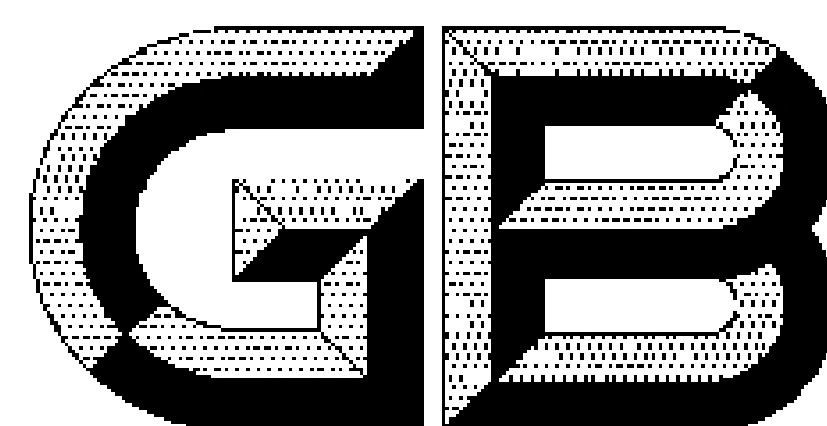




中华人民共和国国家标准

GB/T 37644—2019

化妆品中 8-羟基喹啉和硝基喹啉的测定 高效液相色谱法

Determination of oxyquinoline and nitroquinoline in cosmetics—
High performance liquid chromatography

2019-06-04 发布

2020-01-01 实施

国家市场监督管理总局 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：苏州世谱检测技术有限公司、扬州完美日用品有限公司、江苏隆力奇生物科技股份有限公司、上海市日用化学工业研究所、广州华鑫检测技术有限公司、广州质量监督检测研究院、上海中华药业南通有限公司、欧诗漫生物股份有限公司、苏州市食品药品监督管理局、苏州市药品检验检测研究中心、浙江方圆检测集团股份有限公司、苏州质量检测科学研究院、河北省食品检验研究院、江苏省产品质量监督检验研究院、江苏省食品药品监督检验研究院、无限极(中国)有限公司。

本标准主要起草人：张征、刘冬虹、童艳、代丹、黄宏霞、周建青、王莉、褚叶果、廖华勇、陈卫、沈敏、赵永国、张丽华、陆小宇、金家骅、杨安全、章芳、张岩、康薇、范素芳、叶竹洪、濮鑫、梁明、王斌、黄金凤、黄宇峰、寻知庆、冼燕萍、施兵、刘群林、支紫锦、朱燕、侯向昶、吴玉銮、郭新东、卢剑、孙红梅。

引 言

本标准的被测物质硝羟喹啉是我国《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,本标准仅对化妆品中测定这些物质提供检测方法。



化妆品中 8-羟基喹啉和硝羟喹啉的测定 高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了化妆品中 8-羟基喹啉和硝羟喹啉的高效液相色谱测定方法的原理、试剂和材料、仪器设备、试验步骤、结果计算、回收率与精密度、允许差等内容。

本标准适用于化妆品中 8-羟基喹啉和硝羟喹啉的测定。

本标准的方法检出限和定量限：化妆品（蜡基、粉类除外）：8-羟基喹啉和硝羟喹啉的检出限为 1.5 mg/kg，定量限为 5.0 mg/kg；蜡基和粉类化妆品：8-羟基喹啉和硝羟喹啉检出限为 3.0 mg/kg，定量限为 10.0 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 原理

试样中的 8-羟基喹啉和硝羟喹啉经溶剂超声提取后，用配有二极管阵列检测器的高效液相色谱仪测定，保留时间和光谱图定性，外标法定量。高效液相色谱-质谱/质谱法定性确证。

4 试剂和材料

4.1 水：GB/T 6682 规定的一级水。

4.2 甲醇：色谱纯。

4.3 乙腈：色谱纯。

4.4 甲酸：色谱纯。

4.5 磷酸：分析纯。

4.6 辛烷磺酸钠：分析纯。

4.7 标准物质：纯度不小于 98%。8-羟基喹啉和硝羟喹啉的中文名称、INCI 名称（国际化妆品原料名称）/英文名称、CAS 号、分子式、相对分子质量及结构式参见附录 A 中的表 A.1。

4.8 0.01 mol/L 辛烷磺酸钠溶液：称取 1.08 g 辛烷磺酸钠（4.6），用水稀释至 500 mL，用磷酸（4.5）调节 pH 至 2.5。

4.9 磷酸水溶液：移取适量水，用磷酸（4.5）调节 pH 至 2.5。

4.10 甲醇-0.01 mol/L 辛烷磺酸钠溶液：甲醇+0.01 mol/L 辛烷磺酸钠溶液=7+3（体积比）。

4.11 甲酸-乙腈溶液：甲酸+乙腈=1+99（体积比）。

4.12 甲醇-磷酸水溶液：甲醇+磷酸水溶液=7+3（体积比）。

4.13 混合标准工作溶液：准确称取标准物质（4.7）10.0 mg（精确至 0.1 mg），用甲醇-0.01 mol/L 辛烷磺酸钠溶液（4.10）溶解并定容至 10 mL，得到标准储备溶液（ $\rho=1\,000.0$ mg/L，于 4℃避光保存，可保存 2 个月）。分别移取适量标准储备溶液，用甲醇-0.01 mol/L 辛烷磺酸钠溶液（4.10）逐级稀释成质量

浓度分别为 0.2 μg/mL、0.5 μg/mL、2.0 μg/mL、10.0 μg/mL、50.0 μg/mL 和 100.0 μg/mL 的系列混合标准工作溶液(现配现用)。

4.14 滤膜:孔径为 0.22 μm 的有机过滤膜。

5 仪器设备

实验室常规设备,及下列仪器:

- a) 高效液相色谱仪:配二极管阵列检测器;
- b) 液相色谱-三重四级杆质谱联用仪;
- c) 分析天平:感量 0.1 mg 和 0.001 g;
- d) 涡旋振荡器;
- e) 超声波清洗仪:超声功率 250 W;
- f) 离心机:转速不低于 4 000 r/min;
- g) 氮吹仪。

6 试验步骤

6.1 试样处理

6.1.1 化妆品(粉类除外)

称取试样 0.1 g~0.2 g(其中蜡基类 0.1 g,其他类化妆品 0.2 g,精确至 0.001 g)于 15 mL 具塞塑料离心管中,加甲酸-乙腈溶液(4.11)至 5.0 mL;蜡基类样品置于 70 ℃水浴中至试样熔融。然后,涡旋振荡 2 min,超声提取 15 min,4 000 r/min 离心 3 min,取 1.0 mL 上清液 40 ℃氮吹至干,用 1.0 mL 甲醇-0.01 mol/L 辛烷磺酸钠溶液(4.10)复溶,涡旋混匀,过 0.45 μm 滤膜,待测。

6.1.2 粉类化妆品

称取试样 0.1 g(精确至 0.001 g)于 15 mL 具塞塑料离心管中,加甲醇-磷酸水溶液(4.12)至 5 mL,涡旋振荡 2 min,超声提取 15 min,4 000 r/min 离心 5 min,取上层清液过 0.45 μm 滤膜,待测。

6.2 测定条件

高效液相色谱参考条件如下:

- a) 色谱柱:C₁₈,250 mm × 4.6 mm(内径),5 μm,或相当者;
- b) 流动相:A 为甲醇,B 为 0.01 mol/L 辛烷磺酸钠溶液(4.8),梯度洗脱程序见表 1;
- c) 流速:1.0 mL/min;
- d) 柱温:30 ℃;
- e) 检测波长:240 nm;
- f) 进样量:20 μL。

表 1 梯度洗脱程序

时间/min	A/%	B/%
0.0	50	50
6.0	80	20
7.0	90	10
10.0	90	10



表 1 (续)

时间/min	A/%	B/%
10.1	50	50
18.0	50	50

6.3 标准工作曲线绘制

按 6.2 测定条件对系列混合标准工作溶液(4.13)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。

8-羟基喹啉和硝羟喹啉标准溶液的高效液相色谱图参见附录 B 中的图 B.1。

6.4 试样测定

按 6.2 测定条件对试样溶液进行测定,试样溶液中的被测物根据保留时间和光谱图定性。由试样溶液的峰面积,从标准曲线上查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,超出线性范围的试样溶液需用甲醇-0.01 mol/L 辛烷磺酸钠溶液(4.10)稀释后再测定。需要时,用高效液相色谱-质谱/质谱法进行确证试验参见附录 C。

6.5 空白试验

除不加入试样外,均按 6.1~6.2 进行测定。

7 结果计算



试样中 8-羟基喹啉和硝羟喹啉的含量按式(1)计算。

$$w = \frac{(\rho - \rho_0) \times V \times 1\,000}{m \times 1\,000}$$

.....(1)

式中:

- w ——试样中 8-羟基喹啉和硝羟喹啉的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);
 - ρ ——试样溶液中 8-羟基喹啉和硝羟喹啉峰面积对应的质量浓度,单位为微克每毫升(μg/mL);
 - ρ₀ ——空白试验中 8-羟基喹啉和硝羟喹啉的质量浓度,单位为微克每毫升(μg/mL);
 - V ——试样最终定容体积,单位为毫升(mL);
 - m ——试样质量,单位为克(g)。
- 计算结果精确至小数点后一位数字。

8 回收率与精密度

除蜡基类和粉类外的化妆品中,8-羟基喹啉和硝羟喹啉在添加浓度为 5.0 mg/kg~50.0 mg/kg 范围内,回收率在 80%~110%之间,相对标准偏差小于 10%。

蜡基类和粉类化妆品中,8-羟基喹啉和硝羟喹啉在添加浓度为 10.0 mg/kg~100.0 mg/kg 范围内,回收率在 80%~110%之间,相对标准偏差小于 10%。

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得超过算术平均值的 10%。

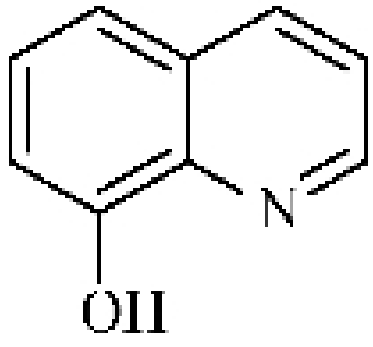
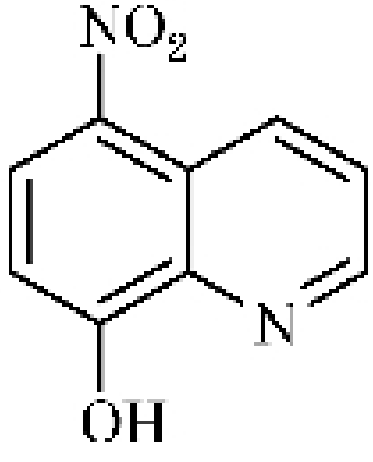
附 录 A

(资料性附录)

8-羟基喹啉和硝基喹啉标准物质的信息

8-羟基喹啉和硝基喹啉的中文名称、INCI 名称(国际化妆品原料名称)/英文名称、CAS 号、分子式、相对分子质量及结构式参见表 A.1。

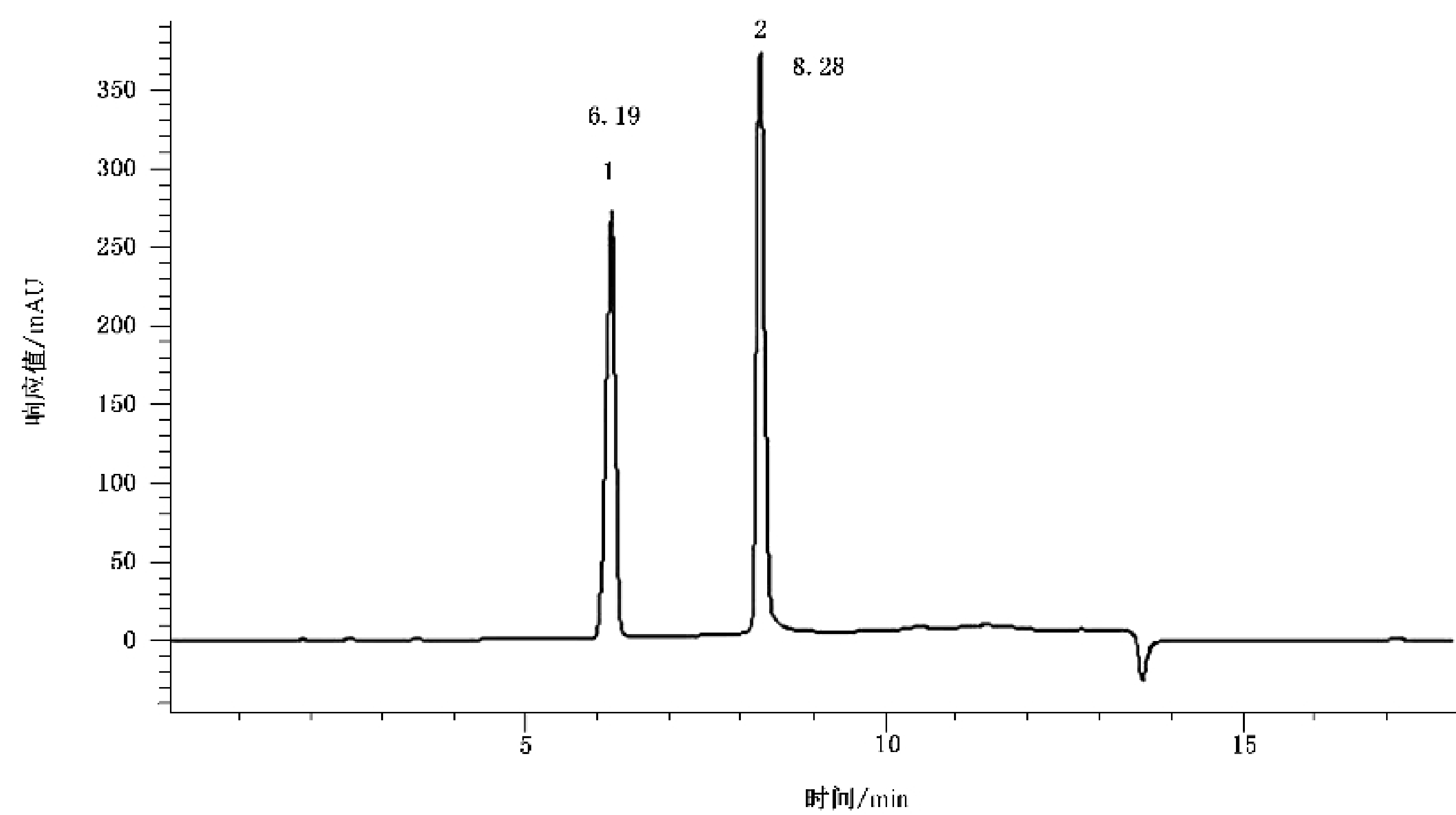
表 A.1 8-羟基喹啉和硝基喹啉的中文名称、INCI 名称/英文名称、CAS 号、分子式、
相对分子质量及结构式

中文名称	INCI 名称	英文名称	CAS 号	分子式	相对分子质量	结构式
8-羟基喹啉	Oxyquinoline	Quinolin-8-ol	148-24-3	C_9H_7NO	145.2	
硝基喹啉	—	Nitroxoline	4008-48-4	$C_9H_6N_2O_3$	190.2	

附 录 B
(资料性附录)

8-羟基喹啉和硝羟喹啉标准溶液的高效液相色谱图

8-羟基喹啉和硝羟喹啉标准溶液的高效液相色谱图参见图 B.1。



说明：
1——8-羟基喹啉；
2——硝羟喹啉。

图 B.1 8-羟基喹啉和硝羟喹啉标准溶液的高效液相色谱图

附 录 C
(资料性附录)
确 证 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： C_{18} 柱，150 mm×2.1 mm(内径)，1.7 μm ；
- b) 流动相：A 为 10 mmol 乙酸铵水溶液(含 0.1%甲酸)，B 为乙腈(含 0.1%甲酸)，梯度洗脱程序参见表 C.1；
- c) 流速：0.3 mL/min；
- d) 柱温：30 $^{\circ}\text{C}$ ；
- e) 进样量：5 μL 。

表 C.1 梯度洗脱程序

时间/min	A/%	B/%
0.0	80	20
2.0	10	90
4.0	10	90
4.1	80	20
6.0	80	20

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) 扫描方式：正离子扫描；
- c) 电喷雾电压：4 000 V；
- d) 离子源温度：500 $^{\circ}\text{C}$ ；
- e) 气帘气：氮气，0.207 MPa；
- f) 碰撞气：氮气，0.055 MPa；
- g) 检测方式：多反应监测(MRM)。

8-羟基喹啉和硝羟喹啉的保留时间、定量离子对、定性离子对、去簇电压和碰撞电压参见表 C.2。

表 C.2 8-羟基喹啉和硝羟喹啉的质谱 MRM 模式优化参数

目标物	保留时间/ min	定量离子对 m/z	定性离子对 m/z	去簇电压/V	碰撞电压/V
8-羟基喹啉	1.66	146.0/128.0	146.0/117.0	80	20, 24
硝羟喹啉	2.53	190.8/145.0	190.8/117.0	80	28, 44

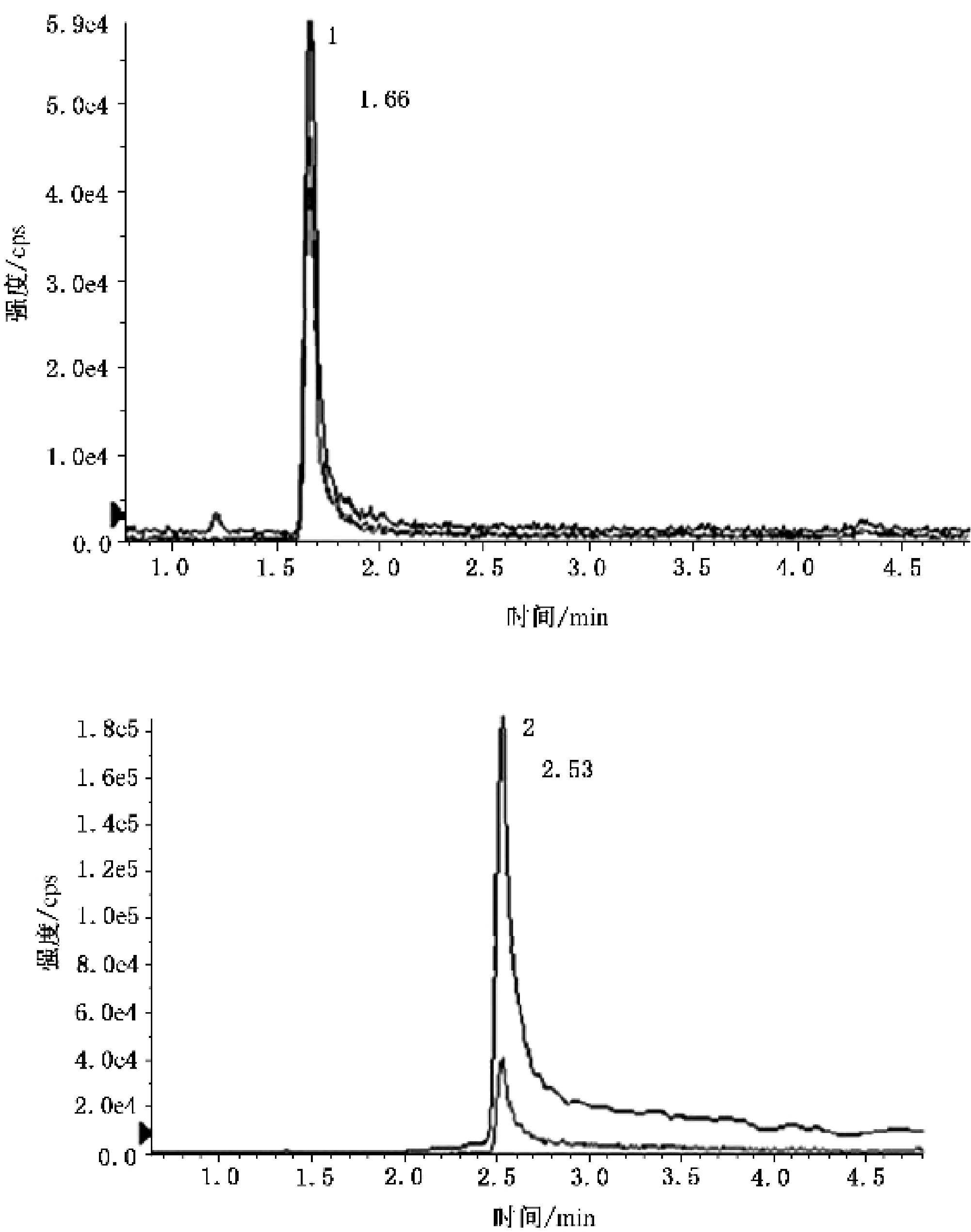
C.3 定性测定

进行试样测定时,将样液适当稀释,按液相色谱-质谱/质谱条件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相一致,并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,相对偏差不超过表 C.3 规定的范围,则可判断样品中存在 8-羟基喹啉或硝羟喹啉。

表 C.3 定性确证时相对离子丰度的允许偏差

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

8-羟基喹啉和硝羟喹啉标准品的提取离子色谱图参见图 C.1。



说明：
1——8-羟基喹啉；
2——硝羟喹啉。

图 C.1 8-羟基喹啉和硝羟喹啉标准品的提取离子色谱图