

化妆品中荧光增白剂的检测方法

(征求意见稿)

1 范围

本方法规定了高效液相色谱-荧光检测器法测定荧光增白剂 85 等 5 种组分的含量。

本方法适用于面膜、化妆水、护肤乳、护肤霜类型化妆品中荧光增白剂 85 等 5 种组分含量的测定。

本方法所指的 5 种组分包括 4,4'-双[(4-苯胺基-6-羟乙基氨基-1,3,5-三嗪-2-基)氨基]二苯乙烯-2,2'-二磺酸二钠盐（荧光增白剂 85）、联苯乙烯二苯基二磺酸二钠（荧光增白剂 351）、二乙氨基甲基香豆素（荧光增白剂 140）、二苯并噁唑基萘（荧光增白剂 367）、双（叔丁基苯并噁唑基）噻吩（荧光增白剂 184）。

以下以荧光增白剂 85、荧光增白剂 351、荧光增白剂 140、荧光增白剂 367、荧光增白剂 184 表述。

2 方法提要

样品处理后，经高效液相色谱仪分离，荧光检测器检测，根据保留时间定性，峰面积定量，以标准曲线法计算含量，对于测定过程中有阳性结果的样品，采用液相色谱-质谱法进行确证。

本方法中各组分的检出限、定量下限及取样量为 0.5g 时的检出浓度和最低定量浓度见表 1。

表 1 各组分的检出限、定量下限、检出浓度和最低定量浓度

名称	检出限 (ng)	定量下限 (ng)	检出浓度(μg/g)	最低定量浓度(μg/g)
荧光增白剂 85	0.04	0.1	2	5.
荧光增白剂 351	0.005	0.02	0.2	0.7
荧光增白剂 140	0.005	0.02	0.2	0.7
荧光增白剂 367	0.002	0.007	0.08	0.3
荧光增白剂 184	0.003	0.01	0.1	0.4

3 试剂和材料

除另有规定外，本方法所用试剂均为分析纯或以上规格，水为 GB/T 6682 规定的一级水。

3.1 乙腈，色谱纯。

3.2 氨水，优级纯，含量 (NH₃) = 25%~28%。

3.3 乙酸铵，色谱纯。

3.4 N, N-二甲基甲酰胺 (DMF)，色谱纯。

3.5 流动相的配制:

流动相 A: 25mmol/L 乙酸铵溶液, 用氨水调节 pH 至 8.0。

流动相 B: 乙腈。

3.6 混合溶剂: 70%25mmol/L 乙酸铵溶液 (用氨水调节 pH 至 8.0) +30%乙腈

3.7 混合标准储备溶液: 称取荧光增白剂 85、荧光增白剂 351、荧光增白剂 140、荧光增白剂 367、荧光增白剂 184 标准品各 10mg (精确到 0.00001g) 分别置于 50 mL 容量瓶中, 加 N, N-二甲基甲酰胺 (3.4) 使溶解并定容至刻度, 摇匀, 即得浓度分别为 0.2mg/mL 的各组分储备溶液。储备溶液避光保存于 0℃-4℃冰箱中, 应于 2 天内使用。

分别精密量取荧光增白剂 85 单标溶液 5.00mL、荧光增白剂 351、荧光增白剂 140、荧光增白剂 367、荧光增白剂 184 单标溶液各 0.50mL 置于同一 100 mL 容量瓶中, 加 N, N-二甲基甲酰胺 (3.4) 使溶解并定容至刻度, 摇匀, 再精密量取上述溶液 2.5 mL 置于 50 mL 容量瓶, 加混合溶剂 (3.6) 定容至刻度, 摇匀, 即得混合标准储备溶液。混合储备溶液避光保存于 0℃-4℃冰箱中, 应于 2 天内使用。

4 仪器和设备

- 4.1 高效液相色谱仪, 荧光检测器。
- 4.2 液相色谱-串联四级杆质谱联用仪。
- 4.3 天平。
- 4.4 超声波清洗仪。
- 4.5 高速离心机。
- 4.6 涡旋振荡器。
- 4.7 pH 计: 精度 0.01。

5 分析步骤

5.1 混合标准系列溶液的制备

取混合标准储备液 (3.7) 0.40 mL、1.00 mL、2.00 mL、4.00 mL、10.00mL 于 10 mL 容量瓶中, 用混合溶剂 (3.6) 稀释至刻度, 制得混合标准系列溶液。

5.2 样品处理

称取样品 0.5 g (精确到 0.001 g), 置于 10mL 具塞比色管中, 加入 N, N-二甲基甲酰胺 (3.4) 定容至刻度, 涡旋 60s, 混匀, 超声提取 20min, 以 10000 r/min 离心 10min, 精密量取上清液 0.50mL 于 10mL 具塞比色管中, 加混合溶剂 (3.6) 定容至刻度, 作为待测溶液, 避光保存于 0℃-4℃冰箱中, 应于 1 天内测定。

5.3 参考色谱条件

色谱柱：C18 柱（250mm×4.6mm×5μm），或等效色谱柱；

流动相梯度洗脱程序：

时间/min	V(流动相 A) /%	V(流动相 B) /%
0.00	70	30
10.00	70	30
16.00	10	90
20.00	10	90
20.01	2	98
38.00	2	98
40.00	70	30
45.00	70	30

流速：1.0 mL/min；

激发波长：360nm；

发射波长：440nm；

柱温：35℃；

进样量：10 μL。

5.4 测定

在“5.3”色谱条件下，取混合标准系列溶液（5.1）分别进样，进行液相色谱分析，分别以混合标准系列溶液浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制标准曲线。

取“5.2”项下的待测溶液进样，根据保留时间定性，测得峰面积，根据标准曲线得到待测溶液中各组分的浓度。按“6”分别计算样品中5种组分的含量。

6 分析结果的表述

计算

$$\omega = \frac{D \times \rho \times V}{m \times 1000}$$

式中： ω ——化妆品中荧光增白剂 85 等 5 种组分的质量分数， $\mu\text{g/g}$ ；

ρ ——从标准曲线上得到待测组分的质量浓度， ng/mL ；

V ——样品定容体积， mL ；

m ——样品称样量， g ；

D ——稀释倍数（不稀释则取 1）。

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的相对标准偏差应符合《化妆品中禁用物质和限用物质检测方法验证技术规范》规定。

7 图谱

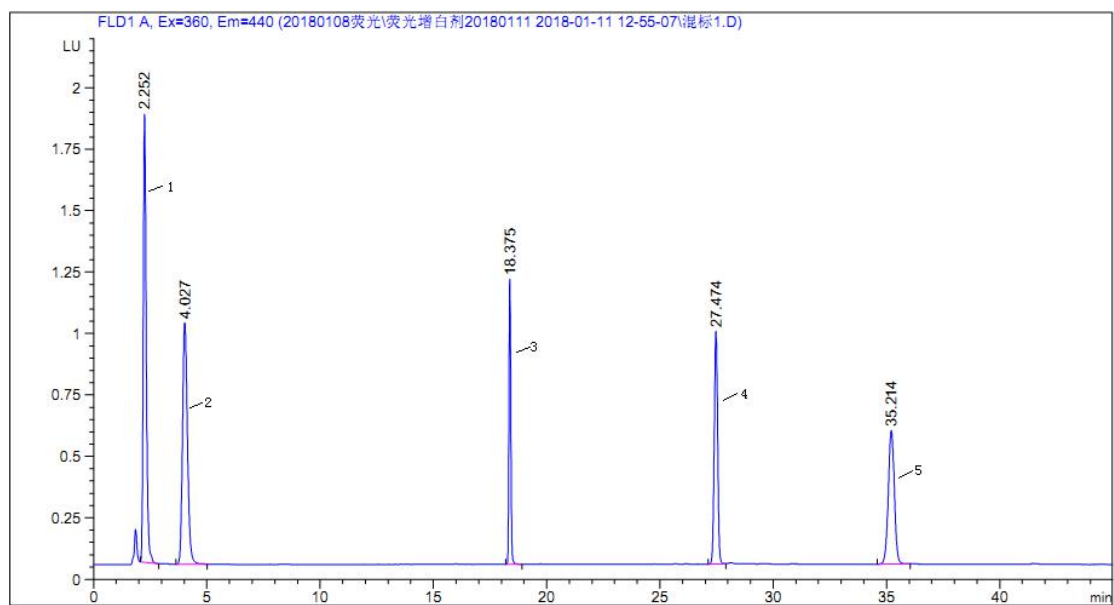


图 1 混标溶液色谱图

1: 荧光增白剂 85 (2.252 min) ; 2: 荧光增白剂 351 (4.027min) ;
3: 荧光增白剂 140 (18.375min) ; 4: 荧光增白剂 367 (27.474min) ; 5: 荧光增白剂 184 (35.214min)

附录 A
(规范性附录)
荧光增白剂 85 等 5 种组分阳性结果的确证

如检出阳性样品，需经液相色谱-质谱法进行确证。

A.1 前处理过程见“5.2”

A.2 参考色谱条件

色谱柱：C18 柱（50 mm×2.1 mm×1.8 μm），或等效色谱柱；

流动相 A:10mmol/L 乙酸铵溶液

流动相 B:乙腈

梯度洗脱程序：

时间/min	V(流动相 A) /%	V(流动相 B) /%
0.01	90	10
5	10	90
10	10	90
10.1	90	10
12	90	10

流速：0.4mL/min；

柱温：35℃；

进样量：1 μL。

A.3 参考质谱条件

离子源：电喷雾离子源（ESI）；

监测方式：多反应监测模式（MRM）；

1、荧光增白剂 85、荧光增白剂 351

扫描方式：负离子扫描；

离子源温度：550℃；

气帘气：20psi；

电离电压：-4500V；

喷雾气：55psi；

辅助加热气：55psi；

碰撞气：7psi；

2、荧光增白剂 140、荧光增白剂 184、荧光增白剂 367

扫描方式：正离子扫描；

离子源温度：550℃；

气帘气：20psi；

电离电压：5500V；

喷雾气：55psi；

辅助加热气：55psi；

碰撞气：7psi

表 A.1 母离子、特征碎片离子、去簇电压及碰撞能

编号	组分名称	母离子 (m/z)	特征碎片离子 (m/z)	去簇电压 (V)	碰撞能(V)
1	荧光增白剂 85	413.2	310.8*	-205	-31
			271.2	-205	-35
2	荧光增白剂 351	258.2	226.0*	-125	-25
			79.8	-125	-33
3	荧光增白剂 140	232.1	188.1*	150	36
			203.1	150	24
4	荧光增白剂 184	431.3	415.2*	220	55
			401.2	220	54
5	荧光增白剂 367	363.1	270.0*	200	45
			244.1	200	51

*作为定量离子

A.4 定性判定

在相同的试验条件下，样品中应呈现定量离子对和定性离子对的色谱峰、被测组分的质量色谱峰保留时间与标准溶液中对应组分的质量色谱峰保留时间一致，样品色谱图中所选择的监测离子对的相对丰度比与相当浓度标准溶液的离子对的相对丰度相比的偏差不超过表 A.2 规定范围，则可判断样品中存在对应的测定组分。

表 A.2 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 %≥ k > 20 %	20 %≥ k >10 %	k≤ 10 %
允许的最大偏差	±20%	±25%	±30%	±50%

A.5 检出限

本方法对荧光增白剂 85 的检出浓度为 11mg/kg，荧光增白剂 351 的检出浓度为 0.07mg/kg，荧光增白剂 140 的检出浓度为 0.02mg/kg，荧光增白剂 184 的检出浓度为 0.2mg/kg，荧光增白剂 367 的检出浓度为 0.2mg/kg。

A.6 图谱

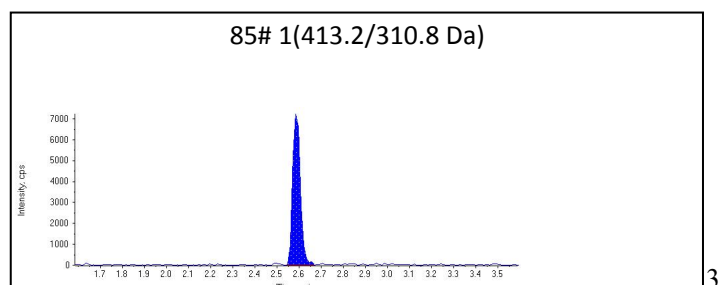


图 A.1 荧光增白剂 85 图谱

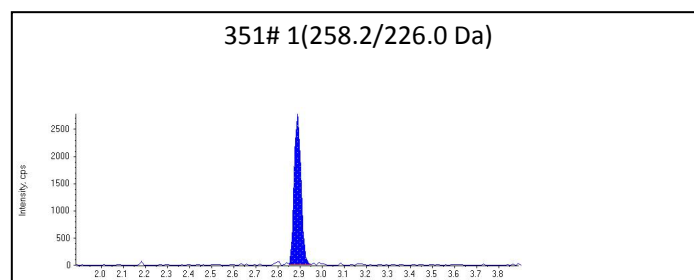


图 A.2 荧光增白剂 351 图谱

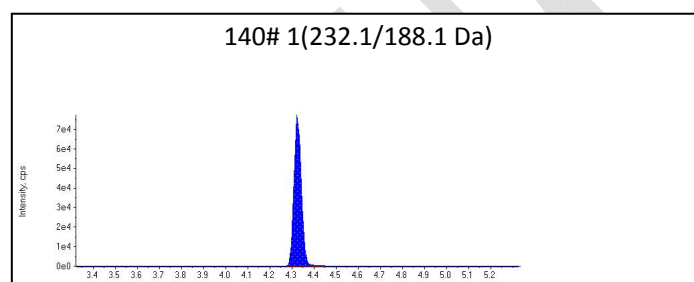


图 A.3 荧光增白剂 140 图谱

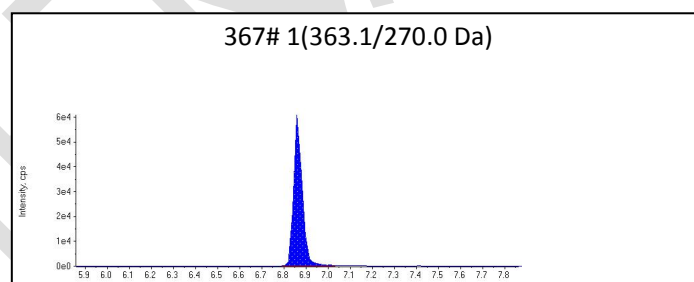


图 A.4 荧光增白剂 367 图谱

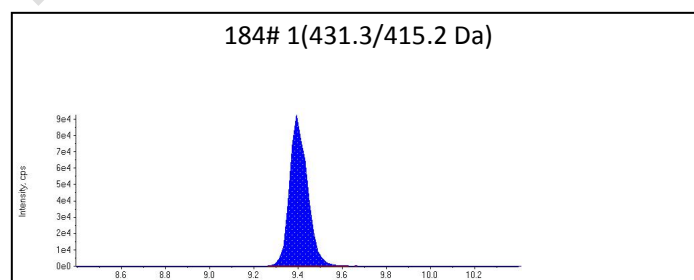


图 A.5 荧光增白剂 184 图谱

化妆品中荧光增白剂的检测方法起草说明

为加强化妆品监督管理，进一步提高化妆品产品安全性，受国家药品监督管理局委托，中国食品药品检定研究院组织开展了“化妆品中荧光增白剂的检测方法”的建立和验证工作。现就起草工作有关情况说明如下：

一、起草的必要性

荧光增白剂是一种荧光染料。目前，越来越多的面膜通过薄层成像仪在两个波长(254nm、366nm)下观察出有荧光反应。查阅相关资料文件，众多荧光增白剂并未获得许可加入化妆品中，仅联苯乙烯二苯基二磺酸二钠同时列入《国际化妆品原料标准中文名称目录》(2010年版)和食药监总局2015年发布的《已使用化妆品原料名称目录》中。目前我国对于化妆品中荧光增白剂的添加没有明确的规定，也没有相关检测方法。

本方法的制定旨在为化妆品中部分非法添加的荧光增白剂的测定提供准确有效的检测方法，对含有荧光增白剂类化妆品的监管提供有力的技术支撑。

二、起草原则

本检测方法兼具先进性、准确性以及可操作性强的特点，采用目前一般检测实验室普遍具备的分析技术，选择适宜、可行、便于实际操作的分析条件，保证检测方法的准确性和重现性。

三、起草过程

通过查阅国内外相关文献资料等调研工作，于2015年11月开展本方法的实验研究，于2016年9月基本完成了该方法的建立工作。2017年1月底向3家单位寄送了验证技术资料、验证用标准品和样品，完成了验证试验。2018年1月开始按照化妆品标准专家委员会的专家意见增加了部分荧光增白剂组份的测定，对化妆品中荧光增白剂的测定方法(荧光增白剂85等5种组分)进行了修改，并组织3家单位进行了方法的验证。2019年5月中国食品药品检定研究院组织召开了专家评审论证会，会后根据专家意见对本方法进行了修改完善，形成征求意见稿。

四、重点说明的问题

(一) 对于化妆品中荧光增白剂测定目标成分的确定。

荧光增白剂的种类非常多，用于日常生活中的各个领域。但是由于受到溶解性的限制，很多荧光增白剂并不能使用在化妆品基质中。为了拓展检测方法的应用领域，我们增加了驻留类膏霜乳液单元类型产品的研究，并将面膜类产品扩展为驻留类一般液态单元类型产品。

在前期调研和对市售化妆品中荧光增白剂的初筛工作基础上确定了本项目中建立检测方法的荧

光增白剂种类。

（二）关于五种荧光增白剂

荧光增白剂 351，CAS：27344-41-8，EINECS 登录号：248-421-0，IUPAC 名为 4,4'-双(2-磺酸苯乙烯基)联苯基二钠。

荧光增白剂 140，CAS：91-44-1，EINECS 登录号：202-068-9，IUPAC 名为 7-(二乙基氨基)-4-甲基-2H-1-苯并吡喃-2-酮。

荧光增白剂 85，CAS：12224-06-5，EINECS 登录号：241-883-4，IUPAC 名为 4,4'-双[(4-苯胺基-6-羟乙基氨基-1,3,5-三嗪-2-基)氨基]二苯乙烯-2,2'-二磺酸二钠盐。

荧光增白剂 367，CAS：5089-22-5，EINECS 登录号：225-803-5，IUPAC 名为 1,4-双(2-苯并恶唑基)萘。

荧光增白剂 184，CAS：7128-64-5，EINECS 登录号：230-426-4，IUPAC 名为 2,5-双(5-叔丁基-2-苯并恶唑基)噻吩。

（三）关于检测方法的建立和验证

此次针对荧光增白剂 351、荧光增白剂 85、荧光增白剂 140、荧光增白剂 367、荧光增白剂 184 五种成分进行试验。

1. 经过波长的选择和流动相的优化确定了高效液相色谱法的基本色谱条件。
2. 通过空白基质的筛选、干扰峰的排查、提取溶剂的筛选、提取时间的筛选、提取温度的筛选确定了驻留类一般液态单元类型产品与驻留类膏霜乳液单元类型产品这两种基质样品的处理提取条件。
3. 通过高效液相/质谱联用法，确立了五种目标化合物定性确证方法。

在溶剂、驻留类一般液态单元类型产品基质和驻留类膏霜乳液单元类型产品基质条件下分别对五种荧光增白剂成分进行方法验证。

通过对检出限和定量下限、检出浓度和最低定量浓度、线性及线性范围、精密度、回收率、稳定性、实验样品检测分析、质谱确认等项目的考察，该方法各项指标均符合国食药监许[2010]455 号《化妆品中禁用物质和限用物质检测方法验证技术规范》的要求。

（四）关于样品处理步骤中过滤情况的考察

我们对 8 个样品（其中 4 个驻留类一般液态单元类型产品基质、4 个驻留类膏霜乳液单元类型产品基质）进行加样回收实验，最后考察过滤后进样和不过滤进样的结果，发现过滤后有些样品的回收率有较大损失，甚至未检出，故决定样品处理时，都不再进行过滤操作，通过高速离心来规避杂质的干扰，并且在色谱柱前端加上预柱进行保护。

（五）关于实验过程中的干扰峰

在检测过程中发现在荧光增白剂 351 的出峰位置一直有大小不同的干扰峰或者残留峰，几经排查均未消除，故进行干扰峰排查实验。

根据查阅资料，有仪器公司实验表明，由于使用的溶剂不论是水还是乙腈等都不可能是纯物质，在使用梯度洗脱的时候，刚开始的水相比较多时，有一些物质会积累在色谱柱前段，随着有机相逐渐增多而洗脱出来，进而对测定造成干扰。故对流动相进行了进一步的优化，采用了等度洗脱，待荧光增白剂 351 出峰后再采用梯度洗脱。

（六）关于样品的预实验

由于高浓度的荧光增白剂 351 会对高效液相进样系统产生强烈污染，且一旦污染极难清除干净，故在实验之前需要对样品进行预实验，即在紫外灯 366nm 处，观察荧光情况，如果荧光强度很高，则需要进样前做稀释处理。

（七）关于液相联用质谱确认实验

在本实验室现有实验条件下，荧光增白剂 85 在液质方法的检出限比液相-荧光方法的检出限约高出 7 倍，如果样品在液相-荧光方法上检出荧光增白剂 85 并且含量较低，在进行液质确认时，需要通过增大取样量，增大进样量等方式以使得液质方法检出限与液相-荧光方法检出限相当，避免荧光增白剂 85 因在液质方法条件下灵敏度较低而出现假阴性结果。

五、起草依据以及文献

- [1] 《化妆品安全技术规范》2015 年版
- [2] 《化妆品中禁用物质和限用物质检测方法验证技术规范》
- [3] MVC-Report. Vol.2, Pg.193,1973
- [4] 汤娟,丁友超,曹锡忠等.超高效液相色谱法快速检测纺织品中的 8 种荧光增白剂[J].色谱, 2014, 32 (11): 1230-1235
- [5] 刘杰,郑俊英,彭青枝等.高效液相色谱-荧光检测法测定食品接触材料中的水溶性及脂溶性荧光增白剂[J].食品科学, 2015, 36 (24): 274-279
- [6] 顾宇翔,周泽琳,王丁林等.荧光增白剂及其在洗涤剂 and 化妆品中的应用和检测研究进展[J].日用化学工业, 2015, 45 (8): 468-473
- [7] 黄胜. 7-二乙氨基-4-甲基香豆素合成中催化剂的改良[J].上海化工, 2009, 34 (16)
- [8] 陈宇.食品包装材料用添加剂使用手册[M].中国轻工业出版社, 2010.120
- [9] 肖锦平等.苯并噁唑类荧光增白剂[J].精细化工原料及中间体, 2008, (6): 28-31
- [10] 焦艳娜,丁利,朱绍华等.高效液相色谱-荧光检测法测定食品接触材料塑料制品中荧光增白剂[J].

- 色谱, 2013, 31 (1) : 83-87
- [11] 竹百均等.我国纺织品用荧光增白剂产品质量标准化工作的现状及展望[J].印染助剂, 2009, 5(26): 47-51
- [12] 叶玲等.高效液相色谱法同时测定纸制包装材料中的 11 种荧光增白剂[J].应用化工, 2015, (10): 1949-1952
- [13] 董仲生等. 荧光增白剂的应用和其使用安全性[J].中国洗涤用品工业, 2011, (4): 33-39
- [14] 张云, 陈泽宇, 吕水源, 程立军, 唐庆强, 张信仁等. 高效液相色谱法测定食用油中 10 种荧光增白剂迁移量[J].食品工业科技, 2015, 24 (36): 82-84, 90
- [15] 葛广周等.《染料索引》中部分荧光增白剂的化学结构[J].染料与颜料, 2015, 52 (6): 9-12, 58
- [16] 洗燕萍等.固相萃取—超高效液相色谱分离测定洗涤用品中 4 种荧光增白剂 [J].技术与应用, 2013, 02
- [17] 吕春华等.高效液相色谱法测定化妆品中 5 种荧光增白剂[J].理化检验-化学分册, 2015, 05
- [18] 张建莹等.超高效液相色谱-串联质谱法检测食用菌中的荧光增白剂[J].食品安全质量检测学报, 2014, 09
- [19] 马会娟等.洗涤剂中 5 种荧光增白剂的高效液相色谱法检测及质谱确证[J].分析实验室, 2014, 5
- [20] 杜志峰, 沈燕萍, 刘付建等.LC-MS/MS 法测定发泡塑料餐具中 5 种荧光增白剂[J].现代食品科技, 2013, 29 (12) : 3014-3018
- [21] 吴钟玲, 陈树东, 林晓佳等.高效液相色谱法测定食品接触聚苯乙烯制品中 9 种荧光增白剂[J].现代食品科技, 2013, 29 (11) : 2757-2761
- [22] 洗艳萍,郭新东,穆同娜,董浩,卢宇靖,吴玉玺,罗海英,罗东辉等. 食品接触塑料容器中限用荧光增白剂 184 和 393 的迁移行为研究[J].质谱学报, 2014, 35 (6) : 530-536
- [23] 余静清, 郑爽等. 荧光增白剂检测方法研究进展[J].计量与测试技术, 2016, 43 (3) : 107-109
- [24] 杨丽, 付登洲, 李菊, 黄雪琳, 刘淑君等. 食品接触塑料制品中几种常用荧光物质及其同步检测方法研究进展[J].塑料科技, 2015, 43 (10) : 99-103.
- [25] 竹百均, 肖锦平, 程德文等.我国荧光增白剂工业改革开放三十年的巨变[J]精细化工原料及中间体, 2009, (5) : 18-22
- [26] HG/T 4034-2008 荧光增白剂 SWN (C.I. 荧光增白剂 140) [S]
- [27] 杜志峰, 沈燕萍, 刘付建等.液相色谱-高分辨飞行时间质谱法测定食品接触纸包装材料中的 7 种荧光增白剂[J].分析化学研究报告, 2014, 42 (5) : 636-642
- [28] Hsin-Chang Chen, Shu-Ping Wang, Wang-Hsien Ding. Determination of fluorescent whitening

- agents in environmental waters by solid-phase extraction and ion pair liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J].*Journal of Chromatography A*, 2006 ,(1102): 135–142
- [29] Wei-Chuan Shu, Wang-Hsien Ding. Determination of fluorescent whitening agents in laundry detergents and surface waters by solid-phase extraction and ion-pair high-performance liquid chromatography[J]. *Journal of Chromatography A*, 2005 ,(1088): 218–223
- [30] Wei-Chuan Shu, Wang-Hsien Ding. Determination of fluorescent whitening agents in infant clothes and paper materials by ion-pair chromatography and fluorescence detection[J]. *Journal of the Chinese Chemical Society*, 2009, 56: 797-803
- [31] Jeong Soo Kim, Do Hwan Kim, Keon Kim. Determination of fluorescent whitening agents in paper materials by ion-pair reversed-phase high-performance liquid chromatography[J]. *Bull.Korean Chem.Soc*,2012, 33(12)
- [32] Xindong Guo, Yangping Xian, Haiying Luo, et al. Quantitative determinations of seven fluorescent whitening agents in polystyrene and polyvinyl chloride plastics by ultrahigh performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry[J].*The Royal Society of Chemistry* ,2013, 5:6086–6093
- [33] Jean-Marc A. Stoll and Walter Giger. Determination of Detergent-Derived Fluorescent Whitening Agent Isomers in Lake Sediments and Surface Waters by Liquid Chromatography[J]. *Analytical Chemistry*, 1997, 69(13)
- [34] M.de los Santos,C.Nerin,C.Domeno,and R.BattleThe Analysis of Fluorescent Whitening Agents Using Reversed-Phase HPLC and Mass Spectrometry [J]. *LCGC Asia Pacific*, 2004, 7 (3) : 34-40
- [35] <http://www.chemblink.com/products/3333-62-8C.htm> 化工产品目录
- [36] <http://www.Thegoodscentcompany.com/data/rw1381071.html>
- [37] <http://www.lipochemicals.com/products/lipolight-oap-pva>