

LCMS-8045 测定化妆品中的十种生物碱

LCMSMS-524

摘要： 本文采用岛津 LCMS-8045 三重四极杆液质联用仪建立了一种同时检测化妆品中 10 种生物碱的方法。在护手霜和乳液基质中 2~100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 浓度范围内建立标准曲线, 10 种生物碱线性良好, 校准曲线相关系数均大于 0.995, 添加回收实验峰面积的重复性在 0.19~6.32 % 之间, 精密度良好, 方法检出限和方法定量限分别介于 0.013~0.295 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 0.041~0.895 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间, 能够满足日常分析要求。

关键词： 三重四极杆液相色谱质谱联用仪 化妆品 生物碱

生物碱 (Alkaloids) 是一类存在于植物体内, 由次生代谢产生的含氮有机化合物, 种类繁多, 具有显著的药理活性。如阿托品为抗胆碱药, 可用于镇静、止痛, 毛果芸香碱为胆碱酯酶抑制药, 但同时它们也具有一定毒性, 会引起恶心、呕吐、心悸等症状, 严重时可能对神经系统、消化系统等造成损害导致死亡。如阿托品可能会引起中枢神经毒性; 毛果芸香碱会引起恶心、腹痛等不良反应。

近年来, 随着消费者对安全、健康的关注, 越来越多的化妆品开始通过添加中草药等天然成分达到相应的美白护肤功效, 但同时也有可能引入生物活性

显著, 具有毒性的生物碱类化合物, 长期使用这种化妆品将会对人体健康带来影响。因此, 《化妆品安全技术规范》(2015 版) 规定东莨菪碱、番木鳖碱、乌头碱、秋水仙碱等生物碱均为禁用物质。

本文参考 GB/T 36942-2018 《化妆品中 10 种生物碱的测定 液相色谱串联质谱法》标准中的要求, 使用岛津超高效液相色谱仪 LC-20A_{XR} 和三重四极杆质谱 LCMS-8045 联用, 建立了化妆品中十种生物碱的超高效液相色谱 - 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

本实验采用岛津 LCMS-8045 超高效液相色谱三重四极杆质谱联用系统, 具体配置为:

系统控制器: CBM-20A

脱气机: DGU-20A_{5R}

输液泵: LC-20AD_{XR} × 2

自动进样器: SIL-20ACMP

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 Velox SP-C18 100 mm × 2.1 mm I.D, 1.8 μm (岛津 (上海) 实验器材有限公司, P/N:227-32001-03)

流动相: A 相 - 水 (含 0.1% 甲酸); B 相 - 乙腈

流速: 0.3 mL/min

柱温: 30 °C

进样体积: 2 μL

洗脱方式: 梯度洗脱, B 相初始浓度为 10%, 时间程序见表 1。

表 1 梯度洗脱时间程序

时间 (min)	单元	处理命令	值
2.00	Pumps	Pump B Conc.	10
8.00	Pumps	Pump B Conc.	60
9.00	Pumps	Pump B Conc.	90
10.00	Pumps	Pump B Conc.	90
10.01	Pumps	Pump B Conc.	10
12.50	Controller	Stop	

质谱条件:

分析仪器: LCMS-8045

加热模块温度: 300 °C

离子源: ESI (+)

DL 温度: 250 °C

雾化气流速: 3.0 L/min

离子源温度: 400 °C

加热气流速: 10.0 L/min

扫描模式: 多反应监测 (MRM)

干燥气流速: 10.0 L/min

MRM 参数: 见表 2

表 2 MRM 参数

序号	化合物名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias (V)	CE	Q3 Pre Bias (V)
1	毛果芸香碱	209.20	95.05*	-11	-32	-18
			163.10	-11	-19	-16
2	东莨菪碱	304.15	138.10*	-15	-20	-14
			156.10	-16	-16	-15
3	土的宁	335.30	184.15*	-10	-38	-19
			156.10	-18	-47	-29
4	番土鳖碱	395.20	244.05*	-12	-39	-26
			324.15	-20	-31	-16
5	阿托品	290.25	124.15*	-15	-26	-23
			93.10	-15	-33	-17
6	秋水仙碱	400.30	358.15*	-12	-22	-16
			310.10	-12	-29	-20
7	喜树碱	349.35	305.15*	-11	-24	-20
			219.15	-11	-51	-22
8	新乌头碱	632.50	105.00*	-20	-55	-19
			572.35	-20	-35	-38
9	次乌头碱	616.40	556.35*	-32	-35	-38
			524.30	-20	-39	-34
10	乌头碱	646.50	586.35*	-20	-37	-40
			105.05	-20	-55	-19

* 定量离子对

1.3 样品制备

样品前处理方法：参照 GB/T 36942-2018《化妆品中 10 种生物碱的测定》。

标准溶液配制：取空白样品（护手霜），按照样品制备方法进行处理，用得到的空白样品提取液将混合标准储备液逐级稀释得到 10 种生物碱的浓度为 2、5、10、20、50、100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的系列混合标准工作溶液。

■ 结果与讨论

2.1 标准样品的 MRM 色谱图

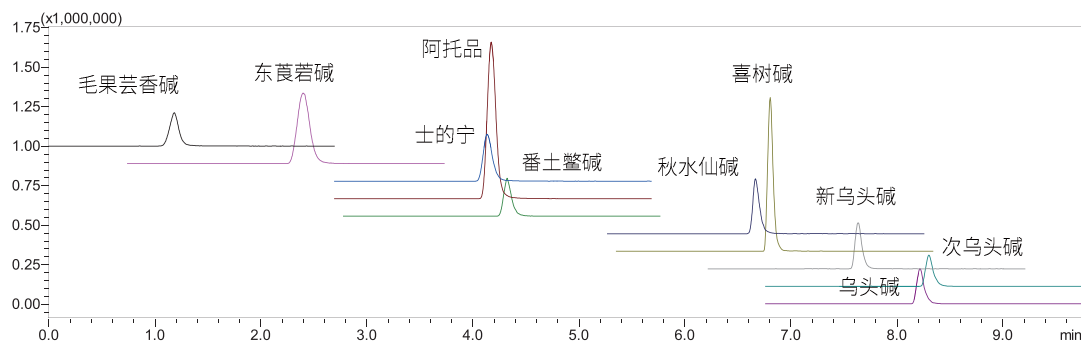


图 1 十种生物碱基质标准样品的 MRM 色谱图 (50.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$)

2.2 标准曲线和精密度实验

将 1.3 配制的不同浓度的基质加标样品，按 1.2 中的分析条件进行测定，外标法制作校准曲线，线性范围为 2~100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，结果表明，相关系数 R 均大于 0.9995，线性良好。将 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 基质标液连续进样六针，峰面积的重复性在 0.33~2.81% 之间，精密度良好，线性方程、相关系数和重复性结果见表 3。

表 3 护手霜基质匹配标曲中 10 种生物碱的校准曲线参数

序号	名称	校准曲线	相关系数 R	检出限 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	定量限 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	保留时间 RSD%	峰面积 RSD%
1	毛果芸香碱	$Y = (23803.0)X + (27408.2)$	0.9998	0.134	0.405	1.13	2.12
2	东莨菪碱	$Y = (72411.1)X + (36990.0)$	0.9998	0.039	0.119	1.20	0.33
3	士的宁	$Y = (16932.8)X + (18277.6)$	0.9995	0.039	0.118	0.22	0.96
4	番土鳖碱	$Y = (11852.9)X + (10853.2)$	0.9995	0.068	0.206	0.24	1.54
5	阿托品	$Y = (106364)X + (121683)$	0.9995	0.013	0.041	0.29	0.92
6	秋水仙碱	$Y = (6419.4)X + (-3160.58)$	0.9999	0.295	0.895	0.11	1.50
7	喜树碱	$Y = (14092.5)X + (924.615)$	0.9999	0.056	0.169	0.12	1.26
8	新乌头碱	$Y = (25215.4)X + (30291.8)$	0.9997	0.069	0.208	0.10	2.05
9	次乌头碱	$Y = (18608.7)X + (39777.0)$	0.9996	0.027	0.083	0.08	2.81
10	乌头碱	$Y = (21129.9)X + (28502.2)$	0.9999	0.081	0.245	0.09	1.75

2.3 灵敏度实验

按照 1.3 中方法，将 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 基质标液进样分析，10 种生物碱的最低检出限 (S/N=3, LOD 表示)、最低定量限 (S/N=10, LOQ 表示) 根据计算得出，方法检出限和方法定量限分别介于 0.013~0.295 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 0.041~0.895 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间，灵敏度完全满足标准要求，结果如表 3 所示。

2.4 回收率实验

对高、低 2 个加标水平下的乳液和护手霜样品按照 1.3 平行处理 3 次，峰面积相对标准偏差 (RSD%) 在 0.19~6.32% 之间，精密度良好，结果如表 4 所示。乳液和护手霜基质的 2 个加标水平的回收率在 76.19~113.32% 之间，回收率良好，结果如表 4 所示。

表 4 乳液和护手霜基质中峰面积重复性和加标回收率结果 (n=3)

化合物	加标水平 (μg/kg)	乳液		护手霜	
		回收率 % (n=3)	RSD% (n=3)	回收率 % (n=3)	RSD% (n=3)
毛果芸香碱	5	89.55	4.29	94.00	2.32
	10	97.32	3.31	97.50	2.14
东莨菪碱	5	97.60	2.91	91.98	0.19
	10	95.01	2.13	91.88	0.85
土的宁	5	87.29	4.69	90.33	0.23
	10	88.88	1.99	90.82	1.36
番土鳖碱	5	88.06	6.32	84.31	2.18
	10	96.53	3.23	89.12	1.52
阿托品	5	87.81	5.65	91.67	1.97
	10	86.91	1.88	90.59	1.03
秋水仙碱	5	96.60	5.64	103.49	3.33
	10	94.26	2.38	101.07	3.87
喜树碱	5	85.83	1.38	94.41	2.96
	10	86.95	3.51	97.57	0.73
新乌头碱	5	83.28	3.42	87.97	4.99
	10	96.71	3.57	86.67	0.94
次乌头碱	5	82.49	2.33	87.97	6.01
	10	113.32	4.36	76.19	1.77
乌头碱	5	79.82	3.65	91.22	5.18
	10	99.61	4.92	80.64	1.13

■ 结论

参照国家标准建立了一种液相色谱串联质谱联用同时检测化妆品中 10 种生物碱的方法。该方法精密度实验结果表明：峰面积的相对标准偏差 0.33~2.81% 之间，仪器精密度良好，外标法标校准曲线相关系数均大于 0.995，线性良好，方法检出限和方法定量限分别介于 0.013~0.295 μg/kg 和 0.041~0.895 μg/kg 之间。该方法前处理快速、操作简单、重复性好、灵敏度高，适合化妆品中生物碱的高灵敏度检测。

岛津应用云

