

超高效液相色谱-串联质谱法测定化妆品中 86种兴奋剂

冯博颖¹, 何洪源¹, 陆江海², 王小兵², 沈尧^{1*}, 武晓珮^{2*}

(1. 中国人民公安大学 侦查学院, 北京 100038; 2. 国家体育总局反兴奋剂中心 食品药品检测实验室, 北京 100029)

摘要: 针对水基、乳液、霜类及油基4类化妆品基质, 采用含1%甲酸的乙腈提取结合EMR-Lipid过滤型固相萃取柱净化的方式进行样品处理, 并通过动态多反应监测模式(dMRM)进行超高效液相色谱-串联质谱检测, 实现了化妆品中86种兴奋剂的测定。该方法中去甲苯福林与奥克巴胺在2~150 μg/L范围内线性关系良好($r^2>0.990$), 辛胺醇、氢吗啡酮、甲卡西酮、奥洛福林和索安非他在2~200 μg/L范围内线性关系良好($r^2>0.990$), 其余79种目标物在2~400 μg/L范围内线性关系良好($r^2>0.990$)。方法检出限为0.012 5~125 μg/kg, 回收率为80.0%~120%, 相对标准偏差不大于20%, 符合方法学要求。采用该方法在实际样品中检出较高含量的咖啡因(112.01、500.90、242.95、168.12、416.77 μg/kg)和麻黄碱(531.75、33.22 μg/kg), 麻黄碱均出现在含有大量植物提取物的霜类产品中。方法操作简便、灵敏度高、准确度高, 适用于化妆品中多种刺激剂与麻醉剂类兴奋剂的快速筛查与定量分析。该方法可为预防运动员接触受刺激剂和麻醉剂污染的产品提供技术支持, 从而保障其参赛兴奋剂安全。

关键词: 超高效液相色谱-串联质谱法; 动态多反应监测模式; 兴奋剂; 化妆品

中图分类号: O657.7; TQ658 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(2026)05-1079-10

Determination of 86 Doping Substances in Cosmetics by Ultra-high Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

FENG Bo-ying¹, HE Hong-yuan¹, LU Jiang-hai², WANG Xiao-bing², SHEN Yao^{1*},
WU Xiao-pei^{2*}

(1. School of Criminal Investigation, People's Public Security University of China, Beijing 100038, China;
2. Food and Drug Anti-doping Laboratory, China Anti-doping Agency, Beijing 100029, China)

Abstract: For toner, lotion, cream, and oil-based cosmetic matrices, the sample preparation was performed using acetonitrile containing 1% formic acid extraction combined with EMR-Lipid solid phase extraction column purification. Ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry detection was performed through dynamic multiple reaction monitoring mode, achieving trace determination of 86 doping substances in cosmetics. In this method, norfenefrine and octopamine showed a linear relationship within the range of 2 to 150 μg/L ($r^2>0.990$), while heptaminol, hydromorphone, methcathinone, oxilofrine and solriamfetol were linear within the range of 2 to 200 μg/L ($r^2>0.990$). The remaining 79 target substances had a good linear relationship within the range of 2 to 400 μg/L ($r^2>0.990$). The detection limit of this method was 0.012 5 to 125 μg/kg, with recoveries ranging from 80.0% to 120% and relative standard deviations not more than 20%, meeting the methodological requirements. In addition, this method has detected high contents of caffeine (112.01, 500.90, 242.95, 168.12, 416.77 μg/kg) and ephedrine (531.75, 33.22 μg/kg) in actual sample tests. Ephedrine was found in all the cream products containing a large amount of plant extracts. This method is simple to operate, highly sensitive and accurate, and is suitable for the rapid screening and quantitative analysis of multiple stimulants and anesthetics in cosmetics. It provides strong technical support for preventing athletes from being exposed to products contaminated with

收稿日期: 2026-01-09; 修回日期: 2026-03-31

基金项目: 国家体育总局科技创新项目(KJCX068)

* 通讯作者: 沈尧, 博士, 副教授, 研究方向: 物理化学和人工智能, E-mail: shenyao@ppsuc.edu.cn
武晓珮, 博士, 助理研究员, 研究方向: 兴奋剂检测, E-mail: wuxiaopei@chinada.cn

网络首发日期: 2026-04-09

stimulants and anesthetics, ensuring the safety of athletes from doping in competitions.

Key words: ultra-high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry; dynamic multiple reaction monitoring; doping substances; cosmetics

世界反兴奋剂机构(WADA)明确规定,运动员对其体内出现的任何兴奋剂物质负有最终责任。该原则要求必须对运动员使用的食品、营养品及个人护理产品中可能存在的禁用物质开展全面监测,以防范兴奋剂污染或违规事件发生。当前,针对兴奋剂物质的检测主要集中于尿液、血液、肉食品及保健品等基质^[1-6],而对化妆品基质的研究则多聚焦于激素、抗菌剂等常规监管项目。

根据WADA发布的《世界反兴奋剂条例国际标准禁用清单》^[7](简称《禁用清单》),化妆品中可能出现的兴奋剂种类繁多。除糖皮质激素、性激素等常见非法添加物外, β_2 -激动剂、 β -阻断剂、刺激剂与麻醉剂虽非化妆品常规添加目标物,但已有研究证实其存在并具备透皮吸收的可能。例如,Wu等^[8]在化妆品中检出了微量 β_2 -激动剂去甲乌药碱。值得注意的是,植物源性化妆品可能因原料带入而引入刺激剂(如土的宁、麻黄碱)及麻醉剂(如吗啡)类物质,Xun等^[9]、曹梅荣等^[10]及吕小会等^[11]分别建立了相关检测方法。然而,目前针对化妆品中刺激剂与麻醉剂类兴奋剂的检测方法研究仍相对薄弱,给运动员专用化妆品的全面筛查带来了挑战。

在现有检测技术方面,气相色谱-质谱联用法(GC-MS)^[12-13]需衍生化处理,操作繁琐;高分辨液质联用技术(UHPLC-HRMS)^[14]虽通量高,但仪器昂贵,灵敏度与通量难以兼顾。相比之下,超高效液相色谱-三重四极杆串联质谱法(UHPLC-MS/MS)兼具高特异性和高灵敏度,已成为复杂基质中痕量物质精准分析的首选技术^[15-18]。在样品前处理方面,常规的溶剂萃取^[19]与超声提取^[20]净化能力有限,对于分子量小于300 Da的刺激剂类目标物,基质干扰易导致假阳性结果。QuEChERS方法^[21]与固相萃取法(SPE)^[22-23]虽可提高净化效果,但QuEChERS在处理高含油量等复杂基质时净化能力存在局限,而传统SPE操作繁琐、难以满足高通量检测需求。基于此,本研究以WADA《禁用清单》^[7]中S6(刺激剂)与S7(麻醉剂)章节明确列出的86种物质为目标物,拟将QuEChERS与过滤型固相萃取柱联用,在简化操作步骤的同时提高净化效率,建立一种适用于复杂基质化妆品的超高效液相色谱-串联质谱高通量检测方法。该研究旨在填补相关领域的方法空白,为运动员兴奋剂风险防控提供技术支撑。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

超高效液相色谱-串联质谱仪(Agilent 6495C)、Captivia EMR-Lipid 固体萃取柱(6 mL/600 mg)、无水硫酸镁(美国Agilent公司);PSA和 C_{18} 粉末(德国CNW科技公司);涡旋仪(美国Scientific Industries公司);氮吹仪(英国Techne公司);离心机(美国Thermo Fisher科技公司);2 mL棕色玻璃样品瓶、200 μ L聚丙烯微量瓶(美国Thermo Fisher科技公司);5 mL聚丙烯离心管和10 mL玻璃管(美国Corning Inc公司)。

86种刺激剂和麻醉剂标准品及2种同位素标记的标准品(吗啡- D_3 、司来吉兰- D_3)(天津阿尔塔科技有限公司);色谱纯乙腈、甲酸(美国Dikma公司);超纯水(英国默克公司Milli-Q处理系统制备)。

1.2 标准溶液的配制

分别准确称取86种兴奋剂标准物质1 mg至2 mL棕色玻璃瓶中,3种含酯基的刺激剂(哌甲酯、甲氯芬酯、芬布酯)用乙腈配制,其余83种物质用甲醇配制成质量浓度为1 mg/mL的储备液,均于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冷冻保存。移取上述储备液10 μ L于2 mL棕色玻璃样品瓶中,用甲醇或乙腈配制为10 μ g/mL的混合标准中间液。准确称取混合标准中间液100 μ L至2 mL棕色玻璃样本瓶中,用甲醇或乙腈配制为1 μ g/mL的混合标准工作液。

1.3 样品前处理

水基类样品:准确称取 $0.2\text{ g}\pm 0.02\text{ g}$ 样品于15 mL离心管中,加入40 ng 2种同位素标记标准品,再加入6 mL含1%甲酸的乙腈,涡旋混匀后超声提取30 min,提取液以8 000 r/min离心8 min,吸取上清液转移至10 mL玻璃管,于 $45\text{ }^{\circ}\text{C}$ 氮气吹干。残留物以500 μ L乙腈-甲酸铵水溶液(体积比1:9)复溶,涡旋混匀后经 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 水性膜过滤,滤液待进样分析。

乳液、霜基、油基类样品: 准确称取0.2 g±0.02 g样品于15 mL离心管中, 加入40 ng 2种同位素标记标准品, 再加入1.2 mL水和4.8 mL含1%甲酸的乙腈, 涡旋混匀后超声提取30 min, 提取液以8 000 r/min离心8 min, 吸取上清液过EMR-Lipid过滤型固相萃取柱, 滤液流入装有0.3 g MgSO₄的玻璃试管, 待充分吸收水分后以8 000 r/min离心8 min, 吸取上清液至10 mL玻璃管中, 于45 °C氮气吹干。残留物以500 μL乙腈-甲酸铵水溶液(体积比1:9)复溶, 涡旋混匀后经0.22 μm水性膜过滤, 滤液待进样分析。

1.4 色谱条件

Agilent 1290 Infinity III超高效液相色谱仪, 色谱柱为Agilent ZORBAX Eclipse Plus C₁₈(2.1 mm×100 mm, 1.8 μm); 流动相A为10 mmol/L甲酸铵水溶液(含0.1%甲酸), 流动相B为乙腈; 梯度程序为: 0~4 min, 10% B; 4~9 min, 10%~15% B; 9~14 min, 15%~50% B; 14~16 min, 50%~95% B; 16~18 min, 95%~10% B; 18~20 min, 10% B。流速为0.25 mL/min, 柱温为40 °C, 进样体积为5 μL。

1.5 质谱条件

Agilent 6495C三重四极杆质谱仪, 离子源为Agilent AJS电喷雾离子源(ESI), 正离子模式; 雾化压力为3.10×10⁵ Pa; 鞘气流速11 mL/min; 鞘气温度为250 °C; 干燥气速为14 mL/min; 干燥气温度为200 °C; 喷嘴电压为±500 V; 毛细管电压为4 000 V(正离子); 离子漏斗的射频聚焦电压(iFunnel)参数为150 V(正离子)。扫描模式为动态多反应监测(dMRM)模式。

2 结果与讨论

2.1 质谱条件的选择

刺激剂类物质主要包括苯乙胺类衍生物、哌啶类、吡咯烷类及其他含氮杂环化合物, 其结构常含有苯环、氨基(—NH₂)、甲基取代氨基(—CH₃—NH—)及羟基(—OH)等官能团。这些化合物在正离子电喷雾电离(ESI+)条件下, 氨基易质子化形成稳定的[M+H]⁺离子, 苯环共轭体系亦有助于离子的稳定化。麻醉剂类物质主要为阿片类及其合成类似物, 结构上多具有菲环或苯并咪喃环系, 且常含有叔胺基(如哌啶环、吡咯烷环)和酚羟基, 在正离子化条件下仍以质子化路径为主, 响应通常优于负离子模式。由于曲马多在质谱裂解中仅能生成单一特征碎片离子(*m/z* 58.1), 故选择其准分子离子(*m/z* 264.2)相邻的同位素峰(*m/z* 263.2→58.1和*m/z* 265.2→58.1)作为定性离子对, 并以*m/z* 264.2→58.1作为定量离子对进行检测。化合物的保留时间均通过相应标准品在“1.4”色谱条件下的分析结果进行确认。详细质谱参数见表1。

表1 86种兴奋剂的质谱参数和所属类别

Table 1 Mass spectrometry parameters and categories of 86 doping substances

No.	Category	Name	Ionization mode	Retention time/min	Precursor ion(<i>m/z</i>)	Quantitative ion(<i>m/z</i>) (CE ^{*/} V)	Fragment ion(<i>m/z</i>) (CE/V)
1	刺激剂	2-Amino-5-methylhexane (1, 4-二甲基戊胺, 1, 4-DMAA)	[M+H] ⁺	6.22	116.0	193.1(20)	57.0(10), 41.0(30)
2		Adrafinil/Modafinil(阿曲非尼/莫达非尼)	[M+H] ⁺	13.28	167.0	152.0(10)	165.0(5)
3		Amfepramone(安非拉酮)	[M+H] ⁺	5.56	206.2	105.0(24)	100.1(24)
4		Amiphenazole(阿米苯唑)	[M+H] ⁺	4.50	192.1	117.0(32)	106.0(28)
5		Amphetamine(安非他命)	[M+H] ⁺	3.67	136.1	91.0(16)	119.0(8)
6		Benfluorex(苯氟雷司)	[M+H] ⁺	15.93	352.0	230.0(13)	158.9(37)
7		Benzphetamine(苯非他明)	[M+H] ⁺	13.21	240.2	91.0(24)	119.0(12)
8		Benzylpiperazine(苄基哌嗪)	[M+H] ⁺	2.71	177.1	91.0(24)	65.0(40)
9		β-Methylphenethylamine(β-甲基苯乙胺)	[M+H] ⁺	3.96	136.2	91.1(17)	119.0(5)
10		Bupropion(安非他酮)	[M+H] ⁺	12.40	240.0	183.9(9)	130.9(29)
11		Caffeine(咖啡因)	[M+H] ⁺	3.75	195.1	138.0(20)	42.0(40)
12		Carphedon(卡非多)	[M+H] ⁺	10.20	219.1	174.0(8)	129.0(24)
13		Cathine(卡西酮)	[M+H] ⁺	2.22	152.1	134.0(8)	117.0(16)
14		Chlorphentermine(对氯苯丁胺)	[M+H] ⁺	11.70	184.0	124.9(25)	167.0(9)
15		Clobenzorex(氯苯雷司)	[M+H] ⁺	13.64	260.1	91.0(28)	124.9(28)
16		Cocaine(可卡因)	[M+H] ⁺	11.90	304.2	182.0(17)	82.0(29)
17		Cropropamide(克罗丙胺)	[M+H] ⁺	13.67	241.2	100.1(20)	69.0(28)

(续表 1)

No.	Category	Name	Ionization mode	Retention time/min	Precursor ion(<i>m/z</i>)	Quantitative ion(<i>m/z</i>) (CE*/V)	Fragment ion(<i>m/z</i>) (CE/V)
18	刺激剂	Crotetamide(克罗乙胺)	[M+H] ⁺	12.34	227.0	86.0(17)	69.0(29)
19		Cyclazodone(环丙唑酮)	[M+H] ⁺	12.51	217.0	145.9(13)	106.0(20)
20		Dimethylamfetamine(二甲基苯丙胺)	[M+H] ⁺	5.51	164.1	91.0(20)	119.0(8)
21		Dobutamine(多巴酚丁胺)	[M+H] ⁺	15.41	302.0	107.0(29)	136.9(21)
22		Ephedrine/Pseudoephedrine(麻黄碱/伪麻黄碱)	[M+H] ⁺	2.74	166.1	148.0(8)	115.0(28)
23		Etamivan(香草二乙胺)	[M+H] ⁺	12.53	224.1	150.9(16)	122.9(28)
24		Etilamphetamine(乙非他明)	[M+H] ⁺	5.51	164.1	91.0(20)	119.0(8)
25		Etilefrine(依替福林)	[M+H] ⁺	1.41	182.0	164.0(9)	91.0(29)
26		Famprofazone(泛普法宗)	[M+H] ⁺	17.01	378.3	91.0(40)	119.0(28)
27		Fenbutrazate(芬布酯)	[M+H] ⁺	16.86	368.2	191.0(20)	91.0(40)
28		Fencamfamin(芬坎法明)	[M+H] ⁺	12.64	216.2	91.0(36)	67.0(20)
29		Fencamine(芬咖明)	[M+H] ⁺	10.77	385.2	236.0(20)	91.0(40)
30		Fenetylline(芬乙茶碱)	[M+H] ⁺	11.56	342.2	91.0(40)	119.0(16)
31		Fenfluramine(芬氟拉明)	[M+H] ⁺	12.84	232.0	158.9(21)	158.9(21), 46.0(13)
32		Fenproporex(芬普雷司)	[M+H] ⁺	5.71	189.1	91.0(20)	119.0(8)
33		Heptaminol(辛胺醇)	[M+H] ⁺	1.54	146.2	128.0(8)	41.1(32)
34		Isometheptene(异美汀)	[M+H] ⁺	9.50	142.2	69.0(12)	41.1(32)
35		Malondialdehyde(丙二醛, MDA)	[M+H] ⁺	4.29	180.1	163.0(8)	105.0(24)
36		Methylenedioxyethylamphetamine(3, 4-亚甲二氧基乙基苯丙胺, MDEA)	[M+H] ⁺	7.19	208.1	163.0(8)	105.0(28)
37		Methylenedioxymethamphetamine(3, 4-亚甲二氧基甲基苯丙胺, MDMA)	[M+H] ⁺	5.42	194.1	163.0(8)	105.0(24)
38		Meclofenoxate(甲氧芬酯)	[M+H] ⁺	12.01	258.0	72.0(10)	213.0(10), 141.0(20)
39		Mefenorex(美芬雷司)	[M+H] ⁺	11.91	212.1	91.0(24)	119.0(8)
40		Mephedrone(甲氧麻黄酮)	[M+H] ⁺	4.27	178.0	160.0(9)	145.0(21)
41		Mephentermine(美芬丁胺)	[M+H] ⁺	7.15	164.0	91.0(28)	133.0(10), 65.0(40)
42		Mesocarb(美索卡)	[M+H] ⁺	15.98	323.2	91.1(22)	176.9(6), 119.0(6)
43		Metamphetamine(甲基安非他命)	[M+H] ⁺	4.64	150.2	91.1(20)	119.0(10), 65.1(20)
44		Methcathinone(甲卡西酮)	[M+H] ⁺	1.13	164.0	131.0(21)	146.0(9)
45		Methylephedrine(甲基麻黄碱)	[M+H] ⁺	3.16	180.0	162.0(13)	46.1(17)
46		Methylhexaneamine(甲基己胺)	[M+H] ⁺	5.91	116.2	57.0(25)	41.0(25)
47		Methylphenidate(哌甲酯)	[M+H] ⁺	11.10	234.0	84.0(17)	56.0(40)
48		Morazone(吗拉宗)	[M+H] ⁺	12.35	378.0	201.0(10)	185.0(45), 93.0(45)
49		Nikathamide(尼可刹米)	[M+H] ⁺	7.58	179.1	108.0(20)	72.1(16)
50		N-Methylphenethylamine(N-甲基安非他命)	[M+H] ⁺	2.79	136.2	105.0(13)	77.1(37)
51		Norfenefrine(去甲苯福林)	[M+H] ⁺	1.07	119.1	136.0(5)	119.1(15), 154.0(15)
52		Norfenfluramine(去甲芬氟拉明)	[M+H] ⁺	12.10	204.1	159.0(16)	109.0(40)
53		Octopamine(奥克巴胺)	[M+H] ⁺	1.07	154.1	136.0(8)	91.0(20)
54		Ortetamine(奥替他明)	[M+H] ⁺	7.67	150.1	133.0(8)	77.1(40)
55		Oxilofrine(奥洛福林)	[M+H] ⁺	1.19	182.1	164.0(8)	105.0(24)
56		Pemoline(匹莫林)	[M+H] ⁺	5.00	177.0	106.0(13)	79.0(29), 77.0(50)
57		Pentetrazol(戊四氮)	[M+H] ⁺	4.21	139.1	96.0(12)	55.0(28)
58		Phendimetrazine(苯甲曲嗪)	[M+H] ⁺	4.50	192.1	146.0(24)	115.0(36)
59		Phenethylamine(苯乙胺)	[M+H] ⁺	2.41	122.2	105.0(9)	77.1(33)
60		Phenmetrazine(芬美曲嗪)	[M+H] ⁺	4.26	178.1	115.0(32)	117.0(20)
61		Phenpromethamine(苯丙甲胺)	[M+H] ⁺	4.64	150.0	91.0(17)	119.0(9)
62		Phentermine(芬特明)	[M+H] ⁺	6.03	150.1	91.0(24)	133.0(8)
63		Pholedrine(甲羟苯丙胺)	[M+H] ⁺	1.59	166.0	107.0(21)	135.0(9)
64		Pipradrol(哌苯甲醇)	[M+H] ⁺	12.47	268.1	250.0(9)	129.9(33)
65		<i>p</i> -Methylamfetamine(对-甲基安非他命)	[M+H] ⁺	7.67	150.1	133.0(8)	77.0(40)
66		Prenylamine(普尼拉明)	[M+H] ⁺	15.52	330.0	91.0(25)	212.1(20), 119.0(20)
67		Prolintane(普罗林坦)	[M+H] ⁺	12.79	218.2	91.0(28)	72.1(16)
68		Proylhexedrine(丙己君)	[M+H] ⁺	11.98	156.2	69.0(16)	41.1(36)
69		Pyrovalerone(吡咯戊酮)	[M+H] ⁺	12.88	246.0	105.0(25)	126.0(29)
70		Selegiline(司来吉兰)	[M+H] ⁺	8.63	188.1	91.0(24)	119.0(8)
71		Solriamfetol(索安非他)	[M+H] ⁺	2.67	195.2	91.0(20)	134.1(6), 117.1(11)
72		Strychnine(土的宁)	[M+H] ⁺	7.13	335.2	184.0(40)	156.0(40)
73		Tuaminoheptane(异庚胺)	[M+H] ⁺	6.22	116.2	57.0(13)	41.0(20)

(续表1)

No.	Category	Name	Ionization mode	Retention time/min	Precursor ion(m/z)	Quantitative ion(m/z) (CE*/V)	Fragment ion(m/z) (CE/V)
74		Tramadol(曲马多)	[M+H] ⁺	11.00	264.2 265.2 263.2	58.1(5)	-
75	麻醉剂	Buprenorphine(丁丙诺啡)	[M+H] ⁺	13.98	468.3	55.0(40)	101.0(40)
76		Dextromoramide(右吗拉胺)	[M+H] ⁺	14.56	393.0	306.0(15)	236(30), 167.0(35)
77		Fentanyl(芬太尼)	[M+H] ⁺	13.41	337.2	188.0(20)	216.1(25), 105.0(40)
78		Hydrocodone(氢可酮)	[M+H] ⁺	4.92	300.2	199.0(29)	171.0(40)
79		Hydromorphone(氢吗啡酮)	[M+H] ⁺	1.39	286.0	157.0(40)	226.9(30), 185.0 (25), 55.2(45)
80		Methadone(美沙酮)	[M+H] ⁺	14.66	310.2	265.0(9)	105.0(29)
81		Morphine(吗啡)	[M+H] ⁺	1.39	286.2	201.2(30)	165.2(40), 58.0(30)
82		Oxycodone(羟考酮)	[M+H] ⁺	4.03	316.2	298.1(17)	241.0(29)
83		Oxymorphone(羟吗啡酮)	[M+H] ⁺	1.54	302.1	161.1(35)	284.0(16), 242.2 (30), 227.0(28)
84		Pentazocine(喷他佐辛)	[M+H] ⁺	12.79	286.2	69.1(28)	41.1(40)
85		Pethidine(哌替啶)	[M+H] ⁺	12.03	248.2	70.1(32)	44.1(36)
86		Sufentanil(舒芬太尼)	[M+H] ⁺	14.34	387.1	238.0(20)	355.1(20), 110.9(30)

*CE: collision energy

在优化的色谱和质谱条件下, 86种目标物可实现良好分离。图1展示了其中6种代表性化合物的提取离子流色谱图。

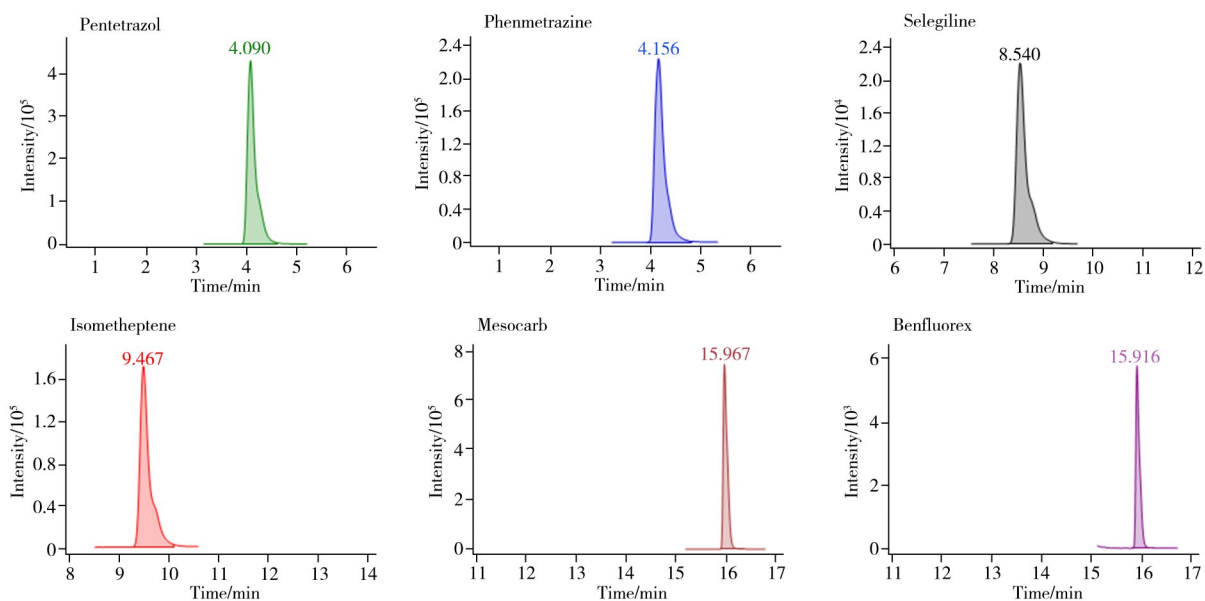


图1 6种代表性目标物的提取离子流色谱图

Fig. 1 Extracted ion chromatograms of six representative target substances

2.2 前处理条件的优化

2.2.1 提取溶剂的优化 以水基样品为代表性基质, 比较了乙酸乙酯-甲醇(体积比1:1)与乙腈对86种目标化合物的提取效果。结果表明, 多数化合物在乙腈中响应较高。部分极性较强的物质, 如阿米苯唑、安非他命、甲氧麻黄酮、苯甲曲秦和哌苯甲醇等, 由于其分子结构中含有易溶于极性溶剂的官能团, 在乙酸乙酯-甲醇中的提取效率极低甚至为零, 而在乙腈中则响应良好。另一些物质, 如吠芬雷司、芬太尼、克罗丙胺等, 在乙酸乙酯-甲醇中的提取效率相对较高, 但与乙腈中的提取效率差异不大。为兼顾整体提取效果, 初步选择乙腈作为提取溶剂。

EMR-Lipid固相萃取柱实现高效净化的核心在于控制溶剂环境。首先需用纯水将化妆品样品充分分散, 形成均质基质, 以利于后续萃取; 随后加入乙腈进行提取, 通过调节比例使最终提取液成为乙

腈-水(体积比 4 : 1)的混合溶液,在此环境下,吸附剂通过疏水相互作用可选择性保留脂类等非极性杂质,而目标分析物则可顺利过柱。若直接用纯乙腈提取并上样,脂类与吸附剂的作用力将大幅减弱,导致其与目标物共洗脱,净化完全失效。因此,采用的提取溶剂为乙腈-水(体积比 4 : 1)。

2.2.2 甲酸添加量的优化 为减少目标物在氮吹浓缩步骤中的挥发损失并提升其在质谱检测中的离子化效率,通常在提取溶剂中添加甲酸。进一步考察了不同浓度(0%、1%、3%和5%)甲酸酸化的乙腈作为提取溶剂对目标物提取效率的影响。选取其中 20 种物质(阿曲非尼、阿米苯唑、安非他命、苻非他明、丁丙诺啡、香草二乙胺、泛普法宗、芬布酯、芬乙茶碱、芬普雷司、甲氧麻黄酮、美索卡、吗拉宗、尼可刹米、喷他佐辛、哌替啶、土的宁、普尼拉明、异庚胺、舒芬太尼)为代表,如图 2 所示,大多数目标物在 1% 甲酸-乙腈体系中响应更高、更稳定。因此,综合提取效率与稳定性,最终选择 1% 甲酸-乙腈作为优化的提取溶剂体系。

2.2.3 提取溶剂用量的优化 鉴于 EMR-Lipid 过滤型固相萃取柱的上样体积为 6 mL,为探究此用量能否保证充分的提取效率,对比了 6 mL(柱体积上限)与 10 mL 两种用量下目标化合物的仪器响应值。结果显示,两种上样体积的响应值无明显差异,表明 6 mL 的提取效率与 10 mL 相当。为满足柱体积限制并节约溶剂,最终选择 6 mL 作为最优提取溶剂用量。

2.2.4 净化小柱的优化 对于乳液、霜剂、油类或含较多植物提取物的基质复杂化妆品,溶剂萃取难以满足 UHPLC-MS/MS 分析要求,必须结合有效的基质净化手段。油类样品经传统 QuEChERS 法净化后残留约 1~2 mL 基质,无法完全去除,导致重溶失败,样品无法用于 UHPLC-MS/MS 分析。因此,本研究采用过滤型固相萃取柱进行基质净化,并比较了 PRiME HLB 与 EMR-Lipid 两种小柱的净化效果。

结果表明,两种小柱在多数化合物上表现相似,但对部分物质的提取效率差异显著。例如,克罗丙胺在 PRiME HLB 上的峰面积更高;而对部分小分子化合物(如 1, 4-DMAA、安非他命、苻非他明),EMR-Lipid 则表现出更强的响应。从 86 种目标化合物的整体提取效率来看,EMR-Lipid 的提取效率优于 PRiME HLB,因此本研究采用 EMR-Lipid 固相萃取柱作为净化小柱。

2.2.5 无水硫酸镁添加量的优化 无水硫酸镁在净化过程中通过吸收样品中的残余水分,提高后续浓缩效率。然而,其用量不足会导致脱水不完全,而用量过大则不仅造成浪费,还可能因非特异性吸附导致目标化合物损失及回收率下降。本研究以油基作为代表性基质,考察了无水硫酸镁用量(0.1、0.3、0.5、0.7 g)对脱水效果与目标物响应的影响。结果表明,随着无水硫酸镁用量的增加,多数目标物的响应显著降低。0.1 g 无水硫酸镁因不能完全吸收水分而导致氮吹浓缩困难;而 0.3 g 无水硫酸镁可确保水分完全吸收,同时最大限度减少试剂用量与潜在干扰。因此,确定无水硫酸镁的最佳用量为 0.3 g。

2.2.6 复溶剂剂的优化 复溶剂剂中有机相与水相的比例直接影响目标物的溶解与再分配行为,并影响最终提取效率及色谱峰形。本研究考察了乙腈-水比例(3 : 7、2 : 8 和 1 : 9)对目标分析物复溶效率的影响,结果显示乙腈-水比例为 1 : 9 时,所有目标物的响应均略高于其他比例。该比例不仅确保目标物充分溶解,而且有效平衡了溶剂效应与基质效应,因此确定为后续实验的最佳复溶条件。

2.3 基质效应

化妆品成分复杂,基质效应(ME)可能会抑制或增强目标物的质谱响应,影响回收率。为评估前处

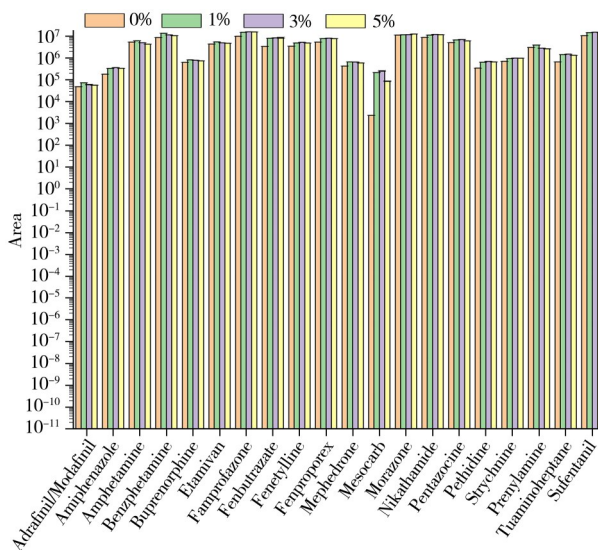


图 2 不同甲酸含量的乙腈对 20 种代表目标物的提取效率对比图($n=3$)

Fig. 2 Comparison chart of the extraction efficiency of 20 representative target compounds using acetonitrile with different contents of formic acid($n=3$)

理方法的有效性,本文考察了86种目标物在乳液、霜类、油类等不同基质中的基质效应,运算公式如下:IMEI=(空白基质匹配标准曲线斜率/纯溶剂标准曲线斜率-1)×100%。结果显示,经EMR-Lipid方法净化后,86种化合物的IMEI均在±20%以内,显著降低了基质干扰,验证了该方法的适用性与可靠性。

2.4 线性关系与检出限

本研究采用水基、乳液、霜类、油基4种空白基质溶液,分别配制系列浓度梯度标准工作溶液(400、200、100、50、20、10、5、2 μg/L),经仪器测定后得到线性方程、相关系数(r^2)、线性范围。

向上述4种化妆品基质中加入混合标准溶液,按照“1.3”前处理方法制备系列梯度浓度的基质样品,考察本方法在实际基质中的灵敏度。以信噪比(S/N)≥3确定检出限(LOD)。以霜类样品为代表,其线性方程、相关系数、线性范围与检出限见表2,序号与表1中物质对应。

结果表明,去甲苯福林与奥克巴胺在2~150 μg/L范围内内呈线性关系,辛酸醇、氢吗啡酮、甲卡西酮、奥洛福林和索安非他在2~200 μg/L范围内内呈线性关系,其余79种目标物在2~400 μg/L范围内线性良好,相关系数 $r^2>0.990$,符合定量分析要求。86种目标物在水基样品中的检出限为0.012 5~0.25 μg/kg,乳液样品中为0.062 5~50 μg/kg,霜类样品中为0.062 5~25 μg/kg,油基样品中为0.062 5~125 μg/kg。值得关注的是,氢可酮、氢吗啡酮、羟考酮及异庚胺等疏水性或中等极性的化合物,在乳液、霜类及油基中的检出限较水基样品显著升高。这表明化妆品基质中脂质、乳化剂等成分会增加此类化合物在提取净化过程中的吸附与损失,导致检测灵敏度下降。该结果证实了复杂化妆品基质对疏水性目标物的提取净化效率具有显著影响,凸显了针对此类基质进行方法优化的必要性。

表2 霜类样品中86种物质的线性方程、相关系数、线性范围与检出限

Table 2 Linear equations, correlation coefficients, linear ranges, and detection limits of 86 substances in cream samples

No.	Linear equation	Correlation coefficient(r^2)	Linear range/(μg·L ⁻¹)	LOD/(μg·kg ⁻¹)
1	$y=2\ 145.64x+19\ 910.94$	0.996	2~400	5
2	$y=1\ 310.77x+14\ 521.46$	0.992	2~400	0.125
3	$y=11\ 137.90x+37\ 814.26$	0.999	2~400	1.25
4	$y=2\ 741.20x+12\ 753.72$	0.998	2~400	25
5	$y=113\ 176.25x-842\ 717.34$	0.995	2~400	5
6	$y=452.87x+3\ 594.13$	0.997	2~400	5
7	$y=164\ 595.80x+807\ 839.14$	0.998	2~400	0.125
8	$y=66\ 632.88x+709\ 698.14$	0.993	2~400	5
9	$y=132\ 618.25x-1\ 018\ 653.14$	0.995	2~400	5
10	$y=13\ 311.04x+77\ 812.10$	0.997	2~400	0.125
11	$y=14\ 689.74x+226\ 425.94$	0.992	2~400	0.125
12	$y=63\ 340.50x+441\ 904.98$	0.997	2~400	0.125
13	$y=32\ 008.99x+252\ 626.42$	0.998	2~400	1.25
14	$y=14\ 935.80x+175\ 606.84$	0.991	2~400	25
15	$y=94\ 496.70x+393\ 302.98$	0.999	2~400	0.125
16	$y=120\ 167.37x+376\ 117.34$	0.999	2~400	1.25
17	$y=44\ 786.36x+203\ 098.49$	0.999	2~400	0.125
18	$y=19\ 153.61x+121\ 075.87$	0.998	2~400	0.125
19	$y=36\ 817.55x+502\ 106.86$	0.993	2~400	0.125
20	$y=296\ 054.93x+1\ 270\ 057.72$	0.998	2~400	1.25
21	$y=352.15x+2\ 212.37$	0.997	2~400	5
22	$y=251\ 297.21x+2\ 904\ 469.36$	0.993	2~400	1.25
23	$y=77\ 932.46x+955\ 513.95$	0.995	2~400	0.062 5
24	$y=297\ 785.08x+1\ 221\ 640.45$	0.998	2~400	1.25
25	$y=57\ 706.37x+154\ 371.34$	0.999	2~200	1.25
26	$y=115\ 675.29x+1\ 292\ 394.41$	0.99	2~400	0.125
27	$y=99\ 096.37x+697\ 578.38$	0.996	2~400	0.125
28	$y=90\ 792.50x+686\ 430.96$	0.996	2~400	0.125
29	$y=105\ 692.17x+371\ 378.58$	0.999	2~400	5
30	$y=52\ 828.09x+265\ 550.95$	0.998	2~400	5
31	$y=120\ 026.35x+292\ 283.49$	0.998	2~400	0.125
32	$y=69\ 753.78x+559\ 611.42$	0.996	2~400	0.125
33	$y=7\ 165.60x+33\ 338.93$	0.991	2~200	1.25
34	$y=53\ 916.03x+157\ 735.77$	0.999	2~400	25
35	$y=53\ 424.06x+351\ 822.68$	0.999	2~400	25

(续表 2)

No.	Linear equation	Correlation coefficient(r^2)	Linear range/ $(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	LOD/ $(\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1})$
36	$y=141\ 487.69x+919\ 832.75$	0.996	2~400	25
37	$y=137\ 345.91x+1\ 108\ 037.50$	0.994	2~400	1.25
38	$y=16\ 943.63x+173\ 403.14$	0.995	2~400	125
39	$y=743.71x+38\ 557.43$	0.988	2~400	0.125
40	$y=4\ 834.94x+20\ 432.62$	0.998	2~400	25
41	$y=58\ 808.07x+177\ 033.62$	0.999	2~400	2.5
42	$y=89\ 493.23x+647\ 521.88$	0.997	2~400	0.125
43	$y=689\ 049.59x+6\ 462\ 959.46$	0.992	2~400	5
44	$y=141.33x+2\ 322.59$	0.995	2~200	0.125
45	$y=70\ 676.68x+474\ 916.25$	0.997	2~400	25
46	$y=2\ 538.57x+30\ 880.60$	0.994	2~400	25
47	$y=139\ 089.72x+970\ 989.08$	0.995	2~400	1.25
48	$y=126\ 227.77x+577\ 187.81$	0.998	2~400	1.25
49	$y=129\ 081.90x+878\ 925.72$	0.997	2~400	0.125
50	$y=124\ 049.47x+1\ 308\ 795.22$	0.992	2~400	0.125
51	$y=2\ 727.89x+19\ 261.28$	0.996	2~150	0.062 5
52	$y=13\ 080.98x+118\ 978.50$	0.996	2~400	25
53	$y=2\ 037.04x+21\ 482.98$	0.988	2~150	0.125
54	$y=37\ 110.61x+294\ 568.32$	0.996	2~400	5
55	$y=68\ 862.32x-46\ 249.92$	0.996	2~200	1.25
56	$y=18\ 904.90x+187\ 390.12$	0.996	2~400	0.062 5
57	$y=55\ 006.82x+568\ 591.26$	0.992	2~400	0.125
58	$y=5\ 086.09x+23\ 230.51$	0.998	2~400	2.5
59	$y=25\ 185.96x+342\ 520.07$	0.991	2~400	0.125
60	$y=36\ 963.16x+193\ 984.27$	0.998	2~400	5
61	$y=347\ 513.03x+3\ 249\ 684.70$	0.991	2~400	5
62	$y=49\ 708.35x+494\ 046.99$	0.994	2~400	2.5
63	$y=141\ 863.32x+364\ 604.16$	1	2~400	0.25
64	$y=97.80x+435.77$	0.998	2~400	25
65	$y=37\ 285.54x+297\ 902.46$	0.996	2~400	5
66	$y=8.22x+220.56$	0.995	2~400	0.125
67	$y=54\ 615.06x+581\ 106.66$	0.991	2~400	5
68	$y=490.68x+4\ 602.90$	0.993	2~400	25
69	$y=221\ 812.52x+1\ 418\ 319.95$	0.994	2~400	0.125
70	$y=12\ 666.37x+10\ 667.47$	1	2~400	0.125
71	$y=27\ 402.94x+247\ 594.75$	0.991	2~200	1.25
72	$y=6\ 917.21x+77\ 434.19$	0.99	2~400	25
73	$y=48\ 488.16x+175\ 390.18$	0.999	2~400	25
74	$y=13\ 690.89x+74\ 427.51$	0.999	2~400	1.25
75	$y=6\ 808.52x+78\ 178.43$	0.99	2~400	0.125
76	$y=61\ 647.21x+360\ 172.56$	0.997	2~400	0.125
77	$y=58\ 404.01x+220\ 592.77$	0.998	2~400	0.125
78	$y=21\ 931.06x+192\ 123.09$	0.993	2~400	125
79	$y=1\ 496.34x+6\ 630.09$	0.996	2~200	2.5
80	$y=90\ 807.74x+713\ 452.19$	0.993	2~400	0.125
81	$y=2\ 016.34x+29\ 888.45$	0.992	2~400	2.5
82	$y=13\ 815.73x+103\ 313.83$	0.992	2~400	12.5
83	$y=14\ 784.54x+73\ 718.51$	0.992	2~400	2.5
84	$y=55\ 653.75x+456\ 227.60$	0.996	2~400	1.25
85	$y=46\ 468.09x+371\ 746.96$	0.995	2~400	1.25
86	$y=77\ 658.32x+581\ 619.72$	0.996	2~400	0.125

the numbers denoted were the same as those in Table 1; x : mass concentration($\mu\text{g/L}$), y : response value

2.5 回收率与相对标准偏差

称取上述 4 种空白基质各 0.2 g, 分别加入混合标准中间液使其最终浓度达到低(100 $\mu\text{g/kg}$)、中(200 $\mu\text{g/kg}$)和高(400 $\mu\text{g/kg}$)3 个水平, 每个浓度水平设置 6 个平行样品, 按“1.3”方法制备并检测。回收率和相对标准偏差(RSD)通过基质校准曲线计算得到, 重复性以 RSD 表示。

在低、中、高加标水平下, 目标物质在水基中的回收率为 81.4%~120%, RSD 为 0.28%~20%; 乳液

基质中的回收率为81.2%~120%, RSD为0.24%~20%;霜类基质中的回收率为80.0%~120%, RSD为0.43%~20%;油基质中的回收率为80.4%~120%, RSD为0.23%~19%。4类基质中,86种目标化合物的回收率与RSD均符合GB/T 27404-2008标准^[24]对方法准确度与精密度的要求。表明该方法准确可靠,适用于化妆品中86种刺激剂与麻醉剂的快速筛查和定量分析。

2.6 实际样品检测

采用本方法对56批次化妆品进行检测,在5批次化妆品中检出咖啡因,含量分别为112.01、500.90、242.95、168.12、416.77 $\mu\text{g}/\text{kg}$;在2批次化妆品中检出麻黄碱,含量分别为531.75、33.22 $\mu\text{g}/\text{kg}$,且此2批次化妆品均为含大量根系植物提取物的膏霜类产品。其他刺激剂和麻醉剂均未检出。图3为实际样品中检出麻黄碱和咖啡因的代表性色谱图。

3 结论

本研究建立了同时检测化妆品中86种刺激剂与麻醉剂的超高效液相色谱-串联质谱方法,显著提升了检测通量。通过系统优化前处理流程,有效去除了基质干扰,操作简便且净化效果良好。经验证,该方法灵敏度高、准确性好,适用于痕量目标化合物的快速筛查与定量分析。实际样品检测表明,5批次样品检出咖啡因,2批次样品中检出麻黄碱,表明含大量植物提取物的产品可能存在兴奋剂风险,为防范外源性兴奋剂污染提供了科学依据。此外,本方法可进一步应用于食品和营养品中刺激剂与麻醉剂类兴奋剂物质的检测,为食源性兴奋剂筛查提供可靠的技术方法,具有广泛的应用前景。

参考文献:

- [1] Fred K W, April S Y, Raymond K K, Terence S M, Emmie N M. *J. Drug Test. Anal.*, **2025**, 17(7): 1011-1027.
- [2] Mazzarino M, Di Costanzo L, Comunità F, Stacchini C, de la Torre X, Botrè F. *ACS Omega*, **2022**, 7(36): 31845-31868.
- [3] Thomas A, Walpurgis K, Delahaut P, Kohler M, Schänzer W, Thevis M. *Drug Test. Anal.*, **2013**, 5(11/12): 853-860.
- [4] Woźniak M K, Banaszkiwicz L, Wierowski M, Tomczak E, Kata M, Szpiech B, Namieśnik J, Biziuk M. *Forensic Toxicol.*, **2020**, 38(1): 42-58.
- [5] Walpurgis K, Thomas A, Geyer H, Mareck U, Thevis M. *Foods*, **2020**, 9(8): 1012.
- [6] Mallick M, Camacho C B, Daher J, El Khoury D. *Nutrients*, **2023**, 15(4): 881.
- [7] World Anti-Doping Agency. World Anti-doping Code International Standard Prohibited List 2025. [2025-01-01]. <https://www.wada-ama.org/en/prohibited-list/search-anchor>.
- [8] Wu X P, Wang H Y, Dong C B, Yang M, Di G F, Feng B Y, Zhao X X, Fei Q L, Jing J, Lu J H, Wang X B. *Microchem. J.*, **2026**, 221: 116964.
- [9] Xun Z Q, Liu D H, Huang R r, He S, Hu D, Guo X D, Xian Y P. *J. Sep. Sci.*, **2017**, 40(9): 1966-1973.
- [10] Cao M R, Ma J M, Wang J, Zhai H W, Zhao X Y, Fan S F. *Chin. J. Chromatogr.* (曹梅荣, 马俊美, 王娟, 翟洪稳, 赵晓雅, 范素芳. 色谱), **2019**, 37(9): 977-982.
- [11] Lü X H, Luo H T, Huang X L, Wu H L, Huo Y P, Zhang Q Y, Zhu Z X. *J. Instrum. Anal.* (吕小会, 罗辉泰, 黄晓兰, 吴惠勤, 霍延平, 张秋炎, 朱志鑫. 分析测试学报), **2020**, 39(4): 441-448.
- [12] Tsai T F, Lee M R. *Chromatographia*, **2008**, 67(5/6): 425-431.
- [13] Pellegrini M, Marchei E, Pacifici R, Rotolo M C, Pichini S. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **2011**, 55(4): 842-847.
- [14] Tian T, Chen X, Liu L, Liang X, Deng X. *Anal. Chem.*, **2025**, 97(45): 25158-25167.
- [15] Zhang Q Y, Huang F, Liang W W, Liao J T, Wu H Q, Luo H T. *J. Instrum. Anal.* (张秋炎, 黄芳, 梁维维, 廖均涛, 吴惠勤, 罗辉泰. 分析测试学报), **2024**, 43(5): 663-673.

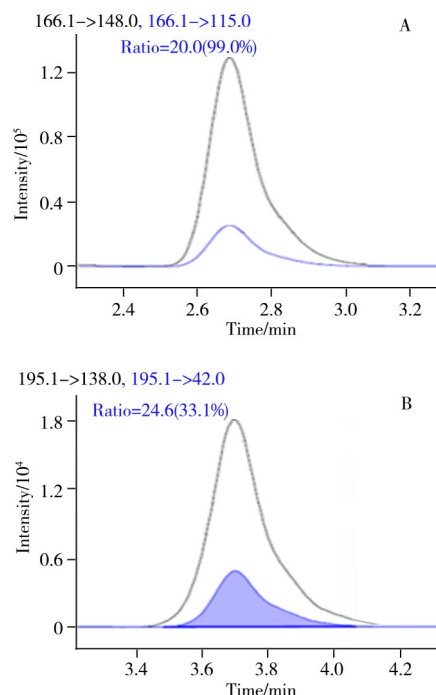


图3 麻黄碱(A)与咖啡因(B)的阳性样品色谱图
Fig. 3 Chromatograms of ephedrine(A) and caffeine (B) in positive samples

- [16] Shen D D, Gong S S, Li Y C, Xue H Y, Yu B T, Jiang B H, Wang D, Zhang R, Mao X Q. *J. Instrum. Anal.* (沈丹丹, 宫珊珊, 李悦忱, 薛恒跃, 于本涛, 姜博海, 王冬, 张蓉, 毛希琴. 分析测试学报), **2024**, 43(7): 978-986.
- [17] Serb A F, Georgescu M, Onulov R, Novaconi C R, Sisu E, Bolocan A, Sandu R E. *Molecules*, **2024**, 29(6): 1336.
- [18] Chen D, Chen Y, Zhang Y, Du J, Xiao H, Yang Z, Xu J. *Talanta*, **2024**, 277: 126354.
- [19] Li J, Zhou Z M. *Flavour Fragrance Cosmet.* (李静, 周智明. 香料香精化妆品), **2021**, 2(1): 26-32.
- [20] Xu W, Zou P, Li C Y, Yang M, Lu Y, Li H L. *China Surfactant Deterg. Cosmet.* (徐炜, 邹坡, 李长于, 杨铭, 鹿燕, 李慧良. 日用化学工业), **2024**, 54(3): 2097-2806.
- [21] Gong X M, Ren Y P, Dong J, Sun J, Li J, Jin C, Yu J L. *J. Instrum. Anal.* (宫小明, 任一平, 董静, 孙军, 李健, 金超, 于金玲. 分析测试学报), **2011**, 30(1): 6-12.
- [22] Zhu H P, Zhang L, Zhang B Y. *Stand. Qual. Light Ind.* (朱海佩, 张亮, 张碧宇. 轻工标准与质量), **2019**, 1: 53-56.
- [23] Yang P P, Liu H, Li L X. *China Surfactant Deterg. Cosmet.* (杨飘飘, 刘红, 李丽霞. 日用化学工业), **2021**, 51(5): 468-476.
- [24] GB/T 27404-2008. Laboratory Quality Control Specifications for Food Physical and Chemical Testing. National Standards of the People's Republic of China(实验室质量控制规范 食品理化检测. 中华人民共和国国家标准).

(责任编辑: 丁 岩)