

国家标准《化妆品中甲基二溴戊二腈的测定 气相色谱法》 征求意见稿编制说明

一、工作简况

1. 任务来源

本标准根据国标委发[2023]10号《国家标准化管理委员会关于下达2023年第一批推荐性国家标准计划及相关标准外文版计划的通知》立项，项目名称《化妆品中甲基二溴戊二腈的测定 气相色谱法》，项目编号为20230284-T-607。主要起草单位：苏州世谱检测技术有限公司、苏州质量检测科学研究院、广州质量监督检测研究院等。项目周期18个月，计划应完成时间2024年9月。

2. 制定背景

化妆品作为人们日常生活的必需品，一直受到大家的关注。随着经济的飞速发展，生活水平不断提高，人们的消费能力逐渐增强，对护理产品的功效也提出了更高的要求。

甲基二溴戊二腈是一种光谱、低毒的防腐、防霉和灭藻杀菌剂，能抑制和杀死细菌、真菌和藻类的生长，适用于化妆品、纺织、皮革的防腐，对果蔬等作物病害有较好的防效，《化妆品卫生规范》(2007年版)将其列为淋洗类产品中限用防腐剂，限量 0.1%。但由于甲基二溴戊二腈的致敏性，《化妆品安全技术规范》(2015年版)中将其列为禁用组分，禁止在化妆品中使用；欧盟将法规 1223/2009 仅允许甲基二溴戊二腈在淋洗产品中使用；美国未对甲基二溴戊二腈在化妆品中的使用做任何限制。随着网购和代购的发展，国外化妆品大量进入国内市场，为了保证化妆品质量安全，监控化妆品中甲基二溴戊二腈含量十分必要。

但目前化妆品中甲基二溴戊二腈的测定还未有相应的国家检测方法标准，因此研究相关的检测技术是十分有必要的。希望通过本项目的研究，采用气相色谱技术，建立化妆品中甲基二溴戊二腈含量的气相色谱检测法，为主管部门对化妆品的监管提供必要的技术支持。

3. 主要工作过程

起草阶段：2023年4月，根据国标委发[2023]10号下达的国家标准制修订计划任务的通知，项目承担单位组建了标准编制工作小组，查询、收集和认真研究国内

外标准及相关资料，并结合实验室的条件、化妆品基质特性和方法技术特点，初步设计实验方案。进行实验研究工作，优化确定仪器检测条件，优化确定不同基质化妆品产品的提取、净化条件，考察和论证方法的灵敏度、准确性、线性范围和适用性，并组织单位进行方法验证；于2024年3月26日完成并提交标准征求意见稿和编制说明。

4. 主要参加单位和工作组成员等

本标准由***、***、***等负责联合起草。

本标准主要起草人：***、***、***等。

所做的工作：***等。

二、标准编制原则和主要内容

2.1. 标准编制原则

本标准的编制原则是既参考国外的最新方法技术，又考虑国内现有检测机构的检测能力和实际情况，确保方法标准的科学性、先进性、可行性和可操作性。遵循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》和GB/T 20001.4-2015《标准编写规则 第4部分：试验方法标准》的编写规则，并参考了国家食品药品监督管理总局发布的《化妆品中禁用物质和限用物质检测方法验证技术规范》。

2.2. 标准物质信息

甲基二溴戊二腈又叫溴菌腈，分子式为 $C_6H_6Br_2N_2$ ，分子量265.93，熔点 $52.5\sim 54.5^\circ C$ ，呈白色或浅黄色结晶固体，易溶于醇、苯等有机溶剂，难溶于水，对光、热、水等介质稳定。甲基二溴戊二腈的结构式如图1所示，标准品信息可见表1。

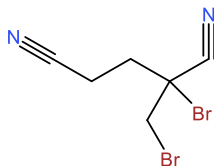


图1 甲基二溴戊二腈的结构式

表1 标准品信息

化合物	英文名称	CAS号	分子式	分子量	来源
甲基二溴戊二腈	Methyldibromoglutaronitrile	35691-65-7	$C_6H_6Br_2N_2$	265.93	Sigma

2.3. 仪器参数的选择和优化

2.3.1 主要技术路线

准确称取 0.5 g 试样（精确至 0.001 g），于 25 mL 具塞比色管中，加入 8 mL 乙腈漩涡混合混匀，超声提取 10 min，冷却至室温，用乙腈定容至 10 mL 刻度。然后加入 5 mL 乙腈饱和的正己烷，涡旋混匀 1 min，取 2 mL 下层溶液于离心管中，以 10 000 r/min 离心 5 min，经 0.22 μm 滤膜过滤后测定。

2.3.2 气相色谱参数的选择与优化

2.3.2.1 检测器选择

化妆品成分复杂，多以水剂、乳液、膏霜类化妆品存在，且化妆品原料成分复杂，部分化妆品的原料多达 40 余种，大部分成分为有机化合物，此类化合物在氢火焰离子化检测器（FID）检测器上存在响应，使用 FID 检测时，会存在较多杂质干扰峰；由于甲基二溴戊二腈含有两个溴原子，气相色谱仪的电子捕获检测器（ECD）对卤素原子响应灵敏，因此可以使用 ECD 检测器进行检测；此外，化妆品原料大部分不含卤素原子，在 ECD 检测器上无响应，大大减少了检测干扰。因此选择配备 ECD 检测器的气相色谱仪检测甲基二溴戊二腈，方法灵敏度和抗干扰能力均能满足检测要求。

2.3.2.2 色谱柱的选择

考察了实验室最常用的 DB-5（30 m × 0.25 mm，0.25 μm）毛细管柱对化妆品中的甲基二溴戊二腈的分离效果，发现甲基二溴戊二腈存在响应，出现 2 个色谱峰且色谱峰较宽、拖尾。尝试使用 HP-INNOWax（30 m × 0.25 mm，0.25 μm）毛细管柱进行检测，目标物同样存在 2 个色谱峰，色谱峰尖锐对称，但出峰较困难。采用 HP-5 毛细管柱（30 m × 0.25 mm，0.25 μm）毛细管柱进行分析，结果发现甲基二溴戊二腈的 2 个色谱峰响和半峰宽满足分析要求。因此选用 HP-5 色谱柱作为本实验的色谱柱。

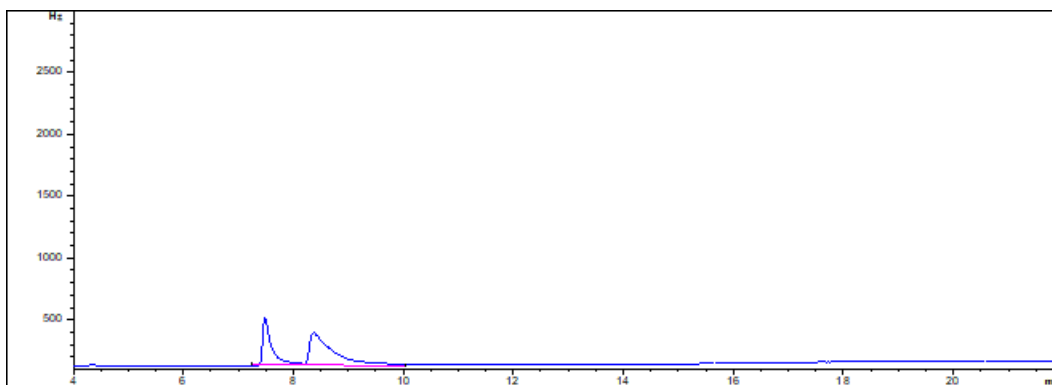


图 2 甲基二溴戊二腈在常规 DB-5 毛细管柱分离效果

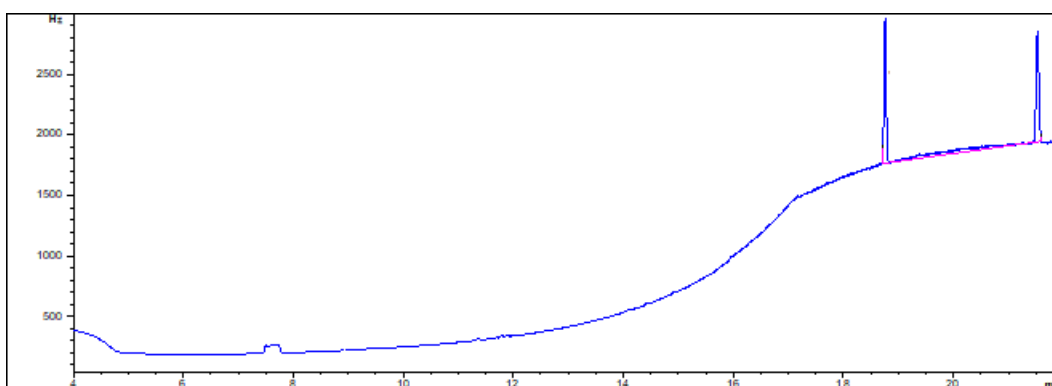


图 3 甲基二溴戊二腈在 HP-INNOWax 毛细管柱分离效果

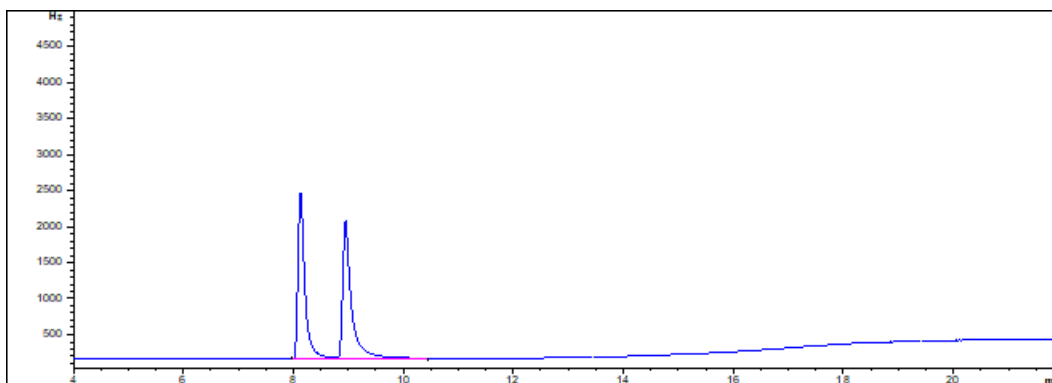


图 4 甲基二溴戊二腈在 HP-5 毛细管柱分离效果

由于甲基二溴戊二腈在不同色谱柱上均出现 2 个色谱峰，经查阅文献，甲基二溴戊二腈具手性中心，为一对旋光异构体，且左旋和右旋甲基二溴戊二腈在较高温度时会互相转化，因此在使用气相色谱检测时会产生两个色谱峰，其中优先出峰的为(-)-甲基二溴戊二腈，靠后出峰的为(+)-甲基二溴戊二腈（许佳彬. 手性农药溴菌腈选择性降解及对映体生物活性研究. 海南大学, 2019）。由于市售标准品均为异构体混合物，未有单一异构体纯品售卖，且不同旋光异构体在 ECD 检测器上的响应一

致，因此本标准在甲基二溴戊二腈定量时，采用两个色谱峰的峰面积加和计算。

2.3.2.3 最终确定的气相色谱参数

- a) 色谱柱：HP-5 毛细管柱（30 m × 0.25 mm，0.25 μm），或性能相当者；
- b) 进样口温度：230°C；
- c) 进样方式：不分流进样；
- d) 载气：氮气，纯度≥99.999%；控制方式：恒流；流速：1.0 mL/min；
- e) 柱温：初始温度 100°C，保持 2 min，以 10°C/min 升至 250°C，保持 5 min；后处理温度 230°C，时间 3 min。
- f) 进样量：1 μL；
- g) 检测器温度：300 °C。

2.3.3 前处理条件的选择与优化

2.3.3.1 前处理条件

由于化妆品多以水剂、乳液、膏霜类存在，且原料成分复杂，为尽量减少操作步骤和获得尽可能高的提取效率，实验首先选取水剂、乳液、膏霜类化妆品为代表性基质采用有机溶剂直接超声提取。由于甲基二溴戊二腈在有机溶剂中溶解性良好，在水中几乎不溶，实验选取最常用的乙腈和甲醇进行提取比较。为系统研究乙腈和甲醇对化妆品中甲基二溴戊二腈的提取效果，选取水剂、乳液、膏霜 3 种空白基质加标，制得含甲基二溴戊二腈 100 mg/kg 的试样，分别考察乙腈和甲醇两种溶剂的提取效果，平行测定 2 次，计算平均提取效率，结果见表 2。

表 2 乙腈和甲醇对水剂、乳液、膏霜类化妆品中甲基二溴戊二腈的提取效果

基质类型	平均回收率/%	
	乙腈	甲醇
水剂	96.1	92.8
乳液	87.5	88.4
膏霜	84.6	82.3

从表 2 可以看出，甲醇与乙腈对水剂、乳液和膏霜 3 种基质中的甲基二溴戊二腈的加标提取回收率均达到 80% 以上，符合方法学要求。考虑到乙腈与净化溶剂正己烷的溶解度比甲醇低，净化时更易分层，最后选择乙腈作为萃取溶剂。

2.3.3.2 超声提取时间的设置

本实验考察了超声时间对提取率的影响，并进行了优化，通过加标浓度为 100 mg/kg 的水剂、乳液和膏霜样品，分别考察超声功率为 250 W 时，超声 1 min、5 min、10 min、15 min、20 min、30 min 对提取率的影响，平行测定 2 次，计算平均提取效率。试验结果如表 3 所示，超声 10 min 之后，回收率未有明显变化，表明超声 10 min 已提取充分，因此，本实验选择超声 10 min。

表 3 不同超声时间对化妆品中甲基二溴戊二腈的提取效果

超声时间/min	1	5	10	15	20	25
水剂样品提取率/%	75.1	86.7	93.5	91.4	94.7	93.8
乳液样品提取率/%	66.4	82.2	87.1	88.6	92.1	90.7
膏霜样品提取率/%	67.8	73.3	81.5	86.3	82.9	84.6

2.3.3.3 净化条件优化

由于乳液、膏霜类的化妆品中含有大量脂溶性物质和大量表面活性剂，这些物质在提取过程中不仅会干扰乙腈的提取效果，出现乳化现象，还会干扰目标化合物分离效果。为了避免此现象，需对提取液进行净化，目前文献报道中分析检测前处理中选择的净化方式有 3 种，正己烷（石油醚）净化、HLB 固相萃取柱净化和低温离心净化。实验对比了 3 种净化方式，由于化妆品中含有大量表面活性剂，使用固相萃取柱净化时，经常堵塞萃取柱，操作较复杂，且回收率不稳定（萃取柱堵塞导致）；低温离心净化方式主要是利用低温，降低脂类杂质的溶解度，然后通过离心去除，此方式难以去除大量表面活性剂，部分样品过膜困难；正己烷除脂净化方式不仅可以去除大量脂类和表面活性剂杂质，由于甲基二溴戊二腈在正己烷与乙腈系统中，更易溶于乙腈，在正己烷除脂过程中，对甲基二溴戊二腈的提取基本无影响。综合净化效果和操作简便程度来看，本标准选择了正己烷除脂净化。

2.3.4 最终确定的样品前处理条件

准确称取 0.5 g 试样（精确至 0.001 g），于 25 mL 具塞比色管中，加入 8 mL 乙腈漩涡混合混匀，超声提取 10 min，冷却至室温，用乙腈定容至 10 mL 刻度。然后加入 5 mL 乙腈饱和的正己烷，漩涡混匀 1 min，取 2 mL 下层溶液于离心管中，以 10 000

r/min离心5 min，经0.22 μm滤膜过滤后测定。

2.3.5 标准溶液稳定性

将配置好的 1000 μg/mL 的单标标准贮备液，在 4°C条件下放置 6 个月，每隔 1 个月取出标液，稀释为 5.0 mg/L 的测试液，采用相同的设备和色谱条件进行测定，观察出峰峰面积变化（以 2 个色谱峰面积之和计），以此评价标准溶液稳定性，测试结果见表 4。结果表明在 6 个月内，甲基二溴戊二腈的峰面积变化的相对标准偏差为 1.6%，相对极差为 4.8%；考虑到不同时间检测时，配置标准溶液浓度的误差，相对极差未超过 5%表明目标物标准储备液在 6 个月内是稳定的。

表 4 甲基二溴戊二腈放置不同时间的峰面积

化合物	峰面积							
	0 天	15 天	1 个月	2 个月	3 个月	4 个月	5 个月	6 个月
5.0 mg/L 标液峰面积	46904	46292	47691	47221	45836	48075	47569	46852
相对标准偏差 (%)	1.6							
相对极差 (%)	4.8							

2.3.6 线性关系、检出限和定量限

使用乙腈配制浓度为 1.0 μg/mL、2.0 μg/mL、5.0 μg/mL、10.0 μg/mL、20.0 μg/mL 的甲基二溴戊二腈标准工作溶液，经 GC-ECD 测定，以 2 个色谱峰峰面积之和为纵坐标，标准溶液浓度为横坐标，进行线性回归，制得标准工作曲线（y 为峰面积，x 为浓度，μg/mL）；选择空白样品，定量添加混合标准工作溶液，按照试样前处理方法和仪器条件进行测定，以信噪比 S/N=3 确定方法检出限，以信噪比 S/N=10 确定方法定量限。最终方法检出限为 10 mg/kg，方法定量限为 20.0 mg/kg。标准曲线相关结果见表 5 和图 5 所示，标准溶液、检出限和定量限加标样品的色谱图见图 6-图 8。

表 5 甲基二溴戊二腈的线性关系

浓度 (μg/mL)	1.0	2.0	5.0	10.0	20.0
峰面积	9726	20715	46904	90082	183240
线性方程	$y = 9063.8723 x + 1247.69$				
相关系数 (R ²)	0.999 85				

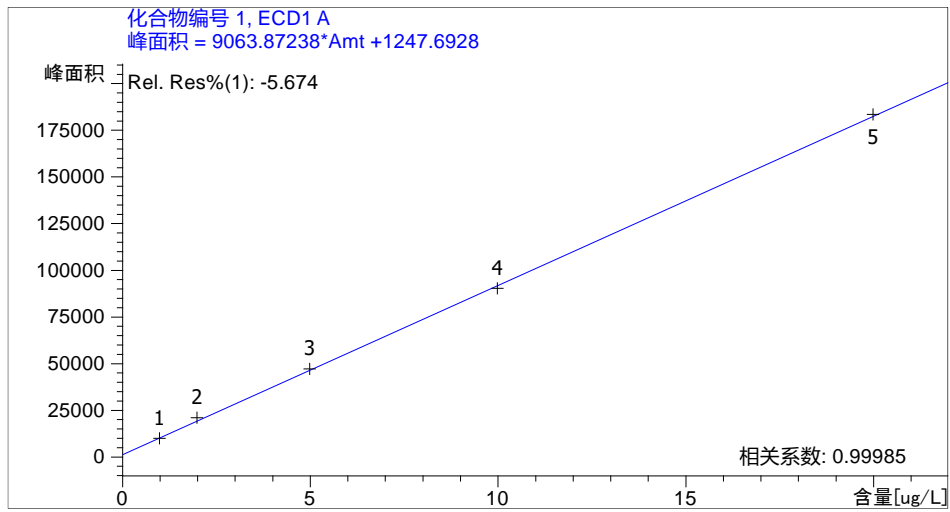


图 5 甲基二溴戊二腈的标准曲线图

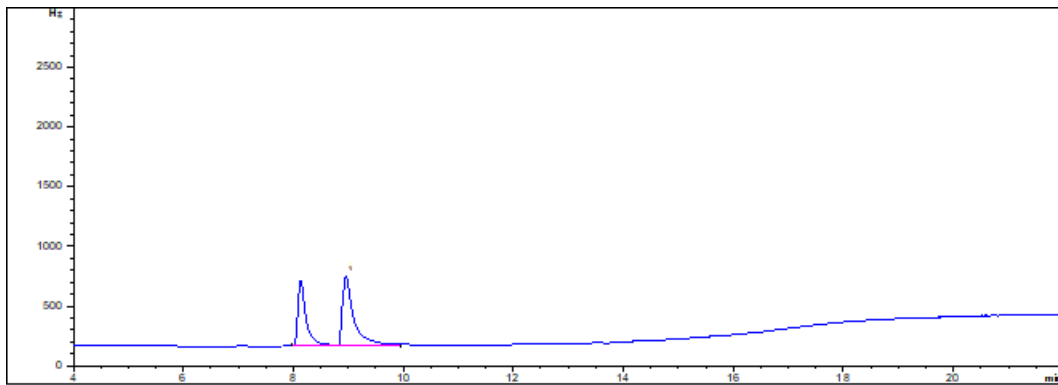


图 6 2 $\mu\text{g/mL}$ 甲基二溴戊二腈标准溶液的气相色谱图

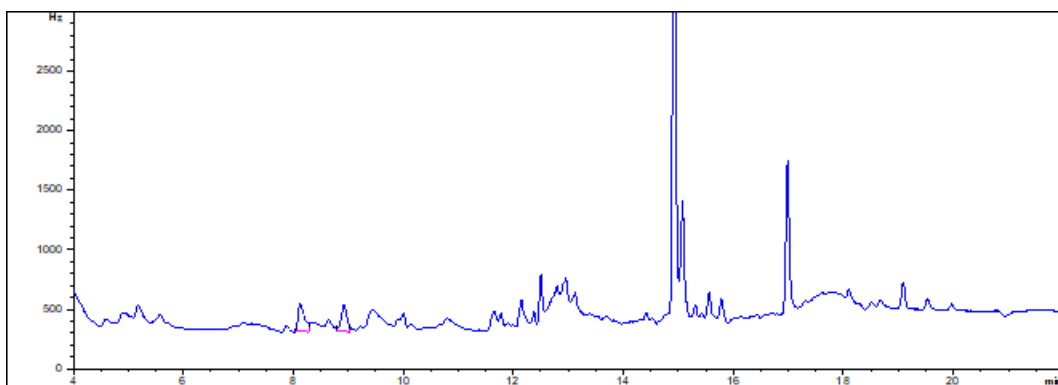


图 7 甲基二溴戊二腈检出限加标的气相色谱图

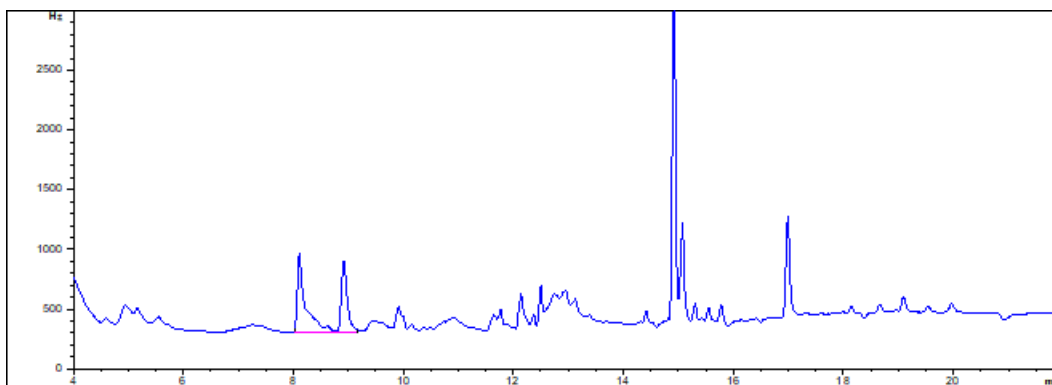


图 8 甲基二溴戊二腈定量限加标的气相色谱图

2.3.7 回收率与精密度

选取阴性的水剂、乳液、膏霜类等化妆品，按本方法进行 3 个添加水平（1 倍方法定量限、2 倍方法定量限、10 倍方法定量限回收试验，平行测定 6 次，计算回收率和精密度。回收率和相对标准偏差（RSD, $n = 6$ ）见表 6。可见，在添加浓度范围内，三种样品基质中甲基二溴戊二腈的回收率在 78.2% ~ 99.4%之间，相对标准偏差（RSD, $n = 6$ ）在 2.2% ~ 6.0%之间；具有良好的回收率和精密度，能够满足日常检测定量分析的要求。

表 6 回收率和精密度 ($n=6$)

基质	添加量 ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	回收率 (%)						平均值 (%)	RSD (%)
		1	2	3	4	5	6		
水剂	20.0	88.9	86.4	87.6	82.5	87.9	84.3	86.3	2.8
	40.0	86.3	99.1	93.2	99.4	88.3	96.4	93.8	5.9
	200	93.9	96.1	89.5	95.7	87.6	85.0	91.3	5.0
乳液	20.0	82.3	83.6	82.9	84.4	79.3	78.2	81.8	3.0
	40.0	84.0	87.7	83.8	87.8	85.8	84.1	85.5	2.2
	200	86.4	85.0	88.0	86.0	90.5	91.0	87.8	2.8
膏霜类	20.0	83.5	78.5	82.8	84.2	81.2	82.2	82.1	2.5
	40.0	88.6	93.7	92.0	93.3	85.3	83.6	89.4	4.8
	200	90.9	82.2	84.6	94.2	85.9	94.9	88.8	6.0

2.3.8 方法稳定性

2.3.8.1 日内稳定性

选取水剂、乳液、膏霜类等阴性化妆品样品添加 2 倍和 10 倍方法定量限水平进

行加标回收实验，常温放置 24 h，选取 6 个时间段分别进行测定，计算加标回收率及其相对标准偏差（RSD），结果见表 7。由表 7 可知，在 24 h 之内，不同化妆品基质中甲基二溴戊二腈加标回收率的相对标准偏差在 3.6% ~ 5.5% 之间，日内稳定性良好。

表 7 日内稳定性试验结果

基质	加标量 (mg/kg)	回收率 (%)						平均值 (%)	RSD (%)
		放置 0 h	放置 2 h	放置 4 h	放置 8 h	放置 12 h	放置 24 h		
水剂	40.0	87.7	95.6	98.5	89.0	90.0	85.5	91.1	5.5
	200	98.4	94.0	97.9	91.6	89.0	95.7	94.4	3.9
乳液	40.0	83.5	89.8	89.9	82.6	87.6	85.5	86.5	3.6
	200	88.3	86.0	82.1	94.8	89.1	90.3	88.4	4.8
膏霜类	40.0	91.9	82.2	90.2	87.7	82.4	89.9	87.4	4.8
	200	87.9	83.4	92.1	89.6	89.1	92.3	89.1	3.7

2.3.8.2 日间稳定性

选取水剂、乳液、膏霜类等阴性化妆品样品添加 2 倍和 10 倍方法定量限水平进行加标回收实验，常温放置 3 天，每天分别进行测定，计算加标回收率和极差，结果见表 8。由表 8 可知，在 3 天之内，不同基质中甲基二溴戊二腈的回收率的极差在 3.8% ~ 8.1% 之间，极差不超过平均值的 10%，日间稳定性良好。

表 8 日间稳定性试验结果

基质	加标量 (g/kg)	回收率 (%)				平均值 (%)	极差 (%)
		放置 0 天	放置 1 天	放置 2 天	放置 3 天		
水剂	40.0	83.9	85.0	87.1	89.6	86.4	6.6
	200	93.2	89.1	86.8	93.0	90.5	7.1
乳液	40.0	86.4	84.1	83.8	83.2	84.4	3.8
	200	89.2	93.9	91.7	86.6	90.4	8.1
膏霜类	40.0	85.4	90.5	84.9	91.1	88.0	7.0
	200	83.7	85.8	89.1	86.4	86.3	6.3

2.3.9 方法特异性

方法的特异性是指方法区分目标分析物和其他物质的能力，不得存在导致目标分析物定性错误和影响定量准确的干扰因素（信号、干扰峰等）。本方法通过分析具有代表性的空白样品和空白样品加标样品，按照样品前处理方法处理后，进样检测分析，考察实验样品中除甲基二溴戊二腈以外的其他组分对甲基二溴戊二腈的测定有无干扰，结果未发现存在。部分阴性样品及加标色谱图见图 9-图 12。

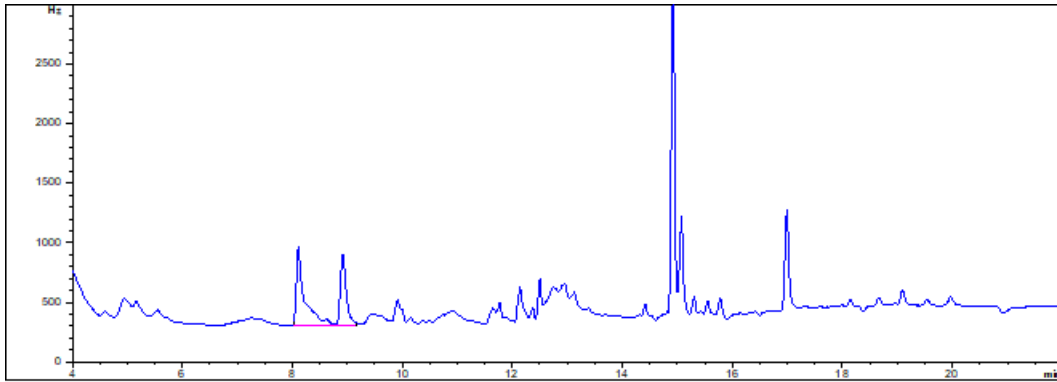


图 9 水剂样品甲基二溴戊二腈加标的气相色谱图

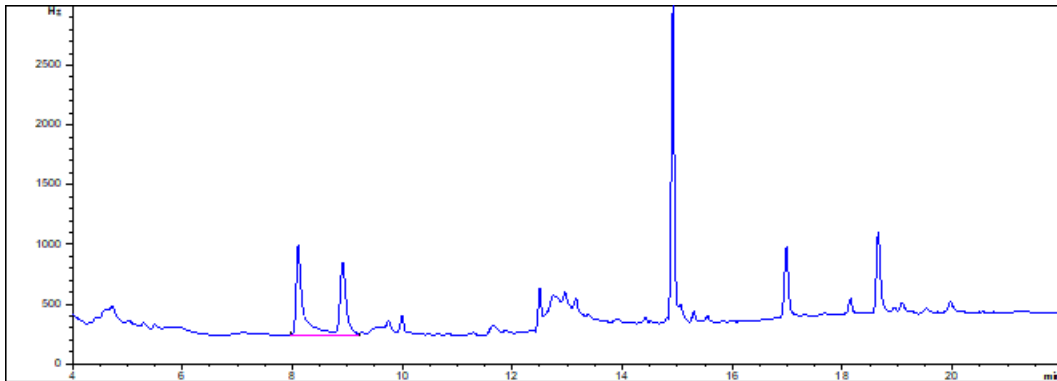


图 10 水剂样品甲基二溴戊二腈加标的气相色谱图

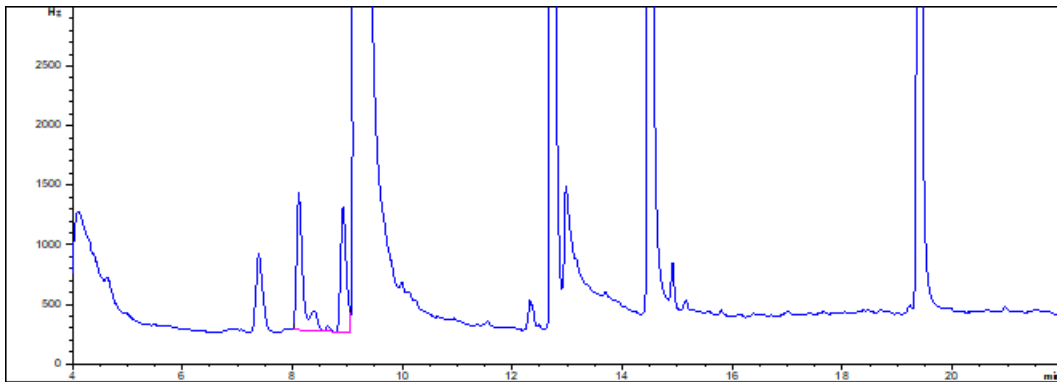


图 11 乳液样品甲基二溴戊二腈加标的气相色谱图

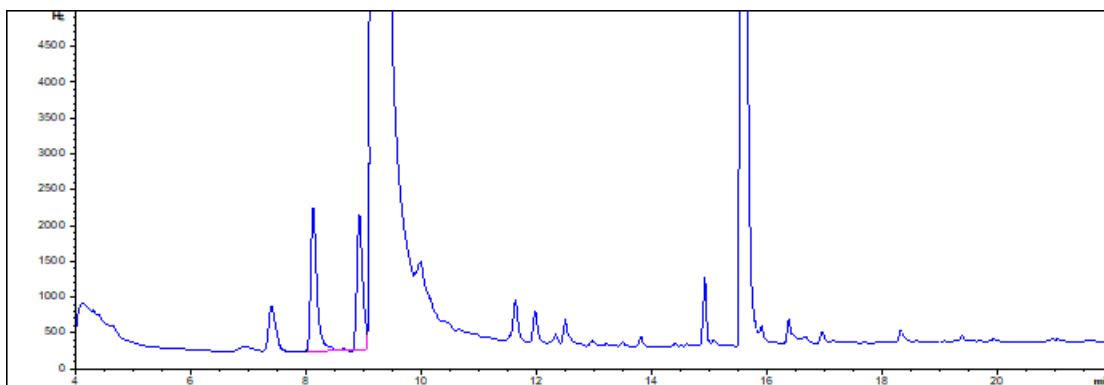


图 12 膏霜样品甲基二溴戊二腈加标的气相色谱图

2.4 解决的主要问题

本研究通过优化目标化合物的色谱分析参数，以及对不同类型样品的前处理方法进行摸索，最终建立了一套标准性的检测方法，解决的主要问题包括：

- (1) 确立了气相色谱仪的检测参数，包括色谱柱、气相色谱条件的选择；
- (2) 确定了前处理方法，包括提取溶剂、提取条件、净化条件的选择；
- (3) 完成了方法学的考察，包括标准溶液稳定性、线性范围、方法检出限和定量限、回收率和精密度、方法稳定性等；
- (4) 完成了方法的适用性试验，对市售的化妆品进行了检测。

2.5、修订标准时应列出与原标准的主要差异和水平对比

该标准属首次起草，无与原标准的主要差异和水平对比。

三、主要试验（或验证）的分析、综述报告，技术经济论证，预期的经济效益、社会效益和生态效益

3.1 验证情况

选取水剂、乳液、膏霜类等阴性化妆品样品邀请广东产品质量监督检验研究院、河北省食品检验研究院、南京市产品质量监督检验院、广东省疾病预防控制中心和深圳市计量质量检测研究院 5 家实验室对本标准方法的线性、检出限和定量限、方法回收率和精密度进行验证，方法添加 1 倍、2 倍、10 倍方法定量限和限量水平进行加标回收实验，验证结果见表 9。

表9 验证结果汇总表

化妆品基质	添加值 (mg/kg)	平均回收率/% (n=5)					平均值 (%)	RSD (%)
		单位1	单位2	单位3	单位4	单位5		
水剂	20.0	86.0	94.7	91.7	87.0	83.6	88.6	5.1
	40.0	95.0	87.9	94.6	90.2	90.8	91.7	3.3
	200	88.4	91.4	81.2	93.3	85.9	88.0	5.4
乳液	20.0	92.4	90.7	89.3	89.2	91.1	90.5	1.5
	40.0	93.8	88.7	92.1	90.2	82.4	89.4	4.9
	200	90.8	89.9	87.8	89.3	81.5	87.9	4.2
膏霜	20.0	92.7	81.4	83.6	86.8	82.7	85.4	5.3
	40.0	89.6	91.4	90.0	82.8	85.1	87.8	4.2
	200	90.1	91.1	88.0	84.0	85.8	87.8	3.4

综述报告：5家验证结果表明，甲基二溴戊二腈在1.0 ~ 20.0 µg/mL范围内线性关系良好。目标化合物在方法给出的检出限浓度均可检出，方法给定的检出限合理。不同验证单位测得甲基二溴戊二腈在三水平添加范围内平均回收率在81.2% ~ 95.0%之间，实验室间的精密度为1.5% ~ 5.4%，表明方法具有良好的回收率和精密度。

3.2 市售样品分析

随机抽取市售的60份化妆品，分别应用本项目建立的方法进行检测，以标准曲线法计算含量。结果均未检出甲基二溴戊二腈，符合《化妆品安全技术规范》（2015年版）中关于甲基二溴戊二腈禁止在化妆品中使用的规定。不同基质样品图见图13-图15。

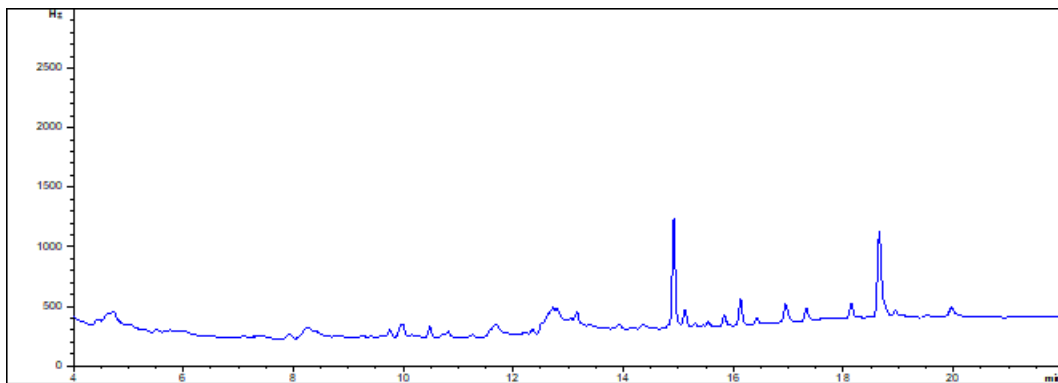


图 13 水剂阴性样品的气相色谱图

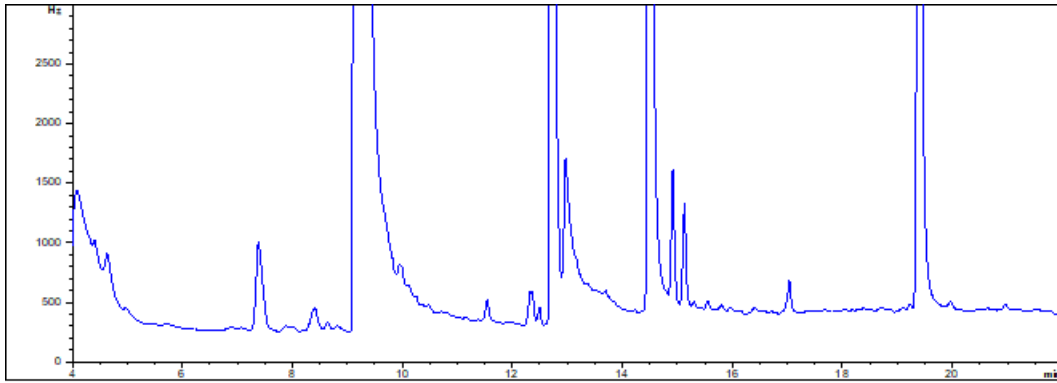


图 14 乳液阴性样品的气相色谱图

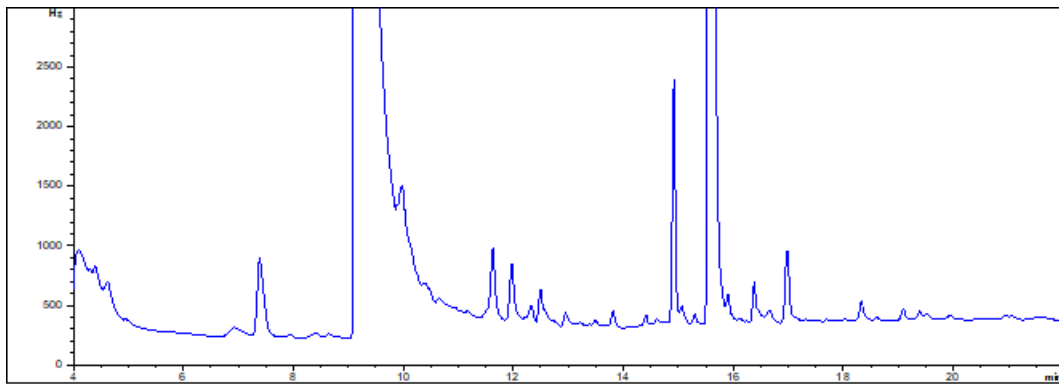


图 15 膏霜类样品的气相色谱图

3.3.技术经济论证，预期的经济效益、社会效益和生态效益

国家标准“化妆品中甲基二溴戊二腈的测定 气相色谱法”系统的建立了化妆品中甲基二溴戊二腈的检测方法，健全了化妆品中禁用原料检测标准体系，填补了国内化妆品中甲基二溴戊二腈的检测标准空白。该标准的发布实施一方面可以提升行政监管部门监管化妆品质量安全的履职能力，有效的监测化妆品的安全性，极大的规范贸易市场，保障消费者的健康安全和权益；另一方面可增强检验机构的服务能力，为企业提供相关检测服务，保障相关化妆品生产企业健康有序发展，具有明显的社会效益，同时也可创造出一定的经济效益。

四、采用国际标准和国外先进标准情况，与国际、国外同类标准水平的对比情况，国内外关键指标对比分析与测试的国外样品、样机的相关数据对比情况

据查证，目前尚无该产品国际标准或国外先进标准。

五、以国际标准为基础的起草情况，以及是否合规引用或者采用国际国外标准，并

说明未采用国际标准的原因

据查证，目前尚无相关国际标准或国外先进标准。

六、与现行相关法律、法规、规章及相关标准，特别是强制性标准的协调性

本标准技术指标符合我国现行相关法律、法规、规章及相关标准要求。

七、重大分歧意见与处理经过与依据

本标准在制定时对制造商、供应商、市场的流通与销售以及消费者等各方面的权益均作出了分析和考虑。

八、涉及专利的有关说明

本标准不涉及专利。

九、实施国家标准的要求，以及组织措施、技术措施、过渡期和实施日期的建议等措施建议

建议本标准以推荐性国家标准的形式发布。建议本标准于发布日期 6 个月后实施。全国香料香精化妆品标准化技术委员会负责组织该项标准的宣贯工作。该标准属首次起草，无废止现行相关标准的建议。

十、其他应予说明的事项

无。

标准起草工作组

2024年3月26日