

使用安捷伦在线固相萃取系统测定 化妆品中的马来酸二乙酯

作者

肖尧
安捷伦科技（中国）有限公司

摘要

在本应用简报中，参考《化妆品安全技术规范（2015 版）》和《化妆品相关检验方法制修订概况表》的相关规定，开发出一种基于在线固相萃取和超高效液相色谱 (UHPLC) 的快速在线净化及分析方法，用于分析化妆品中的马来酸二乙酯。对该方法的检测限 (LOD)、定量限 (LOQ)、重现性、回收率等进行了考察，并对典型化妆品样品进行了检测。结果显示，所开发的在线固相萃取-超高效液相色谱法在特异性、灵敏度等方面完全满足国标的相应要求，线性、重现性良好，并解决了化妆品基质所可能导致的柱压升高和色谱柱污染的问题，极大地提升了方法稳定性并延长了色谱柱使用寿命。

前言

马来酸二乙酯是一类化妆品中的禁用物质。《化妆品安全技术规范(2015版)》(下文简称《规范》)中规定了使用高效液相色谱法测定化妆品中马来酸二乙酯的含量,该方法适用于膏霜乳液类、液态油基类和液态水基类化妆品中马来酸二乙酯的含量测定。在《规范》中,针对这类样品的前处理方法使用超声提取及低速离心等手段,但是对于某些类型的基质,很难彻底去除干扰组分。这些干扰组分除影响目标物的检测以外,还容易导致色谱柱污染,引起柱压升高,从而严重影响分离效果和效率并显著缩短色谱柱使用寿命。

针对上述问题,我们开发出一种基于在线固相萃取和超高效液相色谱(UHPLC)的快速在线净化及分析方法。该方法使用在线净化技术,可有效降低基质中的干扰物质对分离结果的影响,并解决柱压升高的问题。同时由于使用UHPLC分析方法,包含在线样品前处理的整体分析时间也没有额外增加。该方法在保证分析效率的同时,提高了数据质量,降低了色谱柱成本。

实验部分

试剂和样品

溶剂

乙腈为HPLC级,购于迪马公司;所用实验用水为美国Millipore公司MilliQ超纯水系统制备的超纯水;马来酸二乙酯标准品购于Sigma试剂公司。

测试用的化妆水及护手霜样品购于本地超市。

仪器和设备

采用Agilent 1260 Infinity II液相色谱系统。该系统按照在线固相萃取系统进行配置(见图1),包括以下模块:

在线固相萃取部分:

四元泵,部件号G7111B

自动进样器,部件号G7129C

二位六通阀,部件号G4231A(内置于柱温箱内)

超高效液相分析部分:

四元泵,部件号G7111B

多功能柱温箱,部件号G7116A(含内置阀驱动)

高灵敏度DAD检测器,部件号G7117C(配备10mm光程流通池)

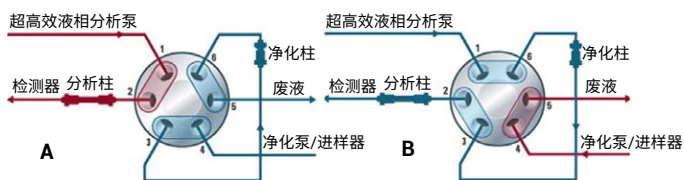


图 1. 在线固相萃取系统配置流路示意图

标准品制备

依据《规范》中的方法,用乙腈制得浓度为5.0 mg/L、10.0 mg/L、20.0 mg/L、50.0 mg/L和100.0 mg/L的马来酸二乙酯标准系列溶液。

加标样品制备

参照《规范》中的操作,分别称取化妆水及护手霜样品5g(精确到0.001g)于25mL具塞比色管中;向其中加入高浓度标样溶液,得到折合样品含量100 µg/g的加标样品;向其中加入20mL乙腈,高速涡旋振荡5min;然后在60 °C水浴中超声提取30min;静置至20 °C(±5 °C)后,用乙腈定容至刻度;取2mL置于离心管中,以10000 rpm离心5min;然后过0.22 µm滤膜,将滤液作为待测溶液。

分析条件

SPE部分:

在线固相萃取柱: Agilent InfinityLab Poroshell120 HPH C18 (4.6 × 5 mm, 2.7 µm), 部件号820750-928

进样量: 3 µL

流速: 见梯度表

柱温: 30 °C

流动相: A: 水; B: 乙腈

梯度表:

时间 (min)	A (%)	B (%)	流速 (mL/min)
0.00	90	10	1
1.40	90	10	1
1.75	60	40	1
2.50	0	100	2
3.50	0	100	2
3.51	90	10	2
4.00	90	10	1

阀切换时间表：

时间 (min)	位置 (参考图 1)	说明
0.00	A	SPE 柱上样和净化
1.40	B	将待测物从 SPE 柱冲至分析柱
1.75	A	SPE 柱冲洗和平衡

超高效液相分析部分：

色谱柱： Agilent InfinityLab Poroshell 120 SB C18
(4.6 × 75 mm, 2.7 μm)，部件号 687975-902
流速： 1 mL/min
柱温： 30 °C
流动相： 水:乙腈 = 60:40，等度洗脱
检测波长： 220 nm

结果与讨论

马来酸二酯净化及分离结果

按照上述样品前处理步骤和分析方法，对 20 mg/L 标样及化妆水和护手霜加标样品进行在线固相萃取-超高效液相色谱分析。结果如图 2 所示。从图中可以看出，在线固相萃取过程可以有效去除基质中的干扰物质，被分析物峰型及保留良好，且目标峰附近无干扰检测的污染物，此方法可以用于马来酸二酯的定性定量分析。

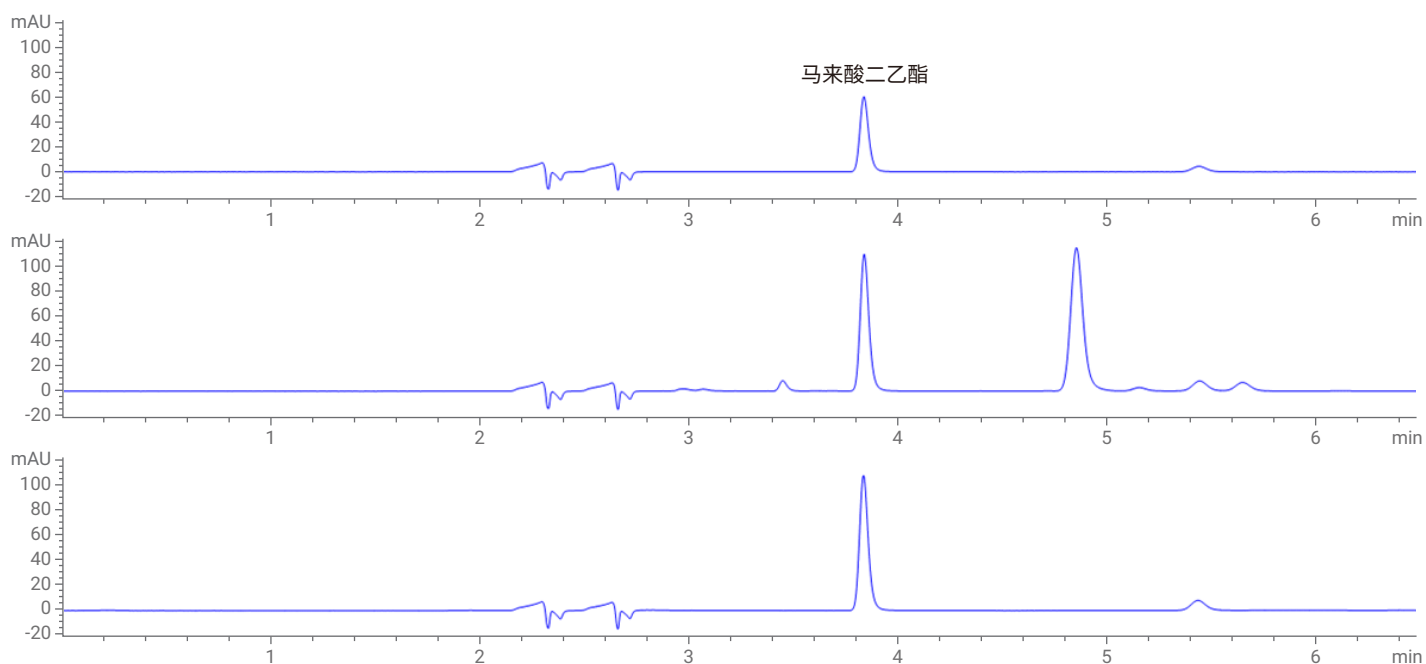


图 2. 马来酸二酯的净化及分离结果：上图，标样；中图：护手霜加标样品；下图：化妆水加标样品

线性范围

将 7 个浓度的标准曲线混合溶液按浓度由低到高的顺序进样分析，将每个浓度的标样平行进样 2 次，取每个浓度点对峰面积平均值进行计算。所得到的色谱图及校准曲线如图 3 所示。结果表明，马来酸二乙酯在 0.2-100 mg/L 范围内具有良好的线性相关性，相关系数 R^2 大于 0.999。

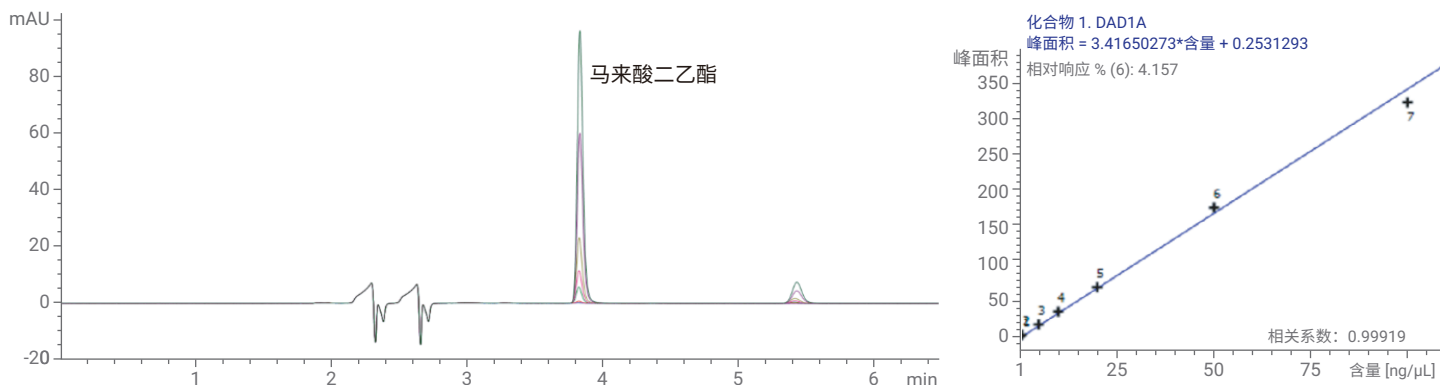


图 3. 马来酸二乙酯线性范围考察结果

重现性、灵敏度及回收率

将标样 (20 mg/L) 和两种加标样品分别重复进样 8 次考察保留时间及峰面积重复性，保留时间相对标准偏差 (RSD) 均小于 0.47%，峰面积相对标准偏差均小于 0.98%。同时也对方法进行了加标回收率及 LOD/LOQ 的考察，化妆水样品中加标回收率 101%，护手霜样品中加标回收率 98%，均满足《规范》中的回收率要求，并且证明样品提取及在线净化过程对马来酸二乙酯测定没有影响。方法 LOD 为 0.2 ppm，LOQ 为 0.6 ppm，按照《规范》中的称样量及处理方法折算，可以完全满足要求。

在线净化方法与直接进样方法的比较

使用《规范》推荐的等度条件对样品进行分析，结果如图 4 所示。该方法清洗能力较弱，且容易导致色谱柱污染。在目标物出峰后采用高比例有机相冲洗色谱柱，结果仍然冲洗出很多污染物。按照原等度条件，这些污染物会污染色谱柱。而且我们发现，虽然经过高比例有机相冲洗，但是在样品不经 SPE 净化的情况下，柱压仍然随进样次数增加而显著升高。

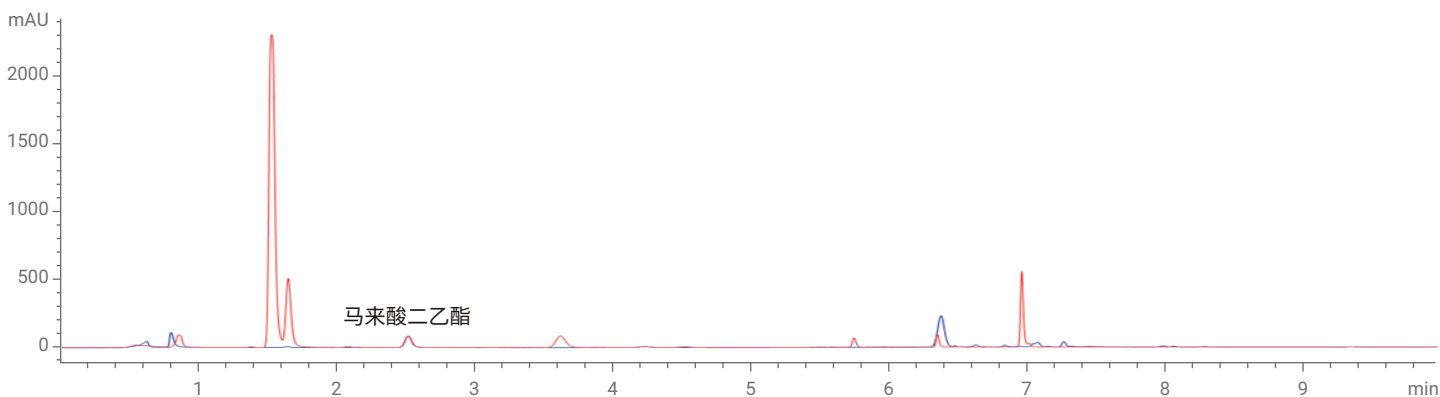


图 4. 样品按照《规范》方法提取后直接进样，并增加高比例有机相冲洗：蓝色迹线，化妆水加标样品；红色迹线，护手霜加标样品

经过在线净化之后，同样在目标物出峰后采用高比例有机相冲洗（6.5 min 以后使用 100% B 相冲洗），以考察 SPE 净化效果。结果如图 5 所示。从图中可以看到，分析柱上无明显的污染物峰被冲出，表明所有污染物均在 SPE 柱冲洗再生阶段被洗脱。另外，在连续运行了 32 个不同基质的实际样品后，无论是分析柱还是 SPE 柱的压力均无显著增加；并且采用高比例有机相冲洗色谱柱和 SPE 柱时，未观察到大量残留污染物被冲出，也证明在线净化取得了良好的效果。

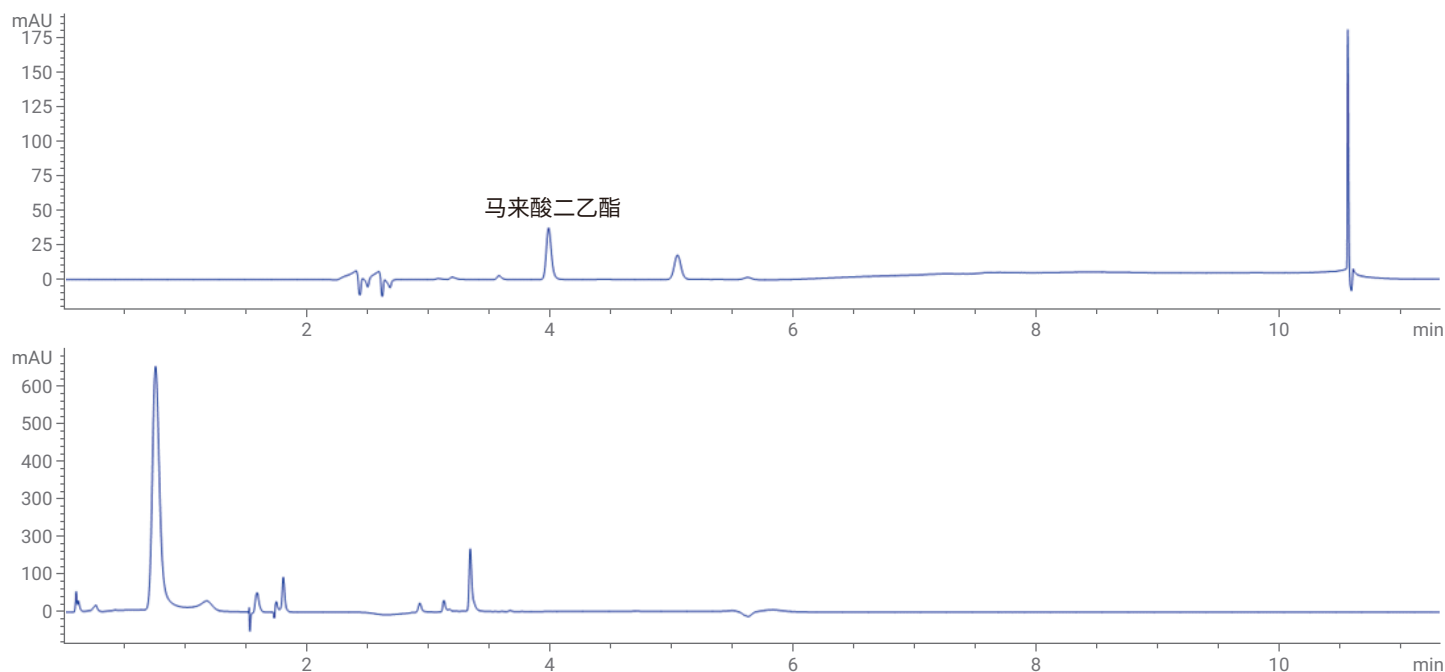


图 5. 在线净化效果考察（化妆品加标样品）：上图，UHPLC 色谱图；下图，SPE 柱净化色谱图

结论

从上述实验结果及数据可以看出，此方法可以很好的将被测样品基质中的污染去除并准确测定目标物马来酸二乙酯，从而极大的降低污染，提高数据质量，延长色谱柱使用寿命。同时，由于使用了超高效液相色谱分析，可以在不增加分析时间及溶剂消耗的情况下，完成样品的分析，对于提升此类化妆品的检测效率，降低样品检测成本提供了很大帮助。所述方法使用 Agilent Poroshell 系列表面多孔色谱柱。这类色谱柱具有柱效高而反压低的优势，并具有优异的抗污染、抗堵塞能力，尤其适用于复杂基质样品的高通量检测，同时，由于样品净化效果的提升，也可以显著的避免禁用物质检测中可能出现的假阳性结果以及由于灵敏度不足导致的误判。

参考文献

- 1 《化妆品安全技术规范（2015 版）》：国家食品药品监督管理总局，2015
- 2 《化妆品相关检验方法制修订概况表》：国家食品药品监督管理总局，2021

查找当地的安捷伦客户中心:

www.agilent.com/chem/contactus-cn

免费专线:

800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)

联系我们:

LSCA-China_800@agilent.com

在线询价:

www.agilent.com/chem/erfq-cn



微信搜一搜

安捷伦视界

www.agilent.com

安捷伦对本资料可能存在的错误或由于提供、展示或使用本资料所造成的间接损失不承担任何责任。

本文中的信息、说明和技术指标如有变更,恕不另行通知。

© 安捷伦科技(中国)有限公司, 2022
2022年3月3日, 中国出版
5994-4675ZHCN

