

高效液相色谱二极管阵列检测器测定 化妆品中的 6 种酞酸酯

陈会明, 王 超, 王 星, 刘 娟, 张 帆

(中国进出口商品检验技术研究所, 北京 100025)

摘 要: 建立了用高效液相色谱二极管阵列检测器测定化妆品中 6 种酞酸酯——邻苯二甲酸二甲酯(DMP)、二乙酯(DEP)、二丁酯(DBP)、丁基苄基酯(BBP)、二(2-乙基己)酯(DEHP)和二正辛酯(DOP)的方法。样品用甲醇超声提取, 高速冷冻离心, 经 $0.5\ \mu\text{m}$ 滤膜过滤, 直接注入高效液相色谱, 在 280 nm 波长进行分析。用保留时间结合酞酸酯紫外光谱定性, 外标法定量。该法的回收率为 85%~110%, 精密度 RSD 为 0.058%~2.84%, 检出限: DMP、DEP、BBP 和 DBP 均为 5 ng, DEHP 和 DOP 为 10 ng。该方法准确度和灵敏度高, 样品用量少, 前处理简单, 可同时测定化妆品中 6 种酞酸酯化合物。

关键词: 高效液相色谱; 二极管阵列检测器; 酞酸酯; 化妆品

中图分类号: O657.72; TQ658; O652.523 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(2004)04-0061-04

Analysis of Phthalates in Cosmetics by HPLC - DAD

CHEN Hui-ming, WANG Chao, WANG Xing, LIU Juan, ZHANG Fan

(China Import & Export Commodity Inspection Technology Institute, Beijing 100025, China)

Abstract: A method for simultaneous determination of six kinds of phthalates, namely dimethyl phthalate, diethyl phthalate, di-*n*-butyl phthalate, benzyl butyl phthalate, di(2-ethylhexyl) phthalate and di-*n*-octyl phthalate in cosmetics by HPLC - diode - array detector was developed. The cosmetics were extracted with methanol by ultrasonic, then separated with high-speed centrifuge. The upper clear layer was filtrated through membrane with $0.5\ \mu\text{m}$ diameter. The filtration liquid was injected into GC for detection at $\lambda = 280\ \text{nm}$. Qualitative analysis of the phthalates could be performed using the retention time of the chromatogram and the ultraviolet spectra of the phthalates. Quantitative analysis was performed with external standard method. The recoveries and relative standard deviation of the six phthalates were 85%~110% and 0.058%~2.84%, respectively. The detection limits: 5 ng for DMP, DEP, BBP and DBP and 10 ng for DEHP and DOP. The sample treatment is simple and rapid.

Key words: Liquid chromatography; DAD; Phthalates; Cosmetics

酞酸酯(PAEs)是邻苯二甲酸酯类物质, 化学结构由一个刚性平面芳环和两个可塑的非线性脂肪侧链组成。酞酸酯类物质是一类环境雌激素, 它是世界卫生组织(WHO)1995年公布的必须控制的一类扰乱内分泌的化学物质, 对人体健康危害巨大。6种邻苯二甲酸酯: 邻苯二甲酸二甲酯(DMP)、二乙酯(DEP)、二丁酯(DBP)、邻苯二甲酸二(2-乙基己)酯(DEHP)、二辛酯(DOP)、丁基苄基酯(BBP)被美国EPA列入“优先监测污染物名单”。我国将酞酸酯类中的DMP、DBP和DOP列入优先控制污染物黑名单。欧盟委员会于2003年1月29日, 向成员国发布了有关限制在进入欧盟市场的商品中使用某些危险物质和原料的指令, 其中新增加了对酞酸酯类物质邻苯二甲酸二(2-乙基己)酯(DEHP)和邻苯二甲酸二丁酯(DBP)的禁用。

酞酸酯作为化妆品的生产原料之一, 广泛用于指甲油、发胶、香皂、洗发香波、香水等。它们通常以小于10%的含量在化妆品中用作增塑剂, 用在指甲油中减小脆性而避免碎裂, 用在发胶中在头发表面形成柔韧的膜而避免头发僵硬, 在许多其它化妆品中用作溶剂和防香味挥发剂。人们经常使用富含酞酸酯的化妆品, 它会在体内不断蓄积, 从而增加对人体的危害性。

收稿日期: 2003-07-14; 修回日期: 2004-04-08

基金项目: 中国进出口商品检验技术研究所科研项目(研2003-1)

作者简介: 陈会明(1969-), 男, 陕西凤翔人, 高级工程师, 博士。

酞酸酯的分析集中在环境样品方面^[1~4], 食品中酞酸酯的检测也有一些报道^[5~7], 但很少涉及同时测定 DMP、DEP、DBP、BBP、DEHP 和 DOP。目前国内尚未见有化妆品中酞酸酯分析方法的研究报道, 在国外化妆品的检测方法研究报道方面, 也仅有两篇文献^[8,9], 采用检测方法为薄层色谱和填充柱气相色谱。本文建立了应用高效液相色谱二极管阵列(DAD)检测器进行化妆品中 6 种酞酸酯测定的方法, 与薄层色谱法相比提高了检测灵敏度, 参比标准 DAD 获得的酞酸酯的光谱图, 在样品中酞酸酯的定性判断方面避免了假阳性结果的发生, 该方法准确、快速、简便, 可用于同时测定化妆品中的 6 种酞酸酯。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Agilent 1100 Series 高效液相色谱仪, 配自动进样器, DAD 检测器, 工作站: Agilent ChemStation for LC and LC/MS Systems; KQ-600B 型超声波清洗仪; Beckman 高速冷冻离心机; DMP、DEP、DBP、DEHP、DOP、BBP(纯度, 以质量分数计, $\geq 99\%$)均由 Aldrich 公司提供; 甲醇, 色谱纯(Fisher 公司); 所用水为 Milli-Q I 级超纯水。

1.2 色谱条件

HPLC-DAD 条件: Zorbax Eclipse XDB-C₈, 150×4.6 mm i.d., 5 μ m 色谱柱; 流动相: 初始甲醇-水体积比为 70:30, 保持 5 min, 15 min 内升至 100% 甲醇, 保持 5 min; 1.0 mL/min 流速; 选择保存波长 190~400 nm 紫外光谱图。

1.3 标准溶液的配制

准确称取 DMP、DEP、DBP、DEHP、DOP 和 BBP 各 0.500 0 g 置于 500 mL 容量瓶中, 用甲醇定容, 振荡均匀, 即得 6 种酞酸酯质量浓度各为 1 000 mg/L 的混合标准储备液, 再逐级用甲醇稀释至所需要的浓度。

1.4 样品前处理

称取化妆品 0.500 g(固体、膏体)置于 50 mL 锥形瓶中, 准确加入甲醇 25 mL, 超声 15 min, 12 000 r/min 高速离心 15 min, 上清液经微孔滤膜(有机溶媒型, d 0.5 μ m)过滤, 滤液供测定用。称取液态化妆品(香水或爽肤水等)0.100 g, 置于 20 mL 的比色管(有 10 mL 刻度)中, 加甲醇到 10 mL 摇匀, 上清液经微孔滤膜(有机溶媒型, d 0.5 μ m)过滤, 滤液供测定用。

2 结果与讨论

2.1 色谱条件的选择

以等梯度进行分析, 选择甲醇-水体积比为 70:30 作流动相, 虽然 6 种酞酸酯都被分开, 但分析时间接近 40 min, 而且最后两个峰 DEHP 和 DOP 的拖尾很严重; 而如果选择 100% 的甲醇作流动相, DMP 和 DEP 不能基线分离, DBP 和 BBP 完全重合为一个峰, DEHP 和 DOP 也不能基线分离。为了改善分离效果, 节约分析时间, 选择如 1.2 中所述的梯度洗脱, 分析结果显示 6 种酞酸酯都能基线分离, 整个分析过程在 21 min 以内完成。由得到的 DAD 三维光谱-色谱图可看出, 在较低紫外波段, 背景对后出峰的两种酞酸酯干扰严重。

色谱最佳测定波长的选择: 在选择 210 nm 波长时, 虽然 6 种酞酸酯的紫外吸收最强, 但基线漂移较大。254 nm 和 280 nm 波长时, 酞酸酯的紫外吸收强度相当, 但 280 nm 波长时, 基线更平稳。综合分析, 选定 280 nm 波长作为 6 种酞酸酯的检测波长(图 1A)。

样品测定用保留时间定性, 对根据保留时间确定的样品阳性酞酸酯检出结果, 再根据 6 种酞酸酯标准的 DAD 光谱图进行辅助判断, 以避免产生假阳性的定性结果。

2.2 定量标准曲线的绘制

该 6 种酞酸酯的线性范围很宽, 在 1~1 000 μ g/mL 范围之内, 取 1、10、100、1 000 μ g/mL 的 6

种酞酸酯的混合标准溶液, 进行测定, 以峰面积(Y)对质量浓度(X , $\mu\text{g/mL}$)的线性关系见表1。由表1可以看出, 它们的线性关系良好。检出限($S/N=3$) DMP、DEP、BBP和DBP均为5 ng, DEHP和DOP为10 ng。

2.3 方法的回收率

取经测定不含有该6种酞酸酯的香水和膏状化妆品各1 g和5 g, 添加6种酞酸酯, 充分摇匀, 静置数天, 进行测定, 计算回收率。实验结果见表2。由实验结果可以看出, DMP、DEP、BBP、DBP、DEHP、DOP的回收率范围分别为: 97%~105%、93%~104%、85%~102%、91%~110%、85%~97%、88%~106%。

2.4 方法的精密度

在1 g化妆品中添加6种酞酸酯各8.00 mg, 用所选择HPLC-DAD方法进行5次平行测定, 其相对标准偏差分别为: DMP, 0.23%; DEP, 0.12%; DBP, 0.058%; BBP, 0.12%; DEHP, 2.84%; DOP, 1.05%。

2.5 化妆品的测定

应用所建立的方法, 对5种化妆品中的6种酞酸酯进行测定, 结果见表3。结果显示不同化妆品含有6种酞酸酯的种类和量不同, 个别化妆品未检出酞酸酯。一种香水和一种指甲油样品分析的色谱图见图1B、C, 检测显示该香水含DEP和DEHP, 指甲油中含DBP。

表1 酞酸酯的校正曲线的回归方程和相关系数

Table 1 Regression equation and correlation coefficient of the calibration curves of phthalates

Phthalate	Regression equation *	r
Dimethyl phthalate (DMP)	$Y = 3.55 X + 0.00048$	0.998
Diethyl phthalate (DEP)	$Y = 3.02 X - 0.18$	0.999
Butyl benzyl phthalate (BBP)	$Y = 2.25 X + 0.021$	0.997
Di- <i>n</i> -butyl phthalate (DBP)	$Y = 2.42 X - 0.82$	0.998
Di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP)	$Y = 1.65 X + 60.15$	0.998
Di- <i>n</i> -octyl phthalate (DOP)	$Y = 1.73 X + 20.00$	0.999

* Y : peak area; X : Phthalate content ($\mu\text{g/mL}$)

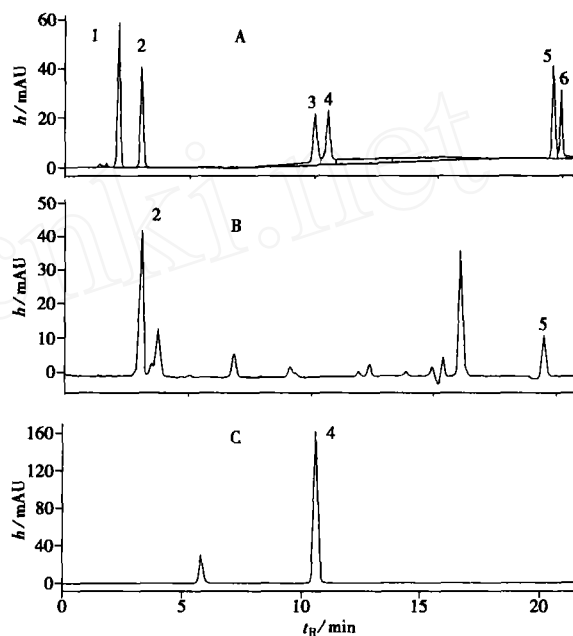


图1 6种酞酸酯标准品(A)、1种香水(B)和指甲油(C)样品的液相色谱图

Fig. 1 HPLC chromatogram of six kinds of phthalate standards(A), a kind of perfume(B) and nail polish(C)
Peak: 1. DMP; 2. DEP; 3. BBP; 4. DBP; 5. DEHP; 6. DOP

表2 6种酞酸酯的添加回收率的测定结果

Table 2 The recovery tests for six kinds of phthalates

Phthalate		Added	Found	Recovery	Added	Found	Recovery
		m_A/mg	m_F/mg	$R/\%$	m_A/mg	m_F/mg	$R/\%$
Perfume	DMP	4.00	4.156	104	8.00	7.728	97
	DEP	4.00	4.172	104	8.00	7.712	96
	BBP	4.00	4.088	102	8.00	7.632	95
	DBP	4.00	4.176	104	8.00	7.726	97
	DEHP	4.00	3.888	97	8.00	7.024	88
	DOP	4.00	4.228	106	8.00	7.976	100
Cream cosmetic	DMP	20.00	20.88	104	25.00	26.78	107
	DEP	20.00	18.66	93	25.00	23.20	93
	BBP	20.00	18.46	92	25.00	21.30	85
	DBP	20.00	18.28	91	25.00	27.45	110
	DEHP	20.00	16.98	85	25.00	21.93	88
	DOP	20.00	17.92	90	25.00	22.00	88

表 3 化妆品中 6 种酞酸酯测定结果

Table 3 The analytical results of six kinds of phthalates in cosmetics							w/ %
Sample	DMP	DEP	DBP	BBP	DEHP	DOP	Total
1	-	0.43	-	-	0.12	-	0.55
2	-	1.15	-	-	-	0.034	1.18
3	-	0.021	-	0.016	-	-	0.037
4	0.27	-	0.11	-	0.038	-	0.42
5	-	-	-	-	-	-	-

* : undetected

3 结 论

甲醇超声提取、HPLC - DAD 测定化妆品中的 6 种酞酸酯的方法,与填充柱气相色谱法和薄层色谱法相比,样品前处理简单,耗用试剂少,灵敏度、回收率高,重复性好;目前该方法已应用于进出口化妆品酞酸酯检验分析工作。

参考文献:

- [1] 莫测辉,蔡全英,吴启堂,等. 我国城市污泥中邻苯二甲酸酯的研究[J]. 中国环境科学, 2001, 21(4): 362 - 366.
- [2] STAPLES C A, PETERSON D R, PARKERTON T F, *et al.* The environmental fate of phthalate esters: a literature reviews[J]. Chemosphere, 1997, 35(4): 667 - 749.
- [3] 汤国才,蔡玉祺. 土壤中酞酸酯的分析方法研究[J]. 环境化学, 1993, 12(4): 263 - 267.
- [4] ZIOGOU K, KIRK P W W, LEWTER J N. Behaviour of phthalic acid esters during batch anaerobic digestion of sludge[J]. Water Research, 1989, 23(6): 743 - 748.
- [5] SHARMAN M, READ W A, CASTLE L, *et al.* Levels of di- (2-ethylhexyl) phthalate and phthalate esters in milk, cream, butter and cheese[J]. Food Additives and Contaminants, 1994, 11(3): 375 - 385.
- [6] KA YOKO K A T O, YOSHIHIRO YOSHIMURA, HIRO YUKI NAKAZAWA. Preparation of samples for gas chromatography - mass spectrometry analysis of phthalate and adipate esters in plasma and beverages by steam distillation and extraction[J]. Journal of AOAC International, 2002, 85(3): 719 - 723.
- [7] 陈文锐,彭 瑛. 毛细管气相色谱法测定进口奶粉中酞酸酯类增塑剂污染情况[J]. 中国公共卫生, 2000, 16(7): 636.
- [8] GODLY E W, MORLOCK A E. The determination of di- *n*-alkyl phthalates in cosmetic preparations by gas - liquid chromatography[J]. Analyst, 1973, 98: 493 - 501.
- [9] HANCOCK W, ROSE B A, SINGER D D. The determination of diethyl phthalate in cosmetic preparations[J]. Analyst, 1966, 91: 449 - 454.

(上接第 60 页)

- [2] COWIE G L, HEDGES J I. Biochemical indicators of diagenetic alteration in natural organic matter mixtures[J]. Nature, 1994, 369(6478): 304 - 307.
- [3] SKOOG A, BENNER R. Aldoses in various size fractions of marine organic matter: Implications for carbon cycling[J]. Limnol Oceanogr, 1997, 42(8): 1803 - 1813.
- [4] 王江涛. 黄河、长江和钱塘江水体中的胶体有机碳[J]. 科学通报, 1998, 43(8): 840 - 843.
- [5] 徐桂云,陈汝贤,常理文. 用毛细管气相色谱法测定多糖中单糖的组成[J]. 分析测试学报, 2000, 19(3): 71 - 73.
- [6] REPETA D J, QUAN T M, ALUWIHARE L I, *et al.* Chemical characterization of high molecular weight dissolved organic matter in fresh and marine water[J]. Geochimica Cosmochimica Acta, 2002, 66(6): 955 - 962.
- [7] 陶乐平,丁在富,郭部昌. 气相色谱在多糖结构测定中的应用[J]. 色谱, 1994, 12(5): 351 - 354.
- [8] SIGLEO A C. Biochemical components in suspended particles and colloids: carbohydrates in the potomac and patuxent estuaries [J]. Org Geochem, 1996, 24(1): 83 - 93.
- [9] OGIER S, DISNAR J R, ALBERIC P, *et al.* Neutral carbohydrate geochemistry of particulate material (trap and core sediments) in an eutrophic lake (Aydut, France) [J]. Org Geochem, 2001, 32(1): 151 - 162.
- [10] BENNER R, OPSAHL S. Molecular indicators of the source and transformations of dissolved organic matter in the Mississippi river plume[J]. Org Geochem, 2001, 32(4): 597 - 611.
- [11] 何碧烟,戴民汉,曹 莉,等. 气相色谱法分析海洋沉积物中多糖的单糖组成[J]. 海洋与湖沼, 2003, 34(3): 232 - 240.
- [12] ROMANKEVICH E A. Geochemistry of organic matter in the ocean[M]. Berlin: Springer Verlag, 1984. 199 - 229.
- [13] WANG W, GUO L. Production of colloidal organic carbon and trace metals by phytoplankton decomposition[J]. Limnol Oceanogr, 2001, 46(2): 278 - 286.