BJH

# 化妆品补充检验方法

**BJH 202101**

化妆品中本维莫德的测定

2021-09-02发布

国家药品监督管理局 发布

# 化妆品中本维莫德的测定

（BJH 202101）

## 1范围

本方法规定了膏霜乳类化妆品中本维莫德的测定方法。

本方法适用于膏霜乳类化妆品中本维莫德的定性和定量测定。

## 2原理

样品经80%甲醇溶液超声提取，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，以标准曲线法计算含量。

## 3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。

3.1甲醇，色谱纯。

3.2乙酸铵，色谱纯。

3.3 80%甲醇溶液：取甲醇、水按体积比8:2混合，摇匀。

3.4标准品：本维莫德（Benvitimod，又名苯烯莫德）标准品，或具有标准物质证书能够溯源的标准物质。标准品的中文名称、英文名称、CAS号、分子式、相对分子质量、结构式详见附录A中的表A.1，纯度≥98%。

3.5本维莫德标准储备溶液：称取本维莫德标准品10mg（精确到0.00001g），置于10mL棕色容量瓶中，用80%甲醇溶液（3.3）溶解并定容至刻度，摇匀。该标准储备溶液的质量浓度为1000mg/L。避光保存。

3.6本维莫德标准溶液：准确移取本维莫德标准储备溶液（3.5）1.0mL，置于100mL棕色容量瓶中，用80%甲醇溶液（3.3）定容至刻度，摇匀。该标准溶液的质量浓度为10mg/L。避光保存。

## 4仪器和设备

4.1 高效液相色谱-三重四极杆质谱联用仪。

4.2 分析天平：感量0.0001g和0.00001g。

4.3 超声波清洗器。

4.4 涡旋混合仪。

4.5 高速离心机。

## 5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。

## 6分析步骤

### 6.1 空白基质提取液

称取空白试样0.2g（精确到0.0001g），置于15mL具塞离心管中，自“加入80%甲醇溶液（3.3）约8mL”起与样品同法处理（6.4），作为空白基质提取液。

### 6.2 基质标准中间液

量取本维莫德标准溶液（3.6）1.0mL，置于10mL棕色容量瓶中，用空白基质提取液（6.1）稀释至刻度，摇匀，制成本维莫德浓度为1000μg/L的基质标准中间液。基质标准中间液现用现配。

### 6.3基质标准系列溶液

量取基质标准中间液（6.2）适量，用空白基质提取液（6.1）稀释配制得浓度为1、5、10、20、50、100μg/L系列浓度基质标准系列溶液。基质标准系列溶液现用现配。

### 6.4 样品处理

称取样品0.2g（精确到0.0001g），置于15mL具塞离心管中，加入80%甲醇溶液（3.3）约8mL，涡旋振荡30s，使试样与提取溶剂充分混匀，超声提取20min，静置至室温，10000r/min转速离心10min，上清液转移至10mL棕色容量瓶中，用80%甲醇溶液（3.3）定容至刻度，摇匀，经0.22μm有机滤膜过滤，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）。

### 6.5 仪器参考条件

### 6.5.1 色谱条件

色谱柱：C18柱（100mm×2.1mm，2.7μm），或等效色谱柱；

流动相：A为10mmol/L乙酸铵，B为甲醇。梯度洗脱程序见表1；

流速：0.3mL/min；

柱温：30℃；

进样量：5μL。

表1 梯度洗脱程序

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 时间（min） | 流动相A（%） | 流动相B（%） |
| 0.00 | 90 | 10 |
| 2.00 | 90 | 10 |
| 2.10 | 10 | 90 |
| 8.00 | 10 | 90 |
| 13.00 | 90 | 10 |
| 15.00 | 90 | 10 |

### 6.5.2 质谱条件

离子源：电喷雾离子源（ESI源）；

监测模式：负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。

表2本维莫德监测离子对及相关参数设定

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 组分名称 | 母离子（*m/z*） | 子离子（*m/z*） | CE（eV） |
| 本维莫德 | 253.1 | 210.8\*  169.2 | -29  -31 |

\*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。

### 6.6 定性判定

取供试品溶液与标准溶液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标准溶液对应的保留时间一致，且选择的定性离子的相对丰度比与相当浓度标准品溶液的定性离子的相对丰度比的最大偏差不超过表3的规定，则可以判定样品中存在对应的本维莫德组分。

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% |

### 6.7 定量测定

取基质标准系列溶液（6.3）依次测定，以系列浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，进行线性回归，绘制基质标准曲线，其线性相关系数应大于0.99。

取供试品溶液（6.4）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“7”项下公式，计算样品中本维莫德的含量。

### 6.8 平行试验

按上述步骤，对同一样品进行平行实验测定。

### 6.9 空白试验

除不加试样外，均按上述测定条件和步骤进行。

## 7 结果计算

结果按式（1）计算：

…………………………………………………(1)

式中：

*ω*—样品中本维莫德的质量分数，μg/g；

*ρ*—供试品溶液中本维莫德的质量浓度，mg/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）。

相同条件下获得的两次独立测试结果的绝对差值不得超过算术平均值的15%。

## 8 精密度和准确度

多家实验室验证定量下限浓度回收率为92.4%～115.0%，相对标准偏差小于4.1%（n=6），中、高浓度回收率为90.7%～120.0%，相对标准偏差小于4.2%（n=6）。

## 9 检出限和定量限

本方法中本维莫德的检出限、定量下限及取样量为0.2g时检出浓度和最低定量浓度见表4。

表4 本维莫德的检出限、定量下限、检出浓度和最低定量浓度

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 组分名称 | 检出限  （ng） | 定量下限  （ng） | 检出浓度  （μg/g） | 最低定量浓度  （μg/g） |
| 本维莫德 | 0.002 | 0.0067 | 0.02 | 0.067 |

## 10 图谱

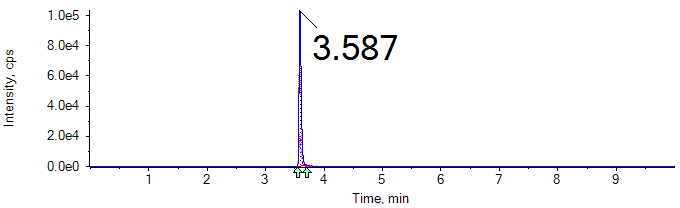


图1 本维莫德标准溶液的多反应监测色谱图

附录A

本维莫德的相关信息

表 A.1 本维莫德的中文名称、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 | 结构式 |
| 本维莫德 | Benvitimod | 79338-84-4 | C17H18O2 | 254.32 | 苯烯莫德 |

起草单位：中国食品药品检定研究院。

主要起草人：路勇、孙磊、王海燕、封淑华、曹玲、殷帅。

验证单位：河北省药品医疗器械检验研究院、江苏省食品药品监督检验研究院、湖南省药品检验检测研究院。