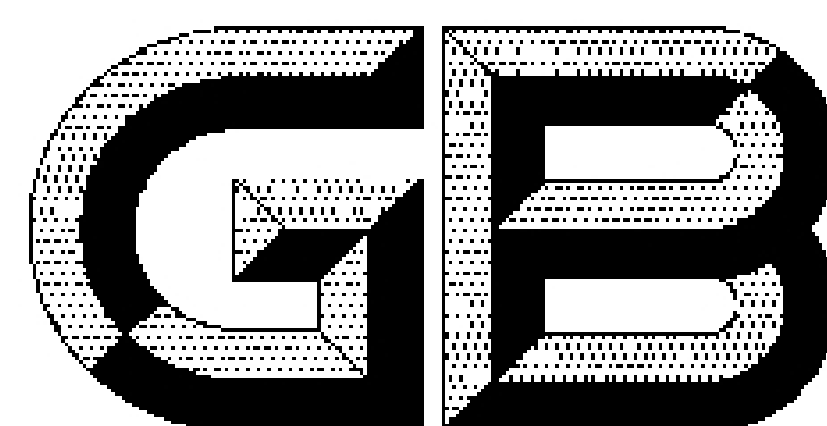




中华人民共和国国家标准

GB/T 35949—2018

化妆品中禁用物质马兜铃酸 A 的测定 高效液相色谱法

Determination of prohibited aristolochic acid A in cosmetics—
High performance liquid chromatography

2018-02-06 发布

2018-09-01 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：上海佰年诗丹德检测技术有限公司、上海市日用化学工业研究所、上海诗丹德标准技术服务有限公司、上海相宜本草化妆品股份有限公司。

本标准主要起草人：许纪锋、丁慧、钱勇、武晓剑、王改香、赵鑫、沈君子、辛振强、谢天培。



引 言

本标准的被测物质是我国《化妆品安全技术规范(2015 年版)》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(2015 年版)》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。



化妆品中禁用物质马兜铃酸 A 的测定

高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了化妆品中禁用物质马兜铃酸 A 的液相色谱测定方法的试剂与材料、仪器和设备、分析步骤、结果计算、回收率与精密度、允许差等内容。

本标准适用于膏霜、乳液、化妆水等皮肤护理类化妆品中马兜铃酸 A 的测定。

本标准方法检出限为 0.3 mg/kg,定量限为 1.0 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 高效液相色谱法原理

样品用甲醇超声提取过滤,经配有紫外检测器的高效液相色谱仪检测,外标法定量。

4 试剂与材料

除非另有说明,所有试剂均为分析纯,水为 GB/T 6682 规定的一级水。

4.1 甲醇:色谱纯。

4.2 冰醋酸。

4.3 马兜铃酸 A 标准样品:纯度不小于 99%,马兜铃酸 A 的中文名称、CAS 号、分子式、相对分子质量、化学结构式参见附录 A 中的表 A.1。

4.4 马兜铃酸 A 标准储备溶液:称取标准品 0.01 g(精确至 0.000 1 g),置 10 mL 容量瓶中,用甲醇溶解并定容至刻度,配制成浓度约为 1 mg/mL 的标准储备溶液,4 ℃避光保存。

5 仪器和设备

5.1 高效液相色谱仪(HPLC):紫外检测器[可变波长检测(VWD)或二极管阵列检测器(DAD)]。

5.2 分析天平:感量 0.000 1 g 和 0.001 g。

5.3 超声波清洗仪。

5.4 可调移液器和玻璃移液管:量程分别为 100 μL~1 000 μL 和 1.0 mL~10.0 mL。

5.5 0.45 μm 微孔滤膜。

6 分析步骤

6.1 样品预处理

称取化妆品 1 g(精确至 0.001 g),置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 10 mL,称定重量,超声 15 min,冷却至室温,补足减失的重量,经 0.45 μm 滤膜过滤即得。

6.2 高效液相色谱仪参考条件

高效液相色谱仪参考条件如下:

- a) 色谱柱:Eclipse Plus C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm),或性能相当的色谱柱;
- b) 流动相:甲醇+0.5%冰醋酸=70+30(V+V);
- c) 流速:1.0 mL/min;
- d) 柱温:25 ℃;
- e) 检测波长:315 nm;
- f) 进样量:20 μL。

6.3 校准曲线的绘制

分别取标准储备溶液(4.4)0.1 mL、0.5 mL、1.0 mL、2.0 mL、5.0 mL 用一级水定容至 100 mL,制得浓度分别为 1.0 μg/mL、5.0 μg/mL、10.0 μg/mL、20.0 μg/mL、50.0 μg/mL 的标准工作溶液。取各级标准工作溶液注入高效液相色谱仪,以峰面积与溶液浓度绘制校准曲线。马兜铃酸 A 标准溶液液相色谱图参见附录 B 中的图 B.1。

6.4 样品测定

取样品溶液(6.1)注入高效液相色谱仪,根据峰的保留时间和紫外光谱图定性。记录色谱峰面积,从校准曲线上获得对应的马兜铃酸 A 质量浓度。

6.5 定性确认

液相色谱仪对样品进行定性测定,进行样品测定时,如果检出的马兜铃酸 A 的色谱峰的保留时间与标准物质一致,并且在扣除背景后的样品色谱图,该物质的紫外吸收图谱与标准物质的紫外吸收图谱相一致,则可初步确认存在马兜铃酸 A。必要时,阳性样品需用液相色谱-质谱进行确认试验,确认试验参见附录 C。

6.6 空白试验

除不称取试样外,均按上述步骤进行。

6.7 平行试验

按以上步骤,对同一试样进行平行试验测定。



7 结果计算

试样中马兜铃酸 A 的含量由色谱数据处理器或按式(1)计算:

$$X = \frac{C \times V}{m} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

X ——试样中马兜铃酸 A 的含量，单位为微克每克($\mu\text{g/g}$)；

C ——校准曲线查出测试溶液中马兜铃酸 A 的质量浓度，单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$)；

V ——试样定容体积，单位为毫升(mL)；

m ——试样的质量，单位为克(g)。

8 回收率与精密度

在添加浓度为 $15\ \mu\text{g/g} \sim 100\ \mu\text{g/g}$ 的范围内，回收率在 $89\% \sim 106\%$ 之间，相对标准偏差小于 6% 。

9 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% 。

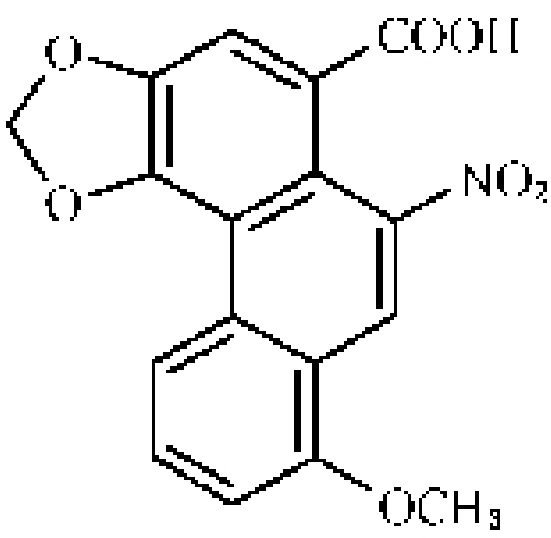


附 录 A
(资料性附录)

标准物质的中文名称、CAS 号、分子式、相对分子质量、化学结构式

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

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

中文名称	CAS 号	分子式	相对分子质量	化学结构式
马兜铃酸 A	313-67-7	$C_{17}H_{11}NO_7$	341.27	



附 录 B
(资料性附录)
马兜铃酸 A 标准溶液液相色谱图

马兜铃酸 A 标准溶液液相色谱图参见图 B.1。

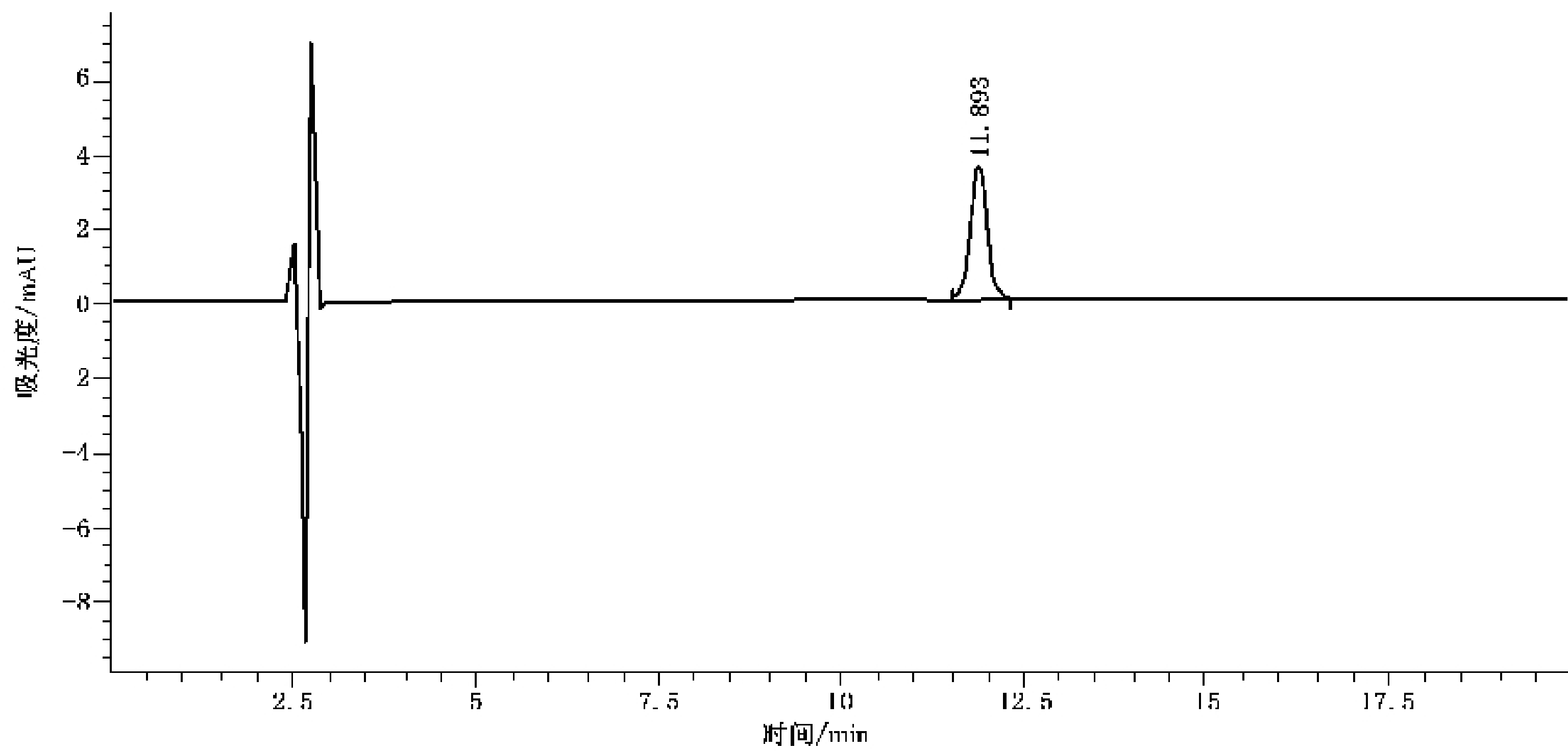


图 B.1 马兜铃酸 A 标准溶液液相色谱图



附 录 C
(资料性附录)
确认试验

C.1 液相色谱参考条件

液相色谱参考条件如下：

- a) 色谱柱：Eclipse Plus C₁₈ (150 mm×2.1 mm ,1.8 μm),或性能相当的色谱柱；
- b) 流动相：5 mmol/L 乙酸铵溶液(用氨水调节 pH 至 7.5)－乙腈＝75－25(体积比)；
- c) 流速：0.2 mL/min；
- d) 柱温：30 ℃；
- e) 进样量：5 μL。

C.2 质谱参考条件

质谱参考条件如下：

- a) 离子源：电喷雾离子源(ESI)；
- b) 离子化模式：正离子模式；
- c) 干燥气温度：350 ℃；
- d) 干燥气流量：10 L/min；
- e) 鞘气温度：300 ℃；
- f) 鞘气流量：7 L/min；
- g) 毛细管电压：4 000 V；
- h) 数据采集：多反应监测(MRM)模式。

C.3 定性测定

进行试样测试时，将样品溶液适当稀释，按液相色谱-质谱条件测定样液和标准工作溶液，如果选择的离子均出现，而且所选择离子比与标准物质的相对丰度一致，允许偏差不超过表 C.1 规定的范围，则可判断样品中含马兜铃酸 A。马兜铃酸 A 的选择离子质量色谱图参见图 C.1。

表 C.1 马兜铃酸 A 的质谱分析参数

化合物	定量离子对 <i>m/z</i>	定性离子对 <i>m/z</i>	各离子对碰撞电压 V	相对离子丰度 %	允许相对偏差 %
马兜铃酸 A	359.1/298.0	359.1/296.0	4	100,70.9	±20

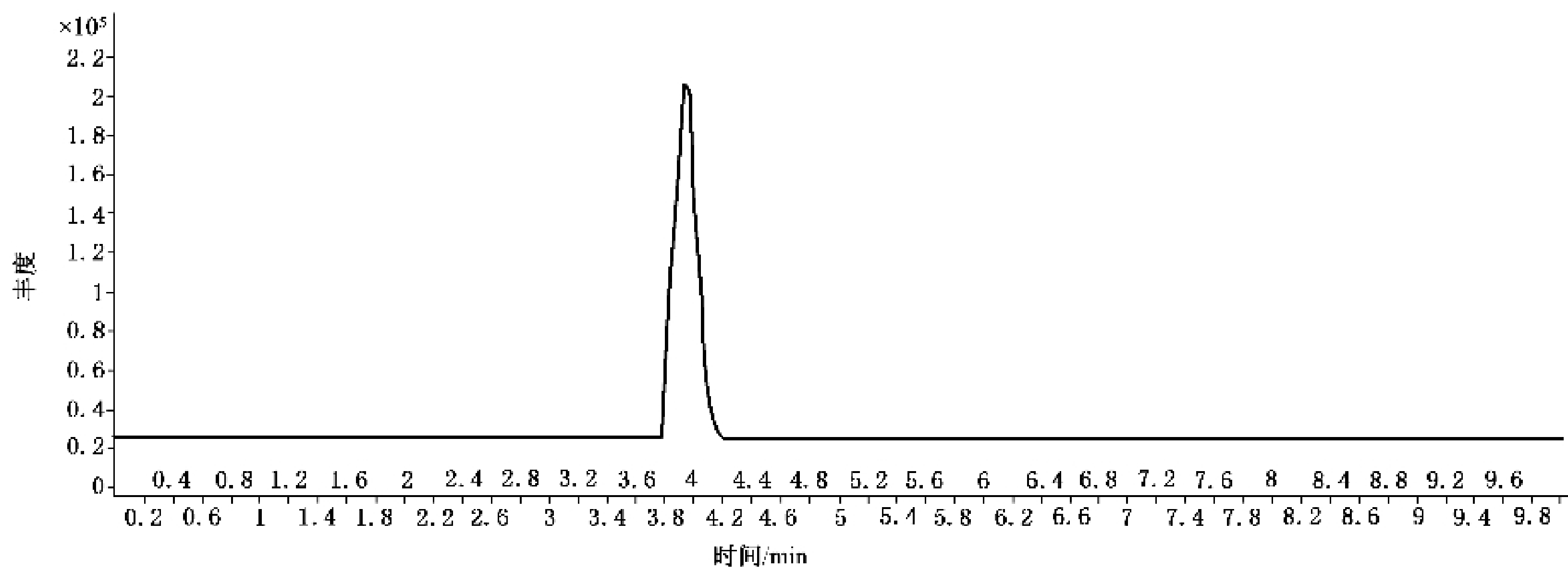


图 C.1 马兜铃酸 A 的选择离子质量色谱图
