

LC-MS/MS 法测定化妆品中 38 种准用着色剂

LCMSMS-562

摘要：本文参考 GB/T37545-2019，使用岛津三重四极杆质谱联用仪 LCMS-8045 建立化妆品中 38 种准用着色剂的定性检测方法。方法学结果显示校准曲线的相关系数均在 0.996 以上；对不同浓度的混合标准溶液，各平行测试 6 次，各化合物的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.02 % ~ 0.30 % 和 0.48% ~ 5.14% 之间，仪器精密度良好；仪器检出限在 0.1~22.7 ng/mL 之间，满足国标规定的检出限要求，该法可用于化妆品中 38 种准用着色剂的定性分析。

关键词：超高效液相色谱三重四极杆质谱 准用着色剂 化妆品

化妆品中着色剂是指利用吸收或反射可见光的原理，使化妆品、身体或其部分呈现颜色的物质。按照来源方式，着色剂还可分为天然和合成两大类，其中合成类着色剂由于遮盖力、着色力强而广泛应用于唇膏、胭脂、指甲油等化妆品中，但很多合成着色剂来自煤焦油产物，存在一定的安全风险，具有光敏反应、生殖发育毒性，甚至少数可能诱发癌症。如今，化妆品着色剂引起的过敏性问题比之前少，主要是因为着色剂的纯度和安全性均有提高，而且不少化妆品生产企业为了回应消费者对着色剂安全性的疑虑，选用了相对安全的准用着色剂。随着着色剂成分的安全性日益受到消费者和监管部门的重视，各国都对其进行了风险评估，并做出了相应的规定和限制。

鉴于着色剂对人体健康有一定的危害，近年来对化妆品中着色剂检测方法的研究也日益重视，目前标准和文献中报道的检测方法主要为高效液相色谱法，且测试的化合物数量较少，直到 GB/T 37545—2019《化妆品中 38 种准用着色剂的测定 高效液相色谱法》颁布，可同时测试 38 种准用着色剂，该标准主体定量方法仍为液相色谱法，为提高分析准确度，补充了液质质方法作为定性检测方法。

本文参考该标准中的液质质定性方法，使用岛津三重四极杆液质联用仪 LCMS-8045，建立分析化妆品中 38 种准用着色剂的定性检测方法，为相关从业人员参考使用。

■ 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用系统。

具体配置为：

系统控制器：CBM-20A

脱气机：DGU-20A₅

输液泵：LC-30AD×2

自动进样器：SIL-30AC

柱温箱：CTO-20AC

质谱仪：LCMS-8045

色谱工作站：LabSolutions Ver.5.99

1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱：Shim-pack GIST-HP 100 mm × 2.1 mm I.D., 3.0 μm，岛津（上海）实验器材有限公司，PN：227-30765-03)

流动相：A-1 mM 氟化铵水溶液，B- 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 初始 10%，见表 1

表 1 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value (B%)
11.00	Pumps	Pump B Conc.	90
13.00	Pumps	Pump B Conc.	90
13.10	Pumps	Pump B Conc.	95
17.50	Pumps	Pump B Conc.	95
17.60	Pumps	Pump B Conc.	10
21.00	Controller	Stop	

质谱条件

离子源: ESI (±)

雾化气流速: 3.0 L/min

加热气流速: 10 L/min

干燥气流速: 10 L/min

接口温度: 300°C

加热块温度: 400°C

DL 温度: 250°C

MRM 参数: 见表 2

表 2 MRM 质谱参数

序号	化合物名称	CAS NO.	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias (V)	CE (V)	Q3 Pre Bias (V)
1	食品红 9	915-67-3	536.85	317.00*	26	32	22
				237.05	26	43	17
2	食品蓝 1	860-22-0	421.00	341.05*	20	28	24
				261.05	20	39	18
3	食品红 7	15876-47-8	536.80	301.95*	26	25	21
				349.10	26	34	25
4	食品黄 3	2783-94-0	407.05	207.00*	20	30	14
				235.00	20	24	26
5	酸性黄 1	846-70-8	313.05	233.00*	16	22	25
				296.00	16	22	22
6	酸性橙 10	1936-15-8	407.10	301.90*	21	17	21
				157.90	12	39	16
7	食品红 17	25956-17-6	452.90	217.10*	-16	-21	-13
				202.10	-22	-39	-12
8	食品红 10	3734-67-6	464.00	358.95*	23	23	26
				344.00	13	33	24
9	食品绿 3	2353-45-9	765.10	474.05*	-40	-41	-12
				306.15	-28	-49	-20
10	食品蓝 2	2650-18-2	749.10	306.10*	-28	-46	-13
				171.20	-22	-54	-10
11	酸性黄 11	6359-82-6	277.05	221.00*	30	16	24
				206.00	19	12	20
12	酸性红 50	5783-16-5	529.10	485.00*	26	40	18
				449.10	26	33	17

序号	化合物名称	CAS NO.	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias (V)	CE (V)	Q3 Pre Bias (V)
13	酸性黑 1	1064-48-8	571.15	507.10*	30	23	36
				357.00	30	30	26
14	酸性绿 22	5863-51-4	579.10	400.10*	-30	-39	-18
				415.10	-30	-23	-27
15	酸性蓝 1	129-17-9	543.15	419.20*	28	45	30
				463.15	28	34	23
16	酸性红 52	3520-42-1	557.15	513.05*	28	42	26
				469.00	28	56	22
17	酸性红 98	6441-77-6	557.20	513.00*	28	42	26
				433.05	28	45	16
18	酸性橙 7	633-96-5	327.15	171.00*	17	26	18
				155.90	17	32	17
19	溴甲酚绿	76-60-8	696.55	536.90*	34	34	40
				617.80	36	26	24
20	酸性绿 9	4857-81-2	703.20	517.10*	-20	-50	-24
				331.00	-20	-70	-21
21	酸性红 88	1658-56-6	377.15	221.00*	19	25	15
				143.00	19	26	14
22	酸性紫 43	4430-18-6	410.05	328.10*	-12	-18	-10
				313.10	-12	-32	-14
23	酸性紫 50	6837-46-3	740.30	554.20*	-22	-43	-26
				368.15	-22	-50	-24
24	颜料红 49	1248-18-6	377.05	269.05*	18	27	19
				206.00	18	21	10
25	酸性蓝 7	3486-30-4	669.25	91.10*	-20	-63	-17
				562.85	-20	-46	-26
26	食品蓝 5	3536-49-0	669.25	226.25*	-20	-38	-14
				563.15	-20	-42	-26
27	酸性紫 9	6252-76-2	589.15	545.10*	32	33	20
				185.05	30	35	20
28	酸性蓝 62	4368-56-3	399.10	316.05*	20	34	23
				225.05	20	49	24
29	酸性紫 2	3248-91-7	330.20	223.10*	-17	-25	-23
				208.25	-10	-33	-12
30	颜料红 64	6371-76-2	293.10	219.15*	-15	-20	-21
				142.05	-20	-28	-26
31	溶剂黄 33	8003-22-3	274.10	105.10*	-10	-20	-10
				228.10	-30	-23	-23

序号	化合物名称	CAS NO.	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias (V)	CE (V)	Q3 Pre Bias (V)
32	酸性黄 121	5601-29-6	694.10	373.00*	-36	-40	-16
				419.00	-20	-36	-19
33	溶剂红 3	6535-42-8	291.10	262.05*	30	27	28
				233.05	29	28	27
34	溶剂黄 29	6706-82-7	323.20	280.05*	22	23	20
				267.10	16	26	18
35	分散黄 16	4314-14-1	277.10	172.10*	30	24	30
				117.00	30	25	22
36	碱性蓝 26	2580-56-5	470.30	349.10*	-14	-40	-23
				454.15	-24	-45	-21
37	颜料红 4	2814-77-9	326.05	156.00*	15	19	16
				172.10	15	23	12
38	溶剂绿 3	128-80-3	419.20	327.10*	-16	-29	-10
				313.20	-16	-30	-13

* 表示定量离子

1.3 溶液的配制

标准储备溶液的配制

参考 GB/T37545-2019 方法，将 38 种准用着色剂进行分组，称重适量，分别溶解在水、甲醇、四氢呋喃、二甲基亚砜中，获得各浓度均为 1000 mg/L 的储备溶液。具体分组为：食品红 10、酸性紫 43、酸性橙 10、酸性蓝 62、酸性黄 1、酸性蓝 7、酸性黄 11、食品红 9、食品蓝 1、食品红 7、食品黄 3、食品红 17、食品蓝 2、食品绿 3 和食品蓝 5（总共 15 个）为第 1 组，溶解溶剂为水；溶剂红 3、溶剂黄 33、溶剂绿 3 和颜料红 4（总共 4 个）为第 2 组，溶解溶剂为四氢呋喃；颜料红 49 和颜料红 64（2 个）为第 3 组，溶解溶剂为 DMSO；其他如酸性红 88 等总共 17 个化合物为第 4 组，溶解溶剂为甲醇。

校准溶液配制

根据标准方法中各化合物的检出限差异，将食品红 9、食品蓝 1、食品红 7、酸性黄 11 和溴甲酚绿这 5 个化合物合为一组，由其储备溶液稀释混合获得 200 mg/L 的中间溶液 1；其余 33 个化合物合为第二组，混合稀释（溶剂为乙腈）获得 20 mg/L 的中间溶液 2。

将中间溶液 1 和 2 混合，使用 10% 乙腈水溶液（含 0.05 mol/L 乙酸铵）水溶液稀释，依次配制浓度分别为 5 (50) ng/mL, 10 (100) ng/mL, 20 (200) ng/mL, 50 (500) ng/mL, 100 (1000) ng/mL, 200 (2000) ng/mL 和 500 (5000) ng/mL 的标准工作液。

1.4 样品前处理方法

准确称取 0.2 g 样品于 15 mL 离心管中，加入 6 mL 四氢呋喃，涡旋并超声 10 min，使样品分散、提取目标物（若样品无法分散，可用 80°C 水浴适当加热 1~2 min 即可）。继续向离心管中依次加入 2 mL 甲醇和 2 mL 醋酸铵水溶液（0.5 mol/L 乙酸铵、0.5% 抗坏血酸钠），涡旋混匀，超声提取 10 min，接着 10000 r/min 离心 10 min，移取上层提取液 2 mL 于 10 mL 塑料离心管中，氮吹浓缩至约 0.5 mL，最后用 10% 乙腈水溶液稀释定容至 4 mL，超声 10 min，用 0.22 μm PTFE 滤膜过滤后上机测试。

■ 结果与讨论

2.1 MRM 色谱图

38 种准用着色剂 MRM 色谱图如下图 1 所示。

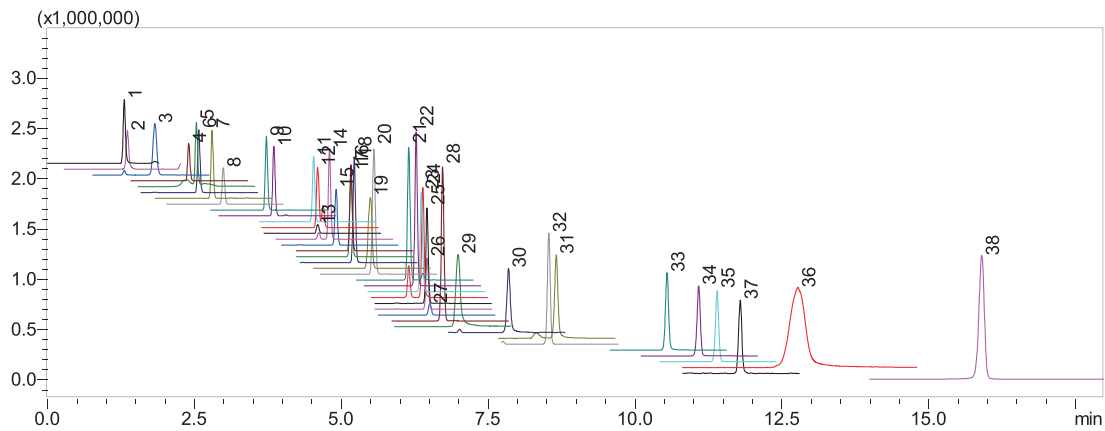


图 1 38 种准用着色剂 MRM 色谱图 (50 (500) ng/mL, 峰号同表 2)

2.2 线性关系

将 1.3 中配制的 5 (50) ng/mL, 10 (100) ng/mL, 20 (200) ng/mL, 50 (500) ng/mL, 100 (1000) ng/mL, 200 (2000) ng/mL 和 500 (5000) ng/mL 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, 部分化合物标准曲线见图 2。各浓度点线性回归的准确度、判定系数 r 、仪器检出限 (根据线性最低浓度点计算, ASTM 法, $S/N=3$) 等结果见表 3。从结果上看, 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 0.996, 准确度在 85.6~110.7% 之间, 仪器检出限在 0.1~22.7 ng/mL 之间, 满足 GB/T37545-2019 中规定检出限在 30~300 ng/mL 的要求。

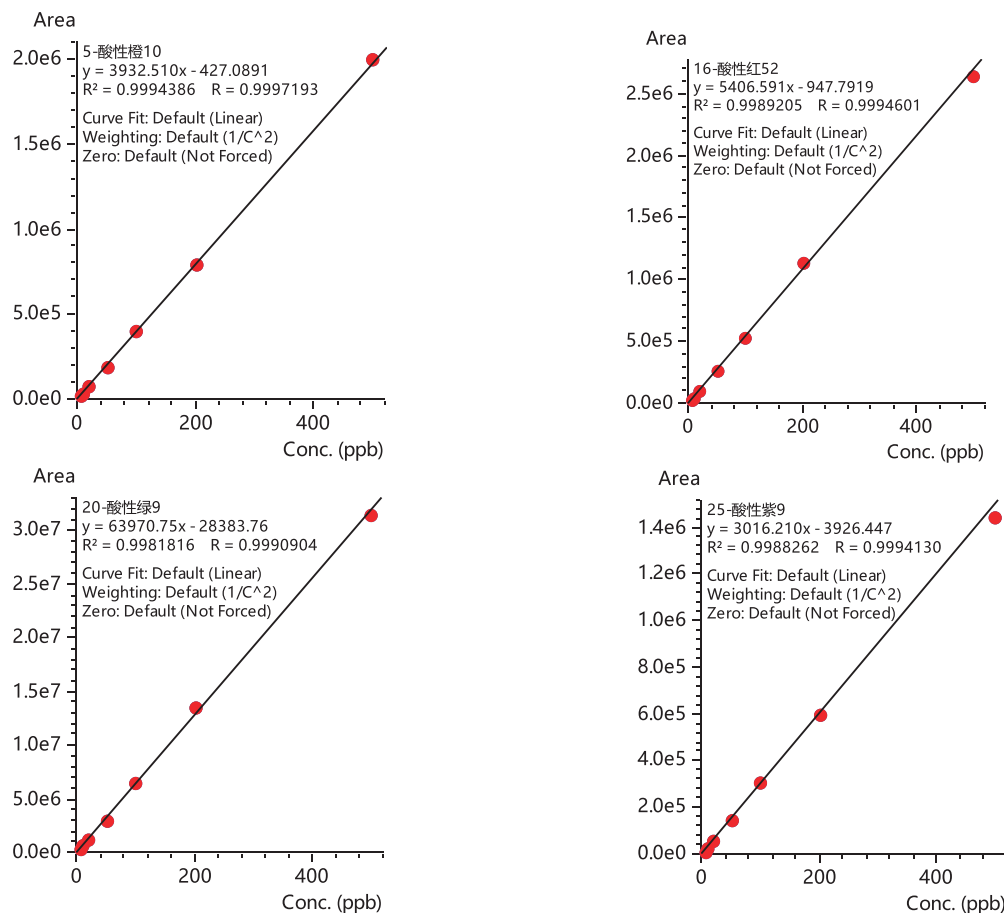


图 2 部分准用着色剂线性

表 3 38 种准用着色剂线性关系 (权重 1/c²)

序号	化合物名称	校准曲线	线性范围 (ng/mL)	相关系数 r	准确度 %	检出限 (ng/mL)
1	食品红 9	Y = (149.138)X + (-5845.30)	100~2000	0.9988	91.6~107.4	15.6
2	食品蓝 1	Y = (87.6464)X + (-5037.05)	100~1000	0.9977	93.4~103.2	22.7
3	食品红 7	Y = (219.859)X + (-6038.30)	100~1000	0.9962	91.0~107.8	16.2
4	食品黄 3	Y = (598.066)X + (-4045.54)	20~500	0.9983	93.4~107.9	3.2
5	酸性黄 1	Y = (3908.20)X + (-36897.5)	20~200	0.9963	92.9~108.7	1.2
6	酸性橙 10	Y=(3932.51)X+(-427.089)	5~500	0.9997	97.3~101.8	0.8
7	食品红 17	Y = (12736.2)X + (6822.92)	5~200	0.9988	94.8~104.1	0.2
8	食品红 10	Y = (943.116)X + (-928.989)	10~500	0.9999	95.2~106.1	2.1
9	食品绿 3	Y = (4498.79)X + (-8409.99)	5~200	0.9989	93.0~108.0	1.3
10	食品蓝 2	Y = (10489.0)X + (-6650.68)	5~200	0.9986	91.4~106.9	0.3
11	酸性黄 11	Y = (851.551)X + (-51776.8)	100~5000	0.9995	90.3~110.7	12.3
12	酸性红 50	Y = (8894.15)X + (24112.6)	10~500	0.9989	91.4~105.6	0.8
13	酸性黑 1	Y = (1189.69)X + (-13258.7)	20~500	0.9995	94.4~107.7	1.6
14	酸性绿 22	Y = (15218.2)X + (-14679.3)	5~100	0.9983	93.3~105.0	0.5
15	酸性蓝 1	Y = (6260.27)X + (4217.53)	5~500	0.9994	96.5~107.0	0.4
16	酸性红 52	Y=(5405.591)X+(-947.791)	5~500	0.9996	95.2~102.5	0.8
17	酸性红 98	Y = (5396.78)X + (-770.297)	5~500	0.9995	96.7~105.4	0.9
18	酸性橙 7	Y = (12869.1)X + (-18965.9)	5~200	0.9989	91.9~108.6	0.6
19	溴甲酚绿	Y = (339.798)X + (-23396.5)	200~5000	0.9995	94.9~106.0	14.5
20	酸性绿 9	Y=(63970.75)X+(-3926.447)	5~500	0.9994	95.4~105.6	0.1
21	酸性红 88	Y = (32193.7)X + (-44470.9)	5~100	0.9989	94.3~104.9	0.2
22	酸性紫 43	Y = (88622.6)X + (-247956)	5~100	0.9989	92.3~108.0	0.1
23	酸性紫 50	Y = (40293.0)X + (-133747)	5~100	0.9950	85.6~106.2	0.2
24	颜料红 49	Y = (6432.76)X + (-4705.31)	5~200	0.9990	95.1~103.9	0.7
25	酸性蓝 7	Y = (55231.3)X + (-57946.4)	5~100	0.9977	91.2~105.0	0.1
26	食品蓝 5	Y = (11053.4)X + (-26612.7)	5~200	0.9993	90.5~106.5	0.6
27	酸性紫 9	Y=(3016.21)X+(-28383.76)	5~500	0.9997	92.1~105.3	1.2
28	酸性蓝 62	Y = (33452.7)X + (10023.1)	5~500	0.9995	90.1~103.9	0.1
29	酸性紫 2	Y = (84865.9)X + (-85570.4)	5~200	0.9991	91.0~105.9	0.3
30	颜料红 64	Y = (57872.5)X + (115257)	5~200	0.9995	89.5~104.6	0.1
31	溶剂黄 33	Y = (58957.8)X + (81761.0)	5~100	0.9996	95.3~104.9	0.2
32	酸性黄 121	Y = (57157.3)X + (-26668.1)	5~100	0.9989	94.3~104.8	0.1
33	溶剂红 3	Y = (55667.3)X + (-87593.7)	5~200	0.9989	89.8~104.8	0.4
34	溶剂黄 29	Y = (30161.3)X + (-39666.2)	5~200	0.9985	89.9~105.8	0.2
35	分散黄 16	Y = (12337.4)X + (123.796)	5~500	0.9994	93.4~104.8	0.5
36	碱性蓝 26	Y = 231354X +-1.16913e+006	10~200	0.9997	93.2~106.5	0.2
37	颜料红 4	Y = (1635.29)X + (-10242.7)	20~500	0.9979	95.4~109.6	3.5
38	溶剂绿 3	Y = (223708)X + (-257150)	5~100	0.9993	94.6~103.8	0.1

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 4 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 0.02%~0.30% 和 0.48%~5.14% 之间，仪器精密度良好。

表 4 保留时间和峰面积重复性

序号	化合物名称	RSD% (20(200) ng/mL)		RSD% (50(500) ng/L)	
		R.T.	Area	R.T.	Area
1	食品红 9	0.14	3.12	0.14	3.06
2	食品蓝 1	0.25	3.02	0.30	1.96
3	食品红 7	0.29	3.50	0.17	1.02
4	食品黄 3	0.16	4.42	0.21	2.65
5	酸性黄 1	0.15	1.91	0.17	1.83
6	酸性橙 10	0.13	1.36	0.14	1.12
7	食品红 17	0.08	1.00	0.17	1.92
8	食品红 10	0.09	3.98	0.18	3.76
9	食品绿 3	0.05	3.82	0.10	1.89
10	食品蓝 2	0.06	1.69	0.10	1.38
11	酸性黄 11	0.07	3.46	0.07	2.02
12	酸性红 50	0.05	2.31	0.07	1.81
13	酸性黑 1	0.07	4.92	0.08	3.84
14	酸性绿 22	0.08	3.14	0.08	3.32
15	酸性蓝 1	0.07	3.04	0.10	2.07
16	酸性红 52	0.06	2.17	0.10	1.73
17	酸性红 98	0.06	3.30	0.08	2.25
18	酸性橙 7	0.07	1.04	0.10	0.49
19	溴甲酚绿	0.05	4.47	0.07	4.09
20	酸性绿 9	0.06	1.31	0.12	0.96
21	酸性红 88	0.08	1.70	0.12	1.32
22	酸性紫 43	0.09	1.57	0.12	2.05
23	酸性紫 50	0.06	1.44	0.10	2.76
24	颜料红 49	0.08	3.43	0.12	1.19
25	酸性蓝 7	0.07	1.66	0.11	0.59
26	食品蓝 5	0.07	2.33	0.11	1.64
27	酸性紫 9	0.07	4.25	0.13	2.89
28	酸性蓝 62	0.08	1.79	0.12	1.17
29	酸性紫 2	0.09	0.71	0.07	1.29
30	颜料红 64	0.02	0.86	0.04	0.65
31	溶剂黄 33	0.02	0.64	0.06	0.48
32	酸性黄 121	0.10	0.98	0.12	2.40
33	溶剂红 3	0.02	0.49	0.04	1.35

序号	化合物名称	RSD% (20(200) ng/mL)		RSD% (50(500) ng/L)	
		R.T.	Area	R.T.	Area
34	溶剂黄 29	0.02	1.80	0.03	1.86
35	分散黄 16	0.02	2.40	0.03	2.13
36	碱性蓝 26	0.12	2.21	0.10	2.93
37	颜料红 4	0.02	4.58	0.03	3.83
38	溶剂绿 3	0.06	5.14	0.03	4.29

2.4 回收率测试

取浅粉色唇膏按照 1.4 中样品制备方法，加入一定浓度的着色剂标液（加标浓度如下表 5 所示），每个浓度平行制备 3 份样品，其中浅粉色唇膏本底（未检出）和加标样的色谱图分别见下图 3 和 4。回收率测试结果显示：38 种准用着色剂样品的加标回收率在 39.7%~131.2% 之间，可满足标准的定性测试要求，结果如表 5。

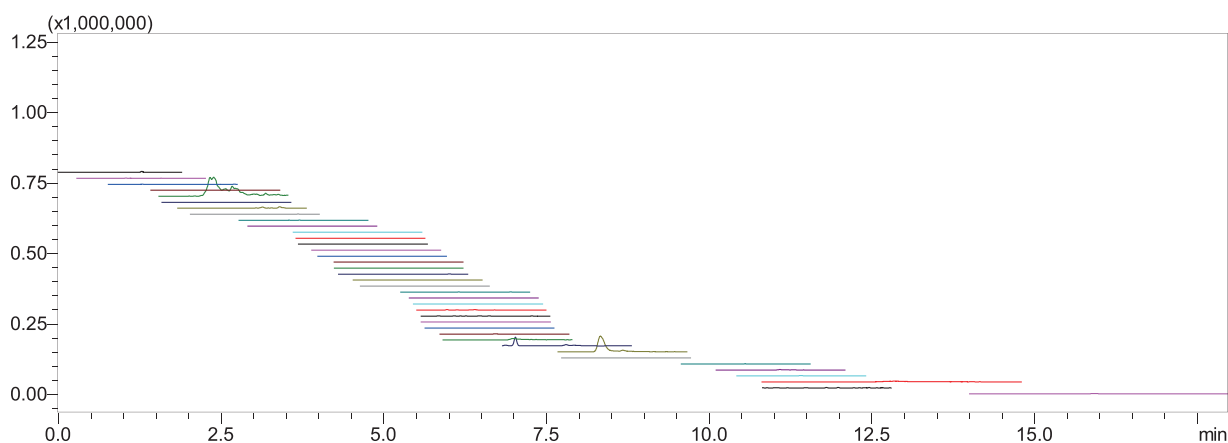


图 3 浅粉色唇膏测试色谱图（未检出）

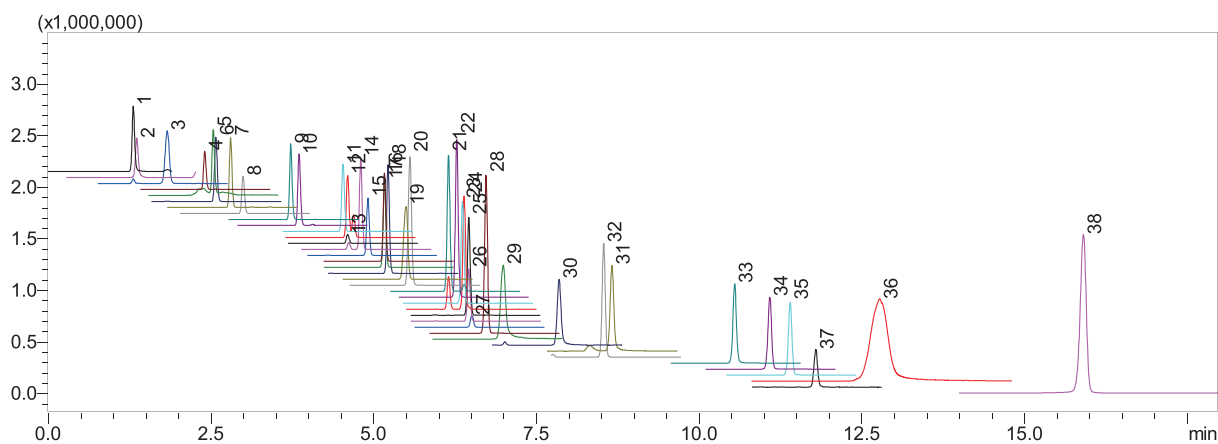


图 4 加标回收测试色谱图 (50(500) ng/mL)

表 5 回收率测试结果

序号	化合物名称	加标浓度 (20(200) ng/mL)		加标浓度 (50(500) ng/mL)	
		检测值	平均回收率 (%)	检测值	平均回收率 (%)
1	食品红 9	298.1	59.6	349.5	69.8
2	食品蓝 1	198.4	39.7	234.2	46.8

序号	化合物名称	加标浓度 (20(200) ng/mL)		加标浓度 (50(500) ng/mL)	
		检测值	平均回收率 (%)	检测值	平均回收率 (%)
3	食品红 7	339.8	67.9	398.1	79.6
4	食品黄 3	58.9	117.8	61.6	123.2
5	酸性黄 1	57.9	115.8	58.8	117.6
6	酸性橙 10	56.5	113.0	62.3	124.6
7	食品红 17	48.2	96.4	51.8	103.6
8	食品红 10	63.2	126.4	61.6	123.6
9	食品绿 3	61.2	121.4	65.6	131.2
10	食品蓝 2	57.1	114.2	54.4	108.8
11	酸性黄 11	331.4	66.3	372.2	74.4
12	酸性红 50	57.1	114.2	58.8	117.6
13	酸性黑 1	59.6	119.2	62.1	124.2
14	酸性绿 22	57.9	115.8	56.4	112.8
15	酸性蓝 1	56.2	112.4	58.3	116.6
16	酸性红 52	58.9	117.8	57.7	115.4
17	酸性红 98	59.3	118.6	62.2	124.4
18	酸性橙 7	59.3	118.6	57.9	115.8
19	溴甲酚绿	305.9	61.2	335.4	67.1
20	酸性绿 9	58.5	117.0	60.4	120.8
21	酸性红 88	59.2	118.4	57.6	115.2
22	酸性紫 43	42.4	84.8	49.8	99.6
23	酸性紫 50	41.3	82.6	47.1	94.2
24	颜料红 49	58.1	116.2	59.1	118.2
25	酸性蓝 7	58.8	117.6	60.3	120.6
26	食品蓝 5	62.1	124.2	59.2	118.4
27	酸性紫 9	60.2	120.4	57.8	115.6
28	酸性蓝 62	59.5	119.0	58.8	117.6
29	酸性紫 2	60.6	121.2	59.8	119.6
30	颜料红 64	57.3	114.6	58.6	119.2
31	溶剂黄 33	53.9	107.8	56.2	112.4
32	酸性黄 121	58.7	117.4	55.2	110.4
33	溶剂红 3	25.3	50.6	29.1	58.2
34	溶剂黄 29	45.9	91.8	55.0	110.0
35	分散黄 16	39.7	79.4	45.4	90.8
36	碱性蓝 26	31.2	62.4	38.4	76.8
37	颜料红 4	26.7	53.4	32.4	64.8
38	溶剂绿 3	23.4	46.8	25.6	51.2

■ 结论

本文参考 GB/T37545-2019，使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用建立化妆品中 38 种准用着色剂的定性测定方法。该方法在 21 min 内完成 38 种准用着色剂的测定，在相应标曲范围内，各化合物的相关系数均在 0.996 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 0.02%~0.30 % 和 0.48%~5.14% 之间；对前加标样品上机分析，回收率在 39.7% ~ 131.2% 之间。该方法具有灵敏度高、重复性好的优势，可用于化妆品中准用着色剂的定性检测。

岛津应用云

