

超高效液相色谱法测定化妆品中 38 种准用着色剂

LC-363

摘要： 本文使用岛津超高效液相色谱仪建立化妆品中 38 种准用着色剂的测定方法。本方法参考 GB/T37545-2019《化妆品中 38 种准用着色剂 高效液相色谱法》标准中的液相色谱法，建立一针分析 38 种着色剂的定量方法；同时展示了 iPDeA 的功能在多物质分析中的应用。本实验结果显示 38 种组分的校准曲线相关系数均在 0.997 以上；对不同浓度的混合标准溶液，各平行测试 6 次，各化合物的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别为 0.02%~0.45% 和 0.14%~3.16%；并对实际样品进行测试。方法可靠，供相关人士参考。

关键词： 超高效液相色谱 准用着色剂 化妆品

技术特点：

- ❖ 应对国标 GB/T37545-2019《化妆品中 38 种准用着色剂 高效液相色谱法》
- ❖ i-PDeA II 功能可解决共流出峰问题，实现准确定量分析

着色剂，又称色素，是化妆品的一种辅助原料，通过色素的溶解或分散作用使化妆品的基质及其他原料着色、赋予化妆品一定颜色。按照来源方式，着色剂还可分为天然和合成两大类，其中合成类着色剂由于遮盖力、着色力强而广泛应用于唇膏、胭脂、指甲油等化妆品中，但很多合成着色剂来自煤焦油产物，存在一定的安全风险，具有光敏反应、生殖发育毒性，甚至少数可能诱发癌症。如今，化妆品着色剂引起的过敏性问题比之前少，主要是因为着色剂的纯度和安全性均有提高，而且不少化妆品生产企业为了回应消

费者对着色剂安全性的疑虑，选用了相对安全的准用着色剂。随着着色剂成分的安全性日益受到消费者和监管部门的重视，各国都对其进行了风险评估并做出了相应的规定和限制。

本文参考 GB/T37545-2019《化妆品中 38 种准用着色剂 高效液相色谱法》标准中的液相色谱法，使用岛津 Nexera LC-40X3 超高效液相色谱仪，建立分析化妆品中 38 种准用着色剂的定量分析方法，为相关从业人员参考使用。

■ 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津 Nexera LC-40 超高效液相色谱系统。

具体配置为：

系统控制器：CBM-40

自动进样器：SIL-40C X3

输液泵：LC-40B X3

检测器：PDA

柱温箱：CTO-40S

色谱工作站：LabSolutions Ver.5.99

1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱：Shim-pack GIST-HP 100 mm × 2.1 mm I.D., 1.9 μm C18-AQ, 岛津（上海）实验器材有限公司，PN：227-30807-02)

流动相：A-0.03M 乙酸铵 -0.075 甲酸水溶液，B- 乙腈

流速：0.3 mL/min

柱温：40°C

进样体积：2 μL

洗脱方式：梯度洗脱，B 初始 8%，见表 1

表 1 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value (B%)
2.5	Pumps	Pump B Conc.	10
6	Pumps	Pump B Conc.	20
6.1	Pumps	Pump B Conc.	30
30	Pumps	Pump B Conc.	40
31	Pumps	Pump B Conc.	60
37	Pumps	Pump B Conc.	80
39	Pumps	Pump B Conc.	90
45	Pumps	Pump B Conc.	8
48	Controller	Stop	

1.3 溶液的配制

标准储备溶液的配制

参考 GB/T37545-2019 方法，将 38 种准用着色剂进行分组，称重适量，分别溶解在水、甲醇、四氢呋喃、二甲基亚砜中，获得各浓度均为 1000 mg/L 的储备溶液。具体分组为：食品红 10、酸性紫 43、酸性橙 10、酸性蓝 62、酸性黄 1、酸性蓝 7、酸性黄 11、食品红 9、食品蓝 1、食品红 7、食品黄 3、食品红 17、食品蓝 2、食品绿 3 和食品蓝 5（总共 15 个）为第 1 组，溶解溶剂为水；溶剂红 3、溶剂黄 33、溶剂绿 3 和颜料红 4（总共 4 个）为第 2 组，溶解溶剂为四氢呋喃；颜料红 49 和颜料红 64（2 个）为第 3 组，溶解溶剂为 DMSO；其他如酸性红 88 等总共 17 个化合物为第 4 组，溶解溶剂为甲醇。

校准溶液配制

准确移取标准储备溶液各 100 μL 于 10 mL 容量瓶中，用标准溶液稀释液稀释至刻度，配制成各标准物质质量浓度均为 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的混合标准工作溶液。取适量 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 混合标准工作溶液，参考 GB/T37545-2019 方法，配制成各标准物质质量浓度分别为 1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、2.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、4.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、6.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、8.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和 10.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的系列标准工作溶液。

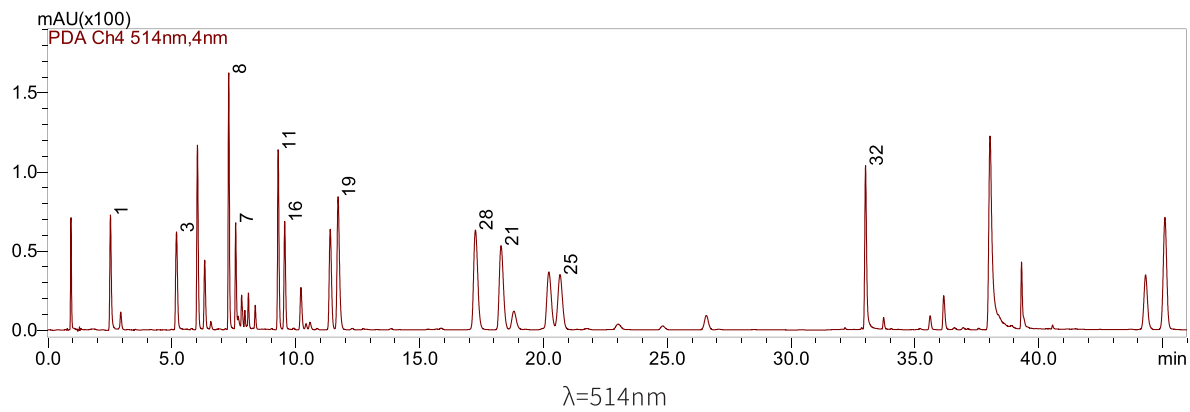
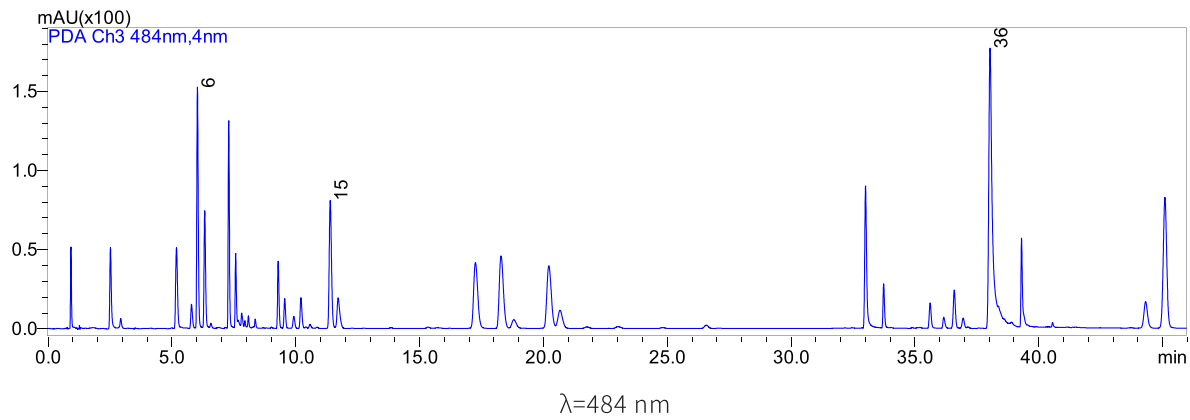
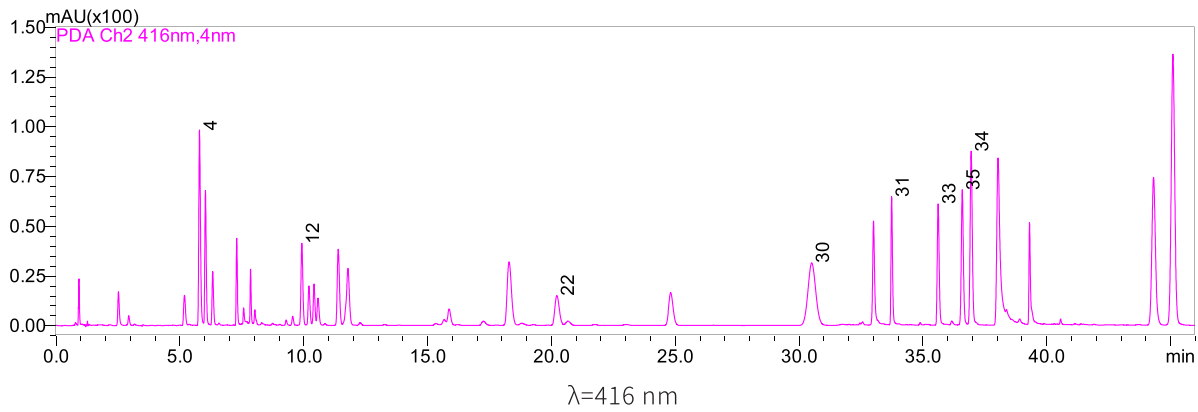
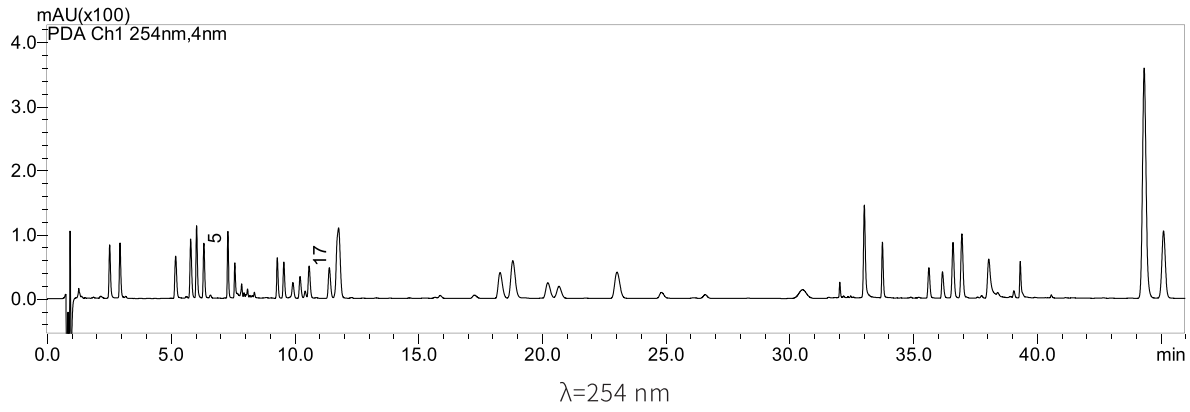
1.4 样品前处理方法

准确称取 0.2 g 样品于 15 mL 离心管中，加入 6 mL 四氢呋喃，涡旋并超声 10 min，使样品分散、提取目标物（若样品无法分散，可用 80°C 水浴适当加热 1~2 min 即可）。继续向离心管中依次加入 2 mL 甲醇和 2 mL 醋酸铵水溶液（0.5 mol/L 醋酸铵、0.5% 抗坏血酸钠），涡旋混匀，超声提取 10 min，接着 10000 r/min 离心 10 min，移取上层提取液 2 mL 于 10 mL 塑料离心管中，氮吹浓缩至约 0.5 mL，最后用 10% 乙腈水溶液稀释定容至 4 mL，超声 10 min，用 0.22 μm PTFE 滤膜过滤后上机测试。

■ 结果与讨论

2.1 色谱图

38 种准用着色剂色谱图 (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 如下图 1-6 所示，参照标准对 38 种着色剂按检测波长分为 6 组进行检测，着色剂编号同表 2。



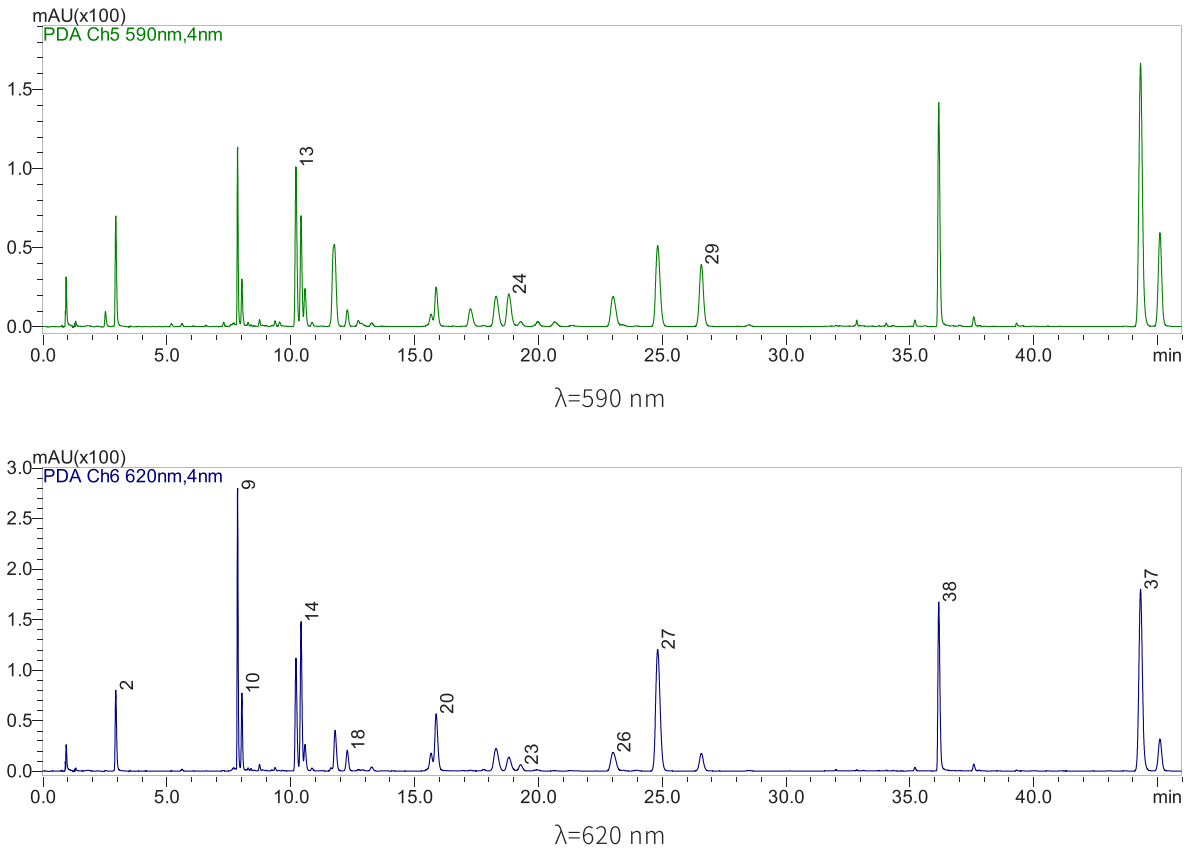


图 1 38 种准用着色剂色谱图

2.2 应用 i-PDeA 的功能提升色谱峰的定量准确性

254 nm 检测波长下，14 号和 17 号着色剂色谱峰分离度为 1.11，色谱峰实现了较好分离。日常测试过程中，色谱柱因长期使用，老化等问题常常不可避免，此时色谱柱柱效下降，可能导致色谱峰分离度变差，影响定量准确性，这种情况下使用 i-PDeA II 代解卷积算法对 PDA 色谱图进行解析，可以更好地实现色谱峰分离，从而达到准确定量目的。i-PDeA 解卷积色谱图和参数设置示例见图 2 和图 3。

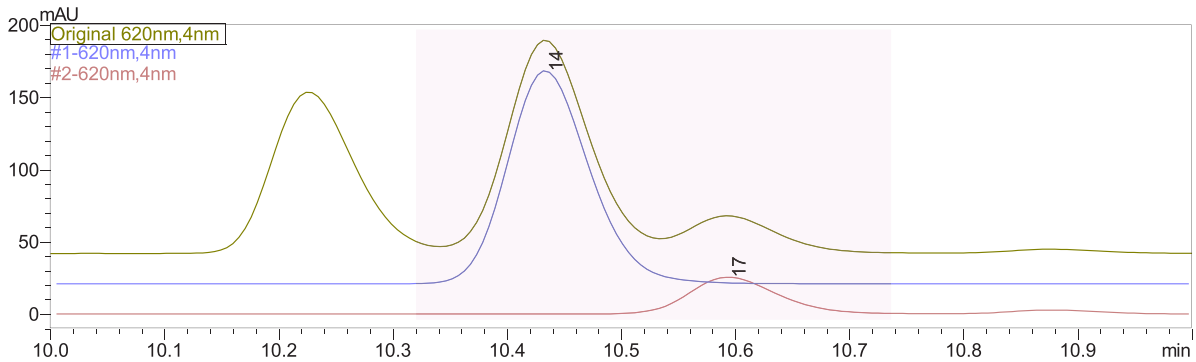


图 2 i-PDeA 解卷积色谱图 (绿线：原始谱图 蓝线：#14 酸性蓝 1 红线：#17 酸性绿 22)

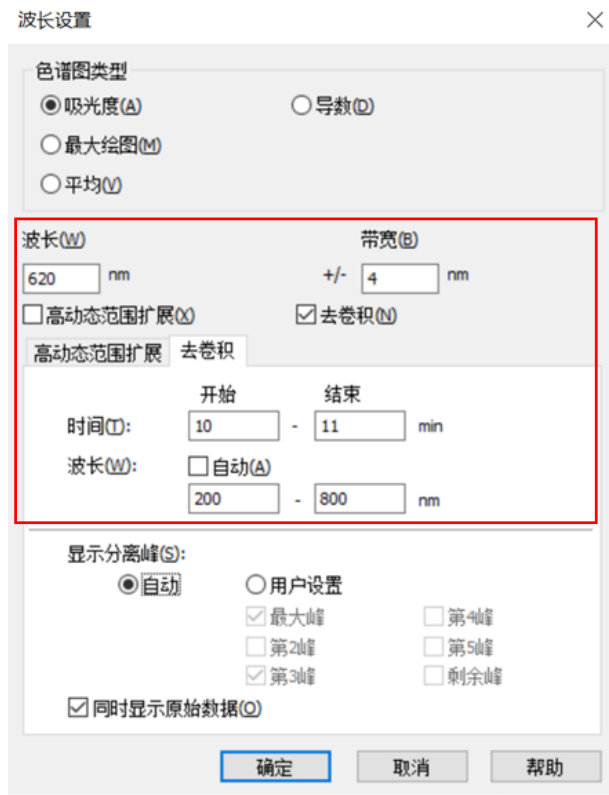


图3 i-PDeA II 参数设置

2.3 线性关系

依据标准，将 1.3 中配制的 1.0 $\mu\text{g/mL}$ 、2.0 $\mu\text{g/mL}$ 、4.0 $\mu\text{g/mL}$ 、6.0 $\mu\text{g/mL}$ 、8.0 $\mu\text{g/mL}$ 和 10.0 $\mu\text{g/mL}$ 标准溶液，按 1.2 条件进行测试，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，外标法拟合工作曲线，部分化合物标准曲线见图 4。各浓度点线性回归的准确度、相关系数 r 见表 2。结果显示，各化合物在相应线性范围内线性关系良好，相关系数 r 都大于 0.997，准确度在 88.8 ~ 110.9% 之间，满足 GB/T37545-2019 相关要求。

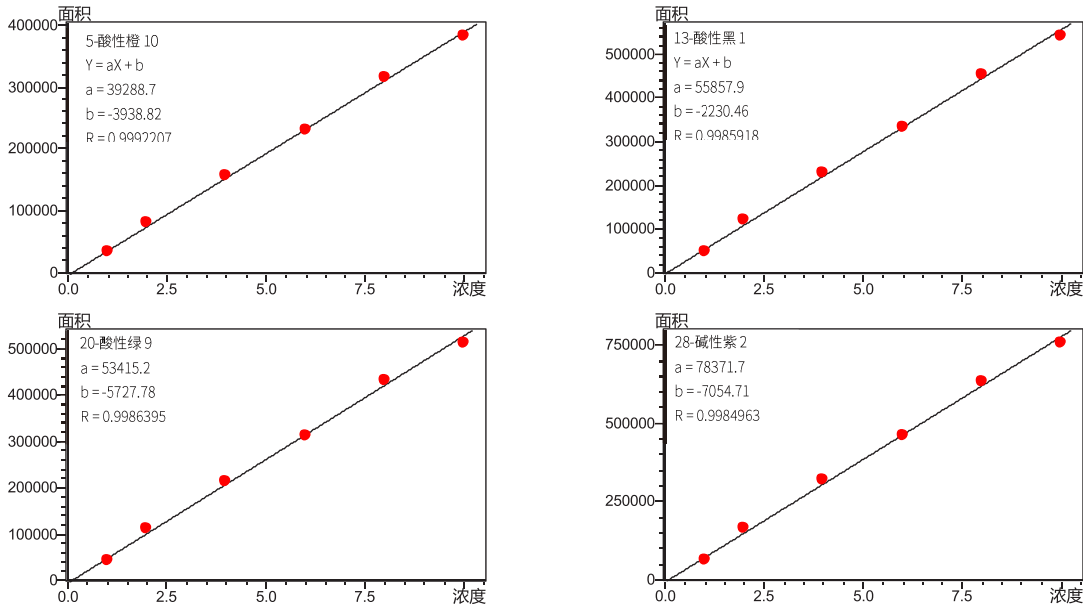


图4 部分准用着色剂校准线性

2.4 精密度

对不同浓度标准工作液连续测定 6 次，考察仪器精密度，保留时间和峰面积的重复性结果如表 2 所示。结果显示不同浓度化合物的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.02%~ 0.45% 和 0.14%~3.16% 之间，仪器精密度良好。

2.5 回收率测试

取唇膏样品 1 加入一定浓度着色剂标液（加标浓度如表 2 所示），按照 1.4 中样品制备方法，每个浓度平行制备 3 份样品。对本底样品进行测试，唇膏样品 1 未检出 38 种着色剂，加标回收率测试结果显示：38 种准用着色剂样品的加标回收率在 91.0%~106.0% 之间，满足标准测试要求，结果如表 2 所示。

2.6 实际样品测试

取某唇膏样品 2，准确称量 0.2 g，参考 1.4 的样品前处理方法，制备上机。经检测，样品中检出酸性橙 10 (5#)，含量为 384.5 $\mu\text{g/g}$ 。样品色谱图如图 5 所示。

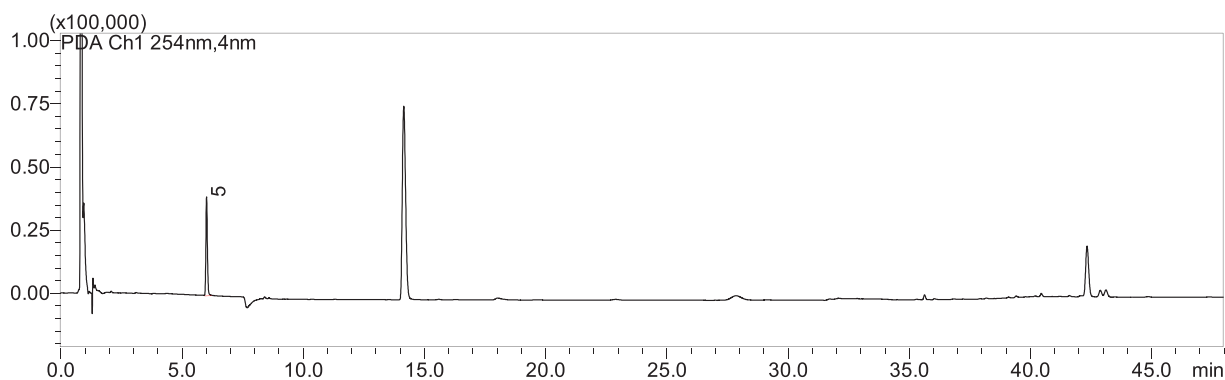


图 5 实际样品色谱图

表 2 38 种准用着色剂线性系数（权重 1/C）、保留时间和峰面积重复性及回收率测试结果

序号	化合物名称	线性范围 ($\mu\text{g/mL}$)	相关系数 r	准确度 %	RSD% (4 $\mu\text{g/mL}$)		RSD% (8 $\mu\text{g/mL}$)		加标浓度 (200 $\mu\text{g/g}$)		加标浓度 (400 $\mu\text{g/g}$)	
					R.T.	Area	R.T.	Area	检测值 ($\mu\text{g/g}$)	回收率 (%)	检测值 ($\mu\text{g/g}$)	回收率 (%)
1	食品红 9	1.0~10.0	0.9991	92.7~108.3	0.45	2.90	0.14	3.06	189.2	94.6	383.6	95.9
2	食品蓝 1	1.0~10.0	0.9990	93.9~109.8	0.29	3.16	0.21	0.86	181.4	90.7	374.3	93.6
3	食品红 7	1.0~10.0	0.9991	92.7~108.0	0.07	1.80	0.08	0.42	190.5	95.3	386.4	96.6
4	酸性黄 1	1.0~10.0	0.9991	91.5~107.9	0.04	1.60	0.10	0.20	186.3	93.2	375.9	94.0
5	酸性橙 10	1.0~10.0	0.9992	92.6~106.9	0.06	1.71	0.06	0.58	194.7	97.4	385.3	96.3
6	食品黄 3	1.0~10.0	0.9991	91.9~108.5	0.04	1.76	0.09	0.28	182.6	91.3	368.4	92.1
7	食品红 10	1.0~10.0	0.9988	93.5~105.6	0.06	2.51	0.04	0.96	203.2	101.6	411.2	102.8
8	食品红 17	1.0~10.0	0.9989	90.6~108.7	0.07	1.60	0.06	0.28	185.1	92.6	373.4	93.4
9	食品绿 3	1.0~10.0	0.9986	89.3~110.1	0.06	2.74	0.05	0.33	193.4	96.7	377.2	94.3
10	食品蓝 2	1.0~10.0	0.9987	91.4~107.1	0.08	7.41	0.04	0.62	197.3	98.7	394.3	98.6
11	酸性红 50	1.0~10.0	0.9987	90.6~107.9	0.09	1.82	0.04	0.33	189.6	94.8	388.6	97.2
12	酸性黄 11	1.0~10.0	0.9988	90.6~109.5	0.10	1.82	0.04	0.32	187.2	93.6	385.6	96.4
13	酸性黑 1	1.0~10.0	0.9986	89.9~109.0	0.11	1.93	0.04	0.21	192.1	96.1	393.1	98.3
14	酸性蓝 1	1.0~10.0	0.9984	89.1~109.8	0.11	2.77	0.04	3.31	206.2	103.1	423.9	106.0
15	酸性橙 7	1.0~10.0	0.9992	92.4~107.8	0.11	1.59	0.05	0.28	210.4	105.2	407.3	101.8

16	酸性红 52	1.0~10.0	0.9986	89.8-108.8	0.10	1.84	0.04	0.40	197.6	98.8	394.6	98.7
17	酸性绿 22	1.0~10.0	0.9984	89.6-109.5	0.13	1.91	0.05	2.62	193.1	96.6	385.1	96.3
18	食品蓝 5	1.0~10.0	0.9988	90.6-109.4	0.13	1.96	0.04	0.32	189.2	94.6	373.6	93.4
19	酸性红 98	1.0~10.0	0.9988	91.8~109.6	0.12	1.82	0.04	0.32	183.5	91.8	395.4	98.9
20	酸性绿 9	1.0~10.0	0.9986	90.9~108.3	0.20	2.01	0.04	0.35	204.3	102.2	398.5	99.6
21	酸性红 88	1.0~10.0	0.9984	90.1~108.7	0.17	1.76	0.04	0.23	191.6	95.8	385.3	96.3
22	颜料红 49	1.0~10.0	0.9979	90.5~106.6	0.15	2.66	0.05	0.14	206.3	103.2	402.9	100.7
23	溴甲酚绿	1.0~10.0	0.9984	95.2~104.5	0.18	2.16	0.05	0.34	212.4	106.2	409.3	102.3
24	酸性紫 43	1.0~10.0	0.9987	91.1~110.9	0.16	1.56	0.05	0.26	187.5	93.8	395.9	99.0
25	酸性紫 9	1.0~10.0	0.9988	90.7~109.0	0.15	2.00	0.05	0.28	197.6	98.8	405.1	101.3
26	酸性蓝 62	1.0~10.0	0.9984	90.6~106.0	0.14	1.44	0.06	0.21	189.4	94.7	387.6	96.9
27	酸性蓝 7	1.0~10.0	0.9989	91.1~108.4	0.15	1.89	0.06	0.31	183.5	91.8	369.5	92.4
28	碱性紫 2	1.0~10.0	0.9985	89.7~109.4	0.23	1.87	0.06	0.26	204.4	102.2	405.6	101.4
29	酸性紫 50	1.0~10.0	0.9990	92.3~108.2	0.15	1.88	0.07	0.31	190.1	95.1	385.2	96.3
30	溶剂黄 33	1.0~10.0	0.9986	90.5~107.9	0.16	1.64	0.06	0.26	198.7	99.4	393.3	98.3
31	酸性黄 121	1.0~10.0	0.9990	92.1~107.3	0.02	1.82	0.03	0.17	186.6	93.3	385.4	96.4
32	颜料红 64	1.0~10.0	0.9974	92.5~107.3	0.03	2.60	0.03	2.79	202.2	101.1	396.7	99.2
33	溶剂红 3	1.0~10.0	0.9984	90.4-108.4	0.02	1.60	0.03	0.44	181.9	91.0	374.2	93.6
34	分散黄 16	1.0~10.0	0.9965	88.8-106.1	0.02	3.07	0.03	2.56	188.2	94.1	385.8	96.5
35	溶剂黄 29	1.0~10.0	0.9991	93.4-107.6	0.03	1.64	0.03	0.15	197.9	99.0	402.4	100.6
36	颜料红 4	1.0~10.0	0.9994	93.9~107.0	0.02	3.08	0.03	2.98	203.5	101.8	415.3	103.8
37	溶剂绿 3	1.0~10.0	0.9986	93.9~102.4	0.03	3.16	0.05	2.89	188.7	94.4	403.6	100.9
38	碱性蓝 26	1.0~10.0	0.9979	90.4~109.7	0.05	1.89	0.03	1.85	194.3	97.2	395.7	98.9

■ 结论

本文参考 GB/T37545-2019《化妆品中 38 种准用着色剂 高效液相色谱法》，使用岛津 Nexera LC-40X3 高效液相色谱仪建立化妆品中 38 种准用着色剂的定量测定方法。在相应标曲范围内，各化合物的相关系数均在 0.997 以上。在分析精密度上，各化合物的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.02%~0.45% 和 0.14%~3.16% 之间；加标回收率在 91.0%~106.0% 之间。该方法具有灵敏度高、重复性好的优势，可用于化妆品中多种准用着色剂的定量检测。

岛津应用云

