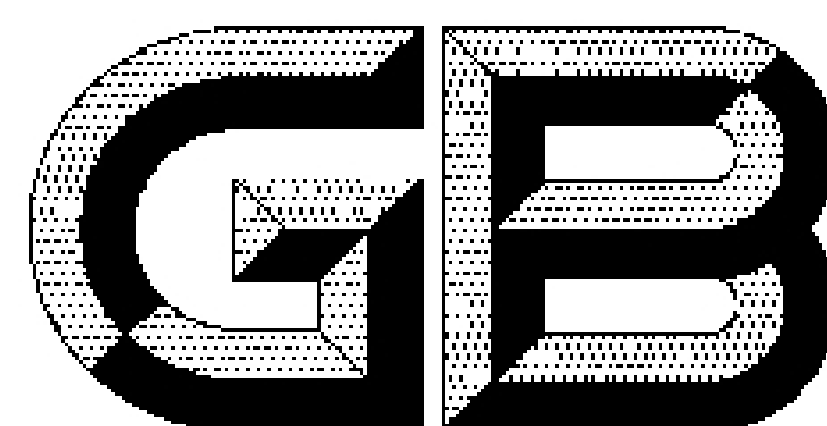




中华人民共和国国家标准

GB/T 40145—2021

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—
Liquid chromatography-tandem mass spectrometry

2021-05-21 发布

2021-12-01 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。

本文件由全国质量监管重点产品检验方法标准化技术委员会(SAC/TC 374)提出并归口。

本文件起草单位：广州质量监督检测研究院、深圳市药品检验研究院、中检华纳(北京)质量技术中心有限公司、华纳通标(北京)认证有限公司、御家汇股份有限公司、欧诗漫生物股份有限公司、广州市科能化妆品科研有限公司、无限极(中国)有限公司、广东立创检测技术服务有限公司、广东丸美生物技术股份有限公司、广州锦同生物科技有限公司、中检联盟(北京)质检技术研究院有限公司。

本文件主要起草人：谭建华、熊小婷、张高飞、王继才、陈意光、夏泽敏、梁文耀、邱颖姮、王亚茹、李慧勇、席绍峰、吴玉鑫、孟杰、李传茂、戴跃锋、王菁、孙红梅、孔令超、林盛杰、罗志焕、孙云起、张庆、李华真、陈冬阳。



引 言

本文件的被测物质是我国《化妆品安全技术规范》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》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，本文件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

本文件规定了液相色谱/串联质谱法测定化妆品中地索奈德、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十一种糖皮质激素的原理、试剂和材料、仪器设备、测定步骤、结果计算、回收率与精密度等内容。

本文件适用于水剂、乳液、膏霜(蜡基类除外)、精油类化妆品。

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

GB/T 24800.2—2009 化妆品中四十一一种糖皮质激素的测定 液相色谱/串联质谱法和薄层层析法

3 术语和定义

GB/T 24800.2—2009 界定的术语和定义适用于本文件。

4 原理

精油类化妆品用正己烷分散,70%乙腈水溶液提取,水剂、乳液、膏霜类化妆品用乙腈提取,经液相色谱/串联质谱仪测定,外标法定量。

5 试剂和材料

除非另有说明,仅使用色谱纯试剂。

- 5.1 水,GB/T 6682,一级。
- 5.2 甲醇。
- 5.3 乙腈。
- 5.4 甲酸。
- 5.5 正己烷:分析纯。
- 5.6 50%乙腈水溶液:准确量取 500 mL 乙腈(5.3)和 500 mL 水,混匀后备用。
- 5.7 70%乙腈水溶液:准确量取 700 mL 乙腈(5.3)和 300 mL 水,混匀后备用。
- 5.8 0.1%甲酸水溶液:准确移取 1 mL 甲酸(5.4)至 1 000 mL 容量瓶中,用水定容至刻度。

5.9 对照物质:纯度均大于或等于 95%。地索奈德等十一种糖皮质激素的相关信息参见附录 A 的表 A.1。

5.10 标准储备溶液,1.0 mg/mL:准确称取适量各对照物质(5.9),分别用甲醇(5.2)溶解并定容至 10.0 mL,于-18 °C 下冷冻保存。

5.11 混合标准储备溶液:分别准确移取标准储备溶液(5.10)1.0 mL 于 100 mL 容量瓶中,用乙腈(5.3)定容,配制成质量浓度为 10.0 µg/mL 的混合标准储备溶液,于-18 °C 下冷冻保存。

5.12 混合标准中间溶液:取适量混合标准储备溶液(5.11),分别用乙腈(5.3)配制成质量浓度为 0.4 µg/mL、0.8 µg/mL、2.0 µg/mL、4.0 µg/mL、10.0 µg/mL 的混合标准中间溶液,现配现用。

5.13 有机滤膜:孔径 0.22 µm。

6 仪器设备

6.1 液相色谱-三重四极杆质谱联用仪(LC-MS/MS):带电喷雾离子源(ESI)。

6.2 分析天平:感量为 0.001 g、0.000 1 g。

6.3 涡旋振荡器。

6.4 超声波清洗仪:功率不低于 250 W。

6.5 离心机:转速不低于 10 000 r/min。

6.6 氮吹仪。

7 测定步骤

7.1 试样制备

7.1.1 精油类化妆品

称取试样约 0.2 g(精确至 0.001 g)于 10 mL 塑料离心管中,加入 2 mL 正己烷(5.5),涡旋分散均匀后,加入 3 mL 70%乙腈水溶液(5.7),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(5.7)重复提取一次,合并两次提取液,加 50%乙腈水溶液(5.6)定容至刻度,混匀,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。

7.1.2 水剂、乳液、膏霜类化妆品

称取试样约 0.2 g(精确至 0.001 g)于 10 mL 比色管中,加入少许乙腈(5.3),涡旋分散均匀后,然后加入乙腈(5.3)至近刻度,超声提取 20 min,静置冷却至室温,用乙腈(5.3)定容至刻度,涡旋 30 s,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(5.6)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。

7.2 测定条件

7.2.1 液相色谱条件

由于不同设备存在差异,不能给出液相色谱仪的统一条件,以下条件经验证是适宜的:

- 色谱柱:C₁₈柱,100 mm × 2.1 mm(内径),1.7 µm,或相当者;
- 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;
- 柱温:30 °C;
- 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

7.2.2 质谱条件

由于不同设备存在差异,不能给出质谱仪的统一条件,以下条件经验证是适宜的:

- 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 ℃;
- g) 扫描模式:多反应监测(MRM)模式,十一种糖皮质激素的质谱参数见表 2。

表 2 十一种糖皮质激素的质谱参数

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

表 2 十一种糖皮质激素的质谱参数 (续)

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

7.3 定性测定

7.3.1 标准工作溶液的制备

分别准确移取 50 μL 混合标准中间溶液(5.12)于 10 mL 容量瓶中,用 50%乙腈水溶液(5.6)定容,得到质量浓度为 2.0 $\mu\text{g/L}$ 、4.0 $\mu\text{g/L}$ 、10.0 $\mu\text{g/L}$ 、20.0 $\mu\text{g/L}$ 、50.0 $\mu\text{g/L}$ 的标准工作溶液。

7.3.2 定性测试步骤

取试样溶液与标准工作溶液在相同试验条件下测定,试样溶液中待测组分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),且定性离子的相对丰度与浓度接近的标准溶液中对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,即可判定试样中存在该组分。

十一种糖皮质激素对照物质的总离子流色谱图及 LC-MS/MS 多反应监测质量色谱图参见附录 B 的图 B.1 和图 B.2。

表 3 定性确证时相对离子丰度的允许偏差

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

7.4 定量测定

7.4.1 基质标准工作溶液的制备

称取与待测试样基质类型相近的空白样品 5 份,分别加入 50 μL 混合标准中间溶液(5.12),按 7.1

进行处理,得到质量浓度为 2.0 μg/L、4.0 μg/L、10.0 μg/L、20.0 μg/L、50.0 μg/L 的基质标准工作溶液。

7.4.2 定量测试步骤

取试样溶液与基质标准工作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。试样溶液中待测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后测定。

注：因稀释可能导致基质效应的变化,基质标准工作溶液可根据试样溶液的稀释比例重新制备并测定。

如未能找到与待测试样基质类型相近的空白样品,则可采用标准加入法定量:取待测试样 6 份,向其中 5 份试样分别加入 50 μL 混合标准中间溶液(5.12),按 7.1 进行处理,得到添加浓度为 0 μg/L、2.0 μg/L、4.0 μg/L、10.0 μg/L、20.0 μg/L、50.0 μg/L 试样加标溶液。将试样加标溶液在 7.2 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,可得出试样溶液中待测组分的浓度。

7.5 空白试验

除不加入试样外,均按 7.1~7.4 进行测定。

7.6 检出限和定量限

本文件的方法检出限为 0.03 μg/g,定量限为 0.1 μg/g。

8 结果计算

试样中糖皮质激素的含量按式(1)计算获得：

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

式中：

- X_i ——试样中待测组分的含量,单位为微克每克(μg/g)；
- ρ_i ——由校准曲线得出的试样溶液中待测组分的质量浓度,单位为微克每升(μg/L)；
- V ——样液定容体积,单位为毫升(mL)；
- f ——稀释倍数；
- m ——称取试样的质量,单位为克(g)。

计算结果精确至小数点后一位。

9 回收率与精密度

待测组分在添加浓度为 0.1 μg/g~2.5 μg/g 的范围内,回收率为 80.8%~119.2%,相对标准偏差小于 9.9%。

附 录 A
(资料性)

十一种糖皮质激素对照物质的信息

十一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见表 A.1。

表 A.1 十一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

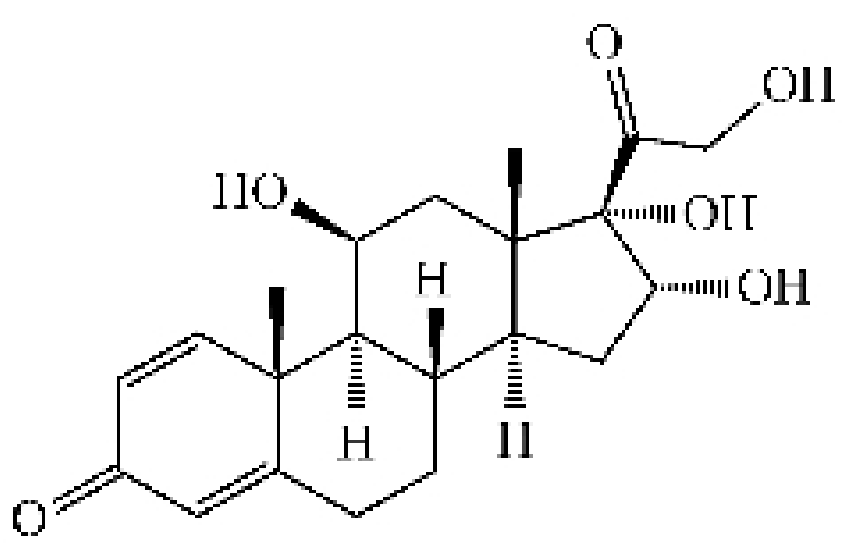
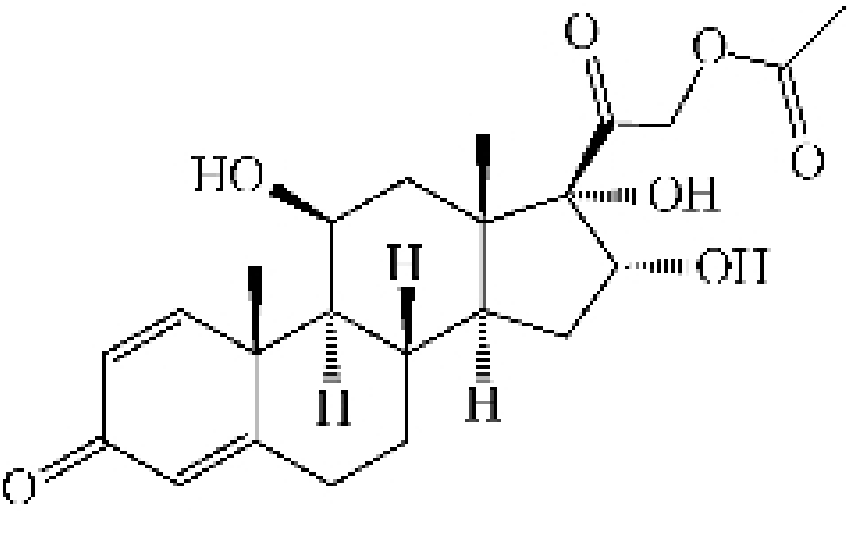
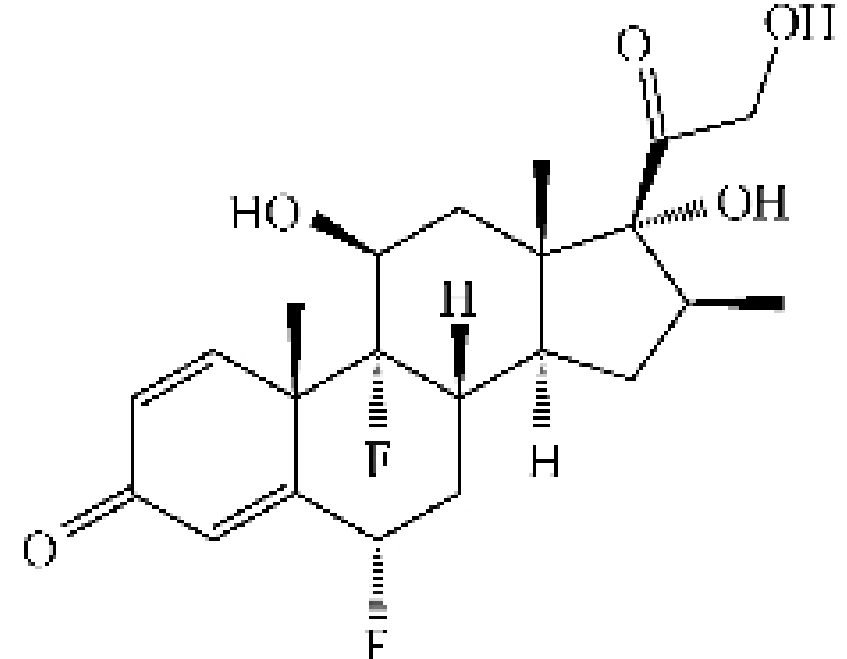
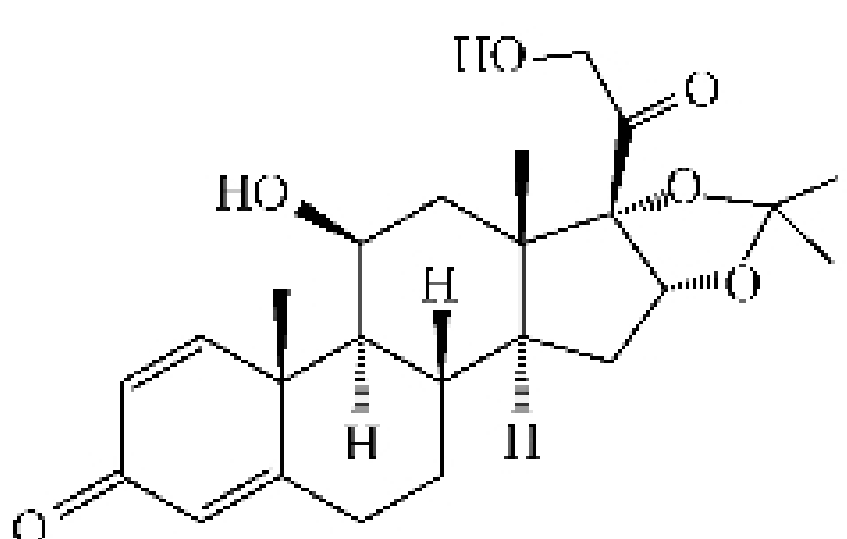
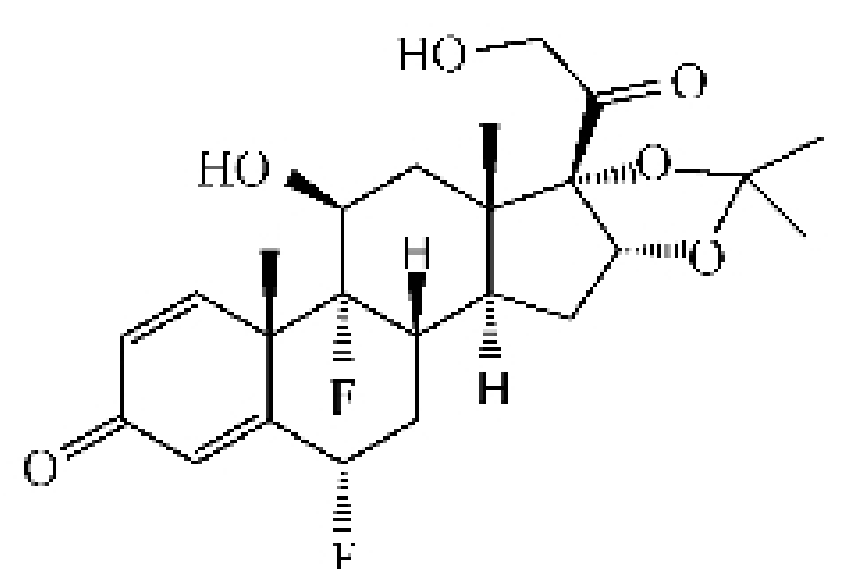
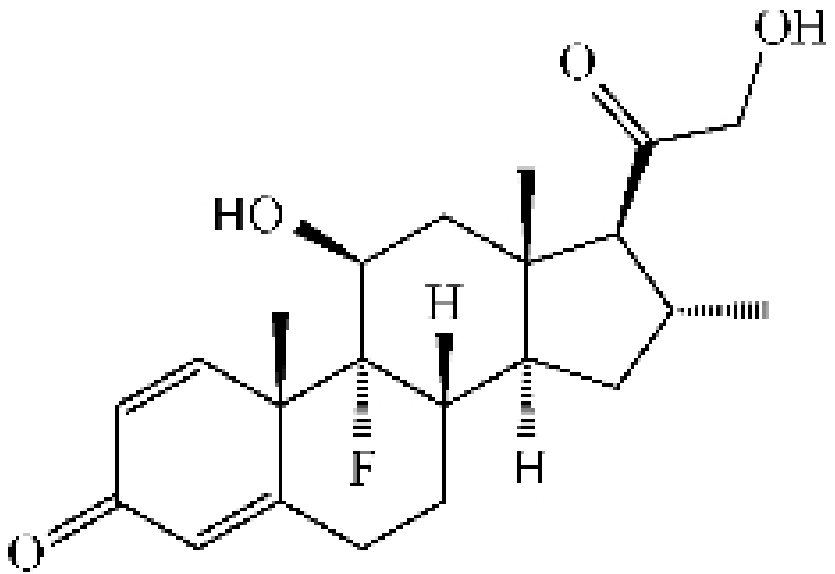
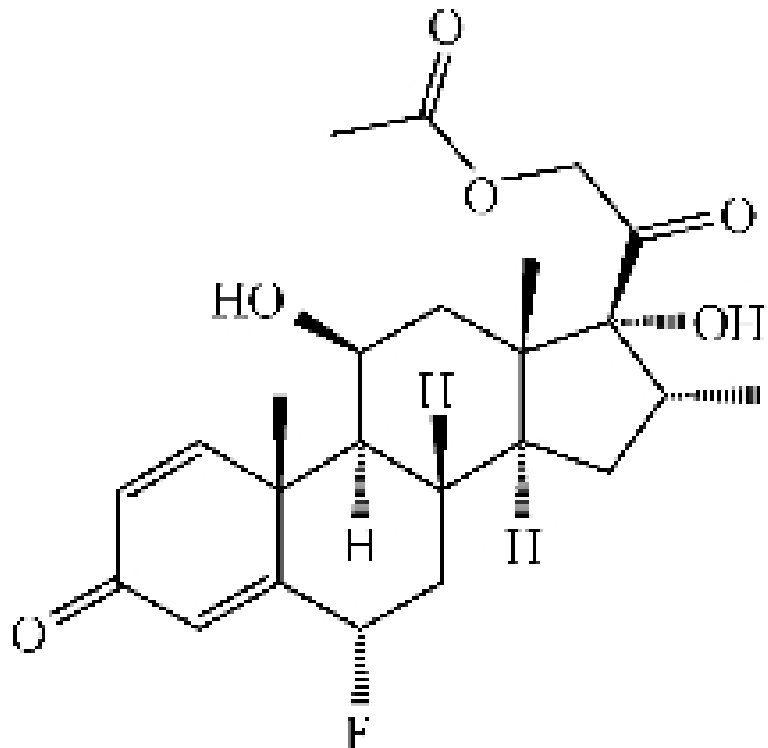
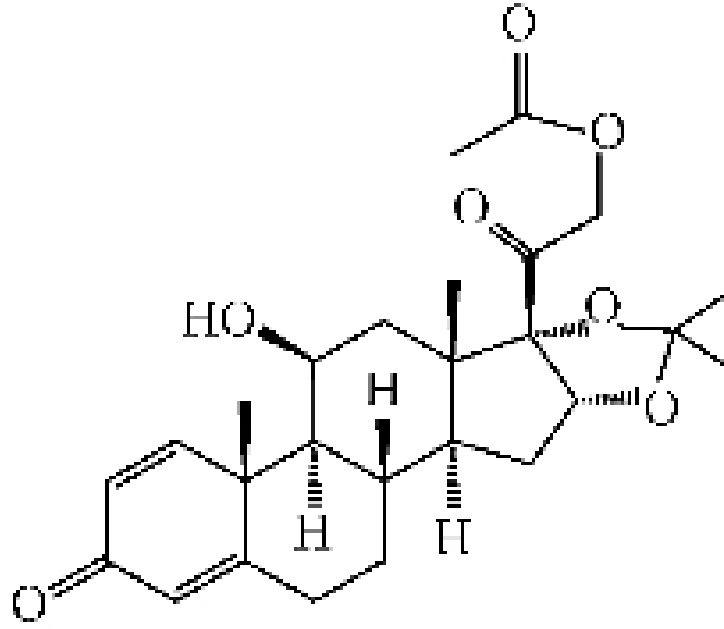
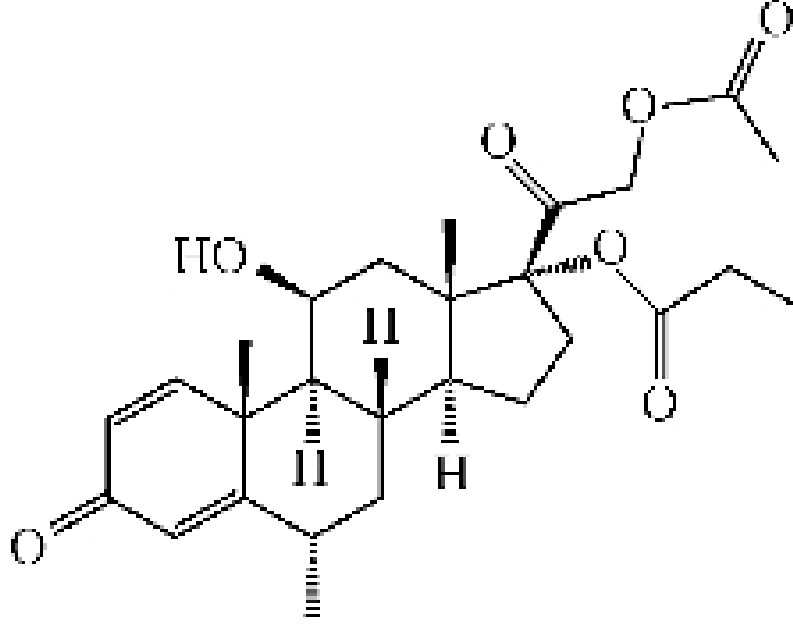
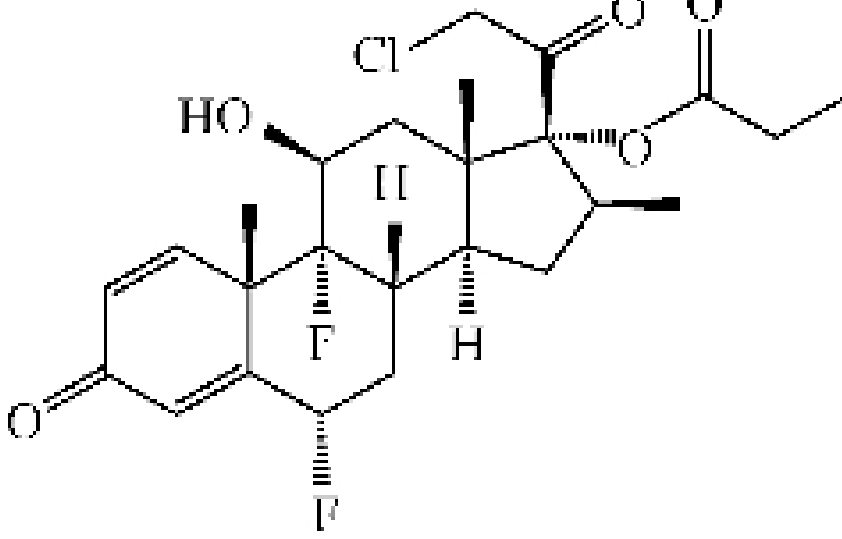
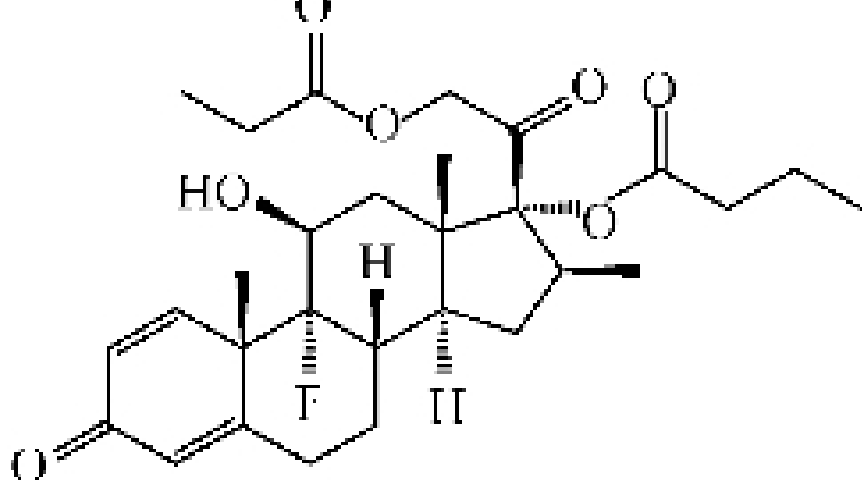
序号	中文名称	英文名称	CAS 号	分子式	结构式	相对分子质量
1	16 α -羟基泼尼松龙	16 α -Hydroxy-prednisolone	13951-70-7	C ₂₁ H ₂₈ O ₆		376.44
2	16 α -羟基泼尼松龙醋酸酯	16 α -Hydroxy-prednisonlone acetate	86401-80-1	C ₂₃ H ₃₀ O ₇		418.48
3	二氟拉松	Diflorasone	2557-49-5	C ₂₂ H ₂₈ F ₂ O ₅		410.45
4	地索奈德	Desonide	638-94-8	C ₂₄ H ₃₂ O ₆		416.51
5	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

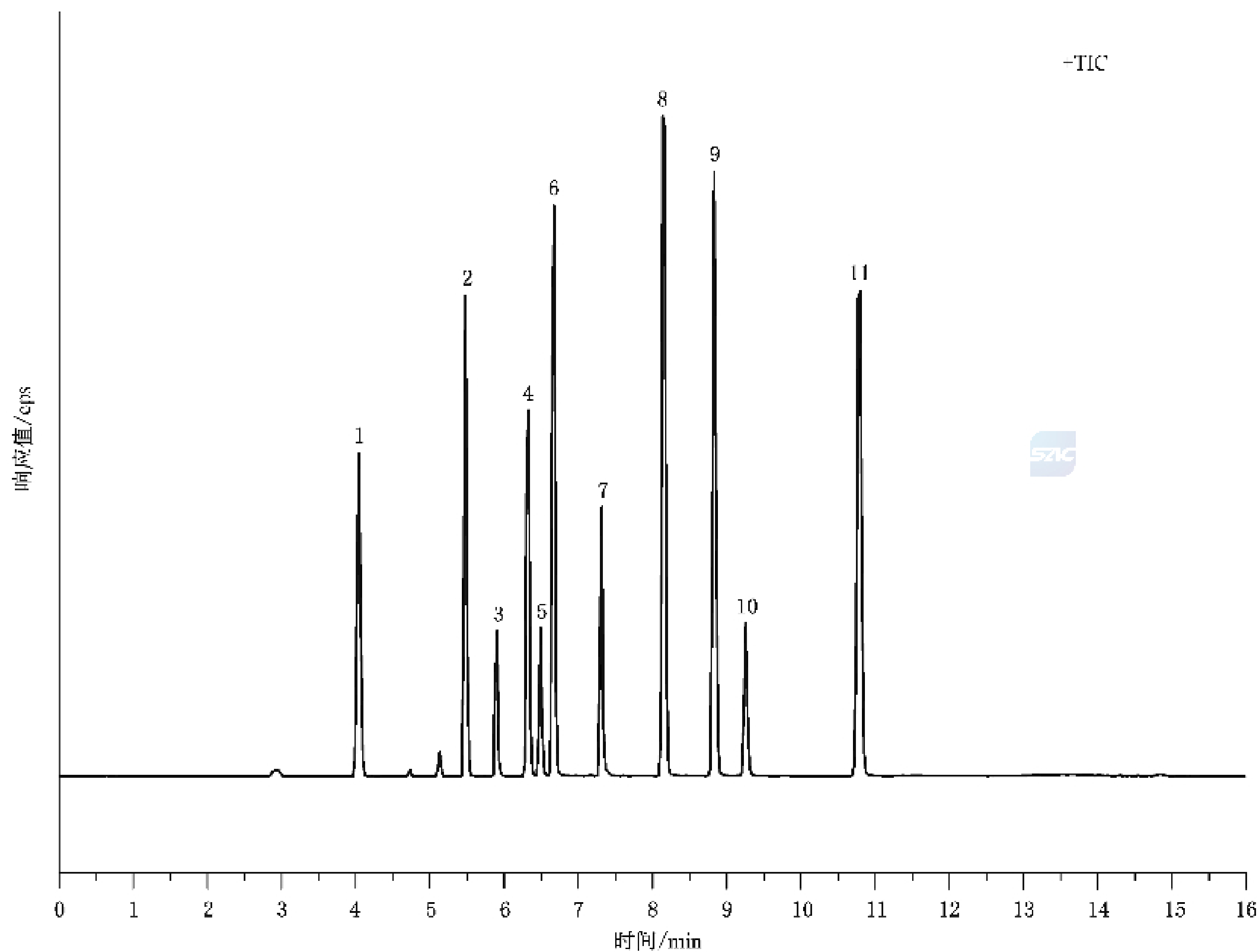
表 A.1 十一种糖皮质激素中文名称、英文名称、CAS 号、分子式、结构式及相对分子质量（续）

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	Methyl- prednisolone 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)

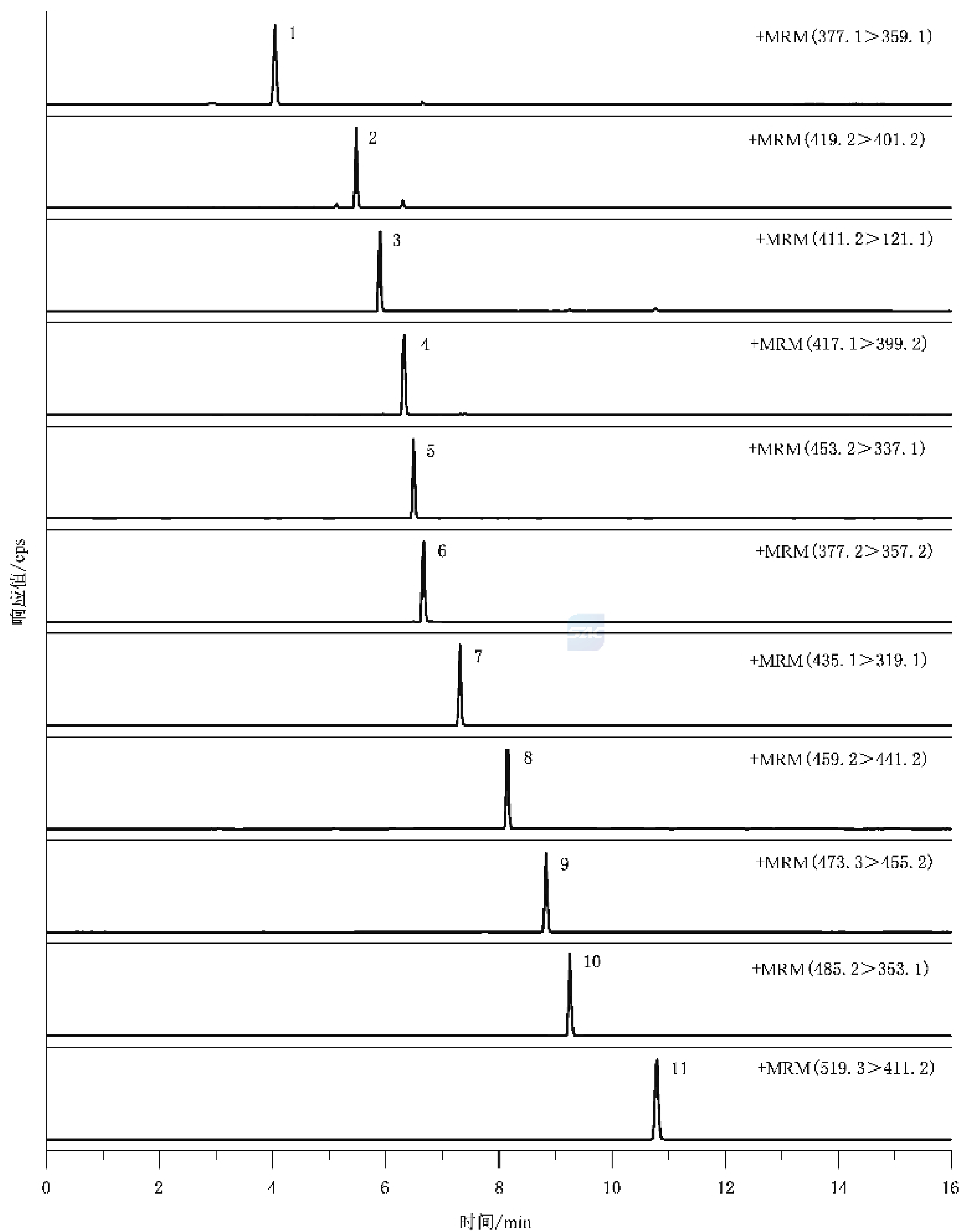
十一种糖皮质激素对照物质的总离子流色谱图及多反应监测质量色谱图

十一种糖皮质激素对照物质的总离子流色谱图见图 B.1, LC-MS/MS 多反应监测质量色谱图见图 B.2。



- 标引序号说明：
- 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。

图 B.1 十一种糖皮质激素对照物质的总离子流色谱图



标引序号说明：

- | | |
|----------------------------|------------------|
| 1——16 α -羟基泼尼松龙； | 7 ——帕拉米松醋酸酯； |
| 2——16 α -羟基泼尼松龙醋酸酯； | 8 ——地索奈德-21-醋酸酯； |
| 3——二氟拉松； | 9 ——甲基泼尼松龙醋酸丙酸酯； |
| 4——地索奈德； | 10——卤倍他索丙酸酯； |
| 5——氟轻松； | 11——倍他米松丁酸丙酸。 |
| 6——去羟米松； | |

图 B.2 十一种糖皮质激素对照物质的 LC-MS/MS 多反应监测质量色谱图