



中华人民共和国国家标准

GB/T 37626—2019

化妆品中阿莫西林等 9 种禁用青霉素类 抗生素的测定 液相色谱-串联质谱法

Determination of 9 forbidden penicillins including amoxicillin in cosmetics—
Liquid chromatography-tandem mass spectrometry

2019-06-04 发布

2020-01-01 实施



国家市场监督管理总局 发布
中国国家标准化管理委员会

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：江苏省产品质量监督检验研究院(国家化妆品质量监督检验中心)、广州华鑫检测技术有限公司、无限极(中国)有限公司、苏州世谱检测技术有限公司、欧诗漫生物股份有限公司、完美(广东)日用品有限公司、上海市日用化学工业研究所(国家香料香精化妆品质量监督检验中心)、苏州质量检测科学研究院、浙江方圆检测集团股份有限公司、广州质量监督检测研究院、江苏省食品药品监督检验研究院。

本标准主要起草人：杨洋、卢剑、童艳、廖华勇、杨琼利、李晓敏、张丽华、沈敏、代丹、李颖怡、邓美霞、杨安全、康薇、彭玉睿、张晓强、张征、邹洁、武中平、李海、曲梅、赵春晓、曹倩文、叶竹洪、施兵、孙姗姗、王景、郭新东、吴玉鑫、侯向昶、黄金凤。

引 言

本标准的被测物质是我国《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。

目前我国尚未规定这些物质的限量值,本标准仅对化妆品中测定这些物质提供检测方法。

化妆品中阿莫西林等 9 种禁用青霉素类 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阿莫西林、氨苄西林、哌拉西林、青霉素 G、青霉素 V、苯唑西林、氯唑西林、萘夫西林和双氯西林 9 种禁用青霉素类抗生素的液相色谱-串联质谱测定方法的原理、试剂和材料、仪器设备、试验步骤、结果计算、回收率与精密度、允许差等内容。

本标准适用于化妆品中阿莫西林、氨苄西林、哌拉西林、青霉素 G、青霉素 V、苯唑西林、氯唑西林、萘夫西林和双氯西林 9 种禁用青霉素类抗生素的定量测定。

本标准方法的检出限为 10.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，定量限为 30.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

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

采用碱性乙腈溶液提取试样中的青霉素类药物，待有机溶剂去除后定容，上液相色谱-串联质谱仪测定，外标法定量。

4 试剂和材料

4.1 水:GB/T 6682 规定的一级水。

4.2 乙腈:色谱纯。

4.3 正己烷:色谱纯。

4.4 乙酸:优级纯。

4.5 氨水:分析纯。

4.6 5%乙腈:准确量取 50 mL 乙腈至 1 000 mL 容量瓶中,用水定容至刻度。

4.7 乙腈提取液:准确量取 0.6 mL 氨水与 100 mL 乙腈充分混合。

4.8 乙腈饱和的正己烷溶液:取 100 mL 正己烷和 50 mL 乙腈于 250 mL 分液漏斗中,振摇 1 min,静置分层后,弃掉乙腈。

4.9 0.1%乙酸:准确量取 1 mL 乙酸(4.4)至 1 000 mL 容量瓶中,用水定容至刻度。

4.10 0.1%乙酸乙腈:准确量取 1 mL 乙酸(4.4)至 1 000 mL 容量瓶中,用乙腈定容至刻度。

4.11 标准物质:纯度不小于 95%。阿莫西林、氨苄西林、哌拉西林、青霉素 G、青霉素 V、苯唑西林、氯唑西林、萘夫西林和双氯西林的中文名称、英文名称、CAS 号、分子式、相对分子质量以及化学结构式参见附录 A 表 A.1。

4.12 混合标准工作溶液:准确称取适量各标准物质(4.11)(精确至 0.1 mg),分别用 5%乙腈溶液(4.6)溶解、定容,配制成浓度为 10 mg/L 的标准储备溶液(4℃冰箱保存,有效期 1 个月)。分别量取

2.50 mL 9 种青霉素的标准储备溶液至 50 mL 容量瓶中,用 5% 乙腈稀释定容,配制成 500 $\mu\text{g/L}$ 的混合标准储备溶液(4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存,有效期 1 个月)。准确移取适量混合标准储备溶液,用 5% 乙腈溶液稀释成浓度为 10 $\mu\text{g/L}$ 、20 $\mu\text{g/L}$ 、50 $\mu\text{g/L}$ 、100 $\mu\text{g/L}$ 、250 $\mu\text{g/L}$ 的混合标准工作溶液,临用前现配。

4.13 孔径 0.22 μm 有机滤膜。

5 仪器设备

5.1 液相色谱-三重四级杆质谱联用仪(LC-MS/MS): 带电喷雾离子源(ESI)。

5.2 电子天平: 感量 0.1 mg、0.01 mg。

5.3 离心机: 最大转速不低于 8 000 r/min。

5.4 超声波清洗器。

5.5 涡旋混合器。

5.6 旋转蒸发仪。

6 测定步骤

6.1 试样处理

称取试样约 0.5 g (精确至 0.1 mg) 于 50 mL 具塞塑料离心管中,加入 15 mL 乙腈提取液(4.7),于涡旋混合器上使样品分散,超声提取 10 min 后,以 8 000 r/min 离心 5 min,吸出所有上层清液于另一 50 mL 具塞塑料离心管中,加入 5 mL 乙腈饱和的正己烷,振荡 1 min,弃掉正己烷。将提取液转移至鸡心瓶中,40 $^{\circ}\text{C}$ 水浴旋转蒸发至近干,加入 2 mL 水溶解残渣,混匀。待测液经 0.22 μm 滤膜过滤后,用液相色谱-串联质谱仪测定。

6.2 测定条件

6.2.1 液相色谱参考条件

液相色谱参考条件如下:

- 色谱柱: C_{18} 色谱柱, 150 mm \times 2.1 mm (内径), 3.5 μm 或相当者;
- 流动相: A: 0.1% 乙酸水溶液, B: 0.1% 乙酸乙腈, 梯度洗脱, 梯度洗脱程序见表 1;
- 柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$;
- 进样量: 10 μL 。

表 1 液相色谱梯度洗脱程序

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%	流速/(mL/min)
0.0	95	5	0.2
3.0	95	5	0.2
3.1	50	50	0.2
13	50	50	0.2
13.1	25	75	0.2
18	25	75	0.2
18.1	95	5	0.2
26	95	5	0.2

6.2.2 质谱参考条件

质谱参考条件如下：

- a) 电离方式：电喷雾电离，正离子模式；
- b) 喷雾电压：3.0 kV；
- c) 雾化温度：300 ℃；
- d) 毛细管温度：350 ℃；
- e) 鞘气压力：0.31 MPa；
- f) 辅助气流量：4.5 L/min；
- g) 碰撞气：氩气；
- h) 扫描模式：多反应监测(MRM)模式，9种青霉素类抗生素的质谱参数见表2。

表2 9种青霉素类抗生素的质谱参数

序号	化合物	母离子(m/z)	定性离子(m/z)	定量离子(m/z)	碰撞能量/eV
1	阿莫西林	366.1	349.1	114.0	10
			114.0		21
2	氨苄西林	350.1	106.1	160.0	20
			160.0		13
3	哌拉西林	518.1	143.1	160.0	33
			160.0		12
4	青霉素 G	335.2	160.1	160.1	12
			176.2		14
5	青霉素 V	351.2	160.1	160.1	11
			114.0		32
6	苯唑西林	402.2	160.1	160.1	12
			243.1		15
7	氯唑西林	436.2	277.1	160.0	16
			160.0		12
8	萘夫西林	415.2	199.1	199.1	13
			171.1		35
9	双氯西林	470.1	160.0	160.0	13
			311.1		19

6.2.3 定性测定

每种被测组分选择一个母离子，2个子离子，在相同试验条件下，试样中待测物质的保留时间与标准溶液中对应的保留时间偏差在±2.5%之内；且试样中各组分定性离子的相对丰度与浓度接近的标准溶液中对应的定性离子的相对丰度进行比较，若偏差不超过表3规定的范围，可判定为试样中含有对应的待测物。

表 3 定性确证时相对离子丰度的允许偏差

相对离子丰度/%	>50	>20~50	>10~20	<10
允许的相对偏差/%	±20	±25	±30	±50

6.2.4 标准工作曲线绘制

按测定条件(6.2)对系列混合标准工作溶液(4.12)进行测定,以定量离子的峰面积为纵坐标,以标准溶液浓度为横坐标,得标准工作曲线。阿莫西林、氨苄西林、哌拉西林、青霉素 G、青霉素 V、苯唑西林、氯唑西林、萘夫西林和双氯西林的 LC-MS/MS 多反应监测质量色谱图参见附录 B 图 B.1。

6.2.5 定量测定

本方法采用外标标准曲线法定量测定。以不同浓度的标准溶液浓度为横坐标,对应的峰面积为纵坐标,作标准曲线线性回归方程。按测定条件(6.2)对试样溶液进行测定,根据峰面积对应标准曲线上的溶液浓度定量。待测物的响应值均应在线性范围内。

6.3 结果计算

试样中阿莫西林、氨苄西林、哌拉西林、青霉素 G、青霉素 V、苯唑西林、氯唑西林、萘夫西林和双氯西林的含量由色谱数据处理软件或按式(1)计算获得:

$$X_i = \frac{c_i \times V \times f}{m} \dots\dots\dots(1)$$

式中:

X_i —— 试样中阿莫西林、氨苄西林、哌拉西林、青霉素 G、青霉素 V、苯唑西林、氯唑西林、萘夫西林和双氯西林的各组分含量,单位为微克每千克($\mu\text{g}/\text{kg}$);

c_i —— 试样中阿莫西林、氨苄西林、哌拉西林、青霉素 G、青霉素 V、苯唑西林、氯唑西林、萘夫西林和双氯西林峰面积对应的质量浓度,单位为微克每升($\mu\text{g}/\text{L}$);

V —— 试样定容体积,单位为毫升(mL);

f —— 稀释倍数;

m —— 试样的量,单位为克(g)。

计算结果精确至小数点后两位。

6.4 空白试验

除不加入试样外,均按 6.1~6.2 进行测定。

7 回收率与精密度

阿莫西林、氨苄西林、哌拉西林、青霉素 G、青霉素 V、苯唑西林、氯唑西林、萘夫西林和双氯西林在添加浓度为 $50 \mu\text{g}/\text{kg} \sim 250 \mu\text{g}/\text{kg}$ 范围内,回收率在 $83.1\% \sim 110.5\%$ 之间,相对标准偏差小于 7.10% 。

8 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 15% 。

附录 A
(资料性附录)

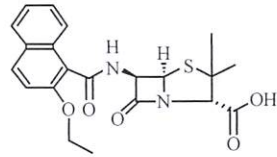
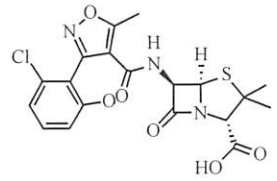
9 种青霉素类抗生素标准物质的信息

9 种青霉素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 9 种青霉素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
阿莫西林	Amoxicillin	26787-78-0	419.46	$C_{16}H_{19}N_3O_5S \cdot 3H_2O$	
氨苄西林	Ampicillin	69-53-4	349.40	$C_{16}H_{19}N_3O_4S$	
哌拉西林	Pipracil	61477-96-1	517.55	$C_{23}H_{27}N_5O_7S$	
青霉素 G	Benzylpenicillin	61-33-6	334.39	$C_{16}H_{18}N_2O_4S$	
青霉素 V	Phenoxymethylpenicillin	87-08-1	350.39	$C_{16}H_{18}N_2O_5S$	
苯唑西林	Oxacillin	66-79-5	401.44	$C_{19}H_{19}N_3O_5S$	
氯唑西林	Cloxacillin	61-72-3	435.88	$C_{19}H_{18}ClN_3O_5S$	

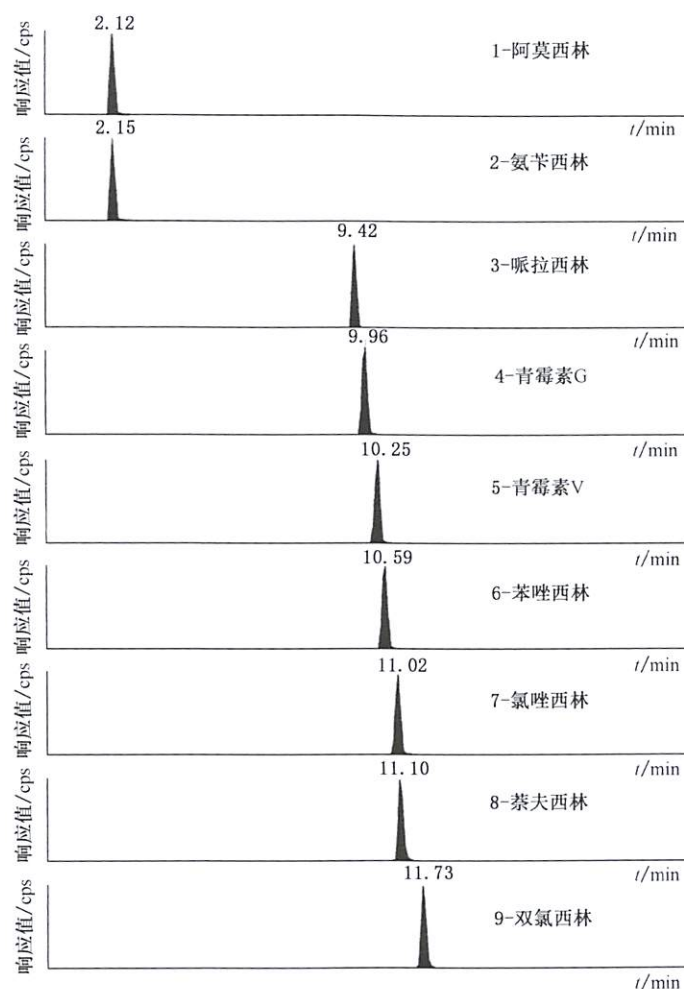
表 A.1 (续)

中文名称	英文名称	CAS号	分子式	相对分子质量	化学结构式
萘夫西林	Nafcillin	985-16-0	436.46	$C_{21}H_{21}N_2NaO_5S$	 <p style="text-align: center;">NaH</p>
双氯西林	Dicloxacillin	3116-76-5	470.33	$C_{19}H_{17}Cl_2N_3O_5S$	

附录 B
(资料性附录)

9 种青霉素类抗生素标准溶液 LC-MS/MS 多反应监测质量色谱图

9 种青霉素类抗生素标准溶液 LC-MS/MS 多反应监测质量色谱图参见图 B.1。



说明:

- 1——阿莫西林;
- 2——氨苄西林;
- 3——哌拉西林;
- 4——青霉素 G;
- 5——青霉素 V;
- 6——苯唑西林;
- 7——氯唑西林;
- 8——萘夫西林;
- 9——双氯西林。

图 B.1 9 种青霉素类抗生素标准溶液 LC-MS/MS 多反应监测质量色谱图

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
化妆品中阿莫西林等 9 种禁用青霉素类
抗生素的测定 液相色谱-串联质谱法
GB/T 37626—2019

*

中国标准出版社出版发行
北京市朝阳区和平里西街甲 2 号(100029)
北京市西城区三里河北街 16 号(100045)

网址 www.spc.net.cn

总编室:(010)68533533 发行中心:(010)51780238
读者服务部:(010)68523946

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销

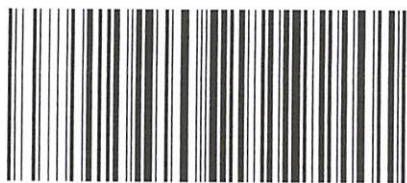
*

开本 880×1230 1/16 印张 0.75 字数 18 千字
2019 年 6 月第一版 2019 年 6 月第一次印刷

*

书号: 155066·1-62291 定价 16.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换
版权专有 侵权必究
举报电话:(010)68510107



GB/T 37626-2019