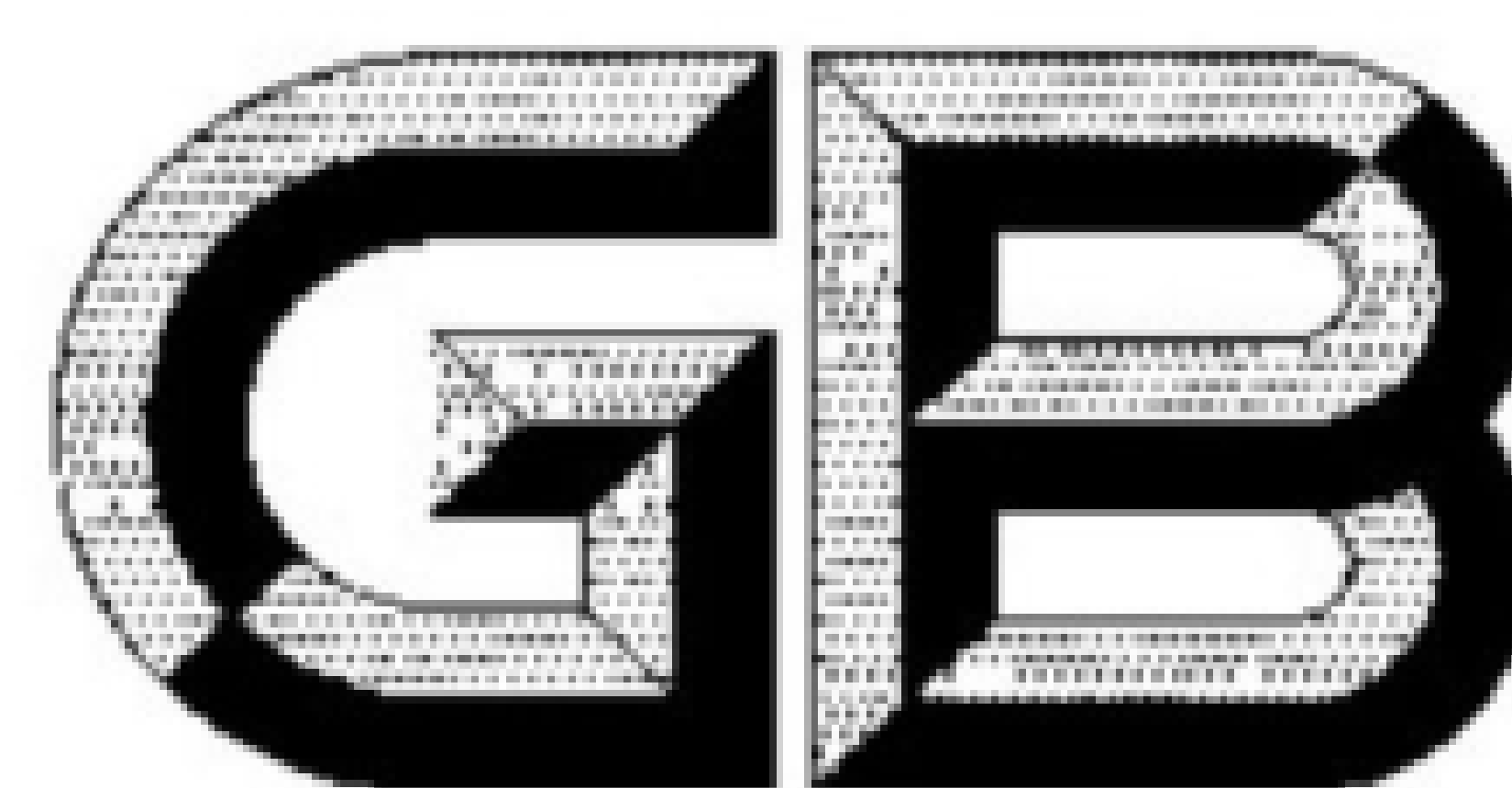




中华人民共和国国家标准

GB/T 41683—2022

化妆品中禁用物质秋水仙碱及其衍生物 秋水仙胺的测定 液相色谱-串联质谱法

Determination of prohibited colchicine and its derivative demecolcine
in cosmetics—Liquid chromatography-tandem mass spectrometry

2022-10-12 发布

2023-05-01 实施

国家市场监督管理总局 发布
国家标准化管理委员会

前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第 1 部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中国轻工业联合会提出。

本文件由全国香料香精化妆品标准化技术委员会(SAC/TC 257)归口。

本文件起草单位：深圳海关食品检验检疫技术中心、深圳市检验检疫科学研究院。

本文件主要起草人：康海宁、沈金灿、赵凤娟、林伟坚、徐婷婷、华红慧、罗耀、陈沛金、谢志榕、吴章杰、阮子捷、李雅玫。

引 言

本文件的被测物质是我国《化妆品安全技术规范(2015 年版)》规定的禁用原料。

禁用原料是指不得作为化妆品原料使用的物质。《化妆品安全技术规范(2015 年版)》规定：若技术上无法避免禁用物质作为杂质带入化妆品时，国家有限量规定的应符合其规定；未规定限量的，应进行安全性风险评估，确保在正常、合理及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，本文件的制定，仅对化妆品中测定这些物质提供检测方法。

化妆品中禁用物质秋水仙碱及其衍生物 秋水仙胺的测定 液相色谱-串联质谱法

警示——使用本文件的人员应有正规实验室工作的实践经验。本文件并未指出所有可能的安全问题。使用者有责任采取适当的安全和健康措施，并保证符合国家有关规定的条件。

1 范围

本文件描述了化妆品中禁用物质秋水仙碱及其衍生物秋水仙胺的液相色谱-串联质谱测定方法的原理、试剂和材料、仪器设备、试验步骤、试验数据处理、回收率、精密度等内容。

本文件适用于水基、乳液、膏霜、凝胶、蜡基、粉基类等化妆品中秋水仙碱及其衍生物秋水仙胺的测定。

本文件的方法检出限和定量限：秋水仙碱和秋水仙胺的检出限均为 5.0 $\mu\text{g/kg}$ ，定量限均为 10.0 $\mu\text{g/kg}$ 。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 试验方法

4.1 原理

样品经提取液超声提取、离心后，用液相色谱-串联质谱法测定和定性，外标法定量。

4.2 试剂和材料

- 4.2.1 水：GB/T 6682，一级。
- 4.2.2 甲醇：色谱纯。
- 4.2.3 乙腈：色谱纯。
- 4.2.4 无水乙醇：色谱纯。
- 4.2.5 正己烷：色谱纯。
- 4.2.6 乙酸铵：色谱纯。
- 4.2.7 乙酸铵：分析纯。

4.2.8 甲酸:色谱纯。

4.2.9 甲醇乙腈溶液:移取 500 mL 甲醇(4.2.2)至 1 000 mL 容量瓶中,用乙腈(4.2.3)定容至刻度,混匀备用。

4.2.10 正己烷饱和甲醇乙腈溶液:用量筒分别量取 100 mL 正己烷(4.2.5)和 400 mL 甲醇乙腈溶液(4.2.9)置于试剂瓶中振摇,静置分层,除去上层正己烷,下层即为正己烷饱和甲醇乙腈溶液。

4.2.11 5 mmol/L 乙酸铵溶液(含 0.1%甲酸):准确称取 0.385 4g 乙酸铵(4.2.6),加入 800 mL 水溶解,加入 1 mL 甲酸(4.2.8),转移至 1 000 mL 容量瓶中,用水定容至刻度。

4.2.12 标准物质:秋水仙碱、秋水仙胺英文名称、CAS 号、分子式、结构式、相对分子质量见附录 A 中表 A.1,纯度不小于 95%。

4.2.13 标准储备液:准确称取适量各标准物质(4.2.12)分别置于 50 mL 容量瓶中,用无水乙醇(4.2.4)溶解并定容至刻度,分别配制成质量浓度为 100 mg/L 的标准储备液,于-18℃下保存,有效期 6 个月。

4.3 仪器设备

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

4.3.2 离心机:转速不低于 9 500 r/min。

4.3.3 电子天平:精度为 0.000 1 g 和 0.001 g。

4.3.4 涡旋混合器。

4.3.5 超声波清洗器。

4.3.6 有机系微孔滤膜:0.22 μm。

4.3.7 容量瓶:10 mL、50 mL、100 mL、1 000 mL。

4.3.8 具塞离心管:15 mL、50 mL。

4.4 试验步骤

4.4.1 样品溶液制备

4.4.1.1 水基、乳液、凝胶、粉基类样品的制备

称取 1 g(精确至 0.001 g)样品于 10 mL 容量瓶中,用正己烷饱和甲醇乙腈溶液(4.2.10)定容至刻度,涡旋混匀,超声提取 15 min;转移至 15 mL 具塞离心管中,以 9 500 r/min 离心 5 min,取上清液 5.0 mL 于 10 mL 容量瓶中,用水定容至刻度,混匀;取 5.0 mL 至 15 mL 离心管中,加入 5.0 mL 正己烷(4.2.5),涡旋,以 9 500 r/min 离心 5 min,弃去上层正己烷后,移取 1.0 mL 下层清液,过微孔滤膜(4.3.6),上机测定。

4.4.1.2 膏霜类样品的制备

称取 1 g(精确至 0.001 g)样品于 10 mL 容量瓶中,加入 0.2 g 乙酸铵(4.2.7),用正己烷饱和甲醇乙腈溶液(4.2.10)定容至刻度,涡旋混匀,超声提取 15 min;转移至 15 mL 具塞离心管中,以 9 500 r/min 离心 5 min,取上清液 5.0 mL 于 10 mL 容量瓶中,用水定容至刻度,混匀;取 5.0 mL 至 15 mL 离心管中,加入 5.0 mL 正己烷(4.2.5),涡旋,以 9 500 r/min 离心 5 min,弃去上层正己烷后,移取 1.0 mL 下层清液,过微孔滤膜(4.3.6),上机测定。

4.4.1.3 蜡基类样品的制备

称取 1 g(精确至 0.001 g)样品于 50 mL 具塞离心管中,准确加入 5 mL 正己烷(4.2.5),涡旋均匀后准确加入 10 mL 正己烷饱和甲醇乙腈溶液(4.2.10),涡旋混匀,超声提取 15 min;以 9 500 r/min 离心 5 min,取下层清液 5.0 mL 于 10 mL 容量瓶中,用水定容至刻度,混匀;转移至 15 mL 具塞离心管中,以

9 500 r/min 离心 5 min,移取 1.0 mL 清液,过微孔滤膜(4.3.6),上机测定。

4.4.1.4 平行试验

平行做两份试验。

4.4.2 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(内径),1.7 μm,或其他效果等同的色谱柱;
- b) 流动相:A:5 mmol/L 乙酸铵溶液(含 0.1%甲酸)(4.2.11),B:甲醇(4.2.2);
- c) 流速:0.300 mL/min;
- d) 柱温:40 ℃;
- e) 进样量:5 μL;
- f) 梯度洗脱条件见表 1。

表 1 液相色谱流动相及参考分离条件

时间/min	A/%	B/%
0	90	10
6	5	95
6.5	90	10
10	90	10

4.4.3 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) 数据采集:多反应监测(MRM),质谱参数见表 2;
- c) 离子化温度:310 ℃;
- d) 辅助气流速:12 L/min;
- e) 喷雾器温度:330 ℃;
- f) 鞘气流速:40 L/min;
- g) 电喷雾电压:3 500 V;
- h) 碰撞气:氩气,1.5 mTorr。

注:1 Torr≈133 Pa。

表 2 化合物的母离子及定量定性离子、碰撞电压和射频电压

化合物名称	母离子 <i>m/z</i>	子离子 <i>m/z</i>	碰撞电压 V	射频电压 V
秋水仙胺	372.21	310.04 ^a	20	167
		341.11	16	167
秋水仙碱	400.21	358.11 ^a	21	185
		310.04	25	185
^a 定量离子。				

4.4.4 标准曲线的绘制

混合标准溶液的配制：分别准确移取 1 mL 标准储备液(4.2.13)至 100 mL 的容量瓶中，用甲醇溶液(4.2.2)定容至刻度，配制成质量浓度为 1 mg/L 的混合标准溶液，于-18℃下保存，有效期 1 个月。

取相近的空白样品，按照 4.4.1 步骤进行处理，用得到的空白样品提取液将混合标准溶液逐级稀释得到质量浓度为 0.500 μg/L、1.00 μg/L、3.00 μg/L、5.00 μg/L、10.0 μg/L 的秋水仙碱、秋水仙胺系列混合标准工作溶液，质量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，绘制标准工作曲线。

秋水仙碱及其衍生物秋水仙胺标准物质选择离子质量色谱图见附录 B 中图 B.1 和图 B.2。

4.4.5 试样测定

按照液相色谱和串联质谱参考条件(4.4.2 和 4.4.3)测定试样溶液(4.4.1)。如果试样中待测物质的色谱峰保留时间与标准溶液的一致(变化范围在±2.5%)，在扣除背景后的试样质谱图中所选择的离子均出现，而且选择离子的相对丰度与标准物质的进行比较，最大允许偏差不超过表 3 规定的范围，可判定为试样中含有对应的待测物。记录目标化合物定量离子色谱峰的峰面积，以外标法定量。试样溶液中被测物的响应值均应在标准曲线的线性范围之内，超过线性范围则应稀释后再进样测定。

表 3 定性确证时相对离子丰度的最大允许偏差

相对离子丰度 <i>K</i> /%	<i>K</i> >50	50≥ <i>K</i> >20	20≥ <i>K</i> >10	<i>K</i> ≤10
最大允许偏差/%	±20	±25	±30	±50

4.5 空白试验

除不称取样品外，均按 4.4.1~4.4.5 步骤进行测定。

5 试验数据处理

样品中待测组分含量按式(1)计算。

$$X_i = \frac{c_i \times V \times f \times 1\,000}{m \times 1\,000} \times k \dots\dots\dots (1)$$

式中：

X_i ——样品中待测组分含量，单位为微克每千克(μg/kg)；

- c_i ——由标准曲线得出的样品溶液中待测组分的质量浓度,单位为微克每升($\mu\text{g/L}$);
 - V ——定容体积,单位为毫升(mL);
 - f ——前处理过程中的稀释倍数,取值为 2;
 - 1 000 ——单位换算系数;
 - m ——样品质量,单位为克(g);
 - k ——超出线性范围时的稀释倍数。
- 计算结果保留三位有效数字。

6 回收率

在添加浓度 $10.0\ \mu\text{g/kg}\sim 100\ \mu\text{g/kg}$ 的范围内,回收率在 $71.6\%\sim 106\%$ 之间。

7 精密度

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

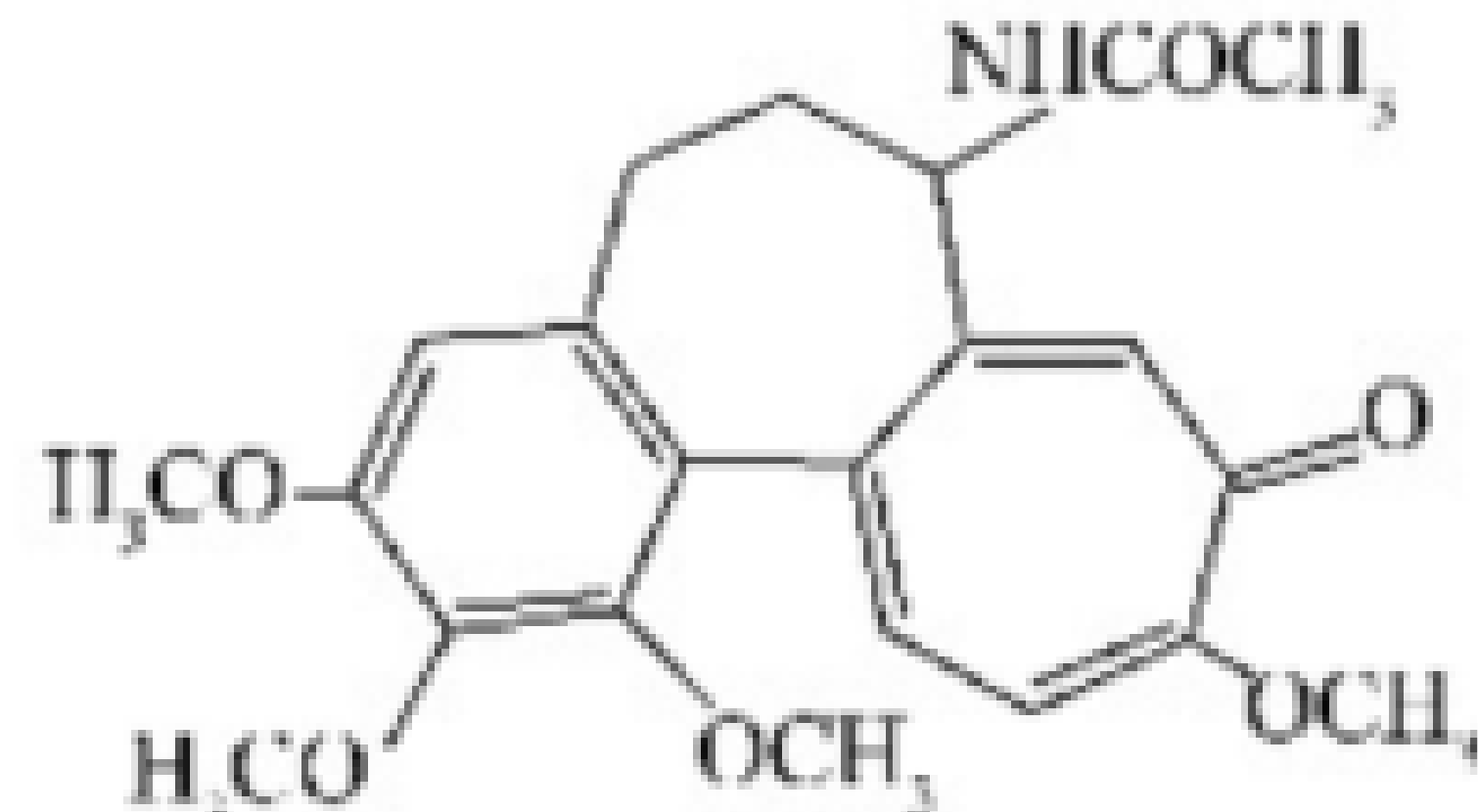
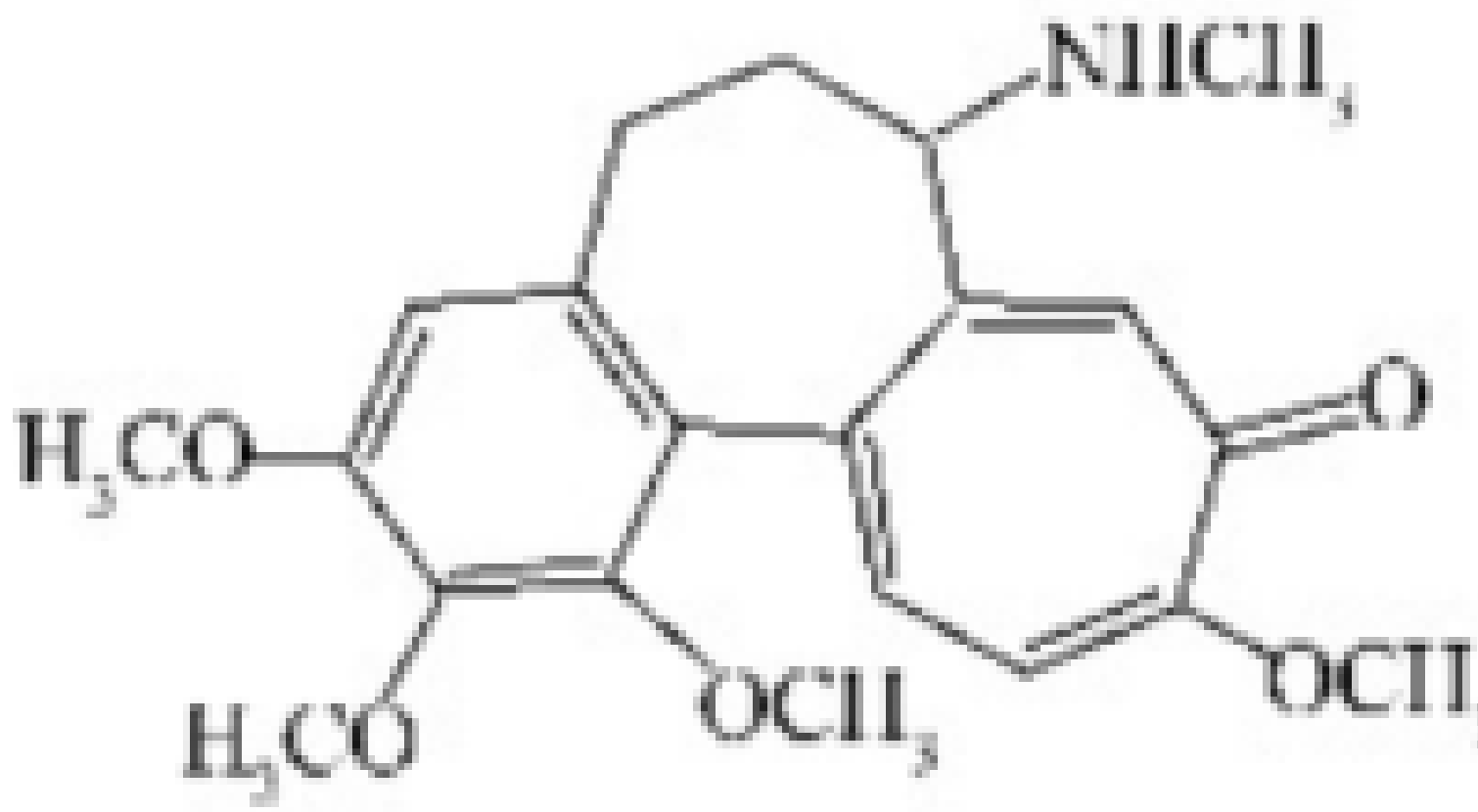
附录 A

(资料性)

秋水仙碱及其衍生物秋水仙胺标准物质的信息

秋水仙碱及其衍生物秋水仙胺的英文名称、CAS 号、分子式、结构式及相对分子质量见表 A.1。

表 A.1 秋水仙碱及其衍生物秋水仙胺标准物质的信息

序号	中文名称	英文名称	CAS 号	分子式	结构式	相对分子质量
1	秋水仙碱	Colchicine	64-86-8	$C_{22}H_{25}NO_6$		399.44
2	秋水仙胺	Demecolcine	477-30-5	$C_{21}H_{25}NO_5$		371.43

附 录 B

(资料性)

标准物质选择离子质量色谱图

秋水仙碱及其衍生物秋水仙胺标准物质选择离子质量色谱图见图 B.1 和图 B.2。

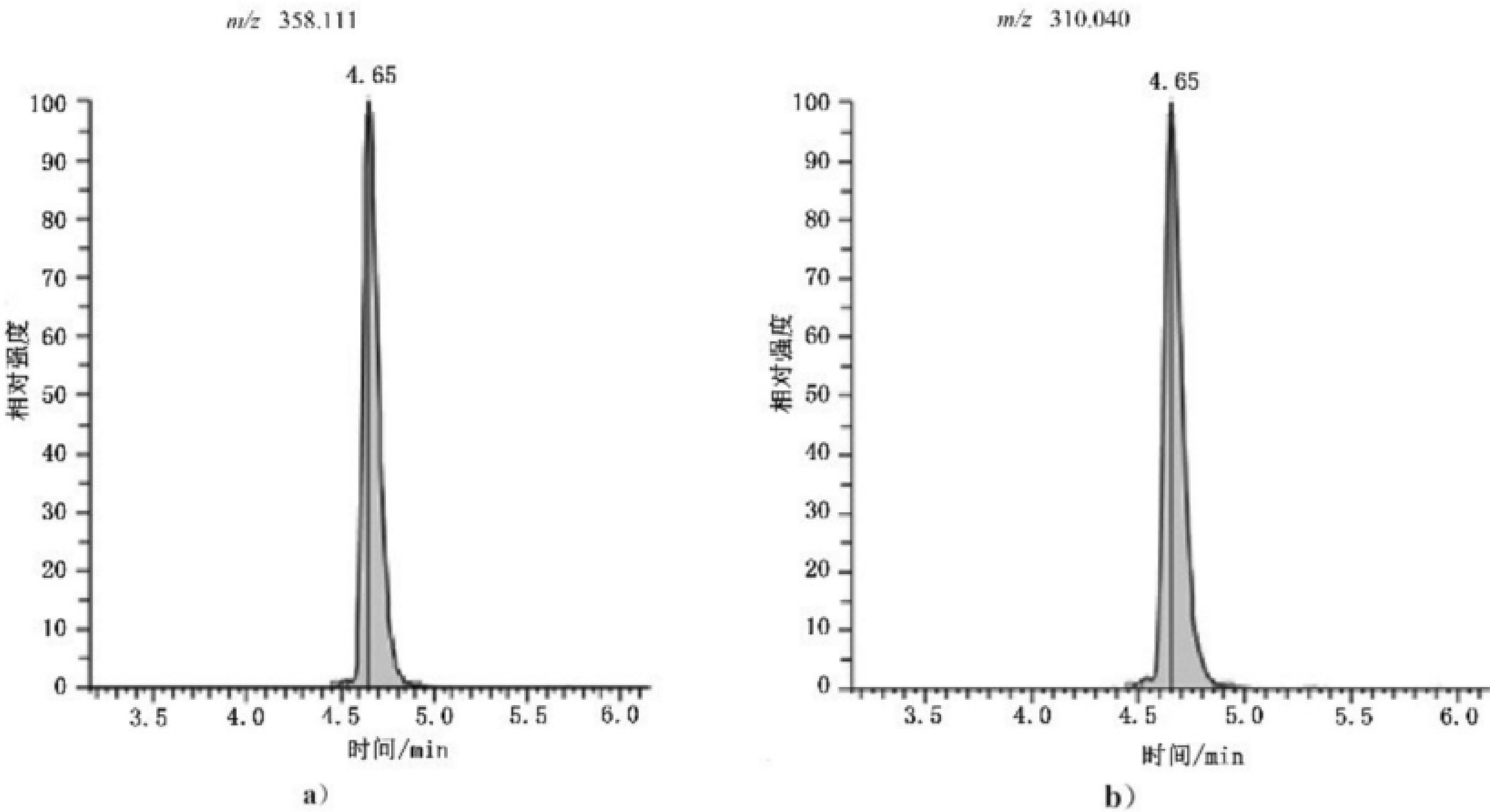


图 B.1 秋水仙碱标准物质选择离子质量色谱图

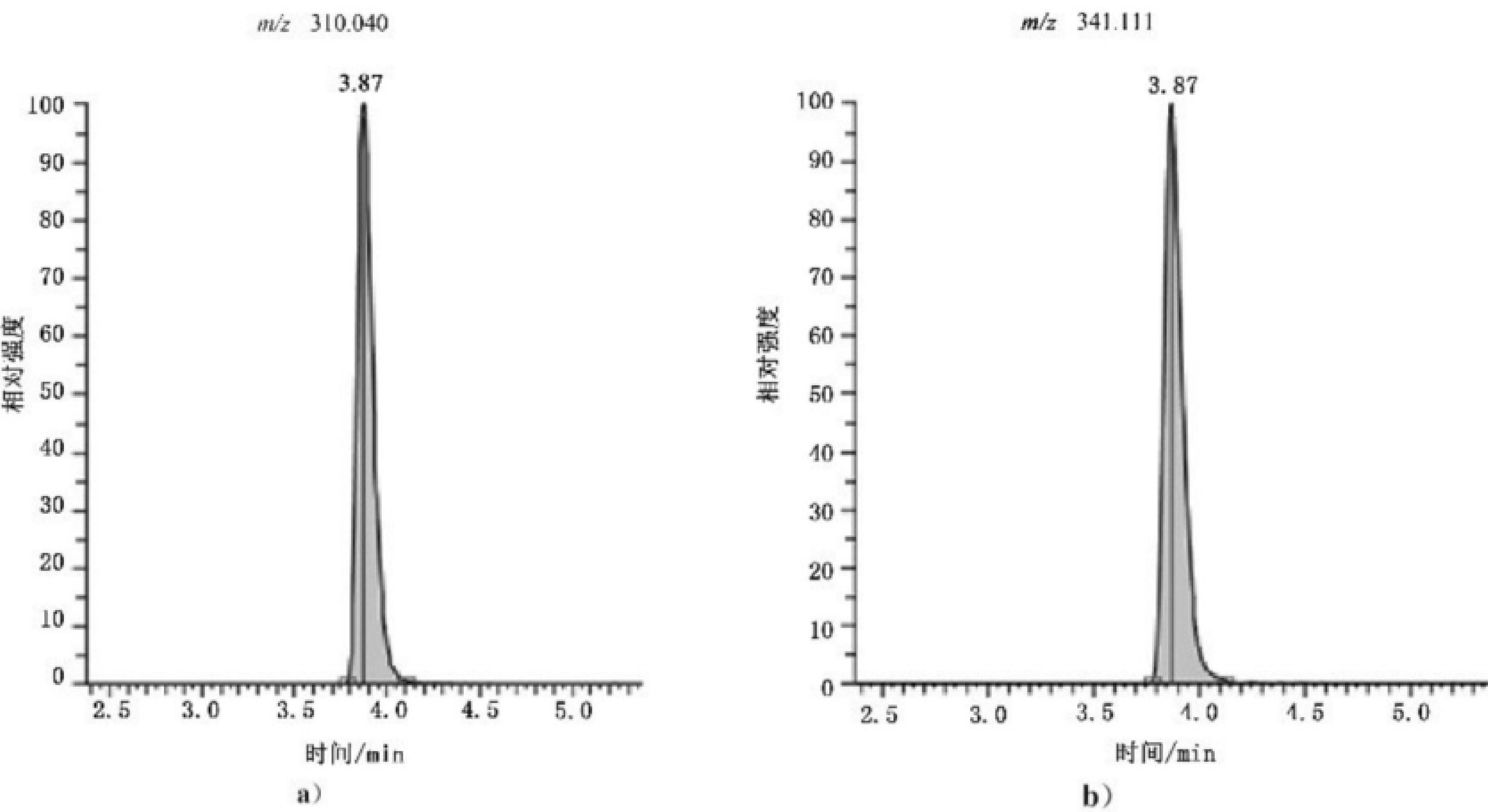


图 B.2 秋水仙胺标准物质选择离子质量色谱图