

日化香精中甲醛含量的超高效液相色谱分析

康维君¹, 庄伟强¹, 黄健¹, 茅富燕¹, 乐之歆¹, 胡坪²

(1. 爱普香料集团股份有限公司, 上海 201809; 2. 华东理工大学 化学与分子工程学院, 上海 200237)

摘要:建立了一种测定日化香精中甲醛含量的超高效液相色谱(UPLC)分析方法。香精中的甲醛以 2,4-二硝基苯肼作为衍生化试剂进行反应后,直接用 UPLC 进行分析。采用 Agilent ZORBAX Eclipse Plus C₁₈ 色谱柱(2.1 mm × 100 mm, 1.8 μm)分离;以水-乙腈溶液(体积比为 60:40)为流动相进行等梯度洗脱,流速为 0.3 mL/min;检测波长为 352 nm,外标法定量。甲醛在 0.1~10 mg/L 范围内具有良好的线性,检出限为 0.03 mg/L,加标回收率为 96.3%~104.1%,RSD 为 0.2%~1.4% (n=3)。将该方法应用于 10 批日化香精中甲醛含量的测定,结果检出 5 批日化香精中含有甲醛,但其含量远低于《化妆品卫生规范》中甲醛的使用限量。

关键词:日化香精;甲醛;超高效液相色谱法;衍生化

中图分类号:TQ655

文献标识码:A

文章编号:1001-1803(2017)02-0114-04

DOI:10.13218/j.cnki.csdc.2017.02.011

Determination of formaldehyde in fragrance for household and personal products by ultra-high performance liquid chromatography

KANG Wei-jun¹, ZHUANG Wei-qiang¹, HUANG Jian¹, MAO Fu-yan¹, LE Zhi-xin¹, HU Ping²

(1. Apple Flavor & Fragrance Group Co., LTD., Shanghai 201809, China;

2. School of Chemistry and Molecular Engineering, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China)

Abstract: An ultra-high performance liquid chromatography (UPLC) method was established for determination of formaldehyde in fragrance for household and personal products. After derived with 2,4-dinitrophenyl hydrazine (DNPH), the formaldehyde in the fragrance was determined by UPLC. The separation was performed on an Agilent ZORBAX Eclipse Plus C₁₈ column (2.1 mm × 100 mm, 1.8 μm). The mobile phase was consisted of acetonitrile and water (volume ratio of 60:40) with a flow rate of 0.3 mL/min. The wavelength of UV detector was set at 352 nm. A good linearity of formaldehyde in the range of 0.1~10 mg/L is obtained and the detection limit is about 0.03 mg/L. The spiked recoveries are ranged within 96.3%~104.1%, with relative standard deviations of 0.2%~1.4% (n=3). 10 batches of fragrance for household and personal products were determined using the established method and five batches are found containing formaldehyde. However, the content of formaldehyde in the samples is much lower than the limit specified by *Hygienic Standard for Cosmetics*.

Key words: fragrance for household and personal products; formaldehyde; ultra-high performance liquid chromatography; derivatization

甲醛作为一种廉价易得的杀菌防腐剂常被添加于香波、沐浴露等化妆品中,然而它对人体造成危害,使人产生皮肤过敏、咳嗽、多痰、失眠、恶心、头痛等症状。我国《化妆品卫生规范》中将甲醛列为限用物质,

作为防腐剂使用时需要严格控制添加量,其最终用量不得大于 0.2%^[1,2]。日化香精作为化妆品香味的主要来源之一,在配制过程中一般不会添加甲醛,这是因为甲醛易与香精中其他成分发生反应,导致原有的香

收稿日期:2016-08-16;修回日期:2017-01-21

基金项目:上海市香精香料及化妆品协同创新中心资助项目(1021ZK162001)

作者简介:康维君(1987-),男,上海人,工程师,电话:(021)59940388。

通讯联系人:胡坪,教授,博士,电话:(021)64252844, E-mail:Huping@ecust.edu.cn。

气发生改变。然而,日化香精所使用的工业原料以及天然产物中均可能带入一定量的甲醛,因此有必要建立一种香精样品中甲醛含量的测定方法。

常见的甲醛分析方法有分光光度法^[3,4]、荧光检测法^[5]、气相色谱法^[6]和高效液相色谱法^[7,8]等,其中高效液相色谱法由于具有分析效率高,不易受样品颜色和基质干扰等优点,应用日益广泛。甲醛一般需经衍生化后才能利用高效色谱法进行分析,最常使用的衍生化试剂是2,4-二硝基苯肼,甲醛与2,4-二硝基苯肼反应生成的2,4-二硝基苯腙适合用反相色谱分离和紫外检测器检测。

日化香精样品中常含有大量的醛类香气成分,其中大多会与2,4-二硝基苯肼反应,因此测定过程中需要添加更多的衍生化试剂,由此引入的杂质或生成的多种衍生化产物对样品的分离提出了更高的要求。为此,本研究采用分离效率更高、分析速度更快的超高效液相色谱(UPLC)对甲醛的衍生化产物进行分析。通过对衍生化方法、UPLC分析条件进行优化,以期建立一种日化香精中甲醛含量的测定方法,为香精产品中甲醛含量的质量控制提供参考。

1 实验部分

1.1 主要试剂与仪器

乙腈、甲醇,色谱纯,美国 Merck 公司;磷酸(质量分数 85%)、甲醛水溶液(质量分数 37%~40%)、2,4-二硝基苯肼,分析纯,上海凌峰化学试剂有限公司;10种常用的日化香精,来源于本公司内部品控样品。Agilent 1290 Infinity series 超高效液相色谱,美国 Agilent 公司;AB204-N 电子天平,瑞士 Mettler Toledo 公司;超纯水由 Ultra clear 纯水机制得,德国 Siemens 公司。

1.2 溶液的配制

衍生化试剂的配制:称取 5 g 的 2,4-二硝基苯肼于 1 L 棕色容量瓶中,加入 6 mL 磷酸,用乙腈定容至刻度,配制成质量浓度为 5.0 g/L 的 2,4-二硝基苯肼衍生化试剂。

标准溶液的配制:取质量分数为 37%~40% 的甲醛水溶液 2.6 mL,用水稀释至 1 L,碘量法标定甲醛浓度,用 10% 甲醇溶液将甲醛标准溶液稀释至 100 mg/L,置冰箱内保存。使用时分别取适量的 100 mg/L 甲醛标准溶液,用 10% 甲醇溶液稀释并定容,配制成质量浓度分别为 0.1, 0.5, 1.0, 5.0 和 10.0 mg/L 的甲醛标准溶液,待用。

1.3 UPLC 条件

色谱柱为 Agilent ZORBAX Eclipse Plus C₁₈ (2.1 mm × 100 mm, 1.8 μm);柱温 30 °C;流动相为水-乙腈溶液(体积比为 60:40),等梯度洗脱;流速 0.3 mL/min;检测波长 352 nm;进样量 1.0 μL。

1.4 样品预处理和衍生化方法

精密称取 1.0 g 香精样品于 25 mL 容量瓶中,加入乙腈稀释并定容,即得样品溶液。取样品溶液和甲醛标准溶液 1 mL 于 10 mL 容量瓶中,加入 4 mL 衍生化试剂,用乙腈溶液定容,室温静置 15 min 后,用微孔滤膜(0.22 μm)过滤,取滤液进行 UPLC 分析。

2 结果与讨论

2.1 衍生化试剂用量的选择

甲醛分析中常用的衍生化试剂为 2,4-二硝基苯肼,它不仅会与甲醛反应,也会与其他醛类物质发生反应^[9,10]。日化香精中常常含有大量的醛类物质,因此,需添加过量的衍生化试剂才能够保证甲醛被完全衍生。为了确定衍生化试剂的用量,以总醛含量为 40%、甲醛含量为 10 mg/kg 的香精样品作为考察对象,依照 1.4 的方法,分别加入衍生化试剂(质量浓度 5 g/L) 0.2, 1, 2, 3 和 4 mL 进行衍生化实验,结果如图 1 所示。由图 1 可知,甲醛反应产物的峰面积(A)随着衍生化试剂用量的增加而增加,当添加量达到 3 mL 时,峰面积基本保持不变。为了保证方法的广泛适用性,选择 4 mL 作为衍生化试剂的添加量。

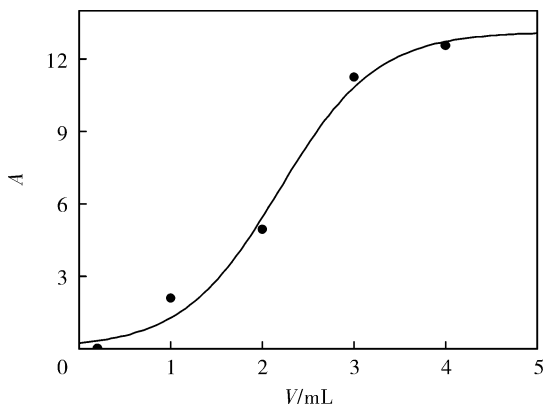


图1 甲醛衍生产物峰面积随衍生试剂用量的变化
Fig. 1 Peak areas of formaldehyde derivative vs. different derivatization reagent volumes

2.2 UPLC 流动相的选择

研究发现,反应产物 2,4-二硝基苯腙附近有一

个杂质峰会对甲醛的定量测试造成干扰,用常规的高效液相色谱难以使两者完全分离。利用 UPLC 结合等梯度洗脱,通过优化流动相的种类和配比,使产物峰与杂质峰得到较好分离,且样品分析可在 15 min 内完成,该流动相为水-乙腈溶液(体积比为 60:40)。

2.3 线性范围、检出限与定量限

准确吸取质量浓度为 0.1, 0.5, 1.0, 5.0 和 10.0 mg/L 的甲醛标准溶液,按 1.4 的方法进行衍生化反应,分别进样,甲醛标准溶液的色谱图见图 2。

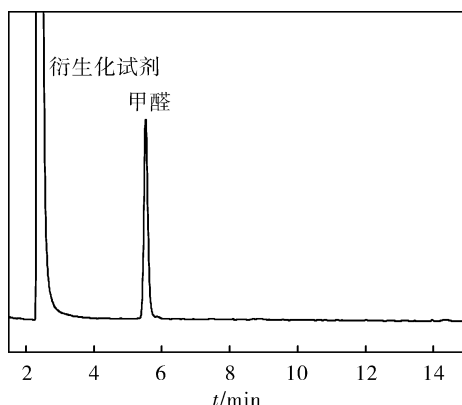


图 2 甲醛标准溶液衍生产物的超高效液相色谱图

Fig. 2 UPLC chromatogram of standard solution of formaldehyde derivatives

以色谱峰面积对甲醛质量浓度作图,得到标准曲线为 $y = 12.9044x + 0.6499$, $R^2 = 0.9993$,线性关系良好。以 3 倍信噪比($S/N = 3$)计算得到甲醛的检出限为 0.03 mg/L,以 10 倍信噪比($S/N = 10$)计算得到甲醛的定量限为 0.10 mg/L。

2.4 方法的稳定性、重复性和回收率

将质量浓度为 0.5 mg/L 的甲醛标准溶液衍生化后,分别在 0, 2, 4, 12 和 24 h 时进样,以考察甲醛衍生化产物的稳定性。结果表明,样品在不同时间点下测定的峰面积的 RSD 为 1.6%,反应产物 2,4-二硝基苯胺在 24 h 内稳定。

取含甲醛的日化香精一批,依照 1.4 样品处理方法平行制备 6 份样品,分别进样测定甲醛的含量,考察方法的重复性。结果显示,6 次测定的平均值为 4.68 mg/kg, RSD 为 2.6%。以上测定结果表明本方法具有良好的重复性。

精密称取重复性试验用样品 1.00 g,分别按 5, 10 和 20 mg/kg 三个水平添加甲醛标准溶液。每个添加水平下,依照 1.4 样品处理方法平行制备 3 份样品,测定该样品的加标回收率,结果见表 1。由表 1 可知,甲醛的平均回收率为 96.3% ~ 104.1%,方法准确可靠,适合香精样品中甲醛的分析。

表 1 加标回收率测定结果

Tab. 1 Results of spiked recovery tests

样品质量分数/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	添加质量分数/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	实测质量分数/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)			平均回收 率/%	精密度($n=3$) RSD/%
		1	2	3		
4.68	5.00	9.50	9.50	9.48	96.3	0.2
4.68	10.00	14.53	14.30	14.18	96.6	1.2
4.68	20.00	25.16	25.63	25.78	104.1	1.4

2.5 实际样品的测定

使用已建立的方法测定 10 批次不同品种的日化

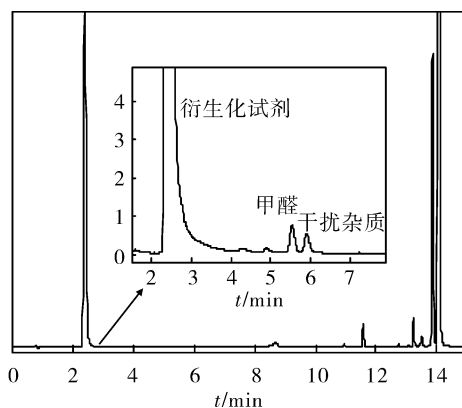


图 3 香精样品衍生产物的超高效液相色谱图

Fig. 3 UPLC chromatogram of formaldehyde derivatives in fragrance for household and personal products

香精样品,典型香精样品的 UPLC 色谱图如图 3 所示。结果表明,有 5 批样品中测出了微量的甲醛成分,质量分数为 3.75 ~ 7.22 mg/kg,该值远低于《化妆品卫生规范》中甲醛的使用限量(0.2%)。

3 结论

本文采用 2,4-二硝基苯胺衍生,超高效液相色谱方法测定日化香精样品中甲醛的含量。为使衍生化方法适用于日化香精产品中甲醛的测定,优化了 2,4-二硝基苯胺衍生化试剂的添加量和超高效液相色谱的分离条件。方法学验证结果表明,该方法准确、快速、简便,可用于日化香精中甲醛含量的测定。

参考文献:

[1] 陈立军,张心亚,黄洪,等.化妆品中甲醛含量的测定方法[J].香料香精化妆品,2005(5):27-30.

- [2] 秦卫善,苗晨琳,王晓哈,等. 日化产品中甲醛的危害及分析方法研究进展[J]. 日用化学品科学,2016,39(4):30-33.
- [3] 王敏荣,李松青. 分光光度法测定化妆品中甲醛[J]. 环境与健康杂志,1994(5):228-229.
- [4] 石华为,闫士翠,董凤婵. 香料叶醇及叶醇酯中甲醛含量的检测[C]//第九届中国香料香精学术研讨会论文集. 北京:中国香料香精化妆品工业协会,2012:110-113.
- [5] 邵仕萍,相大鹏,李华斌,等. 乙酰丙酮衍生化高效液相色谱-荧光检测法测定食品中的甲醛[J]. 食品科学,2015,36(16):241-245.
- [6] 黄晓兰,黄芳,林晓珊,等. 气相色谱质谱法测定食品中的甲醛[J]. 分析化学,2004,32(12):1617-1620.
- [7] 陈笑梅,施旭霞,朱卫建,等. 高效液相色谱直接测定甲醛衍生物反应条件的研究[J]. 分析化学,2004,32(11):1489-1491.
- [8] 吴新华,朱瑞芝,陆舍铭,等. 高效液相色谱法测定香精中甲醛的含量[J]. 化学试剂,2010,32(9):817-818.
- [9] 姜获,侯晓虹,康利荣. 2,4-二硝基苯胍吸收液法测定空气中醛、酮类化合物[J]. 环境保护科学,2010,36(5):56-58.
- [10] 董树清,王利涛,张霞,等. 高效液相色谱法测定地沟油中脂肪醛类物质[J]. 食品工业科技,2013,34(11):313-316.

(编辑:周婷)

(上接第72页)

- [9] Wasserscheid P, van Hal R, Bösmann A. 1-n-Butyl-3-methylimidazolium ([bmim]) octylsulfate: an even 'greener' ionic liquid [J]. Green Chem, 2002, 4(4):400-404.
- [10] Jiao Jingjing, Dong Bin, Zhang Huina, et al. Aggregation behaviors of dodecyl sulfate-based anionic surface active ionic liquids in water [J]. J Phys Chem B, 2011, 116:958-965.
- [11] 焦静静. 新型离子液体型表面活性剂在水溶液中的胶束化行为[D]. 济南:山东大学,2013.
- [12] 程妮. 表面活性离子液体构筑的分子有序聚集体[D]. 济南:山东大学,2015.
- [13] Liu Xuefeng, Dong Lili, Fang Yun. A novel zwitterionic imidazolium-based ionic liquid surfactant: 1-carboxymethyl-3-dodecylimidazolium inner salt [J]. J Surfact Deterg, 2011, 14:497-504.
- [14] 胡洁,林泽云,黄以军. 1-(2-羟丙基磺基)-3-十二烷基咪唑内盐的合成与性能[J]. 日用化学工业,2012,42(10):19-23.
- [15] Yoshizawa M, Hirao M, Ito - Akita K, et al. Ion conduction in zwitterionic-type molten salts and their polymers [J]. J Mater Chem, 2001, 11(4):1057-1062.
- [16] 刘国宇,顾大明,刘海燕,等. 系列离子液体型 Gemini 咪唑表面活性剂在水溶液中的分子动力学模拟[J]. 化学学报,2012,70(1):6-14.
- [17] Chang Tao, He Leqin, Zhang Xiaojing, et al. Brønsted acid surfactant-combined dicationic ionic liquids as green catalysts for biodiesel synthesis from free fatty acids and alcohols [J]. Chinese Journal of Catalysis, 2015, 36:982-986.
- [18] 刘靖平,任周阳,赵元鸿,等. 几种新型离子液体的合成[J]. 有机合成,2004,24(9):1091-1094.
- [19] 刘国宇,顾大明,刘海燕,等. 离子液体双子咪唑表面活性剂的合成[J]. 哈尔滨工业大学学报,2013,45(7):72-78.
- [20] 张路. 离子液体型表面活性剂的合成及性能研究[D]. 贵阳:贵州大学,2015.
- [21] 谭景林,肖梅红,文军. Bola型离子液体基有机硅表面活性剂的合成及表面活性[J]. 日用化学工业,2015,45(6):315-318.
- [22] 王军,陈翔,杨许召,等. Bola型非对称阳离子表面活性剂的合成及性能研究[J]. 日用化学工业,2014,44(12):661-665.

(编辑:曹玉英)

(上接第76页)

- [13] Cox M F, Weerasooriya U. Impact of molecular structure on the performance of methyl ester ethoxylates [J]. J Surfactants Deterg, 1998, 1(1):11-22.
- [14] Cox M F, Weerasooriya U, Filler P, et al. Methyl ester propoxylates [J]. J Surfactants Deterg, 1998, 1(2):167-175.
- [15] 李得志,孙永强,杨秀全,等. 蓖麻油酸甲酯乙氧基化物的合成及物化性能[J]. 精细石油化工,2006,23(4):54-57.
- [16] 杨澄宇,方云,陈健,等. 天然油脂一步法烷氧基化及其产物乳化性能研究[J]. 精细化工,2004,21(4):262-264,278.
- [17] 沈永安,方云,王义友,等. 环氧乙烷嵌入乙酸乙酯合成(低聚)乙二醇醚乙酸酯[J]. 精细化工,2005,22(9):712-714.
- [18] Xia Y M, Shen Y A, Ji S R, et al. One-step production of alkoxyated ethyl acetate with narrow adduct distribution [J]. J Chem Technol Biot, 2007, 82(1):47-50.
- [19] Zhang J C, Shi L, Meng Y, et al. A highly efficient layered double hydroxide catalyst for direct ethoxylation of butyl acetate to oligo-ethylene glycol butyl ether acetates [J]. Appl Organometal Chem, 2016, 30(6):451-457.
- [20] 张金昌,安维中,孟岩,等. 醋酸丁酯一步法乙氧基化合成聚乙二醇丁醚醋酸酯[J]. 日用化学品科学,2014,37(9):59-64.
- [21] 朱建民,刘兆滨,周立明,等. 一种复合金属氧化物的制备方法以及一种醇醚羧酸酯的合成方法:CN104707587A [P]. 2013-12-12.
- [22] 张金昌,石磊,郭新闻,等. 水和丙酮的介质中以十六烷基三甲基溴化铵为模板剂合成纳米空心球[J]. 日用化学工业,2015,45(4):201-205.
- [23] Mackenzie K J D, Meinhold R H, Sherriff B L, et al. ²⁷Al and ²⁵Mg solid-state magic-angle spinning nuclear magnetic resonance study of hydrotalcite and its thermal decomposition sequence [J]. J Mater Chem, 1993, 3(12):1263-1269.

(编辑:李保林)