

中华人民共和国国家标准

GB/T 39946—2021

唇用化妆品中禁用物质对位红的测定 高效液相色谱法

Determination of prohibited Para Red in lip cosmetics—
High performance liquid chromatography

2021-03-09 发布

2021-10-01 实施

国家市场监督管理总局 发布
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：山东省产品质量检验研究院、山东福瑞达生物工程有限公司、上海市日用化学工业研究所、青岛捷励行咨询有限公司。

本标准主要起草人：周莉莉、侯广月、卞英芳、王一村、刘倩、杨素珍、邹惠玲、沈敏、张鹏、王晓霞、丁环。

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,国家有限量规定的应符合其规定;未规定限量的,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。

目前我国尚未规定该物质的限量值,本标准的制定,仅对化妆品中测定该物质提供检测方法。



唇用化妆品中禁用物质对位红的测定

高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了唇用化妆品中对位红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、回收率和精密度、允许差等内容。

本标准适用于唇膏、润唇膏、唇釉、唇蜜和唇彩等唇用化妆品中对位红的测定。

本标准方法检出限为 0.20 mg/kg, 定量限为 0.60 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

试样经三氯甲烷分散后, 用乙腈进行提取, 离心过膜后, 采用高效液相色谱法进行测定, 外标法定量。必要时, 采用液相色谱-质谱法确证。

4 试剂和材料

4.1 水: GB/T 6682 规定的一级水。

4.2 对位红标准品: 纯度不小于 98%, 对位红的英文名称、CAS 号、分子式、相对分子质量和结构式参见附录 A 的表 A.1。

4.3 三氯甲烷(CHCl_3): 优级纯。

4.4 乙腈(CH_3CN): 色谱纯。

4.5 流动相: 乙腈+水=85+15(体积比)。

4.6 标准工作溶液: 准确称取对位红标准品(4.2)5.00 mg(精确至 0.01 mg)于 10 mL 容量瓶中, 加入约 2 mL 三氯甲烷(4.3), 待溶解后用乙腈(4.4)定容制得质量浓度为 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的对位红标准储备液(于 4 $^{\circ}\text{C}$ 避光保存, 有效期 3 个月)。量取适量的对位红标准储备液, 用流动相(4.5)稀释成质量浓度分别为 0.10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、1.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、2.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、5.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、10.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准工作液, 现用现配。

5 仪器设备

5.1 高效液相色谱仪: 配有二极管阵列检测器。

5.2 电子分析天平: 感量为 0.01 mg 和 0.000 1 g。

5.3 超声波清洗器。

- 5.4 涡旋混合器。
- 5.5 离心机：转速不低于 6 000 r/min。
- 5.6 微孔滤膜：有机相，孔径 0.45 μm。
- 5.7 氮气吹干仪。

6 试验步骤

6.1 样品处理

称取 0.5 g(精确至 0.000 1 g)混合均匀试样于 50 mL 离心管中,加入 2 mL 三氯甲烷(4.3),涡旋混匀,加入 13 mL 乙腈(4.4),超声提取 10 min,6 000 r/min 离心 10 min。取 5 mL 上清液于 40 ℃条件下氮吹浓缩至近干,用流动相(4.5)溶解定容至 1 mL,超声提取 5 min,经 0.45 μm 微孔滤膜(5.6)过滤,供高效液相色谱测定。

6.2 测定

6.2.1 色谱条件

液相色谱分析参考条件如下：

- a) 色谱柱:C₁₈,250 mm×4.6 mm(内径),5 μm,或其他等效色谱柱；
- b) 流动相(4.5)；
- c) 流速:1.0 mL/min；
- d) 柱温:30 ℃；
- e) 进样量:10 μL；
- f) 检测波长:485 nm。



6.2.2 标准工作曲线绘制

将标准工作溶液(4.6)按色谱条件(6.2.1)进行测定,以色谱峰的峰面积为纵坐标,对应的溶液质量浓度为横坐标,绘制标准曲线。对位红标准溶液的典型色谱图和 DAD 光谱图参见附录 B 的图 B.1 和图 B.2。

6.2.3 试样测定

将试样溶液(6.1)按色谱条件(6.2.1)进行测定,外标法定量。

试样溶液中被测物的响应值应在标准曲线的线性范围内,超出线性范围则应稀释后再进行分析。必要时,阳性样品需经液相色谱-质谱法进行确证试验(参见附录 C)。

6.3 空白试验

除不称取试样外,均按上述步骤进行。

7 结果计算

试样中对位红的含量按式(1)计算：

$$Y = \frac{\rho \times V \times V_2 \times 1\,000}{m \times V_1 \times 1\,000} \dots\dots\dots(1)$$

式中：

- Y ——试样中对位红的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);
- ρ ——从标准工作曲线上查出的样液中对位红的质量浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g}/\text{mL}$);
- V ——试样提取溶液的体积,即三氯甲烷与乙腈体积之和,单位为毫升(mL);
- V_2 ——分取液经浓缩后的最终定容体积,单位为毫升(mL);
- 1 000 ——单位换算常数;
- m ——试样质量,单位为克(g);
- V_1 ——用于浓缩分取的样品体积,单位为毫升(mL)。

计算结果应扣除空白值,保留两位小数。

8 回收率和精密度

在添加浓度 0.60 mg/kg ~ 4.00 mg/kg 范围内,回收率在 88.1% ~ 103.8%,相对标准偏差小于 10%。

9 允许差

在重复性条件下获得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)
对位红标准物质的信息

表 A.1 给出了对位红的英文名称、CAS 号、分子式、相对分子质量和结构式见表 A.1。

表 A.1 对位红标准物质的信息

| 中文名称 | 英文名称 | CAS 号 | 分子式 | 相对分子质量 | 结构式 |
|------|----------|-----------|----------------------|--------|--|
| 对位红 | Para Red | 6410-10-2 | $C_{16}H_{11}N_3O_3$ | 293.28 |  |

附录 B

(资料性附录)

对位红标准溶液的典型色谱图和 DAD 光谱图

对位红标准溶液的典型色谱图和 DAD 光谱图分别见图 B.1 和图 B.2。

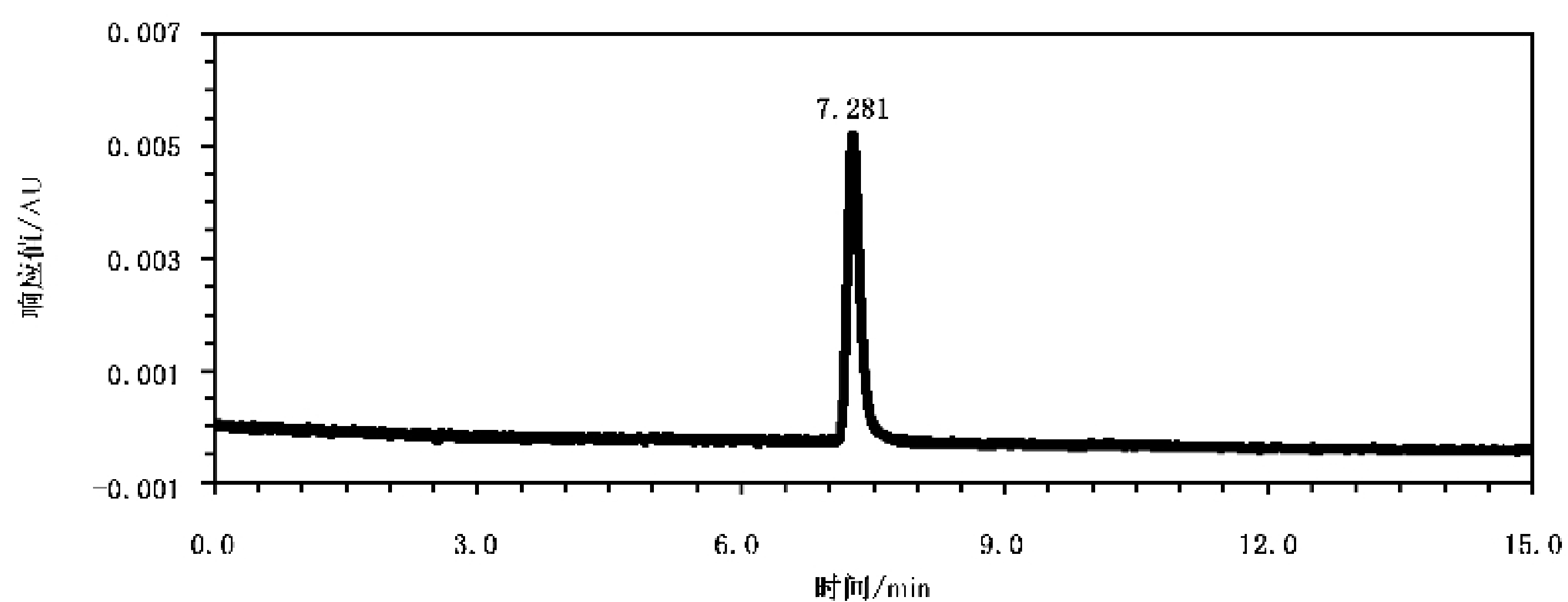


图 B.1 对位红标准溶液的典型色谱图

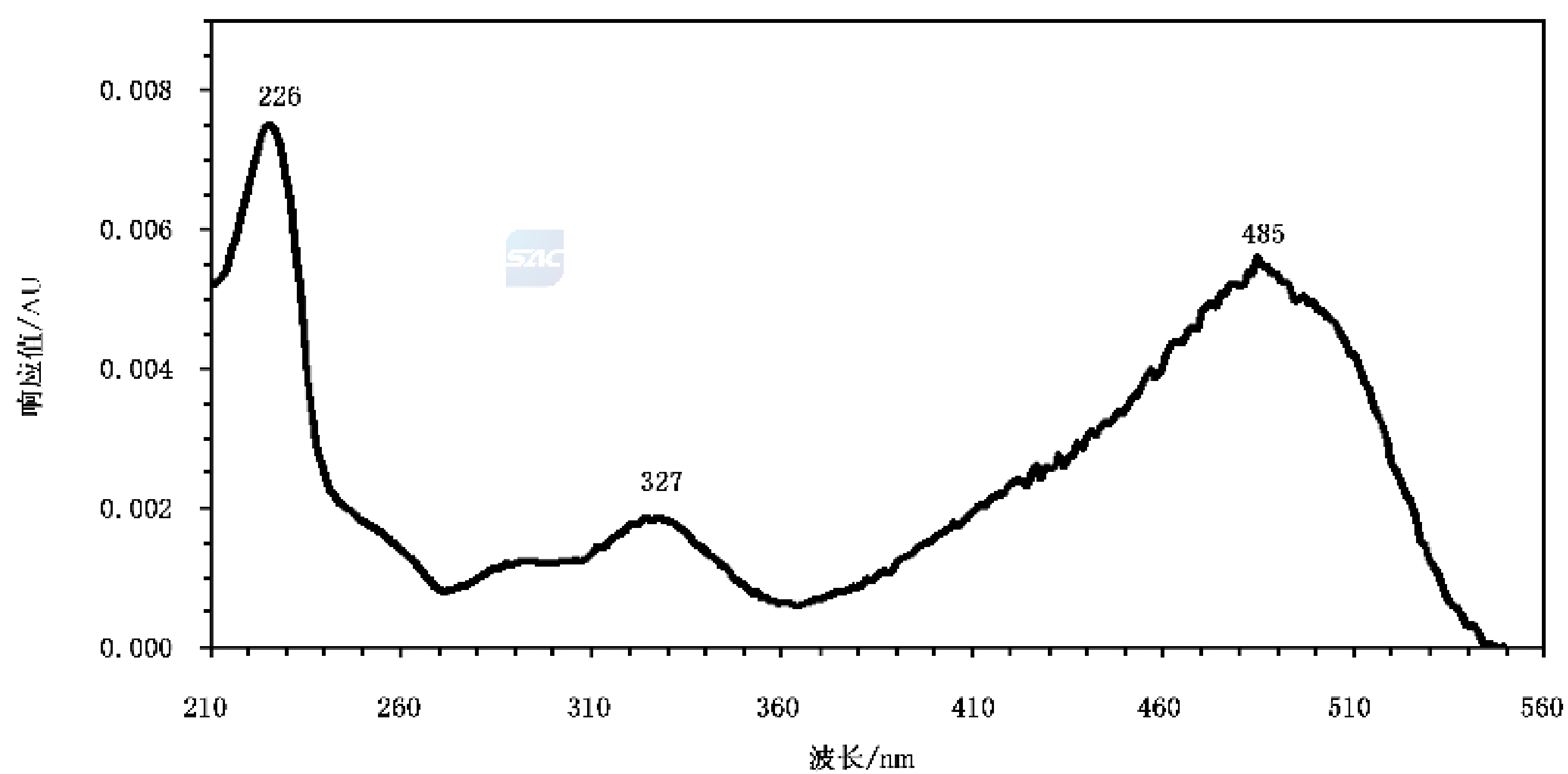


图 B.2 对位红标准溶液的 DAD 光谱图

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} ，100 mm×2.1 mm(内径)，1.7 μm ，或其他等效色谱柱；
- b) 流动相：A 为乙腈，B 为 0.1% 甲酸水溶液，梯度洗脱程序：0 min~1.0 min，20% A；1.0 min~4.0 min，20% A~95% A；4.0 min~7.0 min，95% A；7.0 min~7.1 min，95% A~20% A；7.1 min~10.0 min，20% A；
- c) 流速：0.3 mL/min；
- d) 柱温：40 $^{\circ}\text{C}$ ；
- e) 进样量：10 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) 气帘气(CUR)：241.3 kPa；
- d) 碰撞气(CAD)：55.2 kPa；
- e) 电喷雾电压(IS)：5 000.0 V；
- f) 离子源温度(TEM)：450.0 $^{\circ}\text{C}$ ；
- g) 雾化气(GS1)：206.8 kPa；
- h) 辅助气(GS2)：206.8 kPa；
- i) 检测方式：多反应监测模式(MRM)。

对位红的保留时间、母离子、子离子、去簇电压(DP)、碰撞电压(CE)、碰撞室入口电压(EP)和碰撞室出口电压(CXP)见表 C.1，对位红定量离子对和定性离子对的 MRM 色谱图分别见图 C.1 和图 C.2。

表 C.1 对位红的质谱参数

| 化合物 | 保留时间/min | 母离子 m/z | 子离子 m/z | DP/V | CE/V | EP/V | CXP/V |
|-----|----------|-----------|--------------|-------|------------|------|-------|
| 对位红 | 4.85 | 294.1 | 156.1, 128.0 | 100.0 | 25.0, 30.0 | 7.0 | 8.0 |

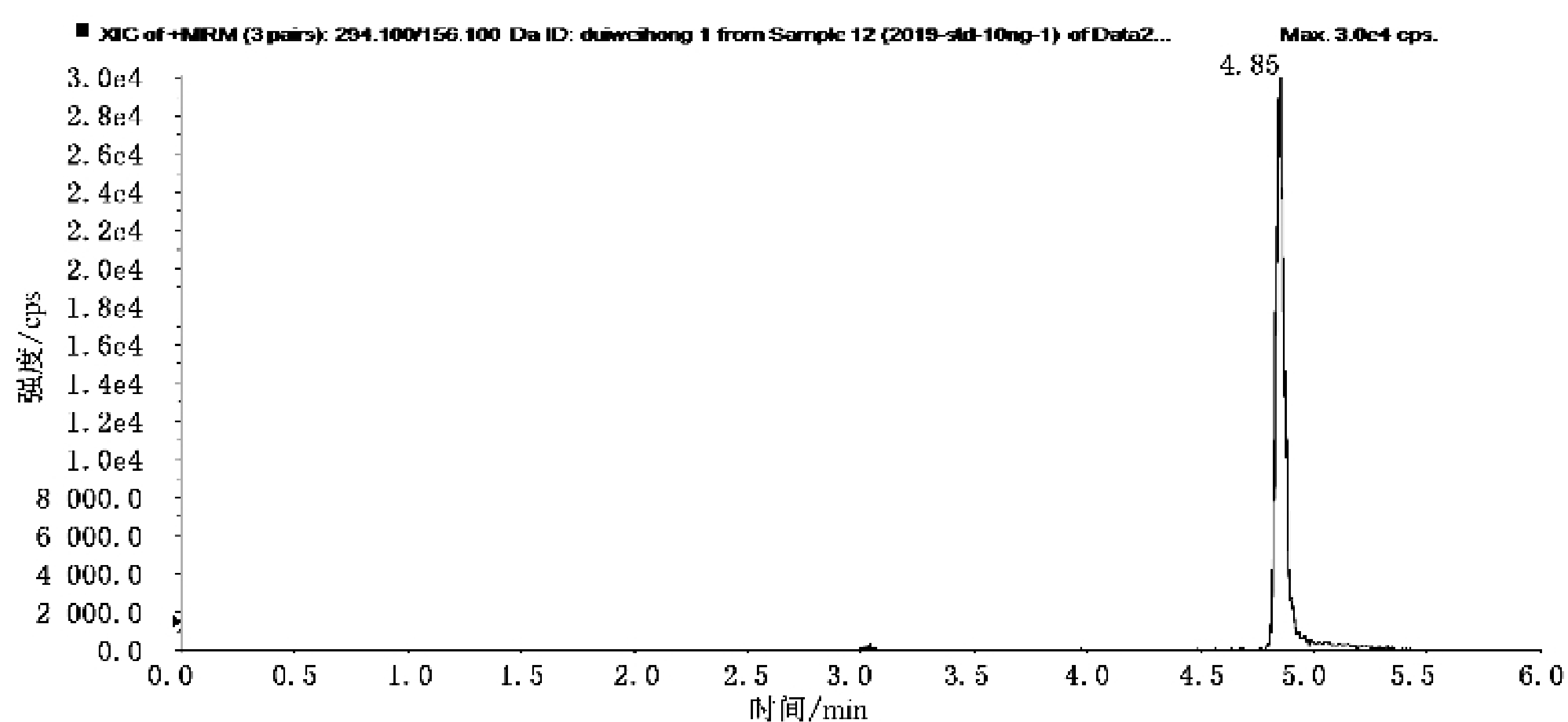


图 C.1 对位红定量离子对的 MRM 谱图(10 ng/mL)

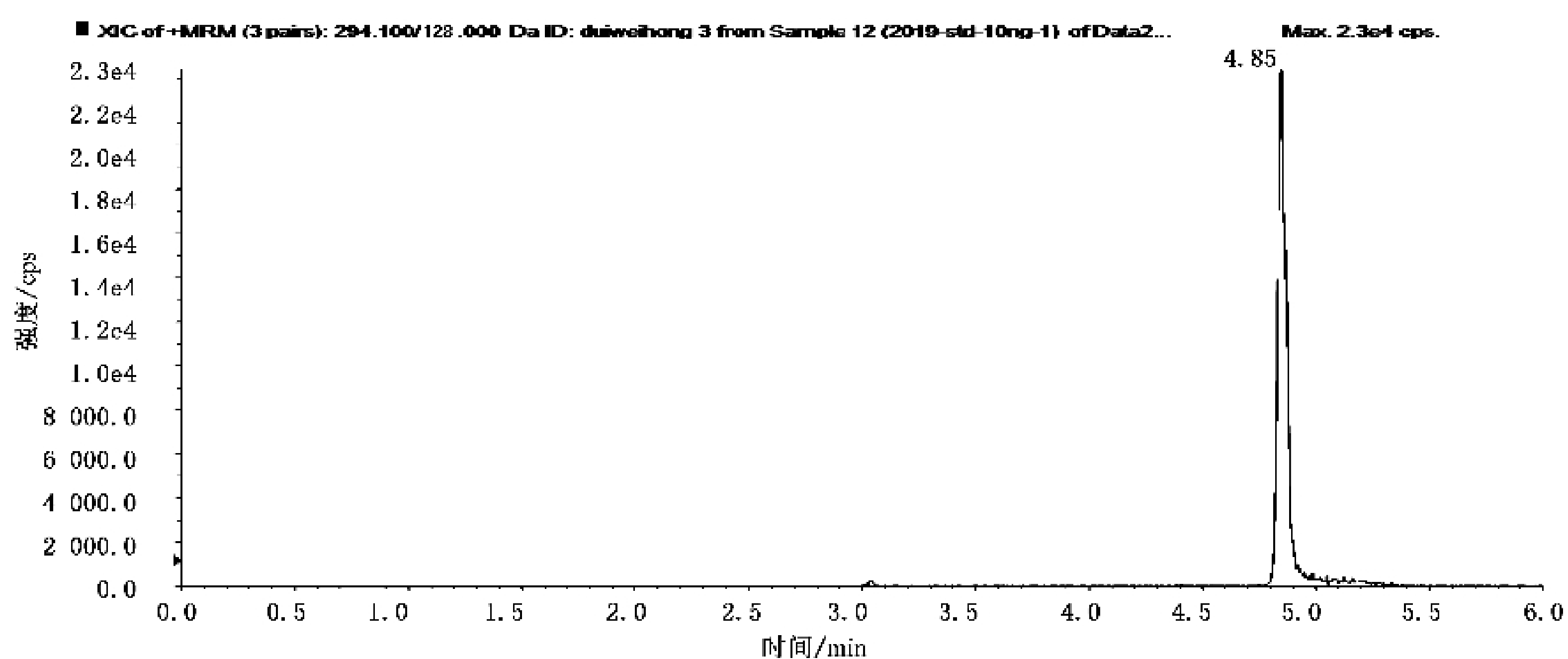


图 C.2 对位红定性离子对的 MRM 色谱图(10 ng/mL)

C.3 定性测定

进行试样测定时,将试样适当稀释,按液相色谱和质谱参考条件(C.1和C.2)测定样液和标准工作液,如果检出色谱峰的保留时间与标准物质的相一致,并且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.2规定的范围,则可判断该样品中检出对位红。

表 C.2 定性确证时相对离子丰度的最大允许偏差

| 相对离子丰度 $k/\%$ | $k > 50$ | $50 \geq k > 20$ | $20 \geq k > 10$ | $k \leq 10$ |
|---------------|----------|------------------|------------------|-------------|
| 允许的相对偏差/ $\%$ | ± 20 | ± 25 | ± 30 | ± 50 |