

高效液相色谱法同时测定液态面膜中 19 种防腐剂含量

郭景涛¹, 魏国志², 代颖², 李和伟^{2*}

¹常州富谦生物科技有限公司 江苏常州

²常州伟博海泰化妆品有限公司 江苏常州

【摘要】目的 建立同时测定液态面膜中 19 种防腐剂的高效液相色谱法。方法 液态面膜样品采用甲醇提取, 采用 XBridge C18 色谱柱进行分离, 使用乙腈-0.2%磷酸溶液作为流动相进行洗脱。利用高效液相色谱仪在 230 nm、254 nm 和 280 nm 三个波长下分别对 19 种防腐剂的含量进行测定。结果 结果显示, 在 0.11~3120 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度范围内, 19 种防腐剂均展现出良好的线性关系, 相关系数均超过 0.9990; 检出限介于 0.11~3120 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 定量限介于 1.10~7.39 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$; 平均回收率在 96.7%~104.2%之间, 相对标准偏差(RSD)不超过 4.8%; 日内精密度 RSD 范围为 0.5%~2.8%。结论 所立的检测方法具有灵敏、准确、快速和稳定的特点, 能够同时测定液态面膜中 19 种防腐剂的含量。

【关键词】液态面膜; 防腐剂; 高效液相色谱; 同时测定

【收稿日期】2024 年 12 月 12 日

【出刊日期】2025 年 1 月 18 日

【DOI】10.12208/j.imrf.20250006

Simultaneous determination of 19 preservatives in liquid facial masks by high-performance liquid chromatography

Jingtao Guo¹, Guozhi Wei², Ying Dai², Hewei Li^{2*}

¹Changzhou Fu-Qian Biotechnology Co.Ltd., Changzhou Jiangsu

²Changzhou Weibo Hi-Tech Co.Ltd., Changzhou Jiangsu

【Abstract】 **Objective** To establish a high-performance liquid chromatography (HPLC) method for the simultaneous determination of 19 preservatives in liquid facial masks. **Methods** The liquid facial mask samples were extracted with methanol and separated using an XBridge C₁₈ column. The mobile phase consisted of acetonitrile-0.2% phosphoric acid solution for elution. The contents of 19 preservatives were determined at three wavelengths of 230 nm, 254 nm, and 280 nm using a high-performance liquid chromatograph. **Results** The results showed that within the concentration range of 0.11~3120 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, all 19 preservatives exhibited good linearity with correlation coefficients exceeding 0.9990. The limits of detection were between 0.37 and 2.46 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, and the limits of quantification were between 1.10 and 7.39 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. The average recovery rates ranged from 96.7%~104.2%, with relative standard deviations (RSD) not exceeding 4.8%. The intra-day precision RSD ranged from 0.5%~2.8%. **Conclusion** The established method is sensitive, accurate, rapid, and stable, capable of simultaneously determining the contents of 19 preservatives in liquid facial masks.

【Keywords】 Liquid Facial Mask; Preservatives; High-Performance Liquid Chromatography; Simultaneous Determination

化妆品使用过程中, 皮肤刺激是引起不良反应的主要因素, 绝大多数化妆品相关的不良反应案例都与过敏性皮炎有关^[1,2]。多项研究文献指出, 防腐剂的接触是引发皮肤过敏反应的常见原因^[3-4]。在使

第一作者简介: 郭景涛, 男, 本科, 研究方向为化妆品和生物医药研究;

*通讯作者: 李和伟, 男, 博士, 高级工程师, 研究方向为化妆品和生物医药研究。

用面膜产品时, 由于面膜与面部皮肤的接触面积广泛, 可能促使更多的防腐剂成分渗入肌肤, 从而提高了面部皮肤对防腐剂的接触量。这种情况下, 皮肤受到的刺激可能会更为显著, 并且如果长期使用含有较高浓度防腐剂的面膜, 可能会对皮肤造成损害。

虽然《化妆品安全技术规范》2022 年征求意见稿已经对化妆品中防腐剂的用量设定了上限, 但是长期使用含有这些用量在限度内防腐剂的化妆品, 仍有可能对皮肤造成潜在的毒副作用。例如, 根据文献研究, 苯氧乙醇在 0.1% 的质量浓度下即可展现出细胞毒性, 而其规定的使用上限为 1.0%^[5]; 另外, 对羟基苯甲酸丙酯在人体内易发生累积, 从而可能引发更为严重的副作用^[6]。

当前, 防腐剂的检测手段主要包括高效液相色谱法 (HPLC)^[7,8]、气相色谱法^[9]、液相色谱-质谱联用法 (LC-MS)^[10,11] 以及气相色谱-质谱联用法 (GC-MS)^[12,13] 等。这些方法各有优势, 能够有效地分析和检测化妆品中的防腐剂成分。本文拟建立 HPLC

法, 选择面膜中经常添加以及《化妆品安全技术规范》中规定限度的 19 个防腐剂作为测定目标, 对 17 种市售液态面膜进行了防腐剂含量测定。

1 仪器、标准品与试验材料

1.1 主要仪器

BSA323S 电子天平 (精度 0.001 g, 德国赛多利斯公司); PR224ZHE 型电子天平 (精度 0.000 1 g, 沙鹰科学仪器有限公司); LC-2030C 型高效液相色谱仪 (日本岛津公司); UV-2600 型紫外检测器 (日本岛津公司); pH 计 (赛多利斯科学仪器 (北京) 有限公司); BIO-DL 型移液枪 (赛多利斯公司); 舒美 KQ-700DE 型超声仪 (昆山市超声仪器有限公司); 涡旋混匀器 (常州国华电器有限公司); XBridge 型 C₁₈ 色谱柱 (Waters 公司)。

1.2 标准品与试验材料

17 种液态面膜均为市售品; 色谱纯甲醇、乙腈 (Fisher 公司); 娃哈哈纯净水 (杭州娃哈哈集团有限公司); 磷酸为分析纯 (北京化工集团股份有限公司)。19 个防腐剂对照品信息见表 1。

表 1 对照品信息

序号	对照品	纯度/%	批号	生产商
1	甲基异噻唑啉酮	95%	E2211030	上海阿拉丁生物科技有限公司
2	溴硝醇	98%	B2302897	上海阿拉丁生物科技有限公司
3	对羟基苯甲酸	99.9%	DLC802	上海毕得医药科技股份有限公司
4	苯甲醇	98%	J2318200	上海阿拉丁生物科技有限公司
5	苯氧乙醇	99%	L2216913	上海阿拉丁生物科技有限公司
6	苯甲酸	99.0%	113667	陶素生化科技有限公司
7	对羟基苯甲酸甲酯	98%	13381	上海诗丹德科技有限公司
8	氯苯甘醚	99.9%	CNV165	上海毕得医药科技股份有限公司
9	脱氢乙酸	99.9%	9404191	北京百灵威科技有限公司
10	5-溴-5-硝基-1,3-二噁烷	98%	C2125120	上海阿拉丁生物科技有限公司
11	对羟基苯甲酸乙酯	96%	113668	陶素生化科技有限公司
12	对羟基苯甲酸异丙酯	98%	L125733715	上海吉至生化科技有限公司
13	对羟基苯甲酸丙酯	98%	P48738730	上海麦克林生化科技股份有限公司
14	对羟基苯甲酸苯甲酯	96%	T06J9T65208	上海源叶生物科技有限公司
15	对羟基苯甲酸丁酯	98%	L175448744	上海吉至生化科技有限公司
16	羟基苯甲酸苯酯	96%	T06J9T65208	上海源叶生物科技有限公司
17	对羟基苯甲酸戊酯	98%	G2101348	上海阿拉丁生物科技有限公司
18	苯甲酸异丙酯	99.7%	BSV917	上海毕得医药科技股份有限公司
19	苯甲酸丙酯	99%	M60337	上海迈瑞尔生物科技有限公司

2 实验方法

2.1 高效液相色谱条件

色谱柱为 C₁₈ (4.6 mm×150 mm, 5.0 μm); 流动相: A 相: 0.2%磷酸水溶液; B 相: 乙腈; 梯度洗脱程序: 0-5 min, 90% A; 5-29 min, 90%~50% A; 29-41 min, 50%~65% A; 41-52 min, 65%~35% A; 52-57 min, 35%~5% A; 57-62 min, 5%~90% A; 方法: 67 min; 检测波长: 不同防腐剂采用不同波长不同检测: 230 (溴硝醇、苯甲酸、氯苯甘醚、脱氢乙酸、5-溴-5-硝基-1,3-二噁烷、苯甲酸异丙酯、苯甲酸丙酯、)/254 (对羟基苯甲酸、苯甲醇、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸乙酯、对羟基苯甲酸异丙酯、对羟基

苯甲酸丙酯、羟基苯甲酸苄酯、对羟基苯甲酸苯甲酯、对羟基苯甲酸戊酯)/280 (甲基异噻唑啉酮、苯氧乙醇、脱氢乙酸) nm。等度洗脱; 流速 1.0 mL·min⁻¹; 柱温 30 °C; 进样量 10 μL。

2.2 混合标准溶液制备

准确称取各标准品适量, 置于同一容量瓶中, 先用 2 mL 二甲亚砜溶解, 再用乙腈定容至刻度, 摇匀, 作为储备液, 置于 4 °C 冰箱中冷藏保存。再精密量取该混合储备溶液适量, 用甲醇稀释得到混合标准系列溶液。混合标准系列溶液容易降解, 应临用前再稀释。混合标准溶液中各个标准品的浓度如下表 2 所示。

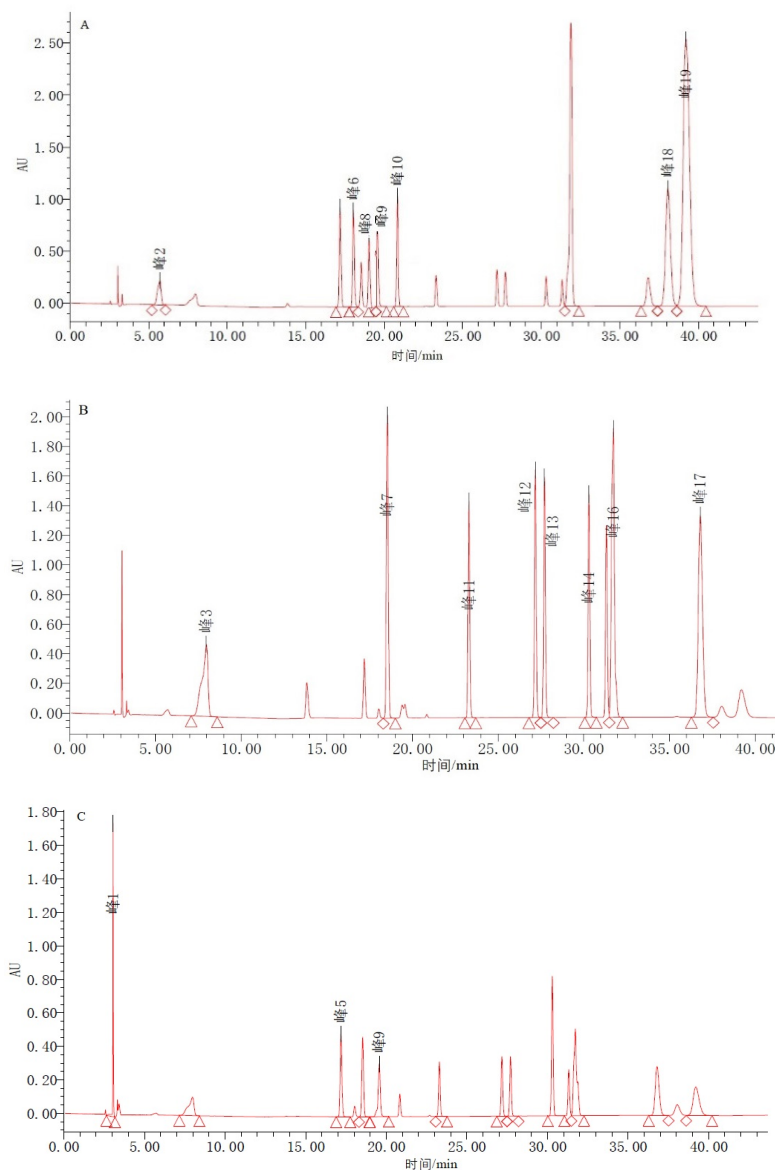


图 1 19 种防腐剂标准溶液图谱 (A: 230 nm; B: 254 nm; C: 280 nm)

表 2 19 种防腐剂的混合标准溶液质量浓度

峰号	对照品	混合标准储备溶液浓度/($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)	混合标准溶液系列质量浓度/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)				
			1	2	3	4	5
1	甲基异噻唑啉酮	1.11	0.11	0.55	2.78	13.88	111.1
2	溴硝醇	15.13	0.151	0.756	3.78	18.98	151
3	对羟基苯甲酸	2.04	0.204	1.02	5.09	25.45	204
4	苯甲醇	31.2	0.312	1.56	7.80	39.0	312
5	苯氧乙醇	24.61	0.246	1.23	6.15	30.76	246
6	苯甲酸	1.91	0.19	0.95	4.77	23.84	191
7	对羟基苯甲酸甲酯	3.06	0.306	0.529	2.65	13.23	306
8	氯苯甘醚	3.08	0.308	1.54	7.71	38.54	308
9	脱氢乙酸	2.86	0.286	1.43	7.14	35.7	286
10	5-溴-5-硝基-1,3-二噁烷	2.59	0.259	1.29	6.47	62.35	259
11	对羟基苯甲酸乙酯	3.09	0.309	1.55	7.73	38.65	309
12	对羟基苯甲酸异丙酯	2.63	0.263	1.31	6.57	32.86	263
13	对羟基苯甲酸丙酯	3.13	0.313	1.56	7.82	39.08	313
14	对羟基苯甲酸苯甲酯	3.60	0.36	1.80	9.00	45.01	360
15	对羟基苯甲酸丁酯	3.32	0.32	1.66	8.30	41.48	332
16	羟基苯甲酸苄酯	3.18	0.318	1.59	7.95	39.75	318
17	对羟基苯甲酸戊酯	6.14	0.614	3.07	15.36	76.80	614
18	苯甲酸异丙酯	7.07	0.707	3.53	17.68	88.38	707
19	苯甲酸丙酯	7.39	0.739	3.70	18.48	92.39	739

表 3 19 种防腐剂的线性范围、相关系数、检出限和定量限

峰号	线性方程	线性范围/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	相关系数	定量限/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	检测限/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)
1	$Y=16248.66x+33914.39$	0.11~111.1	0.9999	1.10	0.37
2	$Y=459.20x+631.85$	0.151~151	0.9997	1.51	0.50
3	$Y=61887.59x+148772.76$	0.204~204	0.9995	2.04	0.68
4	$Y=2243.42x+8644.92$	0.312~312	0.9993	3.12	1.04
5	$Y=1443.67x+4174.32$	0.246~246	0.9996	2.46	0.82
6	$Y=2891.79x+6072.95$	0.19~191	0.9995	1.90	0.63
7	$Y=2891.79x+6072.95$	0.306~306	0.9995	3.06	1.02
8	$Y=3161.17x+7884.54$	0.286~286	0.9992	2.86	0.95
9	$Y=167909.66x+206262.63$	0.308~308	0.9997	3.08	1.03
10	$Y=38014.24x+179693.28$	0.259~259	0.9992	2.59	0.86
11	$Y=43520.89x+172017.53$	0.309~309	0.9991	3.09	1.03
12	$Y=31970.33x+145573.59$	0.263~263	0.9991	2.63	0.88
13	$Y=33495.20x+144100.31$	0.313~313	0.9991	3.13	1.04
14	$Y=31970.33x+145573.59$	0.36~360	0.9991	3.60	1.20
15	$Y=33502.67x+19374.01$	0.32~332	0.9991	3.20	1.07
16	$Y=31432.81x+77604.12$	0.318~318	0.9998	3.18	1.06
17	$Y=81283.26x-597982.40$	0.614~614	0.9991	7.07	2.36
18	$Y=2334.21x+24626.58$	0.707~707	0.9993	7.39	2.46
19	$Y=6854.04x+77017.58$	0.739~739	0.9991	1.10	0.37

2.3 样品前处理

准确称取面膜样品 1.0 g, 加 10 mL 甲醇, 涡旋 2 min 使充分混匀, 再超声提取 20 min, 取适量上清液, 12000 转·min⁻¹ 离心 10 min, 取上清液经 0.22 μm 微孔滤膜过滤, 待测。

3 结果与讨论

3.1 线性范围、相关系数、检出限和定量限

采用空白基质样品加标, 以 3 倍和 10 倍的噪音值质量浓度分别作为检出限和定量限。19 种防腐剂在 0.11~3120 μg·mL⁻¹ 范围内线性关系良好, 相关系数均不小于 0.991, 检出限为 0.37~2.46 μg·g⁻¹, 定量限为 1.10~7.39 μg·g⁻¹。线性范围、相关系数、检出限和定量限的结果见表 3。

3.2 回收率和精密度

精确取 1 g 空白基质样品放入带有塞子的比色管中, 接着分别添加 0.01、0.05 和 0.25 mL 的混合标准液 5。将溶液通过氮气吹干至接近干燥状态, 然后依“2.2 样品前处理”项下的试样制备步骤进行处理。每个质量浓度平行三次试验, 以计算各组分的平均回收率和 RSD。

另外, 精确称取 6 份 1 克空白基质样品, 每份添加 0.05 毫升混合标准系列溶液, 同样进行氮气吹干并按照“2.2 样品前处理”项下的方法处理, 以评估各组分的日间精密度。实验结果显示, 19 种防腐剂在三个不同加标质量浓度下的回收 96.7%~104.2%之间, 而精密度均小于 3.0%, 结果见表 4。

表 4 19 种防腐剂的回收率和精密度

峰号	加入对照浓度/(μg·mL ⁻¹)	平均回收率, RSD/%	精密度 RSD/%	峰号	加入对照浓度/(μg·mL ⁻¹)	平均回收率, RSD/%	精密度 RSD/%
1	0.11	104.2, 4.8		11	0.309	102.4, 2.3	
	0.55	98.4, 2.1	1.2		1.55	98.9, 2.9	0.8
	2.78	100.5, 14			7.73	100.7, 1.7	
2	0.51	101.6, 2.1		12	0.263	103.3, 4.1	
	0.756	98.8, 0.9	0.6		1.31	101.3, 2.6	1.1
	3.78	99.0, 1.5			6.57	100.4, 2.3	
3	0.204	101.6, 3.9		13	0.313	99.0, 2.8	
	1.02	100.3, 2.8	1.7		1.56	99.8, 2.0	2.6
	5.09	98.1, 1.9			7.82	100.4, 1.6	
4	0.312	98.1, 4.2		14	0.36	97.5, 3.6	
	1.56	97.6, 2.3	0.5		1.80	101.3, 1.7	0.7
	7.80	99.1, 2.3			9.00	98.8, 2.5	
5	0.246	99.7, 3.8		15	0.32	102.0, 4.8	
	1.23	99.5, 2.9	1.4		1.66	100.8, 1.9	1.1
	6.15	99.7, 0.8			8.30	100.0, 0.8	
6	0.19	99.8, 3.0		16	0.318	100.3, 2.9	
	0.95	100.7, 2.6	1.3		1.59	99.2, 2.9	0.9
	4.77	97.8, 2.3			7.95	98.4, 2.3	
7	0.106	100.3, 1.4		17	0.614	101.6, 2.3	
	0.529	100.1, 2.1	1.2		3.07	101.6, 1.3	2.8
	2.65	99.1, 2.4			15.36	99.4, 0.5	
8	0.286	96.7, 3.8		18	0.707	101.1, 2.8	
	1.43	101.2, 2.4	0.4		3.53	99.5, 2.4	1.6
	7.14	100.1, 0.7			17.68	99.1, 1.6	
9	0.308	99.7, 2.6		19	0.739	100.1, 4.4	
	1.54	99.4, 2.8	1.1		3.70	98.9, 1.7	1.9
	7.71	99.1, 0.8			18.48	101.4, 2.6	
10	0.259	99.6, 4.1		-	-	-	-
	1.29	99.2, 1.6	2.3	-	-	-	-
	6.74	99.0, 1.9		-	-	-	-

表 5 市售液态面膜中防腐剂含量测定结果

检出防腐剂	检出数量/种	检出率/%	防腐剂含量/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)
溴硝醇	1	5.9	1150
对羟基苯甲酸	7	41.2	40~510
苯甲醇	1	5.9	7193
苯氧乙醇	12	70.6	140.0~1804.5
苯甲酸	4	23.5	91.5~162.0
对羟基苯甲酸甲酯	15	88.2	31.8~1383.8
脱氢乙酸	1	5.9	433.5
氯苯甘醚	5	29.4	127.2~2439.0
对羟基苯甲酸乙酯	3	17.6	30.1.8~341.4
对羟基苯甲酸异丙酯	1	5.9	106.6
对羟基苯甲酸丙酯	7	41.2	94.7~1018.4
苯甲酸乙酯	6	35.3	105.4~533.2

3.3 面膜样品中防腐剂检测

对市面上 17 种液态面膜样品进行了检测, 结果见表 5。检测发现, 在所有检出的防腐剂中, 对羟基苯甲酸甲酯的检出率最高, 达到 88.2%; 苯氧乙醇的检出率位居第二, 为 70.6%。检测数据表明, 不同液态面膜样品中防腐剂的添加量存在较大差异, 例如对羟基苯甲酸甲酯的含量在 $31.8\sim 1383.8 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 之间, 最大含量是最低含量的 43.5 倍。此外, 在 17 种面膜样品中, 多款面膜添加了多种不同类型的防腐剂, 且有部分面膜中检出了标签上未注明的防腐剂。检测结果显示, 液态面膜中普遍使用防腐剂, 但防腐剂用量的悬殊差异以及标签未标注的防腐剂添加, 可能会对消费者的皮肤健康构成潜在风险。

4 讨论

在建立液态面膜中防腐剂的检测方法时, 本研究根据防腐剂的物理化学特性, 考察了甲醇、50%甲醇和水等不同溶剂对防腐剂的提取效率。实验结果显示, 甲醇对 19 种防腐剂的提取效果最为理想, 因此选择甲醇作为面膜样品前处理的提取溶剂。同时, 实验还探讨了超声提取时间和甲醇用量的不同对防腐剂提取率的影响。结果表明, 使用 10 mL 甲醇, 超声提取 20 min, 能够完全提取这 19 种防腐剂。

由于 19 种防腐剂的吸收波长各异, 例如溴硝醇、苯甲酸等在 230 nm 处达到最大吸收, 而对羟基苯甲酸及其衍生物在 254 nm 处有最大吸收, 甲基异噻唑啉酮、苯氧乙醇、脱氢乙酸则在 280 nm 处。

为提高分析方法的检测灵敏度, 本分析方法建立时选择了三个特定波长分别检测这些防腐剂。

在实验中, 比较了不同流动相系统对 19 种防腐剂分离效果的影响。发现采用乙腈-磷酸水二元系统作为流动相时, 能够实现 19 种防腐剂的有效分离, 并且色谱峰型对称尖锐, 因此选择了该流动相系统。此外, 对流动相的梯度洗脱条件进行了优化, 最终确立了适宜的梯度洗脱程序, 确保了 19 种防腐剂均能获得良好的分离效果。

综上所述, 本研究建立的 HPLC 方法能够同时检测液态面膜中的 19 种防腐剂。方法学验证结果显示, 该检测方法准确可靠。对市售的 17 种液态面膜进行检测, 进一步证实了该方法适用于液态面膜中防腐剂的测定, 为液态面膜中防腐剂的含量测定提供了一种有效的 HPLC 检测方法。

参考文献

- [1] 黄宇锋, 李光先, 何树锋等. 5 类特殊用途化妆品刺激性试验结果分析[J]. 日用化学品科学, 2021, 44(12): 24-27.
- [2] 王瑞, 王欢, 韩雨晴等. 组合应用替代方法评价 5 种化妆品中常用防腐剂的皮肤致敏性[J]. 日用化学品科学, 2023, 46(01): 20-27.
- [3] Ma X, Wang H, Song Y, et al. Skin irritation potential of cosmetic preservatives: An exposure-relevant study[J]. J Cosmet Dermatol, 2021, 20(1): 195-203.

- [4] Martins M S, Ferreira M S, Almeida I F, et al. Occurrence of Allergens in Cosmetics for Sensitive Skin[J]. *Cosmetics*, 2022, 9(2): 32.
- [5] MA X, WANG H, SONG Y, et al. Skin irritation potential of cosmetic preservatives: An exposure-relevant study [J]. *J Cosmet Dermatol*, 2021, 20(1): 195-203.
- [6] PANICO A, SERIO F, BAGORDO F, et al. Skin safety and health prevention: an overview of chemicals in cosmetic products[J]. *J Prev Med Hyg*, 2019, 60(1): E50.
- [7] 祝壮飞, 徐勤科, 刘婷媛, 等. 高效液相色谱法测定洗发护发产品中 18 种防腐剂和去屑剂[J]. *日用化学工业(中英文)*, 2024, 54(04): 477-483.
- [8] 刘艳云, 蒋居琼, 张铨, 等. 高效液相色谱法同时测定牙膏中 17 种防腐剂和抗氧化剂的含量[J]. *香料香精化妆品*, 2024, (02): 181-187.
- [9] 林茂发, 黄永辉, 胡朝阳, 等. 气相色谱法同时检测化妆品中限用苯酚类防腐剂[J]. *香料香精化妆品*, 2018, (04): 49-53+73.
- [10] 漆爱明, 毛丽秋, 肖树雄, 等. 高效液相色谱法与液质联用仪法同时测定 15 批次化妆品中 5 种限用防腐剂的比较研究[J]. *湖南师范大学自然科学学报*, 2020, 43(01): 56-62.
- [11] 丘福保, 卢丽明, 薛荣旋, 等. 液质联用法同时测定植物饮料中的 3 种防腐剂和 4 种甜味剂[J]. *中国食品添加剂*, 2020, 31(09): 79-84.
- [12] 吕稳, 张静雅, 胡贝, 等. 气相色谱-质谱法测定化妆品中苯甲酸酯类和对羟基苯甲酸酯类 16 种防腐剂[J]. *日用化学工业(中英文)*, 2023, 53(02): 239-244.
- [13] 韩伟娜, 刘彤彤, 王露露, 等. 气相色谱-串联质谱法测定化妆品中 15 种防腐剂类过敏原物质[J]. *色谱*, 2024, 42(01): 75-83.

版权声明: ©2025 作者与开放获取期刊研究中心(OAJRC)所有。本文章按照知识共享署名许可条款发表。

<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



OPEN ACCESS