

高效液相色谱-串联质谱法 测定化妆品中9种禁用生物碱

吕小会^{1,2}, 罗辉泰², 黄晓兰², 张秋炎², 朱志鑫², 吴惠勤²

(1. 广东工业大学, 广东 广州 510006; 2. 广东省科学院, 广东省测试分析研究所(中国广州分析测试中心),
广东省化学危害应急检测技术重点实验室, 广东 广州 510070)

摘要:建立了高效液相色谱-串联质谱(HPLC-MS/MS)法同时测定化妆品中9种禁用生物碱。采用水作为样品分散剂,氨水-甲醇(2:98,V/V)作为提取剂,使用正己烷除脂,实现一步完成提取与净化;用Poroshell 120 Bonus-RP 色谱柱分离,以0.2%甲酸水溶液-乙腈为流动相进行梯度洗脱;在电喷雾正离子模式下,以多反应监测(MRM)模式测定,推测生物碱的质谱碎裂机理。结果表明,9种生物碱在相应的浓度范围内线性关系良好,线性相关系数 r^2 为0.9978~0.9998。方法的检出限和定量限分别为0.03~0.36 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和0.1~1.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$,3种加标浓度的回收率为85.3%~135.3%,相对标准偏差为1.0%~13.4%。该方法前处理简便高效、测定结果准确、灵敏度高,适用于化妆品中禁用生物碱的检测及化妆品的安全性评价。

关键词:生物碱;高效液相色谱-串联质谱(HPLC-MS/MS);化妆品;碎裂机理

中图分类号:O657.63

文献标志码:A

文章编号:1004-2997(2021)01-0073-11

doi:10.7538/zpxb.2019.0054

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Determination of Nine Banned Alkaloids in Cosmetics by High Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

LYU Xiao-hui^{1,2}, LUO Hui-tai², HUANG Xiao-lan², ZHANG Qiu-yan²,
ZHU Zhi-xin², WU Hui-qin²

(1. *Guangdong University of Technology, Guangzhou 510006, China*;
2. *Guangdong Provincial Key Laboratory of Emergency Test for Dangerous Chemicals, Guangdong Institute of Analysis (China National Analytical Center Guangzhou), Guangdong Academy of Sciences, Guangzhou 510070, China*)

Abstract: A method of high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS) was developed for the simultaneous determination of nine banned alkaloids in cosmetics, including strychnine, pilocarpine, veratrine, noscapine, lobeline, atropine, hyoscyne, ephedrine and physostigmine. Water was selected as dispersant agent, a mixture of ammonia-methanol (2:98, V/V) solution was selected as

收稿日期:2019-04-25;修回日期:2019-07-22

作者简介:吕小会(1992—),女(汉族),山西大同人,硕士研究生,有机分析专业。E-mail: 1970260483@qq.com

通信作者:黄晓兰(1964—),女(汉族),广东潮州人,研究员,从事色谱与质谱分析应用研究。E-mail: wenhxl@126.com

extracting agent, meanwhile, *n*-hexane was adopted for defat treatment, so the purification and extraction could be accomplished in one step. The chromatographic separation was achieved by using a Poroshell 120 Bonus-RP column in combination with a gradient elution with 0.2% formic acid in water and acetonitrile. The qualitative and quantitative analysis of the nine alkaloids were operated by electrospray ionization at positive ion mode using multiple reaction monitoring (MRM) mode. The mass spectrometric fragmentation rule of the alkaloids was also studied. The results showed that the linear relationships are good corresponding to concentration ranges, and the correlation coefficients are 0.997 8-0.999 8. The limits of detection (LODs) and the limits of quantitation (LOQs) range from 0.03 to 0.36 $\mu\text{g}/\text{kg}$ and 0.1 to 1.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$, respectively. The recoveries are 85.3%-135.3% at three spiked concentrations, and the relative standard deviations (RSDs) are 1.0%-13.4%. The method is fast, accurate and sensitive, and it is suitable for the detection of the banned alkaloids in cosmetics and the evaluation of the safety of cosmetics.

Key words: alkaloids; high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS); cosmetics; fragmentation mechanism

随着经济的日益发展和生活水平的不断提高,化妆品市场展现出蓬勃生机,尤其对女性来说,化妆品已经成为一种不可缺少的日常用品^[1]。在需求增加的同时,人们对化妆品质量提出了自然、健康的要求。近年来,将作用温和、刺激性小、安全性高的植物提取物作为添加剂应用于化妆品中已成为新产品研发的热点^[2-4]。在化妆品中添加植物提取物既可以保留植物天然药效成分的持久稳定、安全可靠,又具有美容、营养、保健的作用^[5]。从化妆品中使用的天然植物剂型来看,一般采用萃取液或浓缩物直接进行调配,这些植物提取物中除了有益于人体的天然成分外,还可能引入其他物质,例如有毒生物碱。这是一类主要存在于植物中的含氮碱性有机化合物,是植物次生代谢产物中的一类,具有显著的药理活性和毒性^[6],长期使用含有毒生物碱类物质的化妆品会给消费者的身心健康带来极大伤害^[5,7-8]。欧盟化妆品法规^[9]和我国《化妆品安全技术规范》^[10]明确将部分有毒生物碱列为禁用组分。《中国已使用化妆品名称原料目录(2015版)》中显示,允许在化妆品中使用的8 000多种成分中有2 000多种属于天然植物提取物,而国内针对化妆品中禁用生物碱的相关检测方法及标准却明显滞后,很多在《化妆品安全技术

规范》中规定的禁用生物碱还缺少相应的检测方法,在最新发布的国家标准方法^[11]中也没有全部涵盖。

有关生物碱检测的报道主要集中在血液、尿液、天然植物、食物等基质中^[12-18],检测方法主要有高效液相色谱法(HPLC)^[19]、高效液相色谱-串联质谱(HPLC-MS/MS)法^[9,13-14,16,20]、气相色谱-质谱(GC-MS)法^[15,21]。其中,HPLC对复杂样品具有高分离能力,但检出限通常在100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以上,不适合痕量检测,同时仅以保留时间进行定性分析存在不足,当目标物浓度较低时,基质干扰严重、选择性差、易出现假阳性结果^[22];GC-MS适用于挥发性和半挥发性成分的分析,而大部分生物碱属于难挥发化合物;HPLC-MS/MS既具有HPLC的高分离能力,又具有质谱的高选择性、高灵敏度以及能提供相对分子质量和结构信息的优点。因此,文献报道主要采用HPLC法^[19,23-24]和HPLC-MS/MS法^[8,20,25]检测化妆品中生物碱,但所涉及的生物碱种类较少。

本文拟针对《化妆品安全技术规范》中明确规定的禁用有毒生物碱种类,采用HPLC-MS/MS法同时测定化妆品中9种生物碱(土的宁、毛果云香碱、西伐丁、那可丁、山梗菜碱、阿托品、东莨菪碱、麻黄碱、毒扁豆碱),并在样品前处理过程中,将除脂与净化同步进行,希望为

化妆品中禁用生物碱的检测及监控提供科学依据和技术支撑。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

1200 SL Series HPLC-6410B Triple Quad MS液相色谱-串联四极杆质谱仪:美国 Agilent 公司产品;KQ3200 型台式机械超声波清洗器:东莞市科技超声波设备有限公司产品;H1850 离心机:湖南湘仪实验室仪器开发有限公司产品;XW-80A 快速混匀器:海门市麒麟医用仪器厂产品。

甲醇、乙腈:色谱纯,德国 Merck 公司产品;甲酸:LC-MS 级,美国 Sigma 公司产品;正己烷:分析纯,广州化学试剂厂产品;实验用水为二次蒸馏水。

土的宁、毛果云香碱、阿托品、西伐丁、那可丁:购于中国药品生物制品检定所;山梗菜碱、毒扁豆碱:美国 Sigma 公司产品;东莨菪碱、麻黄碱:天津一方科技有限公司产品。各生物碱纯度均大于 98%。

实际样品:客户送检的植物草本化妆品,取样前混合均匀。

1.2 标准溶液的配制

准确称取 9 种生物碱标准品,用甲醇溶解,配制成 100 mg/L 的单标准储备液,置于棕色瓶中,于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存。根据需要吸取适量的标准储备液,用阴性空白基质提取液稀释定容,得到 0.2、0.5、1、2、10、25、50 和 100 $\mu\text{g/L}$ 的系列标准工作溶液。

1.3 样品前处理

1.3.1 水基质类化妆品 称取 1 g(精确至 0.001 g)样品于 25 mL 具塞比色管中,加入 2 mL 水,用氨水-甲醇溶液(2:98,V/V)定容至 10 mL,涡旋振荡 30 s,使样品混合均匀,超声提取 10 min,过 0.22 μm 有机系滤膜后,待测。

1.3.2 乳液膏霜基质类化妆品 称取 1 g(精确至 0.001 g)样品于 25 mL 具塞比色管中,加入 1 mL 水涡旋,使样品分散,再加入 1 mL 正己烷,用氨水-甲醇溶液(2:98,V/V)定容至 10 mL,涡旋振荡 30 s,使样品混合均匀,超声提取 10 min 混合均匀试样,转移到 25 mL 离心管中,将离心管置于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中 1 h,取出后以

4 000 r/min 离心 10 min,弃去上层正己烷,取下层清液过 0.22 μm 有机系滤膜后,待测。

1.4 实验条件

1.4.1 色谱条件 色谱柱:Poroshell 120 Bonus-RP(3.0 mm \times 100 mm \times 3 μm);柱温: $30\text{ }^{\circ}\text{C}$;流动相:A 为 0.2%甲酸水溶液,B 为乙腈;流速:0.4 mL/min;进样量:2 μL ;梯度洗脱程序:0~1.5 min(98%A),1.5~2.0 min(98%~90%A),2.0~5.0 min(90%~85%A),5.0~8.0 min(85%~75%A),8.0~10.0 min(75%~40%A),10.0~12.0 min(40%~20%A),12.0~12.1 min(20%~5%A),12.1~13.0 min(5%A),13.0~13.1 min(5%~98%A)。

1.4.2 质谱条件 电喷雾离子源(ESI);正离子扫描方式;多反应监测(MRM)模式;雾化气压力: $2.76\times 10^5\text{ Pa}$;干燥气流速:6 L/min;干燥气温度: $300\text{ }^{\circ}\text{C}$;毛细管电压:4 000 V。

2 结果与讨论

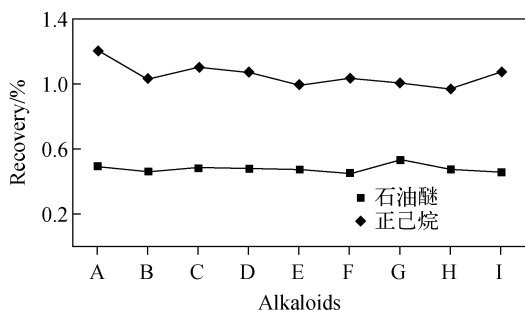
2.1 样品前处理条件的优化

化妆品成分复杂,化学原料种类多(如甘油、十八烷酸和阳离子表面活性剂等),这些原料会对色谱分离和检测过程产生干扰。因此,化妆品的提取和纯化是实验的关键。不同类型的化妆品因基质不同应选用不同的前处理方法,本文主要讨论基质较复杂的乳液膏霜类化妆品。

2.1.1 提取方法的优化 选择甲醇、乙醇、乙腈 3 种常用的生物碱提取溶剂提取样品,结果表明,采用甲醇和乙腈提取的样品回收率较高。生物碱呈碱性,在碱性环境中容易游离出来,易溶于有机溶剂。因此,在甲醇和乙腈中分别添加不同含量的氨水,考察提取效果。结果表明,2%氨水-甲醇溶液作为提取溶剂的提取回收率最优。

常用的除脂溶剂为石油醚和正己烷,通过实验发现,正己烷的除脂效果较好,示于图 1。理论上,应该在样品提取后进行除脂,实验中发现,在提取过程中同时加入 1 mL 正己烷也可以达到很好的除脂效果,并且不会对回收率产生影响,将提取与净化同时进行,简化了操作流程。乳液膏霜类化妆品一般包含脂溶型和水溶型。实验发现,对于一些水溶型样品,仅使用 2%氨水-甲醇溶液作为提取剂,涡旋时有絮状物出现,提取效果不好。为了兼顾不同类型,在

提取过程中加入 1 mL 水分散样品,使水溶型样品可以得到充分提取。



注:A. 土的宁;B. 毛果云香碱;C. 西伐丁;D. 那可丁;
E. 山梗菜碱;F. 阿托品;G. 东莨菪碱;
H. 麻黄碱;I. 毒扁豆碱

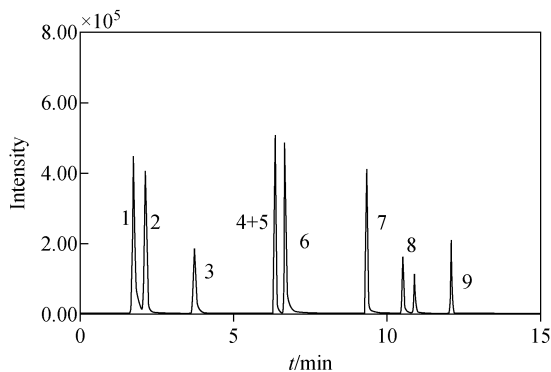
图 1 9 种生物碱在石油醚和正己烷中的回收率
Fig. 1 Recoveries of 9 alkaloids in petroleum ether and hexane

2.1.2 超声水浴时间的影响 乳液膏霜类化妆品的黏度较大,本实验将涡旋振荡与超声水浴结合提取化妆品中生物碱。首先通过涡旋振荡使样品充分分散,再利用超声水浴提取的空化效应使样品分散均匀,使之与提取溶剂接触更充分。本实验考察了 5、10、15、20、25 min 超声时间对化妆品中 9 种生物碱提取效率的影响。结果表明,生物碱的回收率随超声时间的延长而增大,10 min 之后的回收率增长不明显,为节约时间,选择超声时间 10 min。另外,在提取过程中将样品溶液置于 4 °C 冰箱中冷藏 1 h,可以减少油脂的抽提量^[26],有利于后续的实验操作。

2.2 色谱条件的优化

2.2.1 色谱柱的选择 Poroshell 120 系列色谱柱由单步多孔壳层工艺制造而成,分离效率高,可以减少色谱柱批次之间的细微差异。本实验考察了 Poroshell 120 的三款色谱柱 SB-C18(2.1 mm×100 mm×2.7 μm)、Bonus-RP(3.0 mm×100 mm×3 μm)和 HPH-C18(2.1 mm×100 mm×2.7 μm)的分离效果。结果表明,使用 SB-C18 色谱柱,西伐丁/山梗菜碱、土的宁/阿托品没有达到基线分离;使用 HPH-C18 色谱柱,9 种生物碱基本上实现了基线分离,但是峰形较差;使用 Bonus-RP 色谱柱,峰形较好,对阿托品和毒扁豆碱没有选择性

分离,但由于这 2 种生物碱的分子质量差异较大,可以通过质谱区分,示于图 2。因此,选择 Bonus-RP 色谱柱。此外,在 Bonus-RP 和 HPH-C18 色谱柱中,山梗菜碱都出现了 2 个色谱峰,二者的一级质谱和二级质谱基本一致,初步判断是一对同分异构体,山梗菜碱结构中的酮基氮杂环己烷构型不稳定,在亲水性溶剂或有羟基存在时,通过逆迈克尔加成生成同分异构体,即顺式山梗菜碱会转化为反式山梗菜碱,并最终达成平衡^[27]。



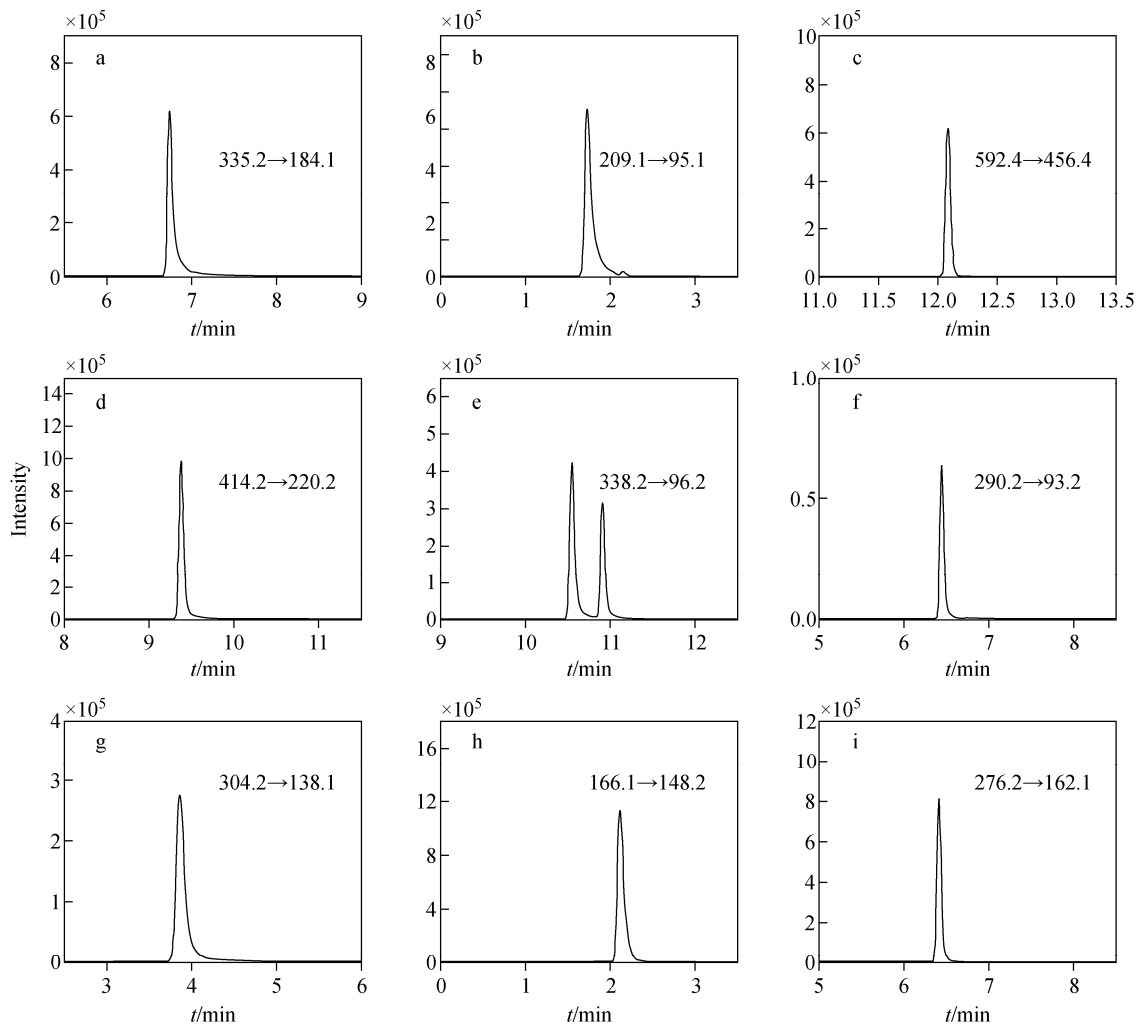
注:1. 毛果云香碱;2. 麻黄碱;3. 东莨菪碱;4. 毒扁豆碱;
5. 阿托品;6. 土的宁;7. 那可丁;8. 山梗菜碱;9. 西伐丁

图 2 9 种生物碱的总离子流色谱图

Fig. 2 Total ion chromatogram of 9 alkaloids

2.2.2 流动相的选择 由于选择电喷雾正离子模式(ESI⁺)采集质谱数据,故在流动相中加入酸性介质,有利于被测组分离子化,提高质谱响应和检测灵敏度。在 Bonus-RP 色谱柱下,考察了 0.2% 甲酸水溶液-乙腈(或甲醇),0.2% 乙酸水溶液-乙腈(或甲醇),以及 0.2% 甲酸水溶液(含 10 mmol/L 甲酸铵)-乙腈 5 种常用的流动相体系对目标物分离效果的影响。结果发现,在甲醇存在的体系下,9 种生物碱不能得到很好的分离,而在 0.2% 甲酸水溶液(含 10 mmol 的甲酸铵)和 0.2% 乙酸水溶液-乙腈体系中,目标物的响应明显降低。因此,选择 0.2% 甲酸水溶液-乙腈体系作为流动相。9 种生物碱的定量离子色谱图示于图 3。

2.2.3 流速的选择 本实验考察了不同流速对目标物的分离效果。结果发现,当流速较小时,峰形不好;当流速较大时,对毛果云香碱的保留变弱,出峰时间变早。综上所述,选择 0.4 mL/min 的流速。



注:a. 土的宁;b. 毛果云香碱;c. 西伐丁;d. 那可丁;e. 山梗菜碱;f. 阿托品;g. 东莨菪碱;h. 麻黄碱;i. 毒扁豆碱

图3 9种生物碱的定量离子对MRM色谱图

Fig. 3 MRM chromatograms of quantitative ion pair of 9 alkaloids

2.2.4 柱温的选择 本实验考察了20、25、30、35℃等柱温条件对化合物色谱分离的影响。结果表明,当柱温为30℃时,9种生物碱的响应最佳,保留值和色谱峰形最理想。

2.3 质谱条件的优化

在电喷雾离子源正、负离子模式下,对1 mg/L各待测物单标准溶液进行一级全扫描分析,获得准分子离子。9种生物碱在正离子模式下的响应最高,主要原因是生物碱属于含氮原子的杂环化合物,氮原子上存在的孤电子对容易加合氢离子,因此得到待测物的基峰离子均为 $[M+H]^+$ 。在正离子模式下对碎裂电压和碰撞能量进行优化,为了满足欧盟EC/657/2002关于4个确证点的要求,以

响应值最大的碎片离子为定量离子,次级响应的碎片离子为定性离子,优化后的质谱参数列于表1。

2.4 生物碱的质谱碎裂机理

生物碱的碎裂有以下特点:共轭环上的N不易发生碎裂,非共轭或不在环上的N则容易发生碎裂,如土的宁;部分莨菪烷类生物碱阿托品、东莨菪碱,由于在四氢吡咯环上没有含氧基团,因此较稳定,而酯基的组分则易发生氢转移,酯键断裂;四氢吡咯啉生物碱主要先失去部分侧链,其次是四氢吡咯环的裂解,如毒扁豆碱;当结构中含有内酯时,则易开环产生中性碎片 CO_2 或 $HCOOH$ 丢失,如毛果云香碱;含羟基组分易以 H_2O 的形式产生中性碎片丢失,产

表 1 9 种生物碱的质谱参数
Table 1 Mass spectrometric parameters of 9 alkaloids

生物碱 Alkaloid	分子式 Formula	分子质量 Molecular Mass	母离子 Precursor ion(m/z)	碎裂电压 Fragmentor/V	子离子 Product ion (m/z)	碰撞能量 Collision energy/V	碎片离子归属 Classification of fragment ion
士的宁	C ₂₁ H ₂₂ N ₂ O ₂	334	335	120	184.1*	40	[M+H-C ₉ H ₁₃ NO] ⁺
					156.2	52	[M+H-C ₉ H ₁₃ NO-CO] ⁺
毛果云香碱	C ₁₁ H ₁₆ N ₂ O ₂	208	209	120	95.1*	32	[M+H-CH ₂ O ₂ -C ₅ H ₈] ⁺
					163.1	48	[M+H-CH ₂ O ₂] ⁺
西伐丁	C ₃₂ H ₄₉ NO ₉	591	592	120	474.4	40	[M+H-H ₂ O-C ₅ H ₈ O ₂] ⁺
					574.4*	52	[M+H-H ₂ O] ⁺
那可丁	C ₂₂ H ₂₃ NO ₇	413	414	120	220.2*	20	[M+H-C ₁₀ H ₁₀ O ₄] ⁺
					205.1	52	[M+H-C ₁₀ H ₁₀ O ₄ -CH ₃] ⁺
山梗菜碱	C ₂₂ H ₂₇ NO ₂	337	338	115	216.2	16	[M+H-C ₈ H ₁₀ O] ⁺
					96.2*	40	[M+H-C ₈ H ₁₀ O-OC ₈ H ₈] ⁺
阿托品	C ₁₇ H ₂₃ NO ₃	289	290	120	124.2	24	[M+H-C ₉ H ₁₀ O ₃] ⁺
					93.2*	32	[M+H-C ₉ H ₁₀ O ₃ -CH ₃ N] ⁺
东莨菪碱	C ₁₇ H ₂₁ NO ₄	303	304	120	156.2	12	[M+H-C ₉ H ₈ O ₂] ⁺
					138.1*	20	[M+C ₉ H ₈ O ₂ -H ₂ O] ⁺
麻黄碱	C ₁₀ H ₁₅ NO	165	166	100	148.2*	4	[M+H-H ₂ O] ⁺
					91.0	24	[M+H-H ₂ O-C ₃ H ₇ N] ⁺
毒扁豆碱	C ₁₅ H ₂₁ N ₃ O ₂	275	276	110	219.2	4	[M+H-C ₂ H ₃ NO] ⁺
					162.1*	16	[M+H-C ₂ H ₃ NO-C ₃ H ₇ N] ⁺

注: * 为定量离子

生双键形成共轭结构,在结构上达到局部稳定,如麻黄碱、西伐丁和山梗菜碱中 H₂O 的丢失;那可丁的特征碎片以失去甲基或甲氧基为主要裂解方式。9 种生物碱的裂解途径示于图 4。

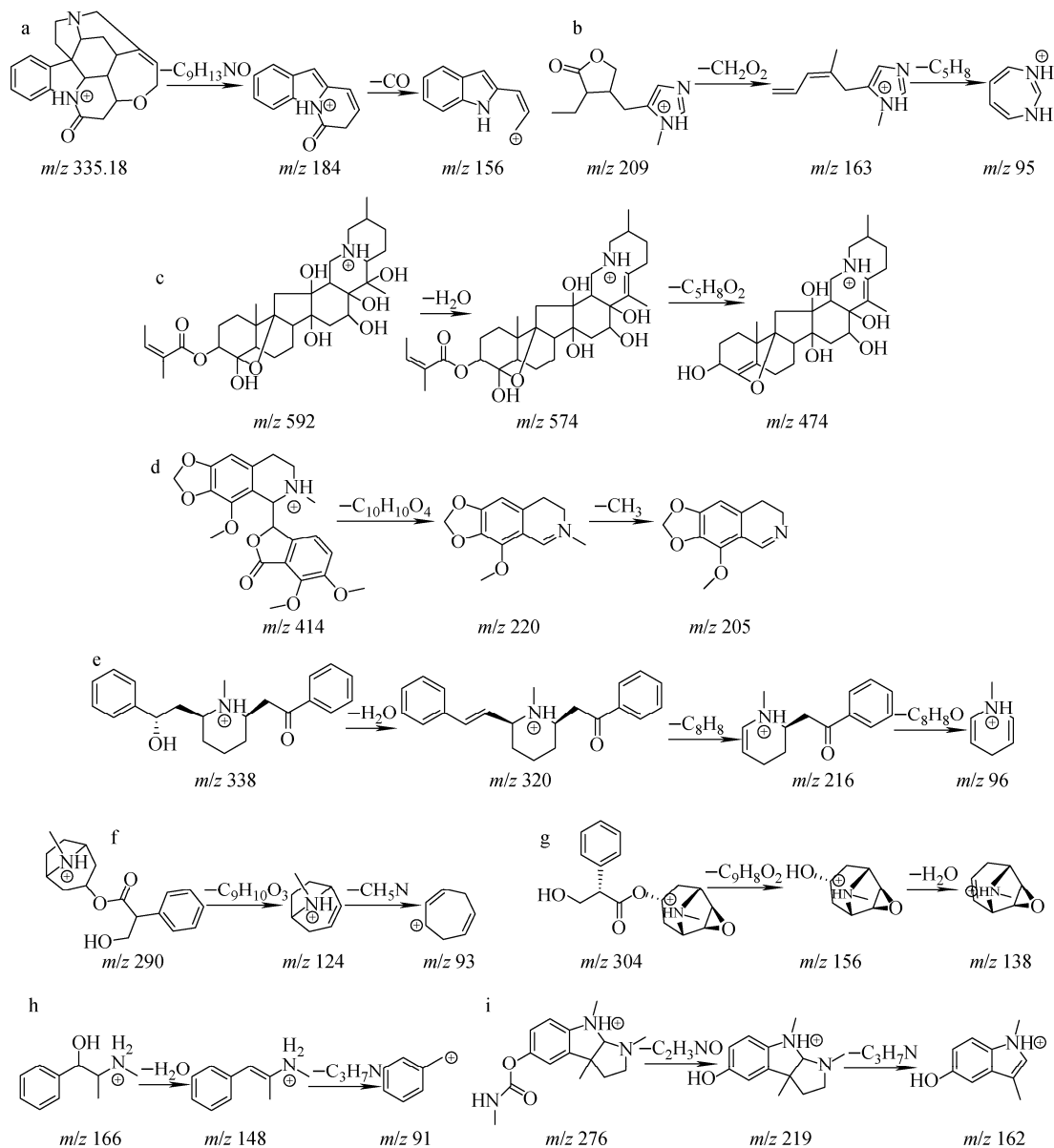
2.5 方法评价

2.5.1 基质效应 化妆品基质较复杂,可能干扰目标物的离子化效果,从而影响质谱响应。一般直接采用 HPLC-MS/MS 法进行分析时会有较强的基质效应^[6,28]。本研究考察了 3 种乳液膏霜的基质效应,取阴性化妆品样品,按 1.3.2 节方法处理后,加入一定量的标准储备液,配制成 1 μg/kg 的基质标准溶液进样分析,

同时将 1 μg/kg 的标准溶液直接进样分析。

$$M_i = \left(1 - \frac{A_{mi}}{A_{si}}\right) \times 100\% \quad (1)$$

式中, M_i 为基质溶液中生物碱的基质效应; A_{mi} 为空白基质溶液中待测物的色谱峰面积; A_{si} 为纯溶剂中相应待测物的色谱峰面积。 $|M_i| < 20\%$ 为弱基质效应; $20\% \leq |M_i| \leq 50\%$ 为中等程度基质效应; $|M_i| > 50\%$ 为强基质效应。当基质效应在中等程度以上,影响定量结果时就需要对基质效应进行校正^[29]。本实验通过式(1)计算出 3 种不同乳液膏霜 M_i 的大致范围在 22%~43% 之间,为中等程度基质抑



注:a. 土的宁;b. 毛果云香碱;c. 西伐丁;d. 那可丁;e. 山梗菜碱;f. 阿托品;g. 东莨菪碱;h. 麻黄碱;i. 毒扁豆碱

图4 9种生物碱的裂解机理

Fig. 4 Fragmentation mechanisms of 9 alkaloids

制效应,示于图5。采用空白乳液膏霜基质提取液配制标准工作液,称取适量空白样品,按1.3.2节方法进行前处理,制备空白基质溶液。用空白基质溶液将标准储备液逐级稀释得到系列标准工作溶液,使标准工作溶液和样品溶液具有相似的离子化环境,确保方法定性与定量分析的准确性。

2.5.2 线性关系、检出限和定量限 在最优的实验条件下,分别测定9种生物碱质量浓度为0.20~600 $\mu\text{g/L}$ 的系列混合标准工作液。以混

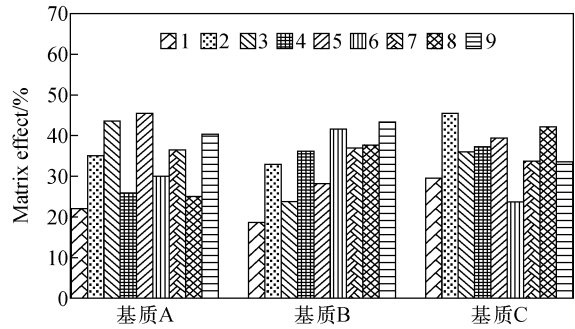
合标准工作液的质量浓度为横坐标($x, \mu\text{g/L}$),以各生物碱的定量离子对色谱峰面积为纵坐标(y)绘制标准曲线,获得线性回归方程,相关系数为0.9934~0.9998,表明待测物在各自的线性范围内呈良好的线性关系。以信噪比 $S/N \geq 3$ 和 $S/N \geq 10$ 确定检出限(LODs)和定量限(LOQs),分别为0.03~0.36 $\mu\text{g/kg}$ 和0.1~1.2 $\mu\text{g/kg}$,结果列于表2。

2.5.3 回收率和精密度 在最优的实验条件下,选取4种基质较复杂的乳液膏霜类阴性样

品进行加标回收实验。每种基质分别添加 0.20、2.0 和 25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 3 个浓度水平的分析物混合标准工作液,按 1.3.2 节方法进行处理,每个浓度平行测定 6 次,计算平均回收率和相对标准偏差(RSD),列于表 3。结果表明,3 种加标浓度的平均回收率为 85.3%~135.3%,RSD 为 1.0%~13.4%,能够满足日常化妆品中 9 种生物碱的检测要求。

2.6 实际样品检测

应用本方法检测抽取的 2 份水剂和 8 份乳液膏霜类草本型化妆品中的生物碱,均未检出,加标回收率在 75.6%~117%之间,符合质控要求。



注:1. 土的宁;2. 毛果云香碱;3. 西伐丁;4. 那可丁;
5. 山梗菜碱;6. 阿托品;7. 东莨菪碱;8. 麻黄碱;9. 毒扁豆碱

图 5 3 种乳液膏霜基质中 9 种生物碱的基质效应

Fig. 5 Matrix effect of nine alkaloids in three cream bases

表 2 9 种生物碱的线性方程、相关系数、定量限、检出限、线性范围

Table 2 Regression equations, correlation coefficients (r^2), limits of detection (LODs), limits of quantitation (LOQs) and linear ranges of 9 alkaloids

生物碱 Alkaloid	线性方程 Regression equation	相关系数 Correlation coefficient (r^2)	检出限 LOD/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	定量限 LOQ/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	线性范围 Linear range/ ($\mu\text{g}/\text{L}$)
土的宁	$y=2.819 \times 10^4 x - 6860$	0.9997	0.36	1.2	0.20~50
毛果云香碱	$y=1.086 \times 10^5 x + 1.605 \times 10^4$	0.9978	0.15	0.5	0.20~50
西伐丁	$y=1.769 \times 10^5 x - 1.499 \times 10^4$	0.9998	0.06	0.2	2.5~600
那可丁	$y=6.989 \times 10^4 x + 2649$	0.9983	0.21	0.7	2.5~600
山梗菜碱	$y=2.707 \times 10^4 x - 1.070 \times 10^4$	0.9981	0.06	0.2	2.5~600
阿托品	$y=1.048 \times 10^4 x - 2715$	0.9997	0.03	0.1	2.5~600
东莨菪碱	$y=5.278 \times 10^4 x - 6554$	0.9993	0.03	0.1	2.5~600
麻黄碱	$y=9.892 \times 10^4 x + 1075$	0.9997	0.09	0.3	0.50~150
毒扁豆碱	$y=7.214 \times 10^4 x - 6566$	0.9992	0.06	0.2	0.50~150

表 3 9 种生物碱的加标回收率及相对标准偏差

Table 3 Spiked recoveries and relative standard deviations of 9 alkaloids

生物碱 Alkaloid	美白乳液 Whitening emulsion		保湿乳液 Skin perfecting lotion		护肤霜 Skin-care cream		润肤乳 Moisturizing cream	
	平均回收率	相对标准偏差	平均回收率	相对标准偏差	平均回收率	相对标准偏差	平均回收率	相对标准偏差
	Average recovery/%	RSD/%	Average recovery/%	RSD/%	Average recovery/%	RSD/%	Average recovery/%	RSD/%
土的宁	105.4	9.3	116.6	2.6	118.6	7.9	88.5	9.9
	125.4	11.8	113.9	3.3	102.1	6.6	87.5	4.7
	112.0	9.2	111.5	3.6	117.0	7.1	109.6	3.7
毛果云香碱	109.4	8.7	112.5	2.0	113.2	7.6	96.3	10.9
	126.7	13.6	108.4	3.3	104.6	3.5	103.4	10.9
	107.6	9.5	116.8	5.2	114.7	3.5	122.6	11.5

续表 3

生物碱 Alkaloid	美白乳液 Whitening emulsion		保湿乳液 Skin perfecting lotion		护肤霜 Skin-care cream		润肤乳 Moisturizing cream	
	平均回收率 Average recovery/%	相对标准偏差 RSD/%	平均回收率 Average recovery/%	相对标准偏差 RSD/%	平均回收率 Average recovery/%	相对标准偏差 RSD/%	平均回收率 Average recovery/%	相对标准偏差 RSD/%
	西伐丁	108.9	5.5	121.4	9.3	117.2	2.8	92.3
	125.2	9.3	121.6	5.6	112.4	3.9	89.3	7.4
	110.4	5.9	114.4	13.1	117.8	3.2	101.7	7.9
那可丁	130.7	7.4	116.8	5.4	128.4	11.1	85.8	4.5
	126.6	13.3	124.5	6.7	125.4	5.1	99.9	4.4
	130.1	7.2	123.2	5.3	135.3	5.2	118.7	4.3
山梗菜碱	120.7	8.6	117.3	4.8	121.9	3.5	85.3	5.2
	123.1	8.4	100.7	4.6	108.2	1.7	87.0	5.5
	110.3	8.0	99.2	4.5	104.7	3.9	86.9	4.9
阿托品	112.0	7.5	130.0	8.7	113.8	12.9	88.2	9.0
	128.3	13.2	107.2	12.9	95.7	1.9	102.0	6.4
	112.7	8.1	116.8	3.5	114.5	5.5	99.1	5.3
东莨菪碱	111.8	8.9	121.3	2.7	130.1	2.4	106.1	13.0
	130.0	13.4	121.7	1.0	116.9	3.5	111.7	12.1
	112.8	7.2	124.7	2.7	117.3	2.6	98.5	11.1
麻黄碱	118.7	6.5	108.0	13.1	127.6	3.3	95.6	5.9
	129.9	8.6	120.7	12.6	106.0	2.9	102.9	10.2
	124.7	5.2	120.4	12.8	114.1	3.2	116.6	6.1
毒扁豆碱	118.4	3.4	117.0	3.9	130.6	7.3	90.0	5.3
	122.4	10.6	121.1	3.6	114.7	6.5	94.5	3.3
	116.4	2.8	123.2	3.4	122.7	5.8	110.9	2.0

3 结论

本研究建立了 HPLC-MS/MS 法同时测定化妆品中 9 种禁用生物碱,样品前处理过程中将除脂与净化同步进行,简化了操作流程,同时探讨了生物碱的质谱碎裂机理。该方法前处理简便、高效,灵敏度可达 $0.03\sim 0.36 \mu\text{g}/\text{kg}$,回收率和精密度均能满足化妆品中生物碱的检测要求,可用于化妆品中禁用生物碱的监测。

参考文献:

- [1] 许银玉. 化妆品中激素的危害与检测[J]. 化工管理,2018(16):38-39.
XU Yinyu. Hazards and detection of hormones in cosmetics[J]. Chemical Management, 2018(16): 38-39(in Chinese).
- [2] 谢艳君,孔维军,杨美华,杨世海. 化妆品中常用中草药原料研究进展[J]. 中国中药杂志,2015,40(20):3 925-3 931.
XIE Yanjun, KONG Weijun, YANG Meihua,

YANG Shihai. Research progress of Chinese herbal medicine raw materials in cosmetics[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2015, 40(20): 3 925-3 931(in Chinese).

- [3] 宋廷生. 发展中国特色的天然化妆品[J]. 日用化学工业,1990(6):29-34.
SONG Tingsheng. Developing natural cosmetics with Chinese characteristics[J]. Daily Chemical Industry, 1990(6): 29-34(in Chinese).
- [4] 王吉星. 天然有机化妆品的发展趋势[J]. 日用化学品科学,2007,12(30):5-8.
WANG Jixing. Development trend of natural organic cosmetics[J]. Development Trend of Natural Organic Cosmetics, 2007, 12(30): 5-8 (in Chinese).
- [5] 雷学军,陈方才. 化妆品中常用中草药的作用及有效成分的分类提取方法[J]. 日用化学工业,1990(3):21-27.
LEI Xuejun, CHEN Fangcai. The function of common chinese herbal medicines in cosmetics

- and the classification and extraction method of their effective components[J]. *Daily Chemical Industry*, 1990(3): 21-27(in Chinese).
- [6] 郭伟华,周金慧,黄京平,王鹏,李熠. 分散固相萃取-高效液相色谱-串联质谱法测定蜂蜜中生物碱[J]. *分析化学*, 2014, 42(10): 1 453-1 458.
GUO Weihua, ZHOU Jinhui, HUANG Jingping, WANG Peng, LI Yi. Determination of alkaloids in honey by dispersive solid phase extraction-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2014, 42(10): 1 453-1 458(in Chinese).
- [7] BUCHELI T D, STROBEL B W, BRUUN HANSEN H C. Personal care products are only one of many exposure routes of natural toxic substances to humans and the environment[J]. *Cosmetics*, 2018, 5(1): 10.
- [8] 汪晨霞,张瑞瑞,寻知庆,郭新东,王强,黄金凤. 超高效液相色谱-串联质谱法测定化妆品中6种生物碱[J]. *分析测试学报*, 2018, 37(6): 669-675.
WANG Chenxia, ZHANG Ruirui, XUN Zhiqing, GUO Xindong, WANG Qiang, HUANG Jinfeng. Determination of 6 alkaloids in cosmetics by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Journal of Instrumental Analysis*, 2018, 37(6): 669-675(in Chinese).
- [9] The Commission of the European Communities. Commission Directive 2008/42/EC[S/OL]. <http://eur-lex.europa.eu/eli/dir/2008/42/oj>, 2008: 13-23.
- [10] 中华人民共和国国家食品药品监督管理总局. 化妆品安全技术规范[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- [11] 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[S]. 北京: 中国标准出版社, 2018.
- [12] RUDOLPH W, REMANE D, WISSENBACH D K, KLEIN C, BARNEWITZ D, PETERS F T. Development and validation of an ultrahigh performance liquid chromatography-high resolution tandem mass spectrometry assay for nine toxic alkaloids from endophyte-infected pasture grasses in horse serum[J]. *Journal of Chromatography A*, 2018, 1 560: 35-44.
- [13] 张盼盼,张福成,王朝虹,蒋晔,卢永江. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定尿液中4种痕量的乌头类生物碱[J]. *色谱*, 2013, 31(3): 211-217.
ZHANG Panpan, ZHANG Fucheng, WANG Chaohong, JIANG Ye, LU Yongjiang. Simultaneous determination of four trace aconitum alkaloids in urine using ultra performance liquid chromatography-mass spectrometry[J]. *Chinese Journal of Chromatography*, 2013, 31(3): 211-217 (in Chinese).
- [14] ZHANG C H, WU H Q, HUANG X L, ZHU Z X, LUO H T, FANG F, LIN X S. Simultaneous determination of toxic alkaloids in blood and urine by HPLC-ESI-MS/MS[J]. *Chromat Ographia*, 2012, 75: 499-511.
- [15] CRAMER L, BEUERLE T. Detection and quantification of pyrrolizidine alkaloids in antibacterial medical honeys[J]. *Original Papers*, 2012(78): 1 976-1 982.
- [16] GRIFFIN C T, DANAHER M, ELLIOTT C T. Detection of pyrrolizidine alkaloids in commercial honey using liquid chromatography-ion trap mass spectrometry[J]. *Food Chemistry*, 2013, 136: 1 577-1 583.
- [17] 李振宇,傅青,李奎永,梁图,金郁. 超临界流体色谱对吴茱萸中吲哚类生物碱的快速分析[J]. *色谱*, 2014, 32(5): 506-512.
LI Zhenyu, FU Qing, LI Kuiyong, LIANG Tu, JIN Yu. Fast analysis of indole alkaloids from *Evdiae fructus* by supercritical fluid chromatography[J]. *Chinese Journal of Chromatography*, 2014, 32(5): 506-512(in Chinese).
- [18] SUN M Q, LIU J X, LIN C R, MAO L, LIN L. Alkaloid profiling of the traditional Chinese medicine *Rhizoma corydalis* using high performance liquid chromatography-tandem quadrupole time-of-flight mass spectrometry[J]. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 2014, 4(3): 208-216.
- [19] 秦宇,聂磊,潘思奕,杨晋青,顾颖娟,邵二磊. 高效液相色谱法测定化妆品中藜芦定的含量[J]. *香精香料化妆品*, 2016(4): 44-48.
QIN Yu, NIE Lei, PAN Siyi, YANG Jinqing, GU Yingjuan, SHAO Erlei. Determination of veratridine in cosmetics by HPLC[J]. *Flavour Fragrance Cosmetics*, 2016(4): 44-48(in Chinese).
- [20] 聂磊,顾颖娟,秦宇,王磊,吴长青. 高效液相色谱-质谱法测定化妆品中藜芦定的含量[J]. *香精香料化妆品*, 2017(6): 48-50.
NIE Lei, GU Yingjuan, QIN Yu, WANG Lei, WU Changqing. Determination of the content of

- veratridine in cosmetics by HPLC-MS[J]. Flavour Fragrance Cosmetics, 2017(6): 48-50 (in Chinese).
- [21] 吴惠勤,张春华,黄晓兰,朱志鑫,林晓珊,黄芳,罗辉泰. 气相色谱-串联质谱法同时检测尿液中15种有毒生物碱[J]. 分析测试学报, 2013, 32(9): 1 031-1 037.
- WU Huiqin, ZHANG Chunhua, HUANG Xiaolan, ZHU Zhixin, LIN Xiaoshan, HUANG Fang, LUO Huitai. Simultaneous determination of 15 toxic alkaloids in urine by gas chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Journal of Instrumental Analysis, 2013, 32(9): 1 031-1 037(in Chinese).
- [22] 熊小婷,吴惠勤,黄晓兰. 液相色谱-电喷雾串联质谱同时检测血液中8种有毒生物碱[J]. 分析化学, 2009, 37(10): 1 433-1 438.
- XIONG Xiaoting, WU Huiqin, HUANG Xiaolan. Simultaneous determination of eight toxic alkaloids in blood by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2009, 37(10): 1 433-1 438(in Chinese).
- [23] 马强,王超,白桦,王星,董益阳,何瑞云,武婷,张庆. 化妆品中土的宁和马钱子碱的高效液相色谱检测及质谱确证[J]. 分析试验室, 2009, 28(7): 38-40.
- MA Qiang, WANG Chao, BAI Hua, WANG Xing, DONG Yiyang, HE Ruiyun, WU Ting, ZHANG Qing. High performance liquid chromatography and mass spectrometry confirmation of sergein and strychnine in cosmetics[J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2009, 28(7): 38-40(in Chinese).
- [24] 刘冬虹,黄荣荣,蔡玮红,胡杜,黄金凤,郭新东,寻知庆. 高效液相色谱法测定护肤品中6种生物碱[J]. 香精香料化妆品, 2017(4): 33-37.
- LIU Donghong, HUANG Rongrong, CAI Weihong, HU Du, HUANG Jinfeng, GUO Xindong, XUN Zhiqing. Determination of six alkaloids in skin care products by high performance liquid chromatography[J]. Flavour Fragrance Cosmetics, 2017(4): 33-37(in Chinese).
- [25] XUN Z Q, LIU D H, HUANG R R, HE S, HU D, GUO X D, XIAN Y P. Simultaneous determination of eight alkaloids and oleandrin in herbal cosmetics by dispersive solid-phase extraction coupled with ultra high performance liquid chromatography and tandem mass spectrometry [J]. Separation Science, 2017, 40(9): 1 855-2 080.
- [26] 王莉,夏广辉,沈伟健,吴斌,张睿,陆慧媛,沈崇钰,赵增运. 气相色谱-负化学源质谱联用法测定水产品及食用油中氟乐灵的残留量[J]. 色谱, 2014, 32(3): 314-317.
- WANG Li, XIA Guanghui, SHEN Weijian, WU Bin, ZHANG Rui, LU Huiyuan, SHEN Chongyu, ZHAO Zengyun. Determination of trifluralin residue in a quatic products and edible oils by gas chromatography-negative chemical ionization mass spectrometry[J]. Journal of Chinese Mass Spectrometry Society, 2014, 32(3): 314-317(in Chinese).
- [27] 夏瑞,代红,车宝泉,张喆,郭洪祝. HPLC法测定盐酸洛贝林注射液中的有关物质[J]. 中国药品标准, 2009, 10(1): 46-50.
- XIA Rui, DAI Hong, CHE Baoquan, ZHANG Zhe, GUO Hongzhu. Determination of related substances in lobeline hydrochloride injection by RP-HPLC[J]. Drug Standards of China, 2009, 10(1): 46-50(in Chinese).
- [28] 罗辉泰,黄晓兰,吴惠勤,张秋炎,朱志鑫,黄芳,林晓珊,马叶芬,邓欣. 分散固相萃取-液相色谱-串联质谱法同时快速测定化妆品中81种糖皮质激素[J]. 色谱, 2017, 35(8): 816-825.
- LUO Huitai, HUANG Xiaolan, WU Huiqin, ZHANG Qiuyan, ZHU Zhixin, HUANG Fang, LIN Xiaoshan, MA Yefen, DENG Xin. Simultaneous rapid determination of 81 glucocorticoids in cosmetics by dispersive solid phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Chinese Mass Spectrometry Society, 2017, 35(8): 816-825(in Chinese).
- [29] 马琳,陈建波,赵莉,占绣萍. 固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法同时测定果蔬中6种酰胺类农药残留量[J]. 色谱, 2015, 33(10): 1 019-1 025.
- MA Lin, CHEN Jianbo, ZHAO Li, ZHAN Xiuping. Determination of six amide pesticide residues in vegetables and fruits by solid phase extraction-ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Journal of Chinese Mass Spectrometry Society, 2015, 33(10): 1 019-1 025(in Chinese).