

高分辨质谱X500R QTOF系统在化妆品中违禁药物的检测分析

High Resolution Mass Spectrometry X500R QTOF System on The Routine Monitoring of Cosmetics Illegal Drug

杨总, 刘冰洁, 程海燕, 李立军, 郭立海

Yang Zong, Liu Bingjie, Cheng Haiyan, Li Lijun, Guo Lihai

SCIEX应用支持中心, 中国

SCIEX Application Support Center, China;

Key words: X500R; Cosmetics; Illegal Drug

引言

随着人们生活水平的日益提高, 化妆品成为生活必需品, 使用人群涉及婴幼儿到老年人的各个年龄阶段, 其功能也逐渐由传统的清洁、护肤向美容、养颜等多种功效领域发展^[1]。其中有一些不法商人在化妆品原料以及成品中添加一些有害成分增加其功效来诱导消费者, 然而这些禁用添加剂的违规使用, 会对人体产生诸多副作用, 毁容、内分泌失调, 影响生殖发育甚至致癌。因此化妆品的安全使用问题受到国内外研究有关部门的高度重视。欧盟化妆品法规 (Regulation EC 1223/2009)^[2]和我国《化妆品卫生规范》^[3]均明令禁止化妆品中使用激素、抗生素、杀菌剂等物质。由于化妆品市场前景广阔、各类违禁药物繁多, 因此建立化妆品中多种违禁药物的高选择性、高通量的快速筛查和定量方法, 对于相关部门加强监督力度及消费者权益保护具有重要意义。

该方法的优势如下:

1. 该方法前处理简单、高效, 35个样品从前处理到上机测试2小时可以完成; 解决了以前由于样品前处理需要通过SPE净化等繁琐操作带来的困扰;
2. 所测化合物范围覆盖较广, 总共有240种化妆品常见违禁药物, 包含了糖皮质激素、杀菌剂、四环素、性激素等;
3. 一次进样可以分析两百多种, 分析时间为24 min, 快速高效;
4. 实现真正意义上的同时定性和定量分析, 在定性方面X500R系统具备化妆品常见违禁药物的二级谱库, 四关锁定 (一级误

差、保留时间、同位素丰度匹配、二级库匹配), 简便快捷, 保证筛查结果准确可靠; 在定量方面, X500R系统MRM^{HR}的离子对定量方式与三重四极杆质谱的MRM相媲美;

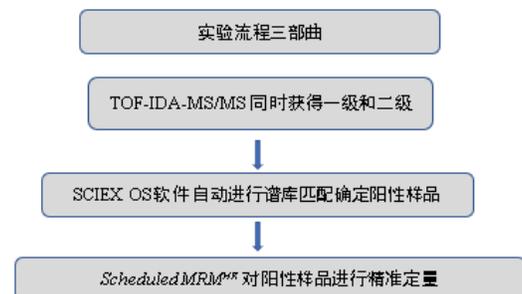
5. 本方法建立完善的240种化合物保留时间锁定、筛查列表、二级谱库, 均可以直接使用, 省去方法开发时间和成本, 是化妆品检测的有力工具;

实验思路:

1. 数据采集: 先通过TOF-IDA-15 MS/MS模式, 可以一针进样, 实现同时获得一级母离子和二级子离子, 通过二级子离子与标准谱库匹配, 大大节省了工作时间, 提高工作效率。

2. 阳性样品判断: 通过谱库检索, 经过正匹配和反匹配, 得出综合匹配度, 有效的消除了假阳性结果, 使定性结果更加准确可靠。

3. 阳性样品准确定量: 由于X500R Scheduled MRM^{HR}高选择性和高通量, 于是采用该扫描模式进一步对阳性样品中的违禁药物进行准确定量。



4. 自动给出检测报告：包括样品筛查库检索结果以及定量结果，根据您的需要可以给出不同形式的报告格式。

前处理方法：

- 乳液，固体样品，液体样品：准确称取0.5 g或者0.5 mL于15 mL离心管中；
- 加入10 mL 85%的甲醇水剧烈振荡2 min；
- 涡旋2 min；
- 在4 °C，10000 rpm条件下离心10 min；
- 取上清液用超纯水稀释1倍；
- 取1 mL过0.22 μm滤膜上机测试；

液相条件：

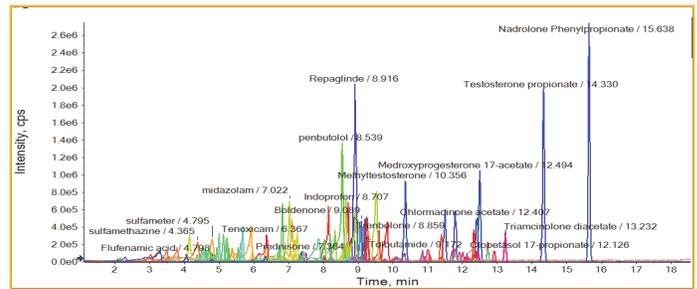
色谱柱：Phenomenex Kinetex C18, 2.1 × 100 mm, 1.7 μm；
 流动相：采用梯度洗脱
 正离子：A为0.1%的甲酸水；B为乙腈；
 负离子：A为超纯水；B为乙腈；
 流速：0.3 mL/min；
 柱温：40 °C；
 进样量：10 μL；

质谱方法：

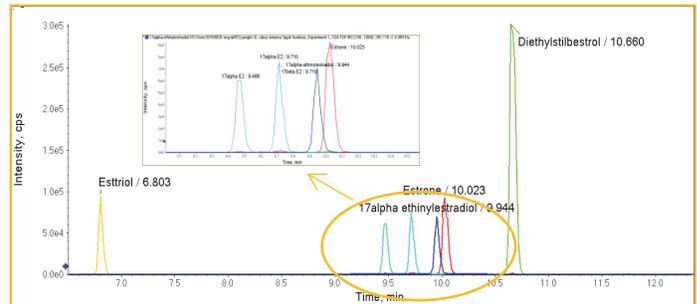
扫描方式：TOF-IDA-15 MS/MS定性筛查；
 扫描方式：Scheduled MRM^{HR}阳性样品准确定量；
 ESI离子源参数：
 气帘气CUR：30 psi； 碰撞气CAD：7 psi；
 IS电压：5500V/-4500 V； 源温度：600 °C；
 雾化气GAS 1：55psi； 辅助气GAS 2：70psi；

色谱图：

1. **正离子模式：**200多种化妆品中的违禁药物(5 ng/mL)，包含了磺胺、沙星、糖皮质激素、雄激素等，母离子提取离子色谱图如下所示：



2. **负离子模式：**8种雌激素(5 ng/mL)，母离子提取离子色谱图如下：



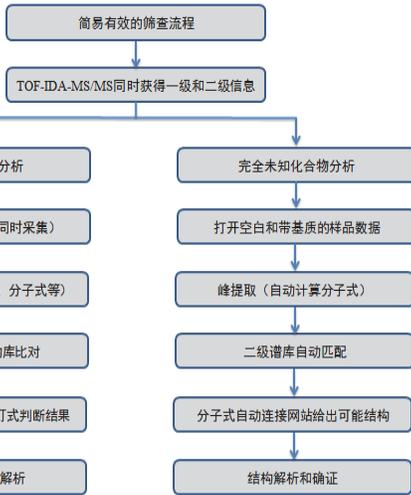
样品收集：

根据国家颁发的《化妆品卫生规范》对化妆品的定义，总共收集35种不同品牌、不同类型、不同功效的化妆品样品；样品主要来自来源公司同事、淘宝、微商、地摊、免费赠送、酒店等。

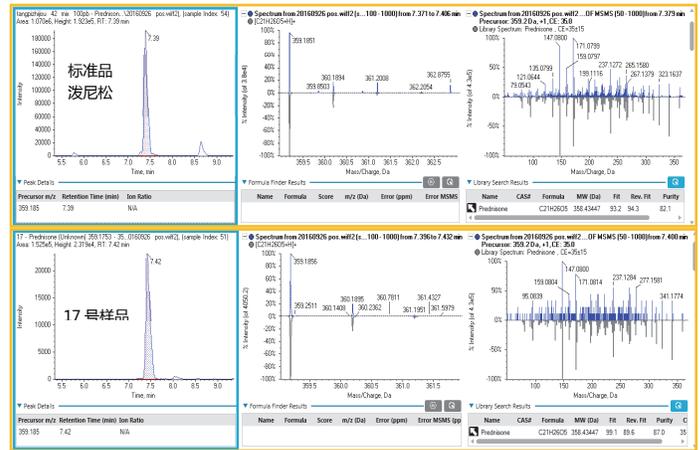
面膜	乳液、保湿剂、霜
黑里透白冻膜	肌源恒润乳液（滋润型）
蜗牛再生片状面膜	抗皱养颜保湿洁面乳
美颜修护隐形面膜	清爽美白洁面乳
肌龄多效蚕丝面膜	保湿深层润肤霜
动力补水面膜	保湿水
.....

筛查流程：

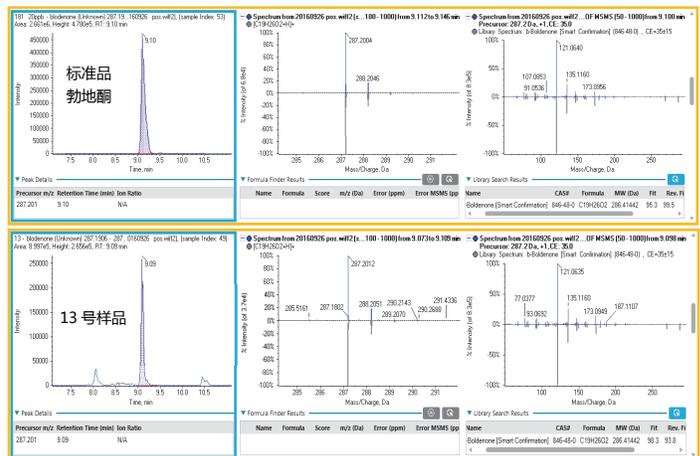
简易有效的筛查流程：包含有目标未知物分析和完全未知物分析。



15号面膜样品图谱：



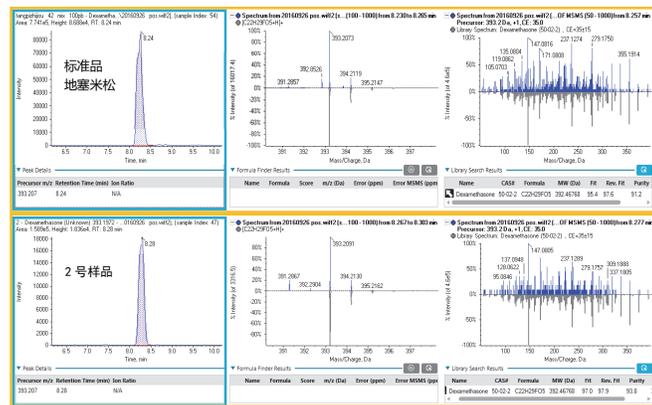
17号面膜样品图谱：



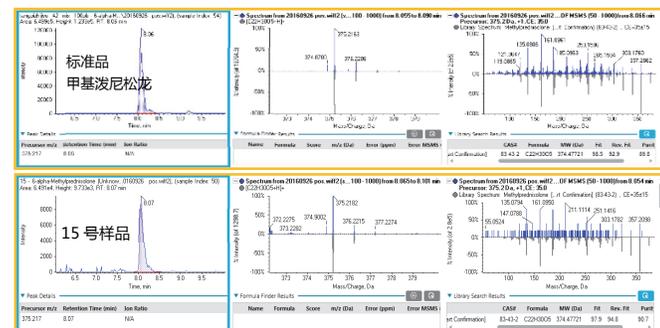
筛查结果：

1. 糖皮质激素类：

2号面膜样品中含有糖皮质激素地塞米松、15号面膜样品中含有糖皮质激素甲基泼尼松龙、以及17号面膜样品含有糖皮质激素泼尼松。图谱如下所示：



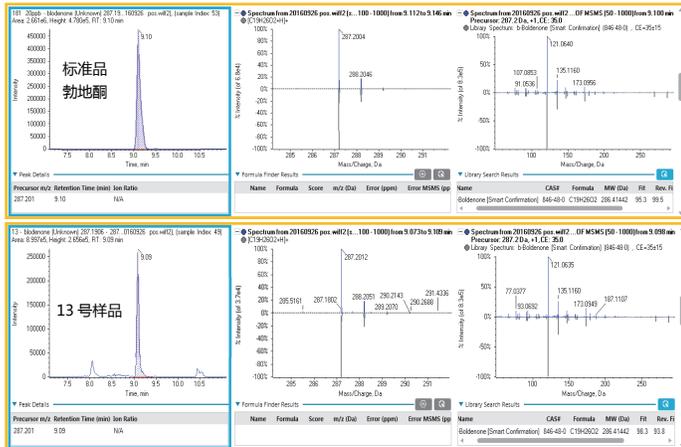
2号面膜样品图谱：



危害：经研究表明，糖皮质激素具有调节糖、脂肪和蛋白质生物合成和代谢的作用。临床上糖皮质激素作为抗感染药物，可抑制纤维细胞增生，减少5-羟色胺形成，因而对皮肤有一定的嫩白作用。但如果长期使用含有这个类物质的化妆品，将会引起皮肤变薄、毛细血管扩张、毛囊萎缩，一旦停用，皮肤就会发红、发痒，出现红斑、丘疹、脱屑等极速依赖性炎症症状，过量使用还会引发血糖升高、高血压、骨质疏松、免疫功能下降及肥胖等危害。因此，我国《化妆品卫生规范》及欧盟化妆品规程中明确规定，化妆品中禁用糖皮质激素。

2. 性激素类：

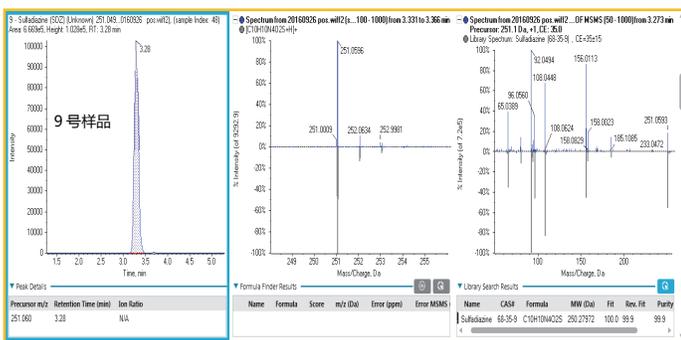
13号乳液样品中含有雄激素勃地酮。图谱如下所示：



危害：据文献报道，雄激素属于固醇类激素，可直接作用于皮肤，短期内可以促进皮肤恢复弹性，减少皱纹，治疗粉刺，促进毛发生长等，但长期使用将出现色素沉积、皮肤萎缩变薄等副作用。我国化妆品卫生标准、化妆品卫生规范、欧盟化妆品法规均明确规定，雄激素为化妆品组分中的禁用物质。因此，为避免消费者在不知情的情况下使用违规添加雄激素的化妆品，造成健康安全危害。

3. 磺胺类抗生素类：

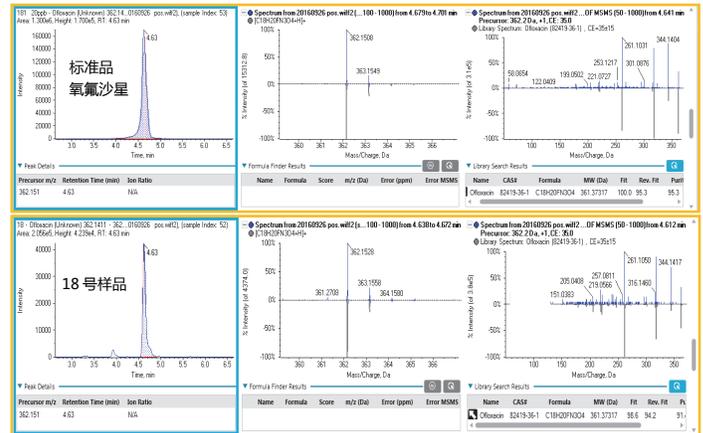
9号样品润肤露中含有磺胺嘧啶。9号样品润肤露图谱：



危害：据文献报道磺胺类药物主要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，其抑菌作用是通过干扰细菌的叶酸代谢而抑制细菌的生长繁殖。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，进而对人体技能产生危害，并导致病原体产生抗药性。我国化妆品《化妆品卫生标准》、《化妆品卫生规范》、欧盟化妆品规程（Council Directive 76/768/EEC）、日本药事法（Pharmaceutical Affairs Law）中均明确规定了磺胺类药物为化妆品组分中禁用物质。

4. 喹诺酮类抗生素类：

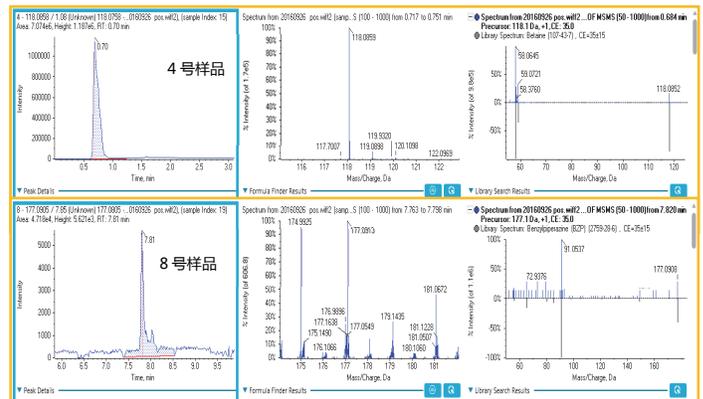
18号洁面乳样品中含有氧氟沙星。图谱如下所示：



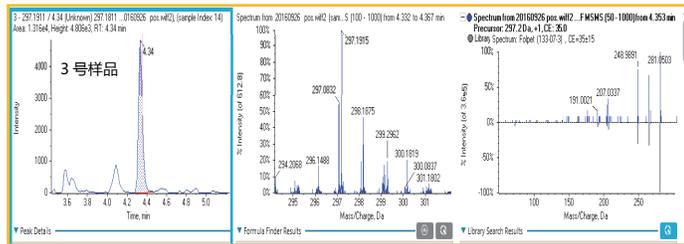
危害：氧氟沙星是喹诺酮类药物的一种，该类物质抗菌效果较好，尤其是对革兰氏杆菌和其他耐药抗生素的细菌具有良好的抗菌作用，具有抗菌谱广、吸收好、给药方便、价格低廉等特点，在临床治疗感染方面有较广泛应用。但是该类物质违规添加到化妆品中，散步于人体皮肤表面，尤其是脸部、口唇等皮肤比较柔嫩，黏膜血管丰富的部位表面，则可能通过微血管或者黏膜被快速吸收，逐渐破坏皮肤表面的正常菌群，导致皮疹、速发性过敏等不良反应。

5. **其他成分：**当然并不是所有的化妆品均含有有害成分，也有一些营养成分。

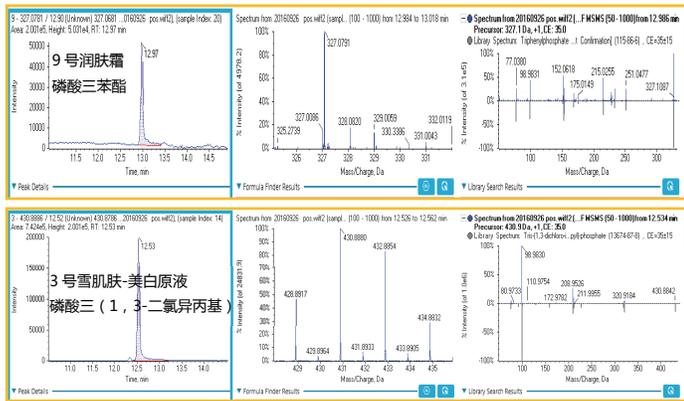
a. 例如4号样品保湿乳液，其中含有甜菜碱，该化合物起到杀菌消毒作用，易溶于水，不伤害皮肤，在剃须膏中比较常见。8号样品为高端品牌的咕噜水，含有苄基咪唑医药中间体，起到抗过敏提高免疫力的功效；图谱如下所示：



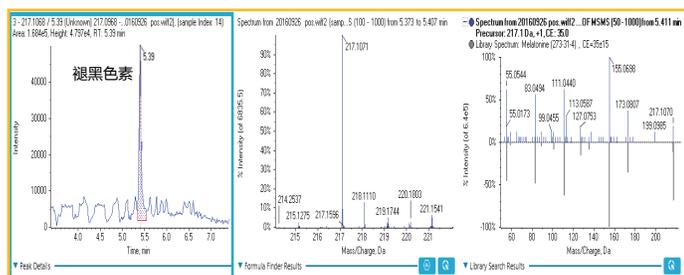
b. 例如3号样品中含有灭菌丹，灭菌丹为广谱保护性杀菌剂，对人畜低毒，对人粘膜有刺激性，对鱼有毒，对植物生长发育有刺激作用。常温下遇水缓慢分解，通碱或高温易分解。



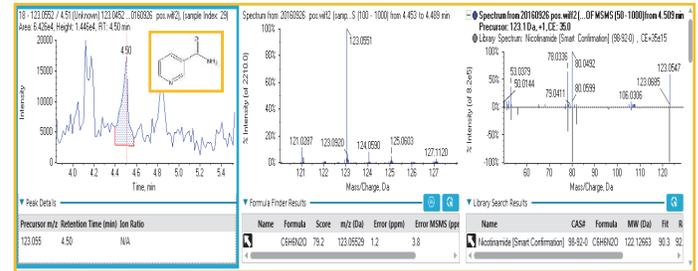
c. 几乎所有的化妆品均含有磷酸三苯酯类化合物，该化合物是阻燃剂、稳定剂类化合物，据文献报道：该类化合物挥发性低，使得皮肤有透明性、柔软性、韧性、及优良的光稳定性，并且皮肤不易吸收；化妆品卫生规范没有禁用；



d. 并且大部分的化妆品样品中均含有褪黑色素，该化合物起到美白功效，据文献报导褪黑色素能起到诱导自然睡醒、延缓衰老、提高机体免疫作用以及预防癌症等功效，目前还没发现对人体有毒副作用；



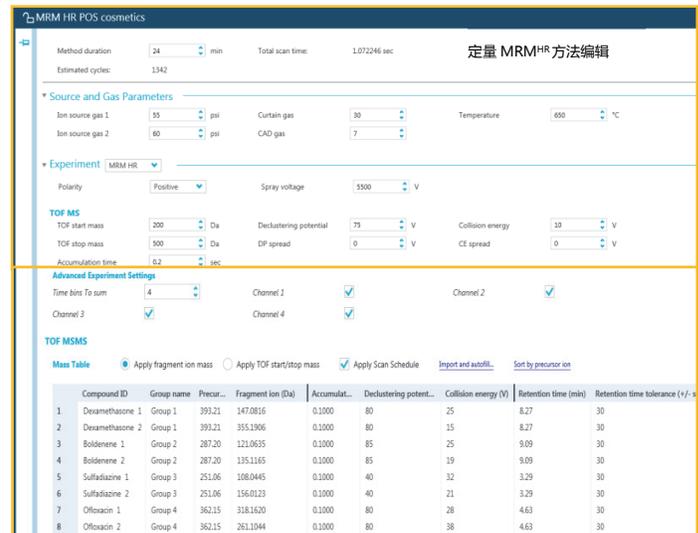
e. 同时几乎所有的化妆品含有维生素B3烟酰胺，是人们公认化妆品的营养物质



该化合物具有三大功效，首先能加速新陈代谢，促进含黑色素的角质细胞脱落，起到美白功效；其次可以作用于已经产生的黑色素，减少其向表层细胞转移；第三，促进表皮层蛋白质的合成，改善肌肤质地，保湿较好，抗衰老。烟酰胺也有它的不足之处，最重要的一点就是其原料中的杂质成分烟酸会引起皮肤的刺激，某些消费者可能在用高含量烟酰胺的产品可能会引起发红等过敏现象。也就是大家说的烟酰胺不耐受问题。因此，使用于化妆品中的烟酰胺对原料还是杂质控制是有讲究的，同时配方设计和工艺都对此也有影响。

定量部分：

定量方法设定：采用三重四极杆质谱的离子对模式；



如下所示：

雄激素勃地酮



磺胺嘧啶



从定量结果表格可以看出：

1. 根据《化妆品卫生规范》要求：上表中所有化合物为非法违禁药物；
2. 面膜中普遍添加糖皮质激素较多；
3. 乳液、霜等添加激素、磺胺和沙星等杀菌药物较多；
4. 其中不乏高大上的品牌，也会添加一些违禁药物；

小结

本实验总共搜集了35个常用的化妆品，包含10种不同品牌的面膜、25种分别是乳液、保湿剂、霜等。实验结果表明在面膜中加糖皮质激素较多，其它洁面乳和润肤霜含有激素和抗生素。除此之外，也发现一些化妆品中含有营养成分，比如维生素B3、褪黑色素等，甚至有一高端品牌咕噜水含有苄基哌嗪医药中间体，有提高免疫力的功效。

本文采用新型高分辨质谱X500R系统建立了化妆品中违禁药物的液相色谱串联质谱的筛查和定量方法。由于X500R具有极高的灵敏度以及超强的抗基质干扰能力，样品前处理方法进一步简化，提高了工作高效。该方法应用范围广泛，包含了240种化妆品常见违禁药物。同时具有专门的化妆品二级谱库，结合X500R超快的扫描速度可以同时采集到复杂基质中最丰富的和质量最高的一级和二级质谱图，保证了筛查结果的准确可靠。由于X500R对于化妆品中的常见违禁药物的灵敏度几乎可以达到纳克级别以下，采用X500R系统MRM^{HR}功能进行定量分析可以与三重四极杆质谱的MRM相媲美。

定量结果：

样品编号	名称	磺胺嘧啶 (ng/mL)	地塞米松 (ng/mL)	甲基泼尼松龙 (ng/mL)	氧氟沙星 (ng/mL)	雌酮 (ng/mL)	泼尼松 (ng/mL)	勃地酮 (ng/mL)
2	蜗牛再生片状面膜		22.51					
17	肌龄多效蚕丝面膜						11.34	
15	美颜修护隐形面膜			6.67				
19	动力补水面膜					151.05		
13	多效保湿洁面乳							11.12
18	抗皱养颜保湿洁面乳				5.01			
9	润肤霜	41.33						

该方法完全满足客户的分析要求，对于采用高分辨仪器应用于化妆品中违禁药物的筛查检测分析具有重要的参考意义。

参考文献

1. Journal of Chromatography A, Volume 1461, 26 August 2016, Pages 78 - 83;
2. 欧盟化妆品法规 (Regulation EC 1223/2009) ;
3. 中华人民共和国《化妆品卫生规范》(2015) ;

SCIEX临床诊断产品线仅用于体外诊断。仅凭处方销售。这些产品并非在所有国家地区都提供销售。获取有关具体可用信息，请联系当地销售代表或查阅<https://sciex.com.cn/diagnostics>。所有其他产品仅用于研究。不用于临床诊断。本文提及的商标和/或注册商标的所有权，归属于AB Sciex Pte. Ltd. 或在美国和/或某些其他国家地区的各权利所有人。AB SCIEX™ 商标经许可使用。© 2019 DH Tech. Dev. Pte. Ltd.

RUO-MKT-02-10869-ZH-A



SCIEX中国公司

北京分公司
北京市朝阳区酒仙桥中路24号院
1号楼5层
电话: 010-5808-1388
传真: 010-5808-1390
全国咨询电话: 800-820-3488, 400-821-3897

上海公司及中国区应用支持中心
上海市长宁区福泉北路518号
1座502室
电话: 021-2419-7200
传真: 021-2419-7333
官网: sciex.com.cn

广州分公司
广州市天河区珠江西路15号
珠江城1907室
电话: 020-8510-0200
传真: 020-3876-0835
官方微信: [ABSciex-China](https://www.absciex.com.cn)