

HPLC 测定化妆品中非法添加的米诺地尔

罗金文, 颜琳琦, 李樱红, 吴鸳鸯, 倪维芳, 陶巧凤(浙江省食品药品检验研究院, 杭州 310004)

摘要: 目的 建立快速鉴定化妆品中非法添加的米诺地尔的检测方法。方法 以迪马 C₁₈ 柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm)为分析柱; 采用甲醇-水-冰醋酸(730:270:10)(1 000 mL⁻¹ 中含磺基丁二酸钠二辛酯 3.0 g, 并用高氯酸调节 pH 值至 3.0)为流动相; 流速为 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长为 280 nm。结果 米诺地尔在 1~100 μg·mL⁻¹ 浓度内线性良好; 最低检测限为 5 μg·g⁻¹; 平均回收率 100.4%。结论 本法快速准确、专属性强、灵敏度高, 可用于育发类化妆品中米诺地尔的检测。
关键词: 米诺地尔; 高效液相色谱法; 化妆品; 非法添加

中图分类号: R917 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693(2013)06-0655-03

Determination of Minoxidil Illegally Adulterated in Cosmetics by HPLC

LUO Jinwen, YAN Linqi, LI Yinghong, WU Yuanyang, NI Weifang, TAO Qiaofeng(Zhejiang Institute for Food and Drug Control, Hangzhou 310004, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a specific method for the determination of minoxidil illegally adulterated in cosmetics. **METHODS** The separation and analysis was performed on a Diamonsil C₁₈ column(4.6 mm×250 mm, 5.0 μm). The mobile phase consisted of methanol-water-acetic acid glacial (730:270:10)(contained 0.3% of dioctyl sodium sulfosuccinate and adjusted pH to 3.0 with perchloric acid). The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹ and detected at 280 nm. **RESULTS** The assay linearity of minoxidil was confirmed over the range of 1–100 μg·mL⁻¹, and the detection limit was 5 μg·g⁻¹. The average recovery was 100.4%. **CONCLUSION** The method is proved to be accurate, specific, sensitive and convenient. Therefore, it can be used to determinate minoxidil illegally adulterated in hair cosmetics.

KEY WORDS: minoxidil; HPLC; cosmetics; illegally adulterated

米诺地尔(minoxidil), 化学名为 6-(哌嗪基)-2,4-嘧啶二胺-3-氧化物, 是一种抗高血压药^[1], 局部长期使用时, 可使毛发增生, 可治疗脱发症, 如斑秃及易性秃发等。1988 年美国 FDA 首次批准 2% 米诺地尔溶液外用治疗男性型雄激素性脱发。根据 2007 年版化妆品卫生规范规定, 米诺地尔为化妆品禁用组分^[2]。由于米诺地尔具有较好的生发作用, 目前市场上发现有育发类化妆品中非法添加米诺地尔的现象, 给此类化妆品的使用带来较大的安全隐患。亟需建立快速、准确、可靠的检测化妆品中米诺地尔的方法, 以加强对育发类化妆品的有效监管。潘莉等^[3]报道了用 HPLC 测定发用类化妆品中的米诺地尔, 但需经过 MCX 固相萃取柱净化富集、N₂ 吹干、浓缩等复杂的样品前处理过程, 方法精密度不理想(RSD 为 2.9%~6.6%), 操作繁琐费时且成本较高; 虞成华等^[4]采用液相色谱-串联质谱法测定了化妆品中的米诺地尔, 样品前处理简单, 灵敏度较高, 但方法精密度较差(RSD 为 3.5%~8.8%), 且对仪器设备要求很高, 普及性

有所欠缺, 不适于基层检验机构开展日常监督检查。本实验优化色谱条件和检测波长, 建立了以 HPLC 分离测定化妆品中的米诺地尔, 必要时用 LC-MS/MS 确证的完整检测方法, 样品前处理简单、快速准确、专属性强、精密度好、灵敏度高, 可用于育发类化妆品中米诺地尔的日常检测, 本方法已被国家食品药品监督管理局正式采用。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent 1200 高效液相色谱仪(带自动进样器、柱温箱、二极管阵列检测器), Agilent 6430 三重四极杆质谱仪, 配有电喷雾电离源(ESI), Agilent chemstation 及 masshunter 数据工作站。

1.2 试剂

米诺地尔对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 100238-199701, 含量: 99.5%); 乙腈、甲醇、甲酸、甲酸铵均为色谱纯(德国 Merck 公司); 冰醋酸、磺基丁二酸钠二辛酯、高氯酸均为分析纯; 水为重蒸水。17 批育发类化妆品为监督抽检

作者简介: 罗金文, 男, 硕士, 副主任药师

Tel: (0571)86458914

E-mail: luojw31@163.com

样品, 由浙江省食品药品监督管理局从浙江市场抽取。

2 方法与结果

2.1 HPLC 色谱条件

采用迪马 C₁₈ 柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-水-冰醋酸(730:270:10)(1 000 mL⁻¹ 中含磺基丁二酸钠二辛酯 3.0 g, 并用高氯酸调节 pH 值至 3.0); 检测波长为 280 nm(DAD 检测), 流速为 1.0 mL·min⁻¹, 进样量为 10 μL。

2.2 LC-MS/MS 确证条件

采用 Zorbax Eclipse Plus C₁₈ 柱(2.1 mm×100 mm, 1.8 μm); 流动相为含 0.1% 甲酸及 5 mmol·L⁻¹ 甲酸铵的乙腈溶液-含 0.1% 甲酸及 5 mmol·L⁻¹ 甲酸铵的水溶液(20:80); 流速为 0.4 mL·min⁻¹; 电喷雾电离源(ESI), 正离子检测; 电喷雾电压为 4 kV; 加热毛细管温度为 350 °C; 干燥气(N₂)流速为 12 L·min⁻¹, 雾化气(N₂)压力为 50 psi; 碰撞能量为 20 eV; 检测方式为全扫描。

2.3 溶液制备

2.3.1 对照品溶液的制备 精密称取米诺地尔对照品 25 mg, 置于 100 mL 量瓶中, 加流动相适量溶解并定容, 摇匀, 即得米诺地尔对照品储备溶液。

2.3.2 样品溶液的制备 精密称取样品约 1.0 g, 置于 50 mL 量瓶中, 加流动相约 40 mL, 常温超声提取 15 min, 用流动相定容, 摇匀, 经 0.45 μm 滤膜滤过, 必要时用流动相稀释。

2.4 专属性试验

取空白样品、阳性样品及空白加标样品(取空白样品 1.0 g, 置 50 mL 量瓶中, 精密加入米诺地尔对照品储备溶液 5.0 mL, 即得), 分别按“2.3.2”项下方法进行样品处理后, 按“2.1”项下色谱条件测定, 结果米诺地尔与空白基质中的干扰成分分离良好, 见图 1, 表明方法专属性符合要求。

2.5 线性关系考察

精密量取米诺地尔对照品储备溶液 0.20, 1.00, 5.00, 10.00, 20.00 mL, 分别置于 50 mL 量瓶中, 用流动相定容, 摇匀。配成米诺地尔浓度分别为 1, 5, 25, 50, 100 μg·mL⁻¹ 的对照品溶液。分别精密量取 10 μL 注入高效液相色谱仪, 记录色谱图。以米诺地尔浓度为横坐标 X, 峰面积为纵坐标 Y, 进行回归计算, 求得的直线回归方程为 $Y=61.71X+0.76(r=1.000\ 0)$ 。

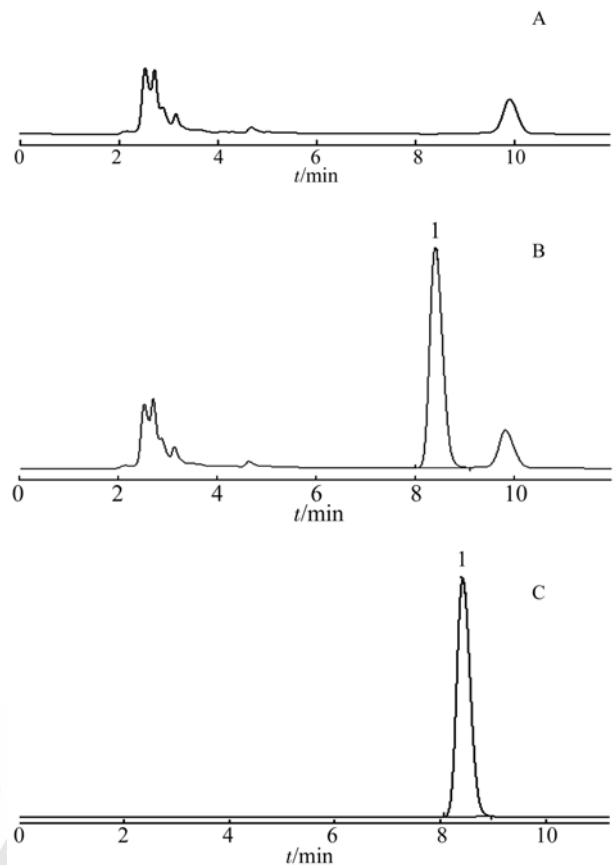


图 1 高效液相色谱图

A-空白样品; B-空白样品加入 25 μg·mL⁻¹ 米诺地尔对照品; C-阳性样品; 1-米诺地尔

Fig 1 HPLC chromatograms

A-blank sample; B-minoxidil added to blank sample to obtain a sample containing 25 μg·mL⁻¹ of minoxidil; C-positive sample; 1-minoxidil

2.6 回收率试验

精密称取样品约 1 g, 置 50 mL 量瓶中, 分别精密加入米诺地尔对照品约 25, 10, 2.5 mg 各 3 份, 加流动相约 40 mL, 超声 15 min, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 用 0.45 μm 滤膜滤过, 精密量取续滤液 5 mL, 置 50 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 分别精密量取 10 μL, 按“2.1”项下色谱条件测定, 结果高、中、低 3 个浓度的回收率分别为 99.6%(RSD 0.7%, n=3)、100.3%(RSD 0.8%, n=3)、101.2%(RSD 0.3%, n=3), 平均回收率为 100.4%(RSD 0.8%, n=9)。

2.7 精密度及溶液稳定性

取含米诺地尔约 2% 的阳性样品按上述方法分别在同一天内平行测定 6 份, 日内精密度为 0.8%(n=6), 连续 3 d 测定, 日间精密度为 1.4%(n=3); 取含米诺地尔 25 μg·mL⁻¹ 的空白样品加标溶液, 分别室温放置 0, 1, 2, 4, 8, 12, 24 h 后

测定,米诺地尔峰面积的RSD为1.1%,表明米诺地尔样品溶液在室温放置24 h后峰面积无明显变化,基本稳定。

2.8 检测限、定量限

取米诺地尔对照品加入空白样品中,按“2.3.2”项下方法制备溶液,用流动相逐级稀释后按“2.1”项下色谱条件测定,以S/N约为3作为检测限,以S/N约为10作为定量限,当取样量为1 g时,最低检测浓度约 $5 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,最低定量浓度约 $20 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ($n=3$, RSD=1.5%)。

2.9 样品测定

按上述方法,对市场上5家企业生产的共17批育发类化妆品进行了检测,结果有2家企业生产的共3批样品在米诺地尔对照品色谱峰保留时间处出现一色谱峰,见图1。且该色谱峰的DAD实时光谱图与米诺地尔对照品一致,初步怀疑该3批样品中含有米诺地尔。

3 讨论

本实验分别考察了甲醇-水、甲醇-0.1%磷酸溶液和甲醇-磺基丁二酸钠二辛酯溶液(pH 3.0)3种流动相体系,结果发现在甲醇-磺基丁二酸钠二辛酯溶液(pH 3.0)流动相体系中,米诺地尔在 C_{18} 柱上有更好的保留,与化妆品中其他干扰成分分离更好,这可能是因为在该流动相体系中米诺地尔与磺基丁二酸钠二辛酯形成离子对,从而增强了其在 C_{18} 柱上的保留。且在该流动相体系中米诺地尔在280 nm波长处有最大吸收,在该检测波长下色谱图基线平稳,干扰峰更少,故选择甲醇-磺基丁二酸钠二辛酯溶液(pH 3.0)为流动相,在280 nm波长检测。

对“2.9”项下怀疑含有米诺地尔的阳性样品,按“2.2”项下条件进行了LC-MS/MS分析,结果该3批样品中疑似色谱峰的一级、二级质谱图均与米诺地尔对照品一致,可确证该3批样品中含有米诺地尔,米诺地尔的二级全扫描质谱图见图2。按“2.1”项下方法定量测定,3批样品含米诺地尔分别为2.0%, 2.1%, 3.0%,达到了米诺地尔生发作用的有效浓度,极有可能为非法添加。

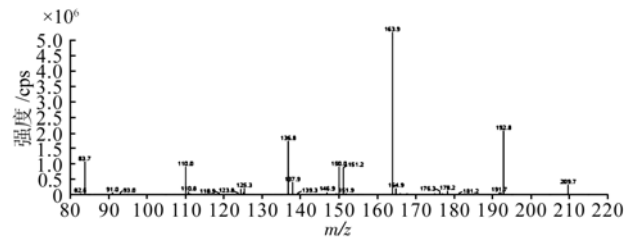


图2 米诺地尔的二级全扫描质谱图

Fig 2 Full scan MS-MS Spectra of minoxidil

本实验建立的育发类化妆品中米诺地尔的检测方法快速准确、专属性强、精密度好、灵敏度高,可用于育发类化妆品中米诺地尔的日常检测。

REFERENCES

- [1] Ch.P(2010)Vol II(中国药典2010年版·二部)[S]. 2010: 285.
- [2] ZHAO T G. Hygienic Standard for Cosmetics(化妆品卫生规范)[M]. Beijing: Military Medical Science Press, 2007: 10.
- [3] PAN L, GUO X D, LUO H Y, et al. Determination of minoxidil in hair care cosmetics by high performance liquid chromatography [J]. J Jiangnan Univ(Nat Sci)(江南大学学报:自然科学版), 2011, 10(2): 217-220.
- [4] YU C H, ZHU W, LU Z Y, et al. Determination of minoxidil in cosmetics by liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Flavour Fragrance Cosmetics(香精香料化妆品), 2011(4): 36-38.

收稿日期: 2012-06-28

GC 测定胸腺法新中5种有机溶剂残留量

程磊¹, 李玉兰², 唐洋明³, 毕开顺¹, 陈晓辉^{1*}, 王铁杰^{2*}(1.沈阳药科大学药学院, 沈阳 110016; 2.深圳市药品检验所, 广东 深圳 518057; 3.深圳翰宇药业股份有限公司, 广东 深圳 518057)

摘要: 目的 建立胸腺法新中5种有机溶剂残留量的气相测定方法。方法 采用气相色谱法, FID检测器, DB-624毛细管色谱柱, 以正丁醇为内标进行测定。结果 5种有机溶剂完全分离($R>2.0$), 理论板数均 $>10\ 000$, 样品不干扰5种残留溶剂的测定, 线性关系良好, 甲醇、乙腈、二氯甲烷、吡啶、N,N-二甲基甲酰胺(DMF)的线性范围分别为 $30\sim 480 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($r=0.999\ 8$), $4.1\sim 65.6 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($r=0.999\ 9$), $6.0\sim 96 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($r=0.999\ 2$), $2.0\sim 32.0 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($r=0.999\ 3$), $8.8\sim 141 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($r=0.999\ 9$)。

作者简介: 程磊, 女, 硕士生 Tel: (0755)26031735 E-mail: chenglei2267673@163.com *通信作者: 陈晓辉, 女, 博士, 教授 Tel: (024)23986259 E-mail: cxh_syphu@yahoo.com.cn 王铁杰, 女, 博士, 教授 Tel: (0755)26031728 E-mail: wangtj88@163.com