附件 3

牙膏中甲醇测定方法

Determination of Methanol in Toothpaste

1 范围

本方法规定了气相色谱法测定牙膏中甲醇的含量。

本方法适用于牙膏中甲醇含量的测定。

2 方法提要

样品在经过气-液平衡或直接提取后，采用气相色谱分离，氢火焰离子化检测器检测，根据保留时间定性，峰面积定量，以标准曲线法计算含量。

本方法采用气-液平衡法，取样量为1 g时，检出浓度20 mg/kg，最低定量浓度80mg/kg；采用直接法，取样量为2 g时，检出浓度25 mg/kg，最低定量浓度100 mg/kg。

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/T6682规定的一级水。

3.1 高纯氮（99.999%）

3.2 高纯氢（99.999%）

3.3 无油压缩空气，经装5 Å分子筛的净化管净化。

3.4 无甲醇乙醇（色谱纯）：取 1.0 μL注入色谱仪，应无杂峰出现，无甲醇检出。

3.5 75%乙醇：取无甲醇乙醇（3.4）75 mL，用水稀释至100 mL。

3.6 甲醇（标准品，纯度 ≥99.8%） 。

4 仪器和设备

4.1 气相色谱仪，配有氢火焰离子化检测器（FID）。

4.2 微量进样器或自动进样装置。

4.3 顶空进样器。

4.4 顶空瓶：20 mL。

4.5 天平。

5 分析步骤

5.1 标准系列溶液的制备

5.1.1 甲醇标准溶液

称取甲醇标准品（3.6）1 g（精确到0.0001 g）置于100 mL容量瓶中，用无甲醇乙醇（3.4）定容，得10 g/L甲醇标准溶液。

5.1.2 气-液平衡法标准系列溶液

取甲醇标准溶液（5.1.1）0.10、0.20、0.50、1.0、2.0、4.0 mL于10 mL容量瓶中，用无甲醇乙醇（3.4）定容，配制成 0.10、0.20、0.50、1.0、2.0、4.0 g/L的标准系列溶液，取标准系列溶液各1.0 mL分别置于顶空瓶中，加75%乙醇（3.5）10.0 mL，顶空盖密封，摇匀，备用。

5.1.3 直接法标准系列溶液

取甲醇标准溶液（5.1.1）0.10、0.25、0.50、1.0、2.0 mL于50 mL容量瓶中，用无甲醇乙醇（3.4）定容，配制成0.02、0.05、0.10、0.20、0.4 g/L的标准系列溶液，摇匀，备用。

5.2 样品处理

5.2.1 气-液平衡法

称取样品1 g（精确到0.001 g）于顶空瓶（4.4）中，加 75%乙醇（3.5）10.0 mL，密封振摇，作为样品溶液。

5.2.2 直接法

称取样品2 g（精确到0.001 g）于刻度比色管中，加水2 mL，涡旋至样品溶散，加入无甲醇乙醇（3.4）至10 mL刻度，振摇，涡旋混匀，超声提取15 min，5000 rpm离心10 min，取上清液0.45 μm滤膜过滤，作为样品溶液。

5.3 仪器参考条件

5.3.1 顶空条件

a） 气化室温度：70 ℃；

b） 气液平衡时间：20 min；

c） 进样时间：0.03 min（1.2 mL，根据气相色谱状况优化选择）；

d） 传输线温度：100℃。

5.3.2 色谱条件

a） 色谱柱：DB-WAXETR毛细管色谱柱（30 m × 0.32 mm × 1.00 µm），或等效色谱柱；

b） 载气流速：1.0 mL/min；

c） 进样量：1 µL（直接法）；

d） 升温程序：50 ℃120 ℃（1 min）230 ℃（8 min）；

e） 进样方式：分流进样，分流比：20:1（气-液平衡法）；50:1（直接法）；

f） 进样口温度：230 ℃；

g） 检测器温度：250 ℃；

h） 高纯氢气流量 40 mL /min；

i） 高纯空气流量 400 mL /min。

5.4 测定

5.4.1 标准曲线测定

根据样品性质，选择5.1项下相应标准系列溶液，注入气相色谱仪，按5.3气相条件测定，记录峰面积，以峰面积-浓度（g/L）作图，得到标准曲线。

5.4.2 样品测定

按5.2项下相应方法处理取得待测样品溶液，注入气相色谱仪，按5.3气相条件测定，根据保留时间定性，峰面积定量，根据标准曲线得到样品待测溶液中甲醇的质量浓度，按“6”计算样品中甲醇的含量。

6 分析结果的表述

6.1 计算

  **

式中： *ω* —— 样品中甲醇的质量分数，mg/kg；

*ρ* —— 测试溶液中甲醇的质量浓度，g/L；

*V* —— 样品定容体积，mL；

*m* —— 样品取样量，g。

计算结果保留整数位。

在重复性条件下获得的两次独立测试结果的绝对值不得超过算术平均值的15%。

6.2 回收率和精密度

气-液平衡法在0.1 g/L~4.0 g/L浓度范围内，高低两点回收率为85%~115%，RSD≤5%。

直接法在0.02 g/L~0.4 g/L浓度范围内，高低两点回收率为85%~115%，RSD≤5%。

7 图谱

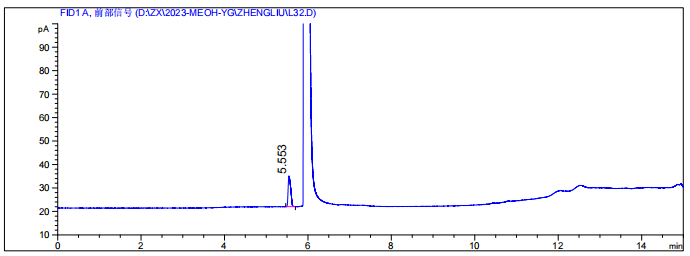


图 1 标准溶液色谱图

牙膏中甲醇的测定

起草说明

为加强牙膏的监督管理，进一步提高牙膏使用安全性，中国食品药品检定研究院组织开展了《牙膏中甲醇的测定》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，遵循先进性、科学性、合理性和可操作性的原则。在保证先进性和科学性的基础上，尽量采用目前化妆品实验室普遍具有的分析仪器与耗材，以便于方法的推广、执行；同时，方法条理清晰，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

化妆品标准专家委员会于2023年9月委托北京市药品检验研究院（以下简称“北京院”）开展甲醇检验方法修订。该项目拟将《化妆品安全技术规范》（2015年版）第四章2.22甲醇检测方法的适用范围扩展到牙膏。

2023年9月上旬，通过查阅文献资料，对规范中甲醇测定方法进行比较、论证，通过组织前期研究、试验，考察不同原料的牙膏基质、不同的样品处理方法对甲醇测定的影响，优化检测条件，确定牙膏中甲醇的测定方法，并起草方法确认与验证方案，召开方法验证工作启动会与协调会。

2023年9月中旬至10月中旬，依照制定的工作实施方案，起草单位开展实验室内方法确认，3家验证单位开展实验室间方法验证。10月17日，北京院参加中检院组织的标准修订工作中期推进会，汇报验证工作进展与结果，化妆品及牙膏领域专家提出技术指导建议。10月下旬，根据专家建议，4家单位对方法验证工作进行补充、完善，就关键技术问题进行最终探讨与敲定。10月底，北京院汇总、统计4家单位方法学验证结果，最终形成《牙膏中甲醇的测定》检测方法草案与验证报告。

三、与我国已有相关标准的关系

《化妆品监督管理条例》中规定牙膏参照有关普通化妆品的规定进行管理。国内现行的化妆品中甲醇测定标准为《化妆品安全技术规范》（2015年版）第四章2.22甲醇，但适用范围仅为化妆品，未涵盖牙膏。国内与牙膏产品及其原料相关的国家标准、企业标准及行业标准众多，但均不涉及甲醇项目的检测。因此，亟须制定适用于牙膏基质的甲醇检测方法。

本方法以化妆品规范中甲醇检测方法为基础，结合牙膏样品的原料特点与基质特性进行深入研究，旨在将规范中原方法的适用范围扩展到牙膏，实现牙膏中甲醇的准确检测，为牙膏的上市前备案及上市后监管提供有力的检测技术支撑。

四、国际相关标准情况

目前国外未见公开发布的相关标准。

五、与《规范》中原方法的对比情况

《化妆品安全技术规范》中的原方法，即第四章2.22甲醇，共包含2个方法。其中，第一法为气相色谱法，采用毛细管色谱柱测定，适用范围为化妆品，第二法为气相色谱法，采用填充柱测定，适用范围为含乙醇或异丙醇的化妆品。

本方法将原方法适用范围由化妆品扩展到牙膏。删去原方法中的第二法（填充柱）；第一法保留气-液平衡法和直接法2种样品处理方法，删除蒸馏法，并根据牙膏原料、基质特性，对原方法进行修订、完善，以保证结果测定的准确性。同时，完善了原方法中对甲醇标准品纯度要求、测定结果有效数字修约要求等描述。

六、实验室验证情况

北京院进行实验室内部方法确认，通过了第一法（含气-液平衡法、直接法与蒸馏法3种样品处理方法）的方法学实验。选取3种无本底值的代表性牙膏样品基质进行方法确认，确认指标包括方法特异性、线性及线性范围、检出限和定量下限、精密度、准确度和稳定性，另选7种实际样品进行检测并做加标实验。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。

重庆市食品药品检验检测研究院、浙江省食品药品检验研究院和天津市药品检验研究院进行实验室间方法验证，通过了第一法的方法学实验。选取3种无本底值的代表性牙膏样品基质进行方法验证，验证指标包括方法特异性、线性及线性范围、检出限和定量下限、精密度和准确度，另选7种实际样品进行检测并做加标实验。结果表明，该方法（含3种样品处理方法）线性良好，相关系数均大于0.999。检出浓度、最低定量浓度均能满足拟定方法的灵敏度要求。精密度RSD值小于5%，满足拟定方法的精密度要求。回收率均值在85.4% ~ 114.0%，RSD值小于5%，满足拟定方法的准确性及重复性要求。4家单位的7种实际样品加标回收率RSD值均小于10%，满足拟定方法平行样品测定偏差要求。

方法验证数据结果详见**方法验证报告**。

七、其他需说明的问题

（一）关于体例

本方法体例参照《化妆品安全技术规范》中理化检验方法的体例要求，在《化妆品安全技术规范》（2015年版）第四章2.22甲醇的检测方法基础上进行补充与调整。

（二）关于检测方法的确定和验证

1. 关于删除化妆品规范中原方法第二法的理由。

经调研、论证，认为牙膏中甲醇的测定可不考虑化妆品规范第四章2.22第二法，原因如下：一是，毛细管柱各项性能均优于填充柱。二是，牙膏中其他涉及气相色谱法的项目，基本均采用毛细管柱。三是，2015年版化妆品规范中所有涉及气相色谱法的项目，除甲醇外均采用毛细管柱。结合第二、三点，认为毛细管柱在化妆品及牙膏检测领域应用普遍，可满足日常检验需求。四是，第一法适用范围是化妆品，第二法是含乙醇或异丙醇的化妆品，第一法可完全覆盖第二法。综上，认为制定牙膏中甲醇检测方法时，采用第一法即可。

2. 关于删除化妆品规范中原方法第一法 蒸馏法的理由。

蒸馏法在牙膏测定中存在技术问题：一是，操作较复杂，实验效率低。二是，因牙膏中添加发泡剂（表面活性剂），蒸馏法加水、加热过程中，多数样品均出现明显起泡现象，个别样品甚至暴沸、喷出，影响测定准确性，可能造成含量偏低。三是，为保证检验结果准确性，需对蒸馏全过程进行较好的条件控制，对实验者要求较高。因此，虽然该方法顺利通过各项方法学验证，但适用性不如另外2种样品处理方法，本次修订不将其作为牙膏中甲醇的测定方法予以推荐。

3. 关于本方法保留的2种样品处理方法的补充说明。

本方法参照2015年版规范第四章2.22第一法，规定了采用气相色谱法、毛细管色谱柱测定牙膏中的甲醇，包含气-液平衡法和直接法2种样品处理方法，2种方法各项指标均通过方法学验证。

（1）气-液平衡法：

结合专家建议，重点考察了该方法的基质效应影响。一是，4家单位分别采用3个代表性牙膏基质，考察了该方法低、中、高浓度水平的加标回收率，另取7个实验样品进行限值附近浓度加标回收试验，采用溶剂标准曲线带入计算，回收率结果均能满足85%~115%要求。二是，北京院与天津院分别制备了3个牙膏基质加标曲线，并与溶剂标准曲线进行比较，结果表明，两条曲线含量计算结果偏差基本满足要求，但采用基质曲线测定时，个别样品低浓度加标回收率低于80%。综上，认为牙膏基质不影响甲醇的准确定量，保留原方法，即溶剂标准曲线定量方式。

（2）直接法：

化妆品规范原方法中，直接法采用无甲醇乙醇提取样品中的甲醇，但对牙膏样品而言，乙醇无法溶散膏体基质，不利于甲醇的充分提取。因此，本方法在规范方法基础上进行调整，将样品处理过程改为先加少量水溶散牙膏基质，再加无甲醇乙醇提取。修改后的方法经4家单位验证，各项指标均能满足方法学验证要求；另以1批阳性样品为研究对象，对比2种方法的提取效果，4家单位研究结果表明，修改后的方法测定的甲醇含量总体高于原方法，数值较为稳定，且与气-液平衡法测定结果相当，具有更好的提取效果。建议针对牙膏基质，修改直接法样品处理方法。

另，直接法进入气相色谱中的基质更为复杂，长期使用对仪器（特别是进样部分）、色谱柱的污染及损伤较大，使用时应关注。