

化妆品中抗感染类药物检测方法

(征求意见稿)

1 范围

本方法规定了采用高效液相色谱-串联质谱法测定化妆品中抗感染类药物。

本方法适用于液态水基类、膏霜乳液类等化妆品中 36 种抗感染类药物的筛查、定性与定量。

本方法所包含的 36 种抗感染类药物名称、CAS 号及化学结构式见附表 1。

2 方法提要

本方法以乙腈为溶剂提取样品中抗感染类药物成分，用高效液相色谱仪分离，质谱检测器检测，对样品中的 36 种抗感染类药物进行初筛。筛查结果呈阳性的样品，以相应的标准品为对照，根据保留时间和特征离子对的相对丰度比定性，定量离子对峰面积定量，以标准曲线法计算含量。

本方法中 36 种抗感染类药物的检出限、定量下限及取样量为 0.2g 时检出浓度和最低定量浓度见附表 2。

3 试剂和材料

除另有规定外，本方法所用试剂均为分析纯，水为 GB/T 6682 规定的一级水。

3.1 甲醇，色谱纯；

3.2 乙腈，色谱纯；

3.3 甲酸，色谱纯；

3.4 氯化钠。

3.5 饱和氯化钠溶液：称取 40 g 氯化钠，置于 250mL 磨口锥形瓶中，加入 100 mL 水，超声 15 分钟，即得。

3.6 0.5% 甲酸乙腈溶液：量取 200mL 乙腈于 500mL 容量瓶中，加入 2.5mL 甲酸，用乙腈稀释并定容至刻度，摇匀。

3.7 5mmol 乙酸铵缓冲溶液 (pH4.0)：称取 0.7708g 醋酸铵于 1000mL 容量瓶中，加水 980mL 溶解后，用甲酸调节 pH 至 4.0，加水定容至刻度，混匀，过 0.22 μ m 微孔滤膜。

3.8 氯霉素标准储备溶液 [ρ (氯霉素) = 1.0mg/mL]：精确称取 10 mg (精确至 0.1 mg) 的氯霉素对照品，置 10 mL 棕色容量瓶中，分别加入甲醇 (3.1) 充分溶解后，用甲醇 (3.1) 定

容至刻度，摇匀。该储备液质量浓度为 1.0mg/mL。置于-18℃冰箱中贮存。

3.9 其他组分标准储备溶液[ρ (待测组分) = 0.1 mg/mL]: 分别精确称取附表 1 中处氯霉素外其他待测组分对照品各 10 mg (精确至 0.1 mg) 置于 100 mL 棕色容量瓶中, 加甲醇(3.1) 使溶解(对于溶解性差的物质可加入少量甲酸或水促进溶解), 并用甲醇(3.1) 定容至刻度, 摇匀, 即得质量浓度为 0.1mg/mL 的标准储备溶液。置于-18℃冰箱中贮存。

3.10 质控标准品混合储备液: 分别精确移取各待测组分标准储备溶液(3.8 和 3.9) 1.0 mL 于 100 mL 容量瓶中, 用甲醇(3.1) 稀释并定容至刻度, 作为质控标准品储备液。置-18℃冰箱中贮存。

4 仪器

4.1 高效液相色谱-三重四极杆质谱联用仪。

4.2 分析天平: 感量 0.0001 g 和 0.00001 g。

4.3 超声波清洗仪。

4.4 冷冻离心机。

4.5 涡旋混合仪。

4.6 精密移液器。

5 测定步骤

5.1 分析系统的建立与固化

根据所使用的仪器类型、色谱柱品牌及型号, 对附表 1 中的待测组分以标准品为基准, 采用自动或手动的方式优化质谱参数, 确定其定性离子、定量离子、碰撞能等测定参数, 并进行高效液相色谱条件的优化, 建立最优的分析条件。

本方法以随行质控标准品溶液对分析条件、结果的重复性进行控制。如发生更改仪器、色谱条件、质谱条件等情况, 均需重新建立分析系统。

5.2 质控标准品混合溶液的制备

分别取质控标准品混合储备液(3.10) 适量, 用 10% 乙腈水溶液进行稀释, 配制浓度原则上介于其检出浓度与定量浓度之间。固化的分析系统建立后, 根据实际情况, 可选择有代表性的待测组分配制作为质控标准品溶液, 不必随行所有待测组分标准品进行测定。

5.3 样品预处理

准确称取化妆品样品约(实际样品或空白样品) 0.2 g, 置于 15mL 离心管中, 加入 3 mL 饱和氯化钠溶液(3.5), 涡旋 30s, 分散均匀, 加入 0.5% 甲酸乙腈溶液(3.6) 5mL, 涡旋 30 s, 超声提取 30 min, 涡旋混合摇匀, 以 8000 r/min 转速 0℃ 冷冻离心 5min, 取上清液适

量用初始流动相稀释，稀释液经 0.22 μ m 滤膜过滤后，滤液作为供试品溶液备用。

5.4 仪器参考条件

5.4.1 色谱条件

色谱柱：C18 柱（100mm \times 2.1mm，1.7 μ m）或等效色谱柱；

流动相：溶液 A：5mmol 乙酸胺缓冲溶液 pH4.0（3.7），溶液 B：乙腈（含 0.1% 甲酸），
梯度洗脱程序见表 1；

表 1 流动相的梯度洗脱程序

时间（min）	溶液 A（%）	溶液 B（%）
0	98	2
14	1	99
14.1	98	2
15	98	2

流速：0.3mL/min；

柱温：40 $^{\circ}$ C；

进样量：5 μ L。

5.4.2 质谱参考条件

离子源：电喷雾离子源（ESI 源）；

监测模式：正离子、负离子多离子反应监测模式，监测离子对及相关参数设定见附表 3
（可根据仪器情况调整）；

0–2min：不进入质谱仪分析，2–15 min：进入质谱仪分析。

5.5 筛查

5.5.1 筛查条件的确定：取质控标准品混合溶液（5.2），按固化的分析系统（5.1）测定，各成分均应检出相应的定量离子对与定性离子对，响应值大于 3 倍信噪比，且保留时间偏差小于 \pm 3%，方可进行样品筛查。

5.5.2 样品筛查：取供试品溶液（5.3），按固化的分析系统（5.1）进行筛查，如样品中检出与待测抗感染类药物成分一致的多反应监测离子对，且保留时间偏差在 \pm 5%之内，则含可疑阳性成分，应参照相应标准品进行进一步定性确证。

5.6 定性

取供试品溶液与相应标准品溶液，在相同试验条件下测定，样品中如呈现定量离子对和

定性离子对的色谱峰，被测组分的特征离子峰保留时间与标准溶液对应的保留时间一致，且选择的定性离子的相对丰度比与相当浓度对照品溶液的定性离子的相对丰度比的最大偏差应不超过表 2 的规定，则可以判定样品中存在对应的抗感染类药物成分。

表 2 定性确证时相对离子丰度的最大允许偏差

相对离子丰度 (k)	k≥50%	50 %> k ≥ 20 %	20 %> k ≥ 10 %	k≤ 10 %
允许的最大偏差	±20%	±25%	±30%	±50%

5.7 定量

5.7.1 标准品储备溶液的制备

称取待测抗感染类药物标准品约 10mg（精确到 0.00001 g），用甲醇（3.1）溶解并定容至 100 mL 容量瓶中。

5.7.2 基质标准工作溶液的制备

取与待测化妆品配方相同或相近的基质空白样品 5 份于 10 mL 比色管中（0.2 g/份），分别加入标准品储备溶液适量，照样品预处理操作步骤处理，配制成浓度为 20、40、60、80、100ng/mL 的系列溶液（浓度范围可根据实际情况进行调整）。

5.7.3 样品预处理：同 5.3。

5.7.4 测定

取基质标准工作溶液依次测定，以待测组分的系列浓度为横坐标，待测组分的峰面积为纵坐标，进行线性回归，建立基质标准曲线，其线性相关系数应不小于 0.99。取供试品溶液进样，将对应的定量离子色谱峰面积代入线性回归方程，按“6 计算”项下公式，计算样品中各组分的含量。

6 计算

$$\omega = \frac{\rho \times V \times D}{m}$$

式中： ω ——化妆品中的抗感染类药物禁用物质质量分数， $\mu\text{g/g}$ ；

ρ ——供试品溶液中抗感染类药物禁用物质的质量浓度， $\mu\text{g/mL}$ ；

V ——样品定容体积， mL ；

m ——样品取样量， g ；

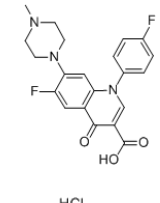
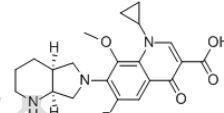
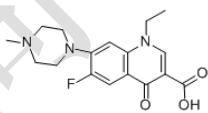
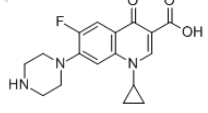
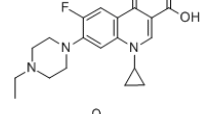
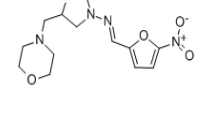
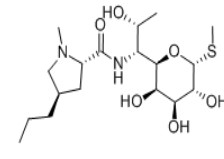
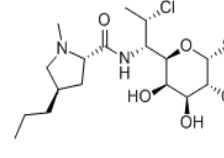
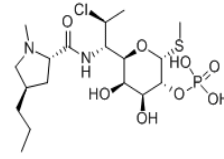
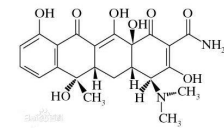
D ——稀释倍数（不稀释则为 1）。

相同条件下获得的两次独立测试结果的绝对差值不得超过算术平均值的 15%。

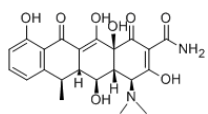
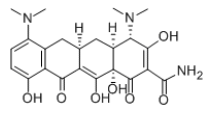
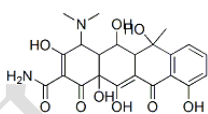
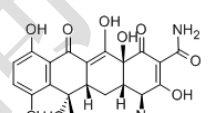
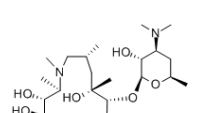
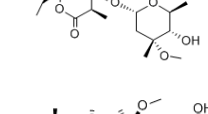
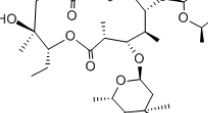
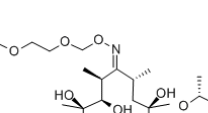
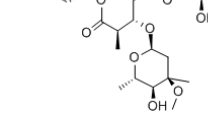
附表 1 36 种抗感染药物的 CAS 编号、分子式、分子量和结构式

序号	中文名称	英文名称	CAS	分子式	分子量	结构式
1	甲硝唑	Metronidazole	443-48-1	C ₆ H ₉ N ₃ O ₃	171.16	
2	磺胺吡啶	Sulfapyridine	144-83-2	C ₁₁ H ₁₁ N ₃ O ₂ S	249.29	
3	磺胺甲噻唑	Sulfamerazine	127-79-7	C ₁₁ H ₁₂ N ₄ O ₂ S	264.3	
4	磺胺甲二唑	Sulfamethizole	144-82-1	C ₉ H ₁₀ N ₄ O ₂ S ₂	270.33	
5	磺胺甲氧嘧啶	Sulfamethoxypyridazine	80-35-3	C ₁₁ H ₁₂ N ₄ O ₃ S	280.3	
6	磺胺氯吡嗪	Sulfaclorazina	80-32-0	C ₁₀ H ₉ ClN ₄ O ₂ S	284.72	
7	磺胺甲噁唑	Sulfamethoxazole	723-46-6	C ₁₀ H ₁₁ N ₃ O ₃ S	253.28	
8	依诺沙星	Enoxacin	74011-58-8	C ₁₅ H ₁₇ FN ₄ O ₃	320.32	
9	沙拉沙星	Sarafloxacin	98105-99-8	C ₂₀ H ₁₇ F ₂ N ₃ O ₃	385.36	
10	培氟沙星	Pefloxacin	70458-92-3	C ₁₇ H ₂₀ FN ₃ O ₃	333.36	
11	氧氟沙星	Ofloxacin	82419-36-1	C ₁₈ H ₂₀ FN ₃ O ₄	361.37	
12	氟罗沙星	Fleroxacin	79660-72-3	C ₁₇ H ₁₈ F ₃ N ₃ O ₃	369.34	

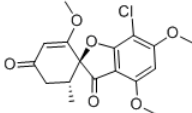
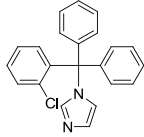
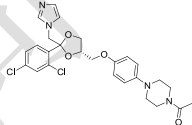
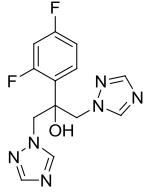
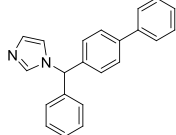
续表

序号	中文名称	英文名称	CAS	分子式	分子量	结构式
13	双氟沙星	Difloxacin	98106-17-3	$C_{21}H_{19}F_2N_3O_3$	399.39	 HCl
14	莫西沙星	Moxifloxacin	151096-09-2	$C_{21}H_{24}FN_3O_4$	401.43	
15	诺氟沙星	Norfloxacin	70458-96-7	$C_{16}H_{18}FN_3O_3$	319.33	
16	环丙沙星	Ciprofloxacin	85721-33-1	$C_{17}H_{18}FN_3O_3$	331.34	
17	恩诺沙星	Enrofloxacin	93106-60-6	$C_{19}H_{22}FN_3O_3$	359.4	
18	呋喃它酮	Furaltadone	139-91-3	$C_{13}H_{16}N_4O_6$	324.29	
19	林可霉素	Lincomycin	154-21-2	$C_{18}H_{34}N_2O_6S$	406.5	 HCl
20	克林霉素	Clindamycin	18323-44-9	$C_{18}H_{33}ClN_2O_5S$	425.0	
21	克林霉素磷酸酯	Clindamycin phosphate	24729-96-2	$C_{18}H_{34}ClN_2O_8P$ S	504.97	
22	四环素	Tetracycline	60-54-8	$C_{22}H_{24}N_2O_8$	444.4	

续表

序号	中文名称	英文名称	CAS	分子式	分子量	结构式
23	多西环素	Doxycycline	564-25-0	$C_{22}H_{24}N_2O_8$	444.4	
24	米诺环素	Minocycline	10118-90-8	$C_{23}H_{27}N_3O_7$	457.5	
25	土霉素	Oxytetracyclin	79-57-2	$C_{22}H_{24}N_2O_9$	460.4	
26	金霉素	Aureomycin	57-62-5	$C_{22}H_{23}ClN_2O_8$	478.9	
27	阿奇霉素	Azithromycin	83905-01-5	$C_{38}H_{72}N_2O_{12}$	748.98	
28	克拉霉素	Clarithromycin	81103-11-9	$C_{38}H_{69}NO_{13}$	747.95	
29	罗红霉素	Roxithromycin	80214-83-1	$C_{41}H_{76}N_2O_{15}$	837.05	
30	氯霉素	Chloramphenicol	56-75-7	$C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$	323.1	
31	螺内酯	Spirolactone	52-01-7	$C_{24}H_{32}O_4S$	416.57	

续表

序号	中文名称	英文名称	CAS	分子式	分子量	结构式
32	灰黄霉素	Griseofulvin	126-07-8	$C_{17}H_{19}ClO_6$	352.77	
33	克霉唑	Clotrimazole	23593-75-1	$C_{22}H_{17}ClN_2$	344.84	
34	酮康唑	Ketoconazole	65277-42-1	$C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$	531.43	
35	氟康唑	Fluconazole	86386-73-4	$C_{13}H_{12}F_2N_6O$	306.27	
36	联苯苄唑	Bifonazole	60628-96-8	$C_{22}H_{18}N_2$	310.39	

附表2 36种抗感染药物的检出限与定量限

序号	化合物	检出限 (ng)	定量限 (ng)	最低检出浓度 (μg/g)	定量浓度 (μg/g)
1	甲硝唑	25	75	0.25	0.75
2	磺胺吡啶	25	75	0.25	0.75
3	磺胺甲噁唑	25	75	0.25	0.75
4	磺胺甲二唑	25	75	0.25	0.75
5	磺胺甲氧唑	25	75	0.25	0.75
6	磺胺氯吡啶	25	75	0.25	0.75
7	磺胺甲噁唑	25	75	0.25	0.75
8	依诺沙星	25	75	0.25	0.75
9	沙拉沙星	25	75	0.25	0.75
10	培氟沙星	25	75	0.25	0.75
11	氧氟沙星	25	75	0.25	0.75
12	氟罗沙星	25	75	0.25	0.75
13	双氟沙星	25	75	0.25	0.75
14	莫西沙星	25	75	0.25	0.75
15	诺氟沙星	25	75	0.25	0.75
16	环丙沙星	25	75	0.25	0.75
17	恩诺沙星	25	75	0.25	0.75
18	呋喃它酮	25	75	0.25	0.75
19	林可霉素	25	75	0.25	0.75
20	克林霉素	25	75	0.25	0.75
21	克林霉素磷酸酯	25	75	0.25	0.75
22	四环素	25	75	0.25	0.75
23	多西环素	25	75	0.25	0.75
24	米诺环素	25	75	0.25	0.75
25	土霉素	25	75	0.25	0.75
26	金霉素	25	75	0.25	0.75
27	阿奇霉素	25	75	0.25	0.75
28	克拉霉素	25	75	0.25	0.75
29	罗红霉素	25	75	0.25	0.75
30	氯霉素	100	300	1	3
31	螺内酯	25	75	0.25	0.75
32	灰黄霉素	25	75	0.25	0.75
33	克霉唑	25	75	0.25	0.75
34	酮康唑	25	75	0.25	0.75
35	氟康唑	25	75	0.25	0.75
36	联苯苄唑	25	75	0.25	0.75

附表3 36种抗感染药物的监测离子对相关参数设定表

序号	物质名称	电离方式	母离子(m/z)	Frag.(V)	子离子(m/z)	CE (V)
1	甲硝唑	ESI+	172.0	22	82.0*	18
			172.0	22	128.0	22
2	磺胺吡啶	ESI+	250.0	10	156.0*	16
			250.0	10	92.0	26
3	磺胺甲噁唑	ESI+	265.0	22	156.0*	15
			265.0	22	92.0	18
4	磺胺甲二唑	ESI+	271.1	30	156.0*	15
			271.1	30	92.0	25
5	磺胺甲氧嗪	ESI+	281.1	35	156.0*	25
			281.1	35	92.0	25
6	磺胺氯哒嗪	ESI+	285.0	20	155.9*	15
			285.0	20	92.0	28
7	磺胺甲噻唑	ESI+	254.1	22	156.0*	18
			254.1	22	107.9	18
8	依诺沙星	ESI+	321.1	40	232.0*	30
			321.1	40	303.1	35
9	沙拉沙星	ESI+	386.2	6	299.1*	28
			386.2	6	342.1	18
10	培氟沙星	ESI+	334.2	13	233.1*	20
			334.2	13	290.1	16
11	氧氟沙星	ESI+	362.2	30	261.1*	28
			362.2	30	318.2	18
12	氟罗沙星	ESI+	370.2	29	269.1*	28
			370.2	30	326.0	20
13	双氟沙星	ESI+	400.2	38	299.1*	22
			400.2	38	356.0	20
14	莫西沙星	ESI+	402.2	6	261.1*	24
			402.2	6	364.5	28
15	诺氟沙星	ESI+	320.1	40	233.1*	25
			320.1	40	276.1	20
16	环丙沙星	ESI+	332.2	42	231.0*	22
			332.2	42	288.1	18
17	恩诺沙星	ESI+	360.2	29	245.1*	20
			360.2	29	342.2	20
18	呋喃它酮	ESI+	325.0	28	100.0*	15
			325.0	28	281.0	12
19	林可霉素	ESI+	407.2	40	359.4*	20
			407.2	40	126.1	25
20	克林霉素	ESI+	425.2	20	377.2*	18
			425.2	20	126.2	25
21	克林霉素磷酸酯	ESI+	505.2	30	126.1*	30

续表

序号	物质名称	电离方式	母离子(m/z)	Frag.(V)	子离子(m/z)	CE (V)
			505.2	30	457.2	30
22	四环素	ESI ⁺	445.1	30	410.2*	18
			445.1	30	427.3	14
23	多西环素	ESI ⁺	445.2	6	428.2*	20
			445.2	6	154.0	28
24	米诺环素	ESI ⁺	458.2	8	441.3*	18
			458.2	8	283.1	30
25	土霉素	ESI ⁺	461.2	4	426.1*	18
			461.2	4	444.2	18
26	金霉素	ESI ⁺	479.1	25	444.1*	20
			479.1	25	462.2	16
27	阿奇霉素	ESI ⁺	749.6	55	591.5*	30
			749.6	55	116.1	30
28	克拉霉素	ESI ⁺	748.6	35	158.1*	30
			748.6	35	590.6	20
29	罗红霉素	ESI ⁺	837.6	22	158.1*	31
			837.6	22	679.6	36
30	氯霉素	ESI	321.1	25	152.0*	15
			321.1	25	257.2	10
31	螺内酯	ESI ⁺	341.1	20	107.0*	35
			341.1	20	165.0	65
32	灰黄霉素	ESI ⁺	353.2	6	165.0*	20
			353.2	6	215.0	20
33	克霉唑	ESI ⁺	277.1	4	165.1*	24
			277.1	4	241.0	20
34	酮康唑	ESI ⁺	531.2	26	244.0*	30
			531.2	26	489.3	28
35	氟康唑	ESI ⁺	307.1	2	238.1*	15
			307.1	2	220.0	16
36	联苯苄唑	ESI ⁺	311.2	20	243.1*	15
			311.2	20	165.0	10

*: 定量离子对

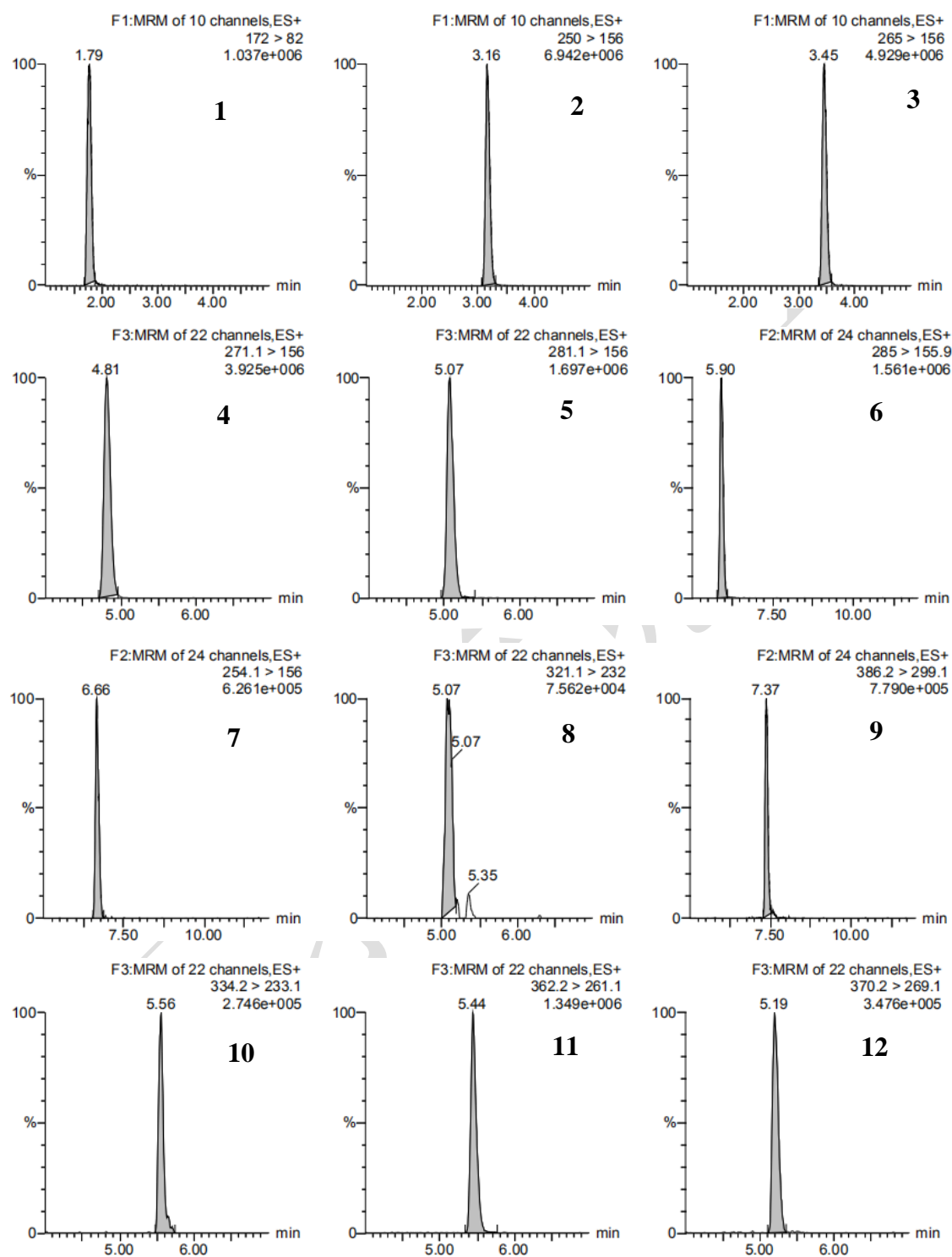


图 1 36 中抗感染药物 HPLC-MS/MS 色谱图

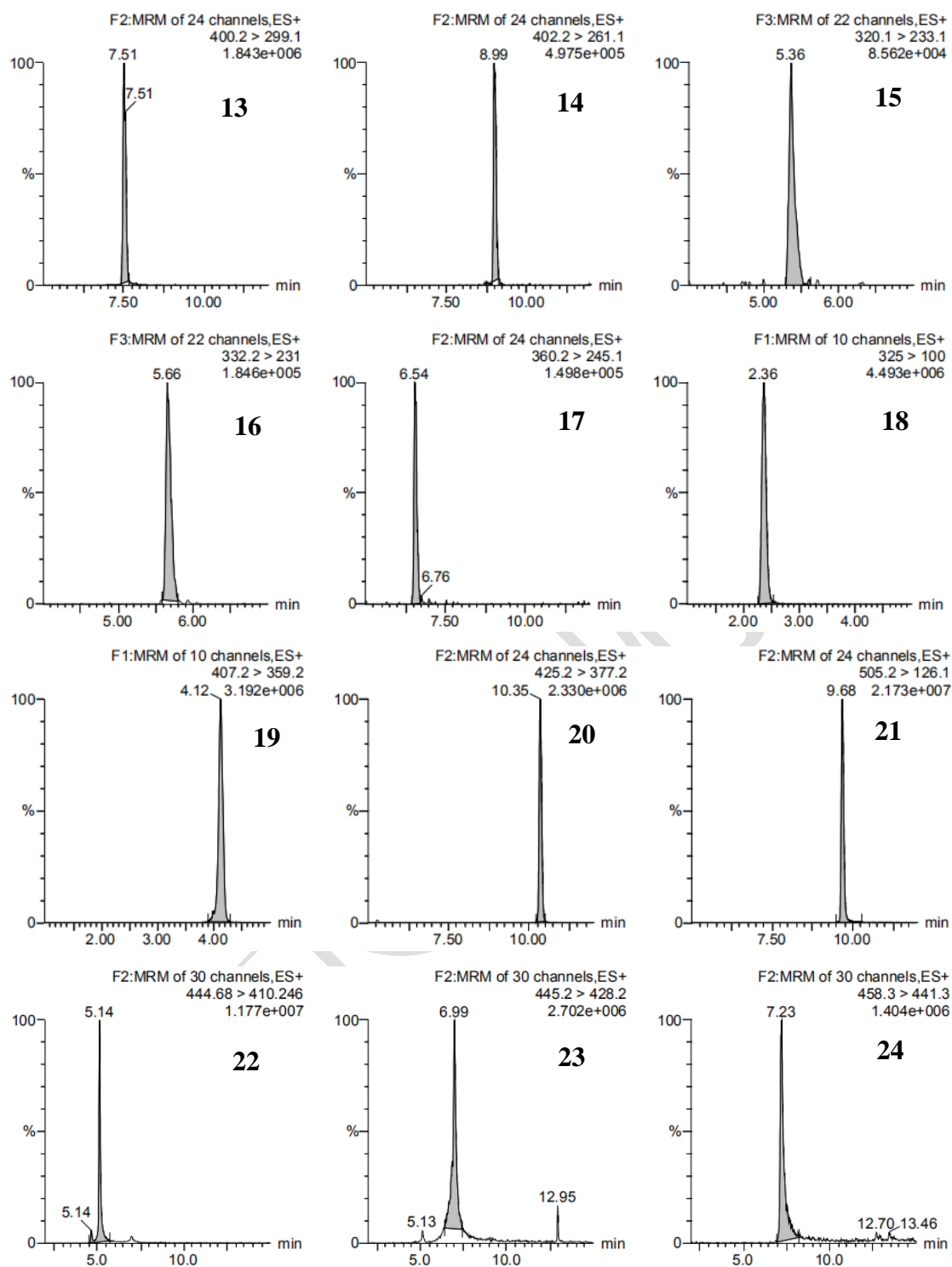


图 1 36 中抗感染药物 HPLC-MS/MS 色谱图 (续)

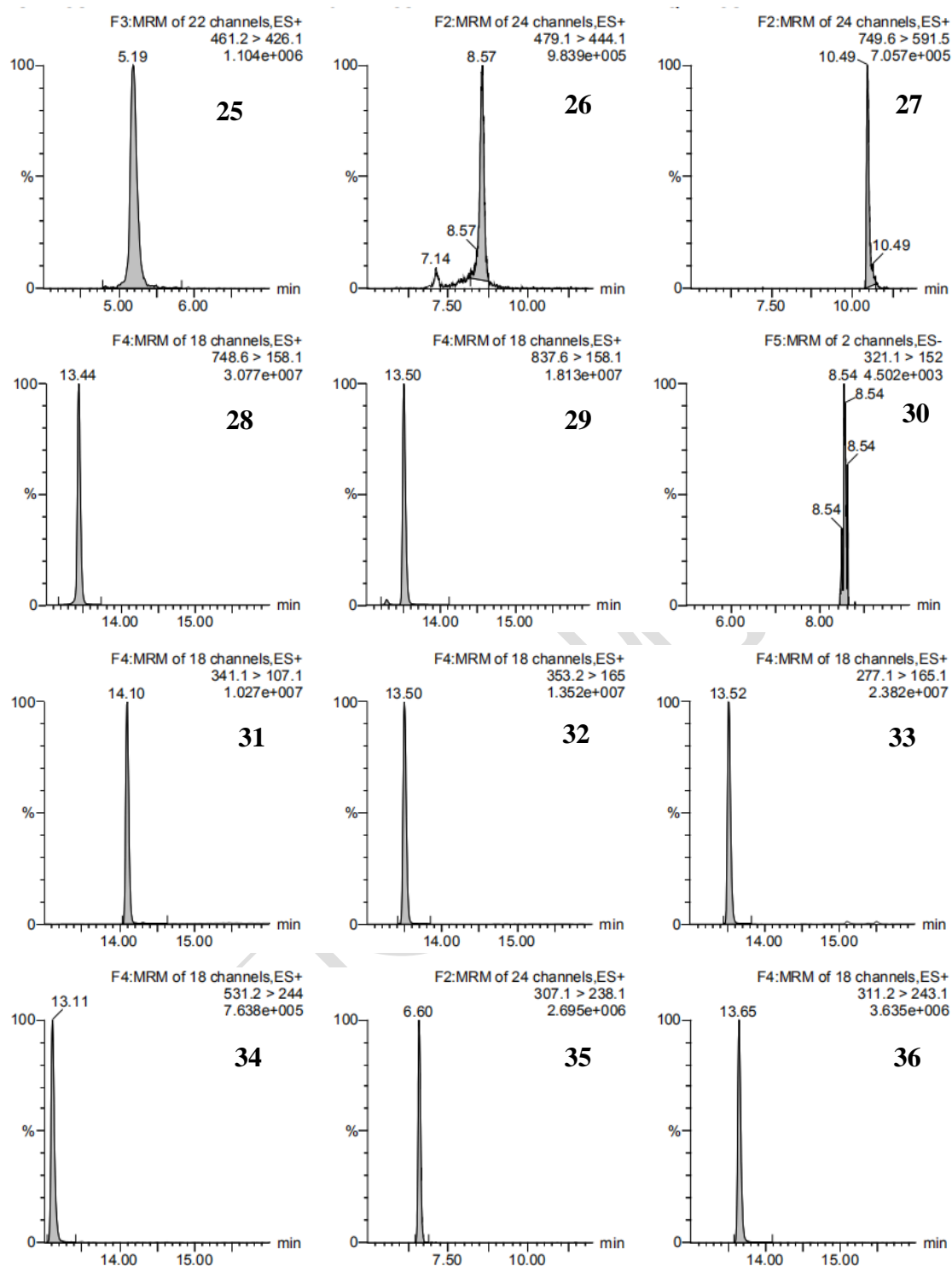


图 1 36 中抗感染药物 HPLC-MS/MS 色谱图 (续)

图中 1-36 号组分为：甲硝唑、磺胺吡啶、磺胺甲噁啉、磺胺甲二唑、磺胺甲氧嘧啶、磺胺氯吡啶、磺胺甲噁唑、依诺沙星、沙拉沙星、培氟沙星、氧氟沙星、氟罗沙星、双氟沙星、莫西沙星、诺氟沙星、环丙沙星、恩诺沙星、呋喃它酮、林可霉素、克林霉素、克林霉素磷酸酯、四环素、多西环素、米诺环素、土霉素、金霉素、阿奇霉素、克拉霉素、罗红霉素、氯霉素、螺内酯、灰黄霉素、克霉唑、酮康唑、氟康唑、联苯苄唑。

化妆品中抗感染类药物检测方法

起草说明

为加强化妆品中禁用物质的监督管理,进一步完善化妆品中禁限用物质检测方法标准体系,原国家食品药品监督管理总局化妆品标准专家委员会秘书处于 2015 年 11 月组织开展化妆品中抗感染类药物检测方法的建立和验证工作,现就起草工作有关情况说明如下:

一、起草的必要性

抗感染类药物如四环素类、喹诺酮类、磺胺类、林可酰胺类、硝基呋喃类等药物属于天然或人工合成的抗菌药物,具有抗菌和消炎的作用。因对痤疮有一定的治疗效果而常用于外用药中。目前我国将此类药物纳入处方药管理,严格控制其使用量。但是一些化妆品不法商家为追求经济利益,不顾消费者的健康安全,在祛痘类化妆品中违法添加这些药物。在祛痘化妆品中违法添加抗感染类药物,虽然在短期内可能起到除螨、祛痘作用,但长期使用会刺激皮肤,引起接触性皮炎,严重时可导致对此类药物的耐药性,造成皮肤健康隐患。我国《化妆品安全技术规范》(2015 年版)和 欧盟化妆品规程 (Directive 76/768/EEC) 均明确规定此类物质为化妆品禁用成分。

目前,我国涉及化妆品中抗感染类药物检测的国家标准方法有:《化妆品安全技术规范》(2015 年版) 2.1 氟康唑等 9 种组分、2.2 盐酸美满霉素等 7 种组分、2.3 依诺沙星等 10 种组分等,各方法主要针对某一类物质进行测定。标准方法的相对分散性给检验工作带来了诸多不便,例如同一个产品,需要采用多个标准方法分别对不同种类的抗感染类药物进行检验。此外,近年来不法分子不断变换添加手段,转而添加标准外的成分来躲避监管,用现有标准方法进行监测往往发现不了潜在的风险。为此,化妆品标准专家委员会秘书处组织开展化妆品中抗感染类药物的检测方法研究,整合现有方法,增加检测对象种类,简化检测过程,提高工作效率,以强化技术支撑能力,为化妆品中禁用物质的监管提供快速、准确的检测方法和技术支持。

二、起草原则

本检测方法采用目前化妆品检测实验室普遍具备的先进的分析技术,选择准确、可行、便于实际操作的分析条件,并兼具先进性、准确性以及可操作性和便捷性。

三、起草过程

通过查阅国内外相关文献资料,并在以往研究制定化妆品中禁、限用物质检测方法研究

的基础上，选择现有标准已收载、近年来新发现和有可能被添加的抗感染类药物组分共 36 种进行研究，建立了 36 种化妆品中抗感染类药物成分检测方法。2017 年 3 月委托三家检测机构进行方法验证，并对验证结果进行了总结和分析，进一步完善检测方法。2017 年 9 月和 2018 年 9 月原国家食品药品监督管理总局化妆品标准专家委员会秘书处组织召开了论证会，会后根据专家意见对本方法进行了修订。

四、重点说明的问题

（一）关于体例。本检测方法的体例主要参照原国家食品药品监督管理总局已发布化妆品中禁用物质检测方法的体例，便于化妆品检验领域相关检验人员的阅读和实际操作。

（二）关于抗感染类药物禁用物质。本方法规定了采用高效液相色谱-串联质谱法测定液态水基类、膏霜乳液类等化妆品中抗感染类药物物质筛查、定性和定量的方法。方法以乙腈为溶剂提取化妆品中抗感染类药物物质，用高效液相色谱仪分离，质谱检测器检测，先对样品中的抗菌类药物成分进行筛查，筛查结果呈阳性的样品，需随行相应的标准品，根据保留时间和特征离子对的相对丰度比定性，定量离子对峰面积定量，以标准曲线法计算含量。

（三）关于验证意见的说明。根据三家验证单位提出的意见和建议，对仪器条件进行了进一步的优化，选取简单的前处理方法和分离体系，有利于样品的快速筛查。

（四）关于专家评审意见的说明。根据 2017 年 9 月专家评审意见，进行以下修订：

（1）增加阳性样品的测定；（2）进一步完善标准文本。根据 2018 年 9 月专家评审意见，进行以下修订：（1）将方法名称由“化妆品中抗感染类药物类通用检测方法”修改为“化妆品中抗菌类药物检测方法”；（2）在适用范围中增加适用的化妆品种类，明确该方法适用于 30 种抗菌类药物的测定。（3）进一步完善和补充文本及色谱图。

五、起草依据及文献

（一）《化妆品安全技术规范》2015 年版

（二）The cosmetic Directive of Council European Communities, 76/768/EEC

（三）《中国药典》2015 版，第二部、第四部

（四）《化妆品及其原料中禁限用物质检测方法验证技术规范》

化妆品中抗感染类药物检测方法

编制说明

一、基本信息

1. 简介

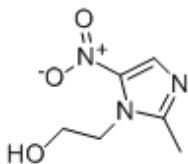
抗感染类药物如四环素类、喹诺酮类、磺胺类、林可酰胺类、硝基呋喃类等药物属于天然或人工合成的抗菌药物，具有抗菌和消炎的作用，因对痤疮有一定的治疗效果而常用于外用药中。目前我国将此类药物纳入处方药管理，严格控制其使用量。但是一些化妆品不法商家为追求经济利益，不顾消费者的健康安全，在祛痘类化妆品中违法添加这些药物。在祛痘化妆品中违法添加抗感染类药物，虽然在短期内可能起到除螨、祛痘作用，但长期使用会刺激皮肤，引起接触性皮炎，严重时可导致对此类药物的耐药性，造成皮肤健康隐患。我国《化妆品安全技术规范》（2015年版）和欧盟化妆品规程（Directive 76/768/EEC）均明确规定此类物质为化妆品禁用成分。

目前，我国涉及化妆品中抗感染类药物检测的国家标准方法有：《化妆品安全技术规范》（2015年版）2.1 氟康唑等9种组分、2.2 盐酸美满霉素等7种组分、2.3 依诺沙星等10种组分等。标准方法的相对分散性给检验工作带来了诸多不便，例如同一个产品，需要采用多个标准方法分别对不同种类的抗感染类药物进行检验。此外，近年来不法分子不断变换添加手段，转而添加标准外的成分来躲避监管，用现有标准方法进行监测往往发现不了潜在的风险。为此，化妆品标准专家委员会秘书处组织开展化妆品中抗感染类药物的检测方法研究，整合现有方法，增加检测对象种类，引入数字化快速筛查检测模式，尝试利用现代数字化信息手段，简化检测过程，提高工作效率，以强化技术支撑能力，为化妆品中禁用物质的监管提供快速、准确的检测方法和技术支持。

2. 属性信息

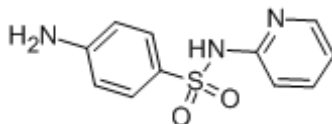
1) 甲硝唑

中文名称：甲硝唑；英文名称：Metronidazole；分子式： $C_6H_9N_3O_3$ ；分子量：171.16；CAS号：443-48-1；结构式：



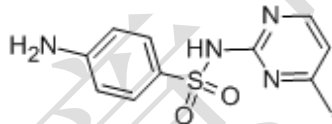
2) 磺胺吡啶

中文名称: 磺胺吡啶; 英文名称: Sulfapyridine; 分子式: $C_{11}H_{11}N_3O_2S$; 分子量: 249.29;
CAS 号: 144-83-2; 结构式:



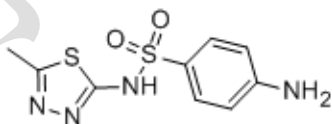
3) 磺胺甲噻啶

中文名称: 磺胺甲噻啶; 英文名称: Sulfamerazine; 分子式: $C_{11}H_{12}N_4O_2S$; 分子量: 264.3;
CAS 号: 127-79-7; 结构式:



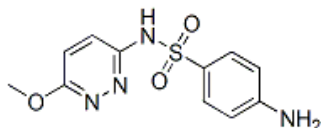
4) 磺胺甲二唑

中文名称: 磺胺甲二唑; 英文名称: Sulfamethizole; 分子式: $C_9H_{10}N_4O_2S_2$; 分子量:
270.33; CAS 号: 144-82-1; 结构式:



5) 磺胺甲氧嘧啶

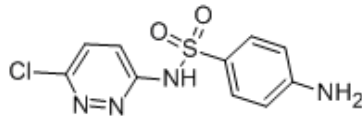
中文名称: 磺胺甲氧嘧啶; 英文名称: Sulfamethoxypridazine; 分子式: $C_{11}H_{12}N_4O_3S$;
分子量: 280.3; CAS 号: 80-35-3; 结构式:



6) 磺胺氯吡啶

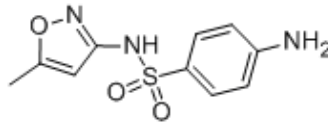
中文名称: 磺胺氯吡啶; 英文名称: Sulfaclozina; 分子式: $C_{10}H_9ClN_4O_2S$; 分子量:

284.72; CAS 号: 80-32-0; 结构式:



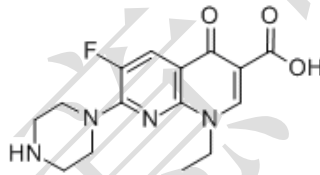
7) 磺胺甲噁唑

中文名称: 磺胺甲噁唑; 英文名称: Sulfamethoxazole; 分子式: C₁₀H₁₁N₃O₃S; 分子量: 253.28; CAS 号: 723-46-6; 结构式:



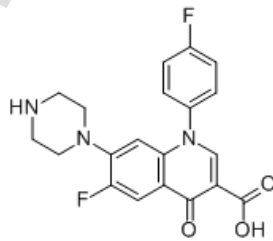
8) 依诺沙星

中文名称: 依诺沙星; 英文名称: Enoxacin; 分子式: C₁₅H₁₇FN₄O₃; 分子量: 320.32; CAS 号: 74011-58-8; 结构式:



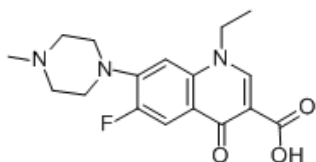
9) 沙拉沙星

中文名称: 沙拉沙星; 英文名称: Sarafloxacin; 分子式: C₂₀H₁₇F₂N₃O₃; 分子量: 385.36; CAS 号: 98105-99-8; 结构式:



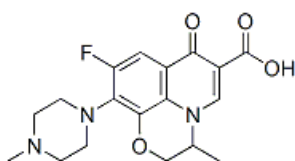
10) 培氟沙星

中文名称: 培氟沙星; 英文名称: Pefloxacin; 分子式: C₁₇H₂₀FN₃O₃; 分子量: 333.36; CAS 号: 70458-92-3; 结构式:



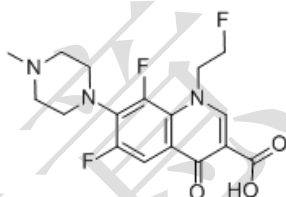
11) 氧氟沙星

中文名称：氧氟沙星；英文名称：Ofloxacin；分子式： $C_{18}H_{20}FN_3O_4$ ；分子量：361.37；
CAS 号：82419-36-1；结构式：



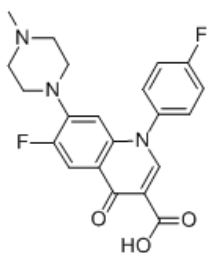
12) 氟罗沙星

中文名称：氟罗沙星；英文名称：Fleroxacin；分子式： $C_{17}H_{18}F_3N_3O_3$ ；分子量：369.34；
CAS 号：79660-72-3；结构式：



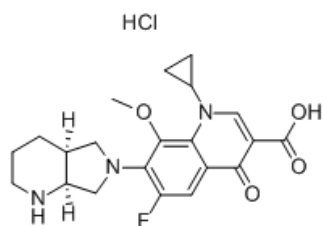
13) 双氟沙星

中文名称：双氟沙星；英文名称：Difloxacin；分子式： $C_{21}H_{19}F_2N_3O_3$ ；分子量：399.39；
CAS 号：98106-17-3；结构式：



14) 莫西沙星

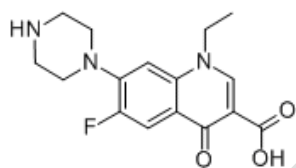
中文名称：莫西沙星；英文名称：Moxifloxacin；分子式： $C_{21}H_{24}FN_3O_4$ ；分子量：401.43；
CAS 号：151096-09-2；结构式：



15) 诺氟沙星

中文名称: 诺氟沙星; 英文名称: Norfloxacin; 分子式: $C_{16}H_{18}FN_3O_3$; 分子量: 319.33;

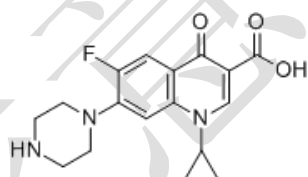
CAS 号: 70458-96-7; 结构式:



16) 环丙沙星

中文名称: 环丙沙星; 英文名称: Ciprofloxacin; 分子式: $C_{17}H_{18}FN_3O_3$; 分子量: 331.34;

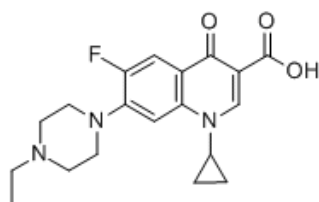
CAS 号: 85721-33-1; 结构式:



17) 恩诺沙星

中文名称: 恩诺沙星; 英文名称: Enrofloxacin; 分子式: $C_{19}H_{22}FN_3O_3$; 分子量: 359.4;

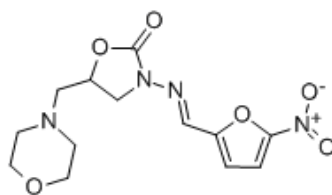
CAS 号: 93106-60-6; 结构式:



18) 呋喃它酮

中文名称: 呋喃它酮; 英文名称: Furaltadone; 分子式: $C_{13}H_{16}N_4O_6$; 分子量: 324.29;

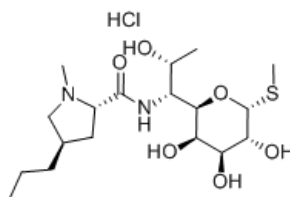
CAS 号: 139-91-3; 结构式:



19) 林可霉素

中文名称: 林可霉素; 英文名称: Lincomycin; 分子式: $C_{18}H_{34}N_2O_6S$; 分子量: 406.5;

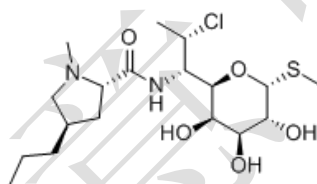
CAS 号: 154-21-2; 结构式:



20) 克林霉素

中文名称: 克林霉素; 英文名称: Clindamycin; 分子式: $C_{18}H_{33}ClN_2O_5S$; 分子量: 425.0;

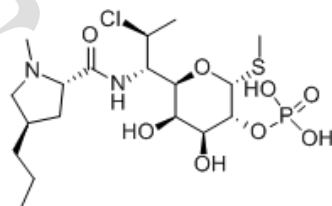
CAS 号: 18323-44-9; 结构式:



21) 克林霉素磷酸酯

中文名称: 克林霉素磷酸酯; 英文名称: Clindamycin phosphate; 分子式: $C_{18}H_{34}ClN_2O_8PS$;

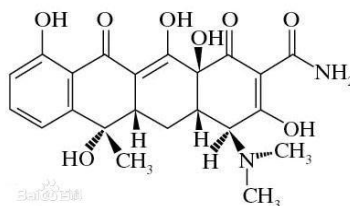
分子量: 504.97; CAS 号: 24729-96-2; 结构式:



22) 四环素

中文名称: 四环素; 英文名称: Tetracycline; 分子式: $C_{22}H_{24}N_2O_8$; 分子量: 444.4;

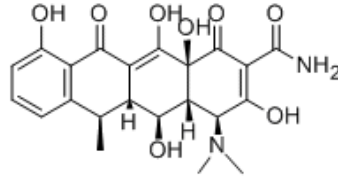
CAS 号: 60-54-8; 结构式:



23) 多西环素

中文名称: 多西环素; 英文名称: Doxycycline; 分子式: $C_{22}H_{24}N_2O_8$; 分子量: 444.4;

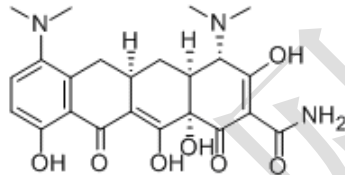
CAS 号: 564-25-0; 结构式:



24) 米诺环素

中文名称: 米诺环素; 英文名称: Minocycline; 分子式: $C_{23}H_{27}N_3O_7$; 分子量: 457.5;

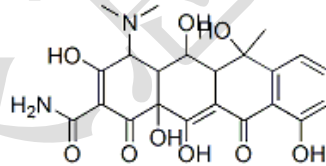
CAS 号: 10118-90-8; 结构式:



25) 土霉素

中文名称: 土霉素; 英文名称: Oxytetracyclin; 分子式: $C_{22}H_{24}N_2O_9$; 分子量: 460.4;

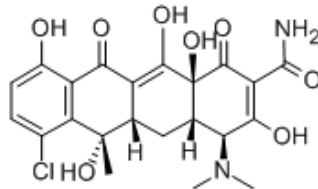
CAS 号: 79-57-2; 结构式:



26) 金霉素

中文名称: 金霉素; 英文名称: Aureomycin; 分子式: $C_{22}H_{23}ClN_2O_8$; 分子量: 478.9;

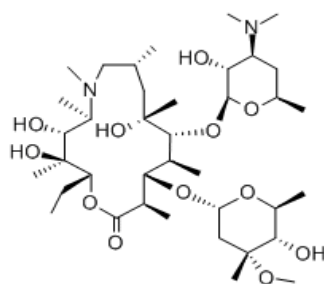
CAS 号: 57-62-5; 结构式:



27) 阿奇霉素

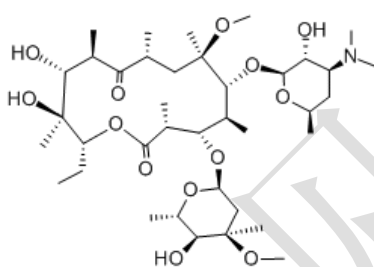
中文名称: 阿奇霉素; 英文名称: Azithromycin; 分子式: $C_{38}H_{72}N_2O_{12}$; 分子量: 748.98;

CAS 号: 83905-01-5; 结构式:



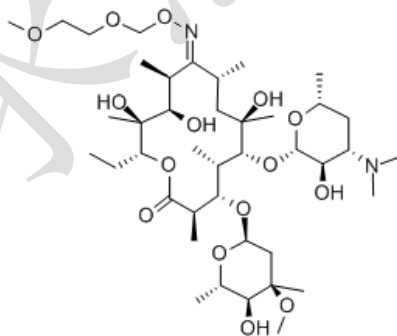
28) 克拉霉素

中文名称: 克拉霉素; 英文名称: Clarithromycin; 分子式: $C_{38}H_{69}NO_{13}$; 分子量: 747.95;
CAS 号: 81103-11-9; 结构式:



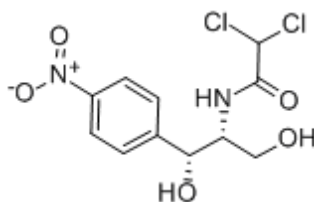
29) 罗红霉素

中文名称: 罗红霉素; 英文名称: Roxithromycin; 分子式: $C_{41}H_{76}N_2O_{15}$; 分子量: 837.05;
CAS 号: 80214-83-1; 结构式:



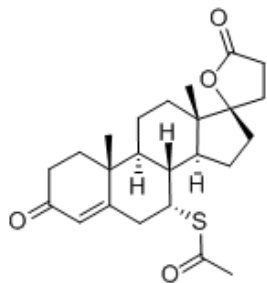
30) 氯霉素

中文名称: 氯霉素; 英文名称: Chloramphenicol; 分子式: $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$; 分子量: 323.1;
CAS 号: 56-75-7; 结构式:



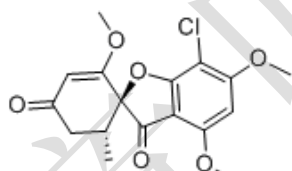
31) 螺内酯

中文名称: 螺内酯; 英文名称: Spironolactone; 分子式: $C_{24}H_{32}O_4S$; 分子量: 416.57;
CAS 号: 52-01-7; 结构式:



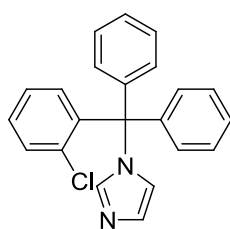
32) 灰黄霉素

中文名称: 灰黄霉素; 英文名称: Griseofulvin; 分子式: $C_{17}H_{19}ClO_6$; 分子量: 352.77;
CAS 号: 126-07-8; 结构式:



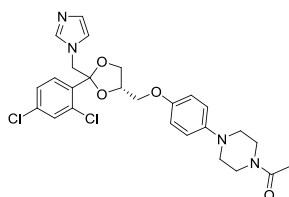
33) 克霉唑

中文名称: 克霉唑; 英文名称: Clotrimazole; 分子式: $C_{22}H_{17}ClN_2$; 分子量: 344.84;
CAS 号: 23593-75-1; 结构式:



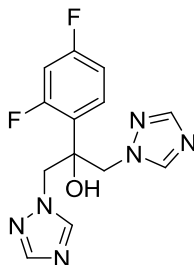
34) 酮康唑

中文名称: 酮康唑; 英文名称: Ketoconazole; 分子式: $C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$; 分子量: 531.43;
CAS 号: 65277-42-1; 结构式:



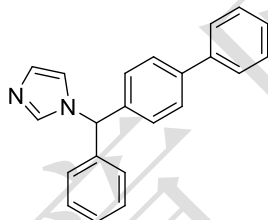
35) 氟康唑

中文名称：氟康唑；Fluconazole； 分子式：C₁₃H₁₂F₂N₆O； 分子量：306.27； CAS 号：86386-73-4； 结构式：



36) 联苯苄唑

中文名称：联苯苄唑；英文名称：Bifonazole； 分子式：C₂₂H₁₈N₂； 分子量：310.39； CAS 号：60628-96-8； 结构式：



二、检测方法选择与优化

1. 检测方法的选择

目前文献中报导的抗感染类药物物质的检测方法主要为高效液相色谱法、高效液相色谱-质谱联用法。高效液相色谱法效率高、方便快捷、简便易用，但是高效液相色谱法对多种组分的分离情况不理想，受杂质干扰较大，灵敏度不够，并需要采用质谱法对阳性结果进行确证。考虑到能用同一检测方法尽可能覆盖多的组分，所以选择了方法灵敏、准确可靠、专一性好、检测组分多并可以同时进行阳性确证的高效液相色谱-质谱法作为方法研究制定的首选。

2. 特征离子和定量离子的选择

本方法研究中使用了 Waters TQ-S 对本方法涉及的抗感染类药物物质的特征离子和定量离子进行优化选择，按照仪器厂家推荐设置气流、源温、毛细管电压等参数。串联三重四极杆质谱定量和定性分析，特征离子对选择和电压、碰撞能优化是非常重要的参数。主要参数有：定性和定量离子对的选择、Fragmentor 电压和 CE 电压等。用甲醇稀释每种标准储备液浓度至 500 μg/L，进行质谱调谐方法的优化。用蠕动泵以 10 μL/min 的流速连续注射标准溶

液注入 ESI 离子源中, 在正/负离子检测方式下对目标化合物进行一级质谱分析(Q1 扫描), 得到准分子离子[M+H]⁺ 或[M-H]⁻信息; 对准分子离子峰进行二级质谱分析(子离子扫描), 得到碎片离子信息, 选择合理丢失且丰度较大的两个碎片离子作为定性离子, 以其中丰度较大的碎片离子作为定量离子。在此过程中, 对锥孔电压、碰撞能量、离子源温度、雾化气等质谱参数进行了优化。最终选择了下表中的定量离子和特征离子对。

表 1 36 种抗感染药物的监测离子对及相关参数设定表

编号	物质名称	电离方式	母离子(m/z)	Frag.(V)	子离子(m/z)	CE (V)
1	甲硝唑	ESI ⁺	172.0	22	82.0*	18
			172.0	22	128.0	22
2	磺胺吡啶	ESI ⁺	250.0	10	156.0*	16
			250.0	10	92.0	26
3	磺胺甲噁啉	ESI ⁺	265.0	22	156.0*	15
			265.0	22	92.0	18
4	磺胺甲二唑	ESI ⁺	271.1	30	156.0*	15
			271.1	30	92.0	25
5	磺胺甲氧嗪	ESI ⁺	281.1	35	156.0*	25
			281.1	35	92.0	25
6	磺胺氯哒嗪	ESI ⁺	285.0	20	155.9*	15
			285.0	20	92.0	28
7	磺胺甲噁唑	ESI ⁺	254.1	22	156.0*	18
			254.1	22	107.9	18
8	依诺沙星	ESI ⁺	321.1	40	232.0*	30
			321.1	40	303.1	35
9	沙拉沙星	ESI ⁺	386.2	6	299.1*	28
			386.2	6	342.1	18
10	培氟沙星	ESI ⁺	334.2	13	233.1*	20
			334.2	13	290.1	16
11	氧氟沙星	ESI ⁺	362.2	30	261.1*	28
			362.2	30	318.2	18
12	氟罗沙星	ESI ⁺	370.2	29	269.1*	28
			370.2	30	326.0	20
13	双氟沙星	ESI ⁺	400.2	38	299.1*	22
			400.2	38	356.0	20
14	莫西沙星	ESI ⁺	402.2	6	261.1*	24
			402.2	6	364.5	28
15	诺氟沙星	ESI ⁺	320.1	40	233.1*	25
			320.1	40	276.1	20
16	环丙沙星	ESI ⁺	332.2	42	231.0*	22
			332.2	42	288.1	18
17	恩诺沙星	ESI ⁺	360.2	29	245.1*	20

续表

			360.2	29	342.2	20
18	呋喃它酮	ESI ⁺	325.0	28	100.0*	15
			325.0	28	281.0	12
19	林可霉素	ESI ⁺	407.2	40	359.4*	20
			407.2	40	126.1	25
20	克林霉素	ESI ⁺	425.2	20	377.2*	18
			425.2	20	126.2	25
21	克林霉素磷酸酯	ESI ⁺	505.2	30	126.1*	30
			505.2	30	457.2	30
22	四环素	ESI ⁺	445.1	30	410.2*	18
			445.1	30	427.3	14
23	多西环素	ESI ⁺	445.2	6	428.2*	20
			445.2	6	154.0	28
24	米诺环素	ESI ⁺	458.2	8	441.3*	18
			458.2	8	283.1	30
25	土霉素	ESI ⁺	461.2	4	426.1*	18
			461.2	4	444.2	18
26	金霉素	ESI ⁺	479.1	25	444.1*	20
			479.1	25	462.2	16
27	阿奇霉素	ESI ⁺	749.6	55	591.5*	30
			749.6	55	116.1	30
28	克拉霉素	ESI ⁺	748.6	35	158.1*	30
			748.6	35	590.6	20
29	罗红霉素	ESI ⁺	837.6	22	158.1*	31
			837.6	22	679.6	36
30	氯霉素	ESI ⁻	321.1	25	152.0*	15
			321.1	25	257.2	10
31	螺内酯	ESI ⁺	341.1	20	107.0*	35
			341.1	20	165.0	65
32	灰黄霉素	ESI ⁺	353.2	6	165.0*	20
			353.2	6	215.0	20
33	克霉唑	ESI ⁺	277.1	4	165.1*	24
			277.1	4	241.0	20
34	酮康唑	ESI ⁺	531.2	26	244.0*	30
			531.2	26	489.3	28
35	氟康唑	ESI ⁺	307.1	2	238.1*	15
			307.1	2	220.0	16
36	联苯苄唑	ESI ⁺	311.2	20	243.1*	15
			311.2	20	165.0	10

*: 定量离子对

3. 色谱条件的选择

在研究过程中我们对高效液相色谱-质谱法的色谱条件进行了研究。文献调研表明多组

分抗感染类药物检测常用缓冲溶液添加一定比例的有机溶剂作为流动相。试验考察了不同流动相体系（甲酸水-甲醇、甲酸水-乙腈、乙酸铵水溶液-甲醇、乙酸铵水溶液-乙腈）对待测化合物分离效果和离子化效率的影响。实验结果表明，流动相体系中酸度越强，采用正离子模式检测的化合物响应越高，采用负模式检测的化合物响应受到抑制。乙腈作为有机相对待测化合物分离效果好于甲醇。综合考虑待测组分的化学性质和质谱响应，最终选择对正负离子模式都有较好适用性的乙酸铵溶液-乙腈体系作为流动相。本方法采用液相色谱-质谱联用的检测手段，因为质谱具有第二次分离的能力，色谱条件不需要所有待测化合物达到完全基线分离即可完成定量，节省了分析时间，提高了分析效率。

4. 提取和净化方法

化妆品基质复杂，按样品物理状态分可以有液体、半流体、固体三大类，实验选择了具有代表性的液态水剂类、膏霜乳液类化妆品作为空白基质。根据文献报道，大部分待测组分在甲醇、乙腈中有较好的溶解性，实验考察了甲醇和乙腈对 36 种禁用物质提取效率影响，实验结果表明，甲醇提取后的样品起泡现象较乙腈明显。本检测方法前处理采用添加饱和氯化钠溶液加速破乳，甲醇与氯化钠溶液互溶，不宜除盐，为了保证定容的简便和准确，本研究采用乙腈作为提取溶剂，此外乙腈还有沉淀蛋白的作用，有利于样品中杂质的去除。文献报道，对于四环素类、喹诺酮类化合物在酸性条件下提取效果好，回收高，因此实验考察了不同浓度的甲酸乙腈溶液对待测组分提取回收率的影响，实验结果表明，随着酸度的增加，四环素、喹诺酮类化合物的回收率增加，但是氯霉素、磺胺类化合物的回收率呈现先增加后降低的趋势，综合考虑多组分的提取效果，最终选择 0.5% 甲酸乙腈溶液作为提取溶剂。本方法采用提取后冷冻离心的方式，可将提取溶液与化妆品基质中脂类物质有效分离，较少对待测组分的干扰，避免污染仪器。

由于乙腈提取的成分较为复杂，在遇到低比例有机相的流动相时易析出，易造成色谱柱堵塞，因此在提取后采用初始流动相对样品溶液进行适量稀释，在不影响待测成分回收率的情况下，可使部分乙腈提取的杂质析出后滤除，能够同时起到保护色谱、减小溶剂效应、降低杂质对质谱响应影响的作用。

三、验证

根据《关于印发化妆品中禁用物质和限用物质检测方法验证技术规范的通知》（国食药监许[2010]455 号）（以下简称《规范》），对所建立方法进行了验证。

1. 实验室内部方法验证

1.1 方法特异性

实验室内验证，选择了两个空白化妆品样品作为验证的基质，分别为水剂和膏剂。经过处理的空白化妆品样品、空白化妆品样品加混合标准溶液，在选定的分析条件下注入液质联用仪进行分析，分析图谱见图 1 和图 2，结果表明化妆品基质对 36 种待测化合物测定无干扰，说明所建方法适用于 36 种待测化合物的测定。图 1 和图 2 中 1-36 号物质分别为：甲硝唑、磺胺吡啶、磺胺甲噁唑、磺胺甲二唑、磺胺甲氧唑、磺胺氯吡啶、磺胺甲噁唑、依诺沙星、沙拉沙星、培氟沙星、氧氟沙星、氟罗沙星、双氟沙星、莫西沙星、诺氟沙星、环丙沙星、恩诺沙星、呋喃它酮、林可霉素、克林霉素、克林霉素磷酸酯、四环素、多西环素、米诺环素、土霉素、金霉素、阿奇霉素、克拉霉素、罗红霉素、氯霉素、螺内酯、灰黄霉素、克霉唑、酮康唑、氟康唑、联苯苄唑。

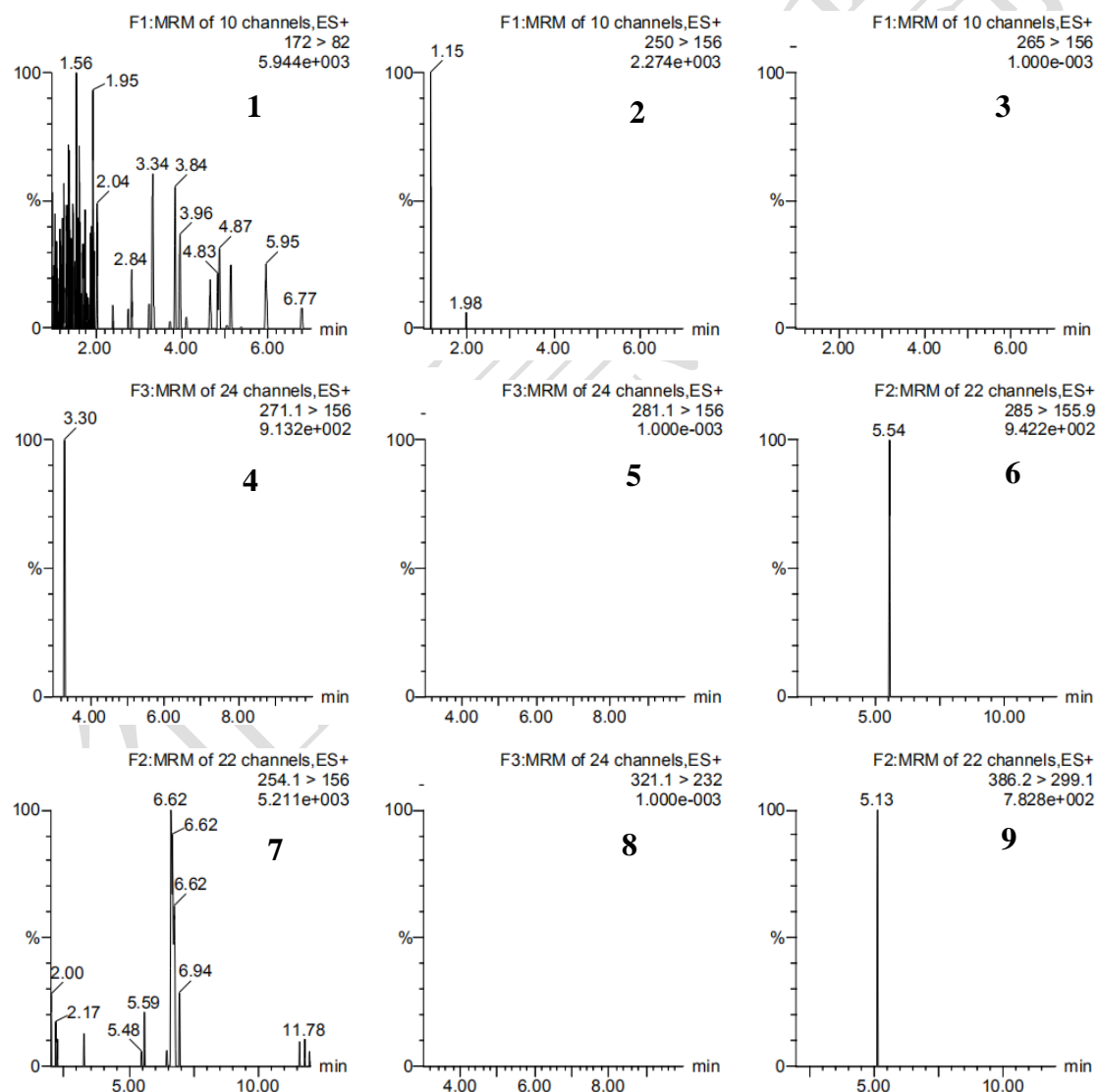


图 1 空白样品的 HPLC-MS/MS 色谱图

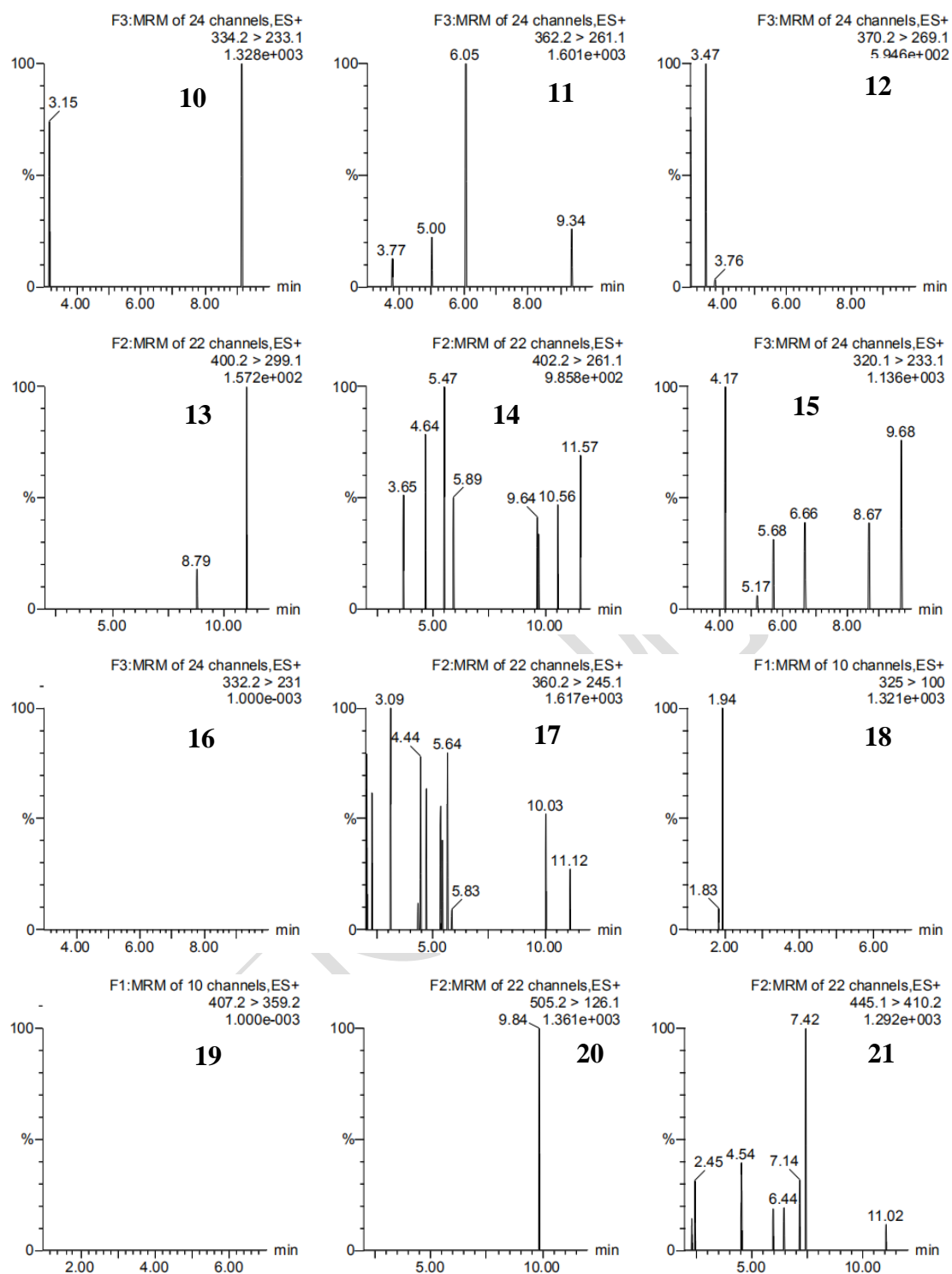


图 1 空白样品的 HPLC-MS/MS 色谱图 (续)

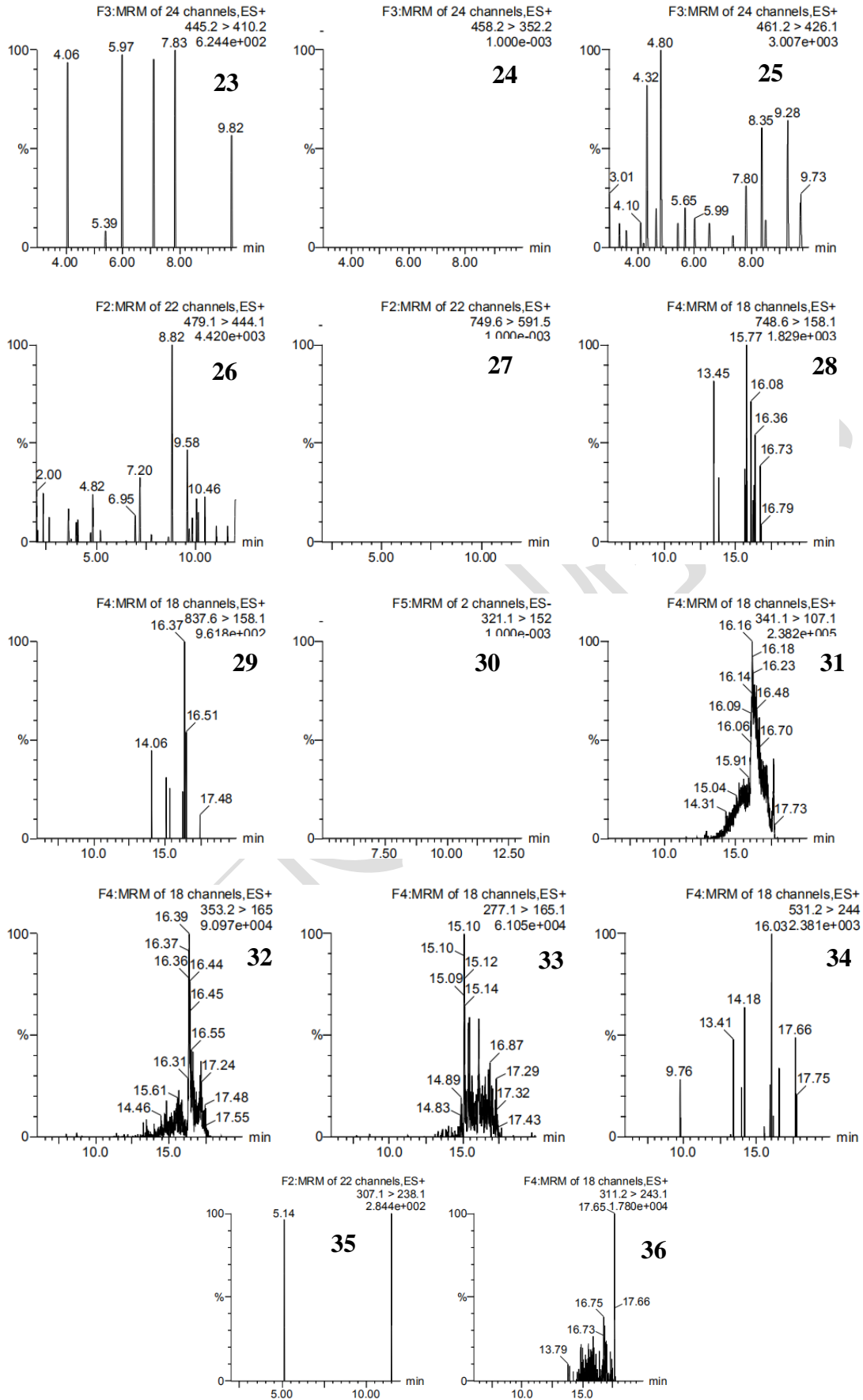


图 1 空白样品的 HPLC-MS/MS 色谱图 (续)

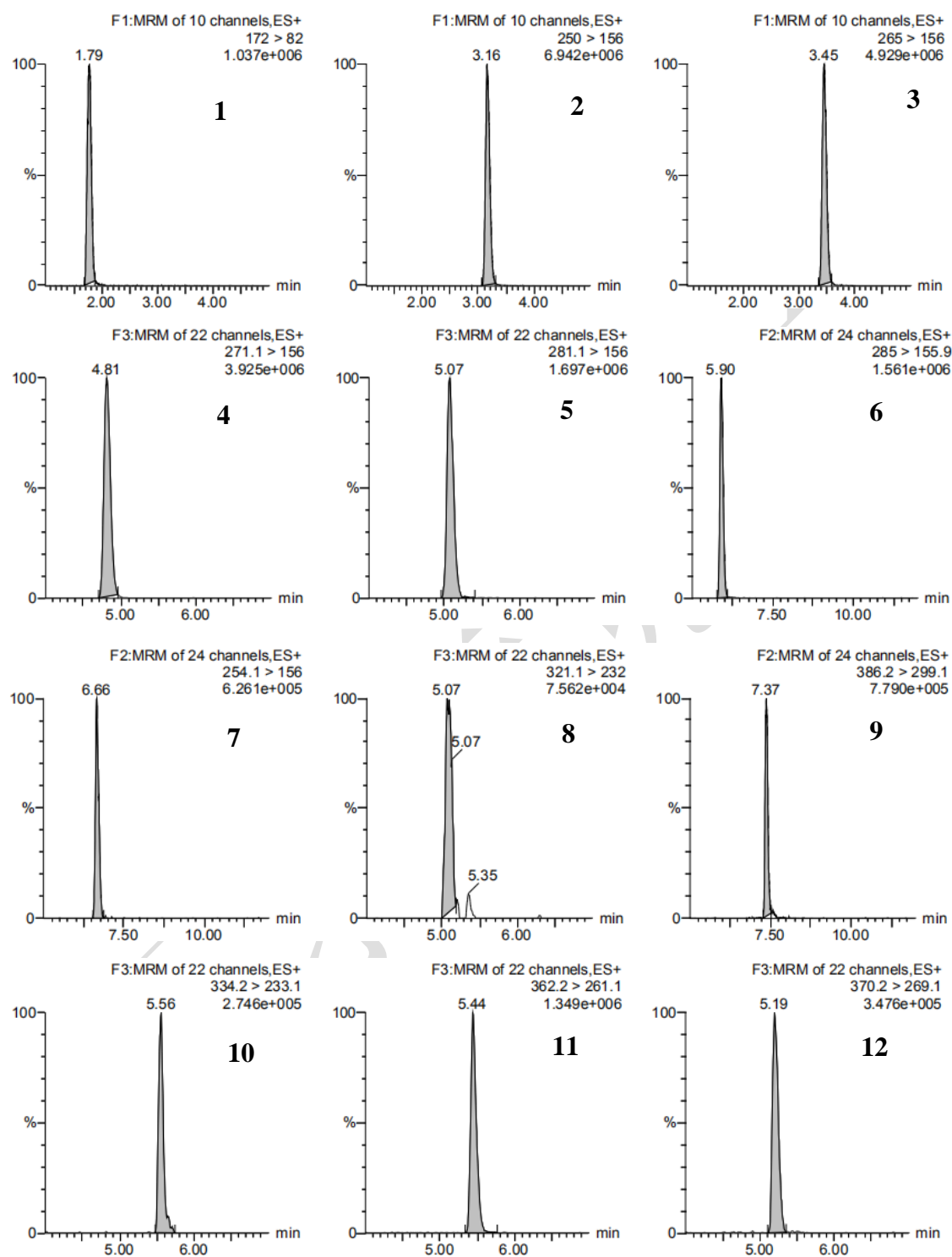


图 2 空白样品加混合标准溶液的 HPLC-MS/MS 色谱图

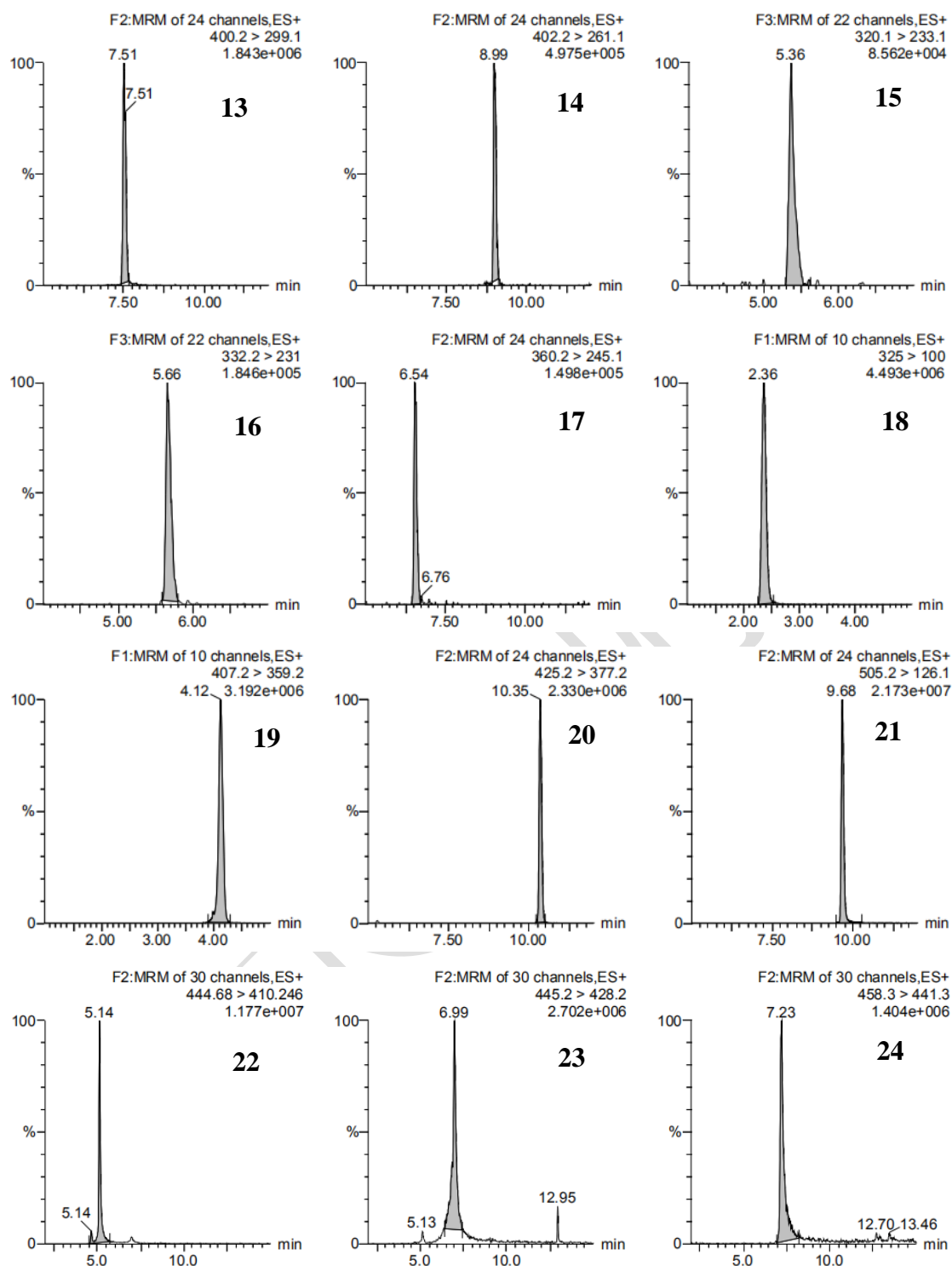


图 2 空白样品加混合标准溶液的 HPLC-MS/MS 色谱图 (续)

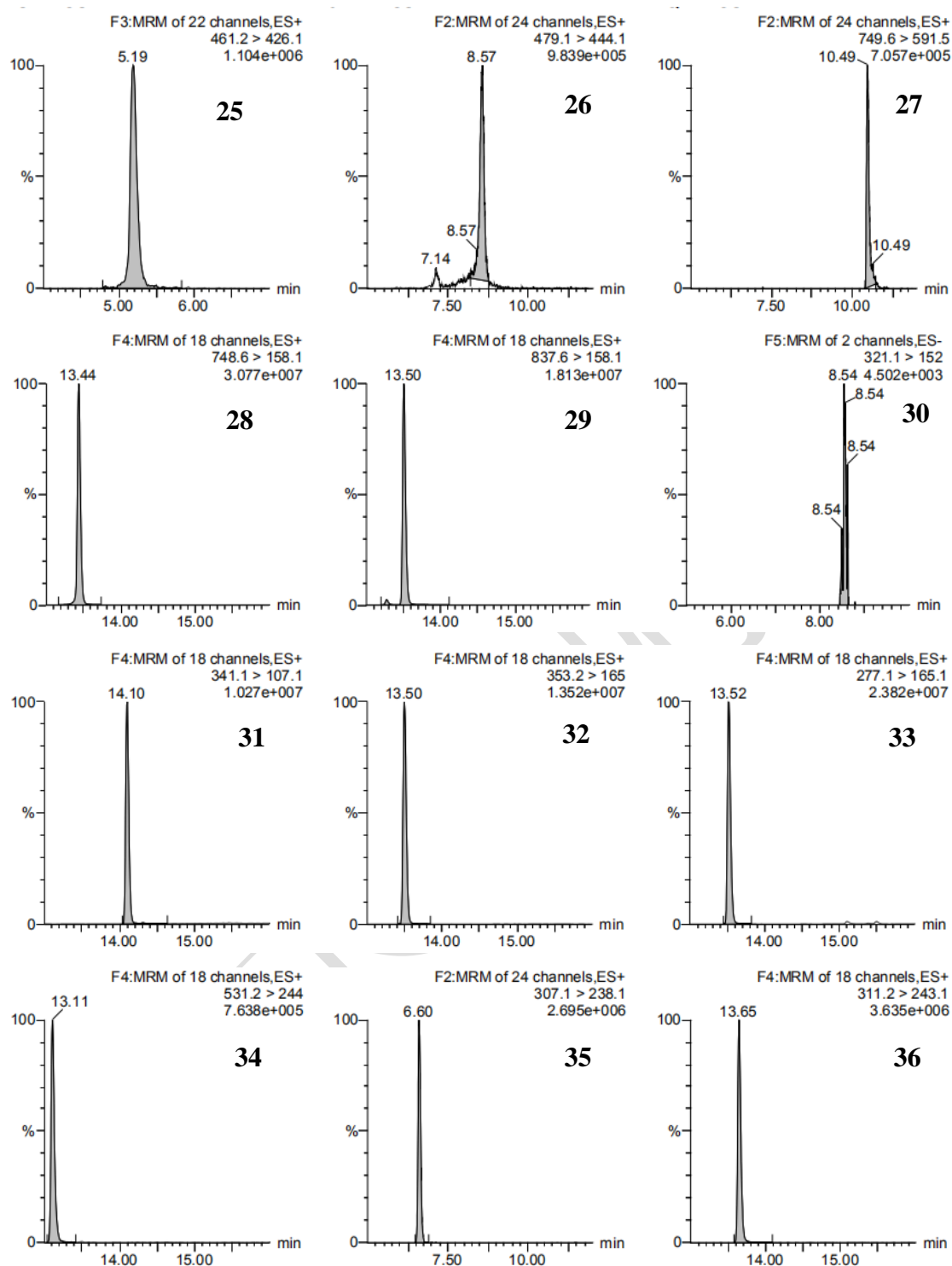


图 2 空白样品加混合标准溶液的 HPLC-MS/MS 色谱图 (续)

1.2 线性及线性范围

在本方法条件下考察一定浓度范围内高效液相色谱-质谱测得的各被测物质定量离子峰面积对应浓度的线性相关性, 结果如下表所示。结果表明在本方法条件下, 检测响应值与样品中被测物质浓度在 2 至 60ng/mL 范围内线性相关性良好($R^2 \geq 0.99$), 符合《化妆品中禁用物质和限用物质检测方法验证技术规范》要求。

表 2 溶液标准曲线的回归方程、相关系数及线性范围

化合物	回归方程	相关系数 r	线性范围(ng/mL)
甲硝唑	$Y=165.83X-740.31$	0.9996	10-200
四环素	$Y=9163.73X-27609.3$	0.9988	10-200
金霉素	$Y=4681.08X+3690.47$	0.9929	10-200
土霉素	$Y=5472.05X-16084.2$	0.9987	10-200
多西环素	$Y=3413.94X-6163.75$	0.9904	10-200
米诺环素	$Y=1853.72X-3436.8$	0.9995	10-200
氯霉素	$Y=10422X-17436.2$	0.9977	100-1000
氟罗沙星	$Y=21671.7X+1186.4$	0.9992	10-200
氧氟沙星	$Y=58643.4X-60365.8$	0.9995	10-200
依诺沙星	$Y=7788.83X-35668.9$	0.9965	10-200
培氟沙星	$Y=16825.5X-14801.2$	0.9995	10-200
诺氟沙星	$Y=6094.23X-55713.2$	0.9943	10-200
环丙沙星	$Y=10160.3X-45355.2$	0.9955	10-200
恩诺沙星	$Y=6066.2X-8839.45$	0.9995	10-200
双氟沙星	$Y=24103.3X+1073.14$	0.9994	10-200
沙拉沙星	$Y=5557.5X-17533.4$	0.9986	10-200
莫西沙星	$Y=102.469X-448.984$	0.9925	10-200
氟康唑	$Y=9524.67X-361.703$	0.9989	10-200
灰黄霉素	$Y=31589.3X+12684.4$	0.9999	10-200
酮康唑	$Y=1397.81X-2199.45$	0.9993	10-200
克霉唑	$Y=8300.88X-12794.7$	0.9966	10-200
联苯苄唑	$Y=44185.5X-2721.79$	0.9996	10-200
咪喃它酮	$Y=8319.57X-3467.51$	0.9994	10-200
磺胺吡啶	$Y=2058.28X-7919.77$	0.9942	10-200
磺胺甲噻啶	$Y=2732.5X-10500.5$	0.9949	10-200
磺胺甲二唑	$Y=3933.86X-9500.02$	0.9986	10-200
磺胺甲氧嗪	$Y=8516.84X-28948.4$	0.9959	10-200

续表

化合物	回归方程	相关系数 r	线性范围(ng/mL)
磺胺氯哒嗪	$Y=15641.7X-37706.5$	0.9993	10-200
磺胺甲噁唑	$Y=7348.52X-1817.72$	0.9989	10-200
阿奇霉素	$Y=454.36X-23144.5$	0.9915	10-200
罗红霉素	$Y=5944.76X-3505.4$	0.9996	10-200
克拉霉素	$Y=8819.21X-4335.1$	0.9999	10-200
螺内酯	$Y=718.509X+549.76$	0.9984	10-200
林可霉素	$Y=12972.2X+6158.46$	0.9990	10-200
克林霉素	$Y=22401.4X+2562.95$	0.9999	10-200
克林霉素磷酸酯	$Y=37.1753X-189.226$	0.9972	10-200

表 3 水剂基质标准曲线的回归方程、相关系数及线性范围

化合物	回归方程	相关系数 r	线性范围(ng/mL)
甲硝唑	$Y=469.506X+759.328$	0.9989	15-150
四环素	$Y=28876.4X-8971.88$	0.9978	15-150
金霉素	$Y=18741.6X-9369.54$	0.9990	15-150
土霉素	$Y=26333.6X+4777.86$	0.9992	15-150
多西环素	$Y=27471.4X-16124.2$	0.9979	15-150
米诺环素	$Y=432.828X-781.029$	0.9950	15-150
氯霉素	$Y=22815.2X+11405.9$	0.9937	100-1000
氟罗沙星	$Y=20628.8X+10670.2$	0.9992	15-150
氧氟沙星	$Y=35882.2X+36100.8$	0.9987	15-150
依诺沙星	$Y=8555.69X-5438.61$	0.9976	15-150
培氟沙星	$Y=10560.3X-11922.2$	0.9993	15-150
诺氟沙星	$Y=4175.05X+459.395$	0.9978	15-150
环丙沙星	$Y=11780.6X+1049.74$	0.9996	15-150
恩诺沙星	$Y=5116.44X+1057.5$	0.9993	15-150
双氟沙星	$Y=23352.2X+1907.98$	0.9983	15-150

续表

化合物	回归方程	相关系数 r	线性范围(ng/mL)
沙拉沙星	$Y=6128.42X+671.281$	0.9982	15-150
莫西沙星	$Y=315.693X-502.815$	0.9994	15-150
氟康唑	$Y=27779.8X+1767.67$	0.9993	15-150
灰黄霉素	$Y=31907.2X+12583.6$	0.9993	15-150
酮康唑	$Y=1001.78X+42.1464$	0.9964	15-150
克霉唑	$Y=23055.6X-5749.08$	0.9926	15-150
联苯苄唑	$Y=66538.5X-76819.9$	0.9992	15-150
咪喃它酮	$Y=2473.72X-1753.61$	0.9999	15-150
磺胺吡啶	$Y=3448.42X+4762.09$	0.9992	15-150
磺胺甲噁唑	$Y=3985.77X+4205.43$	0.9968	15-150
磺胺甲二唑	$Y=11242.5X-1584.47$	0.9960	15-150
磺胺甲氧嗪	$Y=14796.8X-5434.63$	0.9964	15-150
磺胺氯哒嗪	$Y=26362.8X+17077$	0.9986	15-150
磺胺甲噁唑	$Y=12382.4X+12451.7$	0.9995	15-150
阿奇霉素	$Y=326.727X-178.826$	0.9949	15-150
罗红霉素	$Y=5594.94X+7122.51$	0.9974	15-150
克拉霉素	$Y=6951.31X+20608$	0.9954	15-150
螺内酯	$Y=217.54X-94.2502$	0.9984	15-150
林可霉素	$Y=5656.48X-5256.48$	0.9983	15-150
克林霉素	$Y=60715.1X+20707.2$	0.9927	15-150
克林霉素磷酸酯	$Y=1853.65X+10507.9$	0.9927	15-150

表 4 膏霜基质标准曲线的回归方程、相关系数及线性范围

化合物	回归方程	相关系数 r	线性范围(ng/mL)
甲硝唑	$Y=554.563X-2107.37$	0.9966	15-150
四环素	$Y=16606.8X-3579.28$	0.9961	15-150
金霉素	$Y=8309.18X-1945.03$	0.9953	15-150

续表

化合物	回归方程	相关系数 r	线性范围(ng/mL)
土霉素	Y=16169.6X-3975.41	0.9941	15-150
多西环素	Y=19954X-1672.28	0.9951	15-150
米诺环素	Y=914.911X-1474.89	0.9926	15-150
氯霉素	Y=13378 X-37804.7	0.9951	100-1000
氟罗沙星	Y=24705.3X+985.018	0.9990	15-150
氧氟沙星	Y=38566.8X -28004	0.9987	15-150
依诺沙星	Y=10220X-33423	0.9940	15-150
培氟沙星	Y=11315.4X-26393.7	0.9965	15-150
诺氟沙星	Y=3456.21X-6795.24	0.9946	15-150
环丙沙星	Y=13171.5X-16892.7	0.9985	15-150
恩诺沙星	Y=5112.43X-3204.16	0.9992	15-150
双氟沙星	Y=22053.8X+6956.53	0.9991	15-150
沙拉沙星	Y=5617.63X-587.916	0.9992	15-150
莫西沙星	Y=272.406X-303.902	0.9978	15-150
氟康唑	Y=25093.5X-25536	0.9979	15-150
灰黄霉素	Y=25037.8X-13028.1	0.9980	15-150
酮康唑	Y=1127.52X+1137.5	0.9985	15-150
克霉唑	Y=11906.2X-42161.6	0.9910	15-150
联苯苄唑	Y=50788.4X+172022	0.9964	15-150
咪喃它酮	Y=3368.51X-5323.13	0.9986	15-150
磺胺吡啶	Y=2473.34X-7127	0.9972	15-150
磺胺甲噁啶	Y=3217.75X-13065.8	0.9924	15-150
磺胺甲二唑	Y=9642.62X-31983.5	0.9939	15-150
磺胺甲氧嗪	Y=11159.1X-43727.4	0.9909	15-150
磺胺氯哒嗪	Y=18436.7X-51438.9	0.9958	15-150
磺胺甲噁唑	Y=9408.79X-4813.4	0.9992	15-150
阿奇霉素	Y=354.018X-548.226	0.9939	15-150

续表

化合物	回归方程	相关系数 r	线性范围(ng/mL)
罗红霉素	$Y=17233.6X+3157.88$	0.9983	15-150
罗红霉素	$Y=17233.6X+3157.88$	0.9983	15-150
克拉霉素	$Y=22957.1X+17024.1$	0.9989	15-150
螺内酯	$Y=970.162X+1532.05$	0.9954	15-150
林可霉素	$Y=34353X-6035.13$	0.9978	15-150
克林霉素	$Y=84680.5X+87180.9$	0.9992	15-150
克林霉素磷酸酯	$Y=12889.1X+9701.93$	0.9939	15-150

1.3 检出限和定量下限

稀释并检测 36 种禁用物质标准溶液, 测定峰高信噪比为 10:1 时 36 种禁用物质的浓度确定为本方法的定量下限; 测定峰高信噪比为 3:1 时 36 种禁用物质的浓度确定为本方法的检出限, 结果见表 5 所示。

1.4 检出浓度和最低定量浓度

向不含 36 种禁用物质的空白样品中定量添加 36 种禁用物质标准溶液, 按前处理方法处理后, 测定峰高信噪比为 10:1 时添加的 36 种禁用物质质量确定为方法的最低定量浓度; 测定峰高信噪比为 3:1 时添加的 36 种禁用物质质量确定为本方法的检出浓度, 结果见表 5 所示。

表 5 各禁用物质的检出限、定量下限、检出浓度和最低定量浓度

化合物	检出限 (ng)	定量限 (ng)	检出浓度(μg/g)	定量浓度(μg/g)
甲硝唑	25	75	0.25	0.75
四环素	25	75	0.25	0.75
金霉素	25	75	0.25	0.75
土霉素	25	75	0.25	0.75
多西环素	25	75	0.25	0.75
米诺环素	25	75	0.25	0.75
氯霉素	100	300	1	3
氟罗沙星	25	75	0.25	0.75
氧氟沙星	25	75	0.25	0.75
依诺沙星	25	75	0.25	0.75

续表

化合物	检出限 (ng)	定量限 (ng)	检出浓度(μg/g)	定量浓度(μg/g)
培氟沙星	25	75	0.25	0.75
诺氟沙星	25	75	0.25	0.75
环丙沙星	25	75	0.25	0.75
恩诺沙星	25	75	0.25	0.75
双氟沙星	25	75	0.25	0.75
沙拉沙星	25	75	0.25	0.75
莫西沙星	25	75	0.25	0.75
氟康唑	25	75	0.25	0.75
灰黄霉素	25	75	0.25	0.75
酮康唑	25	75	0.25	0.75
克霉唑	25	75	0.25	0.75
联苯苄唑	25	75	0.25	0.75
呋喃它酮	25	75	0.25	0.75
磺胺吡啶	25	75	0.25	0.75
磺胺甲噁啶	25	75	0.25	0.75
磺胺甲二唑	25	75	0.25	0.75
磺胺甲氧嗪	25	75	0.25	0.75
磺胺氯吡嗪	25	75	0.25	0.75
磺胺甲噁唑	25	75	0.25	0.75
阿奇霉素	25	75	0.25	0.75
罗红霉素	25	75	0.25	0.75
克拉霉素	25	75	0.25	0.75
螺内酯	25	75	0.25	0.75
林可霉素	25	75	0.25	0.75
克林霉素	25	75	0.25	0.75
克林霉素磷酸酯	25	75	0.25	0.75

1.5 基质效应

两种空白化妆品的基质效应结果见表 6，从数据中可以看出，空白化妆品存在明显的基质效应，且不同的空白化妆品基质效应差异较大，因此定量测定抗感染类药物组分含量时，采用基质标准曲线作为定量的校准曲线更为合适。

表 6 待测化合物基质效应结果表

化合物	水剂基质	膏霜基质
	基质效应(%)	基质效应(%)
甲硝唑	377.5	330.0
四环素	262.7	256.6
金霉素	269.3	255.7
土霉素	561.2	637.6
多西环素	99.9	95.7
米诺环素	41.2	65.5
氯霉素	53.4	47.1
氟罗沙星	155.9	162.3
氧氟沙星	119.7	125.4
依诺沙星	152.4	159.2
培氟沙星	180.2	196.2
诺氟沙星	155.7	116.8
环丙沙星	213.0	233.7
恩诺沙星	140.0	136.9
双氟沙星	179.2	182.2
沙拉沙星	256.8	258.5
莫西沙星	448.3	364.1
氟康唑	517.2	472.1
灰黄霉素	183.3	166.1
酮康唑	140.3	123.9
克霉唑	81.4	74.1
联苯苄唑	203.4	290.2

续表

化合物	水剂基质 基质效应(%)	膏霜基质 基质效应(%)
呋喃它酮	48.0	59.5
磺胺吡啶	386.2	198.8
磺胺甲噁啶	305.7	207.3
磺胺甲二唑	434.9	307.1
磺胺甲氧嗪	248.9	166.0
磺胺氯哒嗪	277.4	205.5
磺胺甲噁唑	292.6	230.5
阿奇霉素	227.6	340.1
罗红霉素	107.7	212.8
克拉霉素	109.0	253.1
螺内酯	102.5	78.7
林可霉素	83.3	106.7
克林霉素	313.6	381.5
克林霉素磷酸酯	67.1	67.2

1.6 精密度

对制备的两种基质的加标样品分别连续进样 6 次进行 HPLC-MS/MS 分析，测得的峰面积代入随行的溶液标准曲线，计算检出的浓度以及 RSD 和准确度，结果见表 7。

表 7 精密度测定结果 (n=6)

组分	水剂基质	膏霜基质
	RSD(%)	RSD(%)
四环素	4.2	4.5
金霉素	1.2	10.5
土霉素	1.9	9.1
多西环素	1.0	5.4
米诺环素	0.8	5.2
氯霉素	3.5	8.0

续表

组分	水剂基质	膏霜基质
	RSD(%)	RSD(%)
氟罗沙星	1.5	1.8
氧氟沙星	5.7	3.0
依诺沙星	3.4	3.2
培氟沙星	0.8	2.8
诺氟沙星	0.9	3.1
环丙沙星	0.7	2.6
恩诺沙星	2.2	3.4
双氟沙星	3.2	5.0
沙拉沙星	1.1	3.0
莫西沙星	3.5	3.9
甲硝唑	1.9	4.7
氟康唑	1.8	7.6
灰黄霉素	2.2	1.5
酮康唑	1.2	4.0
克霉唑	3.8	2.5
联苯苄唑	2.5	8.8
咪喃它酮	1.7	4.4
磺胺吡啶	3.3	1.4
磺胺甲噁啉	2.9	7.1
磺胺甲二唑	0.6	5.8
磺胺甲氧嗪	3.2	1.1
磺胺氯哒嗪	0.8	1.9
磺胺甲恶唑	3.3	8.7
阿奇霉素	4.8	8.9
罗红霉素	1.9	2.7
克拉霉素	1.5	3.8

续表

组分	水剂基质	膏霜基质
	RSD(%)	RSD(%)
螺内酯	1.2	2.5
林可霉素	1.4	1.3
克林霉素	2.4	4.5
克林霉素磷酸酯	9.6	4.4

1.7 回收率

对制备的回收率样品进行 HPLC-MS/MS 分析，测得的峰面积分别代入基质标准曲线，计算测得浓度，然后除以理论加入浓度，获得方法的回收率。两种不同基质化妆品的回收率数据见表 8。

表 8 基质回收率结果表

物质名称	加标浓度	水剂基质		膏霜基质	
		平均回收率%	RSD%	平均回收率%	RSD%
甲硝唑	低	113.5	2.6	80.5	0.0
	中	117.0	0.5	100.6	3.9
	高	105.7	1.3	84.0	5.1
磺胺吡啶	低	113.5	1.8	81.8	3.1
	中	110.7	3.6	91.2	1.3
	高	107.0	4.1	88.2	2.2
磺胺甲噁唑	低	108.3	1.4	86.5	4.6
	中	109.2	2.8	89.1	0.4
	高	108.6	0.1	90.8	0.8
磺胺甲二唑	低	106.8	1.4	85.0	2.4
	中	114.7	3.2	90.3	5.7
	高	100.1	4.3	88.0	5.2
磺胺甲氧嗪	低	102.8	0.5	86.5	1.2
	中	111.7	0.6	87.9	6.7
	高	104.7	3.6	80.8	2.2

续表

物质名称	加标 浓度	水剂基质		膏霜基质	
		平均回收率%	RSD%	平均回收率%	RSD%
磺胺氯哒嗪	低	105.8	4.3	90.8	3.9
	中	114.9	0.7	95.0	3.6
	高	100.4	5.1	81.6	1.5
诺氟沙星	低	107.5	6.5	87.5	4.6
	中	118.0	1.2	91.6	6.6
	高	109.6	3.0	83.5	0.4
依诺沙星	低	100.8	2.5	87.3	2.9
	中	108.5	6.1	94.0	1.9
	高	96.2	6.4	85.4	0.9
呋喃它酮	低	108.8	5.1	91.5	3.3
	中	115.8	0.3	98.5	9.1
	高	112.0	2.3	93.2	4.5
培氟沙星	低	98.3	3.6	93.8	1.6
	中	105.6	3.9	99.0	2.3
	高	92.9	6.7	87.4	0.0
氧氟沙星	低	108.5	1.8	97.8	0.5
	中	113.6	0.3	105.0	3.7
	高	93.1	3.5	88.4	0.3
氟罗沙星	低	103.8	7.2	98.5	1.0
	中	107.7	4.4	103.4	2.9
	高	89.8	4.7	86.8	0.9
林可霉素	低	96.3	7.8	94.8	4.7
	中	106.3	1.4	98.9	4.6
	高	93.2	9.3	103.2	0.2
磺胺甲噁唑	低	115.5	4.3	100.0	0.0
	中	112.1	1.2	99.2	2.6

续表

物质名称	加标 浓度	水剂基质		膏霜基质	
		平均回收率%	RSD%	平均回收率%	RSD%
氟康唑	高	96.7	3.6	82.1	1.2
	低	103.0	0.0	92.3	2.7
	中	109.2	5.0	89.1	2.9
环丙沙星	高	93.5	6.1	95.7	4.0
	低	108.5	0.9	96.3	1.6
	中	109.7	1.3	102.2	2.9
恩诺沙星	高	93.3	2.5	84.3	0.1
	低	106.5	5.6	98.3	3.6
	中	111.1	0.1	104.1	7.3
沙拉沙星	高	103.6	2.3	93.9	0.4
	低	101.0	12.9	100.0	1.0
	中	106.4	8.2	104.4	4.1
双氟沙星	高	91.5	2.2	83.4	3.0
	低	102.3	1.5	96.3	6.8
	中	104.4	5.2	86.4	4.6
莫西沙星	高	87.1	5.5	89.2	2.1
	低	93.5	2.1	101.0	4.0
	中	102.6	11.5	102.9	6.4
克林霉素	高	94.0	2.8	83.8	0.1
	低	103.3	3.4	100.8	0.5
	中	105.1	4.5	99.1	2.4
四环素	高	88.9	1.9	86.8	2.4
	低	96.3	5.7	97.5	1.0
	中	108.3	0.6	103.3	4.5
多西环素	高	98.8	3.1	89.2	2.5
	低	88.0	1.1	97.5	4.1

续表

物质名称	加标 浓度	水剂基质		膏霜基质	
		平均回收率%	RSD%	平均回收率%	RSD%
米诺环素	中	107.1	0.6	105.6	1.8
	高	94.2	7.7	85.0	0.2
	低	90.5	11.0	99.3	0.5
土霉素	中	93.0	1.7	102.4	1.4
	高	96.8	2.0	98.2	1.5
	低	97.3	8.7	103.5	1.9
金霉素	中	115.6	0.0	107.4	3.4
	高	102.8	9.2	82.9	0.5
	低	86.3	1.7	99.5	3.0
克林霉素磷酸酯	中	99.0	3.3	104.7	2.3
	高	95.5	2.5	82.5	1.5
	低	99.5	10.1	110.0	2.7
阿奇霉素	中	105.4	10.9	107.7	1.9
	高	94.4	3.5	98.5	3.3
	低	99.3	10.6	97.8	10.7
克霉唑	中	106.2	4.6	106.1	8.5
	高	93.2	5.7	86.9	4.0
	低	100.0	2.0	82.5	1.2
螺内酯	中	103.4	7.6	104.9	4.6
	高	93.6	0.6	83.3	3.7
	低	100.5	8.0	83.5	1.2
灰黄霉素	中	103.1	11.1	105.8	10.6
	高	90.8	4.8	92.4	3.1
	低	101.3	4.4	91.3	1.6
	中	111.1	3.9	92.0	1.0
	高	94.2	4.1	98.5	0.9

续表

物质名称	加标 浓度	水剂基质		膏霜基质	
		平均回收率%	RSD%	平均回收率%	RSD%
酮康唑	低	92.3	3.8	101.0	3.0
	中	102.4	3.6	108.3	7.5
	高	87.4	1.4	85.1	1.0
克拉霉素	低	100.0	1.0	96.8	2.6
	中	105.9	5.9	104.4	5.0
	高	88.2	7.0	83.1	0.6
罗红霉素	低	98.0	0.0	105.3	0.5
	中	99.0	10.8	110.8	3.1
	高	88.8	5.4	89.9	3.8
联苯苄唑	低	113.3	1.3	101.3	1.5
	中	110.8	2.4	100.9	3.1
	高	89.5	1.5	89.4	0.1
氯霉素	低	104.5	5.7	89.3	7.3
	中	111.2	2.1	90.1	7.9
	高	98.5	9.7	85.4	3.8

1.8 稳定性

分别在 0h、2h、4h、6h、8h、12h 和 24h 测定制备的两浓度日内稳定性样品，测得的峰面积代入随行的溶液标准曲线，计算检出浓度以及 RSD 和准确度，结果见表 9，两种基质的 RSD<15%，表明样品处理后室温放置 24h 稳定。超过 24 小时后超过半数的待测化合物响应均大幅度降低，标准工作溶液、基质标准溶液应现用现配，样品处理后应尽快测定。

表 9 日内稳定性结果表 (n=6)

组分	水剂基质	膏霜基质
	RSD(%)	RSD(%)
四环素	4.5	2.9
金霉素	10.5	2.3

续表

组分	水剂基质	膏霜基质
	RSD(%)	RSD(%)
土霉素	9.1	3.4
多西环素	5.4	10.3
米诺环素	5.2	2.4
氯霉素	8.0	7.5
氟罗沙星	1.8	1.6
氧氟沙星	3.0	2.0
依诺沙星	3.2	1.9
培氟沙星	2.8	3.1
诺氟沙星	3.1	2.4
环丙沙星	2.6	1.0
恩诺沙星	3.4	1.2
双氟沙星	5.0	3.0
沙拉沙星	3.0	1.2
莫西沙星	3.9	2.5
甲硝唑	8.4	9.2
氟康唑	7.6	2.9
灰黄霉素	1.5	1.9
酮康唑	4.0	2.4
萘替芬	1.8	2.6
克霉唑	2.5	3.3
咪康唑	1.2	0.9
联苯苄唑	8.8	9.8
呋喃它酮	4.4	3.5
磺胺吡啶	3.4	7.6
磺胺甲噁唑	7.1	6.0
磺胺甲二唑	5.8	3.0

续表

组分	水剂基质	膏霜基质
	RSD(%)	RSD(%)
磺胺甲氧嗪	1.1	1.4
磺胺氯哒嗪	1.9	3.5
磺胺甲恶唑	10.0	10.2
阿奇霉素	8.9	12.3
罗红霉素	2.7	3.2
克拉霉素	10.8	11.8
螺内酯	2.5	2.5
林可霉素	1.3	3.3
克林霉素	4.5	3.6
克林霉素磷酸酯	4.5	4.9

经验证该方法的特异性、检出限，线性范围，回收率，精密度等各项指标基本符合《规范》要求，能满足化妆品中抗感染类药物测定的需要。

2. 实验室间比对验证

本方法在完成研究起草和实验室内部验证工作后，分别委托三家检测机构进行了外部实验室验证工作。

2.1 方法特异性

三家单位分别考察了水剂、膏霜剂 2 种典型剂型的化妆品空白和添加 36 种抗感染类物质后的色谱图和质谱图。结果表明 2 种典型剂型的化妆品基质中存在的物质对本方法目标检测物质没有干扰。

2.2 线性及线性范围

三家实验室分别考察了一定浓度范围内高效液相色谱-质谱测得的各被测物质定量离子峰面积对应浓度的线性相关性，结果表明在本方法条件下待测组分的 2 种典型化妆品基质加标溶液的检测响应值与样品中被测物质浓度在一定范围内线性相关性良好 ($r \geq 0.99$)，符合《规范》要求，见下表 10—15。

表 10 验证单位 1 线性关系、相关系数及线性范围（水剂基质）

物质名称	线性方程	相关系数 r	线性范围 (ng/mL)
四环素	$y = 3552.31233 x - 7379.27773$	0.9999	15.1~150.9
金霉素	$y = 15402.91142 x + 4.56272e4$	0.9969	14.4~144.0
土霉素	$y = 2332.78715 x + 10679.29971$	0.9976	17.6~176.3
多西环素	$y = 25327.20290 x + 6.43474e4$	0.9996	19.2~191.6
米诺环素	$y = 4164.24368 x - 2412.59392$	0.9994	19.3~192.7
氯霉素	$y = 163.81247 x - 20630.01330$	0.9998	155.9~1558.9
氟罗沙星	$y = 4.78154e4 x + 12641.92597$	0.9997	16.2~161.7
氧氟沙星	$y = 6.12617e4 x + 14314.42062$	0.9985	15.1~151.2
依诺沙星	$y = 1.00382e5 x - 3.24867e5$	0.9999	17.8~177.9
培氟沙星	$y = 6.44587e4 x - 1.08366e5$	0.9993	16.0~160.2
诺氟沙星	$y = 9224.12654 x - 26242.86505$	0.9989	17.9~179.3
环丙沙星	$y = 4.78452e4 x - 2.15233e5$	0.9998	16.8~168.2
恩诺沙星	$y = 6.05955e4 x - 1.72430e5$	0.9997	18.5~184.9
双氟沙星	$y = 5.68542e4 x - 5.95044e4$	0.9981	16.1~161.5
沙拉沙星	$y = 11943.67235 x - 4.94234e4$	0.9973	15.2~152.0
莫西沙星	$y = 3.55030e4 x - 1.23749e5$	0.9998	19.0~190.0
甲硝唑	$y = 8048.72523 x - 3.09322e4$	0.9998	15.7~157.5
氟康唑	$y = 11753.69371 x - 17249.15263$	0.9997	18.2~181.7
灰黄霉素	$y = 7903.46573 x - 22375.75645$	0.9999	16.0~159.8
酮康唑	$y = 8682.36079 x - 3.59575e4$	0.9999	16.1~160.9
克霉唑	$y = 7.27884e4 x - 1.50335e5$	0.9995	19.0~189.8
联苯苄唑	$y = 1.31407e5 x - 1.19129e5$	0.9993	15.4~154.1
咪喃它酮	$y = 23486.13457 x + 29808.67351$	0.9980	16.6~166.0
磺胺吡啶	$y = 22355.19432 x - 1.41686e5$	0.9973	21.5214.9
磺胺甲噁啶	$y = 19423.63757 x - 8.30339e4$	0.9987	16.1~161.5
磺胺甲二唑	$y = 16540.71320 x + 8897.06131$	0.9992	16.5~164.7
磺胺甲氧嗪	$y = 3.48466e4 x - 19329.71920$	0.9996	15.8~158.1

续表

物质名称	线性方程	相关系数 r	线性范围 (ng/mL)
磺胺氯哒嗪	$y = 14940.14347 x - 6.46250e4$	0.9983	19.1~191.5
磺胺甲恶唑	$y = 18783.65895 x - 7.63739e4$	0.9997	19.1~191.4
阿奇霉素	$y = 145.75558 x + 1394.23105$	0.9964	15.2~151.9
罗红霉素	$y = 9991.64732 x - 9176.97255$	0.9997	16.3~163.0
克拉霉素	$y = 24925.49221 x - 7.72213e4$	1.0000	13.4~134.6
螺内酯	$y = 2950.06829 x + 15325.38056$	0.9993	15.6~156.1
林可霉素	$y = 3.51148e4 x - 9.88661e4$	0.9998	16.9~169.4
克林霉素	$y = 19578.75478 x - 6.65403e4$	0.9997	21.1~211.4
克林霉素磷酸酯	$y = 11346.38691 x - 20686.33685$	0.9996	12.5~125.1

表 11 验证单位 1 线性关系、相关系数及线性范围 (膏霜基质)

物质名称	线性方程	相关系数 r	线性范围 (ng/mL)
四环素	$y = 3996.50852 x + 192.15368$	0.9986	15.1~151.
金霉素	$y = 27892.31969 x - 22779.35872$	0.9993	14.4~144.0
土霉素	$y = 3030.52441 x + 10465.10329$	0.9999	17.6~176.3
多西环素	$y = 26385.14053 x + 1.20064e5$	0.9966	19.2~191.6
米诺环素	$y = 13821.48521 x - 3.82209e4$	0.9979	19.3~192.7
氯霉素	$y = 591.37174 x - 10040.72795$	0.9998	155.9~1558.9
氟罗沙星	$y = 5.28942e4 x + 6.79724e4$	0.9994	16.2~161.7
氧氟沙星	$y = 6.18589e4 x + 1.49225e5$	0.9978	15.1~151.2
依诺沙星	$y = 9.50382e4 x + 1.44000e5$	0.9990	17.8~177.9
培氟沙星	$y = 7.66870e4 x - 12318.94474$	0.9995	16.0160.2
诺氟沙星	$y = 10529.86314 x + 22377.83713$	0.9988	17.9~179.3
环丙沙星	$y = 5.50483e4 x + 9.80984e4$	0.9990	16.8~168.2
恩诺沙星	$y = 7.05031e4 x - 1.13121e5$	0.9997	18.5~184.9
双氟沙星	$y = 7.56359e4 x + 3.85817e4$	0.9996	16.2~161.6
沙拉沙星	$y = 15821.58704 x + 2472.06568$	0.9997	15.2~152.0

续表

物质名称	线性方程	相关系数 r	线性范围 (ng/mL)
莫西沙星	$y = 5.40505e4 x - 1.28913e5$	0.9996	19.0~190.0
甲硝唑	$y = 16871.43041 x + 777.98048$	0.9976	15.7~157.5
氟康唑	$y = 16771.54552 x - 5.69788e4$	0.9998	18.2~181.7
灰黄霉素	$y = 4.45301e4 x - 1.30955e5$	0.9998	16.0~159.8
酮康唑	$y = 11577.14293 x - 17560.90820$	0.9997	16.1~160.9
克霉唑	$y = 8.14614e4 x + 3.50810e5$	0.9997	19.0~189.8
联苯苄唑	$y = 1.72110e5 x - 4.57140e5$	0.9998	15.4~154.2
呋喃它酮	$y = 26636.19935 x - 3.91288e4$	0.9997	16.6~166.0
磺胺吡啶	$y = 22097.67747 x - 11042.56749$	0.9999	21.5~214.9
磺胺甲噁啉	$y = 25515.96907 x - 10394.74784$	0.9988	16.1~161.5
磺胺甲二唑	$y = 19957.57952 x + 4.30107e4$	0.9999	16.5~164.7
磺胺甲氧嗪	$y = 3.22289e4 x + 833.37034$	0.9992	15.8~158.1
磺胺氯哒嗪	$y = 17063.16512 x - 3.74730e4$	0.9995	19.1~191.5
磺胺甲恶唑	$y = 20600.70908 x + 2226.36052$	0.9996	19.1~191.4
阿奇霉素	$y = 552.00564 x + 5386.19394$	0.9970	15.2~151.9
罗红霉素	$y = 13401.30945 x - 10502.58758$	0.9994	16.3~163.0
克拉霉素	$y = 29656.58272 x - 3.18167e4$	0.9998	13.5~134.6
螺内酯	$y = 5592.74532 x - 3.31546e4$	0.9994	15.6~156.1
林可霉素	$y = 5.65591e4 x - 7.02644e4$	0.9995	16.9~169.4
克林霉素	$y = 4.39726e4 x - 3.53504e4$	0.9995	21.1~211.4
克林霉素磷酸酯	$y = 21069.20399 x + 5089.30722$	0.9990	12.5~125.1

表 12 验证单位 2 线性关系、相关系数及线性范围 (水剂基质)

物质名称	线性方程	相关系数 r	线性范围 (ng/mL)
甲硝唑	$y = 6176x + 5806$	0.9992	15.7-157.3
磺胺吡啶	$y = 25857x - 12580$	0.9980	15.1-150.9
磺胺甲噁啉	$y = 18419x - 11006$	0.9980	15.4-154.5

续表

物质名称	线性方程	相关系数 r	线性范围 (ng/mL)
磺胺甲二唑	$y=13683x-32101$	0.9960	15.6-156.4
磺胺甲氧嗪	$y=23469x-75588$	0.9950	15.9-159.0
磺胺氯哒嗪	$y=20159x+7899.4$	0.9970	15.1-150.9
诺氟沙星	$y=6942.2x-28917$	0.9997	15.5-155.0
依诺沙星	$y=12114x-21528$	0.9995	15.2-152.1
呋喃它酮	$y=12005x-17117$	0.9990	15.8-157.9
培氟沙星	$y=9302x-20277$	0.9990	16.0-159.6
氧氟沙星	$y=31316x-47552$	0.9994	16.3-163.1
氟罗沙星	$y=22936x-78394$	0.9970	15.1-151.0
林可霉素	$y=21909x-88242$	0.9930	13.9-138.9
磺胺甲噁唑	$y=17762x-26658$	0.9991	15.7-157.0
氟康唑	$y=9752x-27897$	0.9990	15.5-154.9
环丙沙星	$y=13900x-53618$	0.9970	13.4-134.1
恩诺沙星	$y=20322x-75128$	0.9970	15.4-154.1
沙拉沙星	$y=11905x-40154$	0.9970	14.4-144.0
双氟沙星	$y=18585x-83440$	0.9980	14.3-143.2
莫西沙星	$y=5640x-18795$	0.9960	14.2-141.6
克林霉素	$y=32339x-43443$	0.99930	13.5-135.4
四环素	$y=12545x-18067$	0.9970	13.9-139.1
多西环素	$y=11178x-25647$	0.9960	14.0-140.3
米诺环素	$y=1785x-13515$	0.9920	13.8-138.4
土霉素	$y=7625x-25952$	0.9960	13.9-138.8
金霉素	$y=4311x-12977$	0.9960	137.-137.0
克林霉素磷酸酯	$y=876x-7550$	0.9910	18.3-183.5
阿奇霉素	$y=1848x-5453$	0.9960	14.7-146.7
克霉唑	$y=83720x-56665$	0.9970	3.1-31.5
螺内酯	$y=18596x-38063$	0.9980	15.8-158.2

续表

物质名称	线性方程	相关系数 r	线性范围 (ng/mL)
灰黄霉素	$y=31690x+9544$	0.9996	3.2-31.7
酮康唑	$y=5214x-16552$	0.9950	15.6-156.4
克拉霉素	$y=86526x-44232$	0.9970	3.1-30.8
罗红霉素	$y=23221x-57837$	0.9970	15.5-154.9
联苯苄唑	$y=27323x-16472$	0.9960	3.2-31.8
氯霉素	$y=42.9x+382.8$	0.9950	102.9-1028.7

表 13 验证单位 2 线性关系、相关系数及线性范围 (膏霜基质)

物质名称	线性方程	相关系数 r	线性范围 (ng/mL)
甲硝唑	$y=4108x+5454$	0.9996	15.7-157.3
磺胺吡啶	$y=24051x+75962$	0.9995	15.1-150.9
磺胺甲噁唑	$y=17610x+52959$	0.9996	15.4-154.5
磺胺甲二唑	$y=12693x+37150$	0.9996	15.6-156.4
磺胺甲氧嗪	$y=24592x+32715$	0.9998	15.9-159.0
磺胺氯哒嗪	$y=19455x+55736$	0.9996	15.1-150.9
诺氟沙星	$y=6868x-25272$	0.9996	15.5-155.0
依诺沙星	$y=12259x-8823$	0.9997	15.2-152.1
呋喃它酮	$y=12169x-2145$	0.9999	15.8-157.9
培氟沙星	$y=9120x-1276$	0.9999	16.0-159.6
氧氟沙星	$y=30581x+43223$	0.9998	16.3-163.1
氟罗沙星	$y=21786x+17231$	0.9999	15.1-151.0
林可霉素	$y=21231x-50711$	0.9980	13.9-138.9
磺胺甲噁唑	$y=16639x+16310$	0.9997	15.7-157.0
氟康唑	$y=9214x+3001$	0.9997	15.5-154.9
环丙沙星	$y=11667x-31220$	0.9996	13.4-134.1
恩诺沙星	$y=18923x-25056$	0.9999	15.4-154.1
沙拉沙星	$y=11154x+5362$	0.9994	14.4-144.0

续表

物质名称	线性方程	相关系数 r	线性范围 (ng/mL)
双氟沙星	$y=16938x-18249$	0.9999	14.3-143.2
莫西沙星	$y=5850x+1951$	0.9999	14.2-141.6
克林霉素	$y=68137x+399980$	0.9950	13.5-135.4
四环素	$y=12358x+49381$	0.9992	13.9-139.1
多西环素	$y=10838x+32094$	0.9997	14.0-140.3
米诺环素	$y=2103x-672$	0.9996	13.8-138.4
土霉素	$y=7436x+2647$	0.99992	13.9-138.8
金霉素	$y=5007x-1901$	0.9996	13.7-137.0
克林霉素磷酸酯	$y=1346x-4364$	0.9970	18.3-183.5
阿奇霉素	$y=1668x+959$	0.99993	14.7-146.7
克霉唑	$y=90586x-26730$	0.9994	3.1-31.5
螺内酯	$y=18766x+38192$	0.9998	15.8-158.2
灰黄霉素	$y=37571x+11557$	0.9900	3.2-31.7
酮康唑	$y=5729x-3534$	0.9994	15.6-156.4
克拉霉素	$y=80545x+28579$	0.9999	3.1-30.8
罗红霉素	$y=21098x+33081$	0.9999	15.5-154.9
联苯苄唑	$y=24771x-625$	0.9999	3.2-31.8
氯霉素	$y=33.5x+1479.6$	0.9980	102.9-1028.7

表 14 验证单位 3 线性关系、相关系数及线性范围 (水剂基质)

物质名称	线性方程	相关系数 r	线性范围 (ng/mL)
四环素	$y=918.69x-2879.89$	0.9948	15-150
金霉素	$y=565.399x-1983.09$	0.9924	15-150
土霉素	$y=504.44x-1249.8$	0.9987	15-150
多西环素	$y=4313.52x-12109$	0.9972	15-150
米诺环素	$y=1959.64x-7663.59$	0.9940	15-150
氯霉素	$y=38.6161x+1754.87$	0.9940	15-150

续表

物质名称	线性方程	相关系数 r	线性范围 (ng/mL)
氟罗沙星	$y=21444.7x+9697.36$	0.9991	15-150
氧氟沙星	$y=25385.7x+53259.3$	0.9986	15-150
依诺沙星	$y=7410.72x+12482.6$	0.9988	15-150
培氟沙星	$y=14502.9x-2793.58$	0.9988	15-150
诺氟沙星	$y=4496.71x-359.61$	0.9989	15-150
环丙沙星	$y=8349.12x-3228.36$	0.9986	15-150
恩诺沙星	$y=15361.8x-5156.06$	0.9989	15-150
双氟沙星	$y=12762.6x-6027.4$	0.9985	15-150
沙拉沙星	$y=8610.99x+4613.66$	0.9965	15-150
莫西沙星	$y=7717.74x-3146.42$	0.9980	15-150
甲硝唑	$y=390.068x+700.562$	0.9982	15-150
氟康唑	$y=3687.85x-5908.27$	0.9995	15-150
灰黄霉素	$y=12841x-413.846$	0.9983	15-150
酮康唑	$y=5451.39x-15744.7$	0.9939	15-150
克霉唑	$y=12160x-5998.44$	0.9993	15-150
联苯苄唑	$y=9489.81x+4015.27$	0.9985	15-150
呋喃它酮	$y=3086.93x-2976.96$	0.9979	15-150
磺胺吡啶	$y=4057.02x-4546.47$	0.9996	15-150
磺胺甲噁啶	$y=3883.92x-4273.8$	0.9993	15-150
磺胺甲二唑	$y=3174.14x-22.4825$	0.9987	15-150
磺胺甲氧嗪	$y=4945.52x+1529.12$	0.9983	15-150
磺胺氯哒嗪	$y=2923.73x-4175.66$	0.9996	15-150
磺胺甲恶唑	$y=2181.37x+1498.18$	0.9988	15-150
阿奇霉素	$y=1232.46x+1322.3$	0.9931	15-225
罗红霉素	$y=9106.92x-87.2732$	0.9968	15-150
克拉霉素	$y=1204.54x-710.262$	0.9950	15-150
螺内酯	$y=2573.76x+523.441$	0.9971	15-150

续表

物质名称	线性方程	相关系数 r	线性范围 (ng/mL)
林可霉素	$y=4641.41x-26291.6$	0.9913	15-150
克林霉素	$y=3220.22x-4371.27$	0.9997	15-150
克林霉素磷酸酯	$y=1087.97x-5951.12$	0.9914	15-150

表 15 验证单位 3 线性关系、相关系数及线性范围 (膏霜基质)

物质名称	线性方程	相关系数 r	线性范围 (ng/mL)
四环素	$y=1019.21x-3315.02$	0.9985	15-150
金霉素	$y=653.278x-2950.95$	0.9991	15-150
土霉素	$y=539.37x+54.6254$	0.9995	15-150
多西环素	$y=5160.6x-25946$	0.9971	15-150
米诺环素	$y=2003.14x-9576.92$	0.9988	15-150
氯霉素	$y=40.386x+871.357$	0.9976	15-150
氟罗沙星	$y=22710.1x+3046.79$	0.9991	15-150
氧氟沙星	$y=28318.4x-735.235$	0.9986	15-150
依诺沙星	$y=8291.92x-23283.9$	0.9988	15-150
培氟沙星	$y=16481x-27259$	0.9989	15-150
诺氟沙星	$y=4927.45x-12416.5$	0.9991	15-150
环丙沙星	$y=9317.94x-13824.1$	0.9988	15-150
恩诺沙星	$y=17253.1x+10837.1$	0.9996	15-150
双氟沙星	$y=14707.8x-8965.5$	0.9988	15-150
沙拉沙星	$y=9322.49x+2504.84$	0.9991	15-150
莫西沙星	$y=8317.68x+1301.73$	0.9993	15-150
甲硝唑	$y=329.386x-174.784$	0.9978	15-150
氟康唑	$y=3945.75x-134.818$	0.9982	15-150
灰黄霉素	$y=13383.5x-13208.7$	0.9996	15-150
酮康唑	$y=5080.88x+4208.16$	0.9962	15-150
克霉唑	$y=14312.5x-47386$	0.9994	15-150

续表

物质名称	线性方程	相关系数 r	线性范围 (ng/mL)
联苯苄唑	$y=10101.6x-8762.37$	0.9996	15-150
呋喃它酮	$y=3282.22x-3542.67$	0.9978	15-150
磺胺吡啶	$y=3798.47x-15508.7$	0.9974	15-150
磺胺甲噁啉	$y=3997.96x-10965.3$	0.9973	15-150
磺胺甲二唑	$y=3264.06x-6899.79$	0.9971	15-150
磺胺甲氧嗪	$y=5228.09x-5820.72$	0.9988	15-150
磺胺氯哒嗪	$y=3081.94x-5628.22$	0.9987	15-150
磺胺甲恶唑	$y=2139.69x-1640.95$	0.9990	15-150
阿奇霉素	$y=1235.45x-2733.14$	0.9987	15-150
罗红霉素	$y=8950.27x+43.0512$	0.9982	15-150
克拉霉素	$y=1433.82x-7858.97$	0.9966	15-150
螺内酯	$y=2571.26x-62.2822$	0.9985	15-150
林可霉素	$y=4573.36x-26000.6$	0.9958	15-150
克林霉素	$y=3117x+973.963$	0.9995	15-150
克林霉素磷酸酯	$y=1164.09x-5342.09$	0.9970	15-150

2.2 精密度

三家验证单位精密度结果如下表 16 所示，除个别成分由于可能存在偶然误差或由于处于定量下限附近，响应值受基线干扰较大导致精密度 RSD 较大外，其余成分的精密度均能满足要求。

表 16 验证单位精密度试验结果

组分	验证单位 1	验证单位 2	验证单位 3
	RSD(%)	RSD(%)	RSD(%)
四环素	7.64	0.76	4.4
金霉素	3.17	0.74	6.1
土霉素	8.75	1.10	12.2
多西环素	2.78	2.66	4.9
米诺环素	4.60	1.26	8.4

续表

组分	验证单位 1	验证单位 2	验证单位 3
	RSD(%)	RSD(%)	RSD(%)
氯霉素	8.32	0.77	6.8
氟罗沙星	6.80	0.94	1.4
氧氟沙星	5.38	0.70	2.9
依诺沙星	2.62	0.55	0.7
培氟沙星	3.59	0.83	2.5
诺氟沙星	5.70	0.74	2.7
环丙沙星	3.23	0.77	2.2
恩诺沙星	3.18	0.61	3.0
双氟沙星	3.35	5.03	2.5
沙拉沙星	8.69	1.39	2.0
莫西沙星	2.87	1.08	2.8
甲硝唑	4.18	0.75	5.4
氟康唑	1.32	1.18	2.1
灰黄霉素	2.48	1.28	1.5
酮康唑	5.11	1.84	2.9
克霉唑	3.53	3.17	2.5
联苯苄唑	4.42	4.11	3.0
呋喃它酮	9.68	3.73	1.2
磺胺吡啶	7.55	5.41	4.7
磺胺甲噁啶	5.62	2.43	2.6
磺胺甲二唑	6.53	0.75	2.7
磺胺甲氧嗪	4.73	3.35	1.7
磺胺氯哒嗪	3.45	0.89	2.5
磺胺甲恶唑	6.76	0.47	7.1
阿奇霉素	9.40	1.49	5.3
罗红霉素	2.84	0.71	2.5

续表

组分	验证单位 1	验证单位 2	验证单位 3
	RSD(%)	RSD(%)	RSD(%)
克拉霉素	2.72	1.09	2.0
螺内酯	9.63	0.30	2.6
林可霉素	8.94	0.42	1.3
克林霉素	5.16	1.14	3.4
克林霉素磷酸酯	3.77	3.85	2.3

2.3 回收率

三家实验室分别考察了水剂、乳剂 2 种典型化妆品空白基质高、中、低三个浓度水平下被测物质的加标回收率，结果如下表 17-19 所示。三家实验室结果表明，除了个别成分可能存在偶然误差或由于线性回归时在小数值区域较大的相对误差引起的外，其定量下限回收率满足 80-120%之间，基本符合规定要求。

表 17 验证单位 1 回收率试验结果

物质名称	加标浓度	水剂基质		膏霜基质	
		平均回收率%	RSD%	平均回收率%	RSD%
甲硝唑	低	105.97	5.88	89.06	2.96
	中	106.85	3.73	100.14	7.21
	高	108.72	3.33	103.75	1.24
磺胺吡啶	低	115.98	2.64	93.07	9.16
	中	105.46	5.51	94.95	1.71
	高	108.70	3.27	94.92	1.45
磺胺甲噁啶	低	115.29	2.49	89.69	3.77
	中	110.33	0.77	90.28	3.15
	高	114.50	1.34	90.11	3.05
磺胺甲二唑	低	92.42	1.08	88.44	8.39
	中	111.71	2.41	88.42	3.25
	高	118.48	3.36	88.94	4.04

续表

物质名称	加标 浓度	水剂基质		膏霜基质	
		平均回收率%	RSD%	平均回收率%	RSD%
磺胺甲氧嗪	低	89.09	6.90	85.30	5.16
	中	112.18	1.53	89.30	4.88
	高	83.20	3.33	91.77	3.16
磺胺氯吡嗪	低	108.51	4.45	118.39	2.17
	中	109.10	3.49	102.51	3.39
	高	116.33	1.74	106.15	4.38
诺氟沙星	低	90.70	1.40	84.81	3.77
	中	101.10	7.32	92.59	4.18
	高	113.07	6.32	101.68	5.86
依诺沙星	低	89.43	1.54	86.88	1.00
	中	98.35	1.68	92.22	5.18
	高	104.84	4.40	97.10	2.82
呋喃它酮	低	85.47	6.54	98.77	3.69
	中	108.45	4.54	102.11	1.69
	高	106.47	3.49	98.29	5.04
培氟沙星	低	92.08	0.62	84.86	8.97
	中	112.22	1.63	85.46	4.43
	高	107.14	5.44	94.89	1.98
氧氟沙星	低	84.04	1.63	94.22	8.62
	中	102.48	7.95	94.12	6.51
	高	105.06	6.50	94.30	7.03
氟罗沙星	低	106.73	1.96	84.11	3.60
	中	100.43	6.66	97.54	3.78
	高	102.02	5.43	96.06	7.90
林可霉素	低	101.13	3.99	85.36	3.81
	中	106.74	8.46	80.01	2.76

续表

物质名称	加标 浓度	水剂基质		膏霜基质	
		平均回收率%	RSD%	平均回收率%	RSD%
磺胺甲噁唑	高	110.63	4.15	88.10	5.35
	低	99.58	4.67	85.88	4.29
	中	107.32	6.27	89.90	1.48
氟康唑	高	102.78	2.28	91.37	1.76
	低	87.09	3.91	104.57	5.49
	中	106.31	2.39	98.40	3.29
环丙沙星	高	109.85	3.88	98.99	7.94
	低	104.51	4.82	82.05	6.96
	中	104.78	5.89	96.67	8.48
恩诺沙星	高	109.34	5.27	98.65	2.13
	低	93.88	4.37	92.34	1.70
	中	108.80	7.54	90.60	4.29
沙拉沙星	高	116.39	5.03	94.45	4.31
	低	95.76	4.69	101.41	7.26
	中	112.33	5.20	85.05	7.66
双氟沙星	高	111.12	4.19	88.46	3.51
	低	92.03	5.50	79.87	3.81
	中	115.15	1.96	86.09	4.99
莫西沙星	高	119.17	3.15	94.90	2.88
	低	99.46	2.34	97.58	5.26
	中	106.56	1.20	90.00	2.92
克林霉素	高	110.58	5.81	92.99	6.16
	低	99.22	2.22	98.60	7.74
	中	99.96	4.39	99.56	2.62
四环素	高	103.76	1.81	105.53	1.14
	低	91.92	3.92	80.79	8.59

续表

物质名称	加标 浓度	水剂基质		膏霜基质	
		平均回收率%	RSD%	平均回收率%	RSD%
多西环素	中	102.99	8.02	98.03	6.72
	高	107.35	5.89	83.99	5.90
	低	99.01	3.26	113.65	5.43
米诺环素	中	105.29	1.90	92.77	5.02
	高	102.98	3.76	106.24	1.24
	低	94.66	5.70	89.64	6.60
土霉素	中	88.49	4.30	92.46	2.10
	高	90.96	7.94	84.19	3.26
	低	99.31	4.43	78.00	2.69
金霉素	中	94.44	8.87	80.99	2.86
	高	95.29	8.57	79.79	1.12
	低	87.51	5.25	84.85	4.32
克林霉素磷酸酯	中	83.86	7.64	93.71	5.34
	高	115.99	4.68	93.71	5.34
	低	101.30	2.46	96.06	5.03
阿奇霉素	中	98.06	1.37	100.99	4.42
	高	106.55	1.71	99.35	1.68
	低	87.95	9.93	94.73	4.14
克霉唑	中	115.66	6.88	104.99	5.07
	高	112.75	3.78	100.46	6.65
	低	100.56	1.66	91.98	0.59
螺内酯	中	110.53	3.47	101.17	1.30
	高	115.16	3.62	106.17	2.26
	低	80.43	1.02	115.85	5.79
	中	94.65	5.55	87.28	2.44
	高	106.92	8.25	84.80	5.21

续表

物质名称	加标 浓度	水剂基质		膏霜基质	
		平均回收率%	RSD%	平均回收率%	RSD%
灰黄霉素	低	109.34	8.55	104.98	1.74
	中	93.73	1.46	95.59	3.93
	高	97.25	5.27	90.96	0.78
酮康唑	低	109.81	2.60	98.53	6.38
	中	108.13	7.16	95.63	2.95
	高	115.49	4.70	100.03	2.81
克拉霉素	低	105.58	1.52	103.01	0.93
	中	108.90	1.20	100.26	5.93
	高	109.85	5.00	99.93	1.79
罗红霉素	低	97.08	4.61	94.58	1.82
	中	106.13	1.89	96.48	0.66
	高	106.09	3.82	94.39	2.47
联苯苄唑	低	86.58	4.47	104.63	1.76
	中	96.19	3.92	93.65	3.10
	高	101.02	7.87	98.20	1.48
氯霉素	低	119.68	1.40	90.46	5.13
	中	102.67	4.33	90.94	7.95
	高	102.41	10.36	83.25	2.10

表 18 验证单位 2 回收率试验结果

物质名称	加标 浓度	水剂基质		膏霜基质	
		平均回收率%	RSD%	平均回收率%	RSD%
甲硝唑	低	97.3	3.5	93.8	1.8
	中	97.3	1.0	102.4	0.3
	高	93.8	0.4	98.7	0.2
磺胺吡啶	低	100.4	3.4	80.0	4.6

续表

物质名称	加标 浓度	水剂基质		膏霜基质	
		平均回收率%	RSD%	平均回收率%	RSD%
磺胺甲噁啉	中	95.9	1.7	98.0	1.6
	高	91.4	2.0	95.5	2.0
	低	102.8	3.5	84.1	4.2
磺胺甲二唑	中	98.1	1.3	99.5	1.2
	高	94.0	1.5	97.5	1.8
	低	102.6	1.2	80.5	6.8
磺胺甲氧嗪	中	88.0	3.2	85.3	1.4
	高	86.3	1.3	87.6	3.3
	低	110.5	3.0	84.6	4.3
磺胺氯吡嗪	中	95.0	1.6	96.5	1.3
	高	91.9	1.5	96.0	2.6
	低	98.8	3.2	82.8	4.5
诺氟沙星	中	98.3	1.8	98.2	1.0
	高	94.9	0.8	96.2	1.5
	低	106.9	3.4	104.3	1.4
依诺沙星	中	93.7	0.7	95.7	0.8
	高	95.6	2.5	99.8	2.1
	低	100.7	3.7	93.7	2.3
呋喃它酮	中	95.6	5.7	98.6	1.5
	高	100.7	1.5	100.3	1.8
	低	106.9	4.9	98.9	1.5
培氟沙星	中	104.1	0.7	103.4	1.6
	高	104.4	2.2	103.1	0.2
	低	104.6	2.8	93.1	0.6
	中	95.9	6.5	99.4	0.7
	高	98.6	2.5	101.1	0.8

续表

物质名称	加标 浓度	水剂基质		膏霜基质	
		平均回收率%	RSD%	平均回收率%	RSD%
氧氟沙星	低	104.3	3.8	89.4	2.9
	中	97.5	2.8	99.0	0.9
	高	98.5	1.2	100.0	1.1
氟罗沙星	低	113.4	2.6	91.3	3.3
	中	97.1	0.2	98.5	1.4
	高	96.8	0.9	100.1	0.9
林可霉素	低	102.7	9.6	106.0	5.3
	中	81.4	6.5	102.9	6.4
	高	89.5	4.3	108.6	10.8
磺胺甲噁唑	低	85.1	1.4	67.6	6.7
	中	85.1	2.0	81.1	0.2
	高	85.3	2.1	90.0	6.2
氟康唑	低	102.7	2.6	84.4	3.9
	中	93.7	0.4	93.8	1.5
	高	92.3	3.8	96.5	2.6
环丙沙星	低	116.0	2.8	101.3	1.8
	中	93.9	6.2	94.1	1.3
	高	96.1	1.0	98.4	2.1
恩诺沙星	低	106.3	1.6	93.8	3.4
	中	90.8	2.1	94.0	0.7
	高	90.9	4.7	98.2	1.4
沙拉沙星	低	111.8	2.2	92.2	3.0
	中	95.5	1.1	100.3	1.0
	高	95.0	2.0	100.9	1.9
双氟沙星	低	110.8	2.6	93.9	3.3
	中	91.0	0.9	96.8	2.4

续表

物质名称	加标 浓度	水剂基质		膏霜基质	
		平均回收率%	RSD%	平均回收率%	RSD%
莫西沙星	高	91.8	1.5	98.3	1.6
	低	109.7	2.5	93.6	3.3
	中	93.0	0.4	99.1	0.6
克林霉素	高	92.7	1.2	99.0	0.7
	低	98.6	2.3	71.8	4.4
	中	90.4	0.4	107.9	1.1
四环素	高	89.1	1.2	95.8	1.7
	低	101.8	2.0	71.2	3.6
	中	90.4	2.1	93.5	0.4
多西环素	高	85.8	1.9	89.1	1.9
	低	102.3	2.4	73.7	5.2
	中	87.7	2.9	90.7	0.9
米诺环素	高	83.9	1.4	88.7	1.6
	低	119.8	6.6	83.9	4.9
	中	74.7	8.0	87.2	1.4
土霉素	高	75.0	6.9	88.1	3.6
	低	113.5	2.6	94.7	2.3
	中	93.9	1.3	99.5	0.9
金霉素	高	91.5	1.9	99.0	1.1
	低	103.7	4.7	80.6	0.9
	中	88.3	2.4	92.3	0.8
克林霉素磷酸酯	高	82.7	1.4	88.8	2.0
	低	121.0	4.5	108.4	4.4
	中	84.1	3.7	104.4	4.6
阿奇霉素	高	89.2	4.0	108.8	10.2
	低	105.6	1.3	93.4	3.1

续表

物质名称	加标 浓度	水剂基质		膏霜基质	
		平均回收率%	RSD%	平均回收率%	RSD%
克霉唑	中	88.76	0.5	98.4	1.2
	高	91.39	1.1	98.5	0.9
	低	105.6	1.3	95.7	3.5
螺内酯	中	88.8	0.5	89.4	0.4
	高	91.4	1.1	98.4	4.6
	低	110.6	4.2	93.7	3.2
灰黄霉素	中	99.6	1.9	104.1	0.8
	高	98.1	0.3	101.1	1.6
	低	96.3	3.5	99.3	1.7
酮康唑	中	100.7	2.8	104.3	6.7
	高	98.4	2.2	105.4	5.0
	低	108.7	3.6	96.7	11.6
克拉霉素	中	94.0	4.2	103.6	1.8
	高	92.8	3.4	98.0	7.8
	低	110.9	2.8	90.0	4.0
罗红霉素	中	96.5	0.5	99.1	0.5
	高	94.6	0.9	98.3	1.5
	低	105.9	2.9	89.8	4.5
联苯苄唑	中	93.6	1.0	99.9	1.0
	高	91.3	0.3	98.1	2.2
	低	107.7	1.1	93.8	2.9
氯霉素	中	87.3	6.4	95.3	0.7
	高	90.4	0.2	97.6	1.6
	低	80.2	3.4	54.2	8.8
	中	89.0	5.0	85.0	4.1
	高	82.7	1.2	80.9	4.8

表 19 验证单位 3 回收率试验结果

物质名称	加标 浓度	水剂基质		膏霜基质	
		平均回收率%	RSD%	平均回收率%	RSD%
甲硝唑	低	92.6	18.5	89.4	10.0
	中	86.1	6.0	81.7	1.4
	高	101.0	7.4	97.3	5.8
磺胺吡啶	低	80.3	8.0	114.9	7.3
	中	93.2	6.4	153.2	3.6
	高	93.9	1.6	93.4	2.3
磺胺甲噁唑	低	105.7	11.9	129.6	20.7
	中	94.4	3.8	96.5	11.3
	高	94.1	0.4	95.0	7.9
磺胺甲二唑	低	97.3	3.5	123.2	23.5
	中	91.6	3.1	104.0	3.0
	高	97.1	2.1	99.8	2.5
磺胺甲氧嗪	低	99.9	4.8	108.1	6.8
	中	96.2	0.5	84.9	13.7
	高	98.0	0.3	85.5	5.5
磺胺氯哒嗪	低	93.0	4.5	90.8	20.2
	中	99.0	7.9	92.1	4.6
	高	95.9	1.3	93.3	3.2
诺氟沙星	低	98.4	6.3	90.5	7.2
	中	98.8	1.0	94.3	6.8
	高	102.3	0.6	99.9	2.2
依诺沙星	低	105.6	3.0	105.0	9.1
	中	99.7	2.9	101.4	10.4
	高	99.9	2.2	90.6	5.2
呋喃它酮	低	102.1	4.1	94.2	10.2

续表

物质名称	加标 浓度	水剂基质		膏霜基质	
		平均回收率%	RSD%	平均回收率%	RSD%
培氟沙星	中	103.0	2.4	90.4	7.6
	高	99.0	1.3	95.7	2.1
	低	100.0	1.6	99.1	1.3
氧氟沙星	中	100.0	0.3	93.0	4.5
	高	99.7	1.4	95.6	2.2
	低	107.3	3.3	106.0	4.3
氟罗沙星	中	100.1	0.8	96.3	4.9
	高	100.3	1.2	96.8	1.4
	低	115.7	12.6	99.4	6.0
林可霉素	中	101.7	1.1	92.5	1.7
	高	101.9	0.7	91.0	10.2
	低	90.2	12.7	100.0	4.3
磺胺甲噁唑	中	103.8	1.1	91.5	5.0
	高	101.3	2.5	100.3	3.5
	低	88.3	13.6	141.9	22.1
氟康唑	中	91.3	3.4	92.6	13.8
	高	92.1	5.0	90.3	4.0
	低	111.4	7.9	102.7	1.9
环丙沙星	中	103.0	1.8	82.9	9.0
	高	100.3	1.9	97.7	3.0
	低	101.7	1.0	97.5	4.6
恩诺沙星	中	100.3	0.6	95.5	4.6
	高	100.8	1.8	99.5	2.5
	低	105.2	1.4	98.6	3.1
	中	100.8	1.0	92.9	4.2
	高	100.8	1.5	103.2	0.6

续表

物质名称	加标 浓度	水剂基质		膏霜基质	
		平均回收率%	RSD%	平均回收率%	RSD%
沙拉沙星	低	103.8	3.2	93.4	8.2
	中	104.6	6.9	95.5	3.9
	高	101.2	0.9	100.2	4.6
双氟沙星	低	105.3	2.8	99.8	1.6
	中	103.5	2.5	95.1	2.9
	高	103.6	2.9	103.2	3.0
莫西沙星	低	101.8	3.7	101.5	2.2
	中	99.8	3.4	94.1	5.2
	高	96.7	1.1	105.1	3.5
克林霉素	低	97.2	4.8	93.4	4.4
	中	99.8	1.6	93.1	3.7
	高	98.1	0.6	97.7	3.7
四环素	低	108.5	11.6	108.5	1.0
	中	101.7	4.3	95.3	10.5
	高	98.4	7.4	99.1	3.5
多西环素	低	102.5	10.9	108.9	7.2
	中	84.4	1.5	91.4	7.5
	高	99.0	2.1	114.3	8.3
米诺环素	低	79.5	10.8	116.4	15.2
	中	87.6	10.5	75.8	19.8
	高	100.2	6.8	105.9	20.0
土霉素	低	88.7	8.3	85.4	6.9
	中	103.1	4.4	100.5	13.4
	高	96.7	0.4	98.7	6.9
金霉素	低	106.5	1.8	106.9	3.6
	中	83.4	7.7	91.5	14.9

续表

物质名称	加标 浓度	水剂基质		膏霜基质	
		平均回收率%	RSD%	平均回收率%	RSD%
克林霉素磷酸酯	高	103.2	9.3	90.7	5.7
	低	93.7	5.6	80.1	5.6
	中	95.5	9.9	100.3	4.3
阿奇霉素	高	96.4	3.7	106.2	6.3
	低	103.7	2.9	118.4	14.3
	中	92.7	4.6	122.1	7.2
克霉唑	高	104.6	3.4	102.8	3.2
	低	91.7	4.0	91.3	8.2
	中	97.2	3.1	85.6	5.7
螺内酯	高	96.3	4.9	97.2	0.6
	低	97.9	3.1	86.2	13.3
	中	98.8	4.6	80.1	10.7
灰黄霉素	高	96.9	4.0	90.4	3.7
	低	90.1	10.4	89.7	20.6
	中	101.9	3.7	93.7	3.6
酮康唑	高	89.8	8.9	100.8	1.1
	低	107.0	4.5	98.7	1.1
	中	98.9	1.5	99.6	2.1
克拉霉素	高	98.4	1.3	102.1	3.7
	低	117.9	16.7	95.7	5.2
	中	129.8	3.8	67.7	23.2
罗红霉素	高	106.6	7.4	90.1	0.8
	低	99.7	4.9	103.5	5.6
	中	105.9	2.4	101.5	3.5
联苯苄唑	高	96.8	4.3	103.6	1.9
	低	91.3	9.2	90.5	9.3

续表

物质名称	加标 浓度	水剂基质		膏霜基质	
		平均回收率%	RSD%	平均回收率%	RSD%
氯霉素	中	95.1	7.9	89.6	6.9
	高	93.8	5.3	97.2	2.5
	低	81.1	3.2	111.4	21.0
	中	95.6	2.4	111.0	3.9
	高	101.8	5.6	104.1	7.0

2.4 稳定性

三家实验室稳定性试验结果表明，样品处理后室温放置超过 24 小时后超过半数的待测化合物响应均大幅度降低。因此，实际检测工作中，质控标准工作溶液、基质标准溶液应现用现配，样品处理后应尽快测定。

2.5 检出限

三家实验室研究考察了被测物质的检出限和定量限以及在水剂、乳剂 2 种典型剂型中被测物质的检出浓度和定量浓度。结果见下表 20-22。

表 20 验证单位 1 检出限

物质名称	水剂基质 (µg/g)		膏霜基质 (µg/g)	
	检出限	定量限	检出限	定量限
四环素	0.250	0.750	0.250	0.750
金霉素	0.187	0.561	0.187	0.561
土霉素	0.250	0.750	0.250	0.750
多西环素	0.250	0.750	0.250	0.750
米诺环素	0.187	0.561	0.187	0.561
氯霉素	0.500	1.500	0.500	1.500
氟罗沙星	0.025	0.075	0.025	0.075
氧氟沙星	0.025	0.075	0.025	0.075
依诺沙星	0.025	0.075	0.025	0.075
培氟沙星	0.025	0.075	0.025	0.075
诺氟沙星	0.025	0.075	0.025	0.075
环丙沙星	0.075	0.225	0.075	0.225

续表

物质名称	水剂基质 (μg/g)		膏霜基质 (μg/g)	
	检出限	定量限	检出限	定量限
恩诺沙星	0.075	0.225	0.075	0.225
双氟沙星	0.025	0.075	0.025	0.075
沙拉沙星	0.075	0.225	0.075	0.225
莫西沙星	0.025	0.075	0.025	0.075
甲硝唑	0.250	0.750	0.250	0.750
氟康唑	0.025	0.075	0.025	0.075
灰黄霉素	0.075	0.225	0.075	0.225
酮康唑	0.187	0.561	0.187	0.561
克霉唑	0.050	0.150	0.050	0.150
联苯苄唑	0.075	0.225	0.075	0.225
呋喃它酮	0.075	0.225	0.075	0.225
磺胺吡啶	0.075	0.225	0.075	0.225
磺胺甲噁啶	0.075	0.225	0.075	0.225
磺胺甲二唑	0.250	0.750	0.250	0.750
磺胺甲氧嗪	0.075	0.225	0.075	0.225
磺胺氯哒嗪	0.075	0.225	0.075	0.225
磺胺甲恶唑	0.050	0.150	0.050	0.150
阿奇霉素	0.250	0.750	0.250	0.750
罗红霉素	0.075	0.225	0.075	0.225
克拉霉素	0.075	0.225	0.075	0.225
螺内酯	0.250	0.750	0.250	0.750
林可霉素	0.025	0.075	0.025	0.075
克林霉素	0.075	0.225	0.075	0.225
克林霉素磷酸酯	0.150	0.450	0.150	0.450

表 21 验证单位 2 检出限

物质名称	水剂基质 (µg/g)		膏霜基质 (µg/g)	
	检出限	定量限	检出限	定量限
甲硝唑	<0.25	<0.75	<0.25	<0.75
磺胺吡啶	<0.25	<0.75	<0.25	<0.75
磺胺甲噁唑	<0.25	<0.75	<0.25	<0.75
磺胺甲二唑	<0.25	<0.75	<0.25	<0.75
磺胺甲氧嗪	<0.25	<0.75	<0.25	<0.75
磺胺氯哒嗪	<1	<3	<1	<3
诺氟沙星	<0.25	<0.75	<0.25	<0.75
依诺沙星	<0.25	<0.75	<0.25	<0.75
呋喃它酮	<0.25	<0.75	<0.25	<0.75
培氟沙星	<0.25	<0.75	<0.25	<0.75
氧氟沙星	<0.25	<0.75	<0.25	<0.75
氟罗沙星	<0.25	<0.75	<0.25	<0.75
林可霉素	<0.25	<0.75	<0.25	<0.75
磺胺甲噁唑	<0.25	<0.75	<0.25	<0.75
氟康唑	<0.25	<0.75	<0.25	<0.75
环丙沙星	<0.25	<0.75	<0.25	<0.75
恩诺沙星	<0.25	<0.75	<0.25	<0.75
沙拉沙星	<0.25	<0.75	<0.25	<0.75
双氟沙星	<0.25	<0.75	<0.25	<0.75
莫西沙星	<0.25	<0.75	<0.25	<0.75
克林霉素	<0.25	<0.75	<0.25	<0.75
四环素	<0.25	<0.75	<0.25	<0.75
多西环素	<0.25	<0.75	<0.25	<0.75
米诺环素	<0.25	<0.75	<0.25	<0.75
土霉素	<0.25	<0.75	<0.25	<0.75
金霉素	<0.25	<0.75	<0.25	<0.75
克林霉素磷酸酯	<0.25	<0.75	<0.25	<0.75

续表

物质名称	水剂基质 (μg/g)		膏霜基质 (μg/g)	
	检出限	定量限	检出限	定量限
阿奇霉素	<0.25	<0.75	<0.25	<0.75
克霉唑	<0.25	<0.75	<0.25	<0.75
螺内酯	<0.25	<0.75	<0.25	<0.75
灰黄霉素	<0.25	<0.75	<0.25	<0.75
酮康唑	<0.25	<0.75	<0.25	<0.75
克拉霉素	<0.25	<0.75	<0.25	<0.75
罗红霉素	<0.25	<0.75	<0.25	<0.75
联苯苄唑	<0.25	<0.75	<0.25	<0.75
氯霉素	<0.25	<0.75	<0.25	<0.75

表 22 验证单位 3 检出限

物质名称	水剂基质 (μg/g)		膏霜基质 (μg/g)	
	检出限	定量限	检出限	定量限
四环素	0.0531	0.1769	0.0628	0.2092
金霉素	0.0681	0.2269	0.1483	0.4945
土霉素	0.0817	0.2724	0.0646	0.2152
多西环素	0.0175	0.0582	0.0242	0.0805
米诺环素	0.0518	0.1728	0.0558	0.1860
氯霉素	0.2404	0.8012	0.2373	0.7911
氟罗沙星	0.0008	0.0028	0.0014	0.0048
氧氟沙星	0.0015	0.0049	0.0028	0.0092
依诺沙星	0.0031	0.0104	0.0049	0.0163
培氟沙星	0.0025	0.0084	0.0052	0.0172
诺氟沙星	0.0082	0.0274	0.0057	0.0190
环丙沙星	0.0059	0.0197	0.0083	0.0277
恩诺沙星	0.0025	0.0082	0.0023	0.0075
双氟沙星	0.0023	0.0076	0.0029	0.0096

续表

物质名称	水剂基质 (µg/g)		膏霜基质 (µg/g)	
	检出限	定量限	检出限	定量限
沙拉沙星	0.0025	0.0083	0.0009	0.0030
莫西沙星	0.0049	0.0162	0.0054	0.0179
甲硝唑	0.0266	0.0886	0.0714	0.2381
氟康唑	0.0026	0.0085	0.0038	0.0126
灰黄霉素	0.0007	0.0025	0.0010	0.0033
酮康唑	0.0008	0.0027	0.0013	0.0043
克霉唑	0.0007	0.0023	0.0008	0.0028
联苯苄唑	0.0017	0.0058	0.0012	0.0039
呋喃它酮	0.0007	0.0023	0.0007	0.0023
磺胺吡啶	0.0184	0.0615	0.0525	0.1749
磺胺甲噁啉	0.0113	0.0376	0.0083	0.0277
磺胺甲二唑	0.0056	0.0188	0.0160	0.0534
磺胺甲氧嘧啶	0.0068	0.0227	0.0243	0.0811
磺胺氯吡啶	0.0138	0.0459	0.0132	0.0442
磺胺甲恶唑	0.0358	0.1194	0.1075	0.3582
阿奇霉素	0.0005	0.0018	0.0005	0.0018
罗红霉素	0.0003	0.0011	0.0003	0.0011
克拉霉素	0.0160	0.0533	0.0160	0.0533
螺内酯	0.0024	0.0082	0.0034	0.0114
林可霉素	0.0053	0.0178	0.0019	0.0065
克林霉素	0.0065	0.0216	0.0019	0.0062
克林霉素磷酸酯	0.0035	0.0116	0.0036	0.0119

2.6 阳性样品测定

三家实验室分别使用 AB Sciex TRIPLE QUAD5500、Waters Xevo TQ-S 两种不同厂家的液质联用仪，建立了筛查数据库，对起草单位提供的 3 个阳性样品进行了测定，四家实验室测定结果如下表 23，盲样测试结果均正确，多家实验室间结果 RSD<15%，说明该检测方法

准确可行。

表 23 样品检测结果

样品编号	所含物质	实验室 1	实验室 2	实验室 3	实验室 4	RSD%
样品 1	甲硝唑 ($\mu\text{g/g}$)	7.46×10^3	6.48×10^3	8.43×10^3	6.31×10^3	14.1
样品 2	环丙沙星 ($\mu\text{g/g}$)	8.68×10^3	8.25×10^3	8.23×10^3	9.20×10^3	5.33
样品 3	甲硝唑 ($\mu\text{g/g}$)	4.16×10^3	3.41×10^3	4.13×10^3	4.19×10^3	9.51

2.7 结论

经三家实验室验证,本方法基本符合《关于印发化妆品中禁用物质和限用物质检测方法验证技术规范的通知》(国食药监许[2010]455 号)验证技术规范要求。