《口腔清洁护理用品 牙膏中十六烷基氯化吡啶（CPC）的测定 高效液相色谱法》

编制说明

（征求意见稿）

一、工作简况

1、任务来源

本项目是根据工业和信息化部 2018 年第一批行业标准制修订和外文版项目计划，工信厅科[2018]3 号，计划编号 2018-0079T-QB，项目名称“口腔清洁护理用品 牙膏中十六烷基氯化吡啶（CPC）的测定 高效液相色谱法”进行制定，主要起草单位：广州薇美姿实业有限公司、广州质量监督检测研究院，计划完成时间为 2019 年。

2、主要工作过程

（1）起草阶段：2018 年 1 月，广州薇美姿实业有限公司按照全国口腔护理用品标准化技术委员会牙膏分技术委员会，转发的工业和信息化部 2018 年第一批行业标准制修订和外文版项目计划的要求，成立了标准起草工作组。

工作组在前期对国内外十六烷基氯化吡啶（CPC）在牙膏中应用现状与发展情况进行全面调研，广泛搜集和检索了国内外十六烷基氯化吡啶的分析测试技术资料，并进行了大量的研究分析、资料查证及方法的确认工作，在此基础上，编制出《口腔清洁护理用品 牙膏中十六烷基氯化吡啶（CPC）的测定 高效液相色谱法》的标准草案初稿。于 2018 年 6 月形成了标准工作组讨论稿，经组长审核后，分别发到国家轻工业牙膏蜡制品质量监督检测中心、广州质量监督检测研究院、浙江方圆检测集团股份有限公司进行方法的验证工作。

（2）征求意见阶段：经标委会秘书处同意，2018 年 x 月 x 日，发送到行业有关单位广泛征求意见。截止 2018 年 x 月 x 日，共发函 x 个单位，收到 X 个单

位回函，其中 X 个单位提出了 X 条意见或建议。

（3）审查阶段：通过对这些反馈意见进行分类、归纳、整理和分析，工作组采纳　条，部分采纳 X 条，未采纳 X 条，并对标准征求意见稿进行了补充、修改，于 2018 年 x 月 x 日，完成了标准送审稿，提交全国口腔护理用品标准化技术委员会牙膏分技术委员会。全国口腔护理用品标准化技术委员会牙膏分技术委员会于 201x 年 x 月 x 日～x 日在 x 召开了 xx 会议，会上组织标委会全体到会委员对本标准进行了审查，获得一致通过。

（4）报批阶段：工作组按照会议审查意见对标准送审稿作了进一步的修改、整理和完善，于 201x 年 x 月 x 日，形成了标准报批稿，报标委会秘书处。

3、主要参加单位和工作组成员及其所做的工作等

本标准由广州薇美姿实业有限公司和广州质量监督检测研究院负责起草。

主要成员：

所做的工作：XXX 任工作组组长，主持全面协调工作。XXX 为本标准主要持笔人，负责本标准的起草、编写。XXX 为组员，负责对国内外十六烷基氯化吡啶的分析测试技术的现状与发展情况进行全面调研，进行研究分析、资料查证等工作。

二、标准编制原则和主要内容

1、标准编制原则

本标准的修订符合产业发展的原则，本着先进性、科学性、合理性和可操作性的原则以及标准的目标、统一性、协调性、适用性、一致性和规范性原则来进行本标准的修订工作。

本标准起草过程中，主要按 GB/T 1.1－2009《标准化工作导则 第 1 部分：标准的结构和编写》和 GB/T 1.2－2002《标准化工作导则 第 2 部分：标准中规范性技术要素内容的确定方法》进行编写。本标准修订过程中，主要参考了以下标准或文件：

GB/T 1.1－2009　标准化工作导则 第 1 部分：标准的结构和编写

GB/T 1.2－2002　标准化工作导则 第 2 部分：标准中规范性技术要素内容的确定方法

GB/T 6682-2008　分析实验室用水规格和试验方法

2、标准主要内容

本标准规定了高效液相色谱法测定牙膏中十六烷基氯化吡啶的方法要点、试剂与标准物质、仪器、分析步骤、结果计算、回收率和标准偏差等技术内容。

2.1 主要技术路线

称样→加溶剂→涡旋震荡分散→超声提取→取上清液滤膜过滤→进行HPLC 分析。

2.2 样品前处理条件的选择与优化

2.2.1 分散方式的选择

由于牙膏中含有羧甲基纤维素、黄原胶、卡拉胶等大分子量胶体，加入有机溶剂后，牙膏中胶体与固体摩擦剂迅速凝固成较硬的块体，采取磁力搅拌器以及超声处理，很难实现有效萃取。当采用纯水溶剂时，虽然可使膏体较好分散，但牙膏中大分子胶体溶解在水中，增加了过滤难度。

较多方法将牙膏直接称入容量瓶中，然后加入溶剂进行分散，然而该方法在实际称量操作中存在诸多不便，且将磁子加入容量瓶搅拌分散较慢，在样品量较多时影响检测效率。

综上考虑，我们采取有机溶剂+水的溶剂组合，兼顾膏体分散及后续过滤操作，另外，将膏体直接称入离心管中，加入一定量溶剂后，加入玻璃珠涡旋震荡，可快速、有效实现膏体分散，在此基础上进一步超声萃取，对目标成分进行有效提取。

2.2.2 提取溶液浓度的确定

由于牙膏含有大量的增稠剂，用水分散时，若水比例较大，一些增稠剂溶入水中，不利于膜过滤；水比例太小，牙膏结块较硬，又不利于膏体分散均匀。

按照样品的处理过程，分别考察 60%、70%、80%、90%的甲醇浓度对牙膏中十六烷基氯化吡啶的提取效果比较，其结果如表 1 所示，结果显示，当甲醇的用量为 80%时，能达到较好的提取效果。

表 1 不同浓度的甲醇对十六烷基氯化吡啶提取效率的比较

提取液	60%甲醇	70%甲醇	80%甲醇	90%甲醇
CPC 检测含量	4500 mg/kg	4800 mg/kg	4900 mg/kg	4700 mg/kg

2.2.3 提取时间的确定

称取一定量牙膏样品，加入 80%甲醇溶液，涡旋震荡，充分分散，然后用超声萃取 0 min、5 min、10 min、15 min、20 min，过有机滤膜，测定峰面积，发现样品在超声萃取 10 min 后检测，峰面积几乎没有变化，因此，最终确定超声萃取时间为 10 min，以保证目标物被有效萃取。

2.2.4 称样量的确定

在样品测试过程中发现，牙膏称样量对目标物的加标回收率影响较大，因此，进一步考察称样量的影响，确定最佳称样量，结果如表 2 所示，称样量为 0.5 g 时，样品加标回收率较高，因此，确定最佳称样量为 0.5g。

表 2 样品称样量对加标回收率的影响（n=6）

称样量（g）	0.5	1.0	1.5	2.0
加标回收率（%）	99.58	90.38	87.10	86.99

2.2.5 最终样品前处理条件

称取牙膏 0.5 g（精确至 0.001g）于 50 mL 离心管中，加入 3~4 颗玻璃珠，再加入 20 mL80%甲醇水溶液，涡旋震荡至膏体充分分散，再超声提取 10 min，取上清液过 0.45 μm 有机相滤膜。

2.3 仪器分析条件的选择和优化

2.3.1 色谱柱的选择

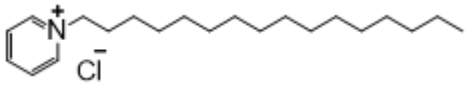


图1 十六烷基氯化吡啶分子结构图

由于十六烷基氯化吡啶是含有疏水性直链烷基的阳离子表活，具有较强的极性，相关文献报道中主要采用C8色谱柱、CN柱以及C18色谱柱。前期工作中，我们首先采用C18色谱柱进行检查，C18色谱柱在多次优化流动相后，色谱峰仍存在严重拖尾，较难得到对称性良好的峰形。近年来，亲水作用色谱逐渐得到更多的应用，对分离强极性物质具有较好的效果，因此，我们尝试采用Waters ACQUITY BEH Amide柱进行检测。Waters ACQUITY BEH Amide色谱柱能达到很好分离，且在初始检测中可以得到对称性良好的色谱峰，但随着进样次数增多及使用时间延长，该色谱柱柱效下降明显，色谱峰拖尾因子增加，影响与牙膏中其他物质分离。

进一步，我们采用氰基柱进行检测，在优化流动相条件后，该色谱柱可较好实现目标物与牙膏中其他物质分离，出峰较快，响应值高，且峰形良好。因此，最终选择氰基柱进行检测

2.3.2 检测波长的确定

在相关文献报道中有提出，十六烷基氯化吡啶的最大吸收波长在260 nm左右，为进一步确定该条件，以甲醇为溶剂配制一定浓度的十六烷基氯化吡啶标准溶液于TECAN酶标仪上进行吸光度扫描，吸收光谱图如图2所示，其最大吸收波长为 λ_{max}=260nm。

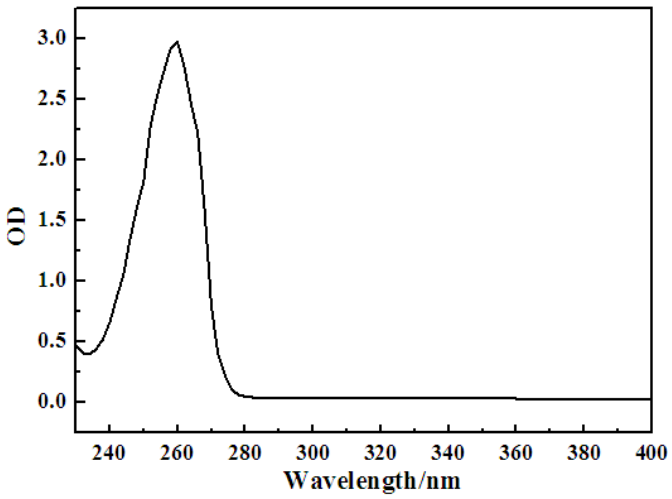


图2 十六烷基氯化吡啶吸收光谱图

2.3.3 流动相的确定

流动相的选择和配比决定了目标物的分离和检测时间。前期工作中，我们采用甲醇和水做为流动相，目标物保留时间长导致严重拖尾。根据相关文献报道，进一步采用25 mM四甲基氢氧化铵溶液（乙酸调pH5.0）和甲醇做流动相，通过调整流动相比例，以保留时间、理论塔板数以及能否与牙膏样品中干扰物分离等参数为指标，筛选最佳流动相比例，结果见表2。

表 2 不同比例流动相条件下色谱峰参数

流动相比例		保留时间（min）	USP理论塔板数	USP拖尾	牙膏样品中峰分离否
甲醇（%）	25 mM四甲基氢氧化铵（%）				
70	30	6.56	4888	2.13	是
80	20	3.63	7516	1.82	是
90	10	3.19	10005	1.56	是

从表中可以看出，在流动相条件90%甲醇/10%四甲基氢氧化铵（25mM）时，具有较优的理论塔板数，且保留时间合适，利于目标峰同牙膏中干扰峰分离。不同流动相条件下十六烷基氯化吡啶对照品色谱图如图3a，阳性牙膏试样色谱图如图3b。

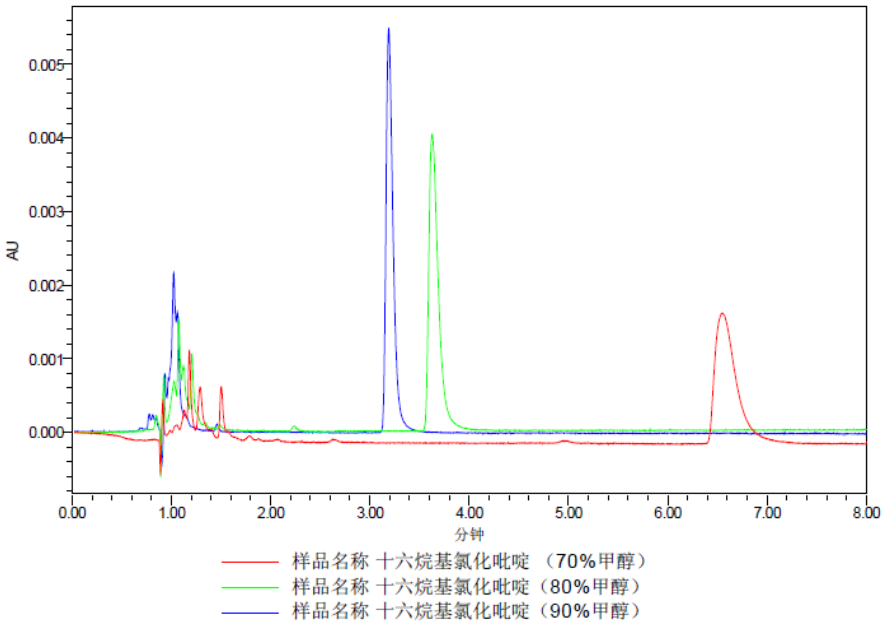


图 3a 十六烷基氯化吡啶对照品色谱图

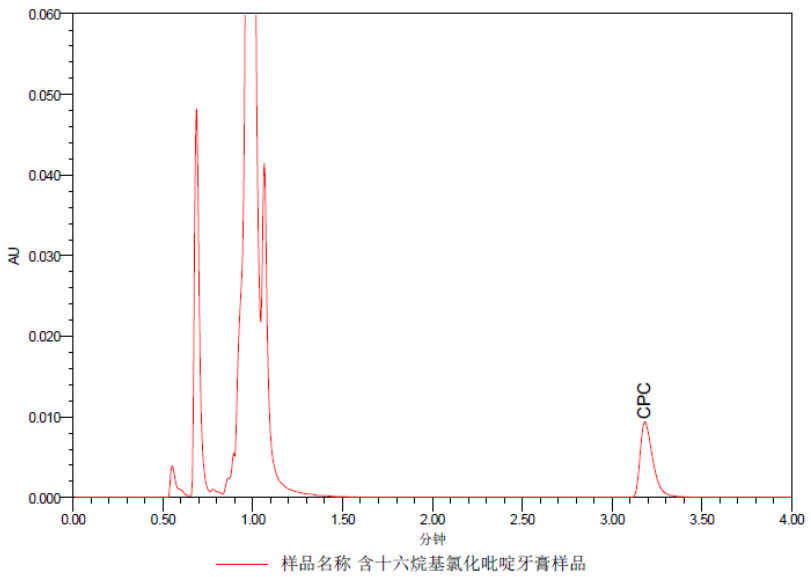


图 3b 牙膏样品中十六烷基氯化吡啶色谱图

2.3.4 优化后的仪器条件

由于本实验室方法开发使用仪器为超高效液相色谱仪，所优化后条件为UPLC适用条件，考虑方法适用性，由广州质量监督检测研究院完成UPLC条件向HPLC色谱条件转换。其中，方法前处理条件不变，主要对流动相流动相比例进行调整，根据HPLC仪器常规流速及进样量进行设置，并对该条件进行方法验证，详细参数设定如下表3：

表 3 UPLC 与 HPLC 条件下色谱峰参数

仪器参数	UPLC条件	HPLC条件
色谱柱	Waters ACQUITY UPLC®HSS CYANO 1.8 μm, 2.1mm ×100 mm	具有同等分离效果氰基柱
流动相	甲醇:25mM四甲基氢氧化铵=90/10（V:V）	甲醇:25mM四甲基氢氧化铵=80/20（V:V）
流速（mL/min）	0.3	1.5
进样量（μL）	5	20
检测波长（nm）	260	260
柱温（℃）	30	30

3 分析方法的性能考核

3.1 方法的线性关系

配制2.5 μg/mL、6.25 μg/mL、12.5 μg/mL、25 μg/mL、50 μg/mL、100 μg/mL、200 μg/mL的十六烷基氯化吡啶标准溶液系列，然后进样分析。考察十六烷基氯

化吡啶的峰面积和浓度的线性关系，如表4所示。可见十六烷基氯化吡啶浓度2.5～200 μg/mL范围内，呈现良好的线性关系。

表 4 对照品十六烷基氯化吡啶的回归方程、相关系数

线性方程	相关系数 R	线性范围（μg/mL）
Y=3436.7X-1821.3	0.9999	2.5-200

3.2 方法检出限、定量限的确定

向不含十六烷基氯化吡啶的空白牙膏基质中添加十六烷基氯化吡啶标准溶液，按照标准处理方法处理后，测定峰高信噪比为10∶1时添加的十六烷基氯化吡啶的量，确定本方法的最低定量限为0.7 μg/mL；测定峰高信噪比为3∶1时添加的十六烷基氯化吡啶的量，确定本方法的最低检出限为0.2 μg/mL。

表 4 十六烷基氯化吡啶的检出限、定量限、检出浓度和定量浓度

目标物	检出限 μg/mL	定量限 μg/mL	检出浓度 mg/kg	定量浓度 mg/kg
十六烷基氯化吡啶	0.2	0.7	8	28

3.3 方法的回收率

对3种不同空白基质牙膏，进行加标回收试验，每个添加浓度按照确定的分析方法做6次平行测定，并计算回收率和相对标准偏差（即精密度）。结果表明十六烷基氯化吡啶的回收率在92.7%～99.7%之间，相对标准偏差RSD在0.73%～3.60%之间，方法重现性良好。

加标回收率		二氧化硅			碳酸钙			磷酸氢钙		
添加浓度（mg/kg）		100	700	1500	100	700	1500	100	700	1500
测定结果（mg/kg）	1	97.3	700.6	1496.4	96.3	680.6	1488.1	89.3	690.1	1478.2
	2	98.6	705.1	1506.7	99.6	694.1	1470.9	90	673.3	1471.2
	3	99.1	695.4	1504.2	95.1	675.8	1496.2	92.4	674.8	1488.5
	4	96.5	688.8	1480.1	94.5	684.6	1481.3	93.5	684.4	1465.5
	5	97.4	694.7	1494.6	93.4	697.7	1498.4	92.4	687.2	1463.4
	6	99.8	701.2	1482.3	97.8	670.5	1515.2	98.7	671.9	1487.2
平均值 mg/kg		98.1	697.6	1494.1	96.1	683.9	1491.7	92.7	680.3	1475.7
平均回收率(%)		98.1	99.7	99.6	96.1	97.7	99.4	92.7	97.2	98.4

RSD(%)	1.28	0.83	0.73	2.37	1.54	1.03	3.60	1.16	0.73

3.5 同一样品检测重复性

取牙膏样品，做6平行，测定方法重复性。

序号	样品 CPC 含量(mg/kg)	平均值 (mg/kg)	相对标准偏差(%)
1	4720	4680	1.70
2	4530		
3	4710		
4	4.67		
5	4670		
6	4760		

通过实验，样品的十六烷基氯化吡啶含量在4680 mg/kg, 相对偏差为1. 70%，结果表明方法重复性好。

5 实际样品的测试

样品种类	序号	样品名称	十六烷基氯化吡啶含量%
漱口水	1	xx 双重薄荷漱口水	0.050
	2	xx 清心绿茶漱口水	0.075
	3	xx 护龈晶盐漱口水	0.050
	4	xx 冰爽薄荷漱口水	0.048
	5	xx 鲜果薄荷漱口水	0.074
	6	xx 草本盐爽漱口水	0.069
	7	xx 全效漱口水	0.070
	8	xx 士漱口水	0.072
	9	xx 草莓味漱口水	0.010
	10	xx 护理漱口水	0.048
牙膏	11	xxcheck up 儿童牙膏	0.008
	12	xx 米菲儿童牙膏	0.010
	13	xx 香草薄荷牙膏	0.042
	14	xx 草本薄荷牙膏	0.041
	15	xx 西瓜霜卓效亮白牙膏	未检出
	16	xx 四味中药牙膏	未检出
	17	xx 抗敏感牙膏	未检出
	18	xx 清火牙膏	未检出
	19	xx 固齿牙膏	未检出

	20	xx 亮齿白牙膏	未检出

三、主要试验（或验证）情况

本方法邀请了 3 家有资质的检测机构质检科分别进行了方法验证工作，验证报告见附件。

验证结果显示，在重复性实验条件下，三家实验室标准工作曲线的线性良好，线性相关系数 R 在 0.9999 以上；不同基质、高中低三种浓度回收率均能满足标准文本的回收率要求，平均回收率在 93.8%～100.2%之间；数据的精密度良好，相对标准偏差在 0.49~3.03%以内。

实验室间样品测试情况见下表，三个样品不同实验室测试值相对标准偏差在 5.0%以内，方法的精密度高。

样品名称	国家轻工业牙膏蜡制品检测中心	广州质量监督检测研究院	浙江方圆检测集团股份有限公司	平均值	RSD (%)
xx 牙膏（香草薄荷）（mg/kg）	478.1	492.3	519.4	496.6	4.2
xx 米菲儿童牙膏（水果味）（mg/kg）	106.7	99.5	109.0	105.1	4.7
xx 漱口水（清心绿茶）（mg/kg）	744.3	729.6	738.2	737.4	1.0

四、标准中涉及专利的情况

本标准不涉及专利问题。

五、预期达到的社会效益、对产业发展的作用等情况

本标准为制定项目，采用先进的高效液相色谱技术，解决了牙膏中十六烷基氯化吡啶含量的测定问题。十六烷基氯化吡啶是一种高效广谱杀菌剂，广泛应用于各类牙膏和漱口水中，有效抑制口腔中厌氧菌等细菌，能够帮助抑制牙菌斑的积累和牙龈发炎。虽然十六烷基氯化吡啶在牙膏中的使用没有限量要求，但十六烷基氯化吡啶具有一定毒性，牙膏产品中过量添加 CPC 可能给消费者健康带来

隐患。目前，国内口腔护理产品中西吡氯铵的检测尚无相关地方或行业标准，本次报批的《口腔清洁护理用品 牙膏中十六烷基氯化吡啶的测定 高效液相色谱法》，是对牙膏中有效成分检测方法的重要补充。通过制订该标准，可以更好地为行业、企业服务，有利于产业结构调整和升级。

六、与国际、国外对比情况

本标准没有采用国际标准。

本标准制定过程中未查到同类国际、国外标准。

本标准水平为国内先进水平。

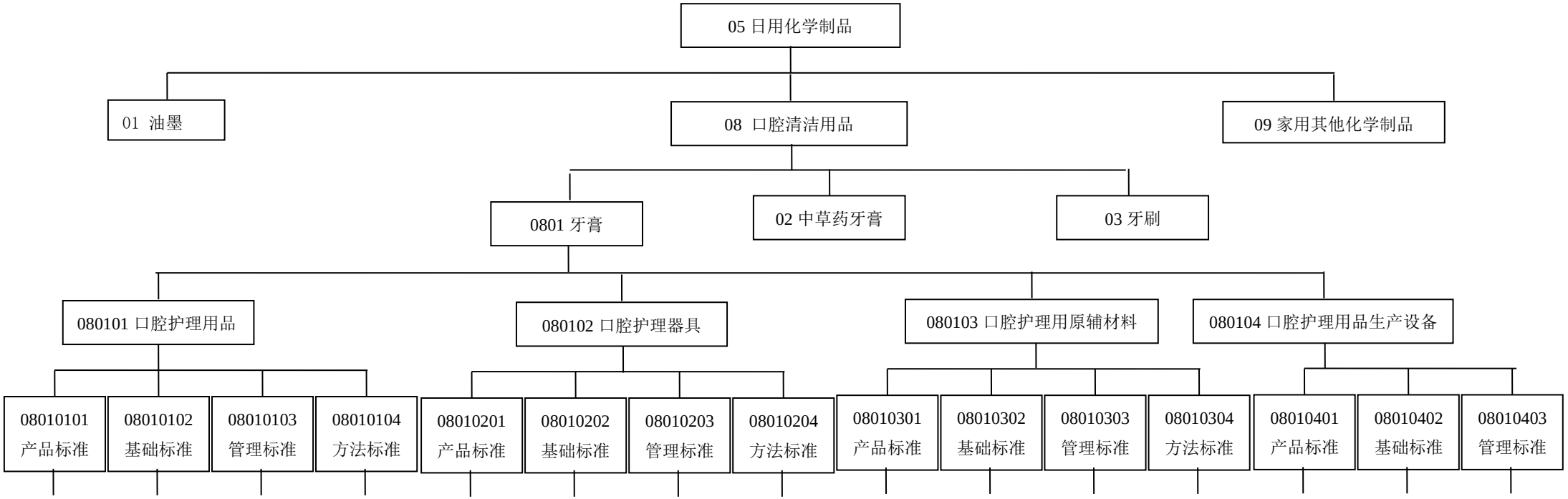
七、在标准体系中的位置，与现行相关法律、法规、规章及标准，特别是强制性标准的协调性

本专业领域标准体系框图如下图。

本标准属于口腔清洁用品标准体系“牙膏”小类，“口腔护理用品”组，“方法标准”系列。

本标准与现行相关法律、法规、规章及相关标准协调一致。

标准体系框图


05 日用化学制品
01 油墨
08 口腔清洁用品
09 家用其他化学制品
0801 牙膏
02 中草药牙膏
03 牙刷
080101 口腔护理用品
080102 口腔护理器具
080103 口腔护理用原辅材料
080104 口腔护理用品生产设备
08010101 产品标准
08010102 基础标准
08010103 管理标准
08010104 方法标准
08010201 产品标准
08010202 基础标准
08010203 管理标准
08010204 方法标准
08010301 产品标准
08010302 基础标准
08010303 管理标准
08010304 方法标准
08010401 产品标准
08010402 基础标准
08010403 管理标准

八、重大分歧意见的处理经过和依据

无。

九、标准性质的建议说明

建议本标准的性质为推荐性行业标准。

十、贯彻标准的要求和措施建议

建议本标准批准发布 6 个月后实施。

建议本标准由全国口腔护理用品标准化技术委员会牙膏分技术委员会组织宣贯实施，企业可按照行业标准的规定和要求对企业内部标准进行修订，或根据行业标准实施时间要求拟订企标整改过渡措施。

十一、废止现行相关标准的建议

无。

十二、其他应予说明的事项

无。

十六烷基氯化吡啶试验验证报告

一、液相色谱条件（包括仪器、检测条件）

仪器：高效液相色谱仪（Waters 2487）

色谱柱：氰基柱 Platisil CN（250mm×4.6mm×5μm）

流动相：25mM 四甲基氢氧化铵（乙酸调 pH=5.0）：甲醇=20:80

流速：1.5mL/min

检测波长：260nm

柱温：30℃

进样量：20μL

二、 样品前处理方法

称取 0.5g 牙膏样品于 50mL 离心管中，加入数颗研磨玻璃珠，用移液管加入 20mL 甲醇水溶液(甲醇:水=80:20), 涡旋混合均匀, 超声 10min, 5000rpm 离心 10min，取上清液过 0.22μm 滤膜，待测。

三、 线性范围

项目	1	2	3	4	5	6	线性方程	相关系数
浓度（mg/L）	6.25	12.50	25.00	50.00	100.00	200.00	Y=9211X+6067	0.9999
峰面积	59281	127011	235490	465065	928576	1847867		

四、 检出限及定量限

检出浓度（mg/L）	定量浓度(mg/L)
0.2	0.7

取样量 0.5 g，定容至 20mL 时

检出限（mg/kg）	定量限(mg/kg)
8	28

五、 加标回收和精密度结果（n=6）

加标回收率		二氧化硅			碳酸钙			磷酸氢钙		
加标浓度 (mg/L)		1.96	100	200	1.96	100	200	1.96	100	200
测定结果（mg/L）	1	1.87	95.00	195.13	1.84	98.23	199.91	1.83	98.50	201.5
	2	1.86	94.84	195.68	1.85	97.33	200.8	1.89	99.07	200.74
	3	1.80	96.22	197.27	1.92	97.55	200.52	1.81	98.63	201.66
	4	1.88	97.16	197.20	1.93	98.44	199.88	1.85	98.98	197.54
	5	1.91	98.99	195.10	1.82	97.72	197.04	1.87	98.96	198.05
	6	1.83	98.60	197.35	1.90	98.83	198.16	1.95	99.18	198.40
平均值（mg/L）		1.86	96.80	196.30	1.88	98.02	199.3	1.87	98.89	199.60
平均回收率(%)		94.9	96.8	98.2	96.0	98.0	99.6	95.4	98. 9	99.8
RSD(%)		2.08	1.82	0.55	2.45	0.59	0.70	2.66	0.27	0.90

六、　实际样品测试

样品名称	1	2	3	4	5	6	均值	RSD（%）
GUM 牙膏（香草薄荷）（mg/kg）	473.1	484.6	489.8	473.2	476.7	471.1	478.1	1.56
GUM 米菲儿童牙膏（水果味）（mg/kg）	106.2	106.0	106.9	107.7	106.5	107.1	106.7	0.59
黑人漱口水（清心绿茶）（mg/kg）	744.6	744.1	745.9	742.7	742.1	746.6	744.3	0.24
舒客红花清火牙膏（mg/kg）	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出	——
两面针四味针火牙膏（mg/kg）	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出	——

七、验证结论

根据验证方案，标准物质在 6.25mg/L 到 200mg/L 呈线性，线性相关系数为 0.9999。

此方法的检出浓度为 0.2 mg/L，定量浓度为 0.7 mg/L；取 0.5g 样品测定，加提取液 20mL，方法的检出限为 8 mg/kg，定量限为 28 mg/kg。

采用三种不同基质空白牙膏样品做 1.96 mg/L、100 mg/L、200 mg/L 三种浓度加标回收，六水平的回收率试验，平均回收率在 94.9%到 99.8%之间，相对标准偏差 0.27%到 2.66%之间，符合方法验证要求。

根据验证方案，测试实际样品中十六烷基氯化吡啶的含量，GUM 牙膏（香草薄荷）的十六烷基氯化吡啶含量为 478.1 mg/kg，相对标准偏差为 1.56%（n=6）；GUM 米菲儿童牙膏（水果味）的十六烷基氯化吡啶含量为 106.7 mg/kg，相对标准偏差为 0.59%（n=6）；黑人漱口水（清心绿茶）的十六烷基氯化吡啶含量为 744.3mg/kg，相对标准偏差为 0.24%（n=6）；舒客红花清火牙膏和两面针四味针火牙膏均未检出十六烷基氯化吡啶。

验证人：

验证单位：国家轻工业牙膏蜡制品质量监督检测中心

验证试验报告

一、液相色谱条件

仪器：高效液相色谱仪（Agilent 1260）
色谱柱：氰基柱（250mm×4.6mm×5μm）
流动相：25mM 四甲基氢氧化铵（乙酸调 pH=5.0）：甲醇=20：80
流速：1.5 mL/min
检测波长：260 nm
柱温：30 ℃
进样量：20 μL

二、样品前处理方法

称取牙膏样品 0.5 g 于 50 mL 离心管中，加入数颗研磨玻璃珠，用移液管加入 20mL 甲醇水溶液（甲醇：水=80:20），涡旋混匀，超声 10 min，5000rpm 离心 10 min，取上清液过 0.22 μm 滤膜，待测。

三、线性范围

项目	1	2	3	4	5	6	线性方程	相关系数
浓度（mg/L）	2.5	6.25	12.5	25.0	50.0	100.0	Y=8.7512x－3.7210	0.9999
峰面积	18.6	52.3	106.6	214.7	441.5	873.5		

四、检出限及定量限

检出浓度（mg/L）	定量浓度(mg/L)
0.5	1.5

取样量 0.5g，加提取液 20 mL 时

检出限（mg/kg）	定量限(mg/kg)
20	60

五、加标回收和精密度结果（n=6）

加标回收率		二氧化硅			碳酸钙			磷酸氢钙		
加标浓度（mg/kg）		100	700	1500	100	700	1500	100	700	1500
测定结果（mg/kg）	1	95.1	664.8	1465.3	93.2	670.5	1435.8	93.8	685.1	1461.3
	2	96.8	678.2	1448.2	95.8	688.8	1443.5	92.7	698.1	1438.5
	3	94.7	688.9	1431.5	95.7	691.4	1465.1	96.7	681.5	1429.5
	4	96.1	662.1	1457.8	96.2	695.7	1435.8	94.9	695.6	1419.6
	5	97.4	693.1	1465.1	94.9	678.5	1440.5	97.6	681.5	1425.8
	6	94.3	689.5	1435.7	94.6	675.4	1461.4	93.3	675.3	1416.5
平均值（mg/kg）		95.7	679.4	1450.6	95.1	683.4	1447.0	94.8	686.2	1431.9
平均回收率(%)		95.7	97.1	96.7	95.1	97.6	96.5	94.8	98.0	95.5
RSD(%)		1.29	1.97	1.01	1.15	1.46	0.90	2.06	1.29	1.14

六、实际样品测试

样品名称	1	2	3	4	5	6	均值	RSD（%）
黑人清心绿茶漱口水（mg/kg）	736.9	721.3	732.5	728.3	738.1	720.8	729.6	1.03
GUM 牙周护理牙膏（香草薄荷）（mg/kg）	492.7	492.7	494.5	490.7	487.9	495.1	492.3	0.54
GUM 米菲儿童牙膏（水果味）（mg/kg）	99.6	99.2	100.5	98.3	97.9	101.3	99.5	1.30
舒客红火清火牙膏（mg/kg）	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出	/
两面针中药四味针火牙膏（mg/kg）	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出	/

七、验证结论

根据验证方案，标准物质在 2.5 mg/L 到 100 mg/L 呈线性。

此方法的检出浓度为 0.5 mg/L，定量浓度为 1.5 mg/L，取 0.5 g 样品测定，加提取液 20 mL，方法的检出限为 20 mg/kg，定量限为 60mg/kg。

采用三种不同基质空白牙膏样品做 100mg/kg、700 mg/kg、1500mg/kg 三种浓度加标回收，六水平的回收率试验，平均回收率在 94.8%-98.0%之间，相对标准偏差 0.90%-2.06%之间，符合方法验证要求。

根据验证方案，测试实际样品中十六烷基氯化吡啶的含量，黑人清心绿茶漱口水的十六烷基氯化吡啶含量为 729.6 mg/kg，相对标准偏差为 1.03%（n=6）；GUM 牙周护理牙膏（香草薄荷）的十六烷基氯化吡啶含量为 492.3 mg/kg，相对标准偏差为 0.54%（n=6）；GUM 米菲儿童牙膏（水果味）的十六烷基氯化吡啶含量为 99.5 mg/kg，相对标准偏差为 1.30%（n=6）；舒客红火清火牙膏和两面针中药四味针火牙膏均未检出十六烷基氯化吡啶。

验证人：

验证单位：广州质量监督检测研究院

十六烷基氯化吡啶试验验证报告

一、液相色谱条件（包括仪器、检测条件）

仪器：高效液相色谱仪（Agilent 1200）

色谱柱：氰基柱（205mm×4.6 mm×5μm）

流动相：25mM 四甲基氢氧化铵（乙酸调 pH=5）：甲醇=20:80

流速：1.5 mL/min

紫外检测波长：260nm

柱温：30℃

进样量：20μL

二、 样品前处理方法

精确称取牙膏样品 0.5g(精确至 0.0001g)于 50 mL 离心管中，加入数颗研磨玻璃珠，用移液管移入 20mL 甲醇水溶液（甲醇：水=80:20），涡旋震荡至牙膏完全分散，超声 10 min，5000rpm 离心 10 min，取上清液过 0.22μm 滤膜，待测。

三、 线性范围

项目	1	2	3	4	5	6	线性方程	相关系数
浓度（ug/mL）	6.25	12.50	25.00	50.00	100.00	200.00	Y=8.0240X+8.5374	0.9999
峰面积	56.6	114.6	211.3	412.0	814.0	1610.7		

四、 检出限及定量限

检出浓度（mg/L）	定量浓度(mg/L)
0.2	0.7

取样量 0.5g，定容至 20 mL 时

检出限（mg/kg）	定量限(mg/kg)
8	28

五、 加标回收和精密度结果（n=6）

加标回收率		二氧化硅			碳酸钙			磷酸氢钙		
加标浓度(mg/kg)		100	700	1500	100	700	1500	100	700	1500
测定结果（mg/kg）	1	96.2	700.3	1487.6	92.9	679.5	1493.8	99.3	695.7	1497.7
	2	94.8	685.7	1492.7	97.4	687.3	1495.2	92.6	702.6	1502.3
	3	91.7	709.8	1478.3	95.6	685.2	1482.5	95.7	704.3	1485.7
	4	92.5	689.3	1482.8	91.3	669.8	1490.3	98.6	700.2	1492.2
	5	93.3	695.1	1455.1	92.5	673.7	1487.6	92.4	705.6	1501.8
	6	94.6	694.6	1463.7	93.5	698.4	1504.1	96.2	700.1	1489.3
平均值(mg/kg)		93.8	695.8	1476.7	93.9	682.3	1492.2	95.8	701.4	1494.8
平均回收率(%)		93.8	99.4	98.4	93.9	97.5	99.5	95.8	100.2	99.7
RSD(%)		1.77	1.22	0.98	2.38	1.51	0.49	3.03	0.51	0.46

六、 实际样品测试

样品名称	1	2	3	4	5	6	均值	RSD（%）
GUM 牙膏（香草薄荷）（mg/kg）	540.6	518.9	516.7	499.2	529.3	511.6	519.4	2.76
GUM 米菲儿童牙膏（水果味）（mg/kg）	111.4	109.5	104.4	116.8	104.8	107.0	109.0	4.30
黑人漱口水（清心绿茶）（mg/kg）	751.7	744.8	733.4	745.1	725.5	728.8	738.2	1.42
舒客红花清火牙膏（mg/kg）	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出	/
两面针四味针火牙膏（mg/kg）	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出	未检出	/

七、 验证结论

根据验证方案，标准物质在 6.25mg/L 到 200mg/L 呈线性，线性相关系数为 0.9999。此方法的检出浓度为 0.2mg/L，定量浓度为 0.7mg/L;取 0.5g 样品测定，加提取液 20mL，方法检出限为 8mg/kg，定量限为 28 mg/kg。

采用三种不同基质空白牙膏样品做 100mg/kg、700 mg/kg、1500 mg/kg 三种浓度的加标回收，六水平的回收率实验，平均回收率在 93.8%-100.2%之间，相对标准偏差在 0.49%-3.03%之间，符合方法验证要求。

根据验证方案，测试实际样品中十六烷基氯化吡啶含量，GUM 牙膏（香草薄荷）中十六烷基氯化吡啶含量为 519.4mg/kg，相对标准偏差为 2.76%（n=6）；GUM 米菲儿童牙膏（水果味）中十六烷基氯化吡啶含量为 109.0mg/kg，相对标准偏差为 4.30%（n=6）；黑人漱口水（清心绿茶）(mg/kg)中十六烷基氯化吡啶含量为 738.2mg/kg，相对标准偏差为 1.42%(n=6)；舒客红花清火牙膏和两面针四味针火牙膏中均未检出十六烷基吡啶。

验证人：杨铭 2018.7.24

验证单位：浙江方圆检测集团股份有限公司