



中华人民共和国轻工行业标准

QB/T XXXXX—XXXX

口腔清洁护理用品 牙膏中 *p*-氯-*m*-甲酚、 六氯酚、双氯酚、溴氯芬、苜氯酚、氯二甲 酚 6 种氯酚类防腐剂含量的测定 高效液相 色谱法

Oral care and cleansing products-Determination of *p*-chloro-*m*-cresol,
hexachlorophene, dichlorophen, bromochlorophen, chlorophene and chloroxylenol 6
chlorophenol preservatives in toothpastes-High performance liquid chromatography

(报批稿)

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 实施

中华人民共和国工业和信息化部 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。

本文件由中国轻工业联合会提出。

本文件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（SAC/TC492/SC1）归口。

本文件起草单位：广州质量监督检测研究院，暨南大学、重庆登康口腔护理用品股份有限公司、福建爱洁丽日化有限公司、柳州两面针股份有限公司、淮安纵横生物科技有限公司淮阴分公司、黑龙江省轻工科学研究院。

本文件主要起草人：汪毅、刘忠、夏泽敏、田政、聂明霞、陈万金、黄华来、郑焕杰、李一清、张恒、李鑫宇、梁文耀、莫庭源、税钿、谭建华、席绍峰、郭长虹、赵珊珊。

本文件为首次发布。

口腔清洁护理用品 牙膏中 p-氯-m-甲酚、六氯酚、双氯酚、溴氯芬、苜氯酚、氯二甲酚 6 种氯酚类防腐剂含量的测定 高效液相色谱法

1 范围

本文件规定了高效液相色谱法测定牙膏等口腔护理用品中 p-氯-m-甲酚、六氯酚、双氯酚、溴氯芬、苜氯酚、氯二甲酚 6 种氯酚类防腐剂的试剂、仪器和设备、分析步骤、结果计算、检出浓度和定量浓度、回收率和精密度、允许差。

本文件适用于牙膏等口腔护理用品中 p-氯-m-甲酚、六氯酚、双氯酚、溴氯芬、苜氯酚、氯二甲酚 6 种氯酚类防腐剂的测定。

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 术语与定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

试样经 70% 乙腈水溶液提取，离心过滤后，用高效液相色谱仪测定 p-氯-m-甲酚、六氯酚、双氯酚、溴氯芬、苜氯酚、氯二甲酚 6 种氯酚类防腐剂，以保留时间和紫外光谱图定性，外标法定量。

5 试剂和材料

5.1 除另有规定外，本实验用水均为 GB/T 6682 中规定的一级水。

5.2 对照物质：纯度均不小于 95%。p-氯-m-甲酚等 6 种氯酚的相关信息参见附录 A 的表 A.1。

5.3 乙腈：色谱纯。

5.4 甲酸：分析纯。

5.5 0.1% 甲酸水溶液 (v/v)：准确量取 1 mL 甲酸 (5.4) 至 1000 mL 容量瓶，加水定容至刻度，混匀。

5.6 70% 乙腈水溶液 (v/v)：准确量取 700 mL 乙腈 (5.3) 至 1000 mL 容量瓶，加水定容至刻度，混匀。

5.7 单标标准储备溶液 (1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$)：分别称取各对照物质 (5.2) 约 10 mg (精确至 0.01 mg) 于 10 mL 容量瓶中，用 70% 乙腈水溶液 (5.6) 定容至刻度，混匀。

5.8 混合标准工作溶液：用70%乙腈水溶液(5.6)将标准储备溶液(5.7)分别配成一系列浓度0.5 μg/mL、1.0 μg/mL、2.0 μg/mL、5.0 μg/mL、10.0 μg/mL、20.0 μg/mL的标准工作溶液。

5.9 石英砂：25~150目。

5.10 微孔滤膜：有机相，0.45 μm。

6 仪器和设备

6.1 高效液相色谱仪：配二极管阵列检测器。

6.2 高效液相色谱串联质谱仪。

6.3 分析天平：精度为0.1 mg和0.01 mg。

6.4 离心机：转速不低于10 000 r/min。

6.5 涡旋振荡器：震荡速度不低于1 500 r/min。

6.6 超声波清洗器：功率不低于250W。

7 分析步骤

7.1 试样处理

将牙膏试样挤去20 mm后，称取约1 g试样（精确至0.001 g）至50 mL聚丙烯离心管中，加入约1 g石英砂（5.9），涡旋后准确加入70%乙腈水溶液（5.6）20 mL，涡旋混匀后超声提取10 min，然后取适量提取液以10 000 r/min离心5 min，上清液经0.45 μm滤膜（5.10）过滤，供高效液相色谱测定。

7.2 液相色谱参考条件

液相色谱参考条件如下：

- 色谱柱：Waltch XB-C₁₈柱（4.6 mm×150 mm，5 μm），或等效色谱柱；
- 流动相：乙腈（5.3）+0.1%甲酸（5.5），梯度洗脱，洗脱程序见表1；
- 流量：1 mL/min；
- 检测波长：六氯酚、溴氯芬检测波长为298 nm，其他组分检测波长为282 nm；
- 柱温：30℃；
- 进样量：20 μL。

表1 梯度洗脱程序

时间 min	乙腈 %	0.1%甲酸 %
0	30	70
2	50	50
7	50	50
12	90	10
19	90	10
19.1	30	70
25	30	70

7.3 测定

7.3.1 标准曲线绘制

分别将标准工作溶液（5.8）注入高效液相色谱仪，在7.2色谱条件下测定标准溶液，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制标准曲线。6种氯酚高效液相色谱图参见附录B中的图B.1。

7.3.2 样品测定

将按7.1处理好的待测试样溶液注入高效液相色谱仪，在7.2的色谱条件下进行测定，根据保留时间和紫外吸收光谱图定性，采用外标法定量。6种氯酚对应的紫外吸收光谱图分别见附录B中的图B.2~B.7。

试样溶液中6种氯酚的响应值应在标准曲线的线性范围内，超过线性范围则应稀释后再进行分析。

8 结果计算

试样中目标物的含量 X 按公式（1）计算：

$$X = \frac{c \times V \times f}{m} \dots\dots\dots(1)$$

式中：

X —— 试样中目标物的含量，单位为毫克每千克（mg/kg）；

c —— 试样溶液中目标物浓度，单位为微克每毫升（ $\mu\text{g/mL}$ ）；

V —— 定容体积，单位为毫升（mL）；

f —— 稀释倍数，不稀释时为1；

m —— 试样质量，单位为克（g）。

9 检出浓度和定量浓度

6种氯酚类防腐剂的检出限均为4 mg/kg；定量限均为10 mg/kg。

10 回收率和精密度

6种氯酚在添加浓度10 mg/kg~200 mg/kg的浓度范围内，方法的回收率在 90%~ 102%之内，相对标准偏差小于5.0%。

11 允许差

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的10%。

附录 A

(资料性)

6种氯酚中文名称、英文名称、CAS号、分子式、结构式及相对分子质量

6种氯酚中文名称、英文名称、CAS号、分子式、结构式及相对分子质量参见表A.1。

表A.1 6种氯酚中文名称、英文名称、CAS号、分子式、结构式及相对分子质量

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	P-氯-m-甲酚	p-Choro-m-cresol	59-50-7	C_7H_7ClO	142.58	
2	六氯酚	Hexachlorophene	70-30-4	$C_{13}H_6Cl_6O_2$	406.90	
3	双氯酚	Dichlorophen	97-23-4	$C_{13}H_{10}Cl_2O_2$	269.12	
4	氯二甲酚	Chloroxylenol	88-04-0	C_8H_9ClO	156.61	
5	苜氯酚	Clorofene	120-32-1	$C_{13}H_{11}ClO$	218.68	
6	溴氯芬	Bromochlorophen	15435-29-7	$C_{13}H_8Br_2Cl_2O_2$	426.92	

附录 B
(资料性)

6 种氯酚标准溶液及阳性样品 HPLC 色谱图及紫外吸收光谱图

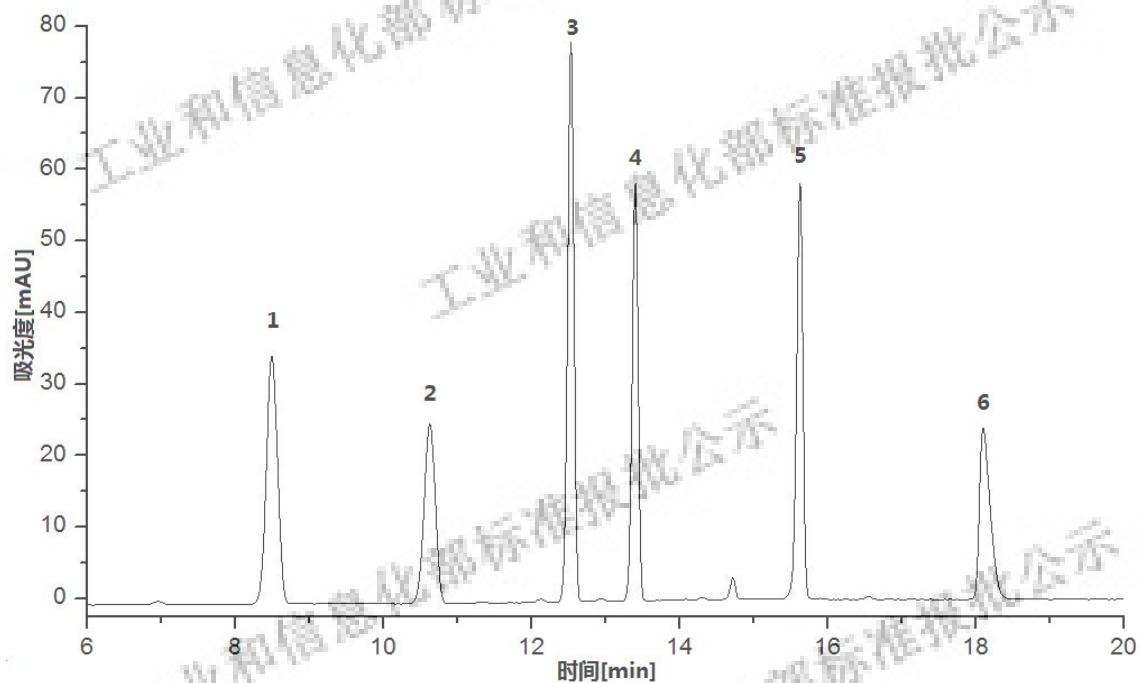


图 B.1 6 种氯酚高效液相色谱图 (282nm)

(1: p-氯-m-甲酚、2: 氯二甲酚、3: 双氯酚、4: 苜氯酚、5: 溴氯芬、6: 六氯酚)

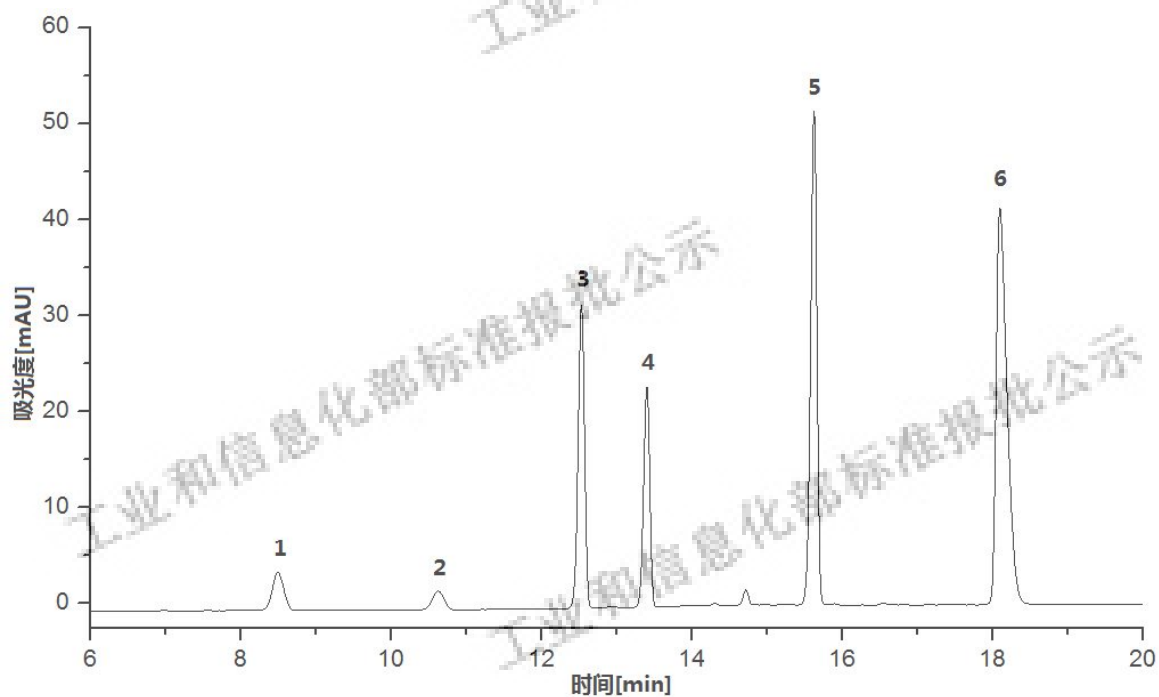


图 B.2 6 种氯酚高效液相色谱图 (298nm)

(1: p-氯-m-甲酚、2: 氯二甲酚、3: 双氯酚、4: 苜氯酚、5: 溴氯芬、6: 六氯酚)

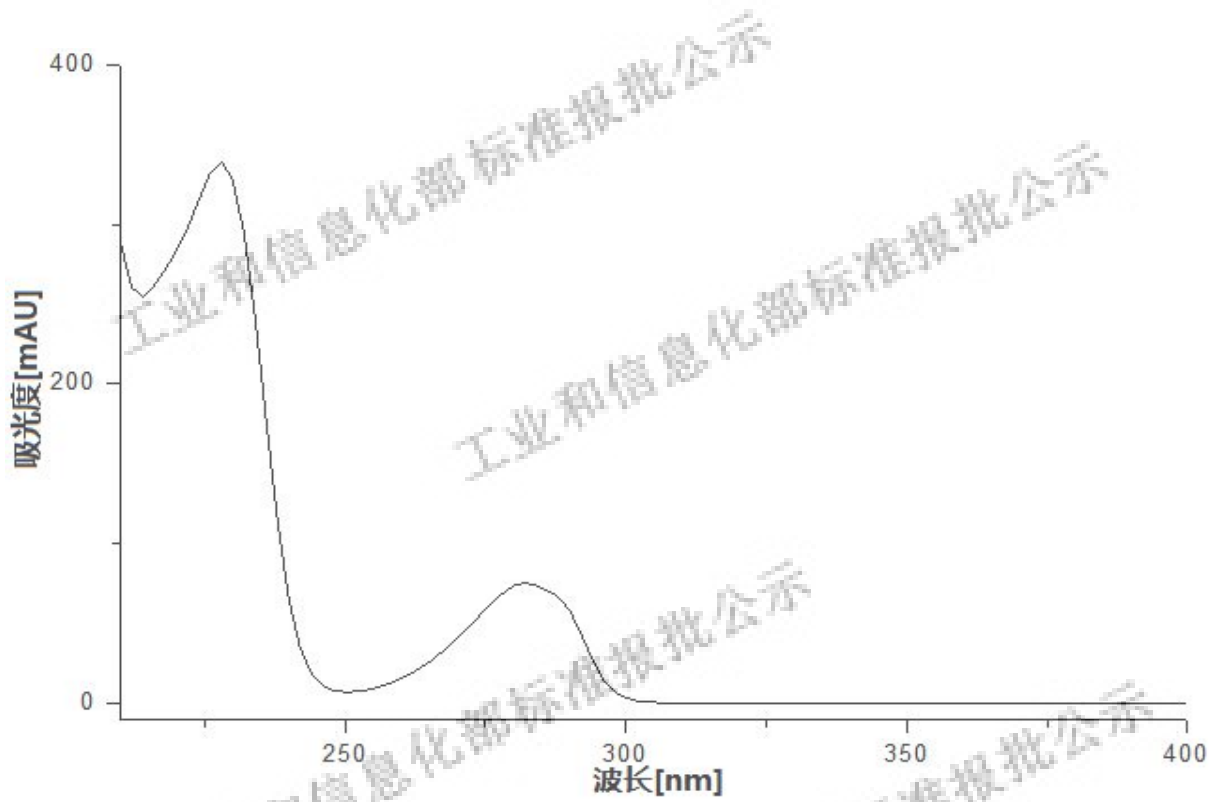


图 B.3 p-氯-m-甲酚紫外吸收光谱图

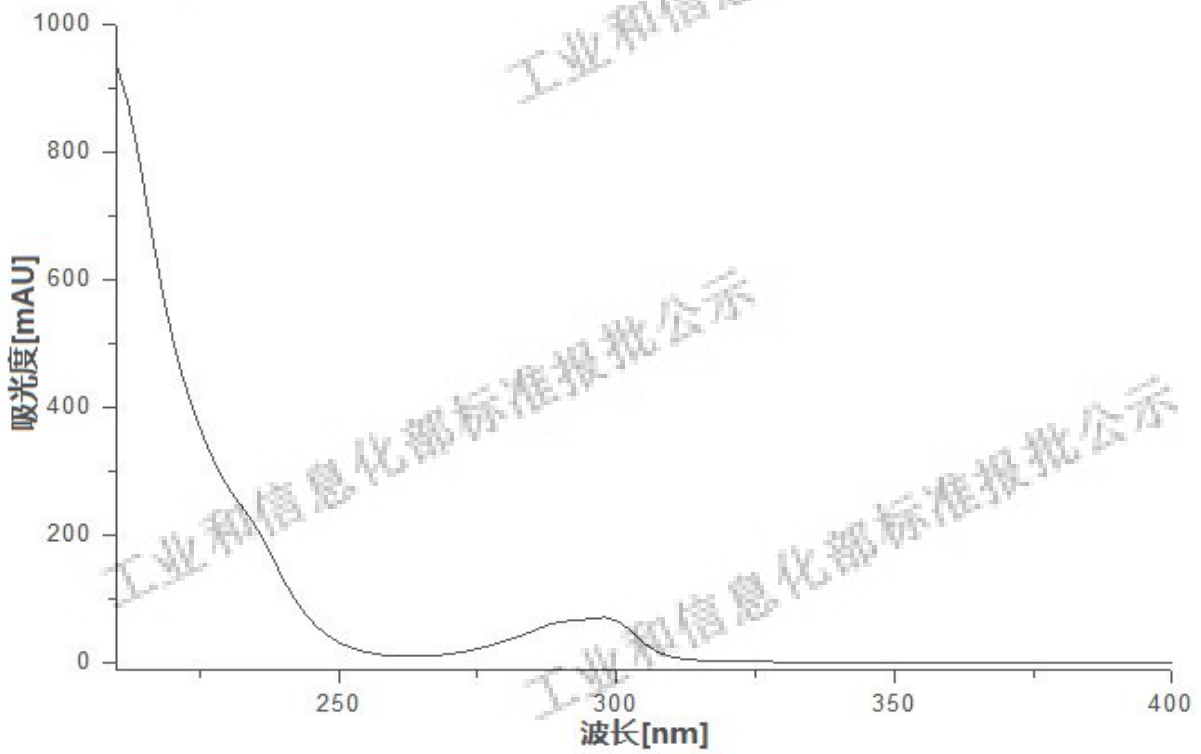


图 B.4 六氯酚紫外吸收光谱图

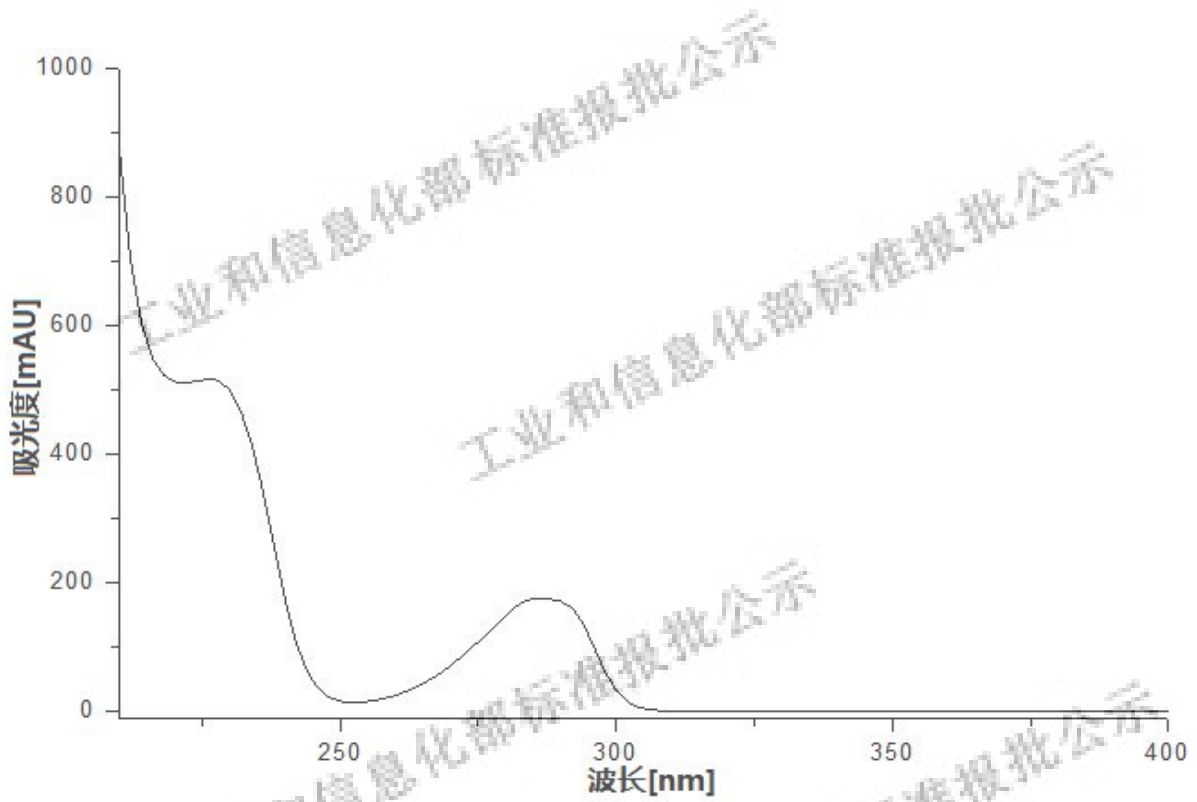


图 B.5 双氯酚紫外吸收光谱图

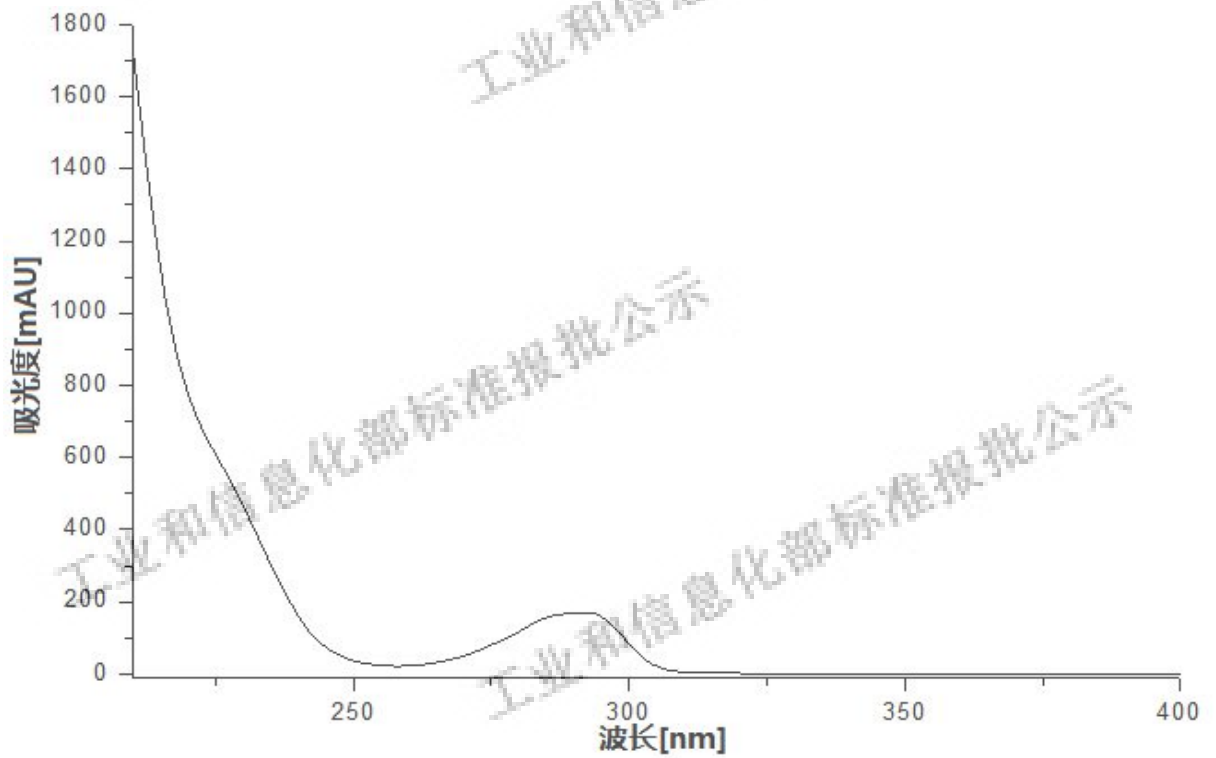


图 B.6 溴氯芬紫外吸收光谱图

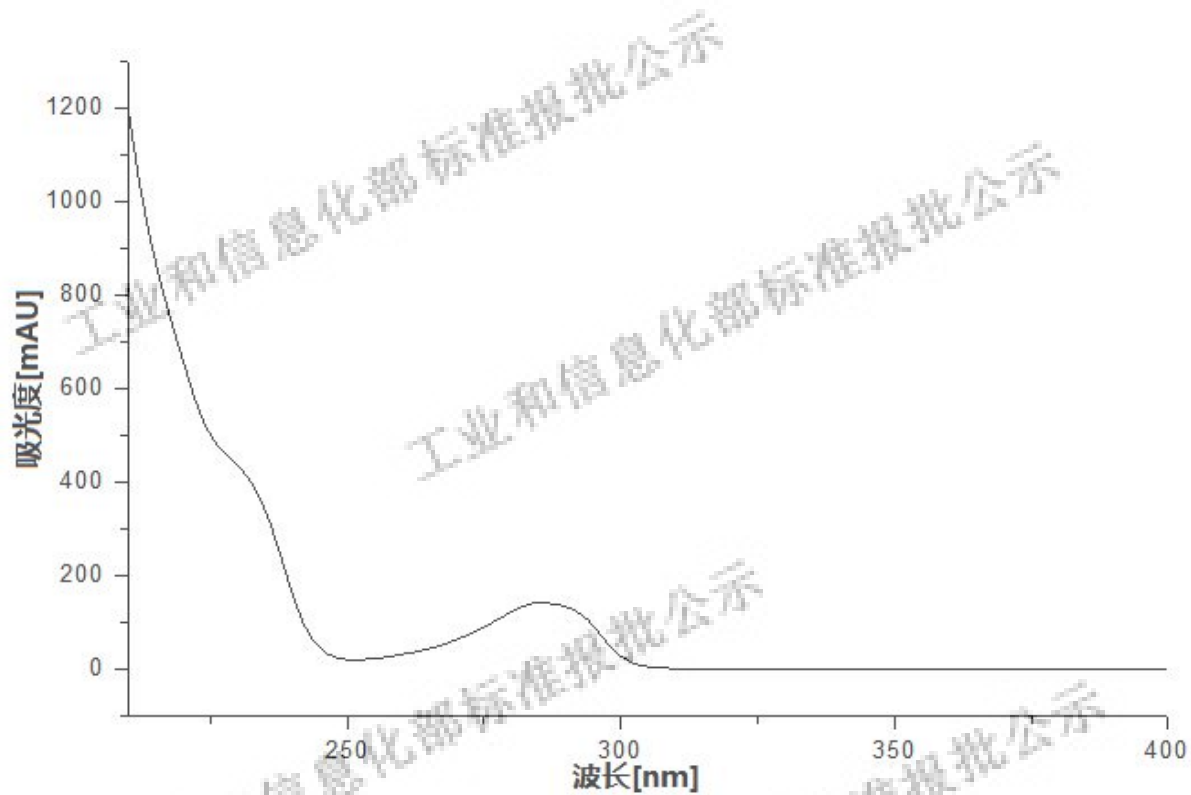


图 B.7 苯氯酚紫外吸收光谱图

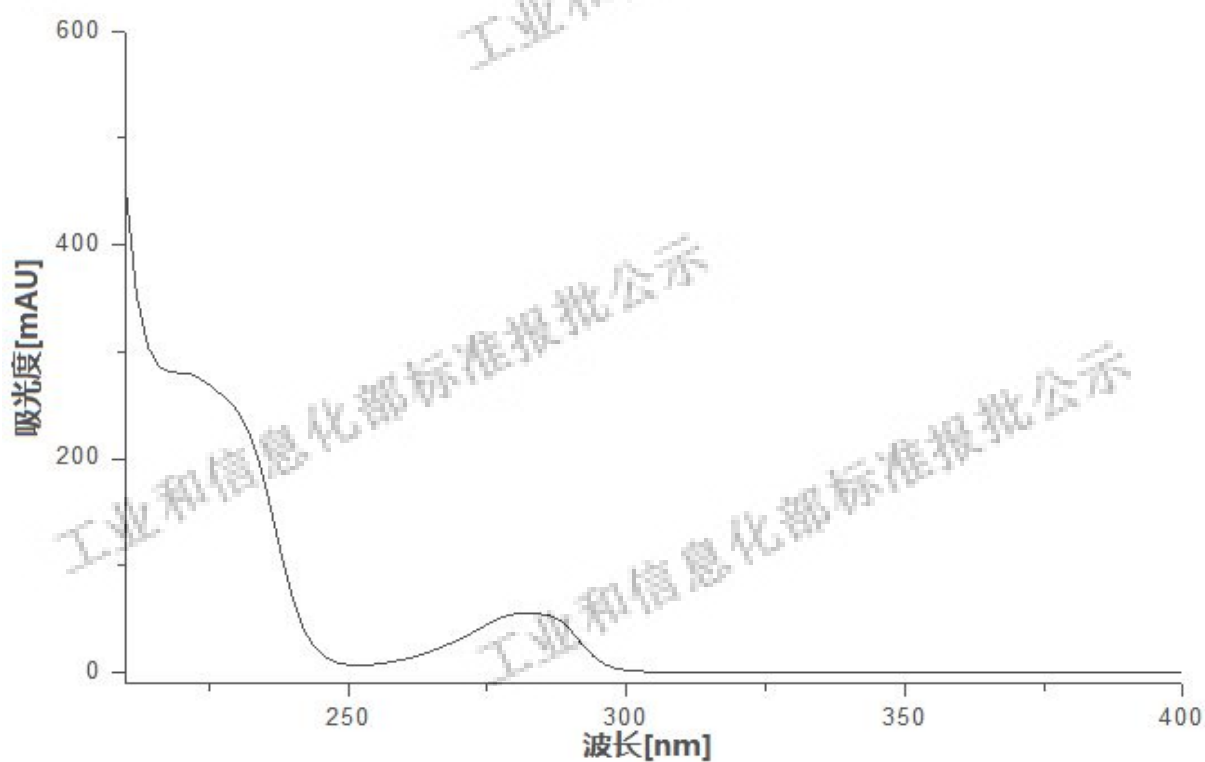


图 B.8 氯二甲酚紫外吸收光谱图

附录 C
(资料性)

高效液相色谱-串联质谱确证试验

必要时,可采用高效液相色谱-串联质谱法确证结果,以检查样品中是否有其他组分干扰6种氯酚类防腐剂的测定。

C.1 液相色谱条件

液相色谱测定参考条件如下:

- 色谱柱: C₁₈柱(150 mm×4.6mm, 5μm);
- 流动相: 0.1%甲酸水+乙腈, 梯度洗脱, 洗脱程序见表 C.1;
- 流速: 0.5 mL/min;
- 柱温箱: 40°C
- 进样量: 5 μL。

表C.1 梯度洗脱程序

时间 min	0.1%甲酸水 %	乙腈 %
0	90	10
2	50	50
5	50	50
5.1	10	90
19	10	90
19.1	90	10

C.2 质谱条件

质谱测定参考条件如下:

- 电离方式: ESI-;
- 离子源温度: 500°C
- 毛细管电压: -4.5kv
- 气帘气: 35Psi
- 雾化气: 40Psi
- 辅助气: 40Psi
- 扫描模式: 多反应监测(MRM)模式, 6种氯酚类防腐剂的质谱参数见表 C.2。

表C.2 6种氯酚类防腐剂的质谱参数

化合物	母离子	子离子	DP 电压/V	碰撞能/eV
氯甲酚	141	35	-88	-40
	141	104		-25
氯二甲酚	151	35	-88	-40
	151	119		-23
苊氯酚	217	153	-86	-30
	217	101		-35
双氯酚	267	127	-104	-31
	267	231		-25
六氯酚	404.9	196.9	-85	-38
	404.9	368.9		-26
溴氯芬	424.9	206.9	-78	-37
	424.9	354.9		-32