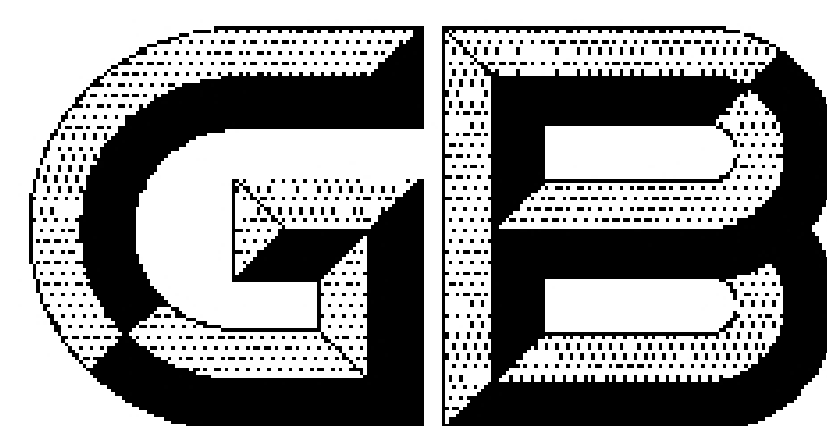




中华人民共和国国家标准

GB/T 35916—2018

化妆品中 16 种准用防晒剂和其他 8 种 紫外线吸收物质的测定 高效液相色谱法

Simultaneous determination of 16 kinds of permitted sunscreen agents
and other 8 kinds of ultraviolet absorbents in cosmetics—HPLC

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: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、曲宝成、边海涛、任国杰、戴学东、李鹏、勇艳华、胡侠、董广彬、沈敏、康薇。

引 言

本标准的被测物质苯基苯并咪唑磺酸、二苯酮-4、二苯酮-5、二苯酮-3、p-甲氧基肉桂酸异戊酯、4-甲基苄亚基樟脑、二乙氨基苯甲酰基苯甲酸己酯、奥克利林、PABA 乙基己酯、丁基甲氧基二苯甲酰基甲烷、甲氧基肉桂酸乙基己酯、水杨酸乙基己酯、胡莫柳酯、乙基己基三嗪酮、亚甲基双-苯并三唑基四甲基丁基酚、双-乙基己氧苯酚甲氧苯基三嗪等 16 种化合物是《化妆品安全技术规范(2015 版)》规定的化妆品准用防晒剂。



化妆品中 16 种准用防晒剂和其他 8 种
紫外线吸收物质的测定 高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了化妆品中 16 种准用防晒剂和其他 8 种紫外线吸收物质(见表 1)的高效液相色谱测定方法。

本标准适用于膏霜类、乳液类、水剂类、唇膏等蜡基类、指甲油类、粉类等化妆品。

本标准化妆品中 16 种准用防晒剂和其他 8 种紫外线吸收物质的检出限、定量限参见表 1。

表 1 方法的检出限和定量限

序号	中 文 名 称	检出限 mg/g	定量限 mg/g
1	对氨基苯甲酸(PABA)	0.17	0.50
2	苯基苯并咪唑磺酸(PBSA)	0.10	0.30
3	二苯酮-4 和二苯酮-5(Bp4/Bp5)	0.030	0.10
4	二苯酮-2(Bp2)	0.015	0.045
5	二苯酮-1(Bp1)	0.015	0.045
6	二苯酮-8(Bp8)	0.015	0.045
7	二苯酮-6(Bp6)	0.020	0.060
8	二苯酮-3 (Bp3)	0.030	0.10
9	二苯酮-7(Bp7)	0.10	0.30
10	二苯酮-10(Bp10)	0.015	0.045
11	p-甲氧基肉桂酸异戊酯(IAMC)	0.030	0.10
12	4-甲基苄亚基樟脑(4MBC)	0.030	0.10
13	二乙羟苯甲酰基苯甲酸己酯(DHHB)	0.030	0.10
14	奥克利林(OC)	0.10	0.30
15	PABA 乙基己酯(OD-PABA)	0.030	0.10
16	丁基甲氧基二苯甲酰基甲烷(BMDBM)	0.030	0.10
17	甲氧基肉桂酸乙基己酯(EHMC)	0.030	0.10
18	水杨酸乙基己酯(EHS)	0.10	0.30
19	胡莫柳酯(HMS)	0.10	0.30
20	二苯酮-12(Bp12)	0.030	0.10
21	乙基己基三嗪酮(EHT)	0.030	0.10
22	亚甲基双-苯并三唑基四甲基丁基酚(MBBT)	0.030	0.10
23	双-乙基己氧苯酚甲氧苯基三嗪(BEMT)	0.030	0.10

2 原理

样品经过提取后,用高效液相色谱法测定。以目标物的色谱保留时间和紫外光谱图与标准物质一致进行定性,以色谱峰的峰面积用标准曲线外标法进行定量计算。必要时,采用高效液相色谱-质谱方法(HPLC-MS/MS)进行确证。

3 试剂和材料

除非另有说明,所用试剂均为分析纯,水为去离子水。

3.1 标准物质中文名称、英文名称、CAS 号、分子式、分子结构式、相对分子质量、纯度参见附录 A 中表 A.1。

3.2 甲醇:色谱纯。

3.3 甲酸:色谱纯。

3.4 乙醇:色谱纯。

3.5 四氢呋喃:色谱纯。

3.6 氨水:色谱纯。

3.7 四氢呋喃。

3.8 甲醇。

3.9 氨水。

3.10 1%氨水氨化甲醇溶液:1 mL 氨水(3.6)与 99 mL 甲醇(3.2)混合。

3.11 四氢呋喃溶液(含 0.1%氨水):向 100 mL 四氢呋喃(3.7)中加入 100 μ L 氨水(3.9)制得。

3.12 甲醇水溶液(含 0.1%氨水):甲醇(3.8)和水按照 3+1(体积比)混合,取 100 mL 混合溶液加入 100 μ L 氨水(3.9)制得。

3.13 标准储备溶液:分别准确称取各标准物质 100 mg(精确至 0.1 mg)于棕色容量瓶中,苯基苯并咪唑磺酸用 1%氨水氨化甲醇溶液(3.10)溶解后定容至 10 mL,其他均用四氢呋喃(3.5)溶解后定容至 10 mL,配置成浓度为 10 mg/mL 的标准储备液于冷藏条件下保存,保存期限为 6 个月。

3.14 标准溶液的配制:准确移取标准储备液(3.13)各 200 μ L,用甲醇(3.2)定容至 10 mL,配置成 200 μ g/mL 的混合标准溶液,再用甲醇(3.2)逐级稀释配置 100 μ g/mL, 50 μ g/mL, 10 μ g/mL, 5 μ g/mL, 1 μ g/mL 的系列混合标准溶液,用于高效液相色谱法的标准曲线的绘制。系列标准溶液于冷藏条件下的保存期限为 1 个月。

注:对冷冻保存的标准储备液,使用前需放置至室温,若有析出需超声至析出重新复溶方可使用。

3.15 0.22 μ m 聚丙烯微孔滤膜针式过滤器(或其他性能相同的有机滤膜)。

4 仪器



4.1 高效液相色谱仪配置二极管阵列检测器。

4.2 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)。

4.3 分析天平:感量 0.000 1 g。

4.4 分析天平:感量 0.000 01 g。

4.5 漩涡混合器。

4.6 超声波清洗仪。

4.7 离心机:转速不小于 5 000 r/min。

4.8 移液枪或移液器。

5 测定步骤

5.1 样品预处理

称取约 0.1 g 化妆品样品(精确至 1 mg)于 15 mL 具塞刻度试管中(使用时应混匀的化妆品,取样时也应混匀后称量),首先向试管中加入 6 mL 四氢呋喃溶液(含 0.1%氨水)(3.11),涡旋或超声使样品完全分散。若不能分散,超声 5 min~15 min 至样品分散。对超声 15 min 仍无法分散的样品(例如唇膏样品),需用 60 ℃水浴,振荡加热约 1 min~2 min 即可溶解分散。继续向试管中加入甲醇水溶液(含 0.1%氨水)(3.12)定容至 10 mL,涡旋混合。于 5 000 r/min 离心 5 min~10 min,取清液,经 0.22 μm 聚丙烯微孔滤膜(或其他性能相同的有机滤膜)(3.15)过滤,待用。

注：因不同滤膜材料会对个别目标化合物有吸附作用从而影响其收率,建议使用前用混合标准溶液进行过膜测试,确证滤膜对所有目标物无吸附后方可使用。

当测定目标物为对氨基苯甲酸、苯基苯并咪唑磺酸时,取上述待用清液 100 μL 用 30%甲醇水溶液稀释至 1 mL,用聚丙烯微孔滤膜过滤后上机测试。其他目标化合物的检测视情况可适当稀释后上机测试,也可无需稀释,将上述待用清液直接上机测试。

5.2 液相色谱分析参考条件

液相色谱分析参考条件如下：

- a) 色谱柱:Poreshell EC-C₁₈,3.0 mm×50 mm,2.7 μm 或性能相当者;
- b) 柱温:35 ℃;
- c) 流动相:A 水溶液(含 0.1%甲酸),B 乙醇:甲醇=1:3(体积比);
- d) 流速:1.0 mL/min;
- e) 检测波长:二乙氨基苯甲酰基苯甲酸己酯和丁基甲氧基二苯甲酰基甲烷定量波长 360 nm,其他目标物 311 nm;
- f) 进样量:5 μL。液相色谱分离条件见表 2。

注：当测定目标物为对氨基苯甲酸、苯基苯并咪唑磺酸时,进样量减少为 2 μL,可有效避免色谱峰的溶剂效应,但注意计算时需要折算。

表 2 液相色谱分离条件

时间/min	A/%	B/%
0	90	10
1	80	20
2	48	52
5	32	68
5.1	25	75
10	25	75
10.5	0	100
14	0	100
14.1	90	10
15	90	10
注 1：若上述液相色谱条件下丁基甲氧基二苯甲酰基甲烷(BMDBM)(峰号 16)与甲氧基肉桂酸乙基己酯(EHMC)(峰号 17)分离度不满意,可将 5.1 min~10 min 的 75%有机相比比例降低至 73%并适当延长分离时间。		
注 2：色谱柱的内径和长度及色谱填料粒径可根据色谱分离情况自由选择。		

5.3 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,则可确认样品中存在该物质。标准物质液相色谱分离谱图参见附录 B 中图 B.1。必要时,阳性样品需用高效液相色谱-质谱方法(HPLC-MS/MS)进行确证,确证试验参见附录 C。

5.4 定量测定

移取系列标准溶液(3.14),按照液相色谱条件(5.2)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。样品溶液中目标物的含量,用标准曲线外标法确定。待测溶液中目标物的质量浓度应在校准曲线线性范围内,超过线性范围则应适当稀释后再进样分析。

5.5 结果计算

样品中目标物的含量按式(1)计算:

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

式中:

X ——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)。

注 1: 胡莫柳酯及其同分异构体的含量需合并计算作为胡莫柳酯的含量。

注 2: 二苯酮-5 是二苯酮-4 的钠盐形式,其含量以二苯酮-4 计。

计算结果保留 3 位有效数字。

5.6 平行实验

按以上步骤操作,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术平均值的 10%。

6 回收率和精密度

加标水平在 1.0 mg/g~20 mg/g 范围内,乙基己基三嗪酮和双乙基己氧苯酚甲氧苯基三嗪的回收率在 80%~90%之间,相对标准偏差小于 10%($n=6$)。其他 22 种目标物的回收率在 90%~105%之间,相对标准偏差小于 10%($n=6$)。

7 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)
标准物质中文名称、英文名称、CAS 号、分子式、分子结构式、相对分子质量、纯度

标准物质中文名称、英文名称、CAS 号、分子式、分子结构式、相对分子质量、纯度见表 A.1。

表 A.1 标准物质中文名称、英文名称、CAS 号、分子式、分子结构式、相对分子质量、纯度

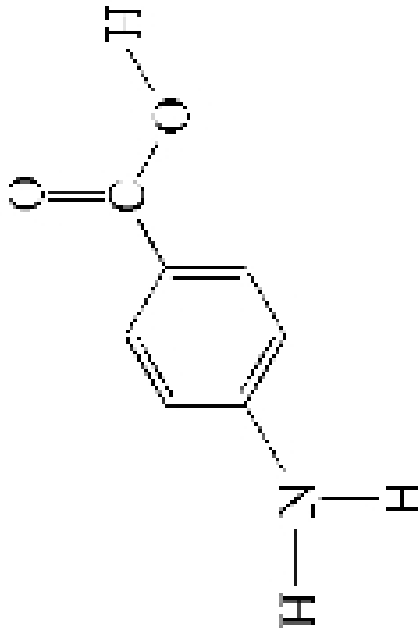
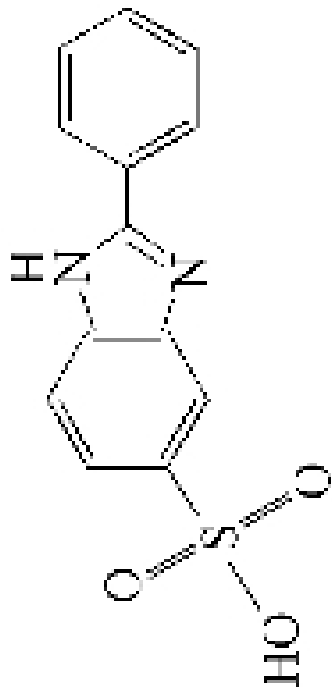
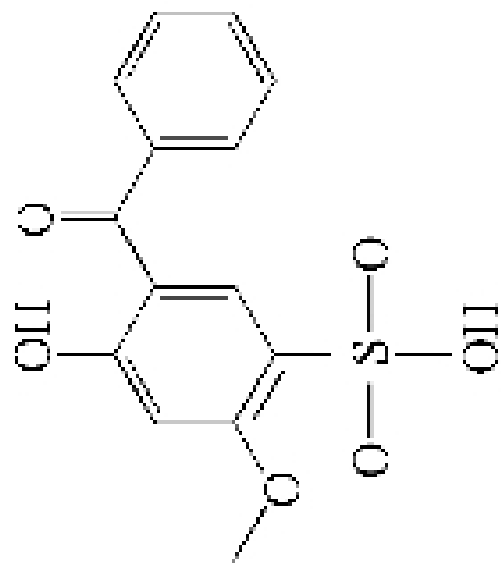
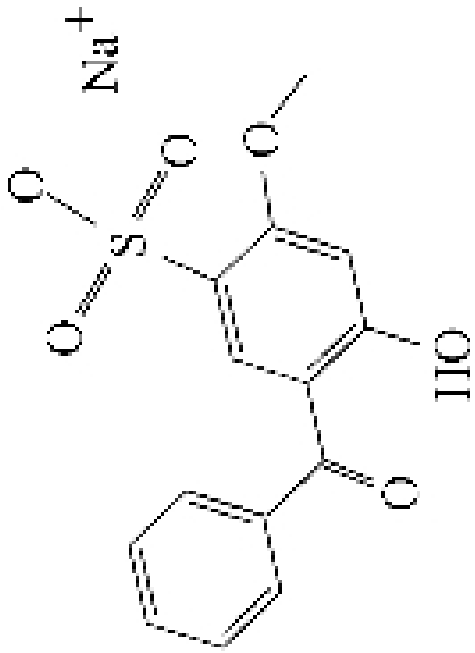
序号	中文名称	英文名称	CAS 号	分子式	分子结构式	相对分子质量	纯度
1	对氨基 苯甲酸 (PABA)	Para Amino Benzoic Acid(PABA)	150-30-0	$C_7H_7NO_2$		137.14	不小于 95%
2	苯基苯并 咪唑磺酸 (PBSA)	Phenylbenzimidazole Sulfonic Acid	27503-81-7	$C_{13}H_{10}N_2O_3S$		274.29	
3	二苯酮-4 (Bp-4)	Benzophenone-4	4065-45-6	$C_{14}H_{12}O_6S$		308.30	
4	二苯酮-5 (Bp-5)	Benzophenone-5	6628-37-1	$C_{14}H_{11}O_6SNa$		330.29	

表 A.1 (续)

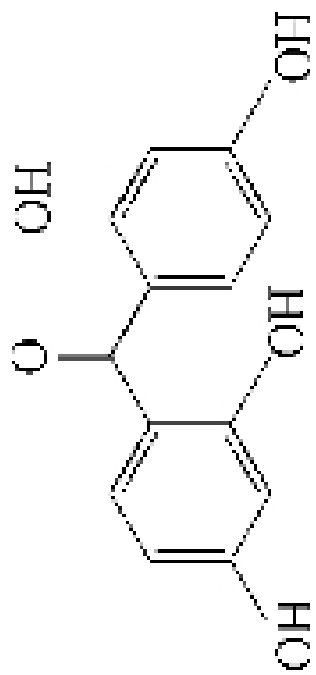
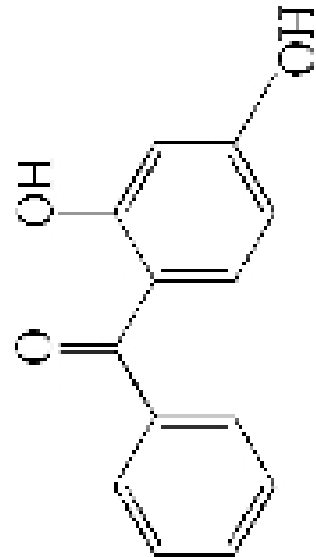
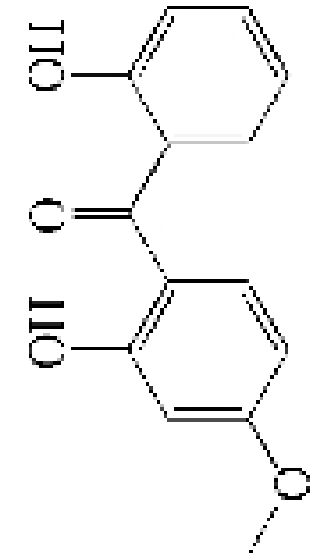
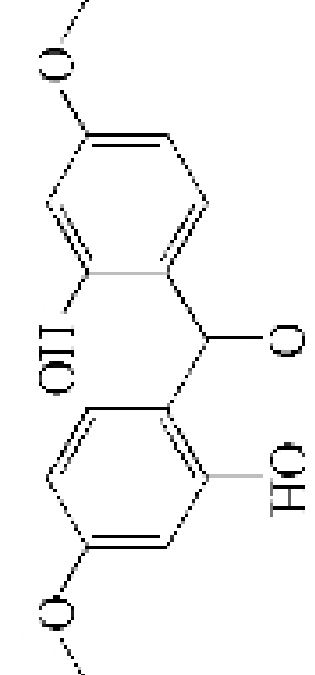
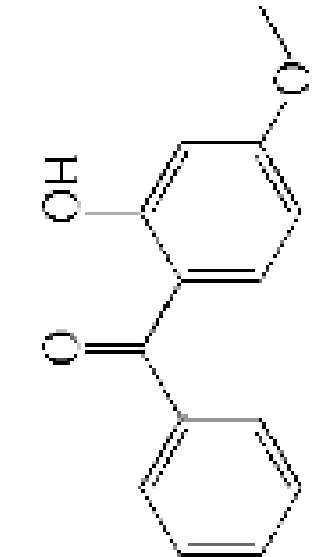
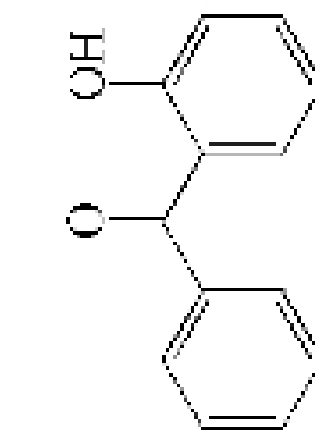
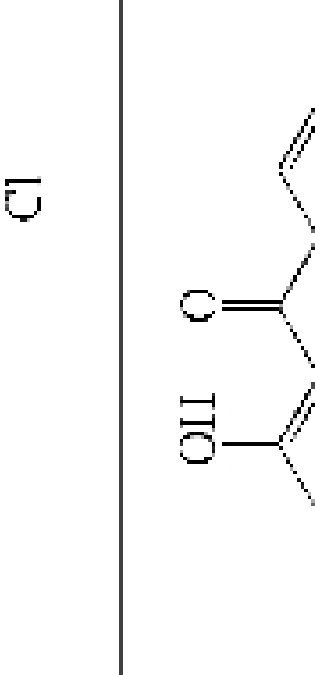
序号	中文名称	英文名称	CAS 号	分子式	分子结构式	相对分子质量	纯度
5	二苯酮-2 (Bp-2)	Benzophenone-2	131-55-5	$C_{13}H_{10}O_5$		246.22	不小于 95%
6	二苯酮-1 (Bp-1)	Benzophenone-1	131-56-6	$C_{13}H_{10}O_3$		214.22	
7	二苯酮-8 (Bp-8)	Benzophenone-8	131-53-3	$C_{14}H_{12}O_4$		244.24	
8	二苯酮-6 (Bp-6)	Benzophenone-6	131-54-4	$C_{15}H_{14}O_5$		274.26	
9	二苯酮-3 (Bp-3)	Benzophenone-3	131-57-7	$C_{14}H_{12}O_3$		228.24	
10	二苯酮-7 (Bp-7)	Benzophenone-7	85-19-8	$C_{13}H_9ClO_2$		232.66	
11	二苯酮-10 (Bp-10)	Benzophenone-10	1641-17-4	$C_{15}H_{14}O_3$		242.28	

表 A.1 (续)

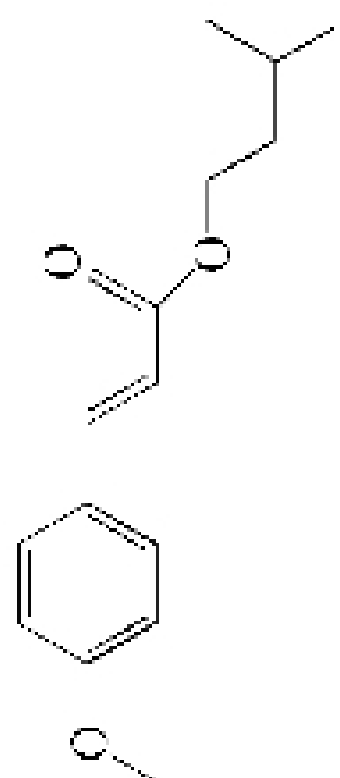
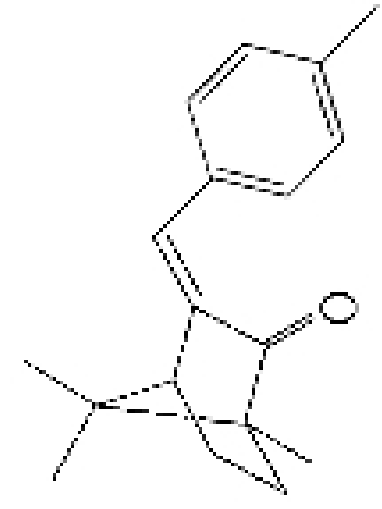
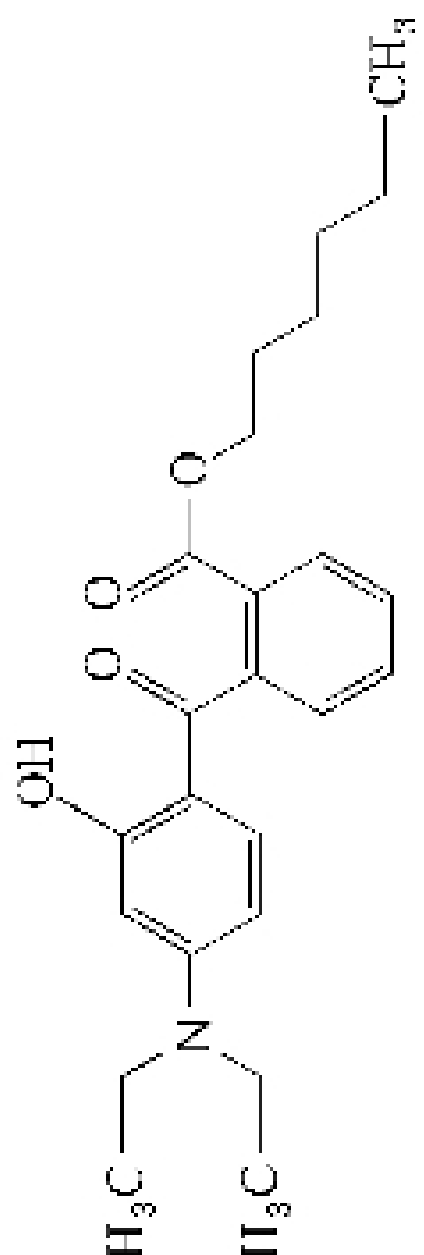
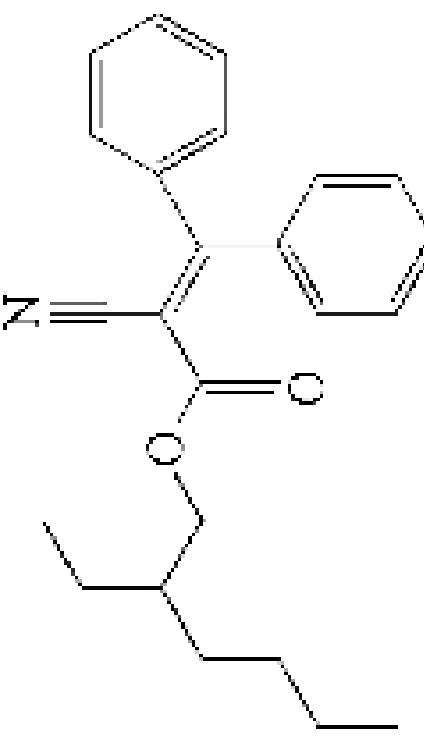
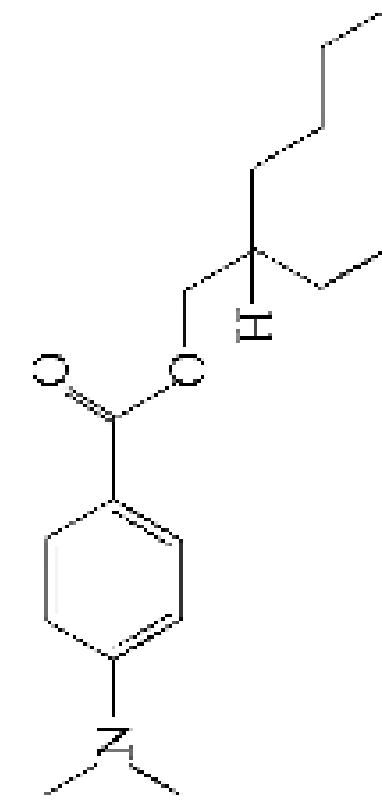
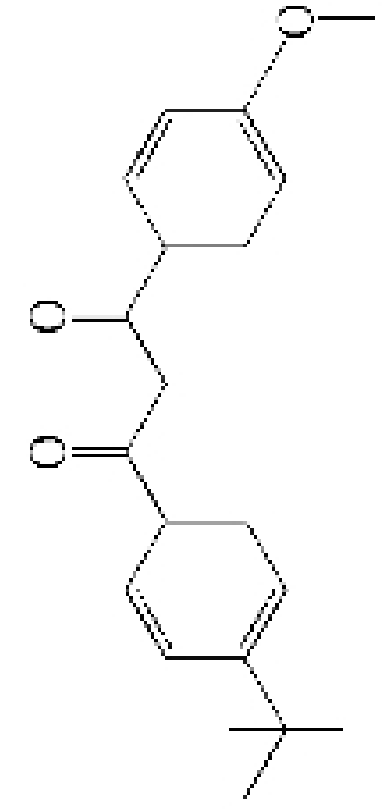
序号	中文名称	英文名称	CAS 号	分子式	分子结构式	相对分子质量	纯度
12	p-甲氧基肉桂酸异戊酯 (IAMC)	Isoamyl P-Methoxycinnamate	71617-10-2	$C_{15}H_{20}O_3$		248.32	不小于 95%
13	4-甲基苄亚基樟脑 (4MBC)	4-Methylbenzylidene Camphor	36861-47-9	$C_{18}H_{22}O$		254.37	
14	二乙氨基苯甲酰基苯甲酸己酯 (DHHB)	Diethylamino Hydroxybenzoyl Hexyl Benzoate	302776-68-7	$C_{24}H_{31}NO_4$		397.51	
15	奥克林林 (OC)	Octocrylene	6197-30-4	$C_{24}H_{27}NO_2$		361.48	
16	二甲基 PABA 乙基己酯 (OD-PABA)	Ethylhexyl Dimethyl PABA	21245-02-3	$C_{17}H_{27}NO_2$		277.4	
17	丁基甲氧基二苯甲酰基甲烷 (BMDBM)	Butyl Methoxydibenzoylmethane	70356-09-1	$C_{20}H_{22}O_3$		310.39	

表 A.1 (续)

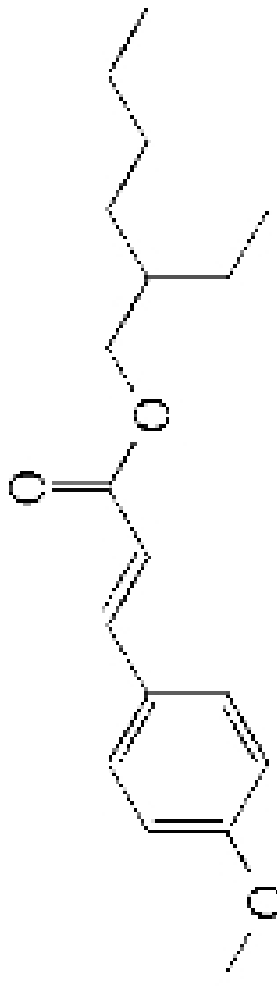
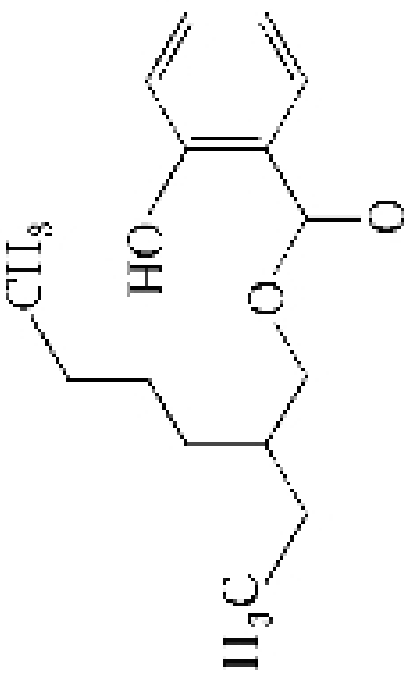
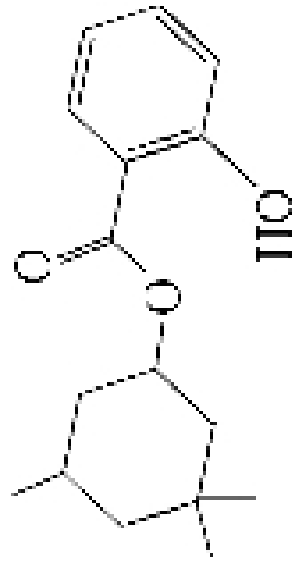
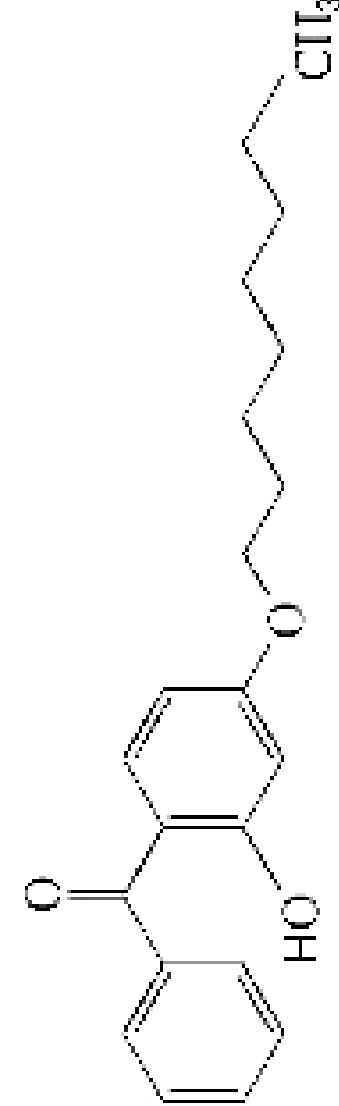
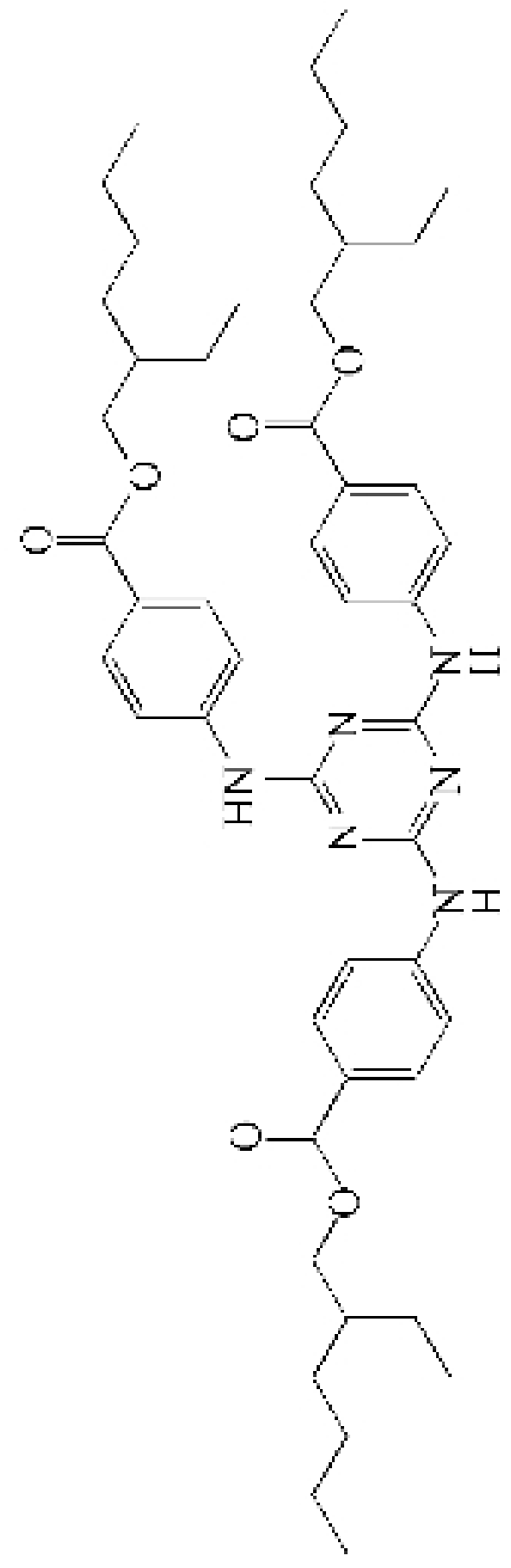
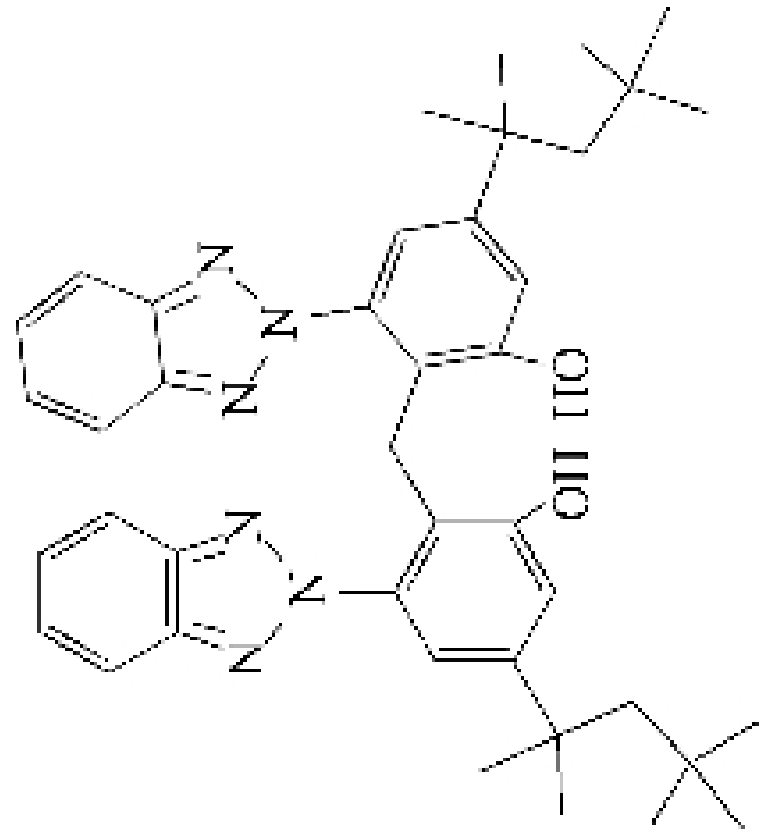
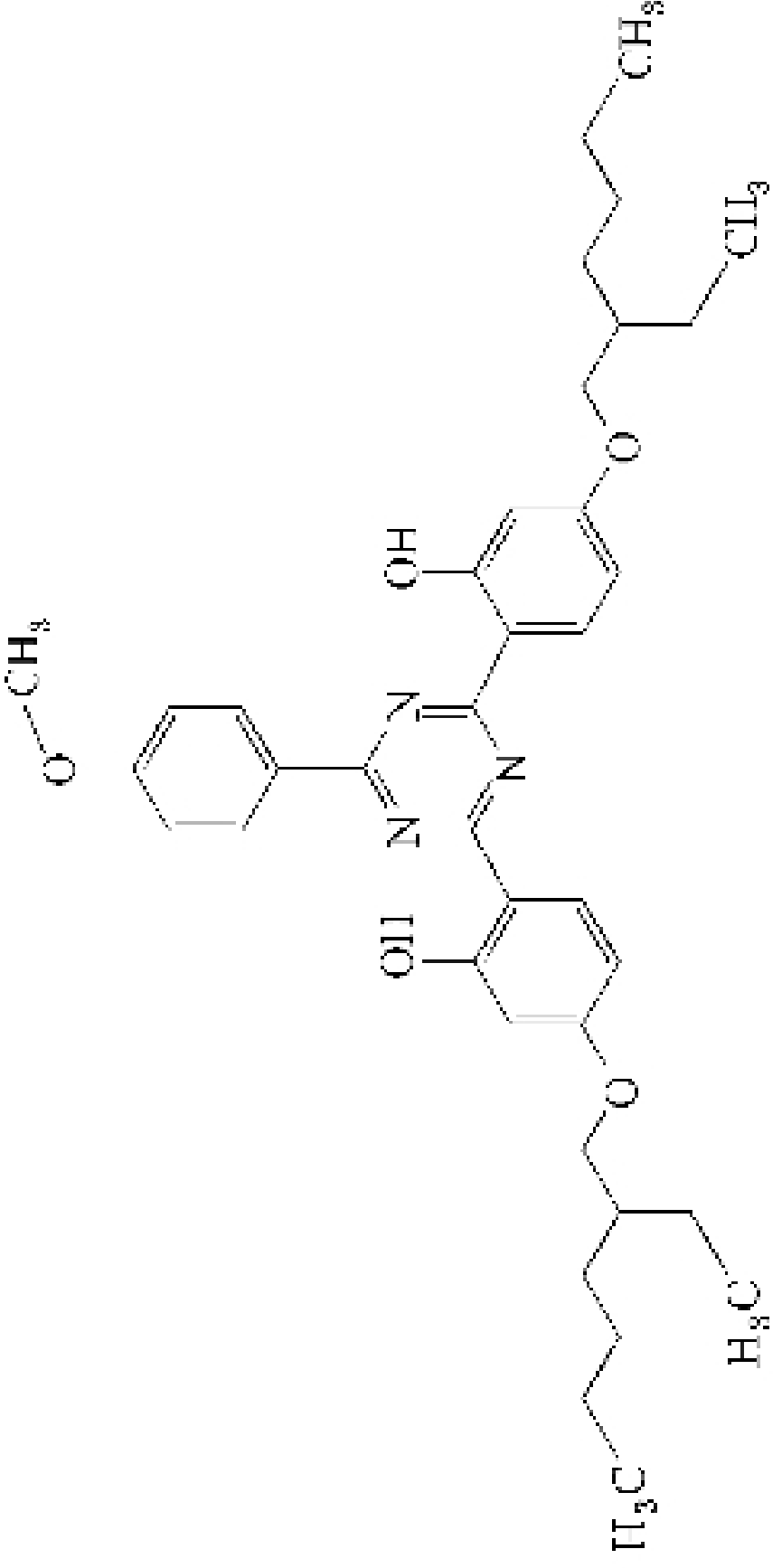
序号	中文名称	英文名称	CAS 号	分子式	分子结构式	相对分子质量	纯度
18	甲氧基肉桂酸乙基酯 (EHMC)	Ethylhexyl Methoxycinnamate	5466-77-3	$C_{18}H_{26}O_3$		290.40	不小于 95%
19	水杨酸乙基己酯 (EHS)	Ethylhexyl Salicylate	118-60-5	$C_{15}H_{22}O_3$		250.338	
20	胡莫柳酯 (HMS)	Homosalate	118-56-9	$C_{16}H_{22}O_3$		262.34	
21	二苯酮-12 (Bp-12)	Benzophenone-12	1843-05-6	$C_{21}H_{26}O_3$		326.43	
22	乙基己基三嗪酮 (EHT)	Ethylhexyl Triazone	88122-99-0	$C_{48}H_{66}N_6O_6$		823.07	

表 A.1 (续)

序号	中文名称	英文名称	CAS 号	分子式	分子结构式	相对分子质量	纯度
23	亚甲基双- 苯并三唑基 四甲基丁基 酚 (MBBT)	Methylene Bis- Benzotriazolyl Tetramethylbutylphenol	103597-45-1	$C_{41}H_{50}N_6O_2$		658.87	不小于 95%
24	双-乙基己 氧苯酚甲氧 苯基三嗪 (BEMT)	Bis-Ethylhexyloxyphenol Methoxyphenyl Triazine	187393-00-6	$C_{38}H_{49}N_3O_5$		627.82	

附录 B
(资料性附录)
标准物质液相色谱分离谱图

标准物质液相色谱分离谱图见图 B.1。

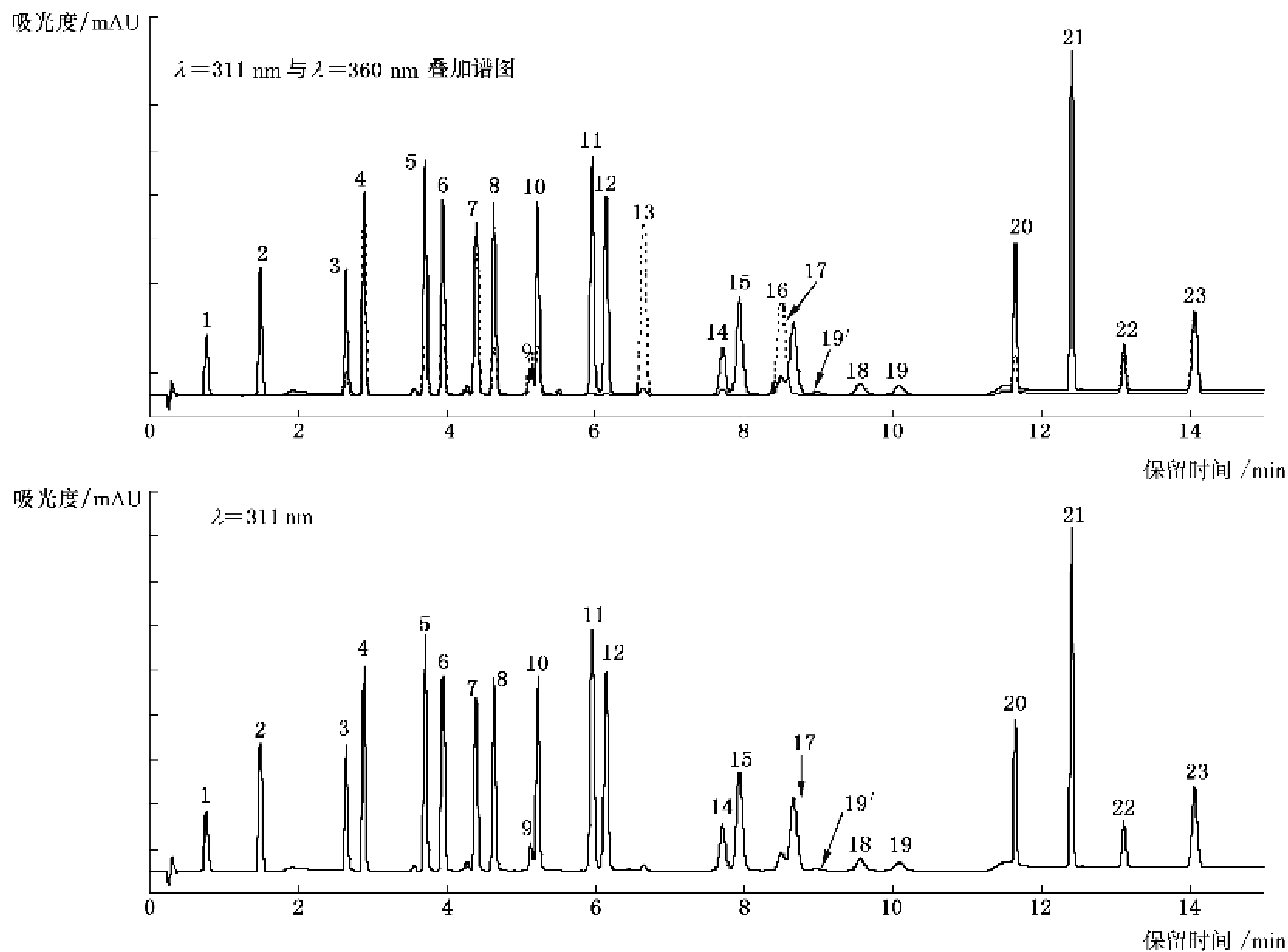
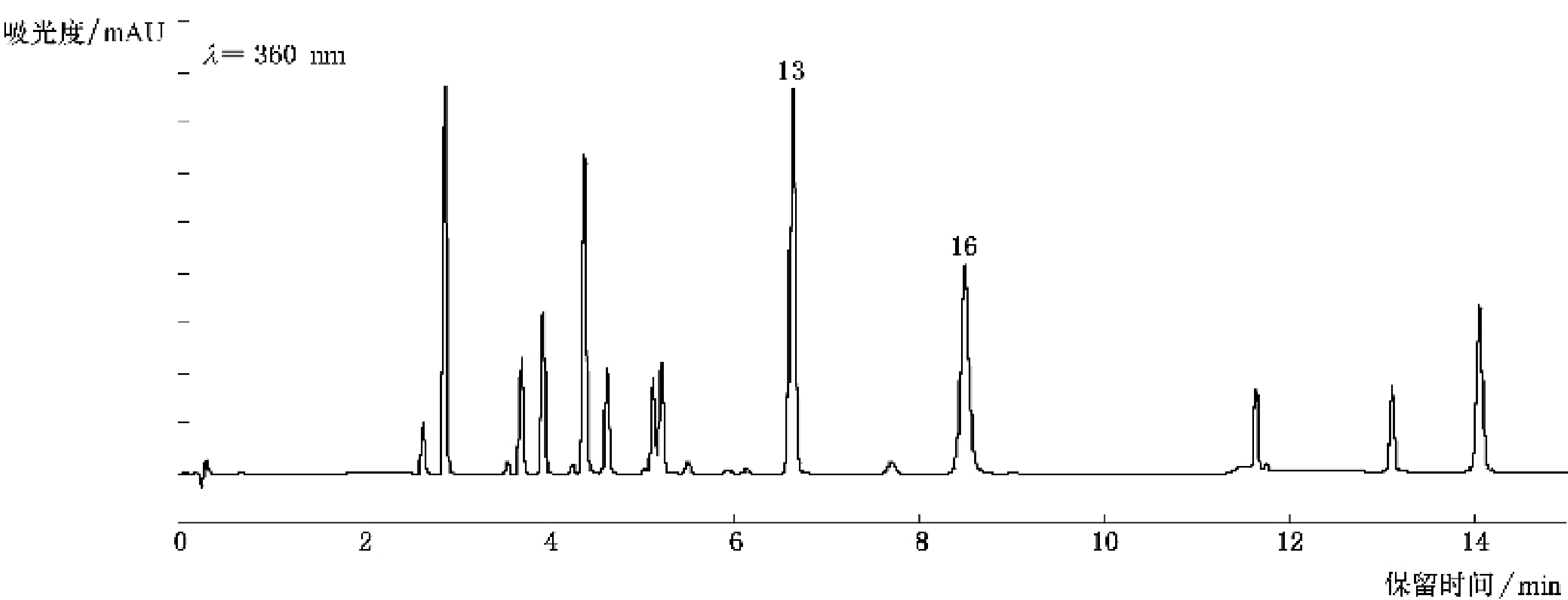


图 B.1 标准物质液相色谱分离谱图



说明：

- | | |
|-------------------------------|-------------------------------|
| 1 —— 对氨基苯甲酸(PBSA)； | 13 —— 二乙氨基苯甲酰基苯甲酸己酯(DHHB)； |
| 2 —— 苯基苯并咪唑磺酸(PABA)； | 14 —— 奥克利林(OC)； |
| 3 —— 二苯酮-4 和二苯酮-5(BP-4/BP-5)； | 15 —— PABA 乙基己酯(OD-PABA)； |
| 4 —— 二苯酮-2(BP-2)； | 16 —— 丁基甲氧基二苯甲酰基甲烷(BMDBM)； |
| 5 —— 二苯酮-1(BP-1)； | 17 —— 甲氧基肉桂酸乙基己酯(EHMC)； |
| 6 —— 二苯酮-8(BP-8)； | 19' —— 胡莫柳酯(HMS)同分异构体； |
| 7 —— 二苯酮-6(BP-6)； | 18 —— 水杨酸乙基己酯(EHS)； |
| 8 —— 二苯酮-3(BP-3)； | 19 —— 胡莫柳酯(HMS)； |
| 9 —— 二苯酮-7(BP-7)； | 20 —— 二苯酮-12(BP-12)； |
| 10 —— 二苯酮-10(BP-10)； | 21 —— 乙基己基三嗪酮(EHT)； |
| 11 —— p-甲氧基肉桂酸异戊酯(IAMC)； | 22 —— 亚甲基双-苯并三唑基四甲基丁基酚(MBBT)； |
| 12 —— 4-甲基苄亚基樟脑(4MBC)； | 23 —— 双-乙基己氧苯酚甲氧苯基三嗪(BEMT)。 |

图 B.1 (续)

附 录 C
(资料性附录)
确证试验

C.1 液相色谱质谱参考条件

- 液相色谱质谱参考条件如下：
- a) 离子源：电喷雾电离源(ESI 源)；
 - b) 检测方式：多反应监测(MRM)；
 - c) 雾化气：氮气,241.3 kPa；
 - d) 干燥气：氮气,流速 10 L/min；
 - e) 离子源温度：350 ℃；
 - f) 碰撞气：氮气；
 - g) 毛细管电压：4 000 V；
 - h) 其他质谱参数见表 C.1。

表 C.1 24 种目标化合物的质谱分析参考参数

序号	化合物名称	母离子 <i>m/z</i>	子离子 <i>m/z</i>	碰撞能量 /eV	扫描模式
1	对氨基苯甲酸	138.0	120.0 94.2	12 10	ESI+
2	苯基苯并咪唑磺酸	272.8	193.0 80.0	22 56	ESI—
3	二苯酮-4 和二苯酮-5	306.8	211.0 80.0	34 48	ESI—
4	二苯酮-2	244.9	134.9 109.0	22 28	ESI+
5	二苯酮-1	213.0	134.8 169.0	28 26	ESI—
6	二苯酮-8	243.0	123.0 93.0	23 27	ESI—
7	二苯酮-6	273.0	123.0 108.0	22 49	ESI—
8	二苯酮-3	229.0	151.0 105.0	32 24	ESI+
9	二苯酮-7	231.0	121.0 77.0	30 36	ESI—
10	二苯酮-10	243.0	151.0 119.0	25 28	ESI+
11	p-甲氧基肉桂酸异戊酯	249.0	161.0 179.1	10 4	ESI+

表 C.1 (续)

序号	化合物名称	母离子 <i>m/z</i>	子离子 <i>m/z</i>	碰撞能量 /eV	扫描模式
12	4-甲基苄亚基樟脑 防晒剂 BL-200	255.1	171.0	15	ESI+
			97.0	15	
13	二乙羟苯甲酰基苯甲酸己酯	398.1	149.0	14	ESI+
			120.9	54	
14	奥克利林	362.1	250.0	2.0	ESI+
			232.0	15	
15	PABA 乙基己酯	278.1	166.0	18	ESI+
			151.00	3	
16	丁基甲氧基二苯甲酰基甲烷	311.0	161.0	20	ESI+
			135.0	20	
17	甲氧基肉桂酸乙基己酯	291.1	178.9	2	ESI+
			161.0	14	
18	水杨酸乙基己酯	249.0	136.8	10	ESI—
			92.8	20	
19	胡莫柳酯	261.0	136.9	10	ESI—
			93.0	24	
20	二苯酮-12	327.2	215.0	28	ESI+
			137.0	37	
21	乙基己基三嗪酮	823.5	486.9	65	ESI+
			711.2	50	
22	亚甲基双-苯并三唑基四甲基丁基酚	659.4	336.0	30	ESI+
			264.9	60	
23	双-乙基己氧苯酚甲氧苯基三嗪	628.4	135.9	60	ESI+
			403.9	45	

C.2 定性判定

在同一色谱/质谱条件下进行标准溶液和样品溶液的测定,如果样品溶液中检出的色谱峰的保留时间与某标准物质色谱峰的保留时间一致,所选择的 2 对子离子的质荷比也一致,而且目标物定性离子的相对丰度与浓度相当标准工作溶液的定性离子的相对丰度的相对偏差不得超过表 C.2 规定的范围,则可判定样品中存在该物质。

表 C.2 定性确定时相对离子丰度的最大允许偏差

相对离子丰度/%	>50	>20~50	>10~20	≤10
最大允许偏差/%	±20	±25	±30	±50