



中华人民共和国国家标准

GB/T 38741—2020

口腔清洁护理用品 牙膏中氯己定、呋喃 西林、双氯芬酸、氯二甲酚和己脒定二 (羟乙基磺酸)盐 5 种杀菌剂含量的测定 高效液相色谱法

Oral care and cleansing products—Determination of chlorhexidine, furacin,
diclofenac, chloroxylenol and hexamidine diisethionate in toothpastes—
High performance liquid chromatography

2020-04-28 发布

2020-11-01 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。

本标准由全国口腔护理用品标准化技术委员会(SAC/TC 492)归口。

本标准起草单位：苏州世谱检测技术有限公司、广州华鑫检测技术有限公司、苏州绿叶日用品有限公司、苏州质量检测科学研究院、广州质量监督检测研究院、黑龙江省轻工科学研究院、青蛙王子(中国)日化有限公司、无限极(中国)有限公司、江苏省产品质量监督检验研究院、河北省食品检验研究院、江苏省食品药品监督检验研究院、江苏省药品监督管理局苏州检查分局、苏州市药品检验检测研究中心、常州市食品药品监督检验中心、常州检验检测标准认证研究院。

本标准主要起草人：寻知庆、宋淑文、叶竹洪、刘冬、代丹、尚维、王景、孟玉、张征、张岩、陈杰峰、孙红梅、温文忠、周奇、褚叶果、陈卫、李红玉、李颖怡、施兵、汪晨霞、李冬亮、郭燕华、朱丹丹、郭新东、吴玉銮、黄志宁、刘群林、高红影、朱钊蓉、周飞、吴燕鹏、郭梦婷、卢剑。

口腔清洁护理用品 牙膏中氯己定、呋喃 西林、双氯芬酸、氯二甲酚和己脒定二 (羟乙基磺酸)盐 5 种杀菌剂含量的测定 高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了牙膏中氯己定、呋喃西林、双氯芬酸、氯二甲酚和己脒定二(羟乙基磺酸)盐 5 种杀菌剂含量的高效液相色谱法测定的原理、试剂或材料、仪器设备、试验步骤、试验数据处理、检出限与定量限、回收率和精密度。

本标准适用于牙膏中氯己定、呋喃西林、双氯芬酸、氯二甲酚和己脒定二(羟乙基磺酸)盐含量的测定。

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

试样经甲酸-甲醇-水混合溶液超声提取后,用高效液相色谱法测定,以保留时间定性,外标法定量。

4 试剂或材料

除另有说明外,所用试剂均为分析纯,水为 GB/T 6682 规定的一级水。

4.1 甲酸:色谱纯。

4.2 三氟乙酸:色谱纯。

4.3 甲醇:色谱级。

4.4 0.1%甲酸甲醇溶液:准确移取 1 mL 甲酸(见 4.1),用甲醇(见 4.3)稀释至 1 L。

4.5 0.1%甲酸溶液:准确移取 1 mL 甲酸(见 4.1),用水稀释至 1 L。

4.6 甲酸-甲醇-水混合溶液:准确量取 80 mL 0.1%甲酸甲醇溶液(见 4.4)和 20 mL 0.1%甲酸溶液(见 4.5),混匀。

4.7 0.1%三氟乙酸甲醇溶液:准确移取 1 mL 三氟乙酸(见 4.2),用甲醇(见 4.3)稀释至 1 L。

4.8 0.1%三氟乙酸溶液:准确移取 1 mL 三氟乙酸(见 4.2),用水稀释至 1 L。

4.9 标准物质:氯己定、呋喃西林、双氯芬酸、氯二甲酚和己脒定二(羟乙基磺酸)盐,纯度 $\geq 98\%$,其中文名称、英文名称、CAS 号、分子式、相对分子质量及结构式见附录 A 中表 A.1。

4.10 标准贮备液(各为 1 000 mg/L):准确称取己脒定二(羟乙基磺酸)盐标准物质(见 4.9)0.1 g(精确至 0.1 mg),置于 100 mL 棕色容量瓶中,用水溶解并定容。准确称取氯己定、呋喃西林、双氯芬酸、氯二

甲酚标准物质(见 4.9)各 0.1 g(精确至 0.1 mg),分别置于 100 mL 棕色容量瓶中,用甲醇(见 4.3)溶解并定容。于 0℃~4℃避光条件下保存,保存期不超过 3 个月。

4.11 混合标准中间工作溶液(各为 100 mg/L):准确移取氯己定、呋喃西林、双氯芬酸、氯二甲酚和己脒定二(羟乙基磺酸)盐标准贮备液(见 4.10)各 1 mL,置于 10 mL 棕色容量瓶中,用甲醇(见 4.3)稀释并定容,现配现用。

4.12 滤膜:孔径为 0.22 μm 的有机过滤膜。

5 仪器设备

5.1 高效液相色谱仪:配有二极管阵列检测器或紫外检测器。

5.2 分析天平:感量 0.001 g 和 0.000 1 g。

5.3 离心机:最高转速不低于 10 000 r/min。

5.4 超声波清洗仪:工作功率不低于 40 kHz。

5.5 旋涡振荡器。

6 试验步骤

6.1 试样处理

准确称取 1.0 g(精确至 0.001 g)试样,置于 15 mL 具塞离心管中,加入 5.0 mL 甲酸-甲醇-水混合溶液(见 4.6),于旋涡振荡器上振荡混匀后,超声提取 15 min,冷却至室温,转移至 10 mL 容量瓶中。用 3 mL 甲酸-甲醇-水混合溶液(见 4.6)分 2 次洗涤离心管,洗涤液转移至容量瓶中,然后用甲酸-甲醇-水混合溶液(见 4.6)定容至刻度。取部分溶液于离心管中,10 000 r/min 离心 5 min,上清液经滤膜过滤后,待高效液相色谱仪测定。

6.2 液相色谱参考工作条件

液相色谱参考工作条件如下:

- a) 色谱柱: C₁₈ 柱, 5 μm, 150 mm×4.6 mm(内径);
- b) 流动相: A: 0.1% 三氟乙酸甲醇溶液(见 4.7), B: 0.1% 三氟乙酸溶液(见 4.8), 梯度洗脱条件见表 1;
- c) 流量: 1.0 mL/min;
- d) 柱温: 30℃;
- e) 进样量: 20 μL;
- f) 波长: 280 nm。

表 1 梯度洗脱条件

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0.0	30	70
2.0	30	70
10.0	50	50
20.0	80	20

表 1 (续)

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
22.0	80	20
23.0	30	70
25.0	30	70

6.3 标准工作曲线制作

用甲酸-甲醇-水混合溶液(见 4.6)逐级稀释混合标准中间工作溶液(见 4.11),得到质量浓度为 0.50 mg/L、1.00 mg/L、2.00 mg/L、5.00 mg/L、10.0 mg/L、20.0 mg/L、50.0 mg/L 系列混合标准工作溶液,按色谱条件(见 6.2)进行测定,以峰面积为纵坐标,浓度为横坐标作图,制作标准工作曲线。

标准溶液的液相色谱图参见附录 B 中图 B.1。

6.4 试样测定

按色谱条件(见 6.2)测定试样溶液(见 6.1),如果检出的色谱峰的保留时间与标准物质的一致,并且在扣除背景后的样品色谱图中,该物质的光谱图与标准物质的一致(参见图 B.2),可初步认定样品为阳性样品。记录色谱峰的峰面积,以外标法定量。试样溶液中被测物的响应值应在标准工作曲线的线性范围之内,超出线性范围的试样溶液可用甲酸-甲醇-水混合溶液(见 4.6)稀释后进行测定。需要时,可采用高效液相色谱-质谱/质谱法进行确证实验,参见附录 C。

6.5 空白试验

除不称取试样外,均按 6.1~6.4 进行测定。

7 试验数据处理

试样中各待测组分的含量,计算见公式(1):

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

式中:

- X_i ——试样中被测组分的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);
- ρ_i ——试样溶液中被测组分的质量浓度,单位为毫克每升(mg/L);
- ρ_0 ——空白试验溶液中被测组分的质量浓度,单位为毫克每升(mg/L);
- V ——定容体积,单位为毫升(mL);
- m ——试样质量,单位为克(g);
- f ——试样稀释倍数。

计算结果以重复性条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示,结果保留三位有效数字。

8 检出限与定量限

氯己定、呋喃西林、双氯芬酸和己脒定二(羟乙基磺酸)盐的方法检出限均为 2.50 mg/kg,定量下限均为 5.00 mg/kg。氯二甲酚的方法检出限为 5.00 mg/kg,定量下限为 10.0 mg/kg。

9 回收率

氯己定、呋喃西林、双氯芬酸和己脒定二(羟乙基磺酸)盐在添加浓度 5.00 mg/kg~50.0 mg/kg 范围内,氯二甲酚在添加浓度 10.0 mg/kg~100 mg/kg 范围内,回收率均在 80%~110%之间。

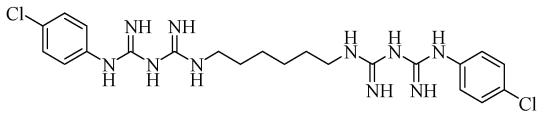
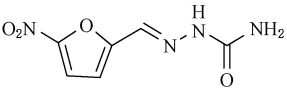
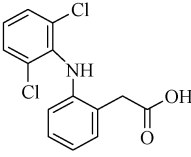
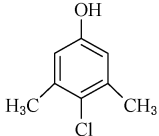
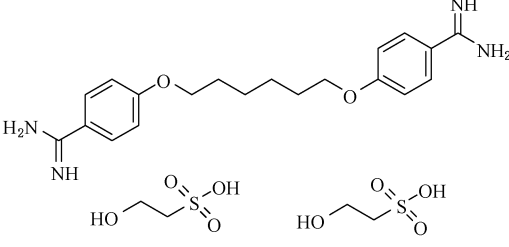
10 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10%。

附 录 A
(规范性附录)
标准物质信息

标准物质的中文名称、英文名称、CAS 号、分子式、相对分子质量及化学结构式,见表 A.1。

表 A.1 标准物质的中文名称、英文名称、CAS 号、分子式、相对分子质量及化学结构式

序号	中文名称	英文名称	CAS 号	分子式	相对分子质量	化学结构式
1	氯己定	Chlorhexidine	55-56-1	$C_{22}H_{30}Cl_2N_{10}$	505.45	
2	呋喃西林	Furacin	59-87-0	$C_6H_6N_4O_4$	198.14	
3	双氯芬酸	Diclofenac	644-62-2	$C_{14}H_{11}Cl_2NO_2$	296.15	
4	氯二甲酚	Chloroxymenol	88-04-0	C_8H_9ClO	156.61	
5	己脒定二(羟乙基磺酸)盐	Hexamidine diisethionate	659-40-5	$C_{20}H_{26}N_4O_2 \cdot 2C_2H_6O_4S$	606.71	

附 录 B
(资料性附录)

标准溶液的液相色谱图及光谱图

标准溶液的液相色谱见图 B.1。

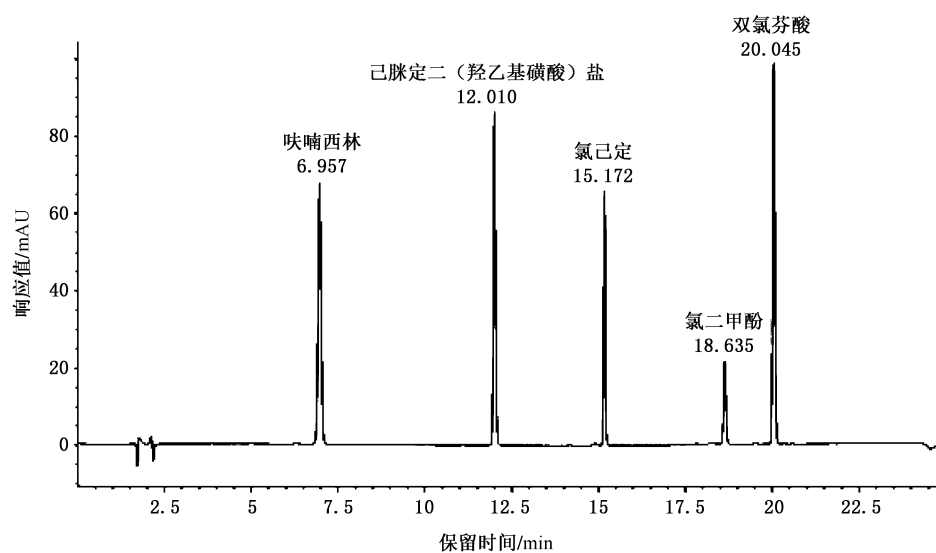


图 B.1 标准溶液的液相色谱图

5 种标准物质的紫外光谱见图 B.2。

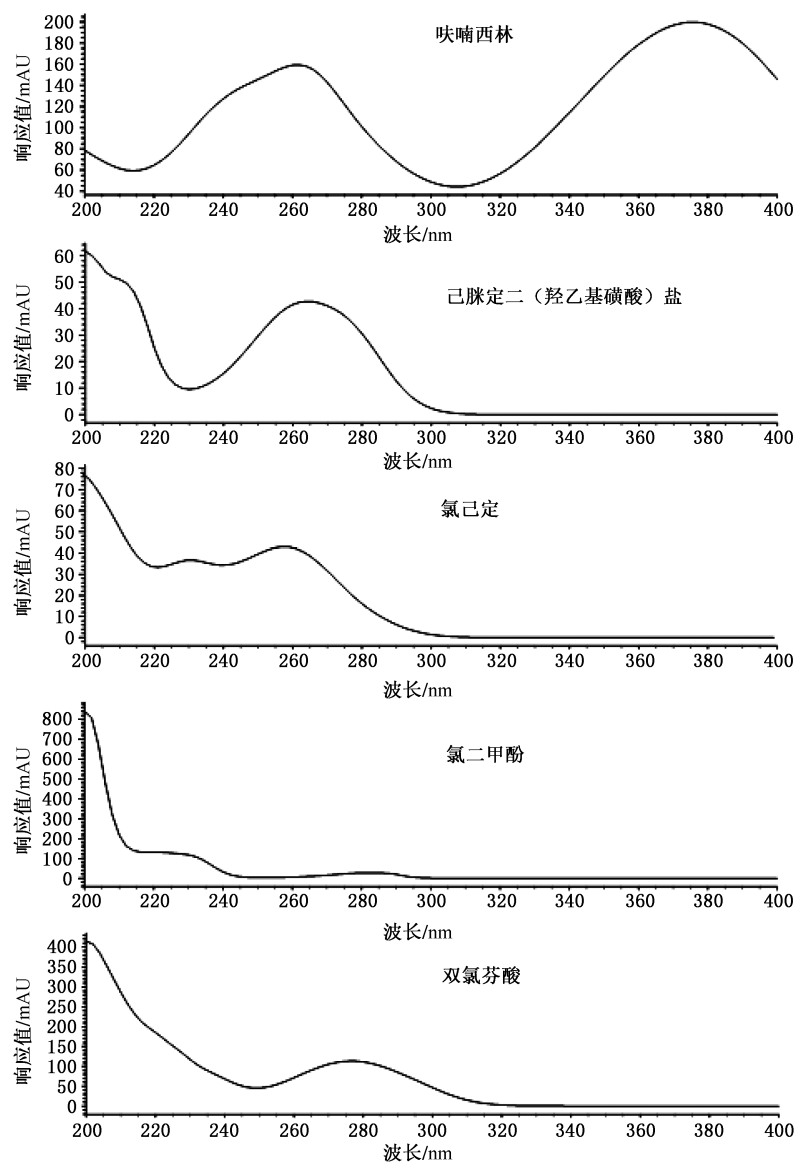


图 B.2 5 种标准物质的紫外光谱图

附 录 C

(资料性附录)

确 证 试 验

C.1 液相色谱参考工作条件

液相色谱参考工作条件如下：

- a) 色谱柱： C_{18} 柱， $1.7\ \mu\text{m}$ ， $50\ \text{mm} \times 2.1\ \text{mm}$ (内径)；
- b) 流动相：A 为 0.1% 三氟乙酸乙腈溶液，B 为 0.1% 三氟乙酸水溶液，梯度洗脱程序： $0\ \text{min} \sim 2.0\ \text{min}$ ，20% A； $2.0\ \text{min} \sim 7.0\ \text{min}$ ，20% ~ 80% A； $7.0\ \text{min} \sim 9.0\ \text{min}$ ，80% A； $9.0\ \text{min} \sim 9.1\ \text{min}$ ，80% A ~ 20% A； $9.1\ \text{min} \sim 12.0\ \text{min}$ ，20% A；
- c) 流速： $0.3\ \text{mL/min}$ ；
- d) 柱温： $30\ ^\circ\text{C}$ ；
- e) 进样量： $5\ \mu\text{L}$ 。

C.2 质谱参考工作条件

质谱参考工作条件如下：

- a) 离子源：电喷雾离子源 (ESI)；
- b) 扫描方式：正离子和负离子扫描；
- c) 电喷雾电压： $4\ 500\ \text{V}$ ；
- d) 离子源温度： $500\ ^\circ\text{C}$ ；
- e) 气帘气：氮气， $0.207\ \text{MPa}$ ；
- f) 碰撞气：氮气， $0.055\ \text{MPa}$ ；
- g) 检测方式：多反应监测 (MRM)；5 种杀菌剂的采集模式、母离子、子离子、去簇电压和碰撞电压，见表 C.1；提取离子色谱图，见图 C.1。

表 C.1 5 种杀菌剂的质谱 MRM 模式优化参数

化合物	采集模式	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	去簇电压 V	碰撞电压 V
呋喃西林	ESI^-	197.1	179.0, 99.1	-80	-14, -24
己脍定二 (羟乙基磺酸)盐	ESI^+	355.0	338.2, 120.2	100	25, 35
氯己定	ESI^+	505.0	353.2, 336.2	100	31, 40
氯二甲酚	ESI^-	155.0	121.0, 157.0	-100	-20, -5
双氯芬酸	ESI^-	295.9	251.9, 213.9	-50	-16, -30

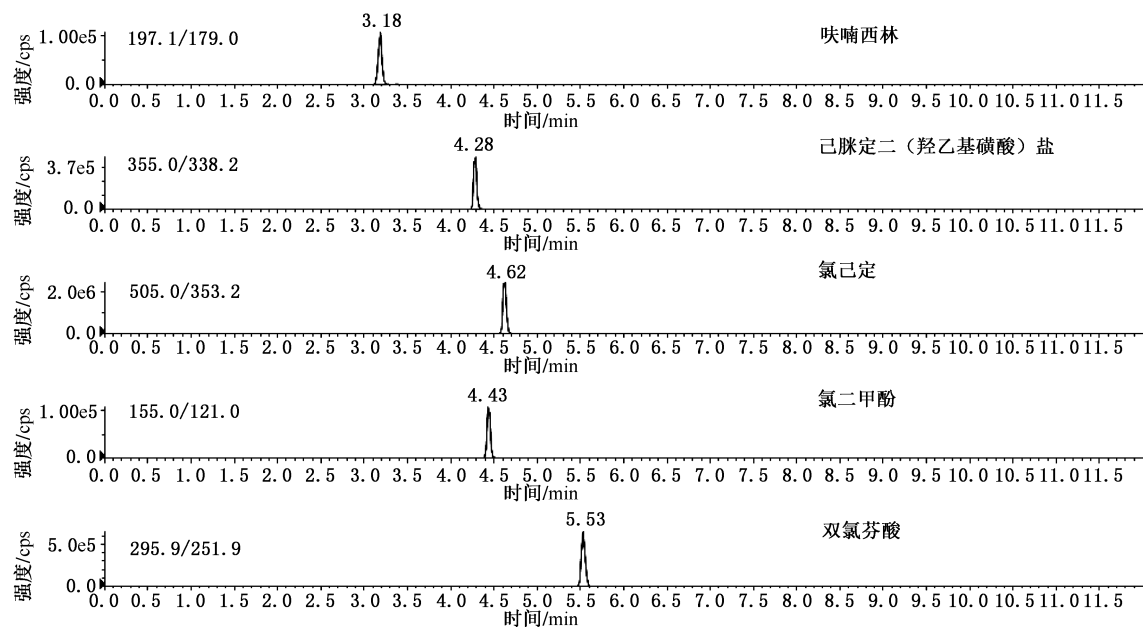


图 C.1 5 种杀菌剂的提取离子色谱图

C.3 定性测定

进行试样测定时,将试样适当稀释,按液相色谱参考工作条件(见 C.1)和质谱参考工作条件(见 C.2)测定样液和标准工作溶液。如果检出色谱峰的保留时间与标准物质的相一致,在扣除背景后的样品质谱图中,所选择的离子均出现,而且选择离子的相对丰度与标准物质的进行比较,相对偏差不得超过规定的范围(见表 C.2),则可判断该样品为阳性样品。

表 C.2 定性确证时相对离子丰度的最大允许偏差

相对离子丰度 $k/\%$	$k \geq 50$	$50 > k \geq 20$	$20 > k \geq 10$	$k < 10$
允许的最大偏差/ $\%$	± 20	± 25	± 30	± 50