

DB37

山 东 省 地 方 标 准

DB37/T 3037—2017

化妆品中乌头碱及其盐的测定 液相色谱-串联质谱法

Determination of aconitines and aconitines salts in cosmetics
Liquid chromatography-tandem mass spectrometry

2017-10-25 发布

2017-11-25 实施

山东省质量技术监督局 发布

前 言

本标准按照GB/T 1.1—2009给出的规则起草。

本标准由山东省质量技术监督局提出。

本标准由山东省化妆品标准化技术委员会归口。

本标准起草单位：山东省产品质量检验研究院、山东省食品药品检验研究院。

本标准主要起草人：周莉莉、崔玉花、李丽、高勇、邹惠玲、许世明、张卉、祝建华。

化妆品中乌头碱及其盐的测定 液相色谱-串联质谱法

1 范围

本标准规定了化妆品中乌头碱、新乌头碱和次乌头碱及其盐的液相色谱-串联质谱测定方法。

本标准适用于化妆品中乌头碱、新乌头碱和次乌头碱及其盐的定性确证和定量测定。

本标准液相色谱-串联质谱法乌头碱、新乌头碱和次乌头碱的检出限均为 $2.0\ \mu\text{g/kg}$ 。

2 原理

试样用少量浓氨水溶解，乙腈提取，冰水浴超声，离心，用液相色谱-串联质谱法测定，外标法定量。

3 试剂和材料

除另有说明外，所用试剂均为分析纯，水为二次去离子水或重蒸水。

3.1 乙腈：色谱纯。

3.2 氨水。

3.3 0.05% (v/v) 氨水溶液：量取 0.5 mL 氨水，用超纯水稀释并定容至 1 L。

3.4 乌头碱标准品 (aconitine, CAS 号 302-27-2, C₃₄H₄₇N₀₁₁)：纯度大于等于 98%。

3.5 新乌头碱标准品 (mesaconitine, CAS 号 2752-64-9, C₃₃H₄₅N₀₁₁)：纯度大于等于 98%。

3.6 次乌头碱标准品 (aconitine, CAS 号 6900-87-4, C₃₃H₄₅N₀₁₀)：纯度大于等于 98%。

3.7 标准储备溶液：分别称取适量标准品，用甲醇溶解，分别配制成 100 $\mu\text{g/mL}$ 的标准储备液。 -18°C 避光保存。

3.8 混合标准中间溶液 (1 $\mu\text{g/mL}$)：分别准确吸取 1.00 mL 各标准储备溶液 (3.7) 至 100 mL 容量瓶中，用甲醇稀释至刻度，1 mL 该溶液分别含 1 μg 的乌头碱、1 μg 的新乌头碱和 1 μg 的次乌头碱。

3.9 混合标准工作溶液：根据需要，用初始比例的流动相由混合标准中间溶液 (3.8) 稀释成合适的混合标准工作溶液，现用现配。

3.10 0.22 μm 有机相过滤膜。

4 仪器和设备

4.1 液相色谱-串联质谱联用仪：配有电喷雾 (ESI) 电离源。

4.2 分析天平：感量 0.1 mg 和 0.01 g 各一台。

4.3 涡旋混合器。

4.4 超声波提取器。

4.5 离心机，大于 3000 r/min。

5 样品制备

称取化妆品试样0.5 g（精确至0.01 g）于30 mL离心管中，加入1 mL浓氨水，振摇，旋涡1 min后加入10 mL乙腈，冰水浴超声波提取10 min，3000 r/min离心5 min，静置过滤至10 mL刻度管中，氮吹至管中溶液少于5 mL，用乙腈定容至5.0 mL，再用0.05 %（v/v）氨水溶液（3.3）定容至10.0 mL，旋涡1 min，样液经0.22 μm滤膜过滤后供液相色谱—串联质谱测定。对乌头碱及其盐含量较高的样品，适当稀释后进样。

6 测定

6.1 标准工作曲线制备

用相应的空白样品基质提取液制备适当的混合标准浓度系列，按6.2和6.3规定测定并制备标准曲线。

6.2 液相色谱条件

以下为液相色谱参考条件：

- a) 色谱柱：C18 柱，50 mm×2.1 mm(i. d.)，1.7 μm，或其他性能相当者；
- b) 流动相及洗脱条件见表 1；
- c) 流速：0.3 mL/min；
- d) 柱温：40 ℃；
- e) 进样量：5 μL。

表1 流动相及梯度洗脱条件

时间/min	流动相 A（乙腈）	流动相 B（0.05 %氨水）
0.00	50	50
1.00	50	50
3.00	80	20
4.00	80	20
4.10	50	50
6.00	50	50

6.3 串联质谱条件

参见附录A。

6.4 液相色谱—串联质谱测定

6.4.1 定性确证

按照按照液相色谱—串联质谱条件测定样品和标准工作溶液，样品中待测物的保留时间与标准溶液中待测物的保留时间偏差在±2.5 %之内。每种化合物的质谱定性离子必须出现，至少应包括一个母离子和两个子离子，而且同一检测批次，对同一化合物，样品中目标化合物的两个子离子的相对丰度比与浓度相当的标准溶液相比，其允许偏差不超过表2规定的范围。

表2 定性时相对离子丰度的最大允许偏差

相对离子丰度/%	>50	>20~50	>10~20	≤10
允许相对偏差/%	±20	±25	±30	±50

6.4.2 定量测定

按照外标法进行定量计算。在上述色谱条件下,乌头碱、新乌头碱和次乌头碱参考保留时间约为1.99 min、1.28 min和2.84 min。标准溶液的液相色谱-电喷雾质量色谱图参见附录B中的图B.1。

6.5 结果计算

利用数据处理系统计算或按式(1)计算试样中乌头碱或新乌头碱或次乌头碱含量:

$$X = \frac{c \times V \times 1000}{m \times 1000} \dots\dots\dots (1)$$

式中:
X——试样中被测组分的含量,单位为微克每千克(μg/kg);
c——由标准曲线得到的被测组分溶液浓度,单位为纳克每毫升(ng/mL);
V——试样溶液最终定容的体积,单位为毫升(mL);
m——试样质量,单位为克(g)。

7 方法检出限

本方法乌头碱、新乌头碱和次乌头碱的检出限均为2.0 μg/kg。

8 回收率

在添加浓度2.0 μg/kg~200.0 μg/kg范围内,回收率在85%~105%之间,相对标准偏差小于10%。

9 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)
质谱参考条件

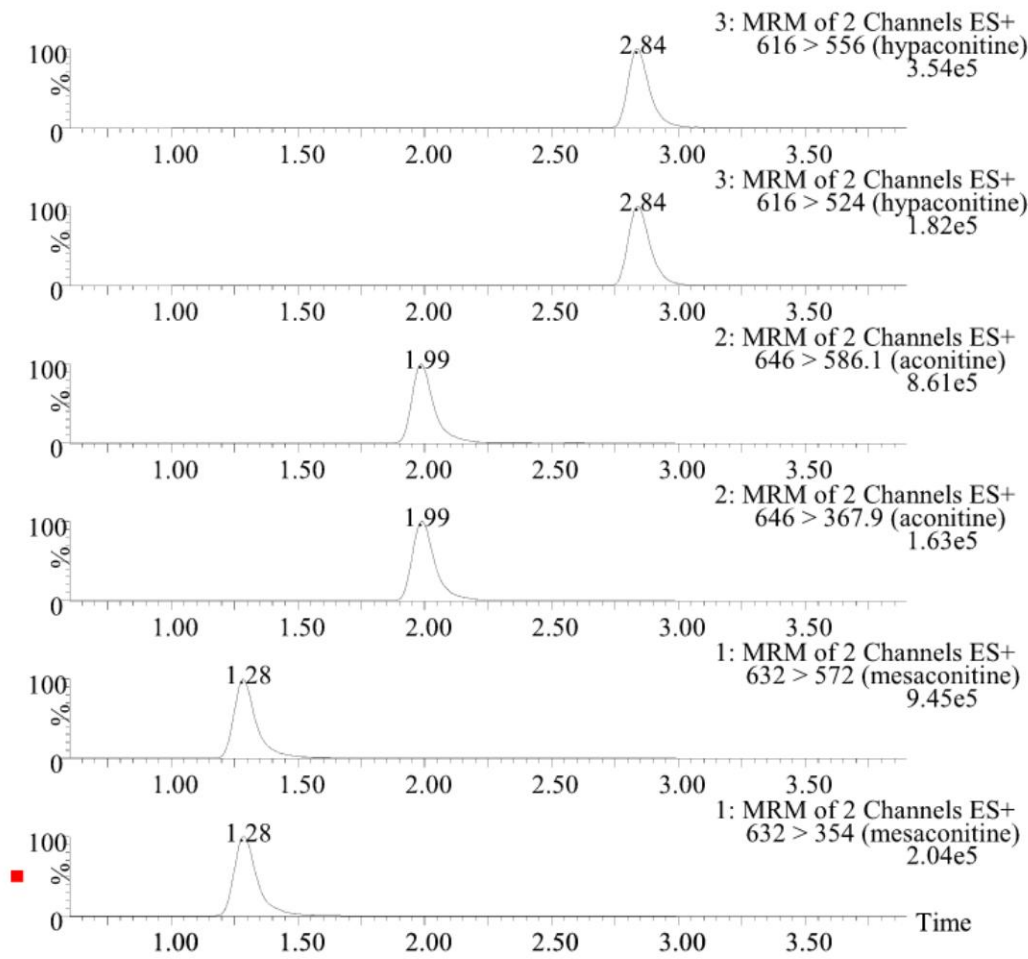
以下为质谱参考条件：

- a) 电离方式：电喷雾电离，正离子。
- b) 毛细管电压：3.0 kV。
- c) 离子源温度：110 ℃。
- d) 脱溶剂气温度：380 ℃。
- e) 脱溶剂气 (N₂) 流量：600 L/h。
- f) 锥孔气 (N₂) 流量：50 L/h。
- g) 碰撞室压力：3.0×10⁻³ mbar。
- h) 扫描方式：多反应监测 (MRM)。
- i) 母离子、子离子、锥孔电压及碰撞能量见表 A.1。

表A.1 母离子、子离子、锥孔电压及碰撞能量

待测物	保留时间 /min	母离子 (m/z)	锥孔电压 /V	子离子 (m/z)	碰撞能量 /eV
乌头碱	1.99	646	45	367.9	45
				586.1 ^a	35
新乌头碱	1.28	632	45	354	45
				572 ^a	35
次乌头碱	2.84	616	45	524	40
				556 ^a	35
^a 为定量离子。					

附 录 B
(资料性附录)
标准品液相色谱—电喷雾质量色谱图



图B.1 乌头碱、新乌头碱和次乌头碱混合标准溶液的液相色谱—电喷雾质量色谱图