

LC-MS/MS 法测定化妆品中新康唑等 8 种物质

LCMSMS-764

摘要： 本文建立了使用岛津三重四极杆液质联用仪测定化妆品中新康唑等 8 种硝基咪唑类抗生素的方法。方法参照国家药监局 2022 年第 77 号公告《化妆品中新康唑等 8 种组分的测定》。本方法采用外标法定量，在 12 min 内完成测试。方法准确度高，重复性好。该方法快速、有效，可应对化妆品中 8 种硝基咪唑类抗生素的风险监测需求。

关键词： 超高效液相色谱 三重四极杆质谱 化妆品 硝基咪唑类抗生素

技术特点：

- ❖ 满足国家药监局化妆品补充检验方法《化妆品中新康唑等 8 种组分的测定》要求；
- ❖ 该方法可有效应对化妆品风险监控项目。

新康唑等 8 种物质属于硝基咪唑类抗生素，其可抑制真菌麦甾醇生物合成，并改变细胞膜其他脂类化合物的组成，可用于去屑、杀菌和调节皮肤油脂。然而，人体长期接触含此类抗生素的化妆品，易引起接触性皮炎、抗生素过敏等症状，易产生耐药性，药物残留还可能导致过敏反应。因此，该 8 种组分主要应用于医学领域，在化妆品领域属于违禁成分。

2022 年 9 月，国家药监局发布 2022 年第 77 号公告《化妆品中新康唑等 8 种组分的测定》。该方法采用液质联用的方法对化妆品中新康唑等 8 种组分进行检测。

本文参照国家药监局发布的方法，建立了 LC-MS/MS 法测定化妆品中新康唑等 8 种组分。该方法快速、准确，可以很好地应对化妆品中新康唑等抗生素非法添加的快速筛查和准确定量。

■ 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津超高效液相色谱仪 LC-40 与 LCMS-8050 联用系统，具体配置为：

系统控制器：	CBM-40	脱气机：	DGU-405
输液泵：	LC-40B X3	自动进样器：	SIL-40C X3
柱温箱：	CTO-40C	质谱检测器：	LCMS-8050
色谱工作站：	LabSolutions Ver. 5.114		

1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱：	ACE Excel 3 C18-AR (150 mm x 4.6 mm I.D., 3 μm)		
流动相：	A 相 -0.1% 甲酸水溶液；B 相 - 乙腈		
洗脱方式：	梯度洗脱，B 相初始浓度为 50%，洗脱程序见表 1		
流速：	0.5 mL/min	进样量：	2 μL
柱温：	40°C	R0 清洗液：	50% 甲醇

表 1 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value
3.00	泵	B.Conc	50
5.00	泵	B.Conc	70
6.00	泵	B.Conc	95
7.80	泵	B.Conc	95
8.00	泵	B.Conc	50
12.00	Controller	Stop	

质谱条件

分析仪器：	LCMS-8050	离子化模式：	ESI+
接口电压：	1.0 kV	雾化气：	氮气 3.0 L/min
干燥气：	氮气 10.0 L/min	碰撞气：	氩气
接口温度：	400°C	DL 温度：	250°C
扫描模式：	多反应监测 (MRM)	加热模块温度：	400°C
MRM 参数：	见表 2		

表 2 化合物信息及 MRM 优化参数

序号	化合物	英文名称	CAS 号	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias (V)	CE (V)	Q3 Pre Bias (V)
1	羟基甲硝唑	Hydroxymetronidazole	4812-40-2	188.2	123.2*	-11	-15	-22
					126.2	-12	-16	-23
2	洛硝哒唑	Ronidazole	7681-76-7	201.2	140.2*	-10	-13	-30
					55.2	-11	-22	-22
3	苯硝咪唑	5-Nitrobenzimidazole	94-52-0	164.2	118.2*	-10	-22	-20
					91.1	-10	-39	-15
4	替硝唑	Tinidazole	19387-91-8	248.2	121.2*	-13	-17	-20
					128.2	-13	-22	-13
5	奥硝唑	Ornidazole	16773-42-5	220.2	82.1*	-12	-30	-16
					128.2	-12	-15	-13
6	氯甲硝咪唑	5-Chloro-1-methyl-4-nitroimidazole	4897-25-0	162.1	145.1*	-19	-16	-26
					116.1	-19	-16	-11
7	异丙硝唑	lpronidazole	14885-29-1	170.2	109.2*	-22	-25	-21
					124.2	-22	-20	-20
8	新康唑	Elubiol	67914-69-6	561.0	250.0*	-28	-35	-26
					515.0	-28	-31	-26

注：* 表示定量离子

1.3 标准品的配制

称取标样 10 mg 于 10 mL 容量瓶中，用甲醇溶液溶解，得到 1 mg/mL 标准储备溶液。准确移取各标准储备液 100 μ L 于 10 mL 容量瓶中，用 50% 乙腈定容，得到浓度为 10 μ g/mL 的混合标准中间溶液。

基质空白溶液：称取试样 0.5 g，按照 1.4 方法处理，得到基质空白溶液。

基质标准中间液：量取 1 mL 混合标准中间溶液于 10 mL 容量瓶中，用基质空白溶液定容至刻度。得到 1 μ g/mL 基质标准中间液。

校准曲线配制：以基质空白溶液为溶剂，将基质标准中间液逐级稀释至浓度为 2、10、50、100、200、500 ng/mL 的标准点，上机分析。

1.4 样品前处理方法

称取样品 0.5 g，置于 25 mL 具塞离心管中，加入饱和氯化钠溶液 1 mL，涡旋振荡 1 min，分散均匀后加入乙腈 20 mL，涡旋 30 s，超声提取 30 min，加入乙腈定容至刻度，10000 r/min 的转速离心 3 min，取上清液经 0.22 μ m 微孔滤膜过滤后，滤液作为供试品溶液备用（样品溶液可根据实际浓度进行适当稀释）。

■ 结果与讨论

2.1 化合物色谱图

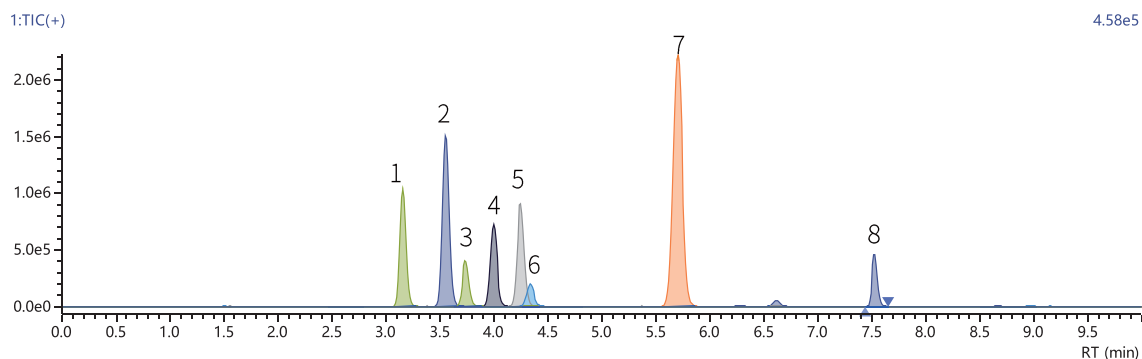


图1 新康唑等 8 种化合物总离子流图 (100 ng/mL, 化合物序号同表 2)

2.2 线性范围

按照 1.3 项下配制方法, 配制校准曲线。以化合物浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 进行线性回归分析, 权重设置为 1/C, 8 种化合物在指定浓度内线性良好, 相关系数大于 0.999。以校准曲线浓度最低点使用 3 倍信噪比的方式计算检出限, 得出 8 种化合物的检出限为 0.05~0.6 ng/mL。

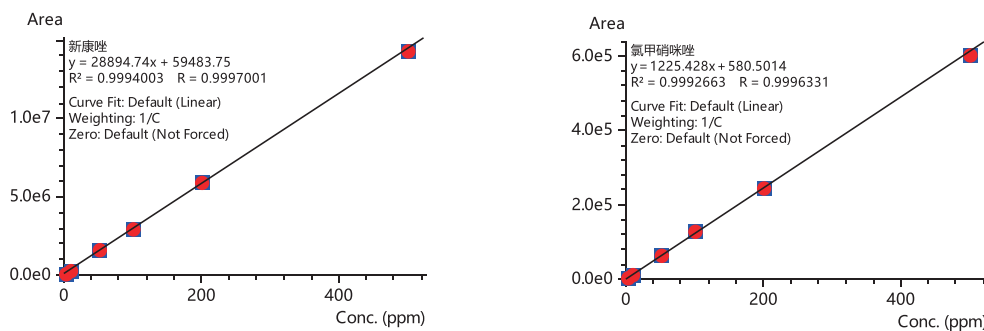


图2 新康唑等 8 种化合物校准曲线 (部分)

表 3 新康唑等 8 种化合物校准曲线参数

序号	化合物	线性范围 (ng/mL)	相关系数 r	加权系数	准确度 (%)	检出限 (ng/mL)
1	羟基甲硝唑	2~500	0.9993	1/C	91~104	0.05
2	洛硝咪唑	2~500	0.9994	1/C	91~107	0.05
3	苯硝咪唑	2~500	0.9998	1/C	96~103	0.3
4	替硝唑	2~500	0.9992	1/C	96~101	0.2
5	奥硝唑	2~500	0.9999	1/C	97~101	0.2
6	氯甲硝咪唑	2~500	0.9996	1/C	90~105	0.6
7	异丙硝唑	2~500	0.9998	1/C	94~107	0.05
8	新康唑	2~500	0.9997	1/C	91~102	0.05

2.3 重复性

分别对 10 ng/mL 和 200 ng/mL 标准溶液连续分析 6 次, 计算重复性。结果见表 4。8 种化合物的保留时间 RSD 为 0.01~0.19%, 峰面积 RSD 为 0.61%~4.76%, 重复性良好。

表 4 新康唑等 8 种化合物重复性结果 (n=6)

序号	化合物	测试浓度 (ng/mL)	保留时间 RSD%	峰面积 RSD%
1	羟基甲硝唑	10	0.19	4.76
		200	0.11	2.36
2	洛硝哒唑	10	0.03	2.96
		200	0.00	1.22
3	苯硝咪唑	10	0.07	2.86
		200	0.03	1.46
4	替硝唑	10	0.04	4.73
		200	0.01	0.61
5	奥硝唑	10	0.06	4.28
		200	0.02	1.13
6	氯苯硝咪唑	10	0.07	2.86
		200	0.03	1.46
7	异丙硝唑	10	0.08	1.68
		200	0.01	2.35
8	新康唑	10	0.05	3.91
		200	0.02	1.36

2.4 方法准确性和精密度

取某化妆品乳液，按照 1.4 前处理方式进行处理，样品中未检出新康唑等 8 种物质。向样品中添加浓度为 0.5、2.5、10 mg/kg 3 个水平的加标量，每个水平重复 3 次，进行加标回收率和精密度试验。表 5 为实验结果，新康唑等 8 种物质的平均回收率为 85.7%~108.1%，相对标准偏差为 1.51%~6.46%。

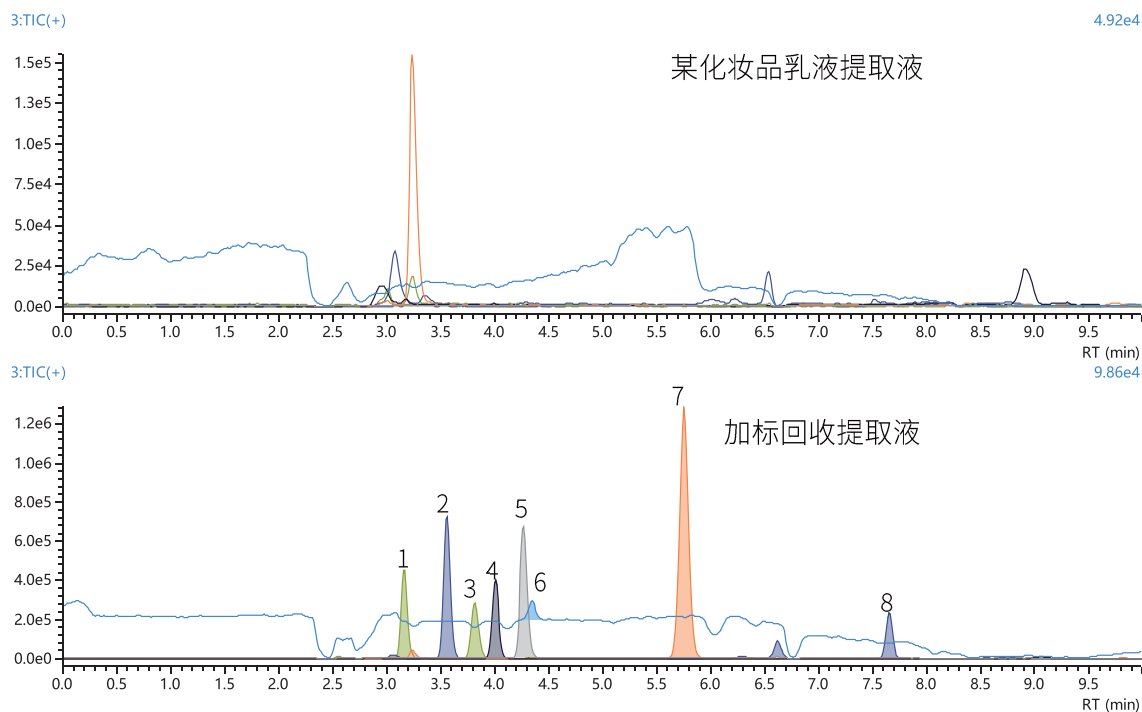


图 3 实际样品和加标回收样品 (加标浓度: 2.5 mg/kg) 总离子流图

表 5 加标回收和精密度结果 (n=3)

序号	化合物	样品浓度 (mg/kg)	添加浓度 (mg/kg)	平均回收率 (%)	相对标准偏差 RSD%
1	羟基甲硝唑	N.D.	0.5	92.6	6.46
			2.5	90.7	3.37
			10	95.3	1.75
2	洛硝哒唑	N.D.	0.5	87.6	2.83
			2.5	98.1	2.05
			10	104.9	1.51
3	苯硝咪唑	N.D.	0.5	95.2	5.21
			2.5	103.7	4.31
			10	105.4	2.12
4	替硝唑	N.D.	0.5	90.0	2.73
			2.5	98.2	2.06
			10	107.2	1.74
5	奥硝唑	N.D.	0.5	98.0	2.67
			2.5	103.6	1.71
			10	108.1	1.99
6	氯甲硝咪唑	N.D.	0.5	86.0	4.90
			2.5	93.3	3.33
			10	103.7	2.57
7	异丙硝唑	N.D.	0.5	85.7	1.25
			2.5	99.5	1.82
			10	107.2	1.67
8	新康唑	N.D.	0.5	105.5	5.85
			2.5	103.5	3.31
			10	104.3	4.49

注: N.D. 表示未检出。

■ 结论

本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱串联质谱联用仪测定化妆品中新康唑等 8 种硝基咪唑类抗生素含量的方法。方法参照国家药品监督管理局发布的化妆品补充检验方法 2022 年第 77 号公告《化妆品中新康唑等 8 种组分的测定》。该方法在 12 min 内完成测试。方法采用外标法定量, 8 种物质在 2~500 ng/mL 浓度范围内呈良好线性, 检出限为 0.05~0.6 ng/mL。样品经过乙腈提取后上机分析。加标结果显示 8 种物质在 0.5、2.5、10 mg/kg 3 个浓度水平下, 平均回收率为 85.7%~108.1%, 相对标准偏差为 1.51%~6.46%。本文所建立的方法快速、有效, 可应对化妆品中新康唑等 8 种物质的日常监测工作。

岛津应用云

