ICS 71.100.70
Y 42

中华人民共和国国家标准

GB/T XXXXX—XXXX

化妆品中 11 种唑类抗真菌药物的测定 液相色谱串联质谱法

Determination of eleven kinds of azoles antifungal agents in cosmetics—Liquid chromatography tandem mass spectrometry

（在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上）

（征求意见稿）

XXXX－XX－XX 发布　　XXXX－XX－XX 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会　发布

前　　言

本标准按照 GB/T 1.1-2009 给出的规则起草。
本标准由中国轻工业联合会提出。
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：
本标准主要起草人：

引　言

本标准的被测物质特康唑、酮康唑、氟康唑、联苯苄唑、克霉唑、益康唑、咪康唑、伏立康唑、奥西康唑、芬替康唑和伊曲康唑是我国《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。

目前我国尚未规定特康唑、酮康唑、氟康唑、联苯苄唑、克霉唑、益康唑、咪康唑、伏立康唑、奥西康唑、芬替康唑和伊曲康唑的限量值，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 11 种唑类抗真菌药物的测定 液相色谱串联质谱法

1 范围

本标准规定了化妆品中特康唑、酮康唑、氟康唑、联苯苄唑、克霉唑、益康唑、咪康唑、伏立康唑、奥西康唑、芬替康唑和伊曲康唑的液相色谱串联质谱测定方法。

本标准适用于水剂类、非蜡基膏霜类、乳液类化妆品中特康唑、酮康唑、氟康唑、联苯苄唑、克霉唑、益康唑、咪康唑、伏立康唑、奥西康唑、芬替康唑和伊曲康唑的测定。

本标准的方法检出限和定量限：氟康唑、咪康唑、伏立康唑、克霉唑、联苯苄唑、芬替康唑、益康唑的检出限为0.10 mg/kg，定量限为0.30 mg/kg；酮康唑、特康唑、奥西康唑、伊曲康唑的检出限为0.20 mg/kg，定量限为0.60 mg/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

试样经饱和氯化钠溶液分散后，用酸化乙腈溶液提取，提取液经正己烷净化、离心、过滤后，用高效液相色谱串联质谱法测定，外标法定量。

4 试剂或材料

除另有说明外，所用试剂均为分析纯，水为GB/T 6682规定的一级水。

4.1 **乙腈**：色谱纯。

4.2 **正己烷**：色谱纯。

4.3 **甲酸**：色谱纯。

4.4 **氯化钠**：分析纯。

4.5 **0.1%甲酸溶液**：准确量取 1 mL 甲酸（4.3）至 1 000 mL 容量瓶中，用水稀释至刻度。

4.6 **0.1%甲酸乙腈溶液**：准确量取 1 mL 甲酸（4.3）至 1000mL 容量瓶中，用乙腈（4.1）稀释至刻度。

4.7 **1%甲酸乙腈溶液**：准确量取 10 mL 甲酸（4.3）至 1000mL 容量瓶中，用乙腈（4.1）稀释至刻度。

4.8 **饱和氯化钠溶液**：称取 25.0 g 氯化钠（4.4），加入 50 mL 水，搅拌溶解，静置，上清液备用。

4.9 **标准物质**：11 种标准物质的中文名称、INCI（国际化妆品原料名称）名称、英文名称、CAS 号、分子式、相对分子质量及化学结构式参见附录 A 表 A.1，各标准物质纯度均不小于 98%。

4.10 **混合标准中间工作溶液：**分别准确称取适量标准物质（4.9）（精确至 0.1 mg），用乙腈（4.1）配制成质量浓度为 1 000 μg/mL 的单标标准贮备液（于 4℃避光保存，可保存 3 个月）。准确移取各单标标准储备液 0.5 mL，置于 50 mL 棕色容量瓶中，用乙腈（4.1）定容，制得混合标准中间工作溶液（各为 10 μg/mL，于 4℃避光保存）。

4.11 **滤膜：**孔径为 0.22 μm 的有机系滤膜。

5 仪器设备

5.1 **高效液相色谱-三重四级杆质谱联用仪：**配有电喷雾离子源。

5.2 **分析天平：**感量 0.001 g 和 0.0001 g。

5.3 **漩涡振荡器。**

5.4 **超声波清洗仪。**

5.5 **离心机：**最高转速不低于 4 000 r/min。

6 试验步骤

6.1 试样处理

称取0.5 g（精确至 0.001 g）试样，置于50 mL 具塞塑料离心管中，加入5 mL饱和氯化钠溶液（4.8），混匀，然后准确加入10 mL 1%甲酸乙腈溶液（4.7），于漩涡振荡器上振荡混匀后，超声提取15 min，冷却至室温，加入5 mL正己烷（4.2），涡旋振荡1 min，然后4 000 r/min 离心2 min，下层清液经滤膜过滤后供高效液相色谱-三重四级杆质谱联用仪测定。

6.2 测定

6.2.1 高效液相色谱参考工作条件

高效液相色谱参考工作条件如下：

a) 色谱柱：C_8柱，3.0 μm，150 mm × 2.1 mm（内径）；

b) 流动相：0.1%甲酸乙腈溶液（4.6）和0.1%甲酸溶液（4.5），梯度洗脱条件见表1；

c) 流速：0.3 mL/min；

d) 柱温：35℃；

e) 进样量：2 μL。

表1 高效液相色谱梯度洗脱条件

时间（min）	0.1%甲酸乙腈溶液（%）	0.1%甲酸溶液（%）
0.0	15	85
2.0	70	30
12.0	85	15
12.1	15	85
15.0	15	85

6.2.2 质谱参考工作条件

质谱参考工作条件如下：

a) 离子源：电喷雾离子源（ESI）；

b) 扫描方式：正离子扫描；

d) 干燥气：氮气，温度310℃，流速11 L/min；

e) 雾化气：氮气，压力103.4 kPa；

f) 毛细管电压：3 000V。

c) 检测方式：多反应监测（MRM）；

g) 母离子、子离子、去簇电压及碰撞电压见表2。

表 2　11 种唑类抗真菌药物的质谱参数

化合物	保留时间（min）	母离子（*m/z*）	子离子（*m/z*）	去簇电压（V）	碰撞电压（V）
特康唑	5.59	532.2	219.1[a]，277.3	380	36.0，32.0
酮康唑	5.61	531.2	489.1[a]，219.1	380	32.0，40.0
氟康唑	5.90	307.0	219.9[a]，238.1	380	12.0，12.0
联苯苄唑	6.09	311.1	243.1[a]，165.1	380	4.0，50.0
克霉唑	6.56	277.0	165.1[a]，241.1	380	24.0，24.0
益康唑	7.00	381.0	125.0[a]，193.0	380	44.0，16.0
咪康唑	8.36	417.0	159.0[a]，123.1	380	28.0，50.0
伏立康唑	8.92	350.1	127.0[a]，281.1	380	36.0，16.0
奥西康唑	9.65	430.0	234.0[a]，159.0	380	32.0，28.0
芬替康唑	9.81	455.1	199.1[a]，167.2	380	36.0，48.0
伊曲康唑	10.5	705.2	392.2[a]，432.2	380	40.0，32.0
[a] 定量离子					

6.2.3 标准工作曲线绘制

取相应的阴性样品，按照6.1步骤进行操作处理，得到空白样品基质提取液。用空白样品基质提取液逐级稀释混合标准中间工作溶液（4.10），得到质量浓度为10.0 μg/L、20.0 μg/L、40.0 μg/L、80.0 μg/L、160 μg/L、320 μg/L、和640 μg/L的系列混合标准工作溶液（现配现用）。将混合标准工作溶液按高效液相色谱和质谱参考工作条件（6.2.1和6.2.2）进行测定，以定量离子色谱峰的峰面积为纵坐标，与其对应的溶液浓度为横坐标作图，绘制标准工作曲线。11种唑类抗真菌药物标准物质溶液的多反应监测色谱图参见附录B图B.1。

6.2.4 试样测定

按高效液相色谱和质谱参考工作条件（6.2.1 和 6.2.2）测定试样溶液（6.1）。如果试样中待测物质的色谱峰保留时间与标准溶液的一致，并且在扣除背景后的试样质谱图中，所选择的离子均出现，而且选择离子的相对丰度与标准物质的进行比较，相对偏差不超过表 3 规定的范围，可判定为试样中含有对应的待测物。记录定量离子色谱峰的峰面积，以外标法定量。试样溶液中被测物的响应值均应在标准曲线的线性范围之内，超出线性范围的试样溶液可用 1%甲酸乙腈溶液（4.7）稀释后进行测定。

表 3　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
允许的最大偏差 (%)	±20	±25	±30	±50

6.3　空白试验

除不称取试样外，均按6.1～6.2进行测定。

7　试验数据处理

结果按下式计算：

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

式中：

X_i——试样中被测组分的含量，单位为毫克每千克 (mg/kg)；

c_i——从标准曲线得到的试样溶液中被测组分的质量浓度，单位为微克每升 (μg/L)；

c_0——从标准曲线得到的空白样品溶液中被测组分的质量浓度，单位为微克每升 (μg/L)；

V——试样溶液定容体积，单位为毫升 (mL)；

m——试样质量，单位为克 (g)。

结果精确至小数点后一位数字。

8　回收率和精密度

氟康唑、咪康唑、伏立康唑、克霉唑、联苯苄唑、芬替康唑、益康唑在添加浓度为0.30 mg/kg ~ 3.00 mg/kg范围内，回收率在80% ~ 110 %之间，相对标准偏差小于10%。

酮康唑、特康唑、奥西康唑、伊曲康唑在添加浓度为0.60 mg/kg ~ 6.00 mg/kg范围内，回收率在80% ~ 110 %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应超过算术平均值的 10%。

附　录　A
（资料性附录）
11 种唑类抗真菌药物标准物质的信息

11种唑类抗真菌药物的中文名称、INCI名称、英文名称、CAS号、分子式、相对分子质量及化学结构式参见表A.1。

表 A.1 11 种唑类抗真菌药物的中文名称、INCI 名称、英文名称、CAS 号、分子式、相对分子质量及化学结构式

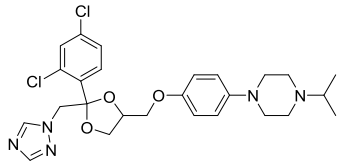
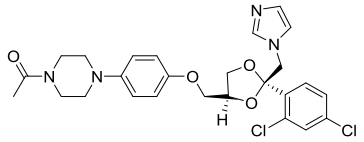
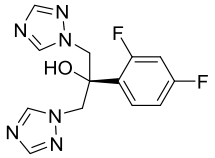
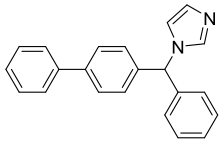
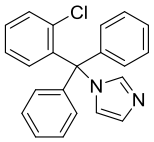
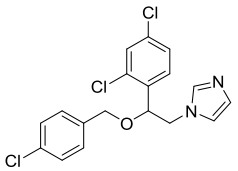
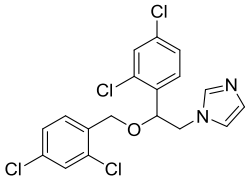
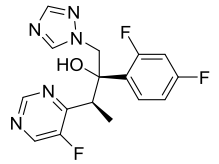
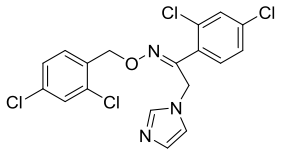
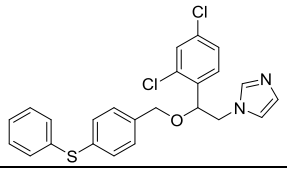
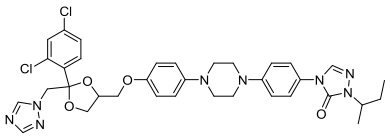
序号	中文名称	INCI 名称	英文名称	CAS 号	分子式	相对分子质量	化学结构式
1	特康唑	/	Terconazole	67915-31-5	$C_{26}H_{31}Cl_2N_5O_3$	532.5	
2	酮康唑	Ketoconazole	Ketoconazole	65277-42-1	$C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$	531.4	
3	氟康唑	/	Fluconazole	86386-73-4	$C_{13}H_{12}F_2N_6O$	306.3	
4	联苯苄唑	Bifonazole	Bifonazole	60628-96-8	$C_{22}H_{18}N_2$	310.4	
5	克霉唑	Clotrimazole	Clotrimazole	23593-75-1	$C_{22}H_{17}ClN_2$	344.8	
6	益康唑	/	Econazole	27220-47-9	$C_{18}H_{15}Cl_3N_2O$	381.7	
7	咪康唑	Miconazole	Miconazole	22916-47-8	$C_{18}H_{14}Cl_4N_2O$	416.1	

表 A.1 11 种唑类抗真菌药物的中文名称、INCI 名称、英文名称、CAS 号、分子式、相对分子质量及化学结构式（续）

序号	中文名称	INCI 名称	英文名称	CAS 号	分子式	相对分子质量	化学结构式
8	伏立康唑	/	Voriconazole	137234-62-9	$C_{16}H_{14}F_3N_5O$	349.3	
9	奥西康唑	/	Oxiconazole	64211-45-6	$C_{18}H_{13}Cl_4N_3O$	429.1	
10	芬替康唑	/	Fenticonazole	72479-26-6	$C_{24}H_{20}Cl_2N_2OS$	455.4	
11	伊曲康唑	Itraconazole	Itraconazole	84625-61-6	$C_{35}H_{38}Cl_2N_8O_4$	705.6	

附　录　B
（资料性附录）

11 种唑类抗真菌药物的多反应监测色谱图

11 种唑类抗真菌药物标准物质溶液的多反应监测色谱图参见图 B.1

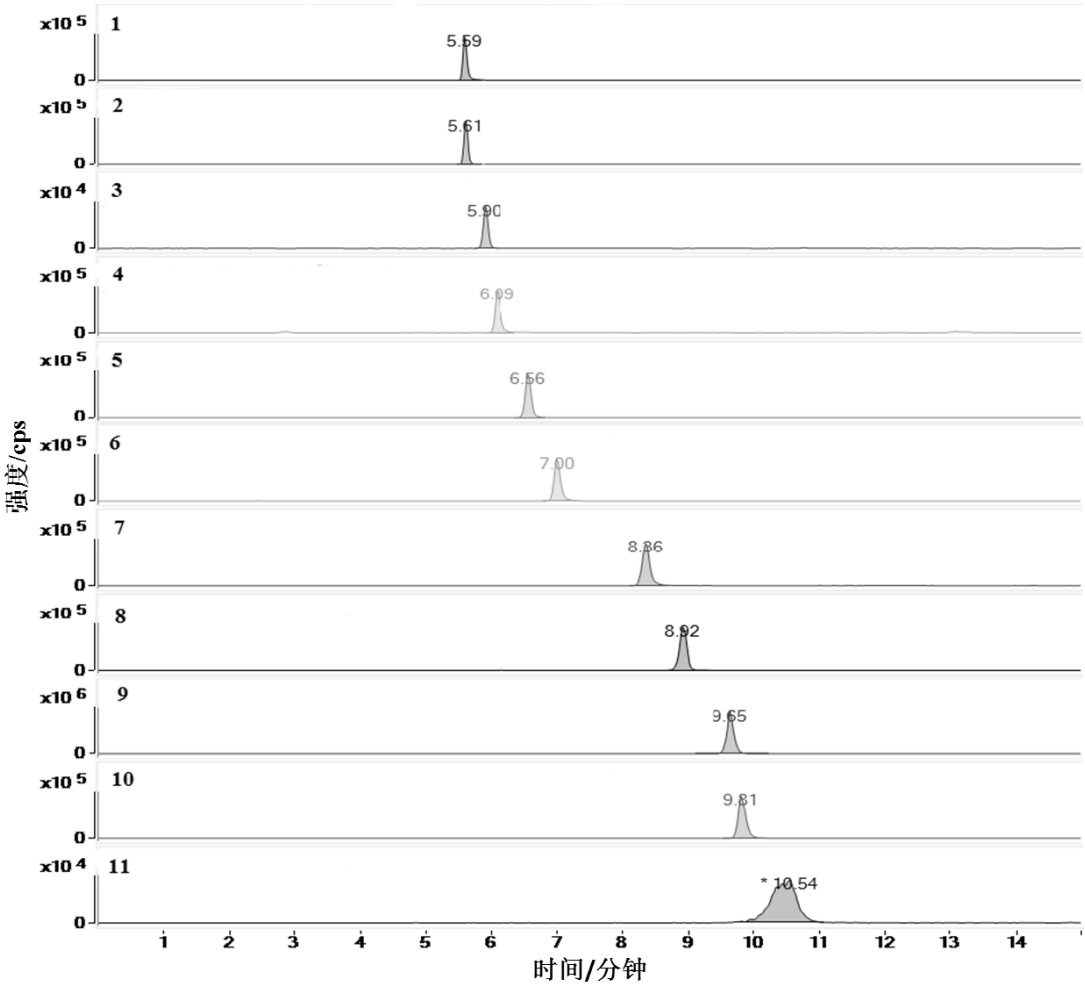


图 B.1　11 种唑类抗真菌药物的多反应监测色谱图（1 特康唑，2 酮康唑，3 氟康唑，4 联苯苄唑，5 克霉唑，6 益康唑，7 咪康唑，8 伏立康唑，9 奥西康唑，10 芬替康唑，11 伊曲康唑）