

中图分类号: R917; R927 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2023)14-0081-06
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2023.14.018



高效液相色谱法同时检测彩妆类化妆品中 8 种着色剂

杜文亚, 张晓东[△]

(内蒙古自治区药品检验研究院, 内蒙古 呼和浩特 010010)

摘要:目的 建立同时检测彩妆类化妆品中 8 种着色剂的高效液相色谱法。方法 色谱柱为 Welch AQ-C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为 0.1% 磷酸水溶液(A)-甲醇(B), 梯度洗脱, 流速为 1.0 mL/min, 检测波长分别为 230 nm(酸性橙 11、直接棕 95), 380 nm(苯胺黄、溶剂黄 3), 530 nm(碱性红 2、酸性紫 9), 540 nm(食品红 14), 600 nm(碱性蓝 26), 柱温为 25 ℃, 进样量为 5 μL。结果 碱性红 2、酸性紫 9、溶剂黄 3、苯胺黄、碱性蓝 26、酸性橙 11、直接棕 95、食品红 14 质量浓度分别在 2.5~381.7 mg/L、1.3~199.6 mg/L、1.9~296.5 mg/L、2.0~312.1 mg/L、2.0~313.9 mg/L、1.6~243.7 mg/L、2.4~373.6 mg/L、2.0~300.3 mg/L($r > 0.9996$) 范围内与峰面积线性关系良好。粉基质类样品检测限为 0.15~2.15 mg/kg, 定量限为 0.50~6.50 mg/kg; 蜡基质类样品检测限为 0.16~2.14 mg/kg, 定量限为 0.45~6.50 mg/kg。精密度试验结果的 RSD 均小于 2.0%; 8 种成分在 3 d 内基本稳定。平均提取回收率为 86.83%~108.65%, RSD 均小于 5.0%($n=9$)。40 批样品中仅 1 批眼影样品检出酸性紫 9, 含量为 81.28 mg/kg。结论 该方法操作简单, 结果准确可靠, 可用于检测彩妆类化妆品中 8 种着色剂。

关键词: 彩妆; 化妆品; 着色剂; 高效液相色谱法; 含量测定

Simultaneous Detection of Eight Colorants in Make-Up Cosmetics by HPLC

DU Wenya, ZHANG Xiaodong

(Inner Mongolia Autonomous Region Institute for Drug Control, Hohhot, Inner Mongolia, China 010010)

Abstract: Objective To establish a high-performance liquid chromatography (HPLC) method for the simultaneous detection of eight colorants in make-up cosmetics. **Methods** The chromatographic column was Welch AQ-C₁₈ column (250 mm×4.6 mm, 5 μm). The mobile phase was 0.1% phosphoric acid aqueous solution (A)-methanol (B) with gradient elution. The flow rate was 1.0 mL/min.

第一作者: 杜文亚, 女, 硕士研究生, 理化检验师, 研究方向为药物、化妆品检验检测, (电子信箱) duwenya1207@126.com。

[△]通信作者: 张晓东, 男, 大学本科, 副主任药师, 研究方向为药物、化妆品检验检测与药物非法添加, (电子信箱) nmmc2003@126.com。

楂、甘草的 TLC 鉴别方法和橙皮苷的含量测定方法。通过同一份样品同一制备方法中的不同产物, 即可完成处方中 4 个药味的 TLC 鉴别, 操作简单可行, 有效节约了样品用量, 减少了有机溶剂种类, 简化了烦琐的操作。结果 4 种药材薄层特征明显, 分离度高, 阴性对照无干扰, 专属性强。建立的橙皮苷含量测定方法, 精密度、重复性佳, 回收率高。

综上所述, 本研究中所建立的方法可靠, 重复性好, 可为小儿参术健脾丸质量标准的修订提供参考。

参考文献

- [1] 刘金平, 陈明欣. 参苓白术散的薄层色谱鉴别[J]. 首都医药, 2010, 17(20): 45.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 59.
- [3] 李彩东, 张伟, 王信. 参芪心舒胶囊中 6 种药物的薄层鉴别[J]. 中国现代中药, 2013, 15(10): 891-894.
- [4] 沈婷婷, 李世芳, 刘瑾, 等. 乐胃颗粒的薄层色谱鉴别[J]. 华西药理学杂志, 2016, 31(2): 218-219.
- [5] 邓双炳, 王成霞, 胡玉花, 等. HPLC 测定小儿参术健脾丸中橙皮苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(1): 59-60.

- [6] 郭春艳, 闻金东. 小儿参术健脾丸中橙皮苷的含量[J]. 黑龙江科技信息, 2011, 11: 42.
- [7] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 1297-1298.
- [8] 尹丽, 宗兰兰, 蒲晓辉, 等. 薄层色谱法在药物分析中的应用[J]. 河南大学学报(医学版), 2016, 35(2): 77-80.
- [9] 李向欣, 王法宇, 高梓漠, 等. 祛风止痛贴膏薄层鉴别方法的建立[J]. 吉林中医药, 2020, 40(1): 108-111.
- [10] 刘淑, 闫晓楠, 袁婷婷. 补肺颗粒质量控制研究[J]. 中草药, 2020, 51(16): 4201-4207.
- [11] 张小华, 马新换, 杨春霞, 等. 佛手化痰胶囊的显微和薄层色谱鉴别研究[J]. 甘肃中医药大学学报, 2019, 36(4): 26-29.
- [12] 向春燕, 况刚, 盘思颖, 等. 小儿健脾丸质量标准研究[J]. 中国药业, 2021, 30(23): 62-65.
- [13] 汪爱霞, 孙芸, 郭文宾. 滋阴补肾丸质量标准研究[J]. 中国药业, 2020, 29(15): 51-54.
- [14] 普娟, 马云淑, 张贵华, 等. 除脂祛湿生发丸质量标准研究[J]. 中国药业, 2022, 31(9): 82-86.
- [15] 栾洁, 浦洁, 殷红军. 消栓再造丸质量标准提升研究[J]. 中国药业, 2023, 32(2): 83-86.

(收稿日期: 2022-07-29; 修回日期: 2023-04-02)

The detection wavelengths were 230 nm (acid orange 11, direct brown 95), 380 nm (aniline yellow, solvent yellow 3), 530 nm (basic red 2, acid violet 9), 540 nm (food red 14) and 600 nm (basic blue 26), respectively. The column temperature was 25 °C. The injection volume was 5 μ L. **Results** The linear ranges of basic red 2, acid violet 9, solvent yellow 3, aniline yellow, basic blue 26, acid orange 11, direct brown 95 and food red 14 were 2.5–381.7 mg/L, 1.3–199.6 mg/L, 1.9–296.5 mg/L, 2.0–312.1 mg/L, 2.0–313.9 mg/L, 1.6–243.7 mg/L, 2.4–373.6 mg/L, 2.0–300.3 mg/L respectively ($r > 0.999$). The limit of detection and the limit of quantitation for powder samples were in the range of 0.15–2.15 mg/kg and 0.50–6.50 mg/kg respectively, and those for waxiness samples were in the range of 0.16–2.14 mg/kg and 0.45–6.50 mg/kg respectively. The RSD of precision test was lower than 2.0%, and the above eight components were generally stable within 3 d. The average recovery rate of eight components was in the range of 86.83%–108.65%, with RSDs lower than 5.0% ($n = 9$). In 40 batches of samples, only one batch of eye shadow contained acid violet 9, with the content of 81.28 mg/kg. **Conclusion** This method is simple, accurate and reliable, which can be used to detect the eight colorants in make-up cosmetics.

Key words: make-up; cosmetics; colorant; HPLC; content determination

化妆品中使用的染料多为偶氮类染料或以苯、萘等为原料,其安全性受到关注。《化妆品安全技术规范(2015年版)》(简称《规范》)虽明确提供了禁/准用着色剂目录,但准用着色剂目录中,多数着色剂无限量要求或仅原料或杂质有限量要求。化妆品中着色剂的检测多采用高效液相色谱(HPLC)法^[1-7]、高效液相色谱串联质谱法^[8-12]等。根据国家药品监督管理局发布的《化妆品禁用原料目录》^[13],苯胺黄、溶剂黄3、直接棕95、碱性红2均为禁用着色剂;根据《规范》,碱性蓝26、酸性紫9、酸性橙11、食品红14均为准用着色剂,但均无限量要求,且仅酸性橙11和食品红14在其他限制和要求项下规定了原料或杂质质量要求。本研究中参考《规范》,并结合8种着色剂的色谱行为分为2组,第1组包括碱性红2、酸性紫9、溶剂黄3、苯胺黄、碱性蓝26,第2组包括酸性橙11、直接棕95、食品红14,采用HPLC法检测彩妆类化妆品中8种着色剂,旨在为彩妆类化妆品的质量控制提供参考。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent 1260型高效液相色谱仪(美国Agilent公司);XS 105型电子天平(瑞士Mettler Toledo公司);IKA-MS3型涡旋混合器(德国IKA公司);3-18KS型台式高速离心机(德国Sigma公司);KS-500E型超声波清洗机(昆山洁力美超声仪器有限公司)。

1.2 试剂

40批市售彩妆类化妆品样品(眼影或腮红18批、口红22批),均购自内蒙古自治区;鲜果植物苹果润唇膏空白样品(蜡基质类,基质中含合成蜡、地蜡或微晶蜡,韩国自然乐园化妆品株式会社有限公司,批号为2RLY0805);Dior单色眼影空白样品(粉基质类,基质中含滑石粉或玉米粉,克丽丝汀迪奥商业<上海>有限公司,批号为1D03);苯胺黄对照品(批号为20227)、溶

剂黄3对照品(批号为20251)、直接棕95对照品(批号为22346)、碱性蓝26对照品(批号为26489)、酸性紫9对照品(批号为20105)、酸性橙11对照品(批号为21772)、食品红14对照品(批号为22583)、碱性红2对照品(批号为20498),均购自北京曼哈格生物科技有限公司,含量均大于90.0%;磷酸为优级纯,甲醇、乙醇、四氢呋喃均为色谱纯,水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Welch AQ-C₁₈柱(250 mm×4.6 mm,5 μ m);流动相:0.1%磷酸水溶液(A)-甲醇(B);流速:1.0 mL/min;二极管阵列检测器检测;目标成分的梯度洗脱程序,第1组为,0~25 min时40%B→90%B,25~26 min时90%B→40%B,26~35 min时40%B,检测波长分别为380 nm(苯胺黄、溶剂黄3)、530 nm(碱性红2、酸性紫9)、600 nm(碱性蓝26),第2组为,0~10 min时73%B→83%B,10~25 min时83%B→73%B,25~35 min时73%B,检测波长分别为230 nm(酸性橙11和直接棕95)、540 nm(食品红14);柱温:25 °C;进样量:5 μ L。

2.2 溶液制备

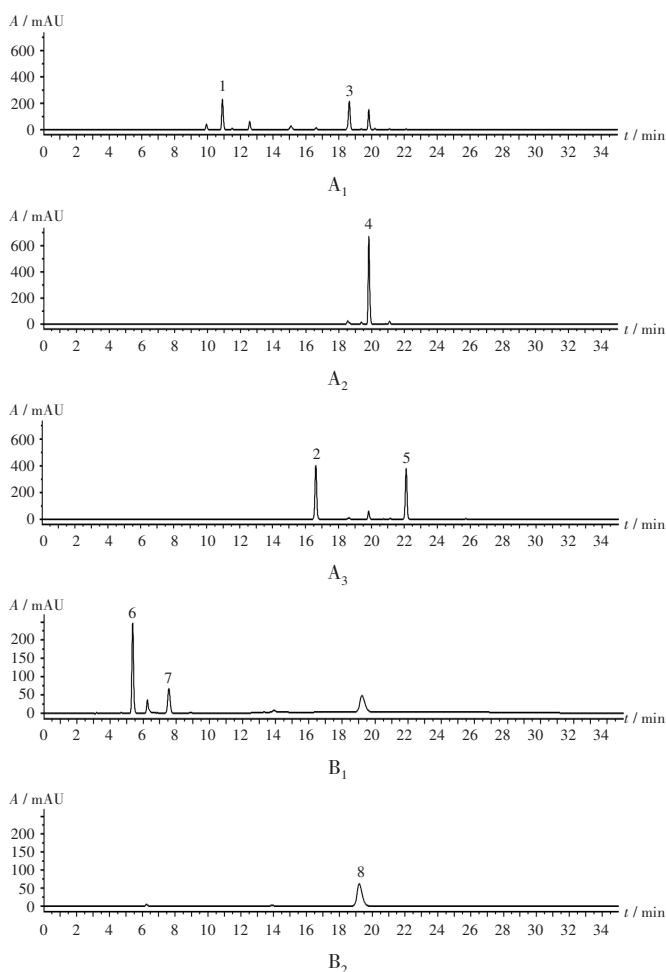
混合对照品溶液:取8种对照品各10 mg,精密称定,分别置10 mL容量瓶中。酸性紫9、溶剂黄3分别加乙醇、甲醇-水-四氢呋喃(1:1:1, V/V/V)溶解并定容,其余6种均用甲醇-水(1:1, V/V)溶解并定容,摇匀,制成质量浓度均为1 mg/mL的单一对照品贮备液;各精密吸取1.0 mL,按上述分组分别置10 mL容量瓶中,加甲醇-水(1:1, V/V)稀释并定容,摇匀,制成各成分质量浓度均为100 μ g/mL的混合对照品溶液I和II。

供试品溶液:1)粉基质类供试品溶液。取样品0.2 g,精密称定,置10 mL离心管中,加甲醇-水-四氢呋喃(1:1:2, V/V/V)溶解并定容,涡旋1 min,充分混匀,超声

(功率120 W、频率40 kHz,下同)提取20 min,10 000 r/min离心10 min,经0.45 μm微孔滤膜滤过,即得。2)蜡基质类供试品溶液。取样品0.2 g,精密称定,置10 mL离心管中,水浴(80 ℃)加热至样品融化,加甲醇-水-四氢呋喃(1:1:2, V/V/V)溶解并定容,涡旋1 min,充分混匀,50 ℃超声提取20 min,10 000 r/min离心10 min,经0.45 μm微孔滤膜滤过,即得。

2.3 方法学考察

系统适用性试验:分别精密吸取混合对照品溶液 I 和 II 适量,按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果各待测组分分离度均大于1.5,峰形佳,理论板数按待测成分峰计均大于18 000。详见图1。



1,3. 碱性红2、酸性紫9 2,5. 苯胺黄、溶剂黄3 4. 碱性蓝26
6,7. 酸性橙11、直接棕95 8. 食品红14
A₁, A₂, A₃. 混合对照品溶液 I (530,380,600 nm) B₁, B₂. 混合对照品溶液 II (230,540 nm)

图1 高效液相色谱图

1,3. Basic red 2, acid violet 9 2,5. Aniline yellow, solvent yellow 3
4. Basic blue 26 6,7. Acid orange 11, direct brown 95 8. Food red 14

A₁, A₂, A₃. Mixed reference solution I (530,380,600 nm) B₁, B₂. Mixed reference solution II (230,540 nm)

Fig. 1 HPLC chromatograms

线性关系考察:精密吸取上述混合对照品溶液 I 和 II 各适量,分别加甲醇-水(1:1, V/V)稀释、定容、摇匀,分别制备系列混合对照品溶液。取适量,按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以待测成分的质量浓度(X, mg/L)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归。结果见表1。

检测限与定量限考察:取2种不同基质的空白样品适量,分别加入混合对照品溶液 I 和 II 各0.01 mL,按2.2项下方法制备供试品溶液,按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,以信噪比(S/N)为3和10时的待测成分质量浓度分别记作检测限和定量限。详见表1。

表1 线性关系及检测限与定量限考察结果

Tab. 1 Results of the linear relation test, limit of detection and limit of quantitation

待测成分	回归方程	r	线性范围 (mg/L)	粉基质类(mg/kg)		蜡基质类(mg/kg)	
				检测限	定量限	检测限	定量限
碱性红2	$Y_1 = 17.669X_1 - 89.421$	1.000 0	2.5~381.7	0.31	1.00	0.33	1.00
酸性紫9	$Y_2 = 23.908X_2 + 3.66$	0.999 7	1.3~199.6	1.36	4.00	1.33	4.00
溶剂黄3	$Y_3 = 27.656X_3 + 21.117$	1.000 0	1.9~296.5	0.30	0.90	0.30	0.90
苯胺黄	$Y_4 = 29.095X_4 + 58.701$	1.000 0	2.0~312.1	0.28	0.90	0.30	0.90
碱性蓝26	$Y_5 = 38.622X_5 + 113.45$	0.999 9	2.0~313.9	0.15	0.50	0.16	0.45
酸性橙11	$Y_6 = 26.765X_6 + 8.542.5$	0.999 8	1.6~243.7	0.24	0.90	0.27	0.90
直接棕95	$Y_7 = 1.3364X_7 - 17.699$	1.000 0	2.4~373.6	2.15	6.50	2.14	6.50
食品红14	$Y_8 = 14.53X_8 - 2.9373$	0.999 9	2.0~300.3	0.53	1.60	0.54	1.60

精密度试验:精密量取2.2项下混合对照品溶液 I 和 II 各适量,按2.1项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果碱性红2、酸性紫9、溶剂黄3、苯胺黄、碱性蓝26、酸性橙11、直接棕95、食品红14峰面积的RSD分别为0.43%, 0.31%, 0.40%, 0.42%, 0.19%, 0.20%, 0.12%, 0.09% (n=6),表明仪器精密密度良好。

稳定性试验:取2.2项下混合对照品溶液 I 和 II 各适量,分别于室温下放置0 h、6 h、12 h、1 d、2 d、3 d、7 d时按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果直接棕95和食品红14在3 d内稳定,之后逐渐降解;其余6种着色剂在7 d内均稳定,RSD均小于2.0% (n=7)。

提取回收试验:取2种不同基质的空白样品各约0.2 g,精密称定,各9份,分别置10 mL离心管内,分别精密加入2.2项下2种混合对照品溶液0.04, 0.2, 0.4 mL,按2.2项下方法制备供试品溶液,按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算平均提取回收率。结果见表2。

表2 提取回收试验结果(n=9)
Tab. 2 Results of the recovery test (n=9)

待测成分	蜡基质类					粉基质类				
	加入量(μg)	测得量(μg)	回收率(%)	\bar{X} (%)	RSD(%)	加入量(μg)	测得量(μg)	回收率(%)	\bar{X} (%)	RSD(%)
碱性红2	4.082 5	4.458 5	109.21			4.082 5	4.458 5	109.21		
	4.082 5	4.458 1	109.20			4.082 5	4.458 1	109.20		
	4.082 5	4.462 6	109.31			4.082 5	4.462 6	109.31		
	20.412 7	21.947 7	107.52			20.412 7	21.659 9	106.11		
	20.412 7	21.949 8	107.53	108.65	0.77	20.412 7	21.747 7	106.54	106.94	1.66
	20.412 7	21.955 9	107.56			20.412 7	21.627 2	105.95		
	40.825 4	44.597 7	109.24			40.825 4	43.050 4	105.45		
	40.825 4	44.561 0	109.15			40.825 4	43.226 0	105.88		
	40.825 4	44.581 4	109.20			40.825 4	42.809 5	104.86		
酸性紫9	3.665 8	3.810 6	103.95			3.665 8	3.709 8	101.20		
	3.665 8	3.840 3	104.76			3.665 8	3.686 3	100.56		
	3.665 8	3.952 4	107.82			3.665 8	3.702 1	100.99		
	18.329 1	18.836 8	102.77			18.329 1	19.449 0	106.11		
	18.329 1	18.715 8	102.11	103.72	1.74	18.329 1	19.527 8	106.54	104.17	2.38
	18.329 1	18.637 0	101.68			18.329 1	19.419 7	105.95		
	36.658 2	38.120 9	103.99			36.658 2	38.656 1	105.45		
	36.658 2	37.919 3	103.44			36.658 2	38.813 7	105.88		
	36.658 2	37.750 6	102.98			36.658 2	38.439 8	104.86		
溶剂黄3	4.137 2	4.023 4	97.25			4.137 2	3.734 2	90.26		
	4.137 2	4.008 9	96.90			4.137 2	3.778 5	91.33		
	4.137 2	4.126 8	99.75			4.137 2	3.723 5	90.0		
	20.686 1	20.471 0	98.96			20.686 1	19.283 6	93.22		
	20.686 1	20.247 6	97.88	98.88	1.23	20.686 1	19.974 5	96.56	94.06	3.09
	20.686 1	20.679 9	99.97			20.686 1	19.788 4	95.66		
	41.372 3	41.268 9	99.75			41.372 3	39.676 1	95.90		
	41.372 3	41.310 3	99.85			41.372 3	40.400 1	97.65		
	41.372 3	41.244 1	99.69			41.372 3	39.717 4	96.00		
苯胺黄	5.339 5	4.458 5	83.50			5.339 5	5.049 0	94.56		
	5.339 5	4.612 8	86.39			5.339 5	5.139 3	96.25		
	5.339 5	4.580 2	85.78			5.339 5	5.018 6	93.99		
	26.697 6	23.747 5	88.95			26.697 6	25.058 4	93.86		
	26.697 6	23.232 3	87.02	86.83	1.78	26.697 6	24.476 4	91.68	95.08	2.41
	26.697 6	23.360 4	87.50			26.697 6	24.711 3	92.56		
	53.395 3	46.453 9	87.00			53.395 3	52.450 2	98.23		
	53.395 3	47.009 2	88.04			53.395 3	52.033 7	97.45		
	53.395 3	46.646 1	87.36			53.395 3	51.868 2	97.14		
碱性蓝26	4.176	4.079 1	97.68			4.176	4.036 5	96.66		
	4.176	4.041 1	96.77			4.176	4.086 6	97.86		
	4.176	4.098 3	98.14			4.176	4.067 8	97.41		
	20.880	20.811 0	99.67			20.880	19.679 4	94.25		
	20.880	20.639 8	98.85	99.56	1.83	20.880	19.535 3	93.56	96.90	2.31
	20.880	20.996 9	100.56			20.880	19.813 0	94.89		
	41.760	42.089 9	100.79			41.760	41.020 8	98.23		
	41.760	42.411 4	101.56			41.760	41.530 3	99.45		
	41.760	42.620 2	102.06			41.760	41.697 3	99.85		

续表2 提取回收试验结果($n=9$)
Continued Tab. 2 Results of the recovery test ($n=9$)

待测成分	蜡基质类					粉基质类				
	加入量(μg)	测得量(μg)	回收率(%)	\bar{X} (%)	RSD(%)	加入量(μg)	测得量(μg)	回收率(%)	\bar{X} (%)	RSD(%)
碱性橙 11	3.886 7	3.804 7	97.89			3.886 7	3.527 2	90.75		
	3.886 7	3.753 0	96.56			3.886 7	3.522 5	90.63		
	3.886 7	3.848 7	99.02			3.886 7	3.609 2	92.86		
	19.433 9	18.765 4	96.56			19.433 9	17.519 7	90.15		
	19.433 9	19.132 7	98.45	96.24	2.18	19.433 9	17.290 3	88.97	89.39	2.23
	19.433 9	18.681 8	96.13			19.433 9	17.395 3	89.51		
	38.867 9	36.065 5	92.79			38.867 9	34.297 0	88.24		
	38.867 9	36.978 9	95.14			38.867 9	33.566 3	86.36		
	38.867 9	36.403 6	93.66			38.867 9	33.861 7	87.12		
直接棕 95	5.158 0	4.500 3	87.25			5.158 0	4.979 5	96.54		
	5.158 0	4.442 0	86.12			5.158 0	4.935 6	95.69		
	5.158 0	4.434 8	85.98			5.158 0	4.991 9	96.78		
	25.790 0	22.610 0	87.67			25.790 0	23.618 4	91.58		
	25.790 0	22.277 4	86.38	87.37	1.47	25.790 0	24.273 5	94.12	94.36	1.80
	25.790 0	22.331 5	86.59			25.790 0	23.948 5	92.86		
	51.580 0	45.199 5	87.63			51.580 0	48.258 2	93.56		
	51.580 0	46.195 0	89.56			51.580 0	48.629 6	94.28		
	51.580 0	45.983 5	89.15			51.580 0	48.407 8	93.85		
食品红 14	3.704 0	3.245 0	87.61			3.704 0	3.735 8	100.86		
	3.704 0	3.197 6	86.33			3.704 0	3.740 2	100.98		
	3.704 0	3.238 4	87.43			3.704 0	3.745 1	101.11		
	18.520 0	16.756 8	90.48			18.520 0	19.331 1	104.38		
	18.520 0	16.638 3	89.84	89.71	2.33	18.520 0	19.460 8	105.08	103.56	1.92
	18.520 0	16.795 7	90.69			18.520 0	19.303 3	104.23		
	37.040 0	34.169 4	92.25			37.040 0	39.225 3	105.90		
	37.040 0	33.999 0	91.79			37.040 0	38.840 1	104.86		
	37.040 0	33.698 9	90.98			37.040 0	38.777 1	104.69		

2.4 样品含量测定

取40批样品各0.2 g,平行2份,按2.2项下方法制备供试品溶液,按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果仅1批眼影样品(批号为ES 1326K)检出酸性紫9,含量为81.28 mg/kg,其余样品中均未检测出前述8种着色剂。

3 讨论

3.1 色谱条件优化

流动相:分别采用了水-甲醇、水-乙腈、0.1%磷酸水溶液-甲醇、0.1%磷酸水溶液-乙腈、乙酸铵溶液(25 mmol/L)-甲醇、乙酸铵溶液(25 mmol/L)-乙腈、0.5%磷酸水溶液-甲醇、0.5%磷酸水溶液-乙腈为流动相。结果采用0.1%磷酸水溶液-甲醇进行梯度洗脱时,各目标组分均响应较高、峰形佳,且与基线分离良好。这是因为甲醇可兼顾不同极性化合物的洗脱,0.1%磷酸水溶液可提高响应,方便各成分的定性和定

量检测。但该体系同时检测8种着色剂时,直接棕95和食品红14对流动相比比例改变较敏感,流动相比比例微小变化导致其保留时间较大变化,易与其他组分交叠并同时出峰;且酸性橙11与碱性红2因保留时间接近很难较好地分离。故最终将8种组分分为2组,通过调节流动相A、B的比例,获得最佳的保留效果和分离效果。

色谱柱:预试验中考察了4种不同品牌的 C_{18} 柱[Agilent Zorbax Eclipse Plus C_{18} 柱(柱1)、TechMate C_{18} -ST柱(柱2)、OMNI Bond Hubble C_{18} 柱(柱3)、Welch AQ- C_{18} 柱(柱4),规格均为250 mm×4.6 mm,5 μm]。结果8种着色剂在柱1和柱2上均不能同时达到较好的保留效果,碱性蓝26在柱1上受杂峰干扰严重,食品红14在柱1上响应低、峰形欠佳;溶剂黄3在柱2上无保留行为。待测成分在柱3和柱4上均有较好的响应及分离效果,但柱4的耐酸性更好,结合流动相综

合考虑,最终选择柱4。

柱温:预试验中同时考察了不同柱温(15, 25, 35, 45 °C)对8种着色剂色谱保留行为的影响。结果柱温为25 °C时,各组分的分离度最佳。

检测波长:采用二极管阵列检测器对8种对照品溶液进行了全波长扫描。结果第1组检测波长以380 nm(苯胺黄和溶剂黄3)、530 nm(碱性红2和酸性紫9)、600 nm(碱性蓝26),第2组以230 nm(酸性橙11和直接棕95)、540 nm(食品红14)为佳。

3.2 样品前处理条件优化

提取溶剂:参考文献[1, 3-7]及8种着色剂在不同溶剂中的溶解情况,选取甲醇、四氢呋喃、甲醇-水(1:1, V/V)、甲醇-0.5 mol/L乙酸铵溶液-四氢呋喃(1:1:1, V/V/V)、甲醇-水-四氢呋喃(1:1:1, V/V/V)为提取溶剂,考察对空白加标样品中目标成分回收率的影响。结果选取甲醇-0.5 mol/L乙酸铵溶液-四氢呋喃时,食品红14峰分解为2个相邻峰;选择甲醇和甲醇-水(1:1, V/V)时,基质效应干扰严重,各成分峰形较差且回收率较低;四氢呋喃可明显改善回收率较低的问题,但基质效应仍存在;甲醇-水-四氢呋喃,基质效应明显改善,且提取较完全,回收率较高,峰形符合要求。进一步考察该体系中甲醇、水、四氢呋喃不同体积比(1:1:1, 1:1:2, 1:1:5)对回收率的影响。结果选取甲醇-水-四氢呋喃(1:1:1, V/V/V)时,多数目标成分回收率良好(80.56%~110.12%);且随着四氢呋喃比例的增加,食品红14、直接棕95、溶剂黄3和酸性橙11的回收率均提高。当甲醇-水-四氢呋喃的体积比为1:1:2时,目标成分的回收效果均达到最佳(86.83%~108.65%);当四氢呋喃比例再增加时,各成分回收率变化不明显,故最终选取甲醇-水-四氢呋喃(1:1:2, V/V/V)为提取溶剂。

提取条件:蜡基质类化妆品若直接加入优化的提取溶剂,样品不能充分分散溶解,故需将样品置离心管中水浴(80 °C)加热至融化。样品仅靠与提取溶剂涡旋振荡不能保证提取完全,故还需考察超声的温度和时间。本研究结果显示,在25 °C和35 °C下超声,蜡基质类样品会凝固,不利于提取完全;50 °C时,样品基质保持良好的分散性和流动性,从而能与提取溶剂充分且有效地接触。粉基质类样品不受超声温度的影响。设置不同超声时间时对2种空白基质加标样品回收率的影响均不明显,故选择最短的20 min。本研究中同时考察了同为0.45 μm厚的尼龙滤膜和聚四氟乙烯滤膜。结果2种空白基质样品的回收率均较好。

3.3 方法评价

本研究中建立的HPLC法操作简单,结果准确可靠,可用于同时检测彩妆类化妆品中8种着色剂。但化妆品配方复杂,膏剂和霜剂采用该方法仍无法实现有效分离及精确定性、定量,且仅以保留时间为定性指标,可能存在假阳性和假阴性情况,故后续需建立高效液相色谱串联质谱法进一步分析,为我国彩妆类化妆品中着色剂的监管和产品质量控制提供参考。

参考文献

- [1] 梁静文,周智明,曾子君,等. 高效液相色谱法测定化妆品中5种着色剂含量[J]. 香料香精化妆品,2019(2):65-69.
- [2] 毛希琴,李春玲,任国杰,等. 高效液相色谱法同时检测化妆品中38种限用着色剂[J]. 色谱,2015,33(3):282-290.
- [3] 毛希琴,任国杰,李春玲. 高效液相色谱法同时检测化妆品中14种禁用着色剂[J]. 分析测试学报,2014(9):1083-1088.
- [4] 袁剑辉,蒋清清,龙培,等. 高效液相色谱荧光法测定化妆品中的10种荧光着色剂[J]. 日用化学工业,2021,51(9):903-909.
- [5] 刘岱拯,柳亚峰,谢珍茗. 荧光检测法快速测定化妆品中违禁成分酸性黄36[J]. 日用化学工业,2020,50(12):896-900.
- [6] 孟红燕,陈德文,陈梅兰,等. 离子液体萃取-高效液相色谱测定化妆品中7种限用着色剂[J]. 化学试剂,2016,38(10):978-980.
- [7] 杨淡梅,邱颖姮,郭晓鸥,等. 高效液相色谱法同时检测染发类化妆品中16种禁用着色剂[J]. 沈阳药科大学学报,2020,37(9):802-808.
- [8] 姜子波,任国杰,毛希琴,等. 高效液相色谱-串联质谱法同时测定化妆品中14种禁用着色剂[J]. 分析测试学报,2016,35(7):792-798.
- [9] 陈丹丹,王柯,茹歌,等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定化妆品中10种着色剂[J]. 香料香精化妆品,2018(5):57-61.
- [10] 钱晓燕,刘海山,朱晓雨,等. 固相萃取/超高效液相色谱-串联质谱法测定化妆品中12种合成着色剂[J]. 分析测试学报,2014,33(5):527-532.
- [11] 林维宣,孙兴权,赵雪蓉,等. 高效液相色谱-串联质谱法同时检测化妆品中6种禁用着色剂[J]. 色谱,2012,30(5):527-532.
- [12] 王焯,马强,白桦,等. 化妆品中5种禁用着色剂的高效液相色谱检测及质谱确证[J]. 分析测试学报,2012,31(10):1288-1293.
- [13] 国家药品监督管理局. 国家药监局关于更新化妆品禁用原料目录的公告[A/OL]. (2021-05-26)[2022-01-20]. <https://www.nmpa.gov.cn/xxgk/ggtg/qtggtg/jmhzhptg/20210528174051160.html>.

(收稿日期:2022-04-29;修回日期:2023-03-03)