



中华人民共和国国家标准

GB/T 29673—2013

化妆品中六氯酚的测定 高效液相色谱法

Determination of hexachlorophene in cosmetics—
High performance liquid chromatography

2013-09-06 发布

2014-02-15 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。

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这些专利的责任。

本标准由中国轻工业联合会提出。

本标准由全国香精香料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：王超、马强、李新实、苏宁、张庆、郑红艳、陈静、喜飞、沈敏、康薇。



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。



化妆品中六氯酚的测定 高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了化妆品中六氯酚的高效液相色谱测定方法。

本标准适用于膏霜、水剂、散粉、香波类化妆品中六氯酚的测定。

本标准对于六氯酚的检出限为 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,用高效液相色谱进行测定,外标法定量。

4 试剂和材料

除非另有规定,所用试剂均为分析纯。水为 GB/T 6682 规定的一级水。

4.1 甲醇:色谱级。

4.2 乙腈:色谱级。

4.3 磷酸。

4.4 六氯酚标准物质:分子式 $C_{13}H_6Cl_6O_2$,CAS 号 70-30-4,纯度不小于 97%,结构式参见附录 A 的图 A.1。

4.5 六氯酚标准储备溶液:准确称取标准物质适量六氯酚标准物质(精确至 0.000 1 g),以甲醇(4.1)配制成浓度为 1 000 $\mu\text{g/mL}$ 的标准储备液,于 4 $^{\circ}\text{C}$ 避光保存。

5 仪器和设备

5.1 高效液相色谱(HPLC)仪:配有紫外检测器或二极管阵列检测器。

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 分析天平:感量为 0.000 1 g 和 0.001 g。

5.4 超声波水浴。

5.5 离心机:转速不低于 5 000 r/min。

5.6 具塞比色管:15 mL。

5.7 具塞聚四氟乙烯塑料离心管:15 mL。

5.8 微孔滤膜:0.45 μm ,有机相。



6 分析步骤

6.1 样品处理

称取 1 g(精确至 0.001 g)试样于 15 mL 具塞比色管中,准确加入 10 mL 甲醇,超声提取 15 min。取部分溶液转移至 15 mL 具塞塑料离心管中,以不低于 5 000 r/min 离心 10 min,上清液经 0.45 μm 微孔滤膜过滤,滤液作为待测样液。

注:如离心难以获得上清液可加适量氯化钠破乳。

6.2 测定条件

高效液相色谱测定的参考条件如下:

- a) 色谱柱:Symmetry C₁₈, 5 μm, 250 mm×4.6 mm(内径),或相当者;
- b) 流动相:乙腈和 0.5%磷酸水溶液(80 + 20,体积比),等度洗脱;
- c) 流速:1.0 mL/min;
- d) 柱温:20 ℃;
- e) 检测波长:205 nm;
- f) 进样量:10 μL。

6.3 标准曲线的绘制

用甲醇(4.1)将六氯酚标准储备溶液(4.5)逐级稀释得到的浓度为 0.5 μg/mL、0.8 μg/mL、1 μg/mL、5 μg/mL、10 μg/mL、30 μg/mL 的混合标准工作溶液,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。

六氯酚标准品色谱图参见图 A.2,标准品紫外吸收光谱图参见图 A.3。



6.4 测定

按 6.2 的测定条件对待测样液进行测定,如果检出六氯酚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六氯酚,用外标法定量。待测样液中六氯酚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。如采用紫外检测器,阳性样品需用液相色谱-质谱进行确认试验(参见附录 B)。

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 ——试样中六氯酚的含量,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六氯酚的浓度,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

六氯酚的检出限为 10 mg/kg,定量限为 20 mg/kg。

9 回收率和精密度

在添加浓度 20 mg/kg ~ 100 mg/kg 的范围内,回收率在 89.5% ~ 94.5%之间,相对标准偏差在 1.4%~5.0%。

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)

六氯酚标准品的结构式、高效液相色谱图和紫外吸收光谱图

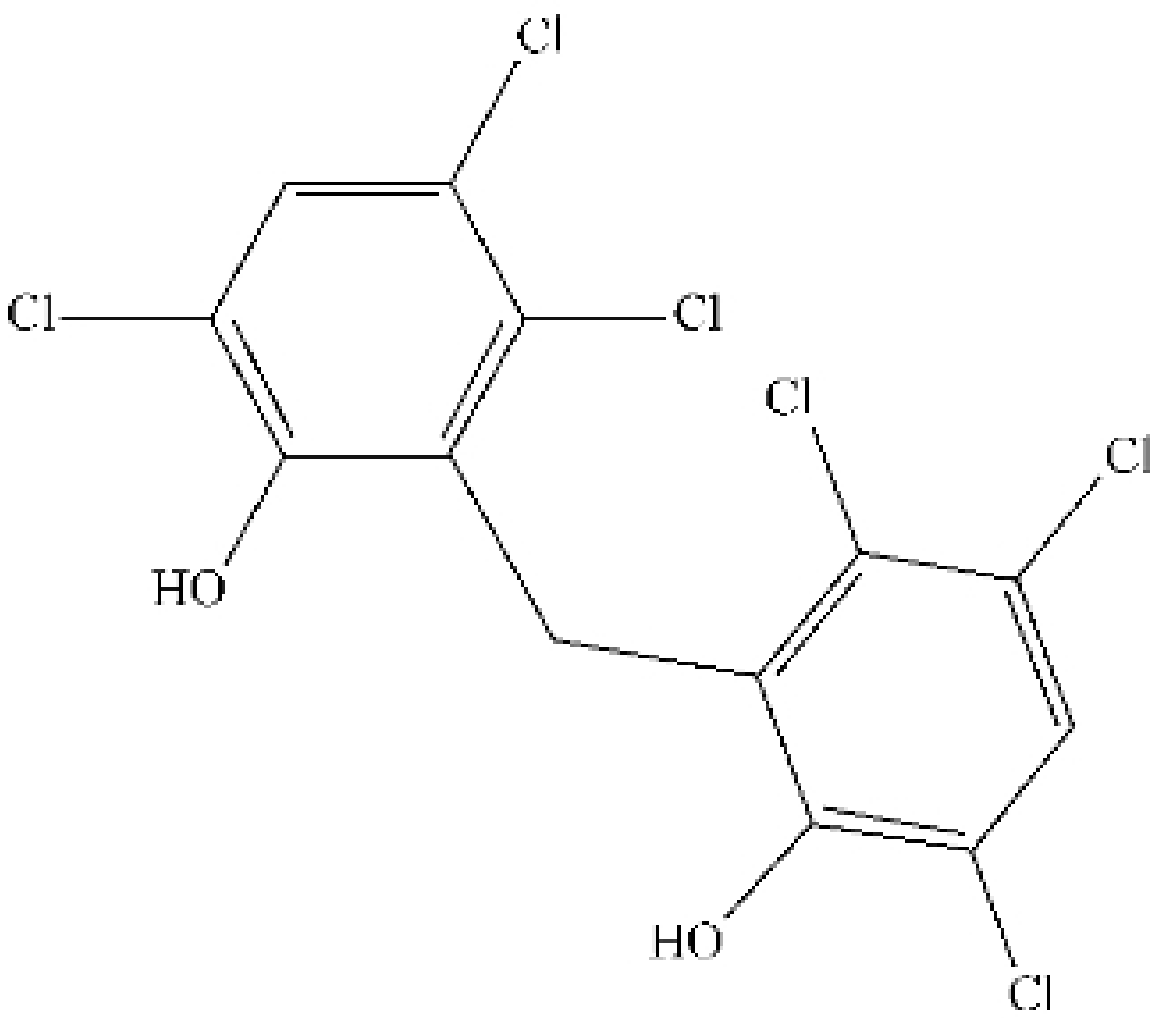


图 A.1 六氯酚标准品的结构式

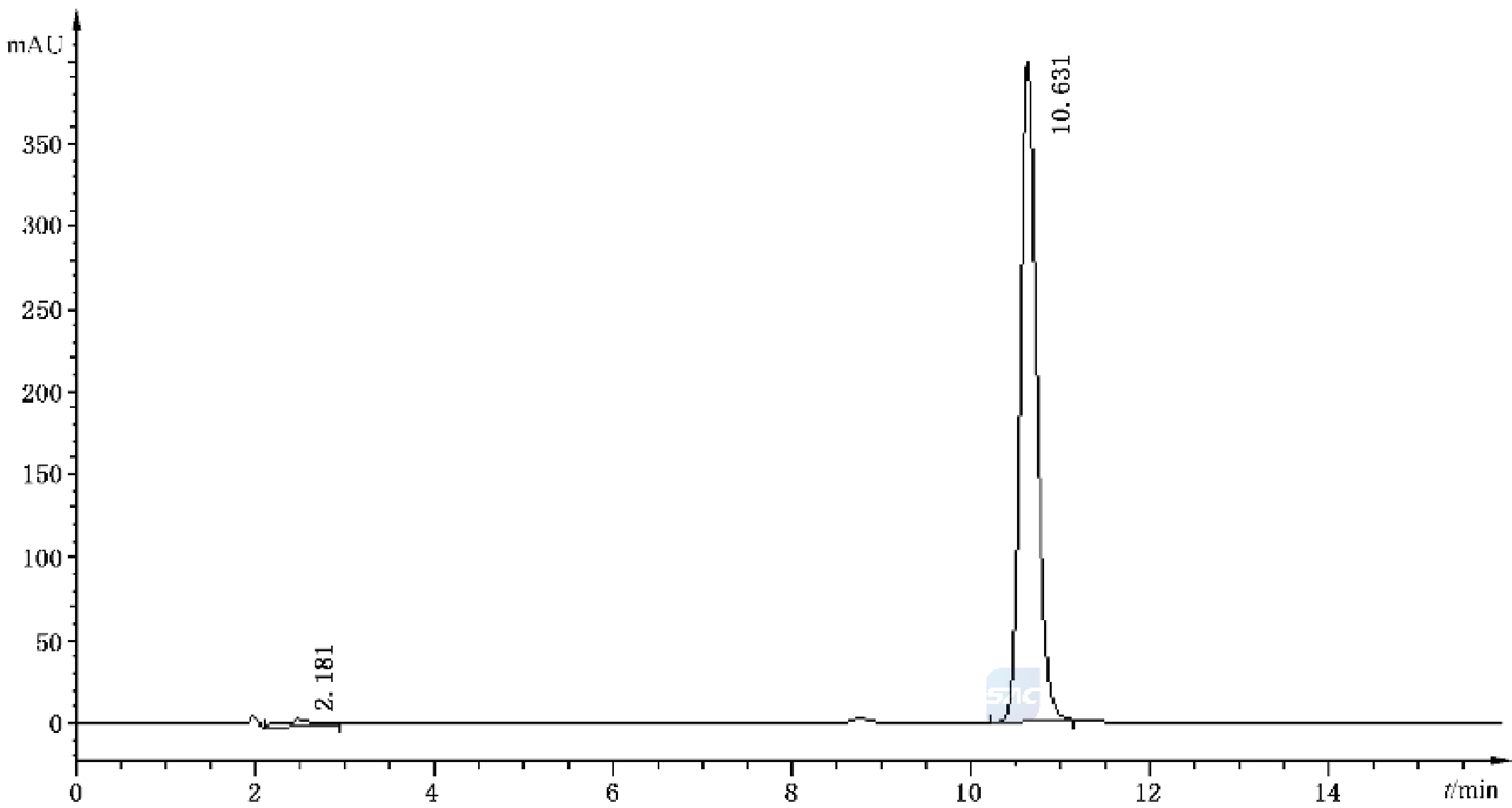


图 A.2 六氯酚标准品的高效液相色谱图

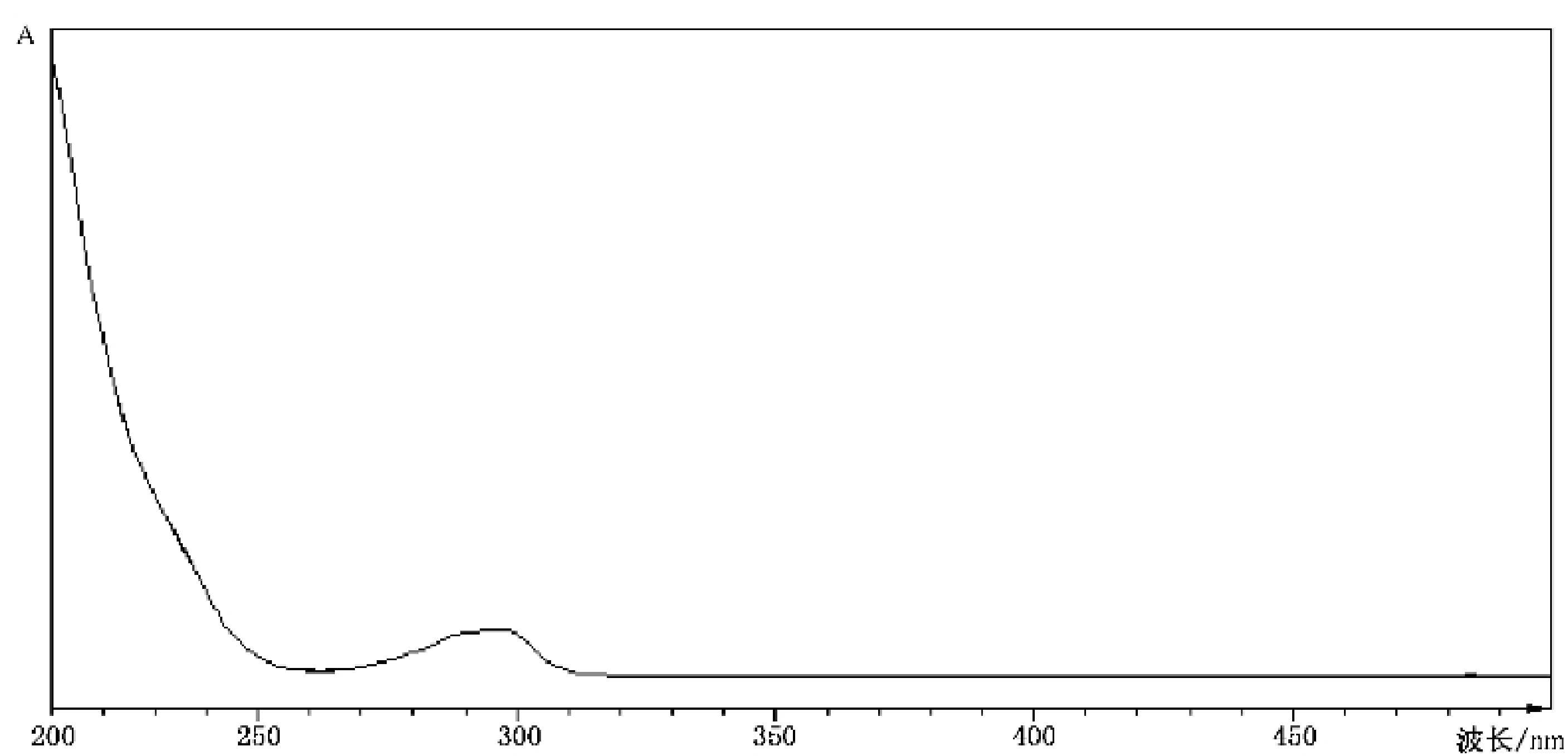


图 A.3 六氯酚标准品的紫外吸收光谱图



附 录 B
(资料性附录)
确认试验



B.1 液相色谱条件

- 液相色谱测定的参考条件如下：
- a) 色谱柱：Waters SunFire C₁₈, 150 mm×2.1 mm(内径), 5 μm (粒径), 或相当者；
 - b) 梯度洗脱程序：甲醇(A)和水溶液(B)；0 min～5 min, 6% A～16% A；5 min～8 min, 16% A～22% A；8 min～14 min, 22% A～25% A；14 min～24 min, 25% A；24 min～26 min, 25% A～55% A；26 min～35 min, 55% A～95% A；
 - c) 流速：0.2 mL/min；
 - d) 柱温：30 ℃；
 - e) 进样量：20 μL。

B.2 质谱条件

- 质谱测定的参考条件如下：
- a) 离子化方式：ESI, 负离子模式；
 - b) 毛细管电压：3.5 kV；
 - c) 锥孔电压：30 V；
 - d) 萃取电压：1.0 V；
 - e) 射频透镜电压：0.5 V；
 - f) 离子源温度：120 ℃；
 - g) 脱溶剂气温度：350 ℃；
 - 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、碰撞气能量、相对丰度和允许偏差见表 B.1。

表 B.1 六氯酚的定性离子对、定量离子对、锥孔电压、碰撞气能量、相对丰度和允许偏差

中文名称	英文名称	定性离子对 (<i>m/z</i>)	定量离子对 (<i>m/z</i>)	锥孔电压 V	碰撞气能量 V	相对丰度 %	允许偏差 %
六氯酚	Hexachlorophen	404.9/195.0	404.9/404.9	22	15	100	±20
		404.9/404.9			3	90	

B.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 B.1 的规定,则可判断样品中存在六氯酚。