

超高效液相色谱三重四极杆质谱检测染发膏中七种染发剂

LCMSMS-095

摘要：本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪和三重四极杆质谱仪联用测定染发膏中酸性紫 14、酸性黄 36、酸性紫 43、颜料橙 5、碱性蓝 26、苏丹红 II 和苏丹红 IV 七种染发剂的方法。不同浓度的精密度实验得到的保留时间和峰面积相对标准偏差分别在 0.02~0.29% 和 0.41~3.07% 之间，结果表明仪器精密度良好；基质加标校准曲线相关系数均大于 0.9959，方法检出限和方法定量限分别介于 0.008~0.031 mg/L 之间和 0.031~0.125 mg/L 之间。

关键词：染发剂 染发膏 超高效液相色谱仪 三重四极杆质谱仪

染发剂类化合物主要作用是增加化妆品的色泽。根据国内外报道，为了提升产品感官性能，部分企业超量使用染发剂，甚至使用具有致癌作用的苏丹红等染料，存在较大风险。酸性黄 36、颜料橙 5、苏丹红 II、苏丹红 IV 均为欧盟化妆品新法规 (EC) No 1223/20092 规定的化妆品组分中禁用物质。《化妆品卫生规范》2007 年

版规定化妆品中酸性紫 14、酸性紫 43 和碱性蓝 26 的最大允许使用浓度分别为 0.3%、0.1% 和 0.5%。本文参考国家食品药品监督管理局公布的《化妆品中 7 种染发剂的检测方法（征求意见稿）》的方法，建立了染发膏中七种染发剂的超高效液相色谱 - 三重四级杆串联质谱联用的分析方法，供相关检测人员参考。

实验部分

1.1 仪器

本实验使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用系统。具体配置为：LC-30AD×2 输液泵，DGU-20A5 在线脱气机，SIL-30AC 自动进样器，CTO-30A 柱温箱，CBM-20A 系统控制器，LCMS-8040 三重四极杆质谱仪，LabSolutions Ver. 5.53 色谱工作站。

1.2 分析条件

液相色谱条件

流动相：A 相 -0.02 mol/L 乙酸铵 (pH=4.0)；

B 相 - 甲醇

流速：0.6 mL/min

进样体积：10 μL

柱温：40℃

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 10%，时间程序见表 1。

质谱条件

分析仪器： LCMS-8040

离子源： ESI，正离子扫描

离子源接口电压： ESI(+), 4.5 kV

雾化气： 氮气 3.0 L/min

干燥气： 氮气 15 L/min

碰撞气： 氩气

脱溶剂管温度： 250℃

加热模块温度： 400℃

扫描模式： 多反应监测 (MRM)

驻留时间： 50 ms

延迟时间： 3 ms

MRM 参数： 见表 2

表 1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
1.00	pumps	Pump B Conc	40
6.00	pumps	Pump B Conc	95
8.00	pumps	Pump B Conc	95
8.01	pumps	Pump B Conc	10

表 2 MRM 参数

编号	名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
1	碱性紫 14	302.10	209.00*	-22.0	-31.0	-22.0
			195.00	-22.0	-34.0	-20.0
2	酸性黄 36	354.05	169.15*	-15.0	-26.0	-15.0
			156.95	-15.0	-26.0	-15.0
3	酸性紫 43	410.05	328.05*	-20.0	-20.0	-24.0
			313.00	-20.0	-35.0	-22.0
4	颜料橙 5	339.00	156.00*	-15.0	-17.0	-15.0
			128.05	-15.0	-17.0	-15.0
5	碱性蓝 26	470.20	454.15*	-15.0	-43.0	-15.0
			349.00	-15.0	-38.0	-15.0
6	苏丹红 II	277.10	121.10*	-20.0	-21.0	-24.0
			156.00	-20.0	-15.0	-30.0
7	苏丹红 IV	381.10	224.00*	-14.0	-21.0	-24.0
			225.00	-14.0	-21.0	-23.0

*表示定量离子

1.3 样品制备

标准物质：共 7 种，分别为酸性紫 14、酸性黄 36、酸性紫 43、颜料橙 5、碱性蓝 26、苏丹红 II 和苏丹红 IV。

样品前处理方法：参考《化妆品中 7 种染发剂的检测方法（征求意见稿）》；准确称取试样 5.0 g 于 10 mL 比色管中，加入 200 μ L 四氢呋喃，再加入 4 mL 甲醇，涡旋振荡 2 min，在超声提取 30 min 后定容至 5 mL，再以 12000 r/min 高速离心后取上清液过 0.45 μ m 取上滤膜，待测。

基质加标样品配制：用甲醇配制 2000 mg/L 7 种混合标准溶液。再用上述已处理样品溶液稀释成 0.04 mg/L 至 10 mg/L 的不同浓度的基质加标样品。

结果讨论

2.1 标准样品的 MRM 色谱图

混合标准样品的 MRM 色谱图如图 1 所示。

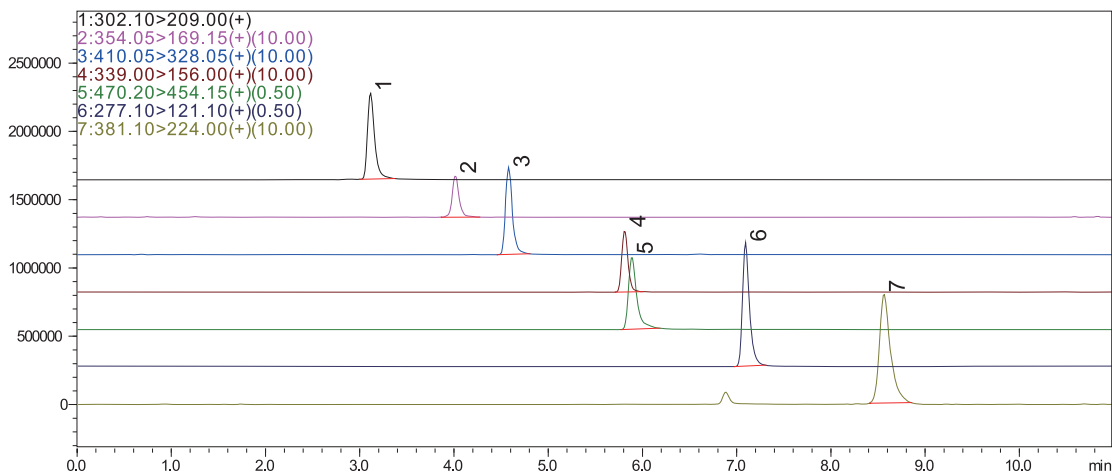


图 1 染色剂标准样品的 MRM 色谱图 (0.2 mg/L)

1、酸性紫 14；2、酸性黄 36；3、酸性紫 43；4、颜料橙 5；5、碱性蓝 26；6、苏丹红 II；7、苏丹红 IV

2.3 精密度实验

对 0.1 mg/L、0.5 mg/L 和 1.0 mg/L 混合标准溶液连续 6 次进样，考察仪器的精密度，保留时间和峰面积的重复性结果如表 3 所示。3 个浓度标准品的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.02~0.18% 和 0.41~2.65% 之间，仪器精密度良好。

表 3 保留时间和峰面积重复性结果(n=6)

No.	名称	RSD% (0.1 mg/L)		RSD% (0.5 mg/L)		RSD% (1.0 mg/L)	
		R.T(min)	Area	R.T (min)	Area	R.T(min)	Area
1	酸性紫 14	0.04	2.16	0.05	3.07	0.06	0.91
2	酸性黄 36	0.06	1.58	0.03	0.41	0.03	0.56
3	酸性紫 43	0.06	2.21	0.02	2.65	0.07	1.13
4	颜料橙 5	0.29	2.16	0.18	2.24	0.14	1.59
5	碱性蓝 26	0.03	1.72	0.04	1.85	0.04	0.99
6	苏丹红 II	0.02	1.51	0.02	1.38	0.04	1.87
7	苏丹红 IV	0.02	1.68	0.04	0.60	0.05	1.89

2.3 线性关系

向染发膏基质中添加混合标样，按 1.3 制备方法得到浓度为 0.04、0.1、0.2、0.5、1、2、5、10 mg/L 的基质加标校准样品，按 1.2 中的分析条件进行测定，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制校准曲线如图 2 至图 8 所示；所得校准曲线线性关系良好，线性方程、相关系数线性范围见表 4。

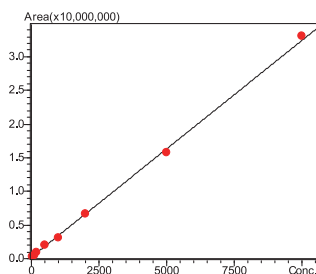


图 2 酸性紫 14 基质加标校准曲线

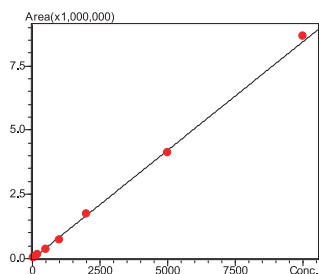


图 3 酸性黄 36 基质加标校准曲线

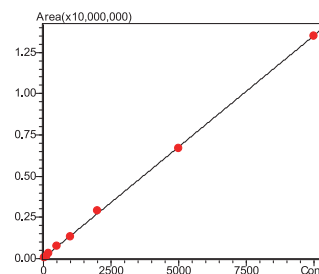


图 4 酸性紫 43 基质加标校准曲线

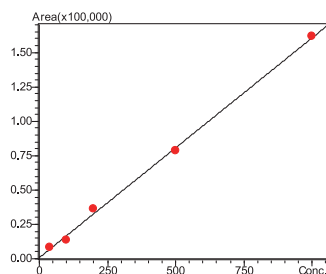


图 5 颜料橙 5 基质加标校准曲线

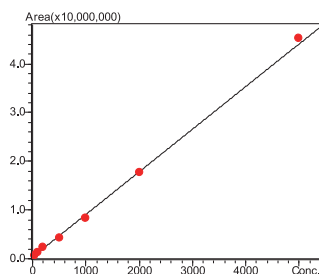


图 6 碱性蓝 26 基质加标校准曲线

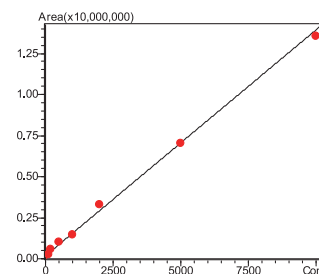


图 7 苏丹红 II 基质加标校准曲线

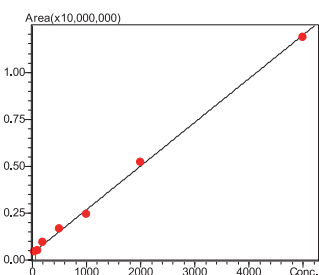


图 8 苏丹红 IV 基质加标校准曲线

表4 7种染发剂的基质加标校准曲线参数

No.	名称	校准曲线	相关系数 r	线性范围 mg/L
1	酸性紫 14	$Y = (3226.80)X + (203567)$	0.9989	0.1~10
2	酸性黄 36	$Y = (845.686)X + (-6192.49)$	0.9989	0.04~10
3	酸性紫 43	$Y = (1349.50)X + (37458.0)$	0.9996	0.1~10
4	颜料橙 5	$Y = (159.882)X + (791.019)$	0.9969	0.1~2.0
5	碱性蓝 26	$Y = (8754.84)X + (342065)$	0.9986	0.04~5.0
6	苏丹红 II	$Y = (1376.77)X + (180664)$	0.9959	0.2~10
7	苏丹红 IV	$Y = (2327.01)X + (356637)$	0.9970	0.1~5.0

2.5 基质加标实验和方法检出限

在按照 1.3 中样品制备方法，制备浓度为 0.2 mg/kg 基质加标样品 7 份进行分析，对上述测定结果计算标准偏差 SD，此时检出限 MDL = 3.14 × S，定量下限 LOQ=4 × MDL。测定结果如表 5 所示，空白染发膏样品的色谱图如图 9 所示，加标样品色谱图如图 10 所示。

表5 7种物质的检出限和定量限

No.	名称	标准偏差(S)	检出限(mg/kg)	定量限(mg/kg)
1	酸性紫 14	0.007	0.021	0.082
2	酸性黄 36	0.003	0.009	0.038
3	酸性紫 43	0.004	0.012	0.050
4	颜料橙 5	0.008	0.024	0.098
5	碱性蓝 26	0.002	0.008	0.031
6	苏丹红 II	0.010	0.031	0.125
7	苏丹红 IV	0.006	0.018	0.071

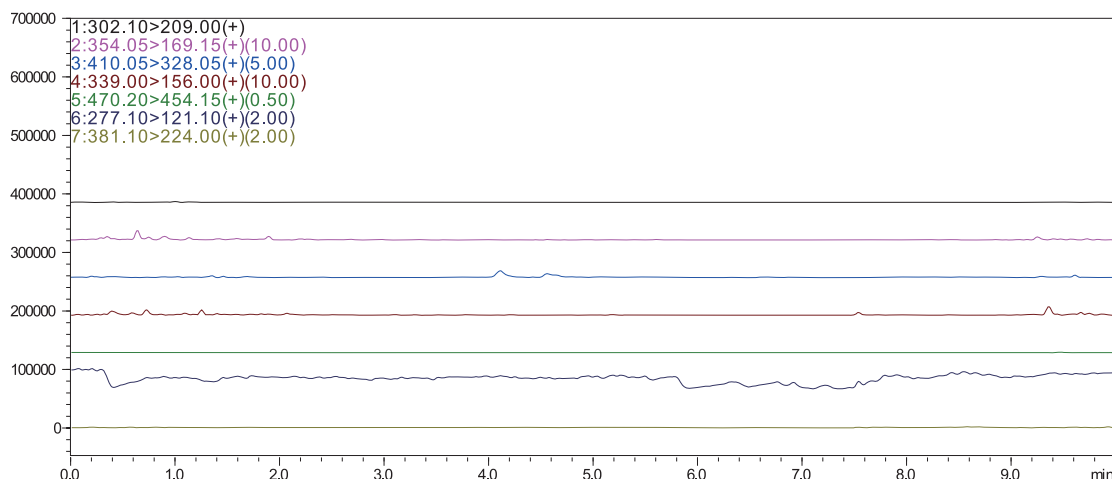


图9 染发膏空白基质样品的色谱图

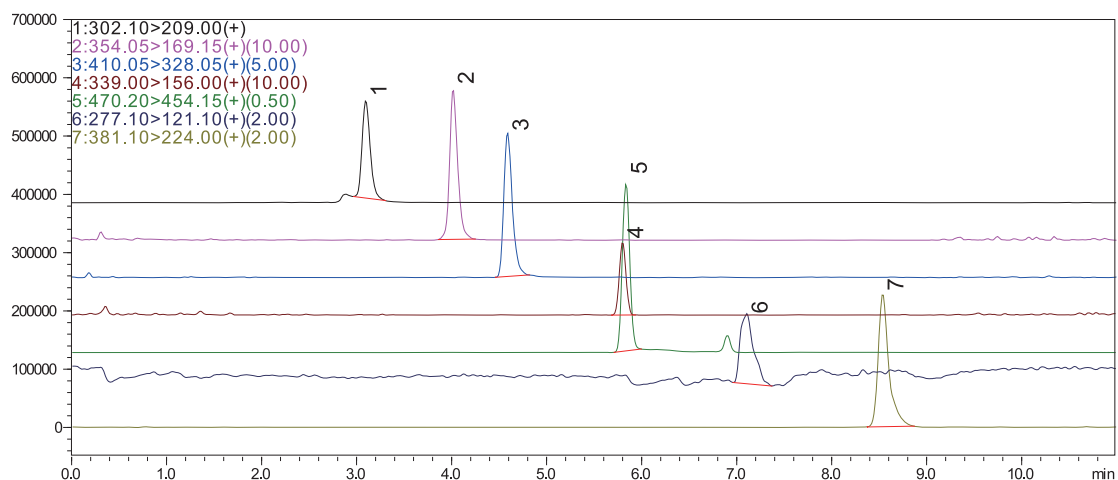


图 10 基质加标 0.2 mg/L 染色膏样品色谱图

1、酸性紫 14；2、酸性黄 36；3、酸性紫 43；4、颜料橙 5；5、碱性蓝 26；6、苏丹红 II；7、苏丹红 IV

结论

建立了使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用测定染发膏中七种染发剂的方法。不同浓度的精密度实验结果表明：保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.02~0.29% 和 0.41~3.07% 之间，仪器精密度良好；基质加标校准曲线相关系数均大于 0.9959，方法检出限和方法定量限分别介于 0.008~0.031 mg/L 之间和 0.031~0.125 mg/L 之间。该方法分析速度快、重复性好、灵敏高、定量准确，适合染发膏中酸性紫 14、酸性黄 36、酸性紫 43、颜料橙 5、碱性蓝 26、苏丹红 II 和苏丹红 IV 七种染发剂的检测。