

HPLC 法测定化妆品中十六种邻苯二甲酸酯类化合物

作者

辽宁省食品药品检验所 辽宁沈阳 110023

……… 佟晓波 李莹 矫筱曼 陆军 庞燕军

作者简介

佟晓波(1983—),女,辽宁省食品药品检验所在职研究生,主要从事化妆品检验与研究工作。

E-mail: bobo831125@126.com

摘要

建立了以高效液相色谱测定化妆品中十六种邻苯二甲酸酯类化合物的分析方法。采用 Diamonsil C8 (250 × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱,以甲醇-乙腈-0.2% 三乙胺水溶液为流动相,梯度洗脱,流速 0.9 mL/min,柱温 25 °C,检测波长 280 nm。方法的平均加样回收率均在 90% ~ 110% 之间,在 0.1 ~ 0.8 mg/mL 范围内呈良好线性关系,相关系数均大于 0.999。该方法分离效果好,灵敏度高,能够满足化妆中 16 种邻苯二甲酸酯类化合物的检测需要。

关键词

邻苯二甲酸酯 化妆品 高效液相色谱法 塑化剂

Determination of 16 Kinds of Phthalic Esters in Cosmetics by HPLC

TONG Xiaobo LI Ying JIAO Xiaoman LU Jun PANG Yanjun

(Liaoning Institute for Drug and Food Control, Shenyang, Liaoning 110023, China)

Abstract: An analytical method for determination of 16 kinds of phthalic esters by HPLC in cosmetics was established in this paper. The chromatographic separation was achieved on a Diamonsil C8(250 × 4.6 mm, 5 μm) column with methanol-acetonitrile-0.2% triethylamine aqueous solution as mobile phase. The flow rate was 0.9 mL/min, the column temperature was maintained at 25 °C, and the detective wavelength was set at 280 nm. The average recovery of method was 90% - 110%, the linear range was 0.1 mg/mL - 0.8 mg/mL, and $r > 0.999$. The method can satisfy the testing needs of 16 kinds of phthalic esters in cosmetics with good separation efficiency and high sensitivity.

Key words: PAEs cosmetics HPLC plasticizer

邻苯二甲酸酯,又称酞酸酯,缩写 PAE,是由邻苯二甲酸形成的酯的统称。欧盟及美、日等国家均已将此类化合物列为优先控制的污染物^[1]。化妆品中邻苯二甲酸酯应用较多的产品有香水、指甲油、头发喷雾剂、香波、洗涤用品等,主要用作塑型剂,还作为一些产品的溶剂和芳香物的固定液^[2]。研究表明,邻苯二甲酸酯可干扰内分泌,使男性精子数量减少、运动能力低下、形态异常,严重的还会导致死精症和睾丸癌,是造成男性生殖问题的“罪魁祸首”^[3]。人类与化妆品接触的亲密程度仅次于食品,目前对其主要采用液质联用、气质联用手段进行检验,现已有采用液相色谱同时检测 10 种邻苯二甲酸酯类化合物^[4]的报道。就目前我国基层检

验机构现状而言,液相色谱仪普及度高,因此建立化妆品中邻苯二甲酸酯类的液相色谱检测方法,对维护消费者的健康权益具有重要的意义。本文采用高效液相色谱法同时测定化妆品中常见的十六种邻苯二甲酸酯。

1 仪器和试剂

仪器: Agilent 1260 高效液相色谱仪(包括 DAD 检测器,脱气机,四元泵,柱温箱,配 Agilent ChenStation 色谱工作站及自动进样器),安捷伦公司; AS5150A 超声波清洗器,天津奥特赛恩斯公司; GT10-1 型高速离心机,北京时代北利离心机有限公司; XS105DU 型电子天平,梅特勒-托利多仪器有限公司。

对照品: 邻苯二甲酸二甲酯(DMP)、邻苯二甲酸二乙酯(DEP)、邻苯二甲酸二正丙酯(DPRP)、邻

苯二甲酸二异丙酯(DIPP)、邻苯二甲酸二正丁酯(DBP)、邻苯二甲酸二正戊酯(DAP)、邻苯二甲酸二正己酯(DNHP)、邻苯二甲酸二庚酯(DHP)、邻苯二甲酸双(1-辛基)酯(DOP)、邻苯二甲酸二壬酯(DNP)、邻苯二甲酸二癸酯(DIDP)、邻苯二甲酸双十一烷酯(DUP)、邻苯二甲酸丁基苄酯(BBP)、邻苯二甲酸二环己酯(DCHP)、邻苯二甲酸二甲苯酯(DMEP)、邻苯二甲酸二苯酯(DPP),均购自 Dr. Ehrenstorfer GmbH。

试剂: 甲醇(色谱纯)、乙腈(色谱纯)、纯水、三乙醇胺(分析纯)。

2 方法和结果

2.1 溶液的制备

(1) 标准溶液的制备。混合标准储备溶液(1 mg/mL): 分别精密称取上述 16 种邻苯二甲酸酯类化合物标准品各 50 mg 置于同一 50 mL 容量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得混合标准储备溶液。移取上述标准储备液 1.0、2.0、4.0、6.0、8.0 mL 于 10 mL 容量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 配制成浓度为 0.1、0.2、0.4、0.6、0.8 mg/mL 的系列混合标准溶液。

(2) 供试品溶液的制备 精密称取 0.5 g 供试品 精确至 0.01 g, 置 10 mL 具塞玻璃离心管中, 加入

甲醇稀释至刻度, 摇匀, 超声提取 20 min, 离心, 取上清液经 0.45 μm 滤膜过滤, 滤液作为待测样液备用。

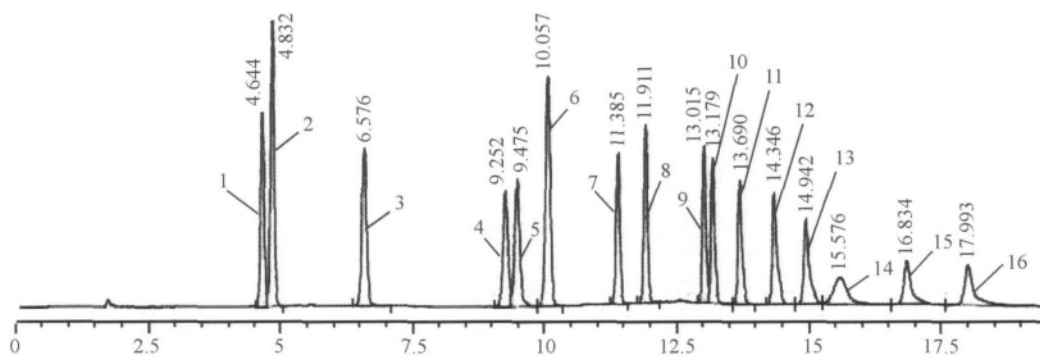
2.2 色谱条件及系统适应性

色谱柱: Diamonsil C₈ (250 × 4.6 mm 5 μm)。流动相: 甲醇-乙腈-0.2% 三乙胺水溶液, 梯度洗脱, 洗脱程序见表 1。流速: 0.9 mL/min。检测器: 二极管阵列检测器 检测波长为 280 nm。

表 1 流动相甲醇-乙腈-0.2% 三乙胺水溶液梯度洗脱程序

时间/min	甲醇/%	乙腈/%	0.2% 三乙胺水溶液/%
0	0	70	30
4	0	70	30
9	100	0	0
14	100	0	0
16	65	0	35
25	65	0	35

考察了不同色谱柱, 发现 16 种邻苯二甲酸酯类化合物在 C₈ 柱上可得到有效分离, 并能在 20 min 内出峰。标样色谱图见图 1。采用乙腈-甲醇-0.2% 三乙胺水溶液作为流动相, 并进行梯度洗脱, 取得了良好的分离效果。



1-DMEP(4.644); 2-DMP(4.832); 3-DEP(6.576); 4-DIPP(9.252); 5-DPRP(9.475); 6-DPP(10.057); 7-BBP(11.385); 8-DBP(11.911); 9-DCHP(13.015); 10-DAP(13.179); 11-DNHP(13.690); 12-DHP(14.346); 13-DOP(14.942); 14-DNP(15.576); 15-DIDP(16.834); 16-DUP(17.993)

图 1 16 种邻苯二甲酸酯的标样色谱图

2.3 方法的线性和检出限

在上述色谱条件下, 分别取 5 μL 系列混合标准溶液进行分析, 以邻苯二甲酸酯的质量浓度为横坐标, 以邻苯二甲酸酯的峰面积为纵坐标, 进行线性回归。16 种邻苯二甲酸酯在 0.1 ~ 0.8 mg/mL 的范围内, 峰面积与质量浓度线性关系良好, 相关系数 *r* 均大于 0.999。检出限以 3 倍信噪比(*S/N* ≥ 3) 计算, 定量限以 10 倍信噪比(*S/N* ≥ 10) 计算, 结果

见表 2。

2.4 精密度和稳定性

取 0.4 mg/mL 混合标准溶液连续进样 6 次, 测定精密度, 精密度良好, *RSD* 均小于 3%。取 0.4 mg/mL 混合标准溶液每隔 2 h 进样 1 次, 10 h 内保持稳定, *RSD* 均小于 3%。

2.5 加样回收率

取 0.5 g 不含邻苯二甲酸酯类的化妆品置于 10 mL

表2 方法线性与检出限

成分	回归方程	r	检出限 (LOD) /ng	定量限 (LOQ) /ng
DEMP	$y = 1297.33x - 3.22$	0.999 8	0.5	2.0
DMP	$y = 1832.71x - 4.59$	0.999 8	1.5	5.0
DEP	$y = 1569.94x - 2.95$	0.999 8	1.5	5.0
DIPP	$y = 1336.91x - 3.14$	0.999 8	1.5	5.0
DPRP	$y = 1466.29x - 0.41$	0.999 9	1.0	3.5
DPP	$y = 2277.20x - 6.42$	0.999 8	1.5	5.0
BBP	$y = 1205.07x - 3.89$	0.999 8	0.5	2.0
DBP	$y = 1319.51x - 4.06$	0.999 8	3.0	10.0
DCHP	$y = 1131.51x + 7.97$	0.999 3	3.5	12.0
DAP	$y = 1069.00x + 5.43$	0.999 5	1.5	5.0
DNHP	$y = 1083.99x - 3.43$	0.999 8	3.5	12.0
DHP	$y = 946.59x - 3.64$	0.999 8	1.0	3.5
DOP	$y = 946.46x - 5.37$	0.999 6	1.5	5.0
DNP	$y = 890.71x - 8.76$	0.999 3	2.0	7.0
DIDP	$y = 751.12x - 1.49$	0.999 8	0.5	2.0
DUP	$y = 787.27x + 4.02$	0.999 4	1.0	3.5

玻璃离心管中,分别加入混合标准储备溶液(1 mg/mL) 1 mL和4 mL,平行4份,与样品同法处理,结果见表3。回收率均在90%~110%之间,回收率良好。

2.6 样品检测

采用所建立的方法对实际样品中16种目标组分进行检测,其中指甲油检测出目标组分。图2为指甲油实际样品的色谱图,检出DMEP、DPRP、DOP。待测组分与杂质峰得到有效分离。本方法可通过保留时间和光谱扫描进行初步定性筛选,对阳性结果,可采用气相色谱-质谱法、液相色谱-质谱法等进行进一步确证。

表3 回收率结果(n=4)

成分	加入量 /mL	回收率 /%				平均回收率 /%	RSD /%
		1	2	3	4		
DMEP	1	100.2	100.8	101.3	102.1	101.1	0.8
	4	100.1	100.8	101.4	101.9	101.0	0.8
DMP	1	105.4	104.1	104.6	105.1	104.8	0.5
	4	99.7	100.2	100.9	101.3	100.5	0.7
DEP	1	98.2	98.8	99.3	99.7	99.0	0.7
	4	98.1	97.5	96.1	98.4	97.5	1
DIPP	1	99.2	99.6	100.2	100.8	100.0	0.7
	4	102.3	103.4	103.2	101.3	102.6	0.9
DPRP	1	103.2	102.6	103.9	103.5	103.3	0.5
	4	103.1	102.8	102.6	103.2	102.9	0.3
DPP	1	90.5	90.8	91.4	90.2	90.7	0.6
	4	97.2	97.8	98.5	97.6	97.8	0.6
BBP	1	104.2	103.3	104.7	104.1	104.1	0.6
	4	100.8	98.5	99.1	100.3	99.7	1.1
DBP	1	94.2	95.6	94.8	93.2	94.4	1.1
	4	96.7	95.2	96.1	97.2	96.3	0.9
DCHP	1	103.2	104.5	104.8	103.5	104.0	0.7
	4	102.3	101.1	100.9	102.5	101.7	0.8
DAP	1	93.2	94.1	92.8	93.5	93.4	0.6
	4	99.6	98.2	100.4	99.1	99.3	0.9
DNHP	1	101.1	101.8	102.3	102.6	102.0	0.6
	4	105.7	104.9	104.1	106.3	105.2	0.9
DHP	1	91.2	90.3	90.9	92.3	91.2	0.9
	4	94.9	95.3	95.8	96.1	95.5	0.6
DOP	1	96.2	95.6	94.8	95.3	95.5	0.6
	4	98.3	99.5	98.8	97.6	98.6	0.8
DNP	1	90.2	91.3	91.8	92.1	91.4	0.9
	4	93.4	94.2	95.6	95.1	94.6	1.0
DIDP	1	90.2	91.1	91.8	92.4	91.4	1.0
	4	94.8	95.3	95.7	96.4	95.6	0.7
DUP	1	97.2	97.8	98.1	98.5	97.9	0.6
	4	106.2	106.8	107.2	107.9	107.0	0.7

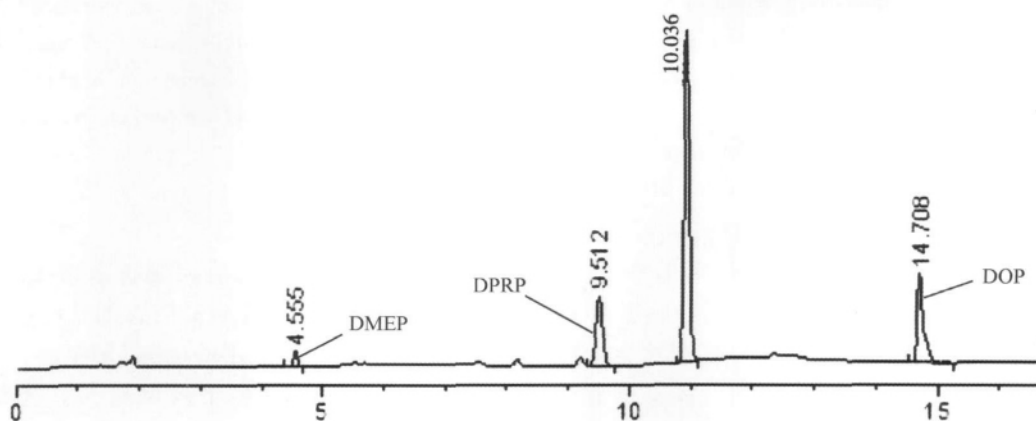


图2 实际样品色谱图

(下转第38页)

100、150、200 $\mu\text{g}/\text{mL}$) ,用 HPLC-UV 检测。以浓度 $X(\mu\text{g}/\text{mL})$ 为横坐标 ,各组分的色谱平均峰面积 Y 为纵坐标 ,进行线性回归绘制标准曲线。试验结果表明 ,西曲溴铵在 0 ~ 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度范围内线性良好 ,线性相关系数 r^2 大于 0.999 8 ,标准曲线回归方程为 $Y = 8.07X + 1.38$ 。方法的检出限为 0.35 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

2.4 方法的精密度和加标回收率

在沐浴露、洗发水、洁面乳和美体乳四种类别的样品中分别添加三水平(5、50、100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 的西曲溴铵标准溶液 ,按前述优化的样品处理方法进行样品前处理 ,每个加标水平进行 3 次平行样品测定 ,计算方法的回收率和相对标准偏差 ,所得结果见表 1。

表 1 西曲溴铵在各种化妆品中的回收率和相对标准偏差

化妆品种类	加标浓度/ $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	回收率/%	相对标准偏差/%
沐浴露	5	82.0	7.53
	50	95.2	0.41
	100	108.7	4.44
洁面乳	5	101.0	9.98
	50	108.0	4.51
	100	107.9	3.44
洗发水	5	118.7	5.51
	50	112.6	2.14
	100	103.3	3.94
美体乳	5	93.8	6.25
	50	106.2	2.32
	100	92.4	3.82

结果表明 ,洁面乳和洗发水的回收率比沐浴露和美体乳略高;当添加低浓度水平(5 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 的标准溶液时 ,四种化妆品的加标回收率均大于 82% ,相对标准偏差小于 10% ,而随着加标水平的提高 ,西曲溴铵的回收率也逐渐提高 ,批间的相对标准偏差均小于 5%。

3 结论

本研究采用纯水为样品提取溶剂 ,以高效液相色谱分离 ,紫外吸收检测器测定淋洗类化妆品中西曲溴铵 ,样品前处理技术简便 ,分析速度快。方法的检出限低 ,加标回收率较高 ,适用于淋洗类化妆品中西曲溴铵的定性定量分析 ,对排查和保证化妆品安全具有重要的现实意义。

参考文献

- [1] 陈仪本,欧阳友生,陈娇娣,等. 化妆品防腐体系的构建及其效能评价[J]. 日用化学工业. 2001, 8(4): 42-46.
- [2] 中华人民共和国卫生部监督局. 化妆品卫生规范[S]. 2007版. 北京: 军事医学科学出版社, 2007.
- [3] MALENOVIC A, MEDENICA M, IVANOVIC D, et al. Development and validation of RP-HPLC method for cetrimonium bromide and lidocaine determination [J]. Il. Farmaco., 2005, 60: 157-161.
- [4] TEROL A, GO MEZ-MINGOT M, MAESTRE S E, et al. Simple and rapid analytical method for the simultaneous determination of cetrimonium chloride and alkyl alcohols in hair conditioners [J]. International Journal of Cosmetic Science., 2010, 32: 65-72.

(上接第 35 页)

3 讨论

3.1 色谱柱的选择

考察了不同色谱柱(C_{18} 和 C_8) 对邻苯二甲酸酯类分离的影响。结果显示 ,在 C_{18} 柱上 DEMP、DMP 重叠出峰 ,改变条件也不能得到有效分离 ,而在 C_8 柱上 DEMP、DMP 可达到基线分离 ,并且能在 20 min 内全部出峰。因此 ,选择 C_8 柱进行分析。

3.2 色谱条件的优化

采用甲醇-水梯度洗脱 ,DEMP 和 DMP、DBP 和 DCHP、DAP 和 DNHP 分离度不好 ,加入极性更强的乙腈 ,采用乙腈、甲醇、水三项体系可使这三组成分得到有效分离。

3.3 本底的影响

由于邻苯二甲酸酯类属于环境中普遍存在的环境激素类污染物 ,故为了减少本底的干扰 ,试验中应使用玻璃离心管和玻璃吸头的移液器。

4 结论

该方法分离效果好 ,灵敏度高 ,能够满足化妆中 16 种邻苯二甲酸酯类化合物的检测需要。

参考文献

- [1] BLOUNT B C, MILGRAM K E, SILVA M J, et al. Quantitative detection of eight phthalate metabolites in human urine using HPLC-APCI-MS/MS [J]. Anal. Chem., 2000, 72(17): 4127-4134.
- [2] 郑和辉,李洁,吴大楠,等. 超高相液相色谱法检测化妆品中邻苯二甲酸酯[J]. 分析实验室, 2008, 27(7): 75-77.
- [3] JOBLING S, REYNOLDS T, WHITE R, et al. [J]. A variety of environmentally persistent chemicals, including some phthalate plasticizers, are weakly estrogenic [J]. Environ. Health Perspect., 1995, 103(6): 582-587.
- [4] 国家食品药品监督管理局. 化妆品中邻苯二甲酸酯类物质的检测方法[EB/OL]. (2011-02-21). <http://www.sda.gov.cn/WS01/CL0846/58801.html>.