

• 临床研究 •

## 化妆品中3种常见抗生素的一种快速检测方法

成治伟, 卫昕怡, 王婉莹, 卞心如, 仲国维, 张晓玲\*

南京医科大学公共卫生学院卫生检验与检疫学系, 江苏 南京 211166

**[摘要]** 目的: 建立一种针对化妆品中3种常见抗生素(氯霉素、氧氟沙星和头孢克肟)的微生物定性检测方法。方法: 配制含抗生素的化妆品标准溶液以模拟实际的化妆品样品的背景基质, 选用改良 Lethen 肉汤培养基中和样品中的防腐剂, 以样品、培养基和金黄色葡萄球菌菌液(菌液浓度约为  $1 \times 10^{11}$  cfu/mL)体积比 1:9:2 为检测体系, 37 °C 培养 45 min 和 90 min 后, 通过紫外可见分光光度计检测细菌回收率, 与标准回收率进行比较后进行定性判断。结果: 本方法对氯霉素、氧氟沙星和头孢克肟的最低检测量分别为 5  $\mu\text{g/g}$ 、1  $\mu\text{g/g}$  和 1  $\mu\text{g/g}$ 。结论: 本方法操作简单, 成本低廉, 可用于化妆品中3种常见抗生素的快速检测。

**[关键词]** 化妆品; 抗生素; 快速检测

**[中图分类号]** R115

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2025)02-233-07

**doi:** 10.7655/NYDXBNSN240624

### A rapid detection method of three common antibiotics in cosmetics

CHENG Zhiwei, WEI Xinyi, WANG Wanying, BIAN Xinru, ZHONG Guowei, ZHANG Xiaoling\*

Department of Health Inspection and Quarantine, School of Public Health, Nanjing Medical University, Nanjing 211166, China

**[Abstract]** **Objective:** To establish a microbiological qualitative detection method for three antibiotics (chloramphenicol, ofloxacin, and cefixime) in cosmetics. **Method:** A cosmetic standard solution containing antibiotics was prepared to simulate the background matrix of actual cosmetic samples. Modified Lethen broth (MLEB) was used to neutralize preservatives in the samples. The volume ratio of the sample, MLEB and bacterial solution (concentration was approximately  $1 \times 10^{11}$  cfu/mL) was 1:9:2. After cultured at 37 °C for 45 and 90 minutes, the bacterial recovery rate was analyzed and compared with the standard recovery rate in order to make qualitative judgments. **Results:** The detection limit of this method for chloramphenicol, ofloxacin and cefixime were 5  $\mu\text{g/g}$ , 1  $\mu\text{g/g}$ , and 1  $\mu\text{g/g}$ , respectively. **Conclusion:** This method is convenient, cheap, accurate, and suitable for the rapid detection of 3 common antibiotics in cosmetics.

**[Key words]** cosmetics; antibiotic; rapid detection

[J Nanjing Med Univ, 2025, 45(02): 233-239]

随着经济发展,我国化妆品行业蓬勃发展,已经成为全球最大的化妆品消费市场之一<sup>[1]</sup>,在化妆品行业快速发展的过程中,人们对化妆品安全问题的重视程度和要求也逐渐提高,化妆品中的抗生素违规添加问题也成为消费者对化妆品安全关注的焦点问题之一。

**[基金项目]** 江苏省大学生创新创业训练计划(202310312001Z)  
\*通信作者(Corresponding author), E-mail: zhangxl3@njmu.edu.cn (ORCID: 0000-0001-6015-7817)

抗生素是由微生物或高等动植物产生的具有抗病原体或能够干扰细菌生长繁殖的一类次级代谢产物<sup>[2]</sup>,添加抗生素的化妆品有一定的杀菌消炎作用,在短期内会给消费者带来祛痘效果明显的假象,并使消费者产生依赖性<sup>[3]</sup>,但这类化妆品存在安全隐患,长时间使用可能会使皮肤出现萎缩、角质受损和红肿过敏等症状<sup>[4-5]</sup>,同时可能会增强细菌耐药性<sup>[6]</sup>,对人体健康造成严重危害。我国《化妆品安全技术规范(2015年版)》<sup>[7]</sup>(以下简称《规范》)和欧洲联盟化妆品相关法规<sup>[8]</sup>规定,化妆品中禁止添加

抗生素。

目前,针对化妆品中抗生素的检测方法有大型理化仪器检测法、免疫学检验方法和微生物检验法。仪器检测法的成本较高、前处理操作复杂。由于抗生素种类繁多、单次检测成本高,不适合快速初筛;免疫学检验方法存在抗原抗体制备困难的问题;微生物检验法的特点为操作简单、成本低廉,更适合应用于大量样品的快速定性初筛。

基于上述背景,本研究用化妆品标准处理液制备抗生素标准溶液以模拟实际样品检测,采用改良Lethen肉汤培养基(modified Lethen broth, MLEB)中和样品中的防腐剂,基于抗生素对于细菌的生长抑制作用,使用紫外可见分光光度计测定添加了指示菌的化妆品溶液的细菌生长情况,建立了一种能够对化妆品中的氯霉素、氧氟沙星和头孢克肟3种抗生素进行快速初筛的微生物检测方法,可以作为大型仪器检测方法的补充,用于化妆品中常见抗生素的快速初筛检测。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

菌种为金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*, ATCC 6538),简称金葡萄菌。化妆品样品为市售未开封化妆品,共计20件,根据国家药监局发布的《化妆品分类规则和分类目录》<sup>[9]</sup>(以下称《分类规则》),按照产品剂型可分类为液体类10件、霜膏乳类6件、贴膜类4件。

卡波姆941、鲸蜡硬脂醇、3-(2-乙基己氧基)-1,2-丙二醇(上海麦克林生化科技有限公司);1,3-丙二醇、甘油二硬脂酸酯、乙二醇苯醚、氯霉素、头孢

克肟、氧氟沙星(上海阿拉丁生化科技有限公司);无水乙醇(北京国药集团化学试剂有限公司);营养琼脂、MLEB、SCDLP液体培养基(青岛海博生物技术有限公司)。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 标准溶液的配制

化妆品标准品的配制:选取化妆品中常用的配方组分(表1),混合制得化妆品标准液,用于抗生素标准溶液的配制。步骤如下:称取0.3 g卡波姆941、4.5 g 1,3-丙二醇、3.5 g甘油硬脂酸酯和2.5 g鲸蜡硬脂醇,移入洁净的锥形瓶中,加入88.0 g灭菌去离子水,加热至85℃左右,不断搅拌使其充分溶解并分散均匀,当溶液中无固体沉淀时,停止加热。待溶液冷却至40℃以下,加入0.8 g乙二醇苯醚和0.4 g 3-(2-乙基己氧基)-1,2-丙二醇,不断搅拌冷却至室温,得化妆品标准品。

化妆品标准处理液的配制:取化妆品标准品2 g,加入18 mL中和剂,振荡以充分混匀,静置15 min后,经0.22 μm微孔滤膜过滤除菌,得到化妆品标准处理液。

抗生素标准储备液的配制:用分析天平准确称取0.3 g氯霉素、0.3 g氧氟沙星和0.3 g头孢克肟,先加入适量冰醋酸、甲醇和乙醇助溶,再加入化妆品标准液处理液使溶液总质量为20 g,得到15 mg/g的抗生素标准储备液,冰箱冷冻保存。

抗生素加标样液的配制:吸取一定量的氯霉素储备液,加入中和剂进行稀释,配制浓度为1、5、10、50、250、1 000 μg/g的氯霉素加标样液和浓度为0.2、1.0、10.0、50.0、250.0、1 000.0 μg/g的氧氟沙星加标样液和头孢克肟加标样液。

表1 化妆品标准液的配方组分

Table 1 Composition of cosmetic standard solution

International nomenclature cosmetic ingredient	Mass(g)	Function
Deionized water	88.0	Solvent
Propanediol	4.5	Humectant
Carbomer 941	0.3	Thickener
Glyceryl stearate	3.5	Emulsifier
Cetearyl alcohol	2.5	Thickener
Phenoxyethanol	0.8	Preservative
3-(2-ethylhexyloxy)-1,2-propanediol	0.4	Preservative auxiliary agent

#### 1.2.2 菌种的选取

金葡萄菌属于葡萄球菌属,是一种常见的皮肤细菌。祛痘抗粉刺类化妆品是针对毛囊炎和痤疮等

皮肤问题的功效性产品,违法添加抗生素的情况最为严重,毛囊炎感染中最为多见的就是由金葡萄菌引发的细菌性毛囊炎,因此本实验选用金葡萄菌为指示

菌,以进行化妆品中常见的3种抗生素的检测。

### 1.2.3 中和剂的中和效果验证

化妆品样品的处理:取市售未拆封化妆品20件(液体类10件、霜膏乳类6件、贴膜类4件,均为水溶性),称取化妆品样品1 g,分别加入9 mL灭菌生理盐水、营养肉汤、SCDLP液体培养基、MLEB 4种稀释液,振荡混匀后,静置15 min,经0.22 μm微孔滤膜过滤,得化妆品样品待检液。

金葡菌菌液的制备:取于-40℃保存的金葡菌冻存液,室温解冻,用无菌接种环蘸取一环菌液,划线于冷却的营养琼脂平板,将培养皿倒置放入恒温培养箱中,37℃孵育24 h后,挑取适量营养琼脂平板中的金葡菌菌落,溶解于0.9%灭菌生理盐水中,振荡摇匀,参照麦氏比浊管,用灭菌生理盐水进行梯度稀释,并通过营养琼脂平板培养验证,菌液浓度约为 $1 \times 10^3$  cfu/mL。

参考《中国药典》2020年版中的相关方法对4种稀释液进行微生物计数法适用性检测。计数实验组:取9 mL化妆品样品待检液和1 mL金葡菌菌液于灭菌试管中(使溶液细菌浓度 $<100$  cfu/mL),充分混匀后取1 mL注入营养琼脂平板,平行制备2个平板,37℃培养24 h后进行平板计数,菌落数记作 $N_1$ ;计数对照组:取相应稀释液替代化妆品待检液,其余按计数对照组操作,菌落数记作 $N_2$ ;待检液对照组:取相应稀释液替代菌液,其余按计数对照组操作,菌落数记作 $N_0$ ;无菌对照组:取1 mL稀释液注入营养琼脂平板,37℃培养24 h后计数。计算各稀释液的细菌回收率( $W$ )= $[(N_1-N_0)/N_2] \times 100\%$ ,选取回收率较高的稀释液作为中和剂用于化妆品样品处理和计数培养。

### 1.2.4 菌悬液细菌计数和吸光度的测定

挑取适量金葡菌接种到灭菌生理盐水中,振荡混匀后,作为标准菌液,分别取0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mL于5个灭菌试管中,加入0.9%灭菌生理盐水使溶液总体积达5 mL。取不同浓度的菌悬液各1 mL于试管中,加入0.5 mL灭菌生理盐水和4.5 mL液体培养基,充分混匀,制成含等浓度梯度菌液的待测液。

以液体培养基为空白对照,5个浓度的菌悬液为待测液,在480 nm波长下,使用紫外可见分光光度计进行吸光度测定,每个样品测定3次,取平均值,测定前用混合器将溶液混匀。同时,用生理盐水对5个浓度的菌悬液进行梯度稀释并进行营养琼脂平板计数,平行制备3个平板。用Excel拟合该实验条件下金葡菌菌液吸光度值和细菌数之间相关

关系的曲线。

### 1.2.5 抗生素抑菌效果测定

实验组取0.5 g不同浓度的抗生素加标样液加入4.5 mL中和剂(根据1.2.3的实验结果,选取中和效果最好的中和剂),分别接种1 mL金葡菌悬液(菌液浓度约为 $1 \times 10^{11}$  cfu/mL),37℃下培养45 min和90 min时,使用紫外可见分光光度计测定溶液吸光度,每个样品测定3次,取其平均值;空白组取0.5 g灭菌生理盐水替代抗生素溶液,其余按实验组操作。计算各浓度抗生素的细菌回收率=(实验组吸光度/空白组吸光度) $\times 100\%$ 。以上实验步骤重复3次,细菌回收率取3次实验的平均值。

### 1.2.6 实际样品检测

根据1.2.5的实验结果,选取一定浓度下合适的细菌回收率作为标准回收率,建立实际化妆品样品的检测标准。取市售未开封化妆品6件(液体类4件、贴膜类2件),经本研究建立的检测方法进行检测。另取未检出抗生素的市售化妆品进行氧氟沙星、氯霉素和头孢克肟3种抗生素的加标检测。化妆品样品的处理同1.2.1中化妆品标准处理液的方法。计数实验组:取0.5 g化妆品样品和4.5 mL中和剂于试管中,振荡均匀后经0.22 μm微孔滤膜过滤,得样品待检液,以样品待检液:菌液=5:1的比例接种1 mL金葡菌悬液(菌液浓度约为 $1 \times 10^{11}$  cfu/mL),于37℃下培养45 min和90 min后,使用紫外可见分光光度计测定溶液吸光度,每个样品测定3次,取其平均值,记作 $A_{\text{样品}}$ ;计数对照组:用灭菌生理盐水替代化妆品样品,其余按计数实验组操作,吸光度记作 $A_{\text{对照}}$ 。计算样品的细菌回收率= $(A_{\text{样品}}/A_{\text{对照}}) \times 100\%$ 。

当待测样品两个培养时间的细菌回收率均大于对应培养时间的标准回收率时,则判定为抗生素阴性,否则判定为抗生素阳性,即怀疑该样品非法添加抗生素,需要使用国标方法进行进一步精确检测。

## 2 结果

### 2.1 4种稀释液的中和效果比较

使用4种不同稀释液的20件样品的金葡菌回收率结果见表2。

结果显示,编号1~14的样品:使用0.9%生理盐水制备的样品加菌回收率为58%~89%,使用营养肉汤制备的样品加菌回收率为66%~90%,使用SCDLP液体培养基制备的样品加菌回收率为80%~102%,使用MLEB制备的样品加菌回收率为80%~104%,均符合《中国药典》2020年版的相关要求。编号15~20

表2 微生物计数法适用性实验回收率

**Table 2 Recovery rate of applicability experiment of microbial counting method (%)**

Sample number	Normal saline	Nutrient broth	SCDLP	MLEB
1	75	83	84	83
2	87	88	93	92
3	89	87	95	102
4	78	86	102	98
5	79	88	94	91
6	87	90	92	98
7	86	85	92	96
8	78	76	93	86
9	85	85	94	95
10	73	77	81	83
11	77	74	87	83
12	58	66	80	85
13	87	89	97	104
14	77	75	85	80
15	28	52	81	76
16	11	35	60	89
17	38	58	71	82
18	44	54	73	76
19	5	16	51	58
20	15	38	45	73

的样品中：使用0.9%灭菌生理盐水制备待测的样品，有6件加菌回收率低于50%（编号16~20）；使用营养肉汤制备待测液的样品中，有3件加菌回收率低于50%（编号16、19、20）；使用SCDLP液体培养基制备待测液的样品中，有1件加菌回收率低于50%（编号20），不符合《中国药典》2020年版的相关要求。在20件样品中，12件使用MLEB制备待测液的样品加菌回收率最高（更接近100%），且金葡菌回收率均符合相关要求。由此可见，添加中和剂能有效中和化妆品样品的抑菌性，其中MLEB对样品中的防腐剂及其他具有抑菌效果成分的中和效果最佳。

2.2 金葡菌菌液吸光度和细菌数的相关性

根据朗伯-比尔定律，待测样品溶液的浓度过低或过高，均会影响紫外分光光度计测定的吸光度值的准确性，吸光度值在0.2~0.8时，测定的误差相对较小，准确性好，因此需选择合适浓度的菌悬液进行梯度稀释。实验测得的不同浓度金葡菌悬液的吸光度值和营养琼脂平板细菌计数结果见表3。

以480 nm波长下金葡菌悬液的吸光度值为横坐标，平板计数得到的细菌数为纵坐标，拟合标准

表3 不同浓度金黄色葡萄球菌悬液的吸光度和菌落计数结果

**Table 3 Absorbance and bacterial count results of *Staphylococcus aureus* suspension at different concentrations**

Dilution degree	Absorbance	Bacterial count( $\times 10^{10}$ cfu)
5	0.162	1.8
4	0.318	3.5
3	0.431	5.2
2	0.536	6.8
1	0.618	8.5

曲线，建立的回归方程为 $y=14.58x-0.86(r=0.994)$ 。由此可见，菌液细菌数和菌液吸光度之间呈线性相关，在实验中可以通过测定菌悬液的吸光度以反映菌悬液中的细菌数量。

2.3 3种抗生素对金葡菌的抑菌效果

不同浓度的氯霉素、氧氟沙星、头孢克肟加标样液的金葡菌回收率见表4~6。结果表明在本实验条件下，培养45 min时，氯霉素、氧氟沙星、头孢克肟分别在250  $\mu\text{g/g}$ 、10  $\mu\text{g/g}$ 、50  $\mu\text{g/g}$ 时出现抑菌效果，对应的细菌回收率分别为94%、95%、95%；培养90 min时，氯霉素、氧氟沙星、头孢克肟分别在5  $\mu\text{g/g}$ 、1  $\mu\text{g/g}$ 、1  $\mu\text{g/g}$ 时出现抑菌效果，对应的细菌回收率分别为92%、93%、92%。在两个培养时间下，随着抗生素浓度提高，细菌回收率呈下降趋势。

表4 不同浓度氯霉素加标样液的细菌回收率

**Table 4 Bacterial recovery rates of different concentrations of chloramphenicol solutions (%)**

Concentration of chloramphenicol( $\mu\text{g/g}$ )	Bacterial recovery rate	
	45 min	90 min
1	100	100
5	100	92
10	100	90
50	100	89
250	94	87
1 000	93	84

2.4 本方法的最低检测量说明和判定标准建立

由于本研究建立的方法不是针对单个抗生素绝对量的检测，而是对抑菌效果的反映，无法提供类似仪器分析中的检出限或最低定量浓度等指标，但可根据样品的细菌回收率与抗生素加标液的标准回收率比较，反映抑菌物质存在的浓度，从而指定最低检测量<sup>[10]</sup>。根据2.3中的数据，培养90 min时，细菌回收率出现下降时对应的抗生素浓度更低，而本方法的应用场景为样品初筛，能检出更低

表5 不同浓度氧氟沙星加标样液的细菌回收率

Table 5 Bacterial recovery rates of different concentrations of ofloxacin solutions (%)

Concentration of ofloxacin solution ( $\mu\text{g/g}$ )	Bacterial recovery rate (%)	
	45 min	90 min
0.2	100	100
1.0	100	93
10.0	95	87
50.0	93	83
250.0	88	79
1 000.0	83	71

表6 不同浓度头孢克肟加标样液的细菌回收率

Table 6 Bacterial recovery rates of different concentrations of cefixime solutions (%)

Concentration of cefixime solution ( $\mu\text{g/g}$ )	Bacterial recovery rate (%)	
	45 min	90 min
0.2	100	100
1.0	100	92
10.0	100	90
50.0	95	88
250.0	92	73
1 000.0	88	75

浓度抗生素,更有现实意义,因此选择培养90 min时各抗生素加标样液开始出现抑菌效果的浓度作为本方法的最低检测量,即对氯霉素的最低检测量为 $5 \mu\text{g/g}$ ,氧氟沙星和头孢克肟的最低检测量均为 $1 \mu\text{g/g}$ 。

在培养45 min时,加标样液开始出现抑菌效果时,细菌回收率分别为94%、95%、95%;培养90 min时,其细菌回收率分别为92%、93%、92%。因此,以95%和93%作为该实验条件下45 min和90 min的标准回收率。

在实际应用时,使用本方法对化妆品样品进行处理和测定,当待测样品培养45 min时的细菌回收率 $>95\%$ 且培养90 min时的细菌回收率 $>93\%$ ,则判定该样品为抗生素阴性;反之在任一培养时间的细菌回收率低于标准回收率,则判定该样品为抗生素阳性,即怀疑该样品非法添加抗生素,需要使用规范的标准方法进行进一步精确检测。

### 2.5 实际样品检测

取市售未开封化妆品6件,使用本研究建立的检测方法进行测定,培养45 min的细菌回收率均高于98.5%,培养90 min的细菌回收率均高于98%,即检测结果为抗生素阴性。另取不含以上3种抗生素的市售化妆品,进行 $1 \mu\text{g/g}$ 、 $10 \mu\text{g/g}$ 和 $50 \mu\text{g/g}$ 氧氟

沙星和头孢克肟, $5 \mu\text{g/g}$ 、 $10 \mu\text{g/g}$ 和 $50 \mu\text{g/g}$ 氯霉素的加标检测,实验结果均为阳性,符合预期目标。

### 3 讨论

抗生素具有杀菌、抑菌功能,但长期使用添加了大剂量抗生素的化妆品会破坏皮肤屏障作用<sup>[11]</sup>,造成细菌耐药性增强<sup>[6]</sup>、使用者出现过敏症状等<sup>[12]</sup>,对消费者身心健康造成严重影响,最大的不良反应在于细菌耐药性增强。抗生素耐药性是指微生物在抗微生物药物影响下的生存能力<sup>[13]</sup>,由于抗生素滥用,细菌耐药已经成为全球公共卫生安全危机<sup>[14]</sup>,耐药细菌感染可造成治疗失败,发病率和病死率上升和医药费用增加。因此在临床中抗生素使用有严格限制,在化妆品中抗生素为禁用物质。

高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)是化妆品中抗生素检测的常用方法<sup>[15-16]</sup>,由于化妆品成分复杂、种类繁多,HPLC法易存在基质干扰而造成假阳性结果。免疫学检测方法主要是酶联免疫检测法<sup>[17-19]</sup>,化妆品中的抗生素与抗原或抗体相结合,通过酶对底物的显色反应实现定性或定量检测,该方法可以与化学发光检测技术结合,具有灵敏度和特异度高的优点。微生物检测方法主要通过观察微生物的生长情况进行抗生素的检测,具有前处理要求低、操作简单、成本低廉等优点。目前缺少应用于大量样品的快速初筛方法。

《规范》中,对氯霉素使用HPLC检测,检出限为 $3.3 \mu\text{g/mL}$ ;对氧氟沙星使用液相色谱-串联质谱法检测,检出限为 $10 \text{ ng/mL}$ 。根据本研究实验数据,本方法对氯霉素、氧氟沙星的最低检测量分别为 $5 \mu\text{g/g}$ 、 $1 \mu\text{g/g}$ ;头孢克肟属于头孢类抗生素,近年出现不法商贩于化妆品中添加头孢克肟的事件,但头孢类药物并不在《规范》的检测范围<sup>[20]</sup>。目前关于化妆品中头孢类抗生素测定的文献报道较少,且无相关检验标准<sup>[21]</sup>。本研究建立了一种检测化妆品中头孢克肟的微生物检测方法,最低检测量为 $1 \mu\text{g/g}$ 。

在检测能力上本方法逊色于标准方法,但化妆品中的抗生素添加量集中在 $1\ 000\sim 10\ 000 \mu\text{g/g}$ <sup>[12]</sup>,本方法的最低检测量也已经满足了检测需求,具有实际应用意义。大型仪器分析方法成本昂贵,检测时间较长,本方法价格低廉,检测快速,应用场景为大量样品的初筛检测,这也是本方法的优势。

根据2016—2020年我国化妆品监督抽检结果<sup>[12]</sup>,化妆品中抗生素添加量普遍较高,部分添加量已超

过皮肤临床用量,一种产品加入几种抗生素的情况也比较多见。这是因为商家添加抗生素的目的是快速杀菌消炎,而低剂量的抗生素无法产生明显抑菌效果,所以商家往往会添加多种抗生素并高剂量添加。化妆品中抗生素低剂量添加的情况比较少见,因为低剂量添加无法达到上述目的,不符合其非法添加的商业动机。如果添加的抗生素浓度低于最低检测量,本实验会出现假阴性结果,则需要结合实际情况如使用者皮肤症状、过敏史等,应用大型理化仪器分析方法或其他精确度更高的方法分析并综合判断。

本实验建立了一种用于检测化妆品中抗生素时标准溶液的配制方法,将化妆品中常用的各配方组分混合后(包括防腐剂、防腐剂辅助剂、增稠剂、乳化剂和保湿剂等),再加入中和剂中和样品中的防腐剂,得到1:10化妆品标准处理液,用于抗生素标准系列溶液的溶解和稀释。相比目前大多研究直接使用生理盐水或去离子水对标准物质进行溶解和稀释,该方法配制的标准溶液更接近实际化妆品样品复杂的背景基质,从而使相关检测方法更加接近实际应用时的状态,对于微生物检验而言,还可以一定程度上排除化妆品基质中其他物质带来的干扰,提高检测的准确性,该配制方法也可用于其他化妆品检测方法中标准物质的配制。

由于化妆品成分繁多以及各类防腐剂的使用,如不能有效消除样品的抑菌性,微生物检测方法的适用性将受到影响<sup>[22]</sup>,因此本实验以生理盐水、营养肉汤、SCDLP液体培养基和MLEB 4种稀释液作为中和剂,比较了它们对化妆品中防腐剂等抑菌成分的中和效果。结果显示,添加中和剂能够有效中和样品中的抑菌性,降低化妆品样品中防腐剂及其他具有抑菌性的成分对实验结果的干扰,在4种稀释液中,MLEB对防腐剂抑菌性的中和效果最好。根据《分类规则》,按照产品剂型分类,本方法主要适用液体类、霜膏乳类、贴膜类化妆品,能够涵盖绝大多数类型日用化妆品。

综上,本研究利用抗生素的抑菌活性,通过紫外可见分光光度计测定添加了指示菌的化妆品溶液的细菌生长情况,建立了一种针对化妆品中氯霉素、氧氟沙星和头孢克肟3种抗生素的微生物定性检测方法。该方法具有操作简单、成本低廉、检测速度相对较快等优点,可以作为大型仪器检测方法的补充,用于化妆品中常见抗生素的快速初筛检测,以进一步加强化妆品质量监督,保证化妆品安全。

#### 利益冲突声明:

全体作者声明没有利益冲突。

#### Conflict of Interests:

The authors declared no conflict of interests.

#### 作者贡献声明:

成治伟负责实验方法、实验与数据分析、论文撰写与修改;卫昕怡、王婉莹、卞心如负责实验与数据分析;仲国维、张晓玲提供实验资源与支持;卫昕怡、张晓玲负责实验设计、稿件修改与审阅。

#### Author's Contributions:

CHENG Zhiwei was responsible for methodology, experiment and data analysis, paper writing and editing; WEI Xinyi, WANG Wanying, BIAN Xinru were responsible for experiment and data analysis; ZHONG Guowei, ZHANG Xiaoling provided experimental resources and fund supporting; WEI Xinyi, ZHANG Xiaoling were responsible for design of experiment, revision and review of manuscript.

#### [参考文献]

- [1] 许文君. 中国美妆品牌新座次: 30多家国货迈入10亿梯队[J]. 日用化学品科学, 2023, 46(8): 1-7  
XU W J. China's beauty brands in new seat: more than 30 brands step into 1 billion[J]. Detergent & Cosmetics, 2023, 46(8): 1-7
- [2] 杨宝峰. 药理学: 改编教学版[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2018: 361-368  
YANG B F. Pharmacology [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2018: 361-368
- [3] 高平, 黄媛媛, 陈日檬, 等. 浅议祛斑美白类化妆品中非法添加抗生素现状及其安全替代品[J]. 山东化工, 2023, 52(23): 154-156  
GAO P, HUANG Y Y, CHEN R M, et al. Discussion on current situation of illegally added antibiotics and safe substitutes in freckle whitening cosmetics [J]. Shandong Chemical Industry, 2023, 52(23): 154-156
- [4] 黄柳倩. 液质联用法同时测定化妆品中可能违法添加的35种抗生素[D]. 杭州: 浙江工业大学, 2019  
HUANG L Q. Simultaneous determination of 35 antibiotics illegally adulterated in cosmetics by high performance liquid chromatography - tandem mass spectrometry [D]. Hangzhou: Zhejiang University of Technology, 2019
- [5] 吕广云, 朱琳, 孙晓娟. 化妆品中抗生素的分析检测方法研究进展[J]. 国外医药(抗生素分册), 2023, 44(6): 383-389  
LYU G Y, ZHU L, SUN X J. Progress in the analysis and detection of antibiotics in cosmetics [J]. World Notes on Antibiotics, 2023, 44(6): 383-389
- [6] WINDELS E M, MICHIELS J E, VAN DEN BERGH B, et

- al. Antibiotics: combatting tolerance to stop resistance[J]. *mBio*, 2019, 10(5): e02095-19
- [7] 国家药品监督管理局. 国家食品药品监督管理总局关于发布化妆品安全技术规范(2015年版)的公告(2015年第268号)[Z]. 2015-12-23  
National Medical Products Administration. Announcement of the national medical products administration on the release of safety technical specifications for cosmetics (2015 edition)(No. 268 of 2015)[Z]. 2015-12-23
- [8] COUNCIL TEPAOT. Regulation (EC) No 1223/2009 of the European parliament and of the council [Z]. 2009-12-23
- [9] 国家药品监督管理局. 国家药监局关于发布《化妆品分类规则和分类目录》的公告[Z]. 2021-04-08  
National Medical Products Administration. Announcement of the national medical products administration on issuing the classification rules and catalogue of cosmetics [Z]. 2021-04-08
- [10] 毓志超,李 丰. 高效检测化妆品中抗生素方法的研究[J]. *广东化工*, 2022, 49(24): 74-76  
YU Z C, LI F. Study on efficient detection of antibiotics in cosmetics [J]. *Guangdong Chemical Industry*, 2022, 49(24): 74-76
- [11] 崔泰兴,牛青山. 人体益生菌膜生态防御屏障[J]. *辽宁大学学报(自然科学版)*, 2020, 47(3): 209-217  
CUI T X, NIU Q S. Human ecological defense barrier of probiotic biofilm[J]. *Journal of Liaoning University(Natural Sciences Edition)*, 2020, 47(3): 209-217
- [12] 李 莉,李 硕,王海燕,等. 化妆品中抗生素类药物非法添加情况[J]. *香料香精化妆品*, 2022, 180(3): 10-12, 43  
LI L, LI S, WANG H Y, et al. Illegal addition of antibiotics in cosmetics[J]. *Flavour Fragrance Cosmetics*, 2022, 180(3): 10-12, 43
- [13] 李虎良,张 蕾. 抗生素耐药性的分子机制及抑菌策略[J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2024, 40(6): 759-769  
LI H L, ZHANG L. Molecular mechanisms and anti-bacterial strategies of antibiotic resistance[J]. *Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 2024, 40(6): 759-769
- [14] 肖永红. 感染控制与抗菌药物管理齐头并进 有效遏制细菌耐药[J]. *中国感染控制杂志*, 2021, 20(7): 583-585  
XIAO Y H. Implementing infection control and antimicrobial stewardship, hand in hand to curb antimicrobial resistance[J]. *Chinese Journal of Infection Control*, 2021, 20(7): 583-585
- [15] 韩晓萍,李亚楠. 高效液相色谱法检测化妆品中的6种抗生素和甲硝唑[J]. *香料香精化妆品*, 2019, 177(6): 43-46  
HAN X P, LI Y N. Simultaneous determination of six kinds of antibiotics and metronidazole in cosmetics by high performance liquid chromatograph [J]. *Flavour Fragrance Cosmetics*, 2019, 177(6): 43-46
- [16] 孙宵欢,杨 铭. 高效液相色谱法测定化妆品中甲硝唑及10种抗生素[J]. *化工时刊*, 2019, 33(11): 13-16  
SUN X H, YANG M. Determination of metronidazole and 10 antibiotics in cosmetic by high performance liquid chromatography [J]. *Chemical Industry Times*, 2019, 33(11): 13-16
- [17] WANG Z X, WANG M, FU X X, et al. Novel hapten design, highly sensitive monoclonal antibody production, and immunoassay development for rapid screening of illegally added chloramphenicol in cosmetics [J]. *J Immunol Methods*, 2024, 525: 113604
- [18] 李启艳,于海英,胡德福,等. 高灵敏化学发光酶联免疫检测技术检测祛痘类化妆品中的氟喹诺酮类抗生素[J]. *药学研究*, 2020, 39(2): 92-95  
LI Q Y, YU H Y, HU D F, et al. High-sensitive chemiluminescence immunoassay for determination of fluoroquinolones in cosmetics [J]. *Journal of Pharmaceutical Research*, 2020, 39(2): 92-95
- [19] LI Q Y, ZHU R R, LI J, et al. Highly specific chemiluminescence immunoassay for the determination of chloramphenicol in cosmetics [J]. *Int J Anal Chem*, 2019, 2019: 7131907
- [20] 贾 娜. 浅议化妆品非法添加治理难点及监管举措[J]. *首都食品与医药*, 2019, 26(19): 199-200  
JIA N. A brief discussion on the difficulties and regulatory measures of illegal addition control in cosmetics [J]. *Capital Food Medicine*, 2019, 26(19): 199-200
- [21] 孙小杰,王玉梅,刘 真,等. 高效液相色谱-串联质谱法测定化妆品中17种头孢类抗生素[J]. *日用化学工业(中英文)*, 2023, 53(6): 714-720  
SUN X J, WANG Y M, LIU Z, et al. Determination of 17 cephalosporins residues in cosmetics by HPLC-MS-MS [J]. *China Surfactant Detergent & Cosmetics*, 2023, 53(6): 714-720
- [22] 王 涛,李雪玲,农 浚,等. 中和剂对化妆品微生物指标检测结果的影响[J]. *广东化工*, 2022, 49(20): 210-211  
WANG T, LI X L, NONG J, et al. Effect of neutralizer on microbial count test results of cosmetics [J]. *Guangdong Chemical Industry*, 2022, 49(20): 210-211

[收稿日期] 2024-06-21

(本文编辑:蒋 莉)