附件14

化妆品中吡硫翁锌等5种物质的检测方法

**1 适用范围**

本方法规定了测定发用类化妆品中水杨酸、吡硫翁锌、酮康唑、氯咪巴唑和吡罗克酮乙醇胺盐5种物质的高效液相色谱法。

本方法适用于发用类化妆品中水杨酸、吡硫翁锌、酮康唑、氯咪巴唑和吡罗克酮乙醇胺盐5种物质的含量测定。

**2 方法提要**

 水杨酸、吡硫翁锌、酮康唑、氯咪巴唑和吡罗克酮乙醇胺盐5种物质在230nm处有紫外吸收，以乙腈＋甲醇＝95＋5提取妆品中的上述5种物质，用高效液相色谱分离，并根据保留时间和紫外光谱图定性，峰面积定量。本方法中5种物质的检出限、定量下限及取0.5g样品时的检出浓度和最低定量浓度见表1。

表1 5种物质的检出限、定量下限、检出浓度和最低定量浓度

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 物质名称 | 水杨酸 | 吡硫翁锌 | 酮康唑 | 氯咪巴唑 | 吡罗克酮乙醇胺盐 |
| 检出限 （ng） | 3 | 12 | 4 | 3 | 5 |
| 定量下限 （ng） | 10 | 40 | 15 | 10 | 20 |
| 检出浓度 （% ） | 0.006 | 0.02 | 0.008 | 0.006 | 0.01 |
| 最低定量浓度（%） | 0.02 | 0.08 | 0.03 | 0.02 | 0.04 |

注：以上数据是使用二极管阵列检测器，检测波长为230nm时获取的。

**3 试剂和材料**

除另有规定外，所用试剂均为分析纯，水为一级实验用水。

3.1 甲醇，色谱纯。

3.2 乙腈，色谱纯。

3.3 磷酸，相对密度=1.685，*w*（H3PO4）=85%，优级纯。

3.4 磷酸二氢钾。

3.5 乙二胺四乙酸二钠。

3.6 水杨酸，纯度≥99%。

3.7 吡硫翁锌，纯度≥96%。

3.8 酮康唑，纯度≥99%。

3.9 氯咪巴唑，纯度≥99%。

3.10 吡罗克酮乙醇胺盐，纯度≥99%。

3.11 混合标准溶液：称取适量上述5种物质（精确至0.0001g），加85mL左右的乙腈＋甲醇＝95＋5混合溶液，超声，待溶解完全后转移至100mL容量瓶中，用此混合溶液定容，配成如表2所示浓度的混合标准储备溶液（室温放置可保存1周），再用混合溶液稀释混合标准储备溶液配成系列浓度混合标准工作溶液。

表2 5种物质混合标准储备溶液及工作溶液的浓度

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 物质名称 | 水杨酸 | 吡硫翁锌 | 酮康唑 | 氯咪巴唑 | 吡罗克酮乙醇胺盐 |
| 混合标准储备溶液浓度（mg/L） | 400 | 200 | 400 | 400 | 500 |
| 混合标准工作溶液浓度（mg/L） | 40 | 20 | 40 | 40 | 50 |
| 80 | 40 | 80 | 80 | 100 |
| 160 | 80 | 160 | 160 | 200 |
| 320 | 160 | 320 | 320 | 400 |
| 400 | 200 | 400 | 400 | 500 |

**4 仪器和设备**

4.1 高效液相色谱仪，具有二极管阵列检测器，配色谱工作站。

4.2 微量进样器或自动进样装置。

4.3 pH计。

4.4 超声波清洗器。

4.5 离心机。

4.6 分析天平，感量0.0001g。

4.7 分析天平，感量0.001g。

**5 测定步骤**

5.1 样品预处理

称取样品约0.5g（精确至0.001g）于50mL具塞比色管中，加入乙腈＋甲醇＝95＋5的混合溶液至刻度，振摇，超声提取30min，取出后放置至室温。浑浊溶液可取适量5000rpm离心5min。经0.45μm滤膜过滤，滤液作为待测样液备用。

5.2 测定

5.2.1 色谱参考条件

 色谱柱：C18 柱，150mm×4.6mm，5μm。

 流动相：乙腈+甲醇+10mmol/L磷酸二氢钾水溶液 [添加乙二胺四乙酸二钠至*c*（Na2EDTA）=0.5mmol/L，用磷酸调节水溶液的pH至4.0 ]＝50+10+40。

 流速：1.0mL/min。

检测器：二极管阵列检测器，通用检测波长为230nm；水杨酸和吡罗克酮乙醇胺盐的测定可采用300nm；吡硫翁锌的测定可采用340nm。

 柱温：25℃。

5.2.2 校准曲线的制备

在设定色谱条件下，分别取混合标准工作溶液（3.6）5μL进行高效液相色谱分析。根据混合标准工作溶液的质量浓度和峰面积，绘制校准曲线。

5.2.3 样品测定

在设定色谱条件下，进5μL待测样液进行高效液相色谱分析。色谱图检出的物质，经与该物质对照品的保留时间和紫外光谱图比较确证后，根据峰面积，从校准曲线上获取相应组分的质量浓度。若待测样液中待测物质的质量浓度超过了校准曲线线性范围的上限，需对待测样液进行适当稀释。

5.2.4 平行实验

 按以上步骤，做两份样品的平行测定。在重复性条件下获得的两次独立测试结果的绝对差值不大于这两次测定值的算术平均值的10%。

**6 计算**

 D *×* *ρ × V*

*w*= —————— ×10-4

 *m*

式中：*w* —— 化妆品中5种物质的质量分数，%；

*ρ* —— 从校准曲线上查得的待测样液中5种物质的质量浓度，mg/L；

*V* —— 样品定容体积，mL；

*m* —— 样品取样量，g；

*D* —— 稀释倍数（不稀释则取1）。

**7 回收率和精密度**

经多家实验室验证，5种物质的加标回收率在88% ~ 110%之间，相对标准偏差在0.2% ~ 3.8%之间。

**8 干扰排除**

对于有干扰的样品，测定水杨酸和吡罗克酮乙醇胺盐时建议检测波长调整为300nm，测定吡硫翁锌时检测波长调整为340nm。

**9 色谱图**

min

0

2

4

6

8

10

12

14

16

mAU

0

100

200

300

400

500

 1

 2

3

 4

 5

230nm

min

0

2

4

6

8

10

12

14

16

mAU

0

50

100

150

200

250

300

 1

2

3

 4

 5

300nm

min

0

2

4

6

8

10

12

14

16

mAU

0

50

100

150

200

250

300

 1

 2

 3

 5

 4

340nm

图1 不同检测波长下5种物质的标准色谱图

1．水杨酸；2．吡硫翁锌；3．酮康唑；4．氯咪巴唑；5．吡罗克酮乙醇胺盐