

HPLC-MS/MS 测定化妆品中 14 种荧光增白剂

汪霞, 林丽琴*, 杨直, 高丽琼, 王秀秀, 金滕娜, 陈鸿健(杭州市食品药品检验研究院, 杭州 310022)

摘要: 目的 建立 HPLC-MS/MS 定量测定化妆品中 14 种荧光增白剂的分析方法。方法 样品经 *N,N*-二甲基甲酰胺超声提取, 选用 Waters ACQUITY UPLC®BEH C₁₈(2.1 mm×50 mm, 1.7 μm) 色谱柱, 以甲醇-0.1% 氨水水溶液梯度洗脱, 流速 0.3 mL·min⁻¹, 柱温 40 °C; 质谱法采用三重四级杆质谱, 电喷雾离子源, 在正/负离子、多反应监测模式下进行扫描。结果 14 种荧光增白剂在定量范围内线性关系良好, 相关系数均>0.99, 定量限为 0.01~20 μg·g⁻¹, 检出限为 0.004~8 μg·g⁻¹; 在 3 个添加水平下的平均回收率为 85.4%~108.9%, 相对标准偏差为 0.3%~7.2%。结论 该方法灵敏度高, 专属性强, 操作简单方便, 适用于化妆品中 14 种荧光增白剂的含量测定。

关键词: 超高效液相色谱-串联质谱法; 荧光增白剂; 化妆品

中图分类号: R917 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2023)23-3236-09

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.20230266

引用本文: 汪霞, 林丽琴, 杨直, 等. HPLC-MS/MS 测定化妆品中 14 种荧光增白剂[J]. 中国现代应用药学, 2023, 40(23): 3236-3244.

Determination of Fourteen Fluorescent Whitening Agents in Cosmetics by HPLC-MS/MS

WANG Xia, LIN Liqin*, YANG Zhi, GAO Liqiong, WANG Xiuxiu, JIN Mengna, CHEN Hongjian(Hangzhou Institute for Food and Drug Control, Hangzhou 310022, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method for the determination of fourteen fluorescent whitening agents in cosmetics by HPLC-MS/MS. **METHODS** Samples were extracted on a Waters ACQUITY UPLC®BEH C₁₈(2.1 mm×50 mm, 1.7 μm) column after ultrasonic extracted by DMF with the mobile phase consisted of methanol-0.1% ammonia water solution by gradient elution. The flow rate was 0.3 mL·min⁻¹. The column temperature was 40 °C. MS was performed using triple quadrupole mass spectrometry. Electrospray ionization source was operated in the positive/negative mode using multiple reaction monitoring scanning mode. **RESULTS** The results showed that there were good linear relationships for the fluorescent whitening agents in a certain concentration range with correlation coefficients(*r*) greater than 0.99. The limits of quantification were 0.01–20 μg·g⁻¹ and the limits of detection were 0.004–8 μg·g⁻¹. The average recoveries at three spiked levels were in the range of 85.4%–108.9%, and the relative standard deviation were in the range of 0.3%–7.2%. **CONCLUSION** The method has high sensitivity, strong specificity, simple and convenient operation, and is suitable for the detection of fourteen fluorescent whitening agents in cosmetics.

KEYWORDS: HPLC-MS/MS; fluorescent whitening agents; cosmetic

荧光增白剂(fluorescent whitening agents, FWAs)是一种荧光染料,在紫外光照射下,可激发出蓝、紫光,与基质上黄光互补而具有增白效果^[1]。FWAs 根据化学结构主要分为香豆素型、萘二甲酰胺型、吡唑啉型、苯并噁唑型和三嗪氨基二苯乙炔型^[2],它特殊的化学结构使其能吸收光线中肉眼看不见的波长为 300~400 nm 的紫外线,再激发出肉眼可见的波长为 420~480 nm 的蓝色或蓝紫色荧光,能让肉眼看上去白色物体的白度和亮度都有提高^[3]。有文献研究表明部分 FWAs 可被皮肤吸收^[4],由于化妆品与人体皮肤长期接触,一旦与人体内蛋白质结合,就会产生蓄积作用,很难通

过正常代谢排出体外^[5]。同时因 FWAs 含有芳香胺和苯乙炔结构,在毒理性上具有潜在的致癌风险^[6],会给人体的健康带来威胁。美国环保组织环境工作组(Environmental Working Group, EWG)认为 FWAs 可在阳光照射作用下造成皮肤过敏或瘙痒,对光敏感的消费者应尽量避免接触此类物质。虽然目前中国在化妆品中 FWAs 的测定方面已出台了地方标准或行业标准等^[7-9],但涉及的 FWAs 的组分比较少,均<5 种。

目前,FWAs 的检测方法主要有光谱法和色谱法^[10],光谱法主要包括白度法、荧光分光光度法和紫外分光光度法,色谱法主要则包括薄层层析

基金项目: 浙江省药品监管系统科技计划项目(2021026)

作者简介: 汪霞,女,硕士,主管药师 E-mail: 449364191@qq.com
linliqin@aliyun.com

*通信作者: 林丽琴,女,硕士,副主任药师 E-mail:

法、毛细管电泳法、HPLC 和 HPLC-MS。光谱法设备简单,操作易行,检测速率较快,但是干扰因素多,灵敏度不高,只能测定单一 FWA 或 FWAs 的总量,无法分析具体种类和含量。HPLC 可以对不同的 FWAs 进行定性与定量分析,但对目标物的分离度要求高。HPLC-MS 则是结合了液相色谱和质谱的优点,通过保留时间与特征离子对目标物进行定性与定量分析,具有高分离、高选择性和高灵敏度的优点。目前,采用 HPLC-MS 同时定量测定化妆品中多种 FWAs 的研究报道比较少^[11-13]。参考国内现有的化妆品中 FWAs 的检测标准^[7-9]及近年文献报道^[11,13-15]在化妆品及相关领域中检出的 FWAs 种类及其类似物,确定 14 种化妆品中可能添加的 FWAs(化学结构式见图 1)作为研究对象,建立 HPLC-MS/MS,以期为化妆品中 FWAs 的检测提供一定的技术支持。

1 仪器与试剂

LC-MS-8050 液相色谱质谱联用仪,配有电喷雾离子源(ESI)(日本岛津公司);XP204 型电子天平、XS105DU 型电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司);XM-500UDF 恒温超声波清洗器(上海海龙电子设备有限公司);CR21N 高速冷冻离心机(Himac)。

甲醇(色谱纯,美国 Merck 公司,批号: I1163207138);氨水(分析纯,上海凌峰化学试剂有限公司,批号: 20200511);*N,N*-二甲基甲酰胺(DMF,色谱纯,美国 Merck 公司,批号: EA834-

CN);14 种荧光增白剂标准物质信息见表 1,结构式见图 1。化妆品样品信息见表 2。

表 1 14 种荧光增白剂标准物质信息

Tab. 1 Information of 14 fluorescent whitening agents standard

化合物名称	CAS 号	生产商	批号	纯度/%
C.I.135	1041-00-5	ANPEL	G1990025	99.8
C.I.140	91-44-1	TCI	USEEE-NT	99.9
C.I.185	12224-41-8	IL	344109	99.6
C.I.367	5089-22-5	TCI	LEI3L-EA	99.6
C.I.368	5242-49-9	TCI	QQTAB-LT	97.9
C.I.378	40470-68-6	ANPEL	T9730020	99.2
C.I.393	1533-45-5	ANPEL	52790025	97.6
OB-2	2397-00-4	TCI	V85RG-JM	96.5
C.I.162	3271-05-4	ANPEL-Trace	2104225	97.6
C.I.184	7128-64-5	ANPEL	76300005	99.9
C.I.85	12224-06-5	MACKLIN	C10093508	100.0
C.I.71	16090-02-1	ANPEL	54090025	99.2
C.I.113	12768-92-2	IL	371592	99.5
C.I.351	27344-41-8	TCI	YDE7K-JP	99.1

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Waters ACQUITY UPLC®BEH C₁₈(2.1 mm×50 mm, 1.7 μm);流速: 0.3 mL·min⁻¹;柱温: 40℃;进样量: 3 μL。流动相: A 为 0.1% 氨水溶液, B 为甲醇。梯度洗脱程序: 0~3 min, 10%→60%B; 3~6 min, 60%→80%B; 6~9 min, 80%→90%B; 9~12 min, 90%→100%B; 12~

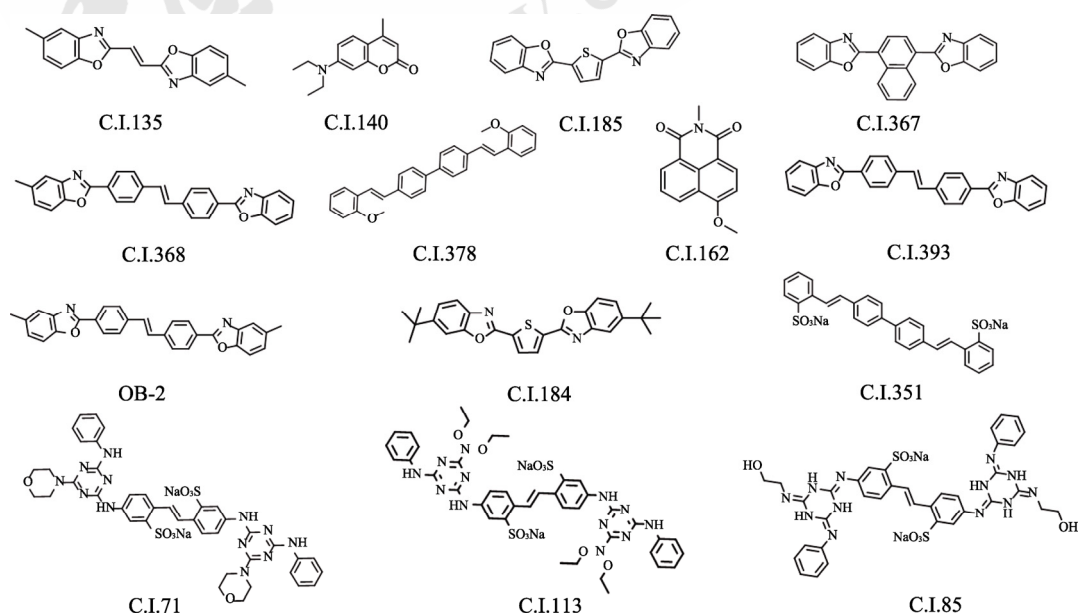


图 1 14 种荧光增白剂的结构式

Fig. 1 Chemical structures of the 14 fluorescent whitening agents

表 2 化妆品样品信息

Tab. 2 Cosmetic sample information

序号	类别	产品名称	厂家	批号
1	面膜	EGF 保湿修复精华膜	珠海市雅莎生物科技(中外合资)有限公司	MFD20170114
2		零物语玻尿酸补水滋润面膜	广州市欧佩化妆品有限公司	191102X11
3		佰草集新七白美白面膜	上海家化联合股份有限公司	20180309ABAZS
4		花间堂高山黄岑净肌祛痘面膜	科丽思化妆品(上海)有限公司	20221014
5		LaVIVO ACR 小分子活性肽修护蚕丝面膜	广东维雅生物科技有限公司	1701074A
6		德德维芙补水美白面膜	广州蕴美化妆品有限公司	Y1904015
7		诚美品美会精华保湿面膜	美创化妆品研究开发(上海)有限公司	16JN
8		韩惠国际美白淡斑蚕丝面膜	广州市韩莱雅化妆品有限公司	20191118
9		极致养护水光肌素颜霜	广东雅丽洁精细化工有限公司	2JA0403
10		玉兰油白里透红系列美白润肤霜	广州宝洁有限公司	633603868C
11		红色小象益生元南极冰藻霜	上海中翊日化有限公司/苏州工业园区黎姿化妆品有限公司	K8180101XS
12		海洋焕活紧致面霜	雅露拜尔生物科技(杭州)有限公司	20200703
13		孔凤春焕颜修护眼霜	杭州孔凤春化妆品有限公司	1529706
14		艾菲尔兰斯金纯水凝水漾霜	广州市轩源生物科技有限公司	20151206
15		OLAY 水感透白光曜精华露	广州丽盈塑料有限公司	32620386YO
16		美白淡斑晚霜	梦飞诗化妆品厂	15030518
17		凝时焕彩 3D 智能眼霜	广州市诗美化妆品有限公司	2016/10/6
18	化妆水	欧诗漫珍珠白亮采紧致眼霜	浙江欧诗漫特种化妆品有限公司	EG04565
19		善雨堂雪柔雅透白祛斑霜	广州蔻美化妆品科技有限公司	KM2020/04/01
20		小浣熊儿童特润护肤霜	福建省梦娇兰日用化学品有限公司	XIJ04WY
21		克丽缇娜梵诗深层滋养护理霜-轻活型	微硕(上海)日用品有限公司	253
22		花语传说保湿祛痘可爱霜	上海华伊美化妆品有限公司	5G121311
23		东洋之花保湿美白营养水	江苏东洋之花化妆品有限公司	AL2709
24		小青轻盈润白柔肤水	杭州小青生物科技有限公司	SH801122Z
25		娥佩兰薏苡仁化妆水	爱乐星丽化妆品制造(上海)有限公司	20200509
26		美加净桑叶平衡控油爽肤水	上海家化联合股份有限公司	AGARS
27		千纤草丝瓜水	扬州十二粉黛生物科技股份有限公司	17051303
28		妙抚雪绒花婴儿润肤乳	广州市索柔生物科技有限公司	LGXC41
29		欧诗漫珍珠肌源修护精华乳	浙江欧诗漫特种化妆品有限公司	DS90023
30		大宝天然集萃美白乳液	北京大宝化妆品有限公司	B151217NA
31		水密码水光亮白精华乳液	广州市科能化妆品科研有限公司	20230104
32		鳄鱼宝宝牛奶润肤露	广州汉峰化妆品有限公司(H)	HYT19128
33		蒂花之秀 SOD 美白保湿蜜	名臣健康用品股份有限公司	UD:12-2495
34	乳液	大宝 SOD 蜜	北京大宝化妆品有限公司	190728AA
35		薇诺娜熊果苷美白保湿精华液	云南贝泰妮生物科技集团股份有限公司	220214K1Y

12.1 min, 90%→10%B; 12.1~15 min, 10%B。

2.2 质谱条件

离子源:电喷雾离子源(ESI 源),正负离子模式;离子源温度:300℃;雾化器流速:3.0 L·min⁻¹;干燥气流速:10 L·min⁻¹;加热气流速:10 L·min⁻¹;加热块温度:400℃;DL 管温度:250℃;检测方式:多反应监测(MRM)。14 种 FWAs 的质谱参数见表 3。

2.3 溶液的制备

2.3.1 标准储备溶液的配制 准确称取 14 种 FWAs 标准物质,除 C.I.85 配制浓度为 2 mg·mL⁻¹ 的标准储备液外,其余 13 种标准物质配制浓度为 0.1 mg·mL⁻¹ 的标准储备液(C.I.135、C.I.140、C.I.185、C.I.367、C.I.184、C.I.162、C.I.351、C.I.113 用 DMF 溶解,OB-2、C.I.393、C.I.378、C.I.368 用三氯甲烷溶解,C.I.85 用 10%的 DMF 溶解,

表 3 14 种荧光增白剂质谱参数

Tab. 3 MS parameters of 14 fluorescent whitening agents

化合物名称	监测模式	母离子(<i>m/z</i>)	子离子(<i>m/z</i>)	Q1 预杆偏转电压/V	碰撞能量	Q3 预杆偏转电压/V
C.I.135	+	291.0	158.15*	-21	-34	-29
			107.15	-11	-28	-20
C.I.140	+	232.1	188.20*	-17	-28	-13
			203.20	-12	-19	-22
C.I.185	+	318.9	226.10*	-23	-32	-25
			200.20	-12	-42	-22
C.I.367	+	363.0	270.20*	-18	-35	-19
			244.20	-13	-39	-26
C.I.368	+	429.0	321.20*	-12	-42	-23
			221.20	-16	-37	-24
C.I.378	+	419.2	203.20*	-15	-23	-23
			121.20	-12	-20	-24
C.I.393	+	415.0	321.20*	-15	-41	-22
			207.20	-15	-37	-23
OB-2	+	443.0	221.20*	-16	-40	-24
			336.20	-16	-38	-24
C.I.162	+	242.1	185.20*	-16	-22	-20
			127.15	-26	-37	-24
C.I.184	+	431.1	415.10*	-20	-45	-21
			399.20	-16	-55	-28
C.I.85	-	413.3	311.00*	20	23	23
			271.00	20	26	19
C.I.71	-	439.2	129.00*	12	45	13
			284.10	21	29	13
C.I.113	-	457.1	293.10*	16	31	14
			333.20	16	26	16
C.I.351	-	258.1	226.00*	20	17	20
			194.20	28	21	22

注: *为定量离子。

Note: *meant quantitative ions.

C.I.71 用二甲基亚砷溶解), 冷藏避光保存。

2.3.2 采用基质加标法配制标准工作曲线溶液 分别精密量取 14 种 FWAs 标准储备溶液适量, 置于 100 mL 量瓶中, 用 DMF 配成 C.I.85 浓度为 $500 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, C.I.378 浓度为 $10 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, C.I.368、C.I.71 浓度为 $5 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, OB-2 浓度为 $2 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, C.I.351 浓度为 $2.5 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, C.I.393、C.I.113 浓度为 $1 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, C.I.135、C.I.185、C.I.367、C.I.162 浓度为 $0.5 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, C.I.140 浓度为 $0.2 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, C.I.184 浓度为 $0.1 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的混合标准曲线储备溶液; 同时称取与试样基质相似的阴性样品约 0.5 g, 分别加入不同体积的混合标准曲线储备溶液, 与样品同法操作。

2.3.3 样品溶液的制备 参考《化妆品安全技术规范》2015 年版, 取化妆水、面膜、乳液、膏霜类化妆品约 0.5 g, 精密称定, 置 50 mL 量瓶中, 加 DMF 40 mL, 超声处理 30 min, 加 DMF 稀释至刻度, 摇匀, 以 $9\ 435 \times g$ 离心 10 min, 取上清液经 0.2 μm 滤膜(PTFE 膜)滤过, 取续滤液作为待测液。

2.4 方法学考察

2.4.1 专属性试验 取经紫外光(254, 357 nm)^[13]照射显示为阴性的化妆水、面膜、乳液、膏霜类化妆品, 按“2.3.3”项下样品溶液的制备方法制成阴性溶液, 进行检测。在标准物质的出峰位置, 空白溶剂和阴性样品均无干扰。

2.4.2 线性范围、定量限及检出限 以基质加标法配制的标准工作曲线溶液浓度($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)为横坐标(X), 峰面积为纵坐标(Y)进行线性回归, 结果见表 4。在测定的线性范围内, 该方法有良好的线性关系, 相关系数 r 均 >0.99 。通过添加阴性样品, 计算得到 14 种 FWAs 的检出限和定量限, 结果见表 5。

2.4.3 加样回收率试验 选取化妆水、面膜、乳液、膏霜 4 种不同的阴性基质, 进行 3 个水平的加样回收试验, 每个浓度水平平行试验 6 次, 按“2.3.3”项下方法制备样品溶液, 同时按“2.3.2”项下方法制备基质标准工作曲线溶液。14 种 FWAs 在化妆水、面膜、乳液、膏霜中的回收率分别在 94.2%~107.7%, 85.4%~105.7%, 89.9%~107.2%, 85.8%~108.9%, RSD 均 $\leq 7.2\%$, 结果见表 6。

2.4.4 样品分析 取 35 批次样品, 按“2.3.3”项

下方法处理, 取续滤液, 按“2.1”项下色谱条件与“2.2”项下质谱条件分析, 其中 4 批次样品检出 C.I.184, 含量在 $0.25\sim 4.3\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, 其余均未检出, 检出率为 11.1%。

3 讨论

3.1 液相色谱条件的优化

根据文献报道, 液相色谱-质谱法检测 FWAs 使用的流动相有 $5\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的乙酸铵溶液-甲醇^[12]、 $5\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的乙酸铵溶液(含 0.02%氨水)-乙腈^[13]、乙腈(含 0.1%的甲酸)-水^[15]、乙腈(含 0.1%的甲酸)- $5\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 乙酸铵(0.1%的甲酸)^[16]等。14 种 FWAs 中, 既有 ESI⁺模式, 也有 ESI⁻模式, 在相同浓度下, ESI⁻模式下的 4 种化合物的响应值显著低于 ESI⁺模式的 10 种化合物, 所以在选择流动相时优先考虑提高 ESI⁻模式下的 4 种化合物的响应值。结合文献报道, 本实验分别比较了乙腈-0.1%

表 4 14 种荧光增白剂在不同基质中的线性方程和相关系数

Tab. 4 Linear equations and correlation coefficients of 14 fluorescent whitening agents in different matrices

化合物	线性范围/ $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$	化妆水		面膜		乳液		膏霜	
		线性方程	r	线性方程	r	线性方程	r	线性方程	r
C.I.135	0.5~50	$y=212\ 723x+112\ 098$	0.999 6	$y=222\ 417x+83\ 998$	0.999 6	$y=143\ 327x+77\ 607$	0.999 7	$y=94\ 226x+11\ 027$	0.999 8
C.I.140	0.2~50	$y=543\ 150x+10\ 896$	0.999 9	$y=670\ 989x+27\ 748$	1.000 0	$y=489\ 907x-43\ 391$	0.999 9	$y=213\ 071x-573$	1.000 0
C.I.185	0.5~50	$y=198\ 408x+90\ 125$	0.999 7	$y=204\ 536x+63\ 212$	0.999 8	$y=112\ 083x+100\ 122$	0.999 4	$y=73\ 583x+17\ 996$	0.999 7
C.I.367	0.5~50	$y=262\ 860x+126\ 605$	0.999 6	$y=249\ 084x+19\ 525$	0.999 8	$y=147\ 546x+48\ 045$	0.999 8	$y=37\ 106x+15\ 441$	0.999 4
C.I.368	5~200 ¹⁾	$y=70\ 227x+180\ 309$	0.999 8	$y=49\ 880x-39\ 507$	1.0000	$y=35\ 477x+206\ 352$	0.999 2	$y=23\ 469x+50\ 922$	0.999 5
C.I.378	5~200 ¹⁾²⁾	$y=21\ 322x+126\ 688$	0.997 3	$y=19\ 151x+164\ 817$	0.995 4	$y=19\ 151x+164\ 817$	0.995 4	$y=569x+6\ 128$	0.999 5
C.I.393	1~40 ¹⁾	$y=234\ 244x+521\ 415$	0.997 9	$y=117\ 382x-83\ 561$	1.000 0	$y=2\ 894x+19\ 565$	0.999 7	$y=54\ 725x-42\ 858$	0.999 1
OB-2	2~80 ¹⁾	$y=159\ 067x+422\ 425$	0.998 1	$y=116\ 356x-72\ 190$	0.999 8	$y=87\ 683x+95\ 284$	0.999 5	$y=9\ 239x+15\ 719$	0.999 3
C.I.162	0.5~50	$y=179\ 475x-2\ 724$	0.999 8	$y=164\ 120x-16\ 958$	0.999 9	$y=72\ 196x-21\ 816$	1.000 0	$y=75\ 030x-15\ 531$	0.999 9
C.I.184	0.1~10 ¹⁾	$y=877\ 450x-13\ 872$	0.998 8	$y=755\ 495x+45\ 824$	0.999 9	$y=1\ 132\ 370x+54\ 720$	0.999 9	$y=173\ 033x+88\ 658$	0.995 6
C.I.85	200~20 000	$y=65x+13\ 427$	0.999 4	$y=133x+35\ 818$	0.999 7	$y=91x+11\ 370$	0.999 9	$y=87x+13\ 105$	0.999 6
C.I.71	5~500	$y=3\ 612x+7\ 289$	0.999 9	$y=6\ 661x+26\ 280$	0.999 8	$y=2\ 571x+12\ 612$	0.999 7	$y=3\ 522x+17\ 294$	0.999 7
C.I.113	1~100	$y=47\ 492x+132\ 300$	0.999 7	$y=104\ 554x+356\ 901$	0.999 7	$y=170\ 322x+224\ 626$	0.999 6	$y=172\ 897x+228\ 377$	0.999 5
C.I.351	2.5~250	$y=31\ 047x+173\ 509$	0.997 8	$y=29\ 825x+103\ 713$	0.999 7	$y=22\ 219x+99\ 569$	0.999 3	$y=16\ 963x+55\ 046$	0.999 5

注: 部分基质中的线性范围与上表列出的略有不同。¹⁾表示膏霜中 C.I.368、C.I.378、C.I.393、OB-2、C.I.184 的线性范围分别为 10~200, 20~400, 2~40, 5~200, 0.2~10 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$; ²⁾表示乳液中 C.I.378 的线性范围为 10~400 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

Note: Linear range in some matrices was slightly different from the ones listed in the table above. ¹⁾Indicated that the linear ranges of C.I.368, C.I.378, C.I.393, OB-2, and C.I.184 in the cream were 10~200, 20~400, 2~40, 5~200, 0.2~10 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$, respectively; ²⁾indicated that the linear range of C.I.378 in lotion was 10~400 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$.

表 5 14 种荧光增白剂在不同基质中的定量限和检出限

Tab. 5 Limit of detection and limit of quantitation of 14 fluorescent whitening agents in different matrices

			$\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$		
化合物	定量限	检出限	化合物	定量限	检出限
C.I.135	0.05	0.02	OB-2	0.2 ¹⁾	0.08 ¹⁾
C.I.140	0.02	0.008	C.I.162	0.05	0.02
C.I.185	0.05	0.02	C.I.184	0.01 ¹⁾	0.004
C.I.367	0.05	0.02	C.I.85	20	8
C.I.368	0.5 ¹⁾	0.2 ¹⁾	C.I.71	0.5	0.2
C.I.378	0.5 ¹⁾²⁾	0.2 ¹⁾²⁾	C.I.113	0.1	0.04
C.I.393	0.1 ¹⁾	0.08 ¹⁾	C.I.351	0.25	0.1

注: 部分基质中的检出限与定量限与上表列出的略有不同。¹⁾表示膏霜中 C.I.368、C.I.378、C.I.393、OB-2、C.I.184 的定量限分别为 1, 2, 0.2, 0.5 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, 0.02 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$, 检出限分别为 0.4, 0.8, 0.08, 0.2 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, 0.008 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$; ²⁾表示乳液中 C.I.378 的定量限为 1 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, 检出限为 0.4 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

Note: Limit of detection and limit of quantification in some matrices were slightly different from those listed in the above table. ¹⁾Indicated that the quantification of C.I.368, C.I.378, C.I.393, OB-2, and C.I.184 in the cream were 1, 2, 0.2, 0.5 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ and 0.02 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$, respectively, with limit of detection of 0.4, 0.8, 0.08, 0.2 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ and 0.008 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$, respectively; ²⁾indicated that the limit of quantification of C.I.378 in lotion was 1 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, limit of detection of 0.4 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$.

表 6 在不同基质中 14 种荧光增白剂的加样回收率($n=6$)

Tab. 6 Recovery of 14 fluorescent whitening agents in different matrices($n=6$)

%

化合物	加入量水平	化妆水		面膜		乳液		膏霜	
		平均回收率	RSD	平均回收率	RSD	平均回收率	RSD	平均回收率	RSD
C.I.135	低	96.9	2.3	101.3	0.7	99.1	1.6	86.0	4.1
	中	99.3	2.2	104.2	2.8	100.2	1.1	95.2	0.9
	高	103.8	2.1	105.2	3.4	103.2	3.4	101.3	3.3
C.I.140	低	96.9	2.7	102.2	1.4	100.2	0.8	100.6	3.7
	中	99.3	2.2	101.8	0.8	99.5	1.1	99.3	2.2
	高	104.8	1.7	100.6	0.6	99.1	0.9	100.1	2.2
C.I.185	低	96.9	3.3	99.1	2.2	93.6	2.8	91.1	2.0
	中	99.3	3.1	105.5	2.2	103.8	2.0	100.2	1.7
	高	103.8	0.9	104.5	1.7	105.4	2.0	104.8	3.6
C.I.367	低	96.9	0.9	105.7	1.3	98.8	1.8	85.8	3.8
	中	99.3	3.6	103.9	1.2	102.2	1.9	87.5	3.1
	高	103.8	1.5	102.3	0.9	107.2	0.6	102.0	2.9
C.I.368	低	98.5	1.9	101.1	1.7	96.0	0.6	98.4	7.2
	中	94.7	1.8	96.7	0.5	103.1	2.2	108.9	6.6
	高	104.0	1.3	99.1	0.4	101.3	3.0	101.1	2.0
C.I.378	低	95.0	1.6	85.4	2.6	102.9	3.7	93.4	7.2
	中	107.6	1.5	102.9	1.0	100.4	1.4	100.0	3.7
	高	105.5	0.7	100.0	1.6	101.8	1.8	95.6	0.5
C.I.393	低	98.1	2.1	104.1	1.6	94.9	3.2	94.9	3.3
	中	101.1	1.6	101.9	1.0	100.9	1.8	103.8	1.3
	高	105.1	2.2	99.1	1.0	104.3	2.8	95.4	2.6
OB-2	低	96.0	2.4	103.7	2.1	99.5	4.3	101.3	3.4
	中	107.7	1.4	98.2	0.9	103.3	1.3	97.6	2.9
	高	101.3	1.0	98.2	1.4	103.9	1.4	101.3	2.4
C.I.162	低	102.8	2.6	102.6	0.9	99.2	1.4	95.7	4.3
	中	102.6	1.7	100.6	2.1	105.9	3.1	97.5	5.0
	高	103.7	2.0	98.2	0.3	106.1	4.8	99.3	5.5
C.I.184	低	99.4	3.9	96.9	2.4	95.5	1.9	96.7	5.9
	中	94.2	1.2	99.3	2.1	97.6	2.4	99.2	4.8
	高	98.4	2.6	103.8	0.3	99.6	3.0	101.4	3.5
C.I.85	低	96.9	2.2	94.8	3.6	102.4	2.9	90.5	4.3
	中	99.3	0.9	99.4	2.8	100.6	0.4	96.9	4.0
	高	103.8	2.0	101.6	1.4	102.4	0.9	106.3	3.6
C.I.71	低	97.5	3.4	97.0	2.9	92.3	2.4	96.6	4.1
	中	99.6	4.4	98.8	2.1	98.5	2.1	99.3	3.9
	高	100.1	0.9	100.4	2.7	101.6	1.4	101.5	2.3
C.I.113	低	100.9	2.2	92.9	2.7	91.7	1.8	88.0	4.2
	中	99.9	1.1	98.5	2.3	98.5	3.3	99.3	3.9
	高	99.8	1.0	104.6	1.2	103.8	0.7	105.3	1.1
C.I.351	低	97.8	1.4	92.1	1.3	89.9	2.6	102.9	3.4
	中	106.1	1.4	99.4	1.2	99.3	2.5	106.2	1.6
	高	104.8	0.7	103.0	3.0	106.7	1.4	105.5	0.4

的甲酸溶液、乙腈-5 mmol·L⁻¹ 的乙酸铵溶液、甲醇-5 mmol·L⁻¹ 的乙酸铵溶液、乙腈-0.1%的氨水溶液以及甲醇-0.1%的氨水溶液这 5 种流动相体系对 14 种 FWAs 响应值的影响。结果表明当流动相中含有甲酸时,对 ESI-模式下的 4 种化合物的响应会产生抑制作用,用 0.1%的氨水溶液为流动相时 ESI-模式下的 4 种化合物的响应值明显增高;同时对甲醇和乙腈做了比较,结果表明 ESI-模式下的 3 种化合物的响应值在用甲醇作为流动相时更好,见图 2。故最终本实验选择了甲醇-0.1%氨水溶液作为流动相。

C₁₈ 色谱柱是实验室常用的分离柱,而流动相

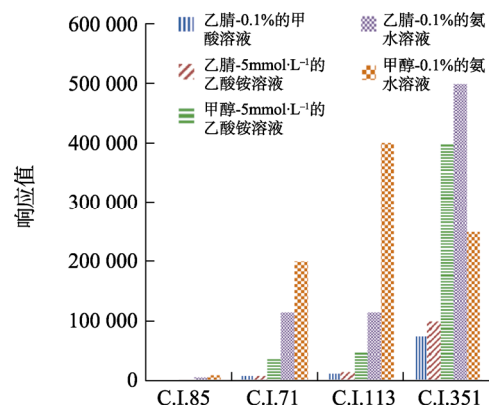


图 2 流动相对 4 种荧光增白剂的响应值的影响

Fig. 2 Effect of flow phase on response values of 4 fluorescent whitening agents

中 0.1%氨水溶液 pH 值为 10.4,所以选择了 Waters ACQUITY UPLC® BEH C₁₈(2.1 mm×50 mm, 1.7 μm)色谱柱,其 pH 适用范围为 1~12,并对梯度洗脱程序进行了优化,可以在 15 min 内完成 14 种化合物的分析,各个化合物的 TIC 图的峰型对称、尖锐,见图 3。

3.2 质谱条件优化

分别取浓度为 1 μg·mL⁻¹ 的 14 种 FWAs 的标准溶液用于质谱条件的优化。实验采用电喷雾离

子源(ESI)进行离子化,分别采用正离子模式和负离子模式进行全扫描(Q1),C.I.85、C.I.71、C.I.113 和 C.I.351 在 ESI⁺模式下响应最好,其余 10 种 FWAs 在 ESI⁻模式下响应最好,故本实验采用正负离子模式同时检测。确定好 14 种 FWAs 的母离子后,通过仪器自带的二级质谱参数优化程序,筛选出这 14 种 FWAs 响应最高的 2 个碎片离子作为定量离子和定性离子,同时优化了各自的碰撞电压(CE),结果见表 3。

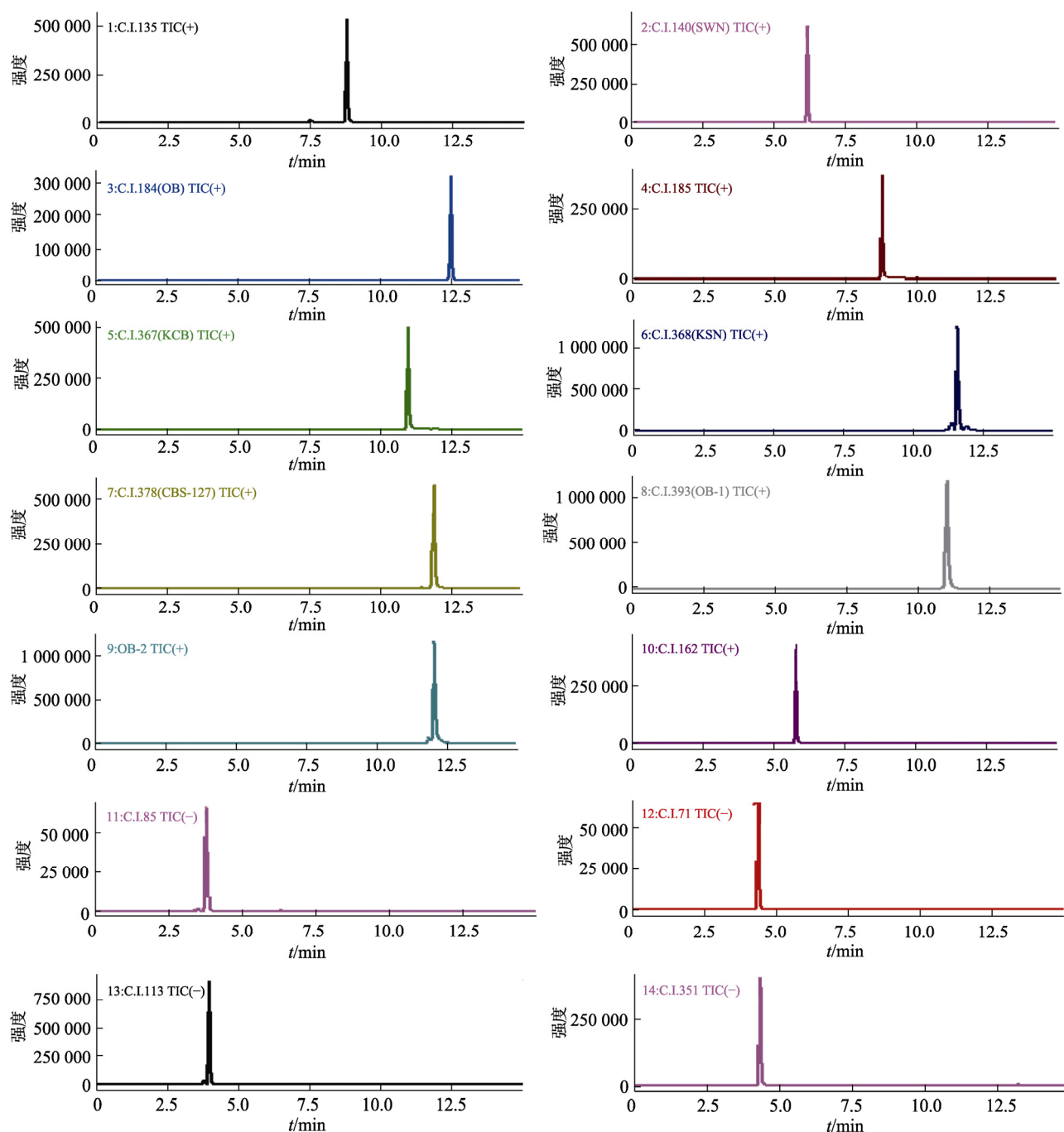


图 3 14 种荧光增白剂总离子流图

Fig. 3 Total ion chromatograms of 14 fluorescent whitening agents

3.3 样品前处理条件的优化

近年来,文献中关于化妆品中 FWAs 提取溶剂的报道有乙腈^[3]、DMF^[9]、乙酸乙酯^[7]、50%甲醇^[12]、氯仿^[13]等。同时,结合 14 种 FWAs 的极性,本实验选取了乙腈、甲醇、氯仿、乙酸乙酯和 DMF 这 5 种提取溶剂,在相同条件下对自制阳性样品进行了测试,比较了这 5 种溶剂的提取效率。结果表明,使用氯仿、乙腈、乙酸乙酯作为提取溶剂时,对于 C.I.85、C.I.71、C.I.113 这 3 种化合物的提取效率差,而 DMF 对 14 种 FWAs 的提取效率均>70%,符合实验要求,见图 4。

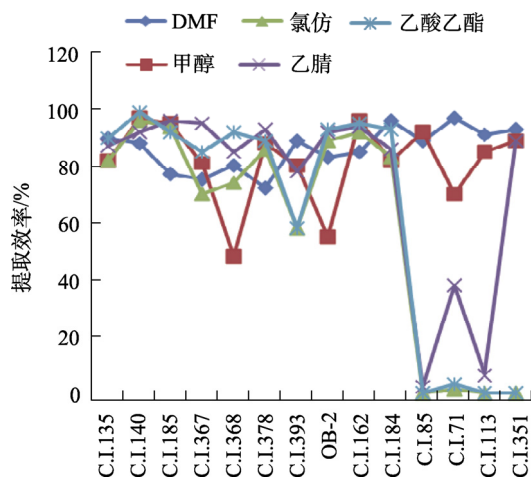


图 4 不同溶剂对 14 种荧光增白剂的提取效率
Fig. 4 Extraction efficiency of 14 fluorescent whitening agents with different solvents

实验比较了超声时间为 10, 20, 30, 40, 60 min 时的提取率。结果表明,超声时间对测定结果影响不大。由于化妆品样品基质的复杂性,为了避免由于超声时间过短而导致回收偏低,超声时间选择了 30 min。

3.4 基质效应(matrix effect, ME)

ME 是指由于样品的差异,样品中的干扰物能够抑制或增强分析物在质谱的响应。ME 可以采用基质标准曲线斜率与空白溶剂标准曲线斜率的百分比来考察^[17],当 ME 为 100%时,表示无 ME,当 ME>100%时,表示存在基质增强效应,当 ME<100%,表示存在基质抑制效应。参照 $ME = K_1/K_2$ (K_1 表示基质溶液标准曲线斜率, K_2 表示空白溶液标准曲线斜率)计算 ME,结果见表 7。14 种 FWAs 均有 ME,或是有抑制作用,或是有增强作用,这是由于化妆品中含有天然植物成分、抗氧化剂、防腐剂等多种添加剂,对目标分析物的离

子化有影响。考虑到化妆品基质的复杂性和确保试验结果准确,方法应统一使用与试样基质相近的阴性样品做基质标准曲线进行外标法定量。

表 7 14 种荧光增白剂的基质效应

Tab. 7 Matrix effects for 14 fluorescent whitening agents %

化合物	基质效应			
	化妆水	面膜	乳液	膏霜
C.I.135	77	81	52	34
C.I.140	113	139	102	44
C.I.185	99	102	56	37
C.I.367	110	105	62	16
C.I.368	98	70	49	33
C.I.378	26	26	4	1
C.I.393	96	49	36	23
OB-2	130	96	60	7
C.I.162	124	114	74	52
C.I.184	145	124	187	29
C.I.85	108	221	150	144
C.I.71	79	377	151	213
C.I.113	37	80	136	140
C.I.351	146	152	118	89

3.5 结论

本研究建立了定量测定化妆品中可能存在的 14 种 FWAs 的 HPLC-MS/MS 方法,涵盖了现有化妆品标准^[7-9]中所有的 FWAs 的组分,并进行了方法学验证,该方法专属性强,前处理简单,分析时间短,同时发挥了质谱灵敏度高的特点,如 C.I.184、C.I.351、C.I.140、C.I.367、C.I.393 等多种组分的检出限均低于现有化妆品标准^[8-9]的检出限。由于要同时检测化妆品中常见的水溶性和脂溶性的 FWAs,选择了溶解性能较强的 DMF 作为提取溶剂,在检测过程中仪器建议通过在线过滤器和预柱等进行保护。在检测的 35 批次样品中,有 4 批次检出 FWAs,且阳性样品多为标识不规范产品。这一结果表明该方法具有一定的实际应用价值,可为化妆品的监管提供技术支持。

REFERENCES

[1] GB/T 6687—2006, 染料名词术语[S]. 2006.
[2] CHEN D Y, ZHANG H, FENG J L, et al. Determination of fluorescent whitening agents in cosmetics by solid phase extraction-high performance liquid chromatography[J]. J Anal Sci(分析科学学报), 2020, 36(2): 270-274.
[3] LIU Y, WANG X B, LI Q Y, et al. Determination of ten fluorescent whitening agents in masks by HPLC-FLD/DAD

- with series double-detector[J]. China Surfactant Deterg Cosmet(日用化学工业), 2018, 48(5): 299-302.
- [4] ZHANG H Y, SHI X F, WANG X Q, et al. Study on transdermal absorption and skin irritation of fluorescent whitening agents in facial mask[J]. China Surfactant Deterg Cosmet(日用化学工业), 2022, 52(3): 322-327.
- [5] ZUO J F, HE Z H, XIONG M J, et al. Determination of 7 water-soluble fluorescent whitening agents in medicinal composite films by ultra-high performance liquid chromatography[J]. J Instrum Anal(分析测试学报), 2020, 39(9): 1098-1104.
- [6] TANG J, ZHOU J, QIAN K, et al. Simultaneous determination of 18 fluorescent whitening agents in textiles by ultra performance liquid chromatography[J]. Chin J Chromatogr, 2018, 36(7): 670-677.
- [7] DB34/T 3302—2018, 化妆品 5 种苯并噁唑类荧光增白剂含量的测定 高效液相色谱串联质谱法[S]. 2018.
- [8] GB/T 40900—2021, 化妆品中荧光增白剂 367 和荧光增白剂 393 的测定 液相色谱-串联质谱法[S]. 2021.
- [9] 国家食品药品监督管理局. 化妆品中荧光增白剂的检测方法(征求意见稿)[S]. 2019.
- [10] XUE W, WU J H, LI X T, et al. Current situation and outlook for detection methods of fluorescent whitening agents[J]. Text Aux(印染助剂), 2022, 39(3): 10-18.
- [11] ZHANG H Y, QIU G Y, WU F X, et al. Determination of white agents in facial mask by QuEChERS/high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. J Instrum Anal(分析测试学报), 2019, 38(9): 1120-1125, 1131.
- [12] DOU Y, TIAN J Q, WANG Q L, et al. Determination of five fluorescent whitening agents in cosmetics by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. China Surfactant Deterg Cosmet(日用化学工业), 2020, 50(6): 427-432.
- [13] XU J H, ZHANG R L, YI L Y, et al. Determination of nine fluorescent brightener in cosmetics by ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Chin J Health Lab Technol(中国卫生检验杂志), 2020, 30(21): 2578-2581.
- [14] ZHONG P. Determination of 13 fluorescent whitening agents in baby textile products by accelerated solvent extraction/high performance liquid chromatography[J]. Text Aux(印染助剂), 2021, 38(2): 61-64.
- [15] LI R, HE C M, BO Y N, et al. Determination of seven fluorescent whitening agents in flour by high performance liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry[J]. Chin J Chromatogr, 2017, 35(2): 162.
- [16] ZHANG L N, ZOU X, YU W Q, et al. Determination of nine fluorescent whiteners in plastic food contact materials by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Food Sci(食品科学), 2021, 42(2): 291-298.
- [17] JIANG Y Q, GAO T Y, YU H Y, et al. Rapid screening and determination of eight nitrosamines in cosmetics by liquid chromatography-quadrupole-time-of-flight mass spectrometry[J]. China Surfactant Deterg Cosmet(日用化学工业), 2022, 52(7): 785-790.

收稿日期: 2023-02-08

(本文责编: 李艳芳)