ICS 71.100.70
Y 42

中华人民共和国国家标准

GB/T 39927—2021

化妆品中禁用物质藜芦碱的测定 高效液相色谱法

Determination of prohibited substances veratrine in 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
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:上海市日用化学工业研究所、上海市质量监督检验技术研究院、珀莱雅化妆品股份有限公司、无限极(中国)有限公司、广东蕾琪化妆品有限公司。

本标准主要起草人:杜高斐、聂磊、孙淑蓉、孙红梅、康薇、秦宇、郑如娟、蒋丽刚、顾宇翔、马坚南。

引　言

藜芦碱是我国《化妆品安全技术规范(2015 年版)》规定的禁用物质,本标准的被测物质藜芦定是藜芦碱的主要成分。

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。

化妆品中禁用物质藜芦碱的测定 高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了化妆品中藜芦碱主要成分藜芦定的高效液相色谱测定方法的原理、试剂和材料、仪器和设备、试验步骤、结果计算、回收率和精密度、允许差等内容。

本标准适用于面贴膜、膏霜、乳、水类化妆品中藜芦定的测定。

本标准方法检出限为 15 mg/kg，定量限为 50 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

样品提取后，经高效液相色谱分离，根据保留时间定性，峰面积定量，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

除另有说明外，所用试剂均为分析纯。

4.1 水，GB/T 6682，一级。

4.2 甲醇：色谱纯。

4.3 盐酸：优级纯。

4.4 0.1 mol/L 盐酸溶液：量取盐酸(4.3)8.3 mL 加水至 1 L。

4.5 乙酸铵。

4.6 提取液：取 0.1 mol/L 盐酸溶液(4.4)500 mL，加入甲醇(4.2)混合均匀并定容至 1 L，经 0.45 μm 滤膜过滤。

4.7 藜芦定标准品：纯度不小于 99.0%，藜芦定的英文名称、CAS 号、分子式、相对分子质量和结构式参见附录 A 中表 A.1。

4.8 藜芦定标准工作溶液：准确称取藜芦定标准品 10 mg(精确到 0.000 1 g)于 10.0 mL 的容量瓶中，用提取液(4.6)溶解并定容制得质量浓度为 1 000 mg/L 的藜芦定标准储备液(冰箱－20 ℃保存 1 个月)。用提取液(4.6)将藜芦定标准储备液逐级稀释配成质量浓度为 2.0 mg/L、5.0 mg/L、10 mg/L、50 mg/L和 100 mg/L 的标准工作溶液，现用现配。

4.9 0.1 mol/L 乙酸铵：7.71 g 乙酸铵(4.5)溶解于 1.0 L 水中。

5 仪器和设备

5.1 高效液相色谱仪，配有二极管阵列(DAD)检测器或者紫外检测器。

5.2 液相色谱-质谱/质谱(LC-MS/MS)仪：配有电喷雾离子源(ESI)。

5.3 分析天平，感量为 0.000 1 g。

5.4 超声振荡器：工作频率 53 kHz。

5.5 离心机：转速≥8 000 r/min。

5.6 滤膜：孔径 0.45 μm，材质为聚四氟乙烯。

5.7 具塞比色管：10 mL。

5.8 涡旋振荡器。

6 试验步骤

6.1 样品处理

对于面贴膜(取面膜液)、膏霜、乳、水类化妆品，称取样品约 1 g(精确至 0.000 1 g)于 10 mL 具塞比色管中，用提取液(4.6)稀释至刻度，涡旋 30 s，超声提取 10 min，离心机 8 000 r/min 离心 10 min，取上清液经 0.45 μm 滤膜过滤，滤液作为待测样液在色谱条件下进行测定。

6.2 测定条件

高效液相色谱测定参考条件如下：

a) 色谱柱：C_{18}反相柱，250 mm×4.6 mm(粒径 5 μm)，或其他性能相当者；

b) 流动相：甲醇(4.2)+0.1 mol/L 乙酸铵(4.9)=60+40(体积比)；

c) 流速：1.0 mL/min；

d) 柱温：40 ℃；

e) 检测波长：261 nm；

f) 进样量：10 μL。

6.3 标准工作曲线绘制

按 6.2 色谱条件检测，分别吸取 10 μL 藜芦定标准工作溶液(4.8)注入高效液相色谱仪，以色谱峰的峰面积为纵坐标，对应的溶液浓度为横坐标，绘制标准工作曲线。

藜芦定标准品的高效液相(HPLC)色谱图参见附录 B 中图 B.1。

6.4 试样测定

按 6.2 的色谱条件，取 6.1 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，藜芦定标准品的 DAD 光谱图参见图 B.2。从标准曲线上查得试样溶液中藜芦定的含量。

试样溶液中藜芦定的响应值应在标准曲线线性范围内，超过线性范围则应稀释后测定。必要时，阳性样品需用液相色谱-质谱进行确证试验(参见附录 C)。

6.5 空白试验

除不称取试样外，均按 6.1～6.4 步骤进行。

6.6 平行试验

按 6.1～6.4 步骤，对同一样品进行平行试验测定。

7 结果计算

试样中藜芦定的含量按式(1)计算：

$$X=\frac{\rho\times V\times 1\ 000}{m\times 1\ 000} \qquad \cdots\cdots(1)$$

式中：

X ——样品中藜芦定的含量，单位为毫克每千克(mg/kg)；

ρ ——从标准曲线查得藜芦定的质量浓度，单位为毫克每升(mg/L)；

V ——样品稀释后的总体积，单位为毫升(mL)；

m ——样品质量，单位为克(g)。

计算结果应扣除空白值，保留三位有效数字。

8 回收率和精密度

在添加浓度为 50.0 mg/kg～500.0 mg/kg 范围内，回收率在 83.5%～112.2%之间，相对标准偏差小于 5%。

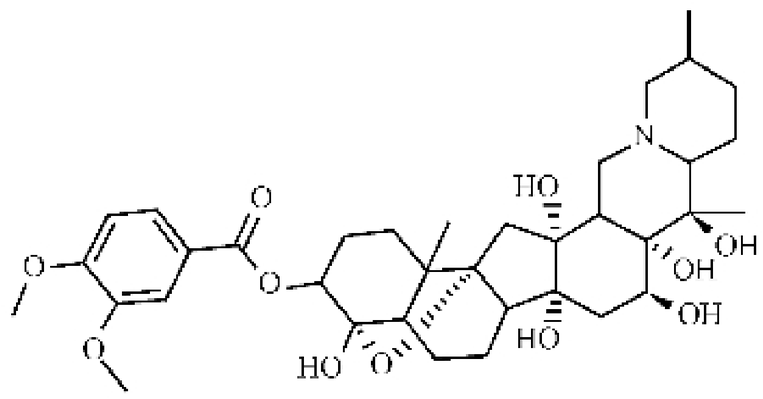
9 允许差

在重复性条件下获得两次独立测定结果的绝对差值不应超过算术平均值的 10%。

附　录　A
（资料性附录）
藜芦定标准物质的信息

藜芦定的英文名称、CAS 号、分子式、相对分子质量和结构式见表 A.1。

表 A.1　藜芦定的英文名称、CAS 号、分子式、相对分子质量和结构式

中文名称	藜芦定
英文名称	Veratridine
CAS 号	71-62-5
分子式	$C_{36}H_{51}NO_{11}$
相对分子质量	673.79
结构式	

附　录　B
（资料性附录）
藜芦定标准品 HPLC 色谱图和 DAD 光谱图

藜芦定标准品的 HPLC 色谱图和 DAD 光谱图分别见图 B.1 和图 B.2。

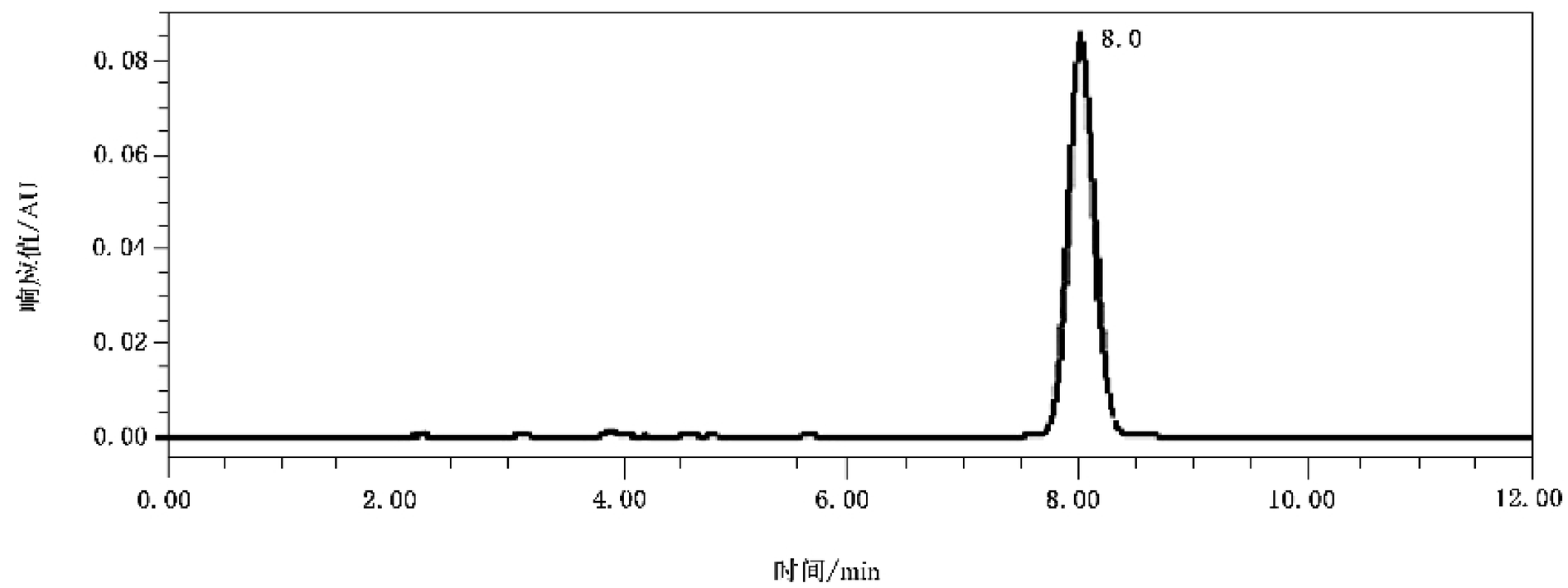


图 B.1　藜芦定标准品的 HPLC 色谱图

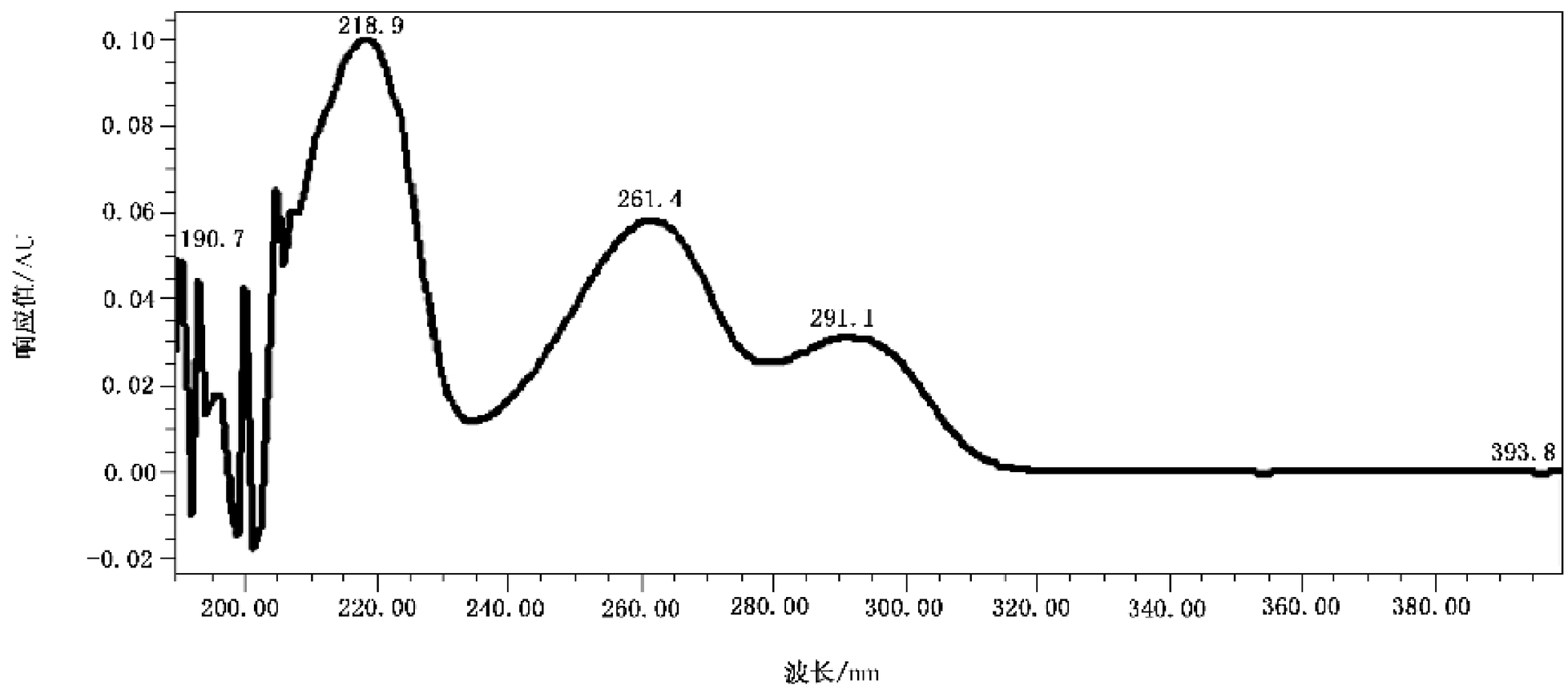


图 B.2　藜芦定标准品的 DAD 光谱图

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}，3.5 μm，150 mm×2.1 mm（粒径 3.5 μm），或其他性能相当者；

b）　流动相：乙腈＋0.1％甲酸水＝50＋50（体积比）；

c）　流速：0.3 mL/min；

d）　柱温：30 ℃；

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；

b）　离子化模式：正离子模式；

c）　毛细管电压：3.5 kV；

d）　萃取电压：3.0 V；

e）　离子源温度：150 ℃；

f）　脱溶剂气温度：350 ℃；

g）　数据采集模式：多反应监测（MRM）。

C.3　定性测定

进行试样测定时，将样液适当稀释，按表 C.1 液相色谱-质谱条件测定样液和标准工作溶液，如果所选择的离子均出现，而且所选择的离子比与标准物质的相对丰度一致，允许偏差不超过表 C.2 规定的范围，则可判断样品中含有藜芦定。藜芦定的选择离子色谱图见图 C.1。

表 C.1　藜芦定质谱分析参数

定性离子对 m/z	参考保留时间/min	锥孔电压/V	碰撞能量/eV
675.1/164.9，675.1/457.2	4.7	45	85，79

表 C.2　阳性结果确证时相对离子丰度比的最大允许偏差

相对离子丰度 k/％	$k>50$	$50\geqslant k>20$	$20\geqslant k>10$	$k\leqslant 10$
允许的相对偏差/％	±20	±25	±30	±50

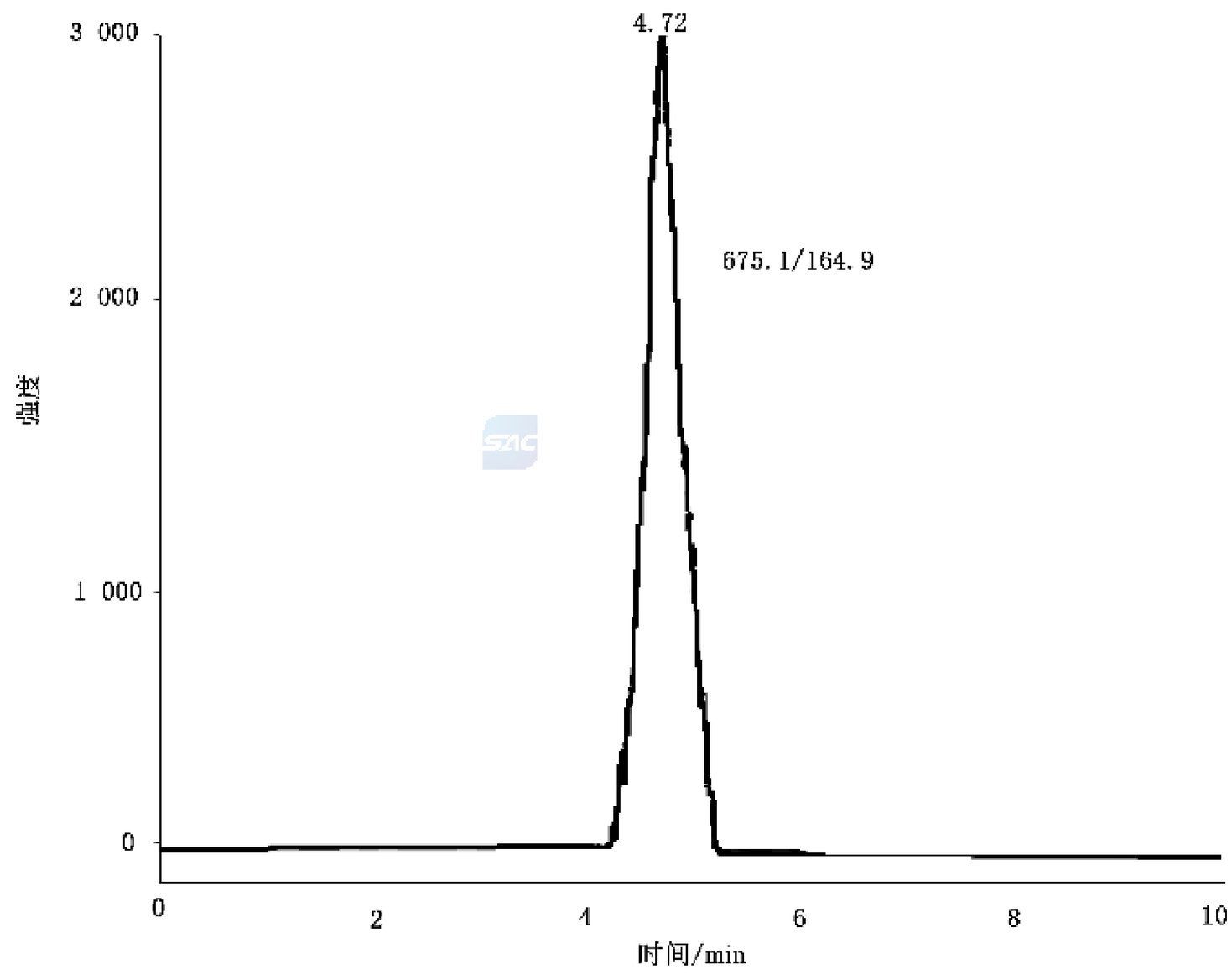


图 C.1　藜芦定的选择离子色谱图