

LC-30A 超高效液相色谱测定染发膏中七种染发剂

LC-097

摘要: 本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 测定染发膏中酸性紫 14、酸性黄 36、酸性紫 43、颜料橙 5、碱性蓝 26、苏丹红 IV 和苏丹红 II 七种染发剂的方法。本方法前处理简单, 线性良好, 线性相关系数均大于 0.9993; 重复性好, 不同浓度的精密度实验结果表明保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.01~0.09% 和 0.93~2.88% 之间; 灵敏度高, 7 种物质的方法检出限在 0.0089~0.014 mg/L 之间, 定量限在 0.036~0.057 mg/L 之间; 定量准确, 样品加标回收率在 88.2~110.4% 之间。

关键词: 染发剂 苏丹红 染发膏 超高效液相色谱

染发剂类化合物主要作用是增加化妆品的色泽。根据国内外报道, 为了提升产品感官性能, 部分企业超量使用染发剂, 甚至使用具有致癌作用的苏丹红等染料, 存在较大风险。酸性黄 36、颜料橙 5、苏丹红 II、苏丹红 IV 均为欧盟化妆品新法规 (EC) No 1223/20092 规定的化妆品组分中禁用物质。《化妆品卫生规范》2007 年版

规定化妆品中酸性紫 14、酸性紫 43 和碱性蓝 26 的最大允许使用浓度分别为 0.3%、0.1% 和 0.5%。本文使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A, 参考国家食品药品监督管理局公布的《化妆品中 7 种染发剂的检测方法 (征求意见稿)》的方法, 建立了染发膏中七种染发剂的分析方法, 供相关检测人员参考。

实验部分

1.1 仪器

本实验使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 系统。具体配置为 LC-30AD×2 输液泵, DGU-20A5 在线脱气机, SIL-30AC 自动进样器, CTO-30AC 柱温箱, CBM-20A 系统控制器, SPD-M20A 二极管阵列检测器, LabSolutions Ver. 5.50 色谱工作站。

1.2 液相色谱条件

分析仪器: LC-30A 系统

色谱柱: GL Inertsil ODS-4 3.0 mm I.D. × 30 mm L., 2 μm

流动相: A 相 -0.02 mol/L 乙酸铵 (pH=4.0); B 相 - 甲醇

流速: 0.6 mL/min

进样体积: 10 μL

柱温: 40°C

PDA 检测范围: 190~800 nm

洗脱方式: 梯度洗脱, B 相初始浓度为 10%, 时间程序见表 1。

表 1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
1.00	pumps	Pump B Conc	40
6.00	pumps	Pump B Conc	95
8.00	pumps	Pump B Conc	95
8.01	pumps	Pump B Conc	10

1.3 样品制备

标准物质: 共 7 种, 分别为酸性紫 14、酸性黄 36、酸性紫 43、颜料橙 5、碱性蓝 26、苏丹红 IV 和苏丹红 II。

标准溶液配制: 用甲醇配制 2000 mg/L 7 种混合标准溶液。再用甲醇稀释成 0.010 mg/L 至 20 mg/L 的不同浓度的混合标准工作液。

样品前处理方法: 参考《化妆品中 7 种染发剂的检测方法 (征求意见稿)》; 准确称取试样 5.0 g 于 25 mL 比色管中, 加入 1.0 mL 四氢呋喃, 再加入 20 mL 甲醇, 涡旋振荡 2 min, 在超声提取 30 min 后, 12000 r/min 高速离心后取上清液过 0.45 μm 滤膜, 待测。

结果讨论

2.1 标准样品的色谱图

混合标准样品的色谱如图 1 所示，酸性紫 14、酸性紫 43、苏丹红 IV 和苏丹红 II 的紫外检测波长为 539 nm；酸性黄 36 和颜料橙 5 的检测波长为 430 nm；碱性蓝 26 检测波长为 620 nm。

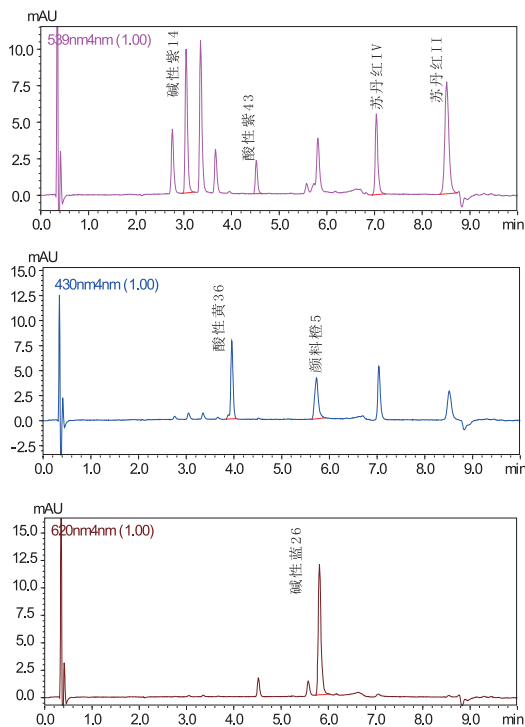


图 1. 0.5 mg/L 混合标样色谱图

2.2 线性关系

配制不同浓度混合标准工作液，按 1.2 中的分析条件进行测定，外标法制作校准曲线，如图 2~8 所示线性良好。线性方程、相关系数和线性范围见表 2。

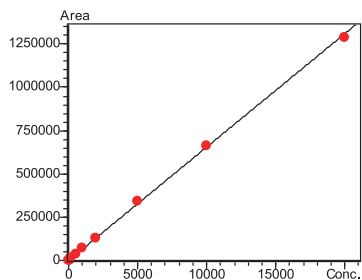


图 2 酸性紫 14 的标准工作曲线

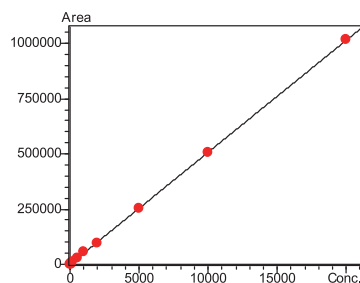


图 3 酸性黄 36 的标准工作曲线

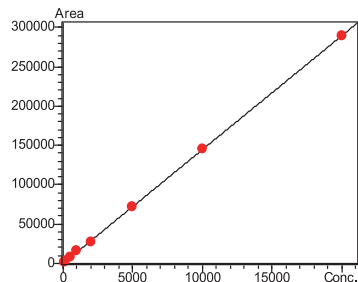


图 4 酸性紫 43 的标准工作曲线

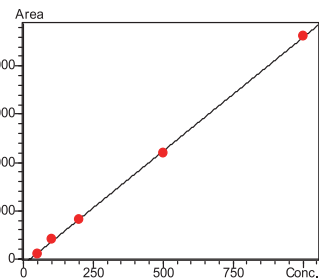


图 5 颜料橙 5 的标准工作曲线

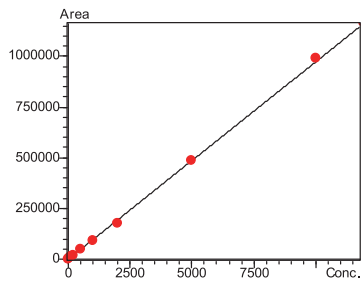


图 6 碱性蓝 26 的标准工作曲线

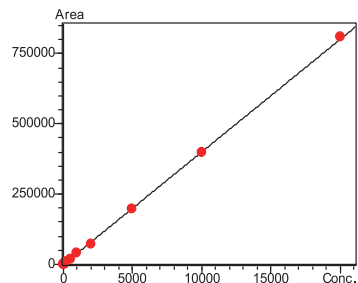


图 7 苏丹红 IV 的标准工作曲线

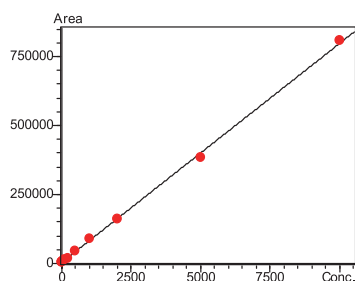


图 8 苏丹红 I 标准工作曲线

表 2 7 种物质的校准曲线参数

编号	名称	校准曲线	相关系数 R	线性范围 mg/L
1	酸性紫 14	$Y = (65.5413)X + (-100.049)$	0.9997	0.050~20
2	酸性黄 36	$Y = (50.7542)X + (22.9072)$	0.9998	0.050~20
3	酸性紫 43	$Y = (14.4739)X + (76.8687)$	0.9998	0.10~20
4	颜料橙 5	$Y = (47.0269)X + (-1124.23)$	0.9993	0.050~1.0
5	碱性蓝 26	$Y = (97.3043)X + (-211.566)$	0.9993	0.050~10
6	苏丹红 IV	$Y = (40.1253)X + (-276.632)$	0.9997	0.10~20
7	苏丹红 II	$Y = (79.3918)X + (4141.76)$	0.9994	0.050~10

2.3 方法的检出限和定量限

配制浓度为 0.1 mg/L 标样 7 份，直接进样分析，对上述结果剔除利群值后将各自的 7 次测定结果计算标准偏差 SD，此时检出限 MDL = $3.14 \times S$ ，定量下限 LOQ = $4 \times MDL$ 。测定结果如表 3 所示：

表 3 7 种物质的检出限和定量限

No.	名称	浓度(mg/L)	标准偏差(S)	检出限(mg/L)	定量限(mg/L)
1	酸性紫 14	0.10	0.0037	0.012	0.047
2	酸性黄 36	0.10	0.0028	0.0089	0.036
3	酸性紫 43	0.10	0.0032	0.010	0.040
4	颜料橙 5	0.10	0.0031	0.0097	0.039
5	碱性蓝 26	0.10	0.0037	0.012	0.047
6	苏丹红 IV	0.10	0.0046	0.014	0.057
7	苏丹红 II	0.10	0.0038	0.012	0.047

2.4 精密度实验

配制如表 4 浓度的混合标液，平行进样 6 次。7 种目标化合物的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.01 ~ 0.09% 和 0.93 ~ 2.88% 之间，仪器精密度良好。

表 4 保留时间和峰面积重复性结果(n=6)

No.	名称	RSD%(0.1 mg/L)		RSD%(0.5 mg/L)		RSD%(1.0 mg/L)	
		R.T	Area	R.T	Area	R.T	Area
1	酸性紫 14	0.03	2.34	0.08	1.12	0.09	1.54
2	酸性黄 36	0.04	1.63	0.04	1.25	0.07	1.82
3	酸性紫 43	0.06	1.23	0.03	1.55	0.06	2.05
4	颜料橙 5	0.03	2.88	0.07	1.95	0.05	1.18
5	碱性蓝 26	0.03	1.70	0.02	0.93	0.05	1.17
6	苏丹红 IV	0.01	2.76	0.04	2.01	0.05	1.10
7	苏丹红 II	0.01	1.43	0.05	1.48	0.06	1.13

2.5 基质加标实验

按照 1.3 中样品制备方法, 在样品中添加 0.5 mg/kg 混合标样, 平行 3 次测定回收率和 RSD。根据测定结果, 该染发膏含有少量酸性紫 14 和定量限以下的微量苏丹红 II, 扣除染发膏样品空白后, 样品加标回收率在 88.2 ~ 110.4% 之间, 具体结果如表 5。空白染发膏样品的色谱图如图 9 所示, 加标样品色谱图如图 10 所示。

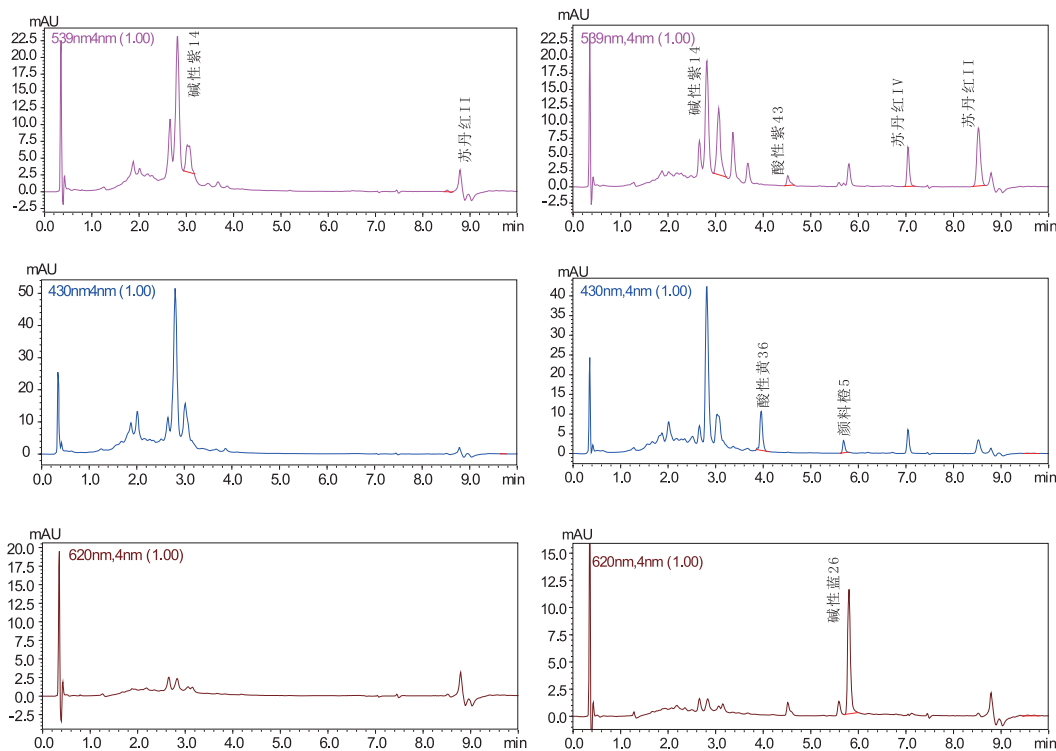


图 9. 染发膏空白基质

图10. 加标 0.5 mg/L 染发膏样品

表 5 加标样的回收率结果(n=3)

No.	样品名称	样品浓度(mg/kg)	回收率(%)	RSD%
1	酸性紫 14	0.397	88.2	4.2
2	酸性黄 36	ND	90.8	2.0
3	酸性紫 43	ND	102.6	2.0
4	颜料橙 5	ND	97.6	1.0
5	碱性蓝 26	ND	89.2	4.9
6	苏丹红 IV	ND	88.8	4.9
7	苏丹红 II	0.045	110.4	3.2

■ 结论

本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 测定染发膏样品中的七种染发剂的检测方法。本方法线性相关系数均大于 0.9993；不同浓度的精密度实验结果表明：保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.01 ~ 0.09% 和 0.93 ~ 2.88% 之间，仪器精密度良好。7 种物质的方法检出限在 0.0089~0.014 mg/L 之间，定量限在 0.036~0.057 mg/L 之间；样品加标回收率在 88.2~110.4% 之间。该方法具有分析速度快、重复性好、灵敏高的特点，适合染发膏中酸性紫 14、酸性黄 36、酸性紫 43、颜料橙 5、碱性蓝 26、苏丹红 IV 和苏丹红 II 七种染发剂的检测。