



中华人民共和国国家标准

GB/T XXXXX—XXXX

化妆品中地索奈德等十一种糖皮质激素的 测定 液相色谱/串联质谱法

Determination of 11 glucocorticoids including desonide in cosmetics by liquid chromatography tandem mass spectrometry

点击此处添加与国际标准一致性程度的标识

(征求意见稿)

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 实施

国家市场监督管理总局
国家标准化管理委员会 发布

前 言

本标准按照GB/T 1.1-2020给出的规则起草。

本标准由全国质量监管重点产品检验方法标准化技术委员会（SAC/TC374）提出并归口。

本标准起草单位：广州质量监督检测研究院***

本标准主要起草人：***

引 言

本标准的被测物质是我国《化妆品安全技术规范（2015年版）》规定的禁用物质。

禁用物质是指不能作为化妆品生产原料即组分添加到化妆品中的物质。《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，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，本标准仅对化妆品中测定这些物质提供检测方法。

化妆品中地索奈德等十一种糖皮质激素的测定

液相色谱/串联质谱法

1 范围

本标准规定了化妆品中地索奈德、16 α -羟基泼尼松龙、16 α -羟基泼尼松龙醋酸酯、二氟拉松、氟轻松、去羟米松、帕拉米松醋酸酯、地索奈德-21-醋酸酯、甲基泼尼松龙醋酸丙酸酯、卤倍他索丙酸酯和倍他米松丁酸丙酸酯11种糖皮质激素的液相色谱/串联质谱测定方法的原理、试剂和材料、仪器设备、测定步骤、回收率与精密度、允许差等内容。

本标准适用于化妆品中地索奈德等11种糖皮质激素的测定。

本标准的方法检出限为0.03 $\mu\text{g/g}$ ，定量限为0.1 $\mu\text{g/g}$ 。

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，仅所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 原理

液态油基类化妆品用正己烷分散，70%乙腈水溶液提取，其他类化妆品用乙腈提取，采用液相色谱/串联质谱法测定，标准曲线法定量，必要时采用标准加入法定量。

4 试剂和材料

4.1 水：GB/T 6682 规定的一级水。

4.2 甲醇：色谱纯。

4.3 乙腈：色谱纯。

4.4 甲酸：色谱纯。

4.5 正己烷：分析纯。

4.6 50%乙腈水溶液：准确量取 500 mL 乙腈（4.3）和 500 mL 水，混匀后备用。

4.7 70%乙腈水溶液：准确量取 700 mL 乙腈（4.3）和 300 mL 水，混匀后备用。

4.8 0.1%甲酸水溶液：准确移取 1 mL 甲酸（4.4）至 1 000 mL 容量瓶中，用水定容至刻度。

4.9 标准物质：纯度均不小于 95%。地索奈德等 11 种糖皮质激素标准物质的中文名称、英文名称、CAS 号、分子式、结构式及相对分子质量参见附录 A 表 A.1。

4.10 标准储备溶液（1 mg/mL）：准确称取适量各标准物质（4.9），分别用甲醇（4.2）溶解并定容至 10.0 mL，于-18 $^{\circ}\text{C}$ 下冷冻保存，有效期为三个月。

4.11 混合标准储备溶液：分别准确移取标准储备溶液（4.10）1.0 mL 于 100 mL 容量瓶中，用乙腈（4.3）定容，配制成浓度为 10 $\mu\text{g/mL}$ 的混合标准储备溶液，于-18 $^{\circ}\text{C}$ 下冷冻保存，有效期为一个月。

5 仪器设备

- 5.1 液相色谱-三重四极杆质谱联用仪 (LC-MS/MS)： 配电喷雾离子源 (ESI)。
- 5.2 分析天平：感量为 0.000 1 g, 0.000 01 g。
- 5.3 涡旋振荡器。
- 5.4 超声波清洗仪。
- 5.5 离心机：转速不低于 10 000 r/min。
- 5.6 氮吹仪。

6 测定步骤

6.1 混合标准系列溶液的制备

取适量混合标准储备溶液 (4.11)，分别用乙腈 (4.3) 配制成浓度为 0.4 $\mu\text{g/mL}$ 、1.2 $\mu\text{g/mL}$ 、2 $\mu\text{g/mL}$ 、4 $\mu\text{g/mL}$ 、10 $\mu\text{g/mL}$ 的混合标准系列溶液。

6.2 样品溶液的制备

6.2.1 液态油基类化妆品

称取试样约 0.2 g (精确至 0.0001 g) 于 10 mL 塑料离心管中，加入 2 mL 正己烷 (4.5)，涡旋分散均匀后，加入 3 mL 70% 乙腈水溶液 (4.7)，涡旋振荡 2 min，以 10 000 r/min 离心 5 min，吸出下层溶液至 10 mL 比色管中，上层正己烷用 3 mL 70% 乙腈水溶液 (4.7) 重复提取一次，合并两次提取液，加 50% 乙腈水溶液 (4.6) 定容至刻度，混匀，取适量溶液经 0.22 μm 有机滤膜过滤，滤液作为待测溶液，24 h 内完成测定。

6.2.2 其他类化妆品

称取试样约 0.2 g (精确至 0.0001 g) 于 10 mL 比色管中，加入少许乙腈 (4.3)，涡旋分散均匀后，用乙腈 (4.3) 定容至刻度，涡旋 30 s，超声提取 20 min，取适量样液至塑料离心管中，以 10 000 r/min 离心 5 min，取 1 mL 上清液经氮气吹至近干，用 1 mL 50% 乙腈水溶液 (4.6) 复溶，经 0.22 μm 有机滤膜过滤，滤液作为待测溶液，24 h 内完成测定。

6.3 基质标准系列溶液的制备

称取与待测样品基质类型相近的空白样品 5 份，分别加入 50 μL 混合标准系列溶液 (6.1)，按“6.2”进行处理，得到浓度为 2 $\mu\text{g/L}$ 、6 $\mu\text{g/L}$ 、10 $\mu\text{g/L}$ 、20 $\mu\text{g/L}$ 、50 $\mu\text{g/L}$ 的基质标准系列溶液。

6.4 测定条件

6.4.1 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 \times 2.1 mm (内径)，1.7 μm ，或相当者；
- b) 流动相：A：0.1% 甲酸水溶液，B：乙腈，梯度洗脱，梯度洗脱程序见表 1；
- c) 柱温：30 $^{\circ}\text{C}$ ；
- d) 进样体积：3 μL ；

表1 液相色谱梯度洗脱程序

时间 min	流速 mL/min	流动相A %	流动相B %
0	0.3	80	20
1	0.3	80	20
6	0.3	45	55
11	0.3	35	65
11.1	0.3	5	95
13	0.3	5	95
13.1	0.3	80	20
16	0.3	80	20

6.4.2 质谱参考条件

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：5 000 V；
- c) 干燥气压力：0.45 MPa；
- d) 气帘气压力：0.2 MPa；
- e) 碰撞气压力：0.06 MPa；
- f) 离子源温度：550 °C；
- g) 监测方式：多反应监测（MRM）模式，11种糖皮质激素的质谱参数见表2。

表2 11种糖皮质激素的质谱参数

序号	化合物名称	母离子 <i>m/z</i>	去簇电压 V	子离子 <i>m/z</i>	碰撞电压 V
1	16 α -羟基泼尼松龙	377.1	80	359.1*	14
				323.1	14
2	16 α -羟基泼尼松龙醋酸酯	419.2	80	401.2*	14
				323.3	17
3	二氟拉松	411.2	100	121.1*	43
				277.2	24
4	地索奈德	417.1	150	399.2*	16
				323.1	18
5	氟轻松	453.2	120	337.1*	20
				433.1	14
6	去羟米松	377.2	130	357.2*	12
				339.2	17

表2 11种糖皮质激素的质谱参数(续)

序号	化合物名称	母离子 <i>m/z</i>	去簇电压 V	子离子 <i>m/z</i>	碰撞电压 V
7	帕拉米松醋酸酯	435.1	80	319.1*	17
				337.1	16
8	地索奈德-21-醋酸酯	459.2	120	441.2*	15
				323.1	19
9	甲基泼尼松龙醋酸丙酸酯	473.3	150	455.2*	12
				381.2	13
10	卤倍他索丙酸酯	485.2	100	353.1*	18
				261.1	22
11	倍他米松丁酸丙酸酯	519.3	170	411.2*	15
				279.1	25

注：*表示定量离子。

6.5 定性测定

取样品溶液与标准溶液在相同试验条件下测定,样品溶液中待测物质的保留时间与标准溶液中对应组分的保留时间一致(偏差在 $\pm 2.5\%$ 之内),定性离子的相对丰度与浓度接近的标准溶液中对应组分的定性离子的相对丰度进行比较,偏差不超过表3规定的范围,即可判定样品中存在该组分。

11种糖皮质激素的总离子流及提取离子色谱图参见附录B中的图B.1。

表3 定性确证时相对离子丰度的允许偏差

相对离子丰度 <i>k</i> (%)	$k > 50$	$50 \geq k > 20$	$20 \geq k > 10$	$k \leq 10$
允许的最大偏差 (%)	± 20	± 25	± 30	± 50

6.6 定量测定

6.6.1 标准曲线法

取样品溶液与系列基质标准溶液在相同试验条件下测定,以标准溶液浓度为横坐标,对应的峰面积为纵坐标,绘制基质校准曲线,根据峰面积对应校准曲线上的溶液浓度定量。样品溶液中各组分的响应值应在校准曲线的线性范围内,超过线性范围则应稀释再进样测定。

6.6.2 标准加入法

如未能找到与待测样品基质类型相近的空白样品,则采用标准加入法定量:取待测样品6份,向其中5份样品分别加入50 μL 混合标准系列溶液(6.1),按“6.2”进行处理,得到添加浓度为0 $\mu\text{g/L}$ 、2 $\mu\text{g/L}$ 、6 $\mu\text{g/L}$ 、10 $\mu\text{g/L}$ 、20 $\mu\text{g/L}$ 、50 $\mu\text{g/L}$ 样品加标系列溶液。将样品加标系列溶液在“6.4”试验条件下测定,以添加浓度为横坐标,对应的峰面积为纵坐标,绘制校准曲线,由校准曲线与横坐标的截距,可得出样品溶液中待测组分的浓度。

6.7 结果计算

样品中糖皮质激素的含量按式（1）计算获得：

$$X_i = \frac{c_i \times V \times f}{1000 \times m} \dots\dots\dots(1)$$

式中：

X_i —— 样品中某种组分的含量，单位为微克每克（ $\mu\text{g/g}$ ）；

c_i —— 由校准曲线得出的样品溶液中某种组分的浓度，单位为微克每升（ $\mu\text{g/L}$ ）；

V —— 样液定容体积，单位为毫升（ mL ）；

m —— 样品取样量，单位为克（ g ）；

f —— 稀释倍数。

7 回收率和精密度

在添加浓度为 $0.1 \mu\text{g/g}$ ~ $2.5 \mu\text{g/g}$ 的浓度范围内，标准曲线法的回收率在 80.8% ~ 119.2% 之间，相对标准偏差小于 9.9% 。

8 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)

11 种糖皮质激素标准物质的信息

11 种糖皮质激素中文名称、英文名称、CAS 号、分子式、结构式及相对分子质量参见表 A.1

表A.1 11 种糖皮质激素中文名称、英文名称、CAS 号、分子式、结构式及相对分子质量

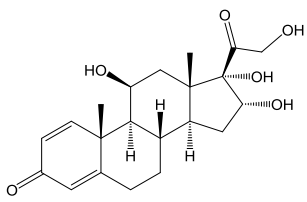
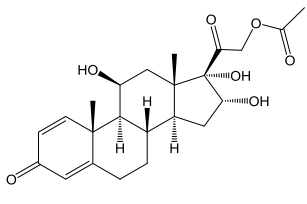
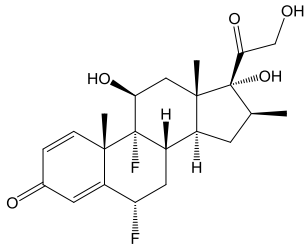
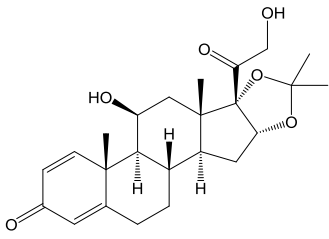
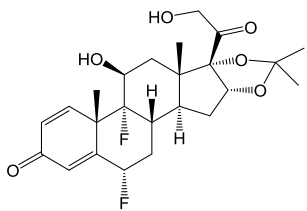
序号	中文名称	英文名称	CAS 号	分子式	结构式	相对分子质量
1	16 α -羟基泼尼松龙	16 α -Hydroxy-prednisolone	13951-70-7	C ₂₁ H ₂₈ O ₆		376.44
2	16 α -羟基泼尼松龙醋酸酯	16 α -Hydroxy-prednisolone acetate	86401-80-1	C ₂₃ H ₃₀ O ₇		418.48
3	二氟拉松	Diflorasone	2557-49-5	C ₂₂ H ₂₈ F ₂ O ₅		410.45
4	地索奈德	Desonide	638-94-8	C ₂₄ H ₃₂ O ₆		416.51
5	氟轻松	Fluocinolone acetonide	67-73-2	C ₂₄ H ₃₀ F ₂ O ₆		452.49

表 A.1 11 种糖皮质激素中文名称、英文名称、CAS 号、分子式、结构式及相对分子质量 (续)

序号	中文名称	英文名称	CAS 号	分子式	结构式	相对分子质量
6	去羟米松	Desoximetasone	382-67-2	$C_{22}H_{29}FO_4$		376.46
7	帕拉米松醋酸酯	Paramethasone acetate	1597-82-6	$C_{24}H_{31}FO_6$		434.50
8	地索奈德-21-醋酸酯	Desonide 21-Acetate	25092-25-5	$C_{26}H_{34}O_7$		458.54
9	甲基泼尼松龙醋酸丙酸酯	Methylprednisolone aceponate	86401-95-8	$C_{27}H_{36}O_7$		472.57
10	卤倍他索丙酸酯	Halobetasol propionate	66852-54-8	$C_{25}H_{31}ClF_2O_5$		484.96
11	倍他米松丁酸丙酸酯	Betamethasone butyrate propionate	5534-02-1	$C_{29}H_{39}FO_7$		518.61

附录 B
(资料性附录)

11 种糖皮质激素标准物质的总离子流色谱图及提取离子色谱图

11种糖皮质激素标准物质的总离子流色谱图及提取离子色谱图参见图B.1

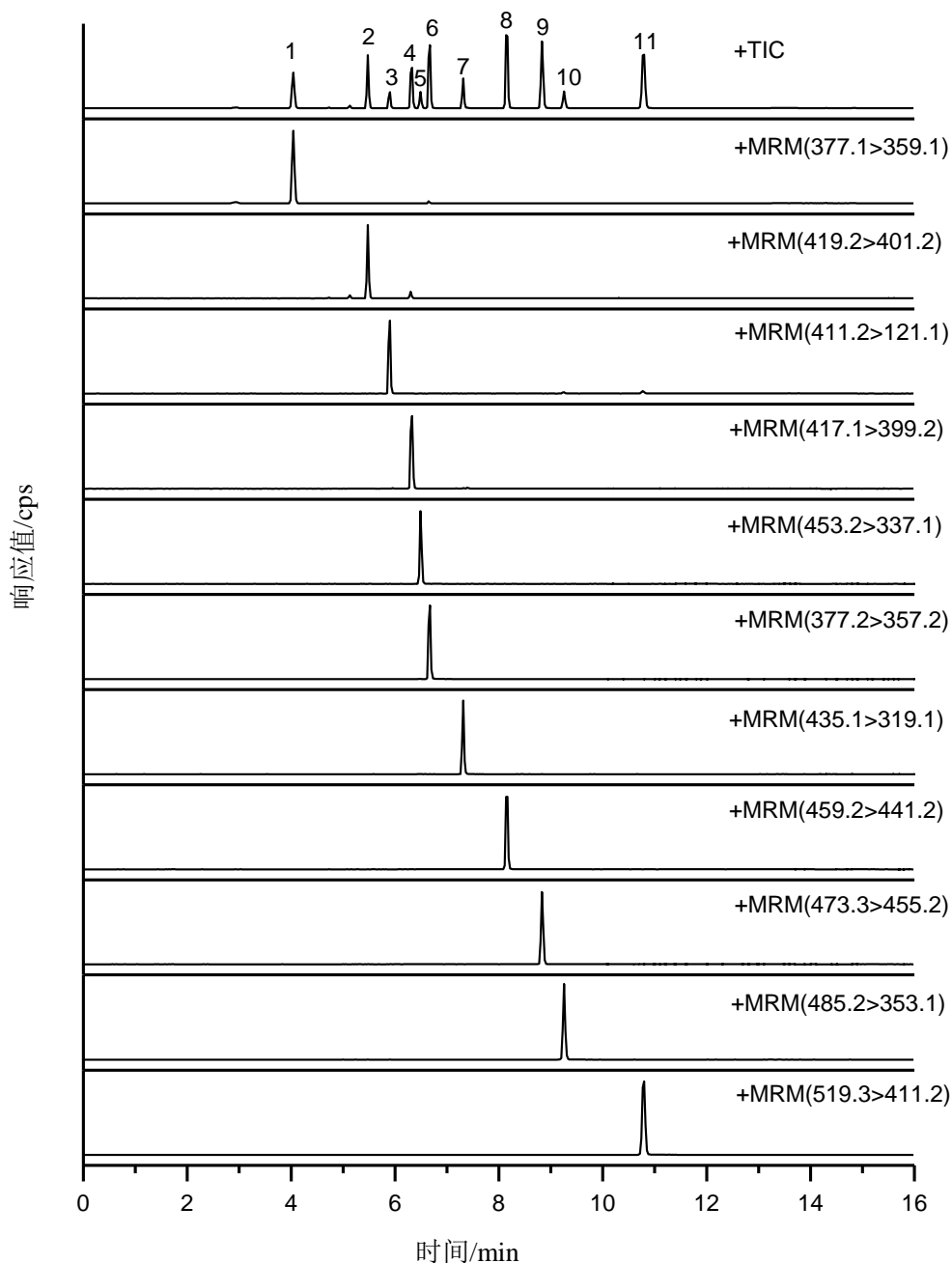


图 B.1 11 种糖皮质激素标准物质的总离子流色谱图及提取离子色谱图 (1: 16 α -羟基泼尼松龙; 2: 16 α -羟基泼尼松龙醋酸酯; 3: 二氟拉松; 4: 地索奈德; 5: 氟轻松; 6: 去羟米松; 7: 帕拉米松醋酸酯; 8: 地索奈德-21-醋酸酯; 9: 甲基泼尼松龙醋酸丙酸酯; 10: 卤倍他索丙酸酯; 11: 倍他米松丁酸丙酸酯。)