

Different Instrument for Determining the Content of Chloramphenicol in Cosmetics

Ke Chen, Cuihong Liu, Lianpei Li

Guangdong Province Baohua Testing Center Co., LTD, Guangzhou Guangdong
Email: 651192042@qq.com

Received: Aug. 1st, 2016; accepted: Aug. 22nd, 2016; published: Aug. 25th, 2016

Copyright © 2016 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

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



Open Access

Abstract

Objective: Using three different liquid chromatographs, to determine the chloramphenicol content in cosmetics for removing acne and acarus. **Methods:** Under the same experimental conditions, on the basis of chloramphenicol material, C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) was used as the separation column, (methanol + acetonitrile = 1:2):0.01 mol/L oxalic acid (pH = 2.0) = 40:60 as mobile phase elution, and diode array detector was also used with detection wavelength of 268 nm, velocity of 0.8 mL/min. **Results:** The linear correlation coefficient r of L-3000, LC-20AT, L-6000 was 0.9976, 0.9994, 0.9998 respectively; RSD% of precision retention time and peak area were 1.8% and 2.1%, 1.8% and 0.91%, 0.50% and 0.72%, respectively; RSD% of stability was 2.3%, 0.37% and 2.3% respectively; RSD% of repetitive peak area was 2.7%, 0.86% and 2.7% respectively; the recovery rate and RSD% were 96.2% and 96.2%, 97.4% and 1.3%, 99.3% and 0.7% respectively. **Conclusion:** After comparing, using ultra performance liquid chromatography to determine chloramphenicol has advantages of low sensitivity, high precision and good repeatability.

Keywords

Ultra High Performance Liquid Chromatograph, Diode Array Detector, Cosmetics for Removing Acne and Acarus, Chloramphenicol

不同仪器测定化妆品中氯霉素的含量

陈科, 刘翠红, 李练培

广东省保化检测中心有限公司, 广东 广州
Email: 651192042@qq.com

收稿日期：2016年8月1日；录用日期：2016年8月22日；发布日期：2016年8月25日

摘要

目的：采用三种不同液相色谱仪，对祛痘除螨类化妆品中氯霉素含量进行测定。方法：在相同的实验条件下，以氯霉素为标准物质，C₁₈柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm)为分离柱，(甲醇 + 乙腈 = 1:2):0.01 mol/L草酸(pH = 2.0) = 40:60为流动相洗脱，二极管阵列检测器，检测波长268 nm，流速：0.8 mL/min。结果：L-3000、LC-20AT、L-6000测定的线性相关系数r分别为0.9976、0.9994、0.9998，精密度的保留时间与峰面积RSD%依次分别为1.8%和2.1%、0.85%和0.91%、0.50%和0.72%，稳定性RSD%分别为2.3%、0.37%、0.16%，重复性RSD%分别为2.7%、0.86%、0.57%，回收率和RSD%依次分别为96.2%、2.2%；97.4%、1.3%；99.3%、0.7%。结论：经比较，使用超高效液相色谱仪测定氯霉素灵敏度低、精密度高、重复性好。

关键词

超高效液相色谱仪，二极管阵列检测器，祛痘除螨类化妆品，氯霉素

1. 引言

随着我国居民收入与消费升级，人们的追求美丽的意识逐渐增强，化妆品等相关产业正在大幅度的增长，市场发展潜力巨大。但是受历史发展因素的影响，化妆品企业数量众多，产品质量差异巨大，有大量的伪劣产品充斥市场，给人们的生活和身心健康带来了巨大的安全隐患。因此，化妆品的检测工作刻不容缓。

其中，氯霉素[1]作为抑菌性广谱抗生素，具有很强的祛痘除螨作用，不法化妆品厂家将其添加于化妆品中，以求达到更好的祛痘除螨、抑菌效果。而我国卫生部颁布的《化妆品卫生规范》(2007年版)[2]中明确规定抗生素类为禁用物质，化妆品中不得检出。现氯霉素的含量测定方法不少，包括薄层色谱法[3]、气相色谱法[4]、液相色谱-串联质谱法[5]和高效液相色谱法[6]等，其中高效液相色谱法具有高灵敏度、高精密度、应用范围广、分析速度快等优点。因此，本中心将使用三种不同高效液相色谱仪，其中包括：国产高效液相色谱仪、日本岛津高效液相色谱仪、L-6000超高效液相色谱仪[7]，按照《化妆品卫生规范》(2007版)对祛痘除螨类化妆品中氯霉素进行含量测定，目的在于应用超高效液相色谱技术快速检测化妆品中氯霉素含量的方法验证，从而确立测定化妆品中氯霉素含量的准确、高效检测方法，对解决化妆品质量技术水平低等问题及推动和规范化妆品市场的发展具重大意义。

2. 实验部分

2.1. 仪器与试剂

L-3000 国产高效液相色谱仪、LC-20AT 日本岛津高效液相色谱仪、L-6000 超高效液相色谱仪、超声波清洗器、甲醇(色谱纯)、乙腈(色谱纯)、草酸(分析纯)、盐酸(优级纯)、氯霉素标准物质(批号：40524，中国药品生物制品检定所)，宝芝堂新肤螨灵霜(批号：20151210)。

2.2. 实验方法

2.2.1. 标准储备液的制备

准确称取氯霉素标准物质各 0.1000 g 于 100 mL 容量瓶中，甲醇定容至刻度，配成浓度为 1.00 g/L 标

准溶液。

2.2.2. 系列标准溶液的制备

精密量取标准储备溶液适量，加 0.01 mol/L 草酸分别稀释成 10、20、40、60、80 ug/mL 系列标准溶液。

2.2.3. 样品溶液的制备

准确称取样品约 1.0 g，置 10 mL 离心管中，加甲醇、盐酸混合溶液至刻度，震荡，超声提取 20 min~30 min。经 0.45 μ m 的滤膜过滤，滤液作为待测溶液备用。

2.2.4. 色谱条件

色谱柱为 C_{18} 柱(250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m)，流动相为(甲醇 + 乙腈 = 1:2):0.01 mol/L 草酸(pH = 2.0) = 40:60，流速为 0.8 mL/min，柱温为室温，检测波长为 268 nm，二极管阵列检测器。

3. 结果

3.1. 方法学考察

3.1.1. 线性关系考察

吸取系列标准溶液各 10 μ l 注入液相色谱仪，分别测定，以峰面积 y 对系列标准溶液浓度 x 进行回归，得线性方程，详见表 1。

由此可见，分别使用 L-3000、LC-20AT、L-6000 测定氯霉素，在 10~80 ug/mL 范围，峰面积与标准溶液浓度的线性方程分别为 $y = 852.78x + 1875.1$, $r = 0.9976$; $y = 3037.8x - 1565$, $r = 0.9994$; $y = 47968x - 6968.7$, $r = 0.9998$ 。从而可得，使用 L-6000 高效液相色谱仪测定氯霉素线性关系良好。

3.1.2. 精密度试验

取 40 ug/mL 的氯霉素标准溶液 20 μ l，连续进样 6 次，记录保留时间 t 和峰面积 s ，计算其相对标准偏差 RSD，详见表 2。

由此可见，L-3000 型、LC-20AT 型、L-6000 型高效液相色谱仪测氯霉素的保留时间和峰面积，其 RSD% 依次分别为 1.8% 和 2.1%、0.85% 和 0.91%、0.50% 和 0.72%。因此，使用 L-6000 型高效液相色谱仪测定氯霉素精密度较好。

3.1.3. 稳定性试验

取化妆品宝芝堂新肤螨灵霜(批号：20151210)一份，按 1.2.3 制备样品溶液，在 0、2、4、8、12、24 h 各取 20 μ l 注入液相色谱仪，进行测定，记录峰面积 s ，计算其 RSD，观察三种仪器测定氯霉素的稳定性，详见表 3。

由此可见，L-3000 型、LC-20AT 型、L-6000 型高效液相色谱仪测氯霉素峰面积的 RSD% 依次分别为 2.3%、0.37%、0.16%。因此，使用 L-6000 高效液相色谱仪测定氯霉素稳定性较好。

Table 1. The linear relationship investigation results

表 1. 线性关系考察结果

仪器型号	浓度	10	20	40	60	80
	峰面积					
L-3000		9805	18,213	36,920	55,420	68,101
LC-20AT		29,515	55,918	124,515	178,937	241,235
L-6000		473,705	932,395	1,920,135	2,910,813	3,801,351

Table 2. Precision test results

表 2. 精密度试验结果

仪器型号	序号	保留时间 t (min)	保留时间 RSD (%)	峰面积(s)	峰面积 RSD (%)
L-3000	1	10.890	1.8	36,846	2.1
	2	11.231		37,102	
	3	10.674		36,928	
	4	10.763		35,129	
	5	10.931		36,752	
	6	11.031		37,126	
LC-20AT	1	8.598	0.85	124,113	0.91
	2	8.731		124,092	
	3	8.633		124,711	
	4	8.792		124,012	
	5	8.638		126,311	
	6	8.721		126,434	
L-6000	1	6.975	0.50	1,937,921	0.72
	2	6.989		1,920,136	
	3	6.888		1,899,372	
	4	6.938		1,913,451	
	5	6.945		1,927,912	
	6	6.951		1,909,131	

Table 3. Stability test results

表 3. 稳定性试验结果

仪器型号	时间(h)	峰面积(s)	峰面积 RSD (%)
L-3000	0	11,013	2.3
	2	11,342	
	4	11,071	
	8	11,392	
	12	11,753	
	24	11,297	
LC-20AT	0	31,011	0.37
	2	30,997	
	4	31,102	
	8	31,315	
	12	31,057	
	24	31,087	
L-6000	0	509,971	0.16
	2	510,118	
	4	508,971	
	8	510,978	
	12	511,311	
	24	509,979	

3.1.4. 重复性试验

准确称取宝芝堂新肤螨灵霜(批号:20151210) 6 份,按 1.2.3 制备样品溶液,取 20 ul 注入液相色谱仪,记录峰面积,计算氯霉素的含量和其 RSD 值,详见表 4。

由此可见, L-3000 型、LC-20AT 型、L-6000 型高效液相色谱仪测氯霉素含量其 RSD% 依次分别为 2.7%、0.86%、0.57%。因此,使用 L-6000 型高效液相色谱仪测氯霉素重复性较好。

3.1.5. 加标回收率试验

精密称取已知含量的取宝芝堂新肤螨灵霜(批号:20151210)样品约 1.0 g,共 6 份,分别精密加入浓度为 10 ug/mL 氯霉素标准溶液 0.2 mL、0.5 mL、1.0 mL 低、中、高三种浓度,按 1.2.3 制备样品溶液,取 20 ul 注入液相色谱仪,记录峰面积,计算氯霉素的回收率及其 RSD 值,详见表 5。

由此可见, L-3000 型、LC-20AT 型、L-6000 型高效液相色谱仪测氯霉素的平均回收率和 RSD 依次分别为 96.2%、2.2%; 97.4%、1.3%; 99.3%、0.7%。因此,使用 L-6000 型高效液相色谱测定氯霉素的回收率较高,且偏差较低。

4. 结论

按照《化妆品卫生规范》(2007 年版)相关要求,对氯霉素进行了方法学研究,经考察线性关系、精密度、稳定性、重复性及加标回收率,可知 L-3000、LC-20AT、L-6000 高效液相色谱仪测定的线性相关系数 r 分别为 0.9976、0.9994、0.9998,精密度的保留时间与峰面积 RSD% 依次分别为 1.8% 和 2.1%、0.85%

Table 4. Repeatability test results
表 4. 重复性试验结果

仪器型号	序号	峰面积	含量(ug/g)	RSD (%)
L-3000	1	34,958	9.89	2.7
	2	36,025	9.51	
	3	35,457	9.18	
	4	36,293	9.21	
	5	35,998	9.38	
	6	36,321	9.41	
LC-20AT	1	109,589	9.22	0.86
	2	108,884	9.34	
	3	106,680	9.28	
	4	107,511	9.19	
	5	105,146	9.23	
	6	105,365	9.40	
L-6000	1	1,824,522	9.30	0.57
	2	1,811,185	9.21	
	3	1,790,441	9.29	
	4	1,789,681	9.19	
	5	1,788,533	9.23	
	6	1,756,358	9.17	

Table 5. Standard addition recovery rate test results
表 5. 加标回收率试验结果

仪器型号	序号	称样量(g)	加入量(ug)	测得量(ug)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD (%)
L-3000	1	1.012	2.000	11.34	95.50	96.2	2.2
	2	1.008	2.000	11.32	94.50		
	3	1.010	5.000	14.12	93.80		
	4	1.009	5.000	14.26	96.60		
	5	1.013	10.00	19.21	97.80		
	6	1.007	10.00	19.35	99.20		
LC-20AT	1	1.031	2.000	11.19	95.67	97.4	1.3
	2	1.023	2.000	11.21	96.67		
	3	1.013	5.000	14.22	98.87		
	4	1.021	5.000	14.12	96.87		
	5	1.008	10.00	19.09	98.13		
	6	1.005	10.00	19.11	98.33		
L-6000	1	1.018	2.000	11.21	98.92	99.3	0.7
	2	1.011	2.000	11.20	98.42		
	3	1.102	5.000	14.20	99.37		
	4	1.009	5.000	14.18	98.97		
	5	1.010	10.00	19.24	100.08		
	6	1.018	10.00	19.22	99.88		

和 0.91%、0.50% 和 0.72%，稳定性 RSD% 分别为 2.3%、0.37%、0.16%，重复性 RSD% 分别为 2.7%、0.86%、0.57%，回收率和 RSD% 依次分别为 96.2%、2.2%；97.4%、1.3%；99.3%、0.7%。上述数据表明使用 L-6000 超高效液相色谱仪测定氯霉素灵敏度低、精密度高、重复性好。

基金项目

国家重大科学仪器设备开发与专项——新型高速、高灵敏度、高通量色谱分析仪器的开发与应用项目，应用超高效液相色谱进行化基金项目：国家重大科学仪器设备开发与专项——新型高速、高灵敏度、高通量色谱分析仪器的开发与应用项目，应用超高效液相色谱进行化妆品与保健品的快速检测方法开发和验证任务(任务编号：2012QY14000807)。

参考文献 (References)

- [1] 宋益娟, 蒋晗, 杜威, 等. 食品和化妆品中氯霉素的检测[J]. 信息科学, 2013(18): 49-49.
- [2] 卫生部. 化妆品卫生规范 (2007 年版) [S]. 第二十五: 抗生素、甲硝唑.
- [3] 莫金娜, 温玉莹. 薄层色谱法检测化妆品的氯霉素[J]. 中国卫生检疫杂志, 2008, 18(9): 1767-1768.
- [4] 宫向红, 徐英红, 张秀珍, 等. 水产品中氯霉素残留气相色谱检测方法的探讨[J]. 食品科学, 2006, 27(7): 222-223.
- [5] 杨楠, 张玉黔, 赵晶, 等. 液相色谱 - 串联质谱法检测化妆品中的甲硝唑[J]. 中国卫生检疫杂志, 2008, 18(7): 1326-1327.
- [6] 罗丽娟, 于晓, 黄浩. 高效液相色谱法检测除螨祛痘类化妆品中甲硝唑和替硝唑[J]. 中国药业, 2009, 18(15): 26-27.
- [7] 刘华良, 李放, 杨润, 等. 超高效液相色谱 - 串联质谱法分析化妆品中的常见抗生素和甲硝唑[J]. 色谱, 2009, 27(1): 50-53..

期刊投稿者将享受如下服务：

1. 投稿前咨询服务 (QQ、微信、邮箱皆可)
2. 为您匹配最合适的期刊
3. 24 小时以内解答您的所有疑问
4. 友好的在线投稿界面
5. 专业的同行评审
6. 知网检索
7. 全网络覆盖式推广您的研究

投稿请点击：<http://www.hanspub.org/Submission.aspx>