

化妆品中21种美白功效成分的DART-Orbitrap HRMS快速筛查与确证研究

刘媛¹, 张再平¹, 李珂莹^{1,2}, 仲辉², 孙晶^{1*}

(1. 江苏省药品监督检验研究院, 江苏 南京 210019; 2. 中国药科大学 中药学院, 江苏 南京 211198)

摘要: 该文基于实时直接分析-静电场轨道阱高分辨质谱(DART-Orbitrap HRMS)技术建立了化妆品中21种美白功效成分的快速绿色筛查方法。样品经50%甲醇溶液提取并稀释后, 取3 μL 通过DART 12-Dip-It模块进样, 在正、负离子切换的全扫描-数据依赖性二级扫描模式下检测, 依据精确质量数及特征碎片离子实现21种目标物的筛查与确证。结果表明, 在350 $^{\circ}\text{C}$ 离子化温度、400 V栅极电压及0.4 mm/s进样传输速率下, 各化合物的响应良好, 方法专属性强, 检出限为0.15~3 ng。将所建方法应用于20批市售祛斑美白类化妆品, 19批样品共检出6种美白剂, 其中5批检测结果与产品标签不符。该方法无需色谱分离, 操作简单、溶剂消耗少, 适用于化妆品中美白成分的快速筛查、确证与风险预警。

关键词: 实时直接分析; 静电场轨道阱高分辨质谱; 美白功效成分; 化妆品; 绿色分析; 烟酰胺; 间苯二酚衍生物

中图分类号: O657.63; TQ658 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(2026)09-1965-09

Rapid Screening and Confirmation of 21 Whitening Functional Ingredients in Cosmetics by DART-Orbitrap HRMS

LIU Yuan¹, ZHANG Zai-ping¹, LI Ke-ying^{1,2}, ZHONG Hui², SUN Jing^{1*}

(1. Jiangsu Institute for Drug Control, Nanjing 210019, China; 2. School of Traditional Chinese Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China)

Abstract: This study established a green analytical strategy using direct analysis in real time (DART) coupled with orbitrap high-resolution mass spectrometry (HRMS) for the rapid screening and confirmation of 21 whitening functional ingredients in cosmetics. Samples were ultrasonically extracted with 50% methanol aqueous solution and diluted, then 3 μL was introduced via a 12-Dip-It module into a DART ion source. Mass spectrometric detection was performed in positive/negative switching full-scan mode with data-dependent MS² triggered by an inclusion list, enabling acquisition of accurate mass and characteristic fragment ions for definitive structural confirmation. Under optimized conditions of 350 $^{\circ}\text{C}$ ionization temperature, 400 V grid voltage and 0.4 mm/s sample transfer rate, the compounds showed good response and the method exhibited excellent specificity, with limits of detection of 0.15–3 ng. Application of the method to 20 batches of commercially available whitening cosmetics showed that 19 batches were tested positive, collectively containing 6 whitening agents. Notably, 5 batches exhibited discrepancies where detected whitening agents contradicted product label declarations. This method eliminates the chromatographic step, features simple operation and low solvent consumption, and is suitable for rapid screening, confirmation, and risk warning of whitening ingredients in cosmetics.

Key words: direct analysis in real time (DART); electrostatic field orbitrap high-resolution mass spectrometry (Orbitrap HRMS); whitening functional ingredients; cosmetics; green analysis; niacinamide; resorcinol derivatives

祛斑美白类产品是亚洲化妆品市场的重要品类, 其消费群体已覆盖普通消费者及男性等广泛人群^[1]。美白原料按作用机制主要分为四类^[2]: 酪氨酸酶抑制剂(如间苯二酚衍生物、杜鹃醇、曲酸)、黑

收稿日期: 2026-04-12; 修回日期: 2026-06-24

基金项目: 江苏省药品监督管理局科研计划项目(202316, 202503)

* 通讯作者: 孙晶, 博士, 副主任药师, 研究方向: 药品和化妆品质量控制, E-mail: zgysj@163.com

网络首发日期: 2026-07-07

色素转运抑制剂(如烟酰胺)、黑色素还原剂(如维生素 C 衍生物)及角质剥脱剂(如水杨酸)等。其中,间苯二酚衍生物因成本低、效果显著,已成为美白化妆品的主流功效成分^[3]:4-正丁基间苯二酚等为目录内已用原料,苯乙基间苯二酚、异丁酰胺基噻唑基间苯二酚及二甲氧基甲基-4-丙基间苯二酚陆续获批,而甲基氧杂环丁酰胺基噻唑基间苯二酚已进入注册程序。同时,黄芩素、白藜芦醇、光甘草定等植物来源成分亦属酪氨酸酶抑制剂^[2],因“天然”属性备受青睐。然而,部分美白成分存在安全隐患:杜鹃醇可致化学性白斑,曲酸会产生皮肤刺激,白藜芦醇或引起肾脏问题^[4]。因此,祛斑美白类化妆品在我国属特殊化妆品,需进行严格的安全评估。

当前监管面临检测技术储备与实际需求脱节的矛盾。现行标准《化妆品安全技术规范》(2015年版)^[5]收录的《化妆品中抗坏血酸磷酸酯镁等 11 种原料的检验方法》和《化妆品中 α -熊果苷等 4 种原料的检验方法》,及 GB/T 35954-2018^[6]均主要针对熊果苷等传统成分,对间苯二酚衍生物及植物提取物类新热点^[7]缺乏应对;在本文 21 种目标物中,15 种组分尚未被《化妆品安全技术规范》(2015 年版)^[5]收载定量和定性方法,除间苯二酚(发用限用)、水杨酸(防腐剂)另有液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)确证方法外,其余 19 种组分均无质谱确证方法收载,更缺乏广覆盖、绿色、专属、快速筛查手段。现有技术各有局限:紫外分光光度法^[8]选择性差、通量低;毛细管电泳法^[9]重现性不足;高效液相色谱-二极管阵列检测(HPLC-DAD)虽为主流手段^[10-11],但专属性不够,阳性结果须经质谱确证;气相色谱-质谱(GC-MS)^[12]可测定范围有限,LC-MS/MS^[13]前处理繁琐、溶剂消耗大、分析周期长。在绿色经济与“双碳”战略背景下,发展绿色、高效的分析测试技术已成为行业高质量发展的必然要求。

实时直接分析(DART)无需复杂样品前处理,可与质谱联用实现快速原位分析^[14],契合绿色分析“减少、替代、优化”原则^[15],已在化妆品原料分析中展现出潜力^[16]。与解吸电喷雾电离(DESI)、纸喷雾电离(PSI)等基于电喷雾类原位电离技术相比,DART 基于大气压化学电离机制,以激发态等离子体实现非接触式解吸电离,更适用于中等极性小分子美白剂,且对复杂基质耐受性强^[17-18];其负离子模式无需调节溶液 pH 值,对易形成负离子的酚酸类成分具有独特优势^[18]。鉴于此,本研究拟建立 DART-静电场轨道阱高分辨质谱(Orbitrap HRMS)方法,检测涵盖间苯二酚衍生物、黄酮/多酚类、水溶性维生素及其衍生物、水杨酸类以及高风险成分曲酸与杜鹃醇等在内的 21 种美白功效原料,通过优化敞开式电离与 HRMS 条件,实现复杂基质中美白剂的快速识别与精准鉴定,为高通量筛查及阳性确证提供技术支撑,弥补现有监管手段在检测通量和时效性上的不足,并为化妆品安全监测的绿色化转型提供实践参考。

1 实验部分

1.1 仪器、试剂与样品

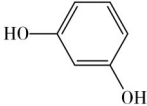
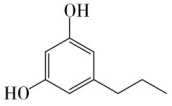
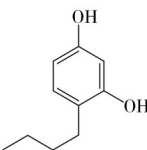
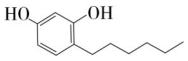
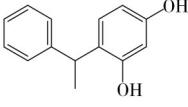
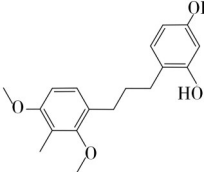
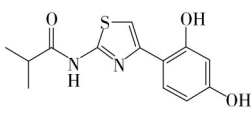
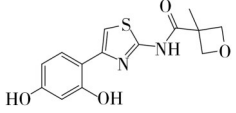
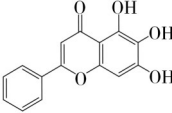
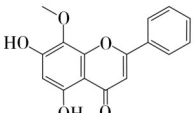
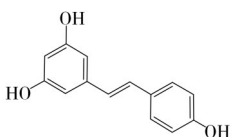
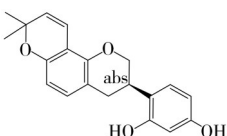
Q-Exactive 四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱仪(美国 Thermo Scientific 公司);DART SVP 离子源(华质泰科公司);LC-30AD 超高效液相色谱仪(日本岛津公司);XSR205DU 电子天平、XP6 电子天平(美国 Mettler-Toledo 公司);UA22MFD 超声仪(德国 Wiggins 公司);Allegra 64R 高速离心机(美国 Beckman 公司);Milli-Q 超纯水系统(美国 Millipore 公司);高纯氦气、高纯氮气(纯度 99.999%)(南京天泽公司)。

间苯二酚(纯度 99.77%)购自德国 Dr. Ehrenstorfer 公司;5-丙基间苯二酚(纯度 95%)、二甲氧基甲基-4-丙基间苯二酚(纯度 98%)、杜鹃醇(纯度 95%)购自上海麦克林公司;己基间苯二酚(纯度 99.6%)、异丁基酰胺基噻唑基间苯二酚(纯度 99.8%)购自北京曼哈格公司;甲基氧杂环丁酰胺基噻唑基间苯二酚(纯度 99.22%)购自常州翔龙公司;黄芩素(纯度 98.6%)、汉黄芩素(纯度 100.0%)、烟酸(纯度 99.8%)、烟酰胺(纯度 99.9%)、水杨酸(纯度 99.8%)购自中国食品药品检定研究院;4-正丁基间苯二酚(纯度 99.8%)、苯乙基间苯二酚(纯度 99.7%)、白藜芦醇(纯度 98.0%)、光甘草定(纯度 98.7%)、3-O-乙基-L-抗坏血酸(纯度 99.9%)、4-甲氧基水杨酸钾(纯度 99.9%)、曲酸(纯度 99.6%)、红景天苷(纯度 98.0%)购自上海安谱瑾世公司;覆盆子酮葡萄糖苷(纯度 98.7%)购自上海源叶公司;甲醇(色谱纯,德国 Merck 公司);甲酸(色谱纯,上海阿拉丁公司);氨水、甲酸铵(分析纯,国药试剂公司)。标准物质的分类、编号、名称、CAS 号、分子式、结构式见表 1。

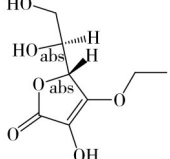
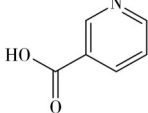
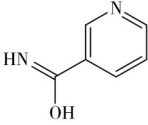
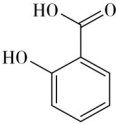
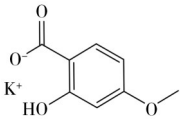
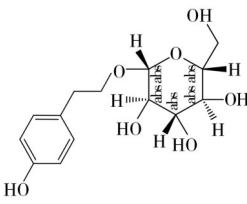
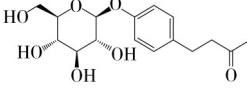
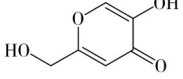
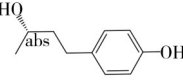
20 批化妆品样品：涵盖祛斑美白精华、霜、油、乳等多种类型，均为市售。

表 1 21 种美白成分的化学信息及混合标准溶液浓度

Table 1 Chemical information and mixed standard solution concentrations of 21 whitening ingredients

Structural type	No.	English name	Chinese name	CAS number	Structural formula	Concentration /($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
Alkylresorcinols (烷基间苯二酚类)	WA01	Resorcinol	间苯二酚	108-46-3		10
	WA02	5-Propylbenzene-1, 3-diol	5-丙基间苯二酚	500-49-2		1
	WA03	4-n-Butylresorcinol	4-正丁基间苯二酚	18979-61-8		1
	WA04	4-Hexylresorcinol	己基间苯二酚	136-77-6		1
Arylalkylresorcinols (芳烷基间苯二酚类)	WA05	4-(alpha-Methylbenzyl)resorcinol	苯乙基间苯二酚	85-27-8		1
	WA06	4-[3-(2, 4-Dimethoxy-3-methylphenyl)propyl]-1, 3-benzenediol	二甲氧基甲基-4-丙基间苯二酚	869743-37-3		1
Heterocyclic resorcinols (杂环间苯二酚类)	WA07	Isobutylamido thiazolyl resorcinol	异丁基酰胺基噻唑基间苯二酚	1428450-95-6		0.5
	WA08	Methyloxetanecarbamido thiazolyl resorcinol	甲基氧杂环丁酰胺基噻唑基间苯二酚	3081328-14-2		1
Flavonoids/polyphenols (黄酮/多酚类)	WA09	Baicalein	黄芩素	491-67-8		5
	WA10	Wogonin	汉黄芩素	632-85-9		0.5
	WA11	Resveratrol	白藜芦醇	501-36-0		0.5
	WA12	Glabridin	光甘草定	59870-68-7		1

(续表1)

Structural type	No.	English name	Chinese name	CAS number	Structural formula	Concentration /($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
Vitamins and derivatives(维生素及其衍生物)	WA13	3-O-Ethyl ascorbic acid	3-O-乙基抗坏血酸	86404-04-8		0.5
	WA14	Niacin	烟酸	59-67-6		0.5
	WA15	Nicotinamide	烟酰胺	98-92-0		0.5
Salicylates(水杨酸类)	WA16	Salicylic acid	水杨酸	69-72-7		1
	WA17	Potassium 2-hydroxy-4-methoxybenzoate	4-甲氧基水杨酸钾	152312-71-5		0.5
Glycosides(糖苷类)	WA18	Salidroside	红景天苷	10338-51-9		0.5
	WA19	4-[4-(beta-D-Glucopyranosyloxy)phenyl]-2-butanone	覆盆子酮葡萄糖苷	38963-94-9		10
Heterocyclic compounds(其他杂环类)	WA20	Kojic acid	曲酸	501-30-4		0.5
	WA21	Rhododendrol	杜鹃醇	69617-84-1		10

1.2 标准溶液的配制

1.2.1 单标储备液 精密称取 21 种标准品适量, 用甲醇溶解并稀释成 1 mg/mL 的单标储备液。

1.2.2 混合标准溶液 精密量取单标储备液适量, 配制 0.5~10 $\mu\text{g/mL}$ 的系列标准溶液, 以离子化温度 350 $^{\circ}\text{C}$ 、栅极电压 350 V、进样速度 0.3 mm/s、点样量 2 μL 为初始 DART 条件, 考察各美白成分的响应, 选取绝对响应强度在 $1\times 10^7\sim 5\times 10^8$ 范围内的浓度(最终浓度如表 1 所示), 用于优化 DART-HRMS 参数。分别精密量取 20 种单标储备液(除杜鹃醇外)适量, 用 80% 甲醇溶液稀释至目标浓度, 即得混合标准溶液。杜鹃醇直接采用单标溶液优化。

1.3 DART-Orbitrap HRMS 条件

1.3.1 DART 离子源参数 氦气模式下(压强 0.50 MPa)栅极电压 400 V, 离子化温度 350 $^{\circ}\text{C}$, 正/负离子扫描; 12 液体样品自动进样(12-Dip-It)模式, 点样量 3 μL , 传输速率 0.4 mm/s; 取样点距质谱入口 3.0 cm。

1.3.2 Orbitrap HRMS 参数 采用数据依赖型扫描策略: 一级全扫描 m/z 80~600, Orbitrap 分辨率设

为70 000(FWHM, m/z 200处),自动增益控制(AGC)目标离子数为 1×10^6 ;离子传输毛细管温度维持300 °C,极性切换模式下同步采集正负离子。二级质谱通过目标前体离子列表(Inclusion list)触发,分辨率为17 500,AGC目标值降至 1×10^5 ,具体采集模式、母离子信息及碰撞能量见表2。

表2 21种美白成分的质谱信息

Table 2 Mass spectrometry information of 21 whitening ingredients

No.	Detection mode	Adduct form	Theoretical precursor ion(m/z)	Observed product ion(m/z)	Normalized collision energy/%
WA01	+	[M+H] ⁺	111.044 6	55.054 9, 65.039 1	110
WA02	-	[M-H] ⁻	151.075 9	81.033 4, 109.064 8	110
WA03	-	[M-H] ⁻	165.091 6	121.028 4, 135.045 2	80
WA04	-	[M-H] ⁻	193.122 9	108.020 5, 121.028 4	70
WA05	+	[M+H] ⁺	215.107 2	79.054 7, 105.070 0	50
WA06	+	[M+H] ⁺	303.159 6	123.044 0, 165.090 7	70
WA07	+	[M+H] ⁺	279.080 3	149.023 1, 209.037 6	50
WA08	-	[M-H] ⁻	305.059 6	109.039 6, 139.050 3	80
WA09	-	[M-H] ⁻	269.045 0	65.002 1, 136.987 0	70
WA10	+	[M+H] ⁺	285.076 3	179.048 6, 270.051 7	70
WA11	+	[M+H] ⁺	229.086 5	91.054 5, 107.049 3	70
WA12	+	[M+H] ⁺	325.144 0	149.059 4, 189.090 7	50
WA13	+	[M+H] ⁺	205.071 2	95.013 0, 141.017 9	30
WA14	+	[M+H] ⁺	124.039 9	80.049 9, 96.044 6	70
WA15	+	[M+H] ⁺	123.055 8	80.049 9, 96.044 6	80
WA16	-	[M-H] ⁻	137.023 9	65.038 4, 93.033 4	80
WA17	-	[M-H] ⁻	167.034 9	80.025 5, 108.020 5	70
WA18	-	[M-H] ⁻	299.113 1	59.012 6, 119.049 0	50
WA19	-	[M-H] ⁻	325.128 7	57.033 4, 163.075 5	30
WA20	+	[M+H] ⁺	143.034 4	69.034 0, 97.028 7	80
WA21	-	[M-H] ⁻	165.091 6	95.049 1, 106.041 3	80

1.4 样品前处理

称取样品约0.5 g,置于15 mL离心管,加入50%(体积分数)甲醇溶液至10 mL,涡旋分散,超声提取20 min,以10 000 r/min离心5 min,取上清液经0.22 μm滤膜过滤,作为提取液。精密量取0.4 mL提取液、0.6 mL甲醇,混匀配制成甲醇约为80%(体积分数)的DART测定供试液。若样品中目标美白剂浓度过高,则采用80%甲醇溶液稀释,以避免质谱响应饱和。如不需同时进行高效液相色谱(HPLC)测定,可省略过滤步骤,以简化流程、节省时间、减少耗材消耗。

2 结果与讨论

2.1 质谱条件优化

2.1.1 DART-HRMS 离子化模式的选择策略 取上述混合标准溶液进行DART-HRMS正负离子模式扫描,依据响应强度将目标物分为三类:(1)单一离子模式主导型:部分化合物如WA16、WA08仅在负离子模式有响应;短链烷基间苯二酚(WA02~WA04)及WA21也表现为负离子响应显著强于正离子。(2)双模式响应差异显著型:多数化合物在两种模式下均可被检测,但响应强度相差1~2个数量级,如WA06~WA07、WA10~WA15、WA20在正离子模式下呈现较强响应;相反,WA17~WA19更适合在负离子模式下采集。(3)双模式响应相当型:主要包括WA05和WA09等。这种分化源于分子结构决定的气相酸碱性质。含氮碱性基团(吡啶环、噻唑环、酰胺键)及烯醇式结构(曲酸、3-O-乙基抗坏血酸)具有较高的质子亲和能,易于捕获质子形成[M+H]⁺;羧基及多羟基酚类因气相酸性强,易失去质子形成[M-H]⁻。间苯二酚类化合物的电离模式受其4位取代基调控:短链烷基增强酚羟基酸性而利于负离子化,苯基取代则因共轭效应降低酸性,使正负离子响应趋于均衡。采集模式和离子的优化结果详见表2。

2.1.2 碰撞能量优化和二级特征碎片分析 基于Inclusion list触发模式,对前体离子实施阶梯式归一化碰撞能量(steppped NCE, 20%~110%)优化,以特征碎片数量、丰度及信噪比为指标,确定各目标物的最优碰撞能量(表2)。同分异构体WA03与WA21的分子式均为C₁₀H₁₄O₂,理论母离子 m/z 165.091 6。其中,WA03通过中性丢失产生保留间苯二酚结构单元的[M-H-C₂H₄]⁻(m/z 135.044 2)和[M-H-C₃H₆]⁻

(m/z 121.028 4); 而 WA21 主要发生侧链断裂, 生成特征碎片 m/z 106.041 3 和 95.049 1。二者虽均含名义质量 m/z 121 的碎片, 但精确质量分别为 121.028 4 与 121.064 7 (差值约 36 mDa), 在 Orbitrap HRMS < 1 mDa (m/z < 200) 精度下可被明确区分 (图 1)。

2.1.3 DART-HRMS 确证规则 鉴于 DART 无色谱保留时间, 参照欧盟委员会 SANTE 11312/2021 v2026^[19] 及司法行业标准 SF/T 0180-2024^[20], 采用更严格确证标准, 阳性结果须满足: (1) 母离子及碎片离子的质量偏差 ≤ 5 ppm ($m/z \geq 200$) 或 < 1 mDa (m/z < 200); (2) 至少 1 个前体离子和 2 个特征碎片离子信噪比 (S/N) ≥ 3 ; (3) 同分异构体须匹配专属碎片组合; (4) 离子丰度比不作强制要求, 必要时按 SF/T 0180-2024^[20] 中表 4 比较。

2.2 DART 源参数选择

2.2.1 栅极电压优化 DART 离子源的栅极电压, 直接影响传输效率与响应强度。固定离子化温度 350 °C、进样速率 0.3 mm/s 及点样量 2 μ L, 在 250~500 V 范围内进行扫描, 绘制电压变化与灵敏度趋势图。各类成分呈现显著的结构-响应相关性。烷基、芳烷基和杂环酰胺间苯二酚类 (WA01~WA08) 的响应趋势基本相同, 除 WA03 外, 均于 400 V 达到最优。WA09、糖苷类 (WA18、WA19) 的整体趋势与间苯二酚类接近。WA10、WA13 和 WA21 均在 250 V 呈现最高响应, 随电压升高整体呈衰减趋势。水杨酸类 (WA16、WA17) 则在 300 V 左右响应最强。400 V 是大部分美白剂的最优电压, 故确定为栅极电压。

2.2.2 离子源温度优化 DART 离子源温度决定目标美白剂的热解吸效率与气相离子化程度。以 50 °C 为步长, 在 250~500 °C 范围内考察了 21 种美白成分的响应强度 (图 2): WA05、WA11、WA15 及维生素类在 350 °C 达峰后于 400 °C 急剧衰减, 提示该温度下可能发生热降解或化学转化。WA07 及黄酮类在 300~350 °C 的响应最优。而 WA08、WA10、WA13 及 WA21 在 450 °C 的响应最佳, 表明这些成分需要较高热能才能实现充分解吸, 但高温稳定性优于糖苷类。水杨酸类则随温度升高单调递增, 至 500 °C 仍为上升趋势, 表明其结构稳定且需高能驱动电离。综合考虑, 确定 350 °C 为最优温度。

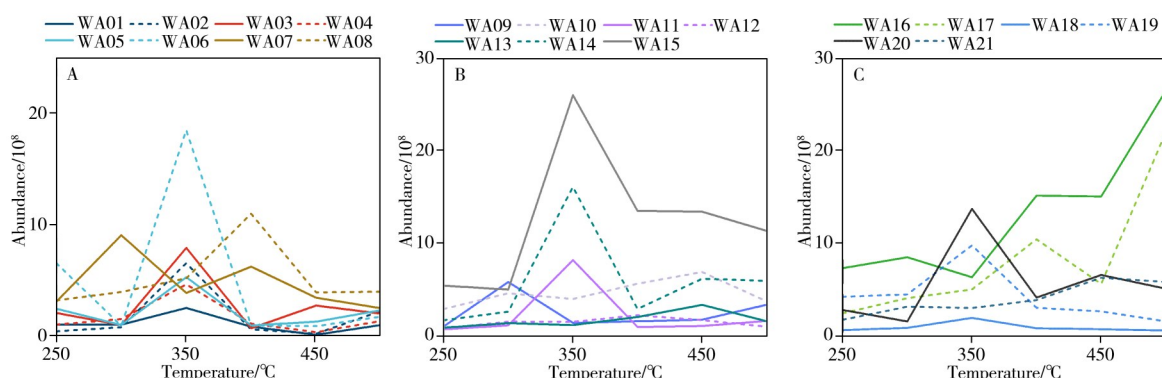


图 2 离子化温度对离子响应强度的影响

Fig. 2 Effect of ionization temperature on ion response intensity

A: WA01-WA08; B: WA09-WA15; C: WA16-WA21

2.2.3 进样传输速率优化 传输速率影响待测物在离子源中的驻留时间与热解吸效率。在 0.2~0.8 mm/s 范围内考察了传输速率对 21 种美白成分响应强度的影响。结果显示, 不同结构类型化合物呈现差异: 约 30% 的化合物 (主要为糖苷类及长链烷基取代物) 在低速时响应较高, 推测需较长热解吸时间; 约 40% 的成分 (主要为维生素类及小分子酚类) 在 0.4 mm/s 时达到响应峰值; 其余成分在 0.6~0.8 mm/s 高速区表现更佳。然而, 作为快速筛查方法, DART-HRMS 需兼顾检测灵敏度与二级质谱采集点数。综合考虑, 0.4 mm/s 能使大多数目标物获得较好响应, 保障足够的二级质谱采集点数并兼顾分析效率, 因此选择传输速率为 0.4 mm/s。

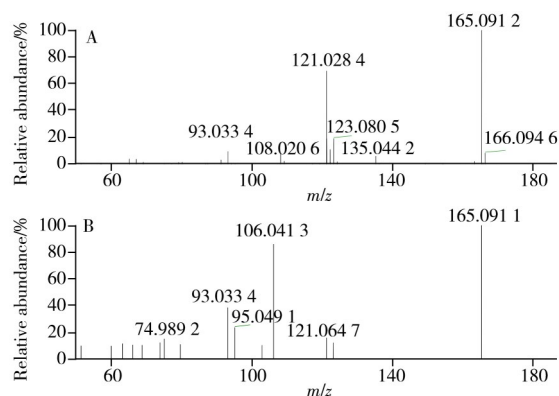


图 1 4-正丁基间苯二酚(A)和杜鹃醇(B)的二级质谱图
Fig. 1 Secondary MS spectra of 4-*n*-butylresorcinol (A) and rhododendrol (B)

2.2.4 点样量优化 考察了1~10 μL 混合标准溶液的信号响应与液滴稳定性。结果表明,点样量在1~7 μL 范围内,WA13、WA14、WA16、WA17的响应随体积增加而增强,WA04、WA07、WA15、WA20则无显著变化;点样量 $\geq 9 \mu\text{L}$ 时液滴因表面张力失衡易脱落,且残留风险增加。点样量为2~3 μL 时的灵敏度满足检测要求且液滴形态稳定。此外,直接蘸取化妆品因浓度偏高、基质复杂易导致峰拖尾及假阳性^[16],故采用提取后点样3 μL 。

2.3 前处理方法优化

2.3.1 提取方法确立 鉴于DART-HRMS尚无专用前处理规范,本研究在吴姣娇等^[21]方法基础上,以阴性乳液为基质,采用50%甲醇超声提取,0.22 μm 滤膜过滤后,HPLC-DAD法测定21种成分的提取回收率,其中低、高添加量分别为0.024~0.48 $\mu\text{g/g}$ 和0.19~3.8 $\mu\text{g/g}$ 。色谱条件为Acclaim 120 C_{18} 柱(4.6 mm $\times$ 250 mm $\times$ 5 μm , Thermo Fisher公司),柱温25 $^{\circ}\text{C}$,流速1.0 mL/min,检测波长254、270、300 nm;WA07和WA08为文献^[21]未报道成分,按相同色谱条件补充测定。结果显示,21种目标物的平均回收率为88.1%~101%,相对标准偏差(RSD, $n=6$)均小于5%,表明该提取条件可行。

2.3.2 稀释溶剂优化 DART-HRMS的灵敏度高于常规HPLC,高浓度直接进样易导致响应饱和及质量偏差。预实验表明稀释溶剂为80%甲醇时的离子化效率高、峰形佳,故考察了4种稀释体系:80%甲醇(A)、含0.1%氨水的80%甲醇(B)、含0.1%甲酸的80%甲醇(C)、含5 mmol/L甲酸钠的80%甲醇(D)。结果显示,负离子检测的间苯二酚类(WA02~04, WA08)在碱性体系(B)中的 $[\text{M}-\text{H}]^{-}$ 响应减弱,在酸性体系(C)中的 $[\text{M}+\text{H}]^{+}$ 增强,在缓冲体系(D)中的峰形变差;正离子检测的间苯二酚类(WA01, WA05~07)在体系B、C中的响应与A相当,在D中受抑制。其余成分的响应无显著差异,但个别成分在C或D中峰形展宽。因此,最终采用50%甲醇提取、80%甲醇检测的两步策略,既保证了美白剂的充分提取,又满足了DART-HRMS对有机相比比例的要求。

2.4 检出限

采用阴性乳液、膏霜提取液逐级稀释测定检出限(LOD, $n=3$),以两种基质均能检出的最低浓度为判定标准,21种美白剂的LOD为0.15~3 ng(表3)。不同方法的检出限对比见表3,HRMS精确质量数可有效避免假阳性,对热不稳定及强极性化合物的适用性明显优于GC-MS/MS。虽然DART-HRMS的灵敏度较LC-MS/MS差2~3个数量级,但以0.05%添加量计,0.5 g样品提取至10 mL后稀释2.5倍,进样3 μL ,理论量约30 ng,远超LOD上限3 ng,无漏检风险。

表3 不同方法的检出限对比(ng)

Table 3 Comparison of limits of detection for different methods(ng)

No.	HPLC ^[21]	HPLC ^[22]	LC-MS/MS ^[13]	LC-MS/MS ^[23]	GC-MS/MS ^[12]	This method
WA01	8.7	2.0	/	2.6×10^{-3}	1.5	3
WA02	4.7	/	/	8.7×10^{-4}	/	0.3
WA03	3.4	2.0	2.0×10^{-4}	2.0×10^{-3}	1.5	0.3
WA04	4.6	/	1.8×10^{-4}	1.2×10^{-3}	/	0.3
WA05	3.4	2.0	4.0×10^{-4}	2.6×10^{-3}	1.5	0.3
WA06	5.6	/	/	4.8×10^{-4}	/	0.3
WA07	2.5 [*]	/	/	/	/	0.15
WA08	2.5 [*]	/	/	/	/	0.3
WA09	5.2	/	/	/	/	1.5
WA10	0.7	/	/	4.8×10^{-4}	/	0.15
WA11	0.2	/	4.0×10^{-4}	8.4×10^{-4}	/	0.15
WA12	0.9	/	1.0×10^{-4}	2.7×10^{-4}	/	0.3
WA13	2.6	1.0	1.2×10^{-4}	5.6×10^{-3}	/	0.3
WA14	2.0	2.0	1.8×10^{-4}	7.2×10^{-4}	/	0.15
WA15	4.1	1.0	4.0×10^{-4}	3.3×10^{-4}	/	0.15
WA16	0.6	/	/	1.4×10^{-3}	/	0.15
WA17	0.2	2.0	4.0×10^{-4}	3.6×10^{-4}	/	0.3
WA18	21	/	/	1.1×10^{-3}	/	0.3
WA19	16	/	4.0×10^{-4}	1.0×10^{-2}	/	3
WA20	2.1	1.0	1.4×10^{-4}	3.6×10^{-2}	/	0.15
WA21	5.2	3.0	1.4×10^{-4}	1.5×10^{-3}	/	3

*determined by the authors according to the method described in reference^[21](detection wavelength: 254 nm); “/” indicates that the compound is not included in this method

2.5 定量分析性能

为考察定量性能,对21种目标物进行了线性范围、精密性及回收率测试。结果表明,在正负离子同时扫描-ddMS²模式下,各化合物的EIC峰有效采集点数有限(通常3~4个),加之敞开式离子源气流微波动的影响,以及目标物涵盖间苯二酚类、黄酮类、水杨酸类等多种结构类型,电离效率与最优采集参数差异显著,最终导致多数化合物的响应稳定性不足,线性范围与重复性尚不满足常规定量方法的要求;仅WA16~WA19等少数化合物可满足定量分析要求。采用正负离子分开扫描或引入同位素/同系物内标,虽可改善定量可靠性,但将牺牲分析速度或增加检测成本。因此,本方法定位为高特异性快速定性筛查工具;实际样品中目标美白剂的含量测定采用HPLC-DAD法完成。

2.6 实际样品应用

依据现行法规,WA01(发用)、WA05、WA16为限用组分,初筛阳性后须以HPLC仲裁定量;WA21未收录于目录,阳性即判不合格;WA06~08为新原料,其余14种均为目录内无明确限量的主流功效成分,DART-HRMS阳性仅作确证。未标示成分一经检出亦判为不合格,故仅需对少数限用成分进行HPLC定量,即可有效控制后续工作量。对20批市售祛斑美白类化妆品进行定性筛查,并以“2.3.1”的HPLC法定量。结果表明,除1批样品未检出目标物外,有19批样品共检出6种美白剂,以WA15的检出率最高(75%)。5批样品的检出情况与标签不符(表4):1批检出新原料WA07,1批检出WA15,3批未检出WA05。3批宣称含WA15和WA13的样品,经HPLC未检出而DART-HRMS检出,表明DART-HRMS的灵敏度优于常规色谱法,适用于快速筛查与阳性确证。

表4 19批样品中目标成分的标签宣称、DART-HRMS筛查和HPLC测定结果

Table 4 Label claims, DART-HRMS screening and HPLC quantitative results of target ingredients in 19 batches of samples

Sample	WA03	WA05	WA07	WA13	WA15	WA17
S1(Cream)	-	√, POS, 0.009 3%	×, POS, 2.2%	√, POS, 0.018%	√, POS, 0.19%	-
S2(Cream)	√, POS, 0.17%	-	-	√, POS, 0.16%	×, POS, 3.3%	-
S3(Liquid)	-	-	-	-	√, POS, 0.007 9%	-
S4(Cream)	-	-	-	-	√, POS, 0.75%	-
S5(Liquid)	-	√, POS, 0.003 2%	-	√, POS, NEG	√, POS, 0.038%	-
S6(Emulsion)	-	-	-	-	√, POS, 2.4%	-
S7(Oil)	-	√, POS, 0.48%	-	-	√, POS, 1.0%	-
S8(Cream)	-	-	-	√, POS, 0.073%	√, POS, 3.5%	-
S9(Cream)	-	-	-	-	√, POS, 2.0%	-
S10(Cream)	-	-	-	-	√, POS, 0.088%	-
S11(Emulsion)	-	√, NEG, NEG	-	-	√, POS, 4.9%	-
S12(Cream)	-	√, POS, 4.9%	-	√, POS, NEG	√, POS, 3.3%	-
S13(Liquid)	-	-	-	-	√, POS, 1.7%	-
S14(Cream)	-	-	-	√, POS, 0.016%	√, POS, 0.49%	-
S15(Cream)	√, POS, 0.096%	-	-	-	-	-
S16(Emulsion)	√, POS, <LOQ	√, NEG, NEG	-	√, POS, 0.002 3%	√, POS, 0.019%	-
S17(Emulsion)	-	-	-	-	-	√, POS, 0.98%
S18(Emulsion)	-	-	-	-	√, POS, NEG	-
S19(Cream)	-	√, NEG, NEG	-	-	-	-
Positive rate(%)	15	20	5	35	75	5

Cells data were presented as: label claim status(√, declared; ×, not declared), DART-HRMS screening(POS, positive; NEG, negative), and HPLC confirmation/quantification(% , mass fraction; NEG, not detected; <LOQ, below limit of quantification). "-" denoted that the ingredient was neither declared nor detected. Undeclared ingredients detected by DART-HRMS(×, POS) were quantified by HPLC to assess non-compliant addition.

2.7 方法绿色效益分析

以典型LC-MS/MS法为参照,本方法省去色谱分离步骤,将单样品分析时间由30~60 min缩短至约3 min(缩短90%以上),有机溶剂消耗由约50~80 mL降至约10 mL(减少80%以上,约为常规方法的1/5~1/8),并避免了色谱系统持续运行能耗及含盐流动相废液,体现了绿色分析化学理念。

3 结 论

本研究基于绿色分析理念,构建了DART-Orbitrap HRMS快速筛查方法,用于化妆品中21种美白

成分的检测与确证。该方法在保证灵敏可靠的前提下,简化了前处理,减少了溶剂消耗,实现了分钟级高通量分析,专属性强,可有效区分同分异构体。将所建方法应用于实际化妆品样品,成功检出标签未标示成分及HPLC漏检的痕量物质,为化妆品安全监管提供了环境友好、高效快捷的技术支撑,也为标签合规核查与市场抽检提供了新方案。

参考文献:

- [1] Pahade P, Bose D, Peris-Vicente J, Carda-Broch S, Durgbanshi A. *J. Chromatogr. Open*, **2021**, 1: 100010.
- [2] Li N, Li E N, Chen H B, Cheng F, Zou H F, Chen H P. *China Surfactant Deterg. Cosmet.* (李宁, 李恩念, 陈红波, 程芳, 邹衡芳, 陈鸿鹏. 日用化学工业(中英文)), **2024**, 54(1): 80-89.
- [3] Wang H C, Huang D C. *Daily Chem. Ind.* (王贺聪, 黄典超. 日用化学品科学), **2025**, 48(2): 47-52.
- [4] Gu L H. *China Cosmet.* (顾理浩. 中国化妆品), **2023**, 446(2): 74-77.
- [5] The National Medical Products Administration. Safety and Technical Standards for Cosmetics (2015 Edition) (国家食品药品监督管理总局. 化妆品安全技术规范(2015年版)).
- [6] GB/T 35954-2018. Determination of 10 Whitening and Freckle-removing Substances in Cosmetics-High Performance Liquid Chromatography. National Standards of the People's Republic of China (化妆品中10种美白祛斑类物质的测定 高效液相色谱法. 中华人民共和国国家标准).
- [7] Beaumet M, Lazinski L M, Maresca M, Haudecoeur R. *ChemMedChem*, **2024**, 23(2024): e202400314.
- [8] Jiao X F. *Anal. Instrum.* (焦雪峰. 分析仪器), **2018**, (3): 97-100.
- [9] Chen Y, Xia L, Xiao X H, Li G. *J. Sep. Sci.*, **2022**, 45: 2045-2054.
- [10] Liu Y, Chen G, Ding B, Liu H X, Hu W Y, Gao Y, Li Q Y. *Chem. Anal. Meterage* (刘莹, 陈刚, 丁波, 刘慧香, 胡文岳, 高樱, 李启艳. 化学分析计量), **2023**, 32(8): 75-79.
- [11] Permana B, Hasanah M, Tursino. *J. Chromatogr. Sci.*, **2023**, 61(3): 241-248.
- [12] Xiao Z J, Tong L Y, Li G R, Dai Z H, Zhou Z X, Yu W Q. *China Surfactant Deterg. Cosmet.* (肖昭竞, 童兰艳, 李根容, 代政华, 周朝旭, 余文琴. 日用化学工业), **2022**, 52(1): 84-90.
- [13] Hu D, Yu X P, Zhang G S, Wang Z Y, Guo Q Y, Cui C. *Chem. Anal. Meterage* (胡丹, 余秀萍, 张广水, 汪正宇, 郭倩云, 崔灿. 化学分析计量), **2025**, 34(10): 66-75.
- [14] Lin X W, Yao Z P. *J. Instrum. Anal.* (林雪维, 姚钟平. 分析测试学报), **2025**, 44(1): 43-50.
- [15] Chen M, Li M, Zhang W, Bai H, Ma Q. *J. Agric. Food Chem.*, **2022**, 70: 10919-10928.
- [16] Zhuo X X, Jiang D Y, Liu Y, Gong X, Shang S, Feng Y L, Sun J. *J. Chin. Mass Spectrom. Soc.* (卓兴旭, 蒋丹艺, 刘媛, 官旭, 尚姝, 冯有龙, 孙晶. 质谱学报), **2025**, 46(5): 1-12.
- [17] Wang X Y, Gu W Y, Zhang F L, Zhang D, Li L N, Wang Z T, Yang L. *J. Chin. Mass Spectrom. Soc.* (王星宇, 顾文怡, 张方丽, 张丹, 李林楠, 王峥涛, 杨莉. 质谱学报), **2023**, 44(4): 461-475.
- [18] Gong H, Ge Q H. *Chin. J. Pharm. Anal.* (龚欢, 葛庆华. 药物分析杂志), **2017**, 37(1): 1-12.
- [19] SANTE 11312/2021 V 2026. Guidance Document on Analytical Quality Control and Method Validation Procedures for Pesticide Residues Analysis in Food and Feed. European Commission Guidance Document.
- [20] SF/T 0180-2024. General Rules for Qualitative Analysis of Forensic Toxic Organic Mass Spectrometry. Judicial Administration Industry Standards of the People's Republic of China (法医毒物有机质谱定性分析通则. 中华人民共和国司法行政行业标准).
- [21] Wu J J, Zhao W, Pan X H, Tu X Q, Tan X Y, Yin S, Chen Z. *Chem. Anal. Meterage* (吴姣娇, 赵薇, 潘小红, 涂晓琴, 谭雪莹, 殷帅, 陈真. 化学分析计量), **2025**, 34(1): 26-33.
- [22] Gao J M, Dai J, Li H X, Duan J, Liu T T, Cao J, Wang G L, Sun L. *Chin. J. Pharm. Anal.* (高家敏, 代静, 李红霞, 段静, 刘彤彤, 曹进, 王钢力, 孙磊. 药物分析杂志), **2019**, 39(9): 1643-1650.
- [23] Wu J J, Tu X Q, Zhao W, Zhang W, Wang T T, Pan X H. *Flavour Fragrance Cosmet.* (吴姣娇, 涂晓琴, 赵薇, 章为, 王婷婷, 潘小红. 香料香精化妆品), **2025**, (5): 94-98, 116.

(责任编辑: 丁 岩)