

化妆品中禁用物质溴米索 伐、卡溴脲、卡立普多的 测定 解决方案

1. 前言

本高效液相色谱(HPLC)解决方案对化妆品中禁用物质溴米索伐、卡溴脲、卡立普多进行检测，实验方法参考 GB/T 40899-2021 《化妆品中禁用物质溴米索伐、卡溴脲、卡立普多的测定 高效液相色谱法》中测定方法。

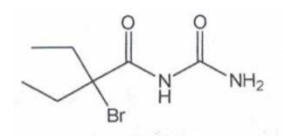
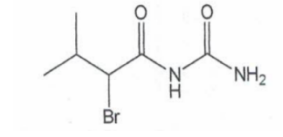
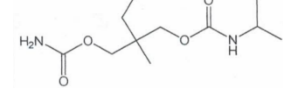
溴米索伐：化合物化学名为 2-溴-N-氨基甲酰基-3-甲基丁酰胺，通常称为溴戊酰脲，是 Knoll 在 1907 年发现的并且在 1909 年获得专利的溴化丙烯基团的催眠和镇静剂。白色结晶性粉末，无臭，味微苦，在丙酮中易溶，在乙醇或乙醚中溶解，在水中微溶。

卡溴脲：化合物化学名为 2-溴-2-乙基丁酰脲,具有镇静和缓和的催眠作用，长期服用可产生如溴中毒样的慢性中毒症状，如严重精神抑郁、兴奋、言语含糊、皮疹等。

卡立普多：化合物化学名为 2-氨基甲酰氧甲基-2-异丙氨基甲酰氧甲基戊烷，别名为肌安宁，卡来梯，RELA。为甲丙氨酯的衍生物，亦有镇静及抗焦虑作用，用于治疗急性肌肉痉挛及扭伤等。

本解决方案适用于需要参照 GB/T 40899-2021 对化妆品中禁用物质溴米索伐、卡溴脲、卡立普多进行检测的用户参考使用。

表 1-1 溴米索伐、卡溴脲、卡立普多相关信息

中文名称	英文名称	CAS 号	分子式	相对分子质量	结构式
溴米索伐	Bromisoval	496-67-3	$C_6H_{11}BrN_2O_2$	223.07	
卡溴脲	Carbromal	77-65-6	$C_7H_{13}BrN_2O_2$	237.09	
卡立普多	Carisoprodol	78-44-4	$C_{12}H_{24}N_2O_4$	260.33	

2. 测试方法与仪器设备

2.1 仪器设备与试剂

表 2-1 高效液相色谱系统配置清单

序号	名称	数量
1	M5102 组织器	1台
2	P5103 高压恒流泵	1台
3	S5101 自动进样器	1台
4	O5101 色谱柱温箱	1台
5	D5101 紫外检测器	1台
6	D3270 蒸发光检测器	1台
7	Kromstation 色谱数据工作站	1套
8	Supersil ODS2 色谱柱	1支
9	1000mL溶剂瓶	1个

注：或同等配置其它型号高效液相色谱仪

表 2-2 主要试剂

序号	试剂	纯度
1	甲醇	色谱纯
2	乙腈	色谱纯
3	水	超纯水
4	氯化钠	固体
5	溴米索伐	纯度≥98%
6	卡溴脲	纯度≥98%
7	卡立普多	纯度≥98%

表 2-3 主要前处理设备

序号	名称	规格	备注
1	溶剂过滤器	1000mL	
2	隔膜真空泵	GM-0.33A 160W	
3	精密电子天平	感量：0.0001g	感量：0.0001g
4	离心机	SIGMA 3K-15	转速不低于5000r/min
5	氮吹仪	HGC-12A	
6	超声波清洗器	AS系列（220V/50Hz）	频率不低于40kHz

实验过程中其它玻璃器皿包括棕色容量瓶(10 mL、50 mL、100 mL)、10 mL 具塞比色管、50 mL 具塞塑料离心管、移液枪(0~1000 μL，0~5000 μL)、移液枪枪头(1 mL，5 mL)、一次性注射器(1 mL)、针筒式滤膜(孔径 0.45 μm，有机相)、一次性 PVC 手套、一次性口罩等。

2.2 实验方法

2.2.1 标准溶液配制

溴米索伐、卡溴脲、卡立普多标准储备溶液(1000 mg/L)

准确称取 100.0 mg 溴米索伐标准物质，精确到 0.1 mg，转移至 100 mL 容量瓶，用 40% 乙腈-水溶液定容至刻度，于 4 °C 避光保存，有效期 2 个月。

准确称取 10.0 mg 卡溴脲标准物质，精确到 0.1 mg，转移至 10 mL 容量瓶，用 40% 乙腈-水溶液定容至刻度，于 4 °C 避光保存，有效期 2 个月。

准确称取 100.0 mg 卡立普多标准物质，精确到 0.1 mg，转移至 100 mL 容量瓶，用 40% 乙腈-水溶液定容至刻度，于 4 °C 避光保存，有效期 2 个月。

溴米索伐、卡溴脲混合标准工作溶液

分别移取 0.1 mL、0.2 mL、1 mL、2 mL、5 mL 溴米索伐、卡溴脲标准储备溶液于 10 mL 容量瓶中，使用 40%乙腈溶液定容至刻度，得到质量浓度为 10 mg/L、20 mg/L、100 mg/L、200 mg/L、500 mg/L 的标准工作溶液。

卡立普多标准工作溶液

分别移取 2.5 mL、5 mL、10 mL、15 mL、25 mL 的卡立普多准储备溶液于 5 个 50 mL 容量瓶中，使用 40%乙腈溶液定容至刻度，得到质量浓度为 50 mg/L、100 mg/L、200 mg/L、300 mg/L、500 mg/L 的标准工作溶液。

2.2.2 样品前处理

膏霜类样品

称取 1.0 g 样品，精确至 0.001 g，置于 10 mL 具塞比色管中，加入甲醇定容至 10 mL，混匀，加入 2 g 氯化钠破乳，超声提取 20 min，冷却至室温。移取所得悬浊液 5 mL，于 50 mL 具塞塑料离心管中，5000 r/min，离心 5 min。取离心后所得上清液 1 mL，氮吹至干，使用 40%乙腈-水重新定容至 1 mL，经微孔滤膜后，过滤后待检测。

2.2.3 色谱条件

流动相：乙腈/水（v/v）=40/60

色谱柱：Supersil ODS2 5 μ m，4.6 mm $\times$ 150 mm，柱号：E3313545

流 量：1.0 mL/min

检 测：UV210 nm（溴米索伐、卡溴脲检测）

ELSD：雾化器冷却模式，蒸发温度 40 $^{\circ}$ C，氮气为载器，钢瓶出口压力 50 psi，

载气流量 2.5 mL/min，灵敏度 8（卡立普多检测）

进样量：10 μ L

柱 温：30 $^{\circ}$ C

3. 实验结果

3.1 典型分析色谱图

3.1.1 溴米索伐、卡溴脲典型分析色谱图

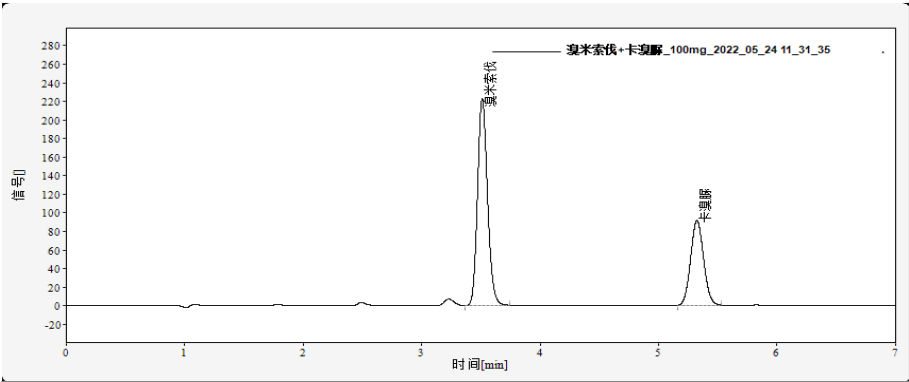


图 3-1 溴米索伐、卡溴脲标准品分析色谱图(100 mg/L)

表 3-1 100 mg/L 的溴米索伐、卡溴脲标液色谱参数表

化合物名称	保留时间[min]	峰面积[mAU.s]	拖尾因子	柱效[N/m]	分离度[-]
溴米索伐	3.511	1304.15	1.16	56200	-
卡溴脲	5.325	695.34	1.07	74800	10.2

3.1.2 卡立普多典型分析色谱图

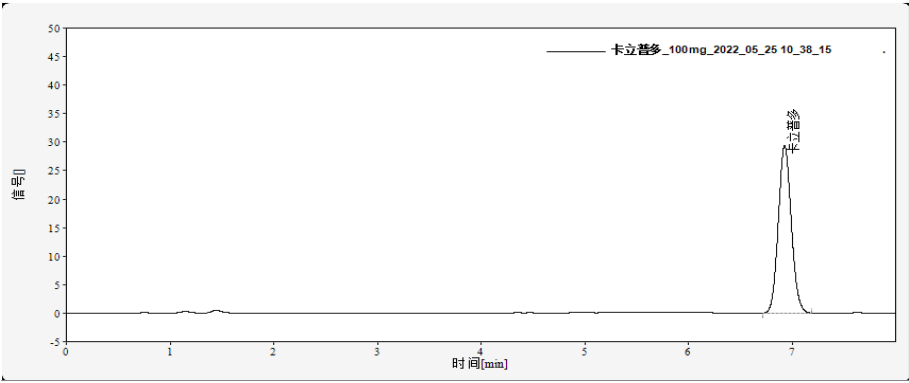


图 3-2 卡立普多准品分析色谱图(100 mg/L)

表 3-2 100 mg/L 的卡立普多标液色谱参数表

化合物名称	保留时间[min]	峰面积[mAU.s]	拖尾因子	柱效[N/m]	分离度[-]
卡立普多	6.925	256.24	1.09	98467	-

3.2 线性范围

3.2.1 溴米索伐、卡溴脲线性范围

按 GB/T 40899-2021 标准方法，配制不同质量浓度的标准溶液，计算相关线性系数。

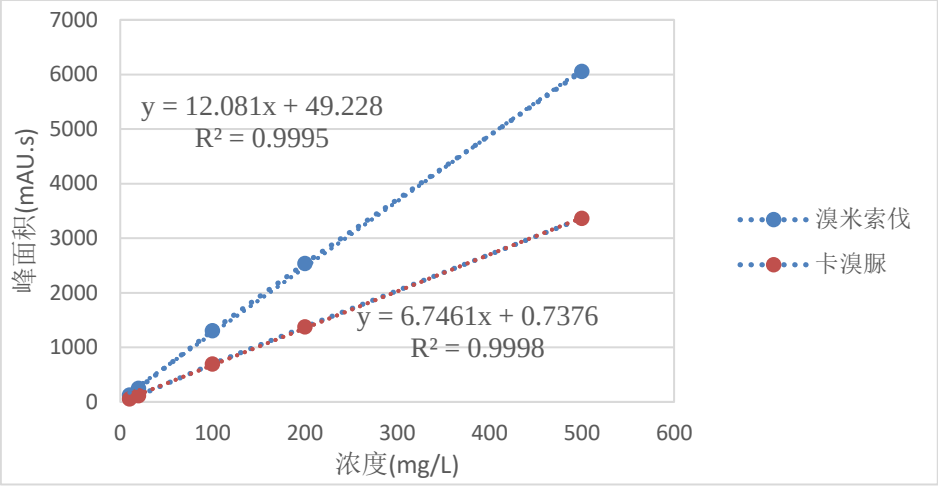


图 3-3 溴米索伐、卡溴脲校准曲线图

表 3-3 溴米索伐、卡溴脲线性参数表

序号	浓度(mg/L)	峰面积[mAU.s]	峰面积[mAU.s]
		溴米索伐	卡溴脲
1	10	125.09	57.03
2	20	252.32	115.44
3	100	1303.96	695.65
4	200	2538.21	1373.49
5	500	6053.57	3361.36

根据质量浓度和峰面积，得到溴米索伐、卡溴脲线性方程分别为： $y = 12.0810x + 49.2297$ ， $R^2 = 0.9995$ ， $y = 6.7461x + 0.7396$ ， $R^2 = 0.9998$ 。因此，溴米索伐、卡溴脲在 10~500 mg/L 浓度范围内，线性关系良好。

3.2.2 卡立普多线性范围

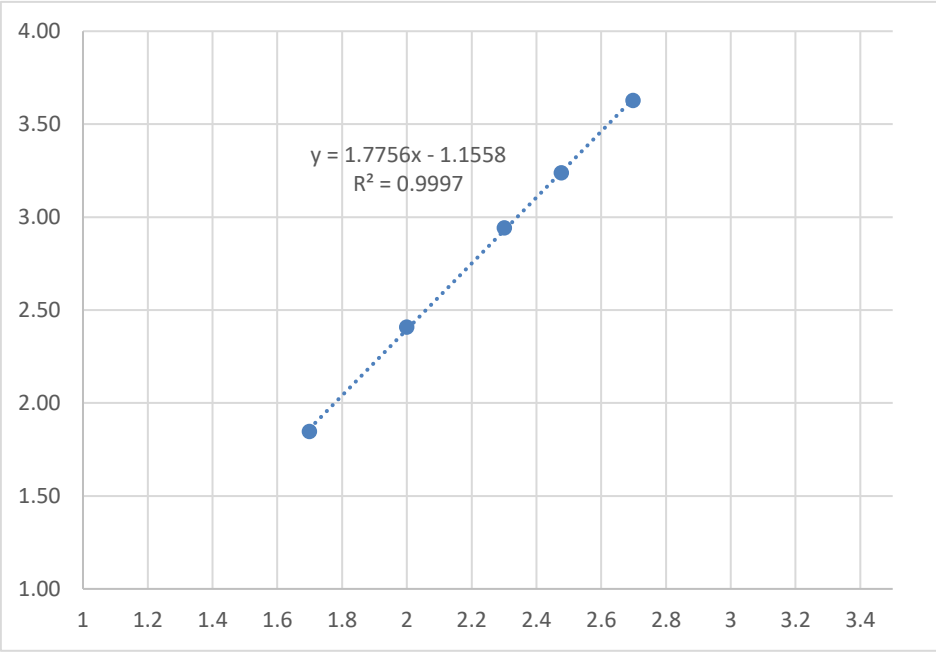


图 3-4 卡立普多校准曲线图

表 3-4 卡立普多线性参数表

序号	浓度(mg/L)	峰面积[mAU.s]
1	50	70.34
2	100	256.43
3	200	875.43
4	300	1733.97
5	500	4242.61

以质量浓度的常用对数值为自变量和峰面积的常用对数值为因变量进行线性回归，得到卡立普多线性方程为： $y = 1.7756x - 1.1558$ ， $R^2 = 0.9997$ 。因此，卡立普多在 50~500 mg/L 浓度范围内，线性关系良好

3.3 重复性

3.3.1 溴米索伐、卡溴脲重复性

浓度为 10 mg/L 溴米索伐、卡溴脲混合标准溶液，连续进样 5 针，峰面积和保留时间 RSD 结果如下：

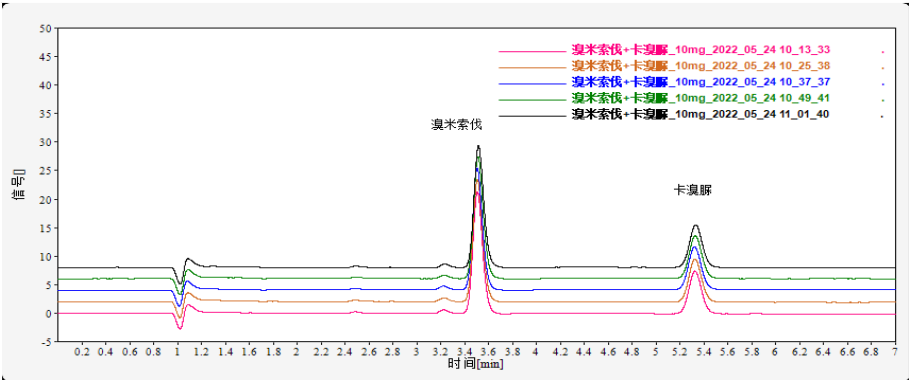


图 3-5 溴米索伐、卡溴脲混合标准品谱图叠加重复性

序号	溴米索伐		卡溴脲	
	保留时间[min]	峰面积[mAU.s]	保留时间[min]	峰面积[mAU.s]
1	3.505	124.16	5.324	56.92
2	3.505	125.08	5.323	57.40
3	3.504	124.86	5.320	57.25
4	3.510	125.13	5.325	57.03
5	3.514	125.05	5.329	57.04
RSD%	0.12%	0.32%	0.06%	0.34%

3.3.2 卡立普多重复性

浓度为 50 mg/L 卡立普多标准溶液，连续进样 5 针，峰面积和保留时间 RSD 结果如下：

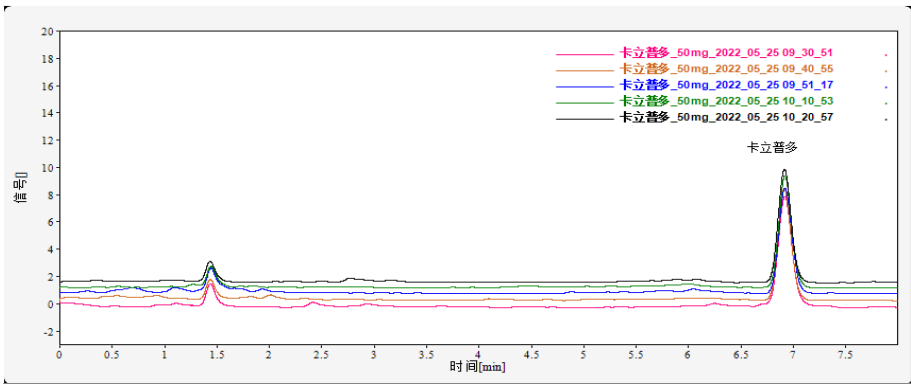


图 3-6 卡立普多标准品谱图叠加重复性

表 3-6 重复性参数表（n=5）		
序号	保留时间[min]	峰面积[mAU.s]
1	6.918	70.42
2	6.912	70.64
3	6.919	70.20
4	6.918	70.41
5	6.915	70.28
RSD%	0.04%	0.24%

3.4 最小检测浓度 LOD/LOQ

在溴米索伐、卡溴脲检测的色谱条件下，仪器的基线噪音为 0.0193 mAU，S/N=3，10mg/L 溴米索伐、卡溴脲标准品溶液峰高为 21.356 mAU、7.456 mAU（图 3-7）；

在卡立普多检测的色谱条件下，仪器的基线噪音为 0.0185 mAU，S/N=3，50 mg/L 卡立普多标准品溶液峰高为 8.181 mAU（图 3-8）；

根据公式计算溴米索伐、卡溴脲仪器检出限、定量限和方法检出限、定量限，结果如下：

表 3-7 检出限、定量限

化合物名称	仪器检出限 LOD	仪器定量限 LOQ	方法检出限 LOD	方法定量限 LOQ	标准要求	
					方法 检出限	方法 定量限
溴米索伐 (10 mg/L)	0.027 mg/L	0.090 mg/L	0.27 mg/kg	0.90 mg/kg	1 mg/kg	5 mg/kg
卡溴脲 (10 mg/L)	0.078 mg/L	0.26 mg/L	0.78 mg/kg	2.59 mg/kg	1 mg/kg	5 mg/kg
卡立普多 (50 mg/L)	0.34 mg/kg	1.13 mg/kg	3.39 mg/kg	11.31 mg/kg	10 mg/kg	20 mg/kg

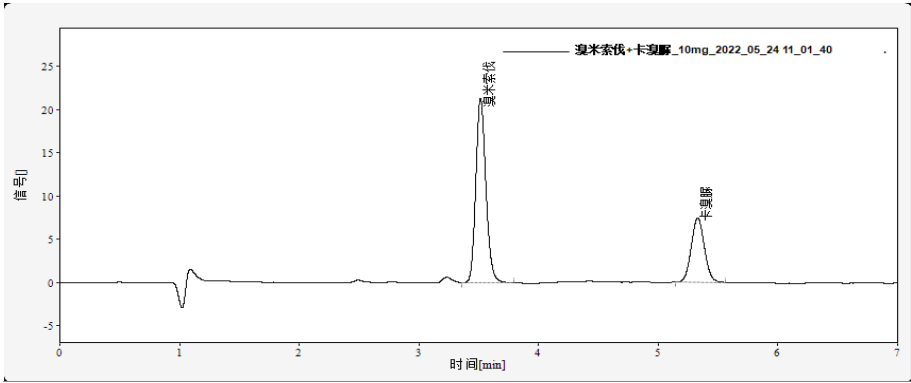


图 3-7 10mg/L 溴米索伐、卡溴脲标准溶液色谱图

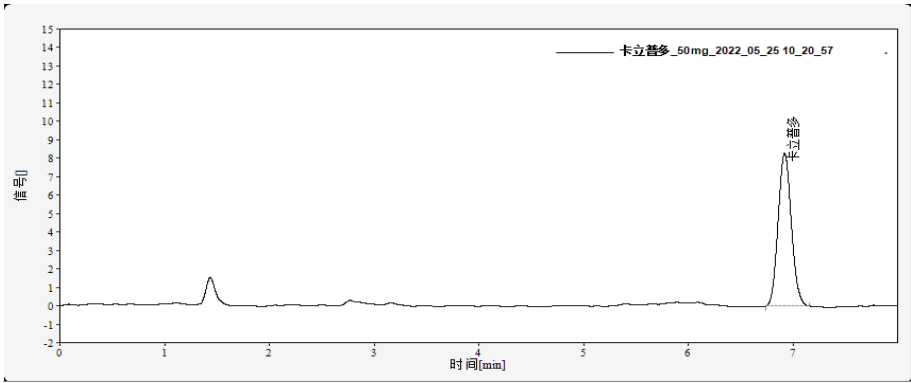


图 3-8 50mg/L 卡立普多标准溶液色谱图

3.5 实际样品分析——护手霜样品

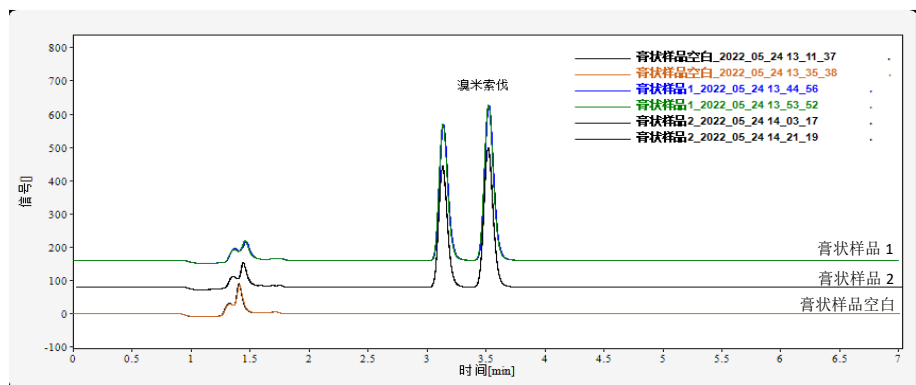


图 3-9 护手霜中溴米索伐、卡溴脲分析色谱图

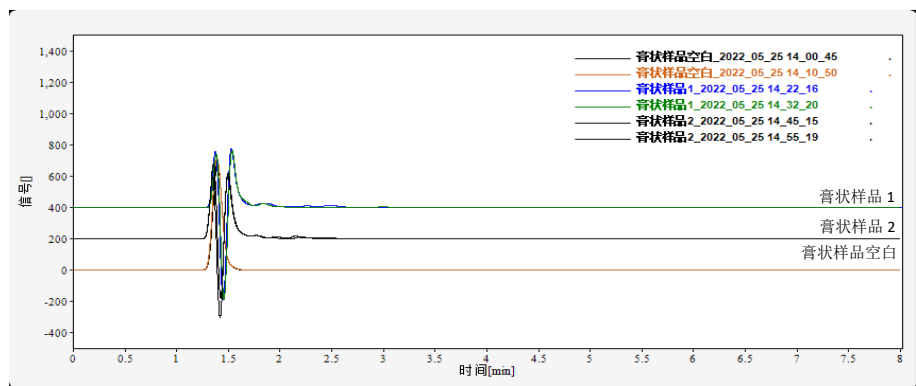


图 3-10 护手霜中卡立普多分析色谱图

根据外标法计算样品中溴米索伐、卡溴脲、卡立普多含量如下：

表 3-8 S 护手霜中溴米索伐、卡溴脲、卡立普多含量结果表

样品名称	取样量(g)	化合物名称	峰面积[mAU.s]	含量(%)
护手霜	1.0890	溴米索伐	2572.016	0.19
		卡溴脲	未检出	未检出
		卡立普多	未检出	未检出
	1.0010	溴米索伐	2311.245	0.19
		卡溴脲	未检出	未检出
		卡立普多	未检出	未检出

4. 结论

综上所述，依利特 5100 高效液相色谱系统和 Supersil ODS2, 5 μm 粒径色谱柱，可以满足 GB/T 40899-2021《化妆品中禁用物质溴米索伐、卡溴脲、卡立普多的测定 高效液相色谱法》标准方法中溴米索伐、卡溴脲、卡立普多的含量测定要求。

5. 参考资料

GB/T 40899-2021《化妆品中禁用物质溴米索伐、卡溴脲、卡立普多的测定 高效液相色谱法》

6. 备注

流动相配置时，水和乙腈过滤后按体积混匀、超声脱气，若果先按体积混匀，在过滤会产生大量气泡，影响过滤效果，且气泡容易被吸入真空泵中；

处理膏状样品时，样品称量后不易转移至指定容器中，可将称量纸一同放入，空白对照中需放入相同尺寸的称量纸以去除称量纸带来的干扰因素；

氮吹样品时，应防止由于氮气流量过大而造成的液体飞溅；

蒸发光检测器使用后，需在停止流速后，保持 20-30min 氮气流量清洁检测器。



走进依利特
www.eliteHPLC.com

来到依利特
大连公司
中国·辽宁·大连市高新技术产业园区七贤岭学子街2号
苏州公司
中国·江苏·苏州工业园区金鸡湖大道99号苏州纳米城西北区14栋501

了解依利特
销售服务免费热线：400-66-35483 转 3
(非工作时间请拨打13604289881)

尊享依利特
售后服务免费专线：400-66-35483 转1(仪器)/ 转2(耗材)
(非工作时间请拨打13604289881)

分享依利特



抖音官方账号



微信售后小程序



依利特视频号



依利特服务号



依利特订阅号