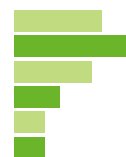




制药化妆品行业检测解决方案

PreeKem
屹尧科技



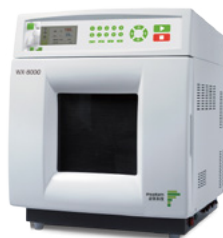


无机样品前处理系列

微波消解仪—适用于重金属及汞、砷等有害物质元素检测



TOPEX 全能型微波化学工作平台



WX-8000 专家型密闭微波消解仪



COOLPEX 灵动型微波化学反应仪

有机样品前处理系列

适用于农药残留、兽药残留、食品添加剂、药物及司法检测



EXTRA 全自动固相萃取仪



N1 全自动氮吹浓缩仪



FLEXI-ONE 凝胶净化色谱仪



从无到有
开启样品前处理智能化时代



全自动固相萃取—高效液相色谱法 检测化妆品中的2种糖皮质激素类药物

ID DRT1518001

1 引言

随着我国人民生活水平的提高，化妆品已成为必不可少的消费品之一，同时化妆品的安全性也成为关注度日益增长的话题。化妆品中添加的一些化学物质可能对人体健康具有潜在的危害。糖皮质激素类药物是一类临床常用药，具有调节糖、脂肪和蛋白质生物合成和代谢的作用，可抑制纤维细胞增生，减少5-羟色胺形成，有抗炎、抗过敏等作用，其对皮肤有一定的嫩白作用。但如长期使用含此类激素的化妆品，通过皮肤的吸收可能引起全身的副作用，导致皮肤变薄、血糖升高、向心性肥胖、高血压、骨质疏松、生长发育迟缓、免疫功能下降而诱发或加重感染等。我国《化妆品卫生规范》及欧盟化妆品规程中均明确规定糖皮质激素为化妆品中的禁用物质。

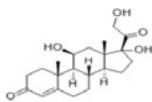
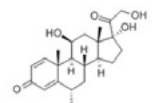
本文参考《GB/T 24800.2-2009 化妆品中四十一中糖皮质激素的测定 液相色谱 / 串联质谱法和薄层层析法》，建立了利用全自动固相萃取仪（EXTRA）结合

高效液相色谱—串联质谱联用（High Performance Liquid Chromatography–Triple Quad Mass Spectrometry，HPLC–MS/MS）检测糖皮质激素类药物在霜状化妆品中残留量的方法。2种糖皮质激素类药物的CAS号及分子结构式等信息见表1。在乙腈提取后，选用EXTRA全自动固相萃取仪，自动完成SPE柱活化、样品上样、淋洗、目标物洗脱和收集等步骤，收集液再经氮吹浓缩、溶剂转换、定容后，用HPLC–MS/MS检测。



图1 EXTRA 全自动固相萃取仪

表 1 2 种糖皮质激素类药物的中文名称、英文名称、CAS 号、分子式及分子结构式

中文名称	英文名称	CAS	分子式	分子结构式
氢化可的松	Hydrocortisone	50-23-7	$C_{21}H_{30}O_5$	
甲基泼尼松龙	Methylprednisolone	83-43-2	$C_{22}H_{30}O_5$	

2 试剂、仪器及器材

综上所述，TOPEX 全功能型微波化学工作平台配合 KJ-100 超高压转子，可以实时监测反应罐内的温度变化并控制，同时压力传感器可以实时测量反应罐的压力并可实现超限压控，确保整个消解过程安全精准运行，可以满足客户测试泊沙康唑辅料样品的需求。

2.1 试剂

乙腈、甲醇、甲酸：色谱纯级；

定容试剂：取 50 mL 甲醇、50 mL 水混合均匀；

含 0.1% 甲酸的乙腈溶液：

取 100 μ L 甲酸、100 mL 乙腈混合均匀；

100 μ g/mL 糖皮质激素类药物标准储备液：

分别准确称取标准品 1 mg，于 10 mL 容量瓶中，用甲醇溶解并稀释至刻度，配制成浓度为 100 μ g/mL 的磺胺类标准储备液， -20°C 以下保存；

基质标准工作曲线溶液：吸取适量糖皮质激素类标准工作液，用空白样品提取液配成 0.05 μ g/mL、

0.10 μ g/mL、0.20 μ g/mL、0.40 μ g/mL、0.80 μ g/mL 不同浓度的基质标准工作曲线溶液。

实验用水均为超纯水（电导率 = $18\text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$ ），取自 Milli-Q 制水机（Millipore, USA）。

2.2 仪器及器材

固相萃取柱：

HLB, 60 mg / 3 mL，上海安谱公司；

全自动固相萃取仪：

EXTRA，上海屹尧仪器科技发展有限公司；

高效液相色谱串联质谱联用仪：

Agilent 1290 infinity- 6490 Triple Quad MS；

0.22 μ m 有机滤膜；

分析天平；

旋涡混合仪；

超声波清洗仪；

离心机；

氮吹仪；

移液枪；

50 mL 离心管；

玻璃滴管；

收集管；

样品管；

实验中所用玻璃器皿使用前均经 450°C 高温灼烧 4 h 后冷却备用。

3 实验方法

3.1 提取

称取 (0.20 ± 0.01) g 样品，置于 50 mL 离心管中，加入 3 mL 饱和食盐水，于旋涡混合仪上混匀 1 min，使膏体均匀分散。准确加入 2 mL 含 0.1% 甲酸的乙腈溶液，振荡提取 10 min，以 4000 r/min 离心 10 min，将上层清液收集于烧杯中，样品残渣再加入 2 mL 含 0.1% 甲酸的乙腈溶液，重复萃取操作，合并提取液，加入 20 mL 水，涡旋使混合均匀，取 10 mL 于进样管，待净化。

3.1.2 净化

HLB 固相萃取柱依次用 5 mL 甲醇、10 mL 水活化，取备用液过柱，流速 1 mL/min，待样品流尽后，用 10 mL 10% 的乙腈水溶液淋洗固相萃取柱，待淋洗液流尽后，吹干小柱，用 4 mL 甲醇洗脱，收集洗脱液。

表 2 全自动固相萃取仪检测化妆品中的糖皮质激素类药物的净化程序

动作	位置	溶剂	体积 (mL)	抽溶剂速度 (mL/min)	打溶剂速度 (mL/min)
清洗	外壁	水	6	90	90
活化		甲醇	5	20	2
活化		水	10	20	2
		空气	0.5	6	6
上样		样品	10.5	20	1
		空气	3	60	1
清洗		水	6	90	90
稀释		水	5	20	10
上样		样品	5.5	20	1
		空气	12	60	1
清洗		水	6	90	90
淋洗		含 10%乙腈的水	10	20	2
		空气	50	60	20
洗脱		甲醇	4	20	1
		空气	50	60	20

3.1.3 定容

收集的洗脱液在 40 ° C 水浴中氮气吹干，以定容试剂定容至 1.0 ml，经 0.22 μ m 滤膜过滤后待进样。

3.2 检测方法

3.2.1 色谱条件

色谱柱为 Phenomenex Kinetex C18 柱，长度 100 mm，内径 3.0 mm，涂层粒径 2.6 μ m；柱温 30 ° C，流速：0.25 mL/min，进样量：10.0 μ L。流动相为超纯水（A）和含 0.1% 甲酸的乙腈溶液（B）；梯度洗脱程序如下：0–4 min 40% B，4–5 min 25% B，5–8 min 25% B，8.01 min 40 % B，8.01–10 min 40% B。

3.2.2 质谱条件

电喷雾离子源（ESI），正离子扫描，多反应选择监

测（Multiple Reaction Monitoring，MRM）模式；鞘气温度（Sheath Gas Temperature）350 ° C，鞘气流速（Sheath Gas Flow）11 L/min，氮气发生器提供；干燥气温度（Dry Gas Temperature）160 ° C，干燥气流速（Gas Flow）16 L/min，氮气发生器提供；雾化气压力（Nebulizer Pressure）30 psi；喷嘴电压（Nozzle Voltage）1500 V；碰撞气（Collision Gas）为高纯氮气，气体纯度≥ 99.999%。

4 结果与讨论

4.1 基底加标回收率及精密度

在（0.20±0.01）g 空白样品中添加一定量的标准混合溶液，使样品中目标物的量达到 1 μ g/g 及 2 μ g/g，考察方法的回收率和重现性。

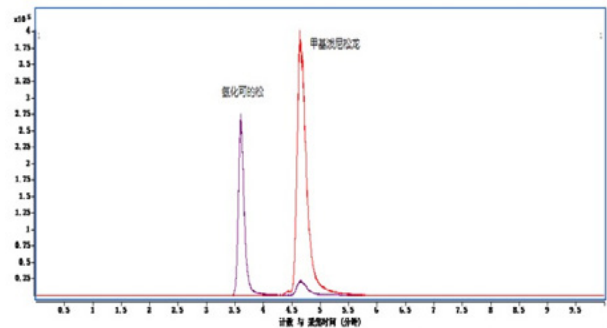


图 1 目标物标准品的 MRM 谱图（浓度为 1000 μg/mL）

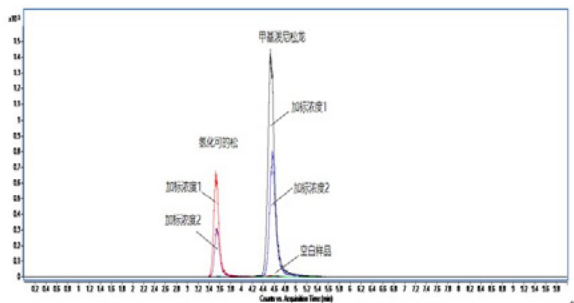


图 2 加标样品的 MRM 谱图

4.2 样品检测结果

按照本文所述方法对实际样品进行分析，空白基底干净，回收率符合要求，重复性好。采用基质标准工作曲线进行定量，可以减少基质对定量的影响，提高准确性。

5 结论

本方法采用乙腈对化妆品中的 2 种糖皮质激素类药物进行提取，全自动固相萃取进行样品净化，有效地去除了样品中的干扰成分，然后利用高效液相色谱 – 串联质谱联用进行检测。检测结果表明，该方法抗干扰性强，回收率符合要求，重现性高。

上海屹尧仪器科技发展有限公司

服务热线：400-820-4469 021-54427296 54426316

网址：www.preekem.com 邮箱：info@preekem.com