



中华人民共和国国家标准

GB/T 36942—2018

化妆品中 10 种生物碱的测定 液相色谱串联质谱法

Determination of 10 alkaloids in cosmetics—Liquid chromatography-tandem
mass spectrometry

2018-12-28 发布

2019-07-01 实施

国家市场监督管理总局 发布
中国国家标准化管理委员会

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

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。

本标准起草单位：河北省食品检验研究院(国家果类及农副加工产品质量监督检验中心)、苏州世谱检测技术有限公司、河北省出入境检验检疫局、河北医科大学。

本标准主要起草人：范素芳、李强、张岩、马俊美、俞婧、艾连峰、吕品、马春玲、文迪、叶竹洪、代丹、翟洪稳。



引 言

本标准的被测物质中东莨菪碱、番木鳖碱、乌头碱、秋水仙碱、阿托品、土的宁是我国《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 10 种生物碱的测定

液相色谱串联质谱法

1 范围

本标准规定了化妆品中东莨菪碱、番木鳖碱、乌头碱、次乌头碱、新乌头碱、秋水仙碱、阿托品、土的宁、喜树碱、毛果芸香碱含量的液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)测定方法的试验方法、结果计算、回收率与精密度、允许差。

本标准适用于膏霜乳液、水剂类化妆品中东莨菪碱、番木鳖碱、乌头碱、次乌头碱、新乌头碱、秋水仙碱、阿托品、土的宁、喜树碱、毛果芸香碱含量的测定。

本标准的方法检出限：阿托品为 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，次乌头碱、新乌头碱为 7.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，东莨菪碱、番木鳖碱、乌头碱、秋水仙碱、土的宁、喜树碱、毛果芸香碱为 12.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ；本标准的方法定量限：阿托品为 12.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，次乌头碱、新乌头碱为 25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，东莨菪碱、番木鳖碱、乌头碱、秋水仙碱、土的宁、喜树碱、毛果芸香碱为 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

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 试验方法

3.1 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确证，外标法定量。

3.2 试剂和材料

除非另有说明，所有试剂均为分析纯，水为 GB/T 6682 规定的一级水。

3.2.1 甲醇：色谱纯。

3.2.2 70%甲醇水溶液：70 mL 甲醇(3.2.1)，30 mL 水，混匀备用。

3.2.3 乙腈：色谱纯。

3.2.4 正己烷：色谱纯。

3.2.5 甲酸：色谱纯。

3.2.6 0.1%甲酸水溶液：准确移取甲酸(3.2.5)1.0 mL 置于 1 L 容量瓶中，用水定容至刻度。

3.2.7 标准物质：东莨菪碱、番木鳖碱、乌头碱、次乌头碱、新乌头碱、秋水仙碱、阿托品、土的宁、喜树碱、毛果芸香碱的中文名称、英文名称、CAS 号、分子式、相对分子质量及结构式参见附录 A 中的表 A.1，纯度均不小于 96%。

3.2.8 混合标准储备溶液：准确称取适量各标准物质(3.2.7)分别置于 50 mL 容量瓶中，用甲醇定容至

刻度,配制成浓度为 100 mg/L 的标准储备溶液(于 4 ℃避光保存,有效期 2 个月)。分别准确移取东莨菪碱、番木鳖碱、乌头碱、次乌头碱、新乌头碱、秋水仙碱、阿托品、土的宁、喜树碱、毛果芸香碱标准储备溶液 1 mL 于 100 mL 容量瓶中,用甲醇定容至刻度,配制成东莨菪碱、番木鳖碱、乌头碱、次乌头碱、新乌头碱、秋水仙碱、阿托品、土的宁、喜树碱、毛果芸香碱浓度为 1 mg/L 的混合标准储备溶液,于 4 ℃避光保存,可使用一周。

3.2.9 微孔滤膜:0.22 μm,有机相。

3.3 仪器和设备

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

3.3.2 电子天平:感量为 0.000 1 g 和 0.01 g。

3.3.3 离心机:转速不低于 9 000 r/min。

3.3.4 超声波清洗机。

3.3.5 涡旋混合器。

3.3.6 具塞塑料离心管:50 mL。

3.4 测定

3.4.1 样品溶液制备

3.4.1.1 膏霜乳液类化妆品(水包油)

称取试样约 1.0 g (精确至 0.000 1 g)于 50 mL 具塞塑料离心管中,准确加入 15 mL 甲醇水溶液(3.2.2),涡旋分散均匀后,超声提取 15 min,定容至 20 mL,以 9 000 r/min 离心 10 min,移取 1.0 mL 上清液,过微孔滤膜(3.2.9),待测定。

3.4.1.2 膏霜乳液类化妆品(油包水)

称取试样约 1.0 g (精确至 0.000 1 g)于 50 mL 具塞塑料离心管中,加入 5 mL 正己烷(3.2.4),分散均匀后,准确加入 20 mL 甲醇水溶液(3.2.2),超声提取 15 min,以 9 000 r/min 离心 10 min,弃去上层正己烷后,移取 1.0 mL 下层清液,过微孔滤膜(3.2.9),待测定。

3.4.1.3 水剂类化妆品

称取试样约 1.0 g (精确至 0.000 1 g)于 50 mL 具塞塑料离心管中,准确加入 15 mL 甲醇水溶液(3.2.2),涡旋分散均匀后,超声提取 15 min,定容至 20 mL,以 9 000 r/min 离心 10 min,移取 1.0 mL 上清液,过微孔滤膜(3.2.9),待测定。

3.4.2 液相色谱参考条件

液相色谱参考条件如下:

- a) 色谱柱: C_{18} 柱,100 mm×2.1 mm(内径),2.5 μm,或相当者;
- b) 流动相:A:0.1%甲酸水溶液(3.2.6),B:乙腈(3.2.3),梯度洗脱,梯度洗脱程序参见表 1;
- c) 流速:0.30 mL/min;
- d) 柱温:30 ℃;
- e) 进样量:2 μL。



表 1 梯度洗脱程序表

时间/min	A/%	B/%
0.0	90	10
2.0	90	10
6.0	75	25
23	75	25
23.01	90	10
25	90	10

3.4.3 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) 喷雾电压：5.5 kV；
- c) 离子源温度：500 ℃；
- d) 气帘气压力：0.21 MPa；
- e) 雾化气压力：0.34 MPa；
- f) 辅助气压力：0.34 MPa；
- g) 扫描模式：多反应监测(MRM)模式，10 种生物碱质谱参数参见表 2。

表 2 10 种生物碱质谱参数

序号	物质名称	母离子 m/z	去簇电压 V	子离子 m/z	碰撞电压 V
1	东莨菪碱	324.2	70	138.3 [*]	30
				156.3	25
2	番木鳖碱	395.1	80	244.2	50
				324.3 [*]	45
3	乌头碱	646.3	80	586.3 [*]	47
				554.5	52
4	次乌头碱	616.4	70	556.2 [*]	45
				524	50
5	新乌头碱	632.3	80	572.2 [*]	45
				354.2	60
6	秋水仙碱	400.4	70	310.1	35
				358.1 [*]	32
7	阿托品	290.3	80	124.1 [*]	35
				93.1	42

表 2（续）

序号	物质名称	母离子 m/z	去簇电压 V	子离子 m/z	碰撞电压 V
8	土的宁	335.2	90	184.2*	50
				156.2	60
9	喜树碱	349.2	80	305.2*	35
				249.2	40
10	毛果芸香碱	209.3	70	94.9*	34
				163.5	29
注：* 定量离子。					

3.4.4 混合标准工作溶液的制备

取相应的空白样品，按照 3.4.1 步骤进行处理，用得到的空白样品提取液将混合标准储备溶液（3.2.8）逐级稀释得到东莨菪碱、番木鳖碱、乌头碱、次乌头碱、新乌头碱、秋水仙碱、阿托品、土的宁、喜树碱、毛果芸香碱浓度为 5 μg/L、10 μg/L、20 μg/L、50 μg/L、100 μg/L 的系列混合标准工作溶液，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，做出标准曲线回归方程。

3.4.5 测定步骤

按照 3.4.1 步骤对样品溶液进行测定。样品溶液中各组分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测定。

3.4.6 定性判定

在相同条件测定样品溶液和标准溶液，如果样品溶液中检出的色谱峰的保留时间与标准溶液中的某种组分峰的保留时间一致（变化范围在 ±2.5%），并且所选择的两对子离子的质荷比一致，样品溶液中定性离子相对丰度与浓度相当标准工作溶液中定性离子的相对丰度进行比较时，相对偏差不超过表 3 规定的范围，则可判断样品中存在该组分。

10 种生物碱标准物质的总离子流图参见附录 B 中的图 B.1。

表 3 定性确定时相对离子丰度的最大允许偏差

相对离子丰度	>50%	>20%至 50%	>10%至 20%	≤10%
允许的相对偏差	±20%	±25%	±30%	±50%

3.5 空白试验

除不加试样外，均按上述测定条件和步骤进行。

4 结果计算

样品中待测组分含量按式(1)计算，计算结果保留小数点后两位。

$$X_i = \frac{C_i \times V \times K}{m}$$

.....(1)

式中：

X_i ——样品中待测组分含量,单位为微克每千克($\mu\text{g/kg}$)；

C_i ——由标准曲线得出的测试液中某种组分的浓度,单位为微克每升($\mu\text{g/L}$)；

V ——定容体积,单位为毫升(mL)；

K ——稀释倍数；

m ——样品质量,单位为克(g)。

5 回收率与精密度

阿托品在添加浓度 $12.5\ \mu\text{g/kg} \sim 75\ \mu\text{g/kg}$ 范围内,次乌头碱、新乌头碱添加浓度 $25\ \mu\text{g/kg} \sim 150\ \mu\text{g/kg}$ 范围内,东莨菪碱、番木鳖碱、乌头碱、秋水仙碱、土的宁、喜树碱、毛果芸香碱添加浓度 $50\ \mu\text{g/kg} \sim 300\ \mu\text{g/kg}$ 范围内,回收率在 $70.9\% \sim 116.8\%$,相对标准偏差小于 10% 。

6 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)

10 种生物碱的中文名称、英文名称、CAS 号、分子式、相对分子质量及结构式

10 种生物碱的中文名称、英文名称、CAS 号、分子式、相对分子质量及结构式参见表 A.1。

表 A.1 10 种生物碱的中文名称、英文名称、CAS 号、分子式、相对分子质量及结构式

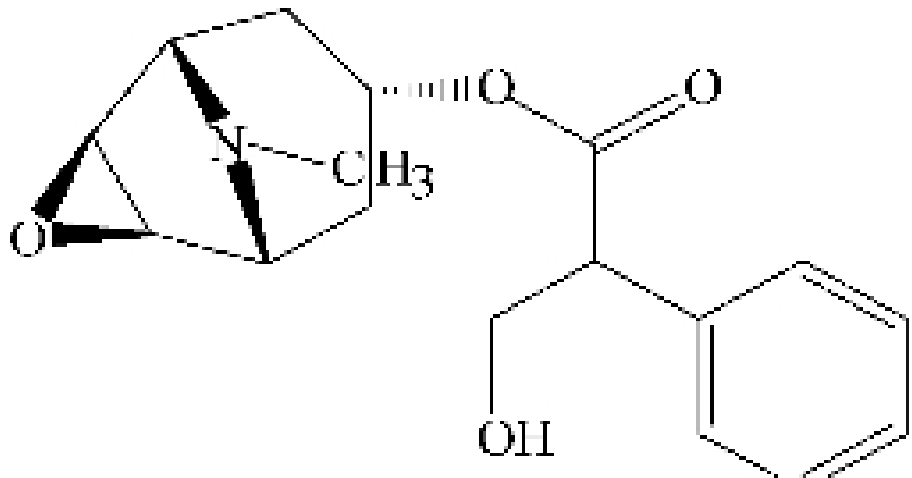
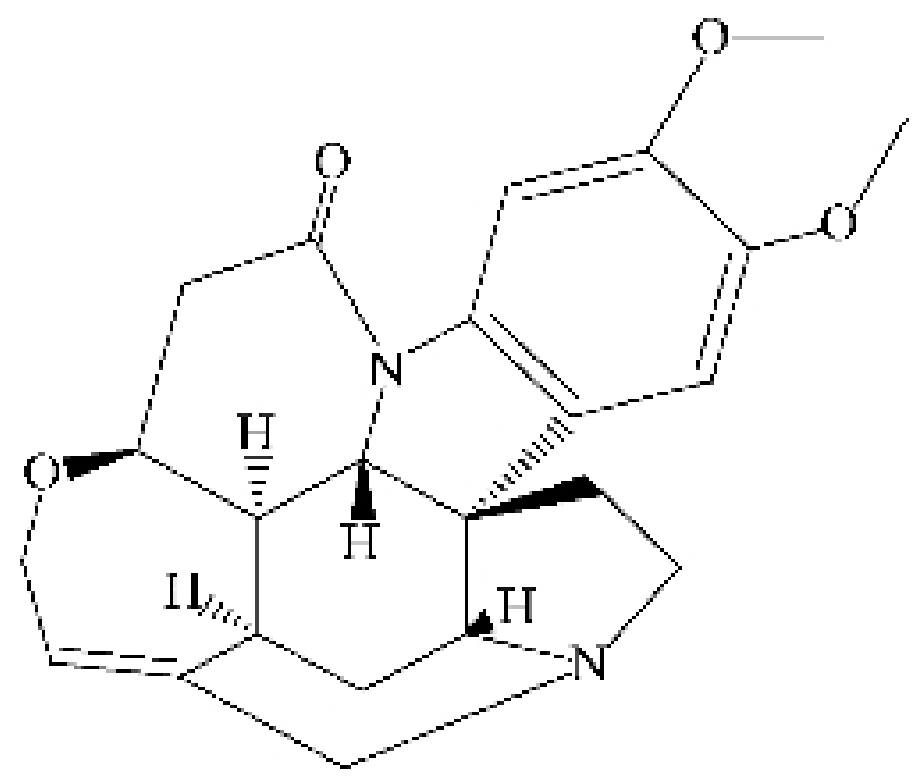
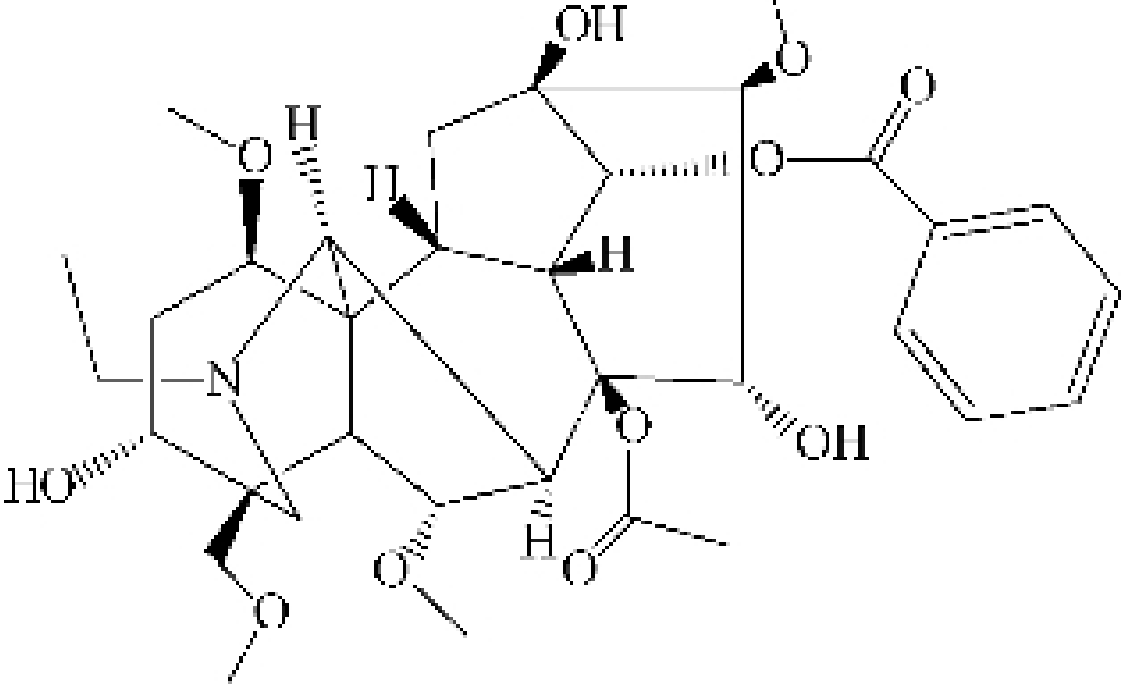
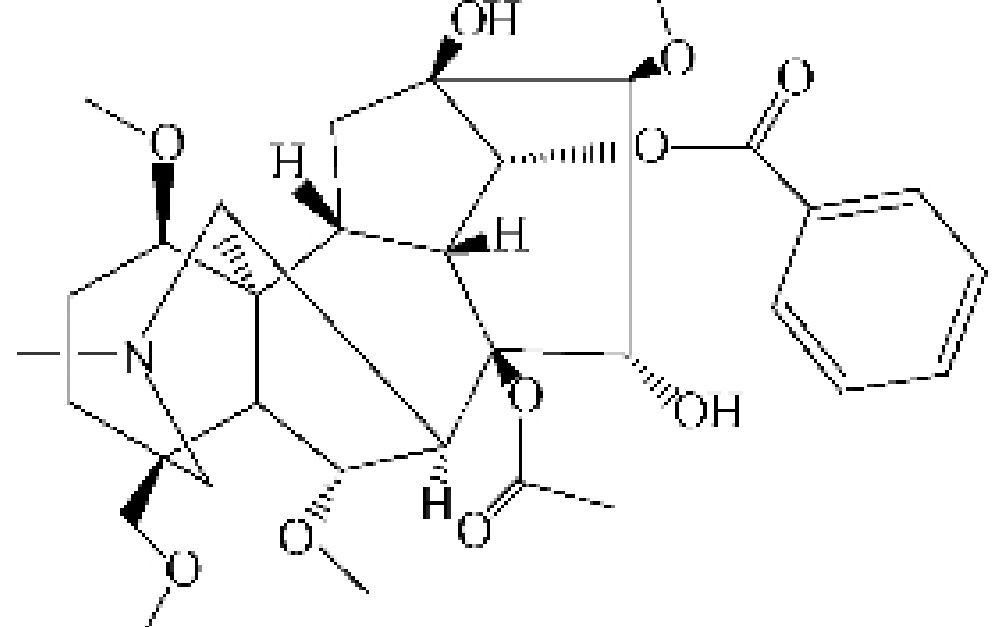
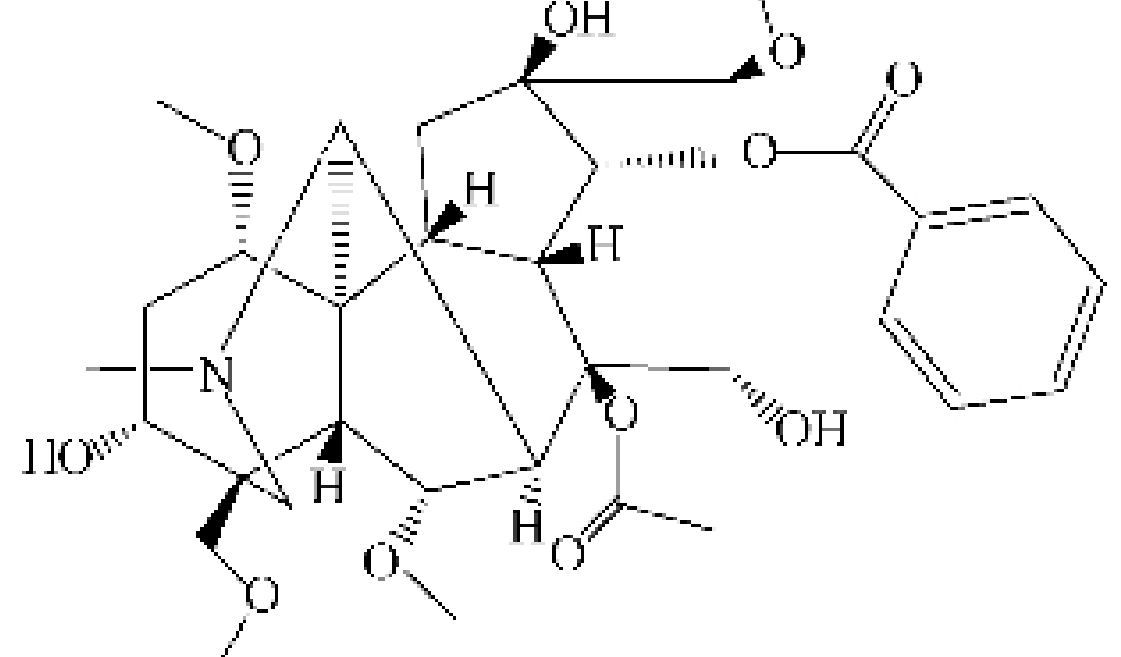
序号	中文名称	英文名称	CAS 号	分子式	相对分子质量	结构式
1	东莨菪碱	Scopolane	51-34-3	$C_{17}H_{21}NO_4$	303	
2	番木鳖碱	Brucine	357-57-3	$C_{23}H_{26}N_2O_4$	394.5	
3	乌头碱	Aconitine	302-27-2	$C_{34}H_{47}NO_{11}$	645.7	
4	次乌头碱	Hypaconitine	6900-87-4	$C_{33}H_{45}NO_{10}$	615.7	
5	新乌头碱	Mesaconitine	2752-64-9	$C_{33}H_{45}NO_{11}$	631.7	

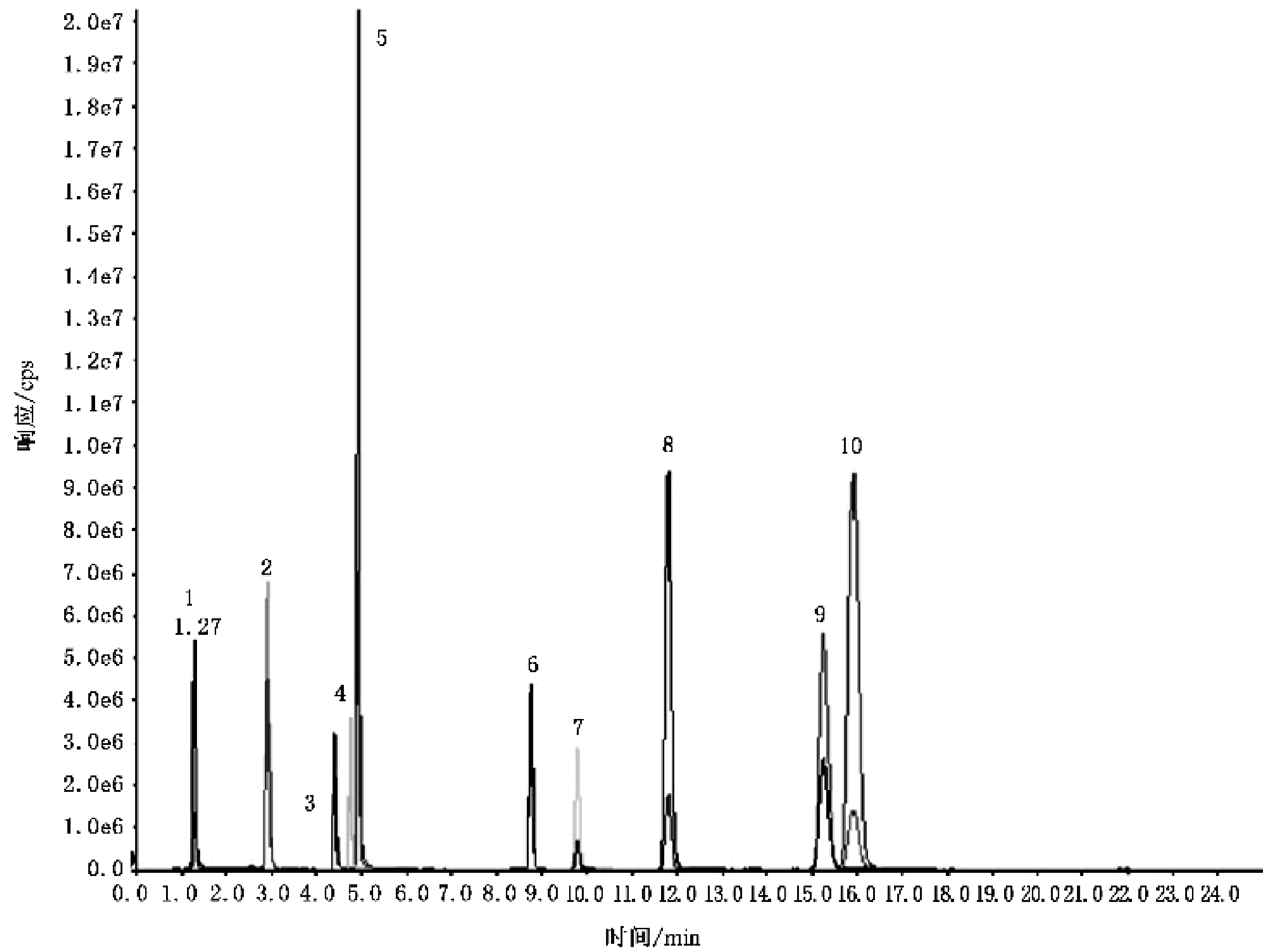
表 A.1 (续)

序号	中文名称	英文名称	CAS 号	分子式	相对分子质量	结构式
6	秋水仙碱	Colchicine	64-86-8	$C_{22}H_{25}NO_6$	399.4	
7	阿托品	Atropine	51-55-8	$C_{17}H_{23}NO_3$	289.4	
8	土的宁	Strychnine	57-24-9	$C_{21}H_{23}N_2O_2$	335.4	
9	喜树碱	Camptothecin	7689-03-4	$C_{20}H_{16}N_2O_4$	348.3	
10	毛果芸香碱	Pilocarpine	92-13-7	$C_{11}H_{16}N_2O_2$	208.3	

附录 B
(资料性附录)

10 种生物碱标准物质的总离子流图

10 种生物碱标准物质的总离子流图参见图 B.1。



说明：

- | | |
|-----------|-----------|
| 1——毛果芸香碱； | 6 ——秋水仙碱； |
| 2——东莨菪碱； | 7 ——喜树碱； |
| 3——土的宁； | 8 ——新乌头碱； |
| 4——番木鳖碱； | 9 ——次乌头碱； |
| 5——阿托品； | 10——乌头碱。 |

图 B.1 10 种生物碱标准物质的总离子流图