



中华人民共和国国家标准

GB/T 30935—2014

化妆品中 8-甲氧基补骨脂素等 8 种禁用呋喃香豆素的测定 高效液相色谱法

Determination of 8 furocoumarines including 8-methoxypsoralen in cosmetics—
High performance liquid chromatography

2014-07-08 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：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：马强、王超、马会娟、李文涛、白桦、孟宪双、陈云霞、沈敏、钱茵。

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 8-甲氧基补骨脂素等 8 种禁用呋喃香豆素的测定 高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了化妆品中 8-甲氧基补骨脂素等 8 种禁用呋喃香豆素的高效液相色谱测定方法。

本标准适用于膏霜、散粉、蜡基、水剂和香波类化妆品中 8-甲氧基补骨脂素等 8 种禁用呋喃香豆素的测定。

本标准的检出限和定量限：8-羟基补骨脂素的检出限为 0.1 mg/kg，定量限为 0.25 mg/kg；补骨脂素、异补骨脂素、8-甲氧基补骨脂素、5-甲氧基补骨脂素、三甲沙林、欧前胡素、异欧前胡素的检出限为 0.2 mg/kg，定量限为 0.5 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

试样经溶剂提取，微孔滤膜过滤后，用高效液相色谱测定，外标法定量。

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 无水乙醇。

4.4 四氢呋喃。

4.5 50%乙醇水溶液：量取 50 mL 无水乙醇和 50 mL 水，混匀。

4.6 50%甲醇水溶液：量取 50 mL 甲醇和 50 mL 水，混匀。

4.7 50%乙腈水溶液：量取 50 mL 乙腈和 50 mL 水，混匀。

4.8 标准品：8-甲氧基补骨脂素等 8 种禁用呋喃香豆素标准品中文名称、英文名称、CAS 号、分子式、结构式和相对分子质量参见附录 A 表 A.1，纯度不小于 95%。

4.9 8 种禁用呋喃香豆素的标准储备液：准确称取每种呋喃香豆素标准品(4.8)各 10 mg，精确至 0.1 mg，分别置于 10 mL 容量瓶中，用乙腈(4.2)溶解并定容至刻度，摇匀，配制成浓度分别为 1 000 $\mu\text{g/mL}$ 的标准储备液，于 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存，可使用 3 个月。

4.10 8 种禁用呋喃香豆素的混合标准储备液：分别准确移取 8 种禁用呋喃香豆素标准储备液各 1 mL

于 10 mL 容量瓶中,用乙腈(4.2)稀释至刻度,该溶液中 8 种禁用呋喃香豆素的浓度均为 100 $\mu\text{g/mL}$ 。

5 仪器和设备

- 5.1 高效液相色谱(HPLC)仪: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 分析天平:感量为 0.000 1 g 和 0.001 g。
- 5.4 离心机:转速不低于 5 000 r/min。
- 5.5 超声波水浴。
- 5.6 涡旋混合器。
- 5.7 具塞锥形瓶:50 mL。
- 5.8 具塞塑料离心管:10 mL。
- 5.9 微孔滤膜:0.45 μm ,有机相。

6 分析步骤

6.1 样品处理

6.1.1 膏霜类样品

称取 1 g(精确至 0.001 g)试样于 50 mL 具塞锥形瓶(5.7)中,加入 10 mL 50%乙醇水溶液(4.5),涡旋混合后超声提取 30 min。取部分溶液转移至 10 mL 具塞塑料离心管(5.8)中,以 5 000 r/min 离心 10 min,上清液经 0.45 μm 微孔滤膜(5.9)过滤,供高效液相色谱测定。

6.1.2 水剂类样品

称取 1 g(精确至 0.001 g)试样于 50 mL 具塞锥形瓶(5.7)中,加入 10 mL 无水乙醇(4.3),涡旋混合后超声提取 30 min。以下步骤同 6.1.1。

6.1.3 香波类样品

称取 1 g(精确至 0.001 g)试样于 50 mL 具塞锥形瓶(5.7)中,加入 10 mL 50%甲醇水溶液(4.6),涡旋混合后超声提取 30 min。以下步骤同 6.1.1。

6.1.4 蜡基类样品

称取 1 g(精确至 0.001 g)试样于 50 mL 具塞锥形瓶(5.7)中,加入 2 mL 四氢呋喃(4.4),涡旋混合后再加入 8 mL 50%乙醇水溶液(4.5),超声提取 30 min。以下步骤同 6.1.1。

6.1.5 散粉类样品

称取 1 g(精确至 0.001 g)试样于 50 mL 具塞锥形瓶(5.7)中,加入 10 mL 50%乙腈水溶液(4.7),涡旋混合后超声提取 30 min。以下步骤同 6.1.1。

6.2 测定条件

高效液相色谱测定参考条件如下:

- a) 色谱柱:ZORBAX SB-Phenyl, 5 μm , 250 mm $\times$ 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:250 nm;
- f) 进样量:10 μL。

表 1 流动相

步骤	时间/min	水/%	甲醇/%	乙腈/%
0	0.00	55	22	23
1	12.50	55	22	23
2	14.00	37	31	32
3	21.00	36	32	32
4	22.00	0	50	50
5	25.00	55	22	23

6.3 标准曲线的绘制

用乙腈(4.2)将混合标准储备液逐级稀释得到浓度为 0.025 μg/mL、0.05 μg/mL、0.1 μg/mL、0.5 μg/mL、1.0 μg/mL、2.5 μg/mL、5 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。

8 种禁用呋喃香豆素标准品色谱图参见附录 B 中的图 B.1。

6.4 测定

按 6.2 的测定条件对待测样液进行测定,用外标法定量。待测样液中对呋喃香豆素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。进行样品测定时,如果检出呋喃香豆素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与标准品的紫外可见吸收光谱相一致,则可初步确认样品中存在被测呋喃香豆素。必要时,阳性样品需用液相色谱-质谱进行确认试验(参见附录 C)。

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):

$$W = \frac{c \times V}{m}$$

.....(1)

式中:

- W ——化妆品中呋喃香豆素的含量,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被测呋喃香豆素的浓度,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

本标准的检出限和定量限:8-羟基补骨脂素的检出限为 0.1 mg/kg,定量限为 0.25 mg/kg;补骨脂素、异补骨脂素、8-甲氧基补骨脂素、5-甲氧基补骨脂素、三甲沙林、欧前胡素、异欧前胡素的检出限为 0.2 mg/kg,定量限为 0.5 mg/kg。

9 回收率和精密度

在添加浓度 0.25 mg/kg~25 mg/kg 范围内,回收率在 85.0%~105.8%,相对标准偏差为 0.41%~7.90%。

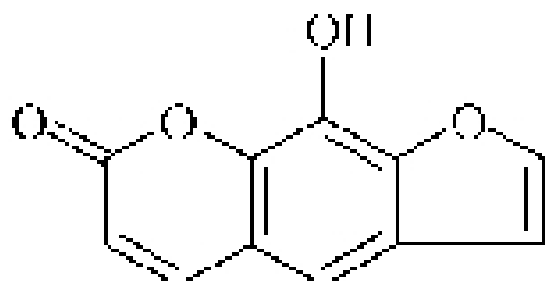
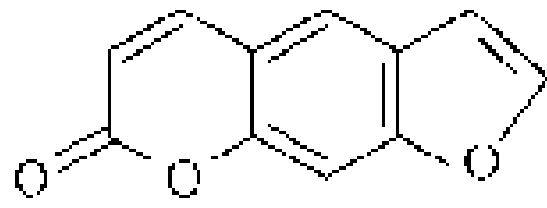
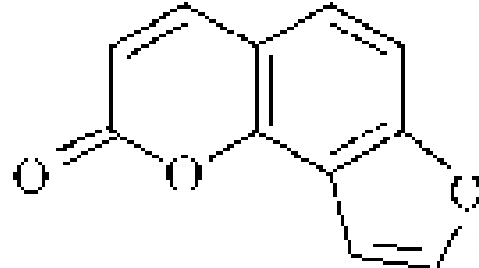
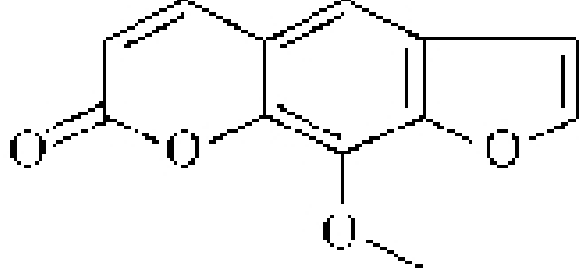
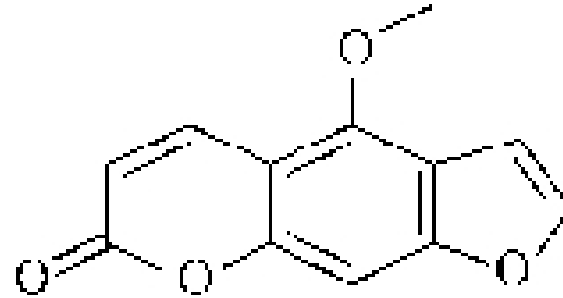
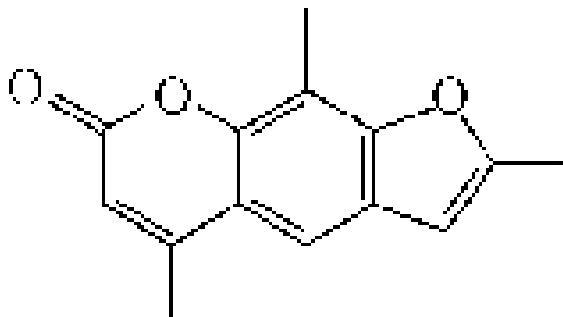
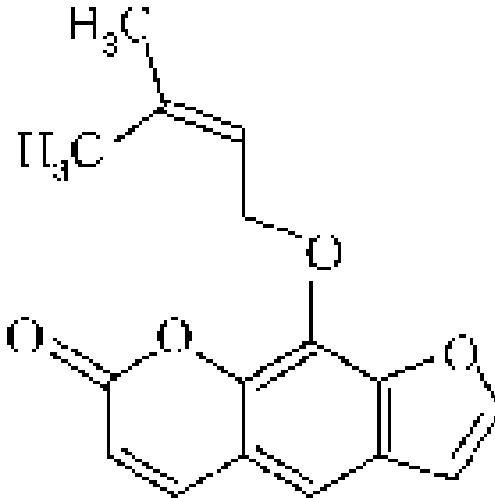
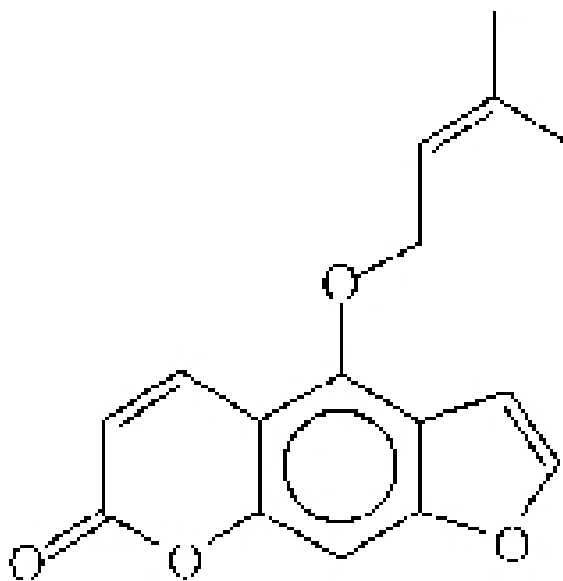
10 允许差

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%。

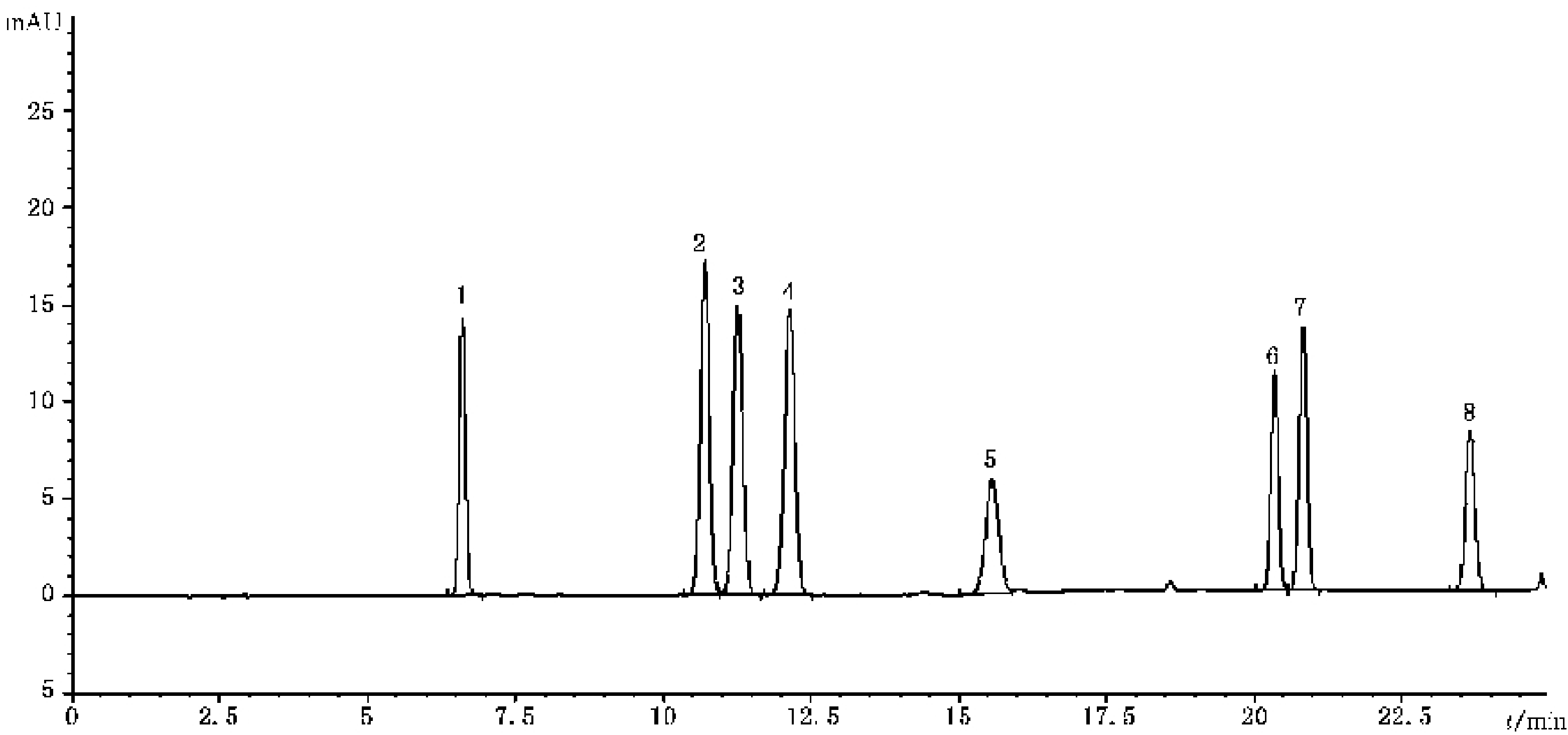
附 录 A
(资料性附录)

8 种禁用呋喃香豆素的中文名称、英文名称、CAS 号、分子式、结构式和相对分子质量

表 A.1 8 种禁用呋喃香豆素的中文名称、英文名称、CAS 号、分子式、结构式和相对分子质量

中文名称	英文名称	CAS 号	分子式	结构式	相对分子质量
8-羟基补骨脂素	8-Hydroxypsoralen	2009-24-7	C ₁₁ H ₆ O ₄		202.16
补骨脂素	Psoralen	66-97-7	C ₁₁ H ₆ O ₃		186.16
异补骨脂素	Isopsoralen	523-50-2	C ₁₁ H ₆ O ₃		186.16
8-甲氧基补骨脂素	8-Methoxypsoralen	298-81-7	C ₁₂ H ₈ O ₄		216.19
5-甲氧基补骨脂素	5-Methoxypsoralen	484-20-8	C ₁₂ H ₈ O ₄		216.19
三甲沙林	Trioxsalen	3902-71-4	C ₁₄ H ₁₂ O ₃		228.24
欧前胡素	Imperatorin	482-44-0	C ₁₆ H ₁₄ O ₄		270.28
 异欧前胡素	Isoimperatorin	482-45-1	C ₁₆ H ₁₄ O ₄		270.28

附录 B
(资料性附录)
标准品色谱图



说明：
1——8-羟基补骨脂素；
2——补骨脂素；
3——异补骨脂素；
4——8-甲氧基补骨脂素；
5——5-甲氧基补骨脂素；
6——三甲沙林；
7——欧前胡素；
8——异欧前胡素。

图 B.1 8 种禁用呋喃香豆素标准品色谱图

附 录 C
(资料性附录)
确 认 试 验

C.1 液相色谱条件

液相色谱测定参考条件如下：

- a) 色谱柱：XBridge C₁₈, 5 μm, 150 mm×2.1 mm(内径), 或相当者；
- b) 流动相：见表 C.1；
- c) 流速：0.3 mL/min；
- d) 柱温：35 ℃；
- e) 进样量：10 μL。

表 C.1 流动相

步骤	时间/min	水/%	乙腈/%
0	0.00	70	30
1	6.50	70	30
2	10.00	0	100
3	12.00	0	100
4	13.00	70	30
5	15.00	70	30

C.2 质谱条件

质谱测定参考条件如下：

- a) 电离方式：电喷雾电离；
- b) 毛细管电压：3.0 kV；
- c) 萃取电压：1.0 V；
- d) 射频透镜电压：0.0 V；
- e) 离子源温度：150 ℃；
- f) 脱溶剂气：氮气，流速 500 L/h，温度 350 ℃；
- g) 锥孔气：氮气，流速 50 L/h；
- h) 碰撞气：氩气；
- i) 扫描模式：多反应监测(MRM)，8 种禁用呋喃香豆素的电离方式、定性离子对、定量离子对、锥孔电压和碰撞气能量、相对丰度、允许偏差参见表 C.2。



表 C.2 8 种禁用呋喃香豆素的电离方式、定性离子对、定量离子对、锥孔电压和碰撞气能量、
相对丰度、允许偏差

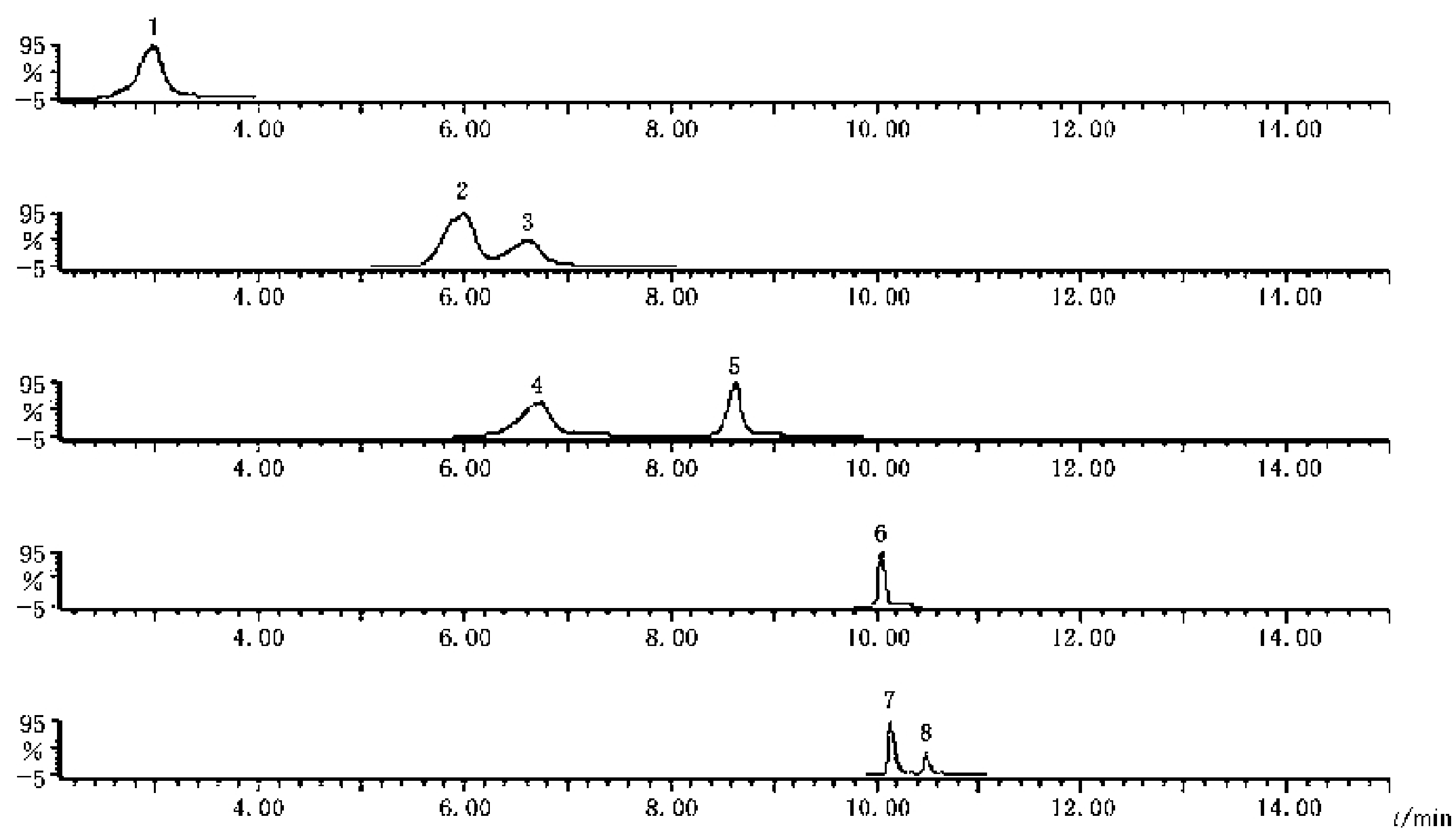
中文名称	电离方式	定性离子对 (<i>m/z</i>)	定量离子对 (<i>m/z</i>)	锥孔电压 V	碰撞气能量 eV	相对丰度	允许偏差 %
8-羟基补骨脂素	ESI ⁻	201.1/157.1 201.1/173.1	201.1/173.1	35	18 19	32 100	±20
补骨脂素	ESI ⁺	187.3/115.4 187.3/131.4	187.3/131.4	39	20 23	22 100	±20
异补骨脂素	ESI ⁺	187.3/131.4 187.3/143.3	187.3/143.3	35	21 17	78 100	±20
8-甲氧基补骨脂素	ESI ⁺	217.5/174.3 217.5/202.3	217.5/202.3	35	28 20	89 100	±25
5-甲氧基补骨脂素	ESI ⁺	217.5/174.3 217.5/202.3	217.5/202.3	32	27 20	44 100	±25
三甲沙林	ESI ⁺	229.5/142.3 229.5/173.4	229.5/142.3	40	25 22	100 47	±20
欧前胡素	ESI ⁺	271.6/147.3 271.6/203.4	271.6/147.3	20	30 14	100 74	±25
异欧前胡素	ESI ⁺	271.6/147.3 271.6/203.4	271.6/147.3	15	30 12	100 82	±25

C.3 定性判定

按照上述条件测定试样和标准工作溶液，如果试样中的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 C.2 的规定，则可判断样品中存在呋喃香豆素。

8 种禁用呋喃香豆素的选择离子质量色谱图参见图 C.1。





说明：

- 1——8-羟基补骨脂素；
- 2——补骨脂素；
- 3——异补骨脂素；
- 4——8-甲氧基补骨脂素；
- 5——5-甲氧基补骨脂素；
- 6——三甲沙林；
- 7——欧前胡素；
- 8——异欧前胡素。

图 C.1 8 种禁用呋喃香豆素的选择离子质量色谱图