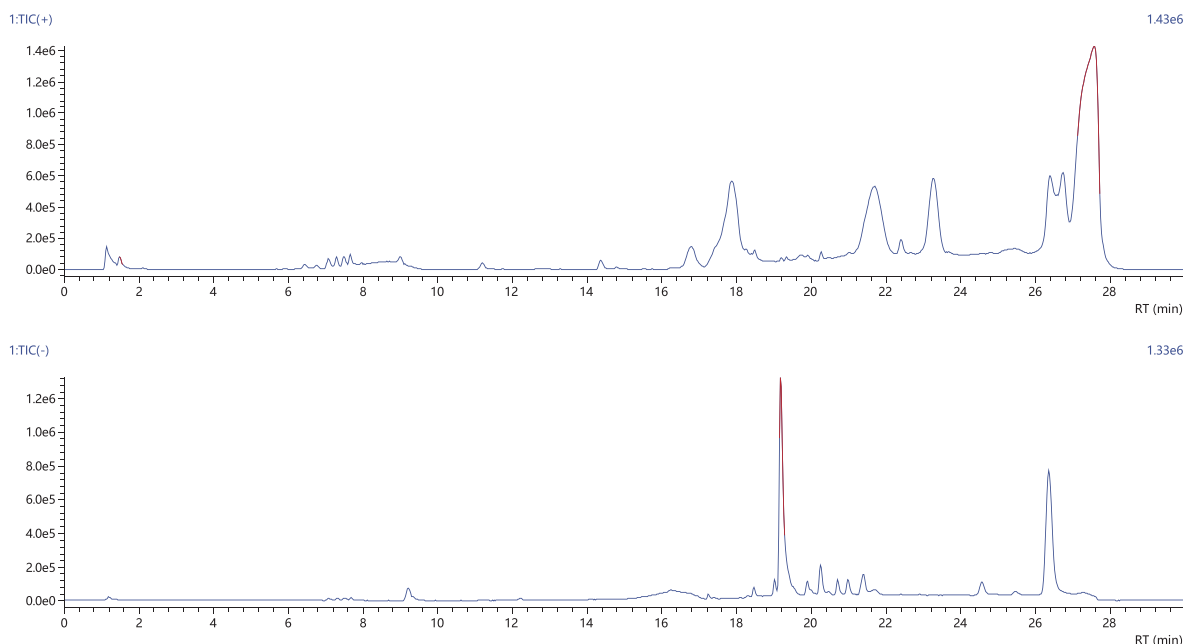


图 1 19 号样本的 TIC 图（上图：ESI+，下图 ESI-）

2.1.2 根据一级质谱筛查出可能的化合物

表 3 19 号样本初步筛查结果

编号	化合物	保留时间	采集模式	实测 m/z	理论 m/z	相对误差 (ppm)	同位素得分	预测的分子式
1	烟酰胺	1.48	ESI+	123.05504	123.05529	-2.03	99.7	C ₆ H ₆ N ₂ O
2	雄酮	18.21	ESI+	291.23181	291.23186	-0.17	100.0	C ₁₉ H ₃₀ O ₂
3	碱性蓝 26	17.23	ESI+	470.25884	470.25907	-0.49	90.7	C ₃₃ H ₃₁ N ₃
4	二乙氧羟苯甲酰基苯甲酸己酯	18.92	ESI+	398.23248	398.23258	-0.25	99.4	C ₂₄ H ₃₁ NO ₄
5	二苯酮 -3	16.53	ESI+	229.08606	229.08592	0.61	94.1	C ₁₄ H ₁₂ O ₃
6	丁基甲氧基二苯甲酰基甲烷	19.08	ESI+	311.16416	311.16417	-0.03	61.7	C ₂₀ H ₂₂ O ₃
7	4-甲基苄亚基樟脑	18.24	ESI+	255.17416	255.17434	-0.71	75.2	C ₁₈ H ₂₂ O
8	4-羟基苯甲酸甲酯	9.21	ESI-	151.04012	151.04007	0.33	100.0	C ₈ H ₈ O ₃

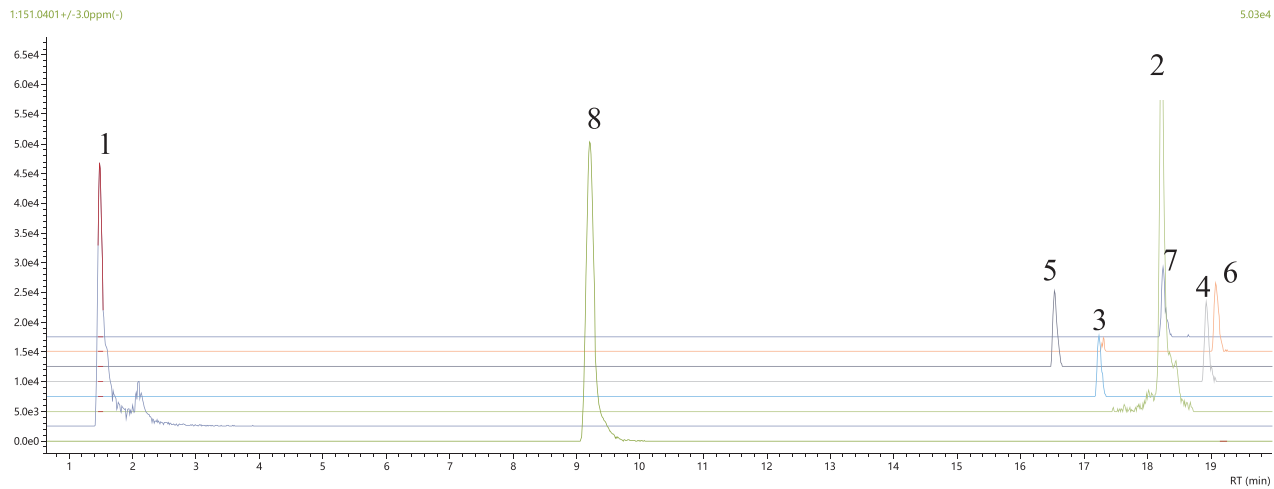


图 2 19 号样本初步筛选出 m/z 的 EIC 图（提取离子流图，化合物信息详见表 3）

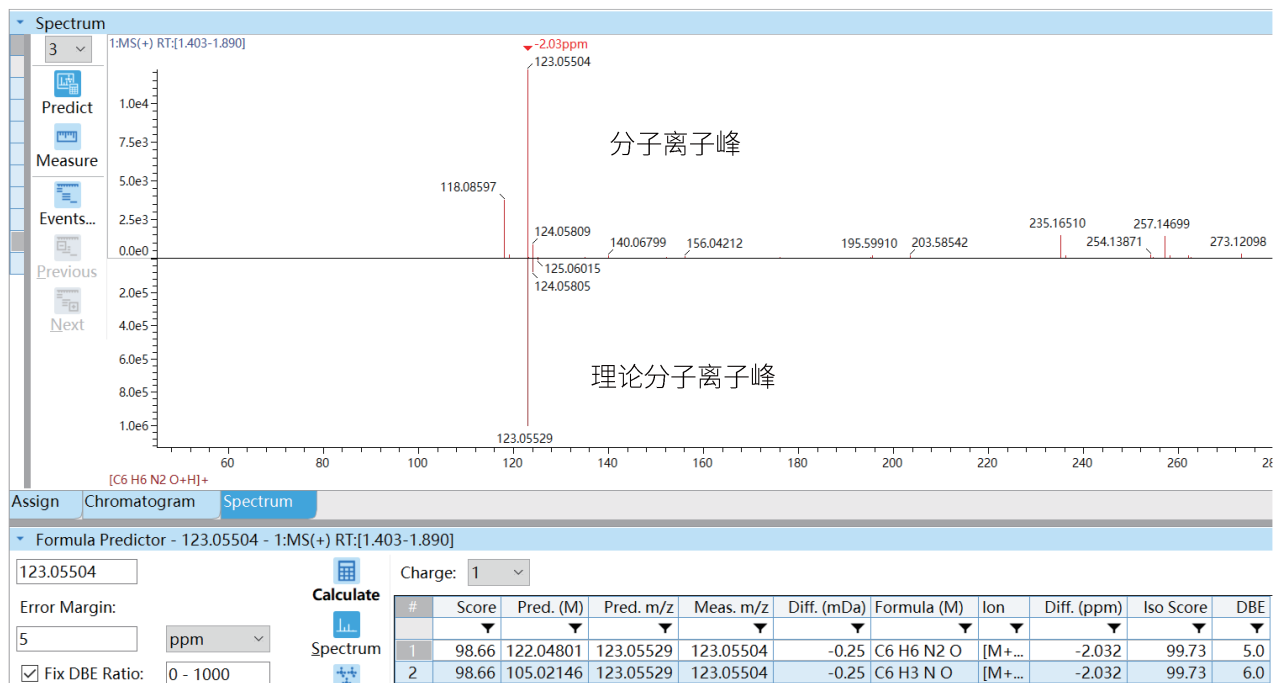


图 3 Labsolution Insight Explore 软件中烟酰胺分子式预测结果截图

2.1.3 二级质谱图解析

以烟酰胺为例：利用一级质谱筛查出的可能化合物为烟酰胺。将采集的 DDA 数据导入 Labsolution Insight Explore 软件，对 DDA 的分析结果进行提取。找到对应的二级质谱图，利用软件的库搜索功能，进行库搜索。其结果如图 4 所示，与标准品谱图匹配良好，匹配得分 90，说明 19 号样品中含有烟酰胺。

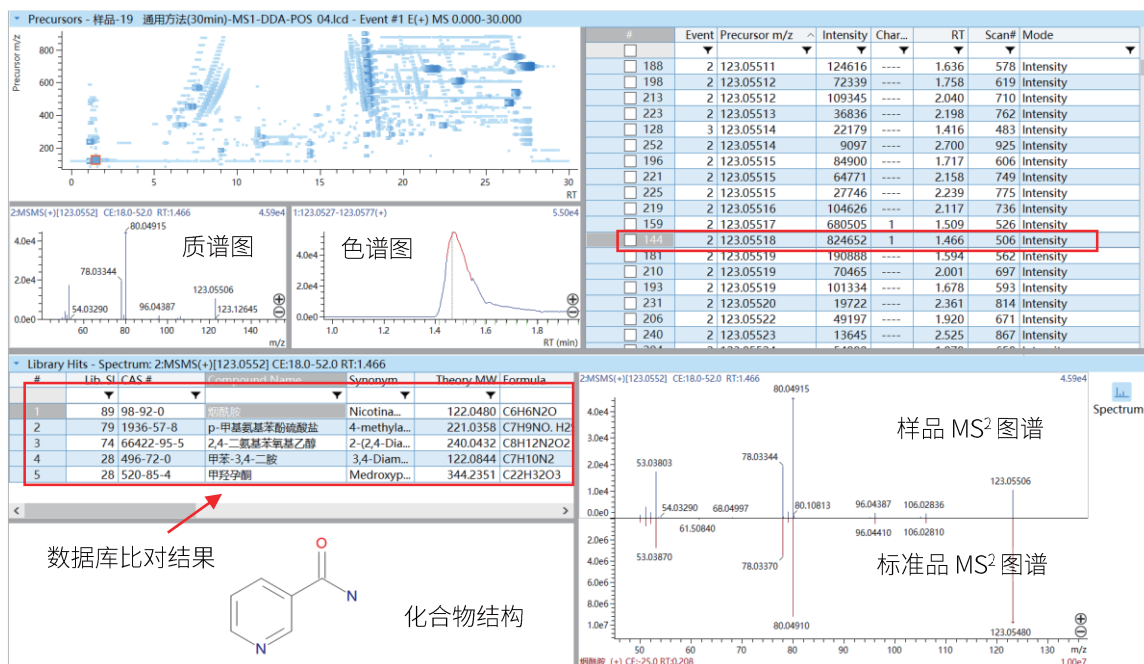


图 4 烟酰胺的二级图谱与标准品比对结果

2.2 对 3 号样本进行定性分析

若没有对应的标准品数据库，可以采用 Chemspider 数据库与软件中二级碎片离子归属的功能相结合来辅助定性未知物。使用 Labsolution Insight Explore 软件，分别对正、负离子模式的 TIC 图进行提取，从 3 号样品的 TIC 图中初步筛查出可能化合物（如表 4），给出 m/z 和分子式。再对其二级质谱图进行分析。

2.2.1 3 号样本的色谱图

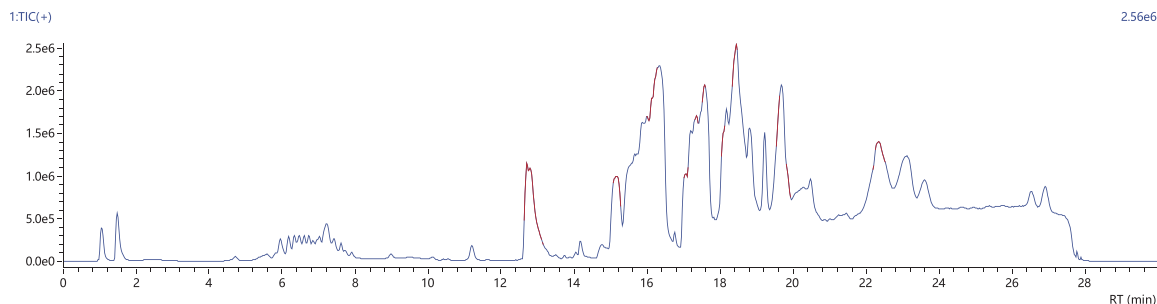


图 5 3 号样本的 TIC 图 (ESI+)

2.1.2 根据 MS¹ 筛查出可能的化合物

表 4 3 号样本初步筛查结果

编号	化合物	保留时间	采集模式	实测 m/z	理论 m/z	相对误差 (ppm)	同位素得分	预测的分子式
1	雄酮	18.20	ESI+	291.23202	291.23186	0.55	74.9	C ₁₉ H ₃₀ O ₂
2	二乙氨基苯甲酰基苯甲酸己酯	18.91	ESI+	398.23269	398.23258	0.28	100.0	C ₂₄ H ₃₁ NO ₄
3	避蚊胺	12.55	ESI+	192.13840	192.13829	0.57	99.5	C ₁₂ H ₁₇ NO
4	胺鲜酯	13.02	ESI+	216.19583	216.19581	0.09	99.7	C ₁₂ H ₂₅ NO ₂
5	4-甲基苄基樟脑	18.23	ESI+	255.17420	255.17434	-0.55	99.5	C ₁₈ H ₂₂ O

2.1.3 二级质谱图解析

以避蚊胺为例：通过一级质量数筛查， m/z 192.13840 初步判定可能是避蚊胺。将采集的 DDA 数据导入 Labsolution Insight Explore 软件，对 DDA 的分析结果进行提取。利用 Insight Explore 软件 Assign 模块，将对应的二级质谱图与 Chemspider 数据库进行比对，并结合二级碎片离子归属的功能，对二级质谱图进行解析。其结果如图 7 所示，二级碎片归属良好，说明 3 号样品中可能含有避蚊胺。

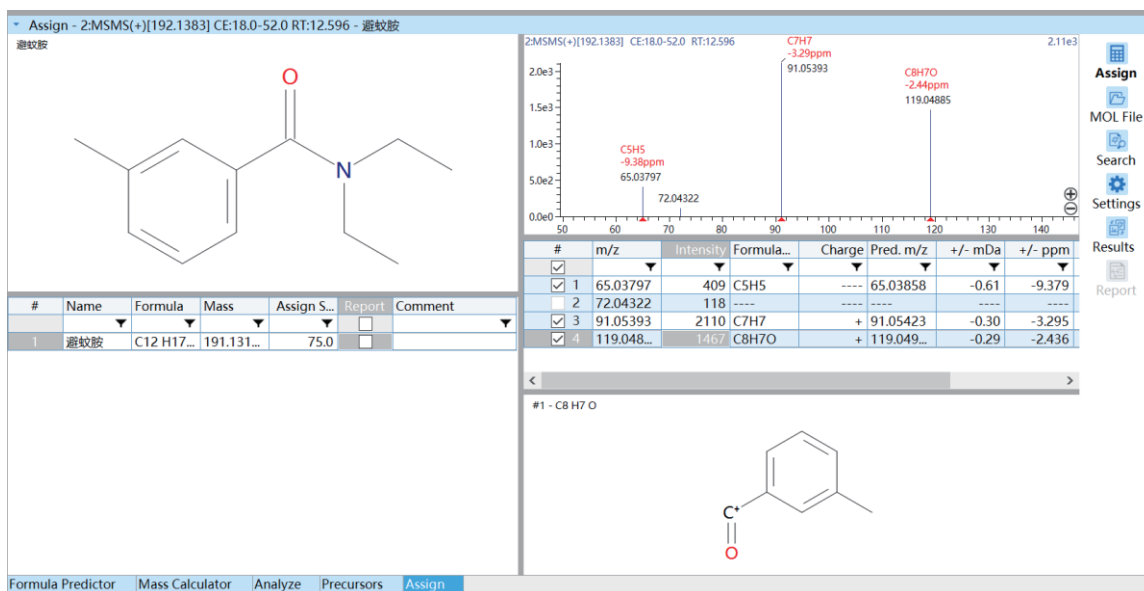


图 6 3 号样品中避蚊胺图谱与 Chemspider 数据库比对结果

2.3 定性筛查结果

参考 2.1 和 2.2 定性手段，从 22 个样本中定性分析出 32 种化妆品风险物质，结果见表 5。

表 5 32 种化合物的定性结果

编号	化合物	采集模式	保留时间	理论 m/z	分子式
1	胺鲜酯	ESI+	13.10	216.19581	$C_{12}H_{25}NO_2$
2	烟酰胺	ESI+	1.46	123.05529	$C_6H_6N_2O$
3	避蚊胺	ESI+	12.55	192.13829	$C_{12}H_{17}NO$
4	雄酮	ESI+	18.22	291.23190	$C_{19}H_{30}O_2$
5	黄体酮	ESI+	16.65	315.23186	$C_{21}H_{30}O_2$
6	睾酮	ESI+	13.58	289.21621	$C_{19}H_{28}O_2$
7	吡罗克酮乙醇胺盐	ESI+	16.41	238.18016	$C_{16}H_{30}N_2O_3$
8	二乙氧羟苯甲酰基苯甲酸己酯	ESI+	18.92	398.23259	$C_{24}H_{31}NO_4$
9	4-甲基苄基樟脑	ESI+	18.23	255.17434	$C_{18}H_{22}O$
10	p/o/m- 苯二胺	ESI+	1.15	109.07602	$C_6H_8N_2$
11	二苯酮-3	ESI+	16.56	229.08592	$C_{14}H_{12}O_3$
12	苯基甲基吡唑啉酮	ESI+	8.42	175.08659	$C_{10}H_{10}N_2O$
13	p/o/m- 氨基苯酚	ESI+	1.31	110.06004	C_6H_7NO
14	4-氨基-2-羟基甲苯	ESI+	1.48	124.07569	C_7H_9NO
15	甲苯-2,5-二胺硫酸盐	ESI+	1.33	123.09167	$C_7H_{10}N_2 \cdot H_2SO_4$
16	丁基氧基二苯甲酰基甲烷	ESI+	19.12	311.16417	$C_{20}H_{22}O_3$

17	甲氧基肉桂酸乙基己酯	ESI+	19.20	291.19547	C ₁₈ H ₂₆ O ₃
18	二甲基 PABA 乙基己酯	ESI+	19.27	278.21146	C ₁₇ H ₂₇ NO ₂
19	苯基苯并咪唑磺酸	ESI+	6.01	275.04849	C ₁₃ H ₁₀ N ₂ O ₃ S
20	氯咪巴唑	ESI+	12.16	293.10510	C ₁₅ H ₁₇ ClN ₂ O ₂
21	奥克林林	ESI+	19.03	362.21146	C ₂₄ H ₂₇ NO ₂
22	碱性蓝 26	ESI+	17.27	470.25907	C ₃₃ H ₃₂ ClN ₃
23	甲基异噻唑啉酮	ESI+	1.48	116.01646	C ₄ H ₅ NOS
24	2- 甲基 -5- 羟乙氨基苯酚	ESI+	5.57	168.10191	C ₉ H ₁₃ NO ₂
25	2,4- 二氨基苯氧基乙醇盐酸盐	ESI+	0.95	169.09715	C ₈ H ₁₄ Cl ₂ N ₂ O ₂
26	水杨酸乙基己酯	ESI+	19.45	251.16417	C ₁₅ H ₂₂ O ₃
27	胡莫柳酯	ESI+	19.63	263.16417	C ₁₆ H ₂₂ O ₃
28	三氯卡班	ESI-	17.22	312.97077	C ₁₃ H ₉ Cl ₃ N ₂ O
29	4- 羟基苯甲酸甲酯	ESI-	9.17	151.04007	C ₈ H ₈ O ₃
30	水杨酸 /4- 羟基苯甲酸	ESI-	8.75	137.02442	C ₇ H ₆ O ₃
31	分散黄 16	ESI-	16.28	277.10948	C ₁₆ H ₁₄ N ₄ O
32	4- 羟基苯甲酸丙酯 /4- 羟基苯甲酸异丙酯	ESI-	12.48	179.07137	C ₁₀ H ₁₂ O ₃

22 个样本中筛查出的化合物一级质量数偏差分别如图 7 所示，均小于 5 ppm；这些化合物在样品的具体分布结果如表 6 所示。

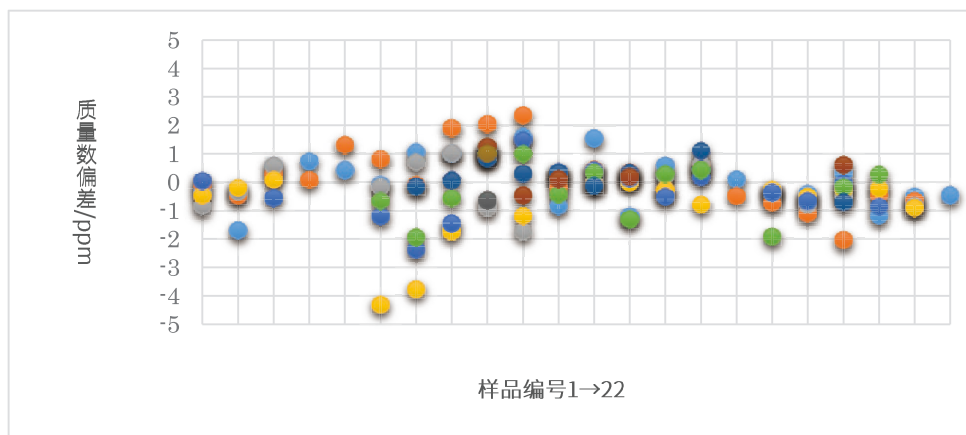


图 7 22 个样本中检出化合物质量数偏差分布图

■ 结论

本文利用岛津公司 LCMS-9030 超高效液相色谱四极杆飞行时间质谱联用仪，结合《岛津化妆品风险物质 QTOF 质谱库》快速对 22 个样品中化妆品风险物质进行定性。结果显示：22 个化妆品样本中定性出 32 种化合物，其中定性出 5 种禁用物质。所有定性出的化合物的一级质谱质量数准确度小于 5 ppm，质量准确度较高；结合 Chemspider 库、二级碎片离子归属的功能以及自带的二级谱库可全方位实现快速定性。通过 22 个化妆品样本的测试验证，该方案可以实现一针进样，快速完成目标物的定性筛查，判定化妆品中可能的风险物质，具有一定的实际应用价值，供相关人员参考。

