

单片式面膜中6种防腐剂的高效液相色谱法测定

胡佳¹, 赖源发¹, 陈君怀¹, 庄峙厦²

(1. 厦门华夏学院检验科学与技术系, 福建 厦门 361024;

2. 厦门大学化学化工学院, 福建 厦门 361005)

摘要: 建立了同时测定单片式面膜中苯甲酸、山梨酸、脱氢乙酸、苯氧乙醇、氯苯甘醚和碘丙炔醇丁基氨基甲酸酯6种防腐剂的高效液相色谱方法。面膜经50% (体积分数) 甲醇提取, 采用C₁₈色谱柱, 以甲醇和乙酸铵溶液(0.02 mol·L⁻¹)为流动相进行梯度洗脱, 流速为1.0 mL·min⁻¹, 柱温30℃, 苯甲酸、山梨酸、氯苯甘醚、苯氧乙醇和碘丙炔醇丁基氨基甲酸酯的检测波长为235 nm, 脱氢乙酸的检测波长为295 nm。6种防腐剂浓度在0.5~20 μg·mL⁻¹范围内与峰面积均呈现良好的线性关系, 方法的加标回收率为88.1%~105.3%, 相对标准偏差为1.7%~2.8%。方法操作简便、快速, 重复性好, 灵敏度高, 可用于面膜中6种防腐剂的测定。

关键词: 高效液相色谱法; 防腐剂; 面膜

中图分类号: O657.7

文献标识码: A

Simultaneous determination of six preservatives in facial mask by high performance liquid chromatography

HU Jia¹, LAI Yuanfa¹, CHEN Junhuai¹, ZHUANG Zhixia²

(1. Department of Science and Technology for Inspection, Xiamen Huaxia University, Xiamen, Fujian 361024, China;

2. College of Chemistry and Chemical Engineering, Xiamen University, Xiamen, Fujian 361005, China)

Abstract: The high performance liquid chromatographic method was developed for the simultaneous determination of six preservatives (benzoic acid, sorbic acid, dehydro acetic, phenoxyethano, chlorphenesin, iodopropynyl butylcarbamate) in facial mask. The samples were extracted with 50% (volume fraction) methanol, and then separated on a C₁₈ chromatographic column by gradient elution at a flow rate of 1.0 mL·min⁻¹ with methanol - ammonium acetate solution as the mobile phase. The column temperature was 30℃. The wavelength of detection for benzoic acid, sorbic acid, phenoxyethano, chlorphenesin, iodopropynyl butylcarbamate was 235 nm, but for dehydroacetic acid was 295 nm. In the range of 0.5 to 20 μg·mL⁻¹ the peak area of six preservatives showed a good linear relationship, the recoveries were 88.1% to 105.3% with the relative standard deviations 1.7% to 2.8%. The method is simple, rapid, accurate and sensitive, which can be used for determination of six preservatives in facial mask.

Keywords: high performance liquid chromatography; preservative; facial mask

0 引言

单片式面膜凭借其快速的护肤效果已成为现今女性最喜爱的面部保养品之一。然而,面膜中丰富的水分及营养物质为微生物的生长繁殖提供了有利条件,使面膜容易被微生物污染而腐败变质。为了防止在生产、使用及保质期内发生腐败变质,损害消费者的健康,绝大多数产商都在面膜中添加了一定量的防腐剂^[1-2],而大多数防腐剂对人体有一定毒性,有可能导致过敏性接触传染和过敏性皮炎^[3],因此面膜中防腐剂的用量必须以安全性为前提,我国《化妆品卫生规范》对化妆品中允许使用的防腐剂均有限量规定^[4]。

收稿日期: 2015-06-17

通讯作者: 胡佳(1986-),讲师,主要从事食品安全检测的研究, sphj@hxxy.edu.cn

基金项目: 福建省科技重大专项专题资助项目(2011YZ0001-1); 福建省教育厅科技项目(JA13451)

目前国内外对化妆品中防腐剂的测定通常使用高效液相色谱法、气相色谱法、气相色谱-质谱联用法和薄层色谱法等^[1]。同时测定化妆品中多种防腐剂多采用气相色谱-质谱法^[5]，而使用高效液相色谱法同时测定化妆品中多种防腐剂的文献报道较少^[6]，尤其对面膜中多种防腐剂的测定方法未曾见报道。

研究建立了高效液相色谱法对单片式面膜中苯甲酸、山梨酸、脱氢乙酸、苯氧乙醇、氯苯甘醚和碘丙炔醇丁基氨基甲酸酯 6 种防腐剂同时进行检测的方法，方法简单，操作简便，灵敏度高，重复性好，为面膜中防腐剂的检测 and 产品质量控制提供科学依据和技术支持。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

LC-20A 高效液相色谱仪(日本岛津公司)，配二极管阵列检测器(PDAD)和自动进样器；IKA MS3 涡旋振荡器(德国 IKA 公司)；KQ5200DE 超声波清洗器(昆山超声清洁仪器公司)；MILLI-Q 超纯水机(美国 MILLIPORE 公司)。

苯甲酸、山梨酸、脱氢乙酸、苯氧乙醇、氯苯甘醚、碘丙炔醇丁基氨基甲酸酯对照品(中国药品生物制品检定所，纯度均为 99%)；甲醇(色谱纯，美国 MERCK 公司)；乙酸铵为分析纯；水为超纯水。

1.2 对照品溶液

精密称取苯甲酸、山梨酸、脱氢乙酸、苯氧乙醇、氯苯甘醚和碘丙炔醇丁基氨基甲酸酯对照品适量，配制成 1.0 mg · mL⁻¹ 标准储备溶液，再将标准储备溶液逐级稀释，制成浓度分别为 0.5、1、2、5、10、20 μg · mL⁻¹ 的混合标准溶液。

1.3 供试品溶液

将面膜剪碎成约 5 mm × 5 mm 面积的小片，称取样品 0.50 g 置于 50 mL 具塞离心管中，加入 50% (体积分数，下同) 甲醇 30 mL，涡旋 5 min，超声提取 20 min，再用 50% 甲醇定容至 50 mL，经 0.45 μm 微孔滤膜过滤，待测。

1.4 色谱条件

色谱柱: Inertsil ODS - C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm)；流动相: 甲醇(A)、0.02 mol · L⁻¹ 乙酸铵溶液(B)，梯度洗脱程序见表 1；流速: 1.0 mL · min⁻¹；进样量: 10 μL；检测波长: 苯甲酸、山梨酸、氯苯甘醚、苯氧乙醇和碘丙炔醇丁基氨基甲酸酯为 235 nm，脱氢乙酸为 295 nm；柱温: 30 °C。

表 1 梯度洗脱程序

Tab. 1 Gradient elution program

t / min	φ _A / %	φ _B / %
0	5	95
7	5	95
12	10	90
50	40	60
55	5	95

2 结果与讨论

2.1 提取溶剂的选择

实验测定的 6 种防腐剂包含酸类、醇类、醚类和酯类，极性有所不同^[7-10]，需要选择一种适当的溶剂，将需要的目标成分提取出来。实验分别考察了不同浓度(30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%) 甲醇溶液的提取效率，结果表明甲醇浓度为 50% 时对 6 种防腐剂的提取效率最好(见图 1)，因此选用 50% 甲醇溶液作为提取溶剂。

2.2 测定波长的选择

含有 6 种防腐剂的混合标准溶液进行色谱分离后，采用二极管阵列检测器采集波长 210 ~ 350 nm 的紫外吸收谱图，对不同波长的色谱图进行分

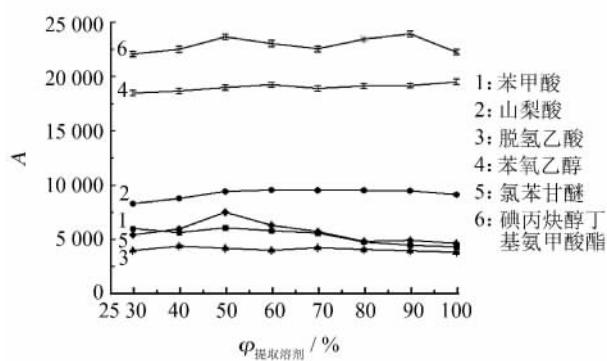


图 1 不同浓度溶剂的提取效率

Fig. 1 Extraction efficiency of different concentrations of solvents

析,选出合适的测定波长.最终确定苯甲酸、山梨酸、氯苯甘醚、苯氧乙醇和碘丙炔醇丁基氨甲酸酯的检测波长为235 nm,脱氢乙酸的检测波长为295 nm(见图2).

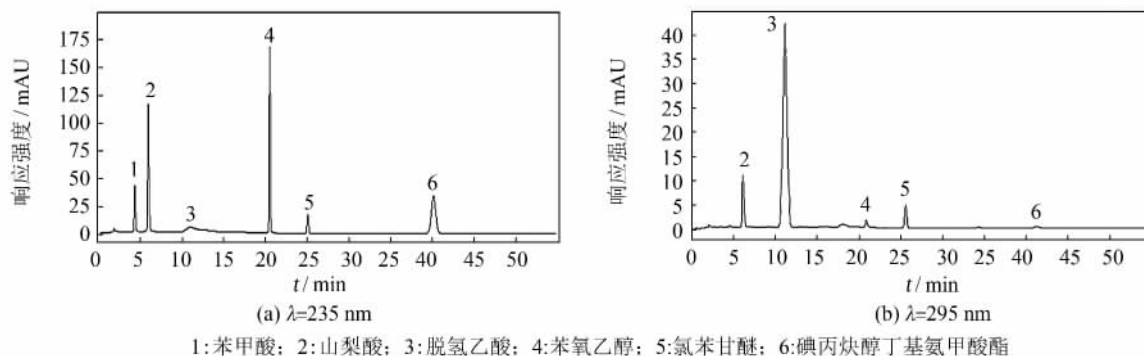


图2 不同检测波长下混合标准溶液的色谱图

Fig.2 Chromatograms of mixed standard solution with different wavelength

2.3 流动相的选择

不同的流动相对防腐剂有着不同的分离选择性和洗脱强度.实验考察了乙腈-水体系和甲醇-水体系,结果表明两种体系对目标化合物的洗脱分离效果相近,考虑乙腈毒性大于甲醇,且乙腈价格较高,选择甲醇-水体系.苯甲酸、山梨酸和脱氢乙酸在无缓冲盐的情况下拖尾现象较为严重,峰形较差.通过实验发现,采用 $0.02 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的乙酸铵溶液可有效改善苯甲酸、山梨酸和脱氢乙酸的峰形和拖尾现象,能得到较好的分离效果,因此使用甲醇和 $0.02 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 乙酸铵溶液作为流动相.

2.4 洗脱方式的选择

现有关于防腐剂分析的液相色谱法,大多采用等度洗脱,由于面膜中组分复杂且需要分离的防腐剂种类比较多,如果采用等度洗脱,难以将目标物与杂质分离,通过多次试验,采用梯度洗脱方式,逐渐增大甲醇的含量,可以有效实现目标物和杂质的分离.

2.5 线性关系与检出限

将质量浓度为 $0.5, 1, 2, 5, 10, 20 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的混合标准溶液,按测定条件浓度由低到高依次进样分析,以峰面积为横坐标,目标物的质量浓度为纵坐标建立标准曲线,6种防腐剂在 $0.5 \sim 20 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内峰面积(x)与浓度(y)呈良好的线性关系.以3倍信噪比($S/N=3$)确定检出限,6种防腐剂的线性方程、回归系数和检出限见表2.陆军等^[7]采用气相色谱法同时测定化妆品中苯甲酸、山梨酸、脱氢乙酸、苯氧乙醇,检出限分别为 $10, 6, 6, 1.5 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,朱会卷等^[8]采用高效液相色谱法测定化妆品中的氯苯甘醚,检出限为 $0.3 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,赵玥等^[3]采用高效液相色谱法测定化妆品中的碘丙炔醇丁基氨甲酸酯,检出限为 $0.003 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,可以看出,本法作为同时测定此6种防腐剂的检测方法除碘丙炔醇丁基氨甲酸酯外灵敏度都更高.

表2 6种防腐剂的线性回归方程、相关系数及检出限

Tab.2 Regression equations, correlation coefficients and detection limits of 6 kinds of preservatives

化合物	线性方程	线性系数	检出限/ $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$
苯甲酸	$y = 2.1651 \times 10^{-5}x + 0.4505$	0.9998	0.20
山梨酸	$y = 6.3036 \times 10^{-6}x + 0.2245$	0.9998	0.25
脱氢乙酸	$y = 3.3584 \times 10^{-5}x + 0.4422$	0.9993	0.40
苯氧乙醇	$y = 2.1944 \times 10^{-4}x - 6.0336$	0.9994	0.50
氯苯甘醚	$y = 3.2582 \times 10^{-5}x + 3.0038$	0.9996	0.05
碘丙炔醇丁基氨甲酸酯	$y = 7.8678 \times 10^{-4}x - 8.3533$	0.9996	0.05

2.6 重复性试验

取供试品(批号20141011)按上述供试品的制备方法,平行制备6份溶液,日内进样测定6次,计算

苯甲酸、山梨酸、脱氢乙酸、苯氧乙醇、氯苯甘醚、碘丙炔醇丁基氨基甲酸酯 6 种防腐剂平均含量分别为 54.1、87.4、28.1、41.2、61.5、51.8 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, RSD 为 2.33%、3.12%、2.25%、1.98%、3.78%、2.65%, 文献 [7-8] 中重复性实验日内 RSD 大多在 0.17%~4.7%, 表明该方法日内重复性良好。

2.7 回收率与精密度

取已知含量供试品(批号 20141011), 进行添加回收率的测定, 在低、中、高 3 个加标水平下, 每个水平平行测定 6 次, 6 种防腐剂的平均回收率为 88.1%~105.3%, 相对标准偏差为 1.7%~2.8%, 结果见表 3。

表 3 6 种防腐剂的回收率和相对标准偏差
Tab.3 Recovery and RSD of 6 kinds of preservatives

化合物	$w_{\text{添加}} / \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$			平均回收率 / %			RSD / %		
	低	中	高	低	中	高	低	中	高
苯甲酸	20	50	100	94.6	95.3	93.0	2.1	1.9	1.8
山梨酸	20	50	100	97.6	95.2	94.8	1.7	1.6	2.1
脱氢乙酸	20	50	100	105.2	104.1	105.3	2.6	2.8	1.9
苯氧乙醇	20	50	100	96.2	98.8	95.2	2.2	1.7	2.1
氯苯甘醚	20	50	100	88.7	89.2	88.1	2.7	2.5	2.6
碘丙炔醇丁基氨基甲酸酯	20	50	100	92.3	95.0	93.8	2.2	2.0	2.5

2.8 实际样品检测结果

用本文方法对 10 种市场销售的面膜样品进行测定, 结果如表 4 所示。从测定结果可以看出, 所有面膜中均测出含有防腐剂, 且绝大多数都含有苯甲酸、苯氧乙醇和氯苯甘醚。但在有些品牌面膜的成分构成表中并未标注这些防腐剂成分, 说明我国的面膜市场还未规范, 有待改进。

表 4 10 种不同品牌面膜中防腐剂的含量
Tab.4 Content of 6 kinds of preservatives in 10 different brands

样品批号	$w_{\text{苯甲酸}} / \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	$w_{\text{山梨酸}} / \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	$w_{\text{脱氢乙酸}} / \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	$w_{\text{苯氧乙醇}} / \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	$w_{\text{氯苯甘醚}} / \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	$w_{\text{碘丙炔醇丁基氨基甲酸酯}} / \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$
20141011	54.1	87.4	28.1	41.2	61.5	51.8
20140831	56.1	ND	ND	54.2	87.8	ND
20141011	53.3	ND	ND	55.5	28.8	ND
458572D746AB	52.2	ND	ND	ND	41.0	ND
20140611	53.3	ND	ND	45.0	61.6	ND
N112320141004	55.4	41.3	ND	56.5	42.3	ND
20140910	57.8	ND	ND	59.3	43.3	ND
20140412	53.1	ND	ND	58.2	53.0	ND
20140714	55.6	ND	ND	35.2	74.3	88.7
20130617	57.7	ND	ND	50.0	35.6	ND

注 “ND”代表未检出

为验证方法的可靠性, 取供试品(批号 20141011) 同时按 6 种防腐剂的国家标准方法^[4, 11-14] 分别测定含量, 结果列于表 5。结果表明: 本法测定结果仅略低于标准方法测定结果, 原因可能为不同品牌和种类的仪器灵敏度不同对测定结果造成的影响。鉴于本法与标准方法差异不大, 可用于面膜中 6 种防腐剂含量的测定。

表 5 本法与标准方法测定结果比较
Tab.5 Comparison of results between the method of this paper and the standard method

化合物	$w_{\text{本方法}} / \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	$w_{\text{标准方法}} / \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$
苯甲酸	54.1	55.1
山梨酸	87.4	88.2
脱氢乙酸	28.1	28.7
苯氧乙醇	41.2	41.9
氯苯甘醚	61.5	62.3
碘丙炔醇丁基氨基甲酸酯	51.8	52.9

(转第 281 页)

- [3] 谢瑞生,章之蓉,张德俊,等. 超声波对鱼卵孵化影响的研究[J]. 声学学报,1992(2): 135-140.
- [4] 蒙子宁,洪万树,王清池,等. 超声波对4种海水鱼类受精卵孵化的影响[J]. 厦门大学学报(自然科学版),2001,40(3): 832-834.
- [5] 方金,丁春林,钱卫国. 超声波在水产养殖中的应用[J]. 渔业现代化,2007,34(6): 17-20.
- [6] 郑君明,张曦,郑斌. 鱼饲料消化率测定方法的研究[J]. 江西饲料,2002(5): 23-27.
- [7] 陈廷超,邓红权,章之蓉. 超声波对鱼消化酶活性影响的初探[C]//首届粤港生物物理学术研讨会论文集. 广州: 广州出版社,1999.
- [8] WYBER J A, ANDREWS J, DEMANUELE A. The use of sonication for the efficient delivery of plasmid DNA into cells[J]. *Pharmaceutical Research*, 1997, 14(6): 750-756.
- [9] SINISTERRA J V. Application of ultrasound to biotechnology: an overview[J]. *Ultrasonics*, 1992, 30(3): 180-185.
- [10] 方金,钱卫国,周应祺. 超声波对尼罗罗非鱼幼鱼生长的影响[J]. 大连水产学院学报,2009(增刊1): 147-152.
- [11] 王清池,周时强,李文权. 声波与水生生物[J]. 海洋科学,1998(6): 15-17.
- [12] 冯若,赵逸云,李化茂,等. 超声在生物技术中应用的研究进展[J]. 生物化学与生物物理进展,1994(6): 500-503.
- [13] 周永灿,黄晖,苏永全,等. 超声波对青石斑鱼体表吸收氯霉素能力的影响[J]. 海洋科学,2001,25(3): 17-20.
- [14] 王清池,周时强,田越,等. 超声波对对虾无节幼体变态的影响[J]. 海洋科学,1999(5): 15-17.
- [15] 王育慷. 超声波原理与现代应用探讨[J]. 贵州大学学报(自然科学版),2005,22(3): 287-290.
- [16] CARSTENSEN E L, MILLER M W, LINKE C A. Biological effects of ultrasound[J]. *Journal of Biological Physics*, 1974, 2(4): 173-192.

(责任编辑: 洪江星)

—————
(接第276页)

3 结论

实验建立了高效液相色谱法同时测定单片式面膜中苯甲酸、山梨酸、脱氢乙酸、苯氧乙醇、氯苯甘醚和碘丙炔醇丁基氨基甲酸酯6种防腐剂的方法,操作简便、快速,灵敏度高,重复性好,可用于面膜中防腐剂的含量测定。

参考文献:

- [1] 庄晓梅,赵冬梅,韩淑琴. 化妆品防腐剂及其检测技术研究进展[J]. 日用化学品科学,2011,34(11): 38-42.
- [2] 王友升,朱昱燕,董银卯. 化妆品用防腐剂的研究现状及发展趋势[J]. 日用化学品科学,2007,30(12): 15-18.
- [3] 赵玥,李琼,张婉萍,等. 高效液相色谱法对化妆品中低浓度碘丙炔醇丁基氨基甲酸酯(IPBC)的检测[J]. 化学世界,2011,52(2): 87-91.
- [4] 中华人民共和国卫生部. 化妆品卫生规范(2007) [S]. 北京: 中国标准出版社,2007.
- [5] 李英,刘丽,刘志红. 气相色谱-质谱法测定化妆品中多种防腐剂[J]. 色谱,2003,21(2): 170-173.
- [6] 武婷,王超,王星,等. 反相高效液相色谱法测定化妆品中的24种防腐剂[J]. 分析化学,2007,35(10): 1439-1443.
- [7] 陆军,矫筱蔓,佟晓波,等. 气相色谱法同时测定化妆品中15种防腐剂[J]. 日用化学工业,2012,42(2): 146-149.
- [8] 朱会卷,张卫强,杨艳伟,等. 高效液相色谱分析化妆品中的防腐剂氯苯甘醚[J]. 色谱,2014,32(1): 95-99.
- [9] 徐惠金,奚星林,林海丹. 化妆品中苯甲酸、山梨酸、水杨酸和苯氧乙醇的测定[J]. 现代测量与实验室管理,2012,20(3): 6-7.
- [10] 马强,王超,白桦,等. 化妆品中碘丙炔醇丁基氨基甲酸酯的高效液相色谱检测及质谱确证[J]. 分析实验室,2009,28(10): 56-58.
- [11] 国家食品药品监督管理局. 化妆品中苯甲酸及其盐的检测方法: 国食药监许[2011]96号附件11[S/OL]. (2011-02-21) [2015-05-15]. <http://www.sda.gov.cn/WS01/CL0846/58801.html>.
- [12] 国家食品药品监督管理局. 化妆品中山梨酸和脱氢乙酸的检测方法: 食药监办[2013]21号附件12[S/OL]. (2013-05-27) [2015-05-15]. <http://www.sda.gov.cn/WS01/CL0846/81086.html>.
- [13] 国家食品药品监督管理局. 化妆品中氯苯甘醚的检测方法: 食药监办[2013]21号附件9[S/OL]. (2013-05-27) [2015-05-15]. <http://www.sda.gov.cn/WS01/CL0846/81086.html>.
- [14] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. 化妆品中碘丙炔醇丁基氨基甲酸酯的测定-气相色谱法: GB/T 31407-2015[S]. 北京: 中国标准出版社,2015.

(责任编辑: 洪江星)

<http://xbzrb.fzu.edu.cn>