



中华人民共和国国家标准

GB/T XXXXX—XXXX

化妆品中乌洛托品的测定 液相色谱-串联 质谱法

Determination of hexamethylenetetramine in cosmetics — Liquid chromatography –
tandem mass spectrometry

(征求意见稿)

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 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

本文件按照 GB/T 1.1-2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利，本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中国轻工业联合会提出。

本文件由全国香料香精化妆品标准化技术委员会（SAC/TC 257）归口。

本文件起草单位：***。

本文件主要起草人：***。

引 言

本文件的被测物质是我国《化妆品安全技术规范（2015年版）》规定的禁用原料。

禁用原料是指不得作为化妆品原料使用的物质。《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，本文件的制定，仅对化妆品中测定该物质提供检测方法。

化妆品中乌洛托品的测定 液相色谱-串联质谱法

警示——使用本文件的人员应有正规实验室工作的实践经验。本文件并未指出所有可能的安全问题。使用者有责任采取适当的安全和健康措施，并保证符合国家有关规定的条件。

1 范围

本文件描述了化妆品中乌洛托品的液相色谱串联质谱测定方法的原理、试剂和材料、仪器设备、试样制备和试验步骤、试验数据处理、回收率和精密度等内容。

本文件适用于水剂类、膏霜类和乳液类化妆品中乌洛托品的测定。

本文件方法检出限为0.10 mg/kg，定量限为0.20 mg/kg。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

试样经20%乙腈溶液涡旋振荡，超声提取，离心，正己烷液液萃取净化过滤后，得到目标物待测溶液。将目标物待测溶液注入液相色谱-串联质谱仪，以保留时间和相对离子丰度定性，内标法定量。

5 试剂和材料

除非另有规定，仅使用色谱纯试剂。

5.1 水：GB/T 6682，一级。

5.2 乙腈：色谱纯。

5.3 乙酸铵：色谱纯。

5.4 正己烷：色谱纯。

5.5 20%乙腈溶液：取 20 mL 乙腈（5.2），用水（5.1）稀释至 100 mL，混匀。

5.6 乙酸铵溶液（0.005 mol/L）：称取 0.3854 g 乙酸铵（5.3），用水（5.1）溶解并稀释至 1 L，混匀。

5.7 乌洛托品标准物质：纯度不小于 99%，标准物质的英文名称、CAS 号、分子式、相对分子质量及化学结构式见附录 A 表 A.1。

- 5.8 乌洛托品内标（乌洛托品-D¹²）：纯度不小于 99%，乌洛托品-D¹² 的英文名称、CAS 号、分子式、相对分子质量及化学结构式见附录 A 表 A.1。
- 5.9 标准储备液（ $\rho=1000\ \mu\text{g/mL}$ ）：准确称取适量标准物质（5.7）（精确至 0.000 1 g）置于 10 mL 棕色容量瓶中，用乙腈（5.2）溶解并定容至刻度，即得质量浓度为 1000 $\mu\text{g/mL}$ 的标准储备液，于 -20°C 或以下避光保存，可保存 1 个月。
- 5.10 内标储备液（ $\rho=1000\ \mu\text{g/mL}$ ）：准确称取适量内标物质（5.8）（精确至 0.000 1 g），置于 10 mL 棕色容量瓶中，用乙腈（5.2）溶解并定容至刻度，即得质量浓度为 1000 $\mu\text{g/mL}$ 的内标储备液，于 -20°C 或以下避光保存，可保存 1 个月。
- 5.11 内标中间工作液（ $\rho=5.0\ \mu\text{g/mL}$ ）：准确移取内标储备液 0.050 mL，置于 10 mL 棕色容量瓶中，用乙腈（5.2）定容至刻度，即得质量浓度为 5.0 $\mu\text{g/mL}$ 的内标中间工作液，现配现用。
- 5.12 滤膜：孔径 0.22 μm ，材质为聚四氟乙烯。

6 仪器设备

- 6.1 液相色谱-串联质谱仪：配有电喷雾离子源。
- 6.2 分析天平：感量 0.001 g 和 0.000 01 g。
- 6.3 漩涡振荡器。
- 6.4 超声波清洗仪：工作频率不低于 40 kHz。
- 6.5 离心机：最高转速不低于 4 000 r/min。

7 试样制备和试验步骤

7.1 试样制备

取样前应将样品充分混匀。水剂类样品将样品摇匀后取样；膏霜类、乳液类样品将样品挤出、混匀后取样。

称取 0.5 g（精确至 0.00 1 g）试样，置于 25 mL 具塞比色管中，准确加入 0.400 mL 内标中间工作溶液（5.0 $\mu\text{g/mL}$ ）（5.10），涡旋混合均匀。准确加入 8 mL 20% 乙腈（5.5），具塞后涡旋混合均匀，超声 10 min，冷却至室温后定容至刻度（V₁）。加入 5 mL 正己烷（5.4），涡旋混匀，于 4000 r/min 离心 5 min，取 1 mL（V₂）下层清液用 20% 乙腈（5.5）稀释至 10 mL（V₃），经微孔滤膜过滤后待测。

7.2 测定

7.2.1 液相色谱参考工作条件

液相色谱参考工作条件如下：

- 色谱柱：低密度 C₁₈ 键合的硅胶反向色谱柱，1.8 μm ，100 mm × 2.1 mm（内径），或相当者；
- 流动相：乙腈（5.2）和乙酸铵溶液（0.005 mol/L）（5.6），梯度洗脱条件见表 1；
- 流速：0.3 mL/min；
- 柱温：30 °C；
- 进样量：5 μL 。

表 1 液相色谱梯度洗脱条件

时间/min	乙腈/%	乙酸铵溶液（0.005 mol/L）/%
--------	------	----------------------

0.0	5	95
1.0	5	95
3.5	95	5
6.0	95	5
6.1	5	95
8.0	5	95

7.2.2 质谱参考工作条件

质谱参考工作条件如下：

- a) 离子源：电喷雾离子源（ESI）；
- b) 扫描方式：正离子扫描；
- c) 喷雾电压：5500 V；
- d) 离子源温度：400°C；
- e) 雾化气压力：0.276 MPa；
- f) 辅助气压力：0.414 MPa；
- g) 气帘气压力：0.276 MPa；
- h) 检测方式：多反应监测（MRM）；
- i) 母离子、子离子、去簇电压及碰撞电压见表2。

表 2 乌洛托品及其内标的质谱参数

化合物	保留时间 /min	母离子/ (<i>m/z</i>)	子离子/ (<i>m/z</i>)	去簇电压/V	碰撞室出口 电压/V	碰撞电压 /V
乌洛托品	1.33	141.0	112.2 ^a , 98.2	80	10.0	20.0, 18.0
乌洛托品-D ¹²	1.33	153.1	122.2 ^a , 105.2	80	10.0	20.0, 20.0
^a 定量离子						

7.2.3 标准工作曲线绘制

标准中间工作液：准确移取标准储备液 0.25 mL，置于 25 mL 棕色容量瓶中，用乙腈（5.2）定容至刻度，即得质量浓度为 1.0 μg/mL 的标准中间工作液，现用现配。

标准工作溶液：分别移取 0.010、0.020、0.050、0.100、0.200 和 0.500 mL 标准中间工作液（1.0 μg/mL）于 10 mL 容量瓶中，分别加入内标中间工作液（5.10）0.040 mL，用 20% 乙腈（5.5）定容至刻度，摇匀，得到质量浓度为 1.00 μg/L、2.00 μg/L、5.00 μg/L、10.0 μg/L、20.0 μg/L 和 50.0 μg/L，内标浓度为 20.0 μg/L 的系列混合标准工作溶液，现配现用。

将标准工作溶液按液相色谱和质谱参考工作条件（7.2.1 和 7.2.2）进行测定，以目标物定量离子色谱峰的峰面积与内标离子峰面积比值为纵坐标，与其对应的标准溶液浓度比值为横坐标作图，绘制标准工作曲线。

乌洛托品标准溶液和内标溶液的多反应监测色谱图见附录 B 图 B.1。

7.2.4 试样测定

按液相色谱和质谱参考工作条件（7.2.1 和 7.2.2）测定试样溶液（7.1），如果检出色谱峰的保留时间与标准物质的一致，并且在扣除背景后的试样质谱图中，所选择的离子均出现，而且选择离子的相对离子丰度与标准物质的进行比较，相对偏差不超过表 3 规定的范围，可判定为试样中含有对应的待测物。

记录定量离子色谱峰的峰面积，以内标法定量。试样溶液中被测物的响应值均应在标准曲线的线性范围之内，超出线性范围的试样溶液可用 20% 乙腈（5.5）稀释后进行测定。

表 3 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 /%	$k > 50$	$50 \geq k > 20$	$20 \geq k > 10$	$k \leq 10$
允许的最大偏差/%	± 20	± 25	± 30	± 50

7.3 空白试验

除不称取试样外，均按 7.1~7.2 步骤进行测定。

8 试验数据处理

试样中乌洛托品含量按公式（1）计算：

$$w = \frac{\rho \times V_1 \times V_3}{m \times V_2 \times 1000} \times \frac{1000}{1000} \times k \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中：

w ——试样中乌洛托品的含量，单位为毫克每千克（mg/kg）；

c_i ——从标准曲线得到的试样溶液中乌洛托品的质量浓度（应扣除空白值），单位为微克每升（ $\mu\text{g/L}$ ）；

V_1 ——定容的体积，单位为毫升（mL）；

V_2 ——移取下层清液的体积，单位为毫升（mL）；

V_3 ——取下层清液稀释后的体积，单位为毫升（mL）；

m ——试样质量，单位为克（g）；

k ——超线性范围的稀释倍数；

1000——单位换算系数。

计算结果保留三位有效数字。

9 回收率

在添加浓度为 0.20 mg/kg ~ 2.00 mg/kg 范围内，回收率在 80% ~ 115 % 之间。

10 精密度

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)

乌洛托品标准物质和内标的信息

乌洛托品和内标的英文名称、CAS号、分子式、相对分子质量及化学结构式见表A.1。

表 A.1 乌洛托品标准物质和内标的信息

序号	中文名称	英文名称	CAS 号	分子式	相对分子质量	化学结构式
1	乌洛托品	Methenamine	100-97-0	$C_6H_{12}N_4$	140.19	
2	乌洛托品 -D ¹²	Methenamine-D ¹²	23304-08-7	$C_6D_{12}N_4$	152.26	

附录 B
(资料性)

乌洛托品标准溶液和内标溶液的多反应监测色谱图

乌洛托品标准溶液和内标溶液的多反应监测色谱图见图 B.1。

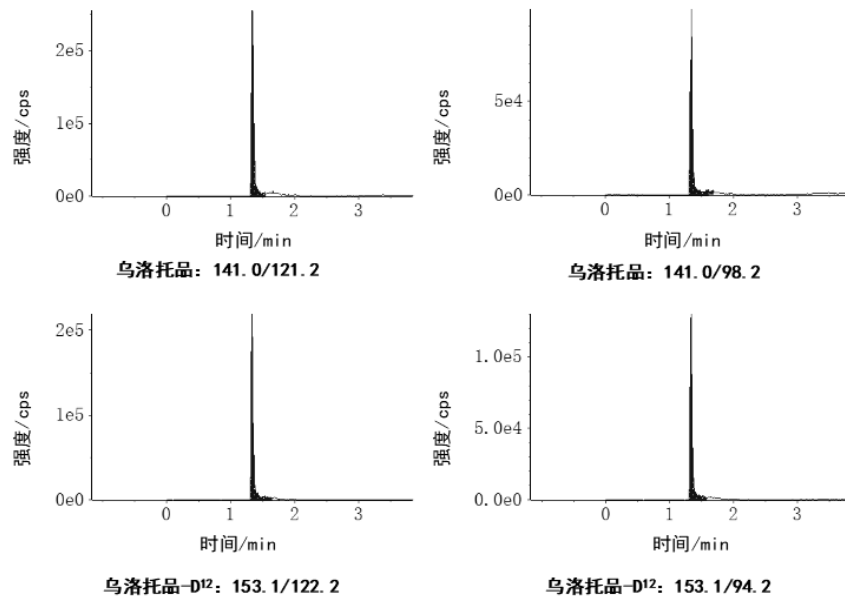


图 B.1 乌洛托品标准溶液和内标溶液的多反应监测色谱图