

HPLC 同时测定化妆品中 22 种香豆素类化合物及质谱确证

王红梅, 张燕惠, 李玲玲(厦门市食品药品质量检验研究院, 福建 厦门 361012)

摘要: 目的 建立同时测定化妆品中 22 种香豆素类化合物的 HPLC 及液相色谱-串联质谱验证方法。方法 采用 Agilent Eclipse XDB-Phenyl 色谱柱(150 mm×4.6 mm, 3.5 μm), 流动相为乙腈-0.1%磷酸, 梯度洗脱, 流速为 1.0 mL·min⁻¹, 柱温为 35 °C, 检测波长分别为 227, 310 nm。以 HPLC 结果进行定性筛查, 并采用标准曲线法定量, 以液相色谱-串联质谱法的结果进行确证。结果 22 种香豆素类化合物的线性范围为 0.1~10 mg·L⁻¹, 相关系数均>0.999 3, 方法检出浓度为 0.1~1.5 mg·kg⁻¹, 在低、中、高 3 种加标水平下, 平均回收率为 91.4%~114.8%, RSD 为 0.1%~4.8%。结论 该方法操作简便、准确, 适用于膏乳、水剂、粉类及精油类化妆品中 22 种香豆素类化合物的检测。

关键词: 化妆品; 高效液相色谱法; 液相色谱-串联质谱法; 香豆素类化合物

中图分类号: R917 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2023)01-0107-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2023.01.014

引用本文: 王红梅, 张燕惠, 李玲玲. HPLC 同时测定化妆品中 22 种香豆素类化合物及质谱确证[J]. 中国现代应用药学, 2023, 40(1): 107-111.

Simultaneous Determination of 22 Coumarins in Cosmetics by HPLC and Verification by Mass Spectrometry

WANG Hongmei, ZHANG Yanhui, LI Linlin(Xiamen Institute for Food and Drug Control, Xiamen 361012, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method for the simultaneous determination of 22 coumarins in cosmetics by HPLC and verification by LC-MS/MS. **METHODS** Agilent Eclipse XDB-Phenyl chromatographic column(150 mm×4.6 mm, 3.5 μm) was used for gradient elution at a flow rate of 1.0 mL·min⁻¹ with acetonitrile-0.1% phosphoric acid as the mobile phases. The column temperature was set at 35 °C. The wavelengths of detection were 227, 310 nm. The results of HPLC were used for qualitative screening, the standard curve method was used for quantification, and the results of LC-MS/MS were used for verification. **RESULTS** The linear ranges of the 22 coumarins were 0.1–10 mg·L⁻¹, and the correlation coefficients were >0.999 3. The detection limits were 0.1–1.5 mg·kg⁻¹. The average recoveries were 91.4%–114.8% with RSDs of 0.1%–4.8% at low, medium and high spiked levels. **CONCLUSION** The method is simple, accurate and suitable for the detection of 22 coumarins in creams, lotions, powdery sample and essential oil cosmetics.

KEYWORDS: cosmetics; HPLC; LC-MS/MS; coumarins

香豆素类化合物大多具有预防和治疗疾病的作用, 也可作为香精香料用于化妆品的制备, 但是如果微量的致敏香豆素类成分渗入到化妆品中, 人体长期接触必将产生严重的影响。鉴于其对人体健康存在潜在危害, 中国《化妆品安全技术规范》2015 年版将多种香豆素类化合物列为禁用组分, 在防晒和晒黑产品中, 呋喃香豆素的含量应<1 mg·kg⁻¹, 补骨脂和白芷均含有大量的呋喃香豆素类化合物结构^[1-2], 也被化妆品安全技术规范 2015 年版列为禁用植物组分。因此, 对化妆品中香豆素类化合物及天然呋喃香豆素类化合物进行检测是十分必要的。

目前化妆品中香豆素类化合物的检测主要有采用 HPLC、HPLC-MS^[3]、UPLC^[4]、GC 和 GC-MS

等, 但同时采用 HPLC 定量和 HPLC-MS 定性的检测方法很少有文献报道。化妆品的成分复杂、基质种类繁多, 采用 HPLC 定量可以避免基质可能产生的抑制, 确保定量的准确性, 采用 HPLC-MS 定性时, 可以同时提供紫外光谱图, 提高了定性的可信度。因此, 采用 HPLC 及 LC-MS 确证方法同时测定化妆品中多种香豆素类化合物的方法开发, 对化妆品安全监管具有重大意义, 在提高检测准确度和加大筛查力度的同时降低了检测成本。本研究建立了一种同时测定化妆品中 22 种香豆素类化合物的 HPLC 及 LC-MS 确证方法, 该方法操作简便、快速、灵敏度高且重现性好, 适用于化妆品中香豆素类化合物的定量与定性分析。

作者简介: 王红梅, 女, 主任药师 E-mail: xmwanghm@126.com

1 仪器与试剂

Waters e2695 高效液相色谱仪、2998PDA 检测器(美国 Waters 公司); QTRAP4500 液质联用仪(美国 ABSCIEX); Milli-Q 超纯水处理系统(Millipore); 3K15 冷冻离心机(Sigma); IKA MS3 basic 型涡旋混合器(IKA); 十万分之一 XS105DU 型电子天平(Mettler 公司)。

22 种香豆素类化合物对照品信息见表 1; 防晒乳、香水、粉饼和精油等样品信息见表 2; 甲醇、乙腈(色谱纯, Merck 公司), 磷酸为优级纯, 甲酸为优级纯, 水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件及质谱条件

2.1.1 色谱条件 采用 ZORBAX Eclipse XDB-Phenyl 色谱柱(150 mm×4.6 mm, 3.5 μm), 柱温

表 1 22 种香豆素类化合物对照品信息

Tab. 1 Twenty-two reference substance information of coumarin compounds

| 编号 | 化合物 | 来源 | 批号 | 纯度/% |
|----|----------------------|-------------------------|---------------|-------|
| 1 | 8-羟基补骨脂素 | 安谱公司 | Q4140010 | 98.4 |
| 2 | 水合氧化前胡素 | 诗丹德公司 | 9028 | 99.5 |
| 3 | 白当归素 | 诗丹德公司 | 8435 | 99.9 |
| 4 | 7-甲氧基香豆素 | 安谱公司 | V8950010 | 98.7 |
| 5 | 二氢香豆素 | 安谱公司 | Y1240020 | 99.8 |
| 6 | 7-甲基香豆素 | AccuStandard | 26713 | 100.0 |
| 7 | 6-甲基香豆素 | 中国食品药品 检定研究院 | 520003-201301 | 100.0 |
| 8 | 补骨脂素 | 中国食品药品 检定研究院 | 110739-201416 | 99.9 |
| 9 | 异补骨脂素 | 中国食品药品 检定研究院 | 110738-201313 | 100.0 |
| 10 | 六氢香豆素 | TRC 公司 | 5-KHI-39-2 | 96.0 |
| 11 | 8-甲氧基补骨脂素 | 安谱公司 | N4320010 | 100.0 |
| 12 | 5-甲氧基补骨脂素 | 中国食品药品 检定研究院 | 520036-201401 | 99.2 |
| 13 | 7-乙氧基-4-甲基 香豆素 | CATO 公司 | 0525-RC-0017 | 99.2 |
| 14 | 氧化前胡素 | 诗丹德公司 | 9482 | 99.5 |
| 15 | 新补骨脂异黄酮 | 中国食品药品 检定研究院 | 520052-201401 | 99.6 |
| 16 | 三甲沙林 | 中国食品药品 检定研究院 | 520034-201401 | 99.2 |
| 17 | 补骨脂二氢黄酮 | 中国食品药品 检定研究院 | 520053-201401 | 99.4 |
| 18 | 醋硝香豆素 | Toronto 公司 | 2-QL-97-1 | 99.95 |
| 19 | 欧前胡素 | 中国食品药品 检定研究院 | 110826-201214 | 99.5 |
| 20 | 4,6-二甲基-8-特 丁基香豆素 | CATO 公司 | 0625-RC-0047 | 94.8 |
| 21 | 异欧前胡素 | 中国食品药品 检定研究院 | 110827-201812 | 99.6 |
| 22 | 环香豆素 | Dr.Ehrenstorfer GmbH | 148124 | 99.0 |

表 2 12 批样品的名称、生产厂家、批号及有效期

Tab. 2 Name, manufacturer, batch number and expiration date of 12 batches of the samples

| 序号 | 类别 | 名称 | 产地 | 批号 | 有效期 |
|----|-----|----------|-----|------------|------------|
| 1 | 膏乳类 | 健肤沐浴露 | 上海 | AICZS | 2024-03-08 |
| 2 | 膏乳类 | 日常呵护防晒霜 | 北京 | 2TK003B | 2023-11-21 |
| 3 | 膏乳类 | 温和防晒霜 | 上海 | 70651CCX | 2023-12-23 |
| 4 | 油类 | 植物净颜亮肤精油 | 广东 | 2019.01.15 | 3 年 |
| 5 | 油类 | 指甲油 | 浙江 | IR2049INT | 2023-12-05 |
| 6 | 油类 | 婴儿抚触橄榄油 | 福建 | FXL290621A | 2024-06-28 |
| 7 | 水剂类 | 热情香水 | 土耳其 | DL06 | 2025-01-12 |
| 8 | 水剂类 | 人体香水 | 福建 | 2018.11.23 | 3 年 |
| 9 | 水剂类 | 美白爽肤水 | 上海 | 01318229A | 2023-03-27 |
| 10 | 粉类 | 轻柔无痕蜜粉 | 福建 | 9295D | 2021-10-21 |
| 11 | 粉类 | 光丝柔密粉 00 | 日本 | SA511B | 2026-01-22 |
| 12 | 粉类 | 腮红粉色 01 | 浙江 | IR2049INT | 2023-12-05 |

35 °C, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 进样量 20 μL, 以乙腈(A)-0.1% 磷酸溶液(B)为流动相, 梯度洗脱(0~16 min, 25%A; 16~25 min, 25%→60%A; 25~35 min, 60%A; 35~38 min, 60%→90%A; 38~39 min, 90%→25%A)。检测波长 227, 310 nm。按上述色谱条件进行测定, 结果显示, 各组分分离效果良好, 待测组分分离度均≥1.3, 对照品图谱见图 1。

2.1.2 质谱条件 ZORBAX Eclipse XDB-Phenyl 色谱柱(150 mm×4.6 mm, 3.5 μm); 流动相为 0.1% 甲酸(A)-乙腈(含 0.1%甲酸)(B); 梯度洗脱程序: 0~20 min, 90%→10%A, 20~21 min, 10%→90%A; 流速: 0.5 mL·min⁻¹; 柱温: 40 °C; 进样量 5 μL; 离子源: 电喷雾离子源(ESI 源); 监测模式: 正离子监测模式; 离子源电压(IS): 5 500 V; 离子源加热温度: 500 °C; 喷雾气: 氮气, 40 psi; 气帘气: 氮气, 20 psi; 辅助加热气: 氮气, 40 psi; 碰撞气: 氮气, Medium; 入口电压: 10 V。其他质谱分析参数见表 3。

2.2 溶液制备

2.2.1 对照品储备液的制备 精密称取 22 种对照品各 10 mg, 分别置于 50 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 制得质量浓度约为 0.2 g·L⁻¹ 的对照品储备液。

2.2.2 供试品溶液的制备 精密称取样品 1.0 g 于 10 mL 具塞比色管中, 加甲醇适量, 涡旋振荡使试样与提取溶剂充分混匀, 超声提取 20 min, 冷却至室温, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 以 4 800 × g 离心

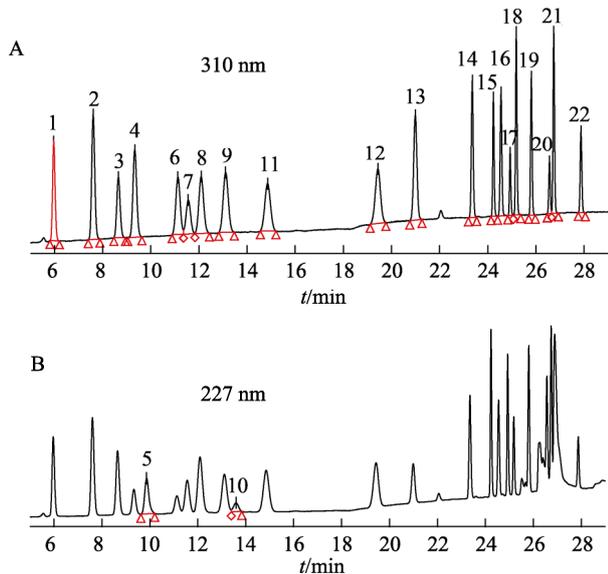


图 1 22 种香豆素化合物混合溶液在波长 310 nm(A)和 227 nm(B)下的 HPLC 图

1-8-羟补骨脂素; 2-水合氧化前胡素; 3-白当归素; 4-7-甲氧基香豆素; 5-二氢香豆素; 6-7-甲基香豆素; 7-6-甲基香豆素; 8-补骨脂素; 9-异补骨脂素; 10-六氢香豆素; 11-8-甲氧基补骨脂素; 12-5-甲氧基补骨脂素; 13-7-乙氧基-4-甲基香豆素; 14-氧化前胡素; 15-新补骨脂异黄酮; 16-三甲沙林; 17-补骨脂二氢黄酮; 18-醋硝香豆素; 19-欧前胡素; 20-4,6-二甲基-8-特丁基香豆素; 21-异欧前胡素; 22-环香豆素。

Fig. 1 HPLC chromatogram of a mixture of 22 coumarins at 310 nm(A) and 227 nm(B)

1-8-hydroxypsoralen; 2-oxypeucedaninhydrate; 3-byakangelicin; 4-7-methoxycoumarin; 5-dihydrocoumarin; 6-7-methylcoumarin; 7-6-methylcoumarin; 8-psoralen; 9-isopsoralen; 10-hexahydrocoumarin; 11-8-methoxypsoralen; 12-5-methoxypsoralen; 13-7-ethoxy-4- methylcoumarin; 14-oxypeucedanin; 15-neobavaisoflavone; 16-trioxsalen; 17-bavachin; 18-acenocoumarol; 19-imperatorin; 20-4,6-dimethyl-8-tert-butylcoumarin; 21-isoimperatorin; 22-pyranocoumarin.

10 min, 上清液经 0.45 μm 微孔有机滤膜滤过, 滤液作为待测溶液。

2.2.3 空白基质的制备 取经测定不含上述 22 种香豆素类化合物的水剂、膏乳剂、精油及粉类样品, 按质量等比例进行混合, 混匀后作为阴性空白基质^[6]。

2.3 方法学考察

2.3.1 方法的线性关系及方法检出浓度 分别精密量取“2.2.1”项下的对照品储备液 1.0 mL, 置于 20 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得混合对照品储备液。将混合对照品储备液用甲醇逐级稀释, 配制成质量浓度分别为 0.1, 0.2, 0.3, 1.0, 2.0, 3.0, 5.0, 10.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 系列混合对照品溶液。各精密吸取 20 μL , 按“2.1”项下色谱条件进样, 以峰面积 Y 为纵坐标, 质量浓度 $X(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$ 为横坐标进行回归, 得到线性回归方程和相关系数, 以 3 倍信噪比为检出限。线性方程、相关系

表 3 22 种香豆素类化合物的质谱分析参数

Tab. 3 LC-MS/MS parameters of 22 coumarins

| 名称 | 母离子(m/z) | 子离子(m/z) | 去簇电压/V | 碰撞能/V |
|----|--------------|---------------|-----------------|--------|
| 1 | 203.2 | 175.0, *147.0 | 110, 100 | 41, 32 |
| 2 | 305.1 | *203.1, 147.1 | 115, 115 | 30, 54 |
| 3 | 335.1 | 317.0, *233.0 | 110, 110 | 12, 20 |
| 4 | 177.0 | *133.2, 121.1 | 75, 80 | 25, 30 |
| 5 | 149.0 | *107.1, 65.0 | 72, 110 | 23, 34 |
| 6 | 161.0 | *115.1, 105.1 | 80, 82 | 27, 30 |
| 7 | 161.0 | *115.1, 105.1 | 80, 82 | 27, 30 |
| 8 | 186.9 | *131.2, 115.0 | 90, 90 | 37, 30 |
| 9 | 186.9 | *131.2, 77.1 | 90, 100 | 35, 54 |
| 10 | 153.2 | *125.1, 81.0 | 80, 75 | 15, 31 |
| 11 | 216.9 | 202.1, *174.0 | 107, 110 | 29, 39 |
| 12 | 217.1 | *202.1, 174.0 | 107, 10 130, 39 | 30, 39 |
| 13 | 204.9 | *177.0, 105.0 | 90, 90 | 27, 38 |
| 14 | 287.1 | *203.1, 147.1 | 103, 100 | 24, 47 |
| 15 | 323.1 | *266.9, 255.0 | 100, 95 | 30, 30 |
| 16 | 228.9 | *142.0, 173.0 | 130, 130 | 35, 31 |
| 17 | 325.2 | *149.2, 269.0 | 105, 125 | 32, 24 |
| 18 | 354.1 | 162.9, *296.1 | 90, 90 | 27, 28 |
| 19 | 271.1 | *203.0, 147.1 | 105, 102 | 19, 46 |
| 20 | 231.0 | *215.1, 201.1 | 110, 110 | 42, 42 |
| 21 | 271.1 | *203.0, 147.1 | 98, 98 | 19, 43 |
| 22 | 323.2 | *251.2, 173.0 | 85, 88 | 44, 43 |

注: *为定量离子。

Note: * meant quantitative ions.

数、检出浓度见表 4。结果表明, 各化合物的相关系数均 $>0.999\ 3$, 线性关系良好。

2.3.2 加样回收率 在阴性空白基质中分别添加不同体积的混合对照品储备液, 制备样品中对应含量分别为 2, 25, 80 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的低、中、高 3 个水平的加样回收溶液, 每个水平平行制备 6 份, 22 种香豆素类化合物的平均回收率结果见表 5。

2.3.3 重复性试验 在阴性空白基质中分别添加混合对照品储备液, 制备样品中对应含量 25 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的中水平加样回收溶液, 平行制备 6 份, 22 种香豆素类化合物的 RSD 均 $<3\%$, 结果表明方法的重复性良好。

2.3.4 稳定性试验 取同一份混合对照品储备溶液, 在“2.1”项下的色谱条件, 于 0, 4, 8, 24 h 进样 20 μL , 记录峰面积, 各组分的 RSD 均 $<3\%$, 结果表明, 22 种香豆素混合对照品溶液在 24 h 内能保持稳定。

2.3.5 质谱确证试验 在阴性空白基质中添加适量的混合对照品储备液, 制备样品中对应含量为

表 4 22 种香豆素类化合物的线性范围、回归方程、相关系数和检出浓度

Tab. 4 Linear ranges, regression equations, coefficients of correlation and concentration of detection of 22 coumarins

| 编号 | 线性范围/ mg·mL ⁻¹ | 回归方程 | 相关系数 | 方法检出浓度/ mg·kg ⁻¹ |
|----|------------------------------|-----------------|---------|--------------------------------|
| 1 | 0.1~10 | Y=30 674X+1 463 | 0.999 5 | 0.3 |
| 2 | 0.2~10 | Y=27 865X+2 407 | 0.999 5 | 0.2 |
| 3 | 0.1~10 | Y=18 132X+1 354 | 0.999 5 | 0.3 |
| 4 | 0.1~10 | Y=38 086X+1 888 | 0.999 6 | 0.3 |
| 5 | 0.4~10 | Y=15 442X-576 | 0.999 7 | 1.0 |
| 6 | 0.1~10 | Y=30 826X+751 | 0.999 4 | 0.3 |
| 7 | 0.1~10 | Y=15 858X+497 | 0.999 4 | 0.4 |
| 8 | 0.1~10 | Y=29 069X+1 119 | 0.999 5 | 0.3 |
| 9 | 0.1~10 | Y=30 439X+1 062 | 0.999 5 | 0.3 |
| 10 | 0.3~10 | Y=7 590X-615 | 0.999 5 | 1.5 |
| 11 | 0.1~10 | Y=31 905X+548 | 0.999 6 | 0.3 |
| 12 | 0.1~10 | Y=41 153X+1 281 | 0.999 6 | 0.2 |
| 13 | 0.1~10 | Y=40 705X+1 977 | 0.999 5 | 0.1 |
| 14 | 0.2~10 | Y=13 320X+1 574 | 0.999 6 | 0.3 |
| 15 | 0.1~10 | Y=17 356X+1 088 | 0.999 6 | 0.1 |
| 16 | 0.1~10 | Y=24 826X+1 622 | 0.999 5 | 0.1 |
| 17 | 0.1~10 | Y=10 267X+672 | 0.999 5 | 0.2 |
| 18 | 0.1~10 | Y=28 937X+1 828 | 0.999 5 | 0.1 |
| 19 | 0.1~10 | Y=23 348X+1 402 | 0.999 5 | 0.1 |
| 20 | 0.2~10 | Y=8 974X+554 | 0.999 6 | 0.5 |
| 21 | 0.1~10 | Y=28 110X+1 646 | 0.999 6 | 0.3 |
| 22 | 0.1~10 | Y=15 143X+1 253 | 0.999 3 | 0.3 |

表 5 22 种香豆素类化合物的加样回收率和 RSD(n=6)

Tab. 5 Results of recovery test and RSD of 22 coumarins(n=6)

| 编号 | 平均回收率 | | | RSD | | |
|----|-------|-------|-------|-----|-----|-----|
| | 低 | 中 | 高 | 低 | 中 | 高 |
| 1 | 99.5 | 101.3 | 108.4 | 1.1 | 0.3 | 0.1 |
| 2 | 100.3 | 100.3 | 108.6 | 0.9 | 1.2 | 0.5 |
| 3 | 93.0 | 100.0 | 108.7 | 3.2 | 0.8 | 0.1 |
| 4 | 99.9 | 100.8 | 108.3 | 0.9 | 0.6 | 0.3 |
| 5 | 96.6 | 91.4 | 97.5 | 0.8 | 2.2 | 0.7 |
| 6 | 92.4 | 100.4 | 107.6 | 2.0 | 0.6 | 0.3 |
| 7 | 107.7 | 99.9 | 107.6 | 2.0 | 0.6 | 0.3 |
| 8 | 107.0 | 99.8 | 107.7 | 0.7 | 0.3 | 0.6 |
| 9 | 103.4 | 100.6 | 108.2 | 3.0 | 0.4 | 0.3 |
| 10 | 94.0 | 91.4 | 99.4 | 3.3 | 3.1 | 0.6 |
| 11 | 114.8 | 100.6 | 108.6 | 1.3 | 0.8 | 0.5 |
| 12 | 107.6 | 101.2 | 108.7 | 3.1 | 0.6 | 0.3 |
| 13 | 102.2 | 100.8 | 108.2 | 2.3 | 0.5 | 0.7 |
| 14 | 102.2 | 101.9 | 108.8 | 0.8 | 0.3 | 0.2 |
| 15 | 107.1 | 104.2 | 109.1 | 4.8 | 2.0 | 0.6 |
| 16 | 104.0 | 101.8 | 108.5 | 2.3 | 2.3 | 0.5 |
| 17 | 105.0 | 103.2 | 108.5 | 0.8 | 1.6 | 0.4 |
| 18 | 103.3 | 102.8 | 108.4 | 0.7 | 1.0 | 0.8 |
| 19 | 102.5 | 101.6 | 108.7 | 0.5 | 0.3 | 0.9 |
| 20 | 99.7 | 101.3 | 108.2 | 0.3 | 0.5 | 0.3 |
| 21 | 102.6 | 101.5 | 108.7 | 0.6 | 0.2 | 0.3 |
| 22 | 101.3 | 101.9 | 108.7 | 1.2 | 0.4 | 0.2 |

1 mg·kg⁻¹ 的自制阳性样品,按“2.1.2”项下质谱条件进行质谱确证。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偏差不超过阳性结果确证时相对离子丰度比的最大允差偏差规定范围,则可以判定样品中存在对应的测定成分。结果见表 6。

表 6 22 种香豆素类化合物的阳性确证试验结果

Tab. 6 Results of positive confirmation of 22 coumarins

| 编号 | 保留时间/min | 相对丰度比 1 | 相对丰度比 2 | 允许相对偏差/% |
|----|----------|---------|---------|----------|
| 1 | 16.73 | 25 | 20 | ±25 |
| 2 | 11.32 | 28 | 26 | ±25 |
| 3 | 11.64 | 20 | 23 | ±25 |
| 4 | 12.41 | 38 | 42 | ±25 |
| 5 | 12.53 | 36 | 40 | ±25 |
| 6 | 13.10 | 57 | 56 | ±20 |
| 7 | 13.07 | 57 | 56 | ±20 |
| 8 | 13.31 | 64 | 55 | ±20 |
| 9 | 13.07 | 42 | 37 | ±25 |
| 10 | 12.50 | 21 | 24 | ±25 |
| 11 | 13.52 | 100 | 98 | ±20 |
| 12 | 14.17 | 51 | 59 | ±20 |
| 13 | 14.65 | 21 | 21 | ±25 |
| 14 | 15.26 | 37 | 34 | ±25 |
| 15 | 14.85 | 87 | 84 | ±20 |
| 16 | 16.10 | 98 | 98 | ±20 |
| 17 | 15.38 | 52 | 59 | ±20 |
| 18 | 15.97 | 94 | 96 | ±20 |
| 19 | 17.47 | 34 | 41 | ±25 |
| 20 | 17.51 | 25 | 19 | ±25 |
| 21 | 16.73 | 18 | 17 | ±30 |
| 22 | 18.38 | 22 | 20 | ±25 |

注:相对丰度比 1 为 22 种混合对照品溶液;相对丰度比 2 为自制阳性样品。

Note: Relative abundance ratio 1 referred to 22 mixed standard solutions; relative abundance ratio 2 referred to self-made positive samples.

2.4 样品的测定

取表 2 中的化妆品共 12 批,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1.1”项下色谱条件进样分析,12 批样品均未检出 22 种香豆素化合物。

3 讨论

3.1 检测波长的选择

对 22 种香豆素类化合物在 210~400 nm 内的紫外吸收进行扫描,结果表明,22 种化合物的紫外吸收光谱中均有多个吸收峰和末端吸收。综合考虑化合物的紫外光谱特征,选择 227 nm 作为二氢香豆素、六氢香豆素的检测波长,为了排除化妆

品中常用的防腐剂及防晒剂的干扰,提高方法的专属性,选择 310 nm 作为其他 20 种香豆素类化合物的检测波长^[5]。

3.2 流动相的选择及优化

分别考察了磷酸溶液-甲醇和磷酸溶液-乙腈,同时还考察了 1%冰醋酸,采用 0.1%磷酸溶液-乙腈流动相体系,各目标物色谱峰峰形、分离度最佳,并通过进一步优化梯度系统程序,使 22 种香豆素类化合物全部实现基线分离^[6]。

3.3 色谱柱的选择

筛查了 ZORBAX Eclipse XDB-Phenyl (150 mm×4.6 mm, 3.5 μm)、CAPCELL PAK C₁₈ MG (150 mm×4.6 mm, 5 μm)、SunFire C₁₈(150 mm×4.6 mm, 5 μm) 和 XBridge™ phenyl(150 mm×4.6 mm, 5 μm) 4 根色谱柱,只有 ZORBAX Eclipse XDB-Phenyl(150 mm×4.6 mm, 3.5 μm)色谱柱能使 22 种香豆素类化合物全部实现基线分离,建议采用与 ZORBAX Eclipse XDB-Phenyl(150 mm×4.6 mm, 3.5 μm)效能相同的色谱柱进行检测。

3.4 提取条件的选择

香豆素类化合物水溶性较差,22 种香豆素化合物在甲醇中均有较好的溶解度,结果表明,以甲醇为溶剂超声提取 20 min 时,22 种香豆素类化合物的提取率均较高。如果遇到分散不理想的粉

状或精油类化妆品,可采用四氢呋喃:甲醇=1:1 作为提取溶剂^[5]。

REFERENCES

- [1] 熊友健, 杨玉明, 姜松, 等. 呋喃香豆素类成分及其药理作用研究进展[J]. 中成药, 2010, 32(10): 1764-1770.
- [2] CHEN L, TANG Z S, SONG Z X, et al. Quantitative determination of nine furanocoumarins for quality evaluation of *Angelica dahurica* from different habitats[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2019, 44(14): 3002-3009.
- [3] ZHOU Z, LI J. Determination of 15 coumarins in cosmetics by high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. Guangdong Chem Indust(广东化工), 2020, 47(14): 159-162.
- [4] CHEN W, ZHANG B, CHEN L B, et al. Simultaneous determination of eleven coumarins in cosmetics by ultra high performance liquid chromatography and verification by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. China Surfactant Deterg Cosmet(日用化学工业), 2020(11): 804-808, 814.
- [5] XIANG F, YE J F, HOU Q S. Simultaneous determination of nine components in Xinshen'an capsule by HPLC wavelength switching method[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2019, 36(8): 965-969.
- [6] SHI X X, HUANG Q W, ZHOU J L, et al. HPLC fingerprint of coumarins of *Peucedani Radix*[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2020, 37(7): 842-846.

收稿日期: 2021-11-23

(本文责编: 沈倩)