

妇婴卫生用品中树苔提取物和橡苔提取物的测定液相色谱 - 串联质谱法

王晨蕾, 袁 晨, 李丽佳

浙江方圆检测集团股份有限公司, 浙江 杭州

收稿日期: 2024年3月8日; 录用日期: 2024年6月7日; 发布日期: 2024年6月18日

摘 要

建立妇婴卫生用品中树苔和橡苔提取物的液相色谱 - 串联质谱测定方法, 以 β -苔黑酚酸甲酯为特征物质初步鉴定。样品用甲醇提取, 氮吹浓缩, 采用Kinetex F5色谱柱分离, 以乙腈和水为流动相梯度洗脱, 质谱测定, 外标法定量。 β -苔黑酚酸甲酯在0.5~10 $\mu\text{m/L}$ 浓度范围内线性良好, 方法检出限为1 $\mu\text{g/kg}$, 定量限为3 $\mu\text{g/kg}$, 加标水平的平均回收率为94.6%~104%, 相对标准偏差为1.85%~4.63%。该方法可靠、稳定, 可满足妇婴卫生用品中树苔提取物和橡苔提取物的初步筛查的需要。

关键词

妇婴卫生用品, 树苔提取物, 橡苔提取物, β -苔黑酚酸甲酯, 液相色谱 - 串联质谱法

Determination of Tree Moss Extract and Oak Moss Extract in Maternal and Infant Hygiene Products by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

Chenlei Wang, Chen Yuan, Lijia Li

Zhejiang Fangyuan Test Group Co., Ltd., Hangzhou Zhejiang

Received: Mar. 8th, 2024; accepted: Jun. 7th, 2024; published: Jun. 18th, 2024

Abstract

A liquid chromatography-tandem mass spectrometry method was established for the determination of tree moss and oak moss extracts in maternal and infant hygiene products, and β -lichen

文章引用: 王晨蕾, 袁晨, 李丽佳. 妇婴卫生用品中树苔提取物和橡苔提取物的测定液相色谱 - 串联质谱法[J]. 有机化学研究, 2024, 12(2): 202-206. DOI: 10.12677/jocr.2024.122017

melanin methyl ester was initially identified as a characteristic substance. The samples were extracted by methanol, concentrated by nitrogen blowing, separated by Kinetex F5 column, gradient elution with acetonitrile and water as mobile phase, determined by mass spectrometry and quantitative determination by external standard method. The linearity of β -lichen melanin methyl ester was good in the range of 0.5~10 $\mu\text{g/L}$, the detection limit was 1 $\mu\text{g/kg}$ and the quantitative limit was 3 $\mu\text{g/kg}$. The average recovery of the standard addition level was 94.6%~104%, and RSD was 1.85%~4.63%. The method is reliable and stable, and can meet the needs of preliminary screening of tree moss extract and oak moss extract in maternal and infant hygiene products.

Keywords

Maternal and Infant Hygiene Products, Tree Moss Extract, Oak Moss Extract, β -Lichen Melanin Methyl Ester, Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

我国一次性卫生用品行业始于 20 世纪 80 年代[1], 经过 40 多年的发展, 已形成涉及民生的重要产业。香精香料的添加使得卫生用品不仅带有令人愉悦的香气, 还可遮掩使用过程产生的异味, 但是同时也带来一定风险, 例如可能会引起变应性接触性皮炎、皮肤刺激性皮炎等。目前, 致敏性香精在妇婴卫生用品中并无法规要求, 仅在化妆品中有相关规定。欧盟委员会在 76/768/EEC 第七次修正案 DIRECTIVE 2003/15/EC 中规定了暴露频率最高的 26 种致敏原在化妆品中的限量[2], 其中橡苔提取物和树苔提取物是使用频率较高的香精, 因带有独特的苔类物质的自然青香和浓郁的树脂气息而备受青睐[3]。目前关于橡苔提取物和树苔提取物的检测对象主要集中在化妆品和香精原料, 采用的方法主要包括气相色谱-质谱法(GC/MS)及高效液相色谱-串联质谱法(HPLC-MS/MS)等, 郝楠等建立了 LC/MS/MS 法测定化妆品中树苔提取物[3], 黄日林等建立了液相色谱-串联质谱法测定化妆品中的 β -苔黑酚酸甲酯[4], 蒋薇等建立了 HS-SPME-GC-MS/MS 法分析树苔及其提取物中的挥发性化学成分[5], 刘思然等建立了气相色谱-质谱法检测香精香水中橡苔和树苔提取物[6], 杨伟平等建立了不同工艺的树苔提取物中 As 的总量和形态[7], 郭舟等建立橡苔提取物和树苔提取物的特征成分研究进展[8], 提取溶剂有甲醇、乙酸乙酯等。但是作为天然香料, 其成分及含量会因产地和产期不同而有变化, 实际应用较为困难, 且尚未见采用 LC-MS 检测妇婴卫生用品中橡苔提取物和树苔提取物的含量的报道。 β -苔黑酚酸甲酯是橡苔提取物和树苔提取物的一种特征成分, 可作为检测妇婴卫生用品是否为橡苔提取物和树苔提取物阳性样品的初筛指标。本研究建立了妇婴卫生用品中橡苔提取物和树苔提取物的液相色谱-串联质谱(LC-MS)检测方法, 方法操作简单, 结果稳定可靠, 可为监管部门规范管理妇婴卫生用品市场提供依据。

2. 实验部分

2.1. 仪器与试剂

XEVO 超高效液相色谱/三重四极杆质谱联用仪(Waters 公司), MS204TS/02 电子分析天平(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司), 2-16P 离心机(德国 SIGMA 公司), 氮吹仪(天津恒奥科技发展有限公司), VORTEX 3 涡旋振荡仪(IKA 公司), Milli-Q A10 超纯水仪(密理博公司)。

橡苔提取物(定性, CAS: 90028-68-5, Anpel 公司)、树苔提取物(定性, CAS: 90028-67-4, Anpel 公司), β -苔黑酚酸甲酯(纯度 99.20%, CAS: 4707-47-5, Cato 公司)为标准品, 甲醇、乙腈均为色谱纯, 实验用水为超纯水。

2.2. 标准溶液配制

称取 β -苔黑酚酸甲酯标准物质 0.01 g (精确到 0.0001 g) 至 10 mL 容量瓶中, 用甲醇定容到刻度, 制成浓度为 1000 mg/L 标准储备液。移取 0.1 mL 标准储备液于 100 mL 容量瓶中, 用甲醇定容配制成 1.0 mg/L 的标准中间溶液 1, 再移取 1.0 mL 标准中间液 1 于 10 mL 容量瓶中, 用甲醇定容配制成 100 μ g/L 的标准中间溶液 2。分别移取 0.05 mL、0.1 mL、0.2 mL、0.5 mL、1.0 mL 标准中间溶液 2 于 10 mL 容量瓶中, 用甲醇定容配制成 0.5 μ g/L、1.0 μ g/L、2.0 μ g/L、5.0 μ g/L、10.0 μ g/L 的标准系列工作溶液, 待用。

2.3. 样品前处理

试样用剪刀剪碎(约 2 mm $\times$ 2 mm), 准确称取剪碎后的样品 1 g, 精确至 0.0001 g, 置于 50 mL 刻度离心管中, 用甲醇定容至 25 mL, 涡旋振荡至摇匀, 超声 30 min 后, 以 8000 r/min 离心 5 min, 转移上清液于离心管中, 氮气吹至近干, 加入 1 mL 甲醇复溶, 经 0.22 μ m 滤膜过滤, 滤液作为待测溶液。

2.4. 仪器工作条件

2.4.1. 色谱条件

色谱柱: Kinetex F5 色谱柱(100 mm $\times$ 3.0 mm $\times$ 2.6 μ m);

进样量: 5 μ L;

柱温: 25 $^{\circ}$ C;

流速: 0.4 mL/min;

流动相: A: 水, B: 乙腈, 梯度洗脱, 梯度洗脱程序见表 1。

Table 1. Gradient elution procedure

表 1. 梯度洗脱程序

时间 min	A %	B %
0	60	40
5	40	60
6	10	90
8	10	90
9	60	40
12	60	40

2.4.2. 质谱条件

ESI 离子源, 负离子模式; 离子源温度: 150 $^{\circ}$ C; 目标物质的质谱参数见表 2。

Table 2. UPLC-MS/MS parameters

表 2. 质谱参数

项目	母离子	子离子	锥孔电压 V	碰撞电压 V
β -苔黑酚酸甲酯	195	119	25	20
	195	163	25	20

3. 结果与讨论

3.1. 前处理提取溶剂的选择

β -苔黑酚酸甲酯溶于氯仿、二氯甲烷、乙酸乙酯、DMSO、丙酮、甲醇等,考虑到实验安全性,选用了乙腈和甲醇作为溶剂进行比较,结果显示甲醇作为溶剂回收率更好,且价格较乙腈更便宜,因此最后选择甲醇作为样品前处理使用的溶剂。

3.2. 色谱柱的选择

本实验中选择 Kinetex F5 色谱柱(100 mm $\times$ 3.0 mm $\times$ 2.6 μ m)和 Waters C18 色谱柱(100 mm $\times$ 4.6 mm $\times$ 3.5 μ m),结果表明, β -苔黑酚酸甲酯在 Kinetex F5 色谱柱峰型较好,响应高,保留时间适当。因此选择 Kinetex F5 色谱柱进行实验。

3.3. 流动相种类和进样量的选择

实验尝试了分别采用水和甲醇、水和乙腈作为流动相,进行不同浓度的梯度洗脱。实验结果发现,乙腈和甲醇与水混合比例相同的情况下,采用水和乙腈洗脱出峰时间短,峰形较窄,且基线噪声小、较少杂质干扰、保留时间稳定,分析原因是乙腈的洗脱能力更强、粘度较甲醇小,从速率方程角度说,流动相传质阻抗小,有利于柱效提高。最优梯度洗脱程序见表 1。实验还考察了进样体积(5、10、15 μ L)对分析结果的影响,进样量为 5 μ L 时的峰形最优,灵敏度较好,增大进样量会使得峰展宽。标准品谱图如图 1 所示。

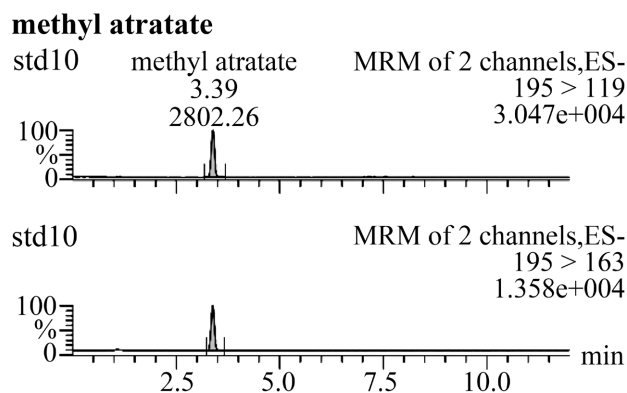


Figure 1. Mass chromatogram of β -Lichen melanin methyl ester (3.39 min)
图 1. β -苔黑酚酸甲酯质谱图(3.39 min)

3.4. 线性关系和检出限

分别将 0.5 μ g/L、1.0 μ g/L、2.0 μ g/L、5.0 μ g/L、10.0 μ g/L 的标准系列工作溶液按照 2.4 的仪器工作条件进行测定,以峰面积 x 对浓度 y 进行线性分析,得到的线性回归方程为 $y = 280.617x + 8.34411$,相关系数 $R^2 = 0.999455$,表明 β -苔黑酚酸甲酯在浓度 0.5~10 μ g/L 范围内线性良好。以信噪比 $S/N = 3$ 进行计算,可得本方法检出限为 0.1 μ g/kg。

3.5. 回收率和精密度

为验证本方法的准确性和稳定性,进行了加标回收实验,在样品基质中均匀加入标准溶液,使得目标物质在样品中的含量为 0.5 μ g/kg、5 μ g/kg、10 μ g/kg,每个浓度平行测定 6 次,根据检测结果计算得出

加标回收率在 94.6%~104%之间(如表 3 所示), 相对标准偏差(RSD)在 1.85%~4.63%之间。

Table 3. Recovery rate of standard addition
表 3. 加标回收率

项目	样品浓度 ($\mu\text{g/kg}$)	理论加标浓度 ($\mu\text{g/L}$)	实际检出浓度 ($\mu\text{g/L}$)	回收率 (%)
β -苔黑酚酸甲酯	N.D	0.5	0.52	104
	N.D	5	4.73	94.6
	N.D	10	9.55	95.5

3.6. 样品的测定

按照本文建立的方法对市售的树苔提取物和橡苔提取物进行检测。实验发现, 树苔提取物中检出 β -苔黑酚酸甲酯的含量为 2.0%, 橡苔提取物中检出 β -苔黑酚酸甲酯的含量为 11.0%, 样品加标回收率良好, 因此证实可以通过检测妇婴卫生用品中是否含有 β -苔黑酚酸甲酯来确认样品中是否含有树苔提取物或橡苔提取物。

4. 结论

通过对前处理和仪器条件的优化, 建立以液相色谱-串联质谱法测定妇婴卫生用品中橡苔提取物和树苔提取物的方法。该方法前处理简单, 灵敏度高, 精密度和回收率均较好, 检出限可满足橡苔提取物和树苔提取物的筛查要求, 不仅可为企业生产提供产品质量控制、验收方法, 还可为政府监督提供技术依据, 以督促企业合规生产, 行业良好发展, 保障消费者权益。

基金项目

浙江方圆检测集团股份有限公司自立科技项目(ZL202303)。

参考文献

- [1] 黄绿澜, 朱仁义, 张流波, 等. 《一次性使用卫生用品卫生标准》应用追踪评价[J]. 中国消毒学杂志, 2019, 36(7): 513-515.
- [2] European Union (2003) Directive 2003/15/EC of the European Parliament and of the Council of 27 February 2003 Amending Council Directive 76/768/EEC on the Approximation of the Laws of the Member States Relating to Cosmetic Products. *Official Journal of the European Union*, **L66**, 26-35.
- [3] 郝楠, 陈伟, 周新, 等. LC/MS/MS 法测定化妆品中树苔提取物[J]. 分析试验室, 2007(S1): 334-336.
- [4] 黄日林, 张高旗, 陈意光, 等. 液相色谱-串联质谱法测定化妆品中的 β -苔黑酚酸甲酯[J]. 化学分析计量, 2019, 28(4): 53-56.
- [5] 蒋薇, 刘哲, 何沛, 等. HS-SPME-GC-MS/MS 法分析树苔及其提取物中的挥发性化学成分[J]. 化学与生物工程, 2019, 36(12): 56-68.
- [6] 刘思然, 董晓杰, 朱英. 气相色谱-质谱法检测香精香水中橡苔和树苔提取物[J]. 环境卫生学杂志, 2016, 6(6): 415-419.
- [7] 杨伟平, 朱琦, 张东豫, 等. 不同工艺的树苔提取物中 As 的总量和形态[J]. 烟草科技, 2016, 49(2): 36-41.
- [8] 郭舟, 胡贝, 陆娟, 等. 橡苔提取物和树苔提取物的特征成分研究进展[J]. 香料香精化妆品, 2023(6): 62-65+140.