

# LC/LCMSMS 法测定化妆品中联苯乙烯二苯基二磺酸二钠等 5 种荧光增白剂

## LCMSMS-816

**摘要：** 本文使用岛津高效液相色谱仪建立了快速测定化妆品中荧光增白剂 85 等 5 种原料含量的方法，并使用 LC-MS/MS 建立了化妆品样品的确证方法。5 种荧光增白剂在相应标曲范围内，相关系数均大于 0.999，各浓度点的回读准确度在 85.9%~113.1% 之间，线性相关性良好。稳定性考察中，5 种组分的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.06~0.41% 和 0.13~0.54% 之间，仪器精密度良好。对于有阳性检出的样品，建立了 LC-MS/MS 阳性确证方法，仪器检出限在 0.03~12.8 ng/mL 之间，经过验证，LC-MS/MS 作为 5 种荧光增白剂定性确证方法，满足标准检测需要。本文中所建立的 LC 和 LC-MS/MS 法能满足国家药监局公布的《化妆品中联苯乙烯二苯基二磺酸二钠等 5 种原料的检验方法》的检测需求。

**关键词：** 超高效液相色谱 三重四极杆液质联用仪 荧光增白剂 化妆品

### 技术特点：

- ❖ 应对国家药监局发布的《化妆品中联苯乙烯二苯基二磺酸二钠等 5 种原料的检验方法》的检测需求。
- ❖ 使用 LC 和 LCMSMS 法实现对化妆品中 5 种荧光增白剂的快速分析和阳性确证。

荧光增白剂是一种荧光染料，按化学结构可分为香豆素型、萘二甲酰胺型、吡唑啉型、苯并噁唑型和三嗪氨基二苯乙烯型，它们均能提高基体的白度和亮度，被广泛应用于化妆品、洗涤用品、纺织品等生产领域。荧光增白剂含有芳香胺基结构和苯乙烯结构，长期接触存在致癌风险。基于消费者对化妆品的需求越来越大，尤其对美白类产品的需求日益增长，而目前对化妆品中荧光增白剂的检测方法仍然较少，因此，有必要建立同时测定化妆品中多种类型荧光增白剂的

可靠检测方法。

参考 8 月 22 日国家药监局发布通告（2023 年第 41 号）中《化妆品中联苯乙烯二苯基二磺酸二钠等 5 种原料的检验方法》的检测方法，使用岛津高效液相色谱仪，建立分析化妆品中 5 种荧光增白剂的定量分析方法，对于有检出的阳性样品，建立了 LC-MS/MS 测定化妆品中 5 种荧光增白剂的阳性确证分析方法，为相关从业人员参考使用。

## ■ 实验部分

### 1.1 仪器

本实验采用岛津 Nexera LC-30 超高效液相色谱系统。

系统控制器：CBM-20A

输液泵：LC-30 AD

柱温箱：CTO-20AC

检测波长：Ex=360 nm, Em = 440 nm

自动进样器：SIL-30AC

检测器：RF-20AXS

色谱工作站：LabSolutions Ver. 5.114

### 1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱：Shim-pack GIST 250 mm ×4.6 mm I.D., 5 μm C18, 岛津（上海）实验器材有限公司，PN：227-30106-08）

流动相：A-25mM 乙酸铵水溶液（pH 8.0），B-乙腈

流速：1.0 mL/min

进样体积：10 μL

柱温：35°C

洗脱方式：梯度洗脱，B 初始 8%，见表 1

表 1 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value (B%)
10.00	Pumps	Pump B Conc.	30
16.00	Pumps	Pump B Conc.	90
20.00	Pumps	Pump B Conc.	90
20.01	Pumps	Pump B Conc.	98
34.00	Pumps	Pump B Conc.	98
35.00	Pumps	Pump B Conc.	30
40.00	Controller	Stop	30

### 1.3 标准储备溶液的配制

称取荧光增白剂 85、荧光增白剂 351、荧光增白剂 140、荧光增白剂 367、荧光增白剂 184 标准品各 10 mg 分别置于 50 mL 容量瓶中，加 N, N- 二甲基甲酰胺溶解并定容至刻度，摇匀，得到浓度分别为 0.2 mg/mL 的各组分储备溶液。分别精密量取荧光增白剂 85 单标溶液 5.00 mL、荧光增白剂 351、荧光增白剂 140、荧光增白剂 367、荧光增白剂 184 单标溶液各 0.50 mL 置于同一 100 mL 容量瓶中，加 N, N- 二甲基甲酰胺使溶解并定容至刻度，摇匀，再精密量取上述溶液 2.5 mL 置于 50 mL 容量瓶，加混合溶剂定容至刻度，摇匀，即得混合标准储备溶液。混合储备溶液避光保存于 0°C -4°C 冰箱中，应于 2 天内使用。

### 1.4 样品前处理方法

称取样品 0.5 g (精确到 0.001 g)，置于 10 mL 具塞比色管中，加入 N, N- 二甲基甲酰胺定容至刻度，涡旋 60 s，混匀，超声提取 20 min，以 10000 r/min 离心 10 min，精密量取上清液 0.50 mL 于 10 mL 具塞比色管中，加混合溶剂定容至刻度，作为待测溶液。

## ■ 结果与讨论

### 2.1 校准溶液色谱图

5 种荧光增白剂色谱图如图 1 所示。

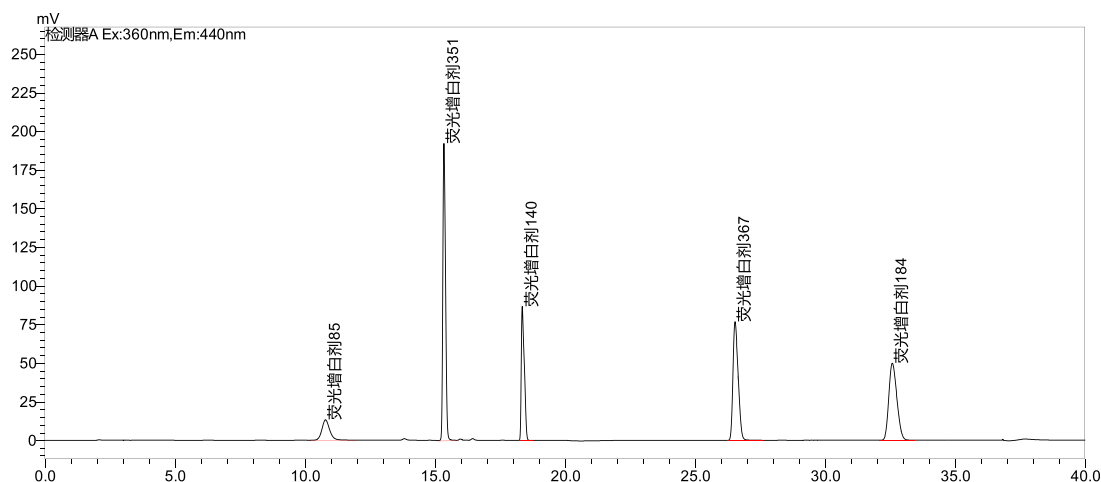


图 1 5 种荧光增白剂校准溶液色谱图 ( 荧光增白剂 85: 100 ng/mL; 荧光增白剂 351、140、367、184: 10 ng/mL)

## 2.2 线性关系

取 1.3 中混合标准储备液 0.01 mL、0.02 mL、0.04 mL、0.10 mL、0.20 mL、0.40 mL、1.00 mL、2.00 mL、4.00 mL、10.00 mL 于 10 mL 容量瓶中，用混合溶剂稀释至刻度，制得混合标准系列溶液。以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，外标法拟合工作曲线，5 种荧光增白剂校准曲线见图 2。各浓度点线性回归的准确度、相关系数  $r$ 、仪器检出限（根据线性最低浓度点计算，ASTM 法， $S/N=3$ ）见表 2。结果显示，各化合物在相应线性范围内线性关系良好，相关系数  $r$  都大于 0.999，准确度在 85.9%~113.1% 之间，仪器检出限在 0.6~5.4 ng/mL 之间，满足相关测试要求。

表 2 5 种荧光增白剂线性系数（权重 1/C）

序号	化合物名称	线性范围 (mg/L)	相关系数 $r$	准确度 %	仪器检出限 (ng/L)
1	荧光增白剂 85	0.01~4.0	0.9999	86.2~113.1	5.4
2	荧光增白剂 351	0.004~1.0	0.9998	87.1~108.8	1.3
3	荧光增白剂 140	0.004~1.0	0.9999	90.1~105.3	1.1
4	荧光增白剂 367	0.002~1.0	0.9999	85.9~110.4	0.6
5	荧光增白剂 184	0.002~1.0	0.9998	89.0~107.7	0.8

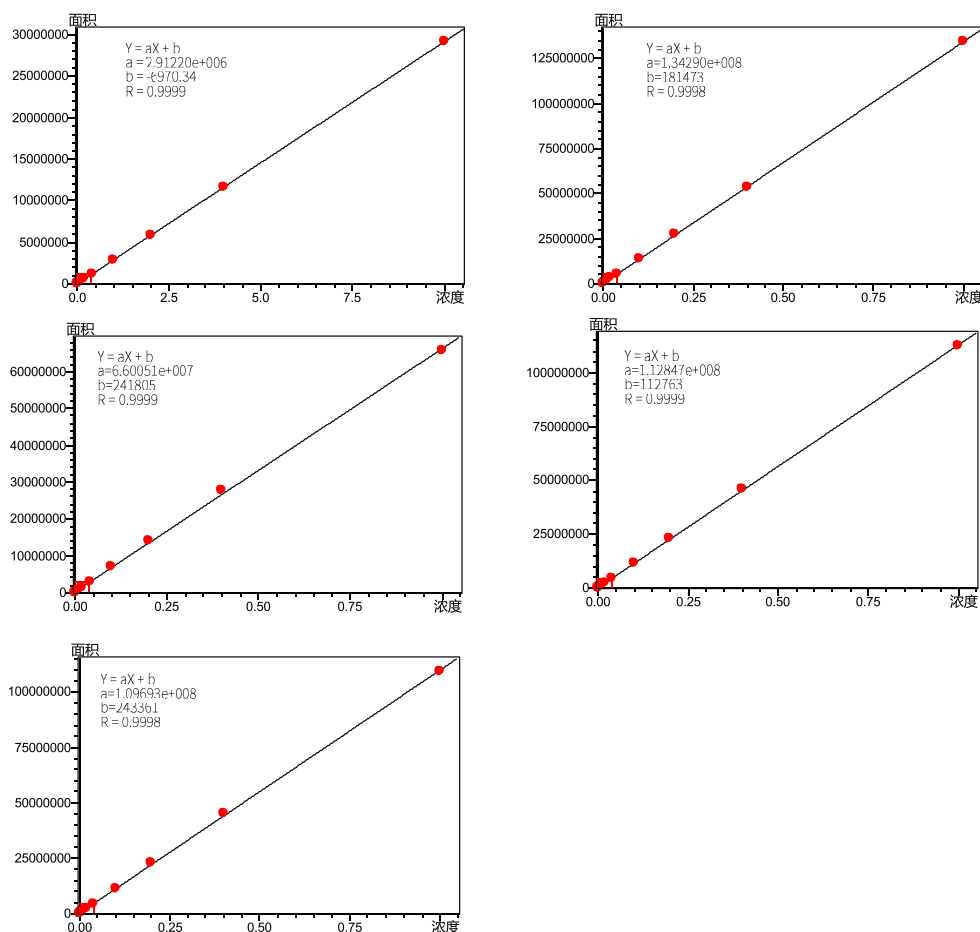


图 2 5 种荧光增白剂校准曲线

### 2.3 精密度

对不同浓度标准工作液连续测定 6 次，考察仪器精密度，保留时间和峰面积的重复性结果如表 3 所示。结果显示不同浓度化合物的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.05%~0.15% 和 1.42%~3.26% 之间，仪器精密度良好。

表 3 保留时间和峰面积重复性

序号	化合物名称	RSD% (0.01/0.1) mg/L		RSD% (0.04/0.4) mg/L	
		R.T.	Area	R.T.	Area
1	荧光增白剂 85	0.35	0.27	0.41	0.52
2	荧光增白剂 351	0.10	0.13	0.09	0.19
3	荧光增白剂 140	0.04	0.22	0.07	0.54
4	荧光增白剂 367	0.06	0.43	0.08	0.29
5	荧光增白剂 184	0.11	0.25	0.09	0.18

### 2.4 回收率测试

取面膜样品加入一定浓度荧光增白剂标液（加标浓度如表 4 所示），按照 1.4 中样品制备方法，每个浓度平行制备 3 份样品。对本底样品进行测试，面膜样品未检出 5 种荧光增白剂，加标回收率测试结果显示：5 种荧光增白剂的样品加标回收率在 81.5%~93.1% 之间，结果如表 4 所示。

表 4 回收率测试结果 (n=3)

序号	化合物名称	加标浓度 (10/100 mg/kg)		加标浓度 (40/400 mg/kg)	
		检测值 (mg/kg)	回收率 (%)	检测值 (mg/kg)	回收率 (%)
1	荧光增白剂 85	87.4	87.4	361.0	90.3
2	荧光增白剂 351	8.15	81.5	33.8	84.5
3	荧光增白剂 140	9.13	91.3	37.0	92.6
4	荧光增白剂 367	8.64	86.4	34.8	87.0
5	荧光增白剂 184	9.31	93.1	36.9	92.2

## ■ 阳性确证方法

测定过程中若有阳性结果，可采用液相色谱 - 质谱联用法进一步确证。

### 3.1 实验部分

#### 3.1.1 仪器

采用岛津超高效液相色谱 LC-40 X3 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 联用系统。具体配置为：

系统控制器：	CBM-40	自动进样器：	SIL-40C X3
输液泵：	LC-40B X3	质谱仪：	LCMS-8050
柱温箱：	CTO-40C	色谱工作站：	LabSolutions Ver. 5.99

#### 3.1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱：Shim-pack GIST C18 (50 mm x2.1 mm I.D., 2um, 岛津(上海)实验器材有限公司, PN: 227-30001-02)

流动相：A-10 mM 乙酸铵水溶液，B- 乙腈

流速：0.4 mL/min

进样体积：1  $\mu$ L

柱温：35°C

洗脱方式：梯度洗脱，B 初始 10%，见表 5

表 5 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value (B%)
5.0	Pumps	Pump B Conc.	90
10.0	Pumps	Pump B Conc.	90
10.1	Pumps	Pump B Conc.	10
12.0	Pumps	Pump B Conc.	10

质谱条件

离子源：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

扫描模式：多反应监测 (MRM)

D L 温度：250°C

加热模块温度：400°C

接口温度：300°C

接口电压：4 kV(ESI+);-3 kV(ESI-)

表 6 MRM 参数

序号	化合物名称	CAS 号	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bais(V)	CE(V)	Q3 Pre Bais(V)
1	荧光增白剂 85	12224-06-5	413.25	311.15*	15.0	23.0	21.0
				271.25	15.0	26.0	18.0
2	荧光增白剂 351	27344-41-8	258.10	226.15*	17	18	16
				80.05	17	33	10
3	荧光增白剂 140	91-44-1	232.20	188.1*	-10	-28	-20
				203.15	-10	-19	-14
4	荧光增白剂 367	5089-22-5	363.20	270.1*	-11	-35	-19
				244.05	-11	-39	-25
5	荧光增白剂 184	7128-64-5	431.25	415.1*	-12	-44	-30
				401.1	-11	-42	-20

\* 表示定量离子

## ■ 结果与讨论

### 3.2.1 校准溶液色谱图

5 种荧光增白剂色谱图如图 3 所示。

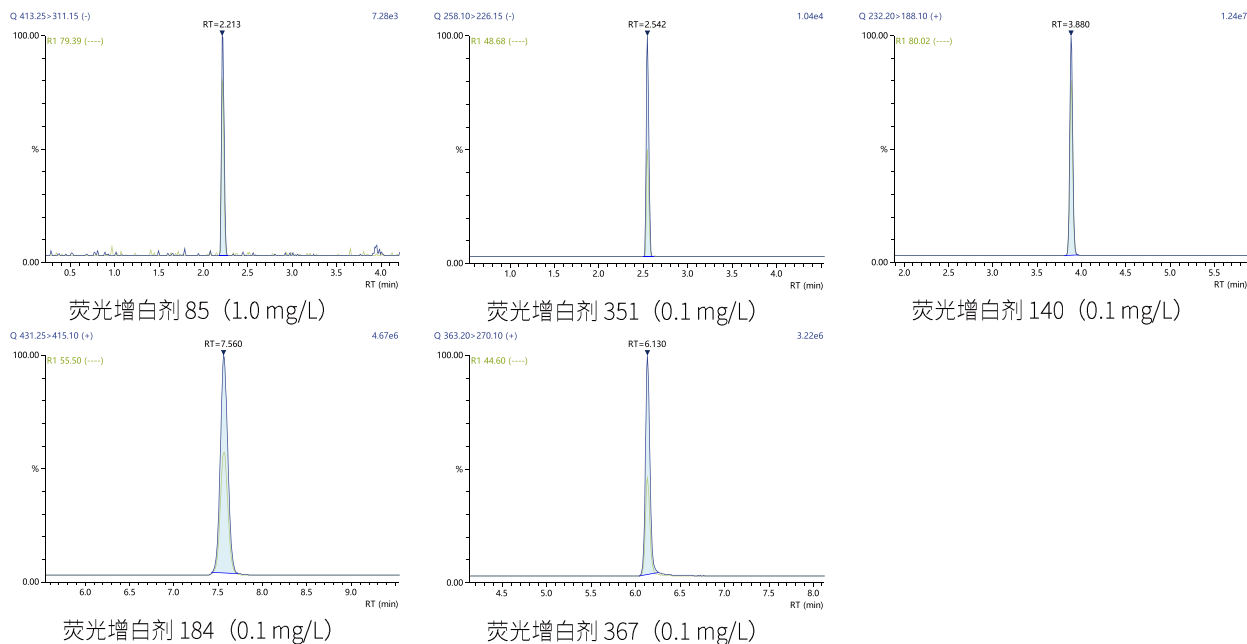


图 3 5 种荧光增白剂校准溶液色谱图

### 3.2.2 线性关系

依据标准，将 1.3 中配制的标准溶液，按 1.4 条件进行测试，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，外标法拟合工作曲线，5 种荧光增白剂校准曲线见图 2。各浓度点线性回归的准确度、相关系数  $r$ 、仪器检出限（根据线性最低浓度点计算，ASTM 法， $S/N=3$ ）见表 7。结果显示，各化合物在相应线性范围内线性关系良好，相关系数  $r$  都大于 0.998，准确度在 87.2%~111.6% 之间，仪器检出限在 0.03~12.8 ng/mL 之间，满足相关测试要求。

表 7 5 种荧光增白剂线性系数（权重 1/C）

序号	化合物名称	线性范围 (mg/L)	相关系数 $r$	准确度 %	仪器检出限 (ng/L)	相对离子丰度比 允差范围 (%)
1	荧光增白剂 85	0.04~4.0	0.9998	94.1~104.1	12.8	62.8~94.2
2	荧光增白剂 351	0.001~1.0	0.9995	88.4~111.6	0.06	43.6~65.4
3	荧光增白剂 140	0.001~0.4	0.9996	88.1~107.2	0.03	65.1~97.7
4	荧光增白剂 367	0.001~0.4	0.9984	87.3~108.7	0.35	42.2~63.4
5	荧光增白剂 184	0.001~0.4	0.9990	87.2~109.6	0.28	35.6~59.4

### 3.2.3 精密度

对不同浓度标准工作液连续测定 6 次，考察仪器精密度，保留时间和峰面积的重复性结果如表 8 所示。结果显示不同浓度化合物的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.05%~0.15% 和 1.42%~3.26% 之间，仪器精密度良好。

表 8 保留时间和峰面积重复性

序号	化合物名称	RSD% (0.02/0.2) mg/L		RSD% (0.1/1.0) mg/L	
		R.T.	Area	R.T.	Area
1	荧光增白剂 85	0.13	2.78	0.15	2.26
2	荧光增白剂 351	0.12	3.26	0.08	3.09
3	荧光增白剂 140	0.05	1.75	0.06	1.42
4	荧光增白剂 367	0.07	2.13	0.05	2.06
5	荧光增白剂 184	0.06	1.92	0.03	1.57

## ■ 结论

本文使用岛津相色谱仪建立了快速测定化妆品中荧光增白剂 85 等 5 种原料含量的方法，并考察了线性、重复性、实际样品测试等，可以满足国家药监局发布的《化妆品中联苯乙烯二苯基二磺酸二钠等 5 种原料的检验方法》的检测需求。针对检出的阳性样品，建立了 LC-MS/MS 分析方法，该方法中荧光增白剂 85 等 5 种原料标准曲线相关系数在 0.9984~0.9998 之间，各浓度点的回读准确度在 87.2%~111.6% 之间，线性相关性良好。稳定性考察中，5 种组分的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.05%~0.15% 和 1.42%~3.26% 之间，仪器精密度良好。经过验证，LC-MS/MS 法作为 5 种荧光增白剂定性确证方法，满足标准检测需要，可为化妆品质量监测等相关行业的从业人员参考使用。

岛津应用云

