

LC/LC-MS/MS 法测定化妆品中西咪替丁 作业指导书 (SOP)

标准：国家药监局 2019 年第 48 号通告

■ 参考标准

《化妆品中西咪替丁的检测方法（高效液相色谱法）》国家药监局 (2019 年第 48 号)

■ 方法概述

2.1 方法编制说明

本方法参照 2019 年 8 月国家药品监督管理局发布的《化妆品中西咪替丁的检测方法（高效液相色谱法）》；该方法中 LC 法为定量分析方法，LC-MS/MS 法为阳性结果确证。

2.2 方法使用范围

本方法适用于膏霜乳液类、液态水基类、凝胶类、面膜类化妆品中西咪替丁含量的测定。

2.3 方法技术指标

标准规定：西咪替丁的检出限为 8 ng，定量下限为 24 ng；取样量为 1.0 g 时，检出浓度为 20 μg/g，最低定量浓度为 66 μg/g。

本方法的标液线性范围：LC 法为 0.5~50 μg/mL；LC-MS/MS 法为 2~100 ng/mL

■ 方法原理

样品经过甲醇溶剂涡旋混匀和超声提取后，再经过 0.45 μm 膜过滤进样，采用高效液相色谱系统分离，二极管阵列检测器检测，外标法定量；对于阳性样品，采用液相色谱 - 质谱联用法进行阳性确证。

■ 仪器设备及辅助设备要求

4.1 基本设备

岛津 Nexera LC-40，PDA 检测器；LCMS-8045，ESI 离子源。

4.2 辅助设备

分析天平：Shimadzu AP135W；

涡旋仪：Talboys；

氮吹仪：EYELA NE-1001；

超声波清洗仪：深圳洁盟

移液枪：1000 μL，200 μL，100 μL，20 μL

■ 试剂、耗材、标准品

乙腈：色谱级；

甲醇：色谱级；

磷酸二氢钾，分析纯；

氨水，分析纯，浓度为 25-28%；

离心管：15mL；

微孔过滤膜：WondaDisc 疏水聚四氟乙烯针头滤器；

注射器：10mL；

西咪替丁标准品来源于上海安谱公司，相关信息见表 1。

■ 操作步骤

6.1 标准工作曲线的制作

6.1.1 标准储备液配制

西咪替丁标准储备溶液（1000 mg/L）：准确称取西咪替丁标准品 10 mg，用甲醇溶解并定容至 10 mL。置 -20℃冰箱中，可保存一年。

6.1.2 标准中间溶液配制（100 mg/L）

用移液枪准确吸取标准储备液 5 mL 转移到 50 mL 容量瓶中，用甲醇定容。置 -20℃冰箱中，可保存一年。

6.1.3 标准工作溶液配制（标准工作曲线详见表 1）

No.	混合标准中间溶液加入量 (μL)	最终甲醇定容体积 (mL)	最终浓度 (mg/L)	备注
1	50	10	0.5	
2	500	10	5	标准工作溶液可存放于 4℃冰箱中一个月。
3	1000	10	10	
4	2500	10	25	
5	5000	10	50	

6.2 仪器设备条件

色谱柱：Shim-pack XR-ODS II 色谱柱（2.0 mm I.D.×100 mm L，2.2 μm）

流动相：A 相：0.05 mol/L 磷酸二氢钾溶液（pH=7.0）；B 相：乙腈

流速：0.4 mL/min

柱温：35℃

进样量：3 μL

检测波长：215 nm

6.3 样品前处理

准确称取样品 0.5 g（精确到 0.001 g，标准规定称样量范围为 0.2-1 g）于 25 mL 比色管中，加入 20.0 mL 色谱级甲醇，在涡旋混匀器上高速振荡 30 s，使样品与提取溶剂充分混匀。然后超声提取 20 min，静置至室温，再用色谱级甲醇定容至刻度摇匀，溶液经 0.45μm 滤膜过滤后作为待测溶液。必要时可用适量的甲醇做稀释。

6.4 测定

按照 5.2 的仪器分析条件进行分析，进样量为 3.0 μL，若待测溶液中的含量超过本方法的标准曲线范围，则需要稀释待测溶液后进样分析。

6.5 计算和报告

6.5.1 定性分析

在 6.2 仪器条件下，取标准系列溶液 5.1.3 进样，以标准系列溶液浓度为横坐标，峰面积为纵坐标绘制标准曲线，取 5.3 处理的待测溶液进样，根据色谱峰的保留时间和紫外吸收光谱图定性。

6.5.2 定量分析

测得目标物峰面积，根据标准曲线得到待测溶液中西咪替丁的浓度。按照下列公式计算样品中西咪替丁的含量。

$$\omega = \frac{\rho \times V \times D}{m}$$

式中： ω —样品中西咪替丁的质量分数， $\mu\text{g/g}$ ；

ρ —从标准曲线得到待测组分的浓度， $\mu\text{g/mL}$ ；

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%。

■ 质谱确证

若检出阳性样品，则需要经过液相色谱 - 质谱法进行结果确证。

7.1 仪器设备条件

7.1.1 色谱条件

色谱柱：Shim-pack XR-ODS II 色谱柱（2.0 mm I.D.×100 mm L, 2.2 μm ）

流动相：A 相：0.1% 甲酸 +0.002 mol/L 乙酸铵水溶液；B 相：乙腈

流速：0.3 mL/min

柱温：40°C

进样量：1 μL

洗脱方式：梯度洗脱

7.1.2 质谱条件

离子源：ESI(+)

雾化气流速：3.0 L/min

加热气流速：10.0 L/min

干燥气流速：10.0 L/min

接口温度：300°C

DL 温度：250°C

加热模块温度：400°C

扫描模式：多反应监测（MRM）模式

MRM 参数：见表 2

7.2 样品前处理

将 6.3 前处理后的样品，准确移取 1 mL 样品溶液放进色谱瓶中用氮吹仪将其吹干后再用流动相（VA:VB=9:1）溶液定容至 1 mL，经 0.22 μm 滤膜过滤后作为待测溶液，必要时可用适量的流动相（VA:VB=9:1）溶液做稀释。

7.3 定性结果确证

进行样品测定时，如果检出的色谱峰的保留时间与标准样品一致，并且在扣除背景后的样品质谱图中，所选择的离子均出现，而且所选择的离子丰度比与标准样品的离子丰度比相一致（相对丰度 >50%，允许 $\pm 20\%$ 偏差；相对丰度 >20%~50%，允许 $\pm 25\%$ 偏差；相对丰度 >10%~20%，允许 $\pm 30\%$ ；相对丰度 $\leq 10\%$ ，允许 $\pm 50\%$ 偏差），则可判断样品中存在西咪替丁组分。如果不能确证，应重新进样，以扫描方式（有足够灵敏度）或采用增加其他确证离子对的方式或用其他灵敏度更高的分析仪器来确证。

■ 质量控制

表 2 质量控制要求对照表

项目	浓度	判定准则	频率
标准曲线	0.5~50 $\mu\text{g/mL}$	$R \geq 0.99$	每批次
空白基质加标	0.5~10 $\mu\text{g/g}$	回收率 80%~120%	每批次

表 3 西咪替丁标样信息

化合物	CAS 编号	英文名	规格
西咪替丁	51481-61-9	Cimetidine	0.10g

表 4 西咪替丁 MRM 参数表

名称	CAS#	前体离子	产物离子	Q1 Pre (V)	CE (V)	Q3 Pre (V)
西咪替丁	51481-61-9	253.2	95.05*	-28	-29	-16
			159.15	-17	-15	-14
			117.25	-28	-16	-23

岛津应用云

