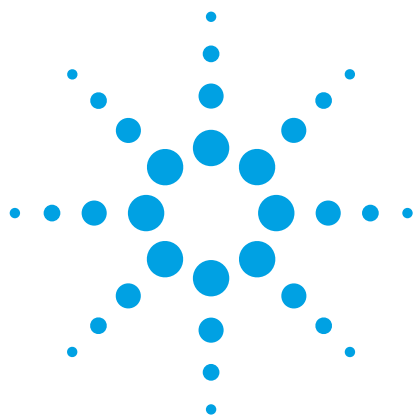




使用固相支持液/液萃取法测定沐浴露中的对羟基苯甲酸酯

应用简报

消费品

作者

Devon C. Zimmerman,
Henry F. Rossi III, Daniel W. Keating,
Jacqueline Rizzo 和 Karyn M. Usher
化学系
西切斯特大学
West Chester PA 19383
美国

摘要

对羟基苯甲酸酯化合物通常被添加到润肤露、除臭剂和沐浴露等化妆品中作为防腐剂。尽管它们是有效的防腐剂，但研究表明这些化合物可能会引起某些严重的副作用，例如癌症、不育和流产。本简报实验使用 Agilent Chem Elut 5 mL 无缓冲的固相支持液/液萃取 (SLE) 柱对婴儿洗发水/沐浴露中的四种对羟基苯甲酸酯（对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸乙酯、对羟基苯甲酸丙酯和对羟基苯甲酸丁酯）进行萃取和研究。实验使用配备二极管阵列检测器的 Agilent 1200 HPLC 系统对萃取得到的对羟基苯甲酸酯进行分离和测定。采用 SLE 方法进行萃取能够使对羟基苯甲酸酯的回收率达到 82% 至 101%。



Agilent Technologies

前言

对羟基苯甲酸酯是一类常用于抑制化妆品中真菌、细菌及其他微生物的生长化合物。对羟基苯甲酸酯是个人护理产品中应用最广泛的防腐剂 [1]。因此，某些研究指出对羟基苯甲酸酯可能引起生殖问题，这使得人们对此类物质开展了大量科研审查 [2]。由于对羟基苯甲酸酯的广泛应用使得这类化合物引起了研究者的广泛关注。已有研究表明，对羟基苯甲酸酯能够模拟雌激素，触发癌细胞的生长。对羟基苯甲酸酯可能引起乳腺癌，已有报道发现它们存在于乳腺癌细胞中 [3]。由于对羟基苯甲酸酯能够模拟雌激素，因此它们也可能会产生类似于雌激素的不良影响。对羟基苯甲酸酯存在于多种护肤品中，因此其暴露量通常很高。

本应用简报使用固相支持液/液萃取 (SLE) 法对洗发水/沐浴露中的对羟基苯甲酸酯进行萃取。然后利用高效液相色谱 (HPLC) 对 SLE 方法萃取得到的对羟基苯甲酸酯进行定量分析。再使用液/液萃取 (LLE) 法对另一部分洗发水/沐浴露样品进行萃取，然后对两种萃取方法进行比较。

在 SLE 中，使用高纯度、精确称量的惰性硅藻土吸附剂有助于将分析物从水溶液中萃取入有机溶剂内。含分析物的水溶液在穿过萃取柱时，水相被吸附到硅藻土上。待溶液吸附到吸附剂上之后，使用不可混溶的有机溶剂进行萃取，分析物从萃取柱上被洗脱下来 [4]。由于水溶液在吸附剂中形成的分散层非常薄，两种溶剂会紧密接触，因此不必振荡即可将分析物萃取入有机溶剂中，而在 LLE 萃取过程中必须进行振荡。这样有助于避免出现 LLE 中常见的乳化现象。SLE 萃取柱的外层通常结合有相分离滤芯以防止发生混合，一旦发生混合，水相与有机溶剂将会被共同洗脱下来。Chem Elut SLE 具有多种可选规格，可购买预填充的萃取柱，也可散装购买。

实验部分

超纯水由 Millipore Synergy UV 纯化系统制得。乙腈（购自 Burdick and Jackson (Muskegan, MI)）、甲醇（购自 Fisher Scientific (Fairlawn, NJ)）、丙酮和乙酸乙酯（购自 Pharmco (Brookfield, CT)）均为 HPLC 级纯度。对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸乙酯、对羟基苯甲酸丙酯和对羟基苯甲酸丁酯购自 Sigma-Aldrich Corp。采用甲醇各配制对羟基苯甲酸酯浓度约为 10 mg/mL 的储备液。用甲醇对储备液进行稀释得到标准溶液。配制得到的标准溶液的标示浓度分别为 1000、500、100、50、25、10 和 1 µg/mL。

萃取过程

将配制得到的储备液加入沐浴露样品中，测定其回收率。使用的方法来自已出版、用于测定蜂蜜中农药残留物的 SLE 方法 [5,6]。首先，在进行萃取之前按照图 1 所述的步骤制备样品。将制得的样品全部倒入 SLE 萃取柱中进行萃取。按照图 1 所述的方法配制 24 个样品。其中 12 个样品的加标浓度为 175 µg/mL，另外 12 个样品的加标浓度为 20 µg/mL，然后分别计算高浓度对羟基苯甲酸酯和低浓度对羟基苯甲酸酯的回收率。在每种浓度的 12 个加标样品中，使用图 2 所述的 SLE 方法对其中 6 个样品进行萃取，另外 6 个样品则使用图 3 所述的 LLE 方法进行萃取，继续对两种萃取方法进行比较。采用的 SLE 萃取柱为 Chem Elut 5 mL 无缓冲柱。

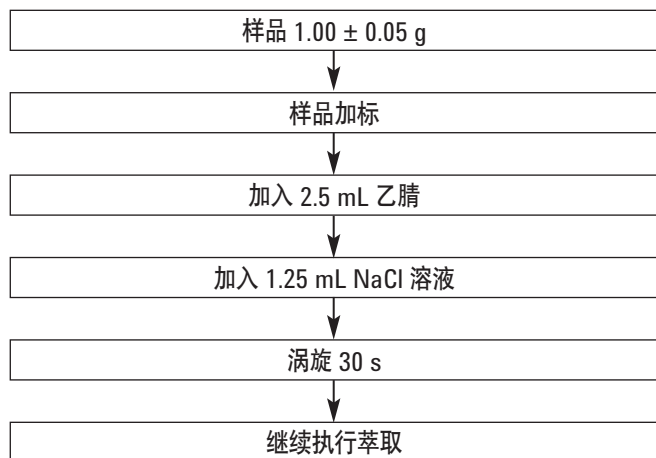


图 1. 采用 SLE 或 LLE 进行萃取之前的样品制备



图 2. 使用 SLE 萃取洗发水/沐浴露中对羟基苯甲酸酯的步骤

HPLC

分析采用了配备二元泵、自动进样器、在线脱气机和 80 Hz 二极管阵列检测器的 Agilent 1200 Infinity 系列液相色谱仪。本研究选用的检测器流通池为体积 2 μ L 的微量流通池。采用针对 LC 3D 系统的 ChemStation B.03.01 版进行数据采集和分析。



图 3. 使用 LLE 通过分液漏斗萃取洗发水/沐浴露中对羟基苯甲酸酯的步骤

分析柱为 Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 色谱柱。运行时间为 9 min，再平衡时间为 2 min。

分析条件

色谱柱：	Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18, 4.6 × 150 mm, 5 μ m (部件号 959993-902)	
样品制备：	Agilent Chem Elut, 5 mL (部件号 12198006)	
洗脱液：	A. 90% 水:10% 乙腈; B. 乙腈	
进样体积：	1.7 μ L	
流速：	2.00 mL/min	
梯度：	时间 (min)	% B
	0.00	30
	4.00	65
	5.00	70
响应时间：	0.02 s	
检测器：	230 nm	

结果与讨论

所得四种对羟基苯甲酸酯的校准曲线如图 4 所示。表 1 显示了校准曲线的线性回归结果。

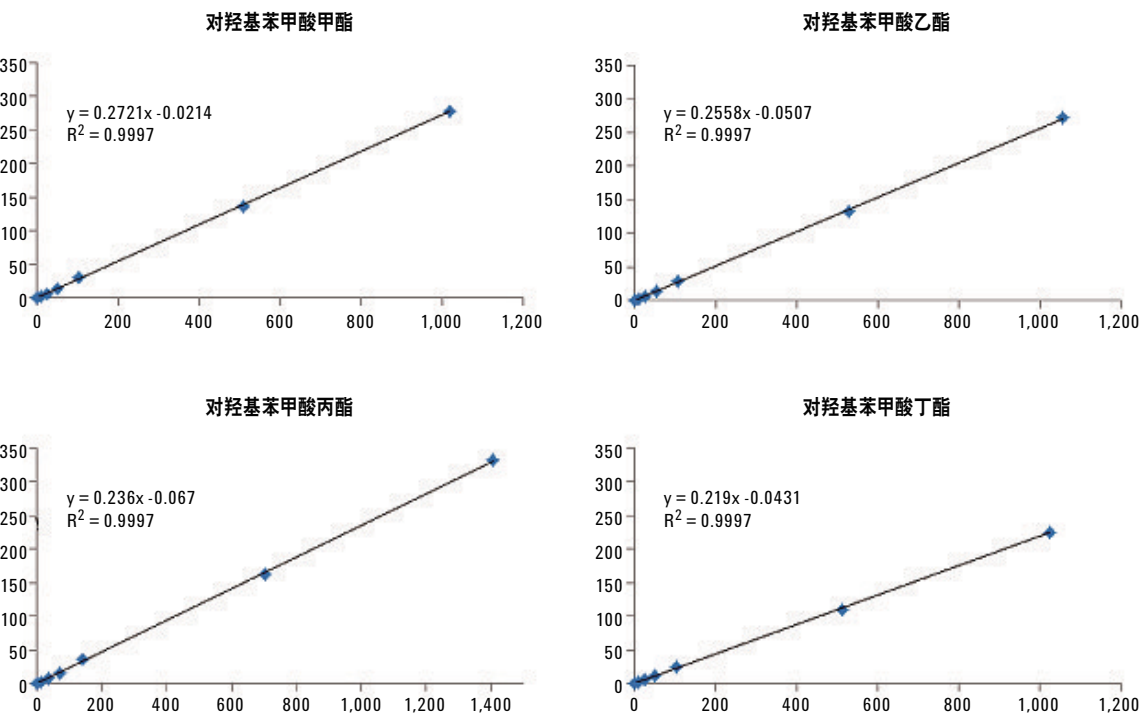


图 4. 四种对羟基苯甲酸酯的校准曲线

表 1. 四种对羟基苯甲酸酯校准曲线的线性回归结果

化合物	最小二乘法的最佳拟合线	R ²
对羟基苯甲酸甲酯	$y = 0.2721x - 0.0214$	0.9997
对羟基苯甲酸乙酯	$y = 0.2558x + 0.0507$	0.9997
对羟基苯甲酸丙酯	$y = 0.2360x + 0.0670$	0.9997
对羟基苯甲酸丁酯	$y = 0.2190x + 0.0431$	0.9997

洗发水/沐浴露（未加标）样品经 SLE 和 LLE 萃取后所得色谱图如图 5 所示。由于标签中说明不含任何对羟基苯甲酸酯，因此选择该样品用于分析。加标样品经 SLE 和 LLE 萃取得到的色谱图如图 6 所示。该色谱图显示，在对羟基苯甲酸酯洗脱的色谱图区域中，采用 SLE 萃取得到的样品（如图 5A 和 6A 所示）分析结果更加清晰，未加标样品中存在的色谱峰并未与目标分析物共洗脱。采用 LLE 萃取得到的样品分析结果（如图 5B 和 6B 所示）中则含有与目标分析物一起从基质中萃取出的干扰物。这些干扰峰使得对羟基苯甲酸甲酯和对羟基苯甲酸丁酯的色谱峰很难被准确的定量分析。

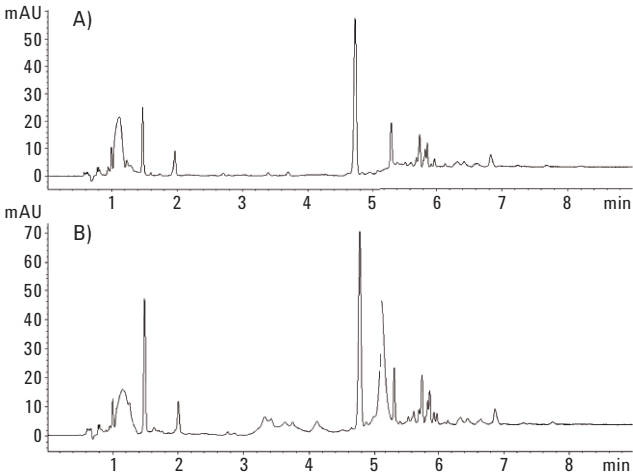


图 5. 婴儿洗发水/沐浴露（未加标）经 A) SLE、B) LLE 处理后得到的色谱图

表 2 显示了计算所得经 SLE 和 LLE 萃取得到的洗发水/沐浴露中的四种对羟基苯甲酸酯的回收率。请注意，尽管低浓度样品的加标浓度为 20 $\mu\text{g/mL}$ ，但进样浓度是 40 $\mu\text{g/mL}$ ，因为萃取得到的样品经干燥并复溶后的溶剂体积为初始体积的一半。两种萃取技术都给出了合理的百分比回收率值，但使用 SLE 进行萃取得到的回收率值更好些。总体而言，采用 SLE 得到的百分比回收率更高，并且在所有情况下得到的标准偏差均更低。

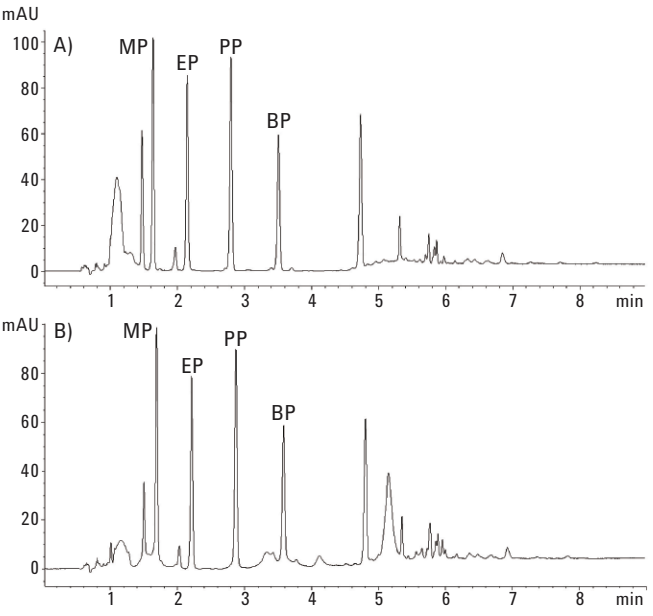


图 6. 加标婴儿洗发水/沐浴露经 A) SLE、B) LLE 处理后得到的色谱图

表 2. 计算所得使用 SLE 和 LLE 萃取婴儿洗发水/沐浴露中四种邻苯二甲酸酯的百分比回收率

	% 回收率 (LLE)				% 回收率 (LLE)			
	加标浓度 20 $\mu\text{g/mL}$		加标浓度 175 $\mu\text{g/mL}$		加标浓度 20 $\mu\text{g/mL}$		加标浓度 175 $\mu\text{g/mL}$	
	平均值	标准偏差	平均值	标准偏差	平均值	标准偏差	平均值	标准偏差
对羟基苯甲酸甲酯	94.32	17.82	79.15	2.53	96.87	2.33	100.29	1.33
对羟基苯甲酸乙酯	83.14	7.63	81.80	2.95	87.78	3.68	101.04	0.78
对羟基苯甲酸丙酯	81.95	6.16	83.93	3.08	82.53	3.94	99.87	1.42
对羟基苯甲酸丁酯	97.36	26.54	82.94	4.86	84.26	3.79	99.41	1.21

结论

结果显示 Agilent Chem Elut SLE 萃取柱提供了一种有效方法，用于从洗发水/沐浴露基质中萃取对羟基苯甲酸酯。与对羟基苯甲酸酯一起从基质中萃取出来的杂质非常少，不会干扰分析物的定量分析。相比于 LLE，采用 SLE 得到的结果更加优异。

参考文献

1. <http://www.fda.gov/Cosmetics/ProductandIngredientSafety/SelectedCosmeticIngredients/ucm128042.htm> (accessed June 2012)
2. SCCP (Scientific Committee on Consumer Products), Opinion on Parabens, 24 June 2008. http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/04_sccp/docs/sccp_o_138.pdf (accessed June 2012)
3. P. D. Darbe, *et.al. J. Appl. Toxicol.* **24**, 5 (2004)
4. R. E. Majors. *LC.GC North Am.* **14**, 936 (1996)
5. C. Pirard. 使用固体支持液相萃取对蜂蜜中的农药进行多残留确认。应用简报，安捷伦科技有限公司，出版号 SI-01002 (2010)
6. C. Pirard, *et.al. J. Chromatogr. A.* **1152**, 116 (2007)

更多信息

这些数据仅代表典型结果。有关我们的产品和服务的详细信息，请访问我们的网站：www.agilent.com/chem/cn。

www.agilent.com/chem/cn

安捷伦对本资料可能存在的错误或由于提供、展示或使用本资料所造成的间接损失不承担任何责任。

本资料中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2013
中国印制
2013 年 7 月 11 日
5991-2735CHCN



Agilent Technologies