

ICS

CCS 点击此处添加 CCS 号

# T/YHPACIA

云南省健康产品和化妆品行业协会团体标准

T/YHPACIA XXXX—XXXX

## 化妆品中补骨脂素等 8 种组分的测定 高效液相色谱-串联质谱法

Determination of 8 Components Including Psoralen in Cosmetics High Performance  
Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

(征求意见稿)

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。

20XX - XX - XX 发布

20XX - XX - XX 实施

云南省健康产品和化妆品行业协会 发布

## 目 次

前言 .....	III
1 范围 .....	1
2 规范性引用文件 .....	1
3 术语和定义 .....	1
4 原理 .....	1
5 试剂和材料 .....	1
6 仪器和设备 .....	2
7 试样制备与保存 .....	2
8 分析步骤 .....	2
8.1 筛查用混合标准溶液 .....	2
8.2 空白基质提取液 .....	2
8.3 基质混合标准中间溶液 .....	2
8.4 基质混合标准系列溶液 .....	2
8.5 样品处理 .....	3
8.6 仪器参考条件 .....	3
8.7 定性判定 .....	4
8.8 定量测定 .....	4
8.9 平行试验 .....	4
8.10 空白试验 .....	4
9 结果计算 .....	4
10 精密度和准确度 .....	5
11 检出限和定量限 .....	5
12 图谱 .....	6
附录 A（资料性） 补骨脂素等 8 种组分的相关信息 .....	7

## 前 言

本文件按照GB/T 1.1-2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由云南省食品药品监督检验研究院提出。

本文件由云南省健康产品和化妆品行业协会归口。

本文件起草单位：云南省食品药品监督检验研究院、云南衡金药业有限公司、云南贝泰妮生物科技集团股份有限公司、云南天正检测技术有限公司、云南远方生物医药有限公司。

本文件主要起草人：

# 化妆品中补骨脂素等 8 种组分的测定

## 1 范围

本文件规定了化妆品中补骨脂素、异补骨脂素、欧前胡素、8-甲氧基补骨脂素、5-甲氧基补骨脂素、三甲沙林 6 种呋喃香豆素类组分，以及新补骨脂异黄酮、补骨脂二氢黄酮 2 种补骨脂特征黄酮的高效液相色谱-串联质谱测定方法。

本文件适用于膏霜乳液类、液态水基类、凝胶类化妆品中补骨脂素等 8 种组分的定性和定量测定。

## 2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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

《化妆品安全技术规范》

## 3 术语和定义

**呋喃香豆素**：具有苯并  $\alpha$ -吡喃酮母核结构，多具有光敏性、光毒性，为化妆品禁用物质，本文件中涉及的呋喃香豆素包括补骨脂素、异补骨脂素、欧前胡素、8-甲氧基补骨脂素、5-甲氧基补骨脂素、三甲沙林。

**补骨脂特征黄酮**：补骨脂中特征性存在的异黄酮与二氢黄酮类化合物，本文件中涉及的补骨脂特征黄酮包括新补骨脂异黄酮、补骨脂二氢黄酮，可作为内源性污染溯源标记物。

**高效液相色谱-串联质谱法**：以高效液相色谱为分离系统，串联质谱为检测系统，对目标化合物进行定性定量分析的方法。本文件采用该方法完成目标物检测。

**多反应监测**：对母离子-子离子跃迁进行选择监测的质谱采集模式。

## 4 原理

样品经甲醇超声提取后，采用高效液相色谱仪分离，质谱检测器检测。根据保留时间和特征离子对的相对丰度比定性，定量离子对峰面积定量，以标准曲线法计算呋喃香豆素和补骨脂特征黄酮组分的含量。

## 5 试剂和材料

除另有规定外，本方法中所用试剂均为分析纯及以上规格，水为符合 GB/T 6682 规定的一级水。

5.1 甲醇，色谱纯。

5.2 甲酸，色谱纯。

5.3 0.1%甲酸溶液：取 1 mL 甲酸（5.2），用水稀释至 1000mL，混匀。

5.4 标准品：补骨脂素、异补骨脂素、欧前胡素、8-甲氧基补骨脂素、5-甲氧基补骨脂素、三甲沙林、新补骨脂异黄酮、补骨脂二氢黄酮的标准品纯度均 $\geq 98\%$ 。标准品的中文名称、英文名称、CAS号、分子式、相对分子质量详见附录A中的表A.1。

5.5 标准储备溶液：称取补骨脂素、异补骨脂素、欧前胡素、8-甲氧基补骨脂素、5-甲氧基补骨脂素、三甲沙林、新补骨脂异黄酮、补骨脂二氢黄酮（5.4）各10 mg（精确到0.00001 g），分别置于10 mL容量瓶中，用甲醇（5.1）溶解并定容至刻度，摇匀。制成标准储备溶液的质量浓度为1000  $\mu\text{g/mL}$ 。

5.6 混合标准储备溶液：分别吸取各标准储备溶液（5.5）适量，用甲醇（5.1）配制得质量浓度为10  $\mu\text{g/mL}$ 的混合标准储备溶液。

## 6 仪器和设备

6.1 高效液相色谱-串联质谱仪，带电喷雾离子源（ESI）。

6.2 分析天平：感量0.0001 g和0.00001 g。

6.3 超声波清洗器。

6.4 涡旋混合仪。

6.5 高速离心机。

6.6 微孔滤膜：孔径为0.22  $\mu\text{m}$ 有机相微孔滤膜。

## 7 试样制备与保存

样品应按照标签标示的贮存条件进行保存。取样前，应检查封口的完整性，观察样品的性状和特征，并使样品混匀。打开包装后，应尽可能快地取出所要测定部分进行分析，取样后，应将样品进行密封保存。

## 8 分析步骤

### 8.1 筛查用混合标准溶液

准确吸取混合标准储备溶液（5.6）适量，用甲醇溶液（5.1）进行稀释，配制成各组分浓度均约为2ng/mL的筛查用混合标准溶液。

### 8.2 空白基质提取液

称取空白试样0.2 g（精确到0.0001 g），置于10 mL具塞比色管中，自“加入8mL甲醇（5.1）”起与样品同法处理（8.5），作为空白基质提取液。

### 8.3 基质混合标准中间溶液

准确吸取混合标准储备溶液（5.6）0.1mL，置于10 mL棕色容量瓶中，用空白基质提取液（8.2）稀释至刻度，摇匀，制成各组分浓度均约为100ng/mL的基质混合标准中间溶液。

### 8.4 基质混合标准系列溶液

分别精密量取基质混合标准中间溶液（8.3）适量，用空白基质提取液（8.2）配制成各组分浓度均为2、5、10、25、50 ng/mL的基质混合标准系列溶液。基质混合标准系列溶液应现用现配。

## 8.5 样品处理

称取样品 0.2g (精确到 0.0001g)，置于 10mL 具塞比色管中，加入 8mL 甲醇 (5.1)，涡旋振荡 30s，混合均匀。超声提取 20min，静置至室温，用甲醇 (5.1) 定容至刻度，摇匀。必要时，以 10000r/min 转速离心 10min。取上清液经 0.22 μm 滤膜过滤后，滤液作为供试品溶液备用 (供试品溶液可根据实际浓度进行适当稀释)。

## 8.6 仪器参考条件

### 8.6.1 色谱条件

色谱柱：C<sub>18</sub> 柱 (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm) 或等效色谱柱；

流动相：A 相为 0.1% 甲酸水溶液，B 相为甲醇。梯度洗脱程序见表 1；

流速：0.3 mL/min；

柱温：40 °C；

进样量：1 μL；

表 1 梯度洗脱程序

时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
0.00	70	30
10.0	55	45
13.0	50	50
20.0	5	95
23.0	5	95
25.0	70	30

### 8.6.2 质谱条件

离子源：电喷雾离子源 (ESI 源)；

监测模式：正离子多反应监测模式 (MRM)，监测离子对及相关参数设定见表 2。

离子源温度：550 °C；

电喷雾电压：500 V；

表 2 补骨脂素等 8 种组分监测离子对及相关参数设定

序号	组分名称	母离子 ( <i>m/z</i> )	子离子 ( <i>m/z</i> )	CE (eV)	DP (V)
1	补骨脂素	187.1	131.0*	30	160
			115.1	29	
2	异补骨脂素	187.0	131.0*	33	160
			115.0	29	
3	欧前胡素	271.0	203.1*	20	90
			69.0	18	
4	8-甲氧基补骨脂素	216.8	202.0*	30	50
			173.9	30	

5	5-甲氧基补骨脂素	216.9	201.9*	30	50
			174.0	30	
6	三甲沙林	228.8	173.0*	30	50
			142.0	30	
7	新补骨脂异黄酮	322.9	267.0*	30	50
			255.1	30	
8	补骨脂二氢黄酮	324.8	149.0*	34	50
			269.0	46	

\*为推荐的定量离子。

注：当采用不同质谱仪器时，仪器参数可能存在差异，测定前应将质谱参数优化到最佳。

### 8.7 定性判定

取供试品溶液（8.5）与筛查用混合标准溶液（8.1）在相同分析条件下测定，样品中如呈现定量离子对和定性离子对的色谱峰，被测成分的特征离子峰保留时间与筛查用混合标准溶液（8.1）对应的保留时间一致，且选择的监测离子对的相对丰度比与相当浓度的筛查用混合标准溶液（8.1）的监测离子对的相对丰度比的最大允许偏差不超过表3的规定，则可以判定样品中存在对应的组分。

表3 定性确证时相对离子丰度比的最大允许偏差

相对离子丰度 (k)	k > 50%	50% ≥ k > 20%	20% ≥ k > 10%	k ≤ 10%
允许最大偏差	±20%	±25%	±30%	±50%

### 8.8 定量测定

取基质混合标准系列溶液（8.4）依次测定，以待测组分的系列浓度为横坐标，待测组分的峰面积为纵坐标，进行线性回归，绘制基质标准曲线，其线性相关系数应不小于0.99。

取供试品溶液（8.5）测定，将对应的定量离子对色谱峰面积代入基质标准曲线。按“第9章”项下公式，计算样品中待测组分的含量。

### 8.9 平行试验

按以上步骤，对同一样品进行平行实验测定。

### 8.10 空白试验

除不加试样外，均按上述测定条件和步骤进行。

## 9 结果计算

结果按式（1）计算：

$$\omega = \frac{\rho \times V \times D}{m \times 1000} \dots \dots \dots (1)$$

式中：

$\omega$ —样品中补骨脂素等 8 种组分的质量分数，mg/kg；

$\rho$ —供试品溶液中补骨脂素等 8 种组分的质量浓度， $\mu\text{g/L}$ ；

$V$ —样品定容体积，mL；

$m$ —样品取样量，g；

$D$ —稀释倍数（如未稀释则为 1）。

在相同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%。

## 10 精密度和准确度

定量下限浓度回收率为 80%~110%，相对标准偏差小于 10% (n=6)，中、高浓度回收率为 90%~110%，相对标准偏差小于 7.5% (n=6)。

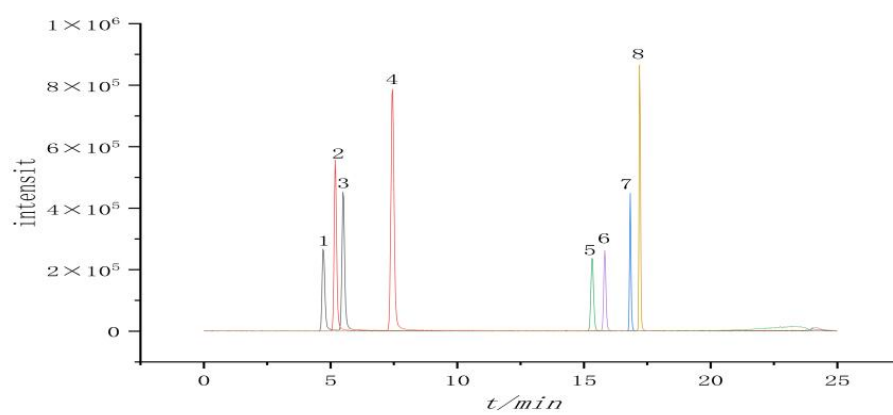
## 11 检出限和定量限

本方法中各组分的检出限、定量下限及取样量为 0.2 g 定容体积为 10mL 时的检出浓度和最低定量浓度见表 4。

表 4 补骨脂素等 8 种组分的检出限、定量下限、检出浓度和最低定量浓度

序号	组分名称	检出限 ( $\mu\text{g}$ )	定量下限 ( $\mu\text{g}$ )	检出浓度 (mg/kg)	最低定量浓度 (mg/kg)
1	补骨脂素	0.006	0.02	0.03	0.1
2	异补骨脂素	0.006	0.02	0.03	0.1
3	欧前胡素	0.006	0.02	0.03	0.1
4	8-甲氧基补骨脂素	0.006	0.02	0.03	0.1
5	5-甲氧基补骨脂素	0.004	0.012	0.02	0.06
6	三甲沙林	0.006	0.02	0.03	0.1
7	新补骨脂异黄酮	0.004	0.012	0.02	0.06
8	补骨脂二氢黄酮	0.006	0.02	0.03	0.1

## 12 图谱



1.补骨脂素；2.异补骨脂素；3.8-甲氧基补骨脂素；4.5-甲氧基补骨脂素；  
5.欧前胡素；6.三甲沙林；7.补骨脂二氢黄酮；8.新补骨脂异黄酮。

图 1 8 种香豆素类化合物标准溶液的多反应监测色谱图

## 附录 A

## 补骨脂素等 8 种组分的相关信息

表 A.1 补骨脂素等 8 种组分的中文名称、英文名称、CAS 号、分子式及相对分子质量

中文名称	英文名称	CAS 号	分子式	相对分子质量
补骨脂素	Psoralen	66-97-7	C <sub>11</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	186.16
异补骨脂素	Isopsoralen	523-50-2	C <sub>11</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	186.16
欧前胡素	Imperatorin	482-44-0	C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>	270.28
8-甲氧基补骨脂素	8-Methoxypsoralen	298-81-7	C <sub>12</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	216.19
5-甲氧基补骨脂素	5-Methoxypsoralen	484-20-8	C <sub>12</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	216.19
三甲沙林	Trioxsalen	3902-71-4	C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub>	228.24
新补骨脂异黄酮	Neobavaisoflavone	41060-15-5	C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>4</sub>	322.35
补骨脂二氢黄酮	Bavachin	19879-32-4	C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>4</sub>	324.37