

反相高效液相色谱法测定化妆品中的酮麝香

陈志蓉¹, 高晓谔², 穆旻³, 张鹏祥², 赵华²

1. 中国食品药品检定研究院, 北京 100050
2. 北京工商大学理学院, 北京 100048
3. 中国香精香料化妆品工业协会, 北京 100079

摘要 酮麝香是化妆品中的限用物质, 对人体有致癌作用, 因此, 有必要对其含量进行分析。采用超声辅助提取法对不同基质类型的化妆品样品进行预处理。利用反相高效液相色谱法测定化妆品中的酮麝香。色谱条件为 Kromasil C₁₈ (250mm×4.6mm i.d., 5μm) 色谱柱, 流动相 $V(\text{乙腈}):V(\text{水})=80:20$, 流速 1.0mL/min, 检测波长 235nm。结果表明, 在此条件下, 酮麝香在 0.5—150 μg/mL 范围内与相应的峰面积具有良好的线性关系 (相关系数 r 为 0.9998), 线性回归方程为 $A=13500p-4829$, 回收率为 90.5%—102.5%, RSD 为 0.45%—0.98%。因此, 研究建立的利用反相高效液相色谱法测定化妆品中的酮麝香的方法准确、可靠、适用性广, 可为酮麝香的分析及国家相关法规的制定提供一定的参考。

关键词 化妆品; 高效液相色谱法; 超声辅助提取法; 酮麝香

中图分类号 TQ658

文献标识码 A

doi 10.3981/j.issn.1000-7857.2011.21.006

Determination of Musk Ketone Content in Cosmetics by Reversed-phase High Performance Liquid Chromatography

CHEN Zhirong¹, GAO Xiaoxuan², MU Min³, ZHANG Pengxiang², ZHAO Hua²

1. National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China
2. School of Science, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China
3. China Association of Fragrance Flavor and Cosmetic Industries, Beijing 100079, China

Abstract Due to the human carcinogenic effect of musk ketone it is the restriction ingredient in cosmetics, and the content analysis of musk ketone is necessary. The various matrixes of cosmetics are prepared by using ultrasonic-assisted extraction. A reversed-phase high performance liquid chromatography method for the determination of musk ketone in cosmetics is established. The samples are analyzed under the condition of Kromasil-C₁₈ column (250mm×4.6mm i.d., 5μm) with UV 235nm. The mobile phase is a gradient elution with $V(\text{CH}_3\text{CN}):V(\text{H}_2\text{O})=80:20$ at a flow rate of 1.0mL/min. Results show that as the concentration of musk ketone is in the range of 0.5—150μg/mL, the relationship between concentration and the corresponding peak area presents the good linearity ($r=0.9998$). The regression equations could be expressed as $A=13500p-4829$; and the recovery ratio of musk ketone achieves at 90.5%—102.5%. The RSD of the method is 0.45%—0.98%. Therefore, an accurate and stabilizing method with extensive applications is proposed and built. The method provides the reference for the analysis on musk ketone and for the establishment of the state regulations.

Keywords cosmetics; high performance liquid chromatography; ultrasonic-assisted extraction; musk ketone

0 引言

2,6-二甲基-3,5-二硝基-4-叔丁基苯乙酮 (图 1), 又名酮

麝香 (musk ketone), 是最好的人造硝基麝香之一, 有类似天然麝香香气, 香气逼真^[1]。凡需要麝香香气的香精配方都可用之^[2],

收稿日期: 2011-05-17; 修回日期: 2011-07-04

基金项目: 国家食品药品监督管理局专项 (201072)

作者简介: 陈志蓉, 助理研究员, 研究方向为化妆品卫生化学, 电子信箱: chenzr@sfd.gov.cn; 赵华 (通信作者), 副教授, 研究方向为化工传递、化妆品性能评价及流变学特性, 电子信箱: zhaoh@btbu.edu.cn

特别在甜型、东方香型和重香型香精中^[3]。其为白色至淡黄色晶体,常温易升华,熔点为 134—136.5℃,闪点大于 100℃,水溶性小于 0.1g/100mL(20℃)^[4-5]。欧盟委员会 CMR(Carcinogenic, Mutagenic on Toxic for Reproduction,即致癌、致突变或产生生殖毒性)专家工作组^[6]在第 29 次 ATP(Adapting to Tecfinical Progress)会议上将酮麝香列为“Carcinogenic Category 3”类物质,即为致癌物质,但根据现有信息不能作出另人满意的评估。目前欧盟 EEC^[7]和中国《化妆品卫生规范》^[8]均规定其可添加于所有化妆品(口腔卫生用品除外)中,添加限量为:香水中 1.0%;淡香水中 0.4%;其他产品中 0.03%。

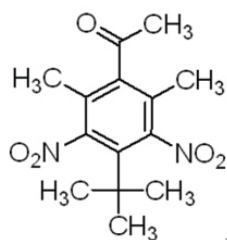


图 1 酮麝香的结构

Fig. 1 Structure of musk ketone

迄今为止国内外对酮麝香的检测方法报道较少。已知行业标准规定了其气相色谱检测法^[9],但该方法仅适用于酮麝香的原料控制使用。在香水等产品中通常含有多种香气组分,这些组分在气相色谱中会出现很多杂峰,严重干扰检测的准确性。根据酮麝香的结构特点及基本性质,本研究利用反相高效液相色谱-紫外检测法对化妆品成品中酮麝香的含量进行检测,旨在为化妆品中酮麝香的分析提供准确、可靠、适用性广的实验方法,为国家监管市场中含有酮麝香的化妆品提供有力的支持。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

乙腈,色谱纯,德国 Merck 公司;酮麝香标准对照品, $w(\text{酮麝香})=98.0\%$ (气相色谱法),德国 Dr. Ehrenstorfer 试剂公司。

Agilent 1100 型高效液相色谱仪(带有紫外检测器),美国 Agilent 公司;KQ-440KDB 型超声清洗器,昆山市超声仪器有限公司;STARTORIUS AG CP224S 电子天平,德国 Sartorius 公司;QL-901 型涡旋振荡器,海门市其林贝尔仪器制造有限公司。

1.2 色谱条件

色谱柱:Kromasil C₁₈(250mm×4.6mm i.d.,5μm)。流动相:V(乙腈):V(水)=80:20。流速:1.0mL/min;检测波长:235nm;进样量:20μL;柱温:25℃。

1.3 标准溶液的配制

精密称取酮麝香对照品 0.05g 于 50mL 棕色容量瓶中,用 V(乙腈):V(水)=80:20 的混合溶液(以下简称乙腈水溶液)

溶解并稀释至刻度,摇匀,即得酮麝香的标准储备液。

1.4 样品处理

精密称取化妆品样品(实际样品或空白样品)0.25g,精确至 0.001g,置于 25mL 具塞比色管中,加入乙腈水溶液 20mL,涡旋 60s,乳膏基质超声提取 15min,液状基质超声提取 5min,醇类基质无需超声提取,用乙腈水溶液定容至 25mL 刻度,涡旋振荡摇匀,经 0.45μm 滤膜过滤,滤液可根据需要进行稀释,保存于 2mL 棕色进样瓶中作为待测样液,备用。

2 结果与讨论

2.1 色谱条件的选择

酮麝香在 235nm 附近有特征吸收。为尽量排除干扰,对不同波长下的色谱峰响应值及杂质干扰情况进行对比实验,结果表明,235nm 时可以满足实验要求。利用实际样品和空白样品进行色谱条件的选择与优化。实验结果显示,在上述条件下酮麝香的峰形和分离效果较好,且出峰较快。在该色谱条件下,酮麝香的标准溶液色谱图如图 2 所示。

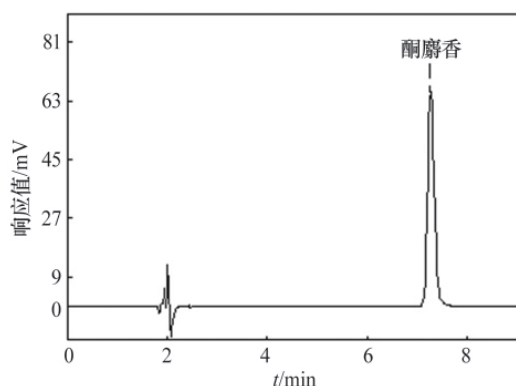


图 2 酮麝香的标准溶液色谱图(保留时间 $t_R=7.2\text{min}$)

Fig. 2 HPLC spectrum of musk ketone standard substance (retention time, $t_R=7.2\text{min}$)

2.2 样品预处理条件的选择

由于化妆品基质体系复杂,很难利用相同的方法对各种化妆品进行预处理,且酮麝香易升华而造成损失。因此,根据不同的化妆品基质状态,实验得出了不同的预处理方法。

膏霜、乳液等乳化体系需要超声辅助提取。在样品处理过程中,考查了超声强度、超声时间两个因素对破乳和提取效果的影响。结果显示,随着超声强度的加强,破乳提取时间会缩短,但当强度为 400W 时,超声 15min 后提取率不再显著提高。洗发水、沐浴露等液状基质体系不易完全分散于乙腈水溶液中,故利用短时间的超声波促使样品分散。香水、淡香水等醇基体系属于均匀体系,可被乙腈水溶液稀释,则无需超声波干预。

2.3 线性关系

将酮麝香的标准储备液稀释成 0.5、1.0、10.0、50.0、100.0



和 150.0g/mL 的系列标准溶液。移取 20μL 系列标准溶液,注入高效液相色谱仪中进行测定,以色谱峰的峰面积(A)为纵坐标,标准溶液的质量浓度(ρ)为横坐标,绘制标准曲线。酮麝香的标准曲线方程为: $A=13500\rho-4829$, $r=0.9998$ 。酮麝香在 0.5—150.0μg/mL 内呈良好的线性关系。

2.4 精密度

配制高、中、低 3 种浓度 (3.0、40.0 和 100μg /mL) 酮麝香的标准溶液各 6 份,以及高、中、低 3 种浓度的加标样品溶液 (空白样品加标量为 0.03%、0.40% 和 1.00%) 各 6 份,在选定的色谱条件下,分别连续进样,测定酮麝香的峰面积,计算相应的精密度(RSD)值,所得结果见表 1。

精密称取空白样品 (乳膏样品、液基样品和醇基样品) 0.25g 各 1 份,同种空白样品中分别加入一定量的标准溶液,使得酮麝香的添加量为 0.03%、0.40% 和 1.00%。按 1.4 节方法处理,取 3 次测定的平均值计算回收率,实验结果见表 1。

由表 1 可知,根据《化妆品中禁限物质和限用物质检测方法验证技术规范》中的相关规定,所得的 RSD<5.0%,加标回收率为 85.0%—115.0%,表明方法精密度良好,加标回收率符合规定。

2.5 稳定性

2.5.1 日内稳定性

用 10.00 和 100.00μg/mL 两种浓度的标准溶液放置于室

表 1 酮麝香的精密度和回收率 (n=6)

Table 1 Precision and recovery ratio of musk ketone (n=6)

样品类型	$\rho/(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	酮麝香的添加量/%	RSD/%	回收率/%
标准溶液	3.0		0.77	
	40.0		0.75	
	100.0		0.45	
乳状样品		0.03	0.98	92.2
		0.40	0.70	102.5
		1.00	0.66	99.8
液态样品		0.03	0.90	102.1
		0.40	0.65	90.5
		1.00	0.85	100.0
醇基样品		0.03	0.69	100.4
		0.40	0.50	99.5
		1.00	0.48	98.6

温和 2—8℃下,24h 内测量 5 次,检测时间点分别为 0、4、10、16 和 24h,所得峰面积响应值带入标准曲线,计算得到 RSD,结果见表 2。由表 2 可知,根据《化妆品及其原料中禁限用物质检测方法验证技术规范》中的相关规定,所得的 RSD<5.0%,表明在常温酮麝香标准溶液在室温及 2—8℃下 24h 内稳定。

表 2 日内稳定性数据

Table 2 Data of stabilization in single day

温度	$\rho(\text{标准})/(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	$\rho(\text{检测})/(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$					RSD/%
		0h	4h	10h	16h	24h	
室温	10.00	10.10	10.05	10.06	9.88	9.99	2.36
	100.00	101.00	98.91	99.80	102.00	101.88	2.77
2—8℃	10.00	9.80	9.95	9.94	9.98	10.11	1.11
	100.00	100.20	98.60	99.45	99.90	100.15	0.67

2.5.2 日间稳定性

用 10.00 和 100.00μg/mL 两种浓度的标准溶液放置于室温和 2—8℃下,测定 5d,每天测定 6 次,所得峰面积响应值带入标准曲线,计算得到 RSD。结果见表 3。由表 3 可知,根据《化妆品中禁用物质和限用物质检测方法验证技术规范》中

的相关规定,所得的 RSD<5.0%,表明酮麝香标准溶液在常温下 3d 内稳定,在 2—8℃下 5d 内稳定。

2.6 实际样品的检测

随机购买市售化妆品样品,经过 1.4 节方法处理,取 3 次测定的平均值为检测结果,见表 4。由表 4 可知,采用本实验

表 3 日间稳定性数据

Table 3 Data of stabilization in different days

温度	$\rho(\text{标准})/(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	$\rho(\text{检测})/(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$					RSD(1—3d)/%	RSD(1—5d)/%
		1d	2d	3d	4d	5d		
室温	10.00	10.16	9.95	9.32	8.85	8.27	4.46	8.36
	100.00	100.30	98.00	94.40	89.35	84.95	3.05	6.72
2—8℃	10.00	9.99	9.86	10.11	9.46	9.15	1.25	4.11
	100.00	99.58	98.75	96.50	93.70	93.45	1.62	2.92

方法可测定不同基质的化妆品样品,结果满足分析要求。

表 4 样品检测结果

Table 4 Results of samples determination

样品	酮麝香添加量/%	RSD/%
花露水 1	0.02	0.95
花露水 2	0.03	0.54
香水 1	未检出	—
香水 2	0.19	0.19
香水 3	未检出	—
香水 4	未检出	—
淡香水 1	0.08	0.16
淡香水 2	未检出	—
淡香水 3	未检出	—
淡香水 4	0.10	0.68
沐浴露 1	未检出	—
沐浴露 2	未检出	—
沐浴露 3	未检出	—
洗发水 1	未检出	—
洗发水 2	未检出	—
洗发水 3	未检出	—
洗面奶 1	0.03	0.96
洗面奶 2	未检出	—
防晒霜	未检出	—
防晒气雾剂	0.02	3.05

3 结论

研究采用反相高效液相色谱-紫外检测法分析,具有较好的精密度和准确性,操作简便,重现性好,适用于不同基质类型化妆品中的酮麝香含量的测定,可为酮麝香分析方法的进一步研究提供参考,同时也可对国家相关法规标准的制定提供支持。

参考文献 (References)

[1] DictChem. 酮麝香 [R/OL]. [http://www.dictchem.com/dict/chemical1/81-](http://www.dictchem.com/dict/chemical1/81-14-1490.htm)

14-1490.htm, 2011.

DictChem. Musk ketone[R/OL]. <http://www.dictchem.com/dict/chemical1/81-14-1490.htm>, 2011.

[2] European Chemicals Bureau. European union risk assessment report: 4'-tert-butyl-2',6'-dimethyl-3',5'-dinitroacetophenone (musk ketone) [R]. 2005, EUR 21507 EN, PL-3 (62).

[3] Opinion of the Scientific Committee on Cosmetic Products and Non-food Products Intended for Consumers Concerning Musk Xylene and Musk Ketone [Z]. SCCNFP/0817/04, 2004.

[4] 曲红梅, 周立山, 白鹏. 酮麝香与二甲苯麝香体系相平衡研究[J]. 日用化学工业, 2005, 35(3): 142-144, 148.

Qu Hongmei, Zhou Lishan, Bai Peng. *China Surfactant Detergent & Cosmetics*, 2005, 35(3): 142-144, 148.

[5] 曲红梅, 白鹏, 周立山, 等. 酮麝香-二甲苯麝香双液相萃取结晶[J]. 化工学报, 2004, 55(6): 1006-1010.

Qu Hongmei, Bai Peng, Zhou Lishan, et al. *Journal of Chemical Industry and Engineering (China)*, 2004, 55(6): 1006-1010.

[6] 欧盟保健和环境科学委员会. 欧盟对酮麝香的危险性分类听取意见[J]. 国内外香化信息, 2006(1): 22.

Scientific Committee on Health and Environmental Risks. *Domestic - Overseas Flavor Fragrance Cosmetic Information*, 2006(1): 22.

[7] Department For Business Enterprise & Regulatory Reform. URN 08/689 Consultation on the consolidation of the existing regulations and implementation of 3 technical directives amending directive 76/768/EEC on the safety of cosmetic products[S]. London: Consumer and Competition Policy Directorate, 2008.

[8] 中华人民共和国卫生部. 化妆品卫生规范 [S]. 北京: 军事医学科学出版社, 2007.

Ministry of Health of the People's Republic of China. Hygienic standard for cosmetics[S]. Beijing: Military Medical Science Press, 2007.

[9] 中华人民共和国工业和信息化部. QB/T 1026-2010, 酮麝香 (征求意见稿)[S]. 2010.

Ministry of Industry and Information Technology of the People's Republic of China. QB/T 1026-2010, Musk ketone(draft)[S]. 2010.

(责任编辑 吴晓丽)

·学术动态·

“2011 绿色手性论坛”征文



由中国化学会主办的“2011 绿色手性论坛”将于 2011 年 11 月 10—13 日在杭州与“中国化学会第四届分子手性学术研讨会”同时召开。

征文范围: 手性环境污染物的分离分析与构型表征; 手性污染物的环境过程对映选择性(含行为、残留与富集); 环境代谢与转化的对映选择性的生物特异性(含微生物、动物与植物); 手性污染物的生态风险与健康效应对映选择性(含分子作用机制)。

征文截稿日期: 2011 年 8 月 20 日。

地址: 浙江省杭州市西湖区余杭塘路 866 号浙江大学农生环组团 B 座环境与资源学院; 邮编: 310058; 电话: 0571-88982344, 88982341; 传真: 0571-88982344; 电子信箱: 2011chiral@gmail.com; 会议网址: <http://www.ccs.ac.cn>。