

超高效液相色谱-串联质谱法同时测定化妆品中 100 种糖皮质激素

沈丹丹¹, 官珊珊¹, 姜博海¹, 李悦忱¹, 薛恒跃¹,

于本涛¹, 柯亦梵², 李志远³, 毛希琴^{1*}

(1. 大连市药品检验检测院, 辽宁 大连 116021; 2. 东疆海事局, 天津 300461;

3. 上海爱博才思分析仪器贸易有限公司, 北京 100015)

摘要:我国《化妆品安全技术规范》(2015 年版)规定糖皮质激素为化妆品中禁用原料。本论文建立了超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)同时检测化妆品中 100 种非法添加糖皮质激素的分析方法,涵盖了现行国家标准 GB/T 24800.2-2009/GB/T 40145-2021 和《化妆品安全技术规范》(2015 年版)中列出的 58 种糖皮质激素,以及 42 种新型糖皮质激素,其中包含 2 种迄今未见文献报道的糖皮质激素美替诺龙酯和地塞米松 9,11-环氧。样品用含 0.2% (v/v) 乙酸的饱和氯化钠溶液分散,用含 0.2% (v/v) 乙酸的乙腈提取,向乙腈提取液中加入等体积水析出非极性杂质,再加入 10% (质量分数) 亚铁氰化钾溶液和 20% (质量分数) 乙酸锌溶液(含 0.4% (v/v) 乙酸)作为沉淀剂进一步净化,选用 Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 色谱柱(150 mm×3.0 mm, 1.7 μm)进行色谱分离,以 0.2% (v/v) 乙酸水溶液-0.2% (v/v) 乙酸甲醇溶液为流动相梯度洗脱。在电喷雾正离子模式下以动态多反应监测方式(MRM)测定,外标法定量。以 MRM-信息依赖采集-增强子离子扫描模式(MRM-IDA-EPI)得到的增强子离子质谱图(EPI)进行阳性样品确证。结果显示:100 种糖皮质激素在 2.5~60 ng/mL 范围内具有良好的线性关系,相关系数均大于 0.99,除环索奈德在膏霜乳基质中出现基质抑制效应以外,其余 99 种糖皮质激素均无明显的基质效应。所有目标物的方法检出限和定量限分别为 0.03 μg/g 和 0.1 μg/g。在 3 个不同的添加水平下(1 倍、2 倍和 8 倍定量限),水基质中目标化合物的回收率为 79.6%~114.4%, RSD 为 0.7%~9.4% (n=6),膏霜乳基质中目标化合物的回收率为 79.5%~112.1%, RSD 为 0.7%~12.9% (n=6)。筛查了 47 种实际样品,在 3 个阳性样品中检出了 5 种糖皮质激素,并用 MRM-IDA-EPI 进行了确证。本检测方法操作简便、高效,适用于化妆品中 100 种糖皮质激素的快速筛查和测定,可填补化妆品中糖皮质激素的监管空白,为化妆品的质量监管提供了有力的技术手段。

关键词:超高效液相色谱-串联质谱;糖皮质激素;化妆品;非法添加

中图分类号:O658

文献标识码:A

Simultaneous determination of 100 glucocorticoids in cosmetics using ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

SHEN Dandan¹, GONG Shanshan¹, JIANG Bohai¹, LI Yuechen¹,

XUE Hengyue¹, YU Bentao¹, KE Yifan², LI Zhiyuan³, MAO Xiqin^{1*}

(1. Dalian Institute for Drug Control, Dalian 116021, China;

2. Dongjiang Maritime Safety Administration, Tianjin 300461, China;

3. Shanghai AB Sciex Analytical Instrument Trading Co., Ltd., Beijing 100015, China)

Abstract: Adding glucocorticoids to cosmetics is strictly prohibited under Safety and Technical Specification for Cosmetics (2015) regulations. Accordingly, a method for simultaneously determining 100 glucocorticoids in cosmetics using ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) was developed. Apart from the 58 glucocorticoids listed in the two current national standards (GB/T 24800.2-2009 and GB/T 40145-2021) and the

收稿日期:2024-03-20

* 通讯联系人.Tel: (0411) 84255288, E-mail: maoxiqin@sina.com.

基金项目:大连市标准化资助奖励基金(2020 年).

Foundation item: Dalian Municipal Government Support Award Fund for Standardization (2020).

Safety and Technical Specification for Cosmetics (2015) regulations, 42 new glucocorticoids, including unreported metenolone acetate and dexamethasone 9,11-epoxide, were included in this method. Samples were dispersed in saturated sodium chloride containing 0.2% (v/v) acetic acid, and extracted with acetonitrile containing 0.2% (v/v) acetic acid. After that, an equal volume of water was added to the acetonitrile extraction solution to precipitate non-polar impurities. The solution was subsequently further purified using 10% (mass fraction) potassium ferrocyanide solution and 20% (mass fraction) zinc acetate solution containing 0.4% (v/v) acetic acid as precipitants. The sample solution was finally loaded onto a Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈ column (150 mm × 3.0 mm, 1.7 μm) and gradient-eluted using aqueous and methanolic 0.2% (v/v) acetic acid solutions as mobile phases. The target compounds exhibited highly intense signals in positive electrospray-ionization mode. All compounds were analyzed in multiple reaction monitoring mode (MRM) and quantified using the external standard method. Rimexolone and hydrocortisone hemisuccinate hydrate exhibited peaks corresponding to their $[M-H_2O+H]^+$ base ions, whereas the other 98 glucocorticoids exhibited $[M+H]^+$ peaks. All positive samples were confirmed by their automated MRM-based information dependent acquisition (IDA) enhanced product ions (EPIs). Highly sensitive secondary mass spectra were acquired when EPI mode was combined with IDA and when target compounds in positive samples were located in MRM mode, with compounds further confirmed by matching their secondary mass spectra with those of the corresponding standard glucocorticoids using the Library Search function in SCIEX OS software.

Matrix effects (MEs) were investigated in water- and cream-based cosmetics by adding standard compounds to the extracted-matrix solutions. Ciclesonide exhibited no obvious matrix effect with a ME of 3.4% in the water-based matrix whereas it exhibited a serious inhibitory effect with a ME of 30.6% in the cream-based matrix. The remaining 99 target compounds exhibited MEs of -7.9%–12.4%, which are not significant because they are below 15%, further confirming that the sample-pretreatment method is effective and feasible. Therefore, ciclesonide in a cream-based matrix was quantified using a matrix-matched standard curve, while the others were quantified using solvent standard curves. The 100 glucocorticoids exhibited good linearities with correlation coefficients (r) of >0.99 in the range of 2.5–60 ng/mL. The limits of detection (LODs) and limits of quantification (LOQs) of this method were 0.03 and 0.1 μg/g, respectively. Recovery tests were performed at three spiked levels, namely one-, two-, and eight-times the LOQs. The 100 compounds exhibited recoveries of 79.6%–114.4% with relative standard deviations (RSDs) of 0.7%–9.4% ($n=6$) in water-based cosmetics; in comparison, they exhibited recoveries of 79.5%–112.1% with RSDs of 0.7%–12.9% ($n=6$) in cream-based cosmetics. Three cream-based positive samples were identified among 47 batches of cosmetics samples (including 25 batches of cream and lotion-based cosmetics, and 22 batches of water-based cosmetics), with quantitative analysis revealing five positive compounds: triamcinolone acetonide (115.1 μg/g), triamcinolone acetonide 21-acetate (0.6

引用本文: 沈丹丹, 宫珊珊, 姜博海, 李悦忱, 薛恒跃, 于本涛, 柯亦梵, 李志远, 毛希琴. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定化妆品中 100 种糖皮质激素. 色谱, 2024, 42(12): 1153–1163.

SHEN Dandan, GONG Shanshan, JIANG Bohai, LI Yuechen, XUE Hengyue, YU Bentao, KE Yifan, LI Zhiyuan, MAO Xiqin. Simultaneous determination of 100 glucocorticoids in cosmetics using ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Chinese Journal of Chromatography, 2024, 42(12): 1153–1163.

$\mu\text{g/g}$), clobetasol propionate ($24.5 \mu\text{g/g}$), dexamethasone ($2.7 \mu\text{g/g}$), and dexamethasone-17-acetate ($210.3 \mu\text{g/g}$). These five compounds were further confirmed using MRM-IDA-EPI. The secondary mass spectra of the five compounds showed high matching degrees ($>96\%$) with those of the corresponding standard glucocorticoids in the library database.

In conclusion, the method developed in this study is simple, practical, inexpensive, highly efficient, and suitable for qualitatively and quantitatively screening and analyzing 100 glucocorticoids in cosmetics, thereby filling supervisory gaps and greatly improving the detectability of glucocorticoids illegally added to cosmetics.

Key words: ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS); glucocorticoid; cosmetic; illegally added

糖皮质激素可降低皮肤毛细血管的通透性,减少渗出和细胞浸润,具有抗炎、抗过敏、免疫抑制、抗增生等作用,临床上应用非常广泛。使用非法添加糖皮质激素的化妆品短时间内可使皮肤出现光滑、白嫩的假象,美容效果显著,在利益驱使下化妆品中非法添加糖皮质激素的案例时有发生^[1,2]。2021 年 1 月至 2024 年 2 月,国家药品监督管理局官网上《国家药监局关于化妆品检出禁用原料的通告》^[3,4]中涉及糖皮质激素的不合格化妆品共 26 批,其中 2 批为儿童化妆品,检出量为 $0.14\sim 287 \mu\text{g/g}$,不合格产品多宣称具有祛痘、修护、祛斑、抗皱的功效,包括水类、膏霜乳类、凝胶类、面膜类。据报道使用糖皮质激素 4 周以上会出现皮肤依赖反应,一旦停用就会缺水、起皮、毛细血管暴露,真菌感染率升高,进而引起继发性的皮肤炎症性疾病,治疗难度很大,对消费者健康造成严重伤害。

《化妆品安全技术规范》(2015 年版)^[5]将糖皮质激素列为化妆品禁用组分,并规定了 50 种糖皮质激素的检测方法,另有国家标准 GB/T 24800.2-2009^[6]和 GB/T 40145-2021^[7]分别规定了 41 种和 11 种糖皮质激素的检测方法,3 个法定检验方法共涵盖糖皮质激素 58 种。现有法定标准检测方法均为靶向检测,靶向检测的缺点是无法检测靶标以外的物质。糖皮质激素是一类结构非常容易改造的化合物,经过结构改造的糖皮质激素处于监管盲区,很难被发现,在化妆品中检出法定标准检验范围之外的糖皮质激素的案例已有多篇文献报道^[8-10],以此逃避监管的行为已经实际存在,说明糖皮质激素的法定标准检验已经存在严重风险,亟需开发更高通量糖皮质激素检测方法填补漏洞,作为打击糖皮质激素违法添加行为的有力武器。

目前糖皮质激素的检测方法多为液相色谱-串

联质谱法(LC-MS/MS)^[9-14]和液相色谱-高分辨质谱法(LC-HRMS)^[15-20],因高分辨质谱设备昂贵,LC-HRMS 的普及率不如低分辨的 LC-MS/MS,目前化妆品中糖皮质激素的法定标准检验方法均为 LC-MS/MS 和薄层色谱法。赵倩茹等^[10]、马亮波等^[11]、罗辉泰等^[12]、刘红等^[13]分别报道了 83 种、42 种、81 种和 73 种糖皮质激素的检测方法,目前已见方法报道的糖皮质激素种类已达 90 余种。化妆品样品前处理形式多样,包括溶剂萃取^[10]、液液萃取^[6,14,19,21]、固相萃取^[11,13,17]、QuEChERS 净化技术^[12,14,21]、在线净化^[18]等技术,色谱柱主要使用 C_{18} 色谱柱^[5-7,11,13,15-19]和 PFP 色谱柱^[10,12,14,20]。

为了填补化妆品中糖皮质激素的监管空白,为化妆品中糖皮质激素非法添加提供更高效率的检测方法和更有力的监管手段,本文通过优化化妆品样品前处理方法(双液相萃取、加沉淀剂、加水、加酸)、液相色谱条件(流动相、色谱柱、洗脱梯度)和质谱条件(母离子、子离子、碰撞能等质谱参数),建立了一种化妆品中 100 种糖皮质激素同时测定的方法,方法涵盖当前法定标准检验方法中的 58 种糖皮质激素,增加了 42 种新型糖皮质激素,包括 2 种未见于公开文献资料中的糖皮质激素:美替诺龙醋酸酯和地塞米松 9,11-环氧。

1 实验部分

1.1 仪器、试剂与材料

AB Sciex QTRAP 5500+液相色谱-质谱联用仪(美国 AB SCIEX 公司); IKA MS3 型多管旋涡混合仪(德国 IKA 公司); CF16RXII 型高速离心机(日本 HITACHI 公司)。

100 种糖皮质激素对照品,纯度均大于 95%,分别购自中国食品药品检定研究院、美国药典委员会、

加拿大 TRC 公司、德国 Dr. Ehrenstorfer 公司、中国 CATO 公司、中国阿拉丁公司、中国曼哈格公司、中国阿尔塔公司和中国北欣景溢公司。

甲醇(质谱级,瑞典 OCEANPAK 公司);乙腈(质谱级,美国 Merck 公司);乙酸(质谱级,美国 Fisher 公司);氯化钠、乙酸锌和亚铁氰化钾(优级纯,天津市光复科技发展有限公司);实验用水为屈臣氏蒸馏制法饮用水。

滤膜:孔径为 0.22 μm 的有机滤膜。

1.2 样品前处理

准确称取 0.25 g 样品(精确至 0.001 g)于 10 mL 具塞刻度离心管中,先加入 4 mL 含 0.2% (v/v) 乙酸的饱和氯化钠溶液(经乙腈饱和后使用)涡旋混匀后,再加入 5 mL 含 0.2% (v/v) 乙酸的乙腈,充分涡旋 1 min 后于 5 000 r/min 离心 10 min。移取上层清液至 10 mL 离心管中,加入含 0.2% (v/v) 乙酸的水约 4 mL,加入 10% (质量分数) 亚铁氰化钾溶液和 20% (质量分数) 乙酸锌溶液(含 0.4% (v/v) 乙酸)各 0.25 mL,加入含 0.2% (v/v) 乙酸的水定容至 10 mL,摇匀,充分涡旋 1 min,于 10 000 r/min 离心 5 min,经滤膜过滤,弃去初滤液 1 mL,取续滤液转入进样瓶中待测。

1.3 标准溶液的配制

储备液:分别准确称取 100 种糖皮质激素标准物质(精确至 0.000 1 g) 10 mg 至 10 mL 棕色容量瓶中,用甲醇定容至刻度,配制质量浓度为 1.0 mg/mL 的储备液,于-20 ℃冷冻保存。

混合标准中间液:分别准确移取糖皮质激素的

标准储备液适量,用乙腈定容,配制质量浓度为 1 μg/mL 的混合标准中间液。

混合标准工作溶液:准确移取混合标准中间液 25、100、200、400、600 μL 至 10 mL 容量瓶中,用含 0.2% (v/v) 乙酸的 50% (v/v) 乙腈水溶液定容至刻度,配制质量浓度分别为 2.5、10、20、40、60 ng/mL 的混合标准工作溶液。

基质标准工作溶液的配制:准确称取与待测样基质相近的空白基质 0.25 g,移取混合标准中间液 25、100、200、400、600 μL 至 10 mL 容量瓶中,按 1.2 节处理,得到质量浓度分别是 2.5、10、20、40、60 ng/mL 的基质标准工作溶液。

1.4 分析条件

色谱柱:Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 色谱柱(150 mm×3.0 mm, 1.7 μm);流动相 A: 0.2% (v/v) 乙酸水溶液;流动相 B: 0.2% (v/v) 乙酸甲醇溶液;流速:0.4 mL/min;进样量:5 μL;柱温:40 ℃;梯度洗脱程序:0~2 min, 70% A~60% A; 2~8 min, 60% A~50% A; 8~11 min, 50% A; 11~20 min, 50% A~35% A; 20~26 min, 35% A~5% A; 26~31 min, 5% A; 31~31.1 min, 5% A~70% A; 31.1~35 min, 70% A。

离子源:电喷雾电离源(ESI 源);扫描方式:正离子扫描;检测方式:多反应监测(MRM)模式;气帘气(CUR): 240 kPa;碰撞气(CAD): 60 kPa;离子源电压:5 500 V;温度:550 ℃; Gas1(喷雾气): 380 kPa; Gas2(辅助加热气): 410 kPa。其他质谱参数见表 1。

表 1 100 种糖皮质激素的 CAS 号、保留时间及质谱参数
Table 1 CAS numbers, retention times and MS parameters of the 100 glucocorticoids

No.	Compound	CAS No.	Parent ion (<i>m/z</i>)	Product ions (<i>m/z</i>)	<i>t</i> _R / min	Declustering potential/V	Collision energies/V
1	deprodone (迪普罗酮)	20423-99-8	327.2	147.1 [*] /171.1	16.53	110	33/33
2	medryson (甲羟松)	2668-66-8	345.2	327.3 [*] /135.2	24.09	100	20/27
3	methenolone acetate (美替诺龙醋酸酯)	434-05-9	345.3	187.2 [*] /303.4	26.77	125	30/25
4	cortexolone (脱氧可的松)	152-58-9	347.3	108.9 [*] /97.0	18.19	126	45/47
5	rimexolone (瑞美松龙)	49697-38-3	353.2	121.1 [*] /173.1	25.85	100	45/31
6	prednisone (泼尼松)	53-03-2	359.2	341.2 [*] /147.2	11.35	80	15/35
7	cortisone (可的松)	53-06-5	361.2	163.2 [*] /121.1	11.89	80	34/47
8	prednisolone (泼尼松龙)	50-24-8	361.2	343.2 [*] /147.2	13.71	80	14/34
9	hydrocortisone (氢化可的松)	50-23-7	363.2	121.1 [*] /105.0	13.68	80	31/68
10	meprednisone (甲基泼尼松)	1247-42-3	373.2	355.2 [*] /147.1	16.53	70	17/31
11	dexamethasone 9,11-epoxide (地塞米松 9,11-环氧)	24916-90-3	373.1	355.3 [*] /337.3	17.79	90	17/16
12	methylprednisolone (甲基泼尼松龙)	83-43-2	375.2	357.1 [*] /161.1	18.02	66	14/28
13	16α-hydroxyprednisolone (16α-羟基泼尼松龙)	13951-70-7	377.2	359.2 [*] /147.1	9.41	70	17/30
14	6α-methyl hydrocortisone (6α-甲基氢化可的松)	1625-39-4	377.3	341.4 [*] /323.3	18.12	130	24/25

表 1 (续)
Table 1 (Continued)

No.	Compound	CAS No.	Parent ion (<i>m/z</i>)	Product ions (<i>m/z</i>)	<i>t_R</i> / min	Declustering potential/V	Collision energies/V
15	fluorometholone (氟米龙)	426-13-1	377.2	279.3 [*] /321.3	19.21	80	22/18
16	fluocortolone (氟可龙)	152-97-6	377.2	121.0 [*] /147.0	19.93	70	41/32
17	desoximetasone (去羟米松)	382-67-2	377.2	171.0 [*] /147.0	20.17	70	29/28
18	isoflupredone (异氟泼尼松)	338-95-4	379.3	359.2 [*] /341.2	12.39	90	14/18
19	fluprednisolone (氟泼尼龙)	53-34-9	379.1	341.3 [*] /323.2	12.68	95	16/17
20	fludrocortisone (氟氢可的松)	127-31-1	381.1	239.2 [*] /181.2	12.98	150	35/40
21	deflazacort (21-去乙酰基地夫可特)	13649-88-2	384.2	126.1 [*] /147.1	19.20	120	43/38
22	betamethasone base (倍他米松)	378-44-9	393.2	355.0 [*] /146.8	17.25	56	18/37
23	dexamethasone (地塞米松)	50-02-2	393.2	355.0 [*] /146.8	17.43	53	17/40
24	paramethasone (帕拉米松)	53-33-8	393.2	337.2 [*] /171.1	17.76	80	16/34
25	cloprednol (氯泼尼醇)	5251-34-3	393.2	205.0 [*] /271.1	20.11	80	32/25
26	triamcinolone (曲安西龙)	124-94-7	395.2	357.2 [*] /225.1	8.56	52	20/27
27	6α-fluoro-isoflupredone (6α-氟-异氟泼尼龙)	806-29-1	397.2	253.1 [*] /263.1	11.42	80	24/29
28	prednisone 21-acetate (泼尼松醋酸酯)	125-10-0	401.2	295.2 [*] /147.2	17.89	80	23/39
29	prednisolone-21-acetate (泼尼松龙醋酸酯)	52-21-1	403.3	307.2 [*] /367.3	18.20	85	20/15
30	cortisone acetate (可的松醋酸酯)	50-04-4	403.3	163.3 [*] /343.3	18.23	140	35/27
31	hydrocortisone acetate (氢化可的松醋酸酯)	50-03-3	405.3	309.2 [*] /120.8	18.17	80	25/24
32	beclomethasone (倍氯米松)	4419-39-0	409.2	147.1 [*] /279.1	18.15	106	39/41
33	diflorasone (双氟拉松)	2557-49-5	411.2	253.1 [*] /235.1	16.17	80	29/37
34	flumethasone (氟米松)	2135-17-3	411.3	253.2 [*] /121.0	16.43	80	22/50
35	clobetasol (氯倍他索)	25122-41-2	411.2	373.3 [*] /390.9	21.24	90	20/15
36	meprednisone acetate (甲泼尼松醋酸酯)	1106-03-2	415.1	327.2 [*] /147.1	21.01	120	22/34
37	desonide (地索奈德)	638-94-8	417.2	323.3 [*] /225.1	19.17	80	17/30
38	methylprednisolone acetate (甲基泼尼松龙醋酸酯)	53-36-1	417.2	253.2 [*] /399.2	21.49	80	28/28
39	16α-hydroxyprednisolone acetate (16α-羟基泼尼松龙醋酸酯)	86401-80-1	419.2	401.2 [*] /323.1	13.21	90	17/18
40	eflone (氟米龙醋酸酯)	3801-06-7	419.3	279.2 [*] /321.2	21.72	80	20/19
41	isoflupredone acetate (异氟泼尼松醋酸酯)	338-98-7	421.2	401.3 [*] /383.3	17.24	90	13/16
42	fludrocortisone acetate (氟氢可的松醋酸酯)	514-36-3	423.4	239.2 [*] /343.2	17.79	170	35/30
43	mometasone (莫美他松)	105102-22-5	427.2	409.3 [*] /237.4	22.03	100	17/35
44	budesonide (布地奈德)	51333-22-3	431.2	413.2 [*] /147.1	23.73	40	15/33
45	hydrocortisone-17-butyrate (氢化可的松丁酸酯)	13609-67-1	433.3	345.0 [*] /120.8	22.96	80	22/23
46	triamcinolone acetonide (曲安奈德)	76-25-5	435.3	415.3 [*] /357.2	18.08	100	15/20
47	flunisolide (氟尼缩松)	3385-03-3	435.2	321.2 [*] /397.1	18.94	80	18/19
48	betamethasone 21-acetate (倍他米松醋酸酯)	987-24-6	435.3	337.0 [*] /309.0	20.77	80	15/15
49	dexamethasone-17-acetate (地塞米松醋酸酯)	1177-87-3	435.3	337.0 [*] /309.0	21.26	80	17/15
50	paramethasone acetate (帕拉米松醋酸酯)	1597-82-6	435.2	319.1 [*] /171.1	21.47	75	19/40
51	flurandrenolide (氟氢缩松)	1524-88-5	437.3	361.2 [*] /285.2	19.38	80	24/29
52	9-fluoro-16α,17-(isopropylidenedioxy)corticosterone (氢化曲安奈德)	1524-86-3	437.2	341.1 [*] /283.1	19.70	120	30/36
53	deflazacort (地夫可特)	14484-47-0	442.3	123.9 [*] /141.9	20.72	80	45/65
54	halometasone (卤美他松)	50629-82-8	445.2	154.8 [*] /287.0	18.61	80	45/34
55	prednisolone 21-trimethylacetate (泼尼松龙戊酸酯)	1107-99-9	445.3	427.2 [*] /307.2	24.94	90	18/25
56	cortisol 17-valerate (氢化可的松戊酸酯)	57524-89-7	447.3	345.3 [*] /121.1	24.50	80	19/39
57	betamethasone 17-propionate (倍他米松丙酸酯)	5534-13-4	449.2	355.2 [*] /279.2	22.93	90	16/24
58	fluocinolone acetonide (氟轻松)	67-73-2	453.2	337.1 [*] /121.0	18.30	80	21/46
59	flumethasone-17-acetate (双氟美松醋酸酯)	2823-42-9	453.1	253.2 [*] /335.3	20.34	110	25/20
60	halcinonide (哈西奈德)	3093-35-4	455.3	377.3 [*] /341.2	24.58	170	33/33
61	desonide 21-acetate (21-醋酸地索奈德)	25092-25-5	459.3	441.3 [*] /323.1	23.90	100	16/23
62	prednisolone tebutate (泼尼松龙丁醋酸酯)	7681-14-3	459.3	441.2 [*] /307.2	25.65	90	16/27
63	prednisolone succinate (泼尼松龙半琥珀酸酯)	2920-86-7	461.2	307.2 [*] /147.1	17.37	80	22/37

表 1 (续)
Table 1 (Continued)

No.	Compound	CAS No.	Parent ion (<i>m/z</i>)	Product ions (<i>m/z</i>)	<i>t_R</i> / min	Declustering potential/V	Collision energies/V
64	hydrocortisone (醋丙氢可的松)	74050-20-7	461.2	387.2 [*] /309.3	23.21	80	15/26
65	fluocortolone pivalate (氟可龙特戊酸酯)	29205-06-9	461.3	443.4 [*] /321.2	26.14	110	17/20
66	hydrocortisone hemisuccinate hydrate (氢化可的松琥珀酸酯)	83784-20-7	463.3	327.2 [*] /309.3	17.33	145	23/25
67	tixocortol pivalate (替可的松特戊酸酯)	55560-96-8	463.2	343.2 [*] /361.2	25.17	80	26/25
68	clobetasol propionate (氯倍他索丙酸酯)	25122-46-7	467.2	373.2 [*] /355.2	24.55	80	18/13
69	loteprednol (氯替泼诺)	82034-46-6	467.2	359.1 [*] /265.1	24.65	80	26/17
70	methylprednisolone aceponate (甲基泼尼松龙乙丙酸酯)	86401-95-8	473.3	455.2 [*] /381.2	24.40	90	16/17
71	methylprednisolone hemisuccinate (甲基泼尼松龙琥珀酸酯)	2921-57-5	475	457.0 [*] /339.0	20.67	80	14/17
72	triamcinolone acetonide 21-acetate (曲安奈德醋酸酯)	3870-07-3	477.2	339.2 [*] /321.2	23.31	80	22/23
73	dexamethasone valerate (地塞米松戊酸酯)	33755-46-3	477.3	355.2 [*] /279.2	24.61	90	16/26
74	betamethasone 17-valerate (倍他米松戊酸酯)	2152-44-5	477.2	355.3 [*] /279.3	25.23	80	18/24
75	dexamethasone 21-pivalate (地塞米松特戊酸酯)	1926-94-9	477.3	355.1 [*] /337.1	25.69	100	20/20
76	triamcinolone diacetate (曲安西龙双醋酸酯)	67-78-7	479.2	441.2 [*] /321.1	15.12	81	14/19
77	clobetasone butyrate (氯倍他松丁酸酯)	25122-57-0	479.3	343.2 [*] /279.2	25.36	86	24/24
78	diflucortolone valerate (双氟可龙戊酸酯)	59198-70-8	479.2	375.3 [*] /439.4	26.05	80	18/17
79	fluocinonide 22 methyl homologue (醋酸氟轻松 22-甲基同系物)	51333-59-6	481.2	441.2 [*] /253.1	21.56/ 21.87	90	21/30
80	halobetasol propionate (卤倍他索丙酸酯)	66852-54-8	485.2	391.2 [*] /353.1	24.34	80	17/20
81	prednisolone valerate acetate (泼尼松龙醋酸戊酸酯)	72064-79-0	487.2	367.3 [*] /469.3	25.28	120	18/14
82	hydrocortisone cypionate (氢化可的松环戊丙酸酯)	508-99-6	487.6	327.3 [*] /309.3	26.74	170	27/29
83	prednicarbate (泼尼卡酯)	73771-04-7	489.2	381.3 [*] /115.1	24.77	80	16/25
84	hydrocortisone butyrate propionate (丙丁酸氢化可的松)	72590-77-3	489.4	401.4 [*] /327.3	25.48	120	20/30
85	diflorasone diacetate (二氟拉松双醋酸酯)	33564-31-7	495.3	317.1 [*] /307.3	23.09	110	20/25
86	fluocinonide (氟轻松醋酸酯)	356-12-7	495.3	455.4 [*] /319.3	23.30	120	20/22
87	flumethasone 21-pivalate (氟米松特戊酸酯)	2002-29-1	495.4	477.4 [*] /373.3	25.31	110	15/20
88	clocortolone pivalate (氯可托龙特戊酸酯)	34097-16-0	495.3	477.4 [*] /457.3	26.43	110	16/20
89	betamethasone benzoate (苯甲酸倍他米松)	22298-29-9	497.3	355.3 [*] /337.2	25.55	100	16/20
90	dexamethasone isonicotinate (地塞米松异烟酸酯)	2265-64-7	498.3	478.4 [*] /460.4	23.33	110	21/25
91	fluticasone propionate (氟替卡松丙酸酯)	80474-14-2	501.2	313.2 [*] /293.2	24.68	80	22/20
92	amcinonide (安西奈德)	51022-69-6	503.4	483.3 [*] /399.3	25.28	105	14/17
93	betamethasone 17,21-dipropionate (倍他米松双丙酸酯)	5593-20-4	505.3	319.2 [*] /279.1	25.51	71	20/35
94	difluprednate (双氟泼尼酯)	23674-86-4	509.2	303.3 [*] /279.3	23.66	110	22/22
95	betamethasone butyrate propionate (倍他米松丁酸丙酸酯)	5534-02-1	519.4	411.2 [*] /319.3	26.17	110	18/25
96	alclometasone dipropionate (阿氯米松双丙酸酯)	66734-13-2	521.4	503.3 [*] /319.2	24.38	105	13/20
97	mometasone furoate (莫米他松糠酸酯)	83919-23-7	521.3	503.2 [*] /355.2	24.63	100	17/24
98	beclomethasone dipropionate (倍氯米松双丙酸酯)	5534-09-8	521.1	503.2 [*] /319.2	25.95	80	16/23
99	triamcinolone hexacetone (己曲安奈德)	5611-51-8	533.3	415.2 [*] /397.2	26.97	90	22/23
100	ciclesonide(环索奈德)	126544-47-6	541.4	523.4 [*] /305.3	28.49	115	18/28

* Quantitative ion.

2 结果与讨论

2.1 样品前处理条件的优化

2.1.1 初步提取

取水基质和膏霜乳基质样品考察前处理条件。根据 GB/T 24800. 2-2009^[6] 及文献[6,14,19,21], 考虑到化妆品样品的分散性以及目标化合物的溶解性,对液体(水)类、膏霜乳类化妆品,我们采用饱和氯化钠溶液进行分散后加入乙腈进行提取的方法。饱和氯化钠溶液可脱除水溶性成分,同时有很好的

破乳效果,还能有效减少提取体系的乳化效应,减少待测物在水相中的溶解度,从而提高萃取效率。这种饱和氯化钠/乙腈双液相体系还可脱除表面活性剂类成分(分布于双液相界面),而表面活性剂类成分的存在会严重影响目标化合物的离子化效率,脱除此类成分对提高方法的灵敏度至关重要。

2.1.2 加水脱除非极性强的杂质

乙腈提取溶液中仍存在化妆品中蜡基、油脂类等非极性强的成分,会影响色谱柱的使用寿命,干扰目标化合物的检测,需要脱除。有文献使用正己烷

脱脂^[5-7]、QuEChERS^[12,14,21]、固相萃取^[11,13,17]等方式净化提取液。正己烷易挥发且对健康和环境有害;QuEChERS 成本较高;固相萃取步骤多,效率较低,结果不易平行。按照 GB/T 24800.2-2009 中的固相萃取条件,以混合标准溶液进行预实验,14 种待测物回收率($n=2$)低于 80%,如下:环索奈德(38%)、16 α -羟基泼尼松龙(39%)、泼尼松龙半琥珀酸酯(43%)、氢化可的松琥珀酸酯(45%)、曲安西龙(50%)、呋曲安奈德(51%)、甲基泼尼松龙琥珀酸酯(59%)、曲安西龙环氧化物(64%)、己曲安奈德(70%)、氢化可的松环戊丙酸酯(72%)、美替诺龙醋酸酯(75%)、氢化可的松(75%)、泼尼松龙(76%)、氟泼尼龙(76%)。考虑到向乙腈中加入水,可增加溶液的极性,非极性的蜡基、油脂类成分会析出而被脱除,同时可以消除色谱的溶剂效应。我们向乙腈提取液中加入等体积的水,实验结果显示,乙腈提取溶液中加入水后,有大量沉淀(非极性强的蜡基、油脂类成分)析出。

2.1.3 加入沉淀剂和乙酸

参考 GB/T 24800.2-2009^[6] 的样品前处理方法,用亚铁氰化钾溶液和乙酸锌溶液作为絮凝沉淀剂可有效脱除增稠剂等大分子物质,实验证明加入絮凝沉淀剂后的待测液更容易过滤,证实方法有很好的除杂效果。空白加标样品经饱和氯化钠溶液进行分散后,加入乙腈进行提取,再向乙腈提取液中加入等体积的水及亚铁氰化钾溶液和乙酸锌溶液,处理后发现,泼尼松龙半琥珀酸酯、氢化可的松琥珀酸酯、甲基泼尼松龙琥珀酸酯回收率仅为 70% 左右,考虑到化合物可能因为被沉淀吸附而丢失,尝试通过向提取液中加入酸降低吸附作用提高回收率。实验结果显示,在提取过程中向饱和盐水和乙腈中加入 0.2% 乙酸后,以上 3 种目标化合物的回收率均提高至 92% 以上。为此我们确定了如 1.2 节所述的样品前处理步骤。

2.2 液相色谱-质谱条件优化

2.2.1 色谱柱的选择

本方法包含 15 组同分异构体,还有一些待测物不是同分异构体,但母离子相同,可能产生相同的子离子,需依靠保留时间来进行定性,为此选择合适的色谱柱是获得良好分离度的关键。文献报道通常使用对苯基化合物有特异选择性的 PFP 色谱柱及常规 C₁₈ 色谱柱对糖皮质激素进行分离。我们考察了实验室常用的有良好分离性能的 4 种色谱柱对 100

种待测物的分离效率。在 Agilent Poroshell 120 PFP(150 mm×3.0 mm, 2.7 μ m) 色谱柱上地塞米松戊酸酯和地塞米松特戊酸酯、氟米松特戊酸酯和氟轻松醋酸酯较难分离。在 Waters CORTECS T3 C₁₈(100 mm×2.1 mm, 2.7 μ m) 和 Agilent Eclipse Plus C₁₈ RRHD(100 mm×2.1 mm, 1.8 μ m) 柱上,异氟泼尼松和氟泼尼龙、地塞米松和帕拉米松较难分离。

Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 色谱柱(150 mm×3.0 mm, 1.7 μ m) 对前述两组同分异构体的分离效果较好,在该色谱柱上,同分异构体泼尼松龙醋酸酯和可的松醋酸酯的保留时间接近,易造成混淆,选择具有特异性的子离子(泼尼松龙醋酸酯 307.2/367.3、可的松醋酸酯 163.3/343.3),通过离子丰度比可以初步区分,通过 MRM-信息依赖采集-增强子离子扫描模式(MRM-IDA-EPI)得到二者的二级质谱图(见图 1),可准确分辨泼尼松龙醋酸酯和可的松醋酸酯。

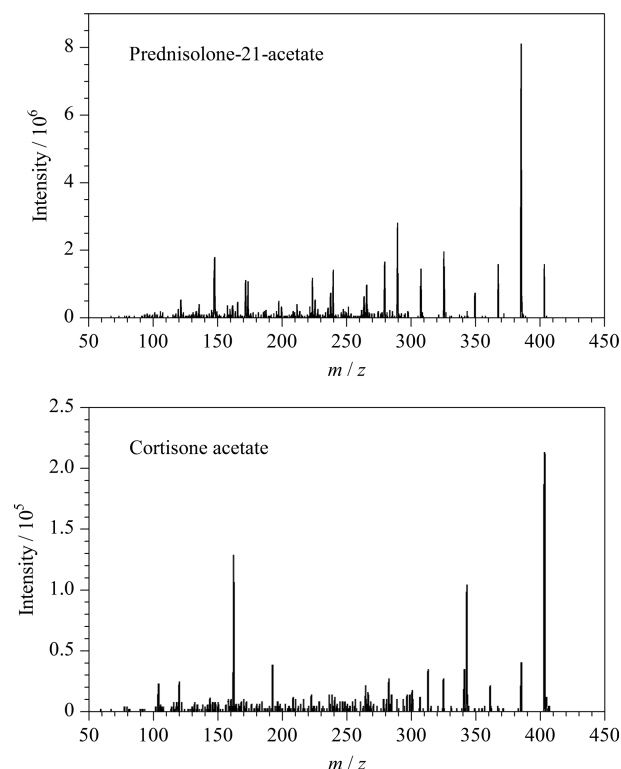


图 1 (a) 泼尼松龙醋酸酯和(b) 可的松醋酸酯的二级质谱图
Fig. 1 Secondary mass spectra of (a) prednisolone-21-acetate and (b) cortisone acetate

2.2.2 流动相的选择

我们比较了流动相 A 相(弱洗脱溶剂)为水,而流动相 B 相(强洗脱溶剂)分别采用甲醇、乙腈和甲

醇-乙腈(1:1,v/v),梯度洗脱对 15 组同分异构体目标化合物色谱分离行为的影响。重点考察较难分离的 4 组同分异构体(氟泼尼龙和异氟泼尼龙、倍他米松和地塞米松和帕拉米松、氟米龙和氟可龙、二氟拉松双醋酸酯和氟轻松醋酸酯),结果表明,甲醇作为流动相 B 相可获得较好的分离度,最终选择甲醇溶液作为强洗脱溶剂。

在质谱条件探索阶段发现,溶剂中不含氢离子时,部分待测物不能充分离子化而无法检测到母离子,需在流动相中添加酸性改性剂。流动相 A 和 B 中同时添加 0.1% (v/v) 甲酸和 0.1% (v/v)、0.2% (v/v) 乙酸,实验结果显示,添加 0.2% (v/v) 乙酸时,响应值最高。在 0.2% (v/v) 乙酸的水相中分别加入 0.5 mmol/L 乙酸铵和 5 mmol/L 乙酸铵,与不加乙酸铵相比,乙酸铵的加入对改善 4 组同分异构体的分离度没有帮助,且乙酸铵浓度越高,响应值越低。最后确定仅在流动相中添加 0.2% (v/v) 乙酸以获得更高的检测灵敏度。

2.2.3 质谱条件的优化

在正离子模式下,所有组分均有较高的响应。对待测物进行一级质谱扫描,瑞美松龙和氢化可的松琥珀酸酯的基峰离子为 $[M-H_2O+H]^+$,其他 98 种糖皮质激素均为 $[M+H]^+$ 。

对待测物进行二级质谱扫描,综合考虑排除基线干扰、同分异构体的定性区分等因素,选择响应相对较高的两个特征碎片,优化去簇电压(DP)和碰撞能量(CE),确定 MRM 测定参数。100 种糖皮质激素的总离子流色谱图见图 2。

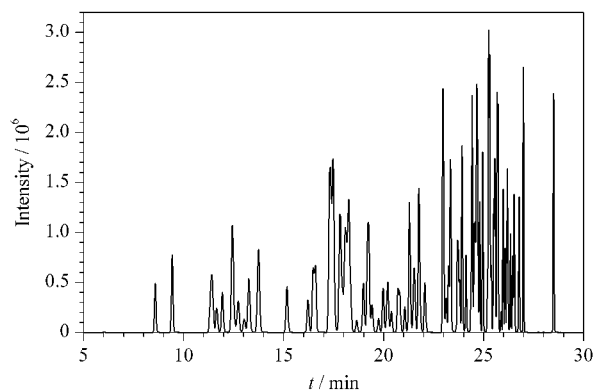


图 2 100 种糖皮质激素的总离子流色谱图
Fig. 2 Total ion current chromatogram of the 100 glucocorticoids

2.3 基质效应

采用提取后添加法配制基质标准溶液,对化妆

品中水基质、膏霜乳基质进行基质效应考察,按照公式 $ME = (1 - \text{基质标准曲线的斜率} / \text{溶剂标准曲线的斜率}) \times 100\%$ [12] 计算, $ME < 0$ 表示存在基质增强效应; $ME > 0$ 表示存在基质抑制效应。绝对值越大则基质效应越明显。结果显示,环索奈德的水基质 ME 为 3.4%,膏霜乳基质 ME 为 30.6%,膏霜乳基质对环索奈德有抑制效应。其余待测物 ME 为 $-7.9\% \sim 12.4\%$,99 种待测物的基质效应影响不明显,进一步证实了样品前处理方法有效可行。因此,膏霜乳基质中的环索奈德以基质标准曲线定量,膏霜乳基质中的其余 99 种组分和水基质中的全部 100 种组分以溶剂标准曲线定量。

2.4 方法学考察

2.4.1 线性范围、检出限和定量限

对混合标准工作溶液进行测定,以系列标准溶液质量浓度为横坐标(x)、定量离子峰面积为纵坐标(y)进行线性回归分析。研究结果表明:各目标化合物在 2.5~60 ng/mL 范围内具有良好的线性关系,相关系数均大于 0.99,详见表 2。

100 种目标化合物在质量浓度为 2.5 ng/mL 时定量及定性离子对的信噪比在 13~700 范围内。虽然不同化合物的质谱响应相差较大,但在标准方法起草过程中通常会综合考虑各种因素,如仪器设备的品牌、型号、仪器状态均会影响化合物的质谱响应,还需要考虑实际应用时化合物的可能浓度以及监管的实际意义,为方便起见一般会在满足质谱响应最低的目标化合物的基础上将检出限、定量限指标统一到一个数值。本文参考《化妆品安全技术规范》[5]和 GB/T 24800.2-2009[6],最终确定所有目标化合物的方法定量限为 0.1 $\mu\text{g/g}$,方法检出限为 0.03 $\mu\text{g/g}$,定量质量浓度为 2.5 ng/mL,检出质量浓度为 0.8 ng/mL。

2.4.2 方法回收率及准确度

向不含目标物的水、膏霜乳基质中定量添加目标化合物的标准溶液(3 个水平:定量限、2 倍定量限和 8 倍定量限),进行加标回收试验,平行测定 6 次,结果见表 2。水基质中目标物的回收率为 79.6%~114.4%,RSD 为 0.7%~9.4% ($n=6$),膏霜乳基质中目标物的回收率为 79.5%~112.1%,RSD 为 0.7%~12.9% ($n=6$)。

2.5 样品筛查

对市售 47 份化妆品样品(其中膏霜乳 25 份、爽肤水 22 份)进行了糖皮质激素的定性和定量分析。

表 2 100 种糖皮质激素的线性方程、相关系数、回收率和精密度
Table 2 Linear equations, correlation coefficients (*r*), recoveries and precisions of the 100 glucocorticoids

Compound No.	Linear equation	<i>r</i>	Water-based (<i>n</i> = 6)		Cream-based (<i>n</i> = 6)	
			Recoveries * /%	RSDs * /%	Recoveries * /%	RSDs * /%
1	$y = 1.12 \times 10^4 x + 2.65 \times 10^3$	0.9984	88.6, 111.7, 103.5	5.6, 2.8, 2.5	90.9, 100.6, 94.5	5.5, 6.4, 5.7
2	$y = 5.40 \times 10^4 x + 2.03 \times 10^3$	0.9994	86.3, 108.0, 94.4	5.7, 3.6, 2.8	98.9, 105.7, 102.2	2.8, 3.0, 1.5
3	$y = 7.26 \times 10^4 x + 5.57 \times 10^3$	0.9998	86.5, 105.6, 99.2	6.1, 3.1, 3.0	91.4, 98.4, 94.4	3.3, 3.1, 1.5
4	$y = 3.58 \times 10^4 x + 2.13 \times 10^4$	0.9965	87.1, 109.7, 104.3	4.8, 2.3, 2.0	89.6, 107.5, 105.6	4.7, 2.9, 2.2
5	$y = 9.95 \times 10^3 x + 6.46 \times 10^2$	0.9977	84.8, 106.7, 94.7	6.3, 4.6, 2.9	99.3, 101.1, 99.5	8.3, 6.7, 2.6
6	$y = 4.29 \times 10^4 x + 2.14 \times 10^3$	0.9994	97.9, 106.4, 106.2	5.2, 2.9, 1.5	93.0, 98.1, 105.6	3.2, 1.8, 3.4
7	$y = 4.83 \times 10^4 x + 1.07 \times 10^2$	0.9994	92.3, 105.5, 103.5	5.3, 3.2, 1.8	88.5, 99.6, 98.4	3.8, 3.5, 2.4
8	$y = 8.82 \times 10^4 x + 8.19 \times 10^3$	0.9989	93.0, 106.4, 102.7	6.8, 2.5, 1.7	86.0, 99.8, 99.9	4.1, 4.1, 2.8
9	$y = 2.34 \times 10^4 x + 2.37 \times 10^3$	0.9985	91.7, 106.3, 102.6	7.2, 3.4, 2.3	84.5, 101.6, 100.1	3.9, 3.8, 2.9
10	$y = 5.35 \times 10^4 x + 7.73 \times 10^3$	0.9992	93.9, 111.0, 102.1	5.8, 2.4, 2.6	84.6, 103.2, 93.0	9.2, 3.2, 7.1
11	$y = 3.79 \times 10^4 x + 1.27 \times 10^4$	0.9981	92.7, 112.8, 105.9	4.3, 1.5, 1.4	87.3, 105.5, 107.4	7.2, 3.9, 1.4
12	$y = 8.62 \times 10^4 x + 3.55 \times 10^3$	0.9985	94.4, 106.6, 102.5	7.8, 3.6, 2.2	96.0, 104.7, 105.2	6.0, 3.3, 2.1
13	$y = 7.41 \times 10^4 x + 0.96 \times 10^2$	0.9996	94.9, 94.0, 97.7	5.8, 3.5, 1.9	86.2, 79.5, 91.7	2.9, 6.2, 1.8
14	$y = 1.52 \times 10^4 x + 1.00 \times 10^4$	0.9970	82.7, 103.8, 102.0	8.5, 4.0, 3.0	91.1, 107.5, 107.4	9.3, 3.9, 3.8
15	$y = 4.95 \times 10^4 x + 1.68 \times 10^4$	0.9981	87.1, 112.7, 100.0	5.5, 1.6, 1.2	94.6, 110.3, 104.8	2.0, 2.3, 1.7
16	$y = 1.23 \times 10^4 x + 1.19 \times 10^2$	0.9998	92.9, 108.6, 102.4	6.2, 1.9, 2.3	95.4, 105.9, 103.0	4.4, 2.4, 2.0
17	$y = 1.82 \times 10^4 x + 7.94 \times 10^2$	0.9998	91.8, 103.9, 101.3	6.1, 2.6, 2.1	98.2, 102.5, 104.5	2.4, 1.9, 1.1
18	$y = 6.87 \times 10^4 x - 2.60 \times 10^3$	0.9997	100.5, 104.4, 107.3	4.6, 1.9, 1.8	94.3, 98.2, 105.4	3.2, 3.1, 2.3
19	$y = 1.90 \times 10^4 x - 1.99 \times 10^3$	0.9996	96.9, 105.5, 107.2	5.6, 3.1, 2.4	93.4, 99.0, 106.1	3.6, 1.7, 2.6
20	$y = 1.39 \times 10^4 x - 1.47 \times 10^3$	0.9999	99.2, 100.1, 106.8	6.4, 3.4, 1.5	93.8, 91.5, 106.2	3.7, 3.1, 2.6
21	$y = 4.39 \times 10^4 x + 1.26 \times 10^4$	0.9984	84.8, 107.6, 95.0	4.3, 0.9, 2.8	101.3, 103.4, 101.6	3.0, 2.6, 1.9
22	$y = 3.35 \times 10^4 x + 8.91 \times 10^3$	0.9975	92.1, 107.1, 105.4	6.0, 4.0, 2.5	97.6, 102.6, 105.2	7.1, 3.8, 1.6
23	$y = 7.12 \times 10^4 x + 1.64 \times 10^4$	0.9978	91.7, 109.1, 103.9	6.1, 3.7, 2.3	93.1, 105.8, 104.9	6.6, 3.9, 2.0
24	$y = 4.38 \times 10^4 x + 7.62 \times 10^3$	0.9984	98.4, 109.4, 107.0	6.3, 4.2, 2.5	96.8, 102.1, 107.8	5.8, 2.2, 2.4
25	$y = 9.84 \times 10^3 x - 1.97 \times 10^3$	0.9994	94.0, 107.3, 98.8	4.4, 3.7, 2.2	91.8, 102.6, 101.3	5.1, 2.8, 1.2
26	$y = 4.27 \times 10^4 x - 4.32 \times 10^3$	0.9995	93.5, 96.6, 99.8	5.2, 1.8, 1.8	90.7, 88.9, 101.5	3.3, 2.8, 1.4
27	$y = 2.92 \times 10^4 x + 1.44 \times 10^3$	0.9991	96.9, 106.6, 105.6	5.3, 2.0, 1.9	94.5, 100.7, 107.1	4.1, 2.7, 2.2
28	$y = 3.47 \times 10^4 x + 2.50 \times 10^3$	0.9990	86.9, 108.2, 97.5	4.3, 2.1, 2.1	93.7, 102.1, 100.1	4.7, 2.8, 2.4
29	$y = 2.66 \times 10^4 x + 1.27 \times 10^4$	0.9971	85.9, 107.6, 100.8	6.0, 3.8, 1.7	93.8, 108.0, 103.4	4.4, 2.7, 1.9
30	$y = 4.07 \times 10^4 x + 1.63 \times 10^4$	0.9980	83.1, 108.2, 98.2	5.1, 2.2, 2.1	92.3, 104.0, 103.0	4.8, 2.6, 2.1
31	$y = 2.64 \times 10^4 x + 1.73 \times 10^4$	0.9937	80.5, 110.9, 100.0	7.6, 3.4, 1.8	91.9, 109.2, 104.0	3.6, 2.4, 1.7
32	$y = 7.75 \times 10^3 x + 4.87 \times 10^3$	0.9928	94.8, 98.0, 103.5	7.2, 4.9, 0.7	88.7, 109.3, 106.6	6.5, 2.6, 1.7
33	$y = 1.28 \times 10^4 x - 7.76 \times 10^2$	0.9996	92.6, 103.3, 102.0	4.2, 2.4, 2.6	95.0, 104.2, 103.5	2.2, 2.1, 3.4
34	$y = 3.62 \times 10^4 x + 2.58 \times 10^3$	0.9992	94.2, 107.7, 101.5	6.1, 2.4, 3.5	84.1, 102.6, 92.8	12.0, 2.9, 12.9
35	$y = 5.73 \times 10^4 x + 9.50 \times 10^3$	0.9983	86.4, 109.6, 99.5	5.0, 2.2, 1.7	96.8, 107.2, 104.0	3.6, 2.3, 2.1
36	$y = 1.88 \times 10^4 x - 9.66 \times 10^2$	0.9997	85.9, 105.4, 92.1	6.2, 4.0, 2.4	88.2, 105.3, 100.8	5.1, 3.6, 2.2
37	$y = 4.73 \times 10^4 x + 1.13 \times 10^4$	0.9966	94.4, 111.1, 105.0	6.7, 2.2, 1.7	91.3, 103.9, 104.3	2.7, 1.4, 1.8
38	$y = 1.93 \times 10^4 x + 6.83 \times 10^2$	0.9989	87.5, 106.0, 98.2	5.5, 1.7, 2.8	104.5, 104.5, 105.5	5.7, 2.6, 1.8
39	$y = 6.78 \times 10^4 x - 2.80 \times 10^3$	0.9998	92.3, 102.0, 100.9	4.7, 1.9, 2.3	98.1, 98.3, 104.7	3.1, 2.5, 2.1
40	$y = 1.18 \times 10^5 x + 1.10 \times 10^4$	0.9990	87.4, 109.8, 98.2	6.3, 2.1, 1.6	98.2, 105.1, 102.4	3.5, 1.6, 2.1
41	$y = 5.26 \times 10^4 x + 1.30 \times 10^4$	0.9988	85.0, 109.6, 97.8	5.2, 2.2, 1.8	99.0, 106.8, 102.6	3.6, 2.1, 2.4
42	$y = 1.02 \times 10^4 x + 4.03 \times 10^3$	0.9957	84.1, 109.4, 98.0	8.5, 3.9, 1.6	105.8, 101.9, 103.4	7.4, 6.0, 1.8
43	$y = 5.53 \times 10^4 x + 7.11 \times 10^3$	0.9993	85.9, 107.5, 97.1	5.6, 2.4, 1.5	97.4, 108.7, 103.4	2.2, 2.8, 2.1
44	$y = 8.67 \times 10^4 x + 1.17 \times 10^3$	0.9995	86.1, 107.0, 93.6	5.8, 2.2, 2.1	96.9, 107.0, 100.5	4.3, 2.9, 2.4
45	$y = 4.99 \times 10^4 x + 1.40 \times 10^4$	0.9988	86.7, 105.1, 99.0	5.6, 2.8, 2.2	96.5, 106.9, 105.3	4.0, 3.3, 1.8
46	$y = 6.95 \times 10^4 x + 1.41 \times 10^4$	0.9967	87.9, 102.9, 98.9	5.4, 2.8, 2.0	94.6, 105.0, 107.3	3.4, 3.6, 1.7
47	$y = 4.45 \times 10^4 x - 2.78 \times 10^3$	0.9993	94.3, 108.6, 102.7	5.9, 2.4, 2.4	94.0, 102.4, 102.5	2.5, 1.2, 1.7
48	$y = 8.99 \times 10^3 x + 9.66 \times 10^2$	0.9996	83.6, 109.1, 96.8	6.4, 4.0, 1.8	95.5, 104.2, 102.8	5.7, 3.4, 1.4
49	$y = 1.75 \times 10^4 x + 1.81 \times 10^3$	0.9992	86.8, 105.9, 96.7	6.2, 2.3, 1.2	99.0, 105.8, 103.8	3.2, 5.6, 1.4
50	$y = 2.31 \times 10^4 x + 3.25 \times 10^3$	0.9996	87.1, 106.5, 98.7	6.6, 1.5, 1.4	98.3, 107.0, 104.3	5.1, 3.0, 1.3
51	$y = 1.68 \times 10^4 x - 1.52 \times 10^3$	0.9997	97.5, 106.8, 103.1	6.9, 3.7, 2.4	91.1, 102.3, 102.3	2.1, 2.8, 2.0

表 2 (续)
Table 2 (Continued)

Compound No.	Linear equation	<i>r</i>	Water-based (<i>n</i> =6)		Cream-based (<i>n</i> =6)	
			Recoveries [*] /%	RSDs [*] /%	Recoveries [*] /%	RSDs [*] /%
52	$y=1.07\times10^4x+1.17\times10^3$	0.9997	82.1, 104.0, 97.7	8.6, 1.7, 1.5	100.1, 98.4, 100.8	3.5, 4.3, 2.4
53	$y=1.09\times10^4x-2.33\times10^2$	0.9985	86.6, 105.3, 93.3	6.0, 2.2, 2.6	102.1, 104.6, 101.9	3.5, 3.4, 2.3
54	$y=1.13\times10^4x+8.04\times10^2$	0.9997	88.7, 105.2, 102.6	6.3, 2.6, 1.6	98.0, 99.1, 104.4	4.2, 4.0, 2.5
55	$y=1.07\times10^5x-1.45\times10^3$	0.9991	84.7, 107.1, 93.8	6.4, 1.5, 2.8	94.9, 107.8, 94.4	4.8, 2.3, 2.4
56	$y=6.49\times10^4x+4.88\times10^3$	0.9993	88.6, 107.6, 98.4	5.8, 3.6, 1.6	100.9, 101.2, 103.6	2.6, 3.3, 1.0
57	$y=1.56\times10^5x+4.83\times10^4$	0.9972	87.0, 109.7, 99.0	6.1, 2.2, 2.0	96.6, 108.1, 104.8	3.4, 1.4, 1.5
58	$y=3.00\times10^4x+3.92\times10^3$	0.9985	90.2, 108.4, 102.2	5.3, 2.6, 2.1	96.6, 103.3, 104.8	4.8, 4.3, 2.7
59	$y=1.62\times10^4x-3.42\times10^2$	0.9999	86.1, 105.6, 95.5	5.7, 2.6, 1.5	93.2, 105.8, 102.6	5.3, 1.8, 2.0
60	$y=8.93\times10^3x+1.77\times10^3$	0.9980	84.3, 108.4, 97.3	6.6, 4.8, 1.3	88.1, 108.2, 103.5	7.3, 4.4, 1.5
61	$y=1.29\times10^5x+1.79\times10^4$	0.9990	81.0, 104.6, 93.2	5.0, 2.7, 2.0	91.4, 106.8, 96.6	4.5, 1.4, 4.1
62	$y=1.09\times10^5x-1.83\times10^3$	0.9996	85.9, 109.2, 94.9	5.9, 3.6, 2.0	99.5, 106.8, 100.6	3.2, 3.0, 1.5
63	$y=2.12\times10^4x-2.68\times10^2$	0.9993	99.5, 110.5, 105.4	6.6, 2.3, 1.7	95.9, 108.7, 104.5	7.4, 3.1, 0.9
64	$y=3.88\times10^4x+2.89\times10^3$	0.9996	85.0, 106.9, 95.8	5.9, 2.9, 2.5	98.0, 103.8, 99.0	3.2, 3.5, 1.2
65	$y=3.23\times10^4x-0.37\times10^2$	0.9993	84.7, 107.8, 95.1	5.0, 2.2, 2.7	91.7, 101.2, 98.8	5.2, 2.3, 1.2
66	$y=2.73\times10^4x+3.01\times10^3$	0.9990	97.5, 108.6, 107.2	7.6, 2.3, 1.8	94.7, 106.6, 105.0	2.7, 2.6, 1.8
67	$y=1.79\times10^4x-1.80\times10^3$	0.9992	82.6, 107.4, 91.4	8.8, 3.0, 1.7	97.5, 104.5, 101.9	6.1, 3.4, 3.2
68	$y=4.98\times10^4x+1.08\times10^4$	0.9992	82.7, 108.8, 97.0	8.6, 2.9, 1.4	97.0, 104.0, 104.1	3.8, 3.6, 2.8
69	$y=5.12\times10^4x+9.36\times10^3$	0.9984	85.4, 110.6, 98.1	8.4, 4.0, 3.0	98.0, 111.4, 105.2	7.2, 3.0, 1.4
70	$y=9.26\times10^4x+2.56\times10^4$	0.9983	79.7, 106.4, 94.3	7.2, 2.5, 1.2	98.1, 106.2, 102.4	5.8, 3.8, 2.2
71	$y=2.87\times10^4x-3.48\times10^3$	0.9998	91.7, 104.4, 99.3	6.2, 3.1, 2.2	100.3, 107.3, 102.7	6.3, 4.5, 1.0
72	$y=4.68\times10^4x+8.92\times10^3$	0.9981	86.6, 108.3, 98.5	4.7, 2.6, 1.9	96.1, 107.7, 100.1	2.8, 3.5, 1.5
73	$y=4.24\times10^4x+5.47\times10^3$	0.9979	89.1, 111.5, 98.6	6.1, 0.9, 2.5	97.1, 108.5, 104.0	2.7, 2.6, 1.6
74	$y=8.01\times10^4x-3.76\times10^2$	0.9995	88.9, 106.7, 96.7	6.0, 1.5, 1.5	98.0, 106.2, 100.3	3.2, 1.6, 1.1
75	$y=5.82\times10^4x+4.28\times10^3$	0.9995	80.3, 105.9, 92.9	6.3, 4.9, 1.3	96.0, 107.2, 97.8	4.3, 1.9, 1.8
76	$y=5.12\times10^4x+4.08\times10^3$	0.9990	86.8, 106.8, 98.1	5.5, 2.0, 1.2	98.3, 101.9, 102.8	4.3, 2.7, 2.2
77	$y=3.08\times10^4x-3.61\times10^2$	0.9987	86.7, 105.8, 94.9	5.7, 2.3, 2.5	104.4, 106.1, 99.5	5.0, 3.9, 2.7
78	$y=3.49\times10^4x-2.10\times10^3$	0.9995	84.5, 109.1, 95.2	6.3, 1.3, 2.1	102.0, 105.6, 99.5	6.0, 2.8, 1.6
79	$y=2.68\times10^5x+1.67\times10^3$	0.9993	87.6, 107.3, 97.7	6.2, 3.5, 2.4	96.9, 104.3, 101.8	4.2, 2.7, 1.7
80	$y=2.15\times10^4x+2.52\times10^3$	0.9995	81.1, 108.7, 91.9	6.4, 4.5, 1.5	96.6, 106.0, 97.7	3.6, 1.9, 2.3
81	$y=6.34\times10^4x+2.53\times10^4$	0.9972	79.9, 110.3, 96.8	7.5, 2.0, 2.1	95.8, 110.0, 99.1	5.3, 3.2, 2.1
82	$y=1.83\times10^4x-2.41\times10^2$	0.9995	83.1, 107.1, 95.5	7.1, 1.9, 2.7	95.3, 102.2, 93.9	4.4, 5.7, 1.3
83	$y=8.21\times10^4x+2.05\times10^3$	0.9989	83.2, 103.8, 92.7	6.0, 5.6, 1.4	93.8, 102.7, 98.8	5.6, 3.7, 1.5
84	$y=6.38\times10^4x-4.05\times10^2$	0.9993	86.2, 108.9, 96.4	6.3, 4.8, 3.5	98.7, 106.5, 99.3	4.4, 3.1, 1.7
85	$y=2.97\times10^4x+4.26\times10^3$	0.9992	83.6, 107.8, 96.0	6.5, 2.8, 2.2	98.4, 107.6, 102.3	4.6, 2.1, 1.5
86	$y=1.58\times10^4x+4.51\times10^3$	0.9980	87.5, 113.8, 99.0	5.8, 1.3, 1.0	92.1, 112.1, 101.0	3.1, 3.4, 3.1
87	$y=1.45\times10^4x+6.08\times10^3$	0.9982	80.0, 112.0, 97.9	9.4, 2.7, 2.2	93.7, 107.1, 105.9	5.6, 5.1, 1.7
88	$y=3.36\times10^4x-0.79\times10^2$	0.9996	83.9, 107.1, 94.7	7.4, 3.8, 1.9	104.2, 109.5, 99.3	3.8, 3.0, 3.2
89	$y=7.14\times10^4x+2.47\times10^2$	0.9988	90.0, 108.8, 96.4	5.4, 2.7, 1.7	99.0, 107.0, 101.9	6.6, 2.5, 0.7
90	$y=6.94\times10^4x+1.85\times10^4$	0.9983	83.6, 101.6, 95.6	7.3, 1.7, 2.1	84.9, 94.3, 94.6	5.1, 2.4, 2.4
91	$y=4.77\times10^4x+6.96\times10^3$	0.9988	84.9, 109.2, 96.7	7.2, 1.6, 1.8	97.4, 106.8, 103.6	4.4, 3.3, 1.2
92	$y=6.10\times10^4x+2.75\times10^4$	0.9955	81.3, 114.4, 98.3	8.4, 2.7, 2.3	97.6, 111.7, 103.4	5.1, 3.2, 1.2
93	$y=2.81\times10^4x+3.21\times10^3$	0.9993	81.3, 107.2, 96.7	7.8, 5.4, 1.9	98.1, 104.7, 98.5	2.6, 2.2, 0.9
94	$y=3.83\times10^4x+8.97\times10^3$	0.9989	81.1, 100.2, 95.2	5.1, 0.9, 2.2	100.0, 107.9, 102.8	2.5, 2.0, 1.9
95	$y=7.20\times10^4x+1.10\times10^4$	0.9994	81.1, 105.3, 97.1	6.3, 2.1, 2.8	97.1, 105.2, 99.6	5.3, 2.0, 1.6
96	$y=1.95\times10^4x+5.24\times10^3$	0.9984	79.6, 106.1, 93.7	8.4, 2.4, 2.0	94.3, 107.9, 103.2	7.2, 3.3, 1.2
97	$y=4.78\times10^4x+1.76\times10^4$	0.9970	79.7, 110.4, 96.5	8.5, 3.4, 1.7	96.0, 111.6, 102.6	1.5, 0.9, 1.2
98	$y=8.82\times10^4x+9.81\times10^3$	0.9989	82.5, 105.4, 96.3	7.8, 2.1, 2.2	97.6, 105.2, 99.6	4.1, 2.3, 2.1
99	$y=1.15\times10^5x+9.19\times10^3$	0.9996	82.5, 108.6, 94.7	6.5, 2.9, 1.8	94.6, 105.0, 96.9	3.2, 1.7, 0.9
100	$y=1.65\times10^5x+3.65\times10^4$	0.9998	81.6, 105.9, 98.4	9.2, 2.2, 3.6	88.1, 100.0, 80.9	2.5, 1.2, 1.3

Nos. are the same as in Table 1. *y*: peak area; *x*: mass concentration, ng/mL. * Values from left to right represented the results of three spiked levels: 1, 2 and 8 times of LOQs.

在 3 份膏霜乳样品中检出 5 种糖皮质激素,对阳性样品进行两次独立测定,5 个目标物两次测定结果的相对偏差均小于 10%,含量平均值如下:曲安奈德 115.1 $\mu\text{g/g}$,曲安奈德醋酸酯 0.6 $\mu\text{g/g}$,氯倍他索丙酸酯 24.5 $\mu\text{g/g}$,地塞米松 2.7 $\mu\text{g/g}$,地塞米松醋酸酯 210.3 $\mu\text{g/g}$ 。按 1.4 节的色谱分析条件,通过 MRM-IDA-EPI 扫描模式进行确证,阳性样品溶液以 MRM 模式锁定符合表 1 中保留时间及定量离子对的疑似阳性目标物、通过 IDA 筛选功能触发 EPI 获得高灵敏度的二级图谱,经 SCIEX OS 软件的 Library Search 功能判定,与对照品溶液的 EPI 质谱图匹配度(Purity)均大于 96%。样品中发现的糖皮质激素均是法定标准检验方法涵盖的种类,新型糖皮质激素尚未发现。

3 结论

本文采用超高效液相色谱-串联质谱技术,在 30 min 内实现了化妆品中 100 种糖皮质激素的同时检测。样品前处理方法简单、有效。方法成本低,效率高,适用于化妆品中 100 种糖皮质激素的同时定性定量筛查分析,可填补化妆品中糖皮质激素的监管空白,大大提高监管能力,为化妆品的质量监管提供更有力的技术。

参考文献:

- [1] Liu H, Zhang J Y, Hu B, et al. Flavour Fragrance Cosmetics, 2020(4): 83
刘红,张静雅,胡贝,等.香料香精化妆品,2020(4): 83
- [2] Dong Y L, Qiao Y S, Huang C F, et al. Detergent & Cosmetics, 2020, 43(5): 28
董亚蕾,乔亚森,黄传峰,等.日用化学科学,2020, 43(5): 28
- [3] China Food and Drug Administration. Bulletin on the one Batch of Cosmetics Detected Prohibited Raw Materials (No. 54 in 2021). (2021-07-30) [2024-03-03]. <https://www.nmpa.gov.cn/xxgk/ggtg/hzhpggtg/hzhpchjgg/hzhpcjgij/20210730164533187.html>
国家食品药品监督管理总局.关于 1 批次化妆品检出禁用原料的通告(2021 年第 54 号). (2021-07-30) [2024-03-03]. <https://www.nmpa.gov.cn/xxgk/ggtg/hzhpggtg/hzhpchjgg/hzhpcjgij/20210730164533187.html>
- [4] China Food and Drug Administration. Bulletin on the three Batches of Cosmetics Detected Prohibited Raw Materials (No. 9 in 2024). (2024-02-04) [2024-03-03]. <https://www.nmpa.gov.cn/xxgk/ggtg/hzhpggtg/hzhpchjgg/hzhpcjgij/20240204152921101.html>
国家食品药品监督管理总局.关于 3 批次化妆品检出禁用原料的通告(2024 年第 9 号). (2024-02-04) [2024-03-03]. <https://www.nmpa.gov.cn/xxgk/ggtg/hzhpggtg/hzhpchjgg/hzhpcjgij/20240204152921101.html>

- hzhpcjgij/20240204152921101.html
- [5] State Food and Drug Administration. Safety and Technical Standard for Cosmetics (2015 Ed). Beijing: China Standard Press, 2015
国家食品药品监督管理总局.化妆品安全技术规范(2015 年版).北京:中国标准出版社,2015
- [6] GB/T 24800.2-2009
- [7] GB/T 40145-2021
- [8] Weng D H, Liu J, Jiang Q Q, et al. Flavour Fragrance Cosmetics, 2019(3): 45
翁东海,刘江,蒋清清,等.香料香精化妆品,2019(3): 45
- [9] Yang P P, Huang W, Li L X, et al. Chinese Journal of Chromatography, 2023, 41(3): 250
杨飘飘,黄伟,李丽霞,等.色谱,2023, 41(3): 250
- [10] Zhao Q R, Liu H, Meng Y P, et al. Chinese Journal of Chromatography, 2023, 41(12): 1084
赵倩茹,刘骅,孟雅萍,等.色谱,2023, 41(12): 1084
- [11] Ma L B, Sun Y, Zhu G F, et al. China Surfactant Detergent & Cosmetics, 2023, 53(7): 849
马亮波,孙宇,朱桂芳,等.日用化学工业,2023, 53(7): 849
- [12] Luo H T, Huang X L, Wu H Q, et al. Chinese Journal of Chromatography, 2017, 35(8): 816
罗辉泰,黄晓兰,吴惠勤,等.色谱,2017, 35(8): 816
- [13] Liu H, Yang P P, Li L X, et al. Journal of Instrumental Analysis, 2020, 39(9): 1112
刘红,杨飘飘,李丽霞,等.分析测试学报,2020, 39(9): 1112
- [14] Zhao Y, Wang T, Hua L, et al. Journal of Food Safety and Quality, 2019, 10(6): 1559
赵洋,王婷,华蕾,等.食品安全质量检测学报,2019, 10(6): 1559
- [15] He J W, Wen J X, Liu Y X, et al. Chinese Journal of Chromatography, 2022, 40(3): 253
何嘉雯,温家欣,刘亚雄,等.色谱,2022, 40(3): 253
- [16] Zhang Q Y, Yang H S, Shen M F, et al. Journal of Food Safety and Quality, 2020, 11(15): 5007
张秋云,杨洪生,沈美芳,等.食品安全质量检测学报,2020, 11(15): 5007
- [17] Li Y J, Zhao X L, Cen L Y, et al. Flavour Fragrance Cosmetics, 2018(1): 58
李杨杰,赵祥龙,岑立怡,等.香料香精化妆品,2018(1): 58
- [18] Xu Z D, Chen S B, Gao L, et al. Flavour Fragrance Cosmetics, 2019(5): 38
徐振东,陈少波,高玲,等.香料香精化妆品,2019(5): 38
- [19] Li H Y, Liu Y, Wang W, et al. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2020, 39(12): 1443
李红英,刘芸,汪薇,等.分析试验室,2020, 39(12): 1443
- [20] Luo H T, Huang X L, Wu H Q, et al. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2017, 45(9): 1381
罗辉泰,黄晓兰,吴惠勤,等.分析化学,2017, 45(9): 1381
- [21] Fan X L, Wu W Q, Huang K, et al. Journal of Food Safety and Quality, 2021, 12(1): 86
范小龙,吴婉琴,黄坤,等.食品安全质量检测学报,2021, 12(1): 86