

超高效液相色谱三重四极杆质谱联用法 测定化妆品中 7 种禁用物质的含量

LCMSMS-317

摘要：本文建立了一种使用岛津三重四极杆质谱仪 LCMS-8060 测定化妆品中 7 种禁用物质含量的方法。参照国家食品药品监督管理局 2012 年 12 月 14 日颁布化妆品中氢化可的松等 7 种禁用物质测试方法，所测结果均满足规定的定量限要求。采用外标法定量，所得校准曲线线性良好，线性相关系数均在 0.9992 以上，对低、中不同浓度的标样平行测试 6 次，保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.02~0.17% 和 0.92~6.70% 之间，仪器精密度良好。基质加标回收率范围在 88.5~112.6% 之间。该方法具有分析速度快、灵敏度高、重复性好的优势，可用于应对化妆品中氢化可的松等 7 种禁用物质含量的检测。

关键词：三重四极杆质谱 化妆品 禁用物质

随着化妆品工业迅猛发展，化妆品中使用的原材料和各种功能性的添加剂日趋增多。同时由化妆品生产者为了改善产品的性能而人为地加入禁用物质而造成残留，从而形成了对消费者潜在的危害。化妆品的安全性已经日益成为广大消费者关注的问题。

国家食品药品监督管理局 2012 年 12 月 14 日下发了化妆品中氢化可的松等 7 种禁用物质的检测方案，对米诺地尔、氢化可的松、螺内酯、雌酮、坎利酮、醋

酸曲安奈德、黄体酮 7 种违禁物质的检出限做了明文规定。

本文参考国家食品药品监督管理局发布化妆品中氢化可的松等 7 种禁用物质的检测方案，利用岛津 LCMS-8060 三重四极杆质谱仪采用多反应监测模式建立了检测化妆品中的氢化可的松等 7 种禁用物质的分析方法。

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-8060 联用系统。具体配置为 LC-30AD×2 输液泵，DGU-20A₅ 在线脱气机，SIL-30ACMP 自动进样器，CTO-30A 柱温箱，CBM-20A 系统控制器，LCMS-8060 三重四极杆质谱仪，LabSolutions Ver.5.89 色谱工作站。

1.2 分析条件

液相条件

色谱柱：Shim-pack XR-ODS II 2.0 mm I.D.
× 75 mm L., 2.2 μm

流速：0.4 mL/min

柱温：40°C

进样量：5 μL

流动相 A：0.1% 甲酸水溶液

流动相 B：甲醇溶液

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度 50% 时间程序
见表 1

表1 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value
1.00	Pumps	Pump B Conc.	50
1.50	Pumps	Pump B Conc.	60
4.00	Pumps	Pump B Conc.	60
5.00	Pumps	Pump B Conc.	90
6.50	Pumps	Pump B Conc.	95
7.50	Pumps	Pump B Conc.	95
7.60	Pumps	Pump B Conc.	50
10.00	Controller	Stop	

质谱条件

离子源: ESI(+)

雾化气流速: 3.0 L/min

加热模块温度: 400°C

干燥气流速: 5.0 L/min

加热气流速: 15.0 L/min

D L 温度: 200°C

接口温度: 350°C

MRM 参数: 见表 3

表2 化合物信息表

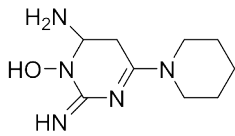
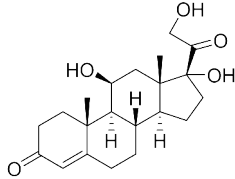
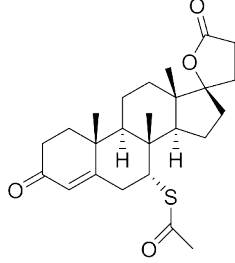
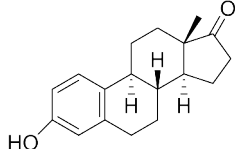
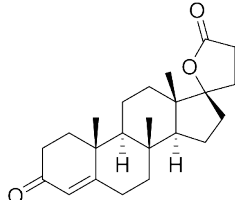
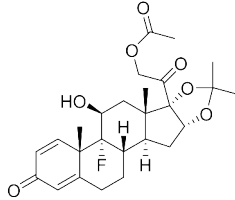
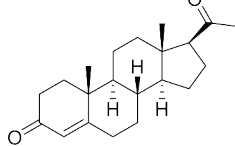
化合物名称	英文名	CAS No.	分子式	结构式
米诺地尔	Minoxidil	38304-91-5	C ₉ H ₁₅ N ₅ O	
氢化可的松	Hydrocortisone	50-23-7	C ₂₁ H ₃₀ O ₅	
螺内酯	Spirolactone	52-01-7	C ₂₄ H ₃₂ O ₄ S	
雌酮	Estrone	53-16-7	C ₁₈ H ₂₂ O ₄	
坎利酮	Canrenone	976-71-6	C ₂₂ H ₂₈ O ₃	
醋酸曲安奈德	Triamcinolone Acetonide Acetate	3870-07-3	C ₂₆ H ₃₃ FO ₇	
黄体酮	Progesterone	57-83-0	C ₂₁ H ₃₀ O ₂	

表3 MRM参数

名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias (V)	CE (V)	Q3 Pre Bias (V)
米诺地尔	210.00	164.10*	-20.0	-25.0	-20.0
		193.10	-20.0	-15.0	-19.0
氢化可的松	363.00	121.10*	-18.0	-26.0	-20.0
		327.15	-18.0	-17.0	-14.0
螺内酯	341.00	107.10*	-16.0	-30.0	-17.0
		91.10	-16.0	-55.0	-15.0
雌酮	271.00	253.30*	-29.0	-14.0	-10.0
		133.00	-29.0	-25.0	-11.0
坎利酮	341.10	107.15*	-17.0	-30.0	-18.0
		91.15	-17.0	-55.0	-14.0
醋酸曲安奈德	477.05	457.20*	-23.0	-11.0	-30.0
		439.10	-23.0	-16.0	-14.0
黄体酮	315.00	109.10	-15.0	-26.0	-17.0
		97.10*	-15.0	-23.0	-16.0

“*”定量离子

1.3 样品制备

称取化妆品 1.0 g, 置于 10 mL 比色管中, 加入 1 mL 饱和食盐水, 涡旋 30 s 后, 加入乙腈定容至 10 mL, 涡旋 30 s, 超声提取 30 min, 涡旋 30 s, 4500 rpm 离心 5 分钟, 取上层清液 1 mL, 经 0.22 μm 微孔滤膜过滤后, 氮吹, 用 1 mL 50% 甲醇水定容, 备用上机。

1.4 标准曲线溶液制备

用甲醇配制 10000 mg/L 米诺地尔、氢化可的松、螺内酯、雌酮、坎利酮、醋酸曲安奈德、黄体酮储备液, 用 50% 甲醇水溶液逐级稀释分别得到 0.1 μg/L、0.25 μg/L、0.5 μg/L、1 μg/L、2.5 μg/L、5 μg/L、10 μg/L、50 μg/L、100 μg/L 和 250 μg/L 的标准溶液。

■ 结果与讨论

2.1 质谱扫描图

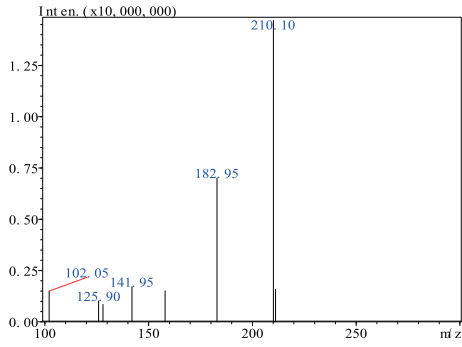


图1 米诺地尔一级质谱图

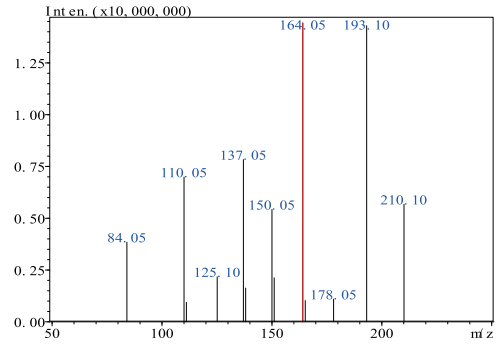


图2 米诺地尔产物离子扫描图 (CE值-25V)

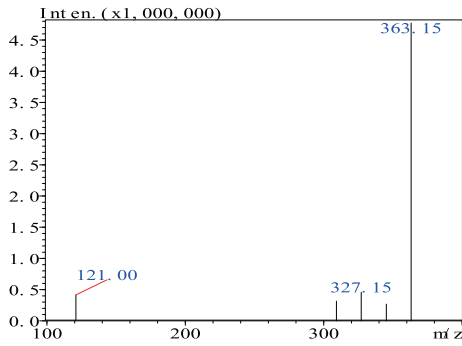


图3 氢化可的松一级质谱图

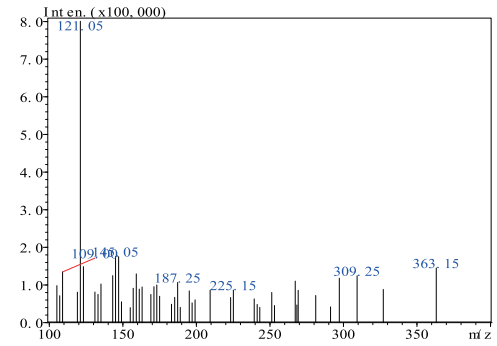


图4 氢化可的松产物离子扫描图 (CE值-20V)

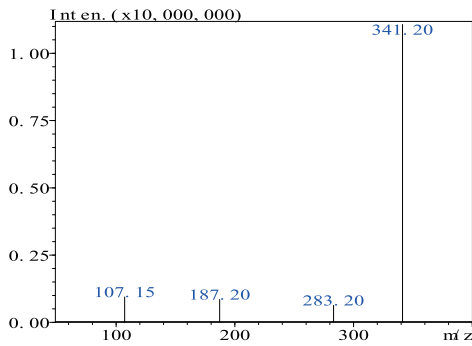


图5 螺内酯一级质谱图

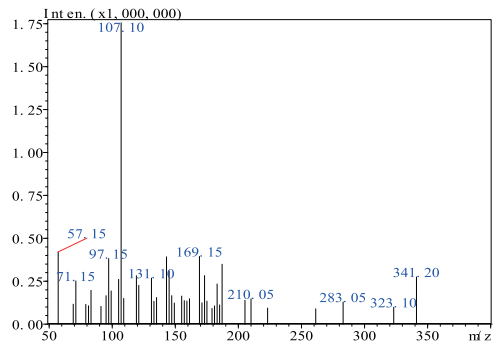


图6 螺内酯产物离子扫描图 (CE值-30V)

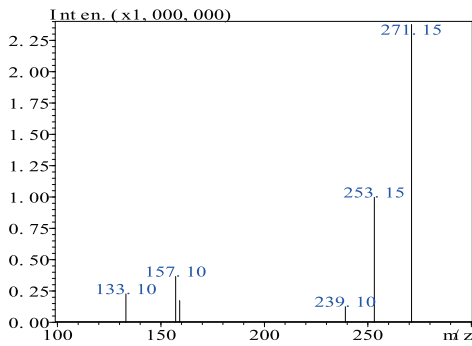


图7 雌酮一级质谱图

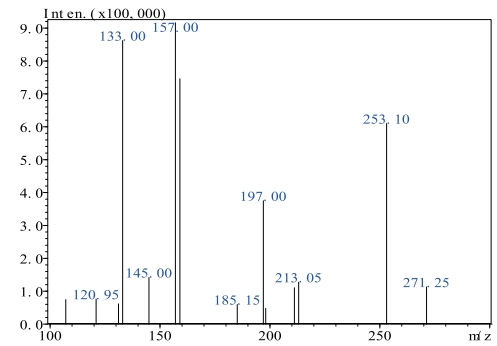


图8 雌酮产物离子扫描图 (CE值-15V)

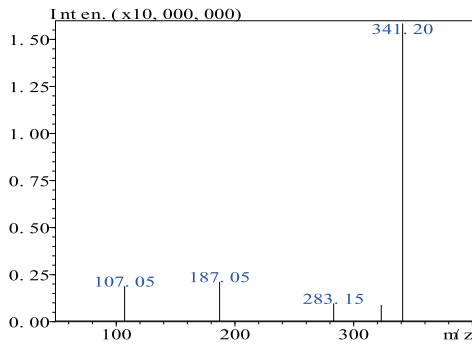


图9 坎利酮一级质谱图

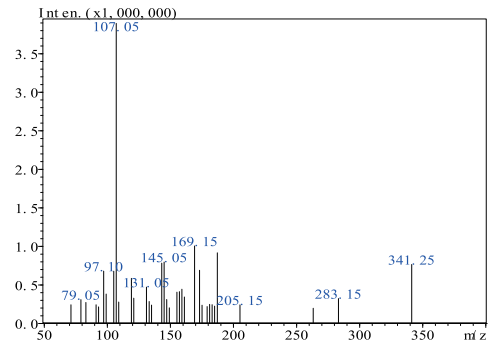


图10 坎利酮产物离子扫描图 (CE值-15V)

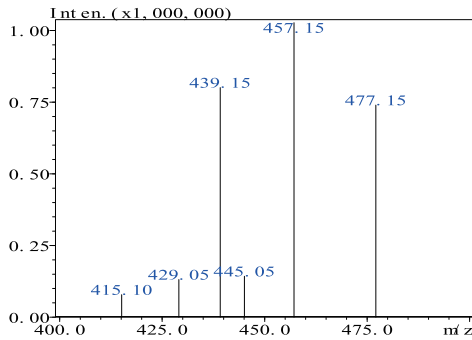


图11 醋酸曲安奈德一级质谱图

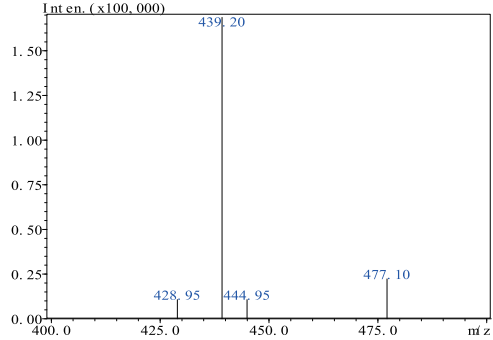


图12 醋酸曲安奈德产物离子扫描图 (CE值-15V)

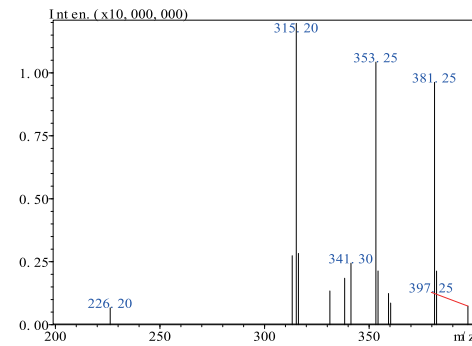


图13 黄体酮一级质谱图

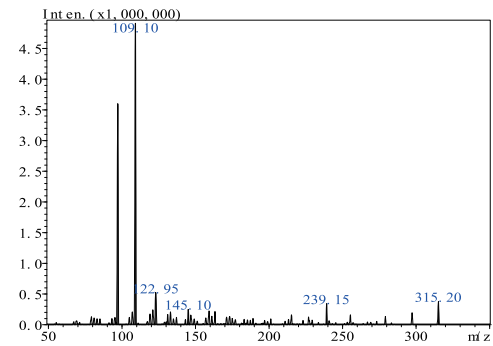


图14 黄体酮产物离子扫描图 (CE值-25V)

2.2 7种禁用物质标准溶液的MRM色谱图

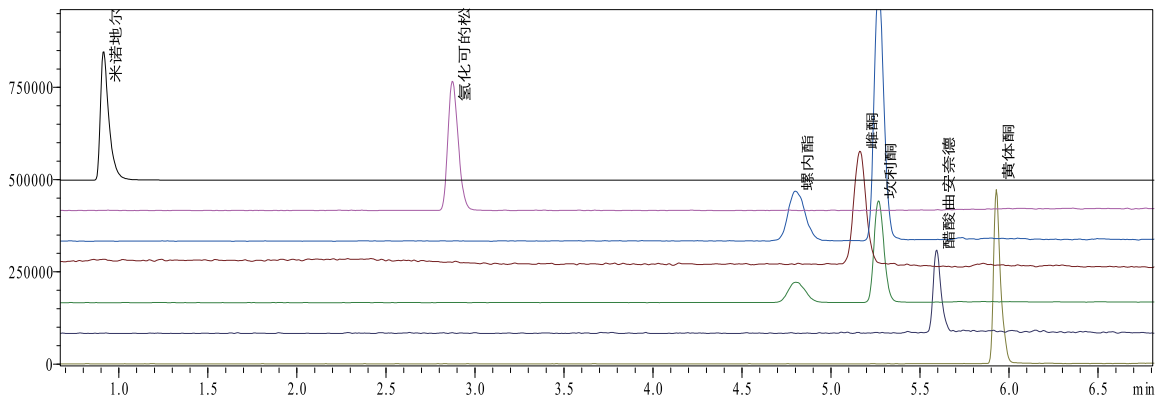


图15 7种禁用物质标准溶液的MRM色谱图 (2.5 μg/L)

2.3 线性范围

按 1.2 中的分析条件进行测定，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，外标法制作校准曲线，线性方程、线性范围和相关系数见表 4。

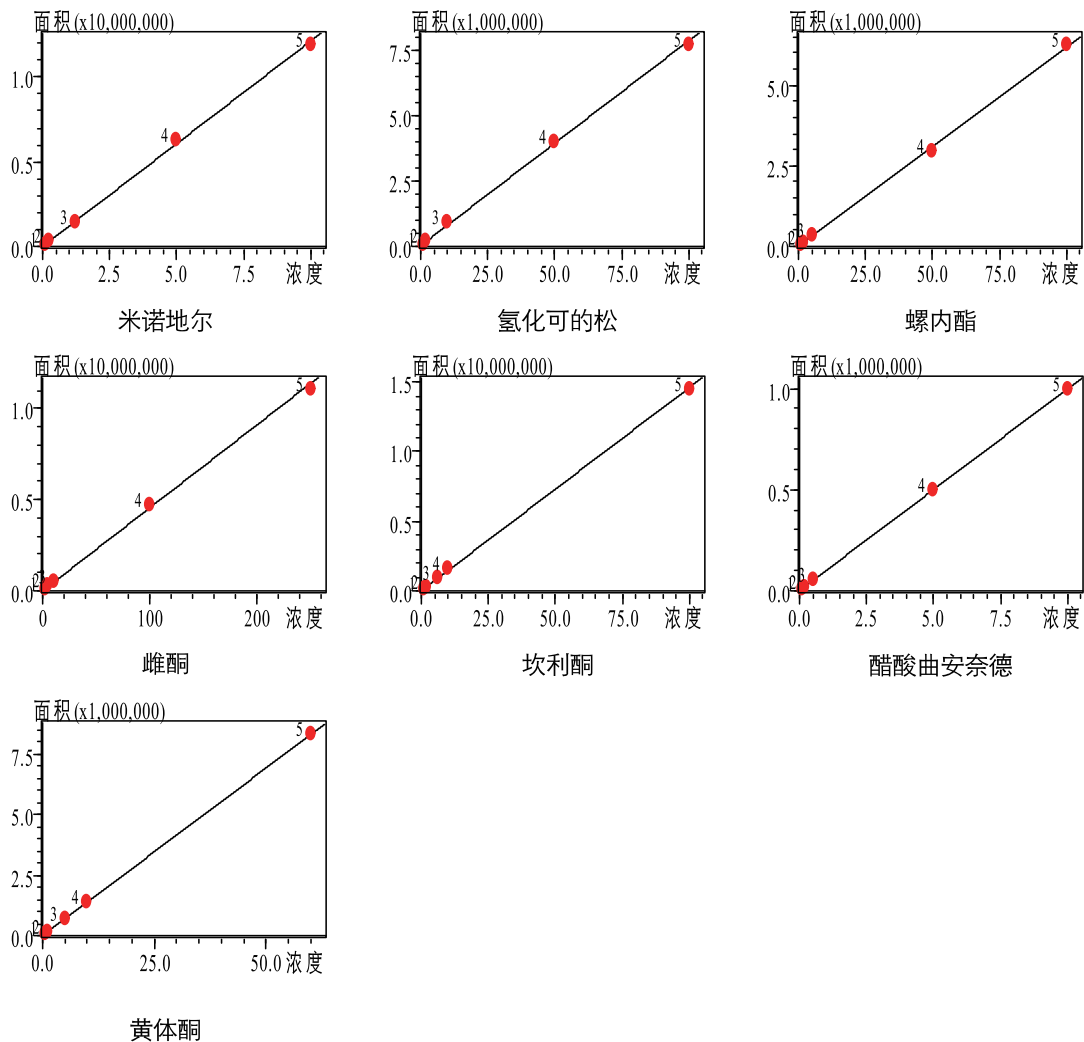


图16 7种禁用物质的标准曲线

表4 校准曲线参数

序号	名称	校准曲线	线性范围 (μg/L)	相关系数 r	准确度%
1	米诺地尔	Y = 1213640X	0.1~10	0.9997	93.8~103.2
2	氢化可的松	Y = 78958.3X	1.0~100	0.9992	97.8~112.7
3	螺内酯	Y = 61769X	1.0~100	0.9995	95.8~103.9
4	雌酮	Y = 52785.2 X	2.5~250	0.9993	97.4~114.0
5	坎利酮	Y = 146233X	1.0~100	0.9998	99.4~106.1
6	醋酸曲安奈德	Y = 99709.2X	0.1~10	0.9999	92.3~102.7
7	黄体酮	Y = 138255X	0.2~50	0.9999	96.2~100.6

2.4 检出限和定量限

将低浓度混合标准工作液按照按 1.2 中的分析条件下进行测定，通过软件计算得 7 种禁用物质的最低检出限 (S/N=3)、最低定量限 (S/N=10) 结果如表 5 所示。

表5 7种禁用物质的检出限 (μg/L) 和定量限 (μg/L)

序号	化合物名称	检出限	标准规定检出限	定量限	标准规定定量限
1	米诺地尔	0.006	0.2	0.020	0.5
2	氢化可的松	0.010	1.0	0.032	2.0
3	螺内酯	0.020	1.0	0.060	2.0
4	雌酮	0.074	5.0	0.225	10
5	坎利酮	0.037	1.0	0.111	2.0
6	醋酸曲安奈德	0.016	0.2	0.047	0.5
7	黄体酮	0.038	0.5	0.116	1.0

2.5 精密度实验

选择不同浓度的混合标准溶液连续 6 次进样，考察仪器的精密度，保留时间和峰面积的重复性结果如表 6 所示。可见保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.02~0.17% 和 0.92~6.70% 之间，仪器精密度良好。

表6 保留时间和峰面积重复性结果 (RSD%)

化合物名称	级别 1(μg/L)	R.T.	Area	级别 2(μg/L)	R.T.	Area
米诺地尔	0.1	0.18	3.23	1	0.07	0.92
氢化可的松	1	0.08	2.47	10	0.05	1.28
螺内酯	1	0.13	2.39	10	0.05	1.00
坎利酮	1	0.09	2.18	10	0.32	1.72
雌酮	2.5	0.07	4.45	20	0.08	1.55
醋酸曲安奈德	0.1	0.05	3.56	5	0.17	4.82
黄体酮	0.2	0.02	6.70	10	0.10	3.98

2.6 基质加标实验

称取 2 个不同品牌的化妆品样品，每个称取 4 个 (样品 2 个、加标样品 2 个)，按照 1.3 中样品制备方法，加标浓度如下表 7 所示，各平行测定 3 次。测试结果显示：7 种禁用物质样品的加标回收率在 88.5~112.6% 之间，结果如表 7。2# 样品和 2# 样品加标的色谱图，分别见下图 17 和 18。

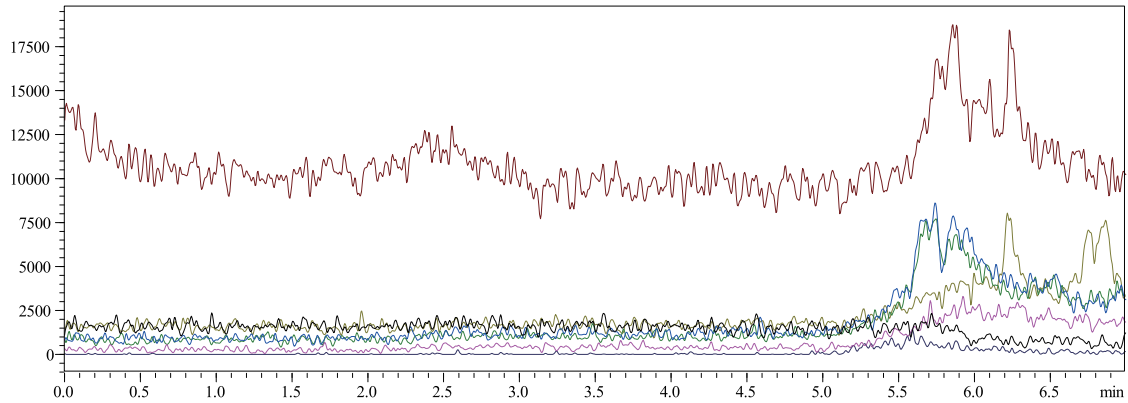


图17 2#样品色谱图

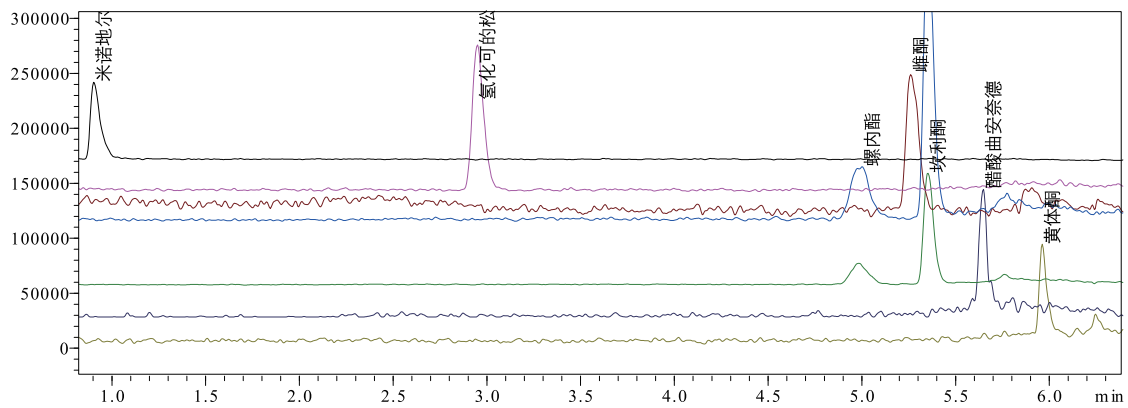


图18 2#样品加标色谱图(加标浓度如下)

表7 基质加标实验结果

序号	化合物名称	加标浓度 $\mu\text{g/L}$	检测值	回收率%
1	米诺地尔	0.1	0.103	103.0
2	氢化可的松	1.0	0.990	99.0
3	螺内酯	1.0	0.944	94.4
4	雌酮	2.5	2.845	103.8
5	坎利酮	1.0	1.126	112.6
6	醋酸曲安奈德	0.1	0.094	94.0
7	黄体酮	0.2	0.177	88.5

■ 结论

参照国家食品药品监督管理局 2012 年 12 月 14 日颁布化妆品中氢化可的松等 7 种禁用物质测试方法, 本文建立了岛津三重四极杆质谱仪 LCMS-8060 测定化妆品中氢化可的松等 7 种禁用物质含量的方法。该标准中规定米诺地尔、氢化可的松、螺内酯、雌酮、坎利酮、醋酸曲安奈德、黄体酮的定量限分别为 0.5、2.0、2.0、10、2.0、0.5、1.0 $\mu\text{g/L}$, 实验结果均满足规定中的定量限。结果采用外标法定量, 所得校准曲线线性良好, 线性相关系数均在 0.9992 以上, 对低、中不同浓度的标样平行测试 6 次, 保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.02~0.17% 和 0.92~6.70% 之间, 仪器精密度良好。基质加标回收率范围在 88.5~112.6% 之间。该方法具有分析速度快、灵敏度高、重复性好的优势, 可用于化妆品中氢化可的松等 7 种禁用物质含量的检测。