



中华人民共和国国家标准

GB/T 24800.3—2009

化妆品中螺内酯、 过氧苯甲酰和维甲酸的测定 高效液相色谱法

Determination of spironolacton,
benzoyl peroxide and tretinoin in cosmetics by
high performance liquid chromatography method

2009-11-30 发布

2010-05-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会 发布

前 言

本标准的附录 A 为资料性附录。

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。

本标准负责起草单位：中国检验检疫科学研究院、上海市日用化学工业研究所、上海香料研究所。

本标准主要起草人：王星、武婷、马强、张庆、肖海清、沈敏、康薇。

引 言

本标准中的被测物质螺内酯、维甲酸是我国《化妆品卫生规范》规定的禁用物质,不得作为化妆品生产原料即组分添加到化妆品中。如果技术上无法避免禁用物质作为杂质带入化妆品时,则化妆品成品应符合《化妆品卫生规范》对化妆品的一般要求,即在正常及合理的、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,本标准的制定,仅对化妆品中测定这些物质提供检测方法。



化妆品中螺内酯、 过氧苯甲酰和维甲酸的测定 高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了化妆品中螺内酯、过氧苯甲酰和维甲酸的测定方法。

本标准适用于皮肤护理类化妆品中螺内酯、过氧苯甲酰和维甲酸的测定。

本标准对于螺内酯、过氧苯甲酰的检出限均为 2.5 mg/kg,定量限均为 5 mg/kg;维甲酸的检出限为 1 mg/kg,定量限为 2.5 mg/kg。

2 原理

以甲醇为溶剂,超声提取、离心,0.45 μm 的有机滤膜过滤,溶液注入配有二极管阵列检测器(DAD)的液相色谱仪检测,外标法定量。

3 试剂和材料

除另有规定外,试剂均为分析纯。

3.1 甲醇:色谱纯。

3.2 螺内酯,纯度不小于 97%;过氧苯甲酰,纯度不小于 97%;维甲酸,纯度不小于 99.9%。

3.3 螺内酯标准储备液:准确称取螺内酯 0.1 g,精确到 0.000 1 g,于 50 mL 烧杯中,加适量甲醇溶解后移入 100 mL 容量瓶中,用甲醇定容至刻度,即得螺内酯溶液浓度为 1 000 mg/L 的标准储备液。冰箱冷藏保存。

3.4 过氧苯甲酰标准储备液:准确称取过氧苯甲酰 0.1 g,精确到 0.000 1 g,于 50 mL 烧杯中,加适量甲醇溶解后移入 100 mL 容量瓶中,用甲醇定容至刻度,即得过氧苯甲酰溶液浓度为 1 000 mg/L 的标准储备液。

注:由于过氧苯甲酰遇水易分解,每次使用时需现用现配。

3.5 维甲酸标准储备液:准确称取维甲酸 0.1 g,精确到 0.000 1 g,于 50 mL 烧杯中,加适量甲醇溶解后移入 100 mL 容量瓶中,用甲醇定容至刻度,即得维甲酸溶液浓度为 1 000 mg/L 的标准储备液。冰箱避光冷藏保存。

注:由于维甲酸对光十分敏感,见光容易分解变质,操作应在避光条件下进行。

3.6 标准混合溶液:分别移取 10 mL 的上述三种标准储备液(3.3、3.4、3.5)至 100 mL 容量瓶中,用甲醇定容至刻度,即得三种物质均为 100 mg/L 的混合标准储备液。

3.7 标准工作溶液:用甲醇将上述标准混合溶液(3.6)分别配成一系列浓度 1.0 mg/L、2.0 mg/L、5.0 mg/L、10 mg/L、20 mg/L、50 mg/L、100 mg/L、200 mg/L 的标准工作溶液,现用现配。

3.8 0.1 mol/L 的氢氧化钠溶液:称取氢氧化钠 0.4 g,精确到 0.001 g,于 50 mL 烧杯中,加水溶解后转移至 100 mL 容量瓶中,加水定容至刻度,即得 0.1 mol/L 的氢氧化钠溶液。

3.9 0.025 mol/L 磷酸二氢钠溶液(pH6.5):称取磷酸二氢钠($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)3.9 g,精确至 0.001 g,于 50 mL 烧杯中,加水溶解,移入 1 000 mL 容量瓶中,用水定容至刻度,混匀,即得到 0.025 mol/L 的磷酸二氢钠溶液。用 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液(3.8)调节 pH 值至 6.5。

4 仪器

- 4.1 液相色谱仪,配有二极管阵列检测器。
- 4.2 微量进样器,10 μ L。
- 4.3 超声波清洗器。
- 4.4 离心机,大于 5 000 r/min。
- 4.5 溶剂过滤器和 0.45 μ m 有机过滤膜。
- 4.6 具塞比色管,10 mL。

5 测定步骤

5.1 样品处理

称取化妆品试样约 0.2 g,精确到 0.001 g,于 10 mL 具塞比色管中,加入 8 mL 甲醇,在超声波清洗器中超声振荡 20 min,冷却后用甲醇稀释至刻度,混匀。取部分溶液放入离心管中,在离心机上于 5 000 r/min 离心 20 min,离心后的上清液经 0.45 μ m 有机滤膜过滤,滤液待测定用。

5.2 测定

5.2.1 色谱条件

- 5.2.1.1 色谱柱:Kromasil C₁₈柱(250 mm×4.6 mm 内径,5 μ m);
- 5.2.1.2 流动相:A:甲醇,B:0.025 mol/L 磷酸二氢钠溶液(pH6.5)(3.9),梯度洗脱条件见表 1。

表 1 方法的梯度洗脱条件

时间/min	A/%	B/%
0	80	20
5	80	20
7	90	10
13	90	10

- 5.2.1.3 流速:1.0 mL/min;
- 5.2.1.4 柱温:25 $^{\circ}$ C;
- 5.2.1.5 检测波长:0~9.50 min,240 nm,9.51 min~13 min,335 nm;
- 5.2.1.6 进样量:10 μ L。

5.2.2 标准工作曲线绘制

分别移取一系列浓度为 1 mg/L、2 mg/L、5 mg/L、10 mg/L、20 mg/L、50 mg/L、100 mg/L、200 mg/L 的混合标准工作溶液,按色谱条件(5.2.1)进行测定,以色谱峰的峰面积为纵坐标,对应的溶液浓度为横坐标作图,绘制标准工作曲线。

标准物质色谱图参见附录 A 的图 A.1。

5.2.3 试样测定

用微量注射器准确吸取试样溶液(5.1)注入液相色谱仪,按色谱条件(5.2.1)进行测定,记录色谱峰的保留时间和峰面积,由色谱峰的峰面积可从标准曲线上求出相应的被测物浓度。样品溶液中的被测物的响应值均应在仪器测定的线性范围之内。被测物含量高的试样可取适量试样溶液用流动相稀释后进行测定。

5.2.4 定性确认

液相色谱仪对样品进行定性测定,进行样品测定时,如果检出螺内酯、过氧苯甲酰或维甲酸的色谱峰的保留时间与标准品相一致,并且在扣除背景后的样品色谱图中,该物质的紫外吸收图谱与标准品的紫外吸收图谱相一致,则可初步判断样品中存在螺内酯、过氧苯甲酰或维甲酸。必要时,阳性样品需用

其他方法进行确认试验。

5.3 平行试验

按以上步骤,对同一试样进行平行试验测定。

5.4 空白试验

除不称取试样外,均按上述步骤进行。

6 结果计算

结果按式(1)计算(计算结果应扣除空白值):

$$X_i = \frac{c_i \cdot V}{m}$$

.....(1)

式中:

- X_i ——样品中被测物质的质量浓度,单位为毫克每千克(mg/kg);
- c_i ——标准曲线查得被测物质的浓度,单位为毫克每升(mg/L);
- V ——样品稀释后的总体积,单位为毫升(mL);
- m ——样品质量,单位为克(g)。

7 方法检出限与定量限

螺内酯、过氧苯甲酰的检出限均为 2.5 mg/kg,定量限均为 5 mg/kg;维甲酸的检出限为 1 mg/kg,定量限为 2.5 mg/kg。

8 回收率与精密度

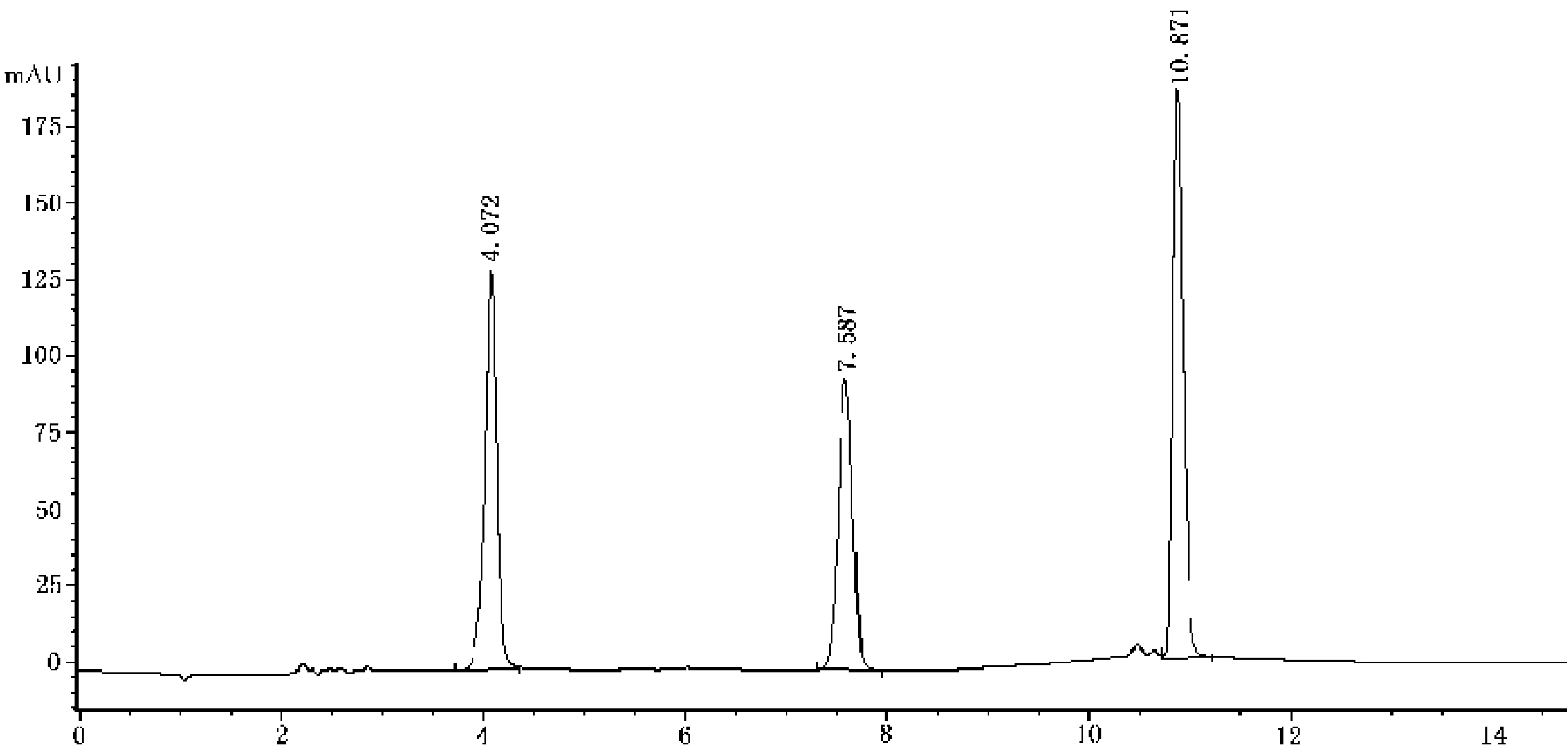
在添加浓度 5 mg/kg~50 mg/kg 浓度范围内,回收率在 85%~110%之间,相对标准偏差小于 10%。

9 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应超过算术平均值的 10%。



附录 A
(资料性附录)
标准物质的液相色谱图



- 1——螺内酯(4.072 min)；
- 2——过氧苯甲酰(7.587 min)；
- 3——维甲酸(10.871 min)。

图 A.1 螺内酯、过氧苯甲酰和维甲酸的标准液相色谱图