

超高效液相色谱法测定化妆品中三种非法添加剂的含量

LC-101

摘要: 本文使用岛津超高效液相色谱仪,建立了化妆品中三种非法添加剂含量测定的方法。本方法采用 C18 色谱柱,磷酸氢二钠/甲醇 =40/60 (v/v) 为流动相进行梯度洗脱,二极管阵列检测器检测。三种添加剂在 5~100 $\mu\text{g/mL}$ 的浓度范围内具有良好的线性,相关系数均在 0.9994 以上。对不同浓度的标准溶液进行精密度实验,连续 6 次进样保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.095% 和 1.37% 以下,表明仪器精密度良好,方法检出限在 0.004~0.11 mg/kg 之间,定量限在 0.014~0.37 mg/kg 之间。实际样品添加不同浓度,回收率为 86.1%~108.3%,结果表明方法准确可靠。

关键词: 化妆品 添加剂 超高效液相色谱 二极管阵列检测器

过氧苯甲酰作为药品可用于寻常痤疮、褥疮和溃疡的局部治疗,有报道称某些不法生产厂商为谋取利益在化妆品中非法添加此类物质。研究表明该物质对上呼吸道有刺激性,对皮肤有强烈的刺激和致敏作用。维甲酸会促进上皮细胞增生、分化、角质溶解,维甲酸乳膏常用于治疗寻常痤疮、黑色素瘤等疾病,但其会引起头痛、头晕及肌肉关节疼痛等症状,还可引起肝损害和致畸等危害。螺内酯在女性顽固性迟发性痤疮的治疗中有独到的疗效,可明显抑制皮脂腺细胞增生使皮脂分泌减少,但是经常使用螺内酯会引起恶心呕吐、急性胰腺炎和胃痉挛、腹泻、头疼、偶见皮疹、影响女性生育等

现象。目前,我国《化妆品安全技术规范》将上述三种物质列为禁用物质,不得作为化妆品生产原料即组分添加到化妆品中。从 2013 年 7 月 11 日开始,欧洲经济区 (EEA) 市场中销售的化妆品必须符合新颁布的欧盟化妆品法规 (EC) No 1223/20092 的要求。目前我国尚未规定这些物质的限量值。

本文参考《GBT 24800.3-2009 化妆品中螺内酯、过氧苯甲酰、维甲酸的测定 高效液相色谱法》,提出超高效液相色谱二极管阵列检测化妆品中的三种非法添加剂,供相关检测人员参考。

实验部分

1.1 仪器

本实验使用岛津高效液相色谱仪 LC-30A,包括 CBM-20A 系统控制器,LC-30AD \times 2 高精度溶液输送泵, DGU-20A5 在线脱气机, SIL-30AC 自动进样器, CTO-30A 柱温箱, SPD-M20A 二极管阵列检测器。

1.2 分析条件

色谱柱: Shimadzu Shim-Pack XR-ODS II 2.0 mmL, D. \times 100 mmL., 2.2 μm

流动相: A - 磷酸氢二钠 (25 mM, pH 6.5), B - 甲醇, A/B=40/60 (v/v)

流速: 0.4 mL/min

洗脱方式: 梯度洗脱 (见表 1)

柱温: 40 $^{\circ}\text{C}$

检测波长: 190~370 nm

进样量: 10 μL

表 1 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value
5.0	Pumps	Pump B Conc.	80%
6.0	Pumps	Pump B Conc.	80%
6.1	Pumps	Pump B Conc.	60%
9.0	Controller	Stop	

1.3 样品处理

1.3.1 标准溶液的配制

标准工作溶液配制：用甲醇配制 500 $\mu\text{g/mL}$ 的混合标准中间溶液，用流动相初始比例溶液稀释成不同浓度的混合标准工作液，各标准物质的具体浓度见表 2。

表 2 混合标准工作液中各标准物质的浓度 ($\mu\text{g/mL}$)

名称	检测波长(nm)	浓度1	浓度2	浓度3	浓度4	浓度5
螺内酯	240	5	10	20	50	100
过氧化苯甲酰	240	5	10	20	50	100
维甲酸	335	5	10	20	50	100

1.3.2 试样的制备

参考《GBT 24800.3-2009 化妆品中螺内酯、过氧苯甲酰、维甲酸的测定 高效液相色谱法》的前处理步骤。

结果与讨论

2.1 标准谱图

不同采集波长下标准溶液色谱图如图 1 和图 2 所示。

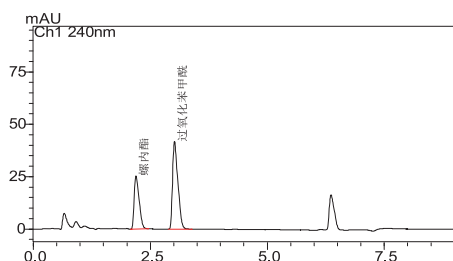


图 1 螺内酯和过氧化苯甲酰在 240 nm 采集波长下的色谱图(螺内酯和过氧化苯甲酰: 5 $\mu\text{g/mL}$)

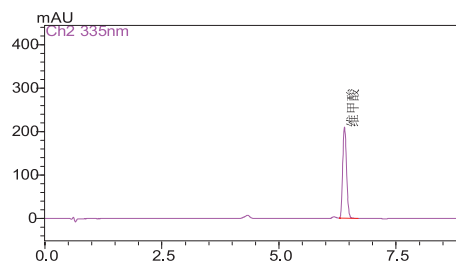


图 2 维甲酸在 335 nm 采集波长下的色谱图 (维甲酸: 5 $\mu\text{g/mL}$)

2.2 线性关系

由图 3 可以看出在 5~100 $\mu\text{g/mL}$ 的浓度范围内，3 种物质的线性相关性良好，相关系数均在 0.9994 以上（见表 3）。

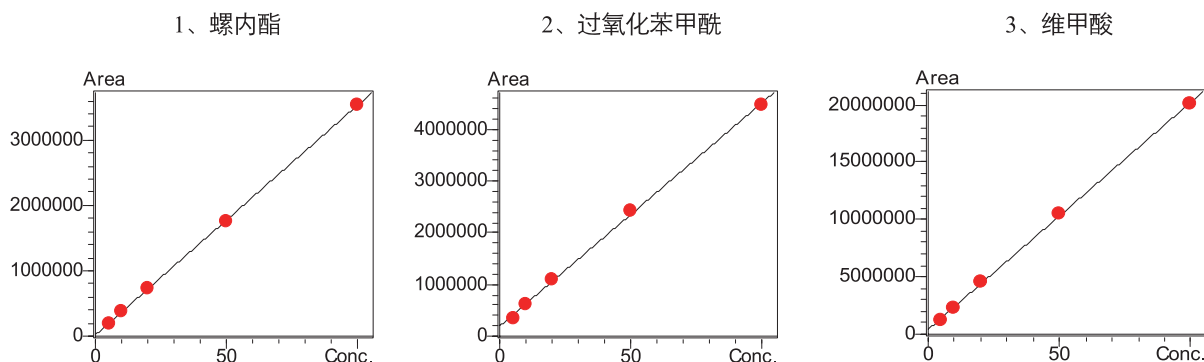


图 3 三种添加剂的校准曲线

表 3 三种添加剂的线性方程

编号	名称	保留时间(min)	线性范围	相关系数(R)
1	螺内酯	2.18	$Y = (35157.6)X + (19230.8)$	0.9999
2	过氧化苯甲酰	3.00	$Y = (43300.9)X + (189579)$	0.9994
3	维甲酸	6.31	$Y = (197937)X + (423249)$	0.9997

2.3 精密度实验

对不同浓度的混合标准工作液连续测定 6 次，考察仪器的精密度，保留时间和峰面积的重复性结果如表 4 所示。结果显示：不同浓度标准品保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.033%~ 0.095% 和 0.057%~1.37% 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)

样品名称	RSD%(浓度1)		RSD%(浓度3)		RSD%(浓度5)	
	R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area
螺内酯	0.061	0.22	0.095	0.16	0.070	0.057
过氧化苯甲酰	0.077	0.34	0.087	0.48	0.063	0.29
维甲酸	0.071	1.37	0.067	0.12	0.033	0.07

2.4 基质加标实验

按照 1.3.2 所述步骤处理空白化妆品，图 4 和图 5 分别在 240 nm 和 335 nm 采集波长条件下基质加标的色谱图，由图可知，化妆品基质并未干扰到目标物的定性。化妆品中添加不同浓度标样计算回收率结果见表 5。

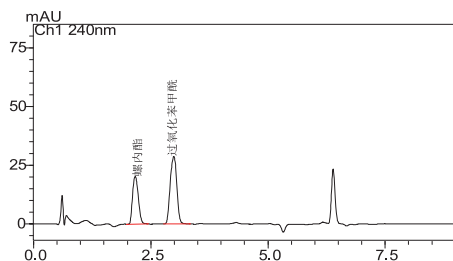


图 4 采集波长240 nm下加标螺内酯和过氧化苯甲酰5 mg/kg的色谱图

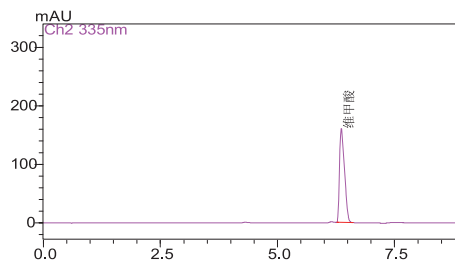


图 5 采集波长335 nm下加标维甲酸5 mg/kg的色谱图

表 5 加标样品回收率 (n=3)

编号	名称	加标含量1	回收率 1	加标含量2	回收率 2	检出限 (mg/kg)	定量限 (mg/kg)
		(mg/kg)	(%)	(mg/kg)	(%)		
1	螺内酯	5	94.4	20	98.2	0.11	0.37
2	过氧化苯甲酰	5	86.1	20	105.4	0.08	0.27
3	维甲酸	5	100.1	20	108.3	0.004	0.014

2.5 实际样品分析

按照上述所建立的分析方法，将该方法用于实际样品分析，并未检测到上述 3 种物质，色谱图如图 6 所示。

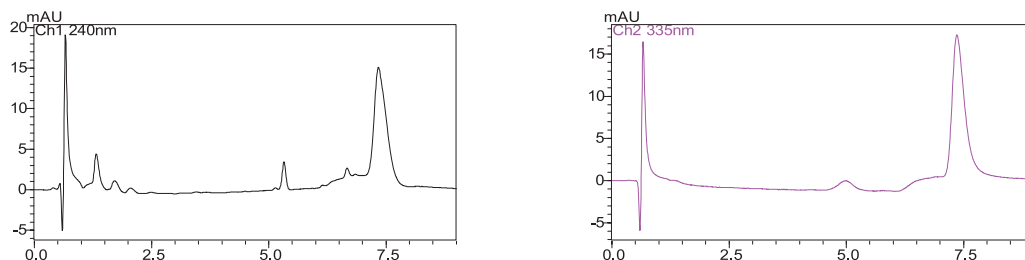


图 6 240 nm (左图) 和 335 nm (右图) 的样品色谱图

结论

本实验中使用岛津超高效液相色谱仪 (LC-30A)，建立了化妆品中三种非法添加剂含量测定的方法。在 5~100 $\mu\text{g/mL}$ 的浓度范围内三种物质具有良好的线性相关性，相关系数在 0.9994 以上，方法检出限在 0.004~0.11 mg/kg 之间，定量限在 0.014~0.37 mg/kg 之间，空白基质样品添加不同浓度，回收率范围为 86.1%~108.3%，结果表明方法准确可靠。

附录：3 种添加剂的中英文名称、分子式、相对分子质量及 CAS 登录号

中文名称	英文名称	分子式	相对分子质量	CAS 号
螺内酯	Spironolactone	$\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{O}_4\text{S}$	416.57	52-01-7
过氧化苯甲酰	Benzoyl peroxide	$\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{O}_4$	242.23	94-36-0
维甲酸	Tretinoin	$\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_2$	300.44	302-79-4