

团体标准

T/XXXX—2023

化妆品中 23 种兴奋剂含量的测定 高效液相色谱-串联质谱法

Determination of 23 kinds of stimulants in cosmetics - High performance liquid
chromatography-tandem mass spectrometry

(征求意见稿)

2023—XX—XX 发布

2023—XX—XX 实施

浙江省健康产品化妆品行业协会 发布

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。

本文件由浙江省健康产品化妆品行业协会提出并归口。

本文件起草单位：XX。

本文件主要起草人：XX。。

化妆品中 23 种兴奋剂含量的测定 高效液相色谱-串联质谱法

1 范围

本文件规定了高效液相色谱-串联质谱法测定化妆品中 23 种兴奋剂含量的原理、试剂和材料、仪器和设备、分析步骤、检出限和定量限、允许差、回收率和精密度等内容。

本文件适用于膏霜乳液类、液态水基类、液态油基类、面膜类化妆品中 23 种兴奋剂的测定。

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

试样经提取溶剂超声提取、离心，0.22 μm 滤膜过滤后，滤液用高效液相色谱-串联质谱仪测定，外标法定量。

5 试剂和材料

5.1 试剂

除另有规定外，本方法所用试剂均为色谱纯，水为GB/T 6682规定的一级水。

5.1.1 甲醇。

5.1.2 乙腈。

5.1.3 正己烷。

5.1.4 乙酸：优级纯。

5.1.5 0.1%乙酸水溶液：移取 1 mL 乙酸（5.1.4）于 1L 容量瓶中，用水稀释并定容至刻度。

5.1.6 50%甲醇水溶液：取甲醇（5.1.1）、水按 1:1 的体积比混合，摇匀。

5.2 材料

滤膜：孔径为 0.22 μm 的聚四氟乙烯滤膜。

5.3 标准品

23种兴奋剂标准物质的中文名称、英文名称、CAS号及分子式参见附录A，各物质纯度均大于95%。

5.4 标准溶液的配制

5.4.1 标准储备溶液

分别称取各标准品（附录A）10 mg（精确到0.0001 g）置于10 mL容量瓶中，加甲醇（5.1.1）使溶解并定容至刻度，配制成浓度为1000 mg/L的标准储备溶液。标准储备溶液于-18 °C保存。

5.4.2 混合标准储备溶液

分别移取标准储备溶液（5.4.1）0.01 mL于同一10 mL容量瓶中，用甲醇（5.1.1）稀释定容至刻度，配制成浓度为1 mg/L的混合标准储备溶液，于-18 °C保存。

5.4.3 筛查用混合标准系列溶液制备

分别取不同体积的混合标准储备溶液（5.4.2）于10 mL容量瓶中，用50%甲醇水溶液（5.1.6）稀释成各待测组分浓度依次为2.0 ng/mL、5.0 ng/mL、10 ng/mL、20 ng/mL、40 ng/mL的筛查用混合标准系列溶液。

5.4.4 基质标准工作溶液的制备

取与待测样品基质类型相同的空白样品5份于10 mL容量瓶中（0.2 g/份），分别加入不同体积的混合标准溶液（5.4.2），按照样品前处理操作步骤处理，配制成各待测组分浓度依次为2.0 ng/mL、5.0 ng/mL、10 ng/mL、20 ng/mL、40 ng/mL的系列工作溶液（浓度范围可根据实际情况进行调整）。

6 仪器和设备

- 6.1 高效液相色谱-串联质谱仪，配有电喷雾离子源（ESI）。
- 6.2 分析天平（感量为0.0001 g）。
- 6.3 离心机：转速不低于10000 r/min，可控温至4 °C。
- 6.4 超声波清洗器。
- 6.5 涡旋振荡器。

7 分析步骤

7.1 样品处理

7.1.1 膏霜乳液类、液态水基类、面膜类样品

称取0.2 g（精确到0.0001 g）样品于15 mL塑料离心管中，加入5 mL甲醇，涡旋混匀，超声提取20 min，静置至室温，在4 °C下以10000 r/min离心10 min。吸取上清液至10 mL比色管中，加水定容至刻度，混匀，在4 °C下以10000 r/min离心10 min，吸取上清液过0.22 μm滤膜，滤液作为待测溶液。

7.1.2 液态油基类样品

称取0.2 g（精确至0.0001 g）样品于15 mL塑料离心管中，加入3 mL正己烷，涡旋直至样品分散，加入4 mL 50%甲醇水溶液，涡旋混匀，超声提取20 min，在4 °C下以10000 r/min离心10 min。吸取下层清液至10 mL比色管中，上层正己烷层用4 mL 50%甲醇水溶液重复提取一次，合并两次提取液，加50%甲醇水溶液定容至刻度，混匀，在4 °C下以10000 r/min离心10 min，吸取上清液过0.22 μm滤膜，滤液作为待测溶液。

7.2 测定

7.2.1 液相色谱仪器参考条件

- a) 色谱柱：C18柱，3.0 mm × 150 mm，2.5 μm，或相当者；
- b) 流动相：A相为0.1%乙酸水溶液，B相为乙腈，梯度洗脱条件见表1；
- c) 流速：0.4 mL/min；
- d) 柱温：40 °C；
- e) 进样量：5 μL。

表1 流动相梯度洗脱条件

时间/min	V（流动相 A）/%	V（流动相 B）/%
0	98	2
18	38	62
22	34	66
32	2	98
33	2	98
34	98	2
35	98	2

7.2.2 质谱参考条件

电离方式：电喷雾电离，正负离子模式；喷雾电压：5500 V/-4500 V；雾化气（GS1）：50 psi；气帘气（CUR）：35 psi；辅助加热气（GS2）：55 psi；离子源温度：500 °C；扫描模式：多反应监测（MRM）模式，23种物质的监测离子对相关参数设定见表2。

表2 23种兴奋剂的监测离子对相关参数设定表

序号	化合物名称	母离子 m/z	子离子 m/z	去簇电压 V	碰撞能量 V
1	麻黄碱	166.0	117.0*	84	26
		166.0	148.3	84	17
2	去甲乌药碱	272.1	107.0*	50	31
		272.1	255.1	50	20
3	土的宁	335.2	184.2*	90	50
		335.2	156.2	90	60
4	可卡因	304.2	182.3*	60	28
		304.2	150.1	60	35
5	泼尼松龙	361.2	343.2*	80	14

序号	化合物名称	母离子 m/z	子离子 m/z	去簇电压 V	碰撞能量 V
		361.2	147.2	80	34
6	泼尼松	359.2	147.2*	80	35
		359.2	341.2	80	15
7	氢化可的松	363.2	121.1*	80	31
		363.2	105.0	80	68
8	可的松	361.2	163.2*	80	34
		361.2	121.1	80	47
9	甲基泼尼松龙	375.2	339.2*	66	14
		375.2	161.2	66	28
10	倍他米松	393.2	355.2*	80	15
		393.2	337.3	80	19
11	地塞米松	393.2	373.4*	80	15
		393.2	355.2	80	15
12	倍氯米松	409.2	391.2*	80	15
		409.2	279.3	80	29
13	曲安奈德	435.2	339.2*	80	15
		435.2	397.2	80	15
14	氟尼缩松	435.2	339.1*	80	18
		435.2	321.1	80	19
15	群勃龙	271.2	253.2*	80	26
		271.2	199.2	80	32
16	地夫可特	442.3	124.1*	80	65
		442.3	142.1	80	45
17	睾酮	289.2	97.1*	113	29
		289.2	109.0	113	30
18	孕三烯酮	309.1	241.1*	120	29
		309.1	199.2	120	43
19	布地奈德	431.2	413.2*	80	15
		431.2	147.1	80	42
20	甲睾酮	303.2	108.9*	110	30
		303.2	97.0	110	29
21	雄酮	291.2	273.3*	70	13
		291.2	255.0	70	21
22	大麻酚	309.1	279.1*	-120	-40
		309.1	222.1	-120	-55
23	Δ^9 -四氢大麻酚	313.1	245.1*	-130	-34
		313.1	191.1	-130	-34

注：*该离子为定量离子

7.3 定性

取待测溶液与标准溶液在相同分析条件下测定，样品中如呈现定量离子对和定性离子对的色谱峰，被测成分的特征离子峰保留时间与标准溶液对应的保留时间一致，且选择的定性离子的相对丰度比与相当浓度标准品溶液的定性离子的相对丰度比的最大偏差不超过表3的规定，则可以判定样品中存在对应的兴奋剂成分。

表 3 定性判定时离子相对丰度的最大允许偏差

离子相对丰度 (k)	k>50%	50 %≥ k>20 %	20 %≥ k>10 %	k≤ 10 %
允许的最大偏差	±20%	±25%	±30%	±50%

7.4 定量测定

本标准采用外标校准曲线法定量测定。以23种兴奋剂的基质匹配标准工作溶液的浓度为横坐标，各自的定量离子的峰面积为纵坐标，绘制标准工作曲线，其线性相关系数应不小于0.99。并且保证所测样品中23中兴奋剂物质的响应值均在仪器的线性范围内，超过线性范围则应适当处理后重新测定。

7.5 平行试验

按照 7.1~7.4 步骤对同一试样进行平行试验测定。

7.6 空白试验

除不称取试样外，均按照 7.1~7.4 步骤进行。

7.7 结果计算

试样中23种兴奋剂含量的计算按公式（1）进行：

$$X_i = \frac{(c_i - c_0) \times V \times K}{m \times 1000} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

- X_i —— 试样中被测组分含量，单位为毫克每千克（mg/kg）；
- c_i —— 试样中被测组分峰面积对应的浓度，单位为微克每升（μg/L）；
- c_0 —— 空白试样中被测组分的浓度，单位为微克每升（μg/L）；
- V —— 试样定容体积，单位为毫升（mL）；
- K —— 稀释倍数；
- 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。

8 检出限和定量限

当称样量为 0.2 g，定容体积为 10 mL 时，本方法中 23 种兴奋剂成分的检出限均为 0.03 mg/kg，定量限均为 0.1 mg/kg。

9 允许差

在重复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15%。

10 回收率和精密度

多家实验室验证回收率为70.5%~119.8%，相对标准偏差小于15%（n=6）。

附录 A

23 种兴奋剂的标准物质信息表（中文名称、英文名称、CAS 号及分子式）

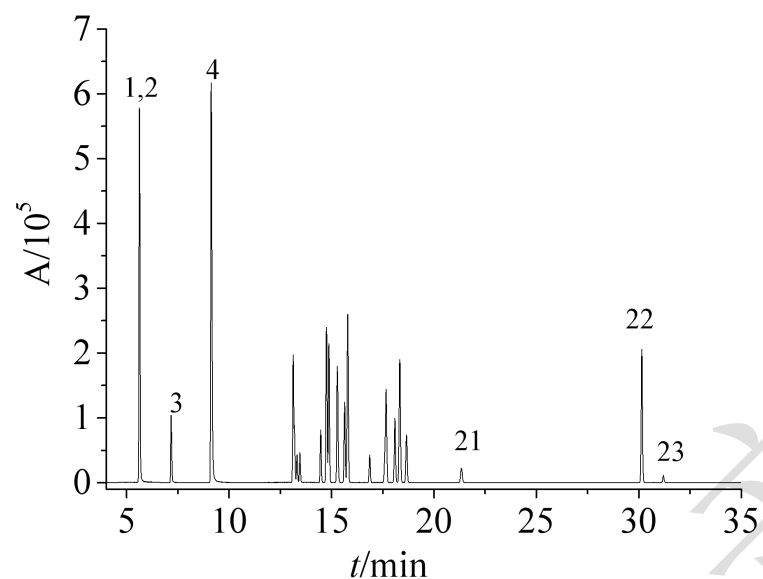
序号	中文名称	英文名称	CAS 号	分子式
1	麻黄碱	Ephedrine	50-98-6	C ₁₀ H ₁₅ NO
2	去甲乌药碱	Higenamine	5843-65-2	C ₁₆ H ₁₇ NO ₃
3	土的宁	Strychnine	57-24-9	C ₂₁ H ₂₂ N ₂ O ₂
4	可卡因	Cocaine	50-36-2	C ₁₇ H ₂₁ NO ₄
5	泼尼松龙	Prednisolone	50-24-8	C ₂₁ H ₂₈ O ₅
6	泼尼松	Prednisone	53-03-2	C ₂₁ H ₂₆ O ₅
7	氢化可的松	Hydrocortisone	50-23-7	C ₂₁ H ₃₀ O ₅
8	可的松	Cortisone	53-06-5	C ₂₁ H ₂₈ O ₅
9	甲基泼尼松龙	Methylprednisolone	83-43-2	C ₂₂ H ₃₀ O ₅
10	倍他米松	Betamethasone	378-44-9	C ₂₂ H ₂₉ FO ₅
11	地塞米松	Dexamethasone	50-02-2	C ₂₂ H ₂₉ FO ₅
12	倍氯米松	Beclomethasone	4419-39-0	C ₂₂ H ₂₉ ClO ₅
13	曲安奈德	Triamcinolone acetonide	76-25-5	C ₂₄ H ₃₁ FO ₆
14	氟尼缩松	Flunisolide	77326-96-6	C ₂₄ H ₃₁ FO ₆
15	群勃龙	Trenbolone	10161-33-8	C ₁₈ H ₂₂ O ₂
16	地夫可特	Deflazacort	14484-47-0	C ₂₃ H ₂₉ NO ₄
17	睾酮	Testosterone	58-22-0	C ₁₉ H ₂₈ O ₂
18	孕三烯酮	Gestrinone	16320-04-0	C ₂₁ H ₂₄ O ₂
19	布地奈德	Budesonide	51333-22-3	C ₂₅ H ₃₄ O ₆
20	甲睾酮	Methyltestosterone	58-18-4	C ₂₀ H ₃₀ O ₂
21	雄酮	Androsterone	53-41-8	C ₁₉ H ₃₀ O ₂
22	大麻酚	Cannabinol	521-35-7	C ₂₁ H ₂₆ O ₂
23	Δ ⁹ -四氢大麻酚	delta-9-Tetrahydrocannabinol	1972-08-3	C ₂₁ H ₃₀ O ₂

附录 B
不同基体样品加标回收率

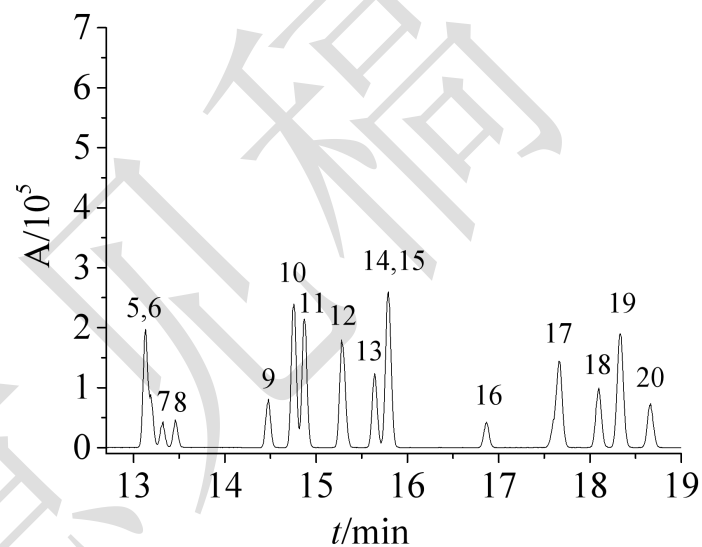
化合物	水基类样品加标回收率 (%)			膏霜类样品加标回收率 (%)			乳液类样品加标回收率 (%)		
	0.1mg/kg	0.2mg/kg	1.0mg/kg	0.1mg/kg	0.2mg/kg	1.0mg/kg	0.1mg/kg	0.2mg/kg	1.0mg/kg
麻黄碱	98.7	107.1	104.9	92.4	91.3	96.8	92.1	93.3	98.1
去甲乌药碱	104.7	110.8	112.0	89.6	82.2	88.7	92.4	91.7	98.3
士的宁	109.2	105.7	103.5	96.3	90.2	88.4	93.3	92.8	93.9
可卡因	99.3	107.8	102.2	82.0	79.0	77.9	91.5	94.0	93.7
泼尼松龙	93.9	97.4	95.0	80.1	77.4	80.4	87.6	85.8	89.6
泼尼松	96.5	100.6	96.8	82.6	81.2	82.2	89.8	88.8	92.9
氢化可的松	114.2	102.8	91.7	95.8	77.1	76.8	111.2	93.6	91.4
可的松	104.7	96.9	98.0	88.1	75.0	83.2	115.6	103.6	111.4
甲基泼尼松龙	92.2	101.6	96.4	87.9	88.9	91.4	82.2	80.7	86.7
倍他米松	86.3	94.0	94.0	78.9	79.7	89.6	87.7	89.6	98.1
地塞米松	94.9	96.3	97.6	82.8	79.1	90.4	95.7	93.7	105.5
倍氯米松	93.9	97.1	96.7	86.7	85.8	91.5	87.2	86.4	90.2
曲安奈德	93.9	94.0	90.6	90.8	85.4	87.5	93.0	85.7	88.3
氟尼缩松	93.1	91.1	89.6	87.9	80.7	88.9	86.1	83.0	89.0
群勃龙	95.1	97.5	96.7	90.2	86.9	95.0	88.5	87.5	92.3
地夫可特	95.9	96.3	97.9	83.6	78.9	84.7	92.9	91.6	97.6
睾酮	95.6	100.7	92.6	94.5	91.4	92.8	90.3	92.3	90.6
孕三烯酮	94.6	96.1	91.1	90.0	85.0	88.4	89.4	88.0	90.0
布地奈德	89.3	100.1	87.4	82.7	85.2	85.0	86.9	88.8	86.1
甲睾酮	90.7	98.1	98.1	81.2	84.5	89.8	86.4	88.1	95.5
雄酮	92.0	110.1	108.5	102.9	95.7	113.1	105.2	97.2	112.7
大麻酚	114.0	94.4	89.1	110.7	115.3	87.4	103.3	106.9	90.7
Δ ⁹ -四氢大麻酚	107.1	86.4	99.8	77.7	84.1	81.0	79.1	99.0	100.8

化合物	面膜类样品加标回收率 (%)			油基类样品加标回收率 (%)		
	0.1mg/kg	0.2mg/kg	1.0mg/kg	0.1mg/kg	0.2mg/kg	1.0mg/kg
麻黄碱	97.0	94.1	108.9	102.0	104.1	113.0
去甲乌药碱	105.1	98.5	115.8	112.8	111.3	116.9
士的宁	107.0	99.3	103.2	119.8	115.5	108.8
可卡因	88.3	93.7	89.8	103.8	103.1	106.0
泼尼松龙	88.5	86.5	95.2	97.8	91.5	100.1
泼尼松	92.6	91.2	99.1	104.0	97.0	102.7
氢化可的松	103.0	80.7	90.5	118.9	99.8	100.9
可的松	103.8	87.7	101.4	112.6	99.5	108.6
甲基泼尼松龙	89.1	87.2	93.6	96.8	96.8	100.6
倍他米松	79.5	88.4	93.9	90.4	92.9	100.9
地塞米松	87.7	86.8	98.1	95.6	91.2	103.3

化合物	面膜类样品加标回收率 (%)			油基类样品加标回收率 (%)		
	0.1mg/kg	0.2mg/kg	1.0mg/kg	0.1mg/kg	0.2mg/kg	1.0mg/kg
倍氯米松	89.7	86.8	96.5	96.2	91.9	99.7
曲安奈德	86.4	86.8	90.1	99.3	91.9	94.7
氟尼缩松	88.2	82.2	94.4	93.5	90.2	96.3
群勃龙	91.0	86.8	95.8	96.0	92.5	97.9
地夫可特	92.9	90.2	99.4	98.3	96.1	103.6
睾酮	91.9	91.2	97.3	102.5	98.4	98.4
孕三烯酮	92.2	89.5	93.8	96.7	92.1	88.1
布地奈德	86.9	86.9	90.5	92.5	94.9	92.5
甲睾酮	90.4	93.3	105.2	82.1	84.8	89.5
雄酮	111.1	99.7	119.7	102.6	103.2	109.8
大麻酚	99.7	90.4	80.9	83.2	83.7	83.2
Δ^9 -四氢大麻酚	87.1	82.0	88.4	78.6	80.5	83.4



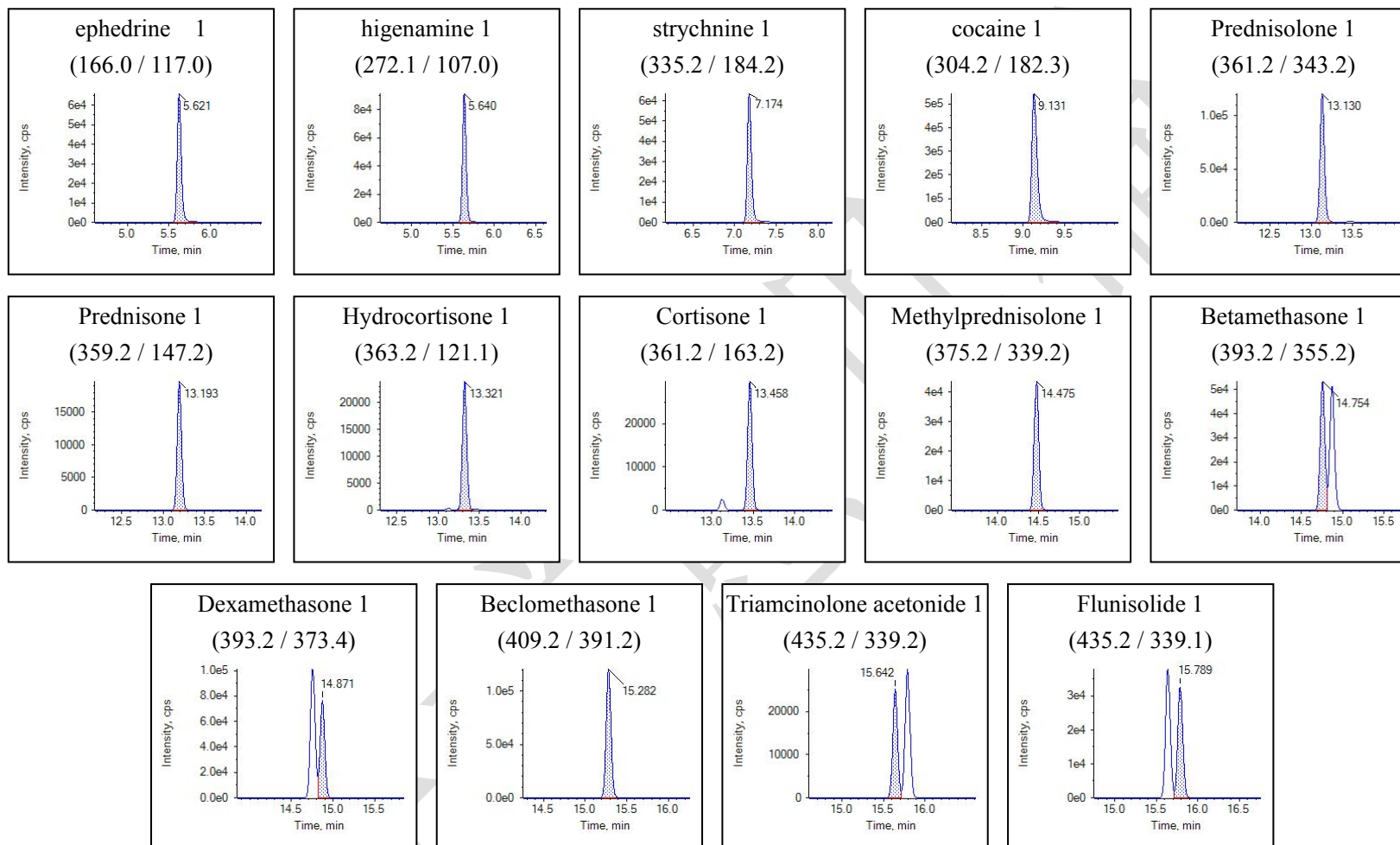
23 种兴奋剂总离子流色谱图



12.5min~19min 放大总离子流色谱图

(1, 2-麻黄碱, 去甲乌药碱; 3-士的宁; 4-可卡因; 5, 6-泼尼松龙, 泼尼松; 7-氢化可的松; 8-可的松; 9-甲基泼尼松龙; 10-倍他米松; 11-地塞米松; 12-倍氯米松; 13-曲安奈德; 14, 15-氟尼缩松, 群勃龙; 16-地夫可特; 17-睾酮; 18-布地奈德; 19-孕三烯酮; 20-甲睾酮; 21-雄酮; 22-大麻酚; 23- Δ^9 -四氢大麻酚)

图 1 标准溶液总离子流色谱图



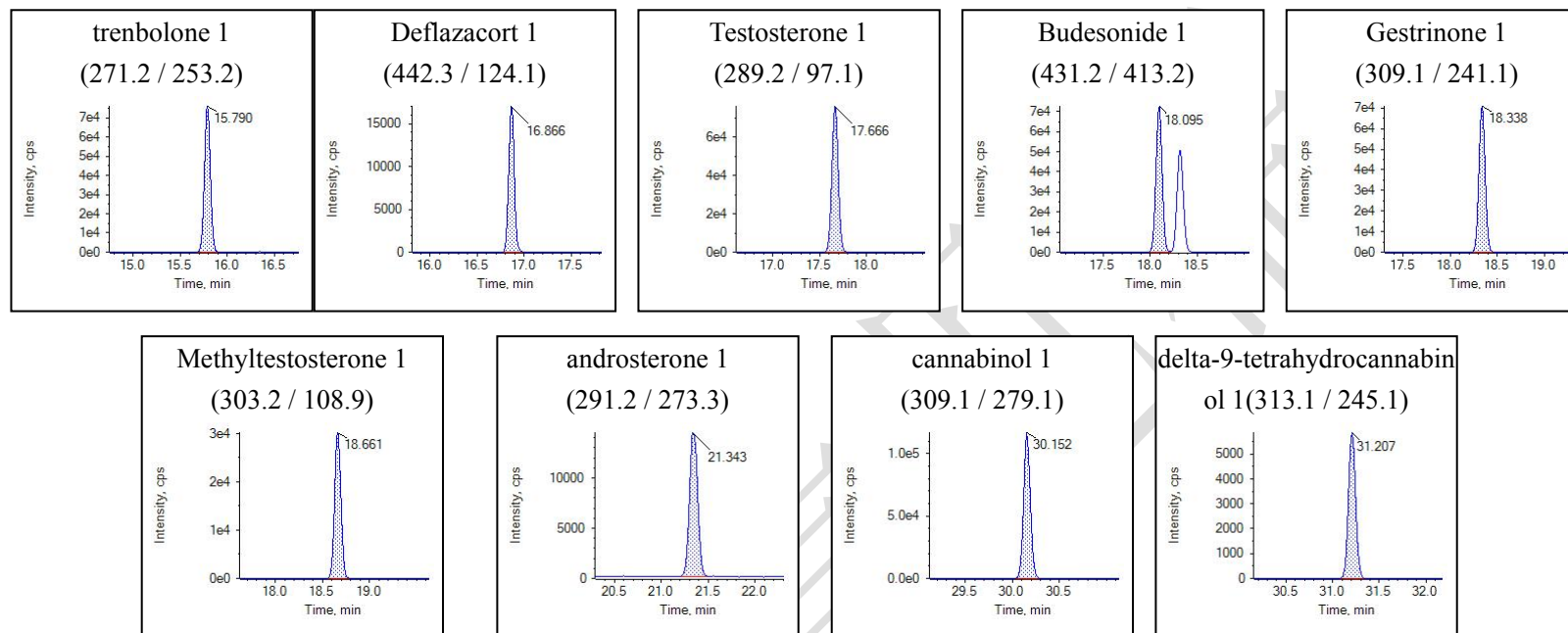


图 2.23 种兴奋剂定量离子提取色谱图