

高效液相色谱法检测化妆品中 4 种防腐剂

刘云凤, 赵井林, 张加玲, 牛娜, 乔增杰, 王明秀
(山西医科大学 公共卫生学院, 山西 太原 030001)

摘要:建立了测定化妆品中 4 种防腐剂(脱氢乙酸、氯苯甘醚、4-羟基苯甲酸苯酯和 4-羟基苯甲酸苄酯)的高效液相色谱分析方法。采用 Diamonsil C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 以甲醇-0.1% 甲酸水溶液作为流动相进行梯度洗脱, 样品经甲醇-水超声提取 30 min 后用紫外可见可变波长检测器检测。结果表明, 4 种防腐剂在 12.5 min 内基线分离, 相关系数 $r > 0.998$, 平均回收率为 88.5% ~ 102.7%, 日内精密度 RSD < 3.1%, 日间精密度 RSD < 3.7%。该方法可用于化妆品中 4 种防腐剂的检测。

关键词:化妆品; 高效液相色谱法; 防腐剂

中图分类号: TQ658

文献标识码: A

文章编号: 1001-1803(2017)09-0532-04

DOI: 10.13218/j.cnki.csdc.2017.09.011

Determination of four kinds of preservatives in cosmetics by high performance liquid chromatography

LIU Yun-feng, ZHAO Jing-lin, ZHANG Jia-ling, NIU Na, QIAO Zeng-jie, WANG Ming-xiu

(School of Public Health, Shanxi Medical University, Taiyuan, Shanxi 030001, China)

Abstract: A method for the determination of four kinds of preservatives (dehydroacetic acid, chlorphenesin, phenyl 4-hydroxybenzoate and benzyl 4-hydroxybenzoate) in cosmetics by high performance liquid chromatography (HPLC) was established. A Diamonsil C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) was used with methanol-0.1% formic acid solution as the mobile phase under the condition of gradient elution. Samples were extracted with methanol-water solution with assistance of ultrasonic wave for 30 min, and the samples were detected by VWD detector. Results show that the four kinds of preservatives are baseline separated in 12.5 min. All correlation coefficients (r) are more than 0.998, with the average recoveries range from 88.5% to 102.7%. The intra-day precision (RSD) values are below 3.1% and inter-day precision (RSD) values are below 3.7%.

Key words: cosmetics; high performance liquid chromatography; preservative

防腐剂是化妆品添加剂中使用最为广泛的物质, 添加适量的防腐剂可防止变质, 延长保质期, 但过量添加会对人体产生一定的毒性, 因此对化妆品中防腐剂安全性的检测成为社会关注的热点问题。我国《化妆品安全技术规范》(2015 年版) 中列出了化妆品中 51 种准用防腐剂及其最大允许使用浓度和使用范围, 但是规范中仅仅推荐了部分防腐剂的检测方法。此外, 近年来国内外对化妆品中防腐剂的检测也主要集中在苯甲酸及其钠盐、对羟基苯甲酸酯类、山梨酸及其盐类等^[1-5]。对羟基苯甲酸酯类是化妆品和健康护理用品

中广泛应用的一类防腐剂, 近年来, 这类物质潜在的内分泌干扰引发了人们对其安全性的关注^[6]。尤其是 4-羟基苯甲酸苯酯和 4-羟基苯甲酸苄酯, 由于没有安全评估数据, 2014 年 1 月欧盟^[7] 规定禁止使用, 我国《化妆品安全技术规范》(2015 年版) 也将其从《化妆品卫生规范》(2007 年版) 中的限用防腐剂调整为禁用组分, 但其检测方法却鲜见报道。本文选择化妆品中常用防腐剂氯苯甘醚、脱氢乙酸以及 4-羟基苯甲酸苯酯和 4-羟基苯甲酸苄酯作为检测对象, 研究其检测方法。

收稿日期: 2017-05-10; 修回日期: 2017-08-07

基金项目: 山西医科大学青年科学基金资助项目(02201512)

作者简介: 刘云凤(1984-), 女, 山西人, 讲师, 硕士, 电话: (0351)4135167, E-mail: lyfsl@163.com。

通讯联系人: 张加玲, 教授, 硕士, 电话: (0351)4135167, E-mail: zhangjialing1961@163.com。

1 实验部分

1.1 主要试剂与仪器

氯苯甘醚、4-羟基苯甲酸苄酯, $w > 99\%$, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 4-羟基苯甲酸苯酯, $w > 99\%$, 梯希爱(上海)化成工业发展有限公司; 脱氢乙酸, $w > 98\%$, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 甲醇, 色谱纯, 德国 Merck 公司; 甲酸, 色谱纯, 天津市大茂化学试剂厂; 实验用水为娃哈哈纯净水; 4种化妆品样品, 分别编号为1#、2#、3#和4#, 购于当地超市。

L-3000 高效液相色谱仪(配紫外可见可变波长检测器), 北京普源精电科技有限公司; TU-1901 紫外可见分光光度计, 北京普析通用仪器有限责任公司。

1.2 色谱条件

色谱柱为 Diamonsil C_{18} 柱(250 mm \times 4.6 mm, 5 μm)。进样体积 20 μL 。流动相为甲醇(A)-0.1% 甲酸水溶液(B)。梯度洗脱: 0~5.2 min, 64% A; 5.3~8.4 min, 85% A; 8.5~12.5 min, 64% A。流速 1.0 mL/min。时间程序检测波长: 0~6 min, 228 nm; 6~13 min, 260 nm。柱温 30 $^{\circ}\text{C}$ 。

1.3 标准溶液配制

250 mg/L 混合标准储备液配制: 分别准确称取各对照品 62.5 mg, 用 $V(\text{甲醇}):V(\text{水})=7:3$ 的混合溶剂溶解并稀释至 250 mL。

混合标准工作液配制: 采用逐级稀释法配制质量浓度分别为 1.00, 2.50, 5.00, 10.0, 25.0, 50.0, 100 和 125 mg/L 的混合标准工作液。

1.4 样品处理

称取化妆品样品约 0.1 g(精确至 0.000 1 g)于 10 mL 具塞比色管中, 加入 $V(\text{甲醇}):V(\text{水})=7:3$ 的混合溶剂至刻度(若样品含脱氢乙酸钠, 则先加 4 mL 30% 的甲酸溶液振荡, 再加甲醇至 10 mL), 超声提取 30 min, 必要时离心(5 000 r/min)15 min。经 0.22 μm 滤膜过滤, 滤液作为待测样液备用。

2 结果与讨论

2.1 检测波长的选择

4种目标物的吸收光谱见图1。由图1可知, 脱氢乙酸和氯苯甘醚在 228 nm 处有较强吸收, 4-羟基苯甲酸苯酯和 4-羟基苯甲酸苄酯在 260 nm 处有较强

吸收, 根据各组分出峰顺序选择时间程序检测波长: 0~6 min, 228 nm; 6~13 min, 260 nm。

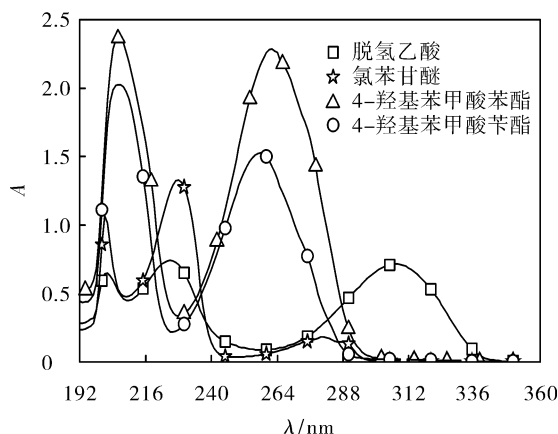


图1 4种目标物的吸收光谱图

Fig. 1 Spectrograms of four target objects

2.2 对照品溶解和提取溶剂的选择

若采用甲醇溶解各对照品, 氯苯甘醚、4-羟基苯甲酸苯酯和 4-羟基苯甲酸苄酯的色谱峰峰形较差; 若采用甲醇-水的混合溶剂溶解, 则能得到很好的峰形。为与流动相一致, 最终选择 $V(\text{甲醇}):V(\text{水})=7:3$ 的混合溶剂溶解各对照品。为保持体系一致, 用相应的溶剂提取样品。

2.3 色谱条件的选择

流动相无论是用甲醇-水还是用乙腈-水, 脱氢乙酸都会存在严重的拖尾现象, 在水中添加 0.1% 的甲酸^[8], 则色谱峰得到明显改善。采用甲醇-0.1% 甲酸体系和乙腈-0.1% 甲酸体系, 均可使 4 种组分分离, 但乙腈毒性大, 且价格较甲醇高, 所以最终选择甲醇(A)-0.1% 甲酸水溶液(B)体系作为流动相, 梯度洗脱程序: 0~5.2 min, 64% A; 5.3~8.4 min, 85% A; 8.5~12.5 min, 64% A。在选定的色谱条件下 50.0 mg/L 混合标准工作液的色谱图如图 2 所示。

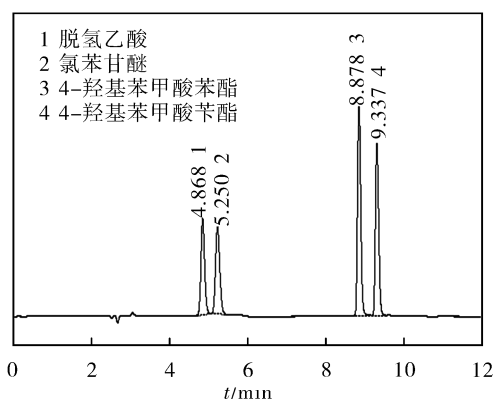


图2 50.0 mg/L 混合标准工作液的色谱图

Fig. 2 Chromatogram of 50.0 mg/L mixed standard solution

2.4 线性范围、相关系数与检出限

在选定的色谱条件下,对系列混合标准工作液进行分析,以各目标物的质量浓度(ρ)为横坐标,峰面积

(A)为纵坐标绘制标准曲线,并计算回归方程、相关系数(r)和线性范围,将混合标准工作液逐级稀释,以3倍信噪比($S/N = 3$)确定检出限(LOD),结果如表1所示。

表1 4种目标物的回归方程、相关系数、线性范围和检出限

Tab. 1 Regression equations, correlation coefficients, linear ranges and detection limits of four target objects

目标物	回归方程	r	线性范围/($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	LOD/($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)
脱氢乙酸	$A = 52.9206\rho + 123.7146$	0.9989	0.833 ~ 250	0.25
氯苯甘醚	$A = 57.9142\rho + 133.3967$	0.9988	0.833 ~ 125	0.25
4-羟基苯甲酸苯酯	$A = 107.2766\rho + 192.3123$	0.9996	0.250 ~ 125	0.075
4-羟基苯甲酸苄酯	$A = 88.4007\rho + 162.5822$	0.9994	0.250 ~ 150	0.075

2.5 回收率和精密度

向水剂类、膏霜类化妆品样品中分别加入低、高浓度水平的混合标准溶液,每个浓度水平平行配制6份,

用相应的样品处理方法处理。在选定的色谱条件下测定,日内连续分析6次,计算各组分的回收率和日内精密度,连续测定6d,计算日间精密度,结果如表2所示。

表2 回收率和精密度实验结果($n=6$)

Tab. 2 Experimental results of recovery and precision test ($n=6$)

样品类型	目标物	低浓度加标水平			高浓度加标水平		
		回收率/%	日内精密度/%	日间精密度/%	回收率/%	日内精密度/%	日间精密度/%
水剂类	脱氢乙酸	91.7	1.43	2.78	96.4	1.35	2.41
	氯苯甘醚	100.8	2.41	3.07	96.7	1.35	3.65
	4-羟基苯甲酸苯酯	90.2	0.52	1.55	93.6	2.02	2.68
	4-羟基苯甲酸苄酯	88.5	0.94	2.73	92.7	1.60	3.61
膏霜类	脱氢乙酸	101.9	2.49	1.90	102.7	1.68	1.87
	氯苯甘醚	99.7	2.94	2.71	98.5	2.77	1.81
	4-羟基苯甲酸苯酯	91.4	1.23	2.99	93.8	2.54	1.91
	4-羟基苯甲酸苄酯	94.6	3.08	1.92	97.0	1.70	2.43

2.6 实际样品测定

用建立的方法对市售的4种化妆品样品中的4种

目标物进行测定,每种化妆品样品平行测定3次,结果如表3所示。

表3 化妆品样品中4种目标物的检出情况($n=3$)

Tab. 3 Determination of four target objects in cosmetic samples ($n=3$)

编号	样品类型	$w/\%$			
		脱氢乙酸	氯苯甘醚	4-羟基苯甲酸苯酯	4-羟基苯甲酸苄酯
1#	水剂类1	—	—	—	—
2#	水剂类2	—	0.13	—	—
3#	面膜	—	—	—	—
4#	膏霜	0.12	0.27	—	—

注:“—”表示未检出。

2.7 干扰试验

考察了与文中4种目标组分结构、性质较为相似的其他常用防腐剂(苯氧乙醇、山梨酸、苯甲酸、4-羟基苯甲酸甲酯、4-羟基苯甲酸乙酯、4-羟基苯甲酸丙

酯、4-羟基苯甲酸丁酯)和禁用防腐剂(4-羟基苯甲酸异丙酯、4-羟基苯甲酸异丁酯)对目标组分的干扰情况。结果显示,目标组分氯苯甘醚、4-羟基苯甲酸苯酯与考察的其他防腐剂均可以达到基线完全分离;对于脱氢乙酸,实验中若适当提高流动相中甲醇比例,

可使脱氢乙酸与山梨酸、苯甲酸完全分离,但是脱氢乙酸与氯苯甘醚之间的分离度明显下降,综合考虑,在选定实验条件下,脱氢乙酸与山梨酸、苯甲酸的分离度为1.334;而4-羟基苯甲酸苄酯与4-羟基苯甲酸异丙酯、4-羟基苯甲酸丁酯2种异构体的分离度较差,说明该法不适宜同时检测4-羟基苯甲酸苄酯、4-羟基苯甲酸异丙酯、4-羟基苯甲酸丁酯和4-羟基苯甲酸异丁酯,样品中若有检出,需要进一步确证是否为4-羟基苯甲酸异丙酯、4-羟基苯甲酸丁酯和4-羟基苯甲酸异丁酯的干扰。

3 结论

本文建立的高效液相色谱法在12.5 min内便可检测脱氢乙酸、氯苯甘醚、4-羟基苯甲酸苄酯和4-羟基苯甲酸异丙酯4种目标组分,且各组分线性范围良好,检出限较低,准确度、精密度均较高,适用于常规化妆品中这4种物质的检测。但是如果样品中检出4-羟基苯甲酸苄酯,需进一步确证是否为4-羟基苯甲酸异丙酯、4-羟基苯甲酸丁酯和4-羟基苯甲酸异丁酯的干扰。

参考文献:

[1] 陆军, 矫筱蔓, 佟晓波, 等. 气相色谱法同时测定化妆品中15种防

腐剂[J]. 日用化学工业, 2012, 42(2): 146-149.

[2] Labat L, Kummer E, Dallet P, et al. Comparison of high-performance liquid chromatography and capillary zone electrophoresis for the determination of parabens in a cosmetic product [J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2000, 23(4): 763-769.

[3] 赵晓红, 郝增帅, 杨丽萍. 高效液相色谱法快速测定化妆品中的防腐剂[J]. 光谱实验室, 2012, 29(2): 1261-1264.

[4] Mikami E, Goto T, Ohno T, et al. Simultaneous analysis of dehydroacetic acid, benzoic acid, sorbic acid and salicylic acid in cosmetic products by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography [J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2002, 28(2): 261-267.

[5] 朱姜, 张鹏, 周元元, 等. 高效液相色谱法同时测定化妆品中防腐杀菌剂和防晒剂[J]. 日用化学工业, 2017, 47(3): 178-180.

[6] Ocaña-González J A, Bello-López M A. New developments in the extraction and determination of parabens in cosmetics and environmental samples: A review [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2015, 858: 1-15.

[7] 周荣新. 欧盟加严化妆品中防腐剂的使用[EB/OL]. (2014-10-06) [2017-05-10]. <http://www.mofcom.gov.cn/article/i/dxfw/jlyd/201410/20141000750693.shtml>.

[8] Wu T, Wang C, Wang X, et al. Simultaneous determination of 21 preservatives in cosmetics by ultra performance liquid chromatography [J]. *International Journal of Cosmetic Science*, 2008, 30: 367-372.

(编辑: 周婷)

(上接第531页)

[6] 余照权, 张涌, 刘机灵. 一种两性醋酸钠表面活性剂的合成方法: CN102503848 [P]. 2012-06-20.

[7] 李平, 郭建龙, 李栋. 月桂酰胺表面活性剂及其合成方法: CN101254441 [P]. 2008-12-05.

[8] Wechsler J R, Baker T G, Battaglini G T, et al. Substituted imidazoline reactions with chloroacetate salts: US4269730 [P]. 1981-05-26.

[9] 胡惠龄, 许虎君, 朱中卫. N-月桂酰基-N'-羟乙基乙二胺乙酸盐的合成与性能研究[J]. 日用化学工业, 2007, 37(6): 367-369.

[10] 张舜. 一种羟(胺)乙基烷基咪唑啉表面活性剂的合成方法: CN102603640 [P]. 2012-07-25.

[11] 连贵宾, 赵波, 孙新春, 等. 一种咪唑啉缓蚀剂的制备方法: CN102964306 [P]. 2013-03-13.

[12] 史晋宜, 李振铎, 钟方丽. 咪唑啉表面活性剂的合成[J]. 吉林化工学院学报, 2001, 18(4): 36-38.

[13] 张侠, 李宗石. 酰胺型两性表面活性剂的合成和性能研究[J]. 精细化工, 1993, 10(5): 11-23.

[14] 李春霞, 杜志平, 王丰收. 羧酸盐型咪唑啉磷酸酯的合成与结构表征[J]. 日用化学工业, 2007, 37(4): 223-226.

[15] 胡耿源, 周黎芳. 咪唑啉表面活性剂水解机理研究[J]. 日用化学工业, 1989(3): 1-4.

[16] 方云. 两性表面活性剂[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2001: 241-276.

[17] Desai B, Lees P, Ricca J M, et al. Higher purity imidazoline based amphoteric surfactants and processes for the preparation thereof: US5744063 [P]. 1998-04-28.

[18] 李平, 郭建龙, 李栋. 二羧基月桂酰胺表面活性剂及其合成方法: CN101254435 [P]. 2008-09-03.

[19] Keough A. Process for making amphoteric surface active agents: US2961451 [P]. 1960-11-22.

[20] Uphues G, Ploog U, Schick R, et al. Process for the production of low-viscosity storable amphoteric surfactants from imidazolines: US5569767 [P]. 1996-10-29.

[21] Ploog U, Uphues G, Nikolaus P. Process for the production of low-viscosity amphoteric surfactants: US4833253 [P]. 1989-05-23.

[22] Uphues G, Jaensch S, Ploog U, et al. Process for the production of low-viscosity imidazolium surfactants by quaternization of 1-hydroxyethyl-2-alkyl imidazolines: US5342961 [P]. 1994-08-30.

[23] 郑帼, 焦晓芳, 孙玉, 等. 一种咪唑啉两性表面活性剂的合成方法: CN106831591 [P]. 2017-06-13.

[24] 郑彤, 华慢, 黄建邦. 无盐咪唑啉两性表面活性剂的合成及性能研究[J]. 日用化学工业, 2011, 34(2): 27-29.

(编辑: 杨旭)