BJH

# 化妆品补充检验方法

 **BJH 202203**

化妆品中16α-羟基泼尼松龙的测定

2022-11-18 发布

国家药品监督管理局 发布

化妆品中16α-羟基泼尼松龙的测定

（BJH 202203）

1范围

本方法规定了化妆品中16α-羟基泼尼松龙的定性和定量测定方法。

本方法适用于膏霜乳类、液体（水）类化妆品中16α-羟基泼尼松龙的定性和定量测定。

2原理

样品经50%乙腈超声提取，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乙腈，色谱纯。

3.2 50%乙腈：取乙腈（3.1）、水按体积比1:1混合，摇匀。

3.3标准品：16α-羟基泼尼松龙（16alpha-hydroxyprednisolone）标准品，纯度≥98%。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。

3.4 16α-羟基泼尼松龙标准储备溶液：称取16α-羟基泼尼松龙标准品10mg（精确到0.00001g），置于10mL容量瓶中，用乙腈（3.1）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。置于-18℃冰箱中保存。

3.5 16α-羟基泼尼松龙标准溶液：精密移取16α-羟基泼尼松龙标准储备溶液（3.4）1.0mL，置于100mL容量瓶中，用乙腈（3.1）定容至刻度，摇匀。该标准溶液的质量浓度为10mg/L。

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10mL具塞比色管中，自“加入50%乙腈约9mL”起与样品同法处理（6.4），作为空白基质提取液。空白样品的性状应与待测化妆品尽量基本一致。

6.2基质标准中间液

精密量取16α-羟基泼尼松龙标准溶液（3.5）0.1mL，置于10mL容量瓶中，用空白基质提取液（6.1）稀释至刻度，摇匀，制成16α-羟基泼尼松龙浓度为100μg/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

精密量取基质标准中间液（6.2）适量，用空白基质提取液（6.1）配制浓度为0.5、1、2、5、10μg/L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10mL具塞比色管中，加入50%乙腈（3.2）约9mL，涡旋振荡，使试样与提取溶剂充分混匀。超声提取10min，静置至室温，用50%乙腈定容至刻度，摇匀，以10000r/min转速离心10min，取上清液经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（100 mm×2.1 mm，2.7μm），或等效色谱柱；

流动相：A为水，B为乙腈（3.1）。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 | 95 | 5 |
| 1.00 | 95 | 5 |
| 10.00 | 5 | 95 |
| 13.00 | 5 | 95 |
| 13.10 | 95 | 5 |
| 15.00 | 95 | 5 |

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 16α-羟基泼尼松龙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） |
| --- | --- | --- | --- |
| 16α-羟基泼尼松龙 | 375.4 | \*327.0 | -23 |
| 283.2 | -36 |

\*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（6.4）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，且选择的监测离子对的相对丰度比与相当浓度的标准溶液的监测离子对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% |
| 允许的最大偏差 | ±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，以待测组分的系列浓度为横坐标，待测组分的定量离子对色谱峰面积为纵坐标，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，计算样品中待测组分的含量。

6.8平行试验

按以上步骤，对同一样品进行双平行实验测定。

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：

$ω=\frac{ρ×V×D}{m×1000}$*…*………………………………………………(1)

式中：

*ω*—样品中比16α-羟基泼尼松龙的质量分数，mg/kg；

*ρ*—供试品溶液中16α-羟基泼尼松龙的质量浓度，μg/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82%～105%，相对标准偏差小于6.1%（n=6），中、高浓度回收率为81%～110%，相对标准偏差小于5.4%（n=6）。

9检出限和定量限

本方法中16α-羟基泼尼松龙的检出限、定量下限及取样量为0.2g时的检出浓度和最低定量浓度见表4。

表4 16α-羟基泼尼松龙的检出限、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（mg/kg） | 最低定量浓度（mg/kg） |
| 16α-羟基泼尼松龙 | 0.001 | 0.0025 | 0.01 | 0.025 |

10图谱



图1 16α-羟基泼尼松龙标准溶液的多反应监测提取色谱图

附录A

16α-羟基泼尼松龙的相关信息

表A.1 16α-羟基泼尼松龙的中文名称、英文名称、CAS号、分子式、

相对分子质量及结构式

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 中文名称 | 英文名称 | CAS号 | 分子式 | 相对分子质量 | 结构式 |
| 16α-羟基泼尼松龙 | 16alpha-hydroxyprednisolone | 13951-70-7 | C21H28O6 | 376.44 | ç»æå¼ |

起草单位：河北省药品医疗器械检验研究院，中国食品药品检定研究院

主要起草人：封淑华、马春艳、段琼、张伟清、刘慧锦、王海燕

验证单位：江苏省食品药品监督检验研究院、甘肃省药品检验研究院、山东省食品药品检验研究院