

附件 8:

化妆品中4-氨基联苯及其盐的检测方法

1 范围

本方法规定了化妆品中4-氨基联苯及其盐的液相色谱/串联质谱测定方法。

本方法适用于化妆品中4-氨基联苯及其盐的测定，其检测限为1.0μg/kg，定量限为3.3μg/kg。

2 方法提要

样品中禁用芳香胺4-氨基联苯及其盐，通过超声提取，液液萃取及固相萃取小柱净化并浓缩后，用适当的有机溶剂定容，经液相色谱/串联质谱测定，以内标法定量。

3 试剂与材料

- 3.1 甲醇：色谱纯。
- 3.2 乙腈：色谱纯。
- 3.3 甲酸：色谱纯。
- 3.4 正己烷：分析纯。
- 3.5 乙醚：分析纯。
- 3.6 氯化钠饱和溶液。
- 3.7 HLB 固相萃取小柱或相当者：500mg/6mL。
- 3.8 30% 甲醇水溶液：甲醇（3.1）+水=30+70。
- 3.9 氨水：NH₃含量 25% ~28%。
- 3.10 5% 氨水甲醇溶液：氨水（3.9）+甲醇= 5+95，现配现用。
- 3.11 4-氨基联苯：CAS 92-67-1，纯度>99%。
- 3.12 4-氨基联苯-D9：CAS 344298-96-0，纯度>99%。
- 3.13 4-氨基联苯标准贮备液（1000μg/mL）：准确称取标准物质 10.0mg，用甲醇溶解，稀释，定容至 10mL，于-18℃下保存。
- 3.14 4-氨基联苯标准工作溶液：分别取（3.13）标准贮备液，用甲醇稀释定容，制成浓度为 1000ng/mL 的标准溶液，于-18℃下保存。临用时用 50%甲醇水溶液稀释成 500ng/mL、

删除的内容: 4

250ng/mL、125ng/mL、50ng/mL、25ng/mL、5ng/mL。

3.15 4-氨基联苯-D9 内标标准溶液：用 50%甲醇稀释内标标准品溶液，得到 100 ng/mL 4-氨基联苯-D9 内标溶液。

3.16 分别从 4-氨基联苯标准工作溶液（3.14）中分别吸取 0.5mL 溶液与 0.5mL 100 ng/mL 内标溶液（3.15）混合，制得内标 4-氨基联苯-D9 浓度为 50ng/mL，4-氨基联苯分别为 250 ng/mL、125 ng/mL、62.5 ng/mL、25 ng/mL、12.5 ng/mL、2.5 ng/mL 的标准溶液。并根据需要配制成相应浓度的空白基质加标标准溶液。

4 仪器

4.1 液相色谱-串联质谱检测器（配 ESI 离子源）。

4.2 分析天平：感量 0.1mg。

4.3 涡旋混合器。

4.4 离心机：转速 10000r/min，容量为 10mL。

4.5 样品过滤器：0.2 μm PTFE 滤膜或相当者。

5 分析步骤

5.1 化妆水、面霜、粉底类化妆品

称取样品 0.2g（精确到 0.001g），置于 10mL 具塞塑料离心管中，加入 1mL 浓度为 100ng/mL 氘同位素标记的 4-氨基联苯（3.15），再加入 3mL 氯化钠饱和溶液（3.6），于涡旋混合器上使样品分散，加入 3mL 乙腈（3.2），充分涡旋，并超声提取 30min，10000r/min 离心 10min，吸出上层清液于另一 10mL 具塞塑料离心管中，下层氯化钠饱和溶液用 3mL 乙腈（3.2）重复提取步骤一次，合并两次乙腈提取液，往提取液中加入正己烷（3.4）2 mL，涡旋离心，静置分层，弃去上层正己烷溶液，再在乙腈层加入正己烷（3.4）2 mL，涡旋离心，静置分层，弃去上层正己烷溶液，转移下层乙腈溶液至另一 10mL 玻璃刻度试管中，40℃水浴下用氮气吹至近干，并用 30%甲醇水溶液（3.8）重新溶解、定容至 2mL，并经 0.2 μm 滤膜过滤后作为测定液上机测定。

5.2 洗面奶、沐浴液类化妆品

称取样品 0.2g（精确到 0.001g），置于 10mL 具塞塑料离心管中，加入 1mL 浓度为 100ng/mL 氘同位素标记的 4-氨基联苯（3.15），再加入 3mL 氯化钠饱和溶液（3.6），于涡旋混合器

删除的内容: 4

上使样品分散,加入 3mL 乙醚(3.5),充分涡旋,并超声提取 30min,10000r/min 离心 10min,吸出上层清液于另一 10mL 具塞塑料离心管中,下层氯化钠饱和溶液用 3 mL 乙醚(3.5)重复提取步骤一次,合并两次乙醚提取液,用氮气吹至近干,并用 30%甲醇水溶液(3.8) 2mL 重新溶解,再加入 8mL 纯水稀释。

HLB 固相萃取小柱(3.7),接上固相萃取装置,小柱预先用 10mL 甲醇、10mL 水进行活化、平衡。将待净化的样品溶液倾倒入固相萃取小柱,待样品溶液自然流尽后,依次用 10mL 纯水、5mL 10%甲醇溶液淋洗小柱;待淋洗液自然流尽后,用吸球吹出小柱中的残留液,用 10mL 5%氨水甲醇溶液(3.10)洗脱固相萃取小柱,收集洗脱液,40℃水浴下经氮气吹至近干,用 30%甲醇水溶液(3.8)重新溶解、定容至 2mL,并经 0.2 μm 滤膜过滤后作为测定液上机测定。

5.3 指甲油与口红类化妆品

称取样品 0.2g(精确到 0.001g),置于 10mL 具塞塑料离心管中,加入 1mL 浓度为 100ng/mL 氘同位素标记的 4-氨基联苯(3.15),再加入 3mL 乙腈(3.2),于涡旋混合器上使样品分散溶解,充分涡旋,并超声提取 30min,10000r/min 离心 10min,取上层清液于另一 10mL 具塞塑料离心管中,下层样品残渣再用 3 mL 乙腈(3.2)重复提取步骤一次,合并两次乙腈提取液,往提取液中加入正己烷(3.4) 2 mL,涡旋离心,静置分层,弃去上层正己烷溶液,再在乙腈层加入正己烷 2 mL,涡旋离心,静置分层,弃去上层正己烷溶液,转移下层乙腈溶液至另一 10mL 玻璃刻度试管中,40℃水浴下用氮气吹至近干,并用 30%甲醇水溶液重新溶解、定容至 2mL,并经 0.2 μm 滤膜过滤后作为测定液上机测定。

6 测定

6.1 液相色谱参考条件

以下为液相色谱参考条件:

- 色谱柱: C₁₈, 1.7 μm, 100mm×2.1 mm (内径), 或相当者
- 柱温: 40℃;
- 流动相: 0.3%甲酸水溶液+乙腈=75+25
- 洗脱程序: 等度;
- 流速: 0.5mL/ min;

删除的内容: 4

f) 进样量：2 μ L；

6.2 质谱参考条件

以下为质谱参考条件：

- a) 电离源模式：电喷雾离子化；
- b) 电离源极性：正离子模式；
- c) 雾化气：氮气；
- d) 雾化气压力：45psi；
- e) 毛细管电压：3500V；
- f) 干燥气温度：325℃；
- g) 干燥气流速：5L/min；
- h) 鞘气温度：400℃；
- i) 鞘气流速：12 L/min；
- j) 监测方法：多反应监测（MRM）
- k) 分辨率：Q1（unit）Q3（unit）；

质谱测定参数见表1；质谱鉴定的允差见表2。

表1 4-氨基联苯及其内标物的保留时间、监测离子对、源内裂解电压、碰撞气能量

| 分析物 | 保留时间 /min | 母离子 | 子离子 | 源内裂解电压 (V) | 碰撞气能量 (V) |
|-----------|--------------|-------|------|---------------|-----------|
| 4-氨基联苯-D9 | 1.069 | 179 | *159 | 150 | 33 |
| 4-氨基联苯 | 1.139 | 170.1 | *152 | 75 | 30 |
| | | | 93 | 75 | 30 |

注1：*定量离子

表2 定性确定时相对离子丰度的最大允许偏差

| | | | | |
|-----------|-----|--------|--------|-----|
| 相对离子丰度/% | >50 | >20~50 | >10~20 | ≤10 |
| 允许的相对偏差/% | ±20 | ±25 | ±30 | ±50 |

删除的内容: 4

6.3 标准曲线的绘制

以空白基质加标峰面积与内标峰面积比值为纵坐标，空白基质加标浓度与内标物浓度的比值为横坐标，制作标准曲线。

7 计算

试样中 4-氨基联苯的含量，按式（1）计算

$$w = \frac{\rho \cdot R \cdot V}{m} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

- w —— 试样中4-氨基联苯及其盐的含量，以4-氨基联苯计，单位为微克每千克（ $\mu\text{g/kg}$ ）；
- ρ —— 4-氨基联苯氘代同位素内标的质量浓度，单位为纳克每毫升（ ng/mL ）；
- R —— 从标准曲线上查出测试溶液中4-氨基联苯与同位素内标的质量浓度比值；
- V —— 样品定容体积，单位为毫升（ mL ）；
- m —— 样品的质量，单位为克（ g ）。

8 精密度

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%。

9 色谱图与质谱图

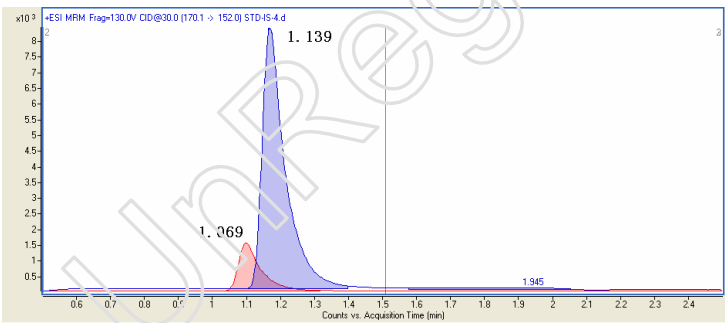


图 1：纯标样（4-氨基联苯、4-氨基联苯-D9）多反应监测（MRM）分析提取离子流图

1. 4-氨基联苯-D9（1.069min）； 2. 4-氨基联苯（1.139min）

删除的内容: 4

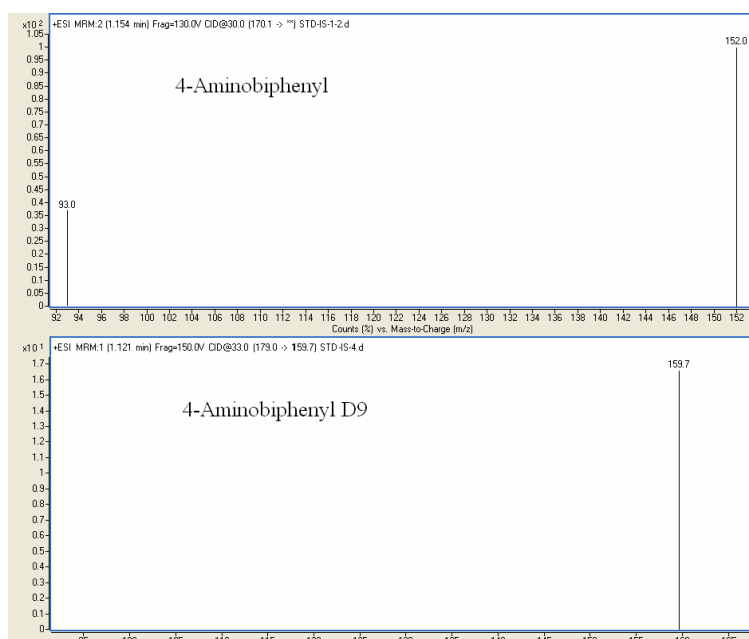


图 2：4-氨基联苯及其内标 4-氨基联苯-D9 的子离子扫描质谱图

<http://www.sfda.gov.cn/WS01/CL0027/68567.html>

<http://www.sfda.gov.cn/WS01/CL0846/68514.html>

删除的内容: 4