

化妆品中葡糖醛酸等 14 种原料的含量测定

高效液相色谱法

参考--化妆品安全技术规范（2022 年版）修订稿

一、背景

α -羟基酸（AHA）是一组酸，用于解决一系列皮肤问题，例如暗沉、粉刺、皱纹和干燥，有时也称为“果酸”，包括苹果酸、柠檬酸、酒石酸等，通常被认为功能强大但相对温和，是许多皮肤类型的理想选择，包括轻度敏感、老化、干燥、混合性和易长粉刺的皮肤；乳酸酯类物质常用于化妆品，作为防腐剂和调节剂，调节皮肤 pH 值，有效保持化妆品的稳定性；柠檬酸三乙酯可以作为溶剂，帮助稳定和调节化妆品的 pH 值，增强产品的稳定性和保质期。因此，化妆品中原料含量的多少反映了化妆品的功效强弱。

二、原理

试样经水超声提取，离心后取续滤液，以甲醇和磷酸氢二铵溶液为流动相，使用十八烷基硅烷键合硅胶色谱柱和二元高压泵系统，采用梯度洗脱，用二极管阵列检测器检测，外标法定量。

三、试剂与材料

3.1 水：符合 GB/T 6682 的一级水；

3.2 甲醇：色谱纯；

3.3 磷酸氢二胺：分析纯，纯度 $\geq 98.5\%$ ；

- 3.4 磷酸: 色谱纯, 纯度为 85 %~90 %;
- 3.5 磷酸氢二铵溶液 (0.05 mol/L): 准确称取 6.7036 g 磷酸氢二铵 (3.3) 于 1000 mL 容量瓶中, 用水 (3.1) 溶解并定容至刻度, 混匀, 用磷酸 (3.4) 调节 pH 值为 3.0, 用 0.22 μm 滤膜过滤后备用;
- 3.6 10 % 甲醇水溶液: 取 10 mL 甲醇 (3.2) 和 90 mL 水 (3.1), 混匀, 超声后备用;
- 3.7 葡糖醛酸标准品: CAS 号为 6556-12-3, 纯度 ≥ 98 %;
- 3.8 酒石酸标准品: CAS 号为 87-69-4, 纯度 ≥ 99.5 %;
- 3.9 羟基乙酸标准品: CAS 号为 79-14-1, 纯度 ≥ 98 %;
- 3.10 苹果酸标准品: CAS 号为 97-67-6, 纯度 ≥ 98 %;
- 3.11 乳酸标准品: CAS 号为 79-33-4, 纯度 ≥ 98 %;
- 3.12 柠檬酸标准品: CAS 号为 77-92-9, 纯度 ≥ 99.5 %;
- 3.13 2-羟基丁酸钠标准品: CAS 号为 5094-24-6, 纯度 ≥ 99.9 %;
- 3.14 乳酸甲酯标准品: CAS 号为 547-64-8, 纯度 ≥ 98 %;
- 3.15 扁桃酸标准品: CAS 号为 90-64-2, 纯度 ≥ 99 %;
- 3.16 乳酸乙酯标准品: CAS 号为 97-64-3, 纯度 ≥ 99 %;
- 3.17 乳酸丁酯标准品: CAS 号为 138-22-7, 纯度 ≥ 98 %;
- 3.18 水中二苯乙醇酸标准溶液: 浓度为 1000 $\mu\text{g/mL}$;
- 3.19 柠檬酸三乙酯标准品: CAS 号为 77-93-0, 纯度 ≥ 99 %;
- 3.20 羟基辛酸标准品: CAS 号为 617-73-2, 纯度 ≥ 98 %;
- 3.21 市售维生素 E 乳。

四、仪器与设备

- 4.1 高效液相色谱仪: K2025 P2 二元高压输液泵、K2025 AS 自动进样器、K2025 CO 柱温箱、K2025 DAD 二极管阵列检测器、Wookinglab 色谱工作站;
- 4.2 分析天平: 精确到 0.0001 g;
- 4.3 涡旋振荡器;
- 4.4 超声波清洗机;
- 4.5 高速离心机: 转速 12000 r/min;
- 4.6 pH 计;
- 4.7 精密移液器: 100 μ L、1000 μ L、10 mL;
- 4.8 具塞离心管: 15 mL;
- 4.9 容量瓶: 5 mL、10 mL、100 mL、1000 mL, 棕色带刻度;
- 4.10 0.22 μ m 微孔有机滤膜;
- 4.11 一次性针头注射器;
- 4.12 0.22 μ m 有机针式过滤器。

五、测定步骤

5.1 标准溶液的配制

5.1.1 葡糖醛酸等7种组分混合标准储备液1的配制

分别准确称取80.6 mg葡糖醛酸标准品 (3.7)、39.8 mg酒石酸标准品 (3.8)、81.2 mg 羟基乙酸标准品 (3.9)、81.4 mg苹果酸标准品 (3.10)、101.6 mg乳酸标准品 (3.11)、101.4 mg柠檬酸标准品 (3.12) 和121.6 mg 2-羟基丁酸钠标准品 (3.13) 于同一10 mL容量瓶中, 加水 (3.1) 适量, 60 $^{\circ}$ C超声15 min使溶解, 用水 (3.1) 定容至刻度, 混匀, 制

得混合标准储备液1, 于4 °C冰箱避光保存, 可保存1个月。标准储备液1中7种组分的浓度见表1。

5.1.2 乳酸甲酯等3种组分混合标准储备液2的配制

分别准确称取254.5 mg乳酸甲酯标准品 (3.14)、200.5 mg乳酸乙酯标准品 (3.16) 和245.8 mg柠檬酸三乙酯标准品 (3.19) 于同一5 mL容量瓶中, 加水 (3.1) 溶解并定容至刻度, 混匀, 制得混合标准储备液2, 于4 °C冰箱避光保存, 可保存1个月。标准储备液2中3种组分的浓度见表1。

5.1.3 扁桃酸单标标准储备液的配制

精密称取扁桃酸标准品 (3.15) 适量于10 mL容量瓶中, 加水 (3.1) 适量, 60 °C超声15 min使溶解, 用水 (3.1) 定容至刻度, 制得扁桃酸单标标准储备液, 于4 °C冰箱避光保存, 可保存1个月。扁桃酸单标标准储备液的浓度见表1。

5.1.4 乳酸丁酯单标标准储备液的配制

精密称取乳酸丁酯标准品 (3.17) 适量于10 mL容量瓶中, 加2 mL甲醇 (3.2) 溶解, 用水 (3.1) 定容至刻度, 制得乳酸丁酯单标标准储备液, 于4 °C冰箱避光保存, 可保存1个月。乳酸丁酯单标标准储备液的浓度见表1。

5.1.5 羟基辛酸单标标准储备液的配制

精密称取羟基辛酸标准品 (3.20) 适量于10 mL容量瓶中, 加水 (3.1) 适量, 60 °C超声15 min使溶解, 用水 (3.1) 定容至刻度, 制得羟基辛酸单标标准储备液, 于4 °C冰箱避光保存, 可保存1个月。羟基辛酸单标标准储备液的浓度见表1。

5.1.6 葡糖醛酸等14种组分混合标准系列工作液的配制

分别移取适量的葡糖醛酸等7种组分混合标准储备液1 (5.1.1)、乳酸甲酯等3种组分混合标准储备液2 (5.1.2)、扁桃酸单标标准储备液 (5.1.3)、乳酸丁酯单标标准储备液 (5.1.4)、羟基辛酸单标标准储备液 (5.1.5) 和水中二苯乙醇酸标准溶液 (3.18) 于10 mL容量瓶中, 用水 (3.1) 定容至刻度, 制得14种组分混合标准系列工作液, 临用新制。标准系列工作液的浓度见表1。

表1 14种原料的标准储备液和标准系列工作液浓度表

原料名称	标准储备液浓度		混合标准系列工作液浓度				
	(mg/mL)		(mg/mL)				
葡糖醛酸	7.899	0.099	0.198	0.395	0.790	1.975	3.950
酒石酸	3.960	0.050	0.099	0.198	0.396	0.990	1.980
羟基乙酸	7.985	0.100	0.199	0.398	0.796	1.990	3.979
苹果酸	7.977	0.100	0.199	0.399	0.798	1.994	3.988
乳酸	9.957	0.124	0.249	0.498	0.996	2.489	4.978
柠檬酸	10.089	0.126	0.252	0.504	1.009	2.522	5.044
2-羟基丁酸	10.029	0.125	0.251	0.504	1.008	2.507	5.041
乳酸甲酯	49.882	0.125	0.249	0.499	0.998	2.494	4.988
扁桃酸	1.000	0.0025	0.005	0.010	0.020	0.050	0.100
乳酸乙酯	39.699	0.099	0.199	0.397	0.794	1.985	3.970
乳酸丁酯	50.000	0.125	0.250	0.500	1.000	2.500	5.000
二苯乙醇酸	1.000	0.0025	0.005	0.010	0.020	0.050	0.100
柠檬酸三乙酯	48.658	0.122	0.243	0.487	0.973	2.433	4.866
羟基辛酸	50.000	0.125	0.250	0.500	1.000	2.500	5.000

5.2 试样测定液的制备

试样做2份平行实验。称取混合均匀的试样 (3.21) 约1.0 g (精确至0.001 g) 于15 mL具塞离心管中, 加入10 mL水 (3.1), 充分涡旋混合30 s, 60 °C超声提取30 min, 取适量试液在12000 r/min下高速离心15 min, 取上清液, 用0.22 μm有机过滤器过滤, 取续滤液,

即得试样测定液1和试样测定液2, 在4 °C条件下储存, 待测 (如样品为油包水等难于在水中分散剂型, 可先加入1 mL异丙醇涡旋混合30 s使分散均匀, 再加水至10 mL刻度)。

5.3 加标回收实验

称取混合均匀的试样 (3.21) 约1.0 g (精确至0.001 g) 于15 mL具塞离心管中, 加入500 μL葡糖醛酸等7种组分混合标准储备液1 (5.1.1)、100 μL乳酸甲酯等3种组分混合标准储备液2 (5.1.2)、100 μL扁桃酸单标标准储备液 (5.1.3)、100 μL乳酸丁酯单标标准储备液 (5.1.4)、100 μL羟基辛酸单标标准储备液 (5.1.5)、100 μL水中二苯乙醇酸标准溶液 (3.18) 和9 mL水 (3.1), 充分涡旋混合30 s, 后续步骤同试样测定液的制备过程, 即得试样加标测定液, 在4 °C条件下储存, 待测。

5.4 色谱条件

- a) 色谱柱: C₁₈ 色谱柱 (可耐纯水相), 4.6×250 mm, 5 μm或者相当的色谱柱;
- b) 流动相: 以甲醇 (3.2) 为流动相 A, 磷酸氢二铵溶液 (3.5) 为流动相 B, 按下表进行梯度洗脱:

时间 (min)	流速 (mL/min)	A (%)	B (%)
0	0.7	0	100
6.5	0.7	0	100
6.6	1.0	0	100
15	1.0	40	60
30	1.0	70	30
40	1.0	70	30
40.1	0.7	0	100
50	0.7	0	100

- c) 进样量: 5 μL;

- d) 洗针液: 10 %甲醇水溶液 (3.6);

e) 柱温: 30 °C;

f) 检测器及检测波长: 检测器为二极管阵列检测器, 检测波长为 214 nm。

六、实验结果

6.1 重复性测试

待仪器工作状态稳定后, 按照上述色谱条件 (5.4) 进行采集, 14 种原料混合标准溶液 (葡萄糖醛酸浓度为 1.975 mg/mL、酒石酸浓度为 0.990 mg/mL、羟基乙酸浓度为 1.990 mg/mL、苹果酸浓度为 1.994 mg/mL、乳酸浓度为 2.489 mg/mL、柠檬酸浓度为 2.552 mg/mL、2-羟基丁酸浓度为 2.507 mg/mL、乳酸甲酯浓度为 2.494 mg/mL、扁桃酸浓度为 0.050 mg/mL、乳酸乙酯浓度为 1.985 mg/mL、乳酸丁酯浓度为 2.500 mg/mL、二苯乙醇酸浓度为 0.050 mg/mL、柠檬酸三乙酯浓度为 2.433 mg/mL、羟基辛酸浓度为 2.500 mg/mL) 的色谱图如图 1 所示, 积分结果如表 2 所示。

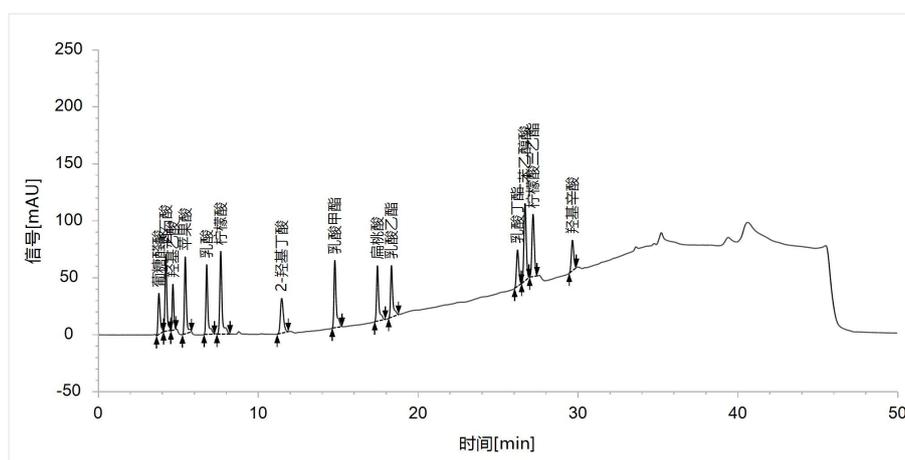


图 1 14 种原料混合标准溶液的色谱图

表 2 14 种原料混合标准溶液的色谱图积分结果

目标物	保留时间 (min)	峰面积 (mAU.s)	峰高 (mAU)	理论塔板数	分离度	对称/拖尾因子
葡糖醛酸	3.781	265.614	33.755	4805	-	1.40
酒石酸	4.215	489.407	66.449	7474	2.10	1.30
羟基乙酸	4.657	285.401	40.596	9885	2.31	1.30
苹果酸	5.433	516.157	66.559	11579	3.99	1.28
乳酸	6.777	431.240	59.141	20320	6.85	1.36
柠檬酸	7.653	582.083	70.289	20232	4.32	1.22
2-羟基丁酸	11.467	403.139	30.697	18243	13.75	1.49
乳酸甲酯	14.788	444.664	55.839	76366	12.00	1.44
扁桃酸	17.450	367.303	46.387	110886	12.57	1.45
乳酸乙酯	18.327	349.357	43.374	117679	4.14	1.50
乳酸丁酯	26.213	325.385	32.068	147148	32.39	1.43
二苯乙醇酸	26.680	683.347	68.038	161729	1.74	1.30
柠檬酸三乙酯	27.181	569.094	54.822	157296	1.86	1.17
羟基辛酸	29.651	278.944	26.904	181675	8.95	1.39

由表 2 中数据可知, 14 种原料的理论塔板数范围为 4805~181675, 分离度均 ≥ 1.74 , 均具有良好的峰形。

将 14 种原料混合标准溶液 (葡糖醛酸浓度为 1.975 mg/mL、酒石酸浓度为 0.990 mg/mL、羟基乙酸浓度为 1.990 mg/mL、苹果酸浓度为 1.994 mg/mL、乳酸浓度为 2.489 mg/mL、柠檬酸浓度为 2.552 mg/mL、2-羟基丁酸浓度为 2.507 mg/mL、乳酸甲酯浓度为 2.494 mg/mL、扁桃酸浓度为 0.050 mg/mL、乳酸乙酯浓度为 1.985 mg/mL、乳酸丁酯浓度为 2.500mg/mL、二苯乙醇酸浓度为 0.050 mg/mL、柠檬酸三乙酯浓度为 2.433 mg/mL、

羟基辛酸浓度为 2.500 mg/mL) 连续进样 7 针进行重复性测试, 叠加的色谱图如图 2 所示,

积分结果如表 3 所示。

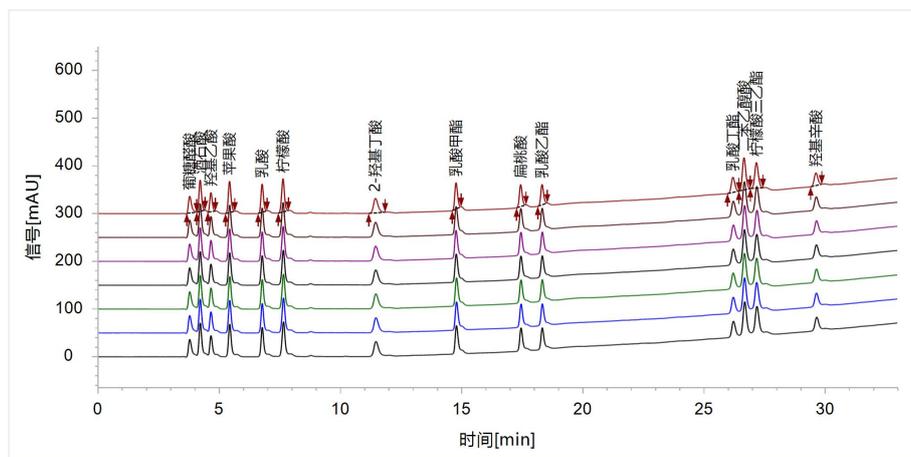


图 2 14 种原料混合标准溶液连续进样 7 针叠加的色谱图

表 3 14 种原料混合标准溶液连续进样 7 针重复性数据统计

目标物	项目	1	2	3	4	5	6	7	平均值	RSD%
葡萄糖醛酸	保留时间 (min)	3.781	3.781	3.781	3.781	3.781	3.781	3.781	3.781	0.00
	峰面积 (mAU.s)	265.614	265.072	264.722	264.198	264.007	263.988	263.514	264.445	0.28
酒石酸	保留时间 (min)	4.215	4.215	4.215	4.215	4.215	4.215	4.215	4.215	0.00
	峰面积 (mAU.s)	489.407	489.486	488.200	488.374	487.347	486.521	486.029	487.909	0.28
羟基乙酸	保留时间 (min)	4.657	4.657	4.657	4.657	4.657	4.657	4.657	4.657	0.00
	峰面积 (mAU.s)	285.401	285.572	284.885	284.952	284.778	284.220	283.553	284.766	0.24
苹果酸	保留时间 (min)	5.433	5.434	5.433	5.425	5.425	5.425	5.425	5.429	0.08
	峰面积 (mAU.s)	516.157	515.535	514.478	513.161	512.260	511.543	510.625	513.394	0.40
乳酸	保留时间 (min)	6.777	6.777	6.777	6.769	6.769	6.769	6.769	6.772	0.06
	峰面积 (mAU.s)	431.240	432.269	431.494	432.074	432.011	430.904	432.470	431.780	0.13
柠檬酸	保留时间 (min)	7.653	7.653	7.653	7.645	7.645	7.637	7.628	7.645	0.13

目标物	项目	1	2	3	4	5	6	7	平均值	RSD%
2-羟基丁酸	峰面积 (mAU.s)	582.083	580.582	579.209	578.042	576.914	576.405	573.479	578.102	0.49
	保留时间 (min)	11.467	11.467	11.459	11.459	11.450	11.450	11.442	11.456	0.08
乳酸甲酯	峰面积 (mAU.s)	403.139	401.544	401.264	400.184	398.868	398.896	399.103	400.428	0.41
	保留时间 (min)	14.788	14.788	14.788	14.780	14.772	14.772	14.772	14.780	0.05
扁桃酸	峰面积 (mAU.s)	444.664	442.609	440.210	444.345	445.651	442.640	442.912	443.290	0.40
	保留时间 (min)	17.450	17.459	17.450	17.450	17.450	17.442	17.434	17.448	0.05
乳酸乙酯	峰面积 (mAU.s)	367.303	367.883	369.707	368.162	370.592	369.993	367.921	368.794	0.35
	保留时间 (min)	18.327	18.327	18.327	18.327	18.327	18.327	18.318	18.326	0.02
乳酸丁酯	峰面积 (mAU.s)	349.358	347.980	347.652	348.124	347.269	346.940	347.418	347.820	0.23
	保留时间 (min)	26.213	26.204	26.204	26.204	26.213	26.213	26.196	26.207	0.03
二苯乙醇酸	峰面积 (mAU.s)	325.385	324.468	325.490	326.301	325.476	325.989	325.641	325.536	0.18
	保留时间 (min)	26.680	26.672	26.663	26.672	26.672	26.663	26.647	26.667	0.04
柠檬酸三乙酯	峰面积 (mAU.s)	683.347	683.677	684.697	682.191	681.014	680.775	679.182	682.126	0.28
	保留时间 (min)	27.181	27.172	27.172	27.173	27.181	27.181	27.164	27.175	0.02
羟基辛酸	峰面积 (mAU.s)	569.094	567.808	567.731	565.743	567.318	565.242	562.290	566.461	0.40
	保留时间 (min)	29.651	29.634	29.634	29.634	29.643	29.634	29.618	29.635	0.03
	峰面积 (mAU.s)	278.944	279.241	277.896	277.239	277.281	278.414	279.503	278.360	0.33

由表 2 中数据可知, 14 种原料混合标准溶液连续进样 7 针重复性测试中, 保留时间的 RSD 范围为 0.00 %~0.13 %, 峰面积的 RSD 范围为 0.13 %~0.49 %, 均具有良好的定性定量重复性。

6.2 仪器灵敏度测试

灵敏度测试的色谱图如图 3 所示, 计算结果如表 4 所示。

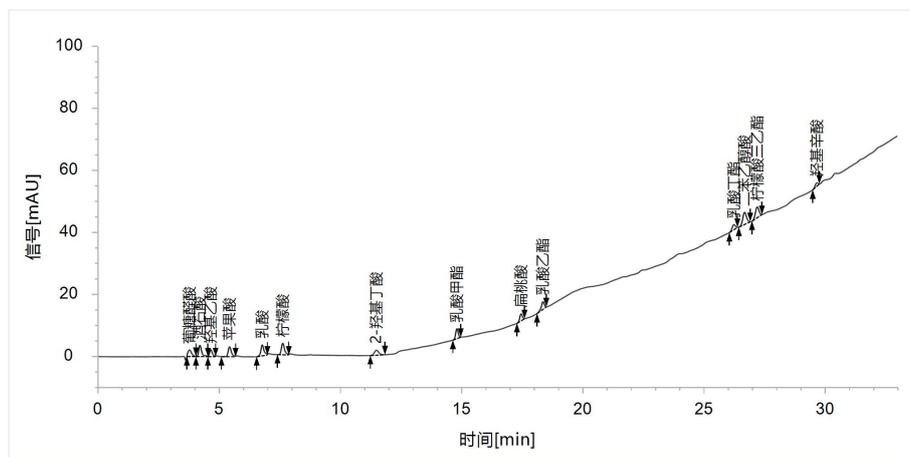


图 3 仪器灵敏度的色谱图

表 4 仪器灵敏度测试数据

目标物	浓度 (mg/mL)	峰高 (mAU)	噪声 (mAU)	S/N	LOD ($\mu\text{g/g}$)	LOQ ($\mu\text{g/g}$)
葡萄糖醛酸	0.099	2.159	0.026	83.0	16.508	55.025
酒石酸	0.050	3.686	0.026	141.8	4.883	16.278
羟基乙酸	0.100	2.264	0.026	87.1	15.901	53.004
苹果酸	0.100	3.268	0.026	125.7	11.016	36.720
乳酸	0.124	3.567	0.026	137.2	12.515	41.716
柠檬酸	0.126	3.755	0.026	144.4	12.080	40.266
2-羟基丁酸	0.125	1.617	0.026	62.2	27.829	92.764
乳酸甲酯	0.125	3.238	0.026	124.5	13.897	46.325
扁桃酸	0.0025	2.298	0.026	88.4	0.392	1.305
乳酸乙酯	0.099	2.528	0.026	97.2	14.098	46.994
乳酸丁酯	0.125	1.647	0.026	63.3	27.322	91.075
二苯乙醇酸	0.0025	3.98	0.026	153.1	0.226	0.754
柠檬酸三乙酯	0.122	3.527	0.026	135.7	12.453	41.508

目标物	浓度 (mg/mL)	峰高 (mAU)	噪声 (mAU)	S/N	LOD ($\mu\text{g/g}$)	LOQ ($\mu\text{g/g}$)
羟基辛酸	0.125	1.092	0.026	42.0	33.383	111.276

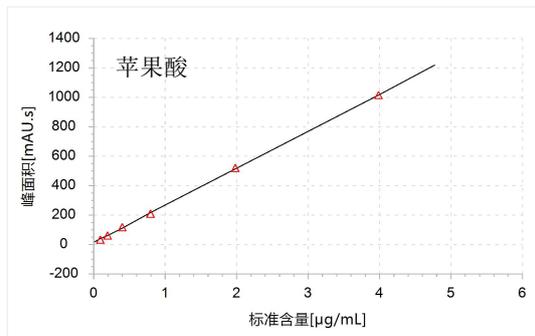
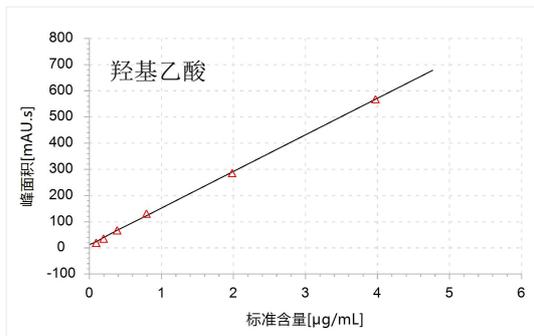
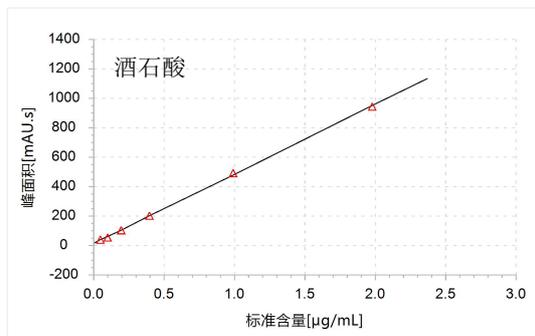
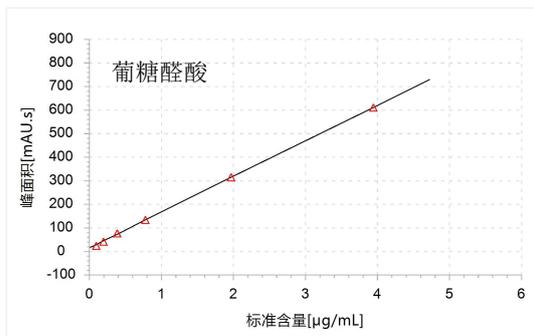
注: 检出限及定量限以取样量为 1.0 g, 定容体积为 10 mL 计算所得。

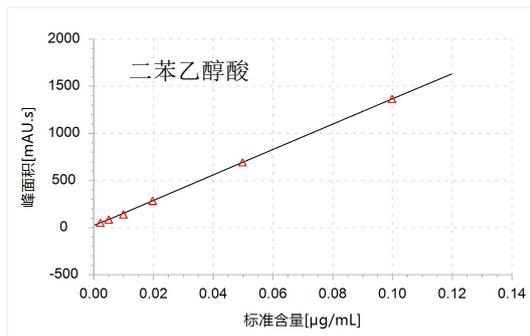
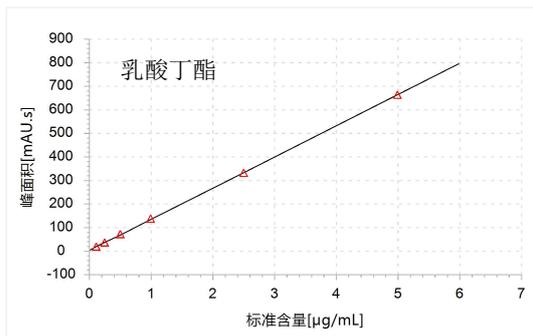
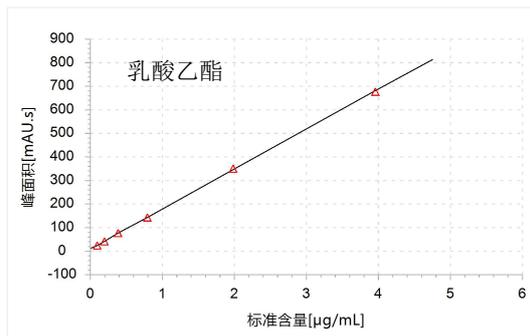
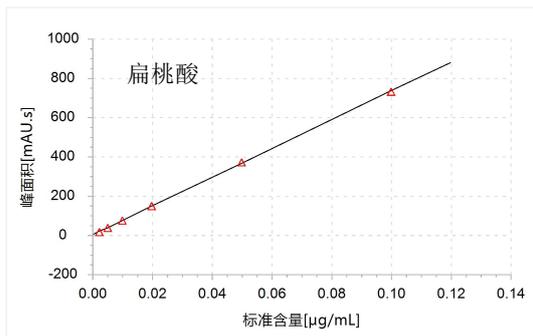
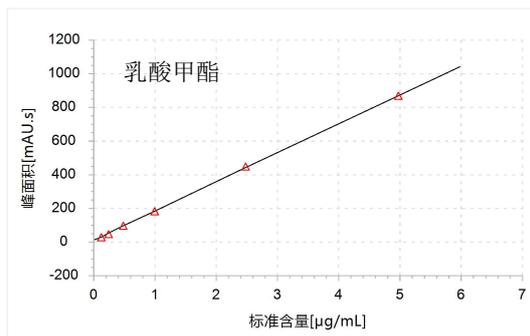
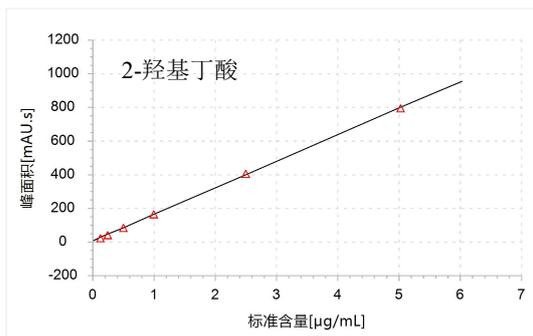
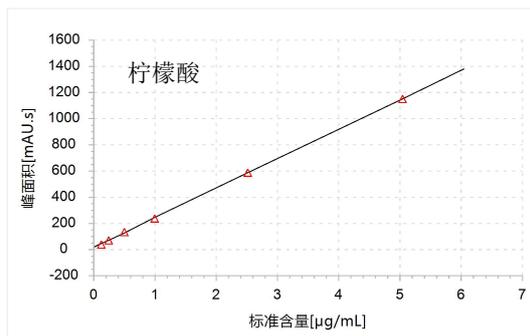
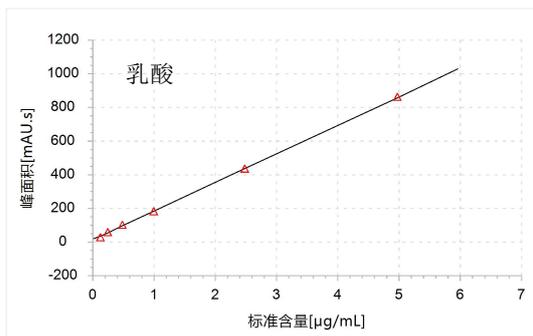
由表 4 中数据可知, 14 种原料的仪器检出限范围为 0.392 $\mu\text{g/g}$ ~33.383 $\mu\text{g/g}$, 仪器定量限范围为 0.754 $\mu\text{g/g}$ ~111.276 $\mu\text{g/g}$ 。

6.3 含量测定

6.3.1 校准曲线的绘制

按照上述色谱条件 (5.4) 进行采集, 将 14 种原料混合标准系列工作液 (5.1.6) 上机测定, 以浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制校准曲线, 线性方程及确定系数见图 4, 线性方程及确定系数见表 5, 叠加色谱图见图 5。14 种原料在测定浓度范围内, 曲线的确定系数 R^2 均在 0.999 以上, 线性关系均良好。





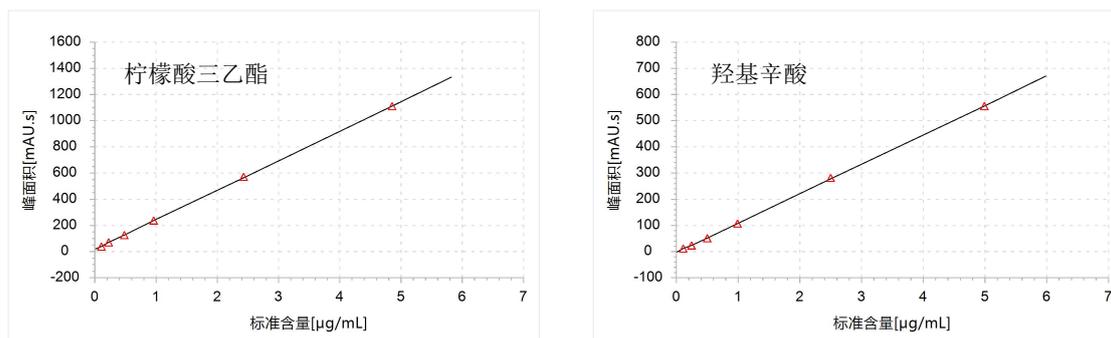


图 4 14 种原料的校准曲线

表 5 14 种原料的线性方程、相关系数 (R) 及确定系数 (R²) 汇总表

峰序号	峰名称	方程式	相关系数 (R)	确定系数 (R ²)
1	葡糖醛酸	$y=130.69082*x+13.10187$	0.9999	0.9999
2	酒石酸	$y=472.39494*x+10.45214$	0.9998	0.9996
3	羟基乙酸	$y=140.37252*x+8.05606$	0.9997	0.9995
4	苹果酸	$y=251.38990*x+10.76519$	0.9999	0.9998
5	乳酸	$y=169.86043*x+11.26290$	0.9999	0.9998
6	柠檬酸	$y=225.21485*x+11.89680$	0.9999	0.9999
7	2-羟基丁酸	$y=157.16026*x+3.96589$	0.9999	0.9999
8	乳酸甲酯	$y=173.12244*x+5.82824$	0.9999	0.9998
9	扁桃酸	$y=7313.36513*x+0.23188$	0.9999	0.9999
10	乳酸乙酯	$y=169.24078*x+6.87978$	0.9999	0.9998
11	乳酸丁酯	$y=131.66029*x+0.67507$	0.9999	0.9999
12	二苯乙醇酸	$y=13455.66767*x+9.82859$	0.9999	0.9999
13	柠檬酸三乙酯	$y=228.36407*x+10.15008$	0.9999	0.9999
14	羟基辛酸	$Y=38.10250*X-14.96682$	0.9997	0.9995

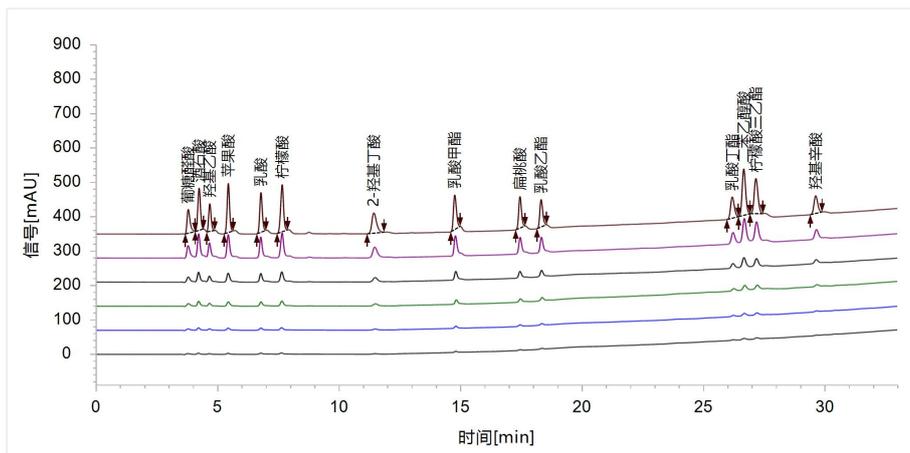


图 5 14 种原料混合系列标准工作液叠加色谱图

6.3.2 含量计算

按照步骤 5.2 对市售维生素 E 乳 (3.21) 进行处理。依据公式 (1) 计算市售维生素 E 乳中葡萄糖醛酸等 10 种 α -羟基酸的含量; 依据公式 (2) 计算市售维生素 E 乳中乳酸甲酯等 3 种乳酸酯类物质的含量; 依据公式 (3) 计算市售维生素 E 乳中柠檬酸三乙酯的含量。

$$\omega_1 = \frac{\rho \times V \times D}{m} \quad \text{---公式 (1)}$$

$$\omega_2 = \frac{\rho \times V \times D \times 90.08}{m \times M} \quad \text{---公式 (2)}$$

$$\omega_3 = \frac{\rho \times V \times D \times 192.12}{m \times M} \quad \text{---公式 (3)}$$

式中: ω_1 ----为试样中葡萄糖醛酸等 10 种 α -羟基酸原料的含量, 单位为毫克每克 (mg/g);

ω_2 ----为试样中乳酸甲酯等 3 种乳酸酯类原料的含量 (以乳酸计), 单位为毫克每克 (mg/g);

ω_3 ----为试样中柠檬酸三乙酯的含量 (以柠檬酸计), 单位为毫克每克 (mg/g);

ρ ----为通过校准曲线得到的试样测定液中待测原料的浓度, 单位为毫克每毫升 (mg/mL);

V ----为试样的定容体积, 单位为毫升 (mL);

D ----为稀释倍数 (不稀释则取 1);

m ---为试样的取样量, 单位为克 (g) ;

M ---为各待测原料的分子量, 单位为克每摩尔 (g/mol) ;

90.08---为乳酸的摩尔质量, 单位为克每摩尔 (g/mol) ;

192.12---为柠檬酸的摩尔质量, 单位为克每摩尔 (g/mol) ;

计算结果保留小数点后三位。

空白溶液、试样测定液 1、试样测定液 2 和试样加标测定液的色谱图如图 6~图 9 所示,

试样中各原料含量及加标回收率见表 6。

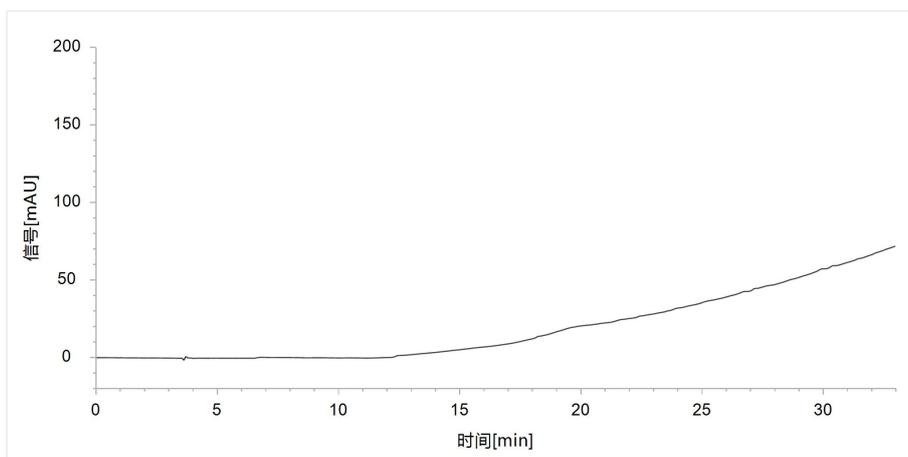


图 6 空白溶液的色谱图

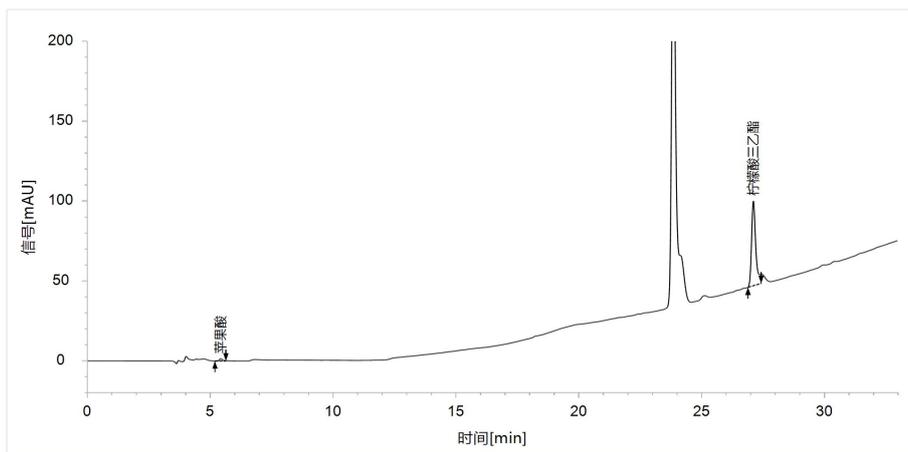


图 7 试样测定液 1 的色谱图

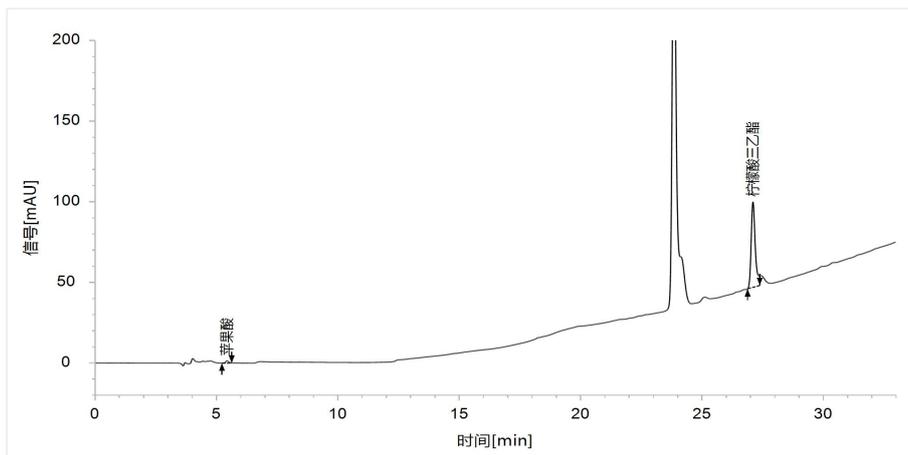


图 8 试样测定液 2 的色谱图

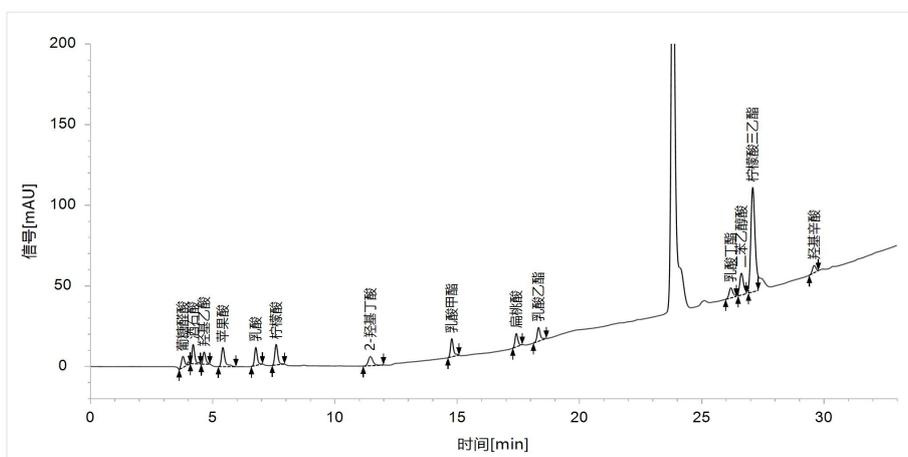


图 9 试样加标测定液的色谱图

表 6 试样中 14 种原料的含量及加标回收结果表

目标物	试样中各原料的含量(mg/g)	加标回收率(%)
葡萄糖醛酸	0.000	95.7
酒石酸	0.000	88.4
羟基乙酸	0.000	93.5
苹果酸	0.115	105.4
乳酸	0.000	88.6
柠檬酸	0.000	86.4
2-羟基丁酸	0.000	87.9
乳酸甲酯	0.000	102.8
扁桃酸	0.000	90.0

目标物	试样中各原料的含量(mg/g)	加标回收率(%)
乳酸乙酯	0.000	106.5
乳酸丁酯	0.000	102.0
二苯乙醇酸	0.000	100.0
柠檬酸三乙酯	20.147	102.5
羟基辛酸	0.000	87.8

由表 5 中数据可知, 试样中苹果酸的含量为 0.115 mg/g, 柠檬酸三乙酯的含量为 20.147 mg/g, 其余 12 种原料均未检出; 加标回收实验中, 加标回收率范围为 86.4 %~106.5 %。

七、标准解读

7.1 原料组分变化

本实验将原料组分由原来的 10 种（化妆品安全技术规范（2022））增加至 14 种。

7.2 流动相变更

本实验使用的流动相磷酸氢二铵的浓度为 0.05mol/L, 而化妆品安全技术规范（2022）中配制的磷酸氢二铵的浓度为 0.1mol/L。

7.3 流动相梯度变化

化妆品安全技术规范（2022）中流动相梯度条件如下表所示:

时间 (min)	流速 (mL/min)	A (%)	B (%)
0	0.7	0	100
7.0	0.7	0	100

时间 (min)	流速 (mL/min)	A (%)	B (%)
7.1	1.0	0	100
14.0	1.0	50	50
14.1	1.0	65	35
23	1.0	65	35
23.1	0.7	0	100
28.0	0.7	0	100

本实验中使用的梯度洗脱条件在时间上增加至 50min, 比例也有所调整。

八、结论

本实验以甲醇和磷酸氢二铵溶液为流动相, 采用反相色谱法, 使用梯度洗脱条件, 通过对 14 种原料的理论塔板数、分离度、重复性、灵敏度、线性的测试以及对维生素 E 乳试样中各原料的含量进行测定, 实验结果表明: 14 种原料的理论塔板数范围为 4805~181675, 分离度均 ≥ 1.74 , 均具有良好的峰形; 重复性测试中, 14 种原料混合标准溶液连续进样 7 针, 保留时间的 RSD 范围为 0.00 %~0.13 %, 峰面积的 RSD 范围为 0.13 %~0.49 %, 均具有良好的定性定量重复性; 灵敏度测试中, 14 种原料的仪器检出限范围为 0.392 $\mu\text{g/g}$ ~33.383 $\mu\text{g/g}$, 仪器定量限范围为 0.754 $\mu\text{g/g}$ ~111.276 $\mu\text{g/g}$; 14 种原料在测定浓度范围内均具有良好的线性关系, 确定系数 $R^2 > 0.999$; 维生素 E 乳试样测定中, 苹果酸的含量为 0.115 mg/g, 柠檬酸三乙酯的含量为 20.147 mg/g, 其余 12 种原料均未检出; 加标回收实验中, 加标回收率范围为 86.4 %~106.5 %。因此, 悟空 K2025 高效液相色谱仪可用于化妆品中葡糖醛酸等 14 种原料的含量测定。

附 1: 仪器配置清单

序号	单元
K2025 二元高压梯度系统	
A)	<u>Pump Unit 泵单元</u>
1	62 Mpa 二元高压输液泵 (内置溶剂托盘)
2	流动相瓶 (肖特瓶, 1 L)
3	脱气机
4	四通道溶剂选择阀
5	自动在线清洗系统
B)	<u>Sample Injector 进样器</u>
1	自动进样器
2	样品瓶 (2 mL, 含瓶盖)
3	脱气组件
4	100 μ L 定量环
C)	<u>Column Oven 柱温箱</u>
1	色谱柱恒温箱 (室温以下 10 $^{\circ}$ C至 85 $^{\circ}$ C)
2	色谱柱: Kromasil C ₁₈ (w), 4.6 \times 250 mm, 5 μ m
D)	<u>Detector 检测器</u>
1	二极管阵列检测器
E)	<u>Workstation 工作站</u>
1	Wookinglab 色谱工作站 00.03.58.05

附 2: 悟空 Wooking K2025 高效液相色谱仪 (可靠、精准、友好、合规)



报告人: 王禹苒

联系方式: 13120170855