

附件 1

化妆品中游离甲醛的检测方法

Determination of free formaldehyde in cosmetics

(征求意见稿)

1 范围

本方法规定了柱后衍生-高效液相色谱法测定化妆品中游离甲醛含量。

本方法适用于液态水基类、膏霜乳液类、凝胶类、液态油基类、蜡基类、粉类化妆品中游离甲醛含量的测定。

2 方法提要

样品中的游离甲醛经高效液相色谱分离，柱后衍生，在二极管阵列检测器 420 nm 波长下检测或在荧光检测器（激发波长 425 nm，发射波长 510 nm）下检测，根据保留时间和光谱图定性，峰面积定量，以标准曲线法计算含量。取 0.2 g 样品时，本方法对甲醛的检出浓度为 0.00020%，最低定量浓度为 0.00067%。

3 试剂

除另有规定外，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 甲醛标准物质水溶液。

3.2 磷酸。

3.3 乙酸铵，色谱纯。

3.4 冰乙酸。

3.5 乙酰丙酮。

3.6 二氯甲烷。

3.7 石油醚（30~60℃）。

3.8 磷酸溶液：取磷酸（3.2）2 mL，加水至 1000 mL，混匀。

3.9 柱后衍生溶液：称取 62.5 g 乙酸铵（3.3）置锥形瓶中，加入 7.5 mL 冰乙酸（3.4），5 mL 乙酰丙酮（3.5），加水至 1000 mL，摇匀。该溶液可有效使用 3 天。

4 仪器和设备

4.1 高效液相色谱仪，具有二极管阵列检测器或荧光检测器。

4.2 柱后衍生仪。

4.3 天平。

4.4 离心机。

4.5 涡旋振荡器。

5 分析步骤

5.1 标准系列溶液的制备

精密量取甲醛标准物质水溶液（3.1）适量，用磷酸溶液（3.8）稀释成 100、200、500、1000、2000、5000 ng/mL 的标准系列溶液。临用现配。

5.2 样品处理

液态水基类、膏霜乳液类、凝胶类：称取样品 0.2 g（精确至 0.001 g）于 10 mL 具塞比色管中，加入磷酸溶液（3.8）至刻度，涡旋 1 min，10000 rpm 离心 5 min，取上清液经 0.45 μm 微孔滤膜（水相）过滤，滤液作为待测溶液。

液态油基类、蜡基类、粉类：称取样品 0.2 g（精确至 0.001 g）于 10 mL 具塞比色管中，加入石油醚（3.7）5 mL，加入磷酸溶液（3.8）5 mL，涡旋 1 min，于 10000 rpm 离心 5 min，取下层水溶液至 10 mL 具塞比色管中，上层加入磷酸溶液（3.8）4 mL，同法处理，合并两次下层水溶液，用磷酸溶液（3.8）定容至刻度，经 0.45 μm 滤膜过滤，滤液作为待测溶液。

注：样品溶液需在 8 小时内完成测定。

5.3 色谱参考条件

5.3.1 柱后衍生-液相色谱-二极管阵列检测器参考条件

色谱柱： C_{18} 色谱柱（4.6 mm \times 250 mm \times 5 μm ），或等效色谱柱；

流动相：磷酸溶液（3.8）；

流速：1.0 mL/min；

柱温：20 $^{\circ}\text{C}$ ；

检测波长：420 nm；

进样体积：10 μL ；

5.3.2 柱后衍生-液相色谱-荧光检测器参考条件

色谱柱： C_{18} 色谱柱（4.6 mm \times 250 mm \times 5 μm ），或等效色谱柱；

流动相：磷酸溶液（3.8）

流速：1.0 mL/min；

柱温：20 $^{\circ}\text{C}$ ；

激发波长 425 nm，发射波长 510 nm

进样体积：10 μL ；

5.3.3 柱后衍生参考条件

衍生溶液流速：0.8 mL/min；

反应器温度：100 $^{\circ}\text{C}$ 。

5.4 测定

在“5.3”项色谱条件下,取“5.1”项下的甲醛标准系列溶液分别进样,进行液相色谱分析,以标准系列溶液浓度为横坐标,甲醛衍生物的峰面积为纵坐标,进行线性回归,建立标准曲线,得到回归方程。

取“5.2”项下处理得到的待测溶液进样 10 μL ,进行色谱分析,根据保留时间和紫外光谱图或荧光光谱图定性,测得甲醛衍生物的峰面积,根据标准曲线得到待测溶液中游离甲醛的质量浓度。按“6.1”项下计算样品中游离甲醛的含量。若遇游离甲醛含量过高的样品,可对待测溶液用磷酸溶液(3.8)适当稀释后进行测定。

6 分析结果的表述

6.1 计算

$$\omega(\text{游离甲醛}) = \frac{\rho \times V}{m \times 10^6} \times 100\%$$

式中: ω (游离甲醛)——化妆品中游离甲醛的含量, %;

m ——样品取样量, g;

ρ ——代入标准曲线计算得到的样品中甲醛的质量浓度, $\mu\text{g/mL}$;

V ——定容体积, mL。

在重复性条件下获得的两次独立测试结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10%。

6.2 回收率和精密度

高效液相色谱-二极管阵列检测器法的回收率为 95.3% - 114.9%,相对标准偏差小于 10%;
高效液相色谱-荧光检测器法的回收率为 90.0% - 113.8%,相对标准偏差小于 10%。

7 色谱图

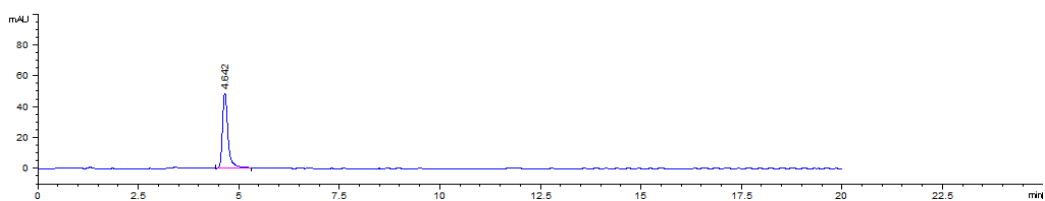


图 1 甲醛衍生物的高效液相色谱图(二极管阵列检测器)

(甲醛 4.642 min)

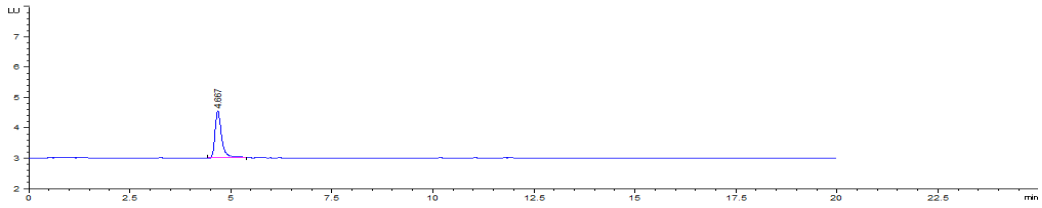


图 2 甲醛衍生物的高效液相色谱图（荧光检测器）

（甲醛 4.667 min）

附录 A

甲醛标准品信息表

序号	中文名称	CAS 号	分子式	分子量
1	甲醛	50-00-0	CH ₂ O	30.03

附录 B

液相色谱-串联质谱参考方法

当样品中游离甲醛含量大于 0.001% 时，可采用液相色谱-三重四级杆质谱进行确证。

B.1 试剂和材料

B.1.1 五氟苯肼，色谱纯

B.1.2 甲酸，色谱纯

B.1.3 乙酸铵，色谱纯

B.1.4 2% 甲酸水溶液：量取甲酸（B.1.2）2 mL，加水稀释至 100 mL。

B.1.5 五氟苯肼溶液：称取五氟苯肼（B.1.1）1.0 g，置 1000 mL 容量瓶中，用 2% 甲酸溶液（B.1.4）溶解并定容至刻度，摇匀，即得。

B.1.6 5 mM 乙酸铵溶液：称取乙酸铵（B.1.3）0.385 g，加水 1000 mL 溶解摇匀，即得。

B.2 样品处理

液态水基类、膏霜乳液类、凝胶类：称取样品 0.2 g（精确至 0.001 g）于 10 mL 具塞比色管中，加五氟苯肼溶液（B.1.5）至刻度，涡旋 1 min，10000 rpm 离心 5 min，取上清液经 0.22 μm 微孔滤膜过滤，滤液作为待测溶液，立即测定。

液态油基类、蜡基类、粉类：称取样品 0.2 g（精确至 0.001 g）于 50 mL 具塞比色管中，加入石油醚（3.7）9 mL，加入五氟苯肼溶液（B.1.5）9 mL，涡旋 1 min，于 10000 rpm 离心 5 min，取下层水溶液至 10 mL 具塞比色管中，用五氟苯肼溶液（B.1.5）定容至刻度，经 0.22 μm 微孔滤膜过滤，滤液作为待测溶液，立即测定。

另取甲醛标准溶液适量（与样品中游离甲醛的量相当），加五氟苯肼溶液（B.1.5）至 10

mL, 涡旋 1 min 即得。

B.3 液相色谱-质谱法参考条件

色谱参考条件:

色谱柱: C₁₈ 柱 (2.1 mm×150 mm× 3.5 μm), 或等效色谱柱;

流动相: A: 5 mM 乙酸铵溶液 (B.1.6), B: 乙腈; 梯度洗脱程序详见表 B.1。

表 B.1 流动相梯度洗脱程序

时间/min	V (A) /%	V (B) /%
1.0	90	10
3.0	40	60
6.0	0	100
8.0	0	100
8.1	90	10
12.0	90	10

流速: 0.3 mL/min;

柱温: 25 °C;

进样量: 5 μL。

质谱参考条件:

离子源: 电喷雾离子源 (ESI 源);

监测模式: 负离子多反应监测模式;

气流温度: 160 °C;

鞘气温度: 350 °C;

雾化气压力: 30 psi;

毛细管电压: 1500 V;

碰撞气: 氮气;

其他质谱条件参见下表:

表 B.2 监测离子对及相关参数设定表

名称	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	CE (V)
甲醛与五氟苯胍衍生物	209.0	167.0	17
		189.0	5

B.4 定性

分别取 B.2 项下甲醛标准溶液及样品溶液 5 μL, 在相同试验条件下, 样品中各离子对的保留时间应与标准溶液中各离子对的保留时间一致; 样品色谱图中所选择的监测离子对的相对丰度比与标准溶液的离子对相对丰度比的偏差不超过下表规定范围, 则可以判断样品中

存在甲醛。

表 B.3 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%

B.5 图谱

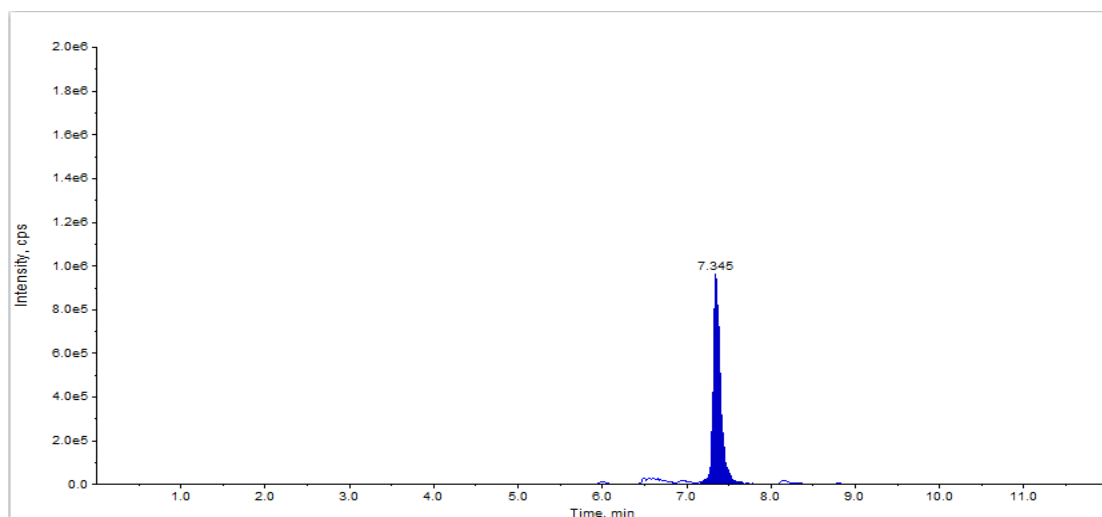


图 B.1 甲醛与五氟苯胼衍生物提取离子图 (m/z 209.0/167.0)

化妆品中游离甲醛的检测方法

起草说明

为加强化妆品的监督管理，进一步提高化妆品使用安全性，中国食品药品检定研究院开展了化妆品中游离甲醛检测方法的研究制定工作，现就工作有关情况说明如下：

一、起草原则

本方法修订时，尽量采用目前化妆品实验室普遍具有的分析仪器，以便于方法的推广、执行。方法兼具先进性与可行性，条理清晰，操作性强，选择准确、可行、便于实际操作的分析条件，保证了检测方法的可操作性和重现性。

二、起草过程

通过市场调研，结合以往工作经验和研究基础，于 2021 年开展了本方法的起草研究。2021 年 11 月立项成为《化妆品安全技术规范》制修订项目，2022 年 10 月完成了“化妆品中游离甲醛的检测方法”。

三、与我国已有相关标准的关系

国标《GB/T 34822-2017 化妆品中甲醛含量的测定高效液相色谱法》采用柱后衍生-高效液相色谱法，荧光检测器检测，检出限为 0.00015%。但该方法样品基质仅包含膏霜乳液类、水剂类和指甲油类，不能覆盖现有市场上含甲醛释放体的样品基质类型。且膏霜乳液类样品前处理用到盐酸和二氯甲烷，为易制毒试剂，不适合作为常规提取溶剂。该方法未包含质谱确证方法，无法对阳性样品进行确证。

四、与《规范》中原方法的对比情况

修改后的方法将替代《化妆品安全技术规范》（2015 年版）第四章理化检验方法中 4.9 游离甲醛的检测方法。《化妆品安全技术规范》（2015 年版）现行游离甲醛测定方法为 2020 年 1 月 1 日起开始执行的《化妆品中游离甲醛的检测方法》。该方法采用柱后衍生-高效液相色谱法，二极管阵列检测器检测。游离甲醛的检出浓度为 0.003%，高于欧盟最新建议的安全阈值 0.001%，故需降低方法检出浓度，进一步满足监管需求。

本方法在《规范》中原方法的基础上，增加了液态油基类、蜡基类、粉类三类基质的样品处理方法，降低方法检出浓度为 0.00020%，最低定量浓度为 0.00067%，均低于欧盟最新建议的安全阈值 0.001%。此外，采用 DAD 检测器和 FLD 检测器同时测定的方法，有利于阳性样品确证。进一步优化了质谱确证方法，提高了质谱确证法的灵敏度。

五、国际相关标准情况

欧盟法规 90/207/EEC 中规定了含甲醛释放体的化妆品，采用柱后衍生-高效液相色谱法测定游离甲醛。供试品中游离甲醛经盐酸和二氯甲烷提取后，经色谱分离，游离甲醛与乙酰丙酮衍生后于 420 nm 波长下测定。该方法同样用到了盐酸及二氯甲烷，不适合作为常规提取溶剂，而方法中又要求供试液需在 1 小时内进样完毕，不适合实验室多批量操作。该方法未提供方法检出浓度、未明确样品称样量，缺少质谱确证方法。

六、实验室验证情况

本实验室内部验证和三家实验室外部验证，通过了水剂、膏霜乳液、凝胶类、液态油基类、蜡基类、粉类 6 种化妆品基质的方法学实验，包括对方法的特异性、线性、检出浓度、最低定量浓度、精密度、回收率、稳定性等指标进行了验证。实验结果均能满足《化妆品中禁用物质和限用物质检测方法验证技术规范》（国食药监许[2010]455 号）的要求。

七、其它需要说明的问题

1. 研究的必要性

2021 年 5 月 28 日，国家药监局发布了《关于更新化妆品禁用原料目录的公告》（2021 年第 74 号），将甲醛 Formaldehyde（CAS No. 50-00-0）和多聚甲醛 Paraformaldehyde（CAS No. 30525-89-4）列入了化妆品禁用原料目录，即日起执行。但是这一禁令不能完全杜绝化妆品中的甲醛风险问题。《化妆品安全技术规范》（2015 年版）准用防腐剂列表中的部分原料，以甲醛释放体的形式存在于化妆品成品中，如双（羟甲基）咪唑烷基脲、DMDM 乙内酰脲、咪唑烷基脲。2021 年 5 月 10 日，欧盟消费者安全科学委员会 SCCS 发布关于欧盟化妆品法规附录 V 化妆品准用防腐剂清单中甲醛释放体标识含甲醛警示语的阈值的科学建议（SCCS/1632/21），在其结论中表示 500ppm 的游离甲醛阈值不足以保护甲醛敏感人群，相对安全的阈值应降至 10ppm，即从 0.05%降低为 0.001%。综上，处于安全考虑，化妆品中游离甲醛限值有进一步降低的趋势。《化妆品安全技术规范》（2015 年版）现行游离甲醛测定方法为 2020 年 1 月 1 日起开始执行的《化妆品中游离甲醛的检测方法》。该方法采用柱后衍生-高效液相色谱法，二极管阵列检测器检测。游离甲醛的检出浓度为 0.003%，高于欧盟最新建议的安全阈值 0.001%，故需降低方法检出浓度，进一步满足监管需求。

现有游离甲醛测定方法适用基质范围为水剂、膏霜乳液、凝胶类，但经过市场调研发现，尚有其他基质类型化妆品中含有甲醛释放体，如标注咪唑烷基脲的腮红粉、标注双（羟甲基）咪唑烷基脲的芦荟卸妆油、标注双（羟甲基）咪唑烷基脲的滋养润唇膏等。按照新的化妆品分类规则，这些化妆品属于粉剂、液体（油）、蜡基，均不适用于现有方法的样品前处理步骤，故需进一步扩大游离甲醛测定方法的基质适用范围。

根据国家标准物质资源共享平台信息显示，现已有市售的水中甲醛溶液标准物质，编号为 GBW(E)081701、GBW(E)082266、NIM-RM3450，浓度分别为 100 $\mu\text{g/mL}$ 、100 $\mu\text{g/mL}$ 、

10 mg/mL，且均为 2 mL/支、20mL/支的小包装。故实际检测中不再需要对甲醛标准溶液进行标定，需删除现有方法附录中甲醛标准溶液的标定内容。

综上，有必要修订《化妆品安全技术规范》（2015 年版）中收录的游离甲醛的检测方法，提高方法的灵敏度，扩充方法适用的基质范围，以满足监管的需求。

2. 起草依据及文献

- (1) 《化妆品安全技术规范》（2015 年版）；
- (2) 国标《GB/T 34822-2017 化妆品中甲醛含量的测定高效液相色谱法》；
- (3) 欧盟法规 90/207/EEC；
- (4) 《化妆品中禁用物质和限用物质检测方法验证技术规范》（国食药监许[2010]455 号）。

3. 方法解决的主要问题

本方法解决了以下问题：1) 扩充检验标准适用的化妆品基质范围，调研市售含双（羟甲基）咪唑烷基脲、DMDM 乙内酰脲、咪唑烷基脲等甲醛释放体的化妆品基质类型范围，结合《化妆品分类规则和分类目录》及现有标准中缺少的基质分类，新增了液态油基类、蜡基类、粉类 3 种基质的样品处理方法；2) 提高检验方法灵敏度。通过色谱条件的优化和检测器的选择，将方法检出浓度降低至 0.00020%、方法最低定浓度降低至 0.00067%；3) 新增了高效液相色谱-荧光检测器法作为高效液相色谱-二极管阵列检测器法的补充定量方法，也可作为阳性样品的确证方法；4) 降低了液相色谱-质谱的确证方法的检出限。