ICS 71.100.70
Y 42

中华人民共和国国家标准

GB/T XXXXX—XXXX
a

化妆品中15种喹诺酮类抗生素的测定 液相色谱-串联质谱法

Determination of 15 quinolones 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）

b （征求意见稿）

c

-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/T1.1-2009 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/TC257）归口。
本标准起草单位：
本标准主要起草人：

引　　言

本标准的被测物质依诺沙星、麻保沙星、诺氟沙星、氧氟沙星、氟罗沙星、培氟沙星、环丙沙星、洛美沙星、丹诺沙星、恩诺沙星、奥比沙星、沙拉沙星、司帕沙星、双氟沙星和莫西沙星是我国《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。

目前我国尚未规定依诺沙星、麻保沙星、诺氟沙星、氧氟沙星、氟罗沙星、培氟沙星、环丙沙星、洛美沙星、丹诺沙星、恩诺沙星、奥比沙星、沙拉沙星、司帕沙星、双氟沙星和莫西沙星的限量值，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15种喹诺酮类抗生素的测定　液相色谱-串联质谱法

1　范围

本标准规定了化妆品中依诺沙星、麻保沙星、诺氟沙星、氧氟沙星、氟罗沙星、培氟沙星、环丙沙星、洛美沙星、丹诺沙星、恩诺沙星、奥比沙星、沙拉沙星、司帕沙星、双氟沙星和莫西沙星的液相色谱-串联质谱测定方法。

本标准适用于水剂类、乳液类和非蜡基膏霜类化妆品中依诺沙星、麻保沙星、诺氟沙星、氧氟沙星、氟罗沙星、培氟沙星、环丙沙星、洛美沙星、丹诺沙星、恩诺沙星、奥比沙星、沙拉沙星、司帕沙星、双氟沙星和莫西沙星的测定。

本标准的方法检出限和定量限：15种喹诺酮类抗生素的检出限均为0.15 mg/kg，定量限均为0.50 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

试样采用酸化乙腈提取，离心后合并提取液并浓缩，正己烷净化，用液相色谱-串联质谱仪测定，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　**甲酸**：色谱纯。

4.3　**正己烷**：色谱纯。

4.4　**0.1%甲酸乙腈溶液**：准确量取1.0 mL甲酸（4.2）至1 000 mL容量瓶中，用乙腈（4.1）稀释至刻度。

4.5　**0.1%甲酸溶液**：准确量取1.0 mL甲酸（4.2）至1 000 mL容量瓶中，用水稀释至刻度。

4.6　**定容液**：准确量取10 mL乙腈（4.1）和90 mL 0.1%甲酸溶液（4.5），混匀。

4.7　**乙腈饱和的正己烷溶液**：量取20 mL乙腈（4.1），加入到40 mL正己烷（4.3）中，混匀，静置，上层清液备用。

4.8 **标准物质**：15 种喹诺酮类抗生素标准物质的中文名称、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，纯度均不小于 98%。

4.9 **混合标准工作溶液**：分别准确称取适量标准物质（4.8）（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贮备液 0.25 mL 于 50 mL 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 5 μg/mL，于 4℃避光保存）。取相应的空白样品，按照 6.1 进行处理，得到基质溶液。准确移取适量混合标准中间工作溶液，用基质溶液逐级稀释成质量浓度为 5.0 μg/L、10 μg/L、20 μg/L、50 μg/L、100 μg/L、200 μg/L 的系列混合标准工作溶液（现配现用）。

4.10 **滤膜**：孔径为 0.22 μm 的有机系滤膜。

5 仪器设备

5.1 **液相色谱-三重四极杆质谱联用仪**：配有电喷雾离子源。

5.2 **分析天平**：感量 0.001 g 和 0.0 001g。

5.3 **涡旋振荡器**。

5.4 **超声波清洁仪**。

5.5 **离心机**：最高转速不低于 4 000 r/min。

5.6 **氮吹仪**。

6 试验步骤

6.1 试样处理

称取试样 1.0 g（精确至 0.001 g），置于 15 mL 具塞塑料离心管中，加入 8 mL 0.1%甲酸乙腈溶液（4.4），涡旋振荡 1 min，超声提取 20 min，4000 r/min 离心 2 min，取上清液。残渣用 8 mL 0.1%甲酸乙腈溶液（4.4）重复提取一次，合并上清液，用 0.1%甲酸乙腈溶液（4.4）定容至 25 mL。准确移取 1.0 mL 上述提取液，于 50℃水浴中氮吹至近干，用定容液（4.6）定容至 2.0 mL，加入 2 mL 乙腈饱和的正己烷溶液（4.7），涡旋振荡 1 min，4000 r/min 离心 2 min，下层清液经滤膜过滤后供液相色谱-三重四极杆质谱联用仪测定。

6.2 测定

6.2.1 液相色谱参考工作条件

液相色谱参考工作条件如下：

a) 色谱柱：C_{18} 柱，1.9 μm，100 mm×2.1 mm（内径）；
b) 流动相： 0.1%甲酸乙腈溶液（4.4）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：30℃；
e) 进样量：5 μL；

表1　高效液相色谱梯度洗脱条件

时间（min）	0.1%甲酸溶液（%）	0.1%甲酸乙腈溶液（%）
0.0	90	10
8.0	60	30
8.1	90	10
10.0	90	10

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；
c)　喷雾电压：5500 V；
d)　离子源温度：400℃；
e)　雾化气压力：0.345 MPa；
f)　辅助气压力：0.414 MPa；
g)　气帘气压力：0.138 MPa；
h)　检测方式：多反应监测（MRM）；
i)　化合物母离子、子离子、保留时间及其他质谱条件参见表 2。

表2　15 种喹诺酮类抗生素的质谱参数

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）	碰撞室出口电压（V）
依诺沙星	4.13	321.0	303.0*	50	30	15
			232.0	50	26	15
麻保沙星	4.14	363.1	320.2*	55	23	15
			345.2	55	29	15
诺氟沙星	4.45	320.1	276.0*	50	25	16
			233.0	50	35	16
氧氟沙星	4.46	362.3	318.2*	75	27	9
			261.0	75	38	9
氟罗沙星	4.47	370.0	326.0*	80	19	15
			269.0	80	26	15
培氟沙星	4.58	334.2	316.2*	60	25	12
			290.3	60	27	15
环丙沙星	4.65	332.3	288.1*	80	30	18
			245.0	80	25	18

表 2　15 种喹诺酮类抗生素的质谱参数（续）

化合物名称	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）	碰撞室出口电压（V）
洛美沙星	4.89	352.3	265.2*	65	33	15
			308.3	65	26	15
丹诺沙星	4.93	358.1	340.2*	50	27	15
			283.2	50	34	15
恩诺沙星	5.21	360.3	316.3*	55	37	9
			245.0	55	25	18
奥比沙星	5.32	396.2	352.3*	50	25	15
			295.3	50	30	15
沙拉沙星	6.11	386.1	342.2*	70	34	15
			299.1	70	27	15
司帕沙星	6.21	393.5	349.2*	65	29	15
			292.2	65	35	15
双氟沙星	6.22	400.3	356.2*	80	34	15
			299.1	80	28	15
莫西沙星	6.81	402.5	384.5*	70	30	15
			364.5	70	30	15
* 定量离子						

6.2.3　标准工作曲线绘制

将混合标准工作溶液（4.9），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。15种喹诺酮类抗生素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定容液（4.6）适当稀释后进行测定。

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：

$$X = \frac{(c - c_0) \times V \times 1000}{m} \times f$$

式中：

X——试样中被测组分的含量，单位为毫克每千克（mg/kg）；

c——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）；

f——稀释倍数。

计算结果保留两位有效数字。

8 回收率和精密度

在添加浓度为0.50 mg/kg ~ 5.0 mg/kg范围内，回收率在80% ~ 110%之间，相对标准偏差小于10%。

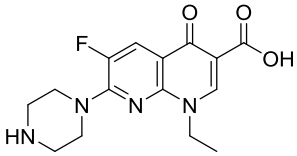
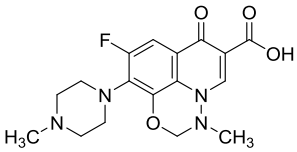
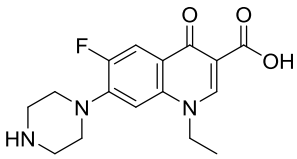
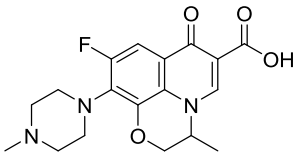
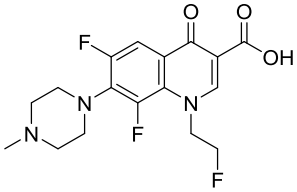
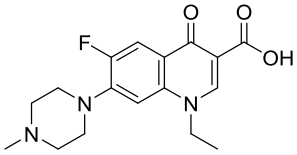
9 允许差

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的10%。

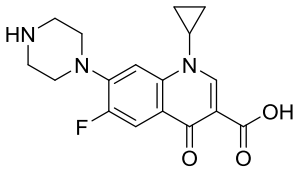
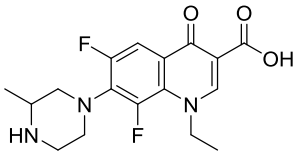
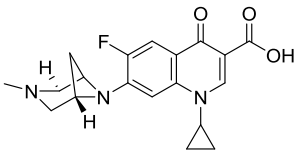
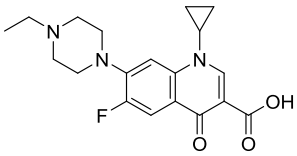
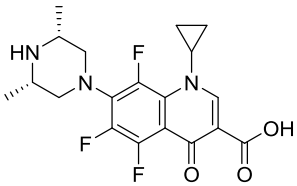
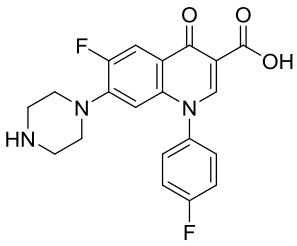
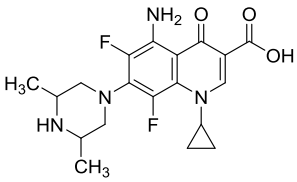
附　录　A
（资料性附录）
15 种喹诺酮类抗生素标准物质的信息

15种喹诺酮类抗生素的中文名称、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。

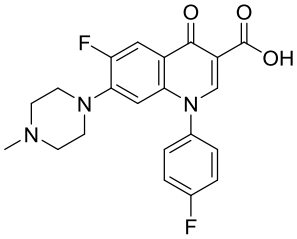
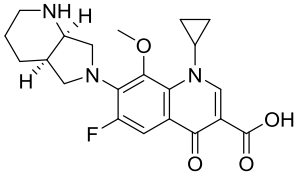
表 A.1 15 种喹诺酮类抗生素的中文名称、英文名称、CAS 号、分子式、相对分子质量及化学结构式

中文名称	英文名称	CAS 号	分子式	相对分子质量	化学结构式
依诺沙星	Enoxacin	84294-96-2	$C_{15}H_{17}FN_4O_3$	320.32	
麻保沙星	Marbofloxacin	115550-35-1	$C_{17}H_{19}FN_4O_4$	362.36	
诺氟沙星	Norfloxacin	70458-96-7	$C_{16}H_{18}FN_3O_3$	319.33	
氧氟沙星	Ofloxacin	82419-36-1	$C_{18}H_{20}FN_3O_4$	361.37	
氟罗沙星	Fleroxacin	79660-72-3	$C_{17}H_{18}F_3N_3O_3$	369.34	
培氟沙星	Pefloxacin	149676-40-4	$C_{17}H_{20}FN_3O_3$	333.36	

表A.1　15种喹诺酮类抗生素的中文名称、英文名称、CAS号、分子式、相对分子质量及化学结构式（续）

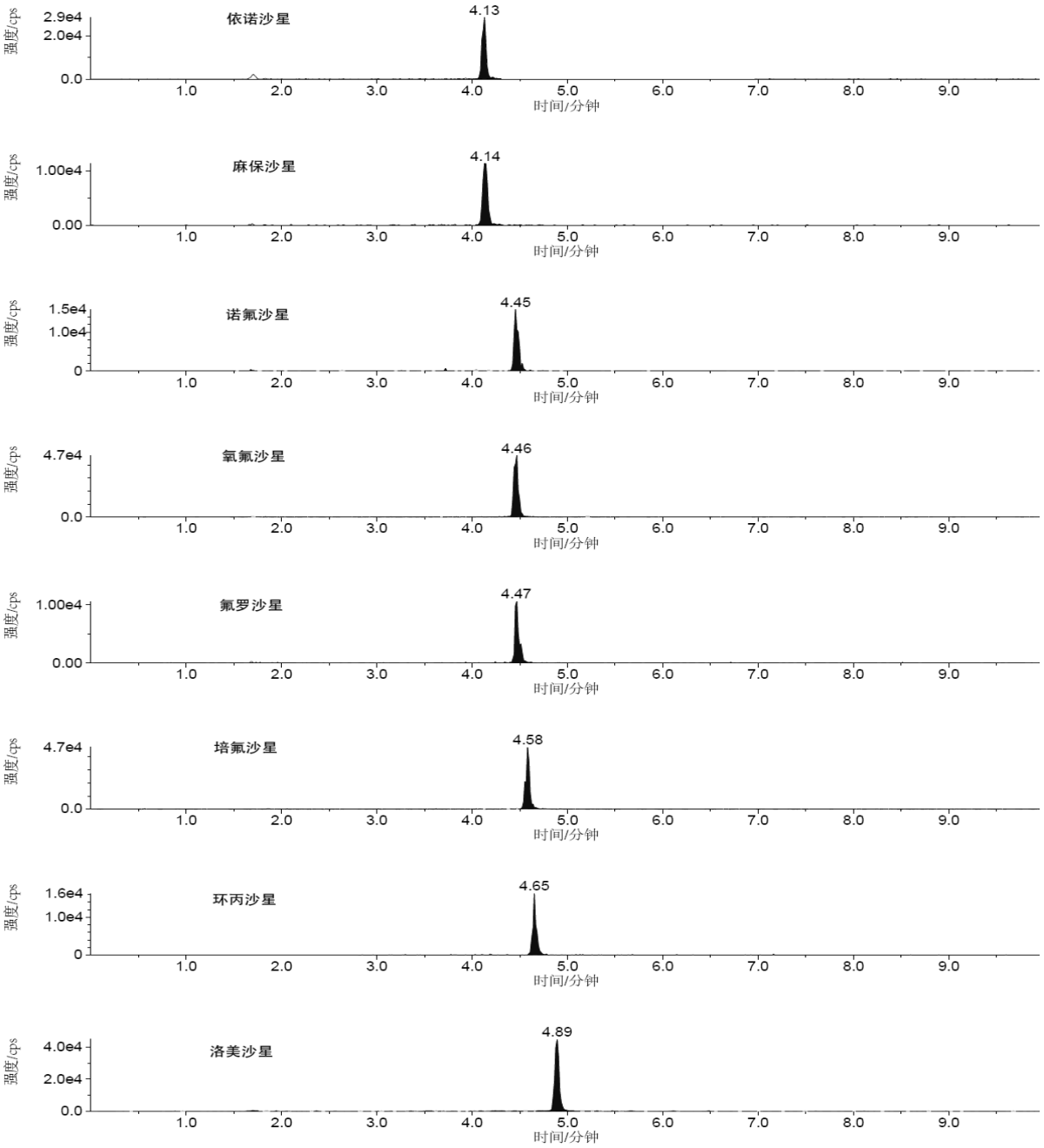
中文名称	英文名称	CAS 号	分子式	相对分子质量	化学结构式
环丙沙星	Ciprofloxacin	97867-33-9	$C_{17}H_{18}FN_3O_3$	331.35	
洛美沙星	Lomefloxacin	98079-52-8	$C_{17}H_{19}F_2N_3O_3$	351.35	
丹诺沙星	Danofloxacin	112398-08-0	$C_{19}H_{20}FN_3O_5$	357.39	
恩诺沙星	Enrofloxacin	93106-60-6	$C_{19}H_{22}FN_3O_3$	359.40	
奥比沙星	Orbifloxacin	113617-63-3	$C_{19}H_{20}F_3N_3O_3$	395.38	
沙拉沙星	Sarafloxacin	98105-99-8	$C_{20}H_{17}F_2N_3O_3$	385.37	
司帕沙星	Sparfloxacin	110871-86-8	$C_{19}H_{22}F_2N_4O_3$	392.41	

表A.1　15种喹诺酮类抗生素的中文名称、英文名称、CAS号、分子式、相对分子质量及化学结构式（续）

中文名称	英文名称	CAS 号	分子式	相对分子质量	化学结构式
双氟沙星	Difloxacin	98106-17-3	$C_{21}H_{19}F_2N_3O_3$	399.40	
莫西沙星	Moxifloxacin	192927-63-2	$C_{21}H_{24}FN_3O_4$	401.44	

附　录　B
（资料性附录）
15 种喹诺酮类抗生素的多反应监测色谱图

15种喹诺酮类抗生素标准物质溶液的多反应监测色谱图参见图B.1。



图B.1　15 种喹诺酮类抗生素的多反应监测色谱图

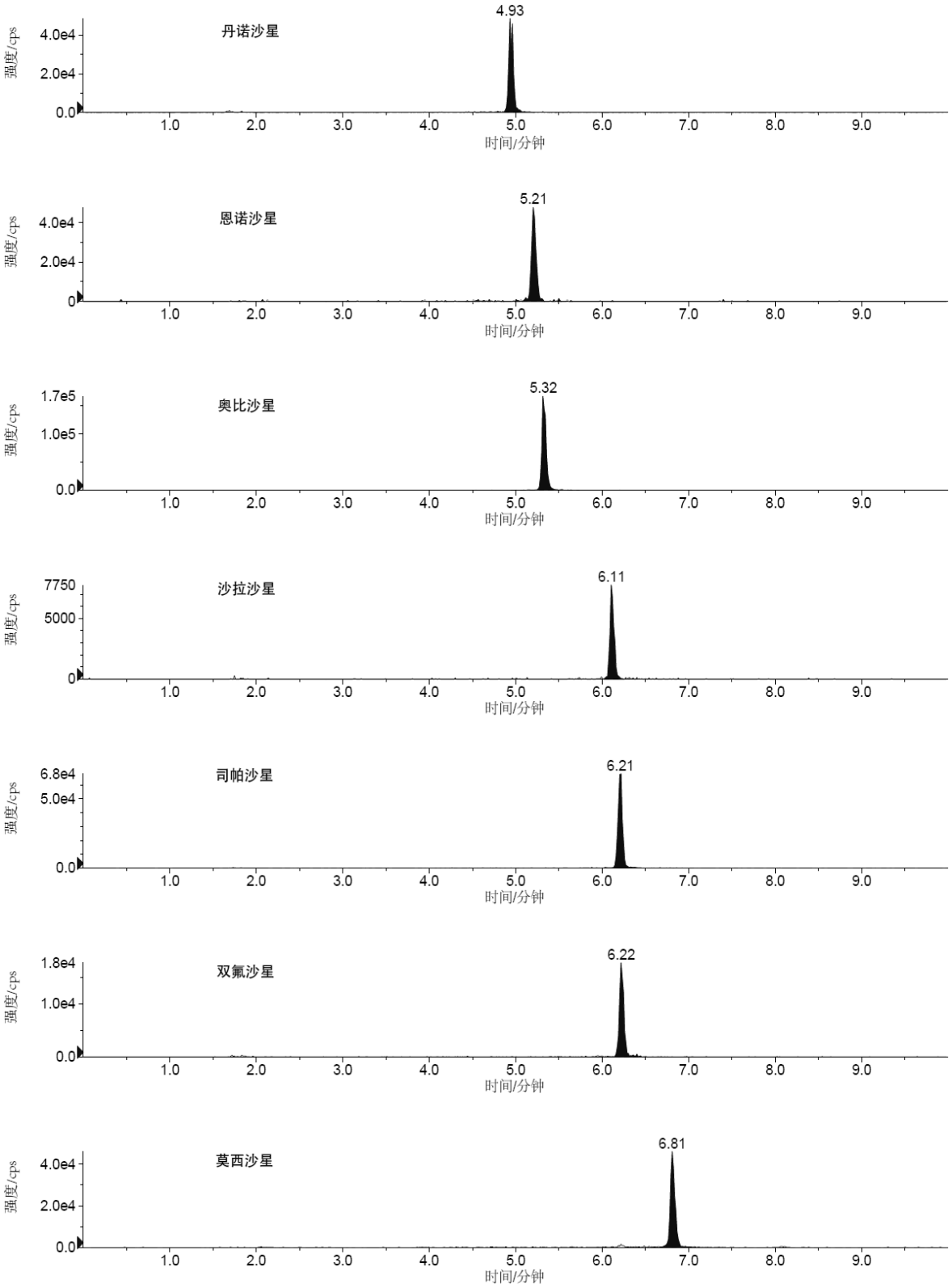


图 B.1　15 种喹诺酮类抗生素的多反应监测色谱图（续）