

DB37

山 东 省 地 方 标 准

DB37/T 3032—2017

化妆品中苯菌灵和多菌灵的测定 液相色谱-串联质谱法

Determination of benomyl and carbendazim in cosmetics
by 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。

本标准由山东省化工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：薛霞、周莉莉、杨昊、卢兰香、王艳丽、刘桂亮、张艳侠。

化妆品中苯菌灵和多菌灵的测定 液相色谱-串联质谱法

1 范围

本标准规定了化妆品中苯菌灵和多菌灵的液相色谱-串联质谱测定方法。

本标准适用于膏霜类、乳液和液体化妆品中苯菌灵和多菌灵的测定。

本标准的检出限为1 $\mu\text{g/kg}$ 。

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，仅所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 原理

试样中加入甲醇-盐酸水溶液，恒温水浴振荡使苯菌灵完全转化为多菌灵，超声波提取，经液-液分配除去脂溶性杂质，以阳离子交换固相萃取柱富集、净化后，用液相色谱-串联质谱仪测定和确证，外标法定量。

4 试剂与材料

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。

4.1 甲醇：色谱纯。

4.2 正己烷。

4.3 甲酸。

4.4 氨水。

4.5 盐酸。

4.6 乙腈：色谱纯。

4.7 二氯甲烷：色谱纯。

4.8 0.01 mol/L 盐酸溶液：移取 0.9 mL 盐酸，用水稀释至 1 L。

4.9 0.1 %甲酸甲醇溶液：取 1 mL 甲酸，用甲醇稀释至 1 L。

4.10 0.1 %甲酸水溶液：取 1 mL 甲酸，用水稀释至 1 L。

4.11 初始比例流动相：量取 30 mL 0.1 %甲酸甲醇溶液（4.9）和 70 mL 0.1 %甲酸水溶液（4.10）混合均匀。

4.12 提取液：甲醇和 0.01 mol/L 盐酸溶液（4.8）等体积混合。

4.13 0.2 %甲酸水溶液：量取 2 mL 甲酸，用水稀释至 1 L。

4.14 5 %氨水甲醇溶液：量取 5 mL 氨水和 95 mL 甲醇，混匀，用前配制。

- 4.15 阳离子交换固相萃取柱：混合型阳离子交换固相萃取柱，基质为苯磺酸化的聚苯乙烯-二乙烯基苯高聚物，60 mg，3 mL，或相当者。使用前依次用 5 mL 甲醇、5 mL 水进行活化。
- 4.16 标准物质：多菌灵（CAS 10605-21-7）纯度不低于 99.0 %；苯菌灵（CAS 107804-35-2）纯度不低于 98.0 %。
- 4.17 多菌灵标准储备溶液：称取适量多菌灵标准品，用甲醇-0.1 mol/L 盐酸溶液（1:9，v:v）溶解并配制成 100 μ g/mL 的标准储备液。-18 $^{\circ}$ C 避光保存，有效期 6 个月。
- 4.18 苯菌灵工作溶液：称取适量苯菌灵标准品，用甲醇溶解并配制成 100 μ g/mL 的溶液。再用初始比例的流动相（4.11）逐级稀释 10 μ g/mL 和 100 ng/mL 的溶液。临用现配。
- 4.19 微孔滤膜：有机相，孔径 0.22 μ m。

5 仪器和设备

- 5.1 液相色谱-串联四级杆质谱仪：配有电喷雾离子源器。
- 5.2 固相萃取装置。
- 5.3 电子分析天平：感量分别为 0.1 mg 和 0.01 g。
- 5.4 超声波清洗器。
- 5.5 涡旋混合器。
- 5.6 离心机，最高转速不低于 6000 r/min。
- 5.7 氮气吹干仪。
- 5.8 恒温水浴振荡器。

6 测定步骤

6.1 试样处理

6.1.1 膏霜类化妆品提取

称取已粉碎并混匀的试样 2 g（精确至 0.01 g）于 50 mL 具塞塑料离心管中，加入 25 mL 提取液（4.12），涡旋混合 2 min，60 $^{\circ}$ C 下振荡 1 h，再超声波提取 15 min。取出冷却至室温，6000 r/min 离心 10 min，准确移取 15 mL 上清液于 50 mL 离心管中，用 15 mL 正己烷萃取，静置分层，弃去正己烷相，用 10 mL 正己烷再萃取一次，重复上述操作，甲醇-水相备用。

6.1.2 液体、乳液化妆品提取

称取已混匀的试样 2 g（精确至 0.01 g）于 25 mL 容量瓶中，用提取液（4.12）定容至刻度，摇匀，涡旋混合 2 min，全部转移至 50 mL 具塞塑料离心管，以下步骤同 6.1.1 “60 $^{\circ}$ C 下振荡 1 h，……甲醇-水相备用”。

6.1.3 净化

准确移取 10 mL 正己烷萃取过的甲醇-水相（6.1）转移至固相萃取柱（4.15）中，弃去流出物。依次用 5 mL 0.2 % 甲酸水溶液（4.13）和 5 mL 甲醇淋洗，抽至近干后，用 5 mL 5% 氨水甲醇溶液（4.14）洗脱。洗脱液于 40 $^{\circ}$ C 氮气吹浓缩至近干，用 1 mL 初始比例的流动相（4.11）定容，涡旋混合 1 min，经微孔滤膜（4.20）过滤后，供液相色谱-串联质谱仪测定。

6.2 基质空白溶液的制备

称取2 g（精确至0.01g）阴性试样，以下按6.1操作，制备基质空白溶液。

6.3 多菌灵基质标准溶液的制备

准确移取适量多菌灵标准储备液，用基质空白溶液（6.3）稀释成多菌灵浓度分别为1.0 ng/mL、5.0 ng/mL、10 ng/mL、50 ng/mL、100 ng/mL的基质标准溶液。

6.4 仪器参考条件

6.4.1 液相色谱参考条件

参考条件如下：

- a) 色谱柱：C18 柱，50 mm×2.1 mm(i, d)， 1.8 μm，或其他性能相当者；
- b) 流动相：0.1 %甲酸甲醇溶液（A）、0.1 %甲酸水溶液（B），梯度条件：0min~3min：保持 30 % A，4min：线性增至 100 % A，保持至 6min，6.1min：30 % A；
- c) 流速：0.2 mL /min；
- d) 柱温：25 ℃；
- e) 进样体积：10 μL。

6.4.2 质谱条件参考条件

参见附录A。

6.4.3 空白试验

除不加试样外，均按上述测定步骤进行。应确认不含有干扰被测组分的物质。

6.5 测定

将基质标准溶液和试样溶液在相同的条件下进样测定，若试样溶液和基质标准溶液质量色谱图中与多菌灵的保留时间一致，定性定量离子信噪比均大于3，且定性离子对的相对丰度偏差符合表1的规定，则可判定试样中检出多菌灵（或苯菌灵）。以基质标准溶液中多菌灵定量离子对的峰面积对相应的浓度绘制标准工作曲线，外标法定量。典型质量色谱图见附录B。

表1 定性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 %
允许的相对偏差	±20 %	±25 %	±30 %	±50 %

6.6 结果计算

6.6.1 试样中苯菌灵和多菌灵的含量（以多菌灵计）按式（1）计算：

$$X = \frac{c \times V \times V_1}{m \times V_2 \times 1000} \dots\dots\dots (1)$$

式中：
X ——试样中苯菌灵和多菌灵的含量（以多菌灵计），单位为毫克每千克（μ g/kg）；
c ——由标准曲线得到的试样溶液中多菌灵的浓度，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）；

V_1 ——加入提取液总体积，单位为毫升（mL）；

V_2 ——过固相萃取柱的提取液体积，单位为毫升（mL）。

6.6.2 以重复性条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示，结果保留两位有效数字。

7 精密度

在重复性条件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

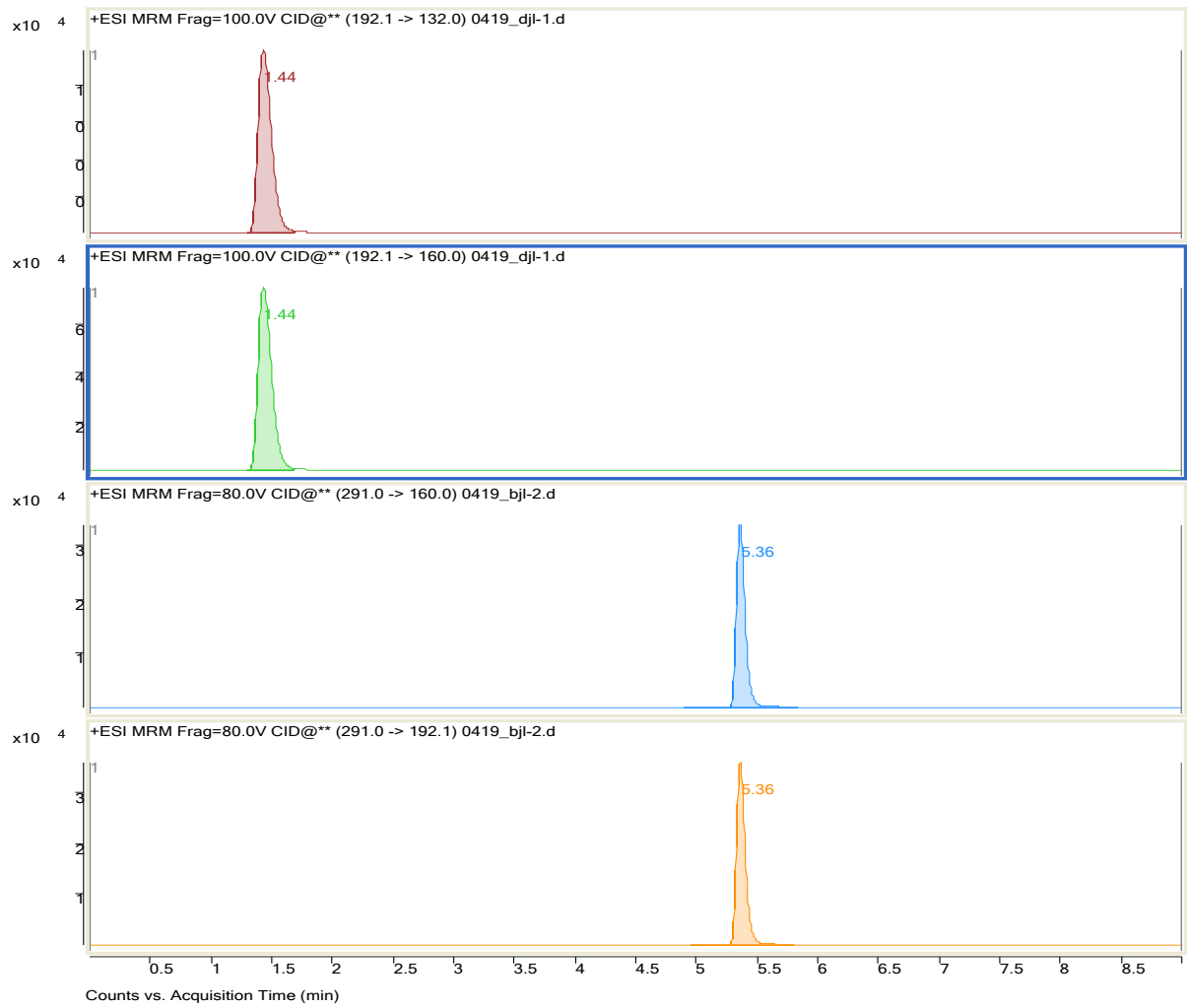
质谱参考条件:

- a) 电离方式: 电喷雾电离, 正离子;
- b) 毛细管电压: 3500 V;
- c) 干燥气温度: 325 °C;
- d) 鞘气温度: 350 °C;
- e) 干燥气流量: 10 L/min;
- f) 鞘气流量: 10 L/ min;
- g) 雾化气压力: 35 psi;
- h) 喷嘴电压: 500 V;
- i) 扫描方式: 多反应监测 (MRM) ;
- j) 其他质谱参数见表 A. 1。

表A.1 苯菌灵和多菌灵的主要质谱参数

化合物	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	裂解电压/v	驻留时间/ms	碰撞电压/ eV
苯菌灵	292.0	192.1 ^a	100	80	5
		160.0	100	80	25
多菌灵	192.1	160.0a	80	80	15
		132.0	80	80	35
^a 定量离子。					

附 录 B
(资料性附录)
多菌灵和苯菌灵多反应监测色谱图



图B.1 苯菌灵和多菌灵标样的多反应监测色谱图