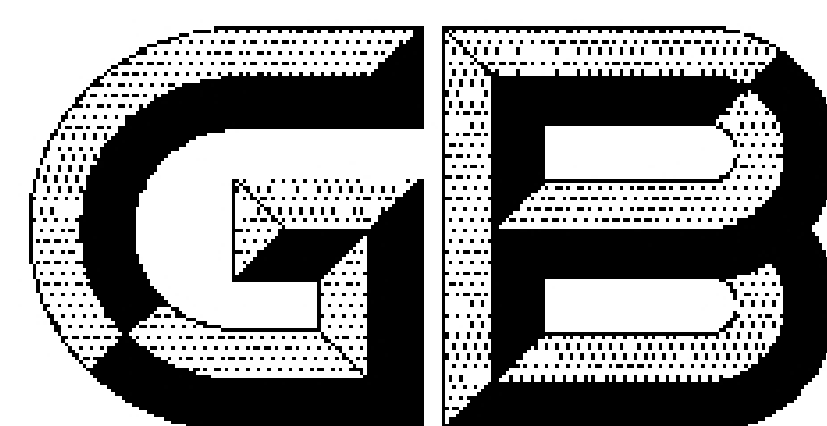




中华人民共和国国家标准

GB/T 34806—2017

化妆品中 13 种禁用着色剂的测定 高效液相色谱法

Determination of 13 kinds of prohibited colourants in cosmetics—
High performance liquid chromatography

2017-11-01 发布

2018-05-01 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：大连市食品检验所、大连市产品质量检测研究院、上海市日用化学工业研究所。

本标准主要起草人：毛希琴、任国杰、戴学东、李春玲、李鹏、李肖斐、顾鑫荣、勇艳华、郭无暇、董广彬、沈敏。



引 言

本标准的被测物质是我国《化妆品安全技术规范》规定的禁用物质。

禁用物质是指不能作为化妆品生产原料即组分添加到化妆品中的物质。《化妆品安全技术规范》规定：若技术上无法避免禁用物质作为杂质带入化妆品时，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 13 种禁用着色剂的测定

高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了化妆品中 13 种禁用着色剂(酸性黄 36、酸性紫 49、颜料红 53、溶剂红 49、碱性紫 1、分散黄 3、碱性紫 3、颜料橙 5、苏丹 I、苏丹红 II、溶剂蓝 35、苏丹红 IV、碱性紫 10)测定的高效液相色谱法及其质谱确证方法。

本标准适用于唇膏等蜡基类、指甲油类、粉类等化妆品中 13 种禁用着色剂的定量测定。
本标准中 13 种禁用着色剂的检出限和定量限参见表 A.1。

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 方法提要

待测样品经四氢呋喃分散,然后加入含有醋酸铵的甲醇-水混合溶液,超声提取目标物,离心并过滤后,用反相高效液相色谱分离,二极管阵列检测,标准曲线外标法定量。液相色谱法确定为阳性的样品需经高效液相色谱串联质谱法(HPLC-MS/MS)进行确证。

4 试剂和材料

除非另有说明,所用试剂均为分析纯,所用水为 GB/T 6682 中规定的一级水。

- 4.1 标准物质名称(英文名称)、CI 号、CAS 号、分子式、分子结构式、相对分子质量、纯度见表 B.1。
- 4.2 四氢呋喃。
- 4.3 甲醇。
- 4.4 甲醇-四氢呋喃(1+1)溶液:将四氢呋喃和甲醇(4.3)按照 1+1(V+V)的比例混合。
- 4.5 甲醇:色谱纯,用于质谱确证时流动相的配制。
- 4.6 乙腈:色谱纯。
- 4.7 醋酸铵:色谱纯。
- 4.8 甲酸:色谱纯。
- 4.9 甲醇-醋酸铵水溶液:取醋酸铵 0.77 g,加入到 100 mL 水中充分溶解,再加入甲醇(4.3)100 mL,充分混匀,制得醋酸铵浓度为 50 mmol/L 的甲醇-醋酸铵水溶液。
- 4.10 标准储备溶液的配制:称取颜料橙 5、分散黄 3 各 10 mg(精确至 0.1 mg),分别用四氢呋喃和甲醇溶解后,定容至 50 mL 配制成浓度为 0.2 mg/mL 的标准储备溶液。称取颜料红 53 和苏丹红 IV 各 10 mg(精确至 0.1 mg),分别用二甲基亚砜和四氢呋喃溶解后,定容至 10 mL,配制成浓度为 1 mg/mL 的标准储备溶液。称取其余 8 种标准物质(除颜料橙 5、分散黄 3、颜料红 53、苏丹红 IV、碱性紫 10 外)各

10 mg(精确至 0.1 mg),分别用甲醇溶解后定容至 10 mL,配制成各目标物浓度为 1 mg/mL 的标准储备溶液。鉴于碱性紫 10 实为溶剂红 49 的盐酸盐,在同一色谱条件下与溶剂红 49 的出峰时间相同,方法无法分辨是碱性紫 10 或溶剂红 49,因此配制标准储备液时可根据标准物质情况任选一种配制。

4.11 标准溶液的配制:准确移取颜料橙 5、分散黄 3 的标准储备液各 1 mL,其余标准储备液各 200 μ L 于同一 10 mL 容量瓶中,用甲醇-四氢呋喃(1+1)定容至刻度,配制成 20 μ g/mL 的混合标准溶液,再用甲醇-四氢呋喃(1+1)逐级稀释配制 5 μ g/mL、2 μ g/mL、1 μ g/mL、0.5 μ g/mL、0.2 μ g/mL 的系列混合标准溶液,用于标准曲线的绘制。

5 仪器和设备

- 5.1 高效液相色谱仪-二极管阵列检测器。
- 5.2 高效液相色谱串联四级杆质谱仪,配置 ESI 离子源(确证时使用)。
- 5.3 分析天平:感量 0.1 mg;0.01 mg。
- 5.4 漩涡混合器。
- 5.5 超声波清洗器。
- 5.6 离心机:转速不小于 5 000 r/min,离心试管容量 10 mL。
- 5.7 移液枪或移液器。

6 试样制备

称取待测化妆品样品约 0.2 g(精确至 1 mg)于离心管中,加入四氢呋喃 6 mL,涡旋并超声 10 min,使样品分散并提取目标物(若遇唇膏样品无法分散的情况,可用 80 $^{\circ}$ C 水浴适当加热 1 min~2 min 即可分散),继续向离心管中加入甲醇-醋酸铵水溶液(4.9) 约 4 mL,使提取溶液定容至 10 mL,涡旋混匀后超声 10 min,然后于 5 000 r/min 离心 10 min。取澄清提取液,经 0.45 μ m 微孔滤膜过滤后待测。

7 测定步骤

7.1 液相色谱分析参考条件

色谱柱:poroshell 120 EC- C_{18} (2.7 μ m,3.0 mm $\times$ 100 mm)或相当者。
流动相:流动相 A 10 mmol/L 醋酸铵溶液;流动相 B 乙腈。
柱温:35 $^{\circ}$ C;流速:0.5 mL/min。
进样量:2 μ L;检测波长:416 nm、514 nm、590 nm。
梯度洗脱条件:见表 1。

表 1 液相色谱分析梯度洗脱条件

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0	75	25
3	62	38
6	53	47
9	20	80
11	2	98
14	2	98
15	75	25
18	75	25

7.2 质谱确证参考条件

7.2.1 液相色谱条件

色谱柱:poroshell 120 EC-C₁₈ (2.7 μm,3.0 mm×100 mm)或相当者。
流速:0.5 μL/min。
进样量:2 μL。
流动相:流动相 A 水相溶液(负模式为 10 mmol/L 醋酸铵溶液;正模式为 0.033%甲酸溶液);流动相 B 有机相溶液(负模式为乙腈-甲醇(6 : 4);正模式为乙腈)。
梯度洗脱条件:见表 2。

表 2 液相色谱分离条件

ESI ⁻			ESI ⁺		
时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%	时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0	60	40	0	60	40
3	50	50	5	50	50
6	15	85	6	15	85
8	0	100	9.5	15	85
11	0	100	9.6	13	97
12	60	40	10.5	13	97
15	60	40	11	60	40
—	—	—	14	60	40

7.2.2 质谱参考条件

离子源:电喷雾电离源(ESI 源)。
检测方式:多反应监测(MRM)。
雾化气:氮气,172.37 kPa(25 psi)。
干燥气:氮气,流速:14 L/min,温度:250 ℃。
碰撞气:氮气。
碰撞电压:380 V。
毛细管电压:4 000 V。
其他质谱参数见表 3。

表 3 13 种目标物的质谱分析参考参数

序号	目标物名称	母离子 (<i>m/z</i>)	子离子 (<i>m/z</i>)	碰撞能量	扫描模式
1	酸性黄 36	352.1	80.0	40	ESI ⁻
			155.8	40	
2	酸性紫 49	710.2	540.1	40	ESI ⁻
			169.8	50	
3	颜料红 53	375.0	346.8	18	ESI ⁻
			204.0	24	
4	溶剂红 49	443.2	399.1	50	ESI ⁺
			355.0	62	

表 3 (续)

序号	目标物名称	母离子 (<i>m/z</i>)	子离子 (<i>m/z</i>)	碰撞能量	扫描模式
5	碱性紫 1	358.3	342.1 326.1	42 58	ESI ⁺
6	分散黄 3	268.2	91.7 133.9	30 20	ESI ⁻
7	碱性紫 3	372.3	356.1 340.2	44 62	ESI ⁺
7'	碱性紫 3 杂质	344.2	328.1 237.0	44 36	ESI ⁺
8	颜料橙 5	337.0	109.0 166.9	34 16	ESI ⁻
9	苏丹 I	249.1	232.0 156.0	15 20	ESI ⁺
10	苏丹红 II	277.2	121.1 260.1	18 14	ESI ⁺
11	溶剂蓝 35	351.2	294.1 251.0	20 36	ESI ⁺
12	苏丹红 IV	379.1	361.0 259.8	20 24	ESI ⁻
13	碱性紫 10	443.2	399.1 355.0	50 62	ESI ⁺

7.3 定性分析

将在相同的液相色谱条件下获得的样品溶液的液相色谱分离谱图与标准物质的液相色谱分离谱图进行比较,若样品谱图中存在保留时间与某标准物质的保留时间一致的色谱峰,并且其扣除背景后的紫外吸收图谱与该标准物质的紫外吸收图谱一致,则可初步认定样品中存在该物质。经液相色谱法确定为阳性的样品,应经质谱分析进一步确证。13 种禁用着色剂的标准物质液相色谱分离谱图和质谱确证总离子流质谱图参见图 C.1、图 C.2 和图 C.3。

注：酸性黄 36 和酸性紫 49 的色谱峰保留时间基本一致,色谱峰分别出现在 416 nm 和 590 nm 波长条件下的紫外分离图谱中,在这两个波长条件下二者之间无干扰,若两种物质同时存在时,在定性分析时其紫外吸收图谱中会同时出现二者的特征吸收(最大吸收分别在 420 nm 和 592 nm 附近)。

7.4 定量测定

移取系列标准溶液(4.11),按照色谱条件(7.1)进行高效液相色谱分析,以系列标准溶液质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,制作标准曲线。酸性黄 36 和分散黄 3(2 种)根据 416 nm 下的紫外吸收进行定量计算,颜料红 53、溶剂红 49、颜料橙 5、苏丹 I、苏丹红 II、苏丹红 IV、碱性紫 10(7 种)根据 514 nm 下的紫外吸收进行定量计算,酸性紫 49、碱性紫 1、碱性紫 3、溶剂蓝 35(5 种)根据 590 nm 下的紫外吸收进行定量计算。

注：鉴于碱性紫 10 实为溶剂红 49 的盐酸盐,在本方法中与溶剂红 49 的出峰时间相同,方法无法分辨是碱性紫 10

或溶剂红 49。除非已知，否则为统一测试结果，建议选择溶剂红 49 作为标准物质，测试结果则报告以溶剂红 49 计的含量。

样品溶液中目标物的含量，用标准曲线外标法确定。化妆品样品中目标物的含量 X 按式(1)进行计算。

$$X = \frac{c \times V}{m} \times 10^{-3} \dots\dots\dots(1)$$

- 式中：
- X ——化妆品样品中目标物的含量，单位为毫克每克(mg/g)；
 - c ——从标准曲线中计算出的样品溶液中目标物的质量浓度，单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$)；
 - V ——按稀释倍数折算的被测样液总体积，单位为毫升(mL)；
 - m ——称取样品的质量，单位为克(g)。

计算结果保留三位有效数字。

若待测溶液中目标物的质量浓度超过校准曲线线性范围的上限，应对待测液进行适当稀释后重新测定。

8 平行试验

按照所建立的方法操作，对同一样品独立进行测定，获得的两次独立测试结果的绝对差值不得超过算数平均值的 10%。

9 回收率和精密度

在 10 $\mu\text{g/g}$ ~500 $\mu\text{g/g}$ 添加水平范围内的平均提取回收率为 90%~110%，相对标准偏差均小于 10%。



附 录 A
(资料性附录)
13 种禁用着色剂的检出限和定量限

表 A.1 给出了 13 种禁用着色剂的检出限和定量限。

表 A.1 13 种禁用着色剂的检出限和定量限

序号	化合物名称	检出限 $\mu\text{g/g}$	定量限 $\mu\text{g/g}$	序号	化合物名称	检出限 $\mu\text{g/g}$	定量限 $\mu\text{g/g}$
1	酸性黄 36	3	10	8	颜料橙 5	2	6
2	酸性紫 49	3	10	9	颜料橙 5	2	6
3	颜料红 53	2	6	10	苏丹 II	1	3
4	溶剂红 49	1	3	11	溶剂蓝 35	1	3
5	碱性紫 1	2	6	12	苏丹红 IV	1	3
6	分散黄 3	3	10	13	碱性紫 10	1	3
7	碱性紫 3	2	6				

附 录 B
(资料性附录)

标准物质名称(英文名称)、CI 号、CAS 号、分子式、分子结构式、相对分子质量、纯度

表 B.1 给出了标准物质名称(英文名称)、CI 号、CAS 号、分子式、分子结构式、相对分子质量、纯度等信息。

表 B.1 标准物质名称(英文名称)、CI 号、CAS 号、分子式、分子结构式、相对分子质量、纯度

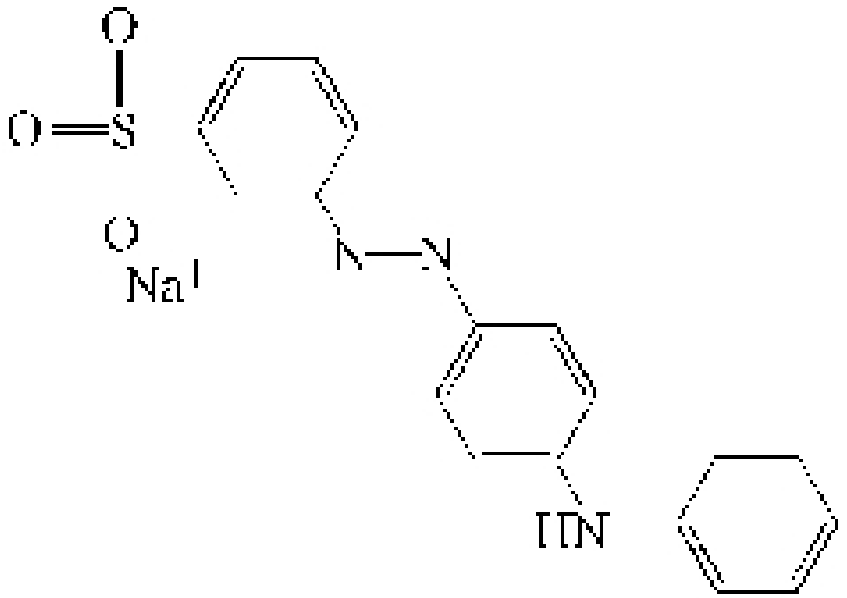
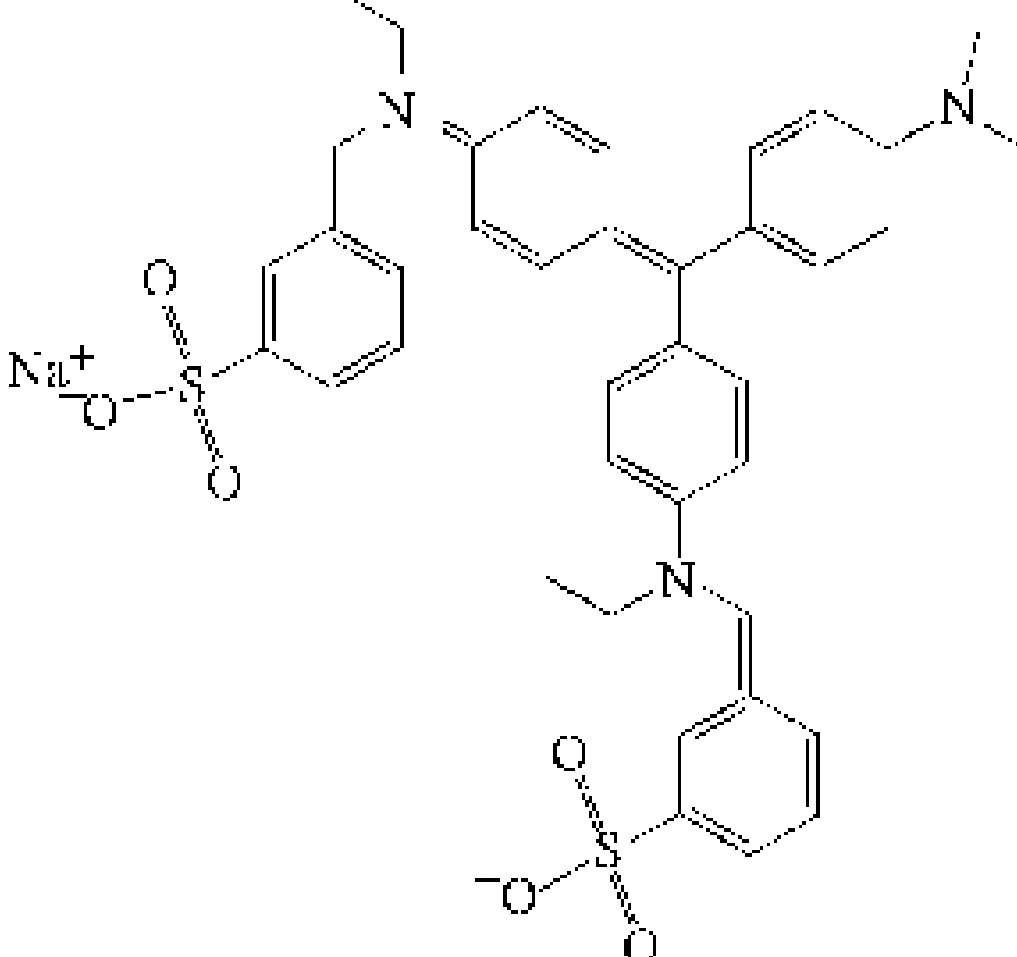
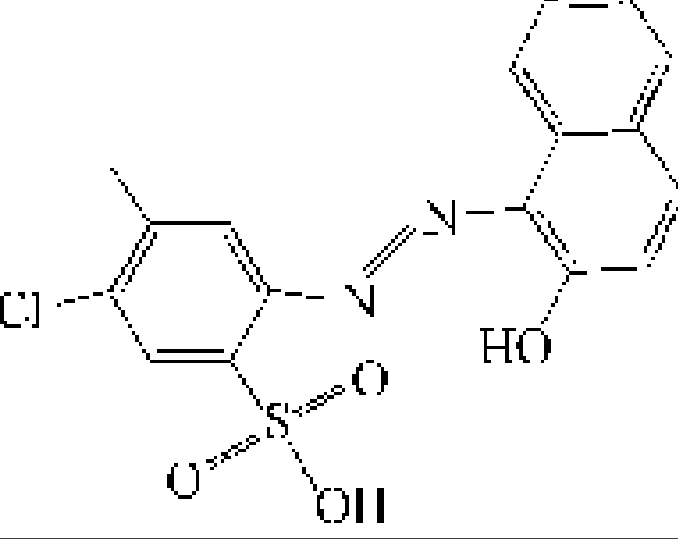
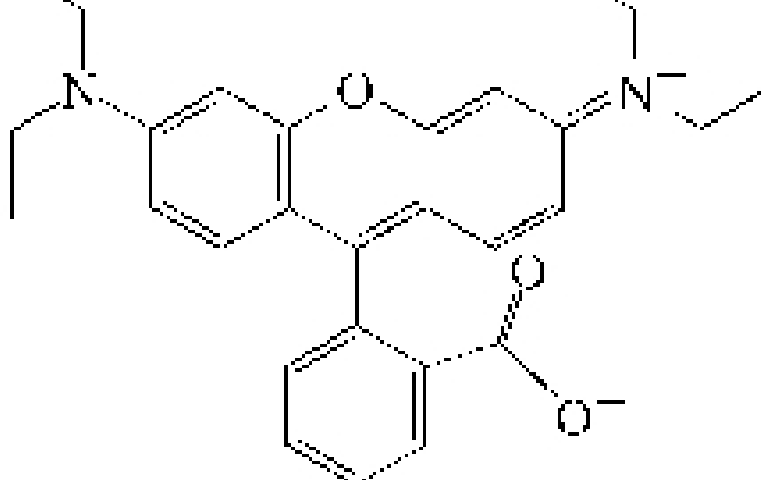
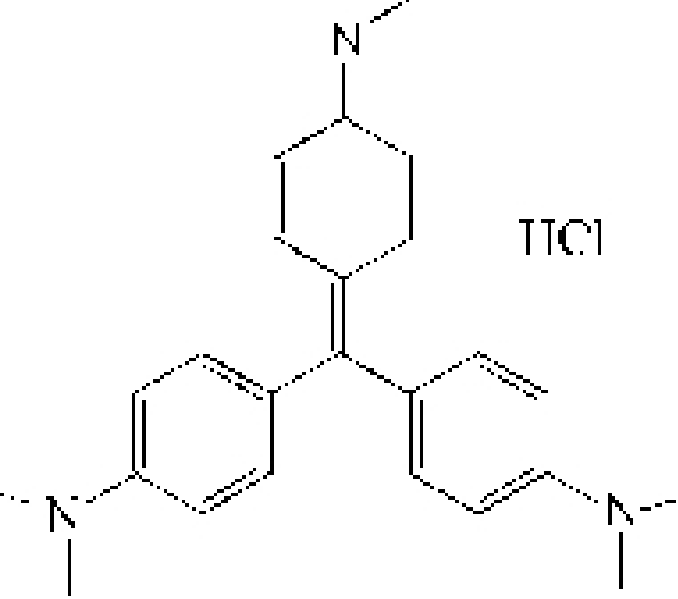
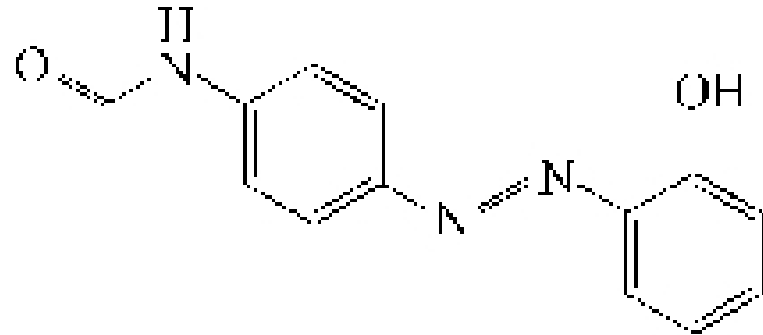
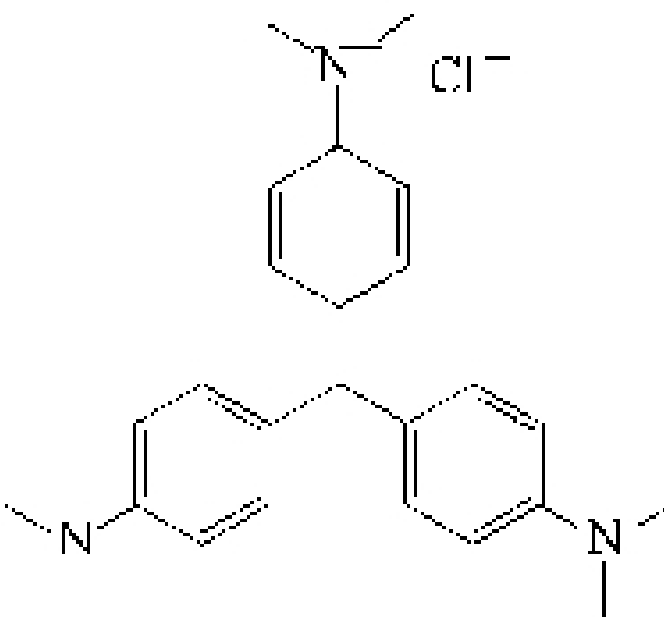
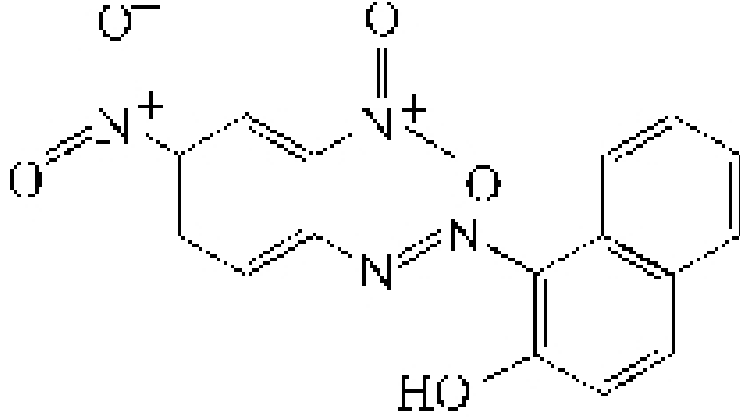
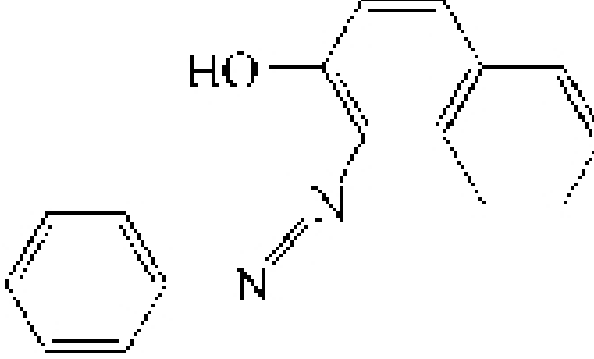
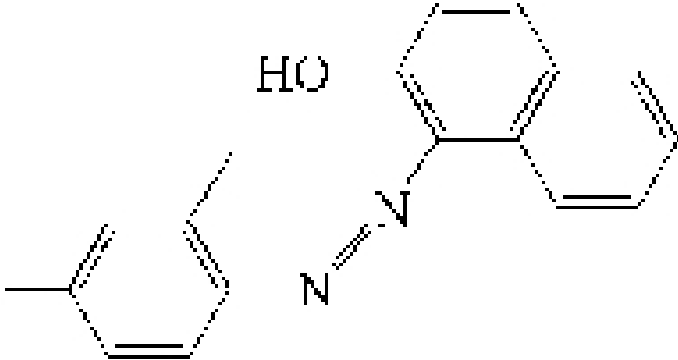
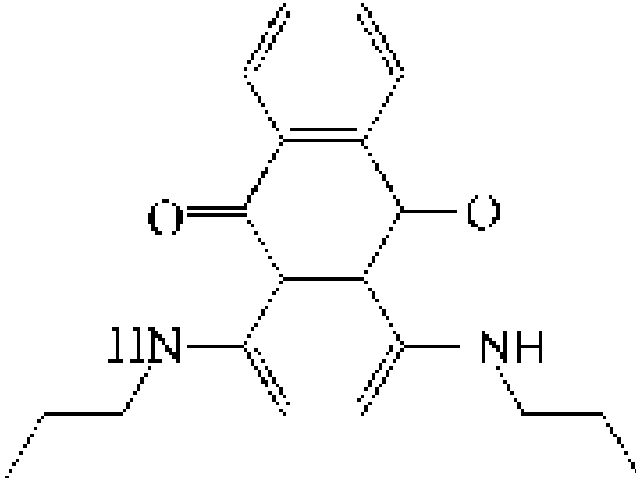
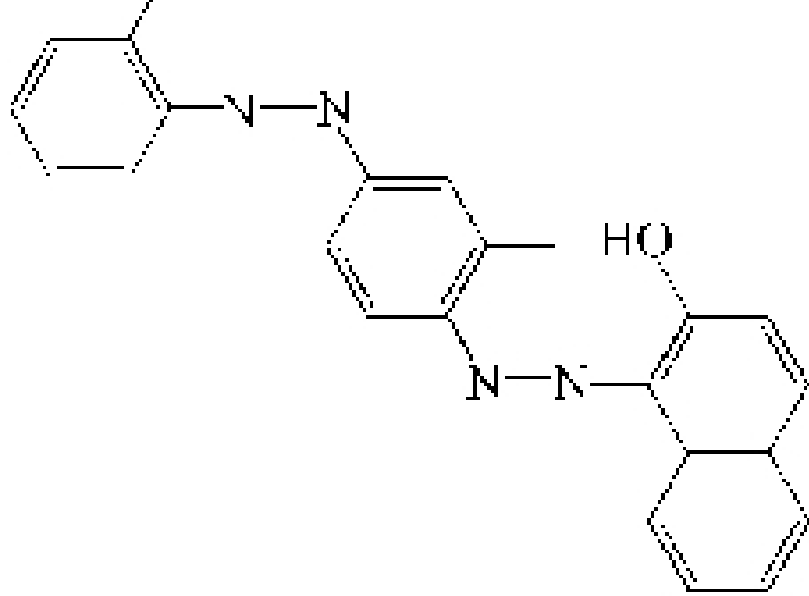
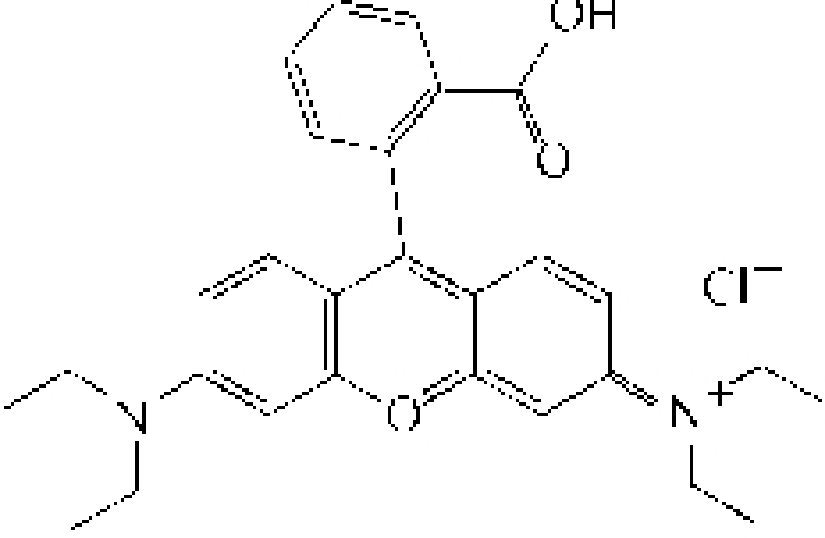
序号	标准物质名称(英文名称)	着色剂索引号(CI 号)	CAS 号	分子式	结构式	相对分子质量	纯度
1	酸性黄 36 (Acid Yellow 36)	CI 13065	587-98-4	$C_{18}H_{14}N_3O_3SNa$		375.38	≥98%
2	酸性紫 49 (Acid Violet 49)	CI 42640	1694-09-3	$C_{39}H_{40}N_3NaO_6S_2$		733.87	
3	颜料红 53 (Pigment Red 53)	CI 15585	5160-02-1	$C_{17}H_{13}ClN_2O_4S$		376.81	
4	溶剂红 49 (Solvent Red 49)	CI 45170;1	509-34-2	$C_{28}H_{30}N_2O_3$		442.55	
5	碱性紫 1 (Basic Violet 1)	CI 42535	8004-87-3	$C_{24}H_{28}ClN_3$		393.95	

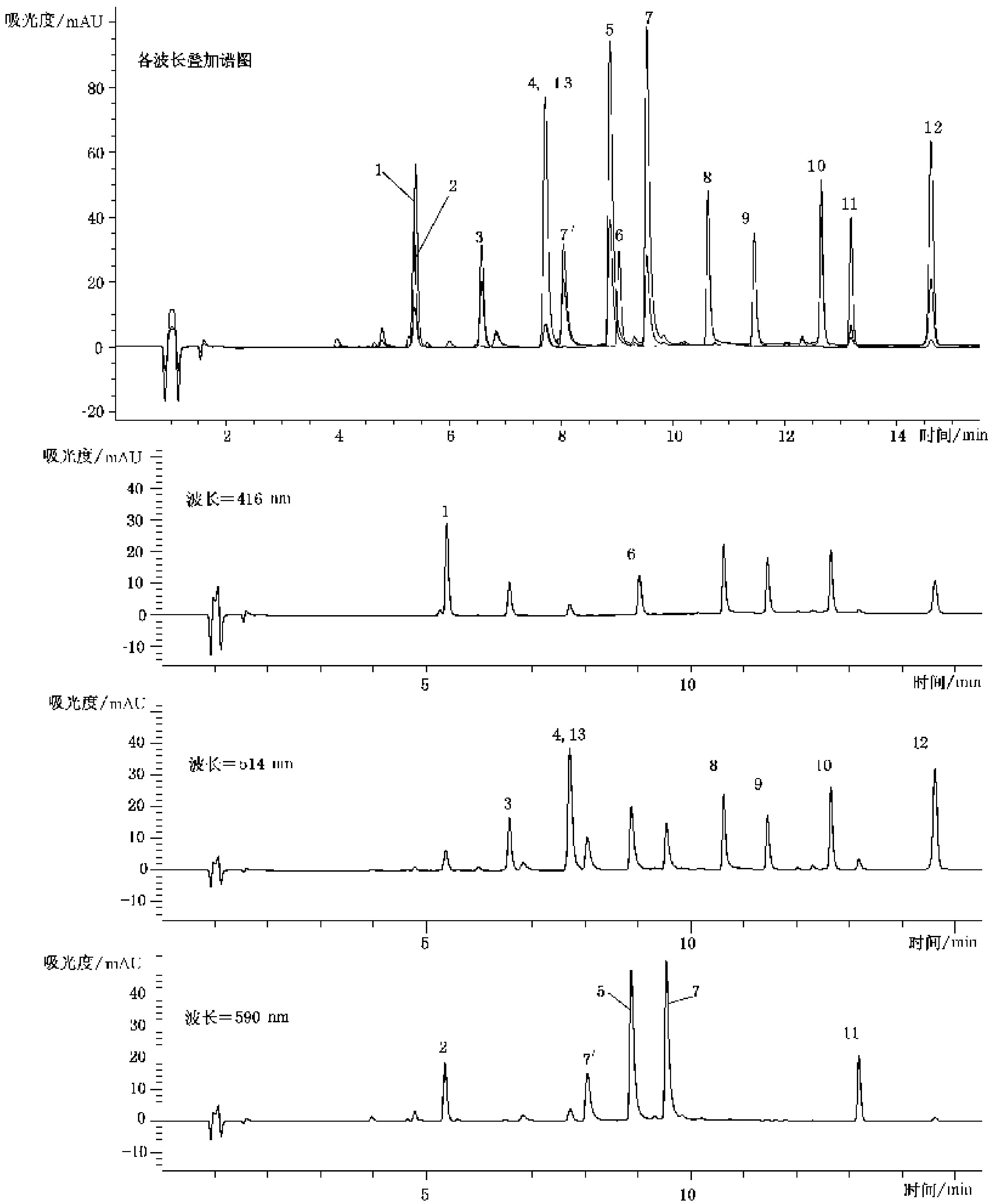
表 B.1 (续)

序号	标准物质名称(英文名称)	着色剂索引号(CI号)	CAS号	分子式	结构式	相对分子质量	纯度
6	分散黄 3 (Disperse Yellow 3)	CI 11855	2832-40-8	$C_{15}H_{15}N_3O_2$		269.30	≥98%
7	碱性紫 3 (Basic Violet 3)	CI 42555	548-62-9	$C_{25}H_{30}ClN_3$		407.98	
8	颜料橙 5 (Pigment Orange 5)	CI 12075	3468-63-1	$C_{16}H_{10}N_4O_5$		338.27	
9	苏丹 I (Sudan I)	CI 12055	842-07-9	$C_{16}H_{12}N_2O$		248.28	
10	苏丹红 II (Sudan II)	CI 12140	3118-97-6	$C_{18}H_{16}N_2O$		276.33	
11	溶剂蓝 35 (Solvent Blue 35)	CI 61554	17354-14-2	$C_{22}H_{26}N_2O_2$		350.45	
12	苏丹红 IV (Solvent Red 24)	CI 26105	85-83-6	$C_{24}H_{20}N_4O$		380.44	
13	碱性紫 10 (Rhodamine B)	CI 45170	81-88-9	$C_{28}H_{31}N_2O_3Cl$		380.44	

附 录 C
(资料性附录)

13 种禁用着色剂的标准物质液相色谱分离谱图和质谱确证总离子流质谱图

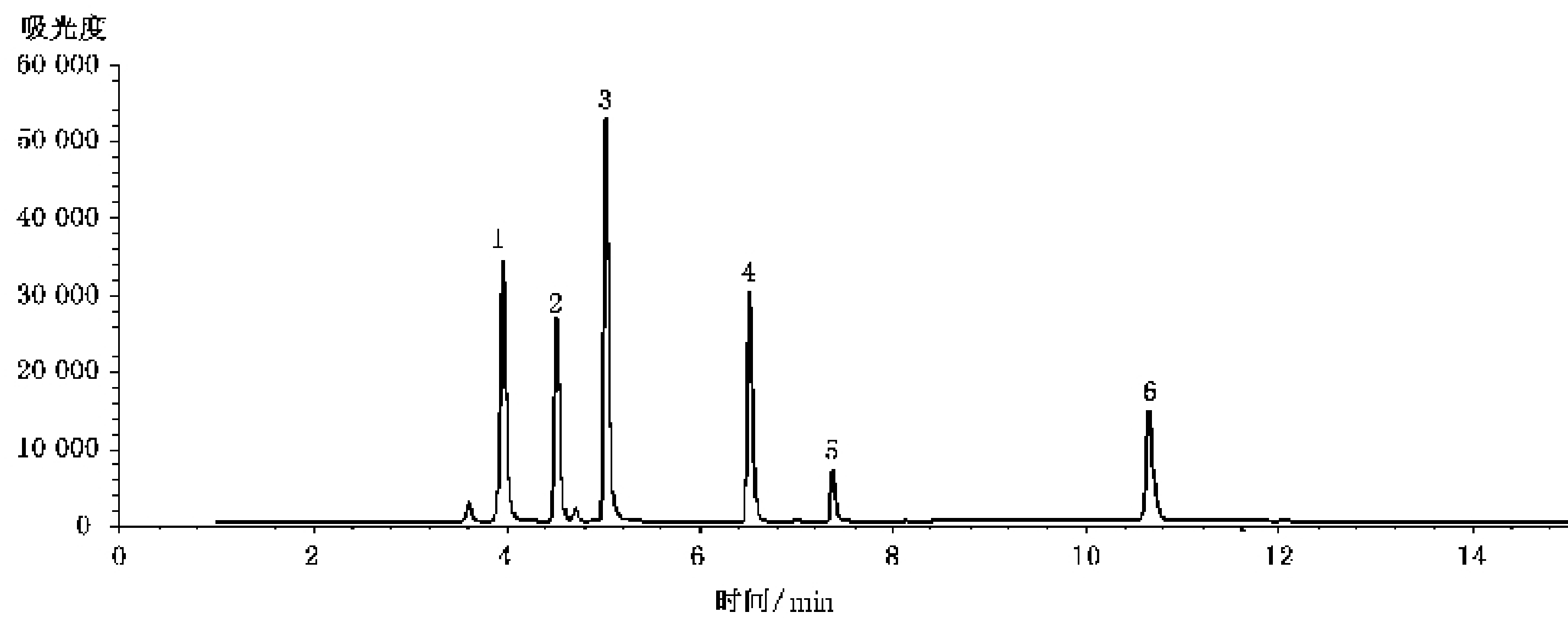
标准物质液相色谱分离谱图见图 C.1。标准物质质谱确证总离子流图(负模式部分)见图 C.2。标准物质质谱确证总离子流图(正模式部分)见图 C.3。



说明：

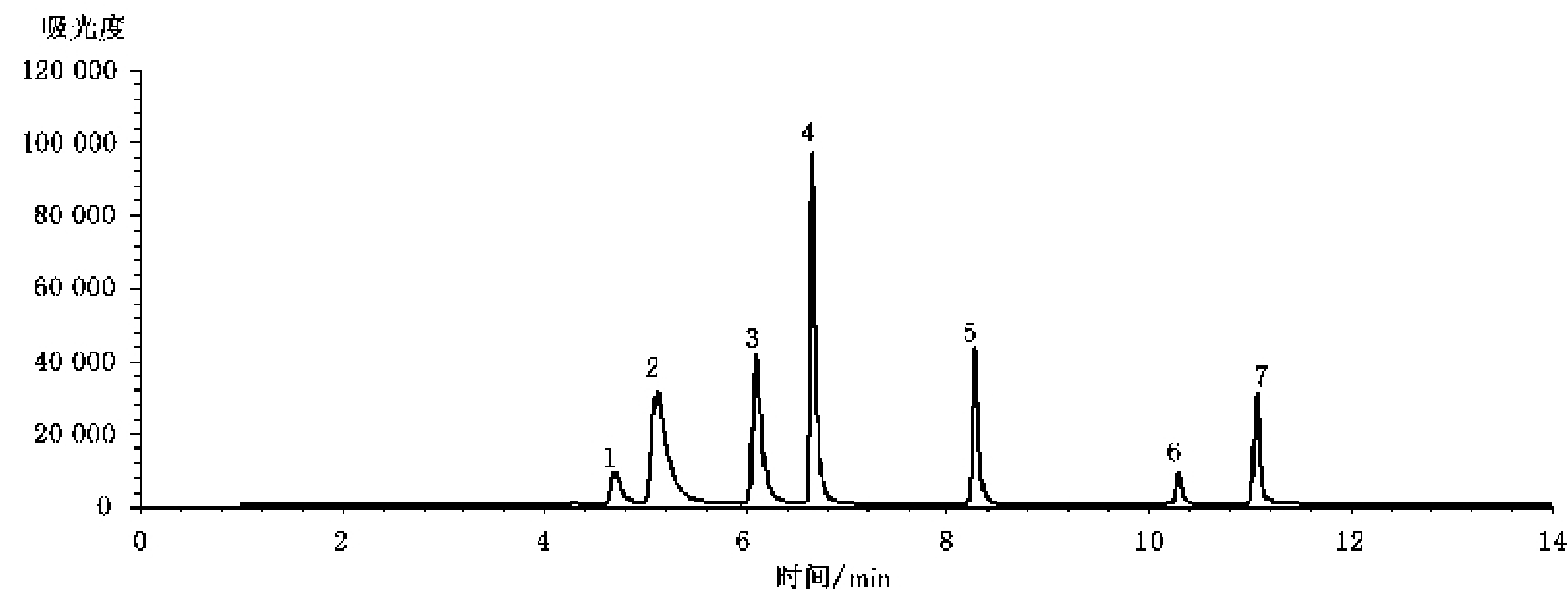
1——酸性黄 36；	4——溶剂红 49；	7 ——碱性紫 3；	9 ——苏丹 I；	12——苏丹红 IV；
2——酸性紫 49；	5——碱性紫 1；	7'——碱性紫 3 杂质；	10——苏丹 II；	13——碱性紫 10。
3——颜料红 53；	6——分散黄 3；	8 ——颜料橙 5；	11——溶剂蓝 35；	

图 C.1 标准物质液相色谱分离谱图



说明：
1——酸性紫 49；
2——酸性黄 36；
3——颜料红 53；
4——分散黄 3；
5——颜料橙 5；
6——苏丹红Ⅳ。

图 C.2 标准物质质谱确证总离子流图(负模式部分)



说明：
1——碱性紫 3 杂质；
2——溶剂红 49(或碱性紫 10)；
3——碱性紫 1；
4——碱性紫 3；
5——苏丹Ⅰ；
6——苏丹Ⅱ；
7——溶剂蓝 35。

图 C.3 标准物质质谱确证总离子流图(正模式部分)