

# 超高效液相色谱-串联质谱法测定婴幼儿 化妆品中米诺地尔等7种成分

赵薇, 潘小红\*

(湖南省药品检验研究院, 长沙 410001)

**摘要: 目的** 对市售婴幼儿化妆品中米诺地尔、氢化可的松、螺内酯、雌酮、坎利酮、醋酸曲安奈德、黄体酮7种禁用成分进行市场调研。**方法** 以Atlantis dC<sub>18</sub> (100 mm×2.1 mm, 2 μm)为分析柱, 0.1%甲酸溶液-甲醇为流动相进行梯度洗脱后, 采用超高效液相色谱-串联质谱电喷雾电离(ESI+)检测7种禁用成分。**结果** 7种标准溶液在10~600 ng 浓度范围内呈良好线性关系( $r \geq 0.9990$ ), 加标回收率为92.6%~95.2%, 相对标准偏差(relative standard deviations, RSDs)为2.1%~4.1%, 对20批市售婴幼儿化妆品中米诺地尔等7种成分进行检测, 结果均未检出。**结论** 我省婴幼儿化妆品市场中米诺地尔等7种成分的市场现状相对良好。

**关键词:** 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; 婴幼儿化妆品; 超高效液相色谱-串联质谱法

## Determination of minoxidil and other 6 kinds of components in infant cosmetics by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

ZHAO Wei, PAN Xiao-Hong\*

(Hunan Institute for Pharmaceutical Inspection, Changsha 410001, China)

**ABSTRACT: Objective** To investigate 7 kinds of banned ingredients (minoxidil, hydrocortisone, spironolactone, estrone, canalidone, triamcinolone acetate, and progesterone) in infant cosmetics on the market. **Methods** Seven kinds of banned ingredients were detected by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry electrospray ionization (ESI+), using a column of Atlantis dC<sub>18</sub> (100 mm×2.1 mm, 2 μm), with the mobile phase of 0.1% formic acid solution for gradient elution. **Results** The 7 standard solutions showed good linear relationships ( $r \geq 0.9990$ ) in the concentration range of 10-600 ng. The recoveries of the spiked concentrations were 92.6%-95.2% and relative standard deviations (RSDs) were 2.1%-4.1%. The 7 components in 20 batches of cosmetics for infants and young children were not detected. **Conclusion** The market situation of minoxidil and other 6 ingredients in infant cosmetics market in our province is relatively good.

**KEY WORDS:** minoxidil; hydrocortisone; spironolactone; estrone; canalidone; triamcinolone acetate; progesterone; infant cosmetics; ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

\*通讯作者: 潘小红, 硕士, 高级实验师, 主要研究方向为食品、保健食品及化妆品的检验、质量标准的提高及产品研发。E-mail: panxiaohong56781@163.com

\*Corresponding author: PAN Xiao-Hong, Master, Senior Laboratory, Hunan Institute for Pharmaceutical Inspection, Changsha 410001, China. E-mail: panxiaohong56781@163.com

## 1 引言

婴儿用化妆品和洗涤用品(包括新生儿和5岁以下的儿童)现已成为一类专用的制品,在市场中占有一定份额。我国《儿童化妆品申报与评审指南》将儿童化妆品规定为供年龄在12岁以下(含12岁)儿童使用的化妆品。婴儿和儿童的皮肤比成年人的皮肤更易受损伤,因而,婴幼儿化妆品的配方对皮肤是极温和的,对产品设计、制造和评估都有一些要求和限制<sup>[1]</sup>。

从国家药品监督管理局网站了解到,近几年来陆续有婴幼儿化妆品不合格情况被通报,比如地塞米松、丙烯酰胺、菌落总数、霉菌和酵母菌总数<sup>[2,3]</sup>都有被检出,婴幼儿化妆品仍存在一定风险。米诺地尔、氢化可的松、螺内酯、雌酮、坎利酮、醋酸曲安奈德、黄体酮都是《化妆品安全技术规范》(2015版)<sup>[4]</sup>中规定的禁用物质。米诺地尔具有刺激毛根、促进毛发生长的作用,被用于育发产品,长期使用米诺地尔会导致多毛症,少数会出现胸闷和头晕等现象<sup>[5]</sup>;氢化可的松和醋酸曲安奈德都是糖皮质激素的一种,抗炎、免疫抑制功效均十分显著<sup>[6]</sup>,婴幼儿易患湿疹,而治疗湿疹的方法是外用含激素的膏霜剂<sup>[7]</sup>,滥用含糖皮质激素类的产品会导致婴儿皮肤产生药物依赖性和反跳性皮炎<sup>[8]</sup>;螺内酯和坎利酮是低效利尿剂,能够降低心脏负荷,改善钠水潴留<sup>[9]</sup>,不恰当使用有可能导致高血钾症、心律失常等不良反应<sup>[10]</sup>;雌酮属于性激素,未知情况下大量使用含性激素的护肤品会导致婴幼儿性早熟,甚至还有致癌风险<sup>[11]</sup>;黄体酮属于孕激素,是临床上治疗早期流产、先兆流产的首选药物<sup>[12]</sup>。

本研究以市面上流通的婴幼儿化妆品为调研对象,对20批市售婴幼儿化妆品中米诺地尔等7种成分进行检测,为市售婴幼儿用品中米诺地尔等7种成分的安全情况提供数据支持。

## 2 材料与方法

### 2.1 实验材料

#### 2.1.1 试验原料

从市场上购买20批婴幼儿化妆品,其中包括液体类3批、膏霜类6批、乳液类5批、香波类4批、唇膏类2批。

#### 2.1.2 仪器

AB SCIENCE TPIPLE QUAD5500液质联用仪(带ESI电离源,美国AB/SCIEX质谱公司);GX-274 ASPEC全自动固相萃取仪(美国吉尔森公司);AUW220D电子分析天平(日本岛津公司);Milli Q纯水仪(美国密理博公司)。

#### 2.1.3 标准品及试剂

7种标准品的来源及处理见表1。

甲醇、乙腈(德国默克集团);氯化钠(国药集团),本实验所有水均为Milli Q纯水仪制备的超纯水。

### 2.2 实验方法

#### 2.2.1 高效液相色谱条件

色谱柱:Atlantis dC<sub>18</sub>(100 mm×2.1 mm, 2 μm);柱温:40 °C;流速:0.25 mL/min;流动相:0.1%甲酸(A)-甲醇(B);进样量:3 μL。

#### 2.2.2 质谱条件

离子源:(electrospray ionization, ESI+),毛细管电压:3 kV,锥孔电压:30 V,萃取锥孔电压:3 V,聚焦电压:0.1 V,脱溶剂温度:500 °C,鞘气流速:500 L/h,碰撞能量:13~35 V,扫描速度(*m/z*):200 da,见表2。

#### 2.2.3 标准品的配制

分别精密称取上述标准品约10 mg于10 mL量瓶中,用甲醇溶解并定容至刻度,摇匀,即得1000 μg/mL储备溶液,精密吸取1 mL 1000 μg/mL储备溶液至100 mL量瓶中,加甲醇溶解并定容至刻度,摇匀,配成浓度约为10 μg/mL的混合标准储备溶液。再从中精密吸取0.1、0.2、0.4、0.6 mL置4个10 mL量瓶中,加20%乙腈稀释并定容至刻度,

表1 米诺地尔等7种成分标准品信息  
Table 1 Standard information of 7 components such as minoxidil

序号	标准品	批号	来源	纯度	处理
1	米诺地尔	100238-199701		/	105 °C干燥2 h
2	氢化可的松	100152-200206	中国食品药品检定研究院	/	/
3	螺内酯	100193-201203		0.999	105 °C干燥2 h
4	雌酮	100849-200501		/	/
5	坎利酮	MS140423-16	Stanford Chemicais	/	/
6	醋酸曲安奈德	101128-201001	中国食品药品检定研究院	0.991	/
7	黄体酮	100118-200403		0.997	/

表2 米诺地尔等7种成分的质谱参数  
Table 2 Optimization of mass spectrometric conditions for 7 components such as minodil

序号	名称	母离子	子离子	锥孔电压 /V	碰撞能量 /eV
1	米诺地尔	210.0	164.1	55	30
			193.0	55	22
2	氢化可的松	363.1	121.1	110	32
			327.0	110	23
3	螺内酯	341.1	107.1	82	32
			90.8	82	65
4	雌酮	271.2	253.2	110	16
			132.8	110	34
5	坎利酮	341.1	107.1	66	39
			91.0	66	69
6	醋酸曲安奈德	477.1	457.2	55	14
			439.2	55	20
7	黄体酮	315.2	97.1	72	27
			109.0	72	34

摇匀,再从浓度约为100 ng/mL的混合标准溶液中精密吸取0.5、1.0、2.5 mL置3个5 mL量瓶中,加20%乙腈稀释并定容至刻度,摇匀,得到混合标准溶液标准曲线系列浓度约为10、20、50、100、200、400、600 ng/mL。

#### 2.2.4 样品的制备

称取试样1.000 g(精确至0.001 g)于10 mL具塞比色管中,加入1 mL饱和氯化钠溶液,于涡旋混合器涡旋提取30 s后加入乙腈,定容至刻度,涡旋30 s,超声提取30 min,涡旋1 min,4500 r/min离心5 min,取上清液经0.2 μm有机系滤膜过滤后,滤液作为待测样液备用。

### 3 结果与分析

#### 3.1 液相条件优化

不同成分对不同色谱柱具有专一性要求,本实验比较了几款色谱柱对结果的影响,从色谱峰分离度、峰形考察,选择Atlantis dC<sub>18</sub>柱。试验也考察了甲醇/水、甲醇/0.1%甲酸溶液这2种流动相对目标化合物离子化程度的影响,结果表明含有0.1%甲酸的流动相可以改善质谱的离子化效果,提高质谱检测的灵敏度。另外,如果在色谱柱上进行等度洗脱,耗时较长,因此选用梯度洗脱,也能更好地去除色谱柱中残留的杂质,最佳的流动相梯度程序为:0~3.0 min,20%B;3.0~4.0 min,线性增加至45%B;4.0~7.0 min,线性增加至70%B;7.0~12.0 min,70%B;12.0~12.5 min,线性减少至20%B;12.5~15.0 min,20%B。

#### 3.2 超高效液相色谱-串联质谱条件的优化

根据液相梯度洗脱条件及质谱条件优化的结果,米诺地尔等7种成分分离效果较好,灵敏度较高,图1为7种混合标准溶液的总离子流色谱图(total ion current, TIC),图2~8依次为米诺地尔、雌酮、黄体酮、坎利酮、螺内酯、氢化可的松的质谱多反应监测图(multiple reaction monitoring, MRM)。超高效液相色谱-串联质谱法(ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UHPLC-MS/MS)因其良好的抗基质干扰能力和灵敏度而受到广泛关注<sup>[13]</sup>,研究人员利用质谱仪对异构体进行分析研究<sup>[14-17]</sup>。坎利酮和螺内酯是同分异构体,在本实验中,两者的分离度大于1.5,完全达到分离,符合要求,如图5、图6。

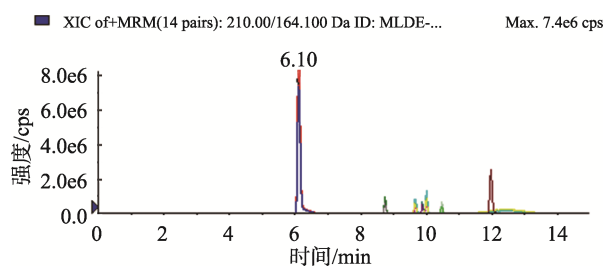


图1 7种混合标准溶液(100 μg/L)的总离子流色谱图(TIC)  
Fig.1 Total ion current (TIC) chromatogram of 7 mixed standard solutions (100 μg/L)

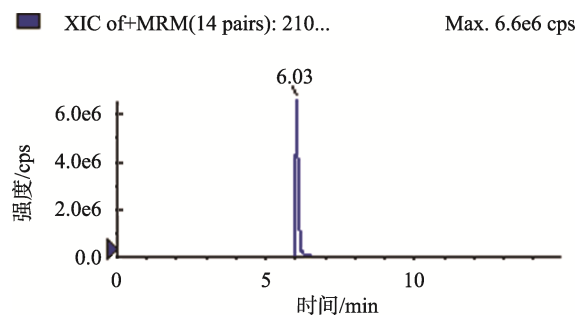


图2 米诺地尔质谱多反应监测图(MRM)  
Fig.2 Mass spectrometric MRM of minodil

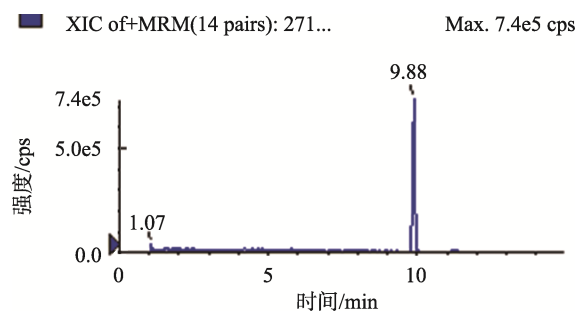


图3 雌酮质谱多反应监测图(MRM)  
Fig.3 Mass spectrometric MRM of estrone

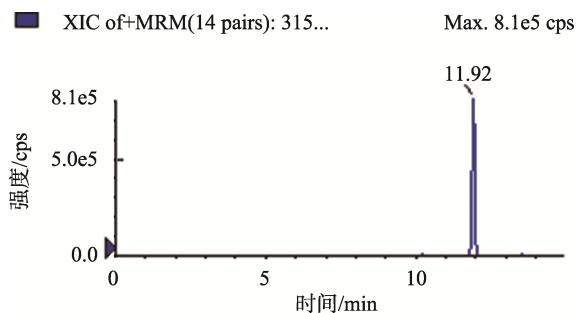


图4 黄体酮质谱多反应监测图(MRM)  
Fig.4 Mass spectrometric MRM of progesterone

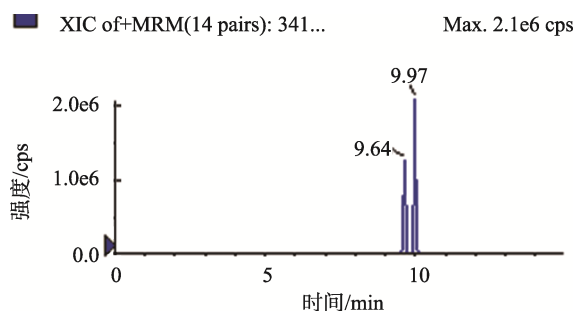


图5 坎利酮质谱多反应监测图(MRM)  
Fig.5 Mass spectrometric MRM of potassium chloride

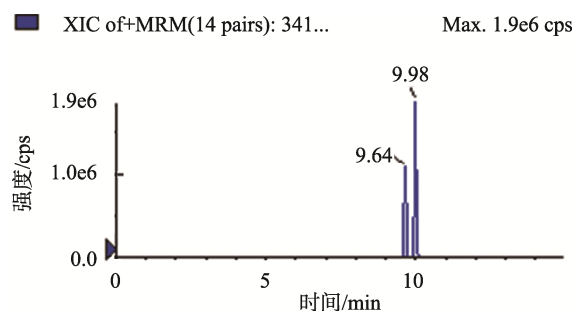


图6 螺内酯质谱多反应监测图(MRM)  
Fig.6 Mass spectrometric MRM of spironolactone

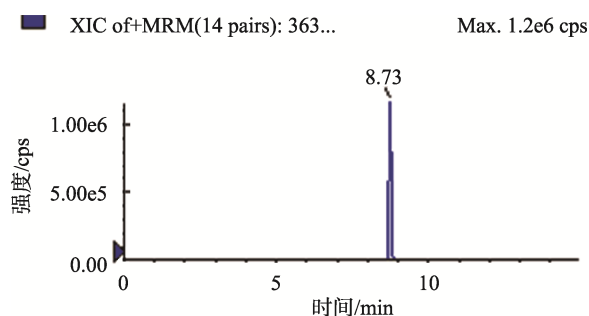


图7 氢化可的松质谱多反应监测图(MRM)  
Fig.7 Mass spectrometric MRM of hydrocortisone

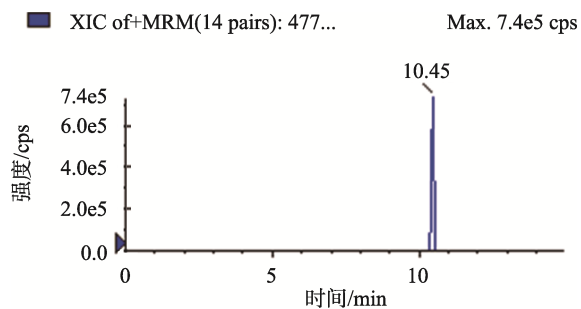


图8 醋酸曲安奈德质谱多反应监测图(MRM)  
Fig.8 Mass spectrometric MRM of Triamcinolone acetonide acetate

### 3.3 线性结果分析

米诺地尔等7种成分系列标准溶液在浓度10~600 ng范围内线性关系良好,线性方程及相关系数见表3。

表3 米诺地尔等7种成分的线性方程及相关系数

Table 3 Linear equations and coefficients of minodil and other components

序号	名称	标准曲线	相关系数
1	米诺地尔	$Y=1.42046e^5X+1.32389e^7$	0.9992
2	氢化可的松	$Y=3.40989e^4X+1.08769e^6$	0.9995
3	螺内酯	$Y=5.33553e^4X+1.39544e^6$	0.9990
4	雌酮	$Y=2.23493e^4X+1.08143e^5$	0.9991
5	坎利酮	$Y=5.58617e^4X+1.64391e^6$	0.9993
6	醋酸曲安奈德	$Y=3.95635e^4X+5.74732e^5$	0.9991
7	黄体酮	$Y=1.18063e^5X+3.93775e^6$	0.9994

### 3.4 回收率和精密度

精取混匀后的试样1 g,第1~3号试样分别加入浓度约为200 ng/mL的混合标准溶液1.00 mL,第4~9号试样分别加入浓度约为10 μg/mL的混合标准溶液0.20 mL,第10~12号试样分别加入浓度约为10 μg/mL的混合标准溶液0.60 mL,混匀,分别加入1 mL饱和氯化钠溶液,与供试品溶液同时、同样处理,其加标回收率为92.6%~95.2%,相对标准偏差(relative standard deviations, RSDs)为2.1%~4.1%,表明方法具有良好的准确度和精密度,数据结果见表4。

### 3.5 检出限及检出浓度的计算

采用标准添加法进行测定,以定量离子信噪比( $S/N$ )大于3确定样品的检出限(limit of detection, LOD), $S/N$ 大于10为定量限(limit of quantitative, LOQ)<sup>[18]</sup>,结果表明灵敏度较好,数据见表4。

表4 加标回收率、精密度、检出限及定量限( $n=6$ )  
Table 4 Recovery, precision, limit of detection and limit of quantitation of spiked concentrations ( $n=6$ )

序号	名称	平均回收率/%	精密度/%	检出限/(ng/g)	定量限/(ng/g)
1	米诺地尔	94.4	3.4	0.30	0.98
2	氢化可的松	95.2	4.1	4.98	16.60
3	螺内酯	93.1	2.9	9.74	44.49
4	雌酮	92.7	4.0	5.93	19.76
5	坎利酮	92.6	3.9	9.62	32.08
6	醋酸曲安奈德	93.5	3.6	1.00	3.33
7	黄体酮	93.4	2.1	1.38	4.60

### 3.6 实际样品分析

根据建立的方法, 对市售 20 批婴幼儿护肤类产品进行米诺地尔等 7 种成分的测定, 未检出这些成分。为确定此方法对于婴幼儿护肤类产品是否适用, 实验选取了 5 种不同基质(液体类、膏霜类、乳液类、香波类、唇膏类)的样品做加标回收, 其加标回收率为 90.95%~96.85%, RSD 为 1.1%~4.9%, 由此表明上述方法适用于婴幼儿护肤类产品的测定。

## 4 结 论

本研究对市售 20 婴幼儿化妆品中米诺地尔等 7 种成分进行了测定, 结果表明市售的婴幼儿护肤品安全情况较为理想, 但仍须加强对宣称无毒副作用的婴幼儿护肤类产品的检测及监管, 避免过量使用各种化学成分而产生不良反应和药物依赖性。在今后研究中, 可适当扩大调研范围, 并增加采集批次, 比如从地级市、乡镇及贫困地区, 更全面地掌握市场状况, 扩大监管范围, 增大监管力度。

### 参考文献

- [1] 裴炳毅, 高志红. 现代化妆品科学与技术[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2016.  
Qiu BY, Gao ZH. Modern cosmetics science and technology [M]. Beijing: China Light Industry Press, 2016.
- [2] 国家食品药品监督管理总局. 广西壮族自治区食品药品监督管理局关于 2016 年广西化妆品质量监督抽检结果公告[EB/OL]. [2016-08]. <http://www.nmpa.gov.cn/WS04/CL2124/282122.html>.  
State Food and Drug Administration. Guangxi Zhuang Autonomous Region Food and Drug Administration Announcement on the results of 2016 Guangxi cosmetics quality supervision and inspection [EB/OL]. [2016-08]. <http://www.nmpa.gov.cn/WS04/CL2124/282122.html>.
- [3] 国家食品药品监督管理总局. 转河南省食品药品监督管理局化妆品质量监督抽检结果公告[EB/OL]. [2017-01]. <http://www.nmpa.gov.cn/WS04/CL2124/282150.html>.  
State Food and Drug Administration. Announcement of results of

cosmetics supervision and sampling inspection of Henan Food and Drug Administration [EB/OL]. [2017-01]. <http://www.nmpa.gov.cn/WS04/CL2124/282150.html>.

- [4] 国家食品药品监督管理总局. 化妆品安全技术规范(2015 版)[S].  
State Food and Drug Administration. Technical specification for cosmetic safety (2015 edition) [S].
- [5] 郑磊, 胡小键, 林少彬. 育发产品中斑蝥素和氮芥及米诺地尔的液相色谱-串联质谱测定法[J]. 环境与健康杂志, 2016, 33(1): 66-68.  
Zheng L, Hu XJ, Lin SB. Determination of cantharidin, nitrogen mustard and minoxidil in hair products by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Environ Health, 2016, 33(1): 66-68.
- [6] 李仙玉. 短期氢化可的松治疗小儿肺部支原体感染诱发大叶性肺炎的疗效观察[J]. 中国民康医学, 2016, 28(16): 16-17.  
Li XY. Observation on the efficacy of short-term hydrocortisone in the treatment of lobar pneumonia induced by mycoplasma pulmonale infection in children [J]. Minkang Med China, 2016, 28(16): 16-17.
- [7] 潘小红, 殷帅, 刘玉玲, 等. 全自动固相萃取-高效液相色谱-串联质谱法测定婴幼儿产品中 42 种糖皮质激素[J]. 色谱, 2018, 36(4): 356-361.  
Pan XH, Yin S, Liu YL, et al. Fully automatic solid phase extraction-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the determination of 42 glucocorticoids in infant products [J]. Chin J Chromatogr, 2018, 36(4): 356-361.
- [8] 左晓娟. 婴儿湿疹的护理[J]. 当代临床医刊, 2015, 6(28): 1820-1821.  
Zuo XY. Nursing of infantile eczema [J]. Contemp Clin J, 2015, 6(28): 1820-1821.
- [9] 梁雪梅, 刘亚辉, 钟维林. 不同剂量螺内酯对难治性心力衰竭患者心功能的治疗效果差异[J]. 临床研究, 2015, 13(31): 143.  
Liang XM, Liu YH, Zhong WL. The difference of therapeutic effect of different doses of spironolactone on cardiac function in patients with refractory heart failure [J]. Clin Study, 2015, 13(31): 143.
- [10] 陈敏, 蒋雯. 螺内酯对慢性心力衰竭患者心脏自主神经功能的影响[J]. 中国医院药学杂志, 2016, 36(22): 2004-2007.  
Chen M, Jiang W. Effects of spironolactone on cardiac autonomic nervous function in patients with chronic heart failure [J]. Chin J Hosp Pharm, 2016, 36(22): 2004-2007.
- [11] 岳磊, 李晓娟. 超高效液相色谱-质谱联用法同时测定化妆品中 5 种禁用性激素[J]. 日用化学化工, 2017, 8(47): 476-480.  
Yue L, Li XJ. Simultaneous determination of five prohibited hormones in cosmetics by ultra-high performance liquid chromatography-mass spectrometry [J]. Daily Chem Ind, 2017, 8(47): 476-480.
- [12] 张道惠. 黄体酮治疗早期流产的疗效及对围生儿结局的影响[J]. 深圳中西医结合杂志, 2016, 2(4): 23-25.  
Zhang DH. Effect of progesterone on early abortion and perinatal outcome [J]. Shenzhen J Integr Tradit Chin West Med, 2016, 2(4): 23-25.
- [13] 袁洁, 周晨忱, 姚军. LC-MS/MS 法测定新疆市场鸡肝中棉酚旋光异构体[J]. 分析试验室, 2016, 35(11): 1250-1253.  
Yuan J, Zhou CC, Yao J. LC-MS/MS determination of gossypol optical isomers in chicken liver of Xinjiang market [J]. Anal Lab, 2016, 35(11): 1250-1253.
- [14] 王霄吻, 张可煜, 张丽芳, 等. 利用 UPLC-TOF 及 MS/MS 鉴定头孢噻肟中的同分异构体[J]. 中国兽医学, 2016, 46(5): 623-629.  
Wang XY, Zhang KY, Zhang LF, et al. Identification of isomer in cefquinoxime by UPLC-TOF and MS/MS [J]. Chin Vet Sci, 2016, 46(5):

- 623–629.
- [15] Laine JE, Auriola S, Pasanen M, *et al.* D-Isomer of gly-tyrpro-cys-pro-his-pro peptide: A novel and sensitive *in vitro* trapping agent to detect reactive metabolites by electrospray mass spectrometry [J]. *Toxicol in Vitro*, 2011, 25(1): 411–425.
- [16] Kocadagli T, Yilmaz C, Gokmen V. Determination of melatonin and its isomer in foods by liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *Food Chem*, 2014, (153): 151–156.
- [17] Qian JQ, Corra TC, Li J, *et al.* Differentiation of cefaclor and its delta-3 isomer by electrospray mass spectrometry, infrared multiple photon dissociation spectroscopy and theoretical calculations [J]. *J Mass Spectrom*, 2015, 50(1): 265–269.
- [18] 罗辉泰, 黄晓兰, 吴惠勤, 等. 固相萃取/液相色谱-串联质谱法同时测定面膜类化妆品中非法添加的 53 种糖皮质激素[J]. *分析测试学报*, 2016, 35(2): 119–126.
- Luo HT, Huang XL, Wu HQ, *et al.* Simultaneous determination of 53 glucocorticoids illegally added to mask cosmetics by solid phase

extraction/liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *J Anal Test*, 2016, 35(2): 119–126.

(责任编辑: 苏笑芳)

## 作者简介



赵 薇, 工程师, 主要研究方向为保健食品与化妆品的检验与研究。

E-mail: 1228158190@qq.com



潘小红, 硕士, 高级实验师, 主要研究方向为食品、保健食品及化妆品的检验、质量标准的提高及产品研发。

E-mail: panxiaohong56781@163.com