

《化妆品中壬二酸的检测 气相色谱法》征求意见稿

编制说明

一、 工作简况

1、任务来源

根据国家标准化管理委员会关于下达 2019 年第一批国家标准制修订计划的通知（国标委发〔2019〕11 号）要求，上海市质量监督检验技术研究院、中检华纳质量技术中心等承担了《化妆品中壬二酸的检测 气相色谱法》国家标准的制定工作，项目编号为 20190948-T-469

2、主要工作过程

起草单位收集相关的国内外法规和标准检测方法，通过分析、梳理、整合、研讨的方式确定实验方案及技术路线；研究探讨试验过程中发现的问题，对得到的数据结果进行汇总，最终形成化妆品中壬二酸的检测方法；组织 4 家单位对建立的方法进行协同性验证实验，并进一步对分析条件和文本内容进行完善，于 2020 年 6 月形成《化妆品中壬二酸的检测 气相色谱法》标准征求意见稿。

通过向专业标准化技术委员会提出立项申请并通过国家标准委员会的立项审查后，上海市质量监督检验技术研究院、中检华纳质量技术中心等获得了《化妆品中壬二酸的检测 气相色谱法》的标准研制项目。在此期间，从满足实际检测需要出发，开展了国内外相关资料的收集和确认工作，在资料的检索和信息的收集过程中，分析比较了大量的国内国外文献方法，在符合标准化工作规划和标准化计划要求的基础上，形成了检测标准方法草案，然后起草小组使用该标准草案对市场上的产品进行了收集和检测，起草小组根据样品检测数据和验证情况对标准文本又进行了修改，具体时间安排如下：

2019 年 4 月~2019 年 5 月，确定总体工作方案，明确任务分工，召开专家咨询启动会。

2019 年 6 月~7 月，查阅收集和整理国内外相关文献和标准资料，购买标准品、试剂等。

2019 年 7 月~2020 年 1 月，（1）优化色谱分离测定条件；（2）研究和建立样品提取净化技术；（3）建立初步的检测方法。

2020 年 2 月~5 月，（1）开展验证试验工作；（2）补充完善相关验证数据；（3）实际样品的检测；（4）分析汇总数据。

2020 年 6 月，形成征求意见稿上报检标委。

3、主要参加单位和工作组成员等

本标准的起草单位为上海市质量监督检验技术研究院、中检华纳质量技术中心等。

本标准项目负责人为周耀斌，标准主要起草人还包括赵艳菊、宁啸骏、兰旭、陆志芸、虞成华、夷婧、周静、刘恕、顾宇翔等。

二、 标准编制原则和主要内容

1.标准编制原则

在编制过程中，本课题组查阅了国内外有关文献资料，参考了各行业部门制定的同类标准方法，遵循“先进性、实用性、统一性、规范性”的原则，注重标准的可操作性，完成了检测方法的研究工作，形成了方法草案和编制说明。本方法的主要参数、公式、性能要求等主要依据 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》的要求进行编写，按照 GB/T 27417-2017《合格评定 化学分析方法确认和验证指南》对方法学进行了考察。标准制定符合我国国情，方法满足壬二酸检验的要求，准确可靠，且具有普遍适用性，易于推广。建立检测方法标准技术路线，技术路线图见图 1：

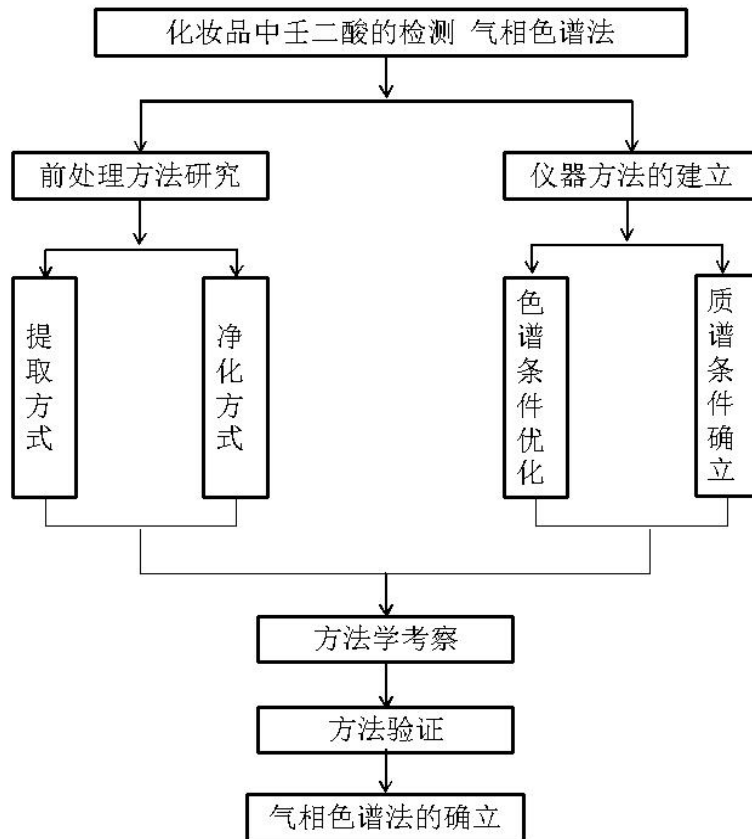


图 1 技术路线图

2.标准主要内容的论据

2.1 检测方法选择依据

截止到目前，国内外用于检测壬二酸的方法包括：（1）三氟化硼-乙醚衍生气相色谱法检测（傅美景，夏亚君，何厚洪。GC 法检查壬二酸原料中相关有机酸，药学进展，2006（30）：365.）（2）容量分析法（臧亚茹。复方壬二酸乳膏的制备及质量控制，中国药房，2007（18）：2203.）（3）硫酸甲醇衍生气相色谱-质谱联用分析（周聪晓，黄成坤，吾满江·艾力，等，高纯度壬二酸的分离纯化工工艺研究，化学试剂，2007（29）：443.）（4）将壬二酸衍生为对溴苯乙酮二酯，采用高效液相色谱法检测（张宜，刘珍勇，壬二酸临床前药学研究进展，2007（16）：58）。

考虑到壬二酸熔点为 98~103℃，沸点为 286℃（100mmHg），不易气化；容量分析法测定时的干扰比较大，不能精确测定化妆品中的壬二酸含量，采用衍生的方法，将壬二酸转化成酯类，通过色谱柱进行分离，火焰离子化检测器检测，灵敏度高，分离度好。故本研究拟建立通用性及操作性强、快速简便的前处理方法，利用气相色谱法准确测定化妆品中的壬二酸。

壬二酸别名杜鹃花酸，是从卵圆形糠秕孢子菌培养液中分离出的含有 9 个碳原子的天然饱和直链二元酸，化学结构式为 $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_7-\text{COOH}$ ，分子量 188.22（宋欣。壬二酸及其衍生物在护肤美容中的应用，河北化工，2010（33）：35）。

2.2 检测方法建立研究

2.2.1 仪器方法的建立

2.2.1.1 色谱条件的优化

（1）色谱柱的选择

壬二酸衍生物经质谱确认为壬二酸二乙酯，根据壬二酸二乙酯的性质，选择了 HP-5（30m×0.25mm×0.25μm），DB-1（60m×0.53mm×1.0μm），DB-624（60 m ×320 μm × 1.8 μm），CP-WAX（50m×0.25mm×0.2μm）四种色谱柱作为目标物的预选分离柱，进行了实验，实验结果见下图。

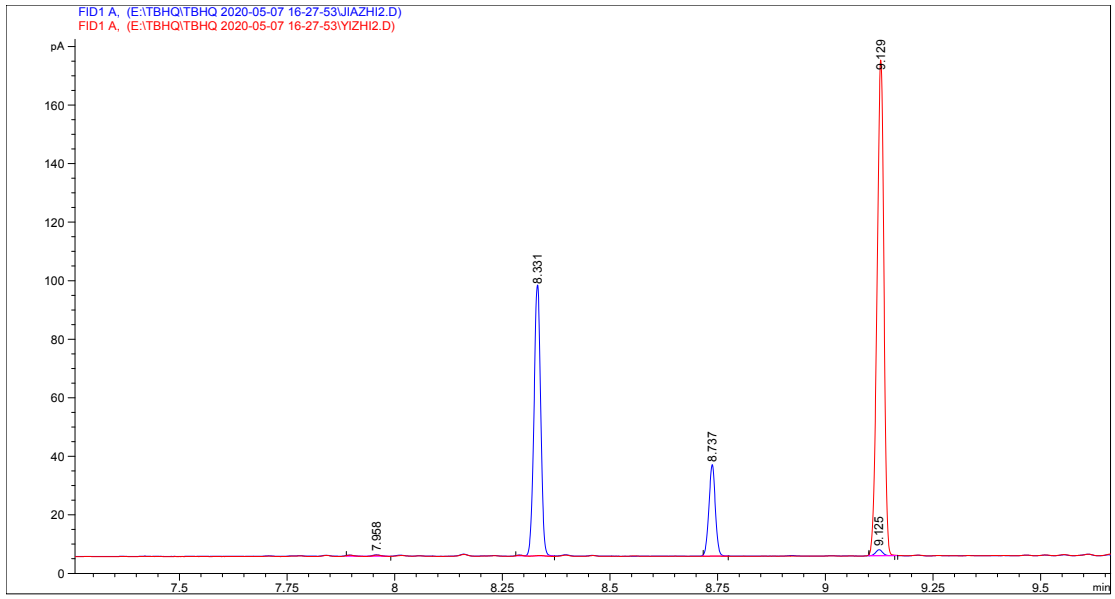


图 2 HP-5 (30m×0.25mm×0.25μm)

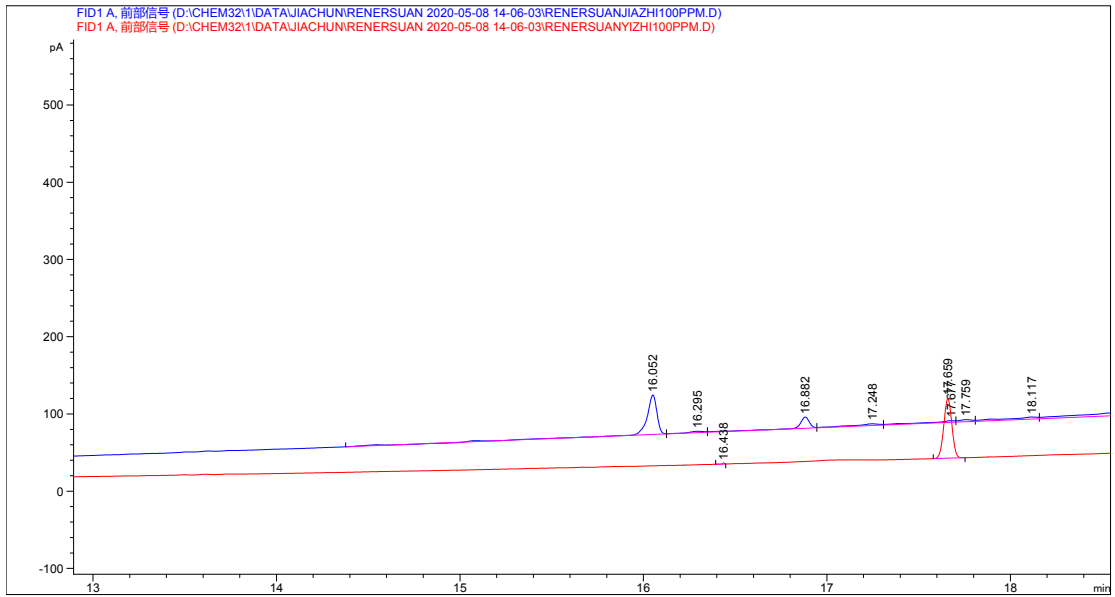


图 3 DB-1 (60m×0.53mm×1.0μm)

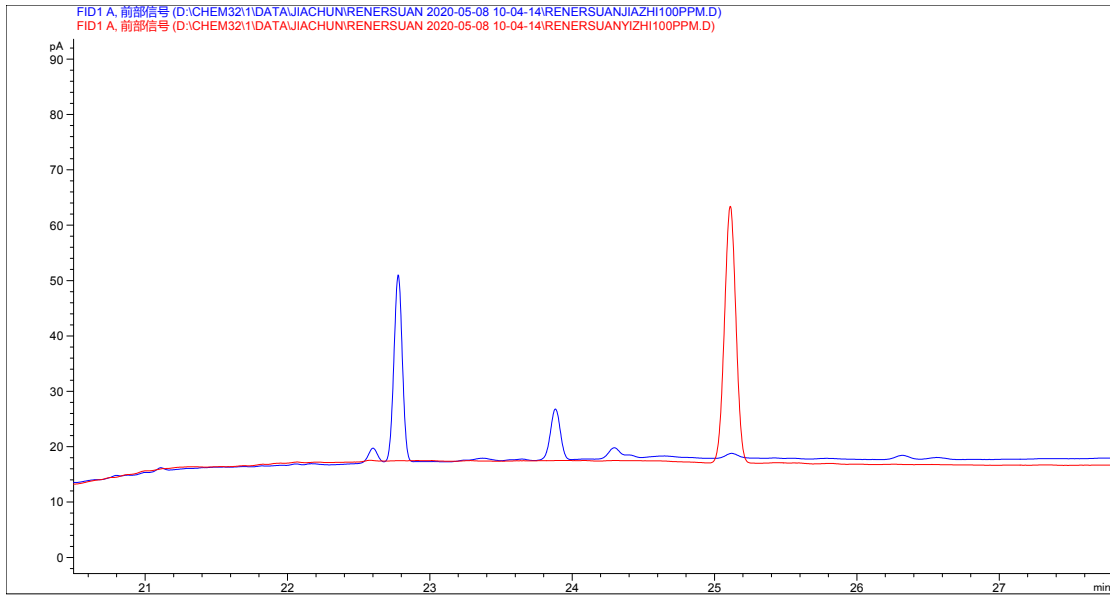


图 4 DB-624 (60 m × 320 μm × 1.8 μm)

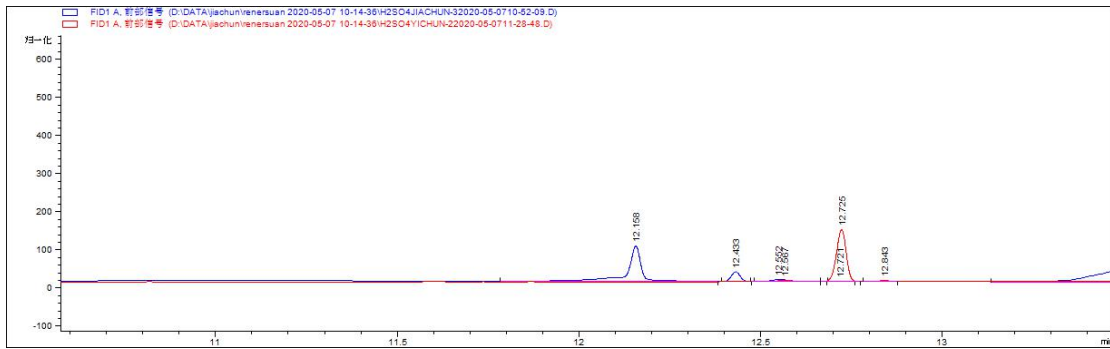


图 5 CP-WAX (50m×0.25mm×0.2μm)

壬二酸衍生物在四种色谱柱上的峰宽及对称因子见下表：

表 1 色谱峰峰宽和对称因子

色谱柱	HP-5 (30m×0.25mm×0.25μm)	DB-1 (60m×0.53mm×1.0μm)	DB-624 (60 m × 320 μm × 1.8 μm)	CP-WAX (50m×0.25mm×0.2 μm)
峰宽	0.0181	0.0489	0.0863	0.0411
对称因子	1.12	0.981	0.998	1.635

结合壬二酸衍生物在不同色谱柱上的色谱峰峰形、峰宽及对称因子，选择 HP-5 (30m×0.25mm×0.25μm) 用来分离，峰展宽小，对称性好。

通过实验，最终确定色谱条件如下：

a) 色谱柱：HP-5 (30m×0.25mm×0.25μm)，或性能相当色谱柱；

- b) 升温程序：80℃（保留 2min），20℃/min 升温至 250℃，保持 6min；
- c) 进样口温度 260℃；
- d) 分流比 5: 1；
- e) 检测器温度 280℃，氢气流量 30mL/min，空气 300mL/min。

2.2.1.2 阳性样品质谱确认

将壬二酸衍生产物和壬二酸二乙酯标准物质进行质谱分析，分别得到壬二酸衍生物和壬二酸二乙酯总离子流图和质谱碎片图，通过总离子流图的目标峰保留时间与质谱碎片图进行比较，确认壬二酸衍生后物质为壬二酸二乙酯。

壬二酸二乙酯标准物质经质谱确认后总离子流图与质谱图如下：

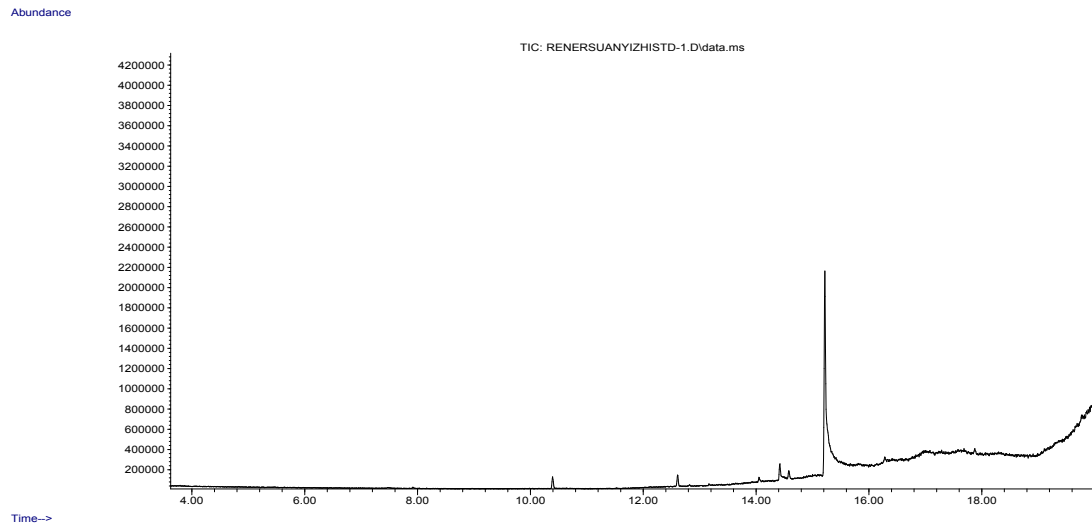


图 6 壬二酸二乙酯标准物质总离子流图

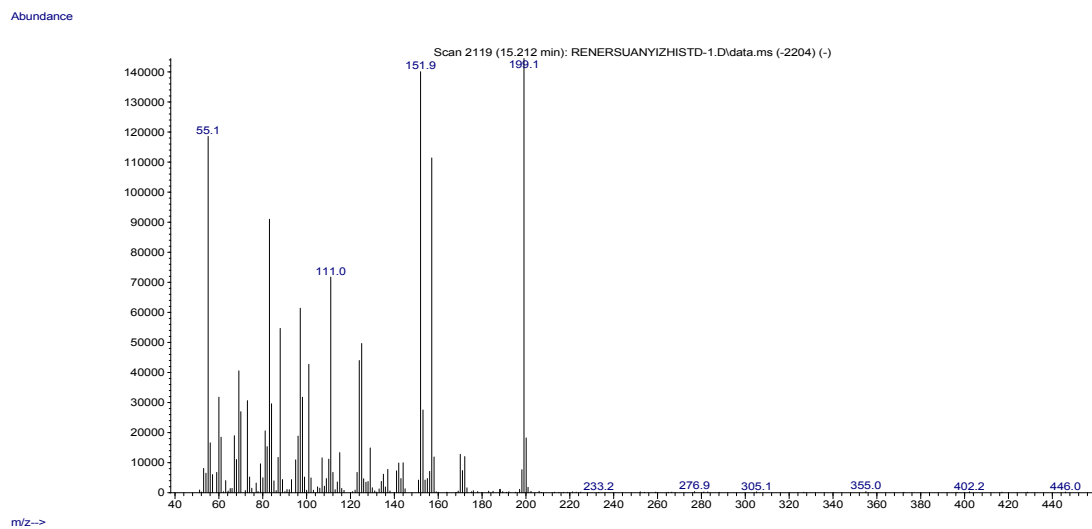


图 7 壬二酸二乙酯标准物质碎片图

衍生物经质谱确认后总离子流图如下：

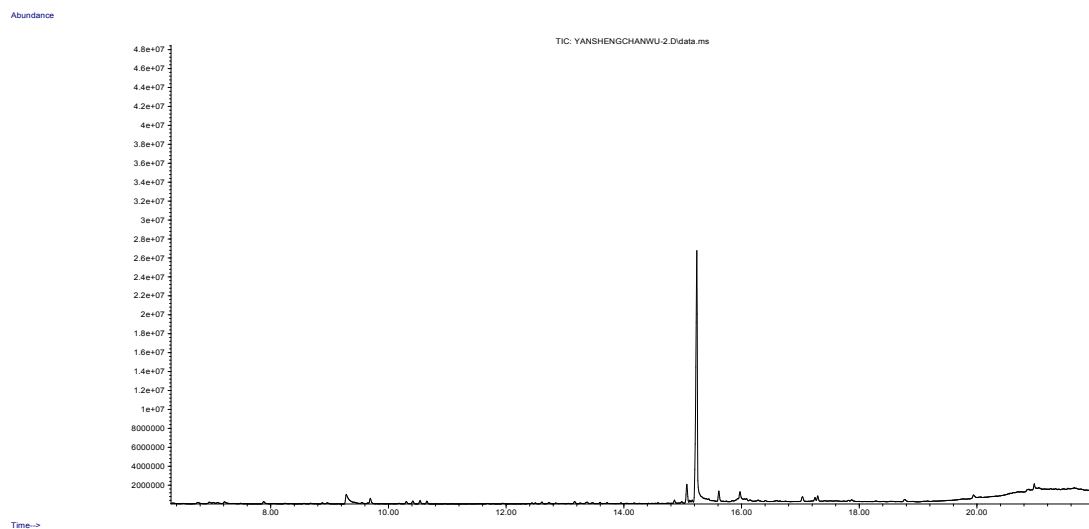


图 8 壬二酸衍生物总离子流图

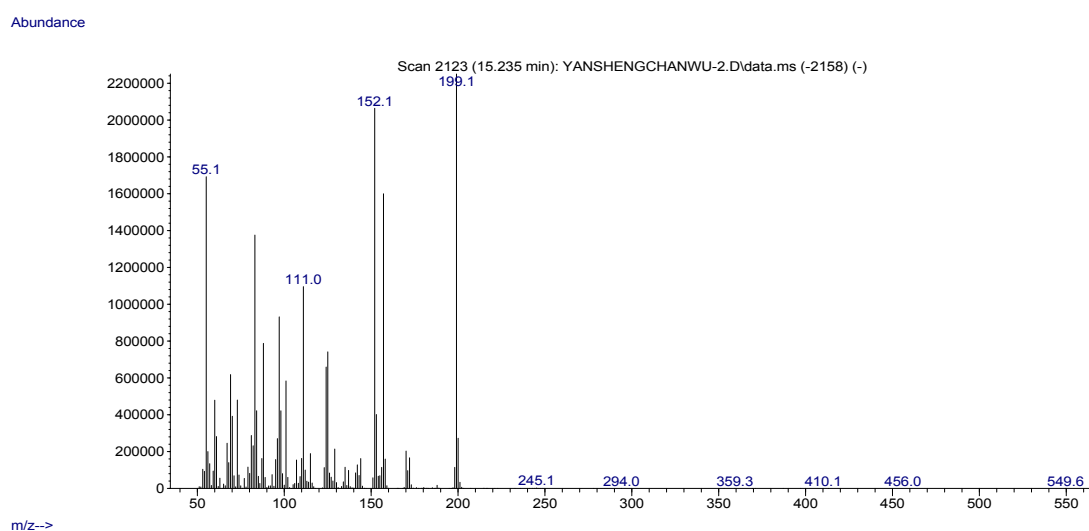


图 9 壬二酸衍生物碎片图

通过对比目标峰的保留时间和质谱碎片图，确认壬二酸衍生物为壬二酸二乙酯。

必要条件下，对于阳性样品可以进行质谱确认，推荐条件如下：

- f) 色谱柱：HP-5ms (30m×0.25mm×0.25μm)，或性能相当色谱柱；
- g) 升温程序：80℃（保留 2min），20℃/min 升温至 250℃，保持 6min；
- h) 进样口温度 260℃；
- i) 分流比 50: 1；
- j) 电离方式：EI
- k) MS 检测器温度 230℃；
- l) 传输线温度 280℃；
- m) 扫描离子范围 50-550amu；

n) 载气: 氦气, 1.0mL/min

2.2.2 前处理方法的研究

2.2.2.1 样品制备方法

为保证样品均匀性, 液态均匀样品直接摇匀; 非均匀的样品需匀浆或粉碎均匀。

2.2.2.2 试样衍生条件的选择与确定

(1) 壬二酸衍生试剂选择

壬二酸熔点为 98~103℃, 沸点为 286℃ (100mmHg), 考虑直接在气相色谱检测, 将壬二酸标样用乙醇溶解, 配制成 200 mg/L, 400 mg/L, 600 mg/L, 800 mg/L, 1000 mg/L 五个点, 直接上机分析, 得到壬二酸标准曲线, 线性如下图所示 (图 10)。由图可见, 所得标准曲线的 X 轴截距非常大, 经文献调研, 造成这个结果的原因可能是由于壬二酸在色谱柱升温过程中发生了分子间聚合反应, 导致低浓度点的壬二酸无法检出, 所以, 壬二酸不能直接上机分析, 需进行柱前衍生。

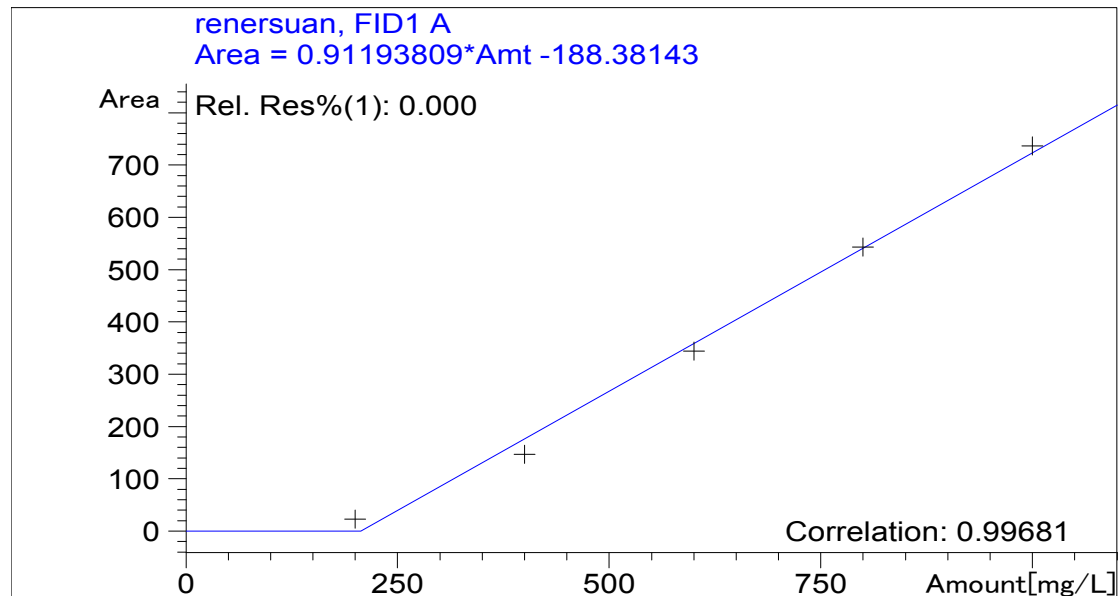


图 10 非衍生条件下标准曲线图

考虑到壬二酸有两个羧基, 采用衍生成酯类物质的方法, 衍生物更稳定, 更容易检测。因此, 考虑用酯化试剂或酰化试剂将羧基转为酯类。因为化妆品中普遍有水相存在, 三氟化硼乙醚络合物不适于做为酰化试剂, 而考虑硫酸甲醇、硫酸乙醇、氢氧化钾甲醇、氢氧化钾乙醇作为酯化衍生试剂。取空白样品, 加入 200mg/L 的壬二酸标样在同样条件下, 进行衍生反应试验, 得到的衍生物谱图如下:

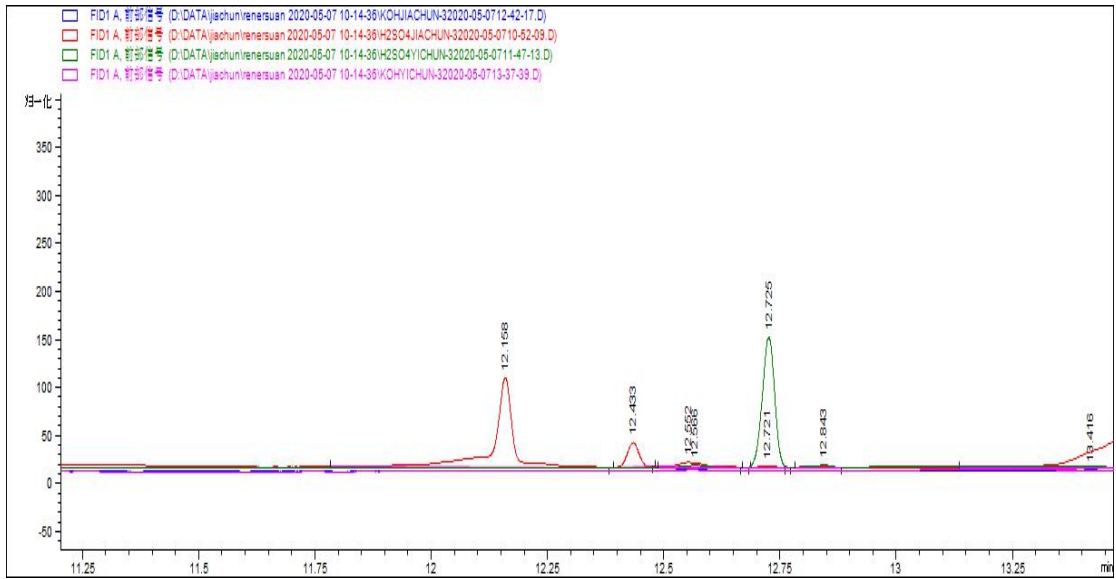


图 11 不同衍生试剂的衍生物色谱图

上图中，红色为硫酸甲醇作为衍生试剂得到的衍生物，经质谱确认衍生物为壬二酸二甲酯；绿色为硫酸乙醇衍生物，经质谱确认衍生物为壬二酸二乙酯；氢氧化钾甲醇和氢氧化钾乙醇衍生后，均无衍生物产生。同样条件下，硫酸乙醇衍生物峰面积大，响应值高，而且乙醇毒性小，因此，选择硫酸乙醇作为壬二酸衍生试剂。

(2) 衍生试剂用量选择

取 1g 试样，加入同样体积的壬二酸标准溶液，加入 2mL 乙醇，分别加入浓硫酸 50 μ L、100 μ L、200 μ L、400 μ L、600 μ L、800 μ L、1000 μ L、1200 μ L、1400 μ L、1600 μ L、1800 μ L、2000 μ L 进行衍生，衍生物含量见下表。

表 2 衍生试剂浓硫酸用量对衍生结果的影响

硫酸加入量 μ L	50	100	200	400	600	800	1000	1200	1400	1600	1800	2000
衍生物含量 mg/L	10.6	29.7	44.5	56.6	57.9	68.6	61.6	66.3	55.1	49.8	46.3	39.5
	10.5	29.4	44.5	56.7	58.0	68.4	61.8	65.8	54.9	49.6	46.0	38.6
	10.3	29.4	44.8	56.4	58.7	68.1	61.1	66.4	55.6	49.4	46.4	38.6
平均值 mg/L	10.5	29.5	44.6	56.6	58.2	68.4	61.5	66.2	55.2	49.6	46.2	38.9
标准偏差 S	0.164	0.199	0.186	0.155	0.432	0.259	0.321	0.311	0.356	0.225	0.225	0.537

以表中硫酸加入量为横坐标，衍生物含量平均值为纵坐标，做图，可以更直观的看出，衍生试剂用量对衍生结果的影响。

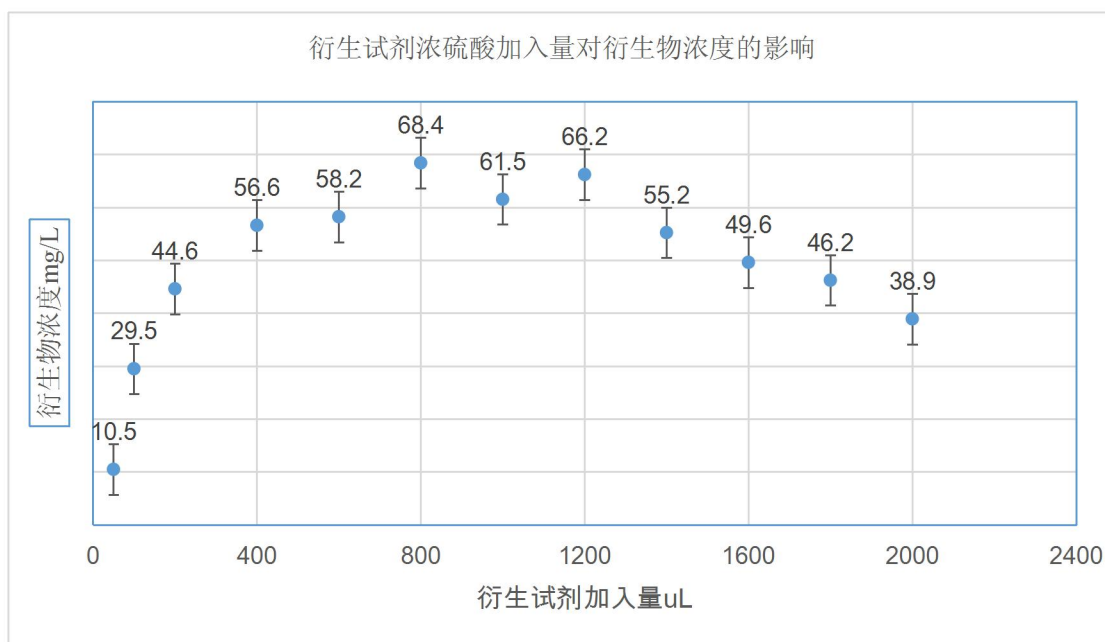


图 12 衍生试剂硫酸加入量对衍生物浓度的影响

结合表和图可以得出，随着浓硫酸加入量的增加，衍生物含量逐渐加大，在硫酸加入量为 800-1200 μ L 时，衍生物浓度最大；随着硫酸加入量再进一步加大，衍生物的浓度逐渐下降，因此，选择硫酸加入量为 800 μ L 比较适宜。

(3) 衍生温度的选择

取 1g 试样，加入同样体积的壬二酸标准溶液，加入 2mL 乙醇，加入浓硫酸 800 μ L，分别在室温，30 $^{\circ}$ C、40 $^{\circ}$ C、50 $^{\circ}$ C、60 $^{\circ}$ C、70 $^{\circ}$ C、80 $^{\circ}$ C 下进行衍生实验，考察温度对衍生过程的影响，结果见下表。

表 3 衍生温度的选择

衍生温度/ $^{\circ}$ C	室温	30	40	50	60	70	80
衍生物含量 mg/L	68.9	65.2	66.0	63.1	60.7	54.5	56.5
	68.5	65.2	65.9	63.2	59.9	55.0	55.8
	69.7	64.3	65.3	63.7	60.2	54.3	55.5
衍生物含量平均值 mg/L	69.0	64.9	65.7	63.3	60.3	54.6	55.9
标准偏差 S	0.603	0.555	0.330	0.299	0.369	0.348	0.499

以温度为横坐标，衍生物含量平均值为纵坐标绘图，结果如下。

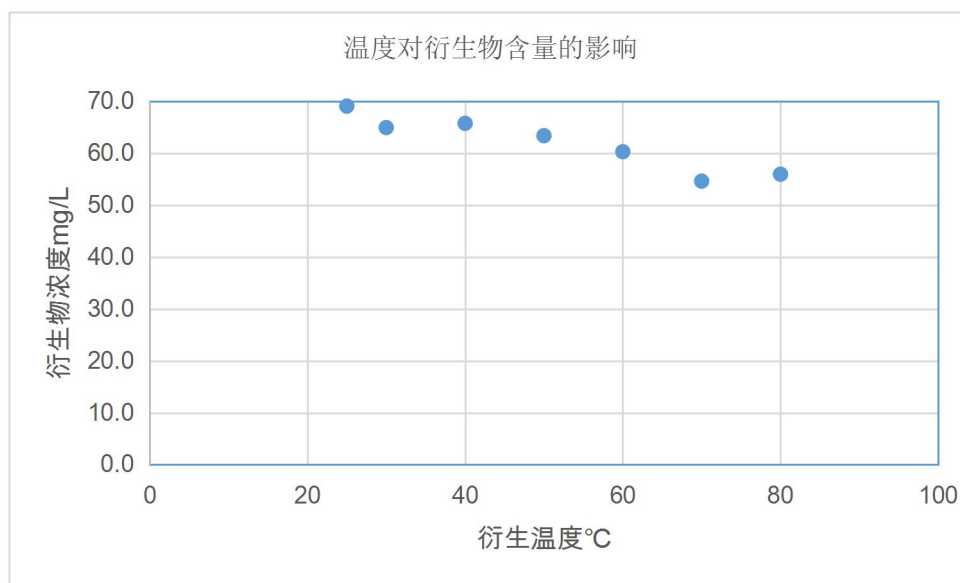


图 13 温度对衍生过程的影响

结合表和图中的数据，在室温到 40°C 范围内，衍生物的含量变化不大，随着衍生温度的逐渐升高，衍生物浓度逐渐下降，在反应温度为 70-80°C 左右时，衍生物含量变化不明显。因为浓硫酸加入时，会产生大量热量，在室温下就可使实现衍生反应，因此，衍生反应温度为室温。

(4) 衍生时间的选择

取 1g 样品，加入同样含量的壬二酸标准溶液，加入 2mL 乙醇，800 μ L 浓硫酸，考察衍生时间为 0min、10min、20min、30min、40min、50min、60min 时，衍生物浓度的变化，结果见下表。

表 4 衍生时间对衍生反应的影响

衍生时间 t/min	0	10	20	30	40	50	60
衍生物含量 mg/L	70.9	71.1	65.8	67.9	61.2	63.8	65.3
	71.4	70.5	66.7	67.8	60.0	64.2	65.8
	71.0	70.7	66.2	68.7	60.0	63.0	66.2
衍生物含量平均值 mg/L	71.1	70.8	66.2	68.1	60.4	63.7	65.8
标准偏差 S	0.272	0.330	0.415	0.467	0.686	0.594	0.449

以衍生时间为横坐标，衍生物含量平均值为纵坐标，做图，结果如下。

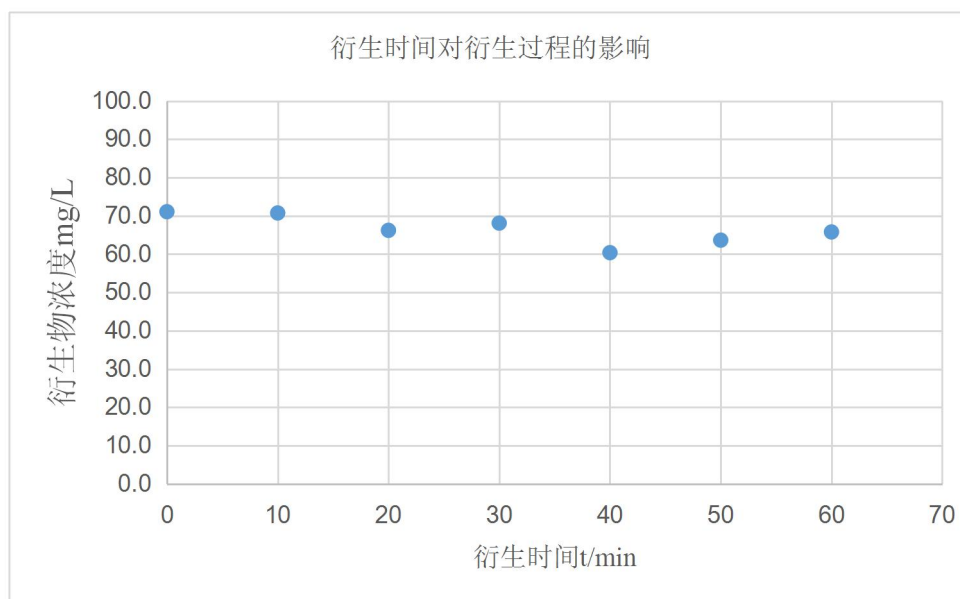


图 14 衍生时间对衍生过程的影响

结合表和图中的数据,可以看出,在 0~30min 范围内,衍生物浓度基本不变;从 30min~60min 范围内,衍生物含量略微有些下降。说明反应时间对衍生反应的影响不大,因此,选择衍生时间为 10min,衍生反应基本已完成。

(5) 提取溶剂的选择

根据衍生物的性质,不溶于水,故在样品提取过程中首先选用实验室常用的正己烷、乙酸乙酯、甲苯和乙腈作为提取溶剂。取 1.0 试样,加入相同体积的壬二酸标准溶液,加入 2mL 乙醇,800 μ L 浓硫酸,涡旋混匀,衍生 10min,加入相同体积的正己烷、乙酸乙酯、甲苯和乙腈提取衍生物。实验中发现乙腈与衍生溶液完全互溶,因此,剔除乙腈。考察正己烷、乙酸乙酯、甲苯作为提取溶剂的提取效率,实验结果见下表。

表 5 提取溶剂对结果的影响

提取溶剂选择	正己烷 1	乙酸乙酯 2	甲苯 3
衍生物含量 mg/L	105.5	83.3	78.2
	106.9	80.5	81.5
	103.8	85.6	82.4
衍生物含量平均值 mg/L	105.4	83.1	80.7
标准偏差 S	1.55	2.56	2.21

以不同提取溶剂为横坐标,衍生物含量平均值为纵坐标,做图,结果如下。

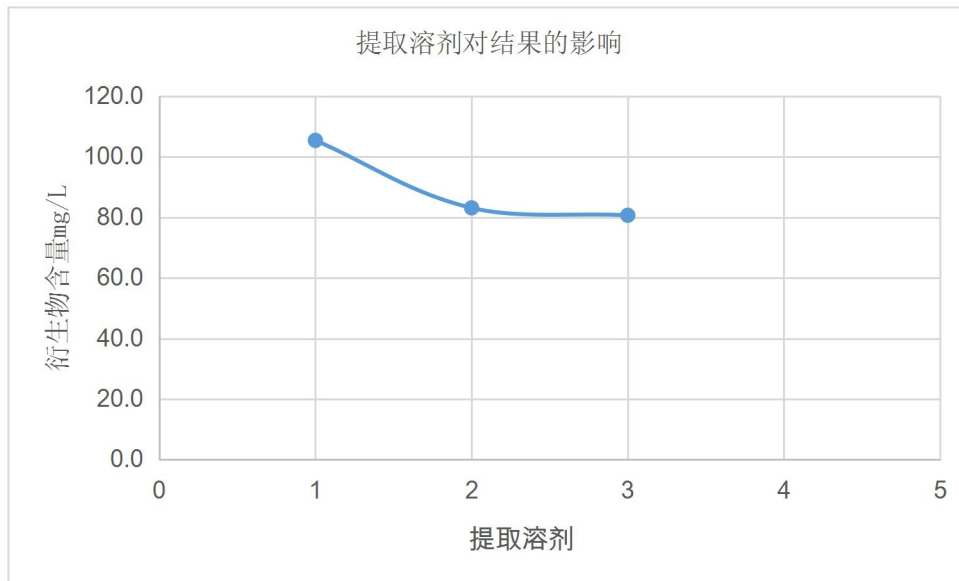


图 15 提取溶解对结果的影响

下图为正己烷（蓝色线）、乙酸乙酯（红色线）、甲苯（绿色线）分别作提取溶剂时的叠加色谱图。

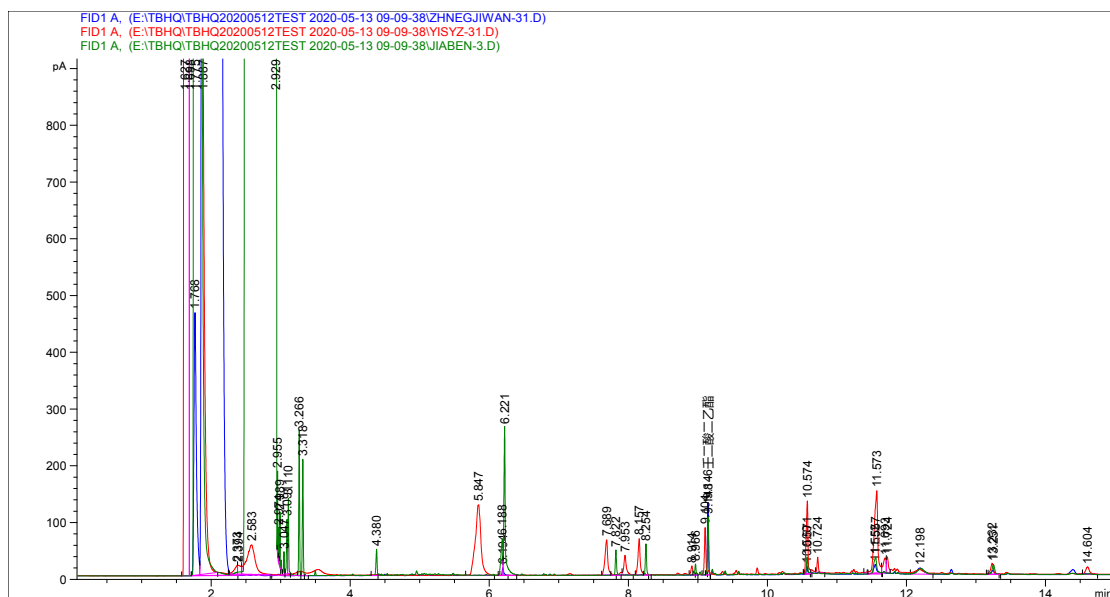


图 16 不同提取溶剂的色谱图

结合数据表和图，可以看出，正己烷作为提取溶剂提取效果最好，提取液衍生物浓度最大，提取效率最高；实验中发现乙酸乙酯作为提取剂时，提取液不易分层；同时，乙酸乙酯和甲苯作为提取溶剂时，在样品基质中提取液色谱图干扰物质比较多，而正己烷作为提取溶剂时，提取液色谱图干扰小，提取效果好，因此，选择正己烷作为衍生后的提取溶剂。

(6) 提取次数的选择

取 1g 试样，加入 2mL 乙醇，800μL 浓硫酸，涡旋混匀，衍生 10min，衍生反应完成后，

用正己烷提取衍生物，分别提取 1 次、提取 2 次，提取 3 次，考虑提取次数对衍生结果的影响。实验结果见下表。

表 6 提取次数对结果的影响

提取次数	提取第 1 次	提取第 2 次	提取第 3 次	提取第 4 次
衍生物含量 mg/L	106.0	29.8	6.57	6.60
	108.8	26.2	6.16	6.83
	100.0	25.9	6.21	7.08
衍生物含量平均值 mg/L	105.0	27.3	6.31	6.83
标准偏差 S	4.53	2.15	0.225	0.232

以提取次数为横坐标，衍生物含量平均值为纵坐标，作图，如下。

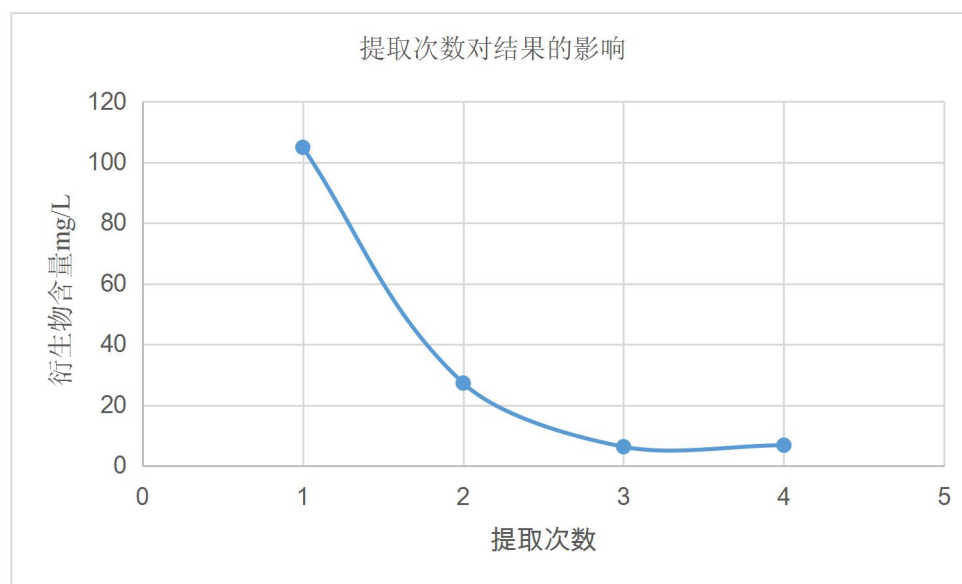


图 17 提取次数对结果的影响

从上图可以看出，随着提取次数的增加，衍生液中衍生物的浓度逐渐下降，提取 3 次和第四次时，衍生液中衍生物的浓度基本不变，因此，提取次数确认为 3 次。

2.2.2.3 净化条件选择

用正己烷提取后，因衍生试剂为浓硫酸，正己烷提取液中残留少量的硫酸，有必要对提取液进行净化，以去除残留的硫酸。考虑衍生物和硫酸的性质，考察去离子水、饱和碳酸氢钠水溶液及 20g/L 的氢氧化钠溶液作为净化溶液，净化结果见下表

表 7 净化条件对结果的影响

净化溶液选择	去离子水 1	饱和碳酸氢钠 2	20g/L 氢氧化钠 3
衍生物含量 mg/L	93.6	102.1	105.0

	93.7	102.4	102.9
	93.7	103.1	94.1
衍生物含量平均值 mg/L	93.7	102.5	100.7
标准偏差 S	0.09	0.54	5.80

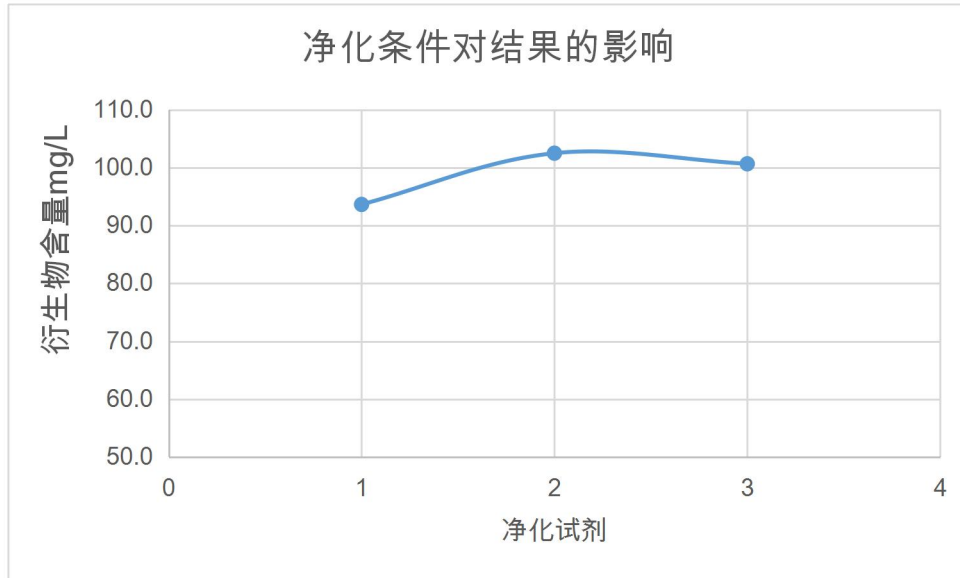


图 18 净化条件对结果的影响

不同净化试剂净化后色谱图叠加图，如下。

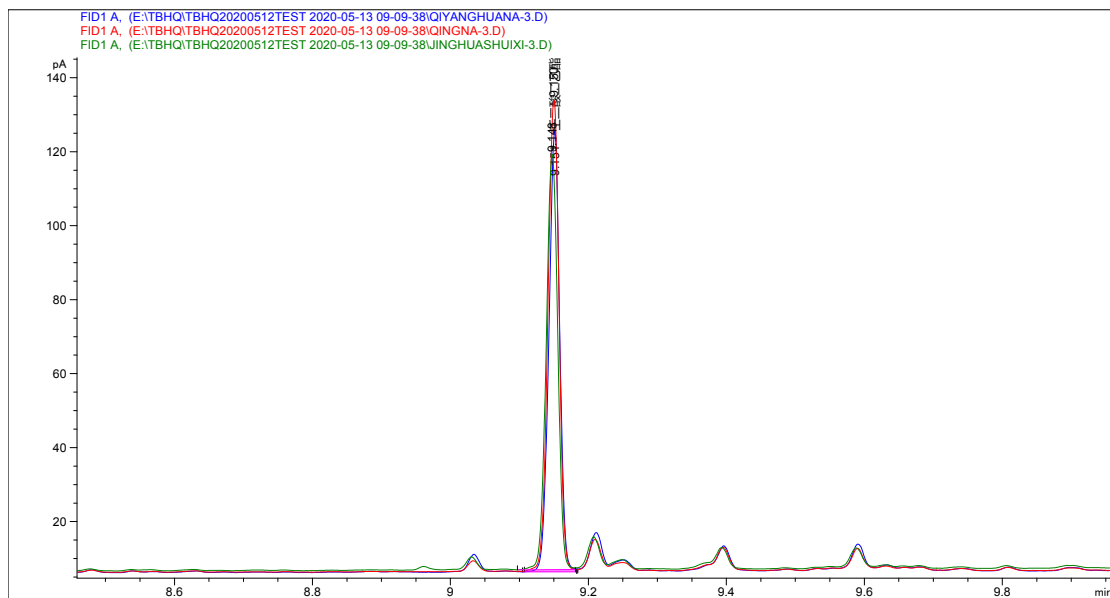


图 19 不同净化试剂净化后色谱图

结合表和图可以看出，不同净化试剂净化后，谱图上的差距不大，只有衍生物的含量有些差距，因此，选择饱和碳酸氢钠作为净化试剂。

通过上述实验，化妆品中壬二酸检测方法总结如下，称取 1g（精确至小数点后四位）

试样，加入 2mL 乙醇，加入 800 μ L 浓硫酸，涡旋混匀，室温下衍生 10min，衍生液加入 5mL 正己烷，涡旋 1min，离心 (≥ 5000 r/min) 5min，重复提取 2 次，合并 3 次提取液，用 15mL 饱和碳酸氢钠溶液洗涤一次，离心 (≥ 5000 r/min) 5min，取正己烷层，氮吹，约余 4.5mL，用正己烷定容至 5mL。涡旋混匀，加入少量无水硫酸钠干燥，此为试样液。

2.3 方法的性能参数

2.3.1 标准曲线及线性范围

对壬二酸标准溶液进行衍生，得到标准工作溶液的浓度为 10~1000mg/L 进行测定，以壬二酸衍生物的浓度为横坐标，壬二酸衍生物的峰面积为纵坐标，绘制标准曲线，标准曲线数据表和图如下。

表 8 壬二酸衍生物标准曲线测定结果表

壬二酸衍生物浓度 (mg/L)	峰面积			峰面积平均值
10	15.40035	15.29113	15.47649	15.38932
20	26.09975	26.33885	26.74617	26.39492
50	64.01030	65.32101	65.52947	64.95359
100	137.67174	141.04311	141.21895	139.97793
200	320.01730	323.86932	326.07281	323.31981
500	731.06363	735.77472	739.84192	735.56009
1000	1465.96729	1488.98694	1489.98108	1481.64510

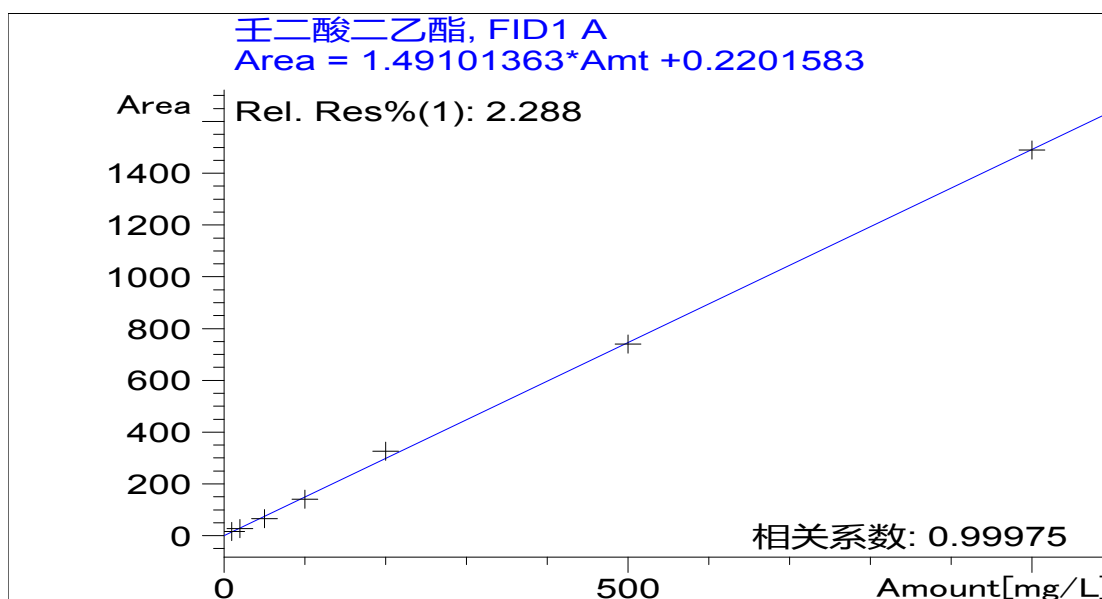


图 20 壬二酸衍生物标准曲线

从图中可知，壬二酸衍生物壬二酸二乙酯在 10mg/L~1000mg/L 浓度范围内线性关系良好， $R^2 > 0.999$ 。在实际样品测定中，如果样品含量超过线性范围，应当用正己烷将试样液适当稀释后进样，重新测定。

2.3.2 检出限和定量限

色谱分析的定性检出限定义为响应值为三倍基线噪音时所需的样品量；

色谱分析的定量检出限定义为响应值为十倍基线噪音时所需的样品量。

计算公式：

$$D = \frac{3N}{S} = \frac{3h_{\text{噪音}}}{h_{\text{试样}}/c}; \quad D = \frac{10N}{S} = \frac{10h_{\text{噪音}}}{h_{\text{试样}}/c} \quad \text{-----公式 (1)}$$

式中 D——检出限，mg/kg

N——基线噪音，pA

S——仪器灵敏度，pA，kg/mg

$h_{\text{噪音}}$ ——基线噪音的峰高，pA

$h_{\text{试样}}$ ——试样的峰高，pA

c——被检物质的含量，mg/kg

壬二酸的加标量均为 50mg/kg，在相同条件下测定十次，分别测得十次进样的信噪比，按定性和定量检出限定义，在此分析条件下的检出限数据见下表

表 9 检出限数据表

壬二酸二乙酯 浓度 mg/L	10.308 65	10.3 26	10.158 69	10.230 35	10.300 77	10.135 62	10.218 18	10.198 12	10.233 08	10.264 08
取样量 g	1.0219	1.07 35	0.9714	1.0241	1.0368	1.1073	1.0045	1.1217	1.1306	0.9403
定容体积 mL	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
信噪比	9.8	10.1	10.6	10.2	9.8	9.5	10.4	9	9.4	9.8
3 倍信噪比对 应浓度 mg/L	3.156	3.06 7	2.875	3.009	3.153	3.201	2.948	3.399	3.266	3.142
10 倍信噪比 对应浓度 mg/L	10.519	10.2 24	9.584	10.030	10.511	10.669	9.825	11.331	10.886	10.474

壬二酸二乙酯 检出限 mg/kg	15.440	14.2 86	14.799	14.691	15.207	14.453	14.672	15.153	14.443	16.708
壬二酸二乙酯 定量限 mg/kg	51.468	47.6 19	49.329	48.969	50.690	48.176	48.906	50.509	48.144	55.693

方法检出限为 15mg/kg，定量限为 50 mg/kg

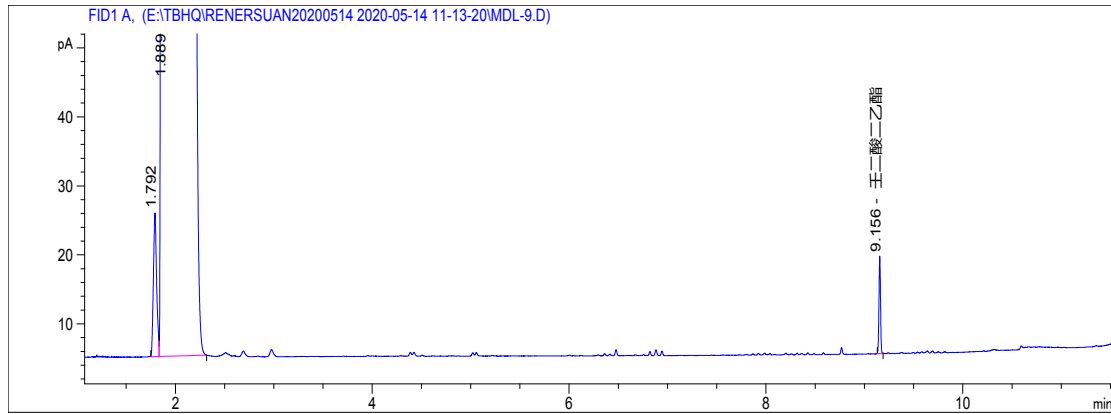


图 21 常规加标水平（50mg/kg）色谱图

2.3.3 精密度

采用在空白基质中添加不同水平标准溶液，采用加标回收率的方式进行测定。在基质中添加定量限、2 倍定量限和 10 倍定量限进行，计算添加水平测定结果的相对标准偏差。方法的精密度可以满足分析的要求。

表 10 基质加标测定精密度结果

壬二酸添加 量 (mg/kg)	检测结果 (g/kg)								RSD(%)
	1	2	3	4	5	6	7	平均值	
50	50.438	48.095	52.288	49.948	49.675	45.767	50.862	49.5822	4.21
	64	0163	91		78	27	02	4	
100	93.132	95.413	96.5	95.458	91.489	96.039	91.606	94.2342	2.11
	34	17655		58	15	88	75	7	
500	492.39	506.87	508.52	516.24	491.60	476.06	478.37	495.726	3.08
	07	67658	45	88	23	83	55	7	

方法的精密度可以满足分析的要求。

2.3.4 准确度

称取 1g 基质样品，按照样品处理方法，进行加标回收试验，添加水平包括定量限、2 倍

定量限和 10 倍定量限，计算平均回收率，考察方法的准确度和精密度。

表 11 基质加标回收率和相对标准偏差 (RSD) (n=7)

壬二酸添加水平 (mg/kg)	回收率	RSD (%)
50	96.164	4.25
100	94.234	2.25
500	99.145	3.11

样品在添加水平上满足方法的准确度要求。

2.3.5 稳定性试验

将制备好的标准溶液和加标样品溶液，按照样品处理方法衍生处理后，在 24 小时内连续进样，考察标准品溶液及样品溶液的稳定性。

2.3.5.1 标准溶液稳定性

取制备好的标准溶液，按照样品处理方法衍生处理后，在 24h 内连续进样测定，结果显示壬二酸衍生物的稳定较好，详见下表。

表 12 标准溶液的稳定性

化合物	峰面积 (浓度 10mg/L)							
	0h	2h	4h	8h	16h	24h	平均	RSD (%)
壬二酸衍生物	18.312	18.375	18.310	18.470	18.256	18.532	18.37	0.58
	96	24	12	05	20	14	612	

2.3.5.2 试样溶液稳定性

将制备好的加标样品溶液，在 24h 内连续进样测定，结果显示试样基质中壬二酸衍生物的稳定较好，见下表。

表 13 试样溶液稳定性结果表

化合物	峰面积 (浓度 20 mg/L)							
	0h	2h	4h	8h	16h	24h	平均	RSD (%)
壬二酸衍生物	36.692	36.681	37.005	36.8076	37.130	37.335	36.942	0.71
	25	64	75	2	17	07	08	

2.3.5.3 标准溶液保存期稳定性

将配制好的壬二酸标准储备溶液 (10000 mg/L, 溶剂: 乙醇) 置-18℃条件下密封保存，将上述溶液在一定时间 (1 月、2 月、3 月、4 月、5 月、6 月)，稀释成 6 份浓度为 250 mg/L 的溶液，与新制备 10000mg/L 标液储备液稀释成的 250 mg/L 浓度溶液在相同条件下衍生，

提取后上机，进行比较，试验结果如下图：

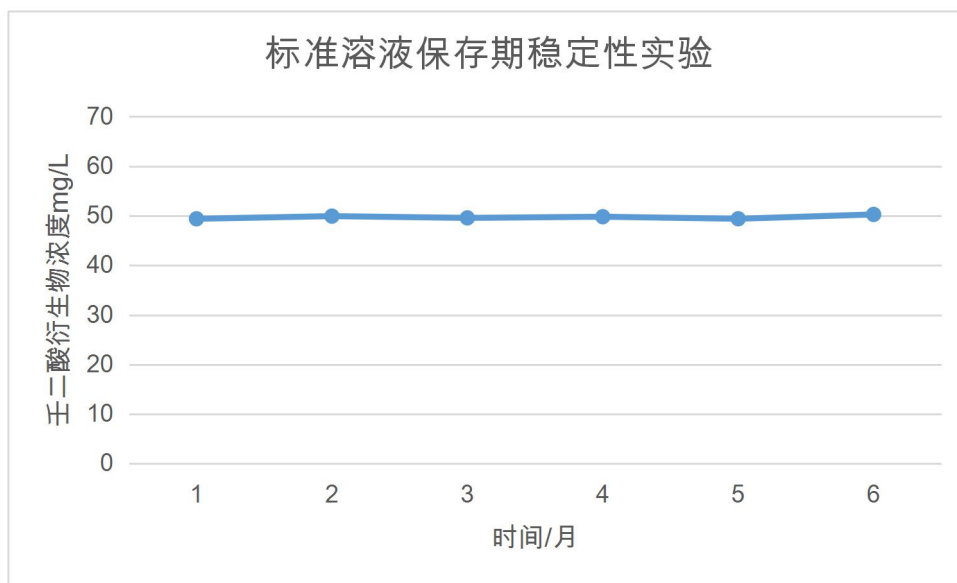


图 22 储备液的稳定性实验

由上图可以看出，对于高浓度的储备液在冷冻条件下储存 6 个月，标准溶液的稳定性较好。

三、实际样品检验

对市售的 76 个化妆品进行检验，其中有 8 个样品标称含壬二酸，实验结果如下。

表 14 化妆品检验结果表

序号	样品名称	壬二酸含量 (mg/kg)
1	蜂胶氨基酸面霜	<50
2	海洋冰泉丝滑面膜	<50
3	氨基酸莹润洁面乳	<50
4	氨基酸净颜洁面乳	<50
5	复颜密集修护面膜	<50
6	复颜密集修护面膜	<50
7	多肽弹润紧致塑颜面膜	<50
8	多肽弹润紧致塑颜面膜	<50
9	烟酰胺亮采柔肤面膜	<50
10	烟酰胺亮采柔肤面膜	<50
11	酵母润颜修护面膜	<50

12	酵母润颜修护面膜	<50
13	赋颜丰盈保湿精华液	<50
14	鱼子酱菁萃丰盈眼膜	<50
15	鱼子酱透皙筑肌面膜	<50
16	焕颜亮采珍珠眼霜	<50
17	修复焕肤原液	<50
18	净颜氨基酸卸妆水	<50
19	水润焕肤精华水	<50
20	水润焕肤精华液	<50
21	婴儿玉米爽身啫喱	<50
22	修护舒缓化妆水	<50
23	修护舒缓精华液	<50
24	修护舒缓面膜	<50
25	锐智多效焕肤水	<50
26	青春粉底液	<50
27	植萃面膜	<50
28	绿茶多酚活氧保湿喷雾	<50
29	夏季防护隔离乳	<50
30	轻透防护隔离乳	<50
31	多肽植萃雪润面膜	<50
32	水光美肌精华乳	<50
33	水光美肌精华液	<50
34	水光美肌精华水	<50
35	雪肌舒缓清透洗面奶	<50
36	雪肌舒缓保湿霜	<50
37	雪肌舒缓柔肤水	<50
38	雪肌舒缓保湿乳	<50
39	雪肌舒缓炫彩 BB 霜	<50
40	神经酰胺保湿修护爽肤水	<50

41	神经酰胺保湿修护爽肤水	<50
42	神经酰胺修护保湿乳	<50
43	透亮修护保湿柔肤霜	<50
44	透亮保湿舒纹眼霜	<50
45	透亮修护保湿柔肤乳	<50
46	透亮修护保湿柔肤水	<50
47	翠竹密集保湿凝露	<50
48	神经酰胺保湿修护爽肤水	<50
49	滋润喷雾液	<50
50	敷面膏	<50
51	净肤爽肤水	<50
52	紧肤防皱水	<50
53	净颜精纯霜	<50
54	净颜精纯霜	<50
55	师净颜精纯霜	<50
56	净颜精纯霜	<50
57	出水芙蓉霜	<50
58	出水芙蓉霜	<50
59	出水芙蓉霜	<50
60	出水芙蓉霜	<50
61	精华贴	<50
62	舒缓爽肤水	<50
63	净肤洁面泡泡	<50
64	弹密集保湿氨基酸面膜	<50
65	紧致密集修护氨基酸面膜	<50
66	防晒隔离润肤露 SPF30 PA++	<50
67	塑颜液	<50
68	塑颜面膜	<50
69	*壬二酸净颜面霜(10%)	78133

70	*祛痘精华露	<50
71	*杜鹃花酸控油安瓶水	<50
72	*壬二酸原液净透水	<50
73	*壬二酸洁面乳	<50
74	*复能壬二酸净颜面霜（基础版）(10%)	16710
75	*壬二酸大米发酵平衡祛痘精华	<50
76	*壬二酸祛痘原液(2.5%)	2431

*表示标称含有壬二酸的化妆品

四、多实验室验证

为验证本方法的有效性和适用性，课题组邀请江苏省产品质量监督检验研究院（验证单位 1）、杭州市质量技术监督检测院（验证单位 2）、国家化妆品质量监督检验中心（北京）（验证单位 3）、广州质量监督检测研究院（验证单位 4）4 家隶属不同部门的检测机构对本方法进行验证，验证内容为本方法的线性范围、检出限、定量限、准确度、精密度。

表 15 验证单位 1 江苏省产品质量监督检验研究院实验结果

壬二酸添加量 (mg/kg)		检测结果 (mg/kg)								
		1	2	3	4	5	6	平均值	平均回收率 (%)	RSD (%)
化妆水	100	90.8	103.6	90.3	91.1	90.1	92.4	94.0	94.0	5.56
	200	189.5	203.6	197.5	192.2	187.6	200.3	195.8	97.9	3.24
	600	590.0	621.1	632.7	615.2	619.2	649.1	618.2	103.0	3.17
膏 霜、乳 液	100	91.2	99.1	90.5	91.3	90.6	90.7	93.3	93.3	3.62
	200	184.5	180.8	181.6	198.9	185.6	182.1	187.6	93.8	3.61
	600	587.6	597.7	576.6	605.5	584.6	610.5	590.8	98.5	2.18
检出限	50mg/kg									

表 16 验证单位 2 杭州市质量技术监督检测院

壬二酸添加量	回收率 (%)
--------	---------

(mg/kg)		1	2	3	4	5	6	平均 值	RSD (%)
乳液	100	98.1	99.2	103.5	102.2	104.4	101.7	101.5	2.40
	200	96.9	98.7	101.3	102.9	103.2	104.9	101.3	3.00
	600	97.8	98.6	101.1	102.5	104.3	103.8	101.4	2.65
标准曲线浓度 /μg/mL		0	20	40	100	400	800	线性回归系数 /R ²	
峰面积		0	29.1848	61.9819	164.0318	668.4683	1309.6899	0.99996	
壬二酸添加量 (mg/kg)		回收率 (%)							
		1	2	3	4	5	6	平均 值	RSD (%)
化妆 水	100	93.1	97.5	102.1	94.8	101.3	103.2	98.7	4.23
	200	93.5	95.2	96.7	100.6	102.1	103.4	98.6	4.07
	600	93.7	97.5	101.9	102.7	103.7	104.2	100.6	4.11
标准曲线浓度 /μg/mL		0	20	40	100	400	800	线性回归系数 /R ²	
峰面积		0	29.1848	61.9819	164.0318	668.4683	1309.6899	0.99996	

表 17 验证单位 3 国家化妆品质量监督检验中心（北京）

壬二酸添加量 (mg/kg)		检测结果 (mg/kg)								
		1	2	3	4	5	6	平均 值	平均回收率 (%)	RSD (%)
化妆水	100	105	104	107	105	106	108	106	106	1.4
	200	194	197	207	201	199	201	200	100	2.2
	600	548	555	527	549	538	523	540	90	2.4
膏霜、 乳液	100	102	104	101	101	106	104	103	103	1.9
	200	190	192	200	201	194	194	195	97.5	2.3

	600	558	540	559	536	540	526	543	90.5	2.4
线性方程	Y=2396.9X+1.9478					线性 范围	0-0.8mg/mL		相关系数 (r)	0.9998

表 18 验证单位 4 广州质量监督检测研究院

壬二酸添加量 (mg/kg)		平均回收率 (%)	RSD (%)
化妆水	100	104	2.85
	200	102	2.92
	600	95.7	2.41
乳霜	100	105	2.76
	200	102	1.46
	600	104	2.77
线性方程	y=0.89579x+1.1804	相关系数 R ²	0.99983

五、标准中涉及专利和知识产权说明

该标准内容不涉及专利

六、预期达到的社会效益、对产业发展的作用等情况

对市售 76 种化妆品类产品进行测定，其中 8 个样品标称含有壬二酸（杜鹃花酸）。而其中仅有 3 个标称样中检出了壬二酸，其含量分别为 78133 mg/kg、16710 mg/kg、2431mg/kg，其余 68 个样品中均未检出壬二酸。表明市售化妆品的壬二酸添加情况很少，甚至标签中标明壬二酸成分的化妆品中也未必真正添加或者添加量很少，低于本方法的检出限。鉴于上述情况，建议对于标称含有壬二酸却又未检出的化妆品，监管部门可以去生产企业实地调研，结合其壬二酸原料采购、出入库和使用情况，进一步确定该企业是否存在虚假标注有效成分欺骗消费者的行为，进一步规范化妆品市场。

本方法通过实验确定标准的适用范围、定量限等，通过相应的标准化研究对方法学指标进行验证，确认了本标准的可行性。本标准方法可为化妆品中的壬二酸的检测提供标准依据，从而规范壬二酸在化妆品中的使用。

七、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或与测试的国外样品、样机的相关数据对比情况

目前国内尚无化妆品中壬二酸测定 气相色谱法的国家标准，查阅到的文献主要有气相色谱法测定壬二酸原料中的有机酸、容量法、气相色谱质谱法、液相色谱法。

八、标准体系中的位置，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。

九、重大分歧意见的处理经过和依据

本标准按照 GB/T 27417-2017《合格评定 化学分析方法确认和验证指南》对方法的定量限、线性范围、精密度、准确性等方法学参数进行了实验室内的验证，并根据国标制定要求在多家实验室进行了实验室之间方法学验证、标准文本征求意见等工作，均未发生重大意见分歧，预期不会引起较大的社会风险。

十、标准性质的建议和说明

建议本标准以推荐性国家标准的形式发布。

十一、贯彻标准的要求和措施建议

建议本标准于发布日期半年后实施。全国质量监管重点产品检验方法标准化技术委员会负责组织该项标准的宣贯工作。

十二、废止现行相关标准的建议

该标准属首次起草，无现行相关标准废止。

十三、其它应予说明的事项

无。