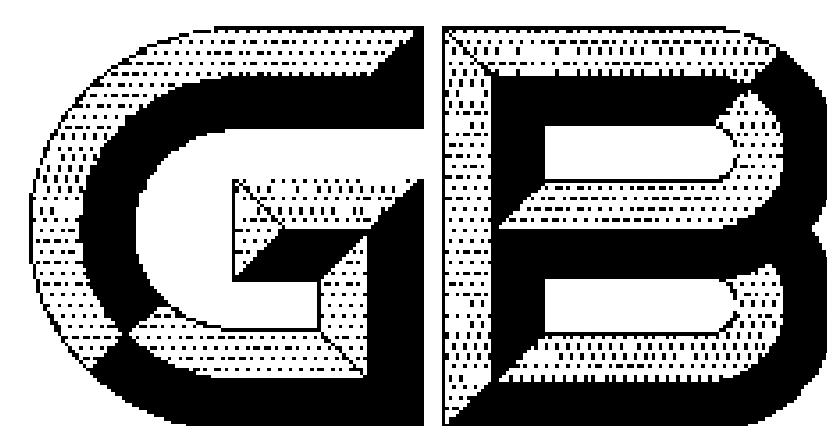




中华人民共和国国家标准

GB/T 35826—2018

护肤化妆品中禁用物质 乐杀螨和克螨特的测定

Determination of prohibited binapacryl and propargite in skin care cosmetics

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
中国国家标准化管理委员会 发布

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：上海市质量监督检验技术研究院(国家保洁产品质量监督检验中心)、上海市日用化学工业研究所。

本标准主要起草人：顾宇翔、虞成华、熊薇、杜高斐、沈敏、周泽琳、周静、戴彦韵、于单、康薇。



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。

护肤化妆品中禁用物质 乐杀螨和克螨特的测定

1 范围

本标准规定了护肤化妆品中禁用物质乐杀螨和克螨特的高效液相色谱和气相色谱-质谱测定方法。
本标准适用于膏霜、乳液、水类化妆品中乐杀螨和克螨特的测定。

本标准高效液相色谱法对于乐杀螨和克螨特检出限分别为 7 mg/kg、16 mg/kg,定量下限分别为 20 mg/kg、50 mg/kg;使用固相萃取时乐杀螨和克螨特检出限分别为 3.5 mg/kg、8 mg/kg;定量下限分别为 10 mg/kg、25 mg/kg。本标准气相色谱-质谱法对于乐杀螨和克螨特检出限均为 2 mg/kg,定量下限均为 6 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

3.1 原理

试样经乙腈涡旋振荡,超声提取,离心沉淀,分离过滤,固相萃取去除杂质。采用反相高效液相色谱分离,二极管阵列检测器检测,外标法定量。

3.2 试剂和材料

除非另有规定,所用试剂均为分析纯,水为 GB/T 6682 规定的二级水。

3.2.1 乙腈:色谱纯。

3.2.2 正己烷。

3.2.3 丙酮。

3.2.4 5%丙酮-正己烷溶液(体积比)。

3.2.5 Florosil 粉末。

3.2.6 乐杀螨和克螨特标准品:纯度不小于 95%,中文名称、英文名称、INCI 名称、CAS 号、分子式、相对分子质量和结构式参见附录 A 中表 A.1。

3.2.7 乐杀螨和克螨特标准储备液:准确称取乐杀螨和克螨特标准品各 20 mg(精确到 0.1 mg)于 100 mL 的容量瓶中,用乙腈(3.2.1)溶解并定容至刻度。即得乐杀螨和克螨特溶液浓度为 200.0 μg/mL 的标准储备液。冰箱冷藏保存。

3.2.8 标准工作溶液:用乙腈(3.2.1)将上述标准储备液(3.2.7)分别配成一系列浓度 0 μg/mL、1 μg/mL、5 μg/mL、20 μg/mL、50 μg/mL、100 μg/mL 的标准工作溶液,冰箱冷藏保存,可使用一个月。

3.3 仪器

3.3.1 高效液相色谱仪(二极管阵列检测器)。

3.3.2 分析天平:感量为 0.1 mg。

3.3.3 分析天平:感量为 0.001 g。

3.3.4 容量瓶:10 mL、50 mL 和 100 mL。

3.3.5 具塞离心刻度试管:25 mL。

3.3.6 超声振荡器。

3.3.7 离心机:转速 $\geq 8\,000$ r/min。

3.3.8 滤膜:孔径 0.22 μm 。

3.3.9 涡旋振荡器。

3.3.10 Florosil 固相萃取小柱:6 mL。

3.3.11 氮吹装置。

3.3.12 移液管或移液器:1 mL 和 5 mL。

3.4 测定步骤

3.4.1 水类化妆品提取和净化

称取样品 1 g(精确至 0.001 g)于 25 mL 具塞刻度离心管中,加入乙腈(3.2.1)至近 10 mL,漩涡振荡 0.5 min 混匀,定容至 10 mL。水浴中超声提取 15 min,8 000 r/min 离心分离 3 min。在上清液中加入 1 g Florosil 粉末(3.2.5),漩涡振荡 1 min 混匀,8 000 r/min 离心分离 3 min,上清液经 0.22 μm 滤膜过滤检测。

3.4.2 膏霜、乳液类化妆品提取和净化

称取样品 1 g(精确至 0.001 g)于 25 mL 具塞刻度离心管中,加入正己烷(3.2.2)至近 10 mL,漩涡振荡 0.5 min 混匀,定容至 10 mL。水浴中超声提取 15 min,8 000 r/min 离心分离 3 min。将 Florosil 固相萃取柱先用 5 mL 正己烷(3.2.2)活化,然后取离心后的样品上清液 2 mL 加入小柱(如上清液较为浑浊,可以提高离心速度或用滤膜过滤后再上样)。上样结束后用 5 mL 正己烷(3.2.2)洗涤,然后用 5 mL 5%丙酮-正己烷溶液(3.2.4)洗脱,收集洗脱液常温氮吹至干,准确取用 1 mL 乙腈(3.2.1)溶解并超声助溶,经 0.22 μm 滤膜过滤。上述过程的流速均控制在 1 mL/min 以下。

3.4.3 测定条件

高效液相色谱测定参考条件如下:

- a) 色谱柱规格: C_{18} 色谱柱,250 mm $\times$ 4.6 mm(粒径 5 μm),或相当者;
- b) 流动相:乙腈(3.2.1):水=74:26(体积比);
- c) 柱温:30 $^{\circ}\text{C}$;
- d) 流速:1.0 mL/min;
- e) 进样量:10 μL ;
- f) 检测波长:224 nm。

3.4.4 标准工作曲线绘制

按 3.4.3 色谱条件检测。以标准系列溶液(0 $\mu\text{g/mL}$ 、1 $\mu\text{g/mL}$ 、5 $\mu\text{g/mL}$ 、20 $\mu\text{g/mL}$ 、50 $\mu\text{g/mL}$ 、100 $\mu\text{g/mL}$)的浓度为横坐标,对应的峰面积为纵坐标,进行线性回归得到标准曲线方程。

乐杀螨和克螨特标准品的 HPLC 色谱图参见附录 B 中的图 B.1。

3.4.5 测定

按 3.4.3 的色谱条件,取 3.4.1 或 3.4.2 步骤中滤液进样,得到试样溶液的峰面积,根据保留时间和二极管阵列的光谱图定性,乐杀螨和克螨特标准品的 DAD 光谱图见附录 B 中的图 B.2。从标准曲线上查得试样溶液中乐杀螨和克螨特的含量。必要时,克螨特阳性样品可用液相色谱-质谱进行确认试验,确认试验参见附录 C,乐杀螨阳性样品可用第 4 章气相色谱-质谱法进行确认试验。

试样溶液中乐杀螨和克螨特的响应值应在标准曲线线性范围内,超过线性范围则应将提取液稀释后测定或增加提取溶液的量重新检测。

3.4.6 空白试验

除不称取试样外,均按上述步骤进行。

3.4.7 平行试验

样品中的乐杀螨和克螨特含量应根据两次独立的平行试验结果的平均值确定。

3.5 结果计算

试样中乐杀螨或克螨特含量的计算按式(1)计算:

$$X = \frac{c \times V \times 1\,000}{m \times 1\,000} \times F \dots\dots\dots(1)$$

式中:

- X —— 试样中乐杀螨或克螨特的含量,单位为毫克每千克 (mg/kg);
- c —— 从标准曲线中得出的乐杀螨或克螨特浓度(应扣除空白值),单位为微克每毫升 (μg/mL);
- V —— 试样溶液的体积,单位为毫升 (mL);
- m —— 试样质量,单位为克 (g);
- F —— 不采用固相萃取时为 1,采用固相萃取时为 $\frac{1}{2}$ 。

计算结果保留 3 位有效数字。

3.6 回收率和精密度

乐杀螨在添加浓度为 40 mg/kg~942 mg/kg 的范围内,回收率在 82.6%~107.0%之间,相对标准偏差小于 10%。克螨特在添加浓度为 41.2 mg/kg~958 mg/kg 的范围内,回收率在 80.4%~105.9%之间,相对标准偏差小于 10%。

3.7 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得超过算术平均值的 10%。

4 气相色谱-质谱法

4.1 原理

试样经乙腈涡旋振荡,超声提取,离心沉淀,分离过滤。用气相色谱质谱联用仪进行测定,采用特征选择离子监测扫描模式(SIM),以碎片的丰度比定性,标准样品定量离子外标法定量。

4.2 试剂和材料

除非另有规定,所用试剂均为分析纯,水为 GB/T 6682 规定的二级水。

4.2.1 乙腈:色谱纯。

4.2.2 Florosil 粉末。

4.2.3 乐杀螨和克螨特标准品:纯度不小于 95%,中文名称、英文名称、INCI 名称、CAS 号、分子式、相对分子质量和结构式参见附录 A 中表 A.1。

4.2.4 乐杀螨和克螨特标准储备液:准确称取乐杀螨和克螨特标准品各 20 mg,精确到 0.1 mg,于 100 mL 的容量瓶中,用乙腈(4.2.1)溶解并定容至刻度。即得乐杀螨和克螨特溶液浓度为 200.0 $\mu\text{g/mL}$ 的标准储备液。冰箱冷藏保存。

4.2.5 标准工作溶液:用乙腈(4.2.1)将上述标准储备液(4.2.4)分别配成一系列浓度 0 $\mu\text{g/mL}$ 、0.6 $\mu\text{g/mL}$ 、1.0 $\mu\text{g/mL}$ 、2.0 $\mu\text{g/mL}$ 、3.0 $\mu\text{g/mL}$ 、4.0 $\mu\text{g/mL}$ 的标准工作溶液,冰箱冷藏保存,可使用一个月。

4.3 仪器

4.3.1 气相色谱质谱联用仪。

4.3.2 分析天平:感量为 0.1 mg。

4.3.3 分析天平:感量为 0.001 g。

4.3.4 容量瓶:10 mL,50 mL 和 100 mL。

4.3.5 具塞离心刻度试管:25 mL 或 50 mL。

4.3.6 超声振荡器。

4.3.7 离心机:转速 $\geq 8\,000\text{ r/min}$ 。

4.3.8 滤膜:孔径 0.22 μm 。

4.3.9 涡旋振荡器。

4.3.10 移液管或移液器:200 μL 、1 mL 和 5 mL。

4.4 测定步骤

4.4.1 提取与净化

同 3.4.1 和 3.4.2。

4.4.2 测定条件

气相色谱测定参考条件如下:

- 色谱柱规格:HP-5ms 色谱柱,30 m $\times$ 250 μm (粒径 0.25 μm),或相当者;
- 色谱柱升温程序:初始炉温 100 $^{\circ}\text{C}$,然后以 20 $^{\circ}\text{C/min}$ 程序升温至 230 $^{\circ}\text{C}$,再以 5 $^{\circ}\text{C/min}$ 升温至 280 $^{\circ}\text{C}$,保持 2 min,300 $^{\circ}\text{C}$ 后运行 3 min;
- 载气:氦气,纯度 $\geq 99.999\%$,流速 1.0 mL/min;
- 进样口温度:260 $^{\circ}\text{C}$;
- 进样量:1 μL ;
- 进样方式:无分流进样,1.5 min 后打开分流阀和隔垫吹扫阀。

质谱测定参考条件如下:

- 电子轰击源:70 eV;
- 离子源温度:230 $^{\circ}\text{C}$;

- c) GC-MS 接口温度:280 ℃;
- d) 扫描方式:特征选择离子监测 SIM(m/z);
- e) 乐杀螨 定量离子:83,定性离子:55;克螨特 定量离子:135,定性离子:173、350。

4.4.3 标准工作曲线绘制

按 4.4.2 仪器条件检测。以标准系列溶液(0 $\mu\text{g/mL}$ 、0.6 $\mu\text{g/mL}$ 、1.0 $\mu\text{g/mL}$ 、2.0 $\mu\text{g/mL}$ 、3.0 $\mu\text{g/mL}$ 、4.0 $\mu\text{g/mL}$)的浓度为横坐标,对应的峰面积为纵坐标,进行线性回归得到标准曲线方程。
乐杀螨和克螨特标准品的选择离子监测(SIM)色谱图和质谱图参见附录 D 中的图 D.1 和图 D.2。

4.4.4 定性确证

在 4.4.2 仪器条件下,试样待测液和标准品的选择离子色谱峰在相同保留时间处($\pm 0.5\%$)出现,并且对应质谱碎片离子的质荷比与标准品一致,其丰度比与标准品相比应符合表 1 的规定,则判断样品中存在相关目标化合物。

表 1 定性离子相对丰度的最大允许偏差

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

4.4.5 定量分析

本标准采用外标校准曲线法定量测定。以乐杀螨和克螨特的标准溶液浓度为横坐标,各自的定量离子的峰面积为纵坐标,做标准曲线线性回归方程,以试样的峰面积与标准曲线比较定量。
试样溶液中乐杀螨和克螨特的响应值应在标准曲线线性范围内,超过线性范围则应将提取液稀释后测定或增加提取溶液的量重新检测。

4.4.6 空白试验

除不称取试样外,均按上述步骤进行。

4.4.7 平行试验

样品中的乐杀螨和克螨特含量应根据两次独立的平行试验结果的平均值确定。

4.5 结果计算

试样中乐杀螨或克螨特含量的计算按式(1)计算:

$$X = \frac{c \times V \times 1\,000}{m \times 1\,000} \times F \dots\dots\dots (2)$$

式中:
X —— 试样中乐杀螨或克螨特的含量,单位为毫克每千克 (mg/kg);
c —— 从标准曲线中得出的乐杀螨或克螨特的浓度(应扣除空白值),单位为微克每毫升 ($\mu\text{g/mL}$);
V —— 试样溶液的体积,单位为毫升 (mL);
m —— 试样质量,单位为克 (g);
F —— 不采用固相萃取时为 1,采用固相萃取时为 $\frac{1}{2}$ 。

计算结果保留 3 位有效数字。

4.6 回收率和精密度

乐杀螨在添加浓度为 6.0 mg/kg~40.0 mg/kg 的范围内,回收率在 76.2%~93.1%之间,相对标准偏差小于 10%。克螨特在添加浓度为 6.0 mg/kg~40.0 mg/kg 的范围内,回收率在 77.2%~95.0%之间,相对标准偏差小于 10%。

4.7 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得超过算术平均值的 10%。

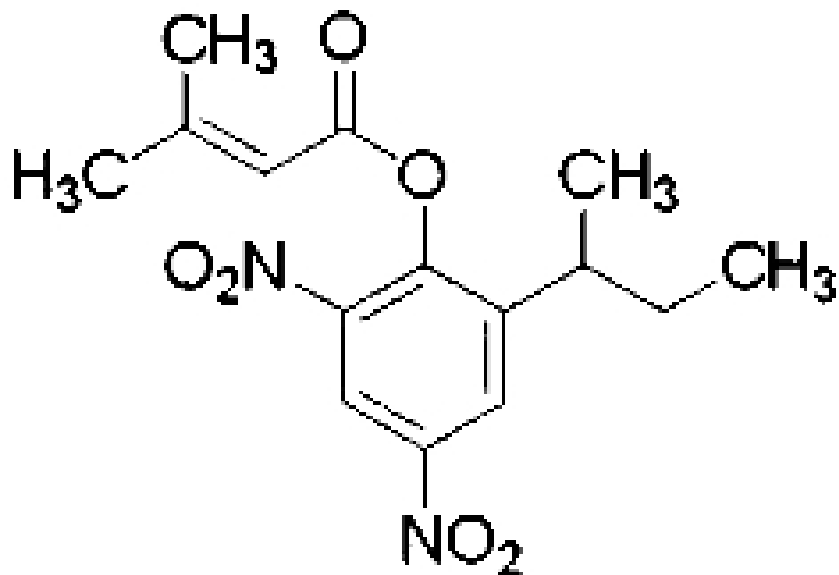
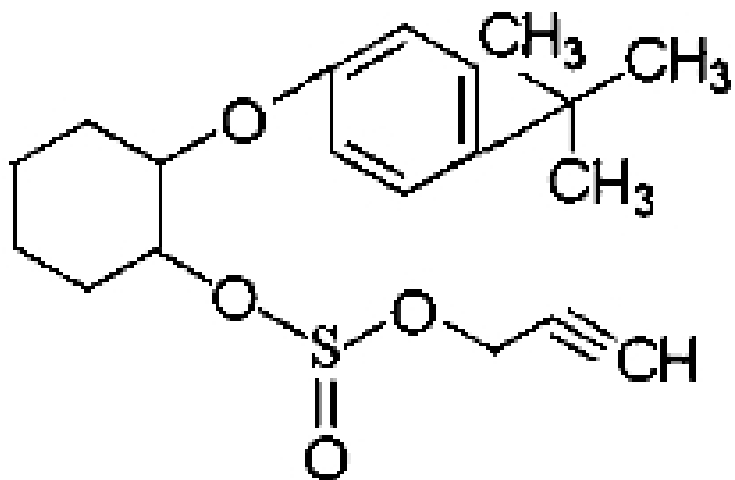


附 录 A
(资料性附录)

乐杀螨和克螨特的中文名称、英文名称、INCI 名称、CAS 号、分子式、相对分子质量和结构式

乐杀螨和克螨特的中文名称、英文名称、INCI 名称、CAS 号、分子式、相对分子质量和结构式见表 A.1。

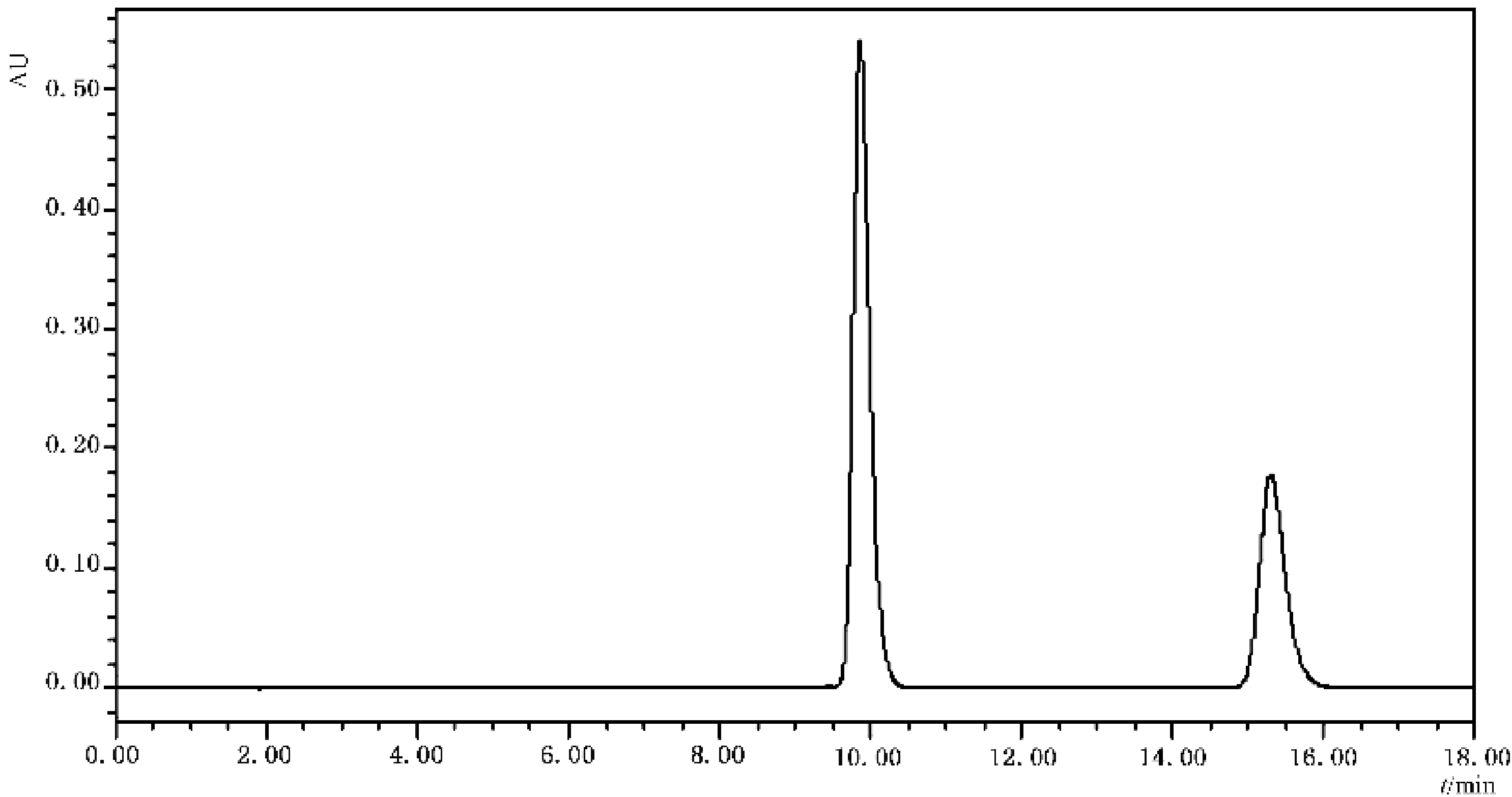
表 A.1 乐杀螨和克螨特的中文名称、英文名称、INCI 名称、CAS 号、分子式、相对分子质量和结构式

中文名称	乐杀螨	克螨特
英文名称	2-sec-butyl-4,6-dinitrophenyl 3-methyl-2-butenolate	2-(4-tert-Butylphenoxy) cyclohexyl 2-propynyl sulfite
INCI 名称	binapacryl	propargite
CAS 号	485-31-4	2312-35-8
分子式	C ₁₅ H ₁₈ N ₂ O ₆	C ₁₉ H ₂₆ O ₄ S
相对分子质量	322.18	350.47
结构式		

附 录 B
(资料性附录)

乐杀螨和克螨特标准品 HPLC 色谱图和 DAD 光谱图

乐杀螨和克螨特标准品的 HPLC 色谱图见图 B.1,DAD 光谱图见图 B.2。



注：乐杀螨和克螨特参考保留时间分别为 9.9 min 和 15.3 min。

图 B.1 乐杀螨和克螨特标准品的 HPLC 色谱图

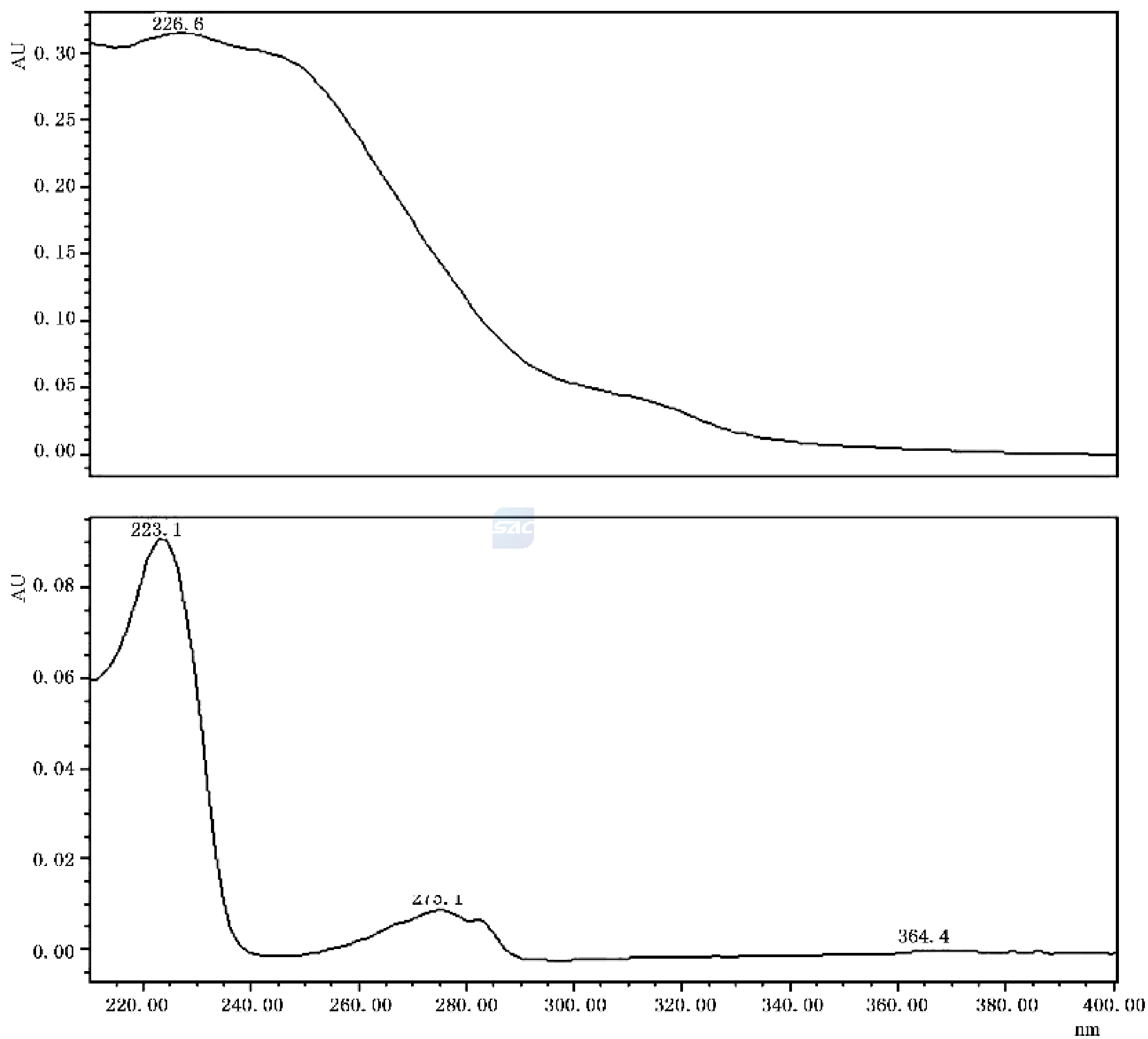


图 B.2 乐杀螨(上)和克螨特(下)标准品的 DAD 光谱图

附录 C
(资料性附录)
克螨特液相色谱-质谱确认试验

C.1 液相色谱条件

高效液相色谱测定参考条件如下：

- a) 色谱柱规格： C_{18} 色谱柱，100 mm×2.1 mm(粒径 3 μ m)，或相当者；
- b) 流动相：甲醇：含 0.1%甲酸的 2 mmol/L 乙酸铵溶液=80：20(体积比)；
- c) 柱温：30 $^{\circ}$ C；
- d) 流动相流速：0.3 mL/min；
- e) 进样量：10 μ L。

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，正离子；
- b) 毛细管电压：3.5 kV；
- c) 锥孔电压：30 V；
- d) 萃取电压：1.0 V；
- e) 射频透镜电压：0.5 V；
- f) 离子源温度：150 $^{\circ}$ C；
- g) 脱溶剂气：氮气，流速 850 L/h，温度 450 $^{\circ}$ C；
- h) 锥孔气：氮气，流速 45 L/h；
- i) 碰撞气：氩气；
- j) 扫描模式：多反应监测(MRM)，定性离子对、定量离子对、锥孔电压和碰撞气能量参见表 C.1。

表 C.1 克螨特的定性离子对、定量离子对、锥孔电压和碰撞气能量

中文名称	英文名称	定性离子对(m/z)	定量离子对(m/z)	锥孔电压/V	碰撞气能量/eV
克螨特	propargite	368.1>175.0	368.1>231.0	60	11,5

C.3 定性判定

被测物质组分选择合适的母离子和子离子，在相同实验条件下，样品中待测物质的保留时间与标准溶液中的标准物质的保留时间偏差在±2.5%以内；且样品图谱中各组分定性离子的相对丰度接近混合标准溶液图谱中对应的定性离子的相对丰度，若偏差不超过表 1 所规定的范围，则可判定样品中存在对应的待测物。

克螨特的多反应监测(MRM)质谱图参见图 C.1。

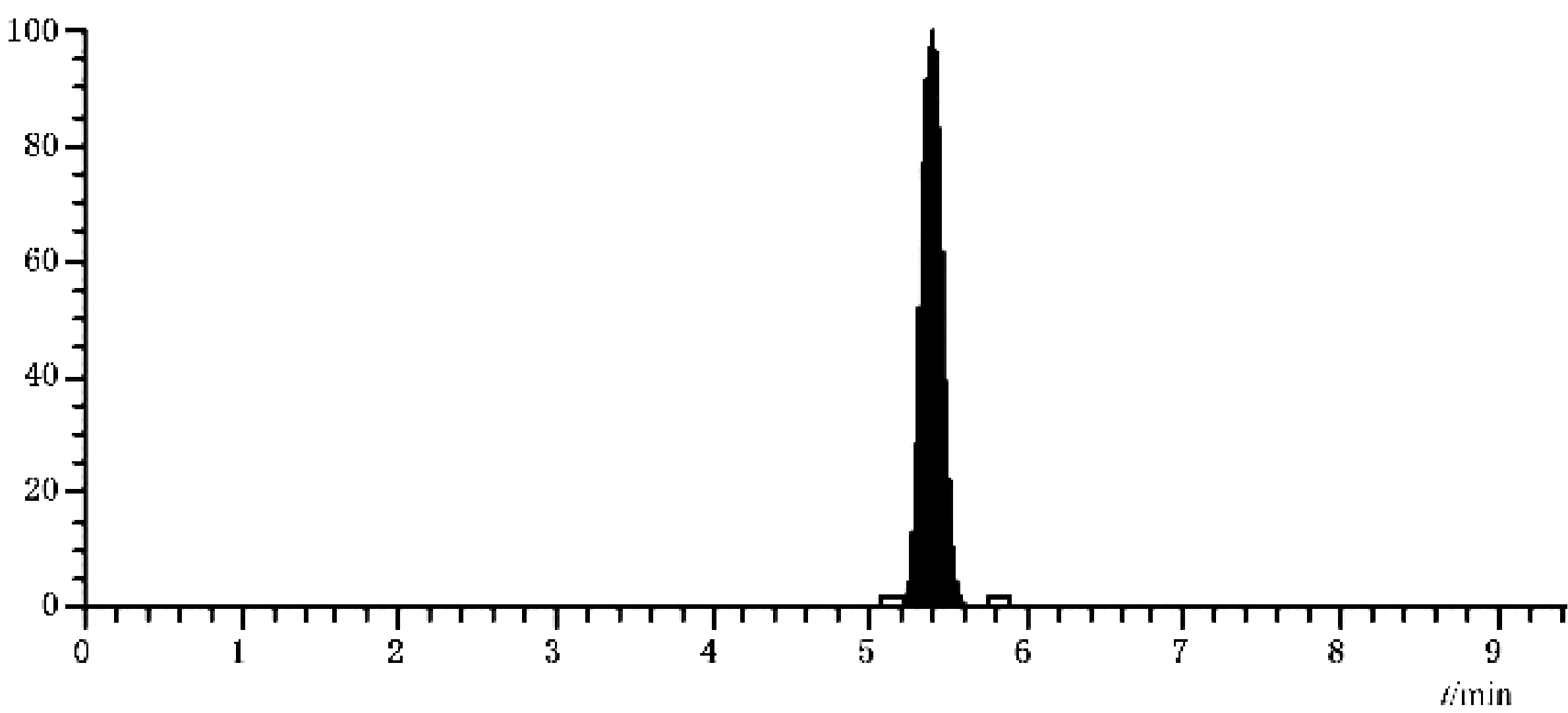


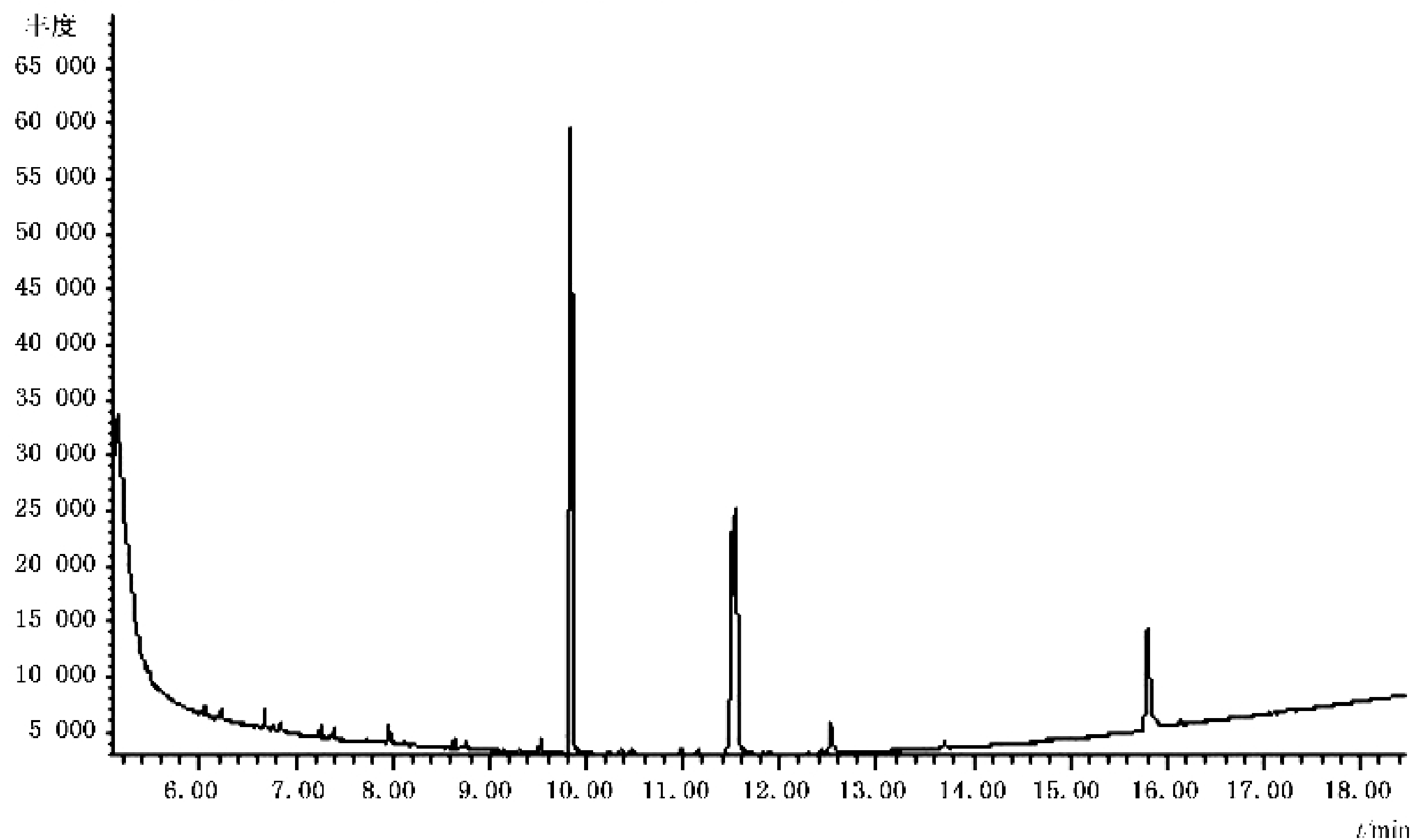
图 C.1 克螨特的多反应监测(MRM)质谱图



附 录 D
(资料性附录)

乐杀螨和克螨特标准品的选择离子监测(SIM)色谱图和质谱图

乐杀螨和克螨特标准品 GC 色谱图和质谱图见图 D.1 和图 D.2。



注：乐杀螨和克螨特参考保留时间分别为 9.96 min 和 11.66 min。

图 D.1 乐杀螨和克螨特标准品的选择离子监测(SIM)色谱图



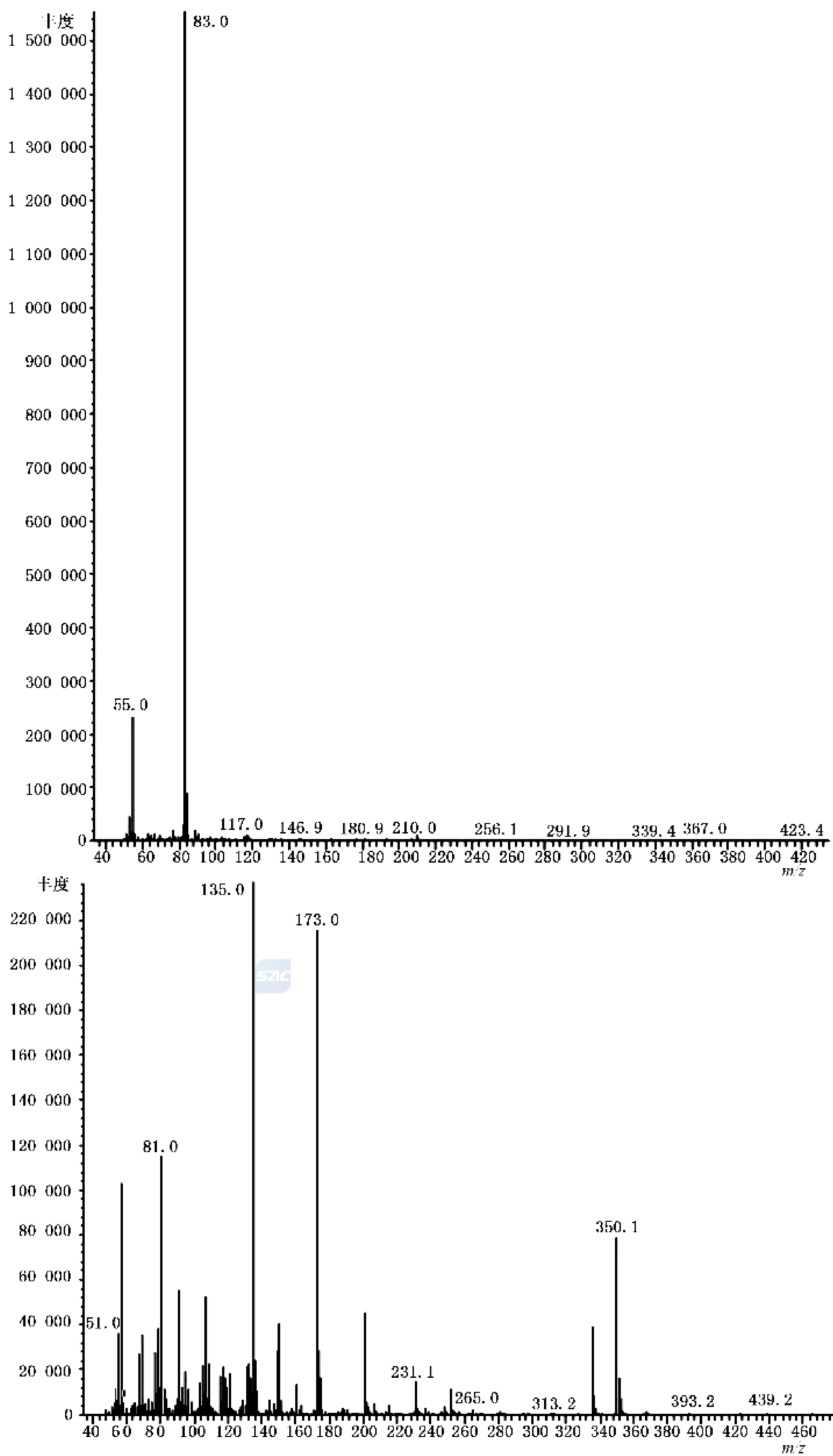


图 D.2 乐杀螨(上)和克螨特(下)标准品的质谱图