

附件 3

化妆品中碘丙炔醇丁基氨甲酸酯（IPBC）的检测方法 （征求意见稿）

第一法 液相色谱-串联质谱法

1 适用范围

本方法规定了化妆品中碘丙炔醇丁基氨甲酸酯（IPBC）（CAS 号：55406-53-6）含量的高效液相色谱-串联质谱(HPLC-MS/MS)测定方法。

本方法适用于膏霜、乳、液、粉类化妆品中碘丙炔醇丁基氨甲酸酯含量的测定。

2 方法提要

采用甲醇+四氢呋喃（10+0.5）进行涡旋、超声提取两次，提取液经离心后，合并上清液，旋转蒸发至干。用甲醇溶解残渣，过 0.45 μ m 有机滤膜，高效液相色谱配串联质谱法检测，外标法定量。

3 试剂和材料

3.1 甲醇，色谱纯。

3.2 四氢呋喃，色谱纯。

3.3 碘丙炔醇丁基氨甲酸酯标准物质：纯度 \geq 99%。

3.4 碘丙炔醇丁基氨甲酸酯标准储备液（1.0 g/L）：准确称取碘丙炔醇丁基氨甲酸酯标准物质（3.3）0.1 g（精确至 0.1mg）于 100 mL 容量瓶中，甲醇（3.1）稀释定容。

3.5 碘丙炔醇丁基氨甲酸酯系列标准溶液：分别移取标准储备液（3.4）0、0.1、0.5、1.0、5.0、10.0、20.0 mL 于 7 个 100 mL 容量瓶中，甲醇（3.1）稀释定容，配制成浓度为 0、1.0、5.0、10.0、50.0、100.0、200.0 μ g/mL 的系列标准溶液。

4 仪器与设备

4.1 液相色谱-串联质谱仪：带电喷雾离子源。

4.2 分析天平：感量分别为 0.1 mg 和 1.0 mg。

4.3 超声清洗器。

4.4 涡旋混匀器。

4.5 有机微孔滤膜：0.45 μ m。

4.6 具塞离心管，15 mL。

4.7 高速离心机，5000r/min。

4.8 旋转蒸发仪。

5 分析步骤

5.1 样品预处理

称取 1 g(精确至 0.001g)化妆品样品于 15 mL 具塞离心管中,加入 0.5 mL 四氢呋喃和 10 mL 甲醇,涡旋混匀,超声 20min 后,5000r/min 高速离心 5min,上清液转移至 50 mL 圆底烧瓶。再用 0.5 mL 四氢呋喃和 10 mL 甲醇重复提取一次,合并提取液,40℃ 旋转蒸发至干,用 5 mL 甲醇溶解残渣,过 0.45μm 有机滤膜,待测。

5.2 色谱条件

色谱柱: C₁₈ 色谱柱 (150mm×2.1mm, 3.5μm), 或相当者;

流动相: 甲醇+水 (V:V=60:40);

流速: 0.3 mL/min;

柱温: 30℃;

进样量: 1 μL。

5.3 质谱条件

离子源: 电喷雾离子源 (ESI);

扫描方式: 正离子扫描;

监测方式: 多反应监测模式 (MRM);

干燥气: N₂;

离子源温度: 120 °C;

干燥气温度: 350 °C;

干燥气流速: 12 L/min

表 1 母离子、特征碎片离子、裂解电压及碰撞能

母离子 (m/z)	碎片离子 (m/z)	裂解电压 (V)	碰撞能(eV)
281.95	164.90	70	20
	57.20	70	10

表 2 碘丙炔醇丁基氨甲酸酯的定性离子

名称	定性离子对	丰度比
碘丙炔醇丁基氨甲酸酯	281.95>164.90*	95.0%

5.4 校准曲线的制备

在 5.2 色谱条件及 5.3 质谱条件下,分别取系列浓度的标准溶液 (3.5) 进行液相色谱-串联

质谱测定，以标准溶液浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制校准曲线。

5.5 测定

取待测溶液 1 μL 注入高效液相色谱-串联质谱仪，根据峰的保留时间和离子对相对丰度允许偏差定性，根据峰面积从曲线上查出待测溶液中碘丙炔醇丁基氨甲酸酯的质量浓度，从而计算样品中碘丙炔醇丁基氨甲酸酯的含量。

表 3 相对离子丰度的最大允许偏差

相对离子丰度	>50%	20%~50%	10%~20%	$\leq 10\%$
允许相对偏差	$\pm 20\%$	$\pm 25\%$	$\pm 30\%$	$\pm 50\%$

6 计算

$$\omega = \frac{D \times \rho \times V}{m \times 10^6} \times 100$$

式中： ω ——试样中碘丙炔醇丁基氨甲酸酯的质量分数，%；

m ——称取试样的质量，g；

ρ ——上机溶液浓度， $\mu\text{g/mL}$ ；

V ——试样定容体积，mL；

D ——稀释倍数。

7 回收率和精密度

多家实验室验证的平均回收率为 93.87%~102.4%，相对标准偏差小于 10% (n=6)。

8 检出限

本方法对碘丙炔醇丁基氨甲酸酯的检出浓度为 0.2 mg/kg。

9 质谱图

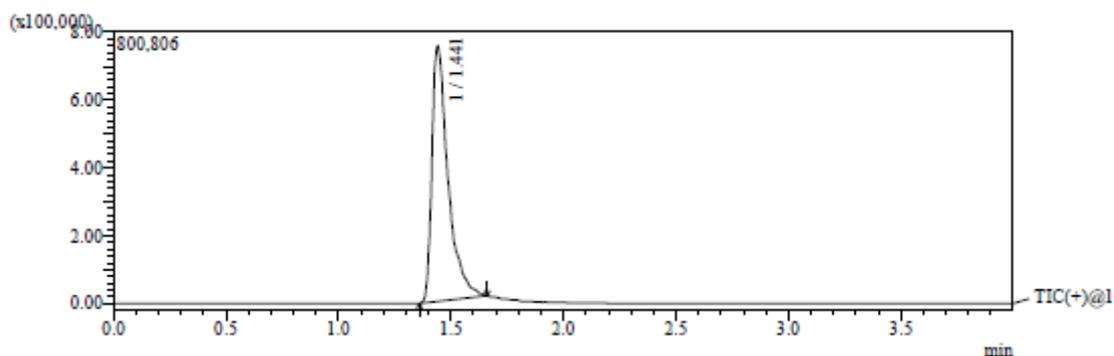


图 1 碘丙炔醇丁基氨甲酸酯标准溶液的全扫描总离子流色谱图

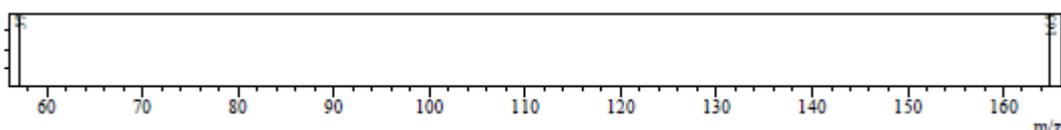


图 2 碘丙炔醇丁基氨甲酸酯标准溶液的 MRM 图

第二法 液相色谱法

1 适用范围

本方法规定了化妆品中碘丙炔醇丁基氨甲酸酯（IPBC）（CAS 号：55406-53-6）含量的高效液相色谱(HPLC-DAD 或 VWD)测定方法。

本方法适用于膏霜、乳、液、粉类化妆品中碘丙炔醇丁基氨甲酸酯含量的测定。

2 方法提要

采用甲醇+四氢呋喃（10+0.5）进行涡旋、超声提取两次，提取液经离心后，合并上清液，旋转蒸发至干。用甲醇溶解残渣，过 0.45 μ m 有机滤膜，高效液相色谱配二极管阵列检测器或紫外检测器在 235nm 波长进行检测，外标法定量。

3 试剂和材料

同第一法。

4 仪器与设备

4.1 高效液相色谱仪：配二极管阵列检测器或紫外检测器。

其它同第一法。

5 分析步骤

5.1 样品预处理

同第一法

5.2 色谱参考条件

色谱柱：C₁₈ 柱，250 mm×4.6 mm（内径），5 μ m；或相当者。

流动相：A 相（甲醇）+B 相（水）=60+40，等度洗脱。

流速：1.0 mL/min。

柱温：30 $^{\circ}$ C。

进样量：10 μ L。

检测波长：235 nm。

5.3 校准曲线的制备

在 5.2 色谱条件下，分别取系列浓度的标准溶液（3.5）进行液相色谱测定，以标准溶液浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制校准曲线。

5.4 测定

取待测溶液 10 μL 注入高效液相色谱仪，根据峰的保留时间和紫外吸收光谱图定性，根据峰面积从曲线上查出待测溶液中碘丙炔醇丁基氨甲酸酯的质量浓度，从而计算样品中碘丙炔醇丁基氨甲酸酯的含量。

6 计算

同第一法。

7 回收率和精密度

多家实验室验证的平均回收率为 91.5%~102.1%，相对标准偏差小于 10% (n=6)。

8 检出限

本方法对碘丙炔醇丁基氨甲酸酯的检出浓度为 10 mg/kg。

9 色谱图

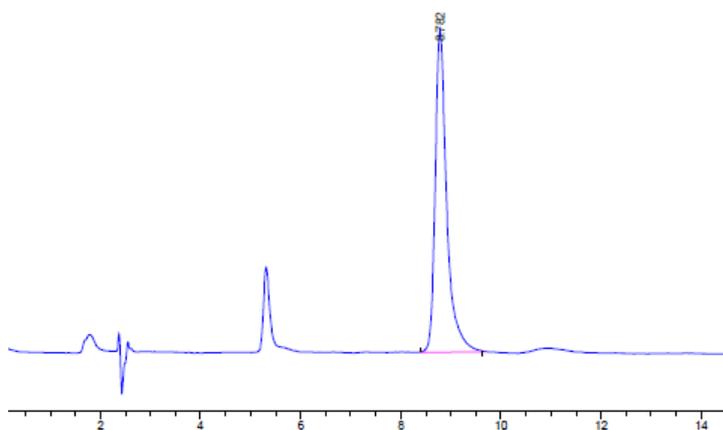


图 3 碘丙炔醇丁基氨甲酸酯标准溶液的高效液相色谱图

(碘丙炔醇丁基氨甲酸酯：8.782min)

化妆品中碘丙炔醇丁基氨甲酸酯的检测方法

起草说明

为更好地服务化妆品安全监管，规范化妆品中禁限用物质检测技术要求，确保化妆品质量安全，2013年8月，国家食品药品监督管理局委托河北省保健食品化妆品协会和河北省食品检验研究院开展《化妆品中碘丙炔醇丁基氨甲酸酯的测定 高效液相色谱法》方法建立和验证工作，现就起草工作有关情况说明如下：

一、起草的必要性

碘丙炔醇丁基氨甲酸酯（IPBC）是一种防腐剂，常用在化妆品、日用化学品、木材、油漆中，防止由微生物引起的产品损坏。IPBC浓度高于0.1%时易堵塞毛孔，导致粉刺，浓度高于0.5%时对皮肤有轻微的刺激，此外，吸入后会引发神经毒性、肝脏毒性等，应避免使用在雾化产品中。欧盟规定了IPBC在化妆品及个人护理品中的使用限量（清洗类0.02%，护肤类0.01%，除臭/止汗类0.075%），并建议应避免用于口腔卫生、唇部护理以及大面积使用的润肤露等产品，三岁以下的婴幼儿更应避免。依据《化妆品卫生规范》2007版，IPBC属限用组分。化妆品中最大允许使用浓度为0.05%，且不能用于口腔卫生和唇部产品。化妆品中最大允许使用浓度为0.05%，且不能用于口腔卫生和唇部产品；对于用后存留在皮肤上的产品，当其浓度超过0.02%时，需注明“含碘”。根据国内外报道，在部分化妆品中多次检出，存在较大风险，但由于相关标准检验方法的缺失，成为行政监管的瓶颈问题。为此，需要建立有一种快速有效地检测化妆品中IPBC的方法。本标准的制定宗旨在于为化妆品中IPBC的测定提供更为准确的实验方法，有力的支撑未来市场化妆品的监管，同时也能够体现我国化妆品检测的水平和对化妆品监管的力度。

二、起草依据及文献

- （一）《化妆品卫生规范》2007版。
- （二）化妆品及其原料中禁限用物质检测方法验证技术规范。
- （三）The cosmetic Directive of Council European Communities, 76/768/EEC.
- （四）《中国药典》2010版，第二部。
- （五）赵玥、李琼、张婉萍等. 高效液相色谱法对化妆品中低浓度碘丙炔醇丁基氨甲酸酯（IPBC）的检测，化学世界，2011,2: 87-91.

(六) 马强、王超、白桦等.化妆品中碘丙炔醇丁基氨甲酸酯的高效液相色谱检测及质谱确证, 分析实验室, 2009,28 (10): 56-58.

(七) 赵玥、李琼、武晓剑等.化妆品中防腐剂碘丙炔醇丁基氨甲酸酯检测方法, 上海应用技术学院学报(自然科学版), 2011, 11 (1) 7:1-20.

三、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, 保证检测方法的精确性和重现性。

四、起草过程

依据国家食品药品监督管理局检验方法起草的有关要求, 参考国家标准起草规范, 该方法起草共分七个阶段: **1、任务下达。** 2013年8月, 正式获批开展《化妆品中碘丙炔醇丁基氨甲酸酯的测定 高效液相色谱法》方法建立和验证工作, 项目组查阅了国内外相关技术标准和文献资料, 调研了国内主要省区的行业情况; **2、液相色谱方法开发和验证。** 2013年12月, 系统研究了 HPLC-DAD 方法检测化妆品用防腐剂碘丙炔醇丁基氨甲酸酯的方法, 对提取溶剂、提取时间、吸收波长、柱温条件、四氢呋喃加入量、流动相等进行了优化, 最终确定了 HPLC 方法的标准操作程序 (检出限 10mg/kg); **3、专家论证。** 根据 2013年12月专家会议要求, 将探索性研究进一步深入, 开发标准化检测方法。对实验室内方法学验证过程进一步完善, 增加了洗面奶、护发素、化妆水、粉底、漱口水、唇膏的实际样品检测, 发现了洗护用品中多例检出的情况; **4、液相色谱-串联质谱方法开发和验证。** 2014年10月审评会后, 鉴于《化妆品卫生规范》2007版要求, 口腔卫生和唇部产品禁止使用 IPBC。根据审评专家会的要求, 于 2015年4月在液相色谱法的基础上开发了液相色谱-串联质谱法, 进一步提高了检测的灵敏度, 检出限达到 0.2 mg/kg。方法采用正离子模式和 MRM 模式。 **5、实验室间验证。** 2015年8月将样品送至秦皇岛出入境检验检疫技术中心、省产品质量检验院、省出入境检验检疫技术中心进行方法验证, 验证内容包括线性、精密度、加标回收率、实际样品 (漱口水、护发素、洗面奶、唇膏、化妆水、粉底) 的检测; **6、编写文本。** 根据标准化检测方法要求, 起草检测方法文本和编制说明。 **7、修改报批。** 根据 2015年9月审定会专家意见, 对材料进一步补测完善, 形成最终报批稿材料上报国家食药监局。

五、重点说明的问题

(一) 关于体例。本检测方法的体例主要参照现行 2007 版《化妆品卫生规范》的卫生化学检验方法的体例, 便于化妆品检验领域相关检验人员的阅读和实际操作。

(二) 关于碘丙炔醇丁基氨甲酸酯。CAS: 55406-53-6, 英文名称: Iodopropynyl

Butylcarbamate, 分子量: 281.09, 分子式: $C_8H_{12}O_2NI$, 在化妆品中添加具有防腐功效, 依据《化妆品卫生规范》(2007版) 规定, 属禁用物质。

(三) 关于检测方法的建立和验证。通过对化妆品中碘丙炔醇丁基氨甲酸酯样品前处理方法的选择, 分析条件的优化, 最终建立了化妆品中碘丙炔醇丁基氨甲酸酯的液相色谱检测方法。

方法验证表明, 第一法和第二法在 $0 \mu\text{g/mL} \sim 200.0 \mu\text{g/mL}$ 浓度范围内呈线性 (相关系数 $R > 0.995$); 第一法检出限为 0.2 mg/kg ; 日内精密度 $6.93 \sim 9.17\%$ ($n=6$), 日间精密度 $5.62 \sim 9.88\%$ ($n=6$); 在 40.0 mg/kg 、 500.0 mg/kg 二个添加水平时, 方法回收率在 $94.7\% \sim 103.8\%$; 第二法检出限为 10 mg/kg ; 日内精密度 $5.15 \sim 9.13\%$ ($n=6$), 日间精密度 $5.98 \sim 9.75\%$ ($n=6$); 在 40.0 mg/kg 、 500.0 mg/kg 二个添加水平时, 方法回收率在 $91.5\% \sim 102.1\%$; 日内 (24h) 和日间 (5 天) 稳定性均符合要求。实际样品检测洗面奶、护发素、化妆水和粉底中发现检出, 漱口水和唇膏中“未检出”。上述结果证实, 本方法可以满足膏霜、乳、液、粉类化妆品中碘丙炔醇丁基氨甲酸酯的检测要求, 并最终确定采用外标法计算样本中碘丙炔醇丁基氨甲酸酯的含量。

三家实验室验证结果表明, 回收率、精密度、标准曲线均符合要求, 证实所建立方法可作为化妆品中碘丙炔醇丁基氨甲酸酯的检测方法。

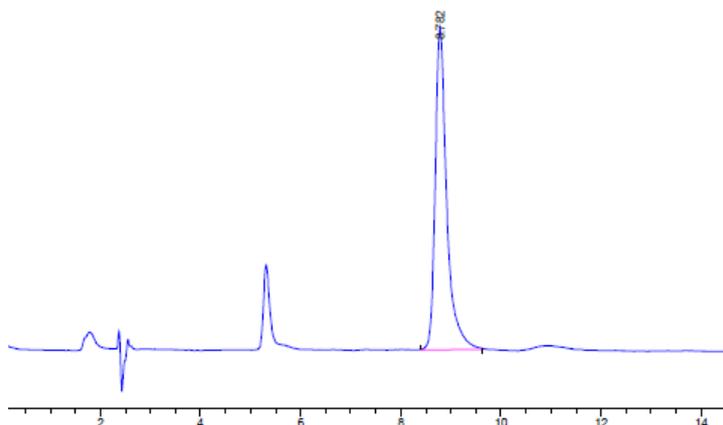


图 1 碘丙炔醇丁基氨甲酸酯的标准色谱图 (出峰时间: 8.782min)

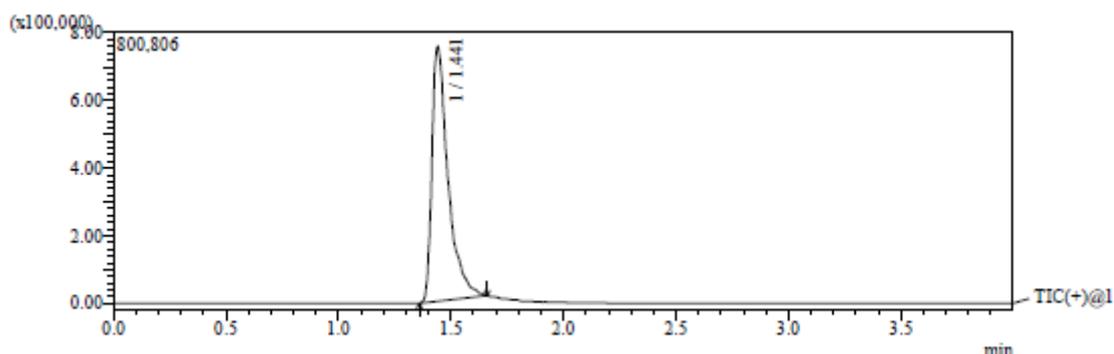


图 2 碘丙炔醇丁基氨甲酸酯标准溶液的全扫描总离子流色谱图

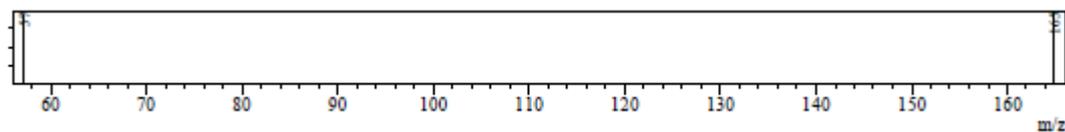


图 3 碘丙炔醇丁基氨甲酸酯标准溶液的 MRM 图

六、专家意见与反馈

根据国家食品药品监督管理局保化司（以下称保化司）有关化妆品中禁限用物质检测方法委托工作的要求，河北省保健食品化妆品协会组织完成了化妆品中碘丙炔醇丁基氨甲酸酯的检测方法研究。并于 2013 年 12 月，就上述检测方法，组织召开专家论证会。

与会专家认真听取了项目承担单位关于检测方法、编制说明、验证报告的汇报，审阅了检测方法，并进行了讨论，一致认为：

一、河北省保健食品化妆品协会建立的化妆品中碘丙炔醇丁基氨甲酸酯的检测方法，基本满足现阶段化妆品中上述禁限用物质的检测要求。

二、检测方法的书写较规范、内容较全面。

三、建议将探索性研究上升为标准化检测方法建立。

与会专家对上述检测方法分别提出了具体修改建议。

建议项目承担单位按照本次会议意见，对化妆品中碘丙炔醇丁基氨甲酸酯的检测方法，进行修改完善后报国家食品药品监督管理局保化司。

七、国家食药监局组织专家审评会（2014 年 10 月）

专家建议进一步补充完善，增加液相色谱-串联质谱检验方法，提高灵敏度后，再次提交审评会。

八、国家食药监局组织专家评审会（2015 年 9 月）

专家建议将方法适用范围按产品剂型进行描述，增加标称 IPBC 的化妆品样品检测，建议修改后通过验收。

化妆品中碘丙炔醇丁基氨甲酸酯的检测方法

编制说明

第一部分 基本信息

1.1 简介

碘丙炔醇丁基氨甲酸酯（IPBC），别名3-碘-2-丙炔基丁基氨基甲酸酯；丁氨基甲酸3-碘代-2-丙炔基酯，分子式 $C_8H_{12}O_2NI$ 。常用在化妆品、日用化学品、木材、油漆中。IPBC分浓度高于0.1%时易堵塞毛孔，导致粉刺，浓度高于0.5%时对皮肤有轻微的刺激性的，此外，吸入后会引起神经毒性、肝脏毒性等。我国《化妆品卫生规范》（2007版）规定碘丙炔醇丁基氨甲酸酯为限用物质。化妆品中最大允许使用浓度为0.05%，且不能用于口腔卫生和唇部产品；对于用后存留在皮肤上的产品，当其浓度超过0.02%时，需注明“含碘”。碘丙炔醇丁基氨甲酸酯主要在清洗类、护肤类、除臭/止汗类等化妆品中存在，主要起到防止由微生物引起的产品损坏的作用。

1.2 属性信息

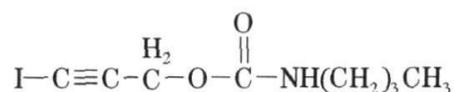
中文名：碘丙炔醇丁基氨甲酸酯

英文名称：Iodopropynyl Butylcarbamate

分子式： $C_8H_{12}O_2NI$

CAS 号：55406-53-6

结构式：



理化特性：白色至浅黄色固体，熔点 65-67℃，溶于醇、微溶于水，密闭保存，避免阳光照射。

第二部分 方法选择与优化

1 分析方法及其条件的选择与优化

1.1 前处理方法的选择

1.1.1 提取溶剂的选择

在前处理方法研究过程中，根据国内外文献报道，本实验采用了饱和食盐水、甲醇、甲醇-四氢呋喃、乙腈、石油醚-饱和食盐水等五种溶剂对样品中的碘丙炔醇丁基氨甲酸酯进行了提取。在空白基质中添加 50 mg/kg 标准物质，以回收率和重现性作为评价指标，实验表明，甲醇-四氢呋喃作为提取溶剂，干扰小，而且提取回收率最高。本标准最终选择甲醇+四氢呋喃（10+0.5）作为样品提取溶剂。

表 1 试样提取回收率实验结果汇总表

提取溶剂	添加浓度/mg/kg	回收率范围/%	RSD/%
饱和食盐水	50	72.9~78.3	7.78
甲醇	50	86.1~94.2	8.10
甲醇-四氢呋喃	50	93.8~102.7	5.59
乙腈	50	82.7~90.4	7.02
石油醚-饱和食盐水	50	70.1~77.5	8.27

1.1.2 提取时间的选择

实验比较了不同的超声提取时间（5，10，15，20，30，40 min）进行实验。在空白基质中添加 50mg/kg 标准物质，以回收率和重现性作为评价指标，结果表明：15min 已接近提取完全，最终选择 20min。

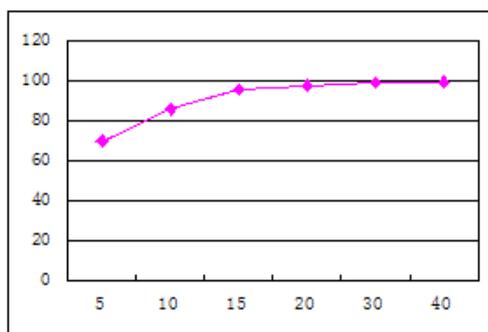


图 1 不同提取时间的影响

1.1.3 四氢呋喃加入量的选择

选择 10 mL 甲醇中加入量：0.2、0.5、1.0、2.0、3.0 mL。在空白基质中添加 50 mg/kg 标准物质，以回收率和重现性作为评价指标，最终选择加入 0.5 mL。

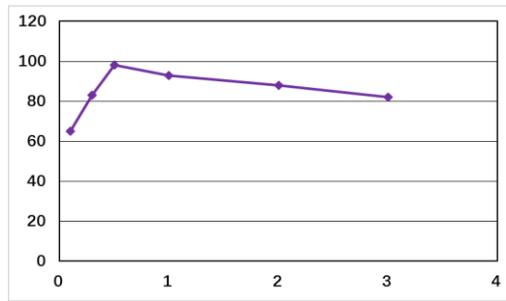


图 2 四氢呋喃加入量的影响

1.2 液相色谱条件的建立

1.2.1 流动相的选择

在色谱洗脱条件方面，本实验考察了甲醇-水、乙腈-水、甲醇-醋酸铵水溶液（pH=4），比例为 80:20、60:40、40:60，并逐步优化流动相配比。在空白基质中添加 50mg/kg 标准物质，以峰行和分离度作为评价指标，最终选择甲醇-水=60:40 为流动相，出峰时间为 8.78min。

1.2.2 检测波长的选择

根据碘丙炔醇丁基氨甲酸酯的结构特点，扫描波长 190nm~400nm 的紫外吸收图（见图 2）。可见其 235nm 出的紫外吸收值最大。在空白基质中添加 50mg/kg 标准物质，以灵敏度和干扰峰情况作为评价指标，最终选择 235nm。

1.2.3 柱温选择

实验比较了柱温在 20℃、30℃、40℃、50℃ 下对目标物保留时间和色谱峰形的影响，结果表明在不同柱温下色谱峰形及保留时间无明显变化，因此选择常温的 30℃ 为分析温度。

1.3 质谱条件的建立

将 1 mg/L 的标准溶液在正离子模式下扫描，在 m/z 100-1000 范围内作一级质谱全扫描，确定母离子和子离子并优化碰撞能量，使子离子在保证分辨率的条件下灵敏度最佳。以强度较大的子离子作为定量离子，强度稍小的作为定性离子。如表 2。

表 2 母离子、特征碎片离子、裂解电压及碰撞能

母离子 (m/z)	碎片离子 (m/z)	裂解电压 (V)	碰撞能(eV)
281.95	164.90	70	20
	57.20	70	10

第三部分 方法学验证

第一法 液相色谱-串联质谱联用法

1.1 线性及线性范围

1.1.1 标准曲线

将碘丙炔醇丁基氨甲酸酯 (Iodopropynyl Butylcarbamate, $\geq 99\%$) 标准品制成 1.0 g/L 的标准储备液, 再稀释成 0 $\mu\text{g/mL}$ 、1.0 $\mu\text{g/mL}$ 、5.0 $\mu\text{g/mL}$ 、10.0 $\mu\text{g/mL}$ 、50.0 $\mu\text{g/mL}$ 、100.0 $\mu\text{g/mL}$ 和 200.0 $\mu\text{g/mL}$ 的系列标准溶液。

移取 10 μL 系列标准溶液, 注入高效液相色谱-串联质谱联用仪中进行测定, 以峰面积对目标化合物的浓度制作标准曲线。

1.2.2 基质标准曲线

称取空白基质 1.0 g 置于 25mL 具塞刻度管中, 分别加入相应的储备液, 然后经过确定的前处理方法, 漩涡、超声、定容, 配制成浓度分别为 0 $\mu\text{g/mL}$ 、1.0 $\mu\text{g/mL}$ 、5.0 $\mu\text{g/mL}$ 、10.0 $\mu\text{g/mL}$ 、50.0 $\mu\text{g/mL}$ 、100.0 $\mu\text{g/mL}$ 和 200.0 $\mu\text{g/mL}$ 的基质标准溶液。

每种浓度以 1.0 μL 注入高效液相色谱-质谱联用仪中进行测定, 以目标质谱峰的峰面积为纵坐标、基质标准溶液的浓度为横坐标进行线性回归, 建立基质标准工作曲线。

1.2.3 线性范围

表 3 标准曲线和线性范围

曲线类型	线性范围	线性方程	相关系数 (r)
溶液标准曲线	0 $\mu\text{g/mL}$ ~200.0 $\mu\text{g/mL}$	$Y=1.1674C$	0.9976
基质 (膏霜类) 标准曲线	0 $\mu\text{g/mL}$ ~200.0 $\mu\text{g/mL}$	$Y=2.2338C$	0.9983
基质 (乳类) 标准曲线	0 $\mu\text{g/mL}$ ~200.0 $\mu\text{g/mL}$	$Y=2.0368C$	0.9991
基质 (液类) 标准曲线	0 $\mu\text{g/mL}$ ~200.0 $\mu\text{g/mL}$	$Y=1.9561C$	0.9990

1.3 仪器的检出限和定量下限

稀释并检测碘丙炔醇丁基氨甲酸酯标准溶液, 测定峰高信噪比为 10:1 时碘丙炔醇丁基氨甲酸酯的浓度确定为本方法的定量下限 0.12 $\mu\text{g/mL}$; 测定峰高信噪比为 3:1 时碘丙炔醇丁基氨甲酸酯的浓度确定为本方法的检出限为 0.04 $\mu\text{g/mL}$ 。

1.4 方法的检出浓度和最低定量浓度

向不含碘丙炔醇丁基氨甲酸酯的基质中定量添加碘丙炔醇丁基氨甲酸酯标准溶液,按前处理方法处理后,测定峰高信噪比为 10:1 时添加的碘丙炔醇丁基氨甲酸酯量确定为方法的最低定量浓度 0.6 mg/kg;测定峰高信噪比为 3:1 时添加的碘丙炔醇丁基氨甲酸酯确定为本方法的检出浓度为 0.2 mg/kg。

1.5 精密度

1.5.1 日内精密度

在一日内进行如下操作:向空白样品中分别加入高低两种浓度的碘丙炔醇丁基氨甲酸酯标准溶液,每种浓度平行配置 6 份,经过已确定的预处理方法处理,通过 HPLC-MS/MS 分析检测,所得数据(峰面积)带入标准溶液标准曲线计算得出相应的浓度测量值,再利用这些测量值计算不同浓度、不同基质的 RSD 值,所得 RSD 值如下表所示。

表 4 日内精密度表

名称	浓度 (µg/mL)	精密度 RSD(%)
标准品标准溶液	10.0	7.25
	150.0	8.09
膏霜类	10.0	6.93
	150.0	9.17
乳类	10.0	7.08
	150.0	8.33
液类	10.0	7.49
	150.0	9.01

1.5.2 日间精密度

分别向膏霜、乳、液类空白基质样品中分别加入高低两种浓度的碘丙炔醇丁基氨甲酸酯标准溶液,每种浓度各配置 1 份,经过已确定的预处理方法处理,通过 HPLC-MS/MS 分析检测,所得数据(峰面积)带入标准溶液标准曲线计算得出相应的浓度测量值。每日重复上述操作,并连续重复进行 6 天,利用这 6 天的测量值计算不同浓度、不同基质的 RSD 值,所得 RSD 值如下表所示。

表 5 日间精密度表

名称	浓度 (µg/mL)	精密度 RSD(%)
----	------------	------------

标准品标准溶液	10.0	7.17
	150.0	8.25
膏霜类	10.0	9.88
	150.0	5.62
乳类	10.0	8.72
	150.0	7.86
液类	10.0	8.43
	150.0	7.98

1.6 回收率

分别向膏霜、乳、液类空白基质样品中分别加入高低两种浓度的碘丙炔醇丁基氨甲酸酯标准溶液，每种加标量平行配置 6 份，经过已确定的预处理方法处理，通过 HPLC-MS/MS 分析检测，所得数据（峰面积）分别带入溶液标准曲线和方法标准曲线计算得出相应的百分含量，再利用这些测量值计算不同浓度、不同基质的回收率值，如下表所示。

表 6 回收率统计表

基质种类	添加量 (mg/kg)	RSD (%)	方法回收率 (%)	提取回收率 (%)
膏霜类	40	8.00	95.8	94.7
	500	7.52	96.7	97.5
乳类	40	9.80	97.4	99.8
	500	7.58	100.7	101.3
液类	40	6.80	97.2	103.8
	500	6.06	97.6	101.7

1.7 稳定性

1.7.1 日内稳定性

用 10 $\mu\text{g/mL}$ 和 150 $\mu\text{g/mL}$ 两种浓度的标准溶液放置于室温下，一天内测量 5 次，从第一次起每隔一定时间测定一次，所得峰面积响应值带入标准曲线，计算得到 RSD。

表 7 日内稳定性表

物质名称	标准溶液浓度 $\mu\text{g/mL}$	0h	4h	10h	16h	24h	RSD (%)

碘丙炔醇	10	10.31	9.89	8.76	10.43	9.68	6.76
丁基氨甲 酸酯	150	140.27	155.68	149.16	146.43	154.86	4.26

碘丙炔醇丁基氨甲酸酯标准溶液在 24h 内稳定。

1.7.2 日间稳定性

用 10 $\mu\text{g/mL}$ 和 150 $\mu\text{g/mL}$ 两种浓度的标准溶液放置于室温下，测定五天，每天测定 6 次，所得峰面积响应值平均值带入标准曲线，计算得到 RSD。

表 8 日间稳定性表

物质名称	标准溶液浓度 $\mu\text{g/mL}$	第一天	第二天	第三天	第四天	第五天	RSD (%)
碘丙炔醇	10	8.65	10.73	9.72	9.94	10.12	7.73
丁基氨甲 酸酯	150	153.94	145.35	148.61	145.2	156.67	3.44

碘丙炔醇丁基氨甲酸酯标准溶液在五天内稳定。

1.8 实际样品检测

随机抽取 60 例市售样品（护发素、洗面奶、化妆水、粉底、漱口水、唇膏），依据本方法进行测定，平行测定二次，结果如表 9。

表 9 实际样品测定统计表

样品	IPBC 含量 (mg/kg)	RSD (%)	标称 IPBC	样品	IPBC 含量 (mg/kg)	RSD (%)	标称 IPBC
护发素 1	177.2	2.19	有	洗面奶 1	103.3	6.30	有
护发素 2	198.5	4.16	有	洗面奶 2	97.4	4.20	有
护发素 3	218.7	3.22	有	洗面奶 3	139.2	2.54	有
护发素 4	152.9	4.98	有	洗面奶 4	201.1	3.31	有
护发素 5	179.3	7.04	有	洗面奶 5	185.7	8.12	有
护发素 6	288.5	3.29	有	洗面奶 6	ND	—	无
护发素 7	ND	—	无	洗面奶 7	ND	—	无
护发素 8	ND	—	无	洗面奶 8	ND	—	无
护发素 9	ND	—	无	洗面奶 9	ND	—	无
护发素 10	ND	—	无	洗面奶 10	ND	—	无

化妆水 1	142.6	3.22	有	粉底 1	95.4	4.05	无
化妆水 2	177.2	4.67	有	粉底 2	ND	—	无
化妆水 3	231.1	4.29	有	粉底 3	ND	—	无
化妆水 4	ND	—	无	粉底 4	ND	—	无
化妆水 5	ND	—	无	粉底 5	ND	—	无
化妆水 6	ND	—	无	粉底 6	ND	—	无
化妆水 7	ND	—	无	粉底 7	ND	—	无
化妆水 8	ND	—	无	粉底 8	ND	—	无
化妆水 9	ND	—	无	粉底 9	ND	—	无
化妆水 10	ND	—	无	粉底 10	ND	—	无
漱口水 1	ND	—	无	唇膏 1	ND	—	无
漱口水 2	ND	—	无	唇膏 2	ND	—	无
漱口水 3	ND	—	无	唇膏 3	ND	—	无
漱口水 4	ND	—	无	唇膏 4	ND	—	无
漱口水 5	ND	—	无	唇膏 5	ND	—	无
漱口水 6	ND	—	无	唇膏 6	ND	—	无
漱口水 7	ND	—	无	唇膏 7	ND	—	无
漱口水 8	ND	—	无	唇膏 8	ND	—	无
漱口水 9	ND	—	无	唇膏 9	ND	—	无
漱口水 10	ND	—	无	唇膏 10	ND	—	无

注：1、检出限为 0.2 mg/kg。2、全部样品来源于河北省市售商品；2、在漱口水和唇膏中 IPBC 禁用。

第二法 液相色谱法

2.1 方法特异性

选取 BB 霜、护发素、化妆水等三种空白基质中，分别按标准方法处理空白基质后，观测所得色谱图（图 3~6），发现基质成分没有对碘丙炔醇丁基氨甲酸酯的峰形造成干扰。

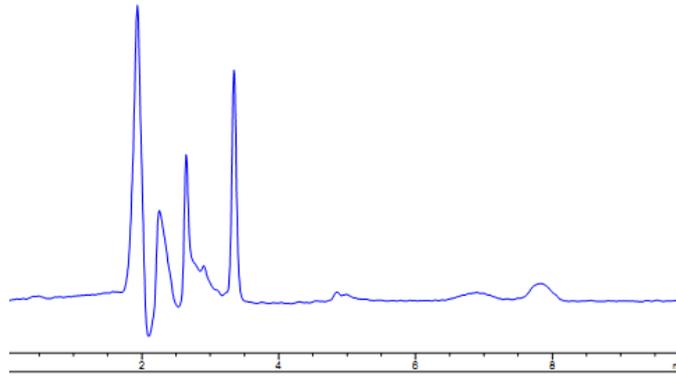


图3 膏霜空白基质

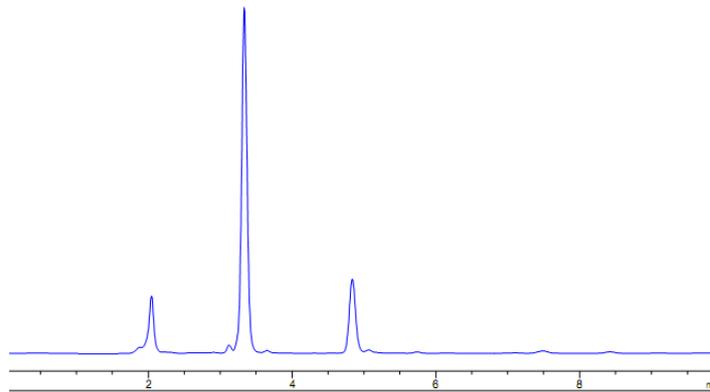


图4 乳类空白基质

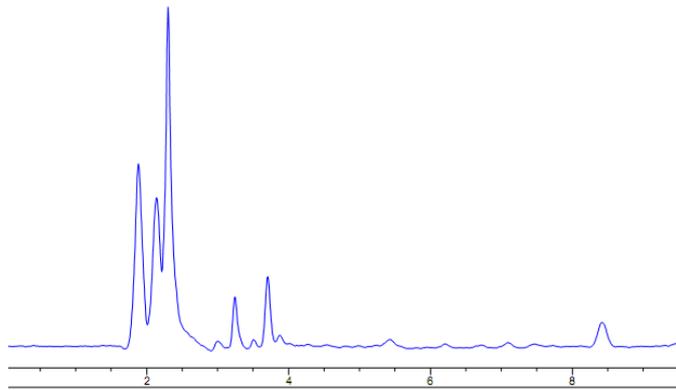


图5 液类空白基质

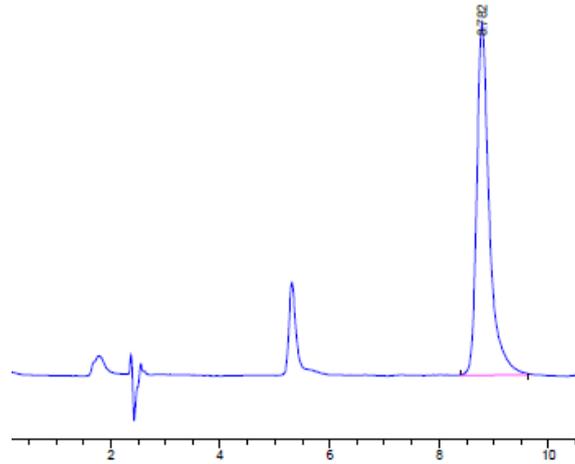


图 6 碘丙炔醇丁基氨甲酸酯标准谱图

2.2 线性及线性范围

2.2.1 标准曲线

将碘丙炔醇丁基氨甲酸酯 (Iodopropynyl Butylcarbamate, $\geq 99\%$) 标准品制成 1.0 g/L 的标准储备液, 再稀释成 0 $\mu\text{g/mL}$ 、1.0 $\mu\text{g/mL}$ 、5.0 $\mu\text{g/mL}$ 、10.0 $\mu\text{g/mL}$ 、50.0 $\mu\text{g/mL}$ 、100.0 $\mu\text{g/mL}$ 和 200.0 $\mu\text{g/mL}$ 的系列标准溶液。

移取 10 μL 系列标准溶液, 注入高效液相色谱仪中进行测定, 以色谱峰的峰面积对目标化合物的浓度制作标准曲线。

2.2.2 基质标准曲线

称取空白基质 1.0 g 置于 25mL 具塞刻度管中, 分别加入相应的储备液, 然后经过确定的前处理方法, 漩涡、超声、定容, 配制成浓度分别为 0 $\mu\text{g/mL}$ 、1.0 $\mu\text{g/mL}$ 、5.0 $\mu\text{g/mL}$ 、10.0 $\mu\text{g/mL}$ 、50.0 $\mu\text{g/mL}$ 、100.0 $\mu\text{g/mL}$ 和 200.0 $\mu\text{g/mL}$ 的基质标准溶液。

每种浓度以 10 μL 注入高效液相色谱仪中进行测定, 以目标色谱峰的峰面积为纵坐标、基质标准溶液的浓度为横坐标进行线性回归, 建立基质标准工作曲线。

2.2.3 线性范围

表 10 标准曲线和线性范围

曲线类型	线性范围	线性方程	相关系数 (r)
溶液标准曲线	0 $\mu\text{g/mL}$ ~200.0 $\mu\text{g/mL}$	$Y=1.92517C$	0.9976
基质 (膏霜类) 标准曲线	0 $\mu\text{g/mL}$ ~200.0 $\mu\text{g/mL}$	$Y=2.05314C$	0.9958
基质 (乳类) 标准曲线	0 $\mu\text{g/mL}$ ~200.0 $\mu\text{g/mL}$	$Y=1.91518C$	0.9991

基质（液类）标准曲线	0 µg/mL~200.0 µg/mL	Y=1.795633C	0.9983
------------	---------------------	-------------	--------

2.3 仪器的检出限和定量下限

稀释并检测碘丙炔醇丁基氨甲酸酯标准溶液，测定峰高信噪比为 10:1 时碘丙炔醇丁基氨甲酸酯的浓度确定为本方法的定量下限 6.0 µg/mL；测定峰高信噪比为 3:1 时碘丙炔醇丁基氨甲酸酯的浓度确定为本方法的检出限为 2.0 µg/mL。

2.4 方法的检出浓度和最低定量浓度

向不含碘丙炔醇丁基氨甲酸酯的基质中定量添加碘丙炔醇丁基氨甲酸酯标准溶液，按前处理方法处理后，测定峰高信噪比为 10:1 时添加的碘丙炔醇丁基氨甲酸酯量确定为方法的最低定量浓度 30 mg/kg；测定峰高信噪比为 3:1 时添加的碘丙炔醇丁基氨甲酸酯确定为本方法的检出浓度为 10 mg/kg。

2.5 精密度

2.5.1 日内精密度

在一日内进行如下操作：向空白样品中分别加入高低两种浓度的碘丙炔醇丁基氨甲酸酯标准溶液，每种浓度平行配置 6 份，经过已确定的预处理方法处理，通过 HPLC 分析检测，所得数据（峰面积）带入标准溶液标准曲线计算得出相应的浓度测量值，再利用这些测量值计算不同浓度、不同基质的 RSD 值，所得 RSD 值如下表所示。

表 11 日内精密度表

名称	浓度 (µg/mL)	精密度 RSD(%)
标准品标准溶液	10.0	8.36
	150.0	9.13
膏霜类	10.0	5.15
	150.0	6.97
乳类	10.0	7.68
	150.0	8.58
液类	10.0	6.83
	150.0	7.26

2.5.2 日间精密度

分别向膏霜、乳、液类空白基质样品中分别加入高低两种浓度的碘丙炔醇丁基氨甲酸酯标准溶液，每种浓度各配置 1 份，经过已确定的预处理方法处理，通过 HPLC 分析检测，所得数据（峰

面积) 带入标准溶液标准曲线计算得出相应的浓度测量值。每日重复上述操作, 并连续重复进行 6 天, 利用这 6 天的测量值计算不同浓度、不同基质的 RSD 值, 所得 RSD 值如下表所示。

表 12 日间精密度表

名称	浓度 ($\mu\text{g/mL}$)	精密度 RSD(%)
标准品标准溶液	10.0	7.35
	150.0	6.67
膏霜类	10.0	8.52
	150.0	6.97
乳类	10.0	7.25
	150.0	6.77
液类	10.0	5.98
	150.0	9.75

2.6 回收率

分别向膏霜、乳、液类空白基质样品中分别加入高低两种浓度的碘丙炔醇丁基氨基甲酸酯标准溶液, 每种加标量平行配置 6 份, 经过已确定的预处理方法处理, 通过 HPLC 分析检测, 所得数据 (峰面积) 分别带入溶液标准曲线和方法标准曲线计算得出相应的百分含量, 再利用这些测量值计算不同浓度、不同基质的回收率值, 如下表所示。

表 13 回收率统计表

基质种类	添加量 (mg/kg)	RSD (%)	方法回收率 (%)	提取回收率 (%)
膏霜类	40	6.63	96.7	98.1
	500	9.28	98.5	101.6
乳类	40	8.54	94.6	101.1
	500	7.02	104.3	95.3
液类	40	6.76	94.1	102.1
	500	5.19	99.3	91.5

2.7 稳定性

2.7.1 日内稳定性

用 $10 \mu\text{g/mL}$ 和 $150 \mu\text{g/mL}$ 两种浓度的标准溶液放置于室温下, 一天内测量 5 次, 从第一次

起每隔一定时间测定一次，所得峰面积响应值带入标准曲线，计算得到 RSD。

表 14 日内稳定性表

物质名称	标准溶液浓度 μg/mL	0h	4h	10h	16h	24h	RSD (%)
碘丙炔醇	10	9.78	11.11	10.02	8.93	10.18	7.84
丁基氨基甲酸酯	150	152.21	145.33	157.16	143.88	155.01	3.90

碘丙炔醇丁基氨基甲酸酯标准溶液在 24h 内稳定。

2.7.2 日间稳定性

用 10 μg/mL 和 150 μg/mL 两种浓度的标准溶液放置于室温下，测定五天，每天测定 6 次，所得峰面积响应值平均值带入标准曲线，计算得到 RSD。

表 15 日间稳定性表

物质名称	标准溶液浓度 μg/mL	第一天	第二天	第三天	第四天	第五天	RSD (%)
碘丙炔醇	10	10.29	8.66	10.25	10.02	9.74	6.84
丁基氨基甲酸酯	150	156.67	146.33	143.67	145.22	157.11	4.37

碘丙炔醇丁基氨基甲酸酯标准溶液在五天内稳定。

2.8 实际样品检测

随机抽取 60 例市售样品（洗面奶、护发素、唇膏、化妆水、粉底），依据本方法进行测定，平行测定二次，结果如表 7。

表 16 实际样品测定统计表

样品	IPBC 含量 (mg/kg)	RSD (%)	标称 IPBC	样品	IPBC 含量 (mg/kg)	RSD (%)	标称 IPBC
护发素 1	180.5	3.23	有	洗面奶 1	101.5	3.08	有
护发素 2	202.1	2.19	有	洗面奶 2	95.2	5.12	有
护发素 3	200.2	4.17	有	洗面奶 3	142.8	3.23	有
护发素 4	164.2	2.22	有	洗面奶 4	209.3	5.29	有
护发素 5	172.9	4.90	有	洗面奶 5	192.4	5.10	有

样品	IPBC 含量 (mg/kg)	RSD (%)	标称 IPBC	样品	IPBC 含量 (mg/kg)	RSD (%)	标称 IPBC
护发素 6	301.2	2.16	有	洗面奶 6	ND	—	无
护发素 7	ND	—	无	洗面奶 7	ND	—	无
护发素 8	ND	—	无	洗面奶 8	ND	—	无
护发素 9	ND	—	无	洗面奶 9	ND	—	无
护发素 10	ND	—	无	洗面奶 10	ND	—	无
化妆水 1	144.2	4.27	有	粉底 1	101.1	4.20	无
化妆水 2	181.2	3.27	有	粉底 2	ND	—	无
化妆水 3	239.9	5.21	有	粉底 3	ND	—	无
化妆水 4	ND	—	无	粉底 4	ND	—	无
化妆水 5	ND	—	无	粉底 5	ND	—	无
化妆水 6	ND	—	无	粉底 6	ND	—	无
化妆水 7	ND	—	无	粉底 7	ND	—	无
化妆水 8	ND	—	无	粉底 8	ND	—	无
化妆水 9	ND	—	无	粉底 9	ND	—	无
化妆水 10	ND	—	无	粉底 10	ND	—	无
漱口水 1	ND	—	无	唇膏 1	ND	—	无
漱口水 2	ND	—	无	唇膏 2	ND	—	无
漱口水 3	ND	—	无	唇膏 3	ND	—	无
漱口水 4	ND	—	无	唇膏 4	ND	—	无
漱口水 5	ND	—	无	唇膏 5	ND	—	无
漱口水 6	ND	—	无	唇膏 6	ND	—	无
漱口水 7	ND	—	无	唇膏 7	ND	—	无
漱口水 8	ND	—	无	唇膏 8	ND	—	无
漱口水 9	ND	—	无	唇膏 9	ND	—	无
漱口水 10	ND	—	无	唇膏 10	ND	—	无

注：1、检出限为 10 mg/kg；2、全部样品来源于河北省市售商品；3、样品与第一法检测样品相同，检验结果无明显差异。

3 多家实验室方法比对验证

3.1 检测单位

(1)河北秦皇岛出入境检验检疫局检验检疫技术中心（秦皇岛出入境）。

(2)河北省产品质量监督检验院（河北质检院）。

(3)河北出入境检验检疫局检验检疫技术中心（河北出入境）。

3.2 验证内容

3.2.1 液相色谱-串联质谱法验证内容

表 17 多家实验室验证线性曲线及线性范围

验证单位	线性曲线	线性范围	相关系数 (r)
秦皇岛出入境	$Y=2.1435C$	0 $\mu\text{g/mL}$ ~200 $\mu\text{g/mL}$	0.9972
河北质检院	$Y=1.6433C$	0 $\mu\text{g/mL}$ ~200 $\mu\text{g/mL}$	0.9983
河北出入境	$Y=1.3877C$	0 $\mu\text{g/mL}$ ~200 $\mu\text{g/mL}$	0.9991

表 18 实验室间验证精密度

验证单位	RSD (%)			
	标准溶液		方法标准溶液	
	浓度 ($\mu\text{g/mL}$)		加标浓度 (mg/kg)	
	10.0	150.0	10.0	150.0
秦皇岛出入境	1.67	2.01	3.34	3.66
河北质检院	1.72	1.51	3.49	4.21
河北出入境	1.33	2.73	2.67	2.88

表 19 实验室间验证加标回收率

验证单位	加标量 (mg/kg)	加标回收率 (%)	RSD (%)
秦皇岛出入境	10	94.60	5.43
	150	99.72	4.72
河北质检院	10	102.4	3.98
	150	95.11	4.23
河北出入境	10	93.87	4.01
	150	99.15	3.76

表 20 实验室间验证样品的检测

验证单位	含量 (mg/kg)					
	BB 霜	洗面奶	护发素	化妆水	唇膏	粉底
秦皇岛出入境	未检出	102.3	200.4	150.7	未检出	93.8
河北质检院	未检出	94.3	201.6	144.5	未检出	97.6
河北出入境	未检出	103.5	198.4	150.1	未检出	96.3

3.2.1 液相色谱法验证内容

表 21 多家实验室验证线性曲线及线性范围

验证单位	线性曲线	线性范围	相关系数 (r)
秦皇岛出入境	Y=1.3247C	0 µg/mL~200 µg/mL	0.9975
河北质检院	Y=2.0661C	0 µg/mL~200 µg/mL	0.9982
河北出入境	Y=1.0167C	0 µg/mL~200 µg/mL	0.9990

表 22 实验室间验证精密度

验证单位	RSD (%)			
	标准溶液		方法标准溶液	
	浓度 (µg/mL)		加标浓度 (mg/kg)	
	10.0	150.0	10.0	150.0
秦皇岛出入境	1.43	2.34	2.97	3.33
河北质检院	1.36	2.58	3.05	3.74
河北出入境	1.27	2.31	2.88	3.58

表 23 实验室间验证加标回收率

验证单位	加标量 (mg/kg)	加标回收率 (%)	RSD (%)
秦皇岛出入境	10	93.5	4.78
	150	102.3	4.93
河北质检院	10	99.5	4.11
	150	102.8	3.65
河北出入境	10	90.8	3.57
	150	97.6	4.26

表 24 实验室间验证样品的检测

验证单位	含量 (mg/kg)					
	BB 霜	洗面奶	护发素	化妆水	唇膏	粉底
秦皇岛出入境	未检出	105.1	203.6	147.2	未检出	95.5
河北质检院	未检出	99.6	198.4	141.6	未检出	100.4
河北出入境	未检出	100.8	200.7	145.0	未检出	98.1