

LC-MS/MS 法测定化妆品中 52 种染发剂

LCMSMS-999

摘要： 本文使用岛津三重四极杆液质联用仪建立了快速测定化妆品中 52 种染发剂的方法。52 种化合物的校准曲线的相关系数 r 均大于 0.995，在相应标曲范围内线性相关性良好，各浓度点的准确度在 85.4%~113.8% 之间。稳定性考察中，52 种化合物的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.07%~0.53% 和 1.33%~6.49% 之间，仪器精密性良好。样品加标回收率在 74.53%~119.26% 之间，仪器检出限在 0.14~46.82 ng/mL 之间。

关键词： 染发剂 化妆品 三重四极杆液质联用仪

技术特点：

- ❖ 将现有 40 多种染发剂检测数量扩充至 52 种，增加染发剂检测覆盖范围。
- ❖ Peak intelligence 智能积分功能相比传统积分，能够正确识别未检出样品噪音峰，提高实际样品分析效率。

染发剂是一种用于改变头发颜色的化学产品，广泛应用于美容行业和个人护理中。根据成分和效果，染发剂主要分为三类：永久性染发剂、半永久性染发剂和临时染发剂。染发剂的颜色范围广泛，包括自然色调和时尚色彩，满足不同消费者的需求。然而，染发剂中含有化学成分，可能对头皮和头发造成一定伤害，部分染发剂可能导致过敏、产生炎症、致癌等风险。因此，染发剂作为特殊化妆品，要注册备案的；监管部分会根据备案成分，进行监管抽查。

《化妆品安全技术规范》（2015 年版）中表 7“化妆品准用染发剂”列出 75 种，去除着色剂类物质，还有 53 种化合物；但目前《化妆品安全技术规范》

（2015 年版）中涉及的检测方法有“对苯二胺等 32 种原料”和“2-氨基-4-羟乙氨基茴香醚硫酸盐等 15 种原料”均采用 LC 定量方法以及 LC-MS/MS 确证方法；还有部分染发剂物质并未有检测方法，为此联合有关单位开发快速同时分析全部染发剂的方法就显得尤为重要。

本文参考《化妆品安全技术规范》中染发剂种类及其检测方法，将现有染发剂由 40 多种（2 个 LC-MS/MS 法分析）扩充至 52 种，并建立了使用 LC-MS/MS 同时分析化妆品中 52 种染发剂含量方法，供有关人员参考。

■ 实验部分

1.1 仪器

岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用系统。具体配置为：

系统控制器：	CBM-20A	自动进样器：	SIL-30AC
输液泵：	LC-30AD	质谱仪：	LCMS-8045
柱温箱：	CTO-30AC	色谱工作站：	LabSolutions Ver. 5.118

1.2 分析条件

液相条件

- 色谱柱：Shim-pack Scepter C18 2.1 mm I.D. × 100 mm L., 3 μm
(P/N: 227-31014-05, 岛津(上海)实验器材有限公司)
- 流动相：A 相 -5 mmol/L 乙酸铵水溶液（正离子模式）；B 相 - 乙腈。
- 流速：0.3 mL/min
- 柱温：40°C
- 进样体积：5 μL
- 洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 5%，时间程序见表 1。

表 1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
4.00	泵	B.Conc	5
11.00	泵	B.Conc	20
16.00	泵	B.Conc	70
17.00	泵	B.Conc	95
19.00	泵	B.Conc	95
19.10	泵	B.Conc	5
23.00	控制器	Stop	

质谱条件

离子源：	ESI+/-	D L 温度：	250℃
雾化气流速：	3.0 L/min	加热模块温度：	400℃
加热气流速：	10.0 L/min	接口温度：	300℃
干燥气流速：	10.0 L/min	扫描模式：	多反应监测 (MRM)
接口电压：	+4 kV/-3 kV		

表 2 MRM 参数

No.	中文名称	CAS No.	前体离子	产物离子	Q1Pre Bias(V)	CE(V)	Q3Pre Bias(V)
1	1,3-双-(2,4-二氨基苯氧基)丙烷	81892-72-0	289.05	137.15*	-20	-24	-12
				165.15	-30	-16	-30
2	1,5-萘二酚	83-56-7	159.05	115.05*	18	21	12
				131.10	18	23	23
3	4,5-二氨基-1-(2-羟乙基)吡啶硫酸盐	155601-30-2	143.10	99.10*	-17	-16	-18
				126.10	-10	-17	-22
4	1-萘酚 (C176605)	90-15-3	143.05	115.00*	16	26	20
				41.05	17	30	17
5	2,4-二氨基苯氧基乙醇 HCl	66422-95-5	169.10	124.10*	-12	-17	-21
				108.10	-12	-21	-10
6	2,6-二氨基吡啶	141-86-6	110.05	66.10*	-12	-25	-26
				93.05	-12	-19	-17
7	2,6-二羟乙基氨甲苯	149330-25-6	211.10	135.10*	-11	-27	-24
				107.00	-11	-39	-20
8	2,7-萘二酚	582-17-2	159.05	130.10*	19	26	13
				102.05	19	28	18
9	2-氨基-3-羟基吡啶	16867-03-1	111.05	94.05*	-12	-22	-16
				66.10	-12	-24	-25
10	2-氨基-4-羟乙氨基茴香醚	83763-47-7	183.25	123.15*	-13	-25	-20
				138.20	-12	-18	-12
11	2-氨基-6-氯-4-硝基苯酚	6358-09-4	187.00	120.00*	12	19	18
				157.00	12	13	27

12	2- 氯 - <i>p</i> - 苯二胺硫酸盐	61702-44-1	143.00	108.10*	-15	-18	-18
				80.10	-16	-26	-14
13	2- 甲基 -5- 羟乙氨基苯酚	55302-96-0	168.10	122.00*	-13	-31	-20
				77.00	-21	-48	-26
14	2- 甲基雷琐辛	608-25-3	123.05	55.00*	14	23	22
				79.00	14	14	14
15	3- 硝基对羟乙氨基酚	65235-31-6	199.10	123.10*	-11	-13	-23
				151.10	-11	-13	-28
16	4- 氨基 -2- 羟基甲苯	2835-95-2	124.10	109.05*	-14	-21	-18
				77.05	-14	-26	-30
17	4- 氨基 -3- 硝基苯酚	610-81-1	153.05	123.00*	17	13	22
				122.00	18	18	23
18	4- 氨基 - <i>m</i> - 甲酚	2835-99-6	124.10	109.05*	-14	-21	-18
				77.10	-14	-25	-28
19	4- 氯雷琐辛	95-88-5	143.00	79.00*	16	17	17
				106.95	16	14	11
20	4- 羟丙氨基 -3- 硝基苯酚	92952-81-3	213.10	123.10*	-11	-14	-23
				148.10	-11	-17	-27
21	4- 硝基 - <i>o</i> - 苯二胺	99-56-9	154.05	107.10*	-11	-22	-18
				137.05	-17	-16	-23
22	5- 氨基 -4- 氯 - <i>o</i> - 甲苯酚	110102-86-8	157.95	68.00	-11	-22	-10
				122.10	-28	-20	-25
23	5- 氨基 -6- 氯 - 邻甲酚	84540-50-1	158.00	123.10*	-12	-20	-22
				104.10	-11	-23	-21
24	6- 氨基 - <i>m</i> - 甲酚	2835-98-5	124.10	77.10*	-14	-27	-29
				106.10	-14	-19	-18
25	6- 羟基吡啶	2380-86-1	134.10	107.05*	-15	-22	-18
				77.10	-15	-32	-13
26	6- 甲氧基 -2- 甲氨基 -3- 氨基吡啶盐酸盐	83732-72-3	154.05	139.05	-17	-19	-12
				122.05	-11	-23	-11
27	酸性紫 43	4430-18-6	410.05	328.05	-21	-19	-21
				313.05	-15	-34	-13
28	碱性橙 31	97404-02-9	216.00	97.10	-27	-14	-28
				92.10	-26	-23	-18
29	碱性红 51	12270-25-6	244.20	120.10	-28	-18	-24
				148.15	-29	-12	-27
30	碱性红 76 号 (CI 12245)	68391-30-0	336.05	306.15	-23	-26	-20
				186.25	-23	-34	-18
31	碱性黄 87	116844-55-4	226.00	93.10	-28	-28	-28
				119.10	-25	-21	-22
32	分散黑 9 号	12222-69-4	301.10	92.15	-11	-24	-14
				149.15	-21	-24	-28

33	1,4-二氨基蒽醌 (分散紫 1 号)	128-95-0	239.05	139.05 166.10	-26 -12	-43 -34	-24 -15
34	4- (2- 硝基苯基) 氨基) 苯酚	54381-08-7	229.05	199.05 181.10	27 25	15 13	30 18
35	2- 硝基 -4- 氨基二苯胺	2784-89-6	230.05	195.10 168.10	-28 -12	-15 -29	-30 -15
36	2- (4- 氨基 -2- 硝基苯 氨基) 乙醇	116435-81-5	198.10	133.10 180.10	-23 -10	-18 -12	-28 -10
37	N-(2- 硝基苯基) 乙醇胺	4926-55-0	183.05	107.10 119.10	-22 -10	-14 -18	-29 -10
38	N- [2- (2- 羟基乙氧基) -4- 硝基苯基] 乙醇胺	59820-43-8	243.00	226.15 135.05	-27 -12	-17 -26	-21 -11
39	羟苯并吗啉	26021-57-8	152.00	122.10 124.10	-29 -11	-21 -21	-23 -11
40	羟乙基 -2- 硝基对甲苯胺	100418-33-5	197.10	121.10* 94.00	-11 -15	-16 -22	-22 -18
41	羟乙基 -3,4- 亚甲 二氧基苯胺盐酸盐	94158-14-2	182.10	137.00* 106.00	-13 -10	-18 -19	-26 -20
42	羟乙基对苯二胺硫酸盐	93841-25-9	153.10	135.00* 118.00	-11 -18	-18 -25	-25 -21
43	羟丙基双 (N- 羟乙基 对苯二胺) 盐酸盐	128729-28-2	361.15	165.15 121.15	-18 -18	-25 -42	-30 -20
44	<i>m</i> - 氨基苯酚	591-27-5	110.05	65.10* 93.10	-12 -12	-23 -18	-25 -17
45	N,N- 双 (2- 羟乙基) - <i>p</i> - 苯二胺硫酸盐	54381-16-7	197.15	121.10* 152.10	-22 -21	-26 -16	-21 -14
46	N- 苯基 - <i>p</i> - 苯二胺	101-54-2	185.10	108.10* 80.10	-13 -13	-23 -51	-18 -29
47	<i>p</i> - 氨基苯酚	123-30-8	110.10	65.10* 93.05	-12 -12	-22 -18	-24 -17
48	4- 甲胺苯酚 (米吐尔)	55-55-0	124.00	109.10 80.20	-20 -14	-21 -33	-17 -12
49	<i>p</i> - 苯二胺	106-50-3	109.10	65.10* 92.10	-12 -12	-24 -17	-25 -18
50	间苯二酚	108-46-3	109.05	65.10* 41.05	13 13	14 22	12 16
51	2,4,5,6- 四氨基嘧啶硫酸盐	5392-28-9	141.00	82.15 55.10	-25 -10	-22 -30	-30 -18
52	甲苯 -2,5- 二胺硫酸盐	615-50-9	123.10	123.10* 123.10	108.10 77.05	-13 -13	-19 -30

* 表示定量离子

1.3 混合标准溶液制备

取浓度为 1.0 g/L 的各标准储备溶液适量于 10 mL 容量瓶中, 用乙腈:水 (1:1) 稀释, 配置成浓度分别为 0.01、0.02、0.05、0.1、0.2、0.5、1.0、2.0、5.0 和 10.0 mg/L 的混合标准工作溶液。

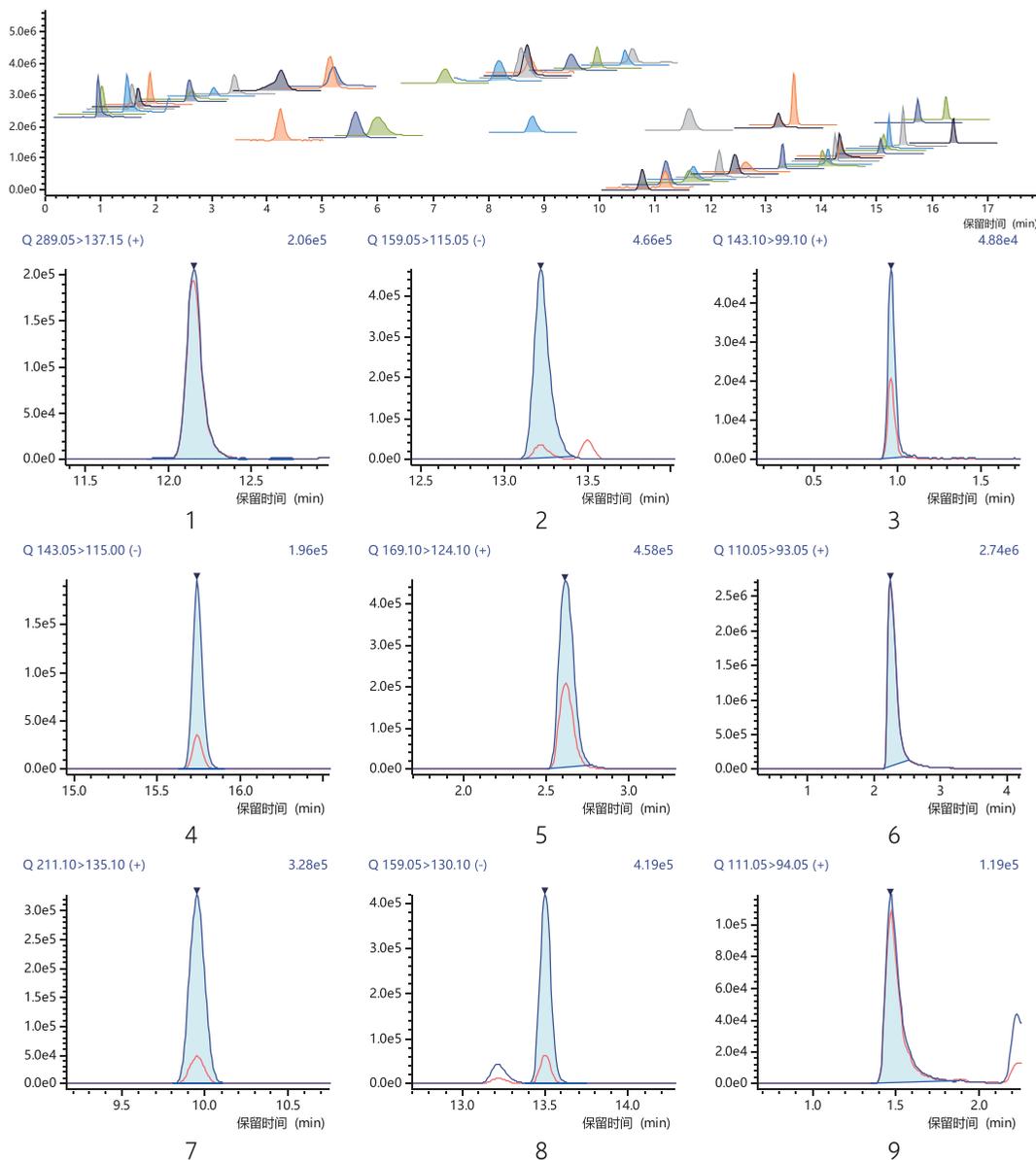
1.4 样品制备

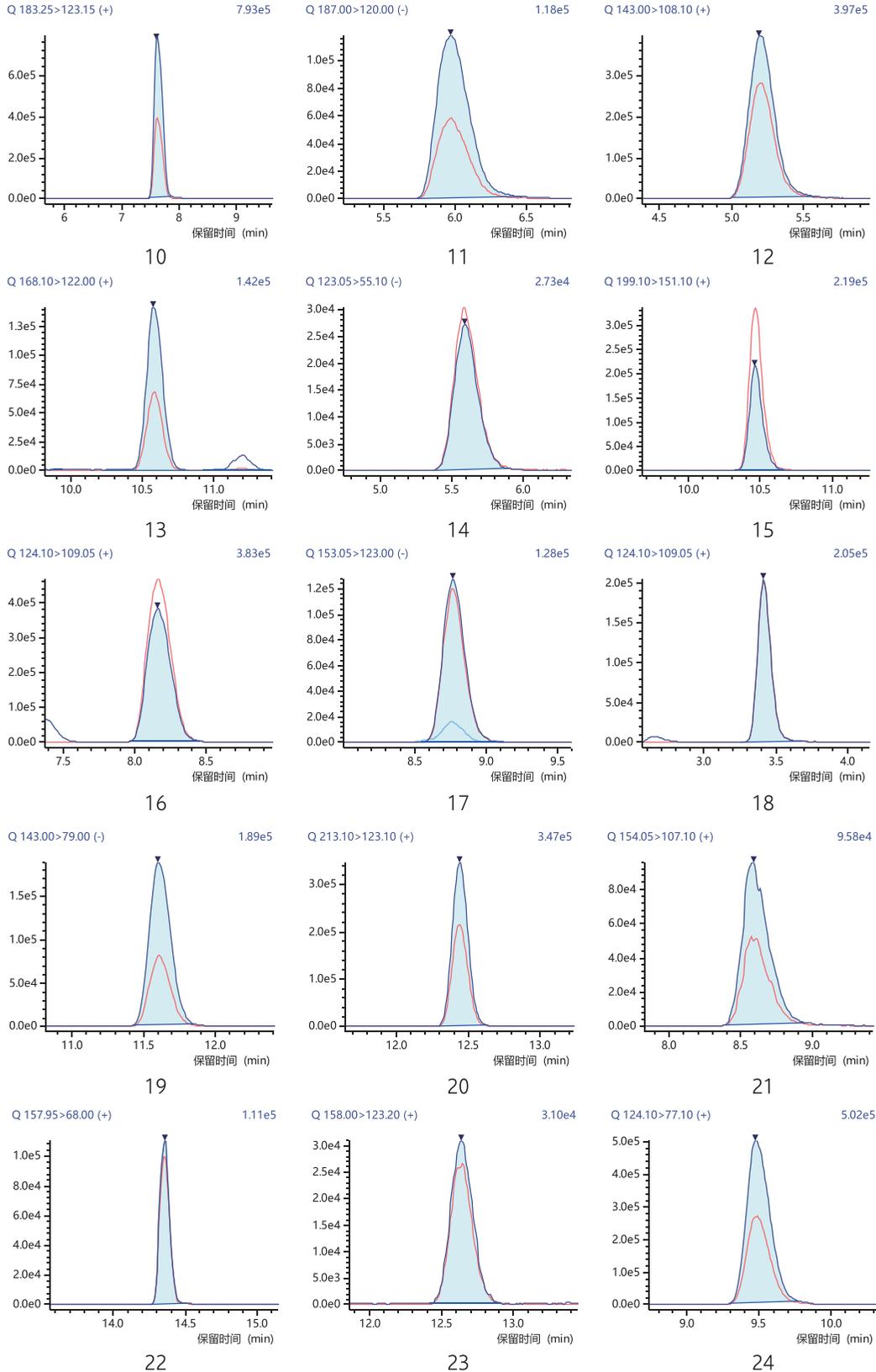
称取样品 0.5 g (精确到 0.001 g) 于 10 mL 塑料离心管中, 加无水乙醇 + 水 (1+1) 的混合溶液至 10 mL 刻度, 涡旋 1 min, 冰浴超声提取 15 min。如为浑浊溶液, 可取适量离心 (5000 rpm, 5 min), 取上清液经 0.22 μ m 微孔滤膜过滤, 滤液作为待测溶液, 需在 48 小时内完成测定。

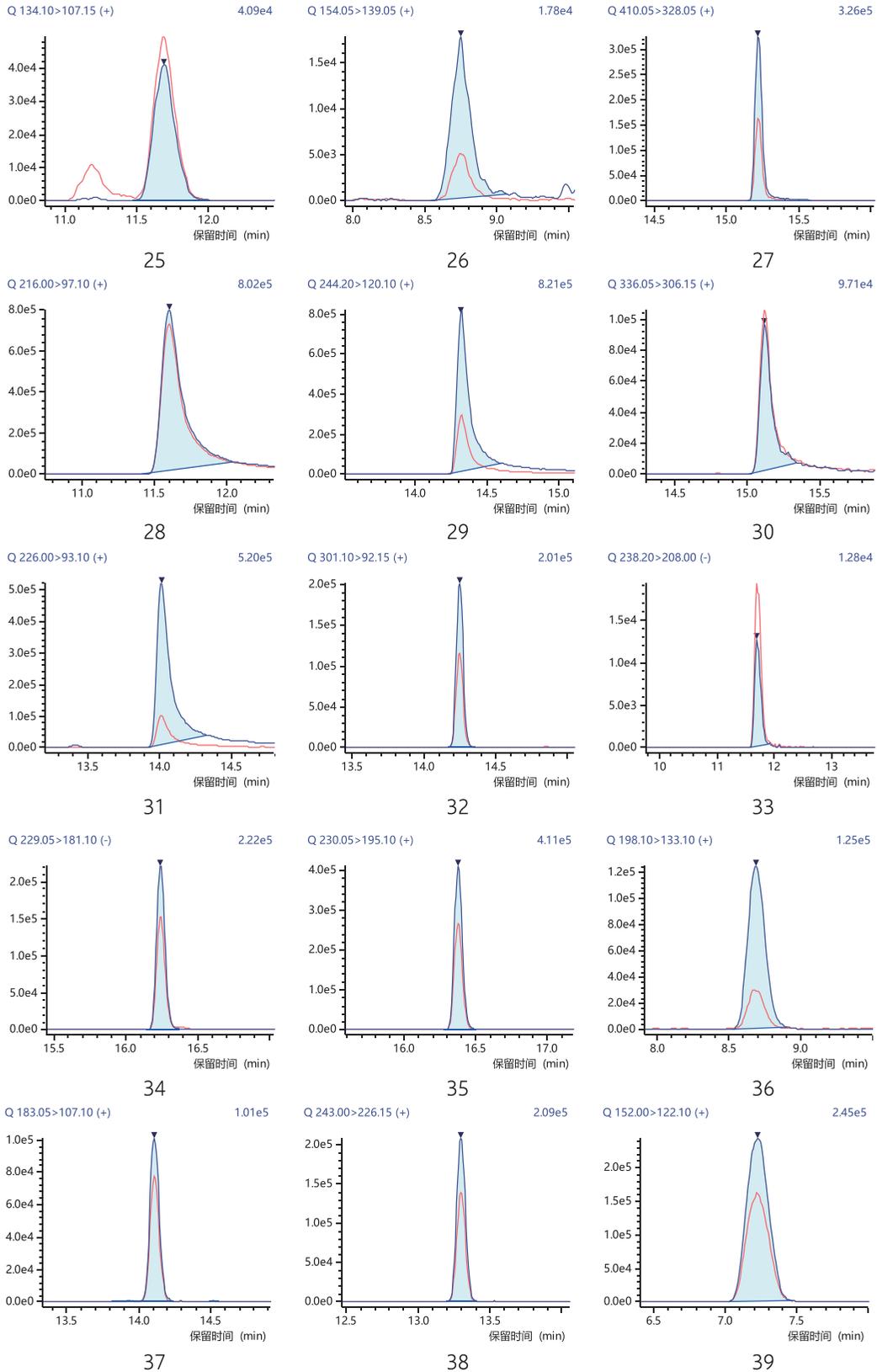
■ 结果与讨论

2.1 标准溶液色谱图

混合标准溶液的色谱图如图 1 所示, 编号同表 2。







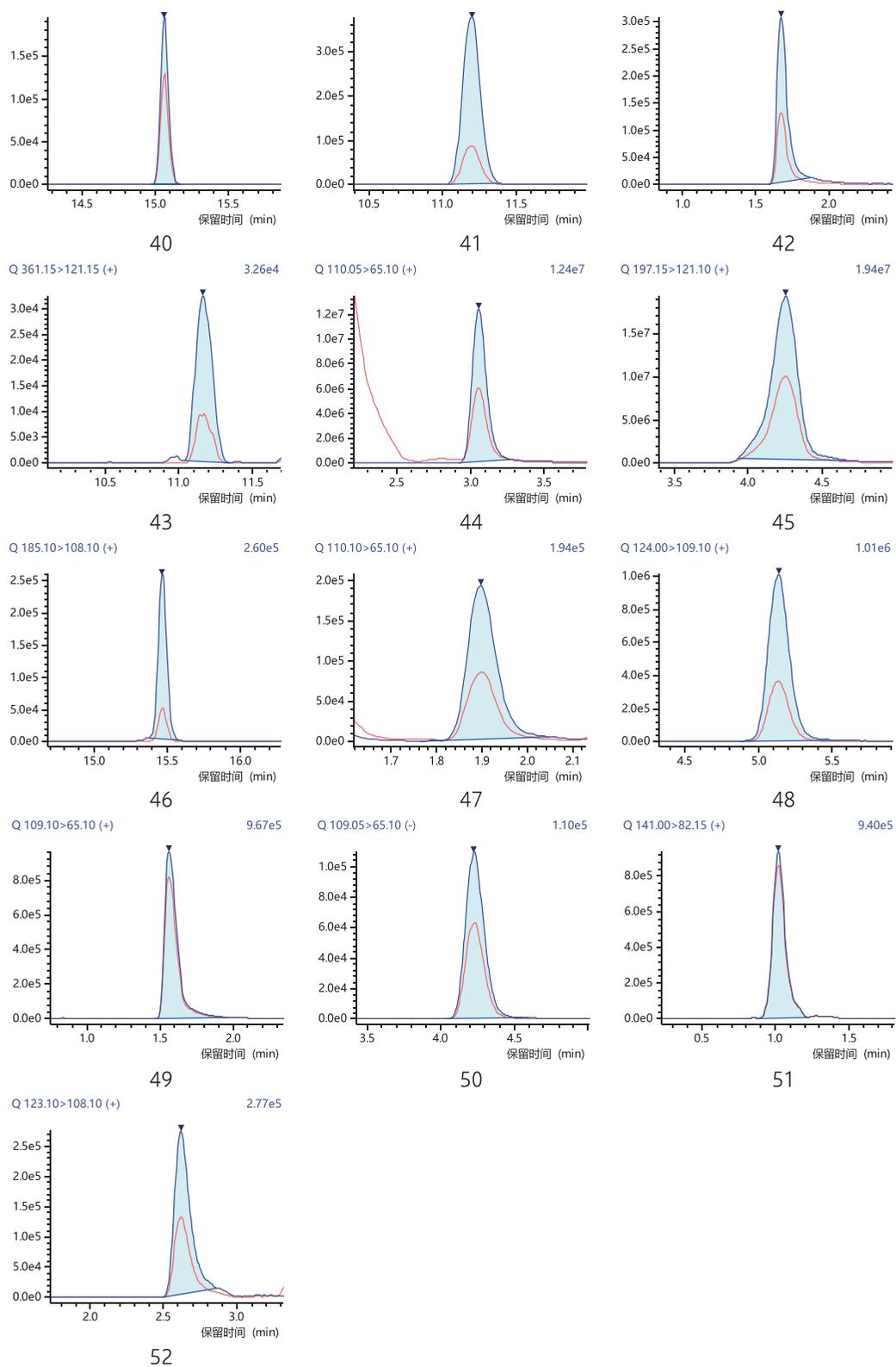


图 1 52 种染发剂 MRM 色谱图 (0.5 mg/L)

2.2 标准曲线

将 1.3 中配制的标准溶液，按 1.2 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，部分化合物校准曲线见图 2，编号同表 3。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 3。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 0.995，准确度在 85.4%~113.8% 之间，仪器检出限在 0.14~46.82 ng/mL 之间。

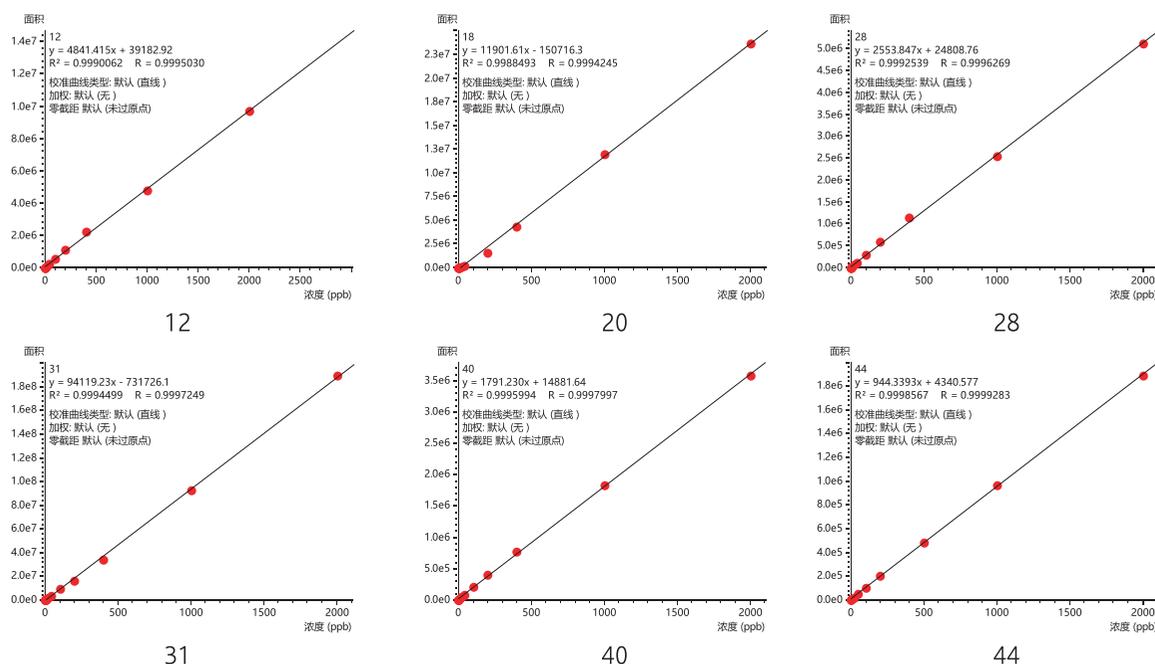


图 2 部分化合物标准曲线

表 3 52 种染发剂校准曲线信息

编号	化合物	线性范围 (mg/L)	相关系数 r	准确度 (%)	检出限 ($\mu\text{g/L}$)
1	1,3- 双 - (2, 4- 二氨基苯氧基) 丙烷	0.1-5	0.9989	88.1-106.8	13.45
2	1,5- 萘二酚	0.1-5	0.9991	93.0-109.9	5.68
3	4,5- 二氨基 -1- (2- 羟乙基) 吡唑硫酸盐	0.1-5	0.9991	86.2-110.3	4.23
4	1- 萘酚 (CI76605)	0.05-2	0.9995	99.0-105.8	1.03
5	2,4- 二氨基苯氧基乙醇 HCl	0.01-2	0.9991	97.8-109.1	0.89
6	2,6- 二氨基吡啶	0.05-2	0.9995	91.0-110.9	1.97
7	2,6- 二羟乙基氨甲苯	0.01-2	0.9999	95.1-105.5	0.38
8	2,7- 萘二酚	0.02-2	0.9999	98.2-103.5	1.53
9	2- 氨基 -3- 羟基吡啶	0.05-2	0.9994	89.2-108.1	2.13
10	2- 氨基 -4- 羟乙基氨基茴香醚	0.02-2	0.9994	89.7-113.4	4.13
11	2- 氨基 -6- 氯 -4- 硝基苯酚	0.05-5	0.9990	87.2-108.2	5.50
12	2- 氯 - <i>p</i> - 苯二胺硫酸盐	0.05-2	0.9990	87.6-108.3	2.79
13	2- 甲基 -5- 羟乙氨基苯酚	0.02-2	0.9995	86.8-106.6	0.84

14	2- 甲基雷琐辛	0.1-5	0.9997	93.1-106.9	8.73
15	3- 硝基对羟乙氨基酚	0.1-5	0.9979	90.2-109.7	6.34
16	4- 氨基 -2- 羟基甲苯	0.02-2	0.9988	87.5-108.9	1.52
17	4- 氨基 -3- 硝基苯酚	0.05-5	0.9990	99.1-101.6	2.32
18	4- 氨基 - <i>m</i> - 甲酚	0.02-2	0.9961	85.9-110.9	2.13
19	4- 氯雷琐辛	0.05-5	0.9996	97.4-103.2	3.17
20	4- 羟丙氨基 -3- 硝基苯酚	0.01-2	0.9994	87.5-111.5	0.52
21	4- 硝基 - <i>o</i> - 苯二胺	0.1-5	0.9996	90.1-106.8	16.18
22	5- 氨基 -4- 氯 - <i>o</i> - 甲苯酚	0.1-5	0.9993	86.0-110.9	15.70
23	5- 氨基 -6- 氯 - 邻甲酚	0.5-10	0.9994	93.1-107.2	3.35
24	6- 氨基 - <i>m</i> - 甲酚	0.05-2	0.9981	89.3-106.9	1.26
25	6- 羟基吡啶	0.1-5	0.9996	86.9-109.3	10.35
26	6- 甲氧基 -2- 甲氨基 -3- 氨基吡啶盐酸盐	0.5-10	0.9969	87.1-106.9	39.46
27	酸性紫 43	0.02-5	0.9979	87.3-112.1	2.86
28	碱性橙 31	0.05-2	0.9996	85.4-112.8	6.40
29	碱性红 51	0.01-2	0.9952	86.5-112.1	1.45
30	碱性红 76 号 (CI 12245)	0.01-2	0.9987	92.1-110.5	25.81
31	碱性黄 87	0.02-2	0.9994	89.7-105.8	2.53
32	分散黑 9 号	0.01-2	0.9998	95.6-109.4	0.29
33	1,4- 二氨基蒽醌 (分散紫 1 号)	0.05-2	0.9993	92.8-104.2	8.29
34	4- ((2- 硝基苯基) 氨基) 苯酚	0.2-10	0.9996	92.9-103.2	43.12
35	2- 硝基 -4- 氨基二苯胺	0.01-2	0.9990	87.9-109.2	0.26
36	2- (4- 氨基 -2- 硝基苯氨基) 乙醇	0.05-5	0.9953	90.3-113.4	7.39
37	N-(2- 硝基苯基) 乙醇胺	0.1-10	0.9954	90.5-111.7	16.49
38	N- [2- (2- 羟基乙氧基) -4- 硝基苯基] 乙醇胺	0.01-2	0.9991	85.8-108.6	0.14
39	羟苯并吗啉	0.5-10	0.9995	94.5-109.3	35.63
40	羟乙基 -2- 硝基对甲苯胺	0.01-2	0.9997	89.7-107.6	2.49
41	羟乙基 -3,4- 亚甲二氧基苯胺盐酸盐	0.01-2	0.9962	92.6-112.6	1.07
42	羟乙基对苯二胺硫酸盐	0.02-2	0.9993	95.1-105.6	0.83
43	羟丙基双 (N- 羟乙基对苯二胺) 盐酸盐	0.5-10	0.9958	87.3-107.9	46.82
44	<i>m</i> - 氨基苯酚	0.02-2	0.9999	85.9-107.7	2.03
45	N,N- 双 (2- 羟乙基) - <i>p</i> - 苯二胺硫酸盐	0.05-2	0.9958	89.3-110.7	3.26
46	N- 苯基 - <i>p</i> - 苯二胺	0.02-2	0.9983	94.6-108.9	2.34
47	<i>p</i> - 氨基苯酚	0.05-5	0.9993	86.4-109.0	11.37
48	4- 甲苯苯酚 (米吐尔)	0.02-2	0.9958	85.7-112.5	5.83
49	<i>p</i> - 苯二胺	0.05-5	0.9994	87.4-104.6	3.48

50	间苯二酚	0.1-5	0.9998	96.1-102.6	37.86
51	2,4,5,6-四氨基嘧啶硫酸盐	0.2-10	0.9966	88.3-113.8	41.36
52	甲苯-2,5-二胺硫酸盐	0.05-5	0.9991	88.3-110.7	1.84

2.3 精密度

配制不同浓度的混合标准溶液依次进样，每个浓度平行测定 6 次，考察仪器的精密度。结果显示，52 种化合物在各浓度下的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.07%~0.53% 和 1.33%~6.49% 之间，仪器精密度良好，测定结果如图 3-4 所示。

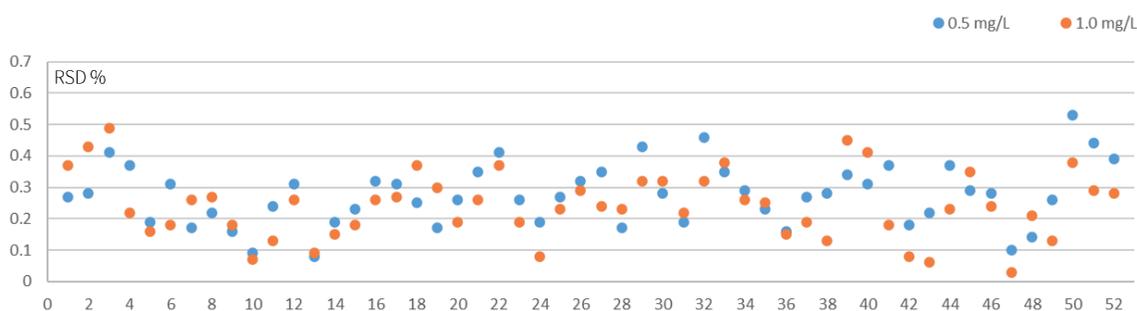


图 3 保留时间重复性结果 (n=6)

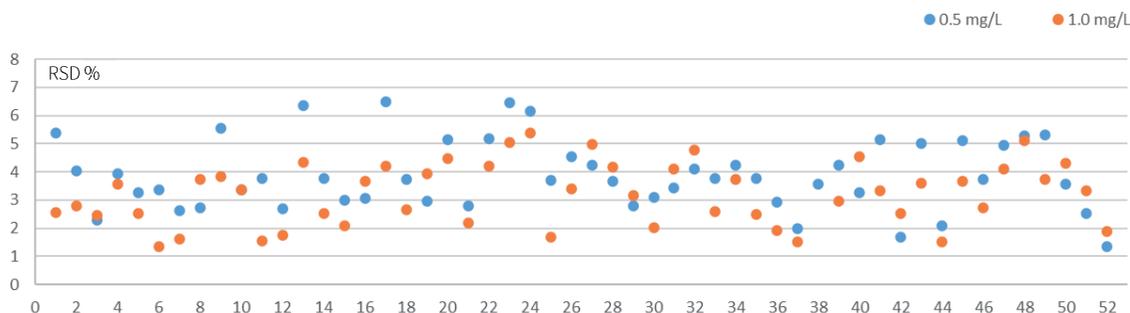


图 4 峰面积重复性结果 (n=6)

2.4 加标回收率测试

取化妆品样品（本底样品经测试未检出 52 种染发剂）加入一定浓度的混合标准工作溶液，按照 1.4 中样品制备方法，每个浓度平行制备 3 份样品，其中空白样品（未检出）和加标样的色谱图分别见下图 5 和 6。加标回收率测试结果显示：52 种化合物的样品加标回收率在 74.53%~119.26% 之间。

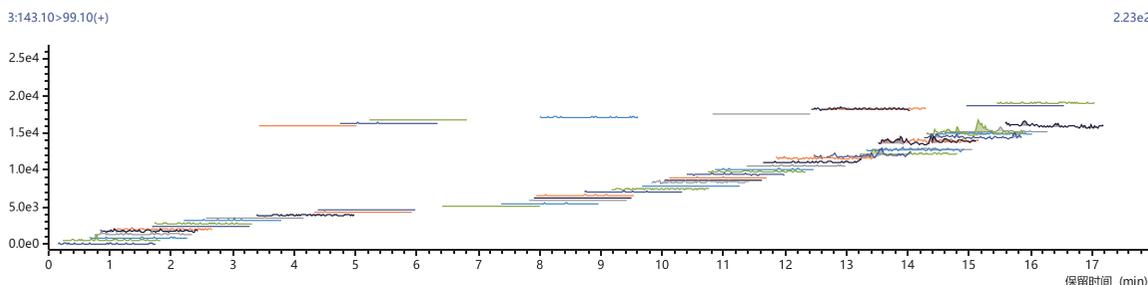


图 5 空白样品 MRM 色谱图

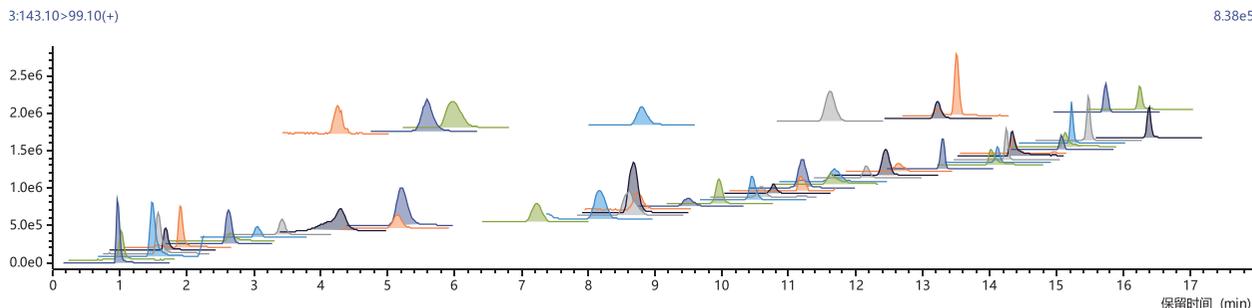


图 6 10 mg/kg 样品加标样的 MRM 色谱图

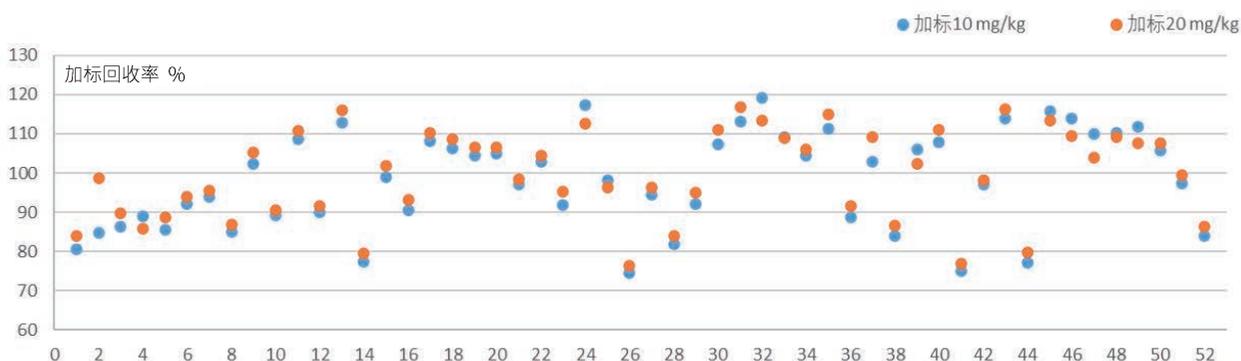


图 7 加标回收率结果 (n=3)

2.5 智能积分软件的使用

本次实验过程使用了岛津 Peakintelligence 智能积分功能。如图 8.1 和 8.2 所示，对于未检出的化合物，传统的积分方式仍会对噪音进行积分，需要实验人员手动取消该样品积分；而智能积分方式判断正确不进行积分。智能积分无需设置任何参数，较传统积分方式更加正确的对样品进行积分，减少实验人员重复校正积分的次数，提高工作效率。

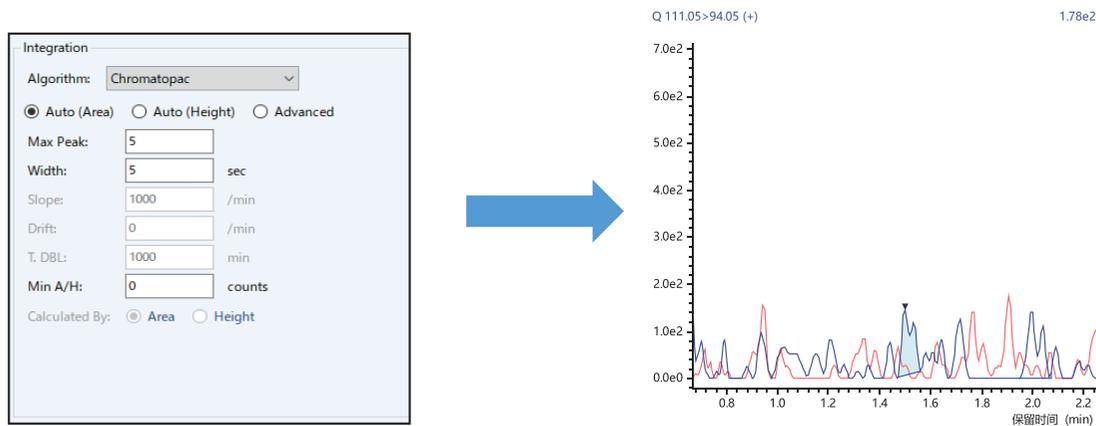


图 8.1 传统积分方式

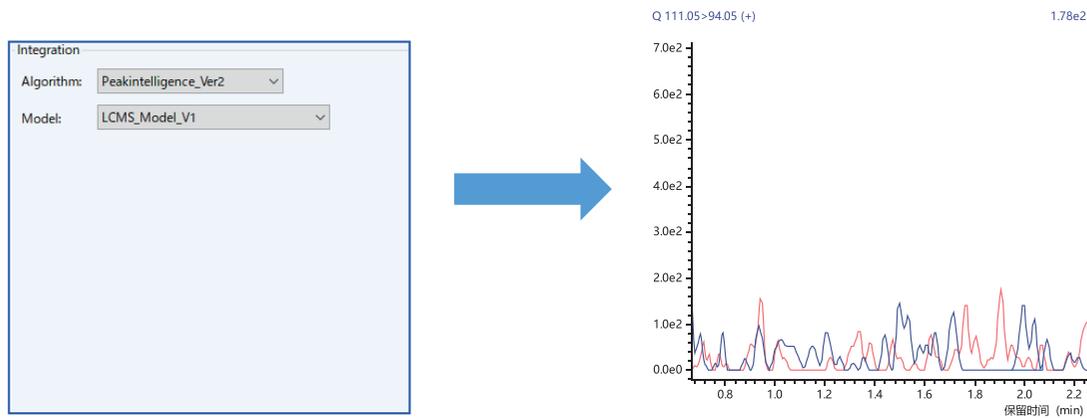


图 8.2 智能积分方式

■ 结论

本文使用岛津三重四极杆液质联用仪建立化妆品中 52 种染发剂的测定方法。在相应标曲范围内，各化合物的相关系数均在 0.995 以上。在分析精密度上，各化合物的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.07%~0.53% 和 1.33%~6.49% 之间；加标回收率在 74.53%~119.26% 之间，仪器检出限在 0.14~46.82 ng/mL 之间，满足方法检测限要求，可用于化妆品中 52 种染发剂的定性定量检测。

岛津应用云

