

优化化妆品中氢醌与苯酚的含量分析方法

罗杰鸿^{1*}, 姚大超², 黄锦波³

(1.广东安纳检测技术有限公司, 广州, 510000; 2.广州岭谱科学仪器有限公司, 广州, 510000;
3.詹姆斯(广州)实验技术有限公司, 广州, 510000)

摘要: 以氢醌与苯酚为目标物质, InertCap WAX 为分离柱, 建立了气相色谱法测定化妆品中氢醌与苯酚含量的分析方法。通过优化色谱条件, 确定初始温度 120°C, 化妆品经乙醇提取, 过滤后测定, 外标法定量。结果表明, 氢醌与苯酚的加标回收率在 91.7%-99.0%之间, 精密度分别为 1.5%与 1.8%, 检出限分别为 250 µg/g 与 150 µg/g。该方法使用毛细管柱, 适用性广, 结果重现性好, 时间成本低, 分离度好, 回收率符合要求。

关键词 化妆品;气相色谱仪;初始温度;氢醌;苯酚

Establishing a method for analyzing the content of hydroquinone and phenol in cosmetics

Luo Jiehong^{1*}, Yao Dazhao², Huang Jinbo³

(1. Guangdong ANA testing technology Co., Ltd., Guangzhou, 510000; 2. Guangzhou lingpu Scientific Instrument Co., Ltd., Guangzhou, 510000; 3. James (Guangzhou) Experimental Technology Co., Ltd., Guangzhou, 510000)

Abstract: Objective To establish an analytical method for the determination of hydroquinone and phenol in cosmetics by gas chromatography. Methods Hydroquinone and phenol were used as the target materials, and InertCap WAX (30m×0.25mm×0.25µm) was used as the separation column. By optimizing the chromatographic conditions, the initial temperature was determined to be 120°C, and the temperature was raised to 220°C at 10°C/min for 22min. The temperature is programmed, the cosmetics are extracted by ethanol, filtered, and quantified by external standard method. Results The recoveries of hydroquinone and phenol were between 91.7% and 99.0%, and the precision was 1.5% and 1.8%, respectively. The detection limits were 250 µg/g and 150 µg/g, respectively. Conclusion This method uses a capillary column, which has wide applicability, good reproducibility, low time cost, good resolution and recovery rate. The method is suitable for the determination of hydroquinone and phenol content in cosmetics.

Keywords: Cosmetics; gas chromatograph; initial temperature; hydroquinone and phenol

氢醌与苯酚一般通过阻断或清除导致氧化的自由基，常被添加到化妆品中[1]。但长期依赖性使用含氢醌苯酚的美白祛斑产品，很容易导致面部溃烂[2]，根据胡恭华研究表现，氢醌会氧化损坏肝细胞功能有具有致癌性[3][4]，因此必须对氢醌与苯酚的使用范围与用量加以限制。

根据《化妆品安全卫生规范》2015年版[5]的检测方法，其灵敏度不高，峰形差，不适用与目前市面上的主流气相色谱仪，同时其柱温箱为设定为 220°C，这容易导致柱子的有效填充物质流失。因此，有必要对该方法进行优化。本文通过采用极性毛细管柱，以目标峰的保留时间，峰高，理论塔板数与峰型为判断依据，得出最佳柱温箱初始温度的色谱条件。从而有效的解决了减缓毛细管中填充物质的流失，缩短时间成本，能有效、快捷的检化妆品中氢醌与苯酚的含量。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

赛里安气相色谱仪。

电子天平：感量为 0.0001 mg，德国赛多利斯。

乙醇：分析纯，西陇科学股份有限公司。

苯酚标准品（纯度为 99.9%）、氢醌标准品(纯度为 99.2%)：上海安谱科技股份有限公司。

祛斑霜：市面销售，某公司热销产品。

1.2 溶液配制

1.2.1 苯酚、氢醌标准溶液的配制

准确称取苯酚、氢醌标准品各 0.2g(精确至 0.1mg)于同一个 20ml 的容量瓶中，用乙醇稀释，配制成 20g/L 的储备液，于 4°C 冰箱中避光保存。

1.2.2 混合标准溶液制备

吸取苯酚、氢醌标准储备液 0.020mL、0.100mL、0.2ml、0.6mL、2.00mL 于一组 10mL 容量瓶中，乙醇定容，此标准系列的浓度为 0.04g/L、0.40g/L、0.80g/L、2.00g/L。

1.3 最佳柱温箱初始温度条件设计

参考《化妆品安全技术规范》2015 年版中氢醌与苯酚的方法检出限浓度为测试浓度，

设计柱温箱的初始温度以 10°C 的梯度变化，因峰高与峰型体现氢醌与苯酚的响应程度，理论塔板数则反映其分离效果的好坏，保留时间反映分析时间成本，因此以目标峰的保留时间、峰高，理论塔板数与峰型为判断依据，得出最佳柱温箱初始温度的色谱条件。

1.4 实验步骤

1.4.1 样品预处理

称取样品 1g 于 10ml 具塞比色管，用乙醇溶解，超声 1min，用乙醇稀释至刻度，静止后取上清液作为样品待测溶液，注入色谱仪，测定其峰面积。经 0.22um 有机微孔滤膜过滤，待上机测试。

1.4.1 方法证实

确定最合适条件后，根据 1.2.3 的前处理条件，通过仪器的重复性、线性关系、检出限、加标回收率证实本仪器条件的可行性。

1.4.2 定量方法

取待测物质一系列混合标准工作溶液，按照仪器工作条件测定其标准曲线，进行样品分析，利用外标法进行定量，样品中待测物质的含量 $X(\text{mg/kg})$ ，按照公式 (1) 计算。

$$X=C*V/m \quad (1)$$

公式中：

X 表示待测物质的含量，单位为 mg/kg ；

C 表示外标法曲线所得待测物质浓度，单位为 mg/L ；

V 表示定容的体积，单位为 mL ；

m 表示样品的称样量，单位为 g 。

2 结果与讨论

2.1 气相色谱初始温度的选择

氢醌和苯酚两种物质都拥有苯基和羟基，极性较强，因此本实验选择极性毛细管柱，经过初步的条件测试，发现气化室与检测器的温度变化对这两种物质的保留时间、理论塔板数等均无明显变化，但是柱温箱的初始温度对氢醌与苯酚的这两种物质影响较大，因此通过改变初始温度，寻找最佳的初始温度，以物质的保留时间、峰高、理论塔板数为比较因素。通过实验可知，随着初始温度的提高，苯酚与氢醌的保留时间越来越早，峰高、理论塔板数也逐渐变小。在氢醌、苯酚峰形良好的前提下，考虑成本因素，则分析时间越短越好。综合以上因素，初始温度在 120°C 与 150°C 之间，保留时间较小，分离度和响应值均在可接受的范

围之内。考虑氢醌与苯酚的峰型，当初始温度大于 130°C 的时候，苯酚的峰型明显不对称，不利于苯酚的定量分析，影响其结果准确性，故最终选择初始温度为 120°C。

2.2 线性关系考察

按 1.2.2 配制相关的曲线浓度点，在初始温度为 120°C 的色谱条件下进行测定，以峰面积 A 对系列标准溶液浓度 (X) 进行回归，得回归方程，结果见表 1。

表 1 苯酚与氢醌的标准曲线考察结果

| 标准品名称 | 线性方程 | 相关系数 | 线性范围 |
|-------|----------------------------------|---------|-----------------|
| 苯酚 | $A=1.00419e+7 \times X - 84709$ | 0.99998 | 0.00g/L~2.00g/L |
| 氢醌 | $A=1.55248e+7 \times X - 128851$ | 0.99996 | 0.00g/L~1.94g/L |

由上图表明，在配制的浓度范围内线性关系良好，适于氢醌、苯酚的测定。

2.3 仪器重现性试验

定量测定应考虑仪器的重现性，评价多次重复测定同一均匀样品所得结果之间的接近程度。取一定浓度的标准溶液 1.5uL，连续进六针，记录保留时间和峰面积，计算其保留时间和峰面积的相对标准偏差，结果见表 2。

表 2 苯酚与氢醌的重现性试验结果

| 浓度 | 序 | 苯酚保留时间 (t) | 苯酚峰面积(A) | 氢醌保留时间 | 氢醌峰面积 |
|--------------------|---|------------|----------|--------|--------|
| 20g/L 约为 浓度均 | 1 | 7.895 | 202240 | 29.654 | 194247 |
| | 2 | 7.897 | 201541 | 29.656 | 194315 |
| | 3 | 7.895 | 202544 | 29.655 | 194409 |
| | 4 | 7.895 | 204857 | 29.636 | 194021 |
| | 5 | 7.905 | 203451 | 29.646 | 192312 |
| | 6 | 7.894 | 205648 | 29.658 | 194152 |
| 相对标准偏差 | | 0.05% | 0.8% | 0.03% | 0.4% |

由试验结果可知，氢醌与苯酚的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别是：苯酚为 0.05% 和 0.8%、氢醌为 0.03% 和 0.4%，说明氢醌与苯酚均有稳定的保留时间及良好的峰型，且用于实验室的仪器稳定性良好，适用于美白产品中氢醌与苯酚的测定。

2.4 灵敏度试验

称取 1g(精确到 0.0001g)样品，并准确加入 30μL 浓度为 3.99g/L 的苯酚标准浓度与 60μL 浓度为 3.87g/L 的氢醌标准溶液，按照 1.2.3 样品前处理方法中的处理方法进行处理后进行测试，信噪比≥3，即检出浓度。结果见表 3

表 3 苯酚与氢醌的检出浓度与最低定量浓度

| 称样量 (g) | 目标物 | 测定浓度 (g/L) | 测定结果 (μg/g) | 检出浓度 (μg/g) |
|---------|-----|------------|-------------|-------------|
| 1.0091 | 苯酚 | 0.014 | 139 | 139 |
| | 氢醌 | 0.023 | 228 | 228 |

结果表明, 苯酚、氢醌的方法检出限均达到相关标准^[6]的要求。说明该方法的灵敏度能满足测定化妆品中氢醌与苯酚的含量的技术要求。

2.5 加标回收率试验

称取样品 1g, 共 3 组, 每组平行 3 份, 分别精密加入一定浓度的氢醌、苯酚混合标准储备液, 按 1.2.3 制备样品溶液进行测试, 记录峰面积, 计算氢醌、苯酚的回收率。结果见表 4。

表 4 加标回收率实验结果

| 项目 | 测定浓度 | 回收率 | 平均回收率 (%) | 项目 | 测定浓度 | 回收率 | 平均回收率 (%) |
|----|-------|-------|-----------|----|-------|-------|-----------|
| | (g/L) | (%) | | | (g/L) | (%) | |
| 苯酚 | 0.073 | 91.48 | 93.1 | 氢醌 | 0.072 | 93.02 | 91.7 |
| | 0.075 | 93.98 | | | 0.070 | 90.44 | |
| | 0.075 | 93.98 | | | 0.071 | 91.73 | |
| | 0.157 | 98.37 | 99.0 | | 0.151 | 97.55 | 97.8 |
| | 0.158 | 99.00 | | | 0.152 | 98.19 | |
| | 0.159 | 99.62 | 95.0 | | 0.151 | 97.55 | 97.2 |
| | 0.757 | 94.86 | | | 0.753 | 97.29 | |
| | 0.762 | 95.49 | | | 0.756 | 97.67 | |
| | 0.755 | 94.61 | | | 0.747 | 96.51 | |

结果表明, 氢醌、苯酚的回收率在 95.6%-108.8%之间、其 RSD 在 0.3%-1.3%之间, 均符合相关标准要求 (回收率 90%~110%, RSD≤10%)^[6]。

3 结语

化妆品中的杂质种类繁多, 分析难度大, 目前用毛细管柱测定氢醌与苯酚的研究较少, 仅张卫国等^[7]用 SE-54 毛细管柱进行测定, 但是根据其给出的色谱图, 苯酚的峰型并不理想, 而本方法通过进一步优化色谱条件, 能更好的测定化妆品中氢醌与苯酚含量的分析方法, 为广大的检测工作者提供一种检测化妆品中氢醌、苯酚的参考方法。

参考文献:

[1] 国家质量监督检验检疫总局.化妆品标识管理规定[S].中国农业出版社,2008:12.

- [2] 智研咨询集团.2018-2024年中国化妆品行业市场调查现状与投资前景调研报告[M] 智研咨询集团出版社:报告编号: R656763.
- [3] 胡恭华,高艳芳,等.金银花水提物对氢醌所致肝细胞氧化损伤的影响[C].中国毒理学会第三届中青年学者科技论坛暨2011年全国前列腺药理毒理学研讨会论文集.北京.中国毒理学会.2011年:177-182.
- [4] 吴笛,刘征涛等,苯酚与邻甲酚的遗传毒理学研究[J].南京大学学报:自然科学版 2001,6(18):3.
- [5] 中华人民共和国卫生部.化妆品安全技术规范2015年版.第2.26部分 第二法:气相色谱法:303-305.
- [6] 国家食品药品监督管理局.非书资料:化妆品及其原料中禁限用物质检测方法验证技术规范[S].北京:中国农业出版社,2010:10-15.
- [7] 张卫国,化妆品中氢醌与苯酚的气相色谱法测定[J]:职业与健康:2010,1(26):38.