

中华人民共和国国家标准

GB/T 32986—2016

化妆品中多西拉敏等 9 种抗过敏药物的 测定 液相色谱-串联质谱法

Determination of nine anti-allergy drugs in cosmetics—LC-MS/MS

2016-10-13 发布

2017-05-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由中国轻工业联合会提出。

本标准由全国香料香精化妆品标准化技术委员会(SAC/TC 257)归口。

本标准起草单位：国家化妆品质量监督检验中心、上海市日用化学工业研究所、苏州世谱检测技术有限公司、广东华鑫检测技术有限公司、完美(中国)有限公司、江苏隆力奇生物科技股份有限公司、河北省食品检验研究院、苏州质量检测科学研究院。

本标准主要起草人：卢剑、车文军、武中平、沈敏、张岩、严泽民、李晓敏、廖华勇、邹洁、钱凯、曲梅、杨洋、孙姗姗、王小丹、徐楠楠、双家福、曹倩文、吴金兰。



引 言

本标准中的被测物质是我国《化妆品安全技术规范》规定的禁用物质,不得作为化妆品生产原料即组分添加到化妆品中。如果技术上无法避免禁用物质带入化妆品时,则化妆品成品应符合《化妆品安全技术规范》对化妆品的一般要求,即在正常及合理的、可预见的使用条件下,不得对人体健康产生危害。

目前我国尚未规定这些物质的限量值,本标准的制定,仅对化妆品中测定这些物质提供检测方法。

化妆品中多西拉敏等 9 种抗过敏药物的 测定 液相色谱-串联质谱法

1 范围

本标准规定了化妆品中多西拉敏、美沙吡林、曲吡那敏、溴苯那敏、苯海拉明、赛克利嗪、二苯拉林、羟嗪和氯苯沙明含量的液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)测定方法。

本标准适用于膏霜乳液、水剂类化妆品中多西拉敏、美沙吡林、曲吡那敏、溴苯那敏、苯海拉明、赛克利嗪、二苯拉林、羟嗪和氯苯沙明含量的测定。

本标准的检出限和定量限：9 种抗过敏药物的检出限均为 0.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，定量限均为 2.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法



3 试验方法

3.1 原理

样品用三氯乙酸溶液超声提取、离心后，上清液经固相萃取小柱净化，用液相色谱-串联质谱测定和确证，外标法定量。

3.2 试剂和标准物质

除非另有说明，所有试剂均为分析纯，水为 GB/T 6682 规定的一级水。

3.2.1 甲醇：色谱纯。

3.2.2 甲酸：色谱纯。

3.2.3 正己烷：色谱纯。

3.2.4 氯化钠。

3.2.5 甲酸铵。

3.2.6 三氯乙酸。

3.2.7 10%甲醇水溶液：准确移取 10 mL 甲醇于 100 mL 容量瓶中，用水定容至刻度，混匀后备用。

3.2.8 1%三氯乙酸溶液：准确称取 1.00 g 三氯乙酸于 100 mL 容量瓶中，用水溶解并定容至刻度。

3.2.9 5%氨水甲醇溶液：准确移取 5 mL 氨水于 100 mL 容量瓶中，用甲醇(3.2.1)定容至刻度，混匀后备用。

3.2.10 聚苯乙烯-二乙烯基苯共聚物阳离子交换小柱：60 mg, 3 mL, 或相当者。使用前依次用 3 mL 甲醇、3 mL 水活化。

3.2.11 微孔滤膜：0.22 μm ，有机相。

3.2.12 标准品：多西拉敏、美沙吡林、曲吡那敏、溴苯那敏、苯海拉明、赛克利嗪、二苯拉林、羟嗪和氯苯

沙明的中文名称、英文名称、CAS 登录号、分子式、相对分子质量及结构式参见表 A.1, 纯度不小于 98%。

3.2.13 标准储备液: 准确称取各标准品(3.2.12)适量分别置于 9 个 50 mL 容量瓶中, 用甲醇水溶液(3.2.7)溶解并定容至刻度, 配制成浓度为 100 mg/L 的标准储备液, 于 4 °C 避光保存, 有效期 2 个月。

3.2.14 混合标准工作中间液: 分别准确移取各标准储备液(3.2.13)1 mL 于 100 mL 容量瓶中, 用甲醇水溶液(3.2.7)定容至刻度, 配制成浓度为 1 mg/L 的混合标准工作液, 现配现用。

3.3 仪器和设备

3.3.1 液相色谱-串联质谱仪(LC-MS/MS): 配有电喷雾离子源(ESI)。

3.3.2 电子天平: 感量为 0.000 1 g 和 0.01 g。

3.3.3 离心机: 转速不低于 10 000 r/min。

3.3.4 超声波清洗机。

3.3.5 固相萃取装置。

3.3.6 氮气吹干仪。

3.3.7 涡旋混合器。

3.3.8 具塞塑料离心管: 15 mL。

3.4 试样制备

3.4.1 提取

3.4.1.1 膏霜乳液类化妆品(水包油)

称取试样约 0.5 g (精确至 0.000 1 g) 于 15 mL 具塞塑料离心管中, 加入 8 mL 三氯乙酸溶液(3.2.8)和 0.5 g 氯化钠, 涡旋分散均匀后, 超声提取 20 min, 恢复至室温后用三氯乙酸溶液(3.2.8)定容至 10 mL, 混匀, 以 10 000 r/min 离心 10 min, 准确移取 5 mL 上清液, 加入 5 mL 水混匀后做待净化液。

3.4.1.2 膏霜乳液类化妆品(油包水)

称取试样约 0.5 g (精确至 0.000 1 g) 于 15 mL 具塞塑料离心管中, 加入 3 mL 正己烷(3.2.3), 涡旋分散均匀后, 准确加入 10 mL 三氯乙酸溶液(3.2.8), 超声提取 20 min 后, 以 10 000 r/min 离心 10 min, 弃去上层正己烷后, 准确移取 5 mL 下层提取液, 加入 5 mL 水混匀后做待净化液。

3.4.1.3 水剂类化妆品

称取试样约 0.5 g (精确至 0.000 1 g) 于 15 mL 具塞塑料离心管中, 用三氯乙酸溶液(3.2.8)定容至 10 mL, 超声提取 20 min, 准确移取 5 mL 提取液, 加入 5 mL 水混匀后做待净化液。

3.4.2 净化

将 3.4.1 中的待净化液转移至固相萃取小柱(3.2.10)中, 依次用 3 mL 水和 3 mL 甲醇洗涤, 减压抽干后, 用 5 mL 氨水甲醇溶液(3.2.9)洗脱, 收集洗脱液, 整个萃取过程控制流速约为 1 mL/min。在 40 °C 水浴中用氮气吹干, 加入 1.0 mL 初始比例流动相, 在涡旋混合器上混合 1 min 后, 过微孔滤膜(3.2.11), 滤液待测。

3.5 液相色谱-串联质谱测定

3.5.1 液相色谱参考条件

液相色谱参考条件如下:

- a) 色谱柱: C₁₈柱, 100 mm×2.1 mm(i.d.), 5 μm, 或相当者。
 b) 流动相: A: 甲醇, B: 0.1% 甲酸溶液(含 5.0 mmol/L 甲酸铵), 梯度洗脱, 梯度条件见表 1。
 c) 柱温: 30 ℃。
 d) 进样量: 5 μL。

表 1 梯度洗脱程序表

时间/min	A	B	流速/(mL/min)
0	20%	80%	0.30
6	80%	20%	0.30
10	80%	20%	0.30
10.1	20%	80%	0.30

3.5.2 串联质谱参考条件

串联质谱参考条件如下:

- a) 电离方式: 电喷雾电离, 正离子模式;
 b) 喷雾电压: 3.0 kV;
 c) 雾化温度: 300 ℃;
 d) 毛细管温度: 350 ℃;
 e) 鞘气压力: 45 Arb(1 Arb=6.895 kPa);
 f) 辅助气压力: 15 Arb(1 Arb=0.33 L/min);
 g) 碰撞气、鞘气和辅助气: 氩气(99.999%);
 h) 扫描模式: 多反应监测(MRM)模式, 9 种抗过敏药物的质谱参数见表 2。

表 2 质谱参数

序号	药物名称	保留时间/min	监测离子对	透镜电压/V	碰撞能量/eV
1	多西拉敏	3.74	271.1→167.1* 182.2	47	33 16
2	美沙吡林	4.39	262.2→119.3 217.1*	52	23 14
3	曲吡那敏	4.76	256.2→120.2 211.2*	54	27 15
4	溴苯那敏	5.38	319.1→167.1* 194.2	55	42 39
5	苯海拉明	5.51	256.2→152.2 167.1*	42	37 14
6	赛克利嗪	5.69	267.1→152.1 167.1*	46	39 17
7	二苯拉林	5.91	282.2→152.2 167.1*	65	38 45

表 2 (续)

序号	药物名称	保留时间/min	监测离子对	透镜电压/V	碰撞能量/eV
8	羟嗪	6.49	375.2→165.1 201.1*	58	37 19
9	氯苯沙明	6.65	304.2→179.1 215.1*	41	28 16

注：* 表示定量离子(Quantitative ion)。

3.5.3 混合标准工作液制备

用初始比例流动相溶液将混合标准工作中间液(3.2.14)逐级稀释得到浓度为 0.5 ng/mL、1.0 ng/mL、2.0 ng/mL、5.0 ng/mL、10.0 ng/mL 的混合标准工作液,浓度由低到高进行检测,以定量离子峰面积对质量浓度作图,做出标准曲线回归方程。

9 种抗过敏药物标准物质色谱图参见图 B.2。

3.5.4 测定步骤

样品待测液中各组分的响应值应在标准曲线的线性范围内,超过线性范围则应稀释后再进样测定。

3.5.5 定性判定

在相同条件测定样品溶液和标准溶液,如果样品溶液中检出的色谱峰的保留时间与标准溶液中的某种组分峰的保留时间一致(变化范围在±2.5%),并且所选择的两对子离子的质荷比一致,样品溶液中定性离子相对丰度与浓度相当标准工作溶液中定性离子的相对丰度进行比较时,相对偏差不超过表 3 规定的范围,则可判断样品中存在该组分。

9 种抗过敏药物标准物质选择离子质量色谱图参见图 B.1。

表 3 定性确定时相对离子丰度的最大允许偏差

相对离子丰度	>50%	>20%~50%	>10%~20%	≤10%
允许的相对偏差	±20%	±25%	±30%	±50%

3.6 空白试验

除不加试样外,均按上述测定条件和步骤进行。

4 结果计算

结果按式(1)计算,计算结果保留小数点后两位。

$$X_i = \frac{C_i \times V \times K}{m} \dots\dots\dots(1)$$

式中:

X_i ——样品中某种组分含量,单位为微克每千克($\mu\text{g}/\text{kg}$);

C_i ——由标准曲线得出的测试液中某种组分的浓度,单位为纳克每毫升(ng/mL);

V ——定容体积,单位为毫升(mL);

K ——稀释倍数;

m ——样品质量,单位为克(g)。

5 回收率与精密度

在添加浓度 $2.0 \mu\text{g}/\text{kg} \sim 10.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ 浓度范围内,回收率在 $90\% \sim 110\%$ 之间,相对标准偏差小于 10% 。

6 允许差



在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10% 。

附 录 A
(资料性附录)

9 种抗过敏药物的中文名称、英文名称、CAS 登录号、分子式、相对分子质量及结构式

表 A.1 9 种抗过敏药物的中文名称、英文名称、CAS 登录号、分子式、相对分子质量及结构式

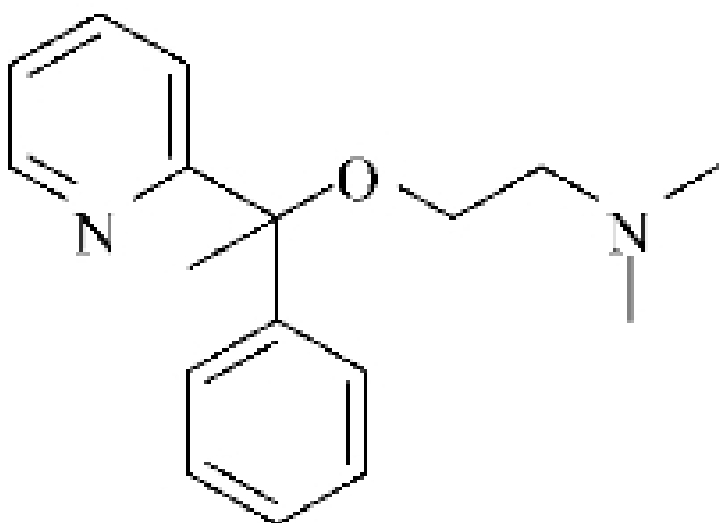
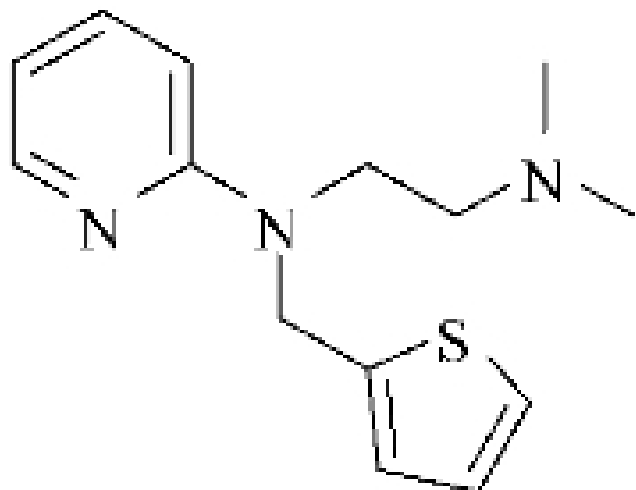
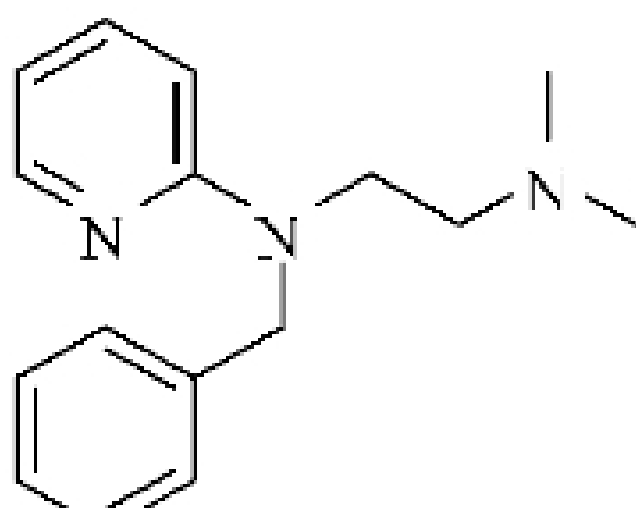
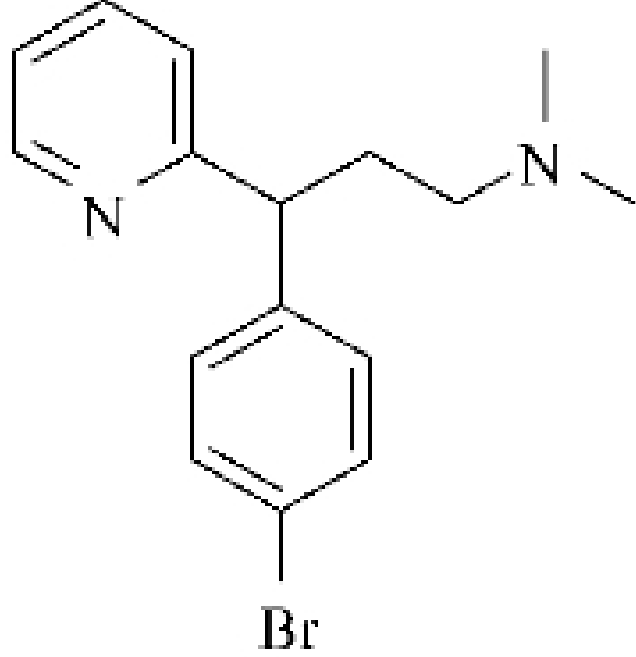
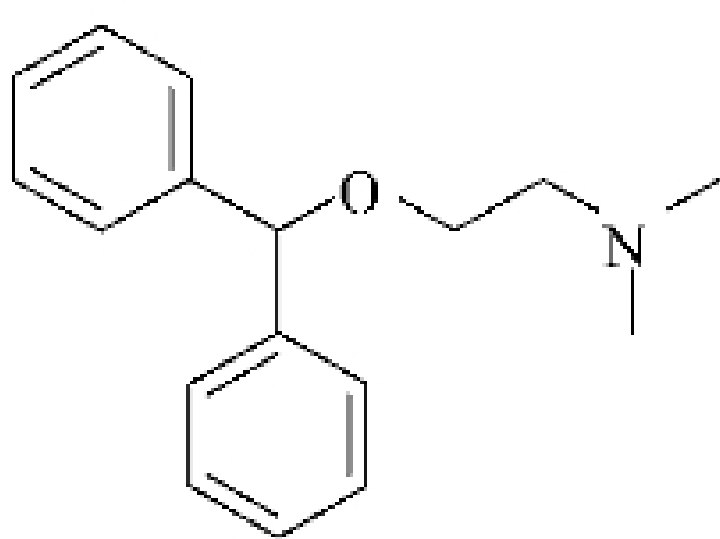

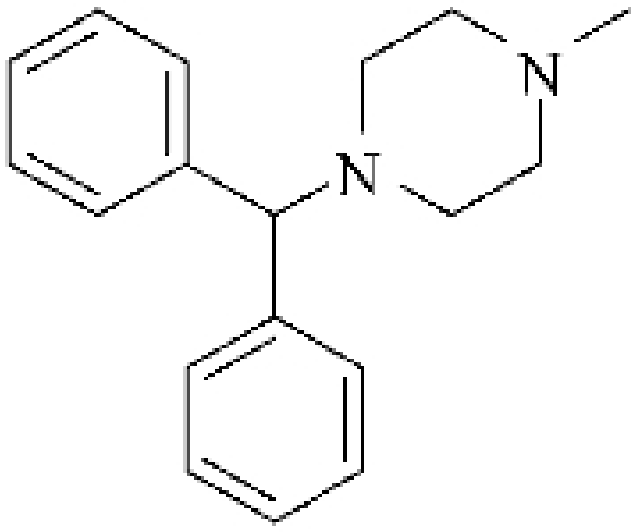
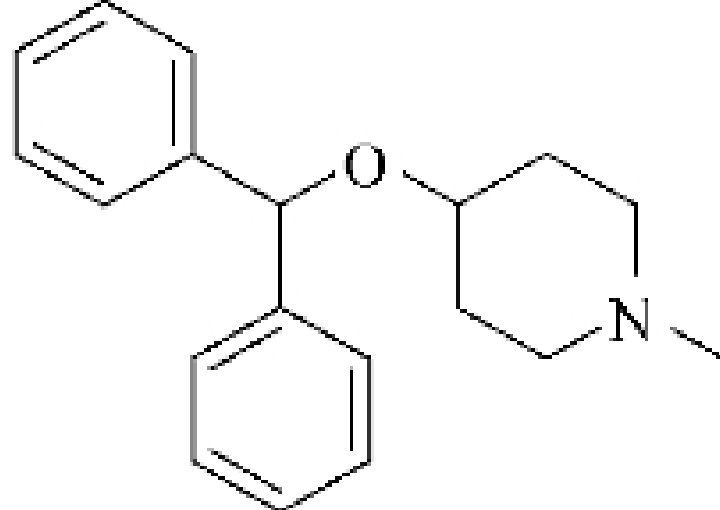
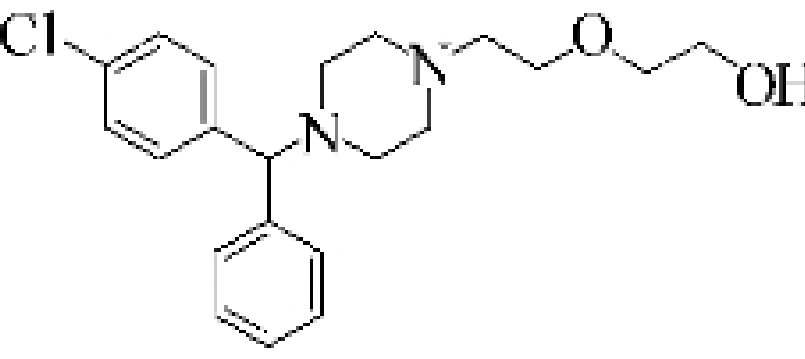
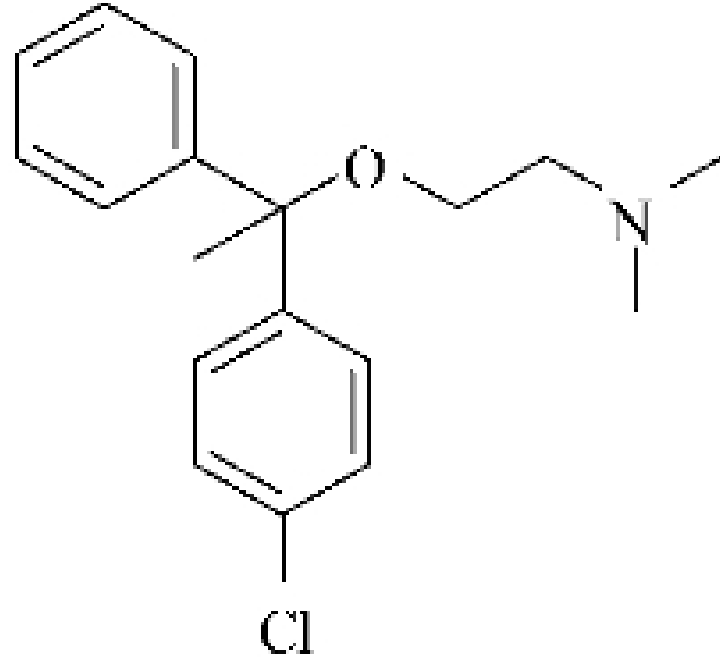
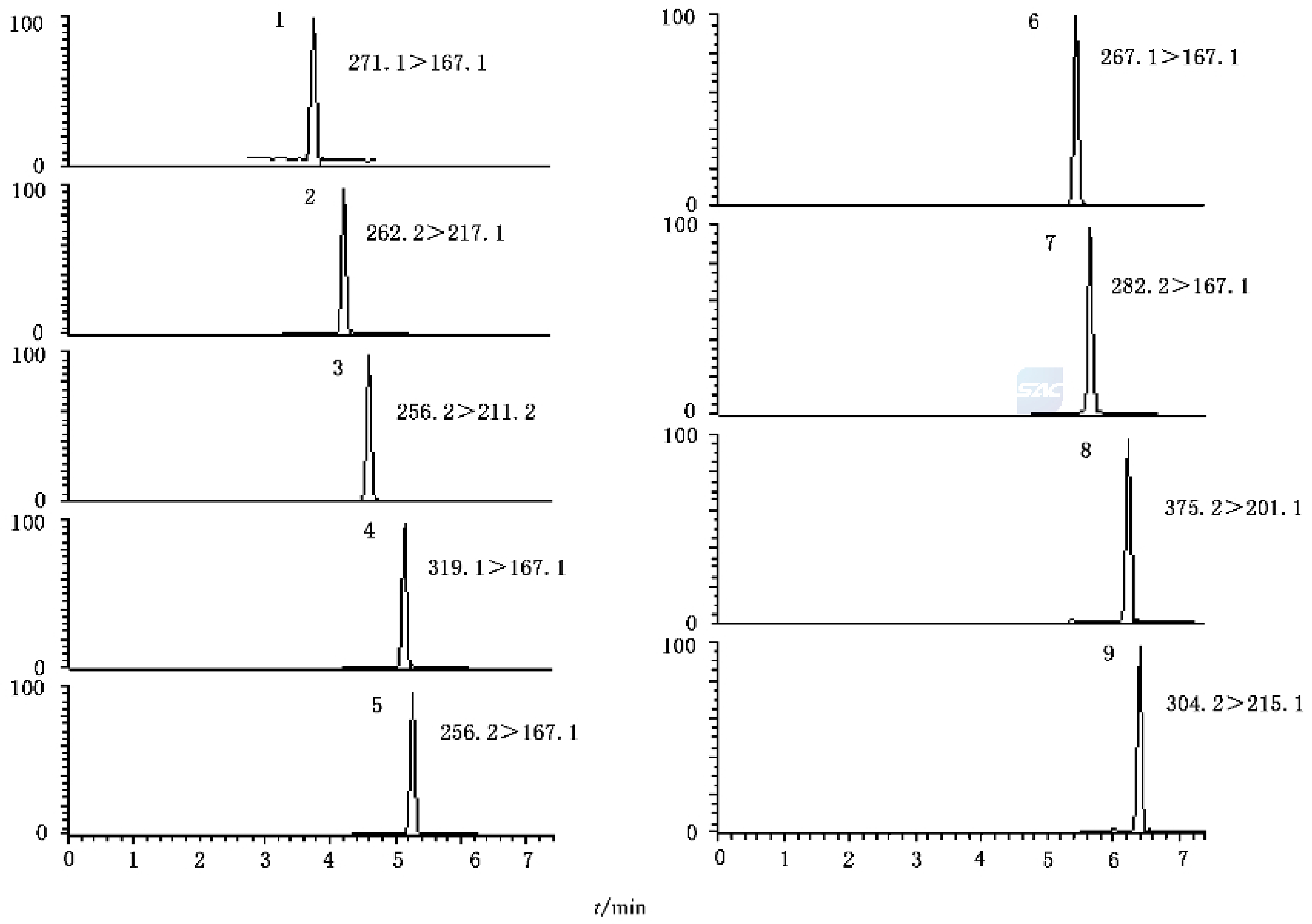
序号	中文名称	英文名称	CAS 登录号	分子式	相对分子质量	结构式
1	多西拉敏	Doxylamine	469-21-6	$C_{17}H_{22}N_2O$	270.4	
2	美沙吡林	Methapyrilene	91-80-5	$C_{14}H_{19}N_3S$	261.4	
3	曲吡那敏	Tripelennamine	91-81-6	$C_{16}H_{21}N_3$	255.4	
4	溴苯那敏	Brompheniramine	86-22-6	$C_{16}H_{19}BrN_2$	319.2	
5	苯海拉明	Diphenhydramine	58-73-1	$C_{17}H_{21}NO$	255.4	
6	赛克利嗪	Cyclizine	 303-25-3	$C_{18}H_{22}N_2$	266.3	

表 A.1 (续)

序号	中文名称	英文名称	CAS 登录号	分子式	相对分子质量	结构式
7	二苯拉林	Diphenylpyraline	147-20-6	$C_{19}H_{23}NO$	281.4	
8	羟嗪	Hydroxyzine	68-88-2	$C_{21}H_{27}ClN_2O_2$	374.5	
9	氯苯沙明	Chlorphenoxamine	77-38-3	$C_{18}H_{22}ClNO$	303.5	

附录 B
(资料性附录)

9 种抗过敏药物标准物质色谱图和选择离子质量色谱图

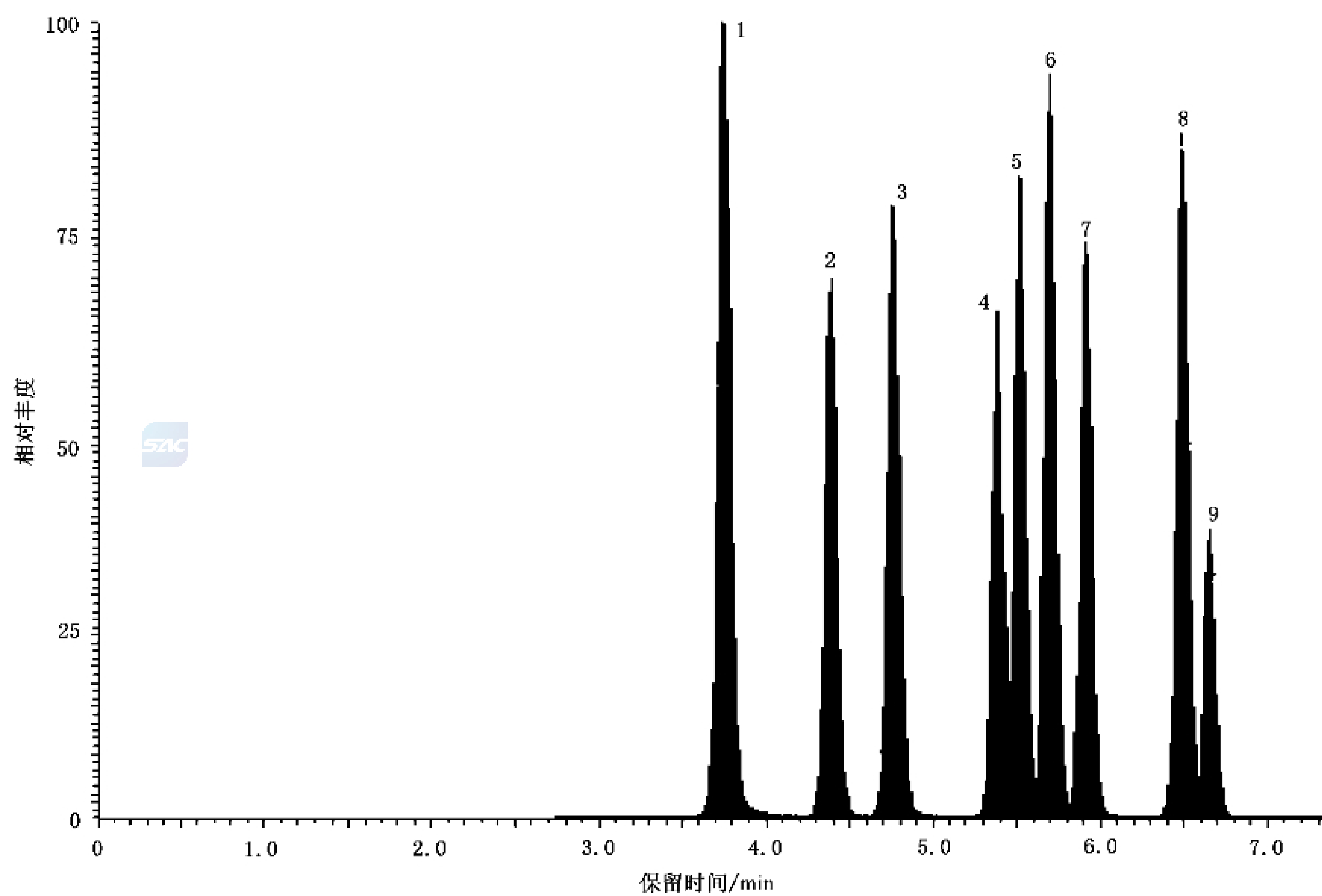


说明：

- 1——多西拉敏；
- 2——美沙吡林；
- 3——曲吡那敏；
- 4——溴苯那敏；
- 5——苯海拉明；

- 6——赛克利嗪；
- 7——二苯拉林；
- 8——羟嗪；
- 9——氯苯沙明。

图 B.1 9 种抗过敏药物标准物质选择离子质量色谱图



说明：

1——多西拉敏；
2——美沙吡林；
3——曲吡那敏；
4——溴苯那敏；
5——苯海拉明；

6——赛克利嗪；
7——二苯拉林；
8——羟嗪；
9——氯苯沙明。

图 B.2 9 种抗过敏药物标准物质色谱图