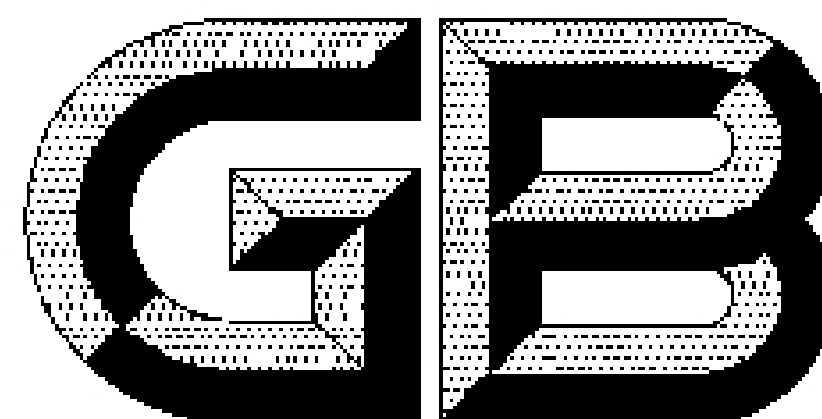




中华人民共和国国家标准

GB/T 24800.7—2009

化妆品中马钱子碱和士的宁的测定 高效液相色谱法

Determination of brucine and strychnine in cosmetics by
high performance liquid chromatography method

2009-11-30 发布

2010-05-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局 发布
中国国家标准化管理委员会

前 言

本标准的附录 A、附录 B 为资料性附录。

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。

本标准负责起草单位：中国检验检疫科学研究院、上海市日用化学工业研究所、上海香料研究所。

本标准主要起草人：马强、肖海清、王超、王星、范敏、朱丽、崔俭杰、李琼。



引 言

本标准中的被测物质是我国《化妆品卫生规范》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作为杂质带入化妆品时,则化妆品成品应符合《化妆品卫生规范》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。



化妆品中马钱子碱和土的宁的测定

高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了化妆品中马钱子碱和土的宁的高效液相色谱测定方法。
本标准适用于化妆品中马钱子碱和土的宁的测定。
本标准的检出限和定量限：马钱子碱和土的宁的检出限为 2.5 mg/kg，定量限为 8 mg/kg。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件，其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准，然而，鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件，其最新版本适用于本标准。
GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法(GB/T 6682—2008,ISO 3696:1987,MOD)

3 原理

试样经溶剂提取，离心过滤后，用高效液相色谱测定，外标法定量，液相色谱-质谱确认。

4 试剂和材料

除非另有说明，所用试剂均为分析纯，水为 GB/T 6682 规定的一级水。

- 4.1 甲醇：色谱纯。
- 4.2 四氢呋喃：色谱纯。
- 4.3 甲酸铵溶液(0.01 mol/L)：准确称取 0.630 6 g 甲酸铵于 1 L 容量瓶中，加入约 980 mL 水溶解，用甲酸调节 pH 至 3.0 后，定容至 1 L 备用。
- 4.4 甲醇水溶液：准确量取 64 mL 甲醇和 36 mL 水，混匀后备用。
- 4.5 马钱子碱和土的宁标准品：纯度不小于 97%。
- 4.6 马钱子碱和土的宁的标准储备液：准确称取马钱子碱和土的宁标准物质各 100 mg，分别置于 100 mL 棕色容量瓶中，用甲醇溶解并定容至刻度，摇匀，配制成浓度分别为 1 000 μg/mL 的标准储备液，于 4 ℃ 避光保存，可使用三个月。
- 4.7 马钱子碱和土的宁的混合标准储备液：分别准确移取马钱子碱和土的宁的标准储备液各 25 mL 于 50 mL 棕色容量瓶中，用甲醇定容至刻度，该溶液中马钱子碱和土的宁的浓度均为 500 μg/mL。

5 仪器和设备

- 5.1 高效液相色谱(HPLC)仪：配有紫外检测器或二极管阵列检测器。
- 5.2 高效液相色谱-质谱联用(LC-MS/MS)仪：配有电喷雾离子源(ESI)。
- 5.3 分析天平：感量 0.000 1 g 和 0.001 g。
- 5.4 离心机：转速不低于 5 000 r/min。
- 5.5 超声波水浴。
- 5.6 具塞比色管：10 mL。
- 5.7 具塞塑料离心管：10 mL。

5.8 微孔滤膜:0.45 μm,有机相。

5.9 pH 计。

6 分析步骤

6.1 样品处理

6.1.1 膏霜、水剂、香波类样品

称取 1 g(精确至 0.001 g)试样于 10 mL 具塞比色管中,加甲醇水溶液(4.4)至刻度,超声提取 20 min。取部分溶液转移至 10 mL 具塞塑料离心管中,以不低于 5 000 r/min 离心 15 min,上清液经 0.45 μm 微孔滤膜过滤,滤液作为待测样液。

注:如离心难以获得上清液可加适量氯化钠破乳。

6.1.2 散粉类样品

称取 1 g(精确至 0.001 g)试样于 10 mL 具塞比色管中,加入 6 mL 甲醇,超声提取 20 min。取部分溶液转移至 10 mL 具塞塑料离心管中,以不低于 5 000 r/min 离心 15 min,上清液经 0.45 μm 微孔滤膜过滤,取滤液 0.6 mL,加入 0.4 mL 水,混合液经 0.45 μm 微孔滤膜过滤,滤液作为待测样液。

6.1.3 唇膏类样品

称取 1.0 g(精确至 0.001 g)试样于 10 mL 具塞比色管中,加入 2 mL 四氢呋喃和 1 mL 甲醇,超声提取 10 min,再加水至 10 mL,超声提取 10 min。取部分溶液转移至 10 mL 具塞塑料离心管中,以不低于 5 000 r/min 离心 15 min,上清液经 0.45 μm 微孔滤膜过滤,滤液作为待测样液。

6.2 测定条件

高效液相色谱测定条件如下:

- a) 色谱柱:Kromasil C₁₈, 5 μm, 250 mm×4.6 mm(内径),或相当者。
- b) 流动相:甲酸铵溶液(0.01 mol/L)(4.3)-甲醇(64+36,v/v)。
- c) 流速:1.0 mL/min。
- d) 柱温:25 ℃。
- e) 波长:264 nm。
- f) 进样量:20 μL。

6.3 标准曲线的绘制

用甲醇将马钱子碱和土的宁的混和标准储备液逐级稀释得到的 0.1 μg/mL、0.5 μg/mL、1 μg/mL、5 μg/mL、10 μg/mL、20 μg/mL、50 μg/mL、100 μg/mL 的混合标准工作液,按 6.2 的测定条件浓度由低到高进样测定,以峰面积-浓度作图,得到标准曲线回归方程。

马钱子碱和土的宁的标准品色谱图参见附录 A 中的图 A.1。

6.4 测定

按 6.2 的测定条件对待测样液进行测定,用外标法定量。待测样液中马钱子碱和土的宁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分析。必要时,阳性样品需用液相色谱-质谱进行确认试验(参见附录 B)。

6.5 空白试验

除不称取样品外,均按上述测定条件和步骤进行。

7 结果计算

结果按式(1)计算,计算结果保留两位小数:(计算结果应扣除空白值)。

$$W = \frac{1\,000 \times c \times V}{m} \times f \dots\dots\dots(1)$$

式中:

W ——试样中马钱子碱和土的宁的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);

c ——从标准工作曲线上查出的样液中马钱子碱和土的宁的浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$);

V ——样液最终定容体积,单位为升(L);

m ——试样的质量,单位为克(g);

f ——稀释倍数。

8 检出限和定量限

本标准的检出限和定量限:马钱子碱和土的宁的检出限为 2.5 mg/kg,定量限为 8 mg/kg。

9 回收率

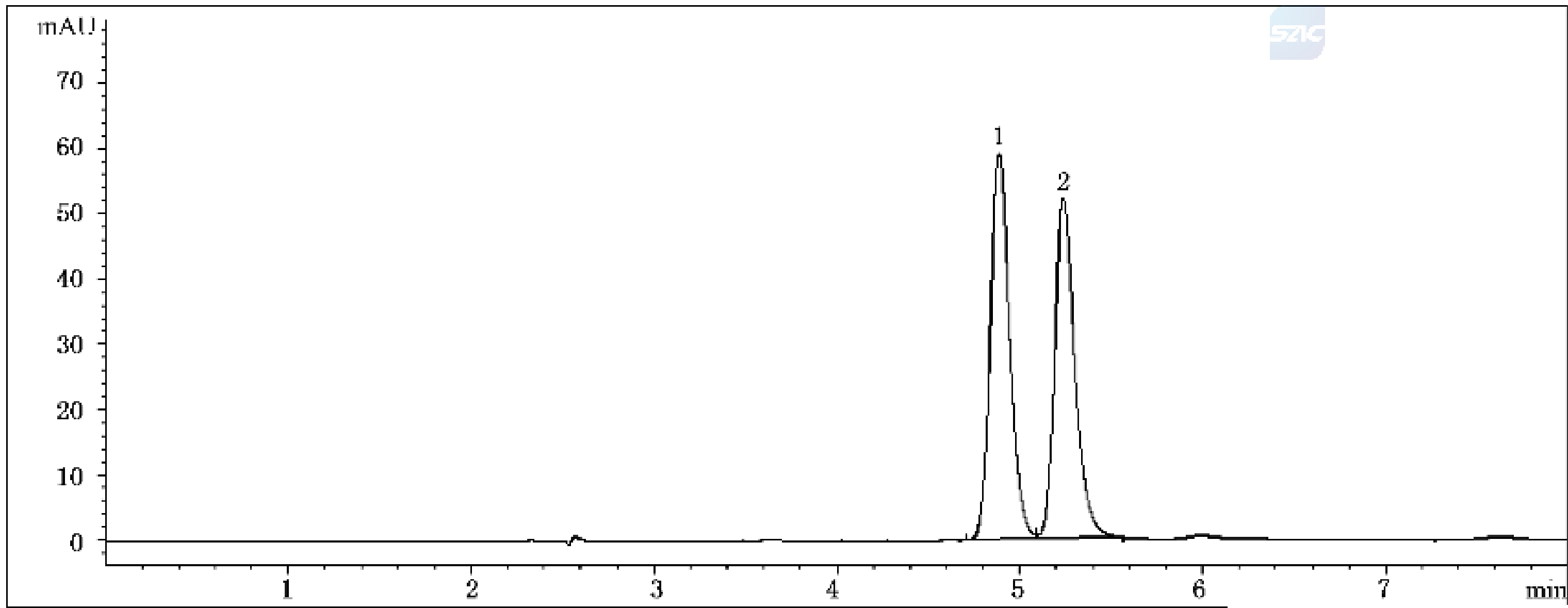
在添加浓度 2.5 mg/kg~250 mg/kg 浓度范围内,回收率在 85%~105%之间,相对标准偏差小于 10%。

10 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应超过算术平均值的 10%。



附 录 A
(资料性附录)
标准品色谱图



1——土的宁；
2——马钱子碱。

图 A.1 土的宁和马钱子碱标准品色谱图

附 录 B
(资料性附录)
确 认 试 验

B.1 液相色谱条件

- a) 色谱柱:SunFire C₁₈, 5 μm, 150 mm×2.1 mm(i. d.), 或相当者。
- b) 流动相:甲酸铵溶液(0.01 mol/L)(4.3)-甲醇(64+36, 体积比)。
- c) 流速:0.2 mL/min。
- d) 柱温:30 ℃。
- e) 进样量:20 μL。

B.2 质谱条件

- a) 电离方式:电喷雾电离, 正离子。
- b) 毛细管电压:3.0 kV。
- c) 萃取电压:3.0 V。
- d) 射频透镜电压:0.3 V。
- e) 离子源温度:120 ℃。
- f) 脱溶剂气:氮气, 流速 600 L/hr, 温度 350 ℃。
- g) 锥孔气:氮气, 流速 50 L/hr。
- h) 碰撞气:氩气。
- i) 扫描模式:多反应监测(MRM), 定性离子对、定量离子对、锥孔电压和碰撞气能量见表 B.1。

表 B.1 马钱子碱和土的宁的定性离子对、定量离子对、锥孔电压和碰撞气能量

中文名称	英文名称	定性离子对/ (m/z)	定量离子对/ (m/z)	锥孔电压/ V	碰撞气能量/ V	相对丰度	允许偏差/ %
土的宁	strychnine	335/184	335/184	55	35	100	±20
		335/156			43	76	
马钱子碱	brucine	395/324	395/324	55	30	100	±20
		395/244			35	87	

B.3 定性判定

按照上述条件测定试样和标准工作溶液, 如果试样中的质量色谱峰保留时间与标准工作溶液一致(变化范围在±2.5%之内); 样品中目标化合物的两个子离子的相对丰度与浓度相当标准溶液的相对丰度一致, 相对丰度偏差不超过表 B.1 的规定, 则可判断样品中存在马钱子碱或土的宁。

土的宁和马钱子碱的选择离子质量色谱图见图 B.1。

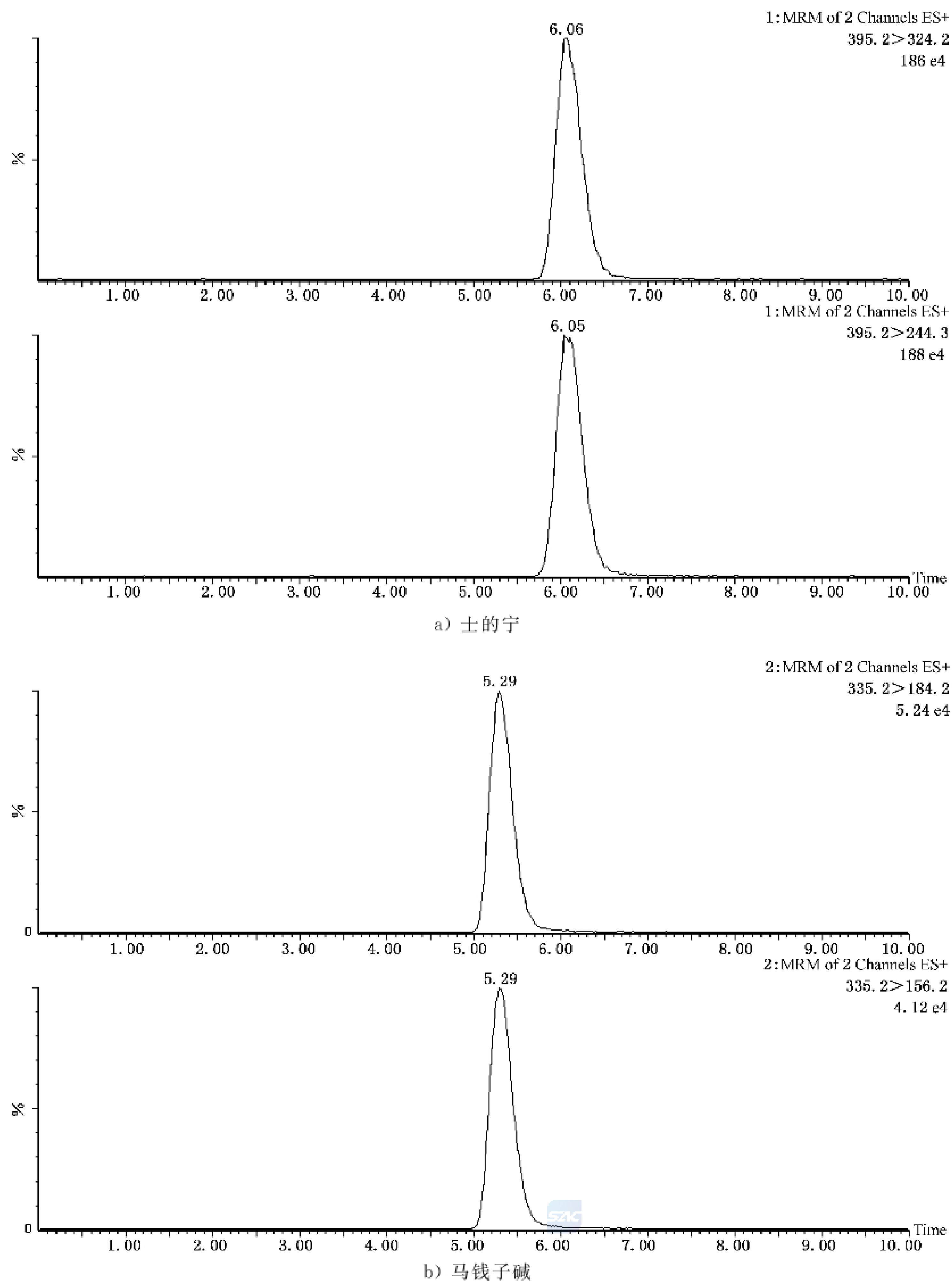


图 B.1 士的宁和马钱子碱的选择离子质量色谱图