

## LC-MS/MS法测定化妆品中的五种防腐剂

## LC-MS/MS Method for Analysis of Five Preservatives in Cosmetics

秦孟姣, 于怀东, 郭立海

Mengjiao Qin, Huaidong Yu, Lihai Guo

SCIEX应用支持中心, 中国

SCIEX, China

**Key Words:** Preservatives, Benzoic acid, o-Cymen-5-OL, Triclosan, 2,4-dichlorobenzyl alcohol, thimerosal, Cosmetics; Triple Quad™ 4500

防腐剂是化妆品中需要使用的一类添加剂, 但大多数的防腐剂会对人的皮肤产生不同程度的刺激。2015年国家食品药品监督管理总局组织推出了《化妆品安全技术规范》(2015版), 其中第三章为化妆品准用物质, 包括62种防腐剂。国家药品监督管理局2021年第17号通告, 修订了《化妆品中防腐剂检验方法》, 该方法于2021年5月1日起施行。《化妆品中防腐剂检验方法》是用高效液相色谱法测定化妆品中的防腐剂, 针对液相色谱方法中检出结果存在的不确定因素, 采用液相色谱-质谱法或气相色谱-质谱法进行确证。

本文采用SCIEX Triple Quad™ 4500 LC-MS/MS系统, 1. 参考《化妆品中防腐剂检验方法》, 对苯甲酸、2、4-二氯苯甲醇、邻伞花烃5-醇、三氯生以及柳硫汞五个化合物进行参数优化, 满足防腐剂

检测规范的检定限量要求; 2. 新建了五种化合物的液质方法, 该方法优于化妆品安全技术规范的测定下限。

### 实验方法1 (参考《化妆品中防腐剂检验方法》检测条件)

#### 液相条件1 (采用乙酸铵作为流动相添加剂)

色谱柱: Phenomenex Kinetex C18 2.1 × 50 mm, 2.6 μm

流动相: A相(水相): 含5 mM乙酸铵水溶液

B相(有机相): 含5 mM乙酸铵甲醇

流速: 0.4 mL/min

柱温: 40 °C

进样体积: 0.5 μL

梯度洗脱程序: 7 min

表1. 液相条件1洗脱程序

时间 (min)	A(%)	B(%)
0.00	90	10
0.5	90	10
1	60	40
4	20	80
5	20	80
5.1	90	10
7	STOP	



SCIEX ExionLC™液相系统 + SCIEX Triple Quad™ 4500质谱系统

## 质谱条件 (QTRAP® 4500 LC-MS/MS 系统)

表2. 离子源参数 (ESI负模式)

Parameter	Setting
Curtain Gas(CUR)	30
Ion Spray voltage (IS)	-4500
Temperature(TEM)	500
Nebulizer Gas(GS1)	55
Heater Gas(GS2)	45

表3. 液相条件1离子对信息

Compound	Q1	Q3	ID	DP	CE	CXP
苯甲酸	121	121	Benzoic acid 1	-55	-9	-9
	121	77	Benzoic acid 2	-55	-17	-9
邻伞花烃5-醇	149	149	o-Cymen-5-OL 1	-88	-12	-9
	149	133	o-Cymen-5-OL 2	-88	-19	-9
三氯生	287	35	Triclosan 1	-83	-22	-9
	289	35	Triclosan 2	-83	-22	-9
2、4-二氯苯甲醇	221	177	2,4-dichlorobenzyl alcohol 1	-20	-9	-9
	221	147	2,4-dichlorobenzyl alcohol 2	-20	-15	-9
柳硫汞	381	108	thimerosal 1	-95	-27	-5
	383	108	thimerosal 2	-95	-27	-6

## 实验结果1

1.1 参考《化妆品中防腐剂检验方法》检测条件, 五种防腐剂组分MRM典型色谱图。

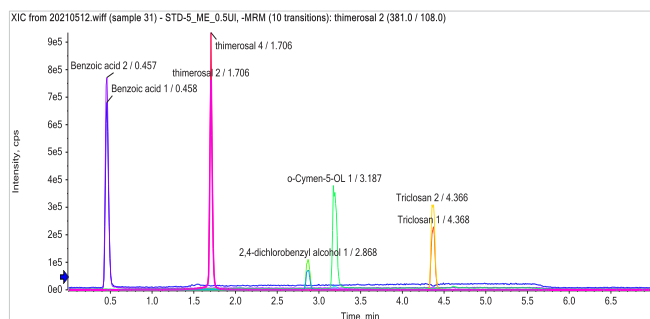


图1. 实验方法1 五种防腐剂组分MRM典型色谱图

1.2 线性范围及定量限: 参考《化妆品中防腐剂检验方法》中五种防腐剂的线性范围配制了一系列浓度的工作溶液, 以峰面积比浓度做标准曲线。图2 为五种防腐剂的线性范围及线性相关系数 $r$  ( $r > 0.99$ ), 《化妆品安全技术规范》(2015版)中此五种防腐剂最低定量限的要求如表4, 定量限浓度的定量通道及定性通道色谱图如图2 所示, 该浓度下连续进样3针, 定量通道峰面积RSD小于5%, 故此实验方法可以满足《化妆品安全技术规范》(2015版)限量的检测要求。

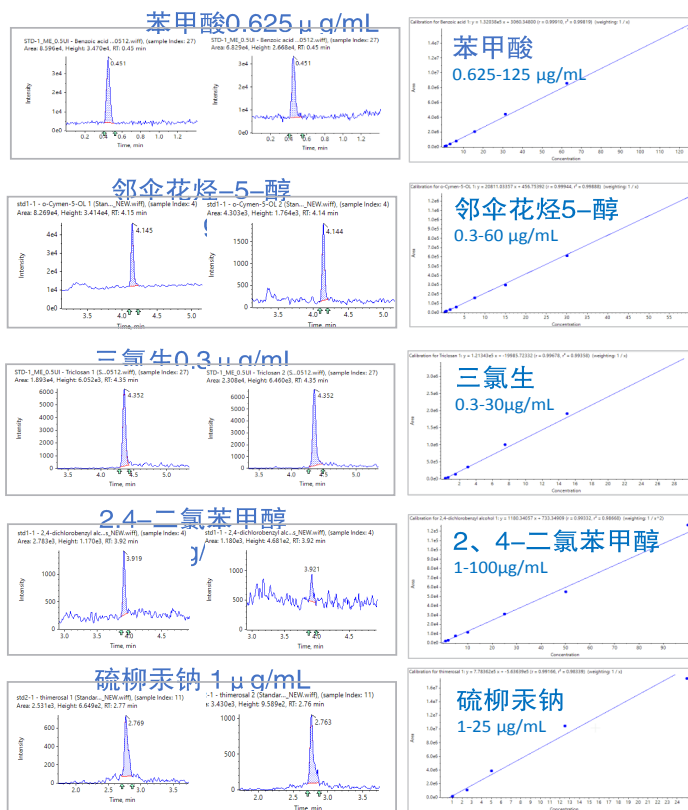


图2. 五种防腐剂线性范围及定量限浓度MRM 色谱图

表4. 液相条件1 五种防腐剂线性范围、定量限及《化妆品安全技术规范》(2015版) 定量限要求

序号	名称	线性范围 µg/mL	定量限 µg/mL	精密度 (n=3) (%)	定量限要求 µg/mL
1	苯甲酸	0.625-125	0.625	0.84	0.5
2	邻伞花烃5-醇	0.3-60	0.3	1.02	0.6
3	三氯生	0.3-30	0.3	0.33	0.6
4	2、4-二氯苯甲醇	1-100	1	3.76	2
5	柳硫汞钠	1-25	1	0.13	1

Note: 苯甲酸0.625 µg/mL 信噪比为53.8, 可满足0.5 µg/mL

## 实验方法2

### 液相条件2 (采用氯化铵作为流动相添加剂):

色谱柱: Phenomenex C18 RP80 Å 2.0 × 50 mm, 4 µm;

流动相: A相为0.1 mM的氯化铵水溶液,  
B相为乙腈;

流速: 0.4 mL/min;

柱温: 40 °C;

进样体积: 2 µL;

梯度洗脱程序: 7 min

表5. 液相条件2洗脱程序

时间 (min)	A(%)	B(%)
0.00	90	10
0.5	90	10
1	60	40
4	20	80
5	20	80
5.1	90	10
7	STOP	

### 液相条件3 (采用甲酸作为流动相添加剂):

色谱柱: Phenomenex C18 RP80 Å 2.0 × 50 mm, 4 µm

流动相: A相(水相): 含0.04%甲酸水溶液  
B相(有机相): 甲醇

流速: 0.5 mL/min

柱温: 40 °C

进样体积: 10 µL

梯度洗脱程序: 7 min

表6. 液相条件3洗脱程序

时间 (min)	A(%)	B(%)
0.00	80	20
0.5	80	20
2	15	85
5	15	85
5.1	80	20
7	STOP	

## 质谱条件 (QTRAP® 4500 LC-MS/MS 系统)

表7. 离子源参数 (ESI负模式)

Parameter	Setting
Curtain Gas(CUR)	30
Ion Spray voltage (IS)	-4500
Temperature(TEM)	500
Nebulizer Gas(GS1)	55
Heater Gas(GS2)	45

表8. 实验方法2离子对信息

Compound	Q1	Q3	ID	DP	CE	CXP
苯甲酸	121	121	Benzoic acid 1	-55	-9	-9
	121	77	Benzoic acid 2	-55	-17	-9
邻伞花烃5-醇	149	149	o-Cymen-5-OL 1	-88	-12	-9
	149	133	o-Cymen-5-OL 2	-88	-19	-9
三氯生	287	35	Triclosan 1	-83	-22	-9
	289	35	Triclosan 2	-83	-22	-9
2、4-二氯苯甲醇	195	145	2,4-dichlorobenzyl alcohol 1	-20	-14	-9
	197	147	2,4-dichlorobenzyl alcohol 2	-20	-14	-9
柳硫汞	381	108	thimerosal 1	-95	-27	-5
	383	108	thimerosal 2	-95	-27	-6

NOTE:与实验方法1的差异说明: 2、4-二氯苯甲醇改用[M+F]加合形式作为母离子

### 样品前处理过程:

称取样品1.0 g至于50 mL离心管中, 加入甲醇8 mL, 涡旋振荡30 s, 使试样与提取溶剂充分混匀, 超声提取20 min, 用甲醇定容至10 mL, 摇匀, 以10 000 r/min离心5 min, 取上清液稀释50倍后进行上机检测。

## 实验结果2

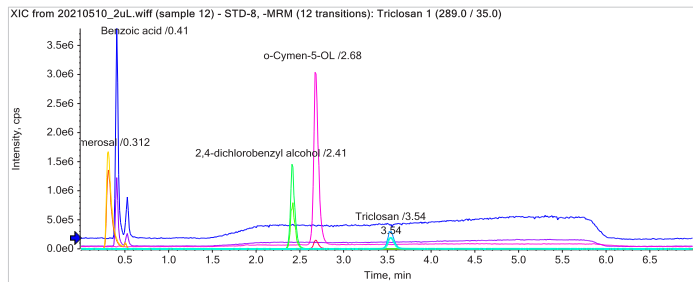


图3. 液相条件2 五种防腐剂MRM典型色谱图

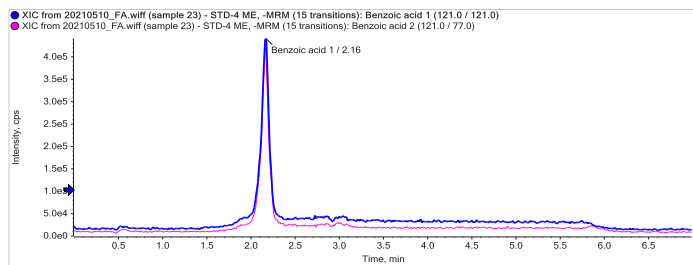


图4. 液相条件3 苯甲酸MRM典型色谱图

### 2.1 色谱条件的优化

采用不同色谱柱 (C18、F5、RPC18)、不同流动相、稀释溶剂优化苯甲酸、邻伞花烃5-醇、三氯生、2、4-二氯苯甲醇、柳硫汞。实验发现邻伞花烃5-醇、三氯生、2、4-二氯苯甲醇的色谱行为良好,但是苯甲酸的色谱行为受酸度的影响较大,考虑到氟化铵体系不适合加酸调整体系pH,所以针对苯甲酸可采用液相条件3来进行实验。图3 图4 分别为两个液相条件下五种防腐剂 MRM典型的色谱图。

### 2.2 线性范围及定量限

苯甲酸、邻伞花烃5-醇、三氯生、2、4-二氯苯甲醇以及柳硫汞5个化合物在如图5所示浓度范围内,线性相关系数R大于0.99,保证不同浓度水平样品的准确定量。图6为5个化合物定量限的定量通道色谱图,连续3针进样,面积的RSD小于5%。本方法的定量下限均优于现行技术规范(表9)。

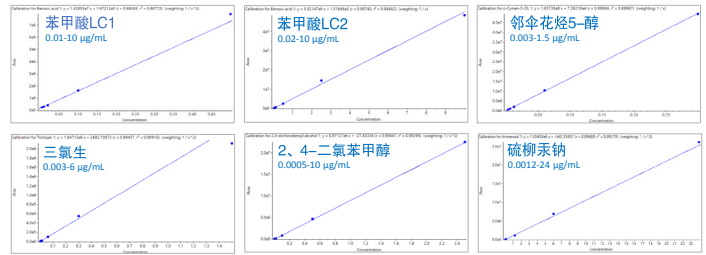


图5. 五种防腐剂线性范围

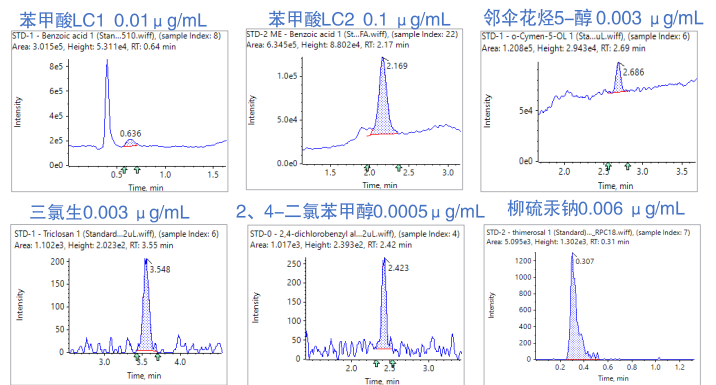


图6. 五种防腐剂定量限浓度MRM色谱图

表9. 液相条件2及液相条件3 五种防腐剂线性范围、定量限及《化妆品安全技术规范》(2015版)定量限要求

序号	名称	线性范围 µg/mL	定量限 µg/mL	重现性 (n=3) (%)	定量限 要求 µg/mL
1	苯甲酸	0.01-10 (LC1)	0.01	1.99	0.5
		0.02-10 (LC2)	0.1	1.68	
2	邻伞花烃5-醇	0.003-1.5	0.003	1.47	0.6
3	三氯生	0.003-6	0.003	1.20	0.6
4	2、4-二氯苯 甲醇	0.0005-10	0.0005	1.13	2
5	柳硫汞钠	0.0012-24	0.006	1.91	1

### 2.3 加标回收试验

选取某品牌化妆水，于《化妆品安全技术规范》（2015版）检定限量1-2倍浓度水平进行3平行加标实验，样品及加标样品测试结果见图7。所有化合物的回收率在60%到105%之间，其相对标准偏差RSD（n=3）都小于5%，表明重现性良好。

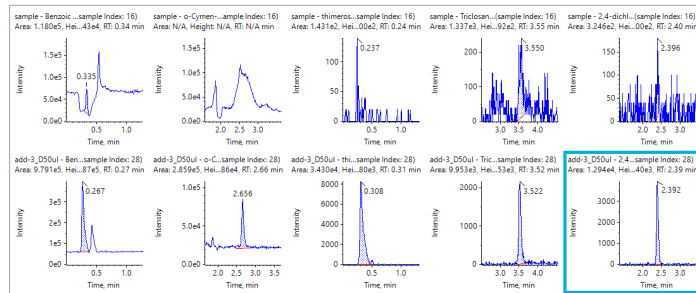


图7. 样品（上）、加标样品（下）五种防腐剂组分MRM色谱图

表10. 五种防腐剂组分加标回收率和重复性测试结果

Component Name	Actual Co...	Num. Val...	Mean	Standar...	Percent CV	Accuracy
Benzoic acid 1	1.0000	3 of 3	0.6267	0.0210	3.36	62.67
o-Cymen-5-OL 1	0.6000	3 of 3	0.6287	0.0274	4.37	104.79
thimerosal 1	1.8000	3 of 3	1.6513	0.0347	2.10	91.74
Triclosan 1	0.6000	3 of 3	0.6293	0.0235	3.74	104.88
2,4-dichlorobenzyl alco...	1.0000	3 of 3	0.9595	0.0411	4.28	95.95

SCIEX临床诊断产品线仅用于体外诊断。仅凭处方销售。这些产品并非在所有国家地区都提供销售。获取有关具体可用信息，请联系当地销售代表或查阅<https://sciex.com.cn/diagnostics>。所有其他产品仅用于研究。不用于临床诊断。本文提及的商标和/或注册商标，也包括相关的标识、标志的所有权，归属于AB Sciex Pte. Ltd. 或在美国和/或某些其他国家地区的各权利所有人。

© 2021 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. RUO-MKT-02-13513-ZH-A



#### SCIEX中国

北京分公司  
北京市朝阳区酒仙桥中路24号院  
1号楼5层  
电话: 010-5808-1388  
传真: 010-5808-1390  
全国咨询电话: 800-820-3488, 400-821-3897

上海公司及中国区应用支持中心  
上海市长宁区福泉北路518号  
1座502室  
电话: 021-2419-7200  
传真: 021-2419-7333  
官网: [sciex.com.cn](http://sciex.com.cn)

广州分公司  
广州市天河区珠江西路15号  
珠江城1907室  
电话: 020-8510-0200  
传真: 020-3876-0835  
官方微信: [SCIEX-China](https://www.sciex.com.cn)