

## 高效液相色谱法测定化妆品中的 12 种紫外吸收剂

何乔桑<sup>1\*</sup>, 徐娜<sup>2</sup>, 李晶<sup>1</sup>, 廖上富<sup>1</sup>

(1. 浙江省质量技术监督检测研究院, 浙江 杭州 310013;

2. 浙江工业大学化学工程与材料学院, 浙江 杭州 310014)

**摘要:** 建立了高效液相色谱同时测定化妆品中 12 种紫外吸收剂含量的方法。样品用甲醇提取, 高速离心, 过滤, 以 SB-C8 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 为分离色谱柱, 甲醇和 0.1% (v/v) 甲酸水溶液为流动相, 梯度洗脱, 以 311 nm 为检测波长进行定性、定量分析。该方法前处理简单、易操作, 12 种紫外吸收剂分离效果良好; 在 1.0 ~ 500 mg/L 范围内呈线性关系, 相关系数大于 0.999 5; 方法检出限为 0.002 ~ 0.1 mg/L; 实际样品中的加标回收率为 97.4% ~ 107.5%。相对标准偏差为 1.54% ~ 4.98%。该方法简便、准确, 能够满足化妆品中紫外吸收剂的检测要求。

**关键词:** 高效液相色谱; 紫外吸收剂; 化妆品

中图分类号: O658

文献标识码: A

文章编号: 1000-8713(2011)08-0762-06

## Determination of 12 sunscreen agents in cosmetics by high performance liquid chromatography

HE Qiaosang<sup>1\*</sup>, XU Na<sup>2</sup>, LI Jing<sup>1</sup>, LIAO Shangfu<sup>1</sup>

(1. Zhejiang Test Academy of Quality and Technical Supervision, Hangzhou 310013, China; 2. College of Chemical Engineering and Materials Science, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, China)

**Abstract:** A comprehensive analytical method based on high performance liquid chromatography (HPLC) has been developed for the determination of 12 sunscreen agents in cosmetics. The cosmetic samples were extracted by methanol. The target compounds were separated on an SB-C8 column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) in gradient elution mode using methanol and 0.1% (v/v) formic acid aqueous solution as mobile phases. The detective wavelength was 311 nm. The linear plots were obtained between 1.0 and 500 mg/L with good correlation coefficients larger than 0.999 5. The limits of detection (LODs) for this method were in the range of 0.002 - 0.1 mg/L. The spiked recoveries of commercial cosmetics were in the range of 97.4% - 107.5% with the relative standard deviations of 1.54% - 4.98%. The results indicated that the developed method is simple, rapid, accurate and suitable for the determination of 12 sunscreen agents in cosmetics samples.

**Key words:** high performance liquid chromatography (HPLC); sunscreen agents; cosmetics

紫外吸收剂是防晒类化妆品中具有防晒功效的活性物质, 由于它的价格低于物理阻挡剂, 并且易于配方, 所以市场上所售防晒剂 80% 为紫外吸收剂<sup>[1]</sup>。随着化妆品产业的快速发展、人们生活意识的改变以及生产企业对 BB 霜、隔离霜、粉底液、遮瑕膏等这一修饰类化妆品作用的宣传, 使得这类化妆品已经成为人们的日常必备化妆品, 同时它的使用频率远远超过防晒类化妆品。所以紫外吸收剂的

研究也相应从防晒类化妆品扩展到非防晒类产品。紫外吸收剂是化学合成物质, 它在紫外线的作用下会分解和裂变<sup>[2,3]</sup>, 而降解后的小分子更容易被皮肤吸收<sup>[4]</sup>, 因而存在诱发丘疹和脓疱, 甚至引起光毒性和皮肤过敏等风险<sup>[5]</sup>。因此, 我国 2007 年出版的《化妆品卫生规范》规定了 26 种紫外吸收剂的限量 (2% ~ 10%)<sup>[6]</sup>。由于国家地域的不同, 不同国家和组织对紫外防晒剂的限量存在着较大的差

\* 通讯联系人: 何乔桑, 高级工程师, 从事化工产品分析检测。Tel: (0571) 85123797, E-mail: hqsang@163.com.

基金项目: 国家质量技术监督检验检疫总局科技计划项目 (No. 2009QK173)。

收稿日期: 2011-03-30

异<sup>[7]</sup>,比如甲氧基肉桂酸异戊酯已经得到欧盟批准使用,但日本禁止把甲氧基肉桂酸异戊酯与一些特定成分一起使用;又如,对于 4-甲基苄亚基樟脑,在我国的限量为 4%,但美国食品和药品管理局(FDA)禁止此物质在防晒类化妆品中使用。对化妆品中紫外吸收剂分析检测的研究有利于进出口化妆品企业和质量监督部门加强防晒类、非防晒类产品的质量控制和监管,为规范产品管理和应对贸易壁垒提供技术支持。

据文献报道,紫外吸收剂的定性、定量方法有很多,包括高效液相色谱法(HPLC)<sup>[8-12]</sup>、气相色谱法<sup>[13,14]</sup>和薄层色谱法<sup>[15]</sup>。最常报道的是 HPLC 法,主要采用四元流动相,高氯酸和四氢呋喃通常作为流动相组成成分。高氯酸为强酸,对色谱柱的伤害很大。四氢呋喃为一种非环保类试剂,具有较大的毒性,不利于广泛使用;其次四氢呋喃具有明显的化学不稳定性<sup>[16]</sup>,容易造成色谱系统的不稳定,导致峰拖尾、裂分和新峰的产生。马杰等<sup>[12]</sup>采用甲醇-水作为流动相同时测定 10 种紫外吸收剂,但对于近年来各大化妆品厂家重点关注的防晒原料——羟苯甲酮、2-羟基-4-甲氧基二苯甲酮-5-磺酸水合物等常用的能同时吸收 UVA(长波长紫外线,或称紫外线 A)和 UVB(中波长紫外线,或称紫外线 B)的广谱紫外吸收剂不能同时进行分离检测。目前紫外吸收剂的测定研究主要局限于其含量较高的防晒类化妆品,而对于消费者普遍使用的修饰类产品中紫外吸收剂的测定尚未见深入报道。本文对防晒类和非防晒类样品的前处理以及 HPLC 条件进行了优化,利用甲醇作为前处理超声提取剂,采用 0.1% (v/v) 甲酸-水和甲醇作为流动相,通过梯度洗脱,对 30 种化妆品中苯基苯并咪唑磺酸、羟苯甲酮、甲氧基肉桂酸乙基己酯等 12 种紫外吸收剂进行了分离检测。实验结果表明,该方法准确、简便、快速、环保,结果令人满意。

## 1 实验部分

### 1.1 试剂与仪器

Agilent 1200 型高效液相色谱仪,配有在线脱气机、四元泵、自动进样器、柱温箱、紫外检测器(美国 Agilent 公司); Milli-Q 超纯水器(美国 Millipore 公司); KUDOS 超声波清洗器(上海科超有限公司); SIGMA 3-18 型高速冷冻离心机(美国 Sigma 公司)。对氨基苯甲酸(*p*-aminobenzoic acid, PABA; 纯度为 99.3%)、苯基苯并咪唑磺酸(phenylbenzimidazole sulfonic acid, PBSA; 纯度为 96.2%)、2-羟基-4-甲氧

基二苯甲酮(benzophenone-3, BP-3; 纯度为 99.9%)、2-羟基-4-甲氧基二苯甲酮-5-磺酸水合物(benzophenone-4, BP-4; 纯度为 98.0%)、2-氰基-3,3'-二苯基丙烯酸-2-乙基己酯(octocrylene, OC; 纯度为 96.1%)、水杨酸乙基己酯(ethylhexyl salicylate, EHS; 纯度为 98.0%)、3,3,5-三甲基环己烷水杨酸酯(homosalate, HMS; 纯度为 99.4%)均购自日本 Tokyo Chemical Industry(TCI)公司;*p*-甲氧基肉桂酸异戊酯(isoamyl-*p*-methoxycinnamate, IAMC; 纯度为 99.3%)购自美国 United States Pharmacopeia(USP)公司;4-甲基苄亚基樟脑(4-methylbenzylidene camphor, 4-MBC; 纯度为 99.4%)购自美国 Alfa Aesar 公司;4-二甲氨基苯甲酸-2-乙基己酯(octyldimethyl-*p*-aminobenzoic acid, OD-PABA; 纯度为 98.8%)购自美国 ALDRICH 公司;丁基甲氧基二苯酰基甲烷(butylmethoxydibenzoylmethane, BM-DBM; 纯度为 99.5%)购自美国 Dr. Ehrenstorfer 公司;甲氧基肉桂酸乙基己酯(ethylhexyl methoxycinnamate, EHMS; 纯度为 99.2%)购自日本 ACROS 公司;甲醇(HPLC 级,美国天地公司);甲酸(HPLC 级,美国 Sigma 公司)。

### 1.2 色谱条件

色谱柱: Agilent ZORBAX SB-C8 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇(A)和 0.1% (v/v) 甲酸水溶液(B); 梯度洗脱程序: 0 ~ 10 min, 20% A ~ 85% A, 保持 15 min; 25 ~ 25.5 min, 85% A ~ 20% A; 流速: 1.0 mL/min。进样量: 5 μL; 紫外检测波长: 311 nm; 柱温: 35 °C。

### 1.3 标准溶液的配制

分别精确称取 12 种紫外吸收剂的标准品各 50 mg(精确至 0.01 mg)于 25 mL 容量瓶中,用甲醇溶解并定容,分别配成 2 000 mg/L 标准品储备液,于 4 °C 下避光保存,备用。分别移取适量的标准品储备液,用 50% (v/v) 甲醇水溶液配制质量浓度均为 0.5、1、10、50、100、200、500 mg/L 的系列混合标准工作溶液。

### 1.4 样品前处理

称取化妆品样品 0.2 ~ 0.5 g(精确至 0.1 mg),置于 50 mL 具塞比色管中,用甲醇定容至 25 ~ 50 mL,充分混匀,置于超声波清洗器中提取 30 min,以 10 000 r/min 速率离心 10 min,取上清液,用 0.45 μm 微孔滤膜过滤,滤液待测定。

## 2 结果与讨论

### 2.1 色谱柱的选择

紫外吸收剂由于结构上的差异,可在反相色谱柱上分离。但由于个别紫外吸收剂(PABA 和 PB-SA)的极性相似,因此选择合适的色谱柱对于分离至关重要。本文分别考察了 12 种紫外吸收剂在不同品牌、不同规格色谱柱上的保留效果,其中 12 种紫外吸收剂在不同 C18 柱上的分离色谱图见图 1,在不同 C8 柱上的分离色谱图见图 2。从图 1 和图 2

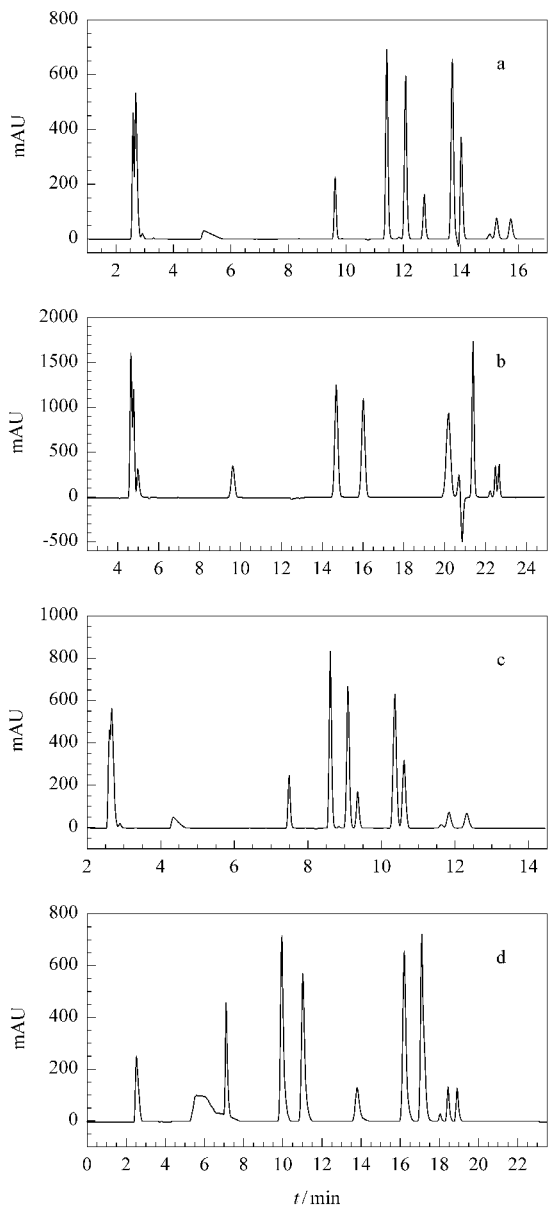


图 1 不同 C18 柱对目标物的分离色谱图

Fig. 1 Chromatograms of 12 sunscreen agents obtained on different kinds of C18 columns

a. Diamonsil (200 mm × 4.6 mm, 5 μm); b. Agilent ZORBAX SB (150 mm × 4.6 mm, 3.5 μm); c. Agilent ZORBAX Eclipse XDB (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); d. Agilent ZORBAX SB-Aq (250 mm × 4.6 mm, 5 μm).

Mobile phases: A, methanol; B, 0.1% (v/v) formic acid aqueous solution; gradient elution: 0–2 min, 50% A–85% A; 85% A hold for 10 min; 12–15 min, 85% A–95% A; 95% A hold for 10 min; 20–25 min, 95% A–50% A. Flow rate: 1 mL/min. Detection wavelength: 311 nm. Column temperature: 35 °C.

中可以看出,12 种紫外吸收剂在不同固定相、不同品牌、不同规格的色谱柱上表现出显著的分选选择性差异。此实验的分选难点在于苯基苯并咪唑磺酸、2-羟基-4-甲氧基二苯甲酮-5-磺酸水合物、对氨基苯甲酸不易分离且峰形不稳定,易受附近峰的影响;丁基甲氧基二苯酰基甲烷和 2-氰基-3,3'-二苯基丙烯酸-2-乙基己酯易同时被洗脱,造成色谱峰重合。经过反复试验,综合考虑分选度和分析时间的因素,最终选择 Agilent ZORBAX SB-C8 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm)为本实验的色谱分析柱。

## 2.2 流动相的选择

本文比较了乙腈和甲醇作为有机相的洗脱效果。采用乙腈作为流动相时,发现由于乙腈极性的原因会导致分析物色谱峰发生变形,尤其是先出峰

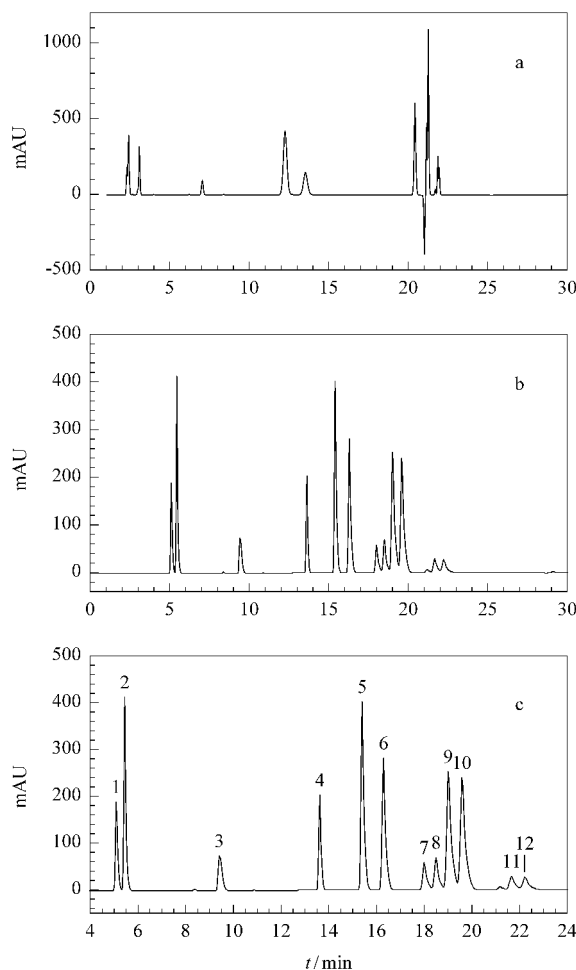


图 2 不同 C8 柱对目标物的分离色谱图

Fig. 2 Chromatograms of 12 sunscreen agents obtained on different kinds of C8 columns

a. Diamonsil (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); b. Agilent ZORBAX Eclipse XDB (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); c. Agilent ZORBAX SB-C8 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm).

Gradient elution: 0–10 min, 20% A–85% A; 85% A hold for 15 min; 25–25.5 min, 85% A–20% A. Other conditions were the same as in Fig. 1.

For peaks 1–12, see Table 1.

的分析物峰形都不对称,且氨基苯甲酸和苯基并咪唑磺酸在此流动相条件下不能达到较好的分离。以甲醇为流动相时,12 种目标物得到很好的分离,但有个别目标物的峰形不是很好,如对氨基苯甲酸和 2-氰基-3,3'-二苯基丙烯酸-2-乙基己酯,因此考虑在流动相的水相中分别加入 0.1% (v/v) 甲酸、0.1% (v/v) 乙酸、10 mmol/L 乙酸铵来改善峰形。综合考虑分离效果和峰形变化,选用甲醇和 0.1% (v/v) 甲酸水溶液作为流动相。

在 1.2 节所述的最佳色谱分析条件下,12 种紫外吸收剂能得到较好的分离,混合标准溶液的色谱图见图 2c。

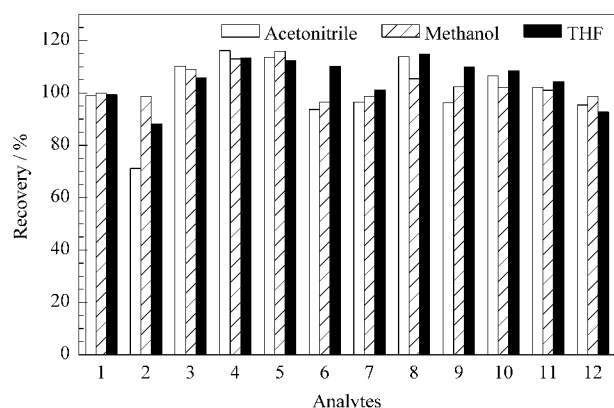


图 3 12 种紫外吸收剂在不同提取溶剂下的回收率对比  
Fig. 3 Comparison of spiked recoveries of 12 sunscreen agents with different extractants

The analyte Nos. are the same as the No. in Table 1.

### 2.3 样品前处理方法的优化

紫外吸收剂在甲醇、四氢呋喃、乙腈等溶剂中均

有较好的溶解度,因此考察了甲醇、四氢呋喃和乙腈 3 种有机溶剂对 12 种紫外吸收剂的提取效率和色谱峰形。结果发现,利用四氢呋喃提取样品时,苯基并咪唑磺酸和对氨基苯甲酸不能得到基线分离,这可能是由于四氢呋喃的极性影响了样品在色谱柱上的保留效果所致;而利用乙腈提取样品时,苯基并咪唑磺酸出现分裂峰且其响应值比较低。利用不含紫外吸收剂的化妆品作为空白样品进行加标回收率试验,考察了 3 种提取剂的提取效果,结果见图 3。从图 3 可以看出,甲醇作为提取剂时的提取效率较高,且甲醇相比其他溶剂成本低、毒性较小,故选择甲醇为提取溶剂。该提取方法简单易行,适用于大批量化妆品检测的前处理。

### 2.4 方法的线性关系和检出限

分别对系列浓度的混合标准工作溶液进行测定,以紫外吸收剂的色谱峰面积  $Y$  对其质量浓度  $X$  (mg/L) 进行线性回归。从表 1 可以看出,12 种紫外吸收剂在 0.5 ~ 500 mg/L 范围内线性关系良好,相关系数均大于 0.9995。检出限(以 3 倍信噪比 ( $S/N=3$ ) 计)为 0.002 ~ 0.1 mg/L。

### 2.5 加标回收率及精密度

在已知紫外吸收剂含量的防晒类化妆品样品中添加 20、100 和 200 mg/L 的标准品,每个添加水平平行测定 5 次,进行添加回收率和精密度的测定,得到的平均添加回收率和相对标准偏差 (RSD) 见表 2。

表 1 12 种紫外吸收剂的回归方程、相关系数和检出限

Table 1 Linear regression equations, correlation coefficients and detection limits of 12 sunscreen agents

No.	Sunscreen agent	Regression equation*	Correlation coefficient	Detection limit/(mg/L)
1	<i>p</i> -aminobenzoic acid (PABA)	$Y = 16.47X + 17.44$	0.9996	0.005
2	phenylbenzimidazole sulfonic acid (PBSA)	$Y = 21.67X + 25.40$	0.9998	0.0025
3	benzophenone-4 (BP-4)	$Y = 7.62X - 1.79$	0.9999	0.02
4	benzophenone-3 (BP-3)	$Y = 13.54X - 2.44$	0.9999	0.006
5	isoamyl- <i>p</i> -methoxycinnamate (IAMC)	$Y = 32.73X - 7.92$	0.9999	0.002
6	4-methylbenzylidene camphor (4-MBC)	$Y = 29.18X - 6.10$	0.9999	0.005
7	octocrylene (OC)	$Y = 31.11X + 5.93$	0.9998	0.04
8	butylmethoxydibenzoylmethane (BM-DBM)	$Y = 7.26X - 12.12$	0.9998	0.04
9	octyldimethyl- <i>p</i> -aminobenzoic acid (OD-PABA)	$Y = 9.22X + 1.47$	0.9995	0.006
10	ethylhexyl methoxycinnamate (EHMS)	$Y = 27.30X + 12.58$	0.9999	0.008
11	ethylhexyl salicylatec (EHS)	$Y = 3.81X - 0.46$	0.9999	0.06
12	homosalate (HMS)	$Y = 3.29X - 0.82$	0.9999	0.10

\* The linear ranges were 1.0 - 500 mg/L;  $Y$ : peak area;  $X$ : mass concentration, mg/L.

表 2 化妆品中紫外吸收剂的加标回收率和精密度 (n=5)  
Table 2 Recoveries and precisions of 12 sunscreen agents spiked in a cosmetic sample (n=5)

No.	Sunscreen agent	Spiked level/( mg/L)					
		20		100		200	
		Recovery /%	RSD /%	Recovery /%	RSD /%	Recovery /%	RSD /%
1	PABA	100.2	1.96	103.9	3.10	98.6	3.46
2	PBSA	100.4	3.40	103.4	4.14	101.9	3.77
3	BP-4	100.2	3.73	101.5	3.58	100.5	2.22
4	BP-3	100.9	1.77	101.7	3.88	101.2	4.37
5	IAMC	100.6	2.48	103.3	3.24	102.4	3.96
6	4-MBC	100.5	1.78	105.0	3.30	103.8	4.51
7	OC	100.2	2.69	101.3	3.69	97.4	2.98
8	BM-DBM	100.5	1.86	107.5	4.37	99.2	2.30
9	OD-PABA	101.8	1.57	105.5	4.98	101.6	4.11
10	EHMS	100.5	1.54	102.9	3.30	103.1	3.43
11	EHS	102.6	1.93	104.9	3.47	97.8	2.46
12	HMS	102.5	1.82	104.2	4.47	102.0	3.03

2.6 实际样品分析

分别对不同防晒指数的防晒露、防晒乳、防晒粉饼、防晒霜等不同类型的 30 种进口及国产的防晒类化妆品和不同类型的 10 种非防晒类化妆品(遮瑕膏、隔离霜、BB 霜、粉底液等) 样品进行测定,测定结果见表 3。从表 3 中可以看出,大部分化妆品都添加了 2 到 3 种紫外吸收剂,添加种类最多的为 5 种;甲氧基肉桂酸乙基己酯、2-氰基-3,3'-二苯基丙烯酸-2-乙基己酯、3,3,5-三甲基环己烷水杨酸酯有超标现象。图 4 为某品牌防晒露的色谱图,从其中检出了 3 种紫外吸收剂。10 种非防晒类化妆品中有 6 种产品检出甲氧基肉桂酸乙基己酯,添加的紫外吸收剂种类比较单一。从样品分析可以看出防晒类化妆品中几种常用的紫外吸收剂也逐渐应用到非防晒类化妆品中。而目前国家尚未对非防晒类产品的紫外吸收剂有明确的限量或禁用规定,本实验为相关规定的制定提供了一定的数据支持。

表 3 30 种防晒类化妆品中紫外吸收剂的测定结果分析

Table 3 Analytical results of sunscreen agents in 30 commercial cosmetics

No.	Sunscreen agent	Limit <sup>a)</sup> / %	Range of detection / %	Frequency found / %	Number of out of limit
1	PABA	5	ND <sup>c)</sup>		
2	PBSA	8 <sup>b)</sup>	0.90 - 1.86	10	
3	BP-4	5 <sup>b)</sup>	0.13 - 2.96	15	
4	BP-3	10	0.12 - 1.06	40	
5	IAMC	10	0.01	5	
6	4-MBC	4	0.01 - 1.74	30	
7	OC	10 <sup>b)</sup>	0.02 - 12.51	60	2
8	BM-DBM	5	0.01 - 1.49	40	
9	OD-PABA	8	ND		
10	EHMS	10	0.02 - 14.01	65	2
11	EHS	5	0.05 - 0.79	15	
12	HMS	10	0.16 - 11.86	20	1

a) The limits were the same as in Hygienic Standard for Cosmetics (2007). b) calculated by acid. c) ND: not detected.

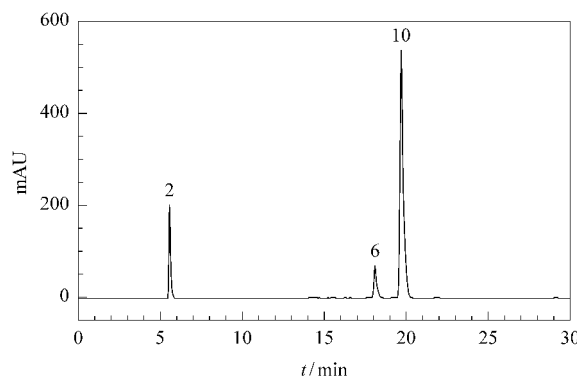


图 4 某防晒类化妆品样品的色谱图  
Fig. 4 Chromatogram of a sunscreen lotion sample  
For peaks 2, 6 and 10, see Table 1.

3 结论

本文选用甲醇-0.1% (v/v) 甲酸水溶液为流动相,梯度洗脱,利用紫外检测方法同时测定化妆品中 12 种紫外吸收剂。实验结果表明:所建立的高效液相色谱法可以同时分离检测 12 种常见的紫外吸收剂,无需复杂的样品处理过程,方法简便快捷,分析试剂环保,线性相关性好,准确度高,可以对已经商品化的防晒类和非防晒类产品进行检测,具有较高的实用价值,可用于化妆品中紫外吸收剂的监管和产品质量控制。

参考文献:

[1] Wu K K. Functional Cosmetics. Beijing: Chemical Industry Press (吴可克. 功能性化妆品. 北京: 化学工业出版社), 2006  
 [2] Zheng L, Yu W J, Shen J. China Foreign Medical Treatment (郑莉, 余雯静, 沈洁. 中外医疗), 2009, 28: 120  
 [3] Cao J F, Zhou J. China Surfactant Detergent & Cosmetics (曹锦芳, 周洁. 日用化学工业), 2004, 34(4): 259  
 [4] Zhang G M. Detergent & Cosmetics (张贵民. 日用化学科学), 2003, 26(3): 23  
 [5] Azurdia R M, Pagliaro J A, Rhodes L E. Photodermatol Photo,

- 2000, 16: 53
- [6] Ministry of Health. Hygienic Standard for Cosmetics. Beijing: Ministry of Health of the People's Republic of China (卫生部. 化妆品卫生规范. 北京: 中华人民共和国卫生部), 2007
- [7] Zhao X G. China Surfactant Soap and Detergent (赵勋国. 中国洗涤用品工业), 2008(2): 65
- [8] Hu J, Yang Y, Du D A, et al. Chinese Journal of Health Laboratory Technology (胡静, 杨业, 杜达安, 等. 中国卫生检验杂志), 2001, 11(4): 404
- [9] Xu W, Du X H, Du X J. China Surfactant Detergent & Cosmetics (徐卫, 杜小豪, 杜雪洁. 日用化学工业), 2000, 30(6): 39
- [10] Luo S Q, Tang Q T, Wu Z Y. Detergent & Cosmetics (罗绍强, 唐青涛, 吴志韵. 日用化学品科学), 2010, 33(8): 14
- [11] Yao X Y, Zheng X Q, Qin X Y, et al. Chinese Journal of Chromatography (姚孝元, 郑星泉, 秦效英, 等. 色谱), 1998, 16(3): 223
- [12] Ma J, Lin W X. China Surfactant Detergent & Cosmetics (马杰, 林维宣. 日用化学工业), 2010, 40(3): 225
- [13] Li Y, Wang C Y, Liu L, et al. Chinese Journal of Analysis Laboratory (李英, 王成云, 刘丽, 等. 分析试验室), 2003, 22(3): 77
- [14] Nakajima M, Kawakami T, Niino T, et al. J Health Sci, 2009, 55(3): 363
- [15] Xia P, Li Y. Journal of Environment and Health (夏平, 李勇. 环境与健康杂志), 1997, 14(5): 227
- [16] Sun Y Q, Hu Y Z. Selection and Optimization for HPLC Solvent System. Beijing: Chemical Industry Press (孙毓庆, 胡育筑. 液相色谱溶剂系统的选择与优化. 北京: 化学工业出版社), 2007