

高效液相色谱法同时测定化妆品中的呋喃妥因和呋喃唑酮

张庆*, 王超, 王星, 武婷, 马强

(中国检验检疫科学研究院工业品检验研究所, 北京 100123)

摘要: 建立了一种同时检测化妆品中呋喃妥因和呋喃唑酮的高效液相色谱法(HPLC)。乳液、膏霜、化妆水、散粉、唇膏类等不同类型的化妆品样品由乙腈-甲醇(体积比为1:1)混合溶液超声提取后进行HPLC分析。采用Kromasil C18色谱柱,以乙腈-0.4%乙酸溶液(体积比为30:70)为流动相,流速1.0 mL/min,采用二极管阵列检测器检测,检测波长为365 nm;采用外标法定量,呋喃妥因和呋喃唑酮检测的线性范围为0.1~20 mg/L,相关系数为0.9999,最低检出限为1.2 mg/kg;在0.2,1.0,10.0 mg/L加标水平下,平均回收率为88.0%~104.6%,相对标准偏差为0.5%~4.8%。该方法快速准确,可用于化妆品中呋喃妥因和呋喃唑酮的同时测定。

关键词: 高效液相色谱法; 呋喃妥因; 呋喃唑酮; 化妆品

中图分类号: O658 文献标识码: A 文章编号: 1000-8713(2009)02-0237-03 栏目类别: 技术与应用

Simultaneous determination of nitrofurantoin and furazolidone in cosmetics using high performance liquid chromatography

ZHANG Qing*, WANG Chao, WANG Xing, WU Ting, MA Qiang

(Institute of Industrial Product Inspection, Chinese Academy of Inspection and Quarantine, Beijing 100123, China)

Abstract: A method was developed for the simultaneous determination of nitrofurantoin and furazolidone in cosmetics using reversed-phase high performance liquid chromatography. Cosmetics samples of various types, including lotion, cream, emollient, waterpowder and lipstick, were extracted under ultrasonication with acetonitrile-methanol (1:1, v/v). A Kromasil C18 analytical column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) was used for the separation at 25 °C. Acetonitrile-0.4% acetic acid (30:70, v/v) was used as the mobile phase at a flow rate of 1.0 mL/min. The detection was performed at 365 nm by a diode array detector. The quantitative analysis was performed using external standard calibration curve. The linear ranges for nitrofurantoin and furazolidone were 0.1 – 20 mg/L ($r = 0.9999$). The average recoveries were 88.0% – 104.6% with the relative standard deviations of 0.5% – 4.8%. The method is convenient, rapid, reliable and suitable for the determination of nitrofurantoin and furazolidone in cosmetics.

Key words: high performance liquid chromatography (HPLC); nitrofurantoin; furazolidone; cosmetics

呋喃妥因和呋喃唑酮属于人工合成的硝基呋喃类广谱抗菌药物,早期曾被广泛地用作动物饲料添加剂,后被发现具有较强的细胞诱变性和动物致癌毒性,因而在饲料生产中遭到全面禁用,然而其作为药物在临床上仍在广泛使用。鉴于呋喃妥因和呋喃唑酮有可能作为化妆品添加剂使用,为了避免含有此类药物的化妆品给消费者带来健康危害,我国《化妆品卫生规范》^[1]中明确规定这两种药物在化妆品中为禁用物质。

目前对于硝基呋喃类药物的检测主要是基于高效液相色谱配以不同的检测方法,包括紫外^[2-4]、质谱^[5-7]以及电化学^[8]检测等。然而国内外现有的报道中针对的样品主要是饲料和动物源性食品,对于化妆品中的硝基呋喃类药物检测还没有报道。鉴于化妆品与消费者直接接触,因而建立一种快速准确的硝基呋喃类药物的检测方法对于化妆品的风险预警有着重要的意义。本文针对乳液、膏霜、化妆水、散粉和唇膏等多种化妆品样品,建立了一种同时检

* 通讯联系人: 张庆, 助理研究员. Tel: (010)85773355-2264, E-mail: njuzhangqing@yahoo.com.cn.

基金项目: 国家标准委员会计划项目(No. 20072831-T-607).

收稿日期: 2008-07-09

测其中呋喃妥因和呋喃唑酮含量的高效液相色谱-紫外检测法。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Shimadzu LC-20A 高效液相色谱仪,配 SPD-M20A 二极管阵列检测器(日本岛津公司);Milli-Q 超纯水器(美国 Millipore 公司);KQ-600B 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);CR 21G 型高速冷冻离心机(日本 Hitachi 公司);呋喃妥因和呋喃唑酮标准品(德国 Dr. Ehrenstorfer 公司);乙腈、甲醇(色谱纯,美国 Fisher 公司);其他试剂均为分析纯(北京化工厂)。

1.2 色谱条件

色谱柱:Kromasil C18 柱(250 mm × 4.6 mm 5 μm);流动相:乙腈-0.4% 醋酸溶液(体积比为 30:70);流速:1.0 mL/min;检测波长 365 nm;进样量:20 μL。

1.3 标准溶液的配制

准确称取呋喃妥因和呋喃唑酮标准品各 20 mg,精确至 0.1 mg,用乙腈溶解并定容至 100 mL 棕色容量瓶中,得到质量浓度为 200 mg/L 的呋喃妥因和呋喃唑酮混合标准储备液,在 4 °C 下避光、密封保存。将此标准储备液用流动相逐级稀释成质量浓度分别为 0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 5.0, 10.0 和 20.0 mg/L 的标准工作溶液,在 4 °C 下避光、密封保存。

由于呋喃妥因和呋喃唑酮对光十分敏感,见光容易变质分解,因而配制标准溶液一定要使用棕色容量瓶,其他玻璃器皿也需进行避光处理,所有操作都应在避光条件下进行。

1.4 样品前处理

准确称取化妆品试样 0.5 g,精确至 0.001 g,置于 20 mL 具塞比色管中,准确加入乙腈-甲醇(体积比为 1:1)15 mL,充分混匀,在超声波清洗器中超声提取 20 min,然后用去离子水定容至 20 mL,混匀。取约 10 mL 上述溶液置于离心管中,以 5 000 r/min 转速离心 20 min,上层清液经 0.45 μm 微孔滤膜过滤,滤液供液相色谱测定。

2 结果与讨论

2.1 实验条件的选择

2.1.1 流动相和检测波长的选择

流动相的选择:通过对比多种组成和不同比例的流动相(甲醇-水(体积比为 90:10 ~ 20:80)、乙腈-水(体积比为 90:10 ~ 20:80)、乙腈-0.4% 乙酸(体积比为 90:10 ~ 20:80))的分离效果,确定选择

乙腈-0.4% 乙酸作为流动相。在乙腈-0.4% 乙酸的体积比为 50:50 ~ 20:80 时,呋喃妥因和呋喃唑酮均可以得到有效的分离,且峰形比较好。综合考虑出峰时间、分离度和干扰峰位置等因素,确定选择乙腈-0.4% 乙酸(体积比为 30:70)作为流动相。

检测波长的选择:呋喃妥因的两个较大吸收波长是 265 nm 和 365 nm,呋喃唑酮的两个较大吸收波长是 260 nm 和 365 nm,365 nm 是两种物质相同的较大吸收波长,且干扰较小,因此选择 365 nm 作为检测波长。

2.1.2 提取溶剂和提取时间的选择

提取溶剂的选择:呋喃妥因和呋喃唑酮在乙腈中的溶解度最好,微溶于甲醇,在水中则几乎不溶。另外,对于某些种类的化妆品样品(如膏霜、乳液、唇膏),其中加入一定量的甲醇有利于增强提取剂的破乳效果,因此我们选择乙腈-甲醇作为提取剂。实验中我们通过正交实验,比较各种比例的乙腈-甲醇混合溶液的提取效果,最终选择体积比为 1:1 的乙腈-甲醇混合溶液作为提取剂。

提取时间的选择:在化妆品中添加相同量的呋喃妥因和呋喃唑酮,分别超声提取 10, 20, 30, 40 和 50 min,测定溶液中呋喃妥因和呋喃唑酮的含量,结果发现当提取时间超过 20 min 后,提取效率基本一致,因此选用提取时间为 20 min。

优化的色谱条件下的标准溶液和加标样品的色谱图如图 1 所示。

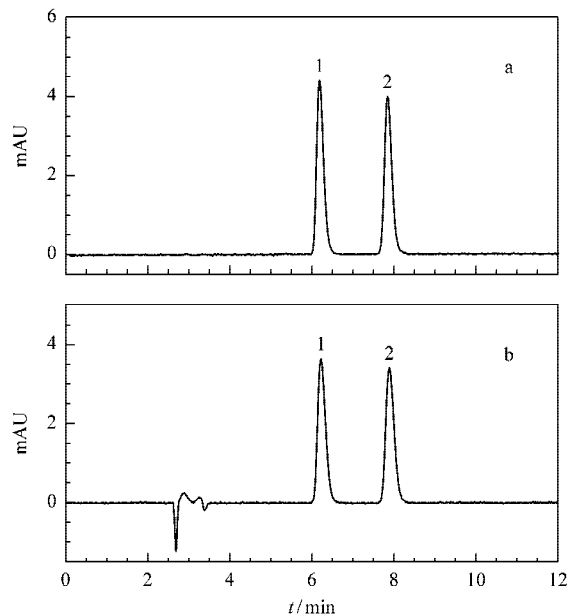


图 1 (a)呋喃妥因和呋喃唑酮标准溶液以及 (b)加标样品的色谱图

Fig. 1 Chromatograms of (a) mixed standards of nitrofurantoin, furazolidone and (b) a spiked cosmetic sample

1. nitrofurantoin; 2. furazolidone.

2.2 标准溶液的稳定性

呋喃妥因和呋喃唑酮的光稳定性较差,见光容易分解。因此对配制的标准溶液进行了稳定性实验。结果发现,如果不避光,配制的标准溶液放置 3 h 后出现明显的变质(见图 2)。而对冷藏避光保存的标准溶液进行为期一个月的稳定性实验,则没有发现分解现象。

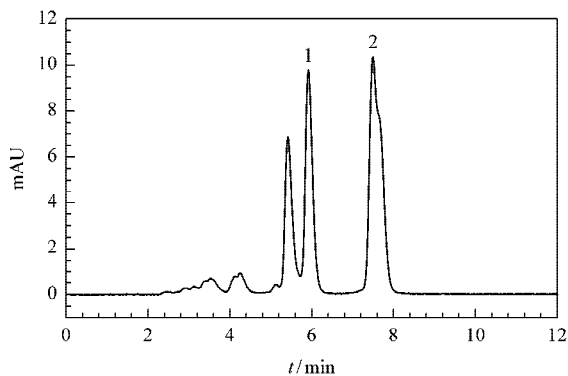


图 2 呋喃妥因和呋喃唑酮混合标准溶液光照 3 h 后的色谱图

Fig. 2 Chromatogram of mixed standards of nitrofurantoin and furazolidone exposed to light for 3 h

1. nitrofurantoin; 2. furazolidone.

2.3 线性关系和检出限

移取质量浓度为 0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 5.0, 10, 20 mg/L 的混合标准工作溶液进样测定,以色谱峰面积(y)对相应的质量浓度 x (mg/L) 做图,结果表明呋喃妥因和呋喃唑酮的质量浓度在 0.10 ~ 20 mg/L 范围内与其峰面积具有良好的线性关系,线性方程和线性相关系数分别为:呋喃妥因 $y = 50.52x + 1.35$, $r = 0.9999$;呋喃唑酮 $y = 48.57x + 0.87$, $r = 0.9999$ 。

在本方法确定的实验条件下进行测定,分别以 3 倍信噪比和 10 倍信噪比作为检出限和定量限,经过实验确定本方法对呋喃妥因和呋喃唑酮的检出限和定量限均分别为 1.2 mg/kg 和 4 mg/kg。

2.4 方法的回收率和精密度

实验中我们选择了不含有呋喃妥因和呋喃唑酮的化妆品样品进行加标回收率和精密度实验,样品种类包括乳液、膏霜、化妆水、散粉、唇膏类。设定 0.2, 1 和 10 mg/L 3 个添加水平,加入标样后充分混匀并静置 20 min,使其被化妆品吸收。对每个添加浓度进行 6 次平行实验,测得呋喃妥因的回收率

为 92.5% ~ 100.8%, 相对标准偏差为 1.6% ~ 2.6%; 测得呋喃唑酮的回收率为 93.5% ~ 102.4%, 相对标准偏差为 1.9% ~ 3.0% (见表 1)。

表 1 呋喃妥因和呋喃唑酮的添加回收率和精密度 ($n = 6$)

Table 1 Spiked recoveries and precisions of nitrofurantoin and furazolidone ($n = 6$)

Analyte	Added/ (mg/L)	Recovery/ %	RSD/ %
Nitrofurantoin (呋喃妥因)	0.2	92.5	2.6
	1.0	95.9	2.6
	10.0	100.8	1.6
Furazolidone (呋喃唑酮)	0.2	93.5	2.6
	1.0	97.1	3.0
	10.0	102.4	1.9

2.5 实际样品的测定

应用本方法对乳液、膏霜、化妆水、散粉、唇膏类等不同类型的化妆品样品共 10 件进行了分析测定,测试结果经标准样品比对及二极管阵列检测器验证,均没有检测到呋喃妥因和呋喃唑酮。

3 结论

建立了高效液相色谱测定化妆品中两种硝基呋喃类药物的检测方法。方法的回收率、检出限和精密度等各项技术指标均符合要求,可作为检验检疫标准用于化妆品中呋喃妥因和呋喃唑酮的检验。

参考文献:

- [1] Ministry of Health of the People's Republic of China. Hygienic standard for cosmetics. Beijing: Ministry of Health of the People's Republic of China (中华人民共和国卫生部. 化妆品卫生规范. 北京: 中华人民共和国卫生部), 2007: 28, 42
- [2] Vinas P, Campillo N, Carrasco L, et al. Chromatographia, 2007, 65: 85
- [3] Zhang H, Yang X, Ma Y, et al. Chinese Journal of Chromatography (张华, 杨鑫, 马莺, 等. 色谱), 2008, 26(3): 392
- [4] Gu H A, Zhang H, Wang T P, et al. Chinese Journal of Pharmaceuticals (顾洪安, 张慧, 王天平, 等. 中国医药工业杂志), 2000, 31(10): 452
- [5] Barbosa J, Moura S, Barbosa R, et al. Anal Chim Acta, 2007, 586: 359
- [6] Conneely A, Nugent A, O'Keefe M, et al. Anal Chim Acta, 2003, 483: 91
- [7] Ding T, Xu J Z, Shen C Y, et al. Chinese Journal of Chromatography (丁涛, 徐锦忠, 沈崇钰, 等. 色谱), 2006, 24(5): 432
- [8] Díaz T G, Cabanillas A G, Valenzuela M I A, et al. J Chromatogr A, 1997, 764: 243