

【化学测定方法】

气相色谱法同时测定化妆品中苯甲醇、苯甲酸及其盐

赖红梅

(湖北省食品药品监督检验研究院, 武汉 430064)

[摘要] 目的: 建立化妆品中苯甲醇、苯甲酸及其盐的检测方法。方法: 样品经盐酸酸化, 用乙醚超声提取, 提取液蒸至近干, 残渣用乙醇溶解。用 FFAP 色谱柱分离 - FID 检测, 气相色谱 - 质谱确证阳性结果。结果: 苯甲醇、苯甲酸的线性范围均为 0.025 mg/ml ~ 0.80 mg/ml ($r = 0.9999$); 苯甲醇、苯甲酸、苯甲酸钠(以苯甲酸计) 加标回收率分别为 85.5% ~ 95.8%、90.4% ~ 104.8%、90.3% ~ 105.8%。结论: 本方法测定结果准确、可靠, 灵敏度高, 重现性良好, 适用于同时测定化妆品中苯甲醇、苯甲酸及其盐的含量。

[关键词] 气相色谱 - 质谱; 化妆品; 苯甲醇; 苯甲酸及其盐

[中图分类号] O657.7⁺1

[文献标识码] A

[文章编号] 1004 - 8685(2011)08 - 1894 - 04

Determination of benzyl alcohol, benzoic acid and its salt in cosmetics by Gas chromatography

LAI Hong - mei

(Hubei Provincial institute for Food and Drug Control, Wuhan 430064, China)

[Abstract] **Objective:** To develop a gas chromatographic method for determination of benzyl alcohol, benzoic acid and its salt content in cosmetics simultaneously. **Methods:** The sample was extracted ultrasonically with ether after acidified using hydrochloric acid, and then the extract was evaporated to almost dryness, the residue was reconstituted with ethanol. The sample solution was separated with FFAP chromatographic column and detected with FID detector. GC - MS was used for corroboration for positive samples. **Results:** The linear range of benzyl alcohol and benzoic acid was 0.025 mg/ml ~ 0.80 mg/ml ($r = 0.9999$), the recoveries of benzyl alcohol, benzoic acid and sodium benzoate were 85.5% ~ 95.8%, 90.4% ~ 104.8% and 90.3% ~ 105.8%, respectively. **Conclusion:** The method is accurate, reliable and reproducible and suitable for the quantitative determination of benzyl alcohol, benzoic acid and its salt in cosmetics.

[Key words] Gas chromatography - mass; Cosmetic; Benzyl alcohol; Benzoic acid and its salt

由于化妆品在生产、使用和保存过程中, 很容易被微生物污染, 为了防止化妆品在保质期内受到细菌的污染, 化妆品生产企业主要采取添加一定量的防腐剂来预防。苯甲醇、苯甲酸及其盐是常用的防腐剂之一。国外毒理学资料^[1~3]表明, 苯甲醇有麻醉作用, 对眼部、皮肤和呼吸系统有强烈的刺激, 吞食、吸入或皮肤接触均对身体有害; 在皮肤刺激及致敏方面也有一定的反应。国内^[4]及欧盟^[5]规定作为化妆品中防腐剂, 苯甲醇最大使用浓度为 1%。而从苯甲酸及其钠盐的毒理学研究结果看, 目前尚无证据证明苯甲酸及其盐有明显的毒理作用, 因此美国食品与药品管理局^[6]将苯甲酸和苯甲酸钠列为“一般公认安全 (GRAS)”物质, 而未对使用条件作出规定 (但规定这两种物质用于食品中作为杀菌剂、芳香剂和辅佐剂时不得超过 0.1%)。我国卫生部颁发的化妆品卫生规范^[4]中仍规定苯甲酸及其钠盐用于淋洗类产品中时不得超过 2.5%

(以苯甲酸计)、在口腔护理用品中不得超过 1.7% (以苯甲酸计); 作为防腐剂时, 苯甲酸及其盐类不得超过 0.5% (以苯甲酸计)。欧盟^[5]也规定作为化妆品中防腐剂, 其最大使用浓度为 0.5% (以苯甲酸计)。

目前, 检测化妆品中的苯甲醇、苯甲酸含量, 我国化妆品卫生规范^[4]采用的是高效液相色谱法, 也有采用气相色谱法测定化妆品中苯甲醇方法的相关文献^[7~10], 但尚未见采用气相色谱法同时测定化妆品中苯甲醇、苯甲酸及其盐的报道。由于向化妆品中添加苯甲酸防腐剂常常是以苯甲酸盐的形式添加, 故本文拟建立气相色谱法同时测定化妆品中苯甲醇、苯甲酸及其盐(以酸计)的含量, 并采用气相色谱 - 质谱确证阳性检测结果。

1 材料与方法

1.1 试剂与材料

标准品: 苯甲酸, 含量不小于 99.5%; 苯甲醇, 含量不小于 99.5%。所用其它试剂均为分析纯。水为超纯水。所测化妆品均为市售产品。

【作者简介】 赖红梅 (1962 -), 女, 大学, 高级工程师, 主要从事食品、保健食品、化妆品检验研究工作。

1.2 主要仪器

安捷伦 7890 气相色谱仪, 氢火焰离子化检测器 (FID), Agilent7980A 气相色谱/5975C (MSD), Agilent7693 自动进样器; 超声波清洗仪; 高速离心机。

1.3 色谱条件

1.3.1 GC-FID 色谱条件 色谱柱: HP-FFAP 石英毛细管色谱柱 (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm, 硝基对苯二酸改性的聚乙二醇); 柱温程序: 初始温度 150℃, 10℃/min 升至 180℃, 保持 3 min, 再以 20℃/min 升至 230℃, 保持 5 min; 进样口温度: 240℃; 检测器温度: 250℃; 载气: N₂, 恒流: 1.0 ml/min; 氢气流量: 40 ml/min; 空气流量: 400 ml/min; 尾吹气氮气流量: 30 ml/min; 进样方式: 分流进样, 分流比: 40:1; 进样量: 1 μl。

1.3.2 质谱条件 色谱柱及升温条件同气相色谱法, 进样口温度: 230℃; 接口温度: 240℃; 载气: 氮气 1.0 ml/min; 电离方式: EI; 电离能量: 70 eV; 监测方式: 全扫描; 监视离子范围 (m/z): 50 ~ 130。

1.4 混合对照品溶液制备

1.4.1 苯甲酸、苯甲醇混合标准储备液 [ρ (苯甲酸) = 1.0 g/L, ρ (苯甲醇) = 1.0 g/L] 分别精密称取苯甲醇、苯甲酸标准品各 0.1000 g 于 100 ml 的容量瓶中, 用无水乙醇溶解并稀释至刻度, 即得浓度为 1.0 g/L 的苯甲醇、苯甲酸的混合标准储备溶液。

1.4.2 标准工作曲线制备 分别精密量取一定体积的混合标准储备溶液至 10 ml 容量瓶中, 以无水乙醇稀释并定容至刻度, 得系列浓度为 0.05 mg/ml、0.10 mg/ml、0.20 mg/ml、0.30 mg/ml、0.40 mg/ml、0.50 mg/ml 的混合标准溶液。

1.5 供试品溶液的制备

液体类化妆品: 称取 0.5 g ~ 1.0 g (精确至 0.01 g) 试样于 50 ml 具塞试管中, 加 0.5 ml 盐酸-水混合液 (1:1) 和 20.0 ml 乙醚, 密塞, 称重, 涡旋振荡使试样与提取溶剂充分混匀, 冰浴超声提取 20 min, 用乙醚补足重量, 混匀后静置至溶液分层, 准确移取上清液 10.0 ml 于 50 ml 蒸发皿中, 40℃ 水浴蒸至近干, 残渣用无水乙醇转移至 5 ml 容量瓶定容, 混匀, 再转移至 10 ml 刻度离心管中, 以 5000 r/min 离心 5 min, 上清液经 0.45 μm 滤膜过滤, 滤液作为试样溶液备用。

膏霜、乳、粉类化妆品: 称取 0.5 g ~ 1.0 g (精确至 0.01 g) 试样于 50 ml 具塞试管中, 加 1 ml 纯水振荡后加入 0.5 ml 盐酸-水混合液 (1:1) 及 20.0 ml 乙醚, 盖上塞子, 称重, 涡旋振荡使试样与提取溶剂充分混匀, 冰浴超声提取 20 min, 用乙醚补足重量, 混匀后静置至溶液分层, 准确移取上清液 10.0 ml 于 50 ml 蒸发皿中, 40℃ 水浴蒸至近干, 残渣用无水乙醇转移至 5 ml 容量瓶定容, 混匀, 再转移至 10 ml 刻度离心管中, 以 5000 r/min 离心 5 min, 上清液经 0.45 μm 滤膜过滤, 滤液作为试样溶液备用。

2 结果与讨论

2.1 色谱条件的选择

本实验试验了极性、非极性色谱柱, 对于苯甲醇的测定均可行, 但测苯甲酸时, 采用用硝基对苯二酸改性的聚乙二醇色谱柱 (HP-FFAP) 峰的对称性较好, 综合考虑选用了硝基对

苯二酸改性的聚乙二醇色谱柱。

根据苯甲醇、苯甲酸的化学性质, 化妆品的基质特点及所选色谱柱的特性, 选择了 240℃ 的进样口温度及 250℃ 检测器温度, 考虑到化妆品成分复杂, 难挥发有机物较多, 在目标色谱峰出完后, 将柱温升至 230℃ 保持 5 min, 排出残留组分, 以免影响下一样品的分析。混合标准色谱图如图 1 所示。

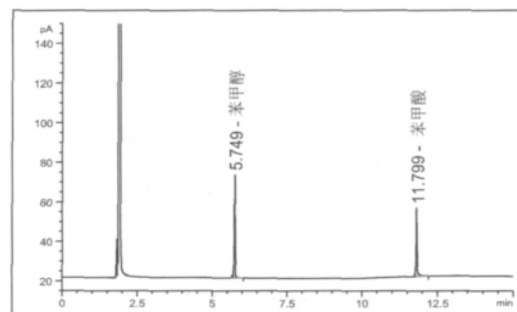


图 1 混合标准溶液色谱图

2.2 样品前处理试验

根据苯甲醇微溶于水, 苯甲酸难溶于水, 但二者均能溶于乙醚、乙醇等溶剂的化学性质, 并考虑苯甲酸钠溶于水的特性, 本实验采用了先将苯甲酸钠酸化为苯甲酸, 再选择乙醚为提取溶剂提取的方法。鉴于乙醚挥发性很强, 本试验采用了除去乙醚后用乙醇溶液溶解残渣再测定的方法, 结果显示苯甲醇、苯甲酸及盐的回收率均较为理想。最终确立了本试验的提取方法。

2.3 方法的线性范围和检出限

表 1 线性及检出限

组分	线性范围 (mg/ml)	线性方程	相关系数	检出限 (μg)	检出浓度 (%) [*]
苯甲酸	0.025 ~ 0.80	$y = 306.86x - 2.49$	0.9999	0.0025	0.0025
苯甲醇	0.025 ~ 0.80	$y = 378.59x - 1.47$	0.9999	0.0012	0.0012

注: * 若取 1.0 g 样品时, 本方法的检出浓度。

2.4 精密度试验

选择高低两个不同浓度的混合对照品溶液, 连续进样 6 次, 每次进样 1 μl, 记录色谱图, 以色谱峰面积计算, 苯甲醇、苯甲酸的 RSD (n=6) 分别为 0.60% ~ 0.73%, 0.93% ~ 1.07%, 表明仪器性能优良。

2.5 重复性试验

按“1.5”项方法, 对不同类型的同一样品分别平行制备各 6 份加标供试样品, 以 1.3 项的色谱条件测定, 液体类样品苯甲醇、苯甲酸、苯甲酸钠的 RSD 分别为: 3.65%、1.52%、2.15%; 膏乳类样品苯甲醇、苯甲酸、苯甲酸钠的 RSD 分别为: 2.28%、2.54%、1.31%; 粉类样品苯甲醇、苯甲酸、苯甲酸钠的 RSD 分别为: 1.10%、0.72%、1.52%。可见本法提取效果稳定, 测定重复性良好。

2.6 回收率试验

在本方法条件下, 对液体类、膏乳类、粉类化妆品 (均为空白样品) 分别进行了高、中、低三个不同添加水平, 每水平各三次的添加苯甲醇、苯甲酸、苯甲酸钠的回收试验, 结果见表 2 ~ 表 4。

表 2 苯甲醇的加标回收试验

类型	本底值(%)	加标量(mg)	测定值(mg)	回收率(%)
液体类	未检出	0.49985	0.443	88.6
		2.9991	2.569	85.7
		4.9985	4.334	86.7
膏乳类	未检出	0.49985	0.479	95.8
		2.9991	2.648	88.3
		4.9985	4.314	86.3
粉类	未检出	0.49985	0.451	90.2
		2.9991	2.582	86.1
		4.9985	4.274	85.5

表 3 苯甲酸的加标回收试验

类型	本底值(%)	加标量(mg)	测定值(mg)	回收率(%)
液体类	未检出	0.5008	0.512	102.2
		3.0047	2.815	93.7
		5.0078	4.923	98.3
膏乳类	未检出	0.5008	0.525	104.8
		3.0047	3.062	101.9
		5.0078	4.762	95.1
粉类	未检出	0.5008	0.499	99.6
		3.0047	2.731	90.9
		5.0078	4.527	90.4

表 4 苯甲酸钠的加标回收试验

类型	本底值(%)	加标量(mg)	测定值(mg)	回收率(%)
液体类	未检出	0.5002	0.516	103.2
		3.0012	2.752	91.7
		5.0020	4.517	90.3
膏乳类	未检出	0.5002	0.529	105.8
		3.0012	2.836	94.5
		5.0020	4.837	96.7
粉类	未检出	0.5002	0.521	104.2
		3.0012	2.719	90.6
		5.0020	4.752	95.0

由表 2 ~ 表 4 可见本法应用气相色谱仪可同时测定化妆品中苯甲醇、苯甲酸及其盐,其回收率良好,符合化妆品规范的要求。典型样品加标色谱图如图 2 所示。

2.7 质谱确证

由于化妆品的基质复杂,气相色谱测定时,色谱图中待测组分相应位置可能存在干扰物无法判定,故本法采用气相色谱-质谱确证阳性检测结果,以保证检测结果的准确性。

气相色谱-质谱的色谱条件参照气相色谱的方法。根据苯甲醇、苯甲酸的分子量和特征离子峰,选择 40 ~ 140(m/z) 的监测离子范围,苯甲醇为 79、108、91 的特征离子;苯甲酸为 105、122、77 的特征离子。

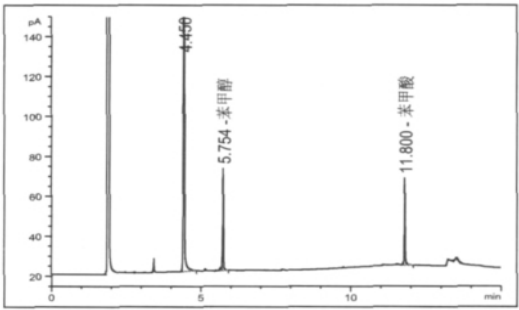


图 2 典型样品加标色谱图

2.8 样品测定及气质确证

在本方法条件下,测定了下列不同类型的化妆品(样品来自市场在售产品)结果见表 5。

表 5 样品测定

编号	样品名称	苯甲醇(%)	苯甲酸或盐(以苯甲酸计)(%)
1	漱口水	-	0.15
2	花露水	-	-
3	毛孔细致水	-	-
4	洗发露	-	0.16
5	沐浴乳	0.061	-
6	润发露	-	-
7	润肤蜜	-	-
8	抗皱霜	-	-
9	爽肤水	-	-
10	沐浴露	-	-
11	直发膏	-	-
12	爽身粉	-	-

注“-”表示测定结果为阴性。

应用本法对编号为 1 和 5 的样品检测的阳性结果进行了气质确证。其总离子流图、质谱图如图 3 ~ 图 6 下:

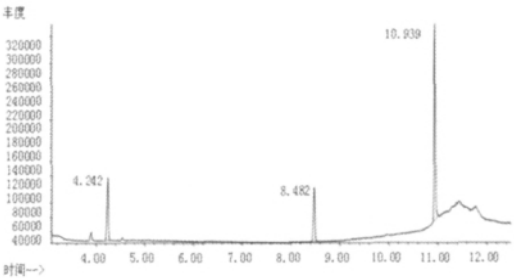


图 3 1 号样总离子流图

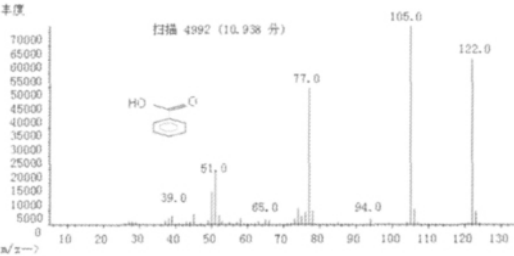


图 4 1 号样质谱

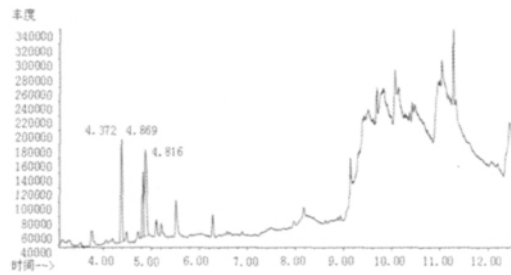


图 5 5 号样总离子流图

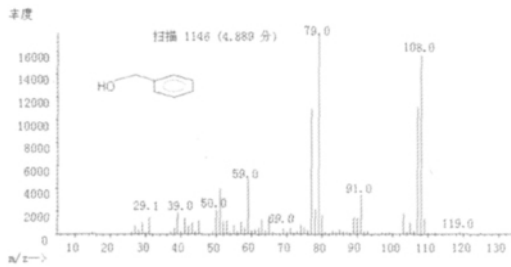


图 6 5 号样质谱

采用气相色谱-质谱对检测结果进行确证,有利于排除色谱分析中可能存在的干扰影响,保证了测定结果的准确性。

3 结论

本实验旨在建立用气相色谱法同时测定液体类、膏霜乳类化妆品中苯甲醇和苯甲酸及其盐(以苯甲酸计)含量的方法,并对阳性结果进行气相色谱质谱的确证,以保证检测结果的准确性。经方法学试验及样品的测定,结果表明:本方法检

测结果准确可靠,分析时间较液相色谱法要短,可应用于化妆品中防腐剂苯甲醇、苯甲酸及其盐的含量测定工作。

[参考文献]

[1] Harvell ,JD ,Y - C Tsai ,H I Maibach ,R Gay ,*et al.* Anin vivo correlation with three in vitro assays to assess skin irritation potential[J]. J Toxicol Cutan Ocul Toxicol ,1994 ,13: 171 - 183.
[2] Lashmar UT ,J Hadgraft ,N Thomas. Topical application of penetration enhancers to the skin of nude mice: A histopathologica l study[J]. J Pharm Pharmacol ,1989 ,41: 118 - 122.
[3] Adams RM ,HI Maibach. A five - year study of cosmetic reactions [J]. J Am Acad ,1985 ,13: 1062 - 1069.
[4] 化妆品卫生规范[S]. 2007 /3 234.
[5] European Union (EU) . 1995. The Cosmetics Directive of the European Union. Updated version—incorporating all amendments until August 1 ,1995. Dir. 76/768/EEC[S].
[6] US FDA. 1972. GRAS (Generally Recognized As Safe) food ingredients: benzoic acid and sodium benzoate. Washington ,DC , US Food and Drug Administration. Dermatol[S]. 13: 1062 - 1069.
[7] 周耀斌,彭亚锋.应用毛细管气相色谱技术测定化妆品中防腐剂苯甲醇含量[J]. 香精香料化妆品 2009 8(4): 9 - 10.
[8] 刘刚,赵刚,王小芳.气相色谱法分析化妆品中防腐剂[J]. 色谱 2002 20(3): 274 - 276
[9] 刘青,陈文锐,吴宏中.气相色谱法测定化妆品中防腐剂苯甲醇和苯氧基乙醇[J]. 检验检疫科学 2002 ,12(1): 34 - 35.
[10] 李英,刘丽,刘志红.气相色谱-质谱法测定化妆品中多种防腐剂[J]. 色谱 2003 21(3): 170 - 173.

(收稿日期: 2011 - 04 - 14)

(上接第 1893 页)

表 3 稳定时间实验

测定时间	测定均值(μg)		损失率(%)	
	环己烷	甲基环己烷	环己烷	甲基环己烷
当天	69	67	0	0
第 2 天	68	67	1	0
第 6 天	67	65	3	3
第 7 天	66	64	4	4
第 8 天	65	63	6	6

2.6 检出限及最低检出浓度(1.5 L 空气样品计) 环己烷为 8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 和 5.3 mg/m^3 、甲基环己烷 8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 和 5.3 mg/m^3 。

2.7 穿透容量实验

按文献^[2]介绍的方法进行,环己烷、甲基环己烷的穿透容量(100 mg) 均为 10.8 mg 。

2.8 干扰实验

现场空气中可能共存化合物有环己酮、环己醇、苯、甲苯、正己烷、正庚烷。在本实验条件下进行测定,上述化合物之间

能较好分离,不相互干扰^[3,4]。

3 小结

采用活性炭管吸附工作场所空气中环己烷、甲基环己烷,由二硫化碳解吸、进样,经玻璃柱恒温分离测定, FID 测定。该方法具有操作简便、灵敏度高、重现性好、准确可靠,适用于印刷工作场所空气中环己烷、甲基环己烷的同时测定。

[参考文献]

[1] GBZ/T160. 41 - 2004. 工作场所空气有毒物质测定脂环烃类化合物[S].
[2] 吴萍,刘金洲.工作场所空气中醇类化合物异丙醇、丁醇、异戊醇的时间加权平均浓度(TWA) 测定方法研究[J]. 中国卫生检验杂志 2005 ,15(10): 1176 - 1178.
[3] 王锡宁,张霞,张燕,等.空气中环己烷等有机物同时测定的气相色谱法[J]. 环境与健康杂志 2007 24(7): 535 - 537.
[4] 何彩.气相色谱法测定作业场所空气中甲基环己烷方法的研究[J]. 职业与健康 2009 25(24): 2700 - 2702.

(收稿日期: 2011 - 04 - 22)