

超高效液相色谱三重四极杆质谱检测口红中的十种着色剂

LCMSMS-100

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口红中溶剂绿 7、食品红 9、食品红 7、食品黄 3、酸性黄 1、食品红 17、食品红 1、酸性红 87、橙黄 1 和酸性橙 7 十种着色剂的方法。本方法在 6 min 内快速分离十种着色剂；十种着色剂在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 0.01~1.03% 和 0.45~4.23% 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 0.9948，方法检出限和方法定量限分别介于 0.0061~0.0464 mg/L 和 0.0243~0.1854 mg/L 之间。

关键词: 着色剂 口红 超高效液相色谱仪 三重四极杆质谱仪

着色剂类化合物主要作用是增加化妆品的色泽。根据《化妆品卫生规范》2007 版，着色剂属于限用物质目录。在欧盟化妆品新法规 (EC) No 1223/20092 中，食品红 1 属禁止添加化合物，酸性红 87、酸性橙 7、溶剂绿 7 属于有条件限用化合物。根据国内外报道，为提升产品感官性能或掩盖劣质色泽，部分企业超量使用着色剂，甚至使用《化妆品卫生规范》以外的着色剂，存在较大风险。但是，当前仅有颜料橙等 5 种着色剂组分的

检测技术要求，与现实生产实际使用种类相差较多，也不能涵盖当前现实使用的在规范目录以外的品种，成为行政监管的瓶颈问题。本文参考国家食品药品监督管理局公布的《化妆品中 10 种着色剂的检测方法（征求意见稿）》的方法，建立了口红样品中十种着色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

分析仪器：LC-30A 系统
 色谱柱：Shim-pack XR-ODS II, 3.0 mm × 75 mm L, 2.2 μm 粒径
 流动相：A 相 -0.02 mol/L 乙酸铵水溶液；
 B 相 - 甲醇
 流速：0.5 mL/min
 进样体积：10 μL
 柱温：40°C

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 8%，时间程序见表 1。

表 1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
4.5	pumps	Pump B Conc	55
4.51	pumps	Pump B Conc	8
6.0	controller	stop	

质谱条件

分析仪器：LCMS-8040
 离子源：ESI，负离子扫描
 离子源接口电压：-3.5 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°C
 加热模块温度：400°C
 扫描模式：多反应监测 (MRM)
 驻留时间：40 ms
 延迟时间：3 ms
 MRM 参数：见表 2

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	溶剂绿7	227.90	187.95*	11.0	14.0	19.0
			228.00	11.0	5.0	23.0
2	食品红9	267.90	228.20*	19.0	14.0	23.0
			268.00	19.0	6.0	29.0
3	食品红7	267.90	205.90*	19.0	12.0	20.0
			268.05	19.0	5.0	18.0
4	食品黄3	202.90	206.00*	22.0	25.0	22.0
			203.00	22.0	8.0	13.0
5	酸性黄1	312.90	232.95*	22.0	21.0	24.0
			295.90	22.0	24.0	29.0
6	食品红17	225.00	206.95*	16.0	14.0	21.0
			224.95	16.0	5.0	23.0
7	食品红1	217.00	199.10*	15.0	17.0	20.0
			217.05	15.0	6.0	22.0
8	酸性红87	646.50	522.65*	32.0	30.0	36.0
			520.70	32.0	25.0	36.0
9	橙黄 I	326.70	247.05*	11.0	19.0	26.0
			171.10	11.0	20.0	30.0
10	酸性橙7	326.90	171.05*	16.0	26.0	30.0
			156.15	16.0	29.0	28.0

*表示定量离子

1.3 样品制备

标准物质：共 10 种，分别为溶剂绿 7、食品红 9、食品红 7、食品黄 3、酸性黄 1、食品红 17、食品红 1、酸性红 87、橙黄 I 和酸性橙 7。

样品前处理方法：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。

标准样品配制：用甲醇配制 2000 mg/L 10 种混合标准溶液。再用上述已处理样品溶液稀释成 0.05 mg/L 至 10 mg/L 的不同浓度的基质加标样品。

结果讨论

2.1 标准样品一级质谱图和产物离子扫描

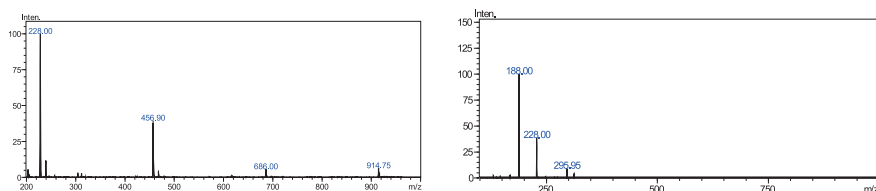


图 1 溶剂绿 7 一级质谱图（左）和产物离子扫描图（CE 值+12V）

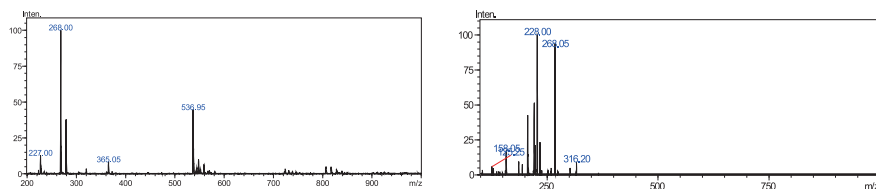


图 2 食品红 9 一级质谱图（左）和产物离子扫描图（CE 值+15V）

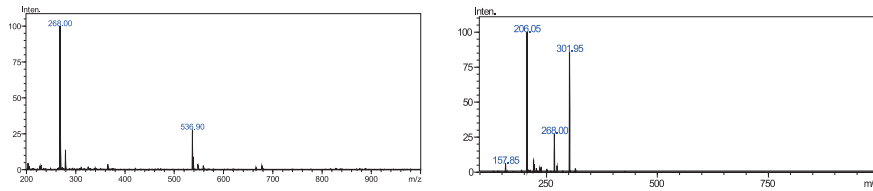


图3 食品红7一级质谱图(左)和产物离子扫描图(CE值+12V)

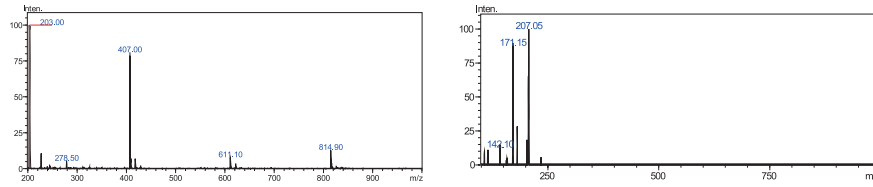


图4 食品黄3一级质谱图(左)和产物离子扫描图(CE值+18V)

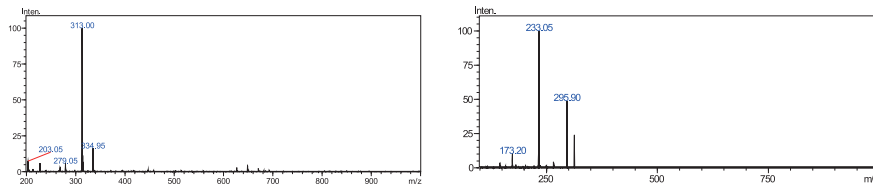


图5 酸性黄1一级质谱图(左)和产物离子扫描图(CE值+24V)

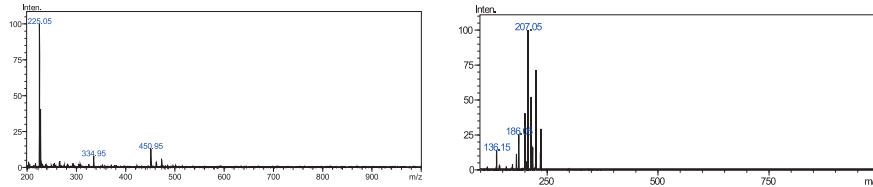


图6 食品红17一级质谱图(左)和产物离子扫描图(CE值+15V)

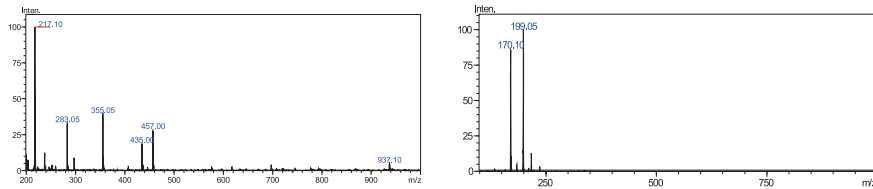


图7 食品红1一级质谱图(左)和产物离子扫描图(CE值+18V)

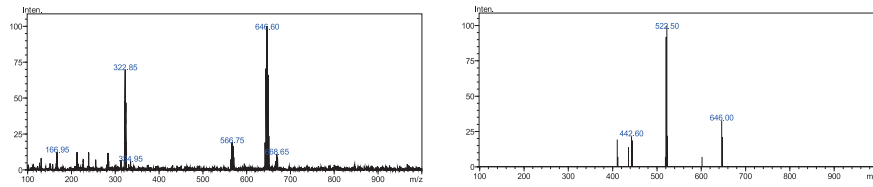


图8 酸性红87一级质谱图(左)和产物离子扫描图(CE值+30V)

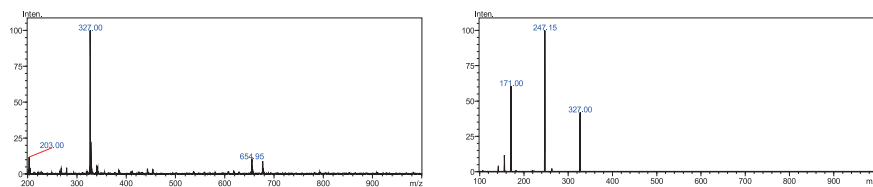


图9 橙黄1一级质谱图(左)和产物离子扫描图(CE值+20V)

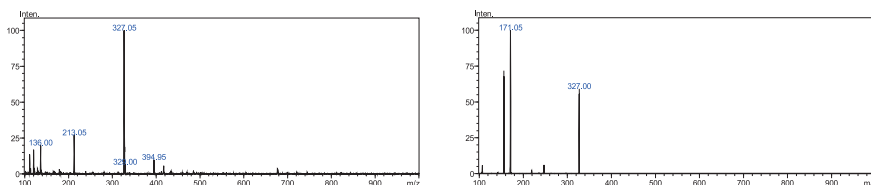


图10 酸性橙 7 一级质谱图 (左) 和产物离子扫描图(CE值+25V)

2.2 标准样品的 MRM 色谱图

混合标准样品的 MRM 色谱图如图 11 所示。

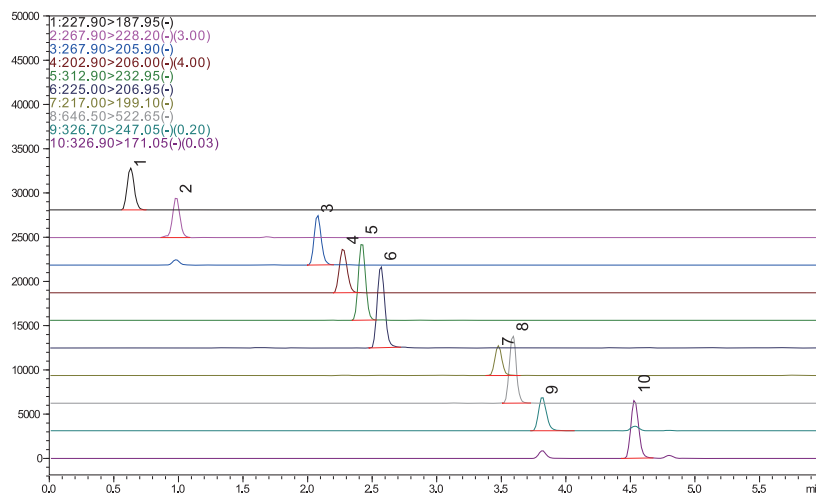


图 11 染色剂标准样品的 MRM 色谱图(0.2 mg/L)

- 1、溶剂绿 7, 2、食品红 9, 3、食品红 7, 4、食品黄 3, 5、酸性黄 1, 6、食品红 17, 7、食品红 1, 8、酸性红 87, 9、橙黄 I, 10、酸性橙 7

2.3 线性关系

配制不同浓度混合标准工作液, 按 1.2 中的分析条件进行测定, 外标法制作校准曲线, 如图 12~21 所示线性良好。线性方程、相关系数和线性范围见表 3。

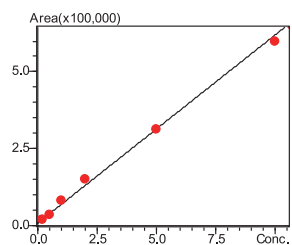


图12 溶剂绿 7 的标准工作曲线

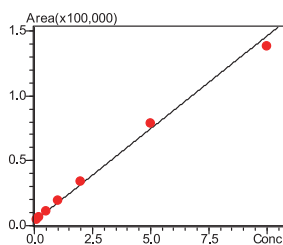


图13 食品红 9 的标准工作曲线

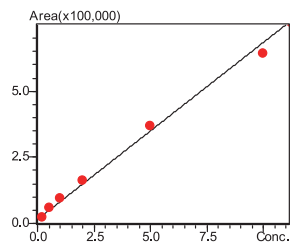


图14 食品红 7 的标准工作曲线

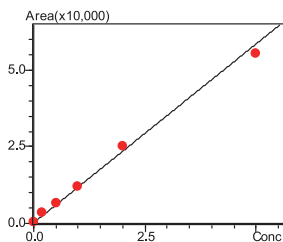


图15 食品黄 3 的标准工作曲线

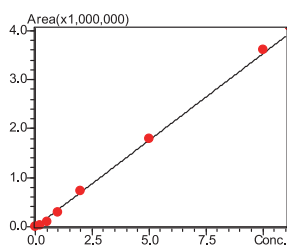


图16 酸性黄 1 的标准工作曲线

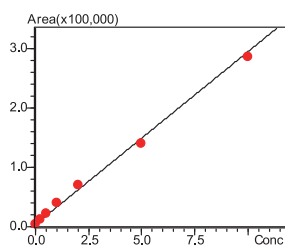


图17 食品红 17 的标准工作曲线

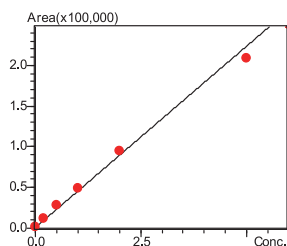


图18 食品红 1 的标准工作曲线

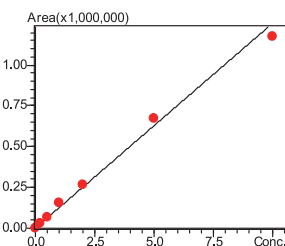


图19 酸性红 87 的标准工作曲线

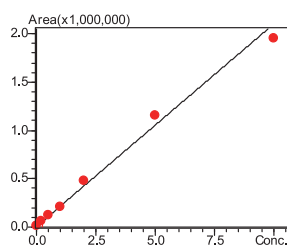


图20 橙黄 I 的标准工作曲线

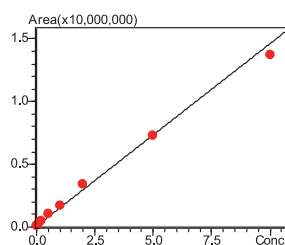


图21 酸性橙 7 的标准工作曲线

表 3 10 种物质的校准曲线参数

编号	名称	校准曲线	相关系数 R	线性范围 (mg/L)
1	溶剂绿7	$Y = (59882.1)X + (13841.4)$	0.9986	0.2~10.0
2	食品红9	$Y = (14287.0)X + (3261.36)$	0.9974	0.2~10.0
3	食品红7	$Y = (66909.8)X + (15205.5)$	0.9983	0.1~10.0
4	食品黄3	$Y = (11669.8)X + (198.315)$	0.9966	0.2~5.0
5	酸性黄1	$Y = (352839)X + (-4328.91)$	0.9948	0.2~10.0
6	食品红17	$Y = (29108.2)X + (3886.57)$	0.9991	0.2~10.0
7	食品红1	$Y = (44518.1)X + (807.657)$	0.9960	0.2~5.0
8	酸性红87	$Y = (125889)X + (598.992)$	0.9963	0.2~10.0
9	橙黄I	$Y = (210197)X + (6249.60)$	0.9960	0.2~10.0
10	酸性橙7	$Y = (1.45305e+006)X + (82769.7)$	0.9954	0.1~10.0

2.4 方法的检出限和定量限

配制浓度为 0.2 mg/L 标样 7 份，直接进样分析，计算 7 次测定结果的标准偏差 SD，此时检出限 MDL = $3.14 \times S$ ，定量下限 LOQ = $4 \times MDL$ 。测定结果如表 4 所示，检出限和定量限分别介于 0.0061~0.0464 mg/L 和 0.0243~0.1854 mg/L 之间；

表 4 10 种物质的检出限和定量限

No.	名称	标准偏差(S)	检出限(mg/L)	定量限(mg/L)
1	溶剂绿7	0.0079	0.0247	0.0987
2	食品红9	0.0135	0.0424	0.1695
3	食品红7	0.0035	0.0111	0.0444
4	食品黄3	0.0148	0.0464	0.1854
5	酸性黄1	0.0019	0.0061	0.0243
6	食品红17	0.0093	0.0292	0.1169
7	食品红1	0.0087	0.0272	0.1089
8	酸性红87	0.0066	0.0206	0.0824
9	橙黄I	0.0042	0.0133	0.0533
10	酸性橙7	0.0028	0.0088	0.0352

2.5 精密度实验

配制如表 5 浓度的混合标液，平行进样 6 次。10 种目标化合物的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.01~1.03% 和 0.45 ~ 4.23% 之间，仪器精密度良好。

表 5 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

No.	名称	RSD% (0.5 mg/L)		RSD% (2 mg/L)		RSD% (5 mg/L)	
		R.T	Area	R.T	Area	R.T	Area
1	溶剂绿7	0.65	2.55	0.08	2.74	0.12	1.38
2	食品红9	0.12	3.95	0.05	2.68	0.02	1.63
3	食品红7	0.36	2.88	0.03	2.86	0.05	0.67
4	食品黄3	0.59	1.60	0.05	2.07	0.10	2.23
5	酸性黄1	0.83	3.02	0.10	2.14	0.03	0.45
6	食品红17	1.03	2.45	0.07	2.14	0.01	1.30
7	食品红1	0.56	3.91	0.03	2.41	0.04	1.52
8	酸性红87	0.79	3.13	0.06	2.58	0.04	1.04
9	橙黄I	0.44	2.02	0.02	2.85	0.04	1.72
10	酸性橙7	0.24	4.23	0.05	1.37	0.03	0.61

2.6 基质加标实验

在口红样品中添加 0.2 mg/kg 混合标样，按照 1.3 中样品制备方法制备样品后上机测试，平行 3 次测定回收率和 RSD。具体结果如表 6，样品加标回收率在 63.1 ~ 117.2% 之间。空白口红样品的色谱图如图 22 所示，加标样品色谱图如图 23 所示。

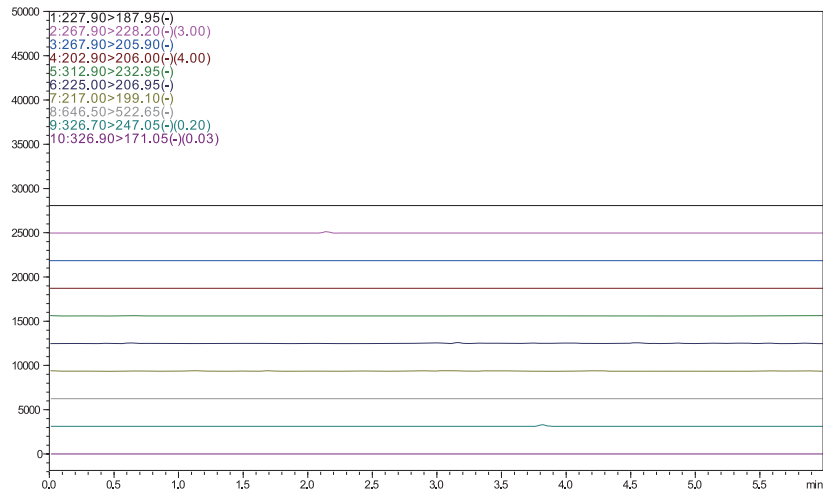


图22 空白口红基质

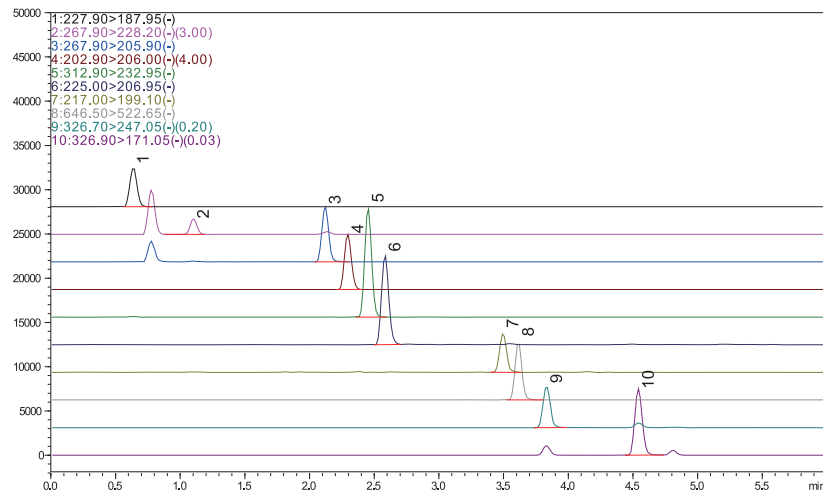


图23 加标0.2 mg/kg 着色剂的口红样品

表6 加标样的回收率结果 (n=3)

No.	样品名称	样品浓度(mg/kg)	回收率(%)	RSD%
1	溶剂绿7	ND	97.3	4.1
2	食品红9	ND	63.1	3.2
3	食品红7	ND	89.5	2.9
4	食品黄3	ND	108.0	3.5
5	酸性黄1	ND	117.2	4.2
6	食品红17	ND	101.3	3.0
7	食品红1	ND	88.5	2.9
8	酸性红87	ND	97.3	2.2
9	橙黄I	ND	81.2	1.8
10	酸性橙7	ND	111.0	2.2

ND 为未检测到

■ 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 联用测定口红样品中十种着色剂的方法。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 0.01~1.03% 和 0.45~4.23% 之间，仪器精密度良好；基质加标校准曲线相关系数均大于 0.9948，方法检出限和方法定量限分别介于 0.0061~0.0464 mg/L 和 0.0243~0.1854 mg/L 之间。该方法分析速度快、重复性好、灵敏高、定量准确，适合溶剂绿 7、食品红 9、食品红 7、食品黄 3、酸性黄 1、食品红 17、食品红 1、酸性红 87、橙黄 I 和酸性橙 7 十种着色剂的检测。

图 24 化合物列表

化合物中文名	英文名	CAS号
溶剂绿7	Solvent Green 7	6358-69-6
食品红9	Acid Red 27	915-67-3
食品红7	Carmine	1390-65-4
食品黄3	Food Yellow 3	2783-94-0
酸性黄1	Naphthol Yellow S	846-70-8
食品红17	Allura Red AC	25956-17-6
食品红1	Ponceau SX	4548-53-2
酸性红87	Acid Red 87	548-26-5
橙黄 I	Orange I	523-44-4
酸性橙7	Acid Orange 7	633-96-5