

超高效液相色谱三重四极杆质谱联用测定化妆品中 15 种磺胺类药物残留

LCMSMS-097

摘要：本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用测定化妆品中 15 种磺胺类药物的方法。借助超高效液相色谱 LC-30A 在 7 min 内实现快速分离，三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 进行定量分析，因此可以快速、准确的测定 15 种磺胺类药物。这 15 种磺胺类药物的线性良好，相关系数均大于 0.999；不同浓度的精密度实验结果表明：其保留时间和峰面积相对标准偏差分别在 0.01 ~ 0.40% 和 1.67 ~ 5.49% 间，仪器精密度良好；其检出限为 0.07 ~ 1.13 μg/L，定量限为 0.30 ~ 4.51 μg/L；样品加标回收率在 70.5~ 96.7% 间。

关键词：磺胺类药物 化妆品 超高效液相色谱仪 三重四极杆质谱仪

磺胺类药物具有一定的祛痘、抗粉刺、除螨等功效，但是长期使用会在人体内积累残留，对人体产生危害，因此我国《化妆品卫生规范》、欧盟化妆品新法规 (Regulation (EC) 1223-2009) 中均明确规定了磺胺类药物为化妆品中禁用物质。

关于磺胺类药物检测的研究报道主要集中在食品样品、生物样品、环境样品等方面，涉及的方法包括光谱法、薄层色谱法 (TLC)、高效液相色谱法 (HPLC)、高效液相色谱-串联质谱法 (HPLC/MS/MS) 及超临界流体色谱法 (SFC) 等。而化妆品中磺胺类药物的检

测方法主要有高效液相色谱法 (HPLC) 和高效液相色谱-串联质谱法 (HPLC/MS/MS) 等。相较于液相色谱法，超高效液相色谱与串联四极杆质谱联用法具有串联质谱的高选择性、高灵敏度的优势，为目标化合物的定性定量提供了可靠依据。本方法建立了同时测定化妆品中 15 种磺胺类药物的超高效液相色谱-串联质谱分析方法，在 7 min 内完成了 15 种磺胺多组分的快速分离检测，为化妆品样品的高通量快速检测提供了可靠的分析平台，可供相关检测人员参考。

表1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
0.20	Pumps	Pump B Conc.	15
1.50	Pumps	Pump B Conc.	30
2.50	Pumps	Pump B Conc.	30
4.50	Pumps	Pump B Conc.	65
5.50	Pumps	Pump B Conc.	65
5.51	Pumps	Pump B Conc.	15
8.00	Controller	Stop	

实验部分

1.1 仪器

本实验使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用系统。具体配置为 LC-30AD×2 输液泵，DGU-20A5 在线脱气机，SIL-30AC 自动进样器，CTO-30A 柱温箱，CBM-20A 系统控制器，LCMS-8040 三重四极杆质谱仪，LabSolutions Ver. 5.54 色谱工作站。

1.2 分析条件

液相色谱条件

分析仪器：LC-30A 系统
 色谱柱：Shimadzu Shim-pack XR-ODS II 3.0 mmI. D. × 75 mmL., 2.2 μm
 流动相：A - 0.1% 甲酸水溶液；B - 甲醇
 流速：0.5 mL/min
 进样体积：10 μL
 柱温：40℃

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 15%，时间程序见表 1。

质谱条件

分析仪器：LCMS-8040
 离子源：ESI(+)
 离子源接口电压：4.5 kV
 雾化气：氮气 3.0 L/min
 干燥气：氮气 18 L/min
 碰撞气：氩气
 脱溶剂管温度：250 °C
 加热模块温度：450 °C
 扫描模式：多反应监测 (MRM)
 驻留时间：8 ms
 延迟时间：3 ms
 MRM 参数：MRM 分组采集，见表 2

表 2MRM 参数

编号	中文名	英文名	CAS号	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
1	磺胺胍	Sulfaguanidine	57-67-0	215.1	156.1*	-15	-13	-30
					108.1	-15	-23	-20
2	磺胺醋酰	Sulfacetamide	144-80-9	215.1	156.1*	-14	-9	-16
					92.2	-14	-23	-18
3	磺胺嘧啶	Sulfadiazine	68-35-9	251.1	156.0*	-17	-14	-16
					108.1	-17	-23	-20
4	磺胺噻唑	Sulfathiazole	72-14-0	256.1	156.0*	-17	-14	-16
					108.2	-17	-24	-21
5	磺胺吡啶	Sulfapyridine	144-83-2	250.2	156.0*	-17	-15	-16
					92.1	-17	-26	-10
6	磺胺甲基嘧啶	Sulfamerazine	127-79-7	265.1	156.0*	-18	-17	-16
					92.1	-18	-29	-18
7	磺胺甲噻二唑	Sulfamethizol	144-82-1	271.1	156.1*	-19	-15	-28
					108.1	-19	-22	-19
8	磺胺二甲嘧啶	Sulfamethazine	57-68-1	279.2	186.1*	-19	-16	-20
					92.1	-19	-30	-18
9	磺胺甲氧哒嗪	Sulfamethoxy-pyridazine	80-35-3	280.9	156.1*	-18	-17	-16
					92.1	-18	-30	-18
10	磺胺氯哒嗪	Sulfachloropyridazine	80-32-0	284.9	156.1*	-19	-14	-16
					92.1	-19	-31	-17
11	磺胺甲噁唑	Sulfamethoxazole	723-46-6	254.2	156.1*	-17	-14	-16
					92.1	-17	-27	-10
12	磺胺多辛	Sulfadoxine	2447-57-6	311.1	156.1*	-22	-18	-30
					108.1	-22	-26	-20
13	磺胺间二甲氧嘧啶	Sulfadimethoxine	122-11-2	311.0	156.1*	-21	-21	-16
					92.1	-21	-31	-18
14	磺胺喹噁啉	Sulfachinoxalin	59-40-5	301.0	156.0*	-20	-15	-16
					92.1	-20	-31	-19
15	磺胺硝苯	Sulfanitran	122-16-7	336.1	198.2*	-23	-9	-14
					294.1	-23	-12	-30

*表示定量离子

1.3 样品制备

标准溶液配制：配制 1000 mg/L 单个标准溶液，然后混合稀释成 1 mg/L 混合标液；用乙腈：水溶液（15:85）溶液稀释成 0.5、1、5、10、50、100 和 500 μg/L 不同浓度的混合标准工作液。

样品前处理方法：称取 0.5 g 试样（精确至 0.01 g）至 10 mL 离心管中，加入 2 mL 乙腈；0.1% 甲酸溶液（15:85），涡旋 1 min，离心分层，取清液经 0.22 μm 微孔滤膜过滤后，用液相分析

结果讨论

2.1 标准样品一级质谱图和产物离子扫描质谱图

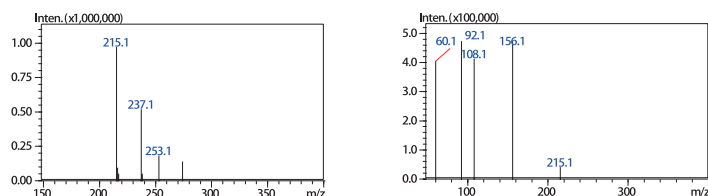


图1 磺胺胍的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE值-20V，右图）

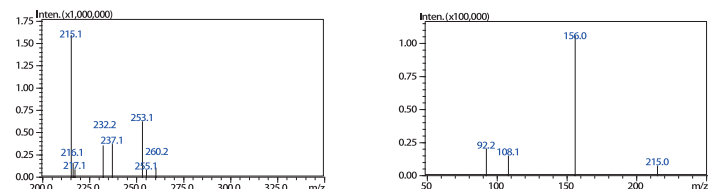


图2 磺胺醋酰的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE值-12V，右图）

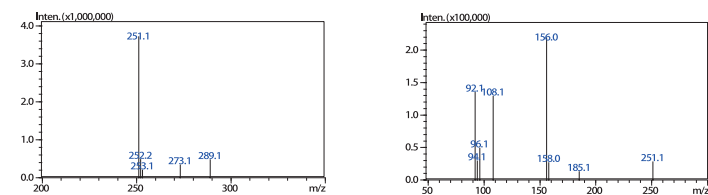


图3 磺胺嘧啶的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE值-18V，右图）

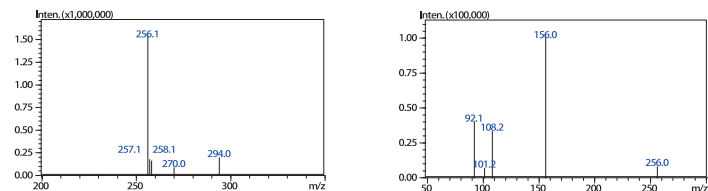


图4 磺胺噻唑的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE值-17V，右图）

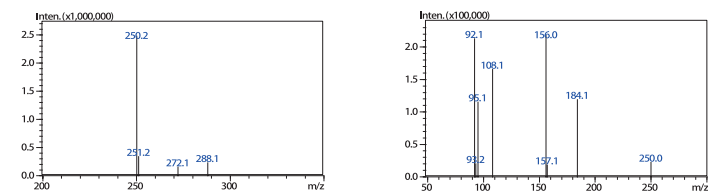


图5 磺胺吡啶的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE值-21V，右图）

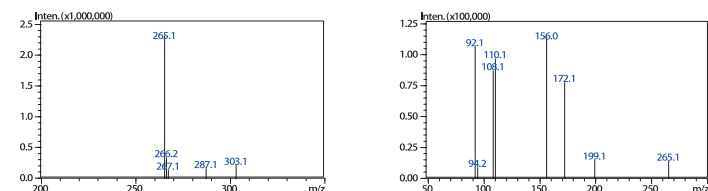


图6 磺胺甲基嘧啶的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE值-20V，右图）

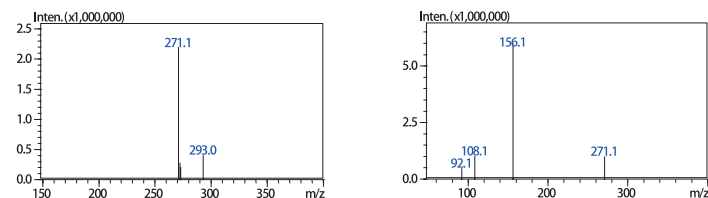


图7 磺胺甲噻二唑的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE值-15V，右图）

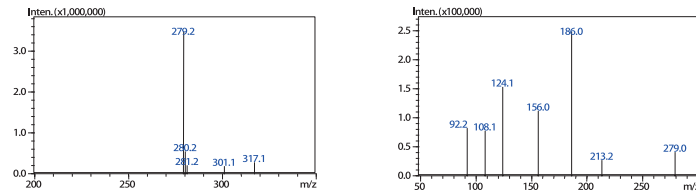


图8磺胺二甲嘧啶的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE值-20V，右图）

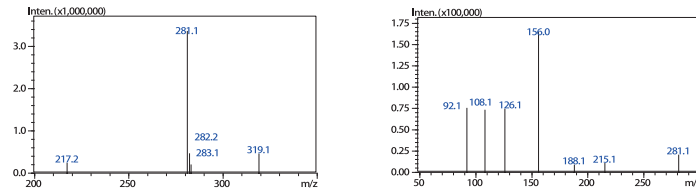


图9磺胺甲氧嘧啶的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE值-20V，右图）

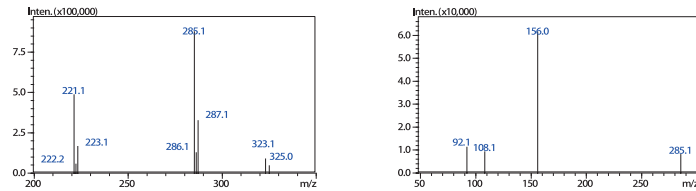


图10磺胺氯嘧啶的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE值-16V，右图）

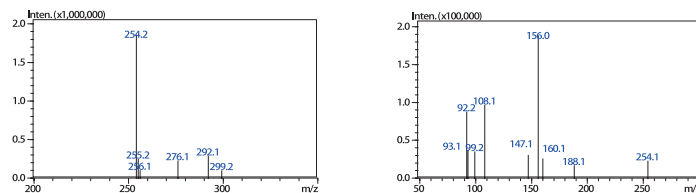


图11磺胺甲噁啶的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE值-18V，右图）

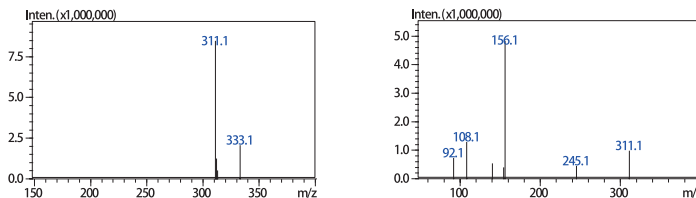


图12磺胺多辛的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE值-20V，右图）

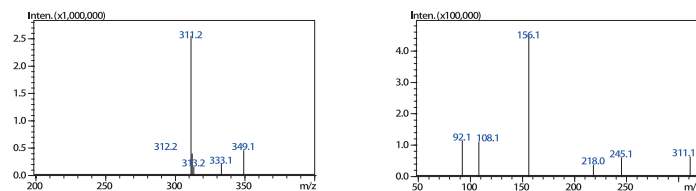


图13磺胺间二甲氧嘧啶的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE值-22V，右图）

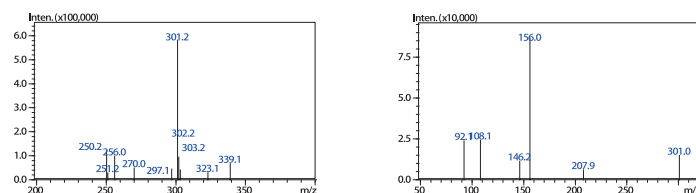


图14磺胺噻嘧啶的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE值-19V，右图）

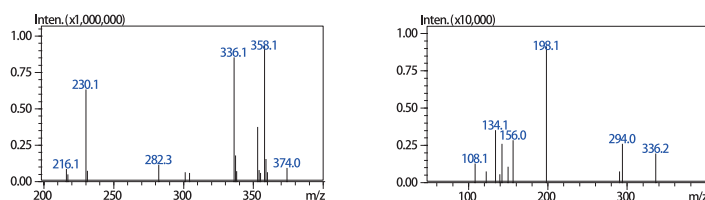
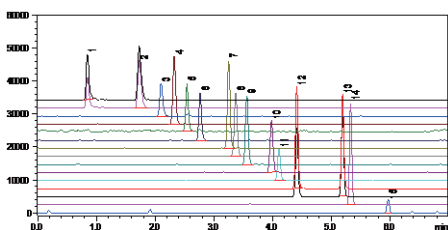


图15磺胺硝苯的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE值-15V，右图）

2.2 标准样品的 MRM 色谱图

混合标准样品的 MRM 色谱如图 16 所示。



左图 16 5 μg/L 混合标准样品的 MRM 色谱图

(1. 磺胺胍、2. 磺胺醋酸、3. 磺胺嘧啶、4. 磺胺噻唑、5. 磺胺吡啶、6. 磺胺甲基嘧啶、7. 磺胺甲噻二唑、8. 磺胺二甲嘧啶、9. 磺胺甲氧哒嗪、10. 磺胺氯哒嗪、11. 磺胺甲噁唑、12. 磺胺多辛、13. 磺胺间二甲氧嘧啶、14. 磺胺喹噁啉、15. 磺胺硝苯)

2.3 检出限、定量限与线性关系

配制 1 μg/L 的混合标样 7 份，进样分析，对上述测定结果剔除离群值后将各自的 7 次测定结果计算其标准偏差 S，此时检出限 MDL = 3.14 × S，定量限 LOQ=4 × MDL。将浓度为 0.5、1、5、10、50、100 和 500 μg/L 的混合标准工作液，按 1.2 中的分析条件进行测定，外标法制作校准曲线，如图 17~31 所示。检出限、定量限、线性方程、线性范围和相关系数见表 3。

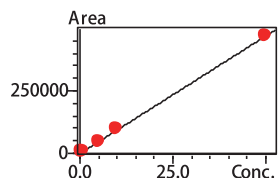


图17磺胺胍标准工作曲线

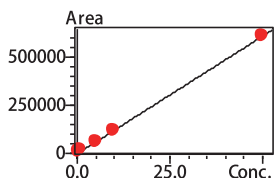


图18磺胺醋酸标准工作曲线

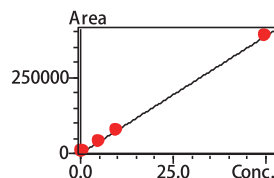


图19 磺胺嘧啶标准工作曲线

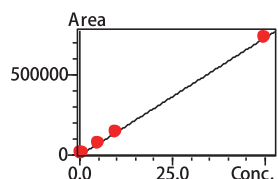


图20磺胺噻唑标准工作曲线

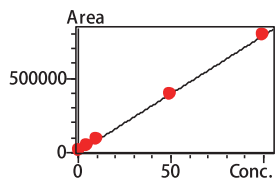


图21磺胺吡啶标准工作曲线

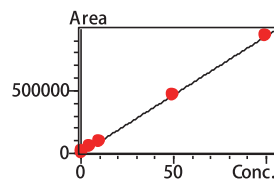


图22 磺胺甲基嘧啶标准工作曲线

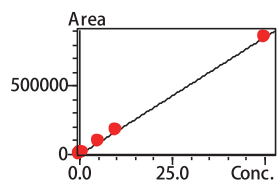


图23 磺胺甲噻二唑标准工作曲线

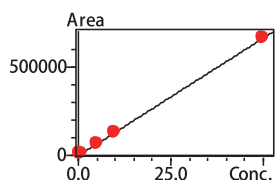


图24 磺胺二甲嘧啶标准工作曲线

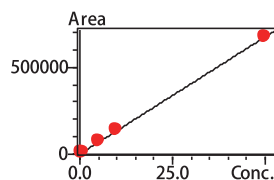


图25磺胺甲氧哒嗪标准工作曲线

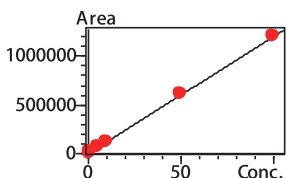


图26 磺胺氯哒嗪标准工作曲线

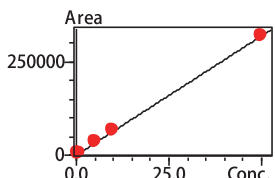


图27 磺胺甲噁唑标准工作曲线

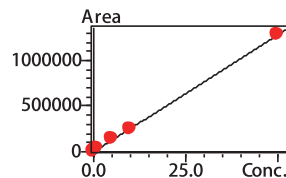


图28 磺胺多辛标准工作曲线

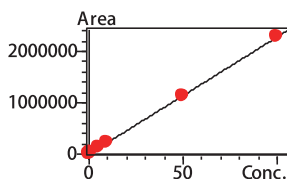


图29 磺胺间二甲氧嘧啶标准工作曲线

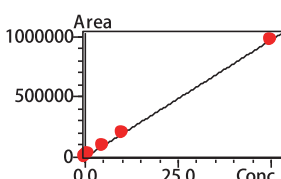


图30 磺胺嘧啶标准工作曲线

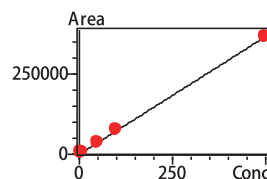


图31 磺胺硝唑标准工作曲线

表3 15种物质的校准曲线参数

No.	名称	检出限(μg/L)	定量限(μg/L)	线性范围	校准曲线	相关系数R
1	磺胺胍	0.12	0.48	0.5 ~50 μg/L	$Y = (9399.80)X + (-816.956)$	0.9999
2	磺胺醋酰	0.10	0.41	0.5 ~50 μg/L	$Y = (12234.5)X + (-2075.00)$	0.9998
3	磺胺嘧啶	0.12	0.47	0.5 ~50 μg/L	$Y = (7728.50)X + (-770.097)$	0.9999
4	磺胺噻唑	0.11	0.43	0.5 ~50 μg/L	$Y = (14751.8)X + (-2691.65)$	0.9999
5	磺胺吡啶	0.22	0.88	1 ~100 μg/L	$Y = (7825.39)X + (3584.08)$	0.9999
6	磺胺甲基嘧啶	0.12	0.49	0.5 ~50 μg/L	$Y = (9354.65)X + (-1151.02)$	0.9999
7	磺胺甲噻二唑	0.12	0.46	0.5 ~50 μg/L	$Y = (17095.6)X + (405.803)$	0.9999
8	磺胺二甲嘧啶	0.11	0.43	0.5 ~50 μg/L	$Y = (13271.5)X + (-2355.37)$	0.9999
9	磺胺甲氧哒嗪	0.12	0.47	0.5 ~50 μg/L	$Y = (13464.0)X + (926.099)$	0.9999
10	磺胺氯哒嗪	0.09	0.38	0.5 ~100 μg/L	$Y = (12073.0)X + (-974.070)$	0.9999
11	磺胺甲噁唑	0.11	0.45	0.5 ~50 μg/L	$Y = (6389.28)X + (286.172)$	0.9999
12	磺胺多辛	0.12	0.47	0.5 ~50 μg/L	$Y = (25658.5)X + (-1432.38)$	0.9999
13	磺胺间二甲氧嘧啶	0.07	0.30	0.5 ~100 μg/L	$Y = (22802.3)X + (312.679)$	0.9999
14	磺胺嘧啶	0.12	0.49	0.5 ~50 μg/L	$Y = (19458.6)X + (985.623)$	0.9999
15	磺胺硝唑	1.13	4.51	5 ~500 μg/L	$Y = (735.498)X + (56.7065)$	0.9999

2.4 精密度实验

配置如表4浓度的混合标液，重复进样6次。15种目标化合物的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在0.01~0.40%和1.67~5.49%之间，仪器精密度良好。

表4 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

No.	名称	RSD%(1μg/L)		RSD%(5μg/L)		RSD%(50μg/L)	
		R.T	Area	R.T	Area	R.T	Area
1	磺胺胍	0.29	3.59	0.10	2.82	0.10	2.86
2	磺胺醋酰	0.40	3.93	0.19	2.53	0.10	2.76
3	磺胺嘧啶	0.39	4.25	0.27	3.95	0.14	1.67
4	磺胺噻唑	0.15	3.67	0.05	2.96	0.13	2.02
5	磺胺吡啶	0.23	3.83	0.08	2.96	0.05	1.94
6	磺胺甲基嘧啶	0.17	4.25	0.12	3.90	0.06	2.69
7	磺胺甲噻二唑	0.07	4.02	0.07	3.31	0.09	2.51
8	磺胺二甲嘧啶	0.19	4.16	0.05	3.95	0.07	3.60
9	磺胺甲氧哒嗪	0.13	3.97	0.04	3.22	0.05	2.34
10	磺胺氯哒嗪	0.10	3.18	0.06	2.92	0.10	2.32
11	磺胺甲噁唑	0.17	4.47	0.06	2.99	0.05	2.80
12	磺胺多辛	0.05	4.26	0.02	3.40	0.05	2.09
13	磺胺间二甲氧嘧啶	0.03	3.67	0.01	2.07	0.02	2.10
14	磺胺嘧啶	0.02	3.84	0.02	2.72	0.03	2.32
15	磺胺硝唑	---	---	0.05	5.49	0.03	3.11

2.5 基质加标实验

在按照 1.3 中样品制备方法，样品中添加混合标样，加标含量如表 5，各平行 4 次。测试结果显示：乳液样品的加标回收率在 70.5~ 96.7% 之间；具体结果如表 5。乳液样品的色谱图如图 32 所示，乳液加标样品的色谱图如图 33 所示。

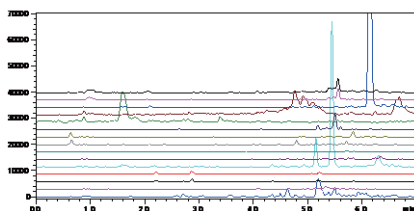


图32 乳液样品的色谱图

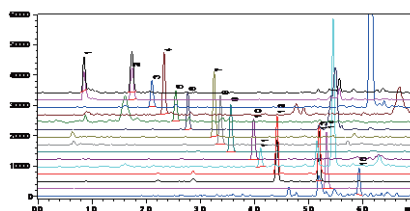


图33 20µg/kg 样品基质加标样色谱图

表5 加标样的回收率结果(n=4)

No.	样品名称	乳液样品(µg/kg)	回收率(%)		
			4µg/kg	20µg/kg	200µg/kg
1	磺胺胍	ND	84.7	84.5	84.4
2	磺胺醋酸	ND	86.5	82.0	91.3
3	磺胺嘧啶	ND	89.8	90.4	90.7
4	磺胺噻唑	ND	88.0	90.0	89.7
5	磺胺吡啶	ND	74.0	81.2	81.7
6	磺胺甲基嘧啶	ND	96.7	96.9	96.4
7	磺胺甲噻二唑	ND	72.7	84.6	83.0
8	磺胺二甲嘧啶	ND	92.0	83.0	92.9
9	磺胺甲氧哒嗪	ND	78.8	79.7	88.7
10	磺胺氯哒嗪	ND	78.3	81.8	89.7
11	磺胺甲噁唑	ND	70.5	74.1	74.8
12	磺胺多辛	ND	75.9	73.5	77.5
13	磺胺间二甲氧嘧啶	ND	80.0	79.0	83.5
14	磺胺喹噁啉	ND	72.1	83.2	87.6
15	磺胺硝唑	ND	---	81.3	94.6

注：ND表示未检出

结论

使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用测定化妆品中 15 种磺胺类药物（磺胺胍、磺胺醋酸、磺胺嘧啶、磺胺噻唑、磺胺吡啶、磺胺甲基嘧啶、磺胺甲噻二唑、磺胺二甲嘧啶、磺胺甲氧哒嗪、磺胺氯哒嗪、磺胺甲噁唑、磺胺多辛、磺胺间二甲氧嘧啶、磺胺喹噁啉和磺胺硝苯）。15 种磺胺类药物的线性良好，相关系数均大于 0.999；其检出限为 0.07 ~ 1.13 µg/L，定量限为 0.30 ~ 4.51 µg/L；乳液基质加标的回收率在 70.5~ 96.7% 之间。