

# DB37

山 东 省 地 方 标 准

DB37/T 3031—2017

---

## 化妆品中斑蝥素的测定 液相色谱-质谱/质谱法

Determination of cantharidin in cosmetics—LC-MS/MS method

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、高勇、李丽、张卉、祝建华、邹惠玲、许士明。

# 化妆品中斑蝥素的测定 液相色谱-质谱/质谱法

## 1 范围

本标准规定了化妆品中斑蝥素的液相色谱-质谱/质谱测定方法。

本标准适用于化妆品中斑蝥素的检测。

本标准液相色谱-质谱/质谱法的检出限为0.05 g/kg。

## 2 原理

化妆品中的斑蝥素用甲醇超声提取，离心过滤，经正己烷脱脂，液相色谱-质谱/质谱法测定和确证，外标法定量。

## 3 试剂与材料

除非另有说明，所有试剂均为分析纯，水为二次蒸馏水。

3.1 甲醇：色谱纯。

3.2 正己烷。

3.3 斑蝥素标准品 (cantharidin, CAS 号 56-25-7, C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>O<sub>4</sub>)：纯度≥99 %。

3.4 斑蝥素标准储备液：准确称取适量斑蝥素标准品，用甲醇（4.1）溶解并定容至刻度，配制成浓度为1 mg/mL的标准储备液，冰箱冷藏保存。

3.5 标准工作溶液：将标准储备液用甲醇-水（1+9）溶液分别稀释为0.5 μg/mL、1 μg/mL、2 μg/mL、5 μg/mL、10 μg/mL、25 μg/mL的系列标准溶液。冰箱冷藏保存。

## 4 仪器和设备

4.1 高效液相色谱-质谱仪：配有电喷雾离子源。

4.2 分析天平：感量分别为0.0001 g和0.01 g。

4.3 超声波清洗器。

4.4 漩涡混合器。

4.5 离心机，大于6000 r/min。

4.6 微孔滤膜：0.22 μm有机相过滤膜。

## 5 测定步骤

### 5.1 样品处理

称取化妆品试样1.0 g（精确至0.01 g）于30 mL离心管中，加入5 mL甲醇旋涡1分钟，超声提取10 min，6000 r/min离心5分钟后取上层清液。残渣加入5 mL甲醇重复提取一次，合并上清液。加入4 mL正己烷，振荡萃取20分钟后弃去正己烷层，从下层清液中取1.0 mL于10 mL刻度管中，用水定容至10 mL刻度，旋

涡混匀，过微孔滤膜（5.6），供液相色谱-质谱/质谱仪测定。对斑蝥素含量较高的样品，适当稀释后进样。

## 5.2 测定

### 5.2.1 液相色谱参考条件

以下为液相参考条件：

- a) 色谱柱： $C_{18}$ 柱，100 mm×2.1 mm (i.d.)，1.7  $\mu$ m，或相当者；
- b) 流动相：甲醇-水，梯度洗脱程序见表1；

表1 流动相梯度洗脱程序

时间/min	甲醇/%	水/%
0	10	90
1	10	90
3	30	70
5	100	0
6	100	0
6.1	10	90
8	10	90

- c) 流速：0.3 mL/min；
- d) 柱温：30  $^{\circ}$ C；
- e) 进样量：5  $\mu$ L。

### 5.2.2 质谱参考条件

以下为质谱参考条件：

- a) 离子源：电喷雾离子源；
- b) 扫描方式：负离子扫描；
- c) 毛细管电压：3.0 kV；
- d) 锥孔电压：35 V；
- e) 离子源温度：110  $^{\circ}$ C；
- f) 脱溶剂气温度：450  $^{\circ}$ C；
- g) 脱溶剂气 ( $N_2$ ) 流量：800 L/h；
- h) 锥孔气 ( $N_2$ ) 流量：50 L/h；
- i) 碰撞室压力： $3.0 \times 10^{-3}$  mbar；
- j) 扫描方式：多反应监测 (MRM)；m/z195/151 (定量离子，碰撞能量 12 eV)、195/122 (碰撞能量 20 eV)。

### 5.2.3 液相色谱串联质谱测定

根据试样中被测样液的含量情况，选取斑蝥素的响应值在仪器线性响应范围内的浓度进行测定，如超出仪器线性响应范围应进行稀释。在上述色谱条件下斑蝥素的参考保留时间为4.10 min，标准溶液的多反应监测 (MRM) 色谱图参见附录A中的图A.1。

### 5.2.4 液相色谱-质谱/质谱确证

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，样品中斑蝥素的保留时间与标准溶液中斑蝥素的保留时间偏差在±2.5 %之内。定量测定时采用标准曲线法测定。定性时应当与浓度相当标准工作溶液的相对丰度一致，相对丰度允许偏差不超过表2规定的范围，则可判断样品中存在斑蝥素。

表2 定性确证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
允许的相对偏差/%	±20	±25	±30	±50

## 6 结果计算和表述

试样中斑蝥素的含量由色谱数据处理软件或按式（1）计算获得：

$$Y = \frac{A \times c \times V}{A_s \times m \times 1000} \times f \quad \dots \dots \dots (1)$$

式中：

- Y —— 试样中斑蝥素的含量，单位为克每千克（g/kg）；
- A —— 样液中斑蝥素的峰面积；
- c —— 标准溶液中斑蝥素的浓度，单位为微克每毫升（μg/mL）；
- V —— 试样溶液最终定容的体积，单位为毫升（mL）；
- A<sub>s</sub> —— 标准溶液中斑蝥素的峰面积；
- m —— 试样质量，单位为克（g）；
- f —— 稀释倍数。

## 7 方法定量限

本方法斑蝥素的检出限为0.05 g/kg。

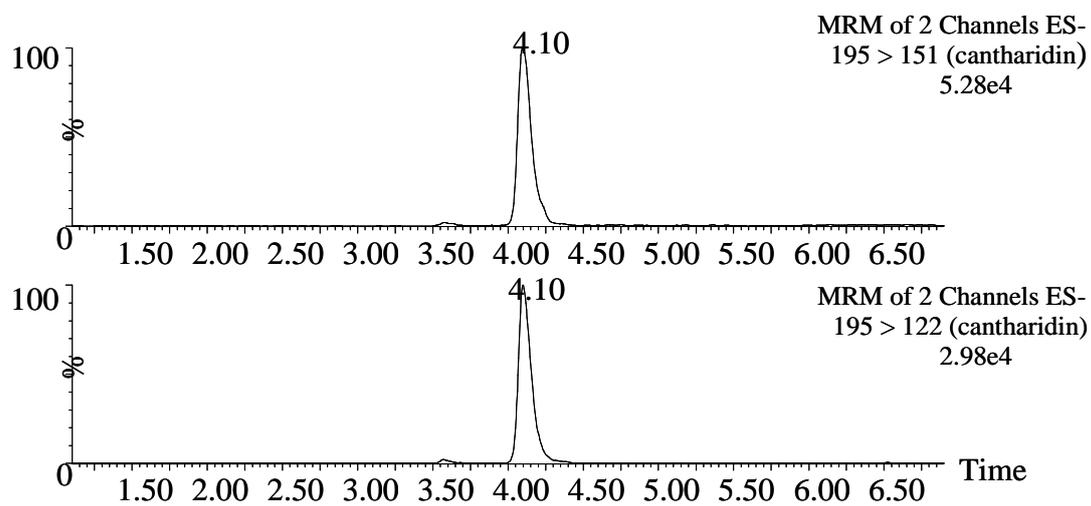
## 8 回收率

在添加浓度0.05 g/kg~5 g/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)  
斑蝥素标准品多反应监测 (MRM) 色谱图



图A.1 斑蝥素标准品多反应监测 (MRM) 色谱图