

通过式高效净化/超高效液相色谱-串联质谱法 测定化妆品中73种糖皮质激素

刘红^{1,2*}, 杨飘飘^{1,2}, 李丽霞^{1,2}

(1. 湖北省药品监督检验研究院, 湖北 武汉 430075; 2. 湖北省药品质量检测与控制工程技术研究中心, 湖北 武汉 430075)

摘要:建立了超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)同时测定化妆品中73种糖皮质激素的分析方法。样品采用饱和氯化钠分散,乙腈超声提取,经PRiME HLB固相萃取柱(60 mg/3 mL)净化,采用Waters Cortecs C₁₈色谱柱(150 mm×2.1 mm, 2.7 μm)分离,以0.1%乙酸溶液-乙腈为流动相梯度洗脱。在电喷雾离子源正离子模式下,采用多反应监测(MRM)扫描方式测定,外标法定量。结果表明,73种糖皮质激素在各自的质量浓度范围内均呈良好线性关系,相关系数(r)均大于0.99,定量下限(LOQ)为0.1~0.3 μg/g。在1LOQ、2LOQ、5LOQ 3个加标水平下,73种糖皮质激素的回收率为73.3%~119%,相对标准偏差(RSD)为0.40%~18%。该方法快速、准确、高效,可作为化妆品中73种糖皮质激素的筛查方法。

关键词:化妆品;糖皮质激素;超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)

中图分类号: O657.7; TQ658 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(2020)09-1112-08

Detection of 73 Glucocorticoids in Cosmetics by Ultra Performance Liquid Chromatography – Tandem Mass Spectrometry with Pass-through Column Purification

LIU Hong^{1,2*}, YANG Piao-piao^{1,2}, LI Li-xia^{1,2}

(1. Hubei Institute for Drug Control, Wuhan 430075, China; 2. Hubei Engineering Research Center for Drug Quality Control, Wuhan 430075, China)

Abstract: An ultra performance liquid chromatography – tandem mass spectrometric (UPLC – MS/MS) method was established for the determination of 73 glucocorticoids in cosmetics. Samples were dispersed with saturated sodium chloride and ultrasonically extracted with acetonitrile, then purified with a PRiME HLB SPE column(60 mg/3 mL) and separated on a Waters Cortecs C₁₈ column(150 mm×2.1 mm, 2.7 μm) by gradient elution using 0.1% acetic acid solution and acetonitrile as mobile phases. The analysis was performed with electrospray ion source in positive ion mode under multi-reaction monitoring(MRM) mode, and the results were quantified by external standard method. Results showed that there were good linear relationships for 73 glucocorticoids in cosmetics in their respective concentration ranges with correlation coefficients(r) higher than 0.99. The limits of quantitation(LOQ) were in the range of 0.1 – 0.3 μg/g. The average recoveries for 73 glucocorticoids at three spiked levels of 1LOQ, 2LOQ and 5LOQ ranged from 73.3% to 119%, with relative standard deviations(RSD) of 0.40% – 18%. The method was rapid and accurate, and could be used as a screening approach for 73 glucocorticoids in cosmetics.

Key words: cosmetics; glucocorticoids; ultra performance liquid chromatography – tandem mass spectrometry(UPLC – MS/MS)

糖皮质激素类药物由 Kendall 于 1935 年首次发现, 20 世纪 50 年代以来, 许多肾上腺糖皮质激素类药物被合成, 其核心结构为环戊烷多氢菲核^[1]。该类物质可抑制纤维细胞增生, 减少 5-羟色胺形成, 因而对皮肤有一定的嫩白作用^[2]。为谋取高额利润, 一些不法商家在化妆品中违法添加糖皮质激素,

然而长期滥用糖皮质激素可引起激素依赖性皮炎^[3],临床表现为皮肤明显变薄、毛细血管扩张、痤疮和色素沉着等症状。《化妆品安全技术规范》(2015年版)规定糖皮质激素为禁用组分^[4],涉及到49种糖皮质激素;GB/T 24800.2-2009涵盖41种糖皮质激素^[5]。但为规避监管,仍有不法商家非法添加标准方法之外的糖皮质激素^[6]。因此,研究出一种同时测定化妆品中更多种糖皮质激素、更易操作、准确性定量的检测方法尤为重要。

目前糖皮质激素类药物的检测手段主要有薄层色谱法^[5]、高效液相色谱法^[7-9]、高效液相色谱-串联三重四极杆质谱法^[10-13]和高效液相色谱-高分辨质谱法^[14-15]等,但薄层色谱法常用于定性筛查,无法准确定量;高效液相色谱-串联三重四极杆质谱法在定量方面的灵敏度优于高效液相色谱法和高效液相色谱-高分辨质谱法,故应用最为普遍。由于化妆品基质复杂,目标物结构相似,目前报道的前处理方法有固相萃取法^[5,16-17]或 QuEChERS 法^[18],但这些方法具有步骤繁琐、耗时等不足。

本研究针对化妆品基质复杂、以油性原料和水为主的特性,采用通过式高效净化除去脂溶性物质,净化效率高,操作简便,结合超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)法对水剂、乳液、膏霜3类基质化妆品中73种糖皮质激素进行了测定。方法快速、简单、稳定,结果可靠,能够满足化妆品中糖皮质激素风险筛查及监测工作的需要。

1 实验部分

1.1 仪器、试剂与材料

Waters Acquity UPLC/XEVO™ TQ-S 液相色谱-三重四极杆串联质谱仪(美国 Waters 公司); XP504 电子天平(瑞士梅特勒公司); Milli-Q 超纯水器(美国 Millipore 公司); LC-250 超声波清洗机(山东济宁鲁超超声设备有限公司); 台式离心机(德国 Thermo Biofuge 公司)。Waters CORTECS C₁₈ (150 mm × 2.1 mm, 2.7 μm, 美国 Waters 公司); 固相萃取柱为 Oasis® PRiME HLB(200 mg/6 mL, 60 mg/3 mL, 美国 Waters 公司); 甲醇、乙腈(色谱纯,默克股份两合公司); 甲酸铵、甲酸(色谱纯, Aladdin 公司); 乙酸铵(色谱纯, Macklin 公司)。

73种糖皮质激素标准物质(见表1)分别购自中国食品药品检定研究院、欧洲药品质量管理局、美国药典委员会、加拿大 TRC 公司、美国 Stanford 分析化学公司、德国 Dr. Ehrenstorfer 公司、美国 A ChemTek 公司。

1.2 对照溶液的配制

精密称取各对照品适量置于10 mL容量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得100 μg/mL的各单标对照储备溶液。分别精密量取适量各单标对照储备溶液于同一10 mL容量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得200 ng/mL的混合标准储备液。

1.3 样品制备

称取均匀试样约0.2 g,置于15 mL离心管中,加入饱和氯化钠溶液3 mL,涡旋30 s,分散均匀,精密加入4 mL乙腈,涡旋30 s,超声提取30 min,涡旋混合摇匀,取上清液过 PRiME HLB 柱,重力作用下收集全部流出液。经0.22 μm滤膜过滤,滤液供 UPLC-MS/MS 测定。

1.4 色谱条件

色谱柱: Waters Cortecs C₁₈ (150 mm × 2.1 mm, 2.7 μm); 柱温: 35 °C; 流速: 0.3 mL · min⁻¹; 进样体积: 2 μL; 流动相: 乙腈(A)和0.1%乙酸溶液(B)。梯度洗脱程序: 0~6 min, 5%~15% A; 6~16.8 min, 15%~23.4% A; 16.8~18.8 min, 23.4% A; 18.8~38 min, 23.4%~42% A; 38~44 min, 42%~67.8% A; 44~46 min, 67.8% A; 46~50 min, 67.8%~85% A; 50~52 min, 85%~5% A; 52~56 min, 5% A。

1.5 质谱条件

离子源: 电喷雾离子源; 扫描方式: 正离子扫描; 检测方式: 多反应监测(MRM); 去溶剂气流速: 800 L/h; 去溶剂温度: 350 °C; 毛细管电压: 3.2 kV; 73种待测物的质谱参数见表1。

表 1 73 种分析物的质谱参数
Table 1 MS parameters of the 73 analytes

No.	Analyte	Retention time (min)	Precursor ion (<i>m/z</i>)	Daughter ion (<i>m/z</i>)	Cone voltage (V)	Collision energy (eV)
1	Triamcinolone(曲安西龙)	14.1	395	225*/357	18	18/12
2	Prednisolone(泼尼松龙)	19.1	361	147*/343	20	24/10
3	Hydrocortidone(氢化可的松)	19.5	363	121*/105	34	26/52
4	Prednisone(泼尼松)	19.1	359	147*/341	30	30/8
5	Cortisone(可的松)	19.8	361	163*/121	46	26/28
6	Methylprednisolone(甲基泼尼松龙)	24.3	375	357*/161	22	10/18
7	Betamethasone(倍他米松)	25.0	393	355*/147	18	12/34
8	Dexamethasone(地塞米松)	25.2	393	355*/147	16	12/28
9	Flumethasone(氟米松)	25.3	411	253*/121	22	14/28
10	Beclomethasone(倍氯米松)	26.5	409	391*/147	20	11/24
11	Triamcinolone acetonide(曲安奈德)	27.4	435	339*/397	24	16/18
12	Fludrocortidone(氟氢缩松)	28.4	437	121*/181	50	35/25
13	Triamcinolone diacetate(曲安西龙双醋酸酯)	28.6	479	321*/441	24	18/10
14	Prednisolone 21-acetate(泼尼松龙醋酸酯)	28.7	403	147*/385	24	22/14
15	Fluoromethalone(氟米龙)	29.4	377	279*/321	24	16/14
16	Hydrocortidone 21-acetate(氢化可的松醋酸酯)	29.1	405	309*/121	36	14/28
17	Deflazacort(地夫可特)	30.9	442	124*/142	52	50/34
18	Fludrocortisone 21-acetate(氟氢可的松醋酸酯)	29.5	423	239*/121	52	30/34
19	Prednisone 21-acetate(泼尼松醋酸酯)	30.4	401	295*/147	28	12/26
20	Cortisone 21-acetate(可的松醋酸酯)	31.0	403	163*/343	40	24/20
21	Methylprenisone 21-acetate(甲基泼尼松龙醋酸酯)	32.9	417	399*/253	20	10/26
22	Betamethasone 21-acetate(倍他米松醋酸酯)	33.1	435	309*/337	20	12/16
23	Hydrocortisone 17-butyrate(氢化可的松丁酸酯)	34.7	433	121*/345	30	30/12
24	Dexamethasone 21-acetate(地塞米松醋酸酯)	34.3	435	309*/337	22	16/10
25	Fluorometholone 17-aetate(氟米龙醋酸酯)	35.8	419	279*/321	28	16/12
26	Hydrocortidone 21-valerate(氢化可的松戊酸酯)	38.8	447	121*/345	28	28/12
27	Triamcinolone acetonide 21-acetate(曲安奈德醋酸酯)	38.7	477	321*/339	24	16/12
28	Fluocinonide(氟轻松醋酸酯)	39.6	495	121*/337	26	36/16
29	Diflorasone diacetate(二氟拉松双醋酸酯)	39.9	495	317*/279	26	12/16
30	Betamethasone 17-valerate(倍他米松戊酸酯)	41.7	477	355*/279	24	10/16
31	Prednicarbate(泼尼卡酯)	42.5	489	115*/381	22	16/10
32	Halcinonide(哈西奈德)	42.2	455	121*/105	54	62/58
33	Alclomethasone dipropionate(阿氯米松双丙酸酯)	43.0	521	301*/279	26	15/14
34	Amcinonide(安西奈德)	42.8	503	321*/339	24	18/16
35	Clobetasol 17-propionate(氯倍他索丙酸酯)	43.0	467	355*/373	22	14/10
36	Fluticasone propionate(氟替卡松丙酸酯)	43.5	501	293*/313	30	14/12
37	Mometasone furoate(莫米他松糠酸酯)	43.6	521	503*/263	20	18/30
38	Betamethasone dipropionate(倍他米松双丙酸酯)	43.8	505	279*/319	24	16/14
39	Beclomethasone dipropionate(倍氯米松双丙酸酯)	44.6	521	319*/503	28	12/10
40	Clobetasone 17-butyrate(氯倍他松丁酸酯)	45.1	479	279*/343	36	18/18
41	Fluocinolone acetonide(氟轻松)	28.7	453	337*/121	38	18/44
42	Hydrocortisone 21-cypionate(氢化可的松环戊丙酸酯)	45.5	487	107*/327	34	43/26
43	Fluocortolone(氟可龙)	29.3	377	303*/171	18	20/30
44	Mometasone(莫米松)	38.3	429	411*/237	23	12/30
45	Desonide(地索奈德)	27.2	417	147*/173	20	44/34
46	22(R)-Budesonide(22(R)-布地奈德)	34.3	431	413*/147	25	16/44
47	22(S)-Budesonide(22(S)-布地奈德)	34.9	431	413*/147	25	16/44
48	Desoximetasone(去羟米松)	29.7	377	303*/171	20	20/27
49	Diflorasone(双氟拉松)	24.7	411	121*/253	25	35/25
50	Funisolide(氟尼缩松)	27.6	435	339*/321	35	20/23
51	Paramethasone acetate(帕拉米松乙酸酯)	34.0	435	417*/319	15	11/22
52	Flumethasone acetate(双氟美松醋酸酯)	34.2	453	433*/253	20	11/24
53	Dexamethasone 17-valerate(地塞米松戊酸酯)	40.2	477	355*/279	20	15/35
54	Dexamethasone 21-pivalate(地塞米松特戊酸酯)	43.9	477	355*/237	25	17/38
55	16- α -Hydroxyprednisolone acetate (16- α -羟基泼尼松龙醋酸酯)	21.8	419	323*/226	30	18/27
56	6- α -Fluoro-isoflupredone(6- α -氟-异氟泼尼龙)	19.3	397	253*/121	25	27/27
57	Betamethasone benzoate(倍他米松苯甲酸酯)	41.7	497	355*/279	15	13/25

(续表1)

No.	Analyte	Retention time (min)	Precursor ion (<i>m/z</i>)	Daughter ion (<i>m/z</i>)	Cone voltage (V)	Collision energy (eV)
58	Diflucortolone 21-valerate(双氟可龙戊酸酯)	45.0	479	85 [*] /375	37	28/15
59	Dexamethasone 21-isonicotinate(地塞米松异烟酸酯)	36.4	498	106 [*] /478	35	50/17
60	Fluocortolone 21-pivalate(氟可龙特戊酸酯)	45.0	461	341 [*] /303	27	17/18
61	Flumethasone 21-pivalate(氟米松特戊酸酯)	43.5	495	253 [*] /373	15	25/18
62	Methylprednisolone aceponate (甲基泼尼松龙醋丙酸酯)	41.8	473	381 [*] /161	16	13/32
63	Isoflurprenylon acetate(异氟泼尼龙醋酸酯)	28.6	421	305 [*] /147	17	19/40
64	Meprednisone(甲泼尼松)	25.1	373	355 [*] /337	30	17/18
65	Halobetasol(卤贝他索)	35.6	429	253 [*] /121	11	28/41
66	Halobetasol propionate(卤贝他索丙酸酯)	43.0	485	261 [*] /121	17	29/51
67	Halometasone(卤美他松)	31.0	445	155 [*] /169	27	40/34
68	Cloprednol(氯泼尼醇)	26.7	393	205 [*] /271	41	30/25
69	Prednisolone 21-pivalate(泼尼松龙特戊酸酯)	41.4	445	307 [*] /325	15	19/19
70	Difluprednate(双氟泼尼酯)	41.7	509	303 [*] /279	30	18/18
71	Tixocortol pivalate(替可的松特戊酸酯)	43.0	463	57 [*] /343	5	26/25
72	Loteprednol propionate(依碳氯替泼诺)	42.6	467	359 [*] /265	21	14/25
73	Methylprednisolone hemisuccinate (甲基泼尼松龙琥珀酸酯)	30.3	475	339 [*] /161	20	16/37

* quantitative ion

2 结果与讨论

2.1 样品提取方法的优化

糖皮质激素为甾体化合物,其结构特征是在固醇核D环的C₁₇上有 α 羟基,在C环的C₁₁上有氧或羟基^[19]。因此,糖皮质激素类化合物多属于弱极性或中等极性,文献^[16-17]以乙腈或甲醇为提取溶剂。考虑到乙腈作为提取溶剂更易分层,不易乳化,故选用乙腈为提取溶剂。化妆品基质复杂,由油性、粉质、溶剂类、胶质、表面活性剂、香精香料、颜料色素、保湿剂、防晒剂、防腐剂和抗氧化剂等原料根据不同的产品需求组合而成^[20],所以分散剂的选择至关重要。实验比较了以水、饱和氯化钠为分散剂时73种糖皮质激素的回收率。结果表明,饱和氯化钠作为分散剂时,有73%(53/73)的目标物回收率更接近100%,而水作为分散剂时,仅有27%(20/73)的目标物回收率更接近100%,分析原因可能为饱和氯化钠属强电解质,作为分散剂和破乳剂可增加样品的表面张力,使分散更完全。所以最终选择饱和氯化钠作为分散剂。

2.2 色谱条件的优化

糖皮质激素以环戊烷多氢菲核为母核,仅取代基位置不同,本研究中共有12组同分异构体,如22(R)-布地奈德和22(S)-布地奈德等。采用0.1%乙酸溶液和乙腈为流动相,比较了Agilent Poroshell EC-C₁₈(100 mm×2.1 mm, 2.7 μ m)、Waters Cortecs C₁₈(150 mm×2.1 mm, 2.7 μ m)和Waters BEH C₁₈(100 mm×2.1 mm, 1.7 μ m)3种色谱柱对目标化合物分离效果和峰形的影响。结果表明,73种药物在3种色谱柱上的峰形均较好,但分离效果差异较大,12组同分异构体在Agilent Poroshell EC-C₁₈(100 mm×2.1 mm, 2.7 μ m)和Waters BEH C₁₈(100 mm×2.1 mm, 1.7 μ m)上不能同时分离,而在Waters Cortecs C₁₈(150 mm×2.1 mm, 2.7 μ m)上能实现较好分离,因此本文选用Cortecs C₁₈(150 mm×2.1 mm, 2.7 μ m)色谱柱。

考察了乙腈-0.1%乙酸溶液、乙腈-0.1%甲酸溶液、乙腈-0.01 mol·L⁻¹甲酸铵和乙腈-0.01 mol·L⁻¹乙酸铵4种流动相体系对目标化合物分离效果和信号强度的影响。结果显示,上述4种流动相体系下,73种糖皮质激素的分离度和保留时间相似,但以乙腈-0.1%乙酸溶液作为流动相时的峰形最好,且绝大部分目标化合物的响应优于其他流动相体系。故选择乙腈-0.1%乙酸溶液作为流动相。

2.3 质谱条件的优化

在电喷雾离子源下,分别对质量浓度为200 ng/mL的目标化合物对照溶液做正离子和负离子全扫

描,发现 73 种目标化合物均在正离子模式下获得响应最佳的准分子离子峰。由于糖皮质激素有相同的母核,73 种目标化合物中有 12 组同分异构体,而且有些化合物虽不是同分异构体,但其质量数相同,裂解规律相似,易产生相同的碎片,所以选择特征的、无干扰且稳定的子离子对作为定量定性离子,以多反应监测模式优化各质谱参数,使化合物的准分子离子与特征碎片离子产生的离子对强度达到最大。优化条件下典型同分异构体的色谱图见图 1。

2.4 净化条件的优化

样品经乙腈萃取后的溶液中含有大量脂溶性物质^[21],因此利用固相萃取柱净化样品溶液。有文献采用 HLB 固相萃取柱净化^[5,16-17],但步骤繁琐、耗时较长。而新型 PRiME HLB 柱属于过滤型固相萃取柱,无需活化和平衡,能有效吸附脂溶性干扰物,过程简单、高效。因此,本实验选取 200 mg/6 mL 和 60 mg/3 mL 两种型号的 PRiME HLB 固相萃取柱进行了比较。结果显示,与过柱前相比,净化后的提取液澄清度均有显著提升。对两柱的提取回收率进行统计学 *t* 检验,结果表明两者有显著性差异,60 mg/3 mL 固相萃取柱的平均提取回收率更好,故选择 PRiME HLB(60 mg/3 mL)固相萃取柱进行净化。

2.5 基质效应

基质效应(ME)是由于样品在离子化时基质成分与目标化合物相互竞争电离所致,包括基质增强效应和基质抑制效应。采用 $ME = (1 - \text{基质对照溶液的峰面积} / \text{溶剂对照溶液的峰面积}) \times 100\%$ 对 73 种化合物的基质效应进行评价。当 $-20\% \leq ME \leq 20\%$ 时为弱基质效应;当 $20\% < |ME| \leq 50\%$ 时为中等基质效应;当 $|ME| > 50\%$ 时为强基质效应^[22];通常采用基质标准曲线计算以获得更真实的样品数据^[23]。本研究对水剂、乳液、膏霜 3 类化妆品的基质效应进行考察,由图 2 可知,膏霜类化妆品受基质影响较大,水剂次之,乳液类化妆品受基质效应影响最小。为了能更准确地测定目标化合物,本实验采用基质匹配标准曲线消除基质效应。

2.6 方法学考察

2.6.1 定量下限、标准曲线、线性范围 在国食药监许[2010]455 号《化妆品中禁用物质和限用物质检测方法验证技术规范》中,定量下限定义为能够对被测物质准确量的最低浓度或质量^[24]。在保证准确性的前提下,通过使用空白基质逐级稀释对照品溶液来考察定量下限(LOQ),以信噪比 $S/N \geq 10$ 确定 73 种糖皮质激素的 LOQ 为 0.1~0.3 $\mu\text{g/g}$ (见表 2)。

空白样品中添加系列不同质量浓度的 73 种混合标准溶液,按“1.3”方法处理得到样品提取液,以目标化合物的色谱峰面积(y)对其质量浓度(x , ng/mL)进行线性回归,得到线性方程和相关系数。结果表明,73 种目标化合物在各自质量浓度范围内线性关系良好,相关系数均大于 0.99(见表 2)。

2.6.2 回收率与相对标准偏差 选取水剂、膏霜、乳液 3 类空白基质,按 1、2、5 倍 LOQ 进行加标回收实验,每个加标水平平行分析 3 次。实验数据显示,水剂的平均回收率为 88.1%~118%,相对标准偏差(RSD)为 0.40%~14%;膏霜的平均回收率为 73.3%~119%,RSD 为 0.40%~18%;乳液的平均回收率为 86.5%~115%,RSD 为 0.60%~17%。典型乳液基质的数据见表 2。

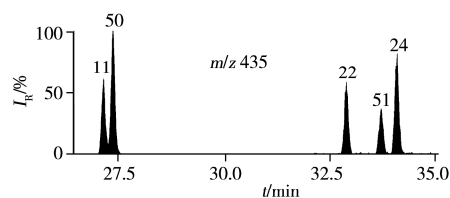


图 1 典型同分异构体的基峰色谱图

Fig. 1 Base peak chromatogram of typical isomers the peak numbers denoted were the same as those in Table 1

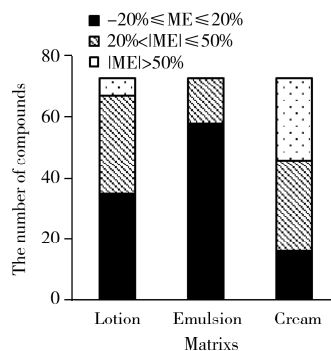


图 2 3 种基质化妆品基质效应的比较

Fig. 2 The comparison of matrix effect for three matrices

表2 73种化合物在典型乳液基质中的线性范围、相关系数、回收率、精密度和定量下限

Table 2 Linear ranges, correlation coefficients, average recoveries, precisions and limits of quantitation of the 73 compounds in typical emulsion matrices

No.	Linear range(ng/mL)	r	Recovery(%)	RSD(%)	LOQ($\mu\text{g/g}$)
1	13~130	0.996 7	100, 106, 103	4.8, 2.0, 2.9	0.3
2	10~100	0.998 2	97.7, 102, 103	2.6, 3.5, 3.5	0.2
3	10~100	0.999 0	96.6, 101, 102	1.6, 1.1, 0.60	0.2
4	10~100	0.998 8	97.4, 102, 105	3.1, 3.2, 1.4	0.2
5	10~100	0.999 2	98.9, 99.7, 103	1.2, 1.8, 2.4	0.2
6	10~100	0.999 2	101, 98.7, 100	1.1, 2.1, 3.6	0.2
7	10~100	0.999 1	103, 102, 104	2.7, 3.3, 1.2	0.2
8	10~100	0.998 3	93.8, 101, 99.5	3.7, 4.5, 0.60	0.2
9	10~100	0.997 9	96.8, 105, 106	2.0, 1.3, 1.3	0.2
10	10~100	0.999 6	105, 104, 99.0	3.6, 3.9, 2.4	0.2
11	10~100	0.999 6	96.9, 99.4, 89.5	1.3, 3.7, 9.8	0.2
12	10~100	0.999 7	98.1, 100, 102	5.4, 3.6, 1.2	0.2
13	10~100	0.999 6	97.6, 103, 103	1.7, 2.7, 1.7	0.2
14	10~100	0.999 2	107, 103, 101	3.0, 6.0, 3.1	0.2
15	10~100	0.998 9	96.5, 99.1, 99.8	4.2, 2.8, 1.6	0.2
16	10~100	0.999 2	94.0, 101, 101	3.0, 5.4, 1.9	0.2
17	10~100	0.999 3	96.5, 98.2, 97.0	1.2, 5.0, 2.2	0.2
18	10~100	0.997 7	86.5, 103, 105	2.5, 5.6, 2.0	0.2
19	10~100	0.998 4	90.1, 97.5, 102	1.3, 2.2, 2.5	0.2
20	10~100	0.999 7	101, 98.3, 101	2.3, 2.3, 1.8	0.2
21	10~100	0.999 6	97.6, 98.5, 100	2.0, 2.5, 3.4	0.2
22	10~100	0.998 8	92.2, 97.6, 96.2	5.9, 7.5, 2.3	0.2
23	10~100	0.999 8	100, 99.2, 100	2.6, 2.5, 2.6	0.2
24	10~100	0.999 4	101, 99.4, 99.1	6.1, 3.7, 1.5	0.2
25	10~100	0.998 2	95.8, 102, 103	3.7, 3.1, 1.3	0.2
26	10~100	0.999 4	95.1, 98.0, 101	2.1, 3.9, 2.1	0.2
27	10~100	0.999 6	97.8, 101, 102	2.7, 3.2, 3.4	0.2
28	10~100	0.998 9	96.6, 99.2, 102	3.6, 6.9, 3.3	0.2
29	10~100	0.999 5	96.4, 101, 102	4.6, 3.8, 2.4	0.2
30	10~100	0.999 3	95.8, 105, 102	6.3, 0.90, 3.9	0.2
31	10~100	0.998 9	98.7, 101, 104	6.6, 2.9, 5.5	0.2
32	10~100	0.999 6	102, 106, 105	4.7, 2.5, 6.5	0.2
33	10~100	0.997 5	112, 105, 111	1.9, 2.3, 0.80	0.2
34	10~100	0.999 2	111, 108, 107	4.1, 6.8, 4.9	0.2
35	10~100	0.999 1	105, 107, 111	9.7, 1.9, 4.5	0.2
36	10~100	0.997 8	95.1, 107, 111	1.2, 3.4, 5.0	0.2
37	10~100	0.998 7	111, 109, 112	1.7, 6.1, 4.3	0.2
38	10~100	0.998 6	97.4, 109, 111	3.7, 5.7, 3.0	0.2
39	10~100	0.999 4	104, 105, 98.6	13, 9.1, 2.6	0.2
40	10~100	0.995 7	97.8, 101, 105	17, 8.6, 2.9	0.2
41	10~100	0.997 1	96.0, 97.9, 107	6.4, 5.0, 1.8	0.2
42	10~100	0.999 3	104, 106, 98.8	5.8, 3.1, 4.6	0.2
43	10~100	0.998 6	94.3, 104, 103	1.0, 3.7, 2.2	0.2
44	10~100	0.999 5	102, 101, 101	5.7, 5.4, 2.5	0.2
45	10~100	0.999 2	92.5, 98.1, 99.6	3.1, 3.1, 1.6	0.2
46	10~100	0.998 0	97.7, 103, 99.5	1.3, 2.1, 1.0	0.2
47	10~100	0.999 6	100, 97.5, 98.6	1.2, 4.7, 3.2	0.2
48	10~100	0.997 6	90.1, 92.4, 102	7.2, 6.6, 0.90	0.2
49	10~100	0.999 0	99.2, 103, 101	2.5, 3.2, 2.3	0.2
50	10~100	0.999 4	97.7, 98.2, 96.2	5.9, 4.1, 3.4	0.2
51	10~100	0.999 7	103, 100, 97.6	1.3, 3.1, 3.6	0.2
52	10~100	0.999 2	98.1, 100, 102	5.1, 2.4, 0.70	0.2
53	10~100	0.999 0	94.7, 97.7, 102	2.3, 4.3, 3.7	0.2
54	10~100	0.998 8	111, 114, 108	2.2, 6.3, 1.6	0.2
55	10~100	0.999 4	93.6, 95.9, 98.7	3.4, 4.4, 4.0	0.2
56	10~100	0.999 1	98.2, 99.5, 102	0.80, 4.2, 1.6	0.2
57	10~100	0.999 3	100, 98.6, 99.7	1.6, 4.4, 7.1	0.2
58	10~100	0.996 5	96.8, 109, 108	4.0, 3.4, 4.6	0.2

(续表 2)

No.	Linear range(ng/mL)	r	Recovery(%)	RSD(%)	LOQ($\mu\text{g/g}$)
59	10~100	0.999 7	98.1, 97.5, 100	1.9, 2.6, 2.1	0.2
60	10~100	0.997 0	89.5, 104, 108	8.0, 4.4, 3.2	0.2
61	10~100	0.998 6	111, 104, 112	4.2, 3.5, 5.2	0.2
62	10~100	0.998 4	99.6, 100, 104	3.2, 6.3, 1.7	0.2
63	10~100	0.997 7	104, 93.3, 98.0	8.3, 7.6, 2.1	0.2
64	10~100	0.999 1	100, 103, 103	1.3, 2.3, 3.1	0.2
65	10~100	0.999 4	97.4, 102, 104	3.9, 4.2, 1.9	0.2
66	10~100	0.997 9	97.1, 112, 115	7.1, 4.5, 3.0	0.2
67	10~100	0.999 7	95.3, 101, 102	2.7, 1.8, 1.0	0.2
68	7~70	0.999 2	98.6, 100, 103	2.9, 3.8, 3.5	0.1
69	10~100	0.999 0	97.0, 101, 101	8.4, 6.8, 2.3	0.2
70	10~100	0.999 4	112, 109, 106	3.1, 3.5, 3.5	0.2
71	10~100	0.999 6	102, 104, 100	3.4, 4.0, 5.8	0.2
72	10~100	0.999 2	89.9, 104, 101	8.3, 2.8, 5.1	0.2
73	10~100	0.999 6	101, 95.3, 97.6	1.7, 4.2, 2.7	0.2

the peak numbers denoted were the same as those in Table 1

2.7 实际样品测定

采用本方法对客户委托的 7 个样品进行了检测, 其中 2 批样品检出倍他米松, 含量分别为 4.9 $\mu\text{g/g}$ 和 5.2 $\mu\text{g/g}$ 。典型阳性样品的总离子流图及提取离子流图见图 3。

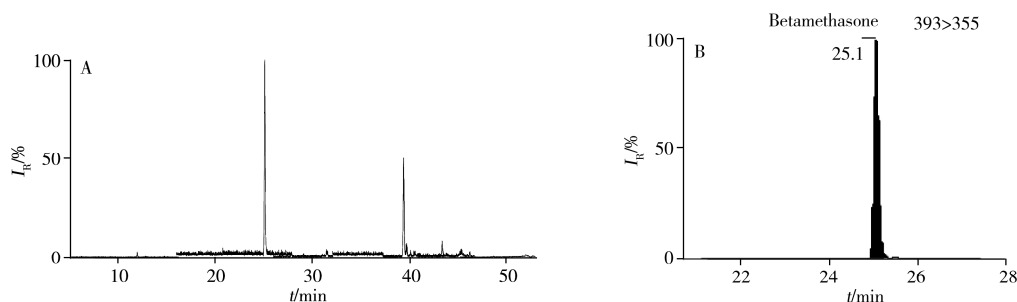


图 3 典型阳性样品的总离子流图(A)及检出成分的提取离子流图(B)

Fig. 3 Total ion chromatogram of a typical positive sample(A) and extraction ion chromatogram of detection compound(B)

3 结论

本研究建立了通过式高效净化/超高效液相色谱-串联质谱检测化妆品中 73 种糖皮质激素的分析方法。该方法样品前处理简单, 定量准确, 灵敏度高, 能满足同时测定化妆品中 73 种糖皮质激素的要求, 为有效监管化妆品中非法添加禁用物质提供了技术支撑。

参考文献:

- [1] Zhang J Z. *Glucocorticoid Dermatologist Specification Application Manual*. Shanghai: Shanghai Scientific & Technical Publishers(张建中. 糖皮质激素皮肤科规范应用手册. 上海: 上海科学技术出版社), 2011.
- [2] Tian Y, Feng S D, Huang M H, Zhang Z J. *J. China Pharm. Univ.* (田媛, 冯舒丹, 黄美花, 张尊建. 中国药科大学学报), 2011, 42(1): 53-57.
- [3] Ruan H L, Chen Q, Luo Z Y. *Pharm. Today*(阮浩澜, 陈琪, 罗卓雅. 今日药学), 2018, 28(10): 717-720.
- [4] China Food and Drug 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)), 2015.
- [5] GB/T 24800.2-2009. *Determination of 41 Glucocorticoids in Cosmetics by LC-MS-MS and TLC Method*. National Standards of the People's Republic of China(GB/T 24800.2-2009. 化妆品中四十一一种糖皮质激素的测定 液相色谱/串联质谱法和薄层层析法. 中华人民共和国国家标准).
- [6] Zhang J, Yan X H, Lai J M, Li C Y. *Pharm. Today*(张静, 严小红, 赖俊敏, 李春盈. 今日药学), 2018, 28(11): 733-735.
- [7] Zhao X Y, Lin Y F, Hu X Z, Fu X F, Li J, Wang P. *Chin. J. Anal. Lab.* (赵晓亚, 林雁飞, 胡小钟, 付晓芳, 李晶, 王鹏. 分析实验室), 2009, 28(2): 111-115.

- [8] Wu D N, Zheng H H, Wang P, Li J. *Chin. J. Health Lab. Technol.* (吴大南, 郑和辉, 王萍, 李洁. 中国卫生检验杂志), **2008**, (2): 197 - 198.
- [9] Li J, Shang S M, Chen X, Liu Y, Sun F, Song J. *Chin. J. Anal. Lab.* (李娟, 商少明, 陈新, 刘瑛, 孙芳, 宋健. 分析实验室), **2013**, 32(5): 77 - 80.
- [10] Cui H, Shen B Z, Chen X, Cao W J, Liu M Y, Huang D L. *China Surfactant Deterg. Cosmet.* (崔晗, 沈葆真, 陈溪, 曹文军, 刘梦遥, 黄大亮. 日用化学工业), **2014**, 44(5): 295 - 298.
- [11] Li Y F, Tan J H, Xiong X T, Xia Z M, Zhao T T, Xu Z L, Li H Y. *Contemp. Chem. Ind.* (李燕飞, 谭建华, 熊小婷, 夏泽敏, 赵田甜, 徐卓伦, 李蕙怡. 当代化工), **2017**, 46(5): 1021 - 1023.
- [12] Wang W P, Zhang M Y, Lin J, Yakufu P. *Chin. J. Pharm. Anal.* (王伟萍, 张明玥, 蔺娟, 帕孜来提·亚库甫. 药物分析杂志), **2013**, 33(5): 837 - 843.
- [13] Li H Y, Chen Y X, Ma Q, Bai H, Zhang Q. *Chin. J. Health Lab. Technol.* (李海玉, 陈云霞, 马强, 白桦, 张庆. 中国卫生检验杂志), **2015**, 25(24): 4199 - 4202.
- [14] Zhang X L, Ding J, Wang J L. *Strait Pharm. J.* (张晓璐, 丁建, 汪嘉丽. 海峡药学), **2015**, 27(10): 36 - 39.
- [15] Zhang H H, Hou Y, Yang S H, Zhu Y M, Dong S Q. *J. Yunnan Univ. : Nat. Sci.* (张怀辉, 侯英, 杨式华, 朱叶梅, 董胜强. 云南大学学报: 自然科学版), **2018**, 40(3): 561 - 567.
- [16] Luo H T, Huang X L, Wu H Q, Zhu Z X, Huang F, Lin X S, Ma Y F, Deng X, Zhou P C, Zhang Q Y, Jian Y T. *J. Instrum. Anal.* (罗辉泰, 黄晓兰, 吴惠勤, 朱志鑫, 黄芳, 林晓珊, 马叶芬, 邓欣, 周培才, 张秋炎, 简艳婷. 分析测试学报), **2016**, 35(2): 119 - 126.
- [17] Pan X H, Yin S, Liu Y L, Long L Y, Zhao W, Meng Q Y. *Chin. J. Chromatogr.* (潘小红, 殷帅, 刘玉玲, 龙凌云, 赵薇, 孟庆玉. 色谱), **2018**, 36(4): 356 - 361.
- [18] Luo H T, Huang X L, Wu H Q, Zhang Q Y, Zhu Z X, Huang F, Lin X S. *Chin. J. Anal. Chem.* (罗辉泰, 黄晓兰, 吴惠勤, 张秋炎, 朱志鑫, 黄芳, 林晓珊. 分析化学), **2017**, 45(9): 1381 - 1388.
- [19] Yang B F, Chen J G. *Pharmacology*. 9th Ed. . Beijing: People's Medical Publishing House(杨宝峰, 陈建国. 药理学. 9版. 北京: 人民卫生出版社), **2018**.
- [20] Dong Y M, Tang D Y. *Cosmetics Material Type · Formula Composition · Preparation Process*. 2nd. Ed. . Beijing: Chemical Industry Press(董银卯, 唐冬雁. 化妆品原料类型·配方组成·制备工艺. 第2版. 北京: 化学工业出版社), **2017**.
- [21] Li P, Pan W. *China Sci. Technol. Achiev.* (李鹏, 潘炜. 中国科技成果), **2011**, 12(7): 47 - 48.
- [22] He Z Y, Wang L, Peng Y, Luo M, Wang W W, Liu X W. *Food Chem.*, **2015**, 169: 372 - 380.
- [23] Tao Y, Zheng Z T, Yu Y, Xu J, Liu X G, Wu X H, Dong F S, Zheng Y Q. *Food Chem.*, **2018**, 241: 32 - 39.
- [24] State Food and Drug Administration. Gsyjx[2010]No.455. Technical Specification for Verification of Detection Methods of Prohibited Substances and Restricted Substances in Cosmetics(国家食品药品监督管理局. 国食药监许[2010]455号化妆品中禁用物质和限用物质检测方法验证技术规范). [2019 - 10 - 25]. <http://down.foodmate.net/ziliao/sort/7/18050.html>.

(责任编辑: 丁岩)