



中华人民共和国国家标准

GB/T 30927—2014

化妆品中罗丹明 B 等 4 种禁用着色剂的 测定 高效液相色谱法

Determination of 4 prohibited coloring agents including rhodamine B in
cosmetics—High performance liquid chromatography

2014-07-08 发布

2014-11-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局 发布
中国国家标准化管理委员会

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

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。

本标准主要起草人：马强、李文涛、白桦、马会娟、王烨、孟宪双、李晶瑞、丁岚、陈云霞、李琼、武晓剑。



引 言

本标准的被测物质是我国《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。



化妆品中罗丹明 B 等 4 种禁用着色剂的 测定 高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了化妆品中罗丹明 B、酸性黄 36、颜料红 53 : 1 和颜料橙 5 等 4 种禁用着色剂的高效液相色谱测定方法。

本标准适用于膏霜、散粉、水剂、香波和唇膏类化妆品中罗丹明 B、酸性黄 36、颜料红 53 : 1 和颜料橙 5 等 4 种禁用着色剂的测定。

本标准的检出限和定量限:罗丹明 B 的检出限为 2 mg/kg,定量限为 4 mg/kg;散粉类、水剂类和唇膏类样品中酸性黄 36 的检出限为 4 mg/kg,定量限为 8 mg/kg,膏霜类和香波类样品中酸性黄 26 的检出限为 3 mg/kg,定量限为 6 mg/kg;散粉类、水剂类和唇膏类样品中颜料红 53 : 1 的检出限为 6 mg/kg,定量限为 10 mg/kg,膏霜类和香波类样品中颜料红 53 : 1 的检出限为 4 mg/kg,定量限为 8 mg/kg;颜料橙 5 的检出限为 3 mg/kg,定量限为 6 mg/kg。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是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

3 原理

试样经溶剂提取,离心过滤后,用高效液相色谱法进行测定,外标法定量,液相色谱-质谱确认。

4 试剂和材料

除非另有说明,所用试剂均为分析纯,水为 GB/T 6682 规定的一级水。

4.1 乙腈:色谱纯。

4.2 甲醇:色谱纯。

4.3 四氢呋喃:色谱纯。

4.4 40%四丁基氢氧化铵水溶液(体积分数)。

4.5 柠檬酸。

4.6 28%氨水溶液(体积分数)。

4.7 标准品:罗丹明 B 等 4 种禁用着色剂标准品中文名称、英文名称、结构式、CAS 号、CI 号、分子式、相对分子质量参见附录 A 表 A.1,纯度不小于 95%。

4.8 标准储备溶液:分别准确称取适量罗丹明 B、酸性黄 36 和颜料红 53 : 1 标准物质(精确至 0.000 1 g),以甲醇(4.2)分别配制成浓度为 1 000 $\mu\text{g/mL}$ 的标准储备溶液。准确称取适量颜料橙 5 标准物质,以乙腈(4.1)配制成浓度为 200 $\mu\text{g/mL}$ 的标准储备溶液。各标准储备溶液于 4 $^{\circ}\text{C}$ 避光保存,可使用三个月。

5 仪器和设备

- 5.1 高效液相色谱(HPLC)仪:配有二极管阵列检测器。
- 5.2 液相色谱-质谱/质谱(LC-MS/MS)仪:配有电喷雾离子源(ESI)。
- 5.3 pH 计:范围 0.00~14.00,精度±0.01。
- 5.4 分析天平:感量为 0.000 1 g 和 0.001 g。
- 5.5 离心机:转速不低于 5 000 r/min。
- 5.6 超声波水浴。
- 5.7 具塞比色管:10 mL。
- 5.8 具塞塑料离心管:10 mL。
- 5.9 微孔滤膜:0.45 μm,聚四氟乙烯材质。

6 分析步骤

6.1 样品处理

6.1.1 膏霜、散粉、水剂、香波类样品

称取 1.0 g(精确至 0.001 g)试样于 10 mL 比色管中,加入甲醇至刻度,超声提取 30 min。取部分溶液转移至 10 mL 具塞塑料离心管中,以 5 000 r/min 离心 10 min,上清液经 0.45 μm 微孔滤膜过滤,供高效液相色谱测定。

注:如离心难以获得上清液可加适量氯化钠破乳。

6.1.2 唇膏类样品

称取 1.0 g(精确至 0.001 g)试样于 50 mL 具塞锥形瓶中,加入 1.5 mL 四氢呋喃(4.3),再加入乙腈(4.1)至刻度,超声提取 30 min。取部分溶液转移至 10 mL 具塞塑料离心管中,以 5 000 r/min 离心 10 min,上清液经 0.45 μm 微孔滤膜过滤,供高效液相色谱测定。

6.2 测定条件

高效液相测定参考条件如下:

- a) 色谱柱:XTerra C₁₈,5 μm,250 mm × 4.6 mm(i.d.),或相当者;
- b) 流动相:流动相条件见表 1;

表 1 流动相条件

时间/min	甲醇/%	0.015 mol/L 柠檬酸溶液(含 0.01 mol/L 四丁基氢氧化铵,pH 8.2)/%
0.00	45	55
8.00	75	25
12.00	90	10
15.00	90	10
20.00	45	55

- c) 流速:1.0 mL/min;
- d) 柱温:30 ℃;

- e) 检测波长:417 nm(酸性黄 36)、483 nm(颜料橙 5)、504 nm(颜料红 53 : 1)、547 nm(罗明丹 B);
f) 进样量:10 μL 。

6.3 标准曲线的绘制

用流动相溶液将标准储备液按比例混合,并将逐级稀释得到浓度为 0.2 $\mu\text{g/mL}$ 、0.5 $\mu\text{g/mL}$ 、1 $\mu\text{g/mL}$ 、2 $\mu\text{g/mL}$ 、5 $\mu\text{g/mL}$ 、10 $\mu\text{g/mL}$ 、20 $\mu\text{g/mL}$ 、50 $\mu\text{g/mL}$ 的标准工作溶液,按 6.2 的测定条件浓度由低到高进样测定,以峰面积-浓度作图,得到标准曲线回归方程。

4 种禁用着色剂标准品色谱图和紫外吸收光谱图参见附录 B。

6.4 测定

按 6.2 的测定条件对待测样液中 4 种禁用着色剂进行测定,用外标法定量。待测样液中 4 种禁用着色剂的响应值应在标准曲线的线性范围内,超过线性范围则应稀释后再进样分析。进行样品测定时,如果检出禁用着色剂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,该物质的紫外可见吸收光谱与标准品的紫外可见吸收光谱相一致,则可初步确认样品中存在被测禁用着色剂。必要时,阳性样品需用液相色谱-质谱进行确认试验(参见附录 C)。

6.5 空白试验

除不称取样品外,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,计算结果保留两位小数(计算结果应扣除空白值):

$$W = \frac{c \times V}{m} \dots\dots\dots(1)$$

式中:

W ——试样中着色剂的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);

c ——从标准工作曲线上查出的样液中着色剂的浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$);

V ——样液最终定容体积,单位为毫升(mL);

m ——试样的质量,单位为克(g)。

8 检出限和定量限

本标准的检出限和定量限:罗丹明B的检出限为 2 mg/kg ,定量限为 4 mg/kg ;散粉类、水剂类和唇膏类样品中酸性黄 26 的检出限为 4 mg/kg ,定量限为 8 mg/kg ,膏霜类和香波类样品中酸性黄 36 的检出限为 3 mg/kg ,定量限为 6 mg/kg ;散粉类、水剂类和唇膏类样品中颜料红 53 : 1 的检出限为 6 mg/kg ,定量限为 10 mg/kg ,膏霜类和香波类样品中颜料红 53 : 1 的检出限为 4 mg/kg ,定量限为 8 mg/kg ;颜料橙 5 的检出限为 3 mg/kg ,定量限为 6 mg/kg 。

9 回收率和精密度

在添加浓度 4 mg/kg ~300 mg/kg 范围内,回收率在 86.6%~99.3%之间,相对标准偏差小于 5%。

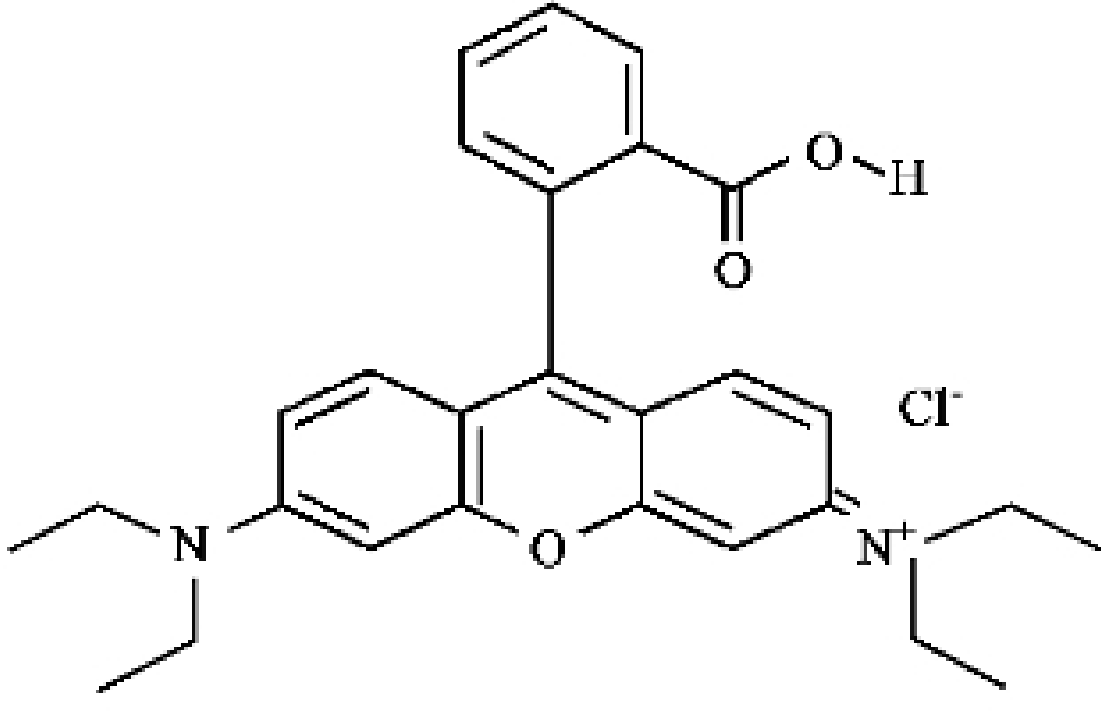
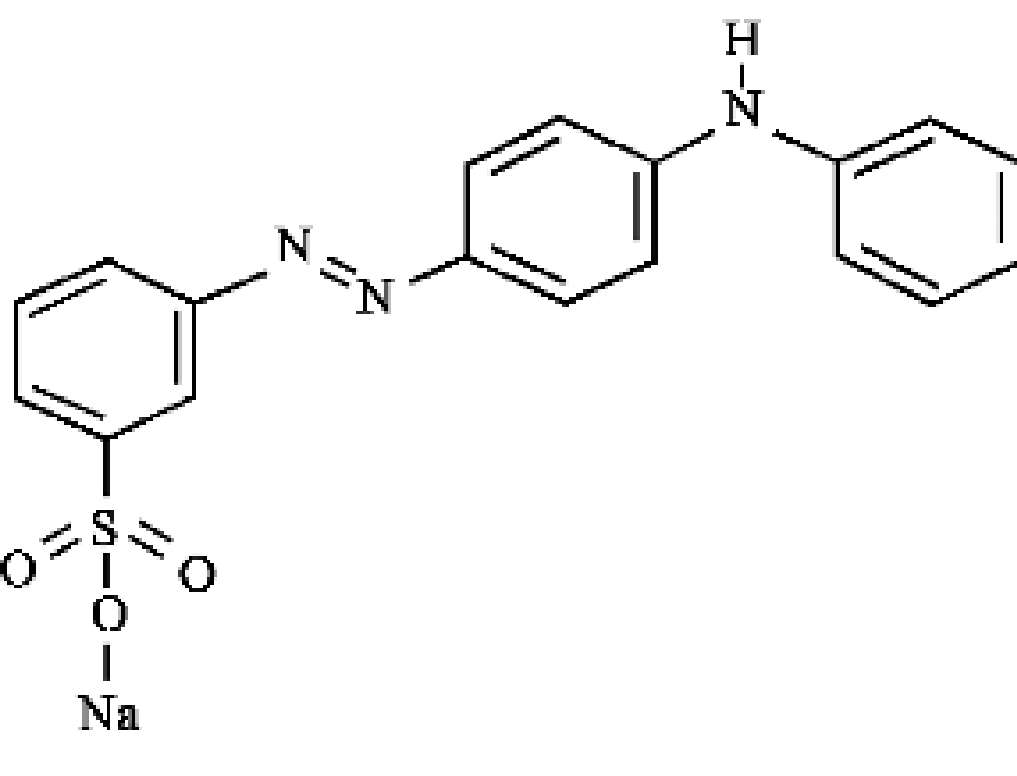
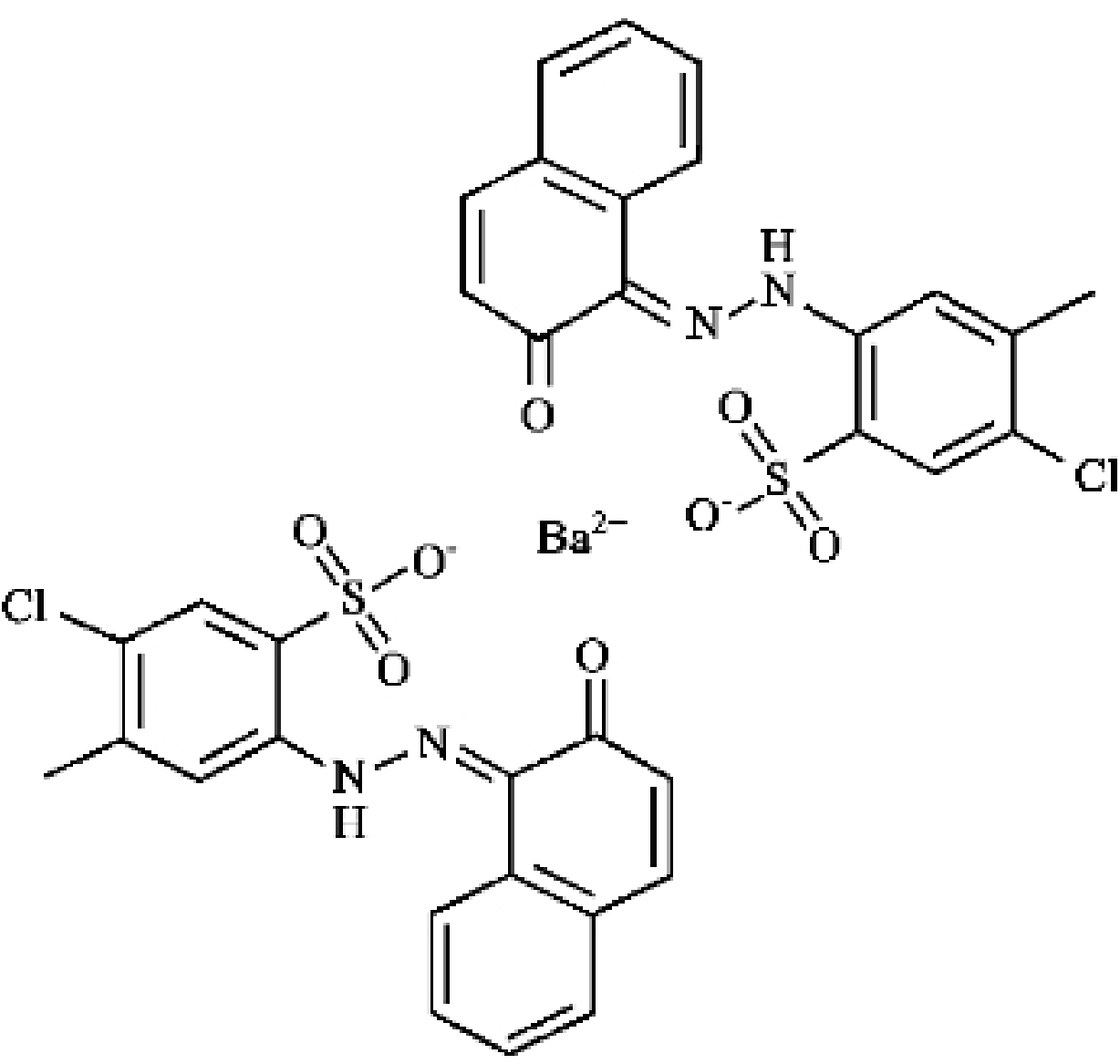
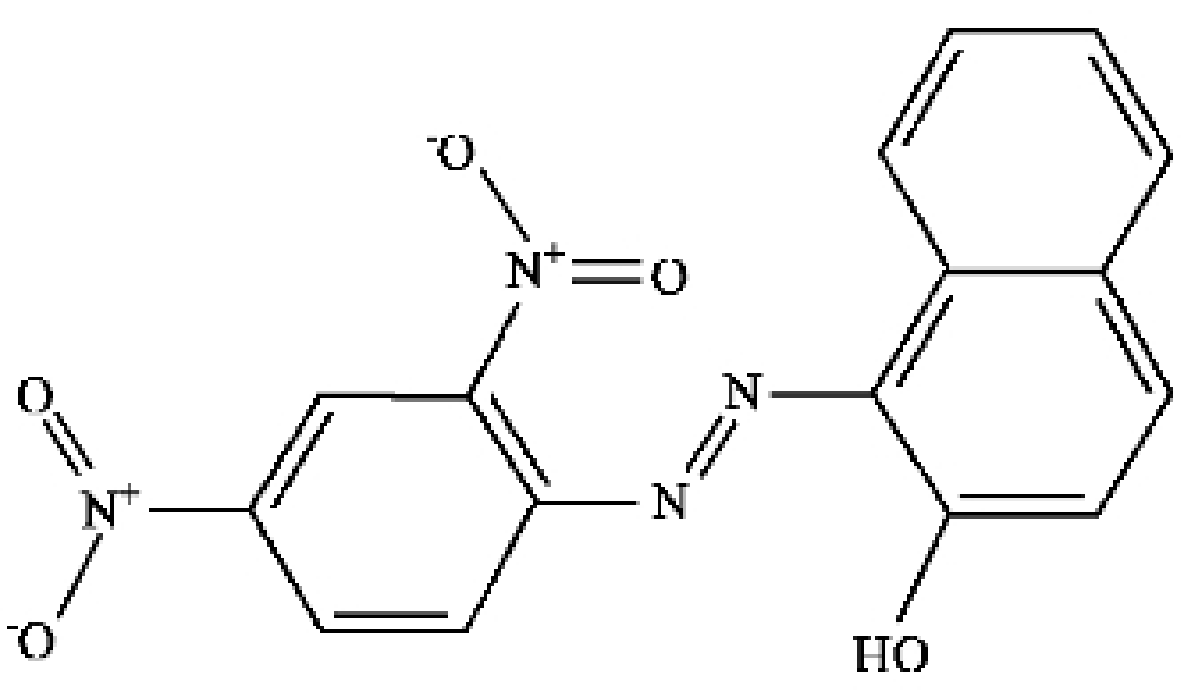
10 允许差

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%。

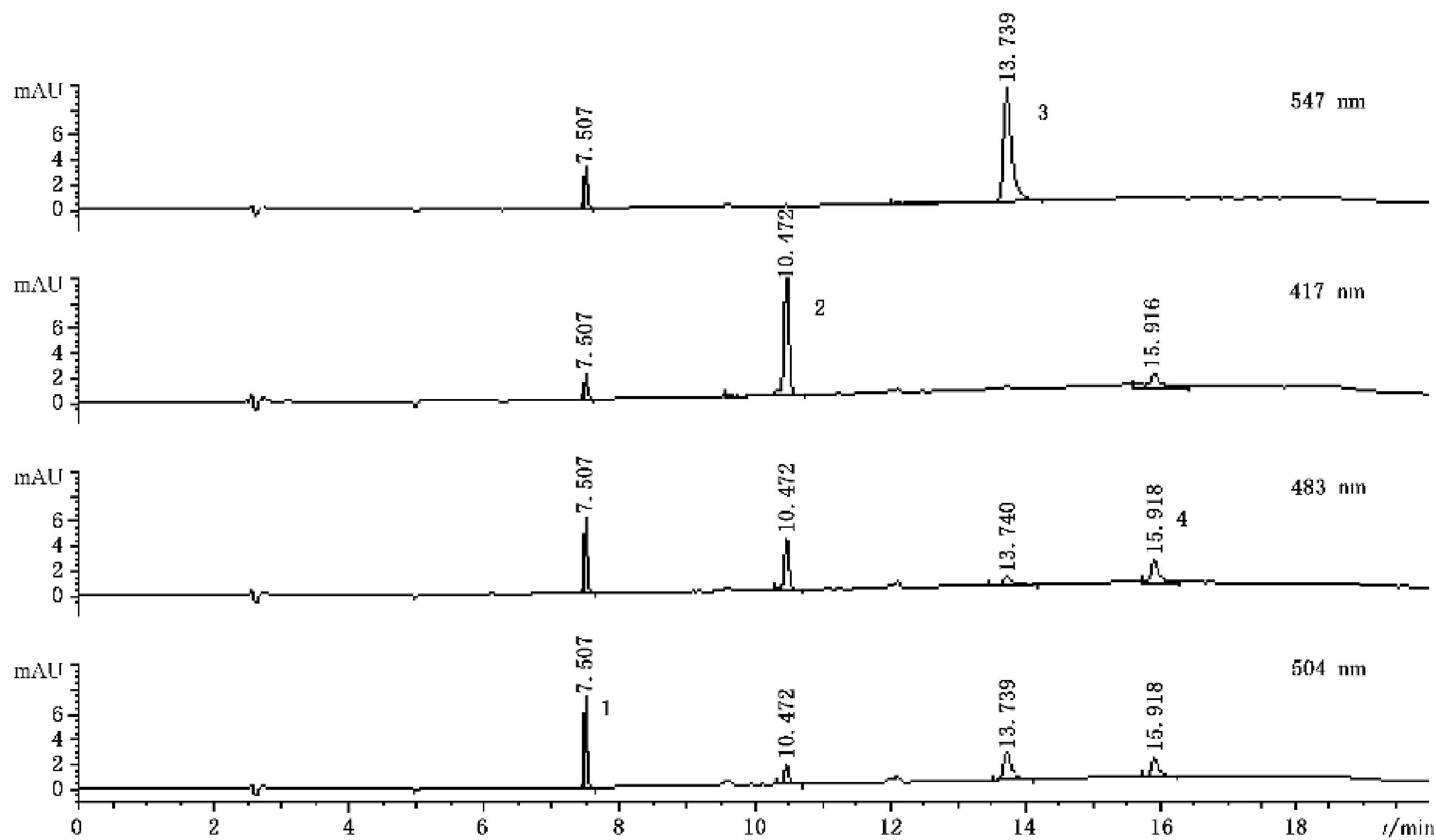
附 录 A
(资料性附录)

4 种禁用着色剂的中文名称、英文名称、结构式、CAS 号、CI 号、分子式、相对分子质量

表 A.1 4 种禁用着色剂的中文名称、英文名称、结构式、CAS 号、CI 号、分子式、相对分子质量

中文名称	英文名称	结构式	CAS 号	CI 号	分子式	相对分子质量
罗丹明 B	Rhodamine B		81-88-9	45170	$C_{28}H_{31}N_2O_3Cl$	479.02
酸性黄 36	Acid Yellow 36		587-98-4	13065	$C_{18}H_{14}N_3O_3SNa$	375.38
颜料红 53 : 1	Pigment Red 53 : 1		5160-02-1	15585;1	$C_{34}H_{24}N_4O_8S_2Cl_2Ba$	888.94
颜料橙 5	Pigment Orange 5		3468-63-1	12075	$C_{16}H_{10}N_4O_5$	338.27

附录 B
(资料性附录)
4 种禁用着色剂标准品色谱图和紫外可见吸收光谱图



说明：
1——颜料红 53：1(504 nm,7.507 min)；
2——酸性黄 36(417 nm,10.472 min)；
3——罗丹明 B(547 nm,13.739 min)；
4——颜料橙 5(483 nm,15.918 min)。

图 B.1 4 种禁用着色剂标准品色谱图

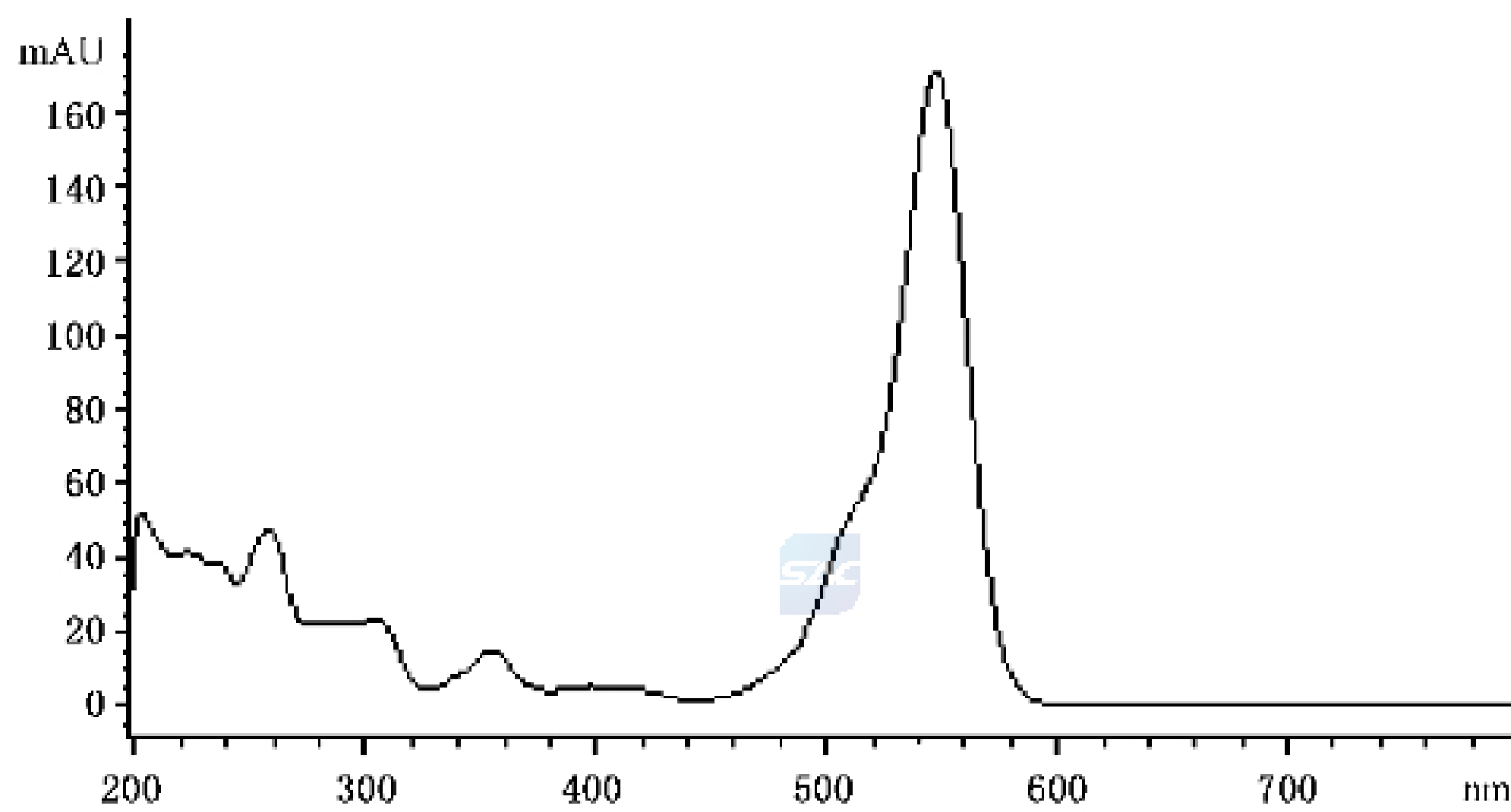


图 B.2 罗丹明 B 标准品的紫外可见吸收光谱图

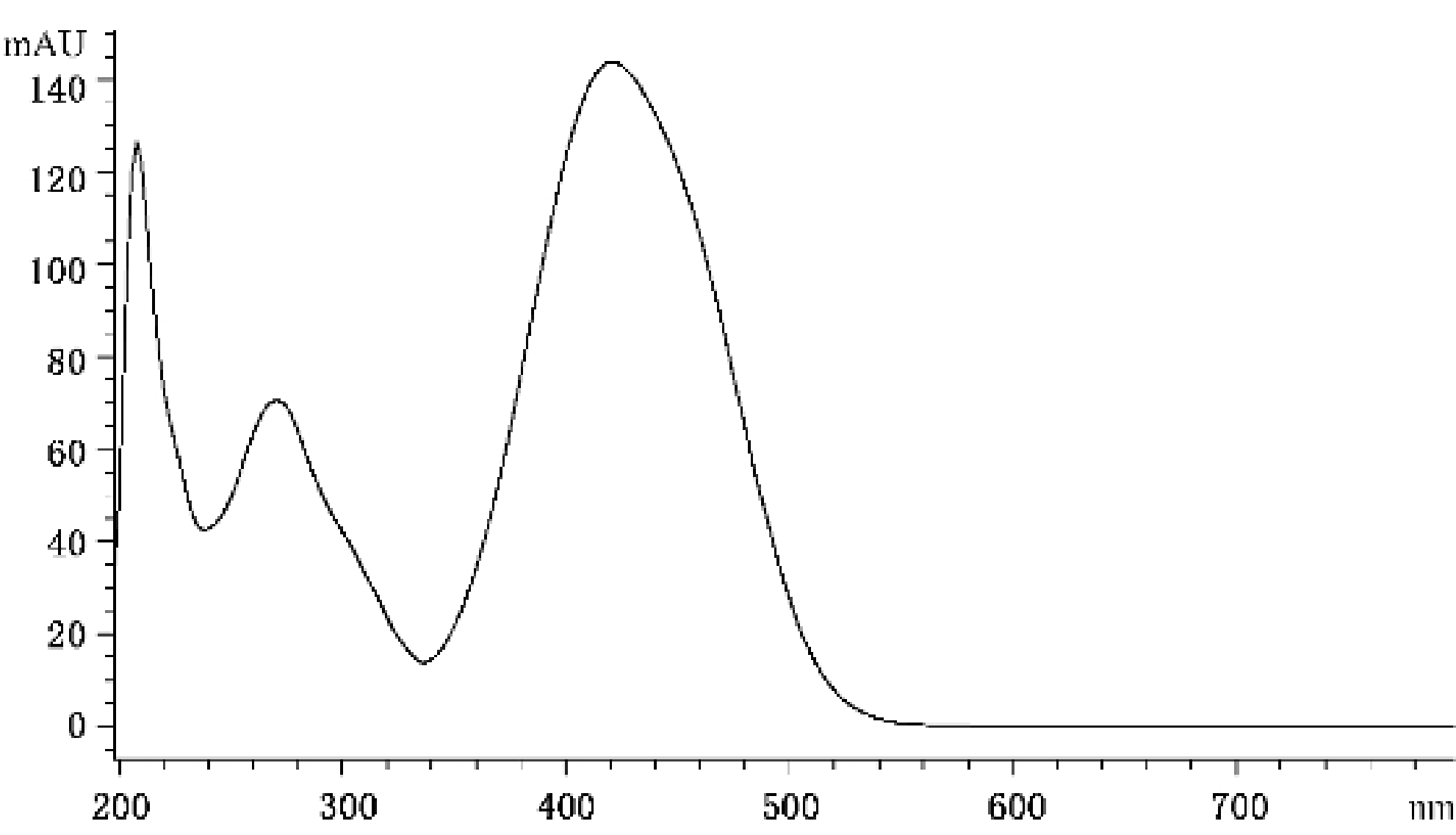


图 B.3 酸性黄 36 标准品的紫外可见吸收光谱图

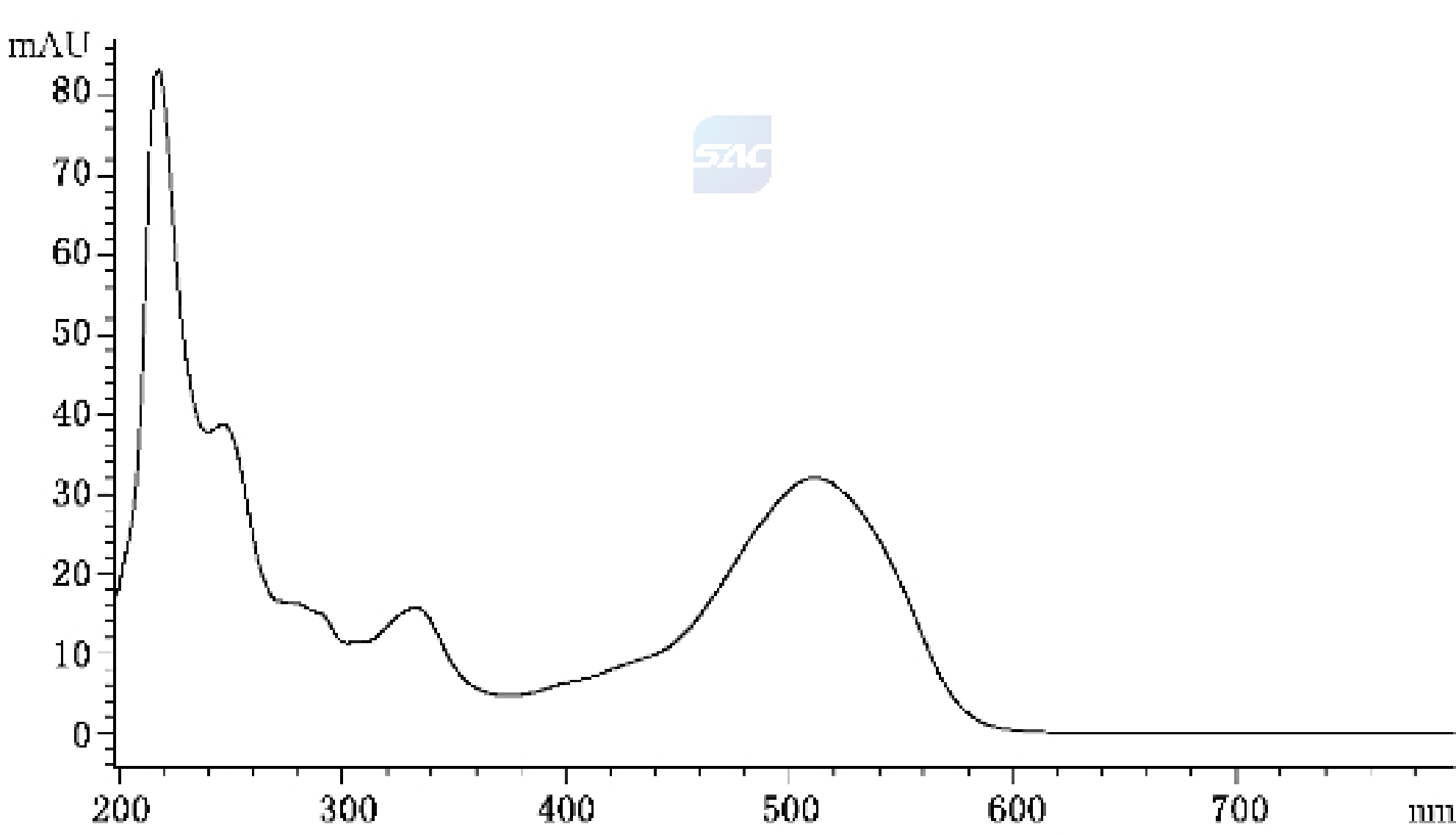


图 B.4 颜料红 53：1 标准品的紫外可见吸收光谱图

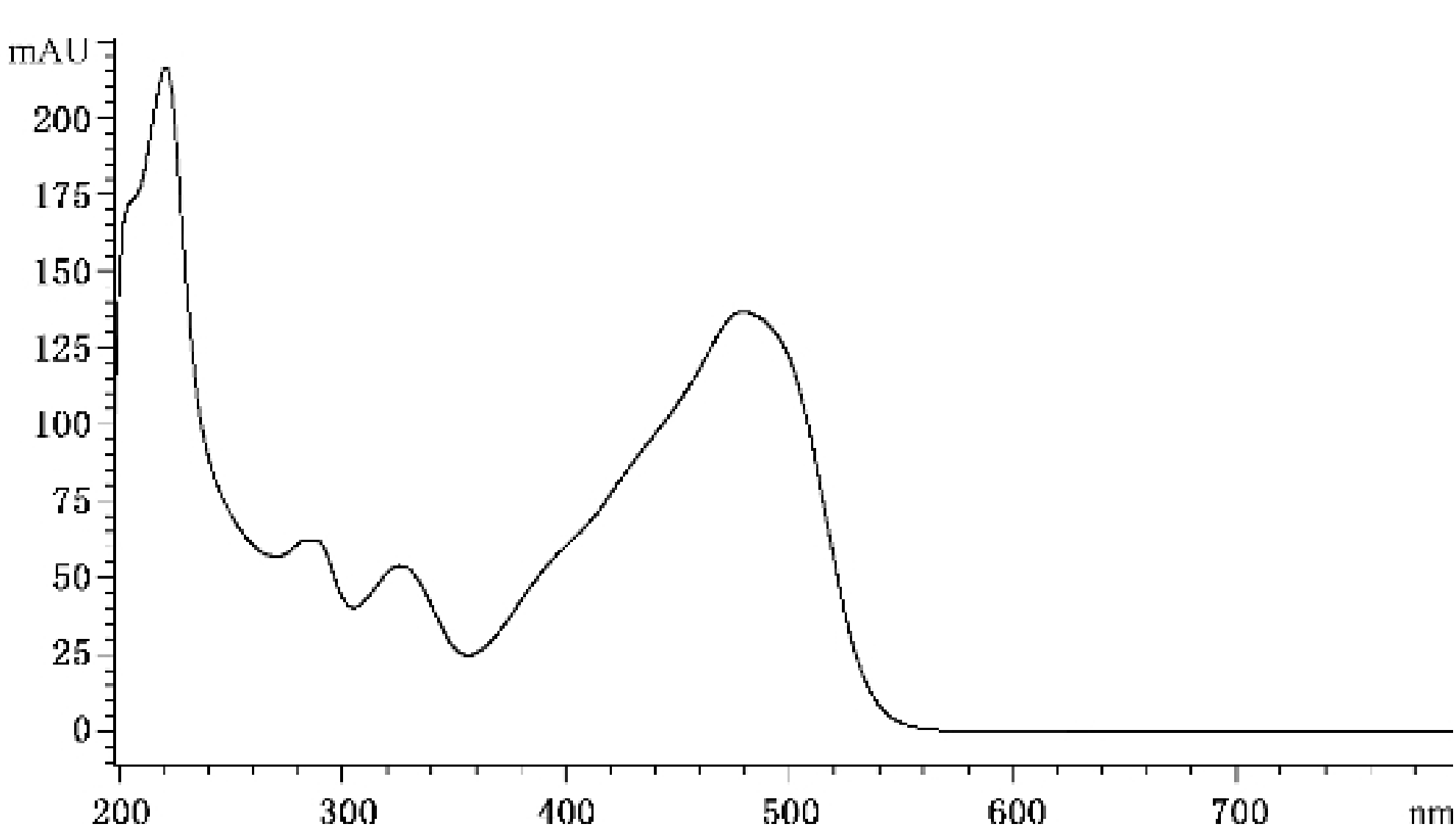


图 B.5 颜料橙 5 标准品的紫外可见吸收光谱图

附 录 C
(资料性附录)
确认试验

C.1 液相色谱条件

液相色谱测定参考条件如下：

- a) 色谱柱：XTerraC₁₈ (2.1 mm×150 mm, 3.5 μm), 或相当者；
- b) 流动相：梯度洗脱程序：甲醇(A)和 0.2% 甲酸水溶液(B)；0 min~3 min, 60% A；3 min~5 min, 60%~95% A；5 min~9 min, 95% A；9 min~11 min, 95%~60% A；11 min~12 min, 60% A；
- c) 流速：0.2 mL/ min；
- d) 柱温：30 ℃；
- e) 进样量：10 μL。

C.2 质谱条件

质谱测定参考条件如下：

- a) 电离方式：电喷雾电离，正离子；
- b) 毛细管电压：3.5 kV；
- c) 萃取电压：1.0 V；
- d) 射频透镜电压：0.5 V；
- e) 离子源温度：150 ℃；
- f) 脱溶剂气：氮气，流速 850 L/h，温度 450 ℃；
- g) 锥孔气：氮气，流速 45 L/h；
- h) 碰撞气：氩气；
- i) 扫描模式：多反应监测(MRM)，定性离子对、定量离子对、锥孔电压和碰撞气能量见表 C.1。

表 C.1 4 种禁用着色剂的定性离子对、定量离子对、锥孔电压和碰撞气能量

目标物	母离子(<i>m/z</i>)	子离子(<i>m/z</i>)	相对丰度/%	允许相对误差/%
罗丹明 B	443.15(52 V)	399.05(38 eV)	100	±25
	443.15(52 V)	355.12(50 eV)	45	
酸性黄 36	355.20(45 V)	169.25(20 eV)	100	±25
	355.20(45 V)	109.40(32 eV)	32	
颜料红 53：1	378.10(25 V)	221.20(18 eV)	100	±25
	378.10(25 V)	156.19(36 eV)	28	
颜料橙 5	339.21(28 V)	321.51(8 eV)	100	±25
	339.21(28 V)	156.21(22 eV)	35	

C.3 定性判定

按照上述条件测定试样和标准工作溶液,如果试样中质量色谱峰保留时间与标准工作溶液一致(变化范围在±2.5 之内);样品中目标化合物的两个子离子的相对丰度与浓度相当标准溶液的相对丰度一致,相对丰度偏差不超过表 C.1 的规定,则可判断样品中存在着色剂。

对 4 种禁用着色剂的选择离子质量色谱图见图 C.1。

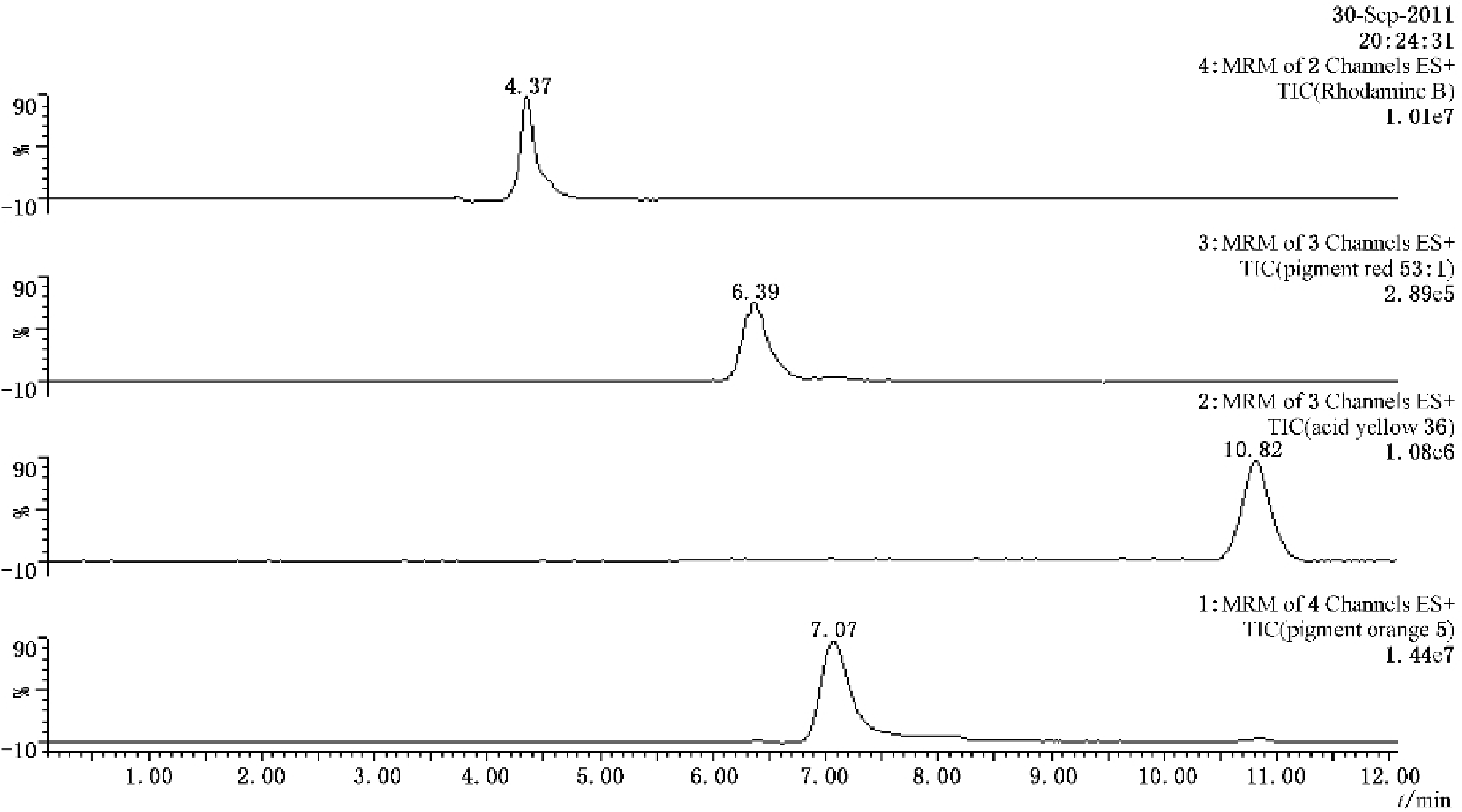


图 C.1 4 种禁用着色剂的选择离子质量色谱图

