

液相色谱法测定化妆品中 3-亚苄基樟脑等 22 种防晒剂的含量

LC-247

摘要：本文参照国家药品监督管理局 2019 年第 40 号通告附件内容《化妆品中 3-亚苄基樟脑等 22 种防晒剂的检测方法》，对化妆品中 22 种防晒剂成分进行 HPLC 分析测定。实验结果表明，在标准规定范围内线性关系良好，且相关系数 r 均大于 0.99。精密度实验中，22 种防晒剂成分的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.09%~0.51% 和 0.97%~4.18% 之间。对实际样品进行 1.0 mg/g、5.0 mg/g、10.0 mg/g 的混合标样添加测试，22 种防晒剂成分的回收率分布在 85.06%~113.30% 之间。对仪器灵敏度的考察，22 种防晒剂物质的 LOD 在 0.03~0.15 $\mu\text{g/mL}$ (0.003%~0.015%)，LOQ 在 0.10~0.48 $\mu\text{g/mL}$ (0.010%~0.048%)，满足《化妆品安全技术规范》中对 22 种防晒剂成分的检测要求。

关键词：LC-2050C 3D 液相色谱 化妆品 22 种防晒剂

防晒剂是指利用光的吸收、反射或散射作用，以保护皮肤免受特定紫外线所带来的伤害或保护产品本身而在化妆品中加入的物质。防晒化妆品在我国属于特殊用途化妆品，是指能够防止或减轻由于紫外线辐射而造成的皮肤损害的一类化妆品。

我国 2015 年版《化妆品安全技术规范》（以下简称《规范》）中规定，防晒化妆品中使用的防晒剂成分必须是该《规范》中准许添加和使用的 27 项准

用防晒剂成分，而且使用条件应满足《规范》的要求，以确保产品使用的安全性。这些防晒剂可分为无机防晒剂和有机防晒剂两大类。

有机防晒剂常用的检测方法有薄层色谱法、高效液相色谱法、超高效液相色谱法、液相色谱-质谱联用法和气相色谱-质谱联用法。本文使用岛津液相色谱系统，采用高效液相色谱法为有机防晒型化妆品提供可靠快捷的分析方案。

■ 实验部分

1.1 仪器配置

本实验使用岛津 LC-2050C 3D 高效液相色谱仪。

1.2 分析条件

液相色谱条件 1：（测定 3-亚苄基樟脑等 21 种防晒剂的色谱条件）

色谱柱：Shim-pack GIS (250 mm×4.6 mm I.D., 5 μm)

P/N 227-30106-08, 岛津（上海）实验器材有限公司

流动相：A 相：甲醇，B 相：四氢呋喃，C 相：水 + 高氯酸 = 300+0.25

流速：1.0 mL/min

进样体积：10 μL

柱温：35°C

检测波长：311 nm

洗脱方式：梯度洗脱，A 相初始浓度为 18%，B 相初始浓度为 2%，C 相初始浓度为 80%，时间程序见表 1。

表 1 21 种防晒剂成分梯度洗脱时间程序

Time(min)	Pump A Conc.	Pump B Conc.	Pump C Conc.
4.00	6	25	69
8.00	25	45	30
16.00	25	45	30
20.00	20	40	40

22.00	45	50	5
25.00	50	45	5
28.00	18	2	80
40.00	Controller Stop		

液相色谱条件 2：（测定苯基二苯并咪唑四磺酸酯二钠防晒剂的色谱条件）

色谱柱：Shim-pack GIS（250 mm×4.6 mm I.D.，5 μm）

P/N 227-30106-08，岛津（上海）实验器材有限公司

流动相：A 相：甲醇，B 相：0.02 mol/L 乙酸铵溶液

流速：1.0 mL/min

进样体积：10 μL

柱温：35℃

检测波长：311 nm

洗脱方式：梯度洗脱，A 相初始浓度为 5%，B 相初始浓度为 95%，时间程序见表 2。

表 2 苯基二苯并咪唑四磺酸酯二钠成分梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
8.00	Pumps	Pump B Conc.	0
9.00	Pumps	Pump B Conc.	95
20.00	Controller	Stop	

1.3 混合标准溶液配置

参照国家药品监督管理局 2019 年第 40 号通告的附件内容《化妆品中 3-亚苄基樟脑等 22 种防晒剂的检测方法》，使用混合溶剂 1 将 21 种防晒剂成分进行逐级稀释，得到浓度分别为 0.2 μg/mL、0.5 μg/mL、1.0 μg/mL、2.0 μg/mL、5.0 μg/mL、10.0 μg/mL、20.0 μg/mL 的混合标准工作溶液。使用混合溶剂 2 将苯基二苯并咪唑四磺酸酯二钠防晒剂成分进行逐级稀释，得到浓度分别为 0.1 μg/mL、0.2 μg/mL、0.5 μg/mL、1.0 μg/mL、2.0 μg/mL、5.0 μg/mL、10.0 μg/mL、20.0 μg/mL 的标准工作溶液。

1.4 样品前处理方法

参照国家药品监督管理局 2019 年第 40 号通告的附件内容《化妆品中 3-亚苄基樟脑等 22 种防晒剂的检测方法》，称取样品 0.25 g（精确到 0.0001 g）于 25 mL 具塞比色管中，加入混合溶剂 * 至刻度，混匀超声 30 min。精密移取此溶液 1 mL，于 10 mL 具塞比色管中，再用混合溶剂 * 稀释至刻度，摇匀（必要时可离心），后经 0.45 μm 滤膜过滤，取滤液作为待测溶液上机分析。

注：检测 21 种防晒剂成分，前处理的方法选择使用混合溶剂 1 做萃取与稀释；检测苯基二苯并咪唑四磺酸酯二钠防晒剂成分，前处理的方法选择使用混合溶剂 2 做萃取与稀释。

■ 结果与讨论

2.1 3-亚苄基樟脑等 21 种防晒剂成分的混合标准溶液色谱图

照（1.3）配制成 21 种防晒剂成分混合标准溶液 1.0 μg/mL，进行上机分析，得到 21 种防晒剂成分的混合标准物质色谱图，详见图 1

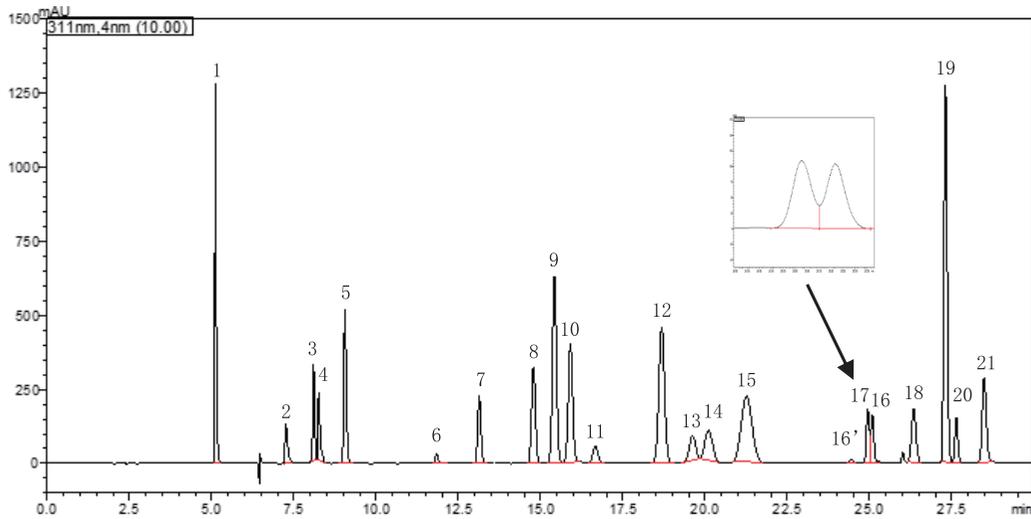


图 1 3-亚苄基樟脑等 21 种防晒剂成分的混合标准溶液色谱图

1. 苯基苯并咪唑磺酸; 2. 对苯二亚甲基二樟脑磺酸; 3. 二苯酮-4; 4. 樟脑苯扎铵甲基硫酸盐; 5. 亚苄基樟脑磺酸; 6. 二乙基己基丁酰胺基三嗪酮; 7. 二苯酮-3; 8.3-亚苄基樟脑; 9.p-甲氧基肉桂酸异戊酯; 10.4-甲基苄亚基樟脑; 11. 二乙氧基苯甲酰基苯甲酸己酯; 12.PABA 乙基己酯; 13. 丁基甲氧基二苯甲酰基甲烷; 14. 奥克立林; 15. 甲氧基肉桂酸乙基己酯; 16. 胡莫柳酯; 16'. 胡莫柳酯异构体; 17. 水杨酸乙基己酯; 18. 双-乙基己氧苯酚甲氧苯基三嗪; 19. 乙基己基三嗪酮; 20. 甲酚曲唑三硅氧烷; 21. 亚甲基双-苯并三唑基四甲基丁基酚。

2.2 苯基二苯并咪唑四磺酸酯二钠防晒剂成分的标准溶液色谱图

按照 (1.3) 配制成苯基二苯并咪唑四磺酸酯二钠防晒剂成分标准溶液 1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 进行上机分析, 得到苯基二苯并咪唑四磺酸酯二钠防晒剂成分的标准物质色谱图, 详见图 2。

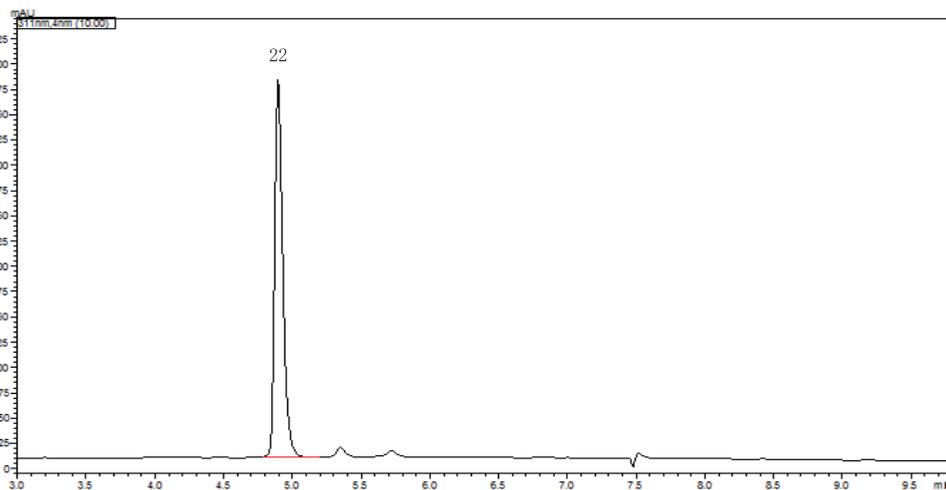


图 2 苯基二苯并咪唑四磺酸酯二钠 (22#) 防晒剂成分的标准溶液色谱图

2.3 标准曲线线性范围与精密度考察

将按照 (1.3) 方法配制的标准系列溶液, 进行上机分析, 可得出各化合物的线性范围与线性关系。分别取 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、2.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、10.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准溶液, 注入液相色谱仪, 平行测定 6 次, 三个浓度点的精确度范围分别在 89.9%~91.4%、92.4%~93.8%、90.7%~91.6%; 计算保留时间 (RT) 和峰面积 (Area) 两者的 RSD%。结果显示各物质的保留时间 (RT) 的 RSD 在 0.09%~0.51%, 峰面积 (Area) 的 RSD 在 0.97%~4.18%, 实验结果表明精密度满足该实验需求, 具体结果详见表 3。

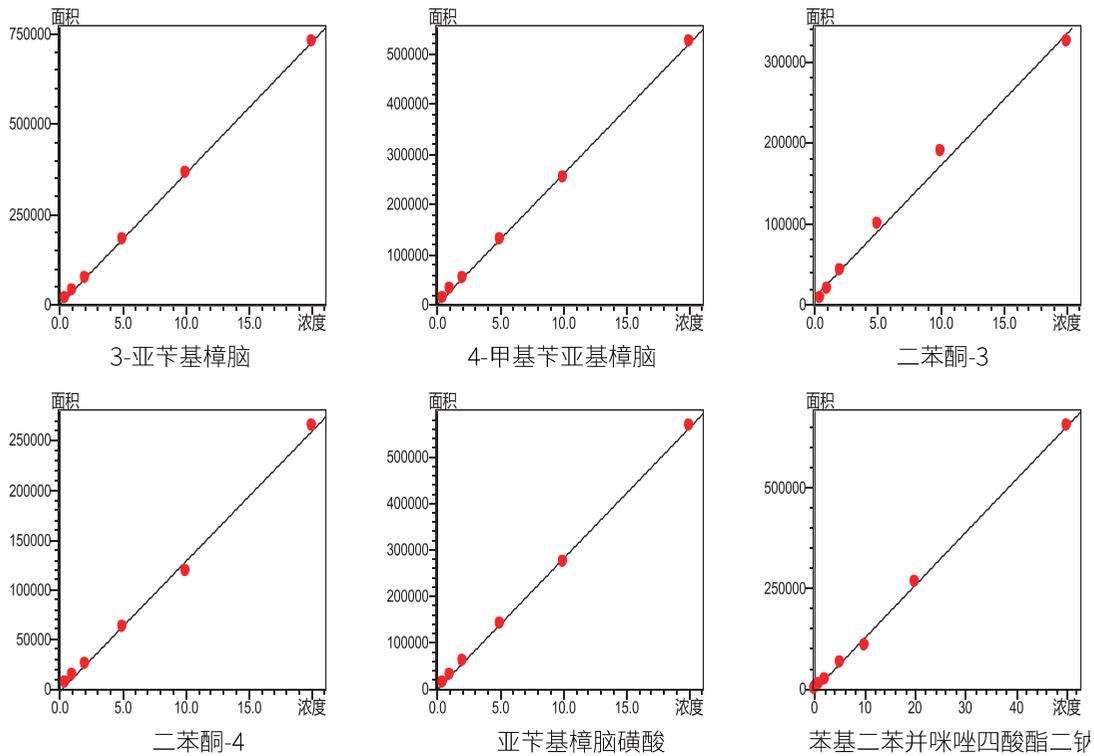


图3 22种防晒剂成分中部分物质的校准曲线图

表3 22种防晒剂成分的线性关系及精密度考察结果 (n=6)

序号	化合物	线性方程	线性范围 ($\mu\text{g/mL}$)	相关系数 R	准确度 (%)	RSD (%)					
						0.5 $\mu\text{g/mL}$		2.0 $\mu\text{g/mL}$		10.0 $\mu\text{g/mL}$	
						RT	A	RT	A	RT	A
1	3-亚苄基樟脑	$Y = (26059.2)X + (356.149)$	0.5~20	0.9994	90.2~106.9	0.42	1.19	0.26	0.97	0.49	1.64
2	4-甲基苄亚基樟脑	$Y = (37277.5)X + (-1256.51)$	0.5~20	0.9998	91.5~107.9	0.11	2.38	0.10	2.88	0.10	2.48
3	二苯酮-3	$Y = (17508.8)X + (4298.43)$	0.5~20	0.9968	93.1~106.5	0.10	1.99	0.11	1.84	0.09	1.30
4	二苯酮-4	$Y = (12128.4)X + (559.554)$	0.5~20	0.9973	93.4~109.6	0.11	2.06	0.11	1.50	0.09	1.12
5	亚苄基樟脑磺酸	$Y = (28009.2)X + (504.374)$	0.5~20	0.9998	91.7~110.8	0.12	4.15	0.13	2.16	0.09	1.80
6	双-乙基己氧苯酚甲氧苯基三嗪	$Y = (1460.43)X + (150.017)$	0.5~20	0.9983	91.1~110.6	0.12	1.82	0.13	1.13	0.09	1.90
7	丁基甲氧基二苯甲酰基甲烷	$Y = (10214.5)X + (1426.54)$	0.5~20	0.9995	95.8~104.6	0.13	1.91	0.13	1.34	0.10	1.53
8	樟脑苯扎铵甲基硫酸盐	$Y = (9569.15)X + (771.258)$	0.5~20	0.9994	90.9~102.5	0.14	1.99	0.14	1.41	0.11	0.99
9	二乙氧基苯甲酰基苯甲酸己酯	$Y = (6336.82)X + (1448.10)$	0.5~20	0.9998	87.1~108.5	0.13	1.72	0.15	1.48	0.11	1.77
10	二乙基己基丁酰胺基三嗪酮	$Y = (2222.12)X + (-1132.65)$	0.2~20	0.9979	89.2~106.9	0.42	1.19	0.45	1.22	0.29	1.00
11	甲酚曲唑三硅氧烷	$Y = (4324.68)X + (-834.871)$	0.5~10	0.9993	91.5~107.9	0.11	2.38	0.14	2.41	0.13	2.91
12	二甲基 PABA 乙基己酯	$Y = (54868.2)X + (-316.698)$	0.5~20	0.9998	93.9~106.5	0.10	1.99	0.13	2.02	0.14	1.87
13	甲氧基肉桂酸乙基己酯	$Y = (52190.2)X + (-24.3929)$	0.5~20	0.9998	90.4~106.9	0.11	2.06	0.14	2.09	0.14	1.53
14	水杨酸乙基己酯	$Y = (6691.18)X + (129.516)$	0.5~10	0.9999	91.7~110.8	0.12	4.15	0.15	4.18	0.16	2.19
15	乙基己基三嗪酮	$Y = (82758.4)X + (-5975.74)$	0.2~20	0.9997	92.1~110.0	0.12	1.82	0.15	1.85	0.16	1.16
16	胡莫柳酯	$Y = (3971.66)X + (331.136)$	0.5~10	0.9993	90.2~106.9	0.13	1.91	0.16	1.94	0.16	1.37
16'	胡莫柳酯异构体	$Y = (876.142)X + (-284.239)$	0.5~20	0.9989	88.5~107.3	0.28	3.14	0.39	1.89	0.41	3.45
17	对甲氧基肉桂酸异戊酯	$Y = (53642.3)X + (-801.807)$	0.2~20	0.9998	89.9~106.5	0.16	2.01	0.19	1.43	0.13	1.01

序号	化合物	线性方程	线性范围 ($\mu\text{g/mL}$)	相关系数 R	准确度 (%)	RSD (%)					
						0.5 $\mu\text{g/mL}$		2.0 $\mu\text{g/mL}$		10.0 $\mu\text{g/mL}$	
						RT	A	RT	A	RT	A
18	亚甲基双-苯并三唑基四甲基丁基酚	$Y = (25340.9)X + (-232.390)$	0.2~20	0.9998	91.4~109.2	0.15	1.74	0.17	1.50	0.13	1.79
19	奥克立林	$Y = (15516.0)X + (5401.67)$	0.5~20	0.9995	90.7~110.6	0.44	1.21	0.28	0.99	0.51	1.66
20	苯基苯并咪唑磺酸	$Y = (35598.4)X + (8144.71)$	0.5~20	0.9999	92.1~108.0	0.13	2.40	0.12	2.90	0.12	2.50
21	对苯二亚甲基二樟脑磺酸	$Y = (6993.24)X + (-968.104)$	0.5~20	0.9996	89.1~104.1	0.12	2.01	0.13	1.86	0.11	1.32
22	苯基二苯并咪唑四磺酸酯二钠	$Y = (13136.7)X + (-2078.65)$	0.1~20	0.9996	91.9~102.9	0.13	2.08	0.13	1.52	0.11	1.14

2.4 实际样品测试及加标回收率考察

采用 (1.2) 方法测定市售某防晒化妆品, 检出两种防晒剂成分, 样品色谱图见图 4 与图 6; 并在该样品中分别精密加入混合标准品, 加标量分别为 1 mg/g、5 mg/g 和 10 mg/g, 制作三份加标回收样品, 样品加标色谱图见图 5 与图 7, 按 (1.4) 方法进行样品前处理, 使用混合标准曲线进行加标后样品回收率的计算, 各化合物的回收率范围在 85.06%~113.30% 之间, 具体结果详见表 4。

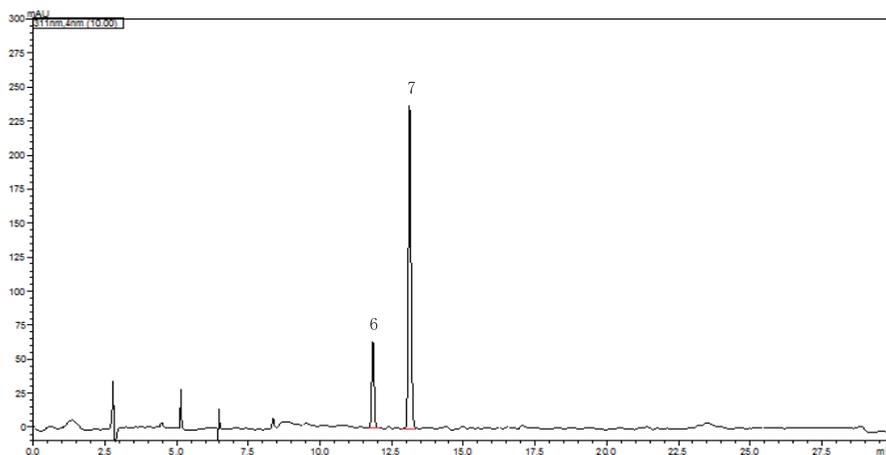


图 4 某化妆品提取液按照 (1.2) 中液相色谱条件 1 测定的色谱图 (样品)

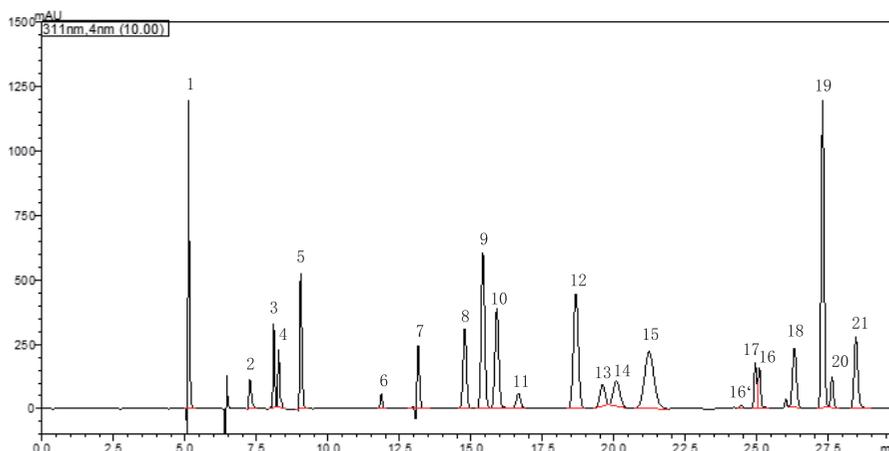


图 5 某化妆品提取液加标 21 种防晒剂成分 10 mg/g 后按照 (1.2) 中液相色谱条件 1 测定的色谱图

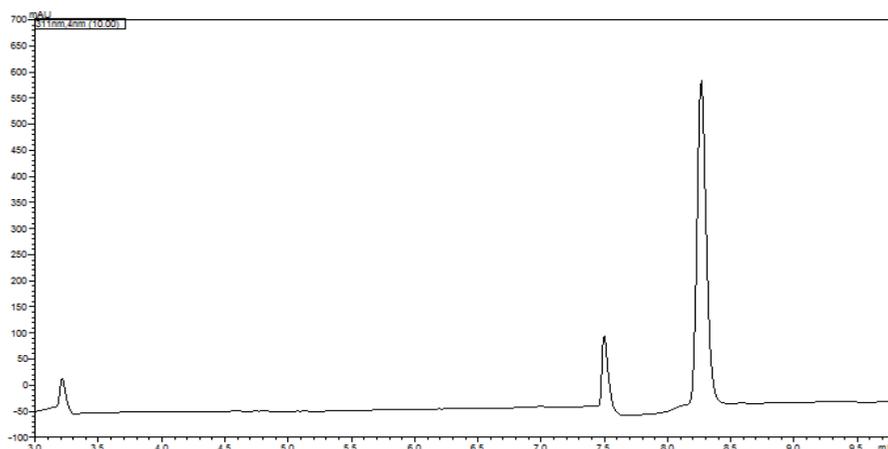


图 6 某化妆品提取液按照 (1.2) 中液相色谱条件 2 测定的色谱图 (样品)

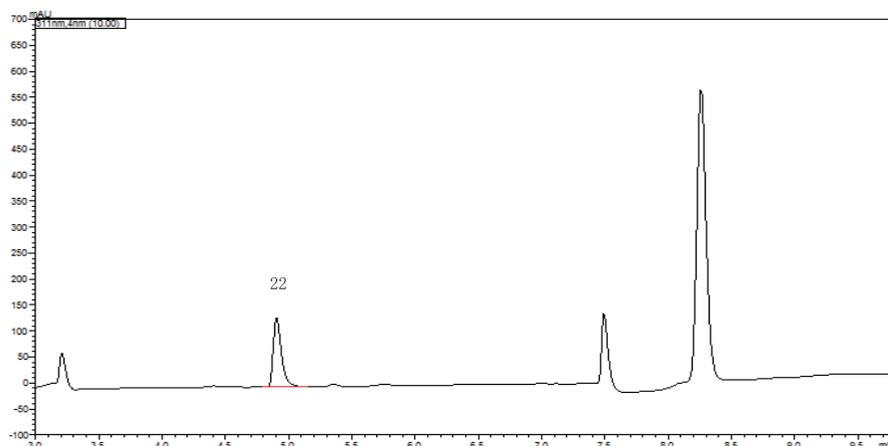


图 7 某化妆品提取液加标第 22# 防晒剂成分 10 mg/g 后按照 (1.2) 中液相色谱条件 2 测定的色谱图

2.5 检出限和定量限

分别采用 0.5 $\mu\text{g/mL}$ 的 21 种防晒剂成分混标溶液与 0.1 $\mu\text{g/mL}$ 的苯基二苯并咪唑四磺酸酯二钠标准溶液作为上机分析溶液, 进行仪器灵敏度的考察, 并且通过软件计算出仪器检出限和定量限结果, 具体数据详见表 4。在上述条件下, 22 种防晒剂物质的 LOD 在 0.03~0.15 $\mu\text{g/mL}$ (0.003%~0.015%), LOQ 在 0.10~0.48 $\mu\text{g/mL}$ (0.010%~0.048%)。

表 4 实际样品中 22 种化合物加标回收率测定结果及检出限量限

序号	化合物	含量 (%)	加标回收率 (%)			检出限 ($\mu\text{g/mL}$)	定量限 ($\mu\text{g/mL}$)
			1.0 (mg/g)	5.0 (mg/g)	10 (mg/g)		
1	3- 亚苄基樟脑	N.D.	91.10	99.30	89.12	0.12	0.41
2	4- 甲基苄亚基樟脑	N.D.	85.30	87.84	87.02	0.10	0.32
3	二苯酮 -3	0.48	85.80	93.44	86.85	0.10	0.32
4	二苯酮 -4	N.D.	87.60	93.04	88.97	0.11	0.35
5	亚苄基樟脑磺酸	N.D.	90.40	98.08	88.46	0.08	0.25
6	双 - 乙基己氧苯酚甲氧苯基三嗪	N.D.	109.30	106.18	100.32	0.10	0.32
7	丁基甲氧基二苯甲酰基甲烷	N.D.	102.10	111.40	96.53	0.15	0.48
8	樟脑苯扎铵甲基硫酸盐	N.D.	96.40	97.88	89.45	0.11	0.35
9	二乙氧基苯甲酰基苯甲酸己酯	N.D.	97.20	99.16	89.21	0.15	0.48

序号	化合物	含量 (%)	加标回收率 (%)			检出限 (µg/mL)	定量限 (µg/mL)
			1.0 (mg/g)	5.0 (mg/g)	10 (mg/g)		
10	二乙基己基丁酰胺基三嗪酮	0.85	94.70	101.08	92.87	0.05	0.18
11	甲酚曲唑三硅氧烷	N.D.	89.00	96.70	92.64	0.13	0.43
12	二甲基 PABA 乙基己酯	N.D.	106.40	101.90	99.10	0.09	0.28
13	甲氧基肉桂酸乙基己酯	N.D.	112.00	100.96	95.14	0.12	0.39
14	水杨酸乙基己酯	N.D.	87.10	92.72	86.80	0.14	0.46
15	乙基己基三嗪酮	N.D.	87.30	95.58	90.22	0.05	0.18
16	胡莫柳酯	N.D.	88.70	87.16	92.07	0.15	0.48
16'	胡莫柳酯异构体	N.D.	85.32	89.43	95.26	0.15	0.48
17	对甲氧基肉桂酸异戊酯	N.D.	113.30	105.34	107.42	0.06	0.20
18	亚甲基双 - 苯并三唑基四甲基丁基酚	N.D.	98.20	103.86	103.13	0.06	0.20
19	奥克立林	N.D.	86.40	91.96	85.06	0.13	0.42
20	苯基苯并咪唑磺酸	N.D.	101.30	99.70	89.80	0.05	0.18
21	对苯二亚甲基二樟脑磺酸	N.D.	109.01	106.40	108.66	0.13	0.43
22	苯基二苯并咪唑四磺酸酯二钠	N.D.	94.40	96.06	94.61	0.03	0.10

注：N.D. 表示未检出。

■ 结论

本文采用岛津 LC-2050C 3D 系列高效液相色谱仪，参照国家药品监督管理局 2019 年第 40 号通告附件内容，对化妆品中 22 种防晒剂成分进行分析测定。实验结果表明，22 种防晒剂成分中分别有 1 种物质在 0.1~20.0 µg/mL、有 4 种物质在 0.2~20.0 µg/mL、有 18 种物质在 0.5~20.0 µg/mL 的浓度范围内建立标准曲线，线性关系良好，且相关系数 r 均大于 0.99。精密度实验中，22 种防晒剂成分的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.09%~0.51% 和 0.97%~4.18% 之间。在样品中分别进行混合标准品 1.0 mg/g、5.0 mg/g、10.0 mg/g 的添加量下，22 种防晒剂成分的回收率分布在 85.06%~113.30% 之间。仪器灵敏度的考察，22 种防晒剂物质的 LOD 在 0.03~0.15 µg/mL (0.003%~0.015%)，LOQ 在 0.10~0.48 µg/mL (0.010%~0.048%)，满足《化妆品安全技术规范》中对 22 种防晒剂成分的检测要求。岛津 LC-2050C 3D 高效液相色谱系统具有分析速度快、稳定性高的特点，适用于化妆品及药品等的分析检验工作。

岛津应用云

