

中华人民共和国国家标准

GB/T XXXXX—XXXX

化妆品中 16 种限用防晒剂和 7 种二苯酮类 紫外线吸收剂的测定-高效液相色谱法

Determination of 16 Kinds of Limited Sunscreen agents and 7 Kinds of
Benzophenone Series UV Absorbents in Cosmetic by HPLC

(征求意见稿)

图1 XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 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。

本标准由国家质量监督检验检疫总局提出。

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

本标准主要起草人：

本标准为首次发布。

化妆品中 16 种限用防晒剂和 7 种二苯酮类紫外线吸收剂的测定-高效液相色谱法

1. 适用范围

本方法建立了化妆品中16种限用防晒剂和7种二苯酮类紫外线吸收剂(如表1所示)测定的高效液相色谱法。

本方法适用范围为：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。

2. 方法提要

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。

本方法的检出限、定量下限及取0.1g样品时的检出浓度、最低定量浓度见表1（PBSA和PABA按稀释倍数折算的被测样液总体积为100mL，其它15种目标物按稀释倍数折算的被测样液总体积为10mL）。

表1 方法的检出限和定量限

序号	防晒剂名称	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	二乙氨基羟苯甲酰基苯甲酸己酯(DHMB)	0.030	0.10
14	奥克利林(OC)	0.030	0.10
15	PABA 乙基己酯(OD-PABA)	0.030	0.10
16	丁基甲氧基二苯酰基甲烷(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

3. 试剂和材料

除另有规定外，所用试剂均为分析纯，水为去离子水。

3.1 标准物质英文名称、CAS号、分子式、分子结构式、分子量、纯度见附录A。

3.2 甲醇：色谱纯。

3.3 甲酸：色谱纯。

3.4 乙醇：色谱纯。

3.5 标准储备溶液：分别准确称取各标准物质100 mg（以上质量均精确至0.1 mg）于棕色容量瓶中，苯基苯并咪唑磺酸用1%氨水氨化甲醇溶解后定容至10 mL，其他均用四氢呋喃溶解后定容至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。

3.6 标准溶液的配制：准确移取标准储备液各200 μ L，用甲醇定容至10 mL，配置成200 μ g/mL的混合标准溶液，再用甲醇逐级稀释配置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。

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 0.0001 g

4.4 分析天平：感量 0.00001g。

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 5000 转/分。

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）（注：对有用前混匀提示的化妆品样品需充分混合后再称量）于15 mL具塞刻度试管中，首先向试管中加入6 mL四氢呋喃（含0.1%氨水），涡旋或超声使样品完全分散。若不能分散一般适当超声可解决问题，对超声15 min仍无法分散的样品（例如唇膏样品），需用60 °C水浴，振荡加热约1~2分钟即可溶解分散。继续向试管中加入甲醇/水（3:1）（含0.1%氨水）定容至10 mL，涡旋混合。于5000 转/分离心5~10 min，取清液，聚丙烯微孔滤膜过滤，待用。

涉及对氨基苯甲酸、苯基苯并咪唑磺酸的检测，取上述待用清液100 μ L用30%甲醇稀释至1 mL，用聚丙烯微孔滤膜过滤后，方可上机测试，否则色谱峰受溶剂效应影响会出现峰形不好。将进样量减少为2 μ L，可有效避免色谱峰的溶剂效应，但注意计算时需要折算。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

色谱柱：Poreshell EC-C₁₈，3.0 mm×50 mm，2.7 μ m；柱温：35 °C；流动相：A 水溶液（含0.1%甲酸），B 乙醇:甲醇=1:3（v/v）；流速：1.0 mL/min；检测波长：311 nm和360 nm；进样量：5 μ L。梯度洗脱表见表2。

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16号丁基甲氧基二苯酰基甲烷（BMDBM）与17号甲氧基肉桂酸乙基己酯（EHMC）分离度不满意，可将5.1~10 min的75%有机相比例降低至73%并适当延长分离时间。注2：色谱柱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图1。

5.4 定量测定

一般情况下,移取系列标准溶液(3.6),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。二乙胺基羟苯甲酰基苯甲酸己酯和丁基甲氧基二苯酰基甲烷根据360nm下的紫外吸收进行定量计算。除此二者之外的目标物,均根据311nm下的紫外吸收进行定量计算。

样品溶液中目标物的含量,用标准曲线外标法确定。若待测溶液中目标物的质量浓度超过校准曲线线性范围的上限,须对待测液进行适当稀释后重新测定。化妆品样品中目标物的含量按“6项”计算。

乙基己基三嗪酮和双乙基己氧苯酚甲氧苯基三嗪两种化合物因回收率偏低,对该两种化合物的准确定量建议以空白基质加标获得实测值与实际添加量的比值作为回收率,定量结果以实测值经回收率折算后获得。

5.5 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数平均值的10%。

6 计算

$$\text{样品中目标物的含量(mg/g)} = \frac{C \times V}{m} \times 10^{-3}$$

式中: C——从标准曲线中计算出的样品溶液中目标物的质量浓度, $\mu\text{g/mL}$;

V——按稀释倍数折算的被测样液总体积, mL;

m ——称取样品的质量, g。

计算结果保留三位有效数字。

7. 回收率和精密度

加标水平在1.0~20 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,RSD小于10% (n=6)。其他15种目标物的回收率在90~105%之间,RSD小于10% (n=6)。

8. 色谱图

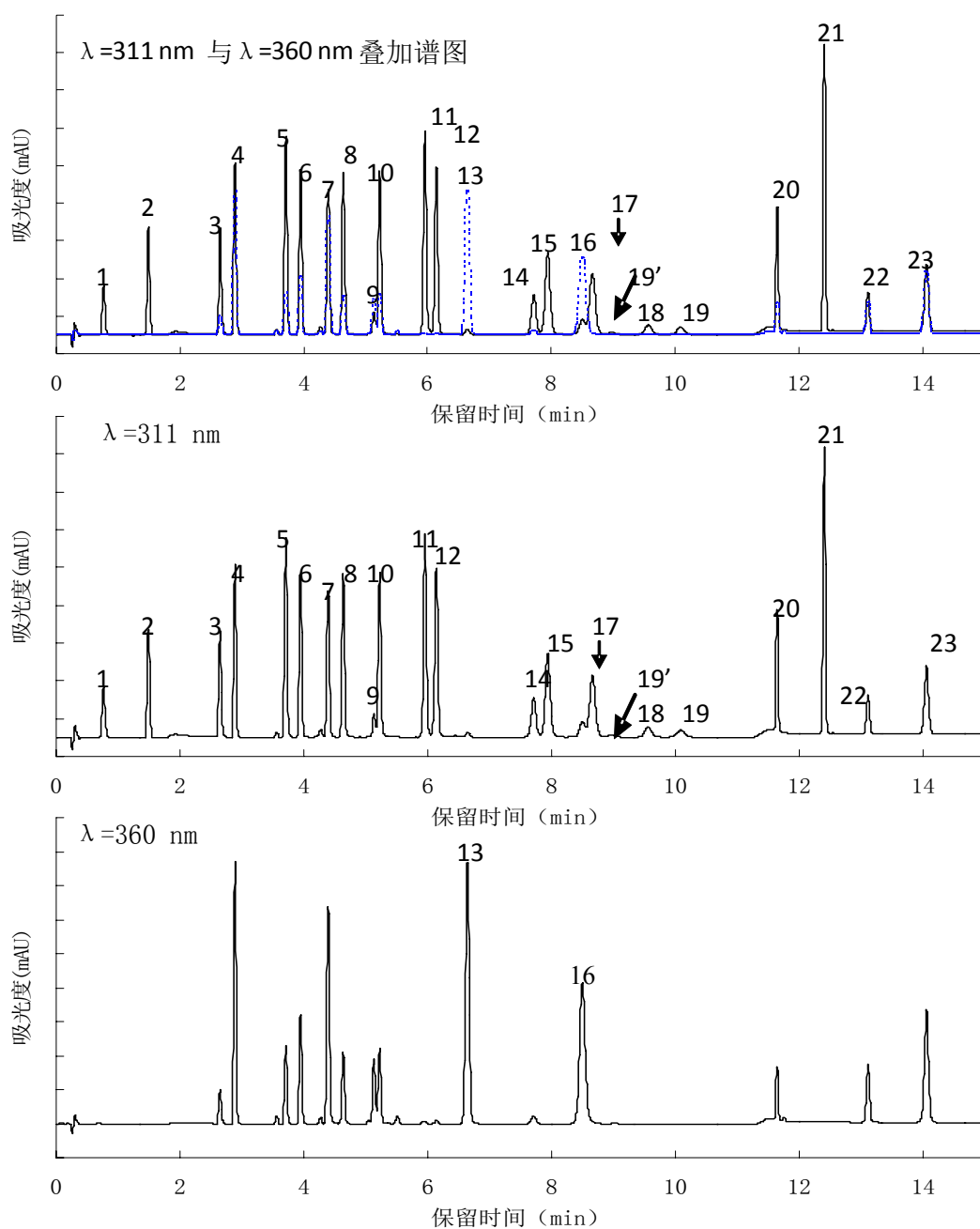


图 1 标准物质液相色谱分离图谱

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

9. 质谱确证

9.1 质谱参考条件

离子源:电喷雾电离源 (ESI源) 检测方式:多反应监测 (MRM)。

雾化气: 氮气, 35 Psi。干燥气: 氮气, 流速10 L/min, 温度: 350 °C。

碰撞气: 氮气。毛细管电压: 4000 V。其他质谱参数见表3。

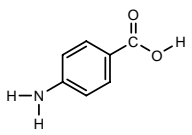
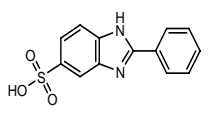
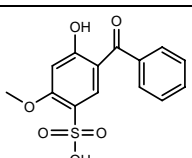
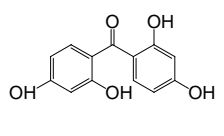
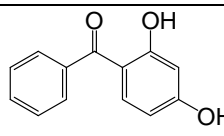
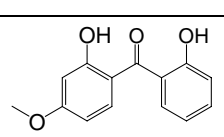
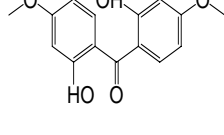
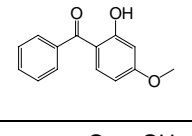
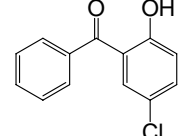
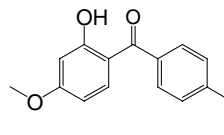
表 3 17 种目标物的质谱分析参考参数

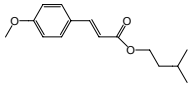
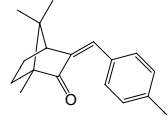
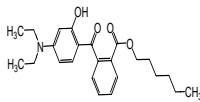
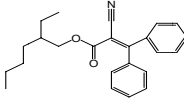
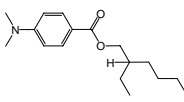
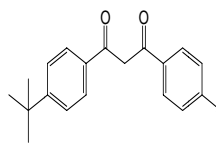
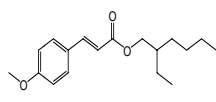
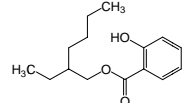
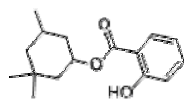
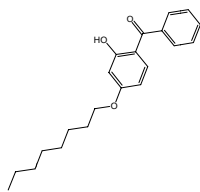
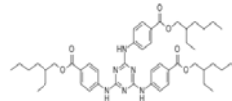
序号	化合物名称	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碰撞能量	扫描模式
1	对氨基苯甲酸	138.0	120.0 94.2	12 10	ESI+
2	苯基苯并咪唑磺酸	272.8	193.0 80.0	22 56	ESI-
3	二苯酮-4 和二苯酮-5	306.8	211.0 80.0	34 48	ESI-
4	二苯酮-2	244.9	134.9 109.0	22 28	ESI+
5	二苯酮-1	213.0	134.8 169.0	28 26	ESI-
6	二苯酮-8	243.0	123.0 93.0	23 27	ESI-
7	二苯酮-6	273.0	123.0 108.0	22 49	ESI-
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+
12	4-甲基苄亚基樟脑 防晒剂 BL-200	255.1	171.0 97.0	15 15	ESI+
13	二乙氨基羟苯甲酰基苯甲酸 己酯	398.1	149.0 120.9	14 54	ESI+
14	奥克利林	362.1	250.0 232.0	2.0 15	ESI+
15	PABA 乙基己酯	278.1	166.0 151.00	18 3	ESI+
16	丁基甲氧基二苯酰基甲烷	311.0	161.0 135.0	20 20	ESI+
17	甲氧基肉桂酸乙基己酯	291.1	178.9	2	ESI+

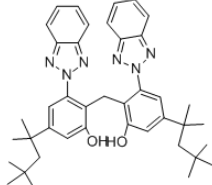
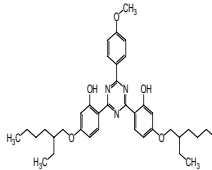
			161.0	14	
18	水杨酸乙基己酯	249.0	136.8 92.8	10 20	ESI-
19	胡莫柳酯	261.0	136.9 93.0	10 24	ESI-
20	二苯酮-12	327.2	215.0 137.0	28 37	ESI+
21	乙基己基三嗪酮	823.5	486.9 711.2	65 50	ESI+
22	亚甲基双-苯并三唑基四甲基丁基酚	659.4	336.0 264.9	30 60	ESI+
23	双-乙基己氧苯酚甲氧苯基三嗪	628.4	135.9 403.9	60 45	ESI+

附 录 A (资料性附录)

标准物质英文名称、CAS 号、分子式、分子结构式、分子量、纯度

序号	化合物名称	英文名称	CAS号	分子式	Structure	分子量	纯度
1	对氨基苯甲酸 (PABA)	4-Aminobenzoic acid	150-30-0	C ₇ H ₇ NO ₂		137.14	95% 以上
2	苯基苯并咪唑磺酸 (PBSA)	2-Phenylbenzimidazole-5-sulphonic acid and its potassium, sodium, and triethanolamine salts	27503-8 1-7	C ₁₃ H ₁₀ N ₂ O ₃ S		274.29	
3	二苯酮-4 和 二苯酮-5 (Bp-4/Bp-5)	2-Hydroxy-4-methoxybenzophenone-5-sulfonic acid and its sodium salt	4065-45- 6	C ₁₄ H ₁₂ O ₆ S		308.30	
4	二苯酮-2 (Bp-2)	Benzophenone-2	131-55-5	C ₁₃ H ₁₀ O ₅		246.22	
5	二苯酮-1 (Bp-1)	Benzophenone	131-56-6	C ₁₃ H ₁₀ O ₃		214.22	
6	二苯酮-8 (Bp-8)	Benzophenone-8	131-53-3	C ₁₄ H ₁₂ O ₄		244.24	
7	二苯酮-6 (Bp-6)	Benzophenone-6	131-54-4	C ₁₅ H ₁₄ O ₅		274.26	
8	二苯酮-3 (Bp-3)	Oxybenzone (INN)	131-57-7	C ₁₄ H ₁₂ O ₃		228.24	
9	二苯酮-7 (Bp-7)	Benzophenone-7	85-19-8	C ₁₃ H ₉ ClO ₂		232.66	
10	二苯酮-10 (Bp-10)	Benzophenone-10	1641-17- 4	C ₁₅ H ₁₄ O ₃		242.28	

11	p-甲氧基肉桂酸异戊酯 (IAMC)	Isopentyl-4-methoxycinnamate	71617-10-2	C ₁₅ H ₂₀ O ₃		248.32
12	4-甲基苄亚基樟脑 防晒剂 BL-200 (4MBC)	3-(4'-Methylbenzylidene)- <i>d</i> -l camphor	36861-47-9	C ₁₈ H ₂₂ O		254.37
13	二乙氨基羟苯甲酰基苯甲酸己酯 (DHHB)	Benzoic acid, 2-(4-(diethylamino)-2-hydroxybenzoyl)-,hexyl ester	302776-68-7	C ₂₄ H ₃₁ NO ₄		397.51
14	奥克利林 (OC)	2-Cyano-3,3-diphenyl acrylic acid, 2-ethylhexyl ester	6197-30-4	C ₂₄ H ₂₇ NO ₂		361.48
15	PABA 乙基己酯 (OD-PABA)	4-Dimethyl amino benzoate of ethyl-2-hexyl	21245-02-3	C ₁₇ H ₂₇ NO ₂		277.4
16	丁基甲氧基二苯酰基甲烷 (BMDBM)	1-(4-Tert-butylphenyl)-3-(4-methoxyphenyl)propane-1,3-dione	70356-09-1	C ₂₀ H ₂₂ O ₃		310.39
17	甲氧基肉桂酸乙基己酯 (EHMC)	2-Ethylhexyl 4-methoxycinnamate	5466-77-3	C ₁₈ H ₂₆ O ₃		290.40
18	水杨酸乙基己酯 (EHS)	2-Ethylhexyl salicylate	118-60-5	C ₁₅ H ₂₂ O ₃		250.338
19	胡莫柳酯 (HMS)	Homosalate	118-56-9	C ₁₆ H ₂₂ O ₃		262.34
20	二苯酮-12 (Bp-12)	Benzophenone-12	1843-05-6	C ₂₁ H ₂₆ O ₃		326.43
21	乙基己基三嗪酮(EHT)	UVT-150	88122-99-0	C ₄₈ H ₆₆ N ₆ O ₆		823.07

22	亚甲基双-苯并三唑基四甲基丁基酚 (MBBT)	Ultraviolet Absorbent	103597-45-1	$C_{41}H_{50}N_6O_2$		658.87	
23	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	