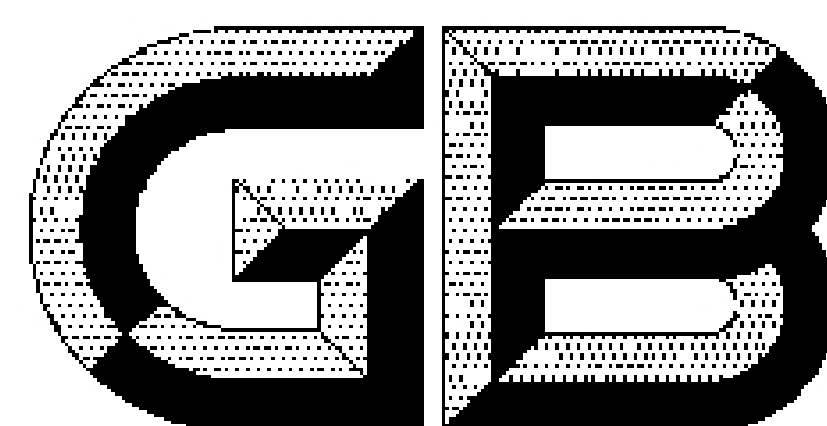




# 中华人民共和国国家标准

GB/T 40901—2021

## 化妆品中 11 种禁用唑类抗真菌药物的测定 液相色谱-串联质谱法

Determination of eleven kinds of prohibited azoles antifungal agents in  
cosmetics—Liquid chromatography-tandem mass spectrometry

2021-11-26 发布

2022-06-01 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：江苏省产品质量监督检验研究院、嘉文丽(福建)化妆品有限公司、无限极(中国)有限公司、苏州绿叶日用品有限公司、苏州世谱检测技术有限公司、广州安诺科技股份有限公司、上海相宜本草化妆品股份有限公司、欧诗漫生物股份有限公司、广州市娇兰化妆品有限公司、扬州完美日用品有限公司、江苏省食品药品监督检验研究院、广州质量监督检测研究院、苏州质量检测科学研究院、上海香料研究所、河北省食品检验研究院。

本文件主要起草人：卢剑、曲梅、方方、曹倩文、孙红梅、寻知庆、朱丹丹、曹玲、饶焕文、刘冬、吕智、杨松林、张丽华、顾洁、候爱霞、黄宏霞、林建平、杨安全、张晓强、张征、康薇、张岩、杨洋、代丹、潘发伍、叶竹洪、李淑琴、吴钟玲、汪晨霞、黄金凤、侯向昶、戴结玲、章芳、濮鑫、刘庆、胡晓露、武中平。



## 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 11 种禁用唑类抗真菌药物的测定

## 液相色谱-串联质谱法

### 1 范围

本文件描述了化妆品中 11 种禁用唑类抗真菌药物的液相色谱-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。

本文件适用于水剂类、非蜡基膏霜类、乳液类化妆品中特康唑、酮康唑、氟康唑、联苯苄唑、克霉唑、益康唑、咪康唑、伏立康唑、奥西康唑、芬替康唑和伊曲康唑的测定。

本文件 11 种禁用唑类抗真菌药物的方法检出限均为 0.1 mg/kg,定量限均为 0.3 mg/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 原理

试样经饱和氯化钠溶液分散后,用酸化乙腈溶液提取,提取液经正己烷净化、离心、过滤后,用液相色谱-串联质谱法测定,内标法定量。

### 5 试剂和材料

除非另有规定,所用试剂均为分析纯。

- 5.1 水:GB/T 6682,一级。
- 5.2 乙腈:色谱纯。
- 5.3 正己烷:色谱纯。
- 5.4 甲酸:色谱纯。
- 5.5 氯化钠。
- 5.6 0.1%甲酸溶液:准确量取 1 mL 甲酸(5.4)至 1 000 mL 容量瓶中,用水定容。
- 5.7 0.1%甲酸乙腈溶液:准确量取 1 mL 甲酸(5.4)至 1 000 mL 容量瓶中,用乙腈(5.2)定容。
- 5.8 1%甲酸乙腈溶液:准确量取 10 mL 甲酸(5.4)至 1 000 mL 容量瓶中,用乙腈(5.2)定容。
- 5.9 饱和氯化钠溶液:称取 20.0 g 氯化钠(5.5),加入 50 mL 水,搅拌溶解,静置,上清液备用。
- 5.10 乙腈饱和的正己烷:分别量取 20 mL 乙腈(5.2)和 50 mL 正己烷(5.3)至 100 mL 具塞锥形瓶中,



混匀静置,上层为乙腈饱和的正己烷。

5.11 标准物质:11种标准物质的中文名称、英文名称、CAS号、分子式、相对分子质量及化学结构式见附录A中表A.1,各标准物质纯度不小于98%。

5.12 同位素内标标准物质: $d_8$ -酮康唑,CAS:1217706-96-1,纯度不小于98%。

5.13 混合标准中间工作溶液:分别准确称取适量标准物质(5.11)(精确至0.1 mg),用乙腈(5.2)配制成质量浓度为1 000  $\mu\text{g/mL}$ 的单标标准储备液(于4  $^{\circ}\text{C}$ 避光保存,可保存3个月)。准确移取各单标标准储备液0.1 mL,置于10 mL棕色容量瓶中,用乙腈(5.2)定容,制得混合标准中间工作溶液(各为10.0  $\mu\text{g/mL}$ ,现配现用)。

5.14 同位素内标中间工作溶液:准确称取适量同位素内标标准物质(5.12)(精确至0.1 mg),用乙腈(5.2)配制成质量浓度为100  $\mu\text{g/mL}$ 的内标标准储备液(于4  $^{\circ}\text{C}$ 避光保存,可保存3个月)。准确移取内标标准储备液1.0 mL,置于10 mL棕色容量瓶中,用乙腈(5.2)定容,制得内标中间工作溶液(10.0  $\mu\text{g/mL}$ ,现配现用)。

5.15 滤膜:孔径为0.22  $\mu\text{m}$ 的聚四氟乙烯滤膜。

## 6 仪器设备

6.1 液相色谱-三重四极杆质谱联用仪:配有电喷雾离子源(ESI)。

6.2 分析天平:感量0.001 g和0.000 1 g。

6.3 涡旋振荡器。

6.4 超声波清洗仪:工作频率不低于40 kHz。

6.5 离心机:最高转速不低于4 000 r/min。

## 7 试验步骤

### 7.1 试样处理

称取0.5 g(精确至0.001 g)试样,置于50 mL具塞塑料离心管中,加入0.10 mL同位素内标中间工作溶液(5.14),涡旋混合均匀,加入5 mL饱和氯化钠溶液(5.9),混匀,然后准确加入1%甲酸乙腈溶液(5.8)10 mL,涡旋混合均匀后,超声提取15 min,冷却至室温,加入5 mL乙腈饱和的正己烷(5.10),涡旋振荡1 min,然后4 000 r/min离心2 min,中间层清液经滤膜过滤后供液相色谱-三重四极杆质谱联用仪测定。

平行做两份试验。

注:乙腈饱和的正己烷净化步骤适用于非蜡基膏霜类、乳液类化妆品,水剂类样品可直接取超声后溶液过滤后测试。

### 7.2 测定

#### 7.2.1 液相色谱参考工作条件

液相色谱参考工作条件如下:

- 色谱柱: $\text{C}_{18}$ 柱,2.2  $\mu\text{m}$ ,100 mm $\times$ 2.0 mm(内径),或性能相当者;
- 流动相:0.1%甲酸乙腈溶液(5.7)和0.1%甲酸溶液(5.6),梯度洗脱条件见表1;
- 流速:0.3 mL/min;
- 柱温:30  $^{\circ}\text{C}$ ;
- 进样量:2  $\mu\text{L}$ 。



表 1 液相色谱梯度洗脱条件

| 时间<br>min | 0.1%甲酸乙腈溶液<br>% | 0.1%甲酸溶液<br>% |
|-----------|-----------------|---------------|
| 0.0       | 10              | 90            |
| 2.0       | 10              | 90            |
| 8.0       | 80              | 20            |
| 10.0      | 80              | 20            |
| 10.1      | 10              | 90            |
| 12.0      | 10              | 90            |

7.2.2 质谱参考工作条件

质谱参考工作条件如下：

- a)

离子源：电喷雾离子源；
- b)

扫描方式：正离子扫描；
- c)

喷雾电压：5 500 V；
- d)

离子源温度：400 ℃；
- e)

雾化气压力：0.345 MPa；
- f)

辅助气压力：0.414 MPa；
- g)

气帘气压力：0.138 MPa；
- h)

检测方式：多反应监测(MRM)；
- i)

去簇电压：80 V；碰撞室出口电压：10 V；
- j)

化合物母离子、子离子、保留时间及碰撞电压等质谱参数见表 2。

表 2 11 种禁用唑类抗真菌药物的质谱参数

| 化合物                 | 保留时间<br>min | 母离子 $m/z$ | 子离子 $m/z$                  | 碰撞电压<br>V  |
|---------------------|-------------|-----------|----------------------------|------------|
| 特康唑                 | 5.69        | 532.2     | 219.1 <sup>a</sup> , 277.2 | 42.0, 13.0 |
| 酮康唑                 | 5.49        | 531.2     | 489.1 <sup>a</sup> , 219.1 | 40.0, 46.0 |
| 氟康唑                 | 4.98        | 307.1     | 220.1 <sup>a</sup> , 238.1 | 27.0, 22.0 |
| 联苯苄唑                | 6.21        | 311.1     | 243.1 <sup>a</sup> , 165.1 | 10.0, 52.0 |
| 克霉唑                 | 5.89        | 277.2     | 165.2 <sup>a</sup> , 241.1 | 29.0, 35.0 |
| 益康唑                 | 7.18        | 381.1     | 125.0 <sup>a</sup> , 193.0 | 45.0, 20.0 |
| 咪康唑                 | 6.41        | 417.1     | 159.0 <sup>a</sup> , 123.1 | 36.0, 60.0 |
| 伏立康唑                | 6.84        | 350.3     | 127.0 <sup>a</sup> , 281.1 | 45.0, 21.0 |
| 奥西康唑                | 6.55        | 430.1     | 234.0 <sup>a</sup> , 159.0 | 35.0, 40.0 |
| 芬替康唑                | 6.78        | 455.3     | 199.1 <sup>a</sup> , 167.2 | 41.0, 60.0 |
| 伊曲康唑                | 8.79        | 705.2     | 392.2 <sup>a</sup> , 432.2 | 50.0, 45.0 |
| d <sub>8</sub> -酮康唑 | 5.45        | 539.3     | 497.2 <sup>a</sup> , 227.0 | 45.0, 52.0 |
| <sup>a</sup> 定量离子。  |             |           |                            |            |



7.2.3 标准工作曲线绘制

分别吸取适量混合标准中间工作溶液(5.13)15.0 μL、30.0 μL、50.0 μL、100 μL、200 μL 和 300 μL，以及 0.10 mL 同位素内标中间工作溶液(5.14)，用乙腈稀释至 10 mL，得到系列混合标准工作溶液(现配现用)。其中 11 种禁用唑类抗真菌药物的质量浓度分为 15.0 μg/L、30.0 μg/L、50.0 μg/L、100 μg/L、200 μg/L 和 300 μg/L，同位素内标浓度为 100 μg/L。将混合标准工作溶液按液相色谱和质谱参考工作条件(7.2.1 和 7.2.2)进行测定，以目标物定量离子色谱峰的峰面积与内标离子峰面积比值为纵坐标，与其对应的溶液浓度比值为横坐标作图，绘制标准工作曲线。11 种禁用唑类抗真菌药物标准物质溶液的多反应监测色谱图见附录 B 中图 B.1。

7.2.4 试样测定

按液相色谱和质谱参考工作条件(7.2.1 和 7.2.2)测定 7.1 得到的试样处理溶液。如果试样中被测物质的色谱峰保留时间与标准溶液的一致，并且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，相对偏差不超过表 3 规定的范围，可判定为试样中含有对应的被测物质。记录目标化合物定量离子和内标化合物色谱峰的峰面积，以内标法定量。试样溶液中被测物质的响应值均应在标准曲线的线性范围之内，超出线性范围的试样溶液可用 1%甲酸乙腈溶液(5.8)稀释后进行测定。

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 $k/\%$ | $k>50$   | $50\geq k>20$ | $20\geq k>10$ | $k\leq 10$ |
|---------------|----------|---------------|---------------|------------|
| 允许的最大偏差/ $\%$ | $\pm 20$ | $\pm 25$      | $\pm 30$      | $\pm 50$   |

7.3 空白试验

除不称取试样外，按 7.1~7.2 步骤与测试平行进行测定。

8 试验数据处理

试样中 11 种禁用唑类抗真菌药物的含量按式(1)计算：

$$X_i = \frac{(\rho_i - \rho_0) \times V}{m \times 1\,000} \times \frac{1\,000}{1\,000} \dots\dots\dots(1)$$

式中：

$X_i$  ——试样中被测物质的含量，单位为毫克每千克(mg/kg)；

$\rho_i$  ——从标准曲线得到的试样溶液中被测物质的质量浓度，单位为微克每升(μg/L)；

$\rho_0$  ——从标准曲线得到的空白样品溶液中被测物质的质量浓度，单位为微克每升(μg/L)；

$V$  ——加入 1%甲酸乙腈溶液的体积，单位为毫升(mL)；

$m$  ——试样质量，单位为克(g)。

结果以两次平行测定结果的算术平均值表示，保留三位有效数字。

9 回收率

在添加浓度为 0.30 mg/kg~3.0 mg/kg 范围内，回收率在 80%~110%之间。

10 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)

11 种禁用唑类抗真菌药物标准物质的信息

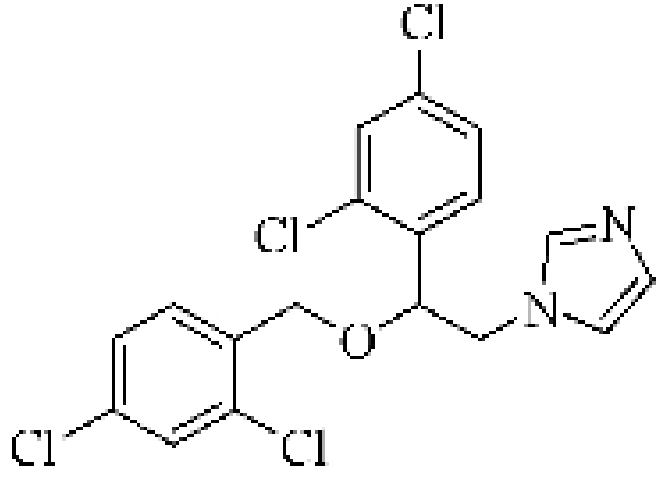
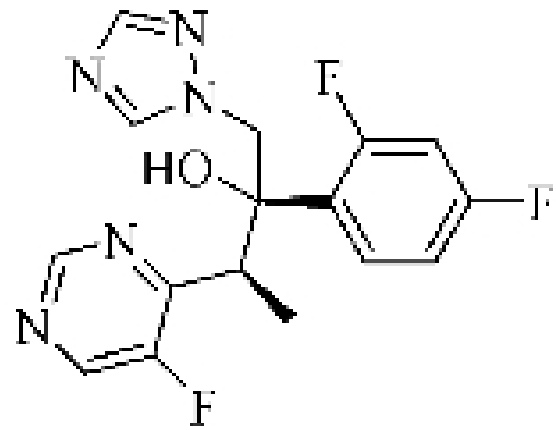
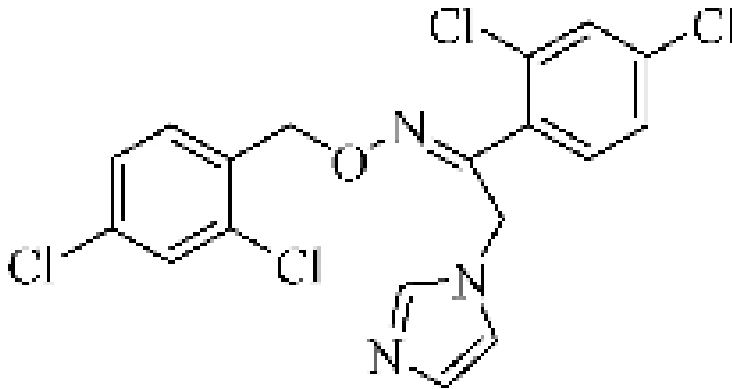
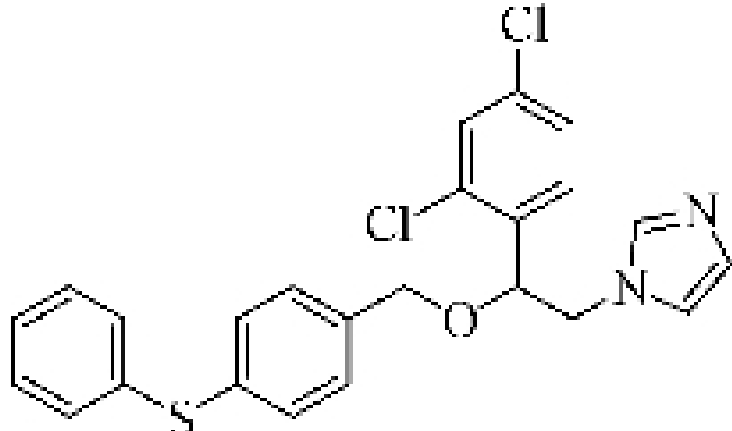
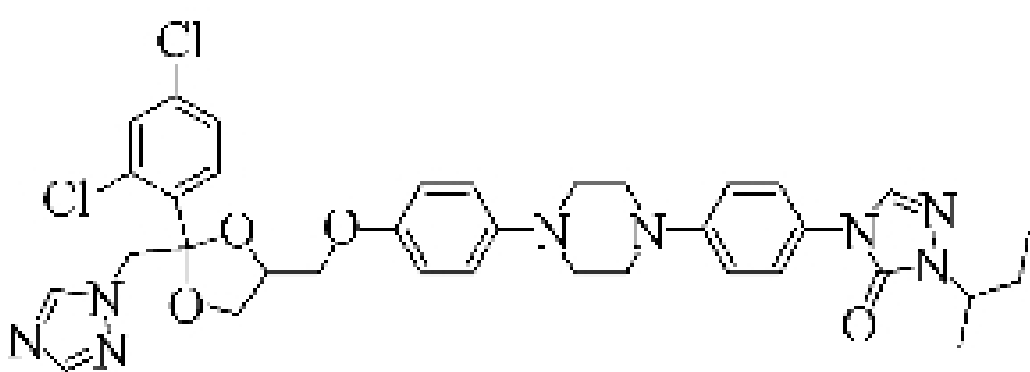
11 种禁用唑类抗真菌药物的中文名称、英文名称、CAS 号、分子式、相对分子质量及化学结构式见表 A.1。

表 A.1 11 种禁用唑类抗真菌药物标准物质的信息

| 序号 | 中文名称 | 英文名称         | CAS 号      | 分子式                      | 相对分子质量 | 化学结构式 |
|----|------|--------------|------------|--------------------------|--------|-------|
| 1  | 特康唑  | Terconazole  | 67915-31-5 | $C_{26}H_{31}Cl_2N_5O_3$ | 532.5  |       |
| 2  | 酮康唑  | Ketoconazole | 65277-42-1 | $C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$ | 531.4  |       |
| 3  | 氟康唑  | Fluconazole  | 86386-73-4 | $C_{13}H_{12}F_2N_6O$    | 306.3  |       |
| 4  | 联苯苄唑 | Bifonazole   | 60628-96-8 | $C_{22}H_{18}N_2$        | 310.4  |       |
| 5  | 克霉唑  | Clotrimazole | 23593-75-1 | $C_{22}H_{17}ClN_2$      | 344.8  |       |
| 6  | 益康唑  | Econazole    | 27220-47-9 | $C_{18}H_{15}Cl_3N_2O$   | 381.7  |       |



表 A.1 11 种禁用唑类抗真菌药物标准物质的信息（续）

| 序号 | 中文名称 | 英文名称          | CAS 号       | 分子式                      | 相对分子质量 | 化学结构式                                                                                 |
|----|------|---------------|-------------|--------------------------|--------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| 7  | 咪康唑  | Miconazole    | 22916-47-8  | $C_{18}H_{14}Cl_4N_2O$   | 416.1  |    |
| 8  | 伏立康唑 | Voriconazole  | 137234-62-9 | $C_{16}H_{14}F_3N_5O$    | 349.3  |   |
| 9  | 奥西康唑 | Oxiconazole   | 64211-45-6  | $C_{18}H_{13}Cl_4N_3O$   | 429.1  |  |
| 10 | 芬替康唑 | Fenticonazole | 72479-26-6  | $C_{24}H_{20}Cl_2N_2OS$  | 455.4  |  |
| 11 | 伊曲康唑 | Itraconazole  | 84625-61-6  | $C_{35}H_{38}Cl_2N_8O_4$ | 705.6  |  |



附 录 B  
(资料性)

11 种禁用唑类抗真菌药物标准物质溶液的多反应监测色谱图

11 种禁用唑类抗真菌药物标准物质溶液的多反应监测色谱图见图 B.1。

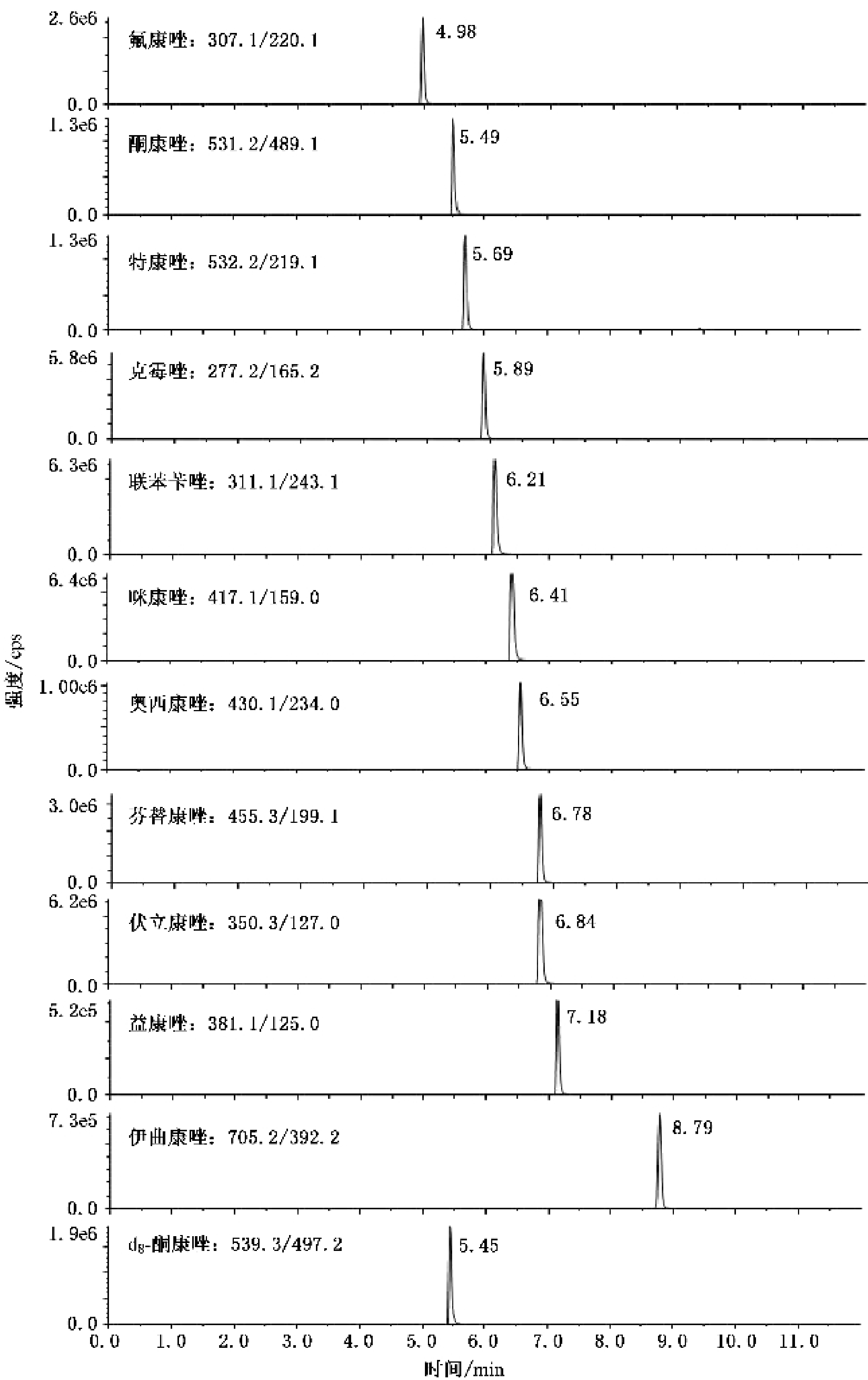


图 B.1 11 种禁用唑类抗真菌药物标准物质溶液的多反应监测色谱图