

化妆品中 10 种 α -羟基酸的检测方法

Determination of 10 α -hydroxy acid in cosmetics

1 范围

本方法规定了高效液相色谱法测定化妆品中 α -羟基酸的含量。

本方法适用于水剂、膏霜乳液化妆品中 α -羟基酸含量的测定。

本方法所指的 α -羟基酸包括葡糖醛酸、酒石酸、羟基乙酸、苹果酸、乳酸、柠檬酸、2-羟基丁酸、扁桃酸、二苯乙醇酸和羟基辛酸。

2 方法提要

以水提取化妆品中葡糖醛酸等10种 α -羟基酸组分，用高效液相色谱仪进行分析，以保留时间和紫外光谱图定性，峰面积定量。

本方法中10种 α -羟基酸的检出限、定量下限及取样量为1g时检出浓度和最低定量浓度见表1。

表1 10种 α -羟基酸的检出限、定量下限和检出浓度、最低定量浓度

α -羟基酸 组分	检出限 (μg)	定量下限 (μg)	检出浓度 ($\mu\text{g/g}$)	最低定量浓度 ($\mu\text{g/g}$)
葡糖醛酸	0.08	0.24	150	450
酒石酸	0.03	0.09	60	180
羟基乙酸	0.02	0.06	40	120
苹果酸	0.02	0.06	40	120
乳酸	0.05	0.15	100	300
柠檬酸	0.02	0.06	40	120
2-羟基丁酸	0.04	0.12	80	240
扁桃酸	0.001	0.003	2	6
二苯乙醇酸	0.001	0.003	1	3
羟基辛酸	0.02	0.06	40	120

3 试剂和材料

除另有规定外，本方法所用试剂均为分析纯或以上规格，水为GB/T 6682规定的一级水。

3.1 磷酸氢二铵，分析纯。

3.2 磷酸，优级纯。

3.3 甲醇，色谱纯。

3.4 标准物质：10种 α -羟基酸标准物质的分子式、相对分子质量、CAS登录号列于表2。

3.5 混合标准储备溶液：分别精密称取（精确到0.0001g）葡糖醛酸400mg、酒石酸200mg、羟基乙酸400mg、苹果酸400mg、乳酸500mg、柠檬酸400mg、2-羟基丁酸500mg、

扁桃酸 10mg、二苯乙醇酸 10mg 和羟基辛酸 400mg 于同一 50mL 容量瓶中，加水 40mL，60℃ 超声 15min 使溶解，用水定容，配制成混合标准储备溶液。

表2 10种 α -羟基酸中文名称、英文名称、CAS登录号、
分子式、相对分子质量

序号	中文名称	英文名称	CAS登录号	分子式	相对分子质量
1	葡糖醛酸	Glucuronic acid	6556-12-3	C ₆ H ₁₀ O ₇	194.14
2	酒石酸	Tartaric acid	87-69-4	C ₄ H ₆ O ₆	150.09
3	羟基乙酸	Glycolic acid	79-14-1	C ₂ H ₄ O ₃	76.05
4	苹果酸	Malic acid	97-67-6	C ₄ H ₆ O ₅	134.09
5	乳酸	Lactic acid	79-33-4	C ₃ H ₆ O ₃	90.08
6	柠檬酸	Citric acid	77-92-9	C ₆ H ₈ O ₇	192.12
7	2-羟基丁酸钠	DL-2-Hydroxybutyric Acid Sodium	5094-24-6	C ₄ H ₇ N _a O ₃	126.09
8	扁桃酸	Mandelic acid	90-64-2	C ₈ H ₈ O ₃	152.15
9	二苯乙醇酸	Benzilic acid	76-93-7	C ₁₄ H ₁₂ O ₃	228.24
10	羟基辛酸	Hydroxycaprylic acid	617-73-2	C ₈ H ₁₆ O ₃	160.21

4 仪器和设备

- 4.1 高效液相色谱仪，二极管阵列检测器。
- 4.2 天平。
- 4.3 超声波清洗器。
- 4.4 水浴锅。
- 4.5 高速离心机。
- 4.6 pH 计。
- 4.7 涡旋振荡器。

5 分析步骤

5.1 混合标准系列溶液的制备

分别精密移取不同体积的混合标准储备溶液（3.5）于10mL容量瓶中，用水定容，配制成浓度如表3所示的混合标准系列溶液。

表3 10种 α -羟基酸的标准系列浓度

α -羟基酸 组分	葡糖 醛酸	酒石 酸	羟基 乙酸	苹果 酸	乳酸	柠檬 酸	2-羟 基丁 酸	扁桃 酸	二苯 乙醇 酸	羟基 辛酸
混合标准系 列溶液， mg/L	100	50	100	100	125	100	125	2.5	2.5	100
	200	100	200	200	250	200	250	5	5	200
	400	200	400	400	500	400	500	10	10	400
	800	400	800	800	1000	800	1000	20	20	800
	2000	1000	2000	2000	2500	2000	2500	50	50	2000
	4000	2000	4000	4000	5000	4000	5000	100	100	4000

5.2 样品处理

称取样品1g（精确到0.0001g）于10mL具塞比色管中，置于90℃水浴中30min以去除挥发性有机溶剂，加水至10mL刻度，充分涡旋混合30s，60℃超声提取30min，取适量样品在10000rpm下高速离心15min，取上清液过0.45 μ m的滤膜后作为待测溶液。如样品为油包水等难于在水中分散剂型，可先加入1ml异丙醇涡旋混合30s使分散均匀，再加水至10mL刻度。

5.3 参考色谱条件

色谱柱：C₁₈柱（250mm×4.6mm×5 μ m），或等效色谱柱；当样品基质对待测 α -羟基酸有干扰时，可采用C₁₈柱

(250mm×4.6mm×3μm)按相同流动相梯度洗脱程序进行分离；

流动相：A：0.1mol/L的磷酸氢二铵溶液，用磷酸调pH值为3.0；B：甲醇；

检测波长：214nm；

柱温：室温；

进样量：5μL。

流动相梯度洗脱程序：

时间/min	流速/mL/min	V（流动相A）/%	V（流动相B）/%
0	0.7	100	0
7	0.7	100	0
7.1	1.0	100	0
14	1.0	50	50
14.1	1.0	35	65
23	1.0	35	65
23.1	0.7	100	0
28	0.7	100	0

5.4 测定

在“5.3”色谱条件下，取α-羟基酸的混合标准系列溶液（5.1）分别进样，进行色谱分析，以标准系列溶液浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制标准曲线。

取“5.2”项下的待测溶液进样，根据保留时间和紫外光谱图定性，测得峰面积，根据标准曲线得到待测溶液中α-羟基酸的浓度。按“6”计算样品中α-羟基酸的含量。

$$\omega = \frac{\rho \times V}{m}$$

6 分析结果的表述

式中： ω ——样品中 α -羟基酸组分的质量分数， $\mu\text{g/g}$ ；

ρ ——从标准曲线得到待测组分的质量浓度， $\mu\text{g/mL}$ ；

V ——样品定容体积， mL ；

m ——样品取样量， g 。

7 图谱

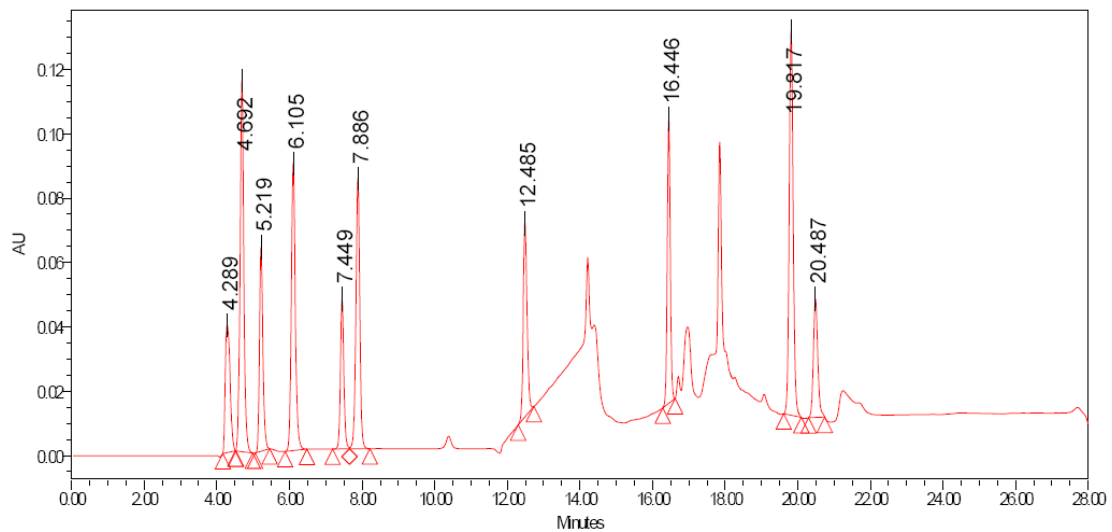


图1 混合标准溶液色谱图 (250mm×4.6mm×5 μm)

1: 葡萄糖醛酸 (4.289min) ; 2: 酒石酸 (4.692min) ; 3: 羟基乙酸 (5.219min) ; 4: 苹果酸 (6.105min) ; 5: 乳酸 (7.449min) ; 6: 柠檬酸 (7.886min) ; 7: 2-羟基丁酸 (12.485min) ; 8: 扁桃酸 (16.446min) ; 9: 二苯乙醇酸 (19.817min) 10: 羟基辛酸 (20.487min) 。

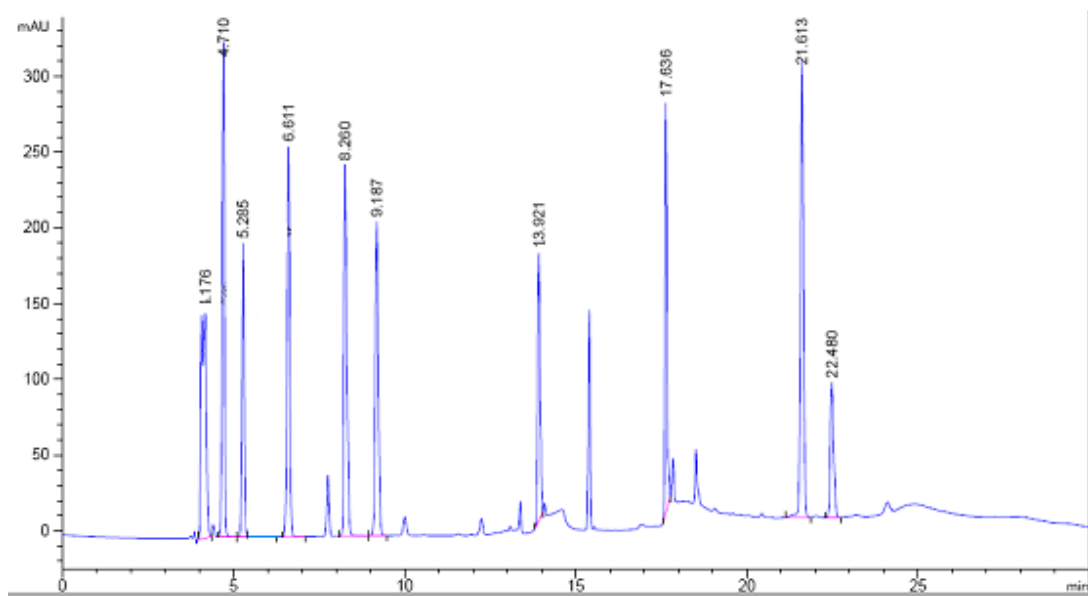


图2 混合标准溶液色谱图 (250mm×4.6mm×3 μ m)

1: 葡萄糖醛酸 (4.176min) ; 2: 酒石酸 (4.710min) ; 3: 羟基乙酸 (5.285min) ; 4: 苹果酸 (6.611min) ; 5: 乳酸 (8.260min) ; 6: 柠檬酸 (9.187min) ; 7: 2-羟基丁酸 (13.921min) ; 8: 扁桃酸 (17.636min) ; 9: 二苯乙醇酸 (21.613min) 10: 羟基辛酸 (22.480min) 。

附录A

10种 α -羟基酸结果的确证

Annex A

Confirmation of 10 α -hydroxy acid in cosmetics

因 α -羟基酸紫外吸收光谱图不特征，必要时可采用液相色谱一质谱法确证结果，以检查化妆品中是否有其他组分干扰 α -羟基酸的测定。葡糖酸会干扰酒石酸的测定，乳糖酸会干扰葡糖醛酸的测定。在相同的液相色谱一质谱实验条件下，如果样品中色谱峰的保留时间和紫外光谱图与标准溶液中对应成分一致，所选择的监测离子对的相对丰度比与相当浓度标准溶液的离子相对丰度比的差不超过表1规定范围，则可以判定样品中存在对应的测定成分。

表 1 结果确证时相对离子丰度比的最大允许偏差

相对离子丰度 (k)	k>50%	50% \geq k>20%	20% \geq k>10%	k \leq 10%
允许的最大偏差	$\pm 20\%$	$\pm 25\%$	$\pm 30\%$	$\pm 50\%$

A.1 仪器参考条件

A.1.1 色谱条件

色谱柱： C₁₈柱（150mm \times 2.1mm \times 3 μ m），或等效色谱柱；

流动相：A：乙腈（含0.1%甲酸）；B：0.1%甲酸水溶液；

流动相梯度洗脱程序：

时间/min	V（流动相A）/%	V（流动相B）/%
0	0	100
4	0	100
15	95	5
17	95	5
17.1	0	100
22	0	100

流速：0.3mL/min；

柱温：40℃；

进样量：5μL；

A.1.2 质谱条件

离子源：电喷雾离子源（ESI源）；

监测模式：负离子多反应监测模式；监测离子对相关电压参数设定见表2；

雾化气流速：3L/min；

干燥气流速：15L/min；

脱溶剂管温度：300℃；

离子源加热温度：500℃；

碰撞气：Ar，230kPa；

离子源电压（IS）电压：4000V。

表2 10种组分的监测离子对相关电压参数设定表

序号	组分名称	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	Q1	CE(V)	Q3
1	葡糖醛酸	193.20	113.10	19	14	21
			131.10	19	11	22
2	酒石酸	149.10	87.10	15	14	30
			73.00	15	18	26
3	羟基乙酸	75.20	45.10	20	16	13
			47.10	20	15	13
4	苹果酸	133.20	115.00	12	16	20
			71.20	12	17	25
5	乳酸	89.20	43.10	17	13	14
			45.10	17	15	15
6	柠檬酸	191.10	111.10	18	12	19
			87.10	12	11	12
7	2-羟基丁酸	103.20	57.10	17	13	19
			45.10	18	16	16
8	扁桃酸	151.20	75.10	16	9	26
9	二苯乙醇酸	227.10	183.30	14	9	10
10	羟基辛酸	159.20	113.20	16	16	19
			45.00	16	17	14

A.2 图谱

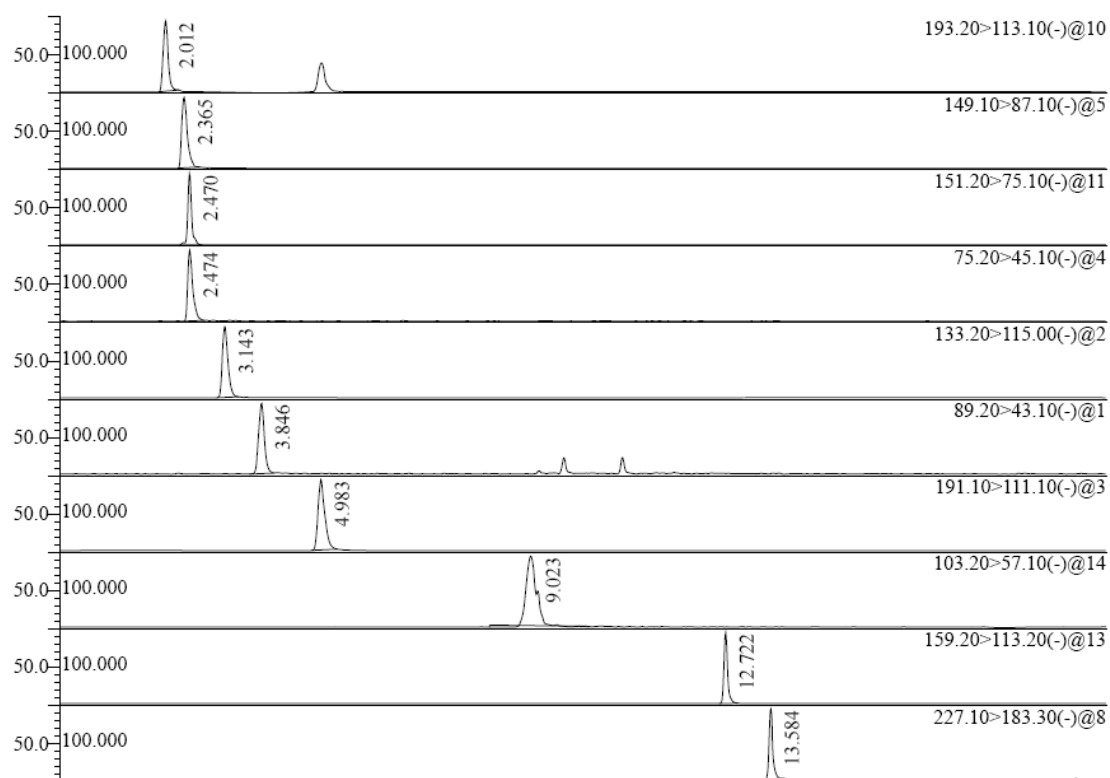


图1 混合标准溶液LC-MS色谱图

1. 葡萄糖醛酸 (2.012min) ;
2. 酒石酸 (2.365min) ;
3. 扁桃酸 (2.470min) ;
4. 羟基乙酸 (2.474min) ;
5. 苹果酸 (3.143min) ;
6. 乳酸 (3.846min) ;
7. 柠檬酸 (4.983min) ;
8. 2-羟基丁酸 (9.023min) ;
9. 羟基辛酸 (12.722min) ;
10. 二苯乙醇酸 (13.584min) 。