



中华人民共和国国家标准

GB/T 40899—2021

化妆品中禁用物质溴米索伐、卡溴脲和 卡立普多的测定 高效液相色谱法

Determination of prohibited bromisoval, carbromal and carisoprodol in
cosmetics—High performance liquid chromatography

2021-11-26 发布

2022-06-01 实施

国家市场监督管理总局 发布
国家标准化管理委员会

前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第 1 部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中国轻工业联合会提出。

本文件由全国香料香精化妆品标准化技术委员会(SAC/TC 257)归口。

本文件起草单位：中国检验检疫科学研究院、上海香料研究所。

本文件主要起草人：尚宇瀚、马强、李焘、郭项雨、李文涛、孟宪双。



引 言

本文件的被测物质是我国《化妆品安全技术规范(2015 年版)》规定的禁用原料。

禁用原料是指不得作为化妆品原料使用的物质。《化妆品安全技术规范(2015 年版)》规定：若技术上无法避免禁用物质作为杂质带入化妆品时，国家有限量规定的应符合其规定；未规定限量的，应进行安全性风险评估，确保在正常、合理及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。本文件的制定，仅对化妆品中测定这些物质提供检测方法。



化妆品中禁用物质溴米索伐、卡溴脲和卡立普多的测定 高效液相色谱法

警示——使用本文件的人员应有正规实验室工作的实践经验。本文件并未指出所有可能的安全问题。使用者有责任采用适当的安全和健康措施,并保证符合国家有关法规规定的条件。

1 范围

本文件描述了化妆品中禁用物质溴米索伐、卡溴脲和卡立普多的高效液相色谱测定方法的原理、试剂和材料、仪器设备、试验步骤、结果计算、回收率、精密度等内容。

本文件适用于水剂类、乳液类和膏霜类化妆品中溴米索伐、卡溴脲和卡立普多的测定。

本文件的方法检出限和定量限:

- 溴米索伐与卡溴脲:方法检出限均为 1 mg/kg,定量限均为 5 mg/kg;
- 卡立普多:方法检出限为 10 mg/kg,定量限为 20 mg/kg。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中,注日期的引用文件,仅该日期对应的版本适用于本文件;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 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

样品经溶剂超声提取后,提取液经离心、氮吹、重新定容并过滤,以配备二极管阵列检测器(用于检测溴米索伐、卡溴脲)和蒸发光散射检测器(用于检测卡立普多)的高效液相色谱仪进行测定,根据保留时间初步定性,外标法定量。

5 试剂和材料

除非另有规定,仅使用分析纯试剂。

- 5.1 水:GB/T 6682,一级。
- 5.2 甲醇:色谱纯。
- 5.3 乙腈:色谱纯。
- 5.4 氯化钠:固体。
- 5.5 40%乙腈溶液:量取 40 mL 乙腈(5.3)加入 100 mL 容量瓶中,加水稀释并定容至刻度。
- 5.6 溴米索伐、卡溴脲和卡立普多标准物质:纯度不小于 98%。三种标准物质的英文名称、CAS 号、分



子式、相对分子质量和结构式见附录 A 中表 A.1。

5.7 溴米索伐标准储备溶液:准确称取溴米索伐标准物质(5.6)100 mg,精确到 0.1 mg,转移至 100 mL 容量瓶中,用 40%乙腈溶液(5.5)溶解并定容至刻度,配制成质量浓度为 1 000 mg/L 的标准储备溶液,于 4℃避光保存,有效期 2 个月。

5.8 卡溴脲标准储备溶液:准确称取卡溴脲标准物质(5.6)100 mg,精确到 0.1 mg,转移至 100 mL 容量瓶中,用 40%乙腈溶液(5.5)溶解并定容至刻度,配制成质量浓度为 1 000 mg/L 的标准储备溶液,于 4℃避光保存,有效期 2 个月。

5.9 卡立普多标准储备溶液:准确称取卡立普多标准物质(5.6)100 mg,精确到 0.1 mg,转移至 100 mL 容量瓶中,用 40%乙腈溶液(5.5)溶解并定容至刻度,配制成质量浓度为 1 000 mg/L 的标准储备溶液,于 4℃避光保存,有效期 2 个月。

5.10 具塞塑料离心管:15 mL。

5.11 微孔滤膜:孔径 0.45 μm,有机相。

6 仪器设备

6.1 高效液相色谱(HPLC)仪:配有二极管阵列检测器和蒸发光散射检测器。

6.2 液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)仪:配有电喷雾离子源(ESI)。

6.3 分析天平:感量 0.000 1 g 和 0.001 g。

6.4 超声波清洗器:频率不低于 40 kHz。

6.5 离心机:转速不低于 5 000 r/min。

6.6 氮吹仪。

6.7 具塞比色管:10 mL。

6.8 氮吹管。

6.9 吸量管:1 mL,5 mL,10 mL,分度。

6.10 容量瓶:50 mL,100 mL。

7 试验步骤



7.1 样品处理

7.1.1 水剂类样品

称取 1.0 g 样品,精确至 0.001 g,置于 10 mL 具塞比色管(6.7)中,加入甲醇(5.2)定容至 10 mL,超声提取 20 min,冷却至室温。取定容液 1 mL 氮吹至干,用流动相重新定容至 1 mL,经微孔滤膜(5.11)过滤后待测。

7.1.2 乳液和膏霜类样品

称取 1.0 g 样品,精确至 0.001 g,置于 10 mL 具塞比色管(6.7)中,加入甲醇(5.2)定容至 10 mL,混匀,加入 2 g 氯化钠(5.4)破乳,超声提取 20 min,冷却至室温。移取所得悬浮液 5 mL 于 15 mL 具塞塑料离心管(5.10)中,5 000 r/min 离心 5 min。取上清液 1 mL 氮吹至干,用流动相重新定容至 1 mL,经微孔滤膜(5.11)过滤后待测。

7.1.3 平行试验

平行做两份试验。

7.2 测定条件

高效液相色谱测定的参考条件如下：

- a) 色谱柱：C₁₈固定相(4.6 mm × 250 mm i.d., 5 μm), 或相当者；
- b) 流动相：乙腈+水=40+60(体积比), 等度洗脱；
- c) 柱温：30 ℃；
- d) 流速：1.0 mL/min；
- e) 进样量：10 μL；
- f) 二极管阵列检测器检测条件：检测波长 210 nm；
- g) 蒸发光散射检测器检测条件：雾化器冷却模式；漂移管温度 50 ℃；载气为氮气, 压力为276 kPa (40 psi)；放大系数为 500。

7.3 标准曲线的绘制

7.3.1 溴米索伐和卡溴脲标准曲线的绘制

使用吸量管分别移取 0.5 mL、1 mL、5 mL、10 mL、25 mL 溴米索伐标准储备溶液(5.7)和卡溴脲标准储备溶液(5.8)于 50 mL 容量瓶中, 使用流动相定容至刻度, 得到质量浓度为 10 mg/L、20 mg/L、100 mg/L、200 mg/L 和 500 mg/L 的标准工作溶液, 按 7.2 给出的测定条件以浓度由低到高顺序进样, 使用二极管阵列检测器进行检测, 以质量浓度为自变量, 以峰面积为因变量进行线性回归, 得到标准曲线。

7.3.2 卡立普多标准曲线的绘制

使用吸量管分别移取 2.5 mL、5 mL、10 mL、15 mL、25 mL 卡立普多标准储备溶液(5.9)于 50 mL 容量瓶中, 使用流动相定容至刻度, 得到质量浓度为 50 mg/L、100 mg/L、200 mg/L、300 mg/L 和 500 mg/L 的标准工作溶液, 按 7.2 给出的测定条件以浓度由低到高顺序进样, 使用蒸发光散射检测器进行检测, 以质量浓度的常用对数值为自变量, 以色谱峰面积的常用对数值为因变量进行线性回归, 得到标准曲线。

三种待测物标准溶液的高效液相色谱图见附录 B 中图 B.1。

7.4 测定

按 7.2 测定条件对样品溶液进行测定, 根据保留时间初步定性, 外标法定量。待测物含量应在标准曲线的线性范围之内, 超出线性范围则应稀释后再进行分析。

注：若检出阳性样品, 用液相色谱-串联质谱进行确证试验(见附录 C)。

7.5 空白试验

除不称取样品外, 按 7.1~7.4 步骤与测试平行进行测定。

8 结果计算

样品中待测物的含量按式(1)计算：

$$\omega_i = \frac{(\rho_i - \rho_0) \times V \times 1\,000}{m \times 1\,000}$$

.....(1)

式中：

ω_i ——样品中待测物的含量, 单位为毫克每千克(mg/kg)；



ρ_i ——从标准曲线得到的样品溶液中待测物的质量浓度,单位为毫克每升(mg/L);

ρ_0 ——从标准曲线得到的空白溶液中待测物的质量浓度,单位为毫克每升(mg/L);

V ——样品溶液最终定容体积,单位为毫升(mL);

m ——样品质量,单位为克(g)。

计算结果表示到小数点后两位。

9 回收率

在添加浓度 5 mg/kg~50 mg/kg 范围内,溴米索伐的回收率为 87.2%~105.3%,卡溴脲的回收率为 90.1%~103.9%;在添加浓度 20 mg/kg~200 mg/kg 范围内,卡立普多的回收率为 90.1%~115.2%。

10 精密度

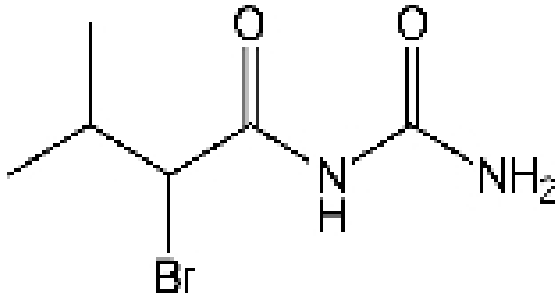
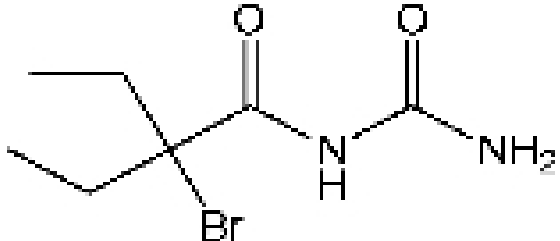
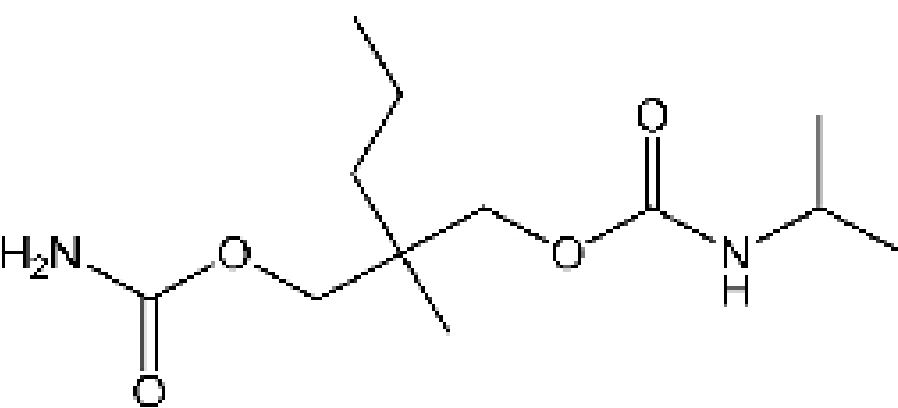
在重复性条件下获得两次独立测定结果的绝对差值不应超过算术平均值的 10%。

附 录 A
(资料性)

溴米索伐、卡溴脲和卡立普多的英文名称、CAS 号、分子式、相对分子质量与结构式

溴米索伐、卡溴脲和卡立普多的英文名称、CAS 号、分子式、相对分子质量与结构式见表 A.1。

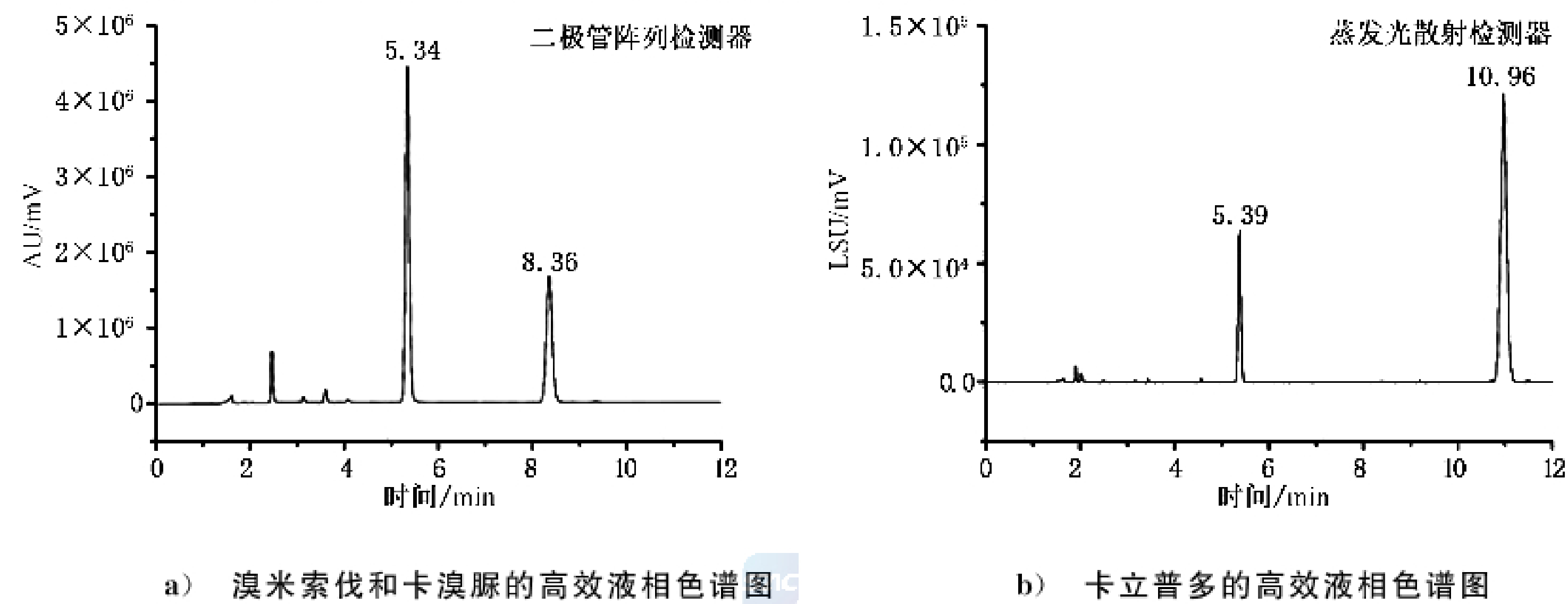
表 A.1 溴米索伐、卡溴脲和卡立普多的英文名称、CAS 号、分子式、相对分子质量与结构式

序号	中文名称	英文名称	CAS 号	分子式	相对分子质量	结构式
1	溴米索伐	Bromisoval	496-67-3	$C_6H_{11}BrN_2O_2$	223.07	
2	卡溴脲	Carbromal	77-65-6	$C_7H_{13}BrN_2O_2$	237.09	
3	卡立普多	Carisoprodol	78-44-4	$C_{12}H_{24}N_2O_4$	260.33	

附录 B
(资料性)

溴米索伐、卡溴脲和卡立普多标准溶液的高效液相色谱图

溴米索伐、卡溴脲和卡立普多标准溶液的高效液相色谱图见图 B.1。



注：三种待测物质量浓度均为 100 mg/L；溴米索伐的保留时间为 5.34 min，卡溴脲为 8.36 min，卡立普多为 10.96 min。

图 B.1 溴米索伐、卡溴脲和卡立普多标准溶液的高效液相色谱图

附 录 C
(资料性)
确证试验

C.1 液相色谱参考条件

液相色谱参考条件如下：

- a) 色谱柱： C_{18} 固定相(2.1 mm × 100 mm i.d., 3.5 μm),或相当者；
- b) 流动相：乙腈(5.3)-0.1%甲酸水溶液(50+50,体积比),等度洗脱；
- c) 流速：0.3 mL/min；
- d) 柱温：30 ℃；
- e) 进样量：5 μL。

C.2 质谱参考条件

质谱参考条件如下：

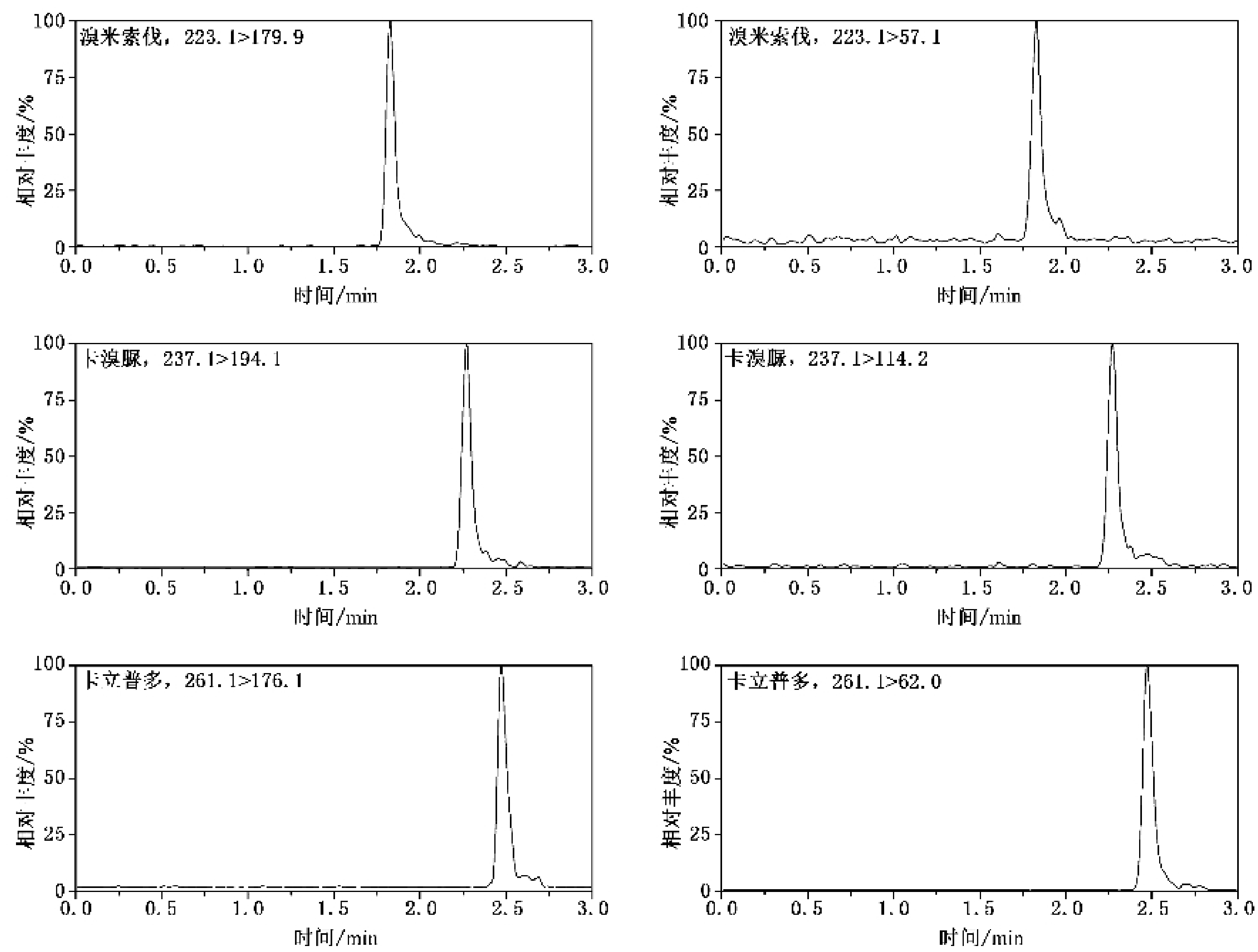
- a) 离子源：电喷雾离子源(ESI)；
- b) 离子化模式：正离子模式；
- c) 毛细管电压：3.0 kV；
- d) 萃取电压：3.0 V；
- e) 离子源温度：150 ℃；
- f) 脱溶剂气温度：500 ℃；
- g) 数据采集方式：多反应监测(MRM)。

C.3 定性测定

按液相色谱-质谱条件测定样液和标准工作溶液。样品溶液中待测物的响应值需在标准曲线的线性范围内,如超过线性范围则稀释后再进样测定。如果所选择的离子均出现,而且所选择的离子比与标准物质的相对丰度一致,允许相对偏差不超过表 C.1 规定的范围,则可判断样品中含有溴米索伐、卡溴脲或卡立普多。三种待测物的选择离子质量色谱图见图 C.1。

表 C.1 溴米索伐、卡溴脲和卡立普多的质谱分析参数

待测物	保留时间 min	定性离子对 m/z	锥孔电压 V	碰撞能量 eV	相对离子丰度 %	允许相对偏差 %
溴米索伐	1.83	223.1/179.9,223.1/57.1	20	14,18	100,47	±25%
卡溴脲	2.27	237.1/194.1,237.1/114.2	30	8,14	100,80	±20%
卡立普多	2.47	261.1/176.1,261.1/62.0	30	6,15	100,81	±20%



注：溴米索伐的保留时间为 1.83 min,卡溴脲为 2.27 min,卡立普多为 2.47 min。

图 C.1 溴米索伐、卡溴脲和卡立普多标准物质的选择离子质量色谱图