

双进样液相色谱仪测定化妆品中抗坏血酸磷酸酯镁等 11 种原料含量

LC-406

摘要： 本文使用岛津双进样液相色谱仪建立了快速测定化妆品中抗坏血酸磷酸酯镁等 11 种原料含量的方法。11 种原料组分 1.0-10.0 mg/L 浓度范围内，其相关系数大于 0.997，各浓度点的回读准确度在 92.4%~107.7% 之间，线性相关性良好。稳定性考察中，11 种组分的保留时间相和峰面积的相对标准偏差分别在 0.010~0.107% 和 0.077~3.137% 之间，仪器精密度良好。双进样液相色谱仪具有双进样口、独立双流路，可实现同时分析两组样品，既不改变法规方法又可实现分析快速，满足国家药监局 2023 年第 41 号通告中公布的《化妆品中抗坏血酸磷酸酯镁等 11 种原料的检测方法》的检测需求。

关键词： 双进样 液相色谱仪 抗坏血酸磷酸酯镁

技术特点：

- ❖ 该系统可实现双进样口、同时分析两组样品；满足标准规定，节省时间。
- ❖ 两组分析方法：不同流动相、不同梯度、不同进样体积，互不影响。

抗坏血酸磷酸酯镁为水溶性维生素 C 的衍生物，作为化妆品原料之一，在化妆品中广泛使用。抗坏血酸磷酸酯镁是一种酪氨酸酶抑制剂，对黑色素中间体起还原作用，可阻碍从酪氨酸 / 多巴色素互变酶至黑色素中个点上的氧化链反应，具祛斑美白作用。进入人体后可消除氧自由基，还可促进真皮胶原蛋白生成，从而达到去皱、抗衰老作用。抗坏血酸磷酸酯镁已经成为美白淡斑化妆品中常用的添加剂。为加强化妆品

的监督管理，我国《化妆品安全技术规范》对化妆品用抗坏血酸磷酸酯镁等原料的品种、使用范围和限制条件都做出了明确的规定。

本文参考国家药监局公布的《化妆品中抗坏血酸磷酸酯镁等 11 种原料的检测方法》，采用岛津双进样液相色谱仪建立测定化妆品中抗坏血酸磷酸酯镁等 11 种原料含量的液相分析方法。

■ 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津双进样液相色谱仪，具体配置为：

输 液 泵：LC-40B XR、
LC-40D XR (LPGE)

脱 气 机：DGU-405×2

自动进样器：SIL-40C XR

柱 温 箱：CTO-40C

系统控制器：CBM-40

检 测 器：SPD-M40×2

色谱工作站：LabSolutions Ver. 5.97

1.2 系统介绍

该系统有两套独立的色谱流路，共用一个自动进样器；自动进样器有两个进样口，可以将同一瓶号样品（或不同瓶号样品）分别注入两条色谱流路中，然后同时触发两条色谱流路同时进行数据采集。流路图如下：

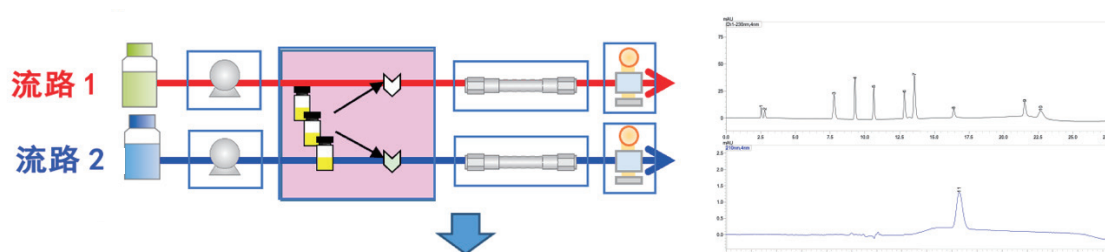


图 1 仪器流路图

- 注：1. 该系统具有两个独立液相流路，既可以同时使用，也可以单独使用。
2. 该系统也可配置两个四元系统、两个二元系统或者四元系统 + 二元系统。
3. 两个流路检测器可以配置紫外 + PDA；也可配置 PDA+PDA

1.3 分析条件

1.3.1 液相条件：第一组（G1），10种

- 色 谱 柱： Shim-pack GIST C18 (250 mm x 4.6 mm I.D., 5 μm),
(P/N:227-30017-08, 岛津（上海）实验器材有限公司)
- 流 动 相： A-0.02 mol/L 磷酸二氢钾溶液 B- 甲醇
- 流 速： 1.0 mL/min 柱 温： 25℃
- 进 样 体 积： 10 μL 洗 脱 方 式： 梯度洗脱（见表 1）
- 波 长： 烟酰胺为 230 nm、抗坏血酸磷酸酯镁、抗坏血酸葡萄糖苷、曲酸、3-邻-乙基抗坏血酸、
甲氧基水杨酸钾、鞣花酸为 250 nm、阿魏酸、4-丁基间苯二酚、苯乙基间苯二酚为
280 nm

表 1 第一组梯度洗脱时间程序

Time(min)	A(%)	B(%)
0	95	5
3	95	5
8	60	40
14	40	60
18	30	70
25	95	5
30	95	5

1.3.2 液相条件：第二组（G2），凝血酸

- 色 谱 柱： Shim-pack GIST C18 (250 mm x 4.6 mm I.D., 5 μm),
(P/N:227-30017-08, 岛津（上海）实验器材有限公司)
- 流 动 相： A-0.05 mol/L KH₂PO₄-0.2% H₃PO₄ 溶液 B- 甲醇
- 流 速： 1.0 mL/min 柱 温： 30℃
- 波 长： 210 nm 进 样 体 积： 20 μL
- 洗 脱 方 式： 等度洗脱（洗脱程序见表 2）

表 2 第二组梯度洗脱时间程序

Time(min)	A(%)	B(%)
0	85	15
15	85	15

1.4 混合标准溶液配置

标准工作溶液：量取已配好的混合标准储备溶液 1 mL，鞣花酸标准溶液 2.5 mL，至于 10 mL 容量瓶中，用纯水稀释至刻度，配制成浓度为 1.0、2.0、5.0、10.0、25.0 和 50.0 $\mu\text{g/mL}$ 的标准工作溶液。

1.5 样品前处理方法

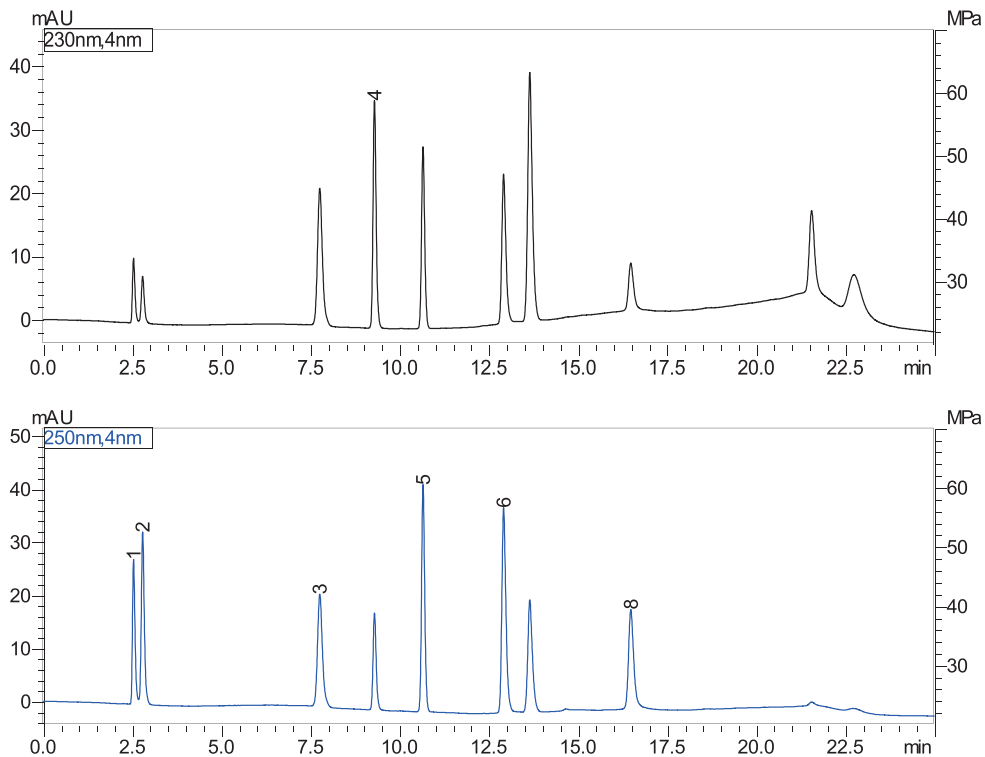
组 I：称取样品 0.5 g（精确到 0.0001 g）于 15 mL 具塞比色管中，加甲醇-水（1+1）溶液至约 9 mL，涡旋分散，超声提取 20 min，冷却至室温，转移到 10 mL 容量瓶中，加 5% 甲醇定容至刻度，混匀后转移至离心管中，以 12000 r/min 的转速离心 15 min，取上清液经 0.22 μm 滤膜过滤，滤液作为待测溶液。

组 II：称取样品 0.5 g（精确到 0.0001 g）于 15 mL 具塞比色管中，加 5% 甲醇溶液至约 9 mL，涡旋分散，超声提取 10 min，冷却至室温，转移到 10 mL 容量瓶中，加 5% 甲醇定容至刻度，混匀后转移至离心管中，以 12000 r/min 的转速离心 10 min，取上清液经 0.22 μm 滤膜过滤，滤液作为待测溶液。

■ 结果与讨论

2.1 标准溶液色谱图

混合标准溶液 10 $\mu\text{g/mL}$ 的色谱图如图 2-3 所示，化合物编号同表 3



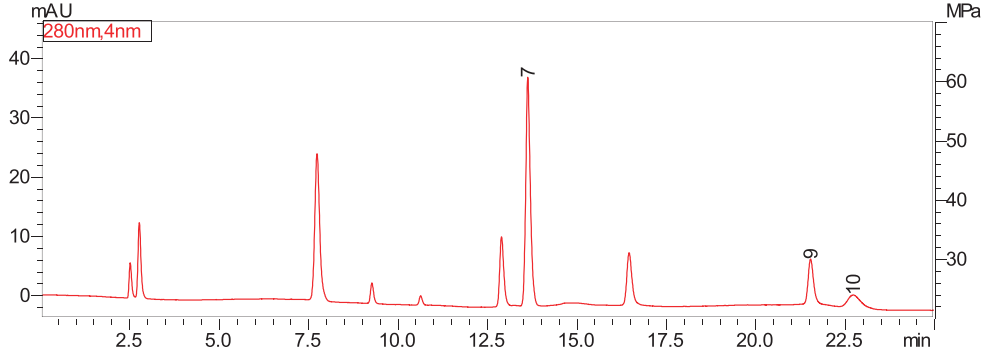


图 2 10 µg/mL 标准品溶液色谱图 (流路 1)

(第一组, 1. 抗坏血酸磷酸酯镁、2. 抗坏血酸葡萄糖苷、3. 曲酸、4. 烟酰胺、5.3- 邻- 乙基抗坏血酸、6. 甲氧基水杨酸钾、7. 阿魏酸 8. 鞣花酸、9.4- 丁基间苯二酚、10. 苯乙基间苯二酚)

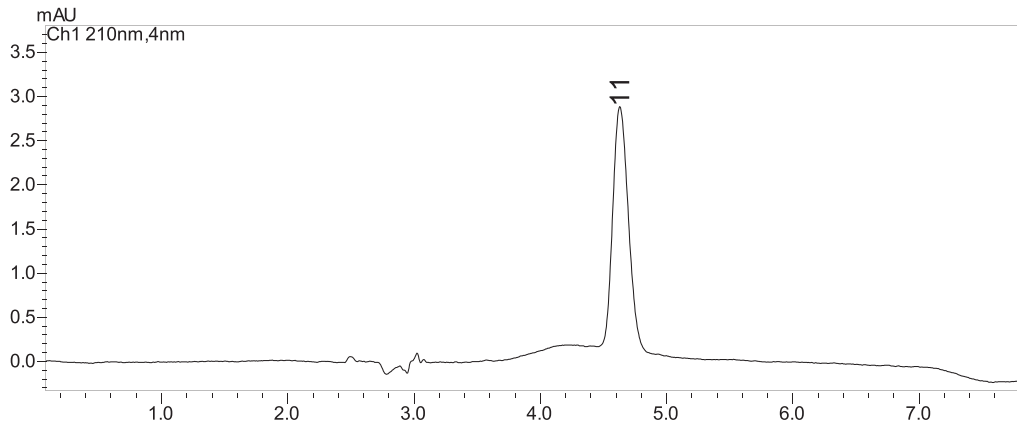
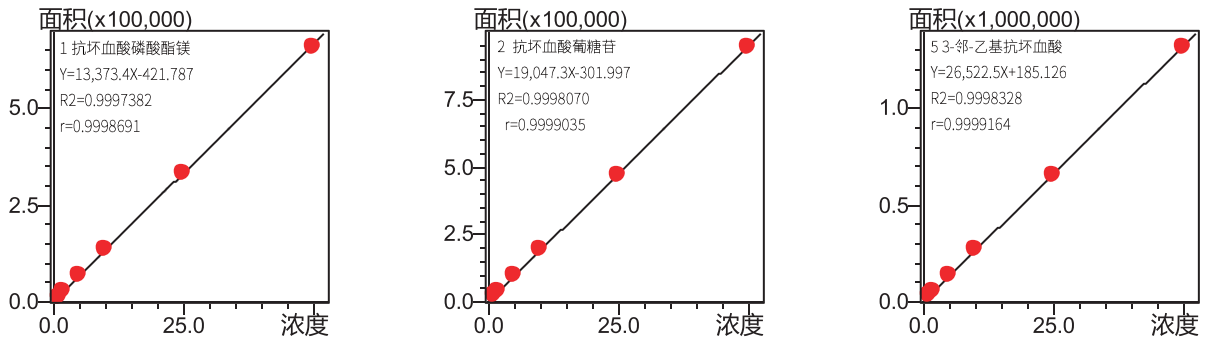


图 3 50 µg/mL 标准品溶液色谱图 (流路 2) (第二组: 11. 凝血酸)

2.2 线性范围

将不同浓度的标准品溶液, 按 1.3 中的分析条件进行测定, 以浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 采用外标法建立校准曲线, 部分化合物结果如图 4 所示。在 1.0~10.0 mg/L 浓度范围内, 具有较好的线性关系, 线性相关系数 > 0.997, 具体结果见表 3。



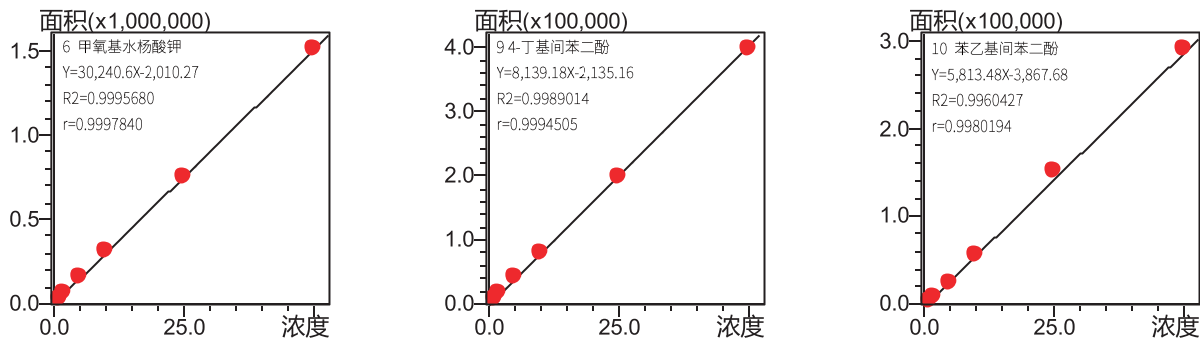


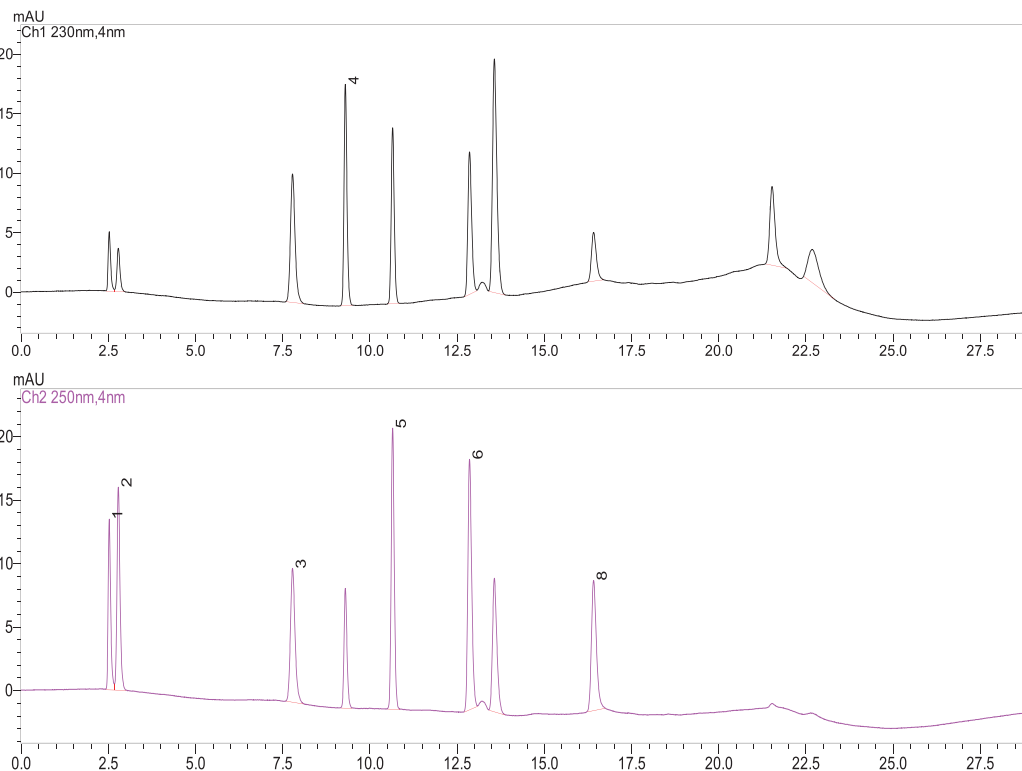
图 4 部分化合物的校准曲线

2.3 精密度实验

不同浓度的标准品溶液连续进样 6 次，用于考察仪器的精密度，保留时间和峰面积的重复性结果如表 3 所示。结果显示，保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.010~0.107% 和 0.077~3.137% 之间，仪器精密度良好。

2.4 加标回收率测试

取化妆品样品（本底样品经测试未检出抗坏血酸磷酸酯镁等 11 种化合物）加入一定浓度的标液（加标浓度如表 3 所示），按照 1.5 中样品制备方法，每个浓度平行制备 3 份样品。加标回收率测试结果显示：抗坏血酸磷酸酯镁等 11 种化合物的样品加标回收率在 86.6%~111.3% 之间，满足标准测试要求，样品加标色谱图见图 5、图 6，结果如表 3。



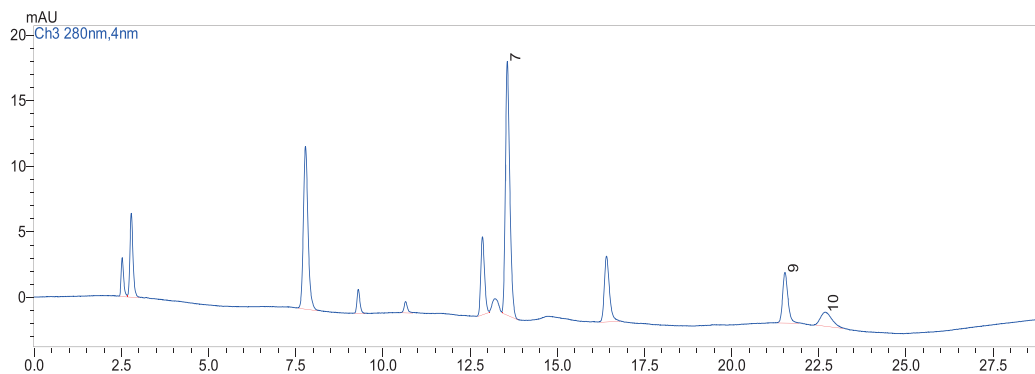


图5 样品加标色谱图 (100 µg/g)

(第一组, 1. 抗坏血酸磷酸酯镁、2. 抗坏血酸葡萄糖苷、3. 曲酸、4. 烟酰胺、5. 3-邻-乙基抗坏血酸、6. 甲氧基水杨酸钾、7. 阿魏酸 8. 鞣花酸、9. 4-丁基间苯二酚、10. 苯乙基间苯二酚)

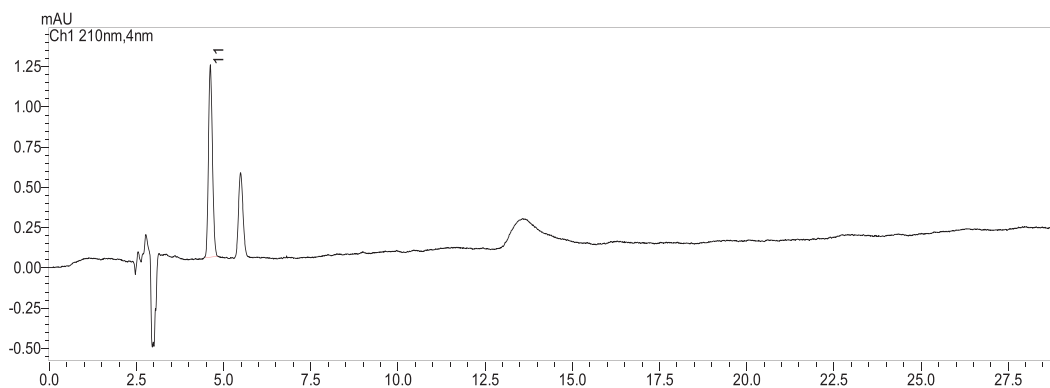


图6 样品加标色谱图 (100 µg/g) (第二组: 11. 凝血酸)

■ 结论

本文使用岛津双进样液相色谱仪建立快速测定抗坏血酸磷酸酯镁等 11 种原料含量的方法, 并考察了线性、重复性、加标回收率, 可以满足国家药监局发布的检测方法《化妆品中抗坏血酸磷酸酯镁等 11 种原料的检测方法》的检测需求。双进样液相色谱仪可实现同时分析两组样品, 并且两组方法互不干扰; 在不改变法规方法同时提升分析效率, 可供相关行业参考。

岛津应用云

