

# 高效液相色谱法测定化妆品中二苯酮 - 2 二苯酮 - 3 与甲氧基肉桂酸乙基己酯

陈蓓, 李莉, 吉文亮

(江苏省疾病预防控制中心, 江苏 南京 210009)

**摘要:** 采用高效液相色谱二极管阵列检测器同时测定化妆品中二苯酮 - 2 二苯酮 - 3 与甲氧基肉桂酸乙基己酯, 以乙腈和水为流动相梯度洗脱, 335 nm 为检测波长, 以保留时间和紫外光谱特征定性, 外标法定量。3 种化合物在 1.00 mg/L ~ 150 mg/L 范围内线性良好, 最低检出质量分数均为 0.015%, 基质加标平均回收率为 96.2% ~ 117%, RSD 为 0.2% ~ 1.0%。

**关键词:** 二苯酮 - 2 二苯酮 - 3 甲氧基肉桂酸乙基己酯; 高效液相色谱法; 化妆品

中图分类号: O657.7<sup>2</sup> 文献标识码: B 文章编号: 1006-2009(2010)06-0061-03

## Determination of Benzophenone-2, Benzophenone-3 and 2-Ethylhexyl-4-methoxycinnamate in Cosmetic by HPLC

CHEN Bei LI Li JI Wen-liang

(Jiangsu Center for Disease Control and Prevention, Nanjing, Jiangsu 210009, China)

**Abstract** A method was established for determination of Benzophenone-2, Benzophenone-3 and 2-Ethylhexyl-4-methoxycinnamate in cosmetic by HPLC-DAD detector, gradient elution with mixture of acetonitrile and water, detection wavelength 335 nm, qualitative analysis by retention time and UV spectra characteristics, quantitative analysis by external standard method. Results showed good linearity for the three compounds ranging from 1.00 mg/L to 150 mg/L, lowest detective limits 0.015%, average recoveries of matrices between 96.2% and 117%, RSD between 0.2% and 1.0%.

**Key words** Benzophenone-2, Benzophenone-3, 2-Ethylhexyl-4-methoxycinnamate, HPLC, Cosmetics

太阳光中含有的紫外线分为长波紫外线 (320 nm ~ 400 nm, UVA)、中波紫外线 (280 nm ~ 320 nm, UVB) 和短波紫外线 (200 nm ~ 280 nm, UVC), 其中 UVB 会使皮肤产生红斑或水疱, 促进黑色素形成; UVA 段紫外光的能量可达皮肤真皮层, 给血管壁或结合组织中的弹性纤维带来缓慢变化, 从而引起皮肤的褐色化, 促进皱纹发生及红斑反应, 甚至引发光毒性或光敏反应。敏感皮肤在日光下连续经过 UVB、UVA 的辐射, 还能损伤 DNA, 使免疫力下降, 甚至诱发皮肤癌。为保护皮肤免受阳光中紫外线的损害, 防晒化妆品应运而生。此类化妆品中大多添加紫外吸收剂, 以吸收 UVB 和 UVA 区的紫外线, 但其本身对人体有副作用, 易对

皮肤产生刺激, 使皮肤过敏, 引起红疹及皮肤发炎、变黑等。因此, 《化妆品卫生规范》(2007 年版)<sup>[1]</sup> 中对防晒剂中的紫外吸收剂作了限量规定, 如二苯酮 - 3 和甲氧基肉桂酸乙基己酯的最大允许质量分数为 10.0%。紫外吸收剂的测定方法有紫外分光光度法、气相色谱法、高效液相色谱法、薄层色谱法等, 其中紫外分光光度法操作简便, 但只能测定单一的吸收剂; 气相色谱法和薄层色谱法可同时测定多种吸收剂, 但样品前处理操作复杂, 定量准确度较低<sup>[2-3]</sup>。《化妆品卫生规范》(2007 年版)<sup>[1]</sup> 中提供了 15 种吸收剂的高效液相色谱测定方法,

收稿日期: 2010-10-11

作者简介: 陈蓓 (1971-), 女, 江苏南京人, 主管技师, 本科, 从事卫生理化检验工作。

今在此基础上,增加了二苯酮 - 2 采用梯度洗脱,同时测定化妆品中二苯酮 - 2 二苯酮 - 3 与甲氧基肉桂酸乙基己酯,获得了满意结果。

## 1 试验

### 1.1 主要仪器与试剂

Agilent HP 1100 型高效液相色谱仪,配二极管阵列检测器及色谱工作站,美国安捷伦公司; ZORBAX SB - C<sub>18</sub> 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 美国安捷伦公司; Mettler PM 200 型电子天平; 德国产 D-78224 型 Elma 超声波清洗器。

二苯酮 - 2 (纯度 97%)、二苯酮 - 3 (纯度 98%)、甲氧基肉桂酸乙基己酯 (纯度 98%) 标准品, 美国 SIGMA - ALDRICH 公司; 1 000 mg/L 二苯酮 - 2 二苯酮 - 3 甲氧基肉桂酸乙基己酯标准储备液: 准确称取各标准品 25 mg 分别置于 25 mL 容量瓶中, 用乙腈溶解并稀释至刻度, 摇匀; 100 mg/L 二苯酮 - 2 二苯酮 - 3 甲氧基肉桂酸乙基己酯标准中间液: 准确吸取各标准储备液 5.0 mL, 分别置于 50 mL 容量瓶中, 用乙腈稀释至刻度, 摇匀; 乙腈 (色谱纯)。

### 1.2 色谱条件

DAD 检测器, 检测波长 335 nm; 柱温 25 °C; 进样体积 10 μL。流动相 A 为乙腈, 流动相 B 为水, 流量 1.0 mL/min, 梯度洗脱程序为: 0 min ~ 3.00 min, φ(A) = 40%, φ(B) = 60%; 3.00 min ~ 13.00 min, φ(A) = 100%, 持续 3.00 min; 16.00 min ~ 18.00 min, φ(A) = 40%, φ(B) = 60%, 持续 2.00 min。

### 1.3 样品前处理

准确称取乳剂样品 (或吸取液体样品) 约 0.1 g (精确至 0.0001 g), 置于 100 mL 容量瓶中, 用适量乙腈/水混合溶液 (体积比为 90:10) 稀释溶解, 超声 20 min 混匀后静置数分钟 (液体样品不需超声处理), 定容至刻度, 用 0.45 μm 滤膜过滤后待测。

### 1.4 标准曲线绘制

准确吸取 100 mg/L 二苯酮 - 2 二苯酮 - 3 甲氧基肉桂酸乙基己酯标准中间液各 1.0 mL、2.0 mL、10.0 mL, 置于 100 mL 容量瓶中, 用乙腈稀释至刻度, 摇匀, 得 1.00 mg/L、2.00 mg/L、10.0 mg/L 混合标准溶液。准确吸取 1 000 mg/L 二苯酮 - 2 二苯酮 - 3 甲氧基肉桂酸乙基己酯标

准储备液各 2.5 mL、5.0 mL、7.5 mL, 置于 50 mL 容量瓶中, 用乙腈稀释至刻度, 摇匀, 得 50.0 mg/L、100 mg/L、150 mg/L 混合标准溶液。

按上述色谱条件, 取各混合标准溶液 10 μL, 注入高效液相色谱仪分离, 以吸收峰面积对质量浓度绘制标准曲线, 并作线性回归。

## 2 结果与讨论

### 2.1 流动相的选择

根据二苯酮 - 2 二苯酮 - 3 甲氧基肉桂酸乙基己酯的理化性质, 这 3 种紫外吸收剂均溶于乙腈、甲醇等多种有机溶剂。参照文献 [4], 选择乙腈和水作为流动相。当等度洗脱时, 将乙腈体积比设为 60% ~ 70%, 二苯酮 - 2 出峰时间较早 (约 3.0 min), 容易受到杂质峰的干扰; 将乙腈体积比设为 20% ~ 30%, 二苯酮 - 2 出峰时间较迟 (约 10 min), 与二苯酮 - 3 的保留时间相差较大。为加快二苯酮 - 2 的出峰速度, 使 3 种化合物在合适的时间内出峰, 需采用梯度洗脱方式。经多次试验, 筛选出上述梯度洗脱程序, 效果较好。

### 2.2 检测波长的选择

二苯酮 - 2 二苯酮 - 3 甲氧基肉桂酸乙基己酯的最大吸收波长分别为 350 nm、300 nm、310 nm, 综合考虑化妆品基质的影响, 该试验选择 335 nm 为检测波长。

### 2.3 样品前处理注意事项

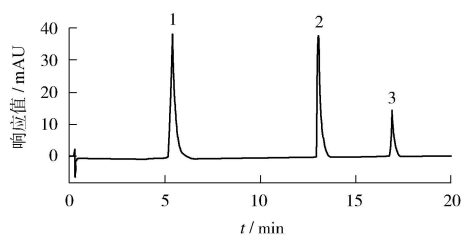
在称取样品时, 管口的样品接触封口膜易受污染, 应当弃去。由于取样量小, 应注意样品的均匀性和代表性, 最好测定一两个平行样品, 结果取平均值。膏体样品需经超声处理, 超声时的水浴温度保持在 30 °C 左右。

### 2.4 干扰试验

甲氧基肉桂酸乙基己酯、二苯酰基甲烷和二苯酮类紫外吸收剂是防晒化妆品中经常添加的主要功效成分。将二苯酰基甲烷类紫外吸收剂加入含有二苯酮 - 2 二苯酮 - 3 甲氧基肉桂酸乙基己酯的样品中, 在上述色谱条件下测定, 结果表明其对甲氧基肉桂酸乙基己酯的吸收峰有干扰。因此, 该方法不适用于同时测定添加了二苯酰基甲烷类吸收剂的化妆品。由于二苯酰基甲烷和甲氧基肉桂酸乙基己酯这两类化合物的最大吸收波长不同 (分别为 360 nm 和 310 nm), 可以通过两者的紫外光谱图加以判别<sup>[5-6]</sup>。

## 2.5 标准色谱峰

在上述色谱条件下, 测定 20.0 mg/L 二苯酮-2 二苯酮-3 甲氧基肉桂酸乙基己酯混合标准溶液, 3 种化合物的保留时间分别为 5.38 min, 13.15 min, 16.9 min, 其标准色谱峰见图 1。



1—二苯酮-2; 2—二苯酮-3; 3—甲氧基肉桂酸乙基己酯。

图 1 标准色谱峰

Fig 1 Chromatogram of standard solution

## 2.6 标准曲线与检出限

二苯酮-2 二苯酮-3 甲氧基肉桂酸乙基己酯的标准曲线回归方程见表 1, 3 种化合物在 1.00 mg/L~150 mg/L 范围内线性良好。

以 3 倍信噪比 ( $SN = 3$ ) 确定检出限, 结果见表 1。

表 1 标准曲线与检出限

Table 1 Calibration curve and detection limits of method

化合物	回归方程	相关系数 $r$	检出限 $m/ng$	最低检出质 量分数 $w/\%$
二苯酮-2	$y = 11.8x + 3.44$	0.999 9	1.5	0.015
二苯酮-3	$y = 12.8x - 16.3$	0.999 9	1.5	0.015
甲氧基肉桂 酸乙基己酯	$y = 7.37x - 1.00$	0.999 6	1.5	0.015

## 2.7 精密性与加标回收试验

准确称取 6 份乳剂空白样品约 0.1 g (精确至 0.000 1 g), 加入 1 000 mg/L 二苯酮-2 二苯酮-3 甲氧基肉桂酸乙基己酯标准储备液各 1.0 mL, 按样品操作步骤前处理后, 作为基质低浓度精密性测定溶液。准确称取 6 份乳剂空白样品约 0.1 g (精确至 0.000 1 g), 加入 1 000 mg/L 二苯酮-2 二苯酮-3 甲氧基肉桂酸乙基己酯标准储备液各 10.0 mL, 按样品操作步骤前处理后, 作为基质高浓度精密性测定溶液。在上述色谱条件下测定, 结果见表 2。

表 2 精密性与加标回收试验结果 ( $n = 6$ )

Table 2 Results of precision and spiked recovery ( $n = 6$ )

化合物	加标量 $\rho$	平均回收	标准偏差 $\rho$	RSD
	$/(mg \cdot L^{-1})$	率 $\%$	$/(mg \cdot L^{-1})$	$\%$
二苯酮-2	10.0	96.3	0.03	0.3
	100	101	0.39	0.4
二苯酮-3	10.0	96.2	0.02	0.2
	100	100	0.41	0.4
甲氧基肉桂酸	10.0	117	0.03	0.3
乙基己酯	100	99.9	1.01	1.0

## 2.8 实际样品测定

按上述色谱条件, 取标准溶液和样品处理液各 10  $\mu$ L, 注入高效液相色谱仪分离, 以标准溶液峰的保留时间为依据定性, 以样品峰面积定量。实际样品测定结果见表 3。

表 3 实际样品测定结果

Table 3 Test results of samples

样品	二苯酮-2	二苯酮-3	甲氧基肉桂酸乙基己酯
1	—	0.060	8.70
2	—	3.50	10.5
3	—	7.40	11.6
4	—	—	5.30
5	—	—	4.80
6	—	5.40	9.50

## 3 结语

采用梯度洗脱、高效液相色谱法同时测定二苯酮-2 二苯酮-3 与甲氧基肉桂酸乙基己酯, 方法操作简便, 灵敏度较高, 精密性与准确度良好, 适用于化妆品中此类紫外吸收剂的快速测定。

### [参考文献]

- [1] 中华人民共和国卫生部. 化妆品卫生规范 第三部分 卫生化学检验方法 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2007.
- [2] 卢晓蕊, 韩仰学, 霍任锋. 防晒化妆品中 5 种紫外吸收剂的超高效液相色谱测定法 [J]. 环境与健康杂志, 2010, 27(4): 346-348.
- [3] 张卫强, 朱英, 宋钰. 防晒类化妆品中防晒剂的使用情况 [J]. 环境与健康杂志, 2008, 25(8): 699-701.
- [4] 张泓, 周世伟, 吴卫平. 高效液相色谱法测定化妆品中防晒剂 [J]. 中国卫生检验杂志, 1996, 6(3): 151-153.
- [5] 张胜利, 刘丹, 欧阳峰. 高效液相色谱法同时测定苯酚及其氯化中间产物 [J]. 环境监测管理与技术, 2009, 21(1): 25-27.
- [6] 桂英爱, 王洪军, 马琳, 等. 高效液相色谱法同时测定海水中孔雀绿和无色孔雀石绿 [J]. 环境监测管理与技术, 2008, 20(2): 44-45.