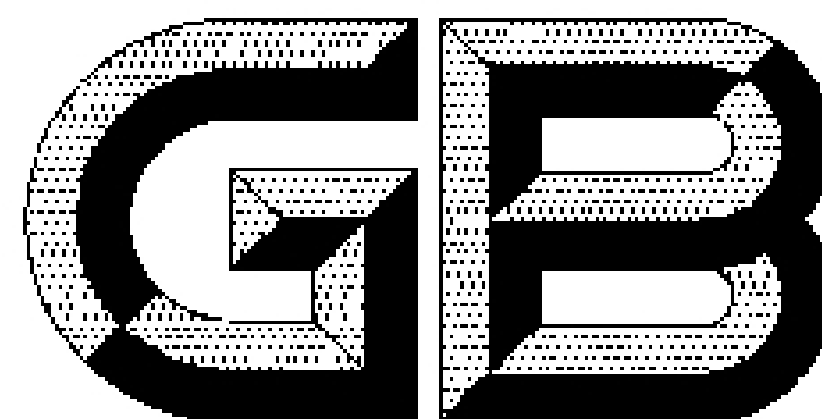




中华人民共和国国家标准

GB/T 30929—2014

化妆品中禁用物质 2,4,6-三氯苯酚、 五氯苯酚和硫氯酚的测定 高效液相色谱法

Determination of banned 2,4,6-trichlorophenol, pentachlorophenol and
bithionol in cosmetics—High performance liquid chromatography

2013-07-08 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：江苏省产品质量监督检验研究院(国家化妆品质量监督检验中心)、苏州质量检测科学研究院、上海市日用化学工业研究所、国家环保产品质量监督检验中心、山东省产品质量监督检验研究院。

本标准主要起草人：卢剑、武中平、车文军、张征、张晓强、耿宁、王莉、沈敏、杜瑾、刘艳明、张岩、胡梅、邹洁、钱凯、曲梅、杨洋、薛彦军。



引 言

本标准中的被测物质是我国《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。



化妆品中禁用物质 2,4,6-三氯苯酚、 五氯苯酚和硫氯酚的测定 高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了化妆品中 2,4,6-三氯苯酚、五氯苯酚和硫氯酚含量的高效液相色谱测定方法。

本标准适用于膏霜、乳液、液体类化妆品中 2,4,6-三氯苯酚、五氯苯酚和硫氯酚含量的测定。

本标准的检出限和定量限:2,4,6-三氯苯酚的检出限为 1.5 mg/kg,定量限为 5.0 mg/kg;五氯苯酚的检出限为 1.5 mg/kg,定量限为 5.0 mg/kg;硫氯酚的检出限为 0.8 mg/kg,定量限为 2.5 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



以甲醇为溶剂,超声提取、离心,经 0.45 μm 的有机滤膜过滤,用配有二极管阵列检测器的高效液相色谱仪检测,外标法定量,液相色谱-串联质谱确认。

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 甲醇:色谱纯。

4.2 乙腈:色谱纯。

4.3 乙酸铵。

4.4 乙酸。

4.5 微孔滤膜:0.45 μm ,有机相。

4.6 标准品:2,4,6-三氯苯酚、五氯苯酚和硫氯酚的中文名称、英文名称、CAS 登录号、分子式、相对分子质量及结构式参见附录 A,纯度不小于 98%。

4.7 标准储备液:准确称取适量标准品(4.6)于 50 mL 容量瓶中,用甲醇(4.1)分别溶解并定容至刻度,配制成浓度为 1 mg/mL 的标准储备液,于 4 $^{\circ}\text{C}$ 避光保存,可使用 3 个月。

4.8 标准工作溶液:用甲醇(4.1)将上述标准储备液(4.7)分别配成一系列浓度为 0.5 mg/L、1.0 mg/L、2.0 mg/L、5.0 mg/L、10 mg/L、25 mg/L 的混合标准工作溶液,现配现用。

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 分析天平:感量为 0.000 1 g 和 0.01 g。

5.3 离心机:转速不低于 6 000 r/min。

5.4 超声波清洗器。

5.5 涡旋混合器。

5.6 具塞比色管:10 mL。

6 测定步骤

6.1 试样制备

称取化妆品试样约 0.5 g(精确至 0.1 mg)于 10 mL 具塞比色管中,加入约 8 mL 甲醇,分散均匀后,在超声波清洗器中超声提取 20 min,冷却至室温,加甲醇定容至刻度。取部分溶液放入离心管中,在离心机上于 6 000 r/min 离心 10 min,上清液经 0.45 μm 有机滤膜过滤,滤液供测定用。

注:如离心后难以获得上清液可加适量氯化钠破乳。

6.2 测定

6.2.1 液相色谱条件

液相色谱测定参考条件如下:

- a) 色谱柱:C₁₈柱,250 mm×4.6 mm(i.d.),5 μm,或相当者;
- b) 流动相:甲醇-乙腈-5 mmol/L 乙酸铵水溶液(pH3.5),梯度洗脱,梯度洗脱条件见表 1;
- c) 流速:1.0 mL/min;
- d) 柱温:30 ℃;
- e) 进样量:10 μL;
- f) 检测波长:300 nm。

表 1 梯度洗脱条件

时间/min	5 mmol/L 乙酸铵水溶液 (pH3.5)/%	甲醇/%	乙腈/%
0.0	60	30	10
1.0	60	30	10
7.0	30	60	10
12.0	10	80	10
17.0	10	80	10
18.0	60	30	10
23.0	60	30	10

6.2.2 标准工作曲线绘制

分别吸取 10 μL 标准工作溶液(4.8)注入高效液相色谱仪,按色谱条件(6.2.1)进行测定,以色谱峰的峰面积为纵坐标,对应的溶液浓度为横坐标作图,绘制标准工作曲线。标准物质液相色谱图参见附录 B。

6.2.3 试样测定

准确吸取 10 μL 试样溶液(6.1)注入高效液相色谱仪,按色谱条件(6.2.1)进行测定,记录色谱峰的保留时间和峰面积,由色谱峰的峰面积可从标准曲线上求出相应的被测物浓度。试样溶液中被测物的响应值均应在仪器测定的线性范围之内。被测物含量高的试样可取适量试样溶液用流动相稀释后进行测定。

6.2.4 定性判定

液相色谱仪对样品进行测定时,如果检出被测物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的紫外吸收光谱图相一致,则可初步确认样品中存在被测物。必要时,阳性样品需用液相色谱-串联质谱进行确认试验,参见附录 C。

6.3 空白试验

除不加试样外,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,计算结果保留小数点后两位。

$$X_i = \frac{c_i \times V}{m} \dots\dots\dots(1)$$

式中:

X_i ——样品中各被测物的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);

c_i ——从标准曲线得出各被测物的浓度,单位为毫克每升(mg/L);

V ——样品稀释后的总体积,单位为毫升(mL);

m ——样品质量,单位为克(g)。

8 检出限和定量限

本标准的检出限和定量限:2,4,6-三氯苯酚的检出限为 1.5 mg/kg ,定量限为 5.0 mg/kg ;五氯苯酚的检出限为 1.5 mg/kg ,定量限为 5.0 mg/kg ;硫氯酚的检出限为 0.8 mg/kg ,定量限为 2.5 mg/kg 。

9 回收率与精密度

按本测定方法所确定的实验条件,在添加浓度 5 mg/kg ~ 50 mg/kg 范围内,回收率在 90% ~ 110%之间,相对标准偏差小于 5.0%。

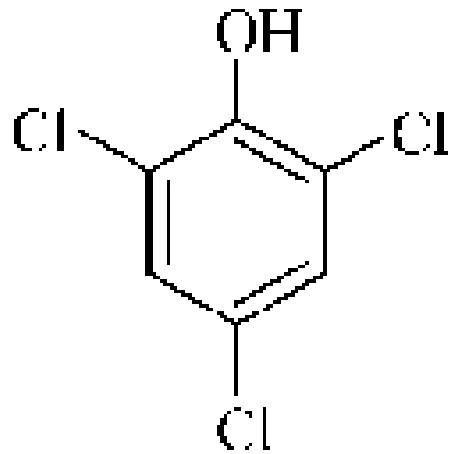
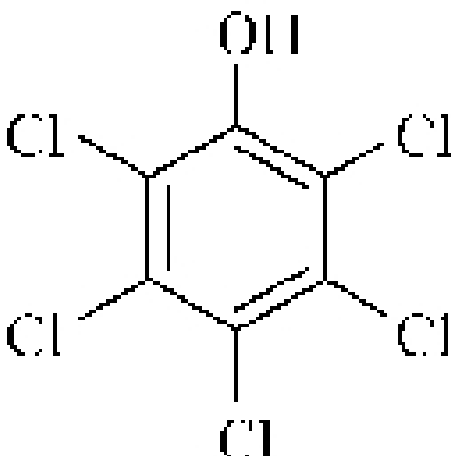
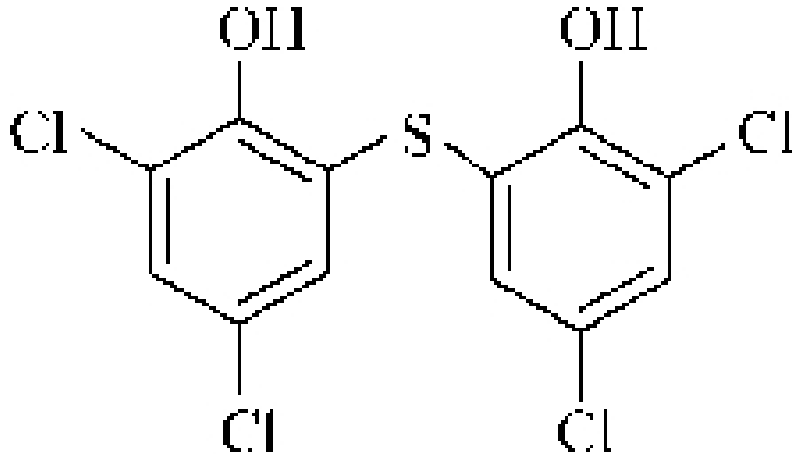
10 允许差

在重复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%。

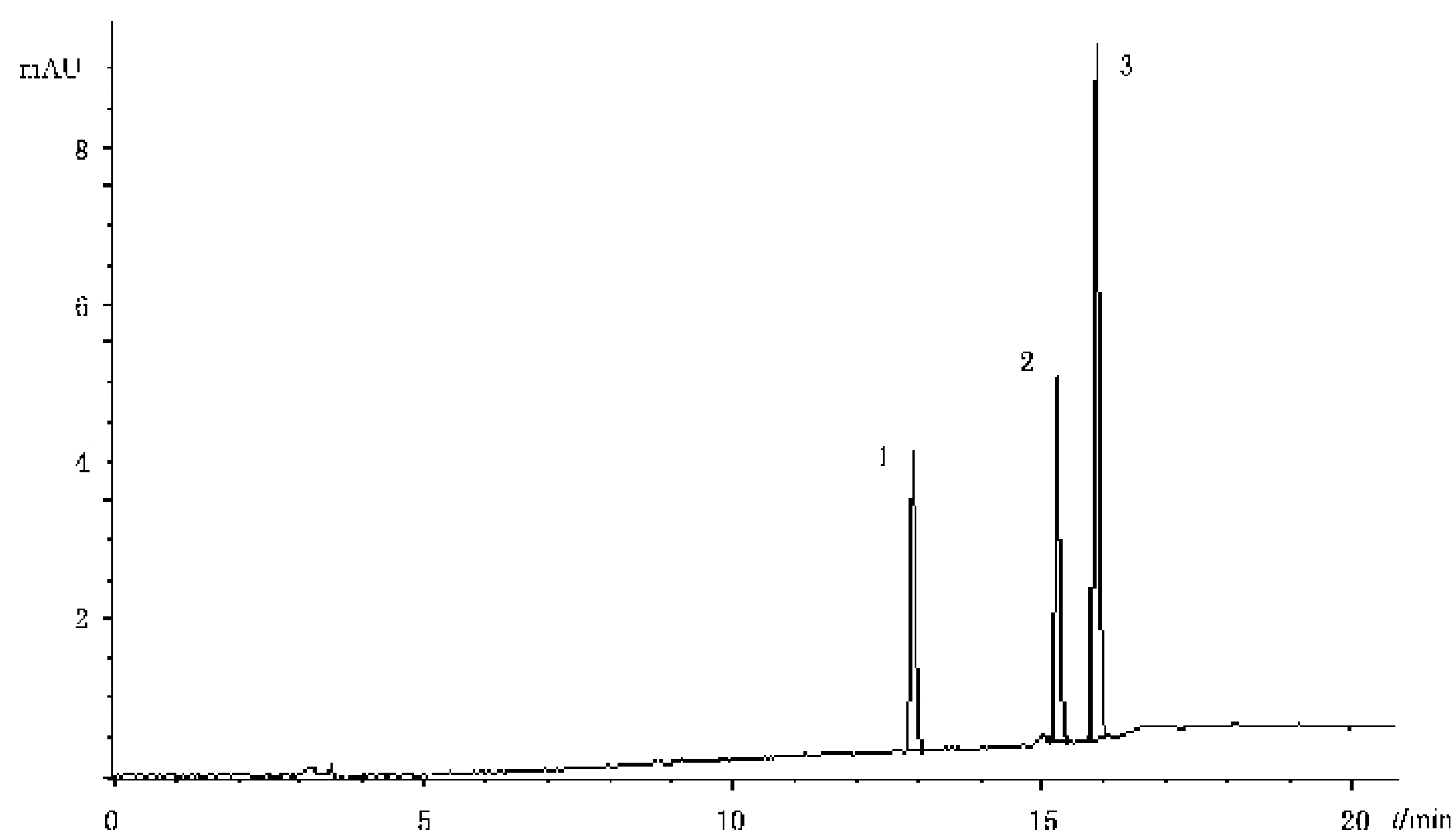
附 录 A
(资料性附录)

2,4,6-三氯苯酚、五氯苯酚和硫氯酚的中文名称、英文名称、CAS 登录号、
分子式、相对分子质量及结构式

表 A.1 2,4,6-三氯苯酚、五氯苯酚和硫氯酚的中文名称、英文名称、CAS 登录号、
分子式、相对分子质量及结构式

序号	中文名称	英文名称	CAS 登录号	分子式	相对分子质量	结构式
1	2,4,6-三氯苯酚	2,4,6-Trichlorophenol	88-06-2	$C_6H_3Cl_3O$	197.44	
2	五氯苯酚	Pentachlorophenol	87-86-5	C_6HCl_5O	266.33	
3	硫氯酚	Bithionol [2,2'-sulfanediylbis (4,6-dichlorophenol)]	97-18-7	$C_{12}H_6Cl_4O_2S$	356.05	

附录 B
(资料性附录)
标准物质液相色谱图



说明:

1——2,4,6-三氯苯酚;

2——五氯苯酚;

3——硫氯酚。

图 B.1 2,4,6-三氯苯酚、五氯苯酚和硫氯酚的标准物质液相色谱图

附 录 C
(资料性附录)
确 认 试 验

C.1 液相色谱条件

液相色谱条件如下：

- a) 色谱柱： C_{18} (2.1 mm×100 mm, 3.5 μ m), 或相当者；
- b) 梯度洗脱程序：A：乙腈，B：水（含 0.1% 氨水）；0 min～3 min, 60% A；3 min～5 min, 60%～90% A；5 min～10 min, 90% A；10 min～11 min, 90%～60% A；
- c) 流速：0.2 mL/min；
- d) 柱温：30 $^{\circ}$ C；
- e) 进样量：5 μ L。

C.2 质谱条件

质谱条件如下：

- a) 离子化方式：ESI, 负离子模式；
- b) 喷雾电压：2.5 kV；
- c) 汽化温度：300 $^{\circ}$ C；
- d) 毛细管温度：350 $^{\circ}$ C；
- e) 鞘气压力：50 Arb (1 Arb=6 894.75 Pa)；
- f) 辅助气压力：20 Arb (1 Arb=0.3 L/min)；
- g) 数据采集模式：选择反应监测 (SRM)。定性离子对、定量离子对、保留时间、碰撞能量和透镜电压参见表 C.1。

表 C.1 2,4,6-三氯苯酚、五氯苯酚和硫氯酚的定性离子对、定量离子对、
保留时间、碰撞能量和透镜电压

序号	化合物名称	定性离子对	定量离子对	保留时间/min	碰撞能量/ eV	透镜电压/ V
1	2,4,6-三氯苯酚	197/95.2 197/159	197/159	0.82	34 20	53
2	五氯苯酚	264.8/35.5 264.8/201.8 264.8/229.9	264.8/201.8	0.83	35 33 32	59
3	硫氯酚	354.8/160.9 354.8/191.8	354.8/191.8	1.05	28 27	52

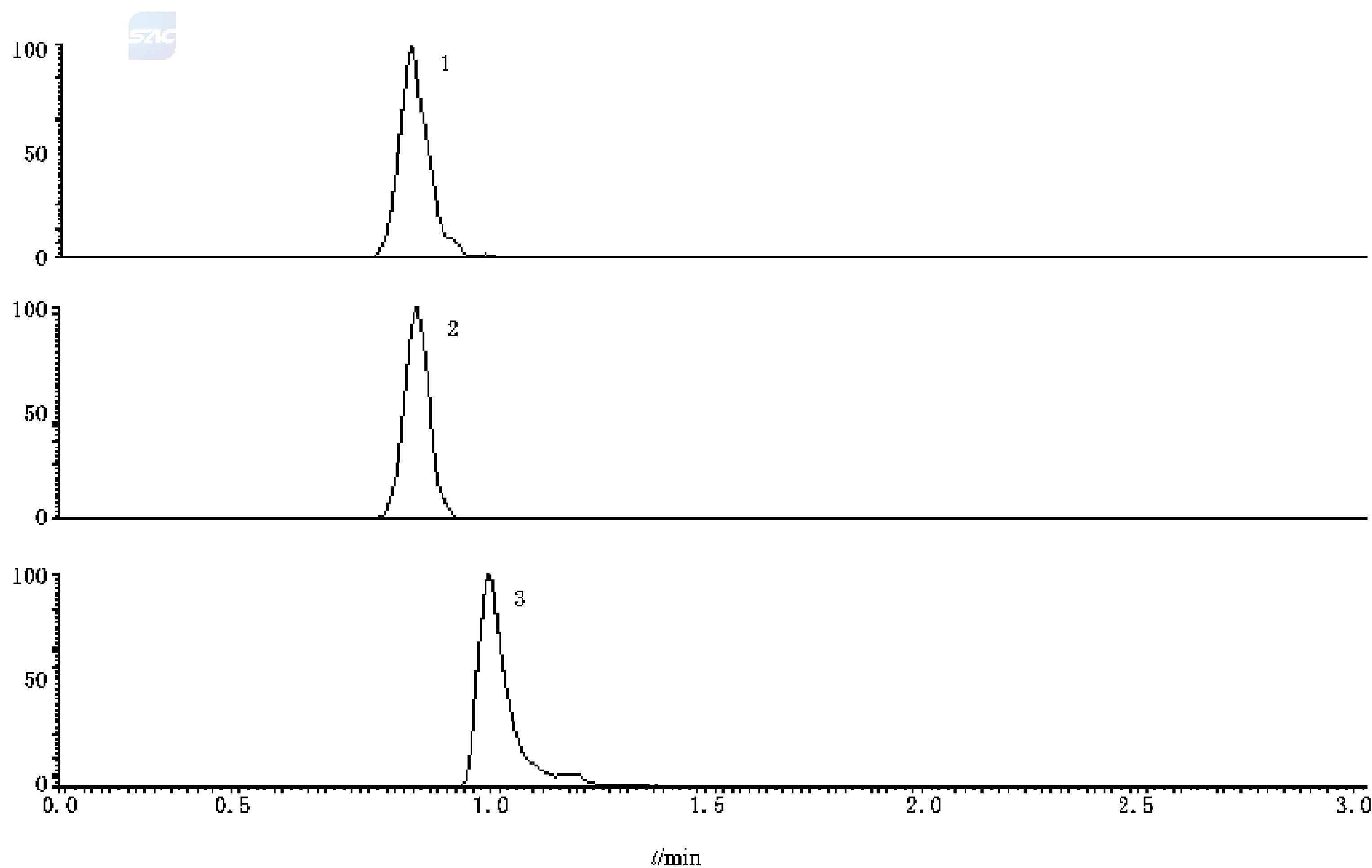
C.3 定性判定

进行试样测定时,将样品溶液适当稀释,按照液相色谱-串联质谱条件测定样品溶液和标准工作溶液,如果检测出色谱峰的保留时间与标准溶液中某种组分峰的保留时间一致,并且在扣除背景后的样品质谱图中,所选择的两对子离子的质荷比一致,样品定性离子相对丰度与浓度相当标准工作溶液的定性离子的相对丰度进行比较时,相对偏差不超过表 C.2 规定的范围,则可判断样品中存在该组分。

2,4,6-三氯苯酚、五氯苯酚和硫氯酚的选择离子质量色谱图参见图 C.1。

表 C.2 定性确定时相对离子丰度的最大允许偏差

相对离子丰度/%	>50	>20~50	>10~20	≤10
允许的相对偏差/%	±20	±25	±30	±50



说明：
1——2,4,6-三氯苯酚；
2——五氯苯酚；
3——硫氯酚。

图 C.1 2,4,6-三氯苯酚、五氯苯酚和硫氯酚的选择离子质量色谱图