

使用安捷伦在线固相萃取系统测定 化妆品中的氯苯甘醚

作者

肖尧
安捷伦科技（中国）有限公司

摘要

在本应用简报中，参考《化妆品安全技术规范（2015 版）》及《化妆品相关检验方法制修订概况表》的相关规定，开发出一种基于在线固相萃取及超高效液相色谱 (UHPLC) 的快速在线净化及分析方法，用于分析化妆品中的氯苯甘醚。对该方法的检测限 (LOD)、定量限 (LOQ)、重现性、回收率等进行了考察，并对典型化妆品样品进行了检测。结果显示，所开发的在线固相萃取-超高效液相色谱法在特异性，灵敏度等方面完全满足国标的相应要求，线性、重现性良好，并解决了化妆品基质所可能导致的柱压升高和色谱柱污染的问题，极大地提升了方法稳定性并延长了色谱柱使用寿命。

前言

氯苯甘醚在《国际化妆品原料字典和手册》中作为化妆品杀菌剂使用，可有效抵御革兰氏阳性及阴性菌，尤其对黑曲霉及嗜松青霉有较强的杀菌活性，并对白色念珠菌和酿酒酵母具有良好的抑制作用。十几年来，氯苯甘醚被广泛用于洗发产品、护肤产品、指甲油及香皂、肥皂的制造中。

《化妆品安全技术规范（2015 版）》（下文简称《规范》）中规定了使用高效液相色谱法测定化妆品中氯苯甘醚的含量，该方法适用于液态水基类、膏霜乳液类和粉类化妆品中氯苯甘醚的含量测定。在《规范》中，针对这类样品的前处理方法使用超声提取及低速离心等手段，但是对于某些类型的基质，很难彻底去除干扰组分。这些干扰组分除影响目标物的检测以外，还容易导致色谱柱污染，引起柱压升高，从而严重影响分离效果和效率并显著缩短色谱柱使用寿命。

针对上述问题，我们开发了一种基于在线固相萃取和超高效液相色谱 (UHPLC) 的快速在线净化及分析方法。该方法使用在线净化技术，可有效降低基质中的干扰物质对分离结果的影响，并解决柱压升高的问题。同时由于使用 UHPLC 分析方法，包含在线样品前处理的整体分析时间也没有额外增加。该方法在保证分析效率的同时，提高了数据质量，降低了色谱柱成本。

实验部分

试剂和样品

甲醇为 HPLC 级，购于迪马公司；所用实验用水为美国 Millipore 公司 MilliQ 超纯水系统制备的超纯水；氯苯甘醚标准品购于 Sigma 试剂公司。

含有氯苯甘醚的洗面奶样品购于本地超市。

仪器和设备

采用 Agilent 1260 Infinity II 液相色谱系统。该系统按照在线固相萃取系统进行配置（见图 1），包括以下模块：

在线固相萃取部分：

四元泵，部件号 G7111B

自动进样器，部件号 G7129C

二位六通阀，部件号 G4231A（内置于柱温箱内）

超高效液相分析部分：

四元泵，部件号 G7111B

多功能柱温箱，部件号 G7116A（含内置阀驱动）

高灵敏度 DAD 检测器，部件号 G7117C（配备 10 mm 光程流通池）

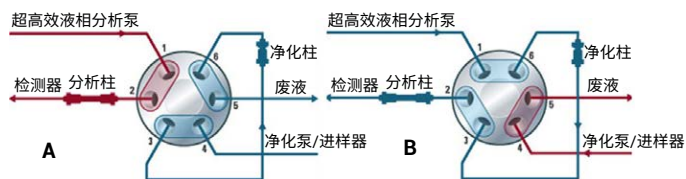


图 1. 在线固相萃取系统配置流路示意图

标准品制备

依据《规范》中的方法，用甲醇制得浓度为 1 mg/L、5 mg/L、10 mg/L、50 mg/L、100 mg/L、250 mg/L 和 500 mg/L 的氯苯甘醚标准系列溶液。

样品前处理

参照《规范》中的操作，称取样品 0.5 g（精确到 0.001 g）于 10 mL 具塞比色管中；向其中加入少量流动相，涡旋振摇 1 min；然后用流动相定容至刻度；超声提取 30 min 后，取 2 mL 置于离心管中，以 10000 rpm 离心 5 min；过 0.22 μm 滤膜，将滤液作为待测溶液。

分析条件

SPE 部分：

在线固相萃取柱：Agilent InfinityLab Poroshell HPH C18
(4.6 × 5 mm, 2.7 μm)，部件号 820750-928

进样量：3 μL

流速：见梯度表

柱温：30 °C

流动相：A：水；B：甲醇

梯度表：

时间 (min)	A (%)	B (%)	流速 (mL/min)
0.00	70	30	1
0.75	70	30	1
1.05	45	55	1
1.06	45	55	2
1.50	0	100	2
3.50	0	100	2
3.51	70	30	2
5.00	70	30	2
6.00	70	30	1

阀切换时间表：

时间 (min)	位置 (参考图 1)	说明
0.00	A	SPE 柱上样和净化
0.75	B	将待测物从 SPE 柱冲至分析柱
1.05	A	SPE 柱冲洗和平衡

超高效液相分析部分：

色谱柱： Agilent InfinityLab Poroshell 120 SB C18
(4.6 × 75 mm, 2.7 μm), 部件号 687975-902

流速： 1 mL/min

柱温： 30 °C

流动相： 水:甲醇 = 45:55, 等度洗脱

检测波长： 280 nm

结果与讨论

氯苯甘醚净化及分离结果

按照上述样品前处理步骤和分析方法，对 100 mg/L 标样及洗面奶样品进行在线固相萃取-超高效液相色谱分析。结果如图 2 所示。从图中可以看出，在线固相萃取过程可以有效去除基质中的干扰物质，目标化合物分离及保留良好，此方法可以用于氯苯甘醚的定性定量分析。

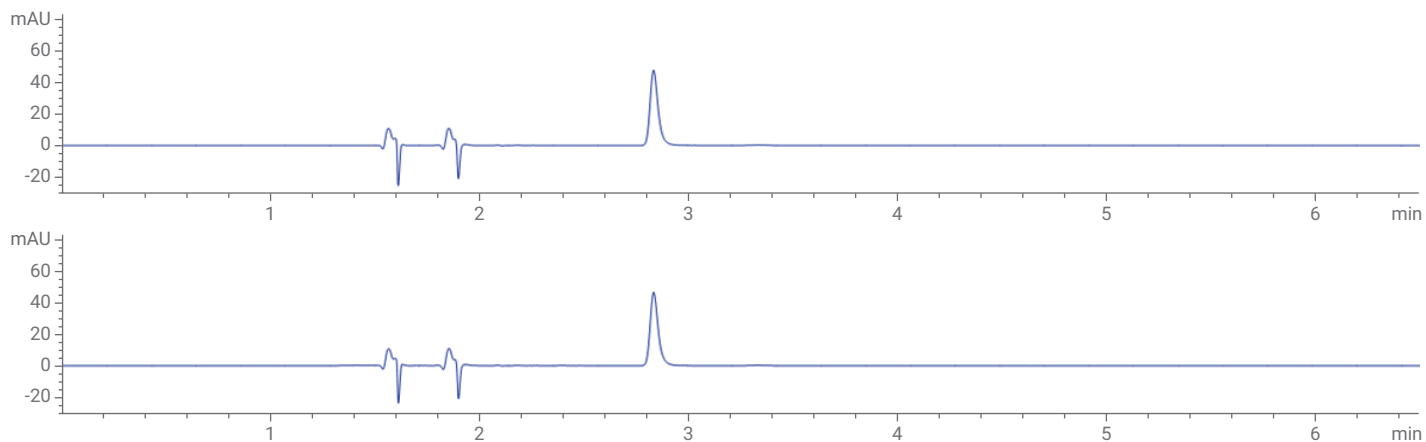


图 2. 氯苯甘醚的净化及分离结果：上图，标样；下图，洗面奶样品

线性范围

将 7 个浓度的标准曲线混合溶液按浓度由低到高的顺序进样分析，每个浓度的标样平行进样 2 次，取每个浓度点的峰面积平均值进行计算。所得到的色谱图及校准曲线如图 3 所示。结果表明，氯苯甘醚在 1–500mg/L 范围内具有良好的线性相关性，相关系数 R^2 大于 0.999。

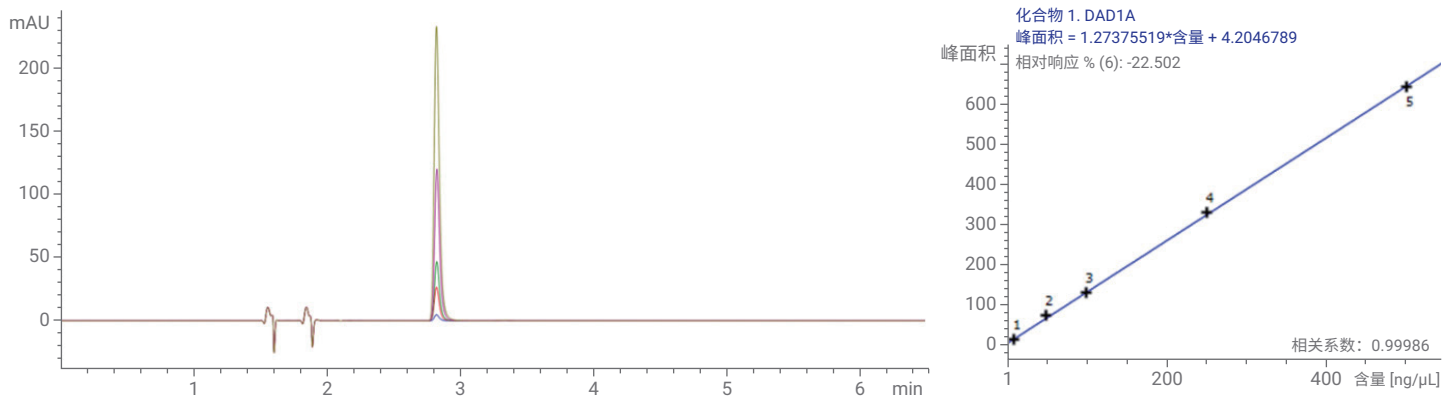


图 3. 氯苯甘醚线性范围考察结果

重现性、灵敏度及回收率

将标样 (100 mg/L) 和洗面奶样品分别重复进样 86 次考察保留时间及峰面积重复性，保留时间相对标准偏差 (RSD) 均小于 0.53%，峰面积相对标准偏差均小于 0.82%。同时也对方法进行了加标回收率及 LOD/LOQ 的考察，洗面奶样品中加标回收率 101%，满足《规范》中的回收率要求，并且证明样品提取及在线净化过程对氯苯甘醚测定没有影响。方法 LOD 为 0.55 ppm，LOQ 为 1.25 ppm，按照《规范》中的称样量及处理方法折算，可以完全满足要求。

在线净化方法与直接进样方法的比较

使用《规范》推荐的等度条件对样品进行分析，结果如图 4 所示。该方法清洗能力较弱，且容易导致色谱柱污染。在目标物出峰后采用高比例有机相冲洗色谱柱，结果仍然冲洗出很多污染物。按照原等度条件，这些污染物会污染色谱柱。而且我们发现，虽然经过高比例有机相冲洗，但是在样品不经 SPE 净化的情况下，柱压仍然随进样次数增加而显著升高。

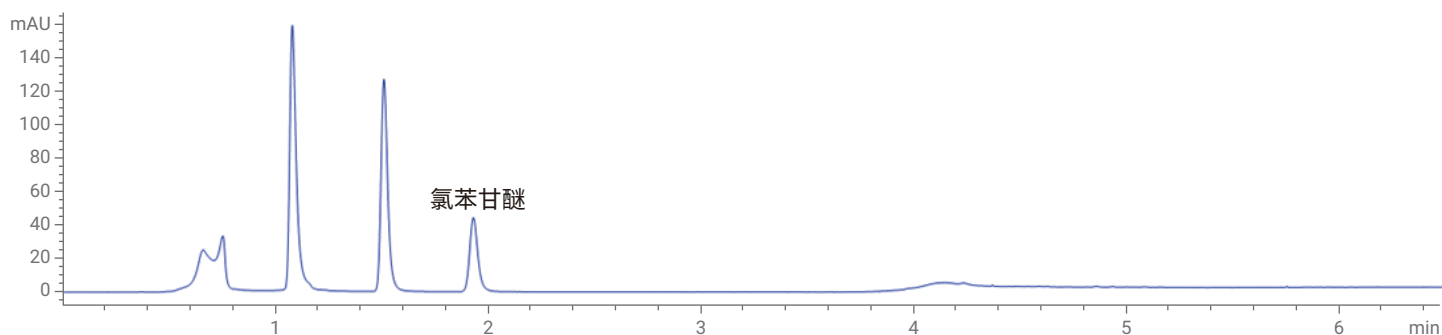


图 4. 样品按照《规范》方法提取后直接进样，并采用高比例有机相进行冲洗

经过在线净化之后，同样在目标物出峰后采用高比例有机相冲洗（6.5 min 以后使用 100% B 相冲洗），以考察 SPE 净化效果。结果如图 5 所示。从图中可以看到，分析柱上无明显的污染物峰被冲出，表明所有污染物均在 SPE 柱冲洗再生阶段被洗脱。另外，在连续运行 32 个实际样品后，无论是分析柱还是 SPE 柱的压力均无显著增加；并且采用高比例有机相冲洗色谱柱和 SPE 柱时，未观察到大量残留污染物被冲出，也证明在线净化取得了良好的效果。

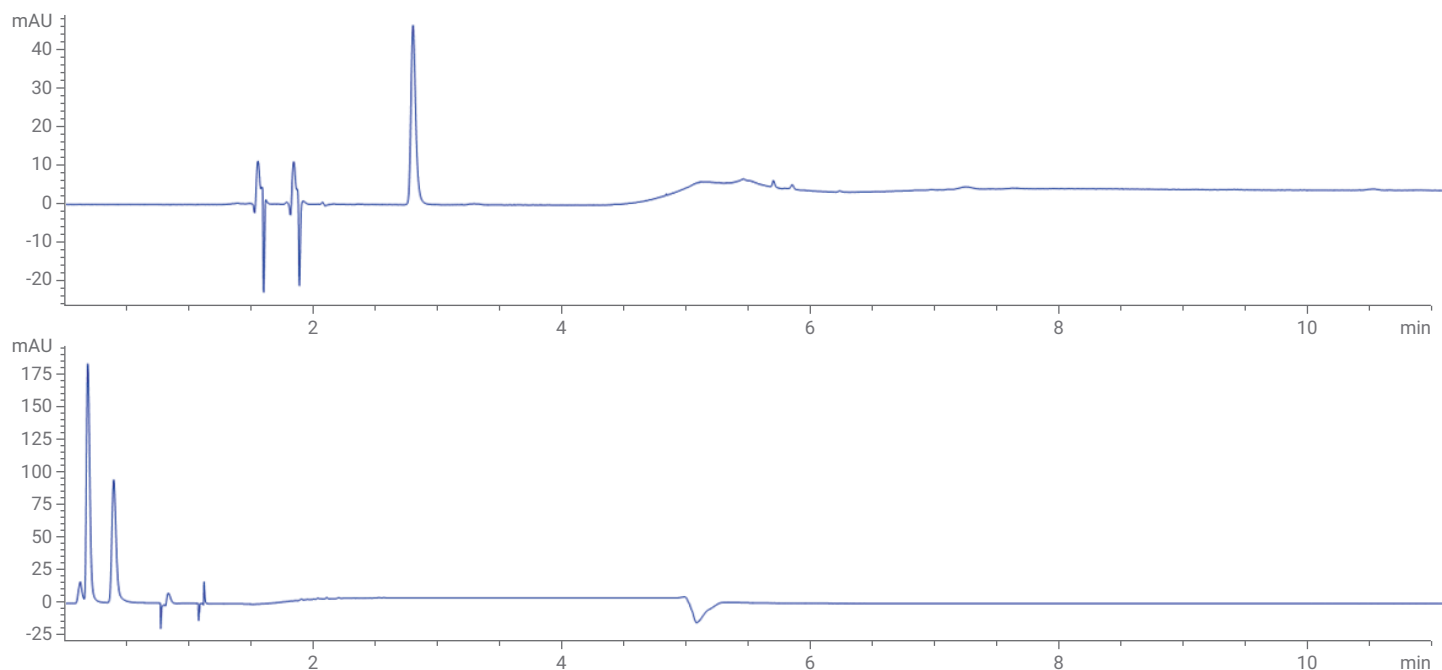


图 5. 在线净化效果考察：上图，UHPLC 色谱图；下图，SPE 柱净化色谱图

结论

从上述实验结果及数据可以看出，此方法可以很好的将被测样品基质中的污染去除并准确测定目标物氯苯甘醚，从而极大的降低污染，提高数据质量，延长色谱柱使用寿命。同时，由于使用了超高效液相色谱分析，可以在不增加分析时间及溶剂消耗的情况下，完成样品的分析，对于提升此类化妆品的检测效率，降低样品检测成本提供了很大帮助。

所述方法使用 Agilent Poroshell 系列表面多孔色谱柱。这类色谱柱具有柱效高而反压低的优势，并具有优异的抗污染、抗堵塞能力，尤其适用于复杂基质样品的高通量检测。

参考文献

1. 《化妆品安全技术规范（2015 版）》：国家食品药品监督管理总局，2015
2. 《化妆品相关检验方法制修订概况表》：国家食品药品监督管理总局，2021

查找当地的安捷伦客户中心:

www.agilent.com/chem/contactus-cn

免费专线:

800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)

联系我们:

LSCA-China_800@agilent.com

在线询价:

www.agilent.com/chem/erfq-cn



微信搜一搜

安捷伦视界

www.agilent.com

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。

本文中的信息、说明和技术指标如有变更,恕不另行通知。

© 安捷伦科技(中国)有限公司, 2022
2022年3月3日, 中国出版
5994-4674ZHCN

