

超高效液相色谱法测定化妆品中 15 种磺胺类药物

LC-095

摘要: 本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 测定化妆品中磺胺类抗生素药物的方法。前处理简单, 并借助超高效液相色谱 LC-30A 在 7 min 内实现快速分离, 因此可以快速、准确地测定磺胺胍、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等 15 种物质。这 15 种物质的线性良好, 相关系数均大于 0.9999; 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 ~ 0.26% 和 0.53 ~ 2.79% 之间, 仪器精密度良好; 15 种物质的检出限 (S/N=3) 在 0.013 ~ 0.024 mg/L 之间, 定量限 (S/N=10) 在 0.040 ~ 0.08 mg/L 之间; 样品加标回收率在 71.5 ~ 107.2% 之间。

关键词: 磺胺类 抗生素 化妆品 超高效液相色谱仪

磺胺 (Sulfonamides, SAs) 是抗生素中的一大类化合物; 用于预防和治疗细菌感染性疾病, 具有抗病原体范围广、化学性质稳定、使用方便、易于生产等特点。临床研究表明, 磺胺类药物具有一定的祛痘、抗粉刺、除螨等功效。但由于磺胺类药物在体内的作用时间和代谢时间较长, 长期使用可能导致在人体中蓄积, 进而对人体机能产生危害, 并导致病原体产生抗药性。我国《化妆品卫生标准》、《化妆品卫生规范》、欧盟化妆品新法规 (Regulation(EC)1223-2009)、日本药事法

(Pharmaceutical Affairs Law) 中均明确规定了磺胺类药物为化妆品中禁用物质。

目前, 针对测定化妆品中磺胺类药物的方法并没有标准规定; 但是常用高效液相色谱法或高效液相质谱法等。本文参考相关文献, 建立了超高效液相色谱仪测定化妆品中 15 种磺胺类药物的分析方法。此方法操作简单、快速和灵敏度高, 供相关检测人员参考。

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 系统。具体配置为 LC-30AD×2 输液泵, SPD-M20A 检测器, 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, LabSolutions Ver. 5.42 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 mmL,

D. × 75 mmL., 2.2 μm

流动相: A - 5 mmol/L 乙酸铵 +0.1% 甲酸, B - 甲

醇

流速: 0.7 mL/min

柱温: 40°C

PDA 检测范围: 190~800 nm,

定量波长是: 270 nm

进样体积: 5 μL

洗脱方式: 梯度洗脱, B 相初始浓度为 8%, 时间程序见表 1。

表 1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
0.20	Pumps	Pump B Conc.	8
2.00	Pumps	Pump B Conc.	25
3.50	Pumps	Pump B Conc.	25
5.50	Pumps	Pump B Conc.	65
6.00	Pumps	Pump B Conc.	65
6.01	Pumps	Pump B Conc.	8
8.00	Controller	Stop	

1.3 样品制备

标准物质：共 15 种，分别为磺胺胍、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。

标准溶液配制：配制 1000 mg/L 单个标准溶液，然后混合稀释成 50 mg/L 混合标液；用甲醇：水溶液（1:9）溶液稀释成 0.05、0.1、0.5、1、5 和 20 mg/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,v/v），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 标准样品的色谱图

混合标准样品的色谱图如图 1 所示，各物质的定量波长分别为：270 nm。

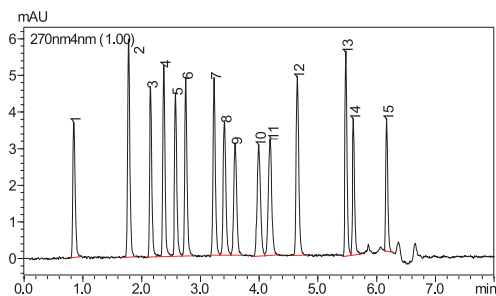


图 1 0.5mg/L 混合标准样品的色谱图

(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)

2.2 检出限、定量限与线性关系

使用标准混合溶液估算得出检出限与定量限，S/N 为信噪比，检出限 MDL = 3 × S/N，定量限 LOQ = 10 × S/N，具体结果如表 2。然后如 1.3 所示稀释混合标样至工作曲线浓度，外标法制作校准曲线，工作曲线图如图 2 ~ 16 所示。线性方程、线性范围和相关系数见表 2。

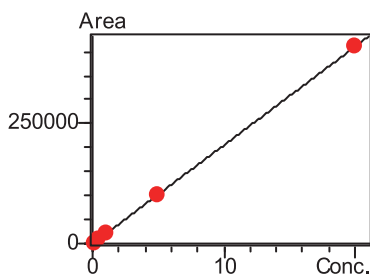


图 2 磺胺胍标准工作曲线

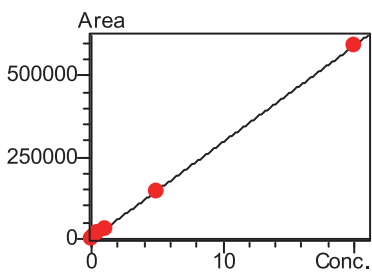


图 3 磺胺醋酸标准工作曲线

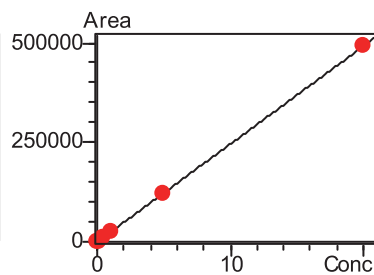


图 4 磺胺嘧啶标准工作曲线

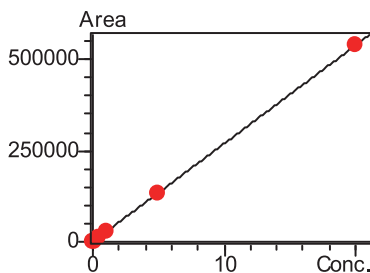


图 5 磺胺噻唑标准工作曲线

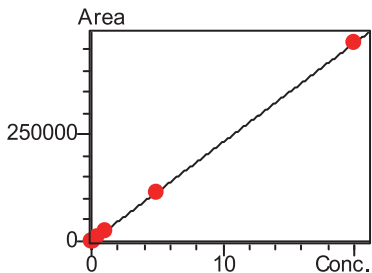


图 6 磺胺吡啶标准工作曲线

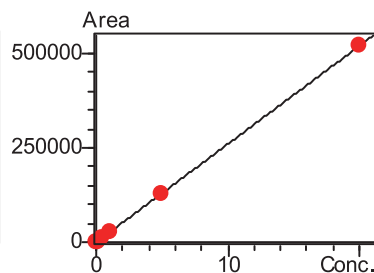


图 7 磺胺甲基嘧啶标准工作曲线

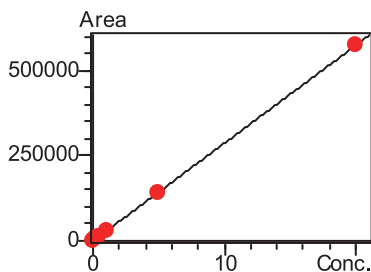


图 8 磺胺甲噻二唑标准工作曲线

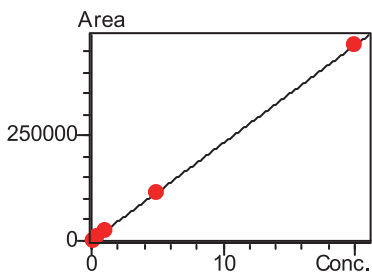


图 9 磺胺二甲嘧啶标准工作曲线

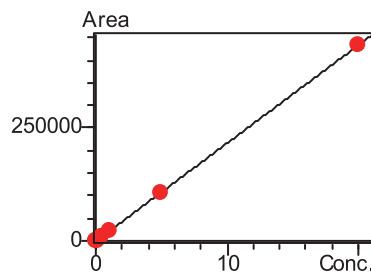


图 10 磺胺甲氧哒嗪标准工作曲线

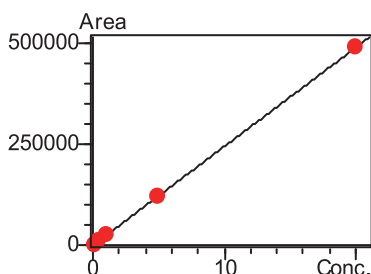


图 11 磺胺氯哒嗪标准工作曲线

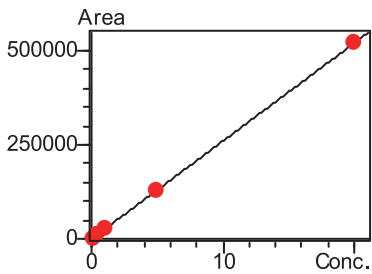


图 12 磺胺甲噁唑标准工作曲线

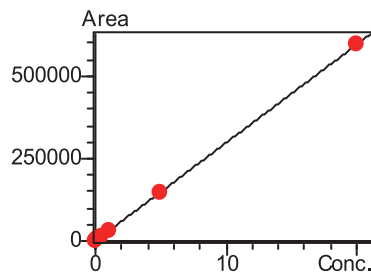


图 13 磺胺多辛标准工作曲线

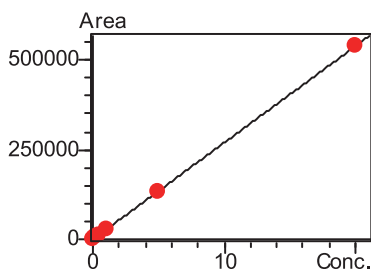


图 14 磺胺间二甲氧嘧啶标准工作曲线

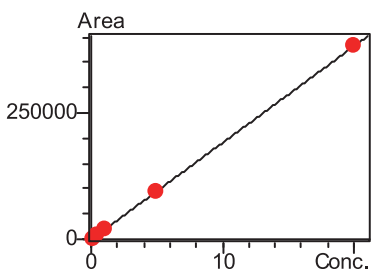


图 15 磺胺喹噁啉标准工作曲线

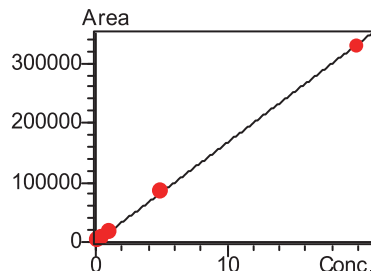


图 16 磺胺硝苯标准工作曲线

表 2 15 种物质的检出限、定量限和校准曲线参数

编号	名称	检出限(3 S/N)	定量限(10 S/N)	线性范围	校准曲线	相关系数R
1	磺胺胍	0.021 mg/L	0.072 mg/L	0.10 ~ 20 mg/L	$Y = (20526.5)X + (-407.642)$	0.9999
2	磺胺醋酸	0.012 mg/L	0.040 mg/L	0.05 ~ 20 mg/L	$Y = (29613.4)X + (184.290)$	0.9999
3	磺胺嘧啶	0.015 mg/L	0.050 mg/L	0.05 ~ 20 mg/L	$Y = (24602.2)X + (-128.296)$	0.9999
4	磺胺噻唑	0.014 mg/L	0.048 mg/L	0.05 ~ 20 mg/L	$Y = (26934.4)X + (4.02946)$	0.9999
5	磺胺吡啶	0.018 mg/L	0.059 mg/L	0.10 ~ 20 mg/L	$Y = (23248.5)X + (-221.930)$	0.9999
6	磺胺甲基嘧啶	0.015 mg/L	0.049 mg/L	0.05 ~ 20 mg/L	$Y = (26054.2)X + (-236.266)$	0.9999
7	磺胺甲噻二唑	0.015 mg/L	0.049 mg/L	0.05 ~ 20 mg/L	$Y = (28778.2)X + (-135.256)$	0.9999
8	磺胺二甲嘧啶	0.021 mg/L	0.070 mg/L	0.10 ~ 20 mg/L	$Y = (23732.4)X + (-4.85810)$	0.9999
9	磺胺甲氧哒嗪	0.023 mg/L	0.076 mg/L	0.10 ~ 20 mg/L	$Y = (21656.9)X + (-383.992)$	0.9999
10	磺胺氯哒嗪	0.024 mg/L	0.080 mg/L	0.10 ~ 20 mg/L	$Y = (24448.2)X + (-458.056)$	0.9999
11	磺胺甲噁唑	0.021 mg/L	0.069 mg/L	0.10 ~ 20 mg/L	$Y = (26038.2)X + (-241.027)$	0.9999
12	磺胺多辛	0.015 mg/L	0.049 mg/L	0.05 ~ 20 mg/L	$Y = (29778.9)X + (116.466)$	0.9999
13	磺胺间二甲氧嘧啶	0.013 mg/L	0.043 mg/L	0.05 ~ 20 mg/L	$Y = (26931.7)X + (-53.9714)$	0.9999
14	磺胺喹噁啉	0.019 mg/L	0.062 mg/L	0.10 ~ 20 mg/L	$Y = (19135.8)X + (-613.150)$	0.9999
15	磺胺硝苯	0.019 mg/L	0.062 mg/L	0.10 ~ 20 mg/L	$Y = (16617.5)X + (172.961)$	0.9999

2.3 精密度实验

配制如表 3 浓度的混合标液，平行进样 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 ~ 0.26% 和 0.53 ~ 2.79% 之间，仪器精密度良好。

表 3 保留时间和峰面积重复性结果(n=6)

No.	名称	RSD% (0.1 mg/L)		RSD% (1 mg/L)		RSD% (10 mg/L)	
		R.T	Area	R.T	Area	R.T	Area
1	磺胺胍	0.24	1.65	0.26	0.68	0.09	0.96
2	磺胺醋酸	0.12	1.33	0.12	0.91	0.09	0.96
3	磺胺嘧啶	0.09	1.21	0.10	0.57	0.08	1.04
4	磺胺噻唑	0.07	2.24	0.08	0.78	0.07	1.04
5	磺胺吡啶	0.07	1.35	0.07	0.81	0.06	1.02
6	磺胺甲基嘧啶	0.04	1.70	0.07	0.99	0.06	0.85
7	磺胺甲噻二唑	0.06	2.55	0.06	0.81	0.07	1.02
8	磺胺二甲嘧啶	0.06	2.39	0.05	0.58	0.06	1.04
9	磺胺甲氧吡嗪	0.08	2.56	0.05	0.81	0.07	0.85
10	磺胺氯吡嗪	0.03	2.79	0.04	1.06	0.08	1.07
11	磺胺甲噁唑	0.04	1.58	0.04	0.96	0.08	0.53
12	磺胺多辛	0.03	1.90	0.03	0.77	0.04	0.98
13	磺胺间二甲氧嘧啶	0.03	1.64	0.03	0.65	0.02	1.09
14	磺胺喹噁啉	0.02	2.49	0.03	1.23	0.02	0.68
15	磺胺硝苯	0.01	1.98	0.03	1.20	0.02	0.68

2.4 基质加标实验

按照 1.3 中样品制备方法，在样品中添加混合标样，加标含量如表 4，各平行 4 次。测试结果显示：水状样的加标回收率 73.5 ~ 99.5% 之间，乳液样的加标回收率在 71.5 ~ 101.5% 之间；具结果如表 4。两种基体（水状样品和乳液状样品）与基体加标的色谱图 17~20 所示。

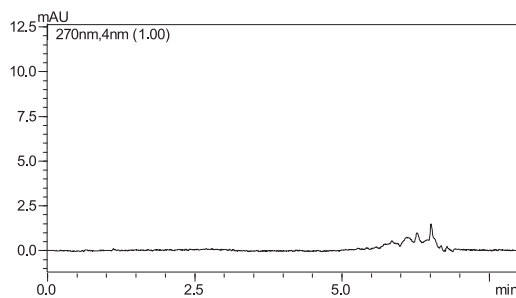


图 17 水状样品的色谱图

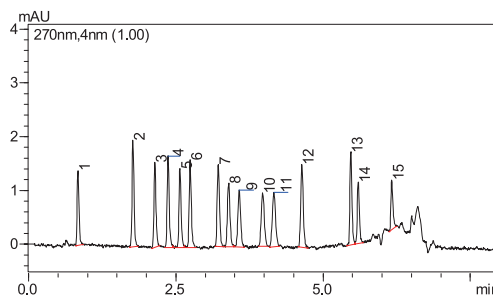


图 18 水状样的加标色谱图 (0.8 mg/kg)

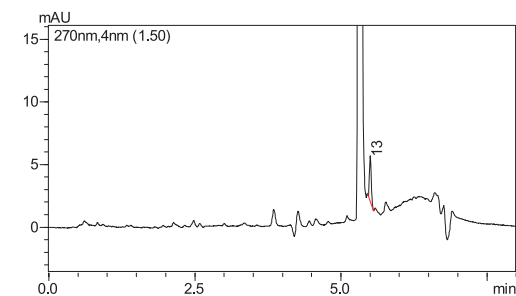


图 19 乳液状样品的色谱图

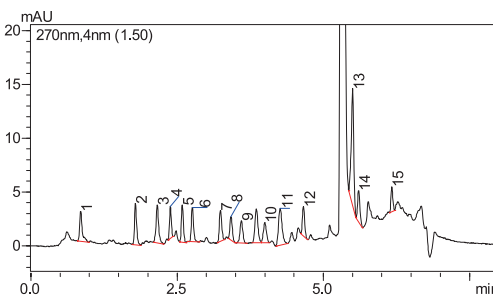


图 20 乳液状样的加标色谱图 (0.8 mg/kg)

表 4 加标样的回收率结果(n=4)

No.	样品名称	水状样浓度(mg/kg)	水状样的加标回收率(%)			乳液样浓度(mg/kg)	乳液样的加标回收率(%)		
			0.8 mg/kg	4 mg/kg	40 mg/kg		0.8 mg/kg	4 mg/kg	40 mg/kg
1	磺胺胍	ND	87.5	86.0	97.2	ND	83.0	92.1	101.1
2	磺胺醋酸	ND	77.5	86.7	98.6	ND	84.0	86.6	98.7
3	磺胺嘧啶	ND	86.0	86.9	99.5	ND	76.5	93.8	100.3
4	磺胺噻唑	ND	78.0	85.3	96.0	ND	79.5	82.1	101.3
5	磺胺吡啶	ND	83.0	87.2	98.9	ND	80.0	81.9	101.7
6	磺胺甲基嘧啶	ND	84.5	86.6	98.1	ND	71.5	80.3	99.1
7	磺胺甲噻二唑	ND	81.0	86.6	98.1	ND	85.0	79.0	100.5
8	磺胺二甲嘧啶	ND	85.0	86.4	98.2	ND	72.5	87.5	101.3
9	磺胺甲氧哒嗪	ND	90.5	87.0	99.4	ND	77.0	80.9	101.5
10	磺胺氯哒嗪	ND	83.5	86.5	98.9	ND	86.5	83.3	98.3
11	磺胺甲噁唑	ND	79.0	86.7	97.8	ND	95.0	85.1	97.9
12	磺胺多辛	ND	78.0	86.9	98.8	ND	73.0	81.3	101.4
13	磺胺间二甲氧嘧啶	ND	83.0	86.3	97.4	1.876	72.0	90.8	107.2
14	磺胺喹噁啉	ND	96.0	85.9	99.0	ND	86.0	87.9	98.0
15	磺胺硝苯	ND	73.5	77.8	78.7	ND	87.0	92.2	100.4

注：ND 表示未检出

结论

使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 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）。这 15 种物质的线性良好，相关系数均大于 0.9999。15 种物质的检出限在 0.013 ~ 0.024 mg/L 之间，定量限在 0.040 ~ 0.08 mg/L 之间；基质加标回收率在 71.5 ~ 107.2% 之间。