



中华人民共和国国家标准

GB/T 35800—2018

化妆品中防腐剂己脒定和氯己定及其盐类的测定 高效液相色谱法

Determination of hexamidine, chlorhexidine and their salts as preservatives in cosmetics—High performance liquid chromatography

2018-02-06 发布

2018-09-01 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:孟宪双、马强、白桦、张庆、肖海清、赵卫哲、孙雨婷、沈敏。



化妆品中防腐剂己脒定和氯己定及其盐类的测定 高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了化妆品中防腐剂己脒定和氯己定及其盐类的高效液相色谱测定方法。
本标准适用于水剂、膏霜、香波、散粉和唇膏类化妆品中防腐剂己脒定和氯己定及其盐类的测定。
本标准的检出限和定量限：己脒定和氯己定及其盐类的检出限为 0.002%，定量限为 0.004%。

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、微孔滤膜过滤后，用高效液相色谱测定，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。
- 4.4 三氟乙酸。
- 4.5 氯化钠。
- 4.6 饱和氯化钠溶液：称取 40 g 氯化钠(4.5)，置于 100 mL 容量瓶中，用水定容至刻度，摇匀，备用。
- 4.7 己脒定二(羟乙基磺酸)盐和氯己定的中文名称、英文名称、CAS 号、分子式和相对分子质量参见附录 A 中的表 A.1，结构式参见附录 A 中的图 A.1。
- 4.8 己脒定和氯己定标准储备溶液(1 000 mg/L)：称取己脒定二(羟乙基磺酸)盐标准品(4.7)17.1 mg(精确至 0.1 mg)至 10 mL 容量瓶中，用水溶解并定容至刻度；称取氯己定标准品 10.0 mg(精确至 0.1 mg)至 10 mL 容量瓶中，用甲醇溶解并定容至刻度，均于 4℃避光保存，可使用 3 个月。
- 4.9 己脒定和氯己定混合标准溶液：分别移取 1 mL 己脒定和氯己定标准储备溶液(4.8)至 10 mL 容量瓶中，用甲醇(4.2)定容至刻度，根据需要用甲醇(4.2)稀释成适宜浓度的混合标准工作溶液，于 4℃避光保存，可使用 3 个月。

5 仪器和设备

- 5.1 高效液相色谱仪(HPLC)：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 超声波水浴。
- 5.4 离心机:转速不低于 5 000 r/min。
- 5.5 涡旋混合器。
- 5.6 分析天平:感量为 0.000 1 g 和 0.001 g。
- 5.7 具塞聚四氟乙烯离心管:50 mL。
- 5.8 微孔滤膜:0.45 μm,材质为尼龙。

6 测定步骤

6.1 样品处理

6.1.1 水剂、膏霜、香波和散粉类样品

称取 0.5 g(精确至 0. 001 g)试样于 50 mL 具塞聚四氟乙烯离心管(5.7)中,加入 1 mL 饱和氯化钠溶液(4.6),涡旋混合,再加入 9 mL 水,涡旋混合后,以 5 000 r/min 离心 10 min,上清液转移至另一 50 mL 具塞聚四氟乙烯离心管中。试样残渣继续加入 10 mL 甲醇(4.2),在超声波水浴(5.3)中超声提取 20 min,以 5 000 r/min 离心 10 min,合并上清液,经 0.45 μm 微孔滤膜(5.8)过滤,供高效液相色谱测定。

6.1.2 唇膏类样品

称取 0.5 g(精确至 0. 001 g)试样于 50 mL 具塞聚四氟乙烯离心管(5.7)中,加入 2 mL 四氢呋喃(4.3),涡旋混合,再加入 8 mL 水,涡旋混合后,以 5 000 r/min 离心 10 min,上清液转移至另一 50 mL 具塞聚四氟乙烯离心管中。试样残渣继续加入 10 mL 甲醇(4.2),在超声波水浴(5.3)中超声提取 20 min,以 5 000 r/min 离心 10 min,合并上清液,经 0.45 μm 微孔滤膜(5.8)过滤,供高效液相色谱测定。

6.2 测定条件

高效液相色谱测定条件如下:

- a) 色谱柱:XTerra MS C₁₈, 5 μm, 250 mm × 4.6 mm(内径),或相当者;
- b) 流动相:见表 1;
- c) 流速:1.0 mL/ min;
- d) 柱温:30 ℃;
- e) 检测波长:260 nm;
- f) 进样量:10 μL。

表 1 流动相

步骤	时间/min	水(含 0.1%三氟乙酸)/%	乙腈(含 0.1%三氟乙酸)/%
0	0	70	30
1	5.0	2	98
2	9.0	2	98
3	9.1	70	30
4	12.0	70	30

6.3 标准曲线的绘制

用甲醇将己脒定和氯己定标准储备溶液逐级稀释得到浓度为 0.5 μg/mL、1 μg/mL、2 μg/mL、5 μg/mL、10 μg/mL、20 μg/mL、50 μg/mL 和 100 μg/mL 的标准工作溶液,按 6.2 测定条件浓度由低到高进样测定,以色谱峰面积为横坐标,浓度为纵坐标作图,得到标准曲线回归方程。

己脒定和氯己定的液相色谱图参见附录 B 的图 B.1。

6.4 测定

按 6.2 测定条件对待测样液进行测定,如果检出己脒定和氯己定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,该物质的紫外吸收光谱图与标准品一致,则可初步认定样品中存在相对应的目标分析物,外标法定量。待测试样中己脒定和氯己定及其盐类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。必要时阳性样品需用液相色谱-质谱进行确认试验。确认试验参见附录 C。

己脒定和氯己定的选择离子质量色谱图参见图 C.1。

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):

$$W = \frac{c \times V}{m \times 10^4} \times 100\% \dots\dots\dots (1)$$

式中:

- W ——试样中被测己脒定和氯己定及其盐类的百分比含量(分别以己脒定和氯己定计),%;
- c ——从标准工作曲线上查出的试样中己脒定和氯己定的浓度,单位为微克每毫升(μg/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

己脒定和氯己定及其盐类的检出限为 0.002%,定量限为 0.004%。

9 回收率和精密度

在添加浓度 0.004% ~ 0.3%范围内,己脒定和氯己定及其盐类的回收率在 84.1% ~ 99.7%之间,相对标准偏差为 1.1% ~ 7.8%。

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

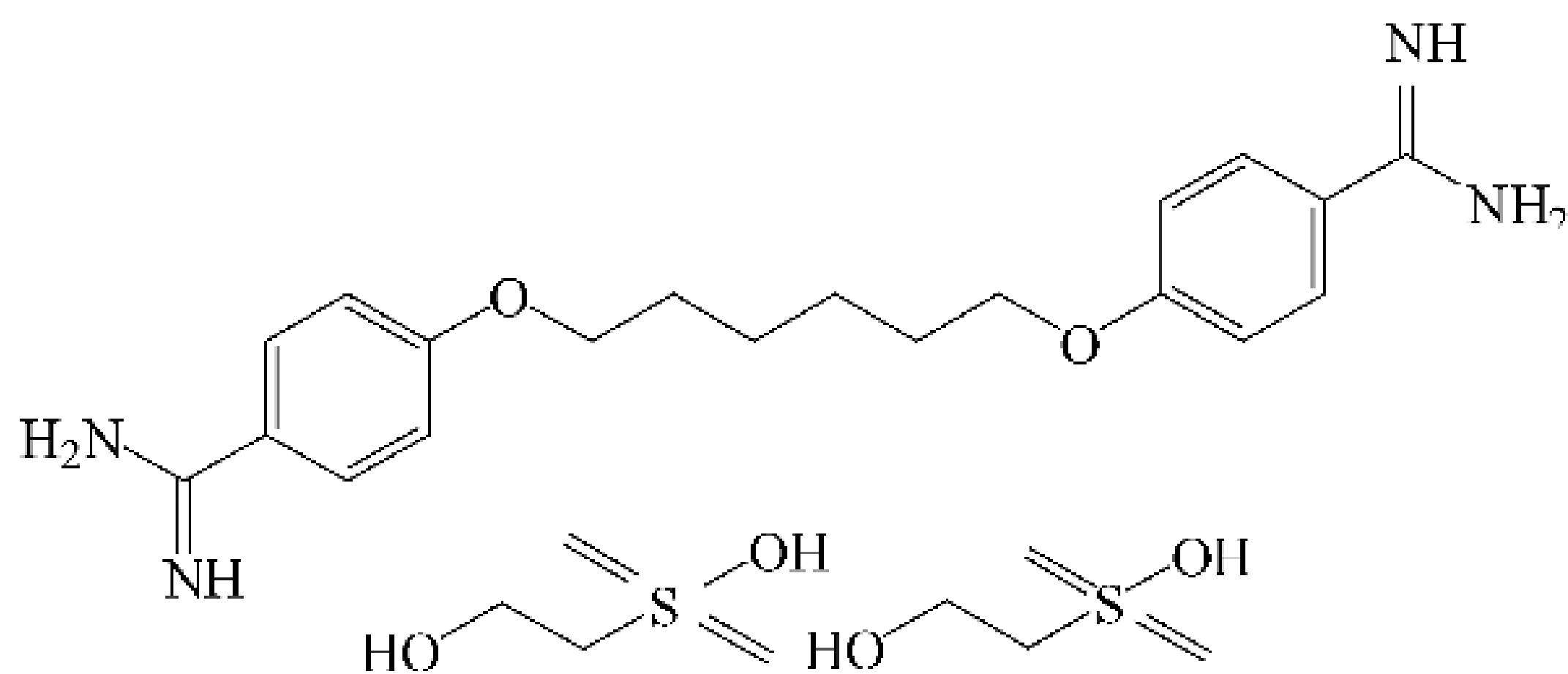
(资料性附录)

己脒定二(羟乙基磺酸)盐和氯己定标准品的基本信息

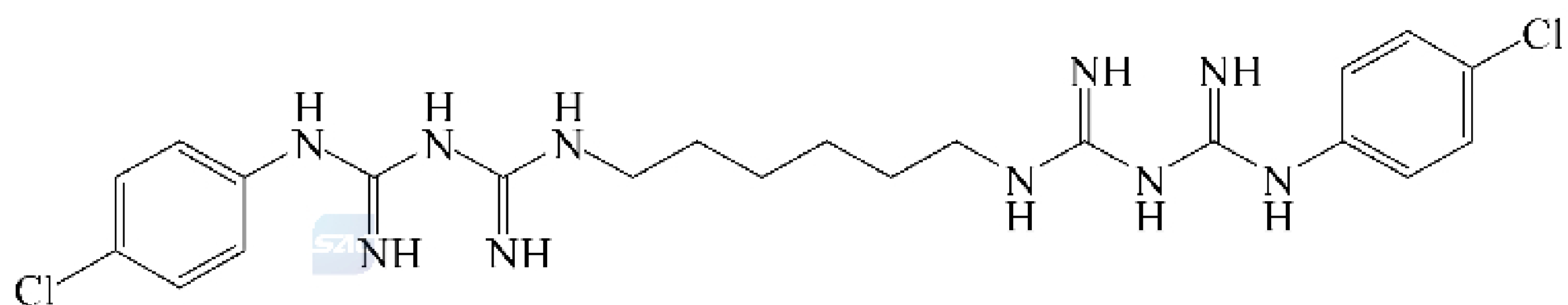
己脒定二(羧乙基磺酸)盐和氯己定标准品的基本信息见表 A.1 和图 A.1。

表 A.1 己脒定二(羟乙基磺酸)盐和氯己定的 CAS 号、分子式、结构式及相对分子质量等信息

中文名称	英文名称	CAS 号	分子式	相对分子质量
己脒定二(羟乙基磺酸)盐	Hexamidine diisethionate	659-40-5	$C_{20}H_{26}N_4O_2 \cdot 2C_2H_6O_4S$	606.7
氯己定	Chlorhexidine	55-56-1	$C_{22}H_{30}Cl_2N_{10}$	505.4



己脒定二(羧乙基磺酸)盐

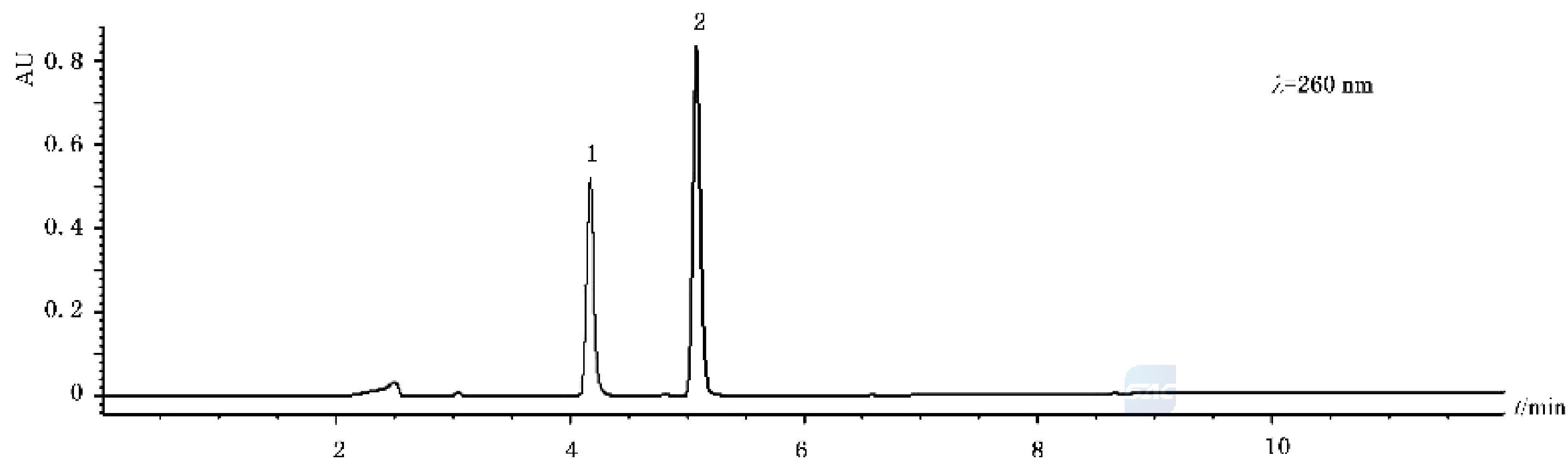


氣己定

图 A.1 己脒定二(羧乙基磺酸)盐和氯己定的结构式

附录 B
(资料性附录)
己脒定和氯己定的液相色谱图

己脒定和氯己定的液相色谱图见图 B.1。



说明：
1——己脒定；
2——氯己定。

图 B.1 己脒定和氯己定的液相色谱图

附 录 C
(资料性附录)
确认试验

C.1 液相色谱条件

液相色谱测定的参考条件如下：

- a) 色谱柱：XBridge C₁₈柱,150 mm × 2.1 mm(内径),3.5 μm,或相当者；
- b) 流动相：0.1％三氟乙酸-水(A)和 0.1％三氟乙酸-乙腈(B)；
- c) 流速：0.3 mL/ min；
- d) 柱温：30 ℃；
- e) 进样量：5 μL；
- f) 梯度洗脱程序见表 C.1。

表 C.1 梯度洗脱程序

时间/min	A/％	B/％
0	60	40
1.0	60	40
2.0	40	60
3.0	40	60
3.1	60	40
5.0	60	40

C.2 质谱条件

质谱测定的参考条件如下：

- a) 电离方式：电喷雾电离；
- b) 毛细管电压：3.0 kV；
- c) 萃取电压：3.0 V；
- d) 离子源温度：150 ℃；
- e) 脱溶剂气：氮气,流速 1 000 L/h,温度 500 ℃；
- f) 锥孔气：氮气,流速 50 L/h；
- g) 碰撞气：氩气；
- h) 扫描模式：多反应监测(MRM),定性离子对、定量离子对、锥孔电压和碰撞能量见表 C.2。

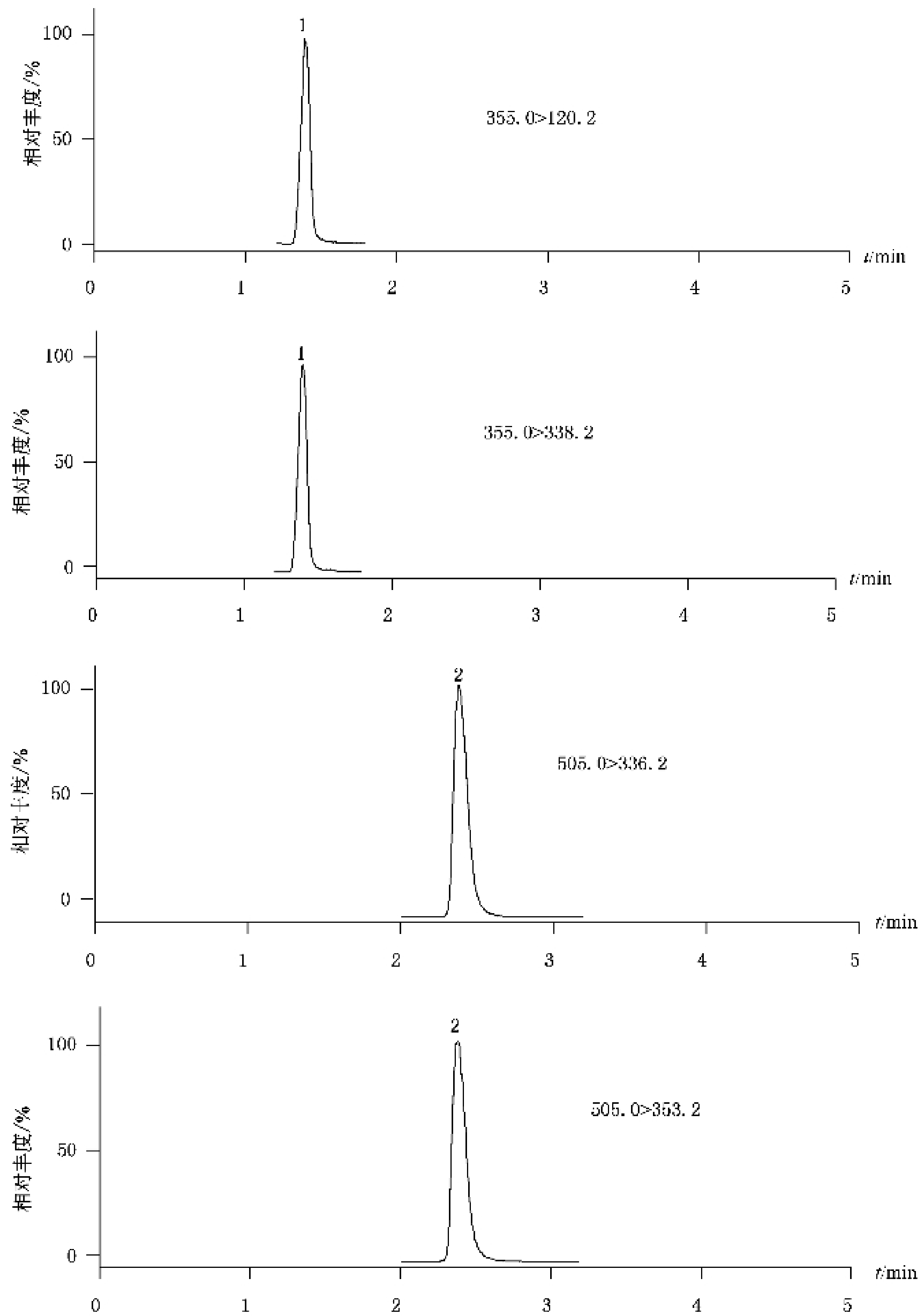
表 C.2 己脒定和氯己定的串联质谱分析参数

物质名称	电离方式	保留时间 min	母离子 <i>m/z</i>	子离子 <i>m/z</i>	锥孔电压 V	碰撞能量 eV	离子丰 度比
己脒定	ESI ⁺	1.39	355.0	338.2 [*] , 120.2	45	21, 21	100, 83
氯己定	ESI ⁺	2.38	505.0	353.2, 336.2 [*]	38	16, 20	84, 100
[*] 丰度较高离子。							

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),且试样中目标化合物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,则可判断样品中存在相应的目标化合物。

己脍定和氯己定的选择离子质量色谱图参见图 C.1。



说明：
1——己脍定；
2——氯己定。

图 C.1 己脍定和氯己定的选择离子质量色谱图