

快速、灵敏检测化妆品中的罗丹明 B

黄雄风 许群
赛默飞世尔科技（中国）有限公司

禹重科技® ÜZONGLAB

关键词

高效液相色谱，荧光检测，Acclaim C18 色谱柱，染料

目标

基于罗丹明 B 对人体的致畸、致癌性，及其对化妆品等行业的潜在威胁，本文欲通过高效液相色谱 - 荧光检测建立一种快速、灵敏测定化妆品中罗丹明 B 的方法。

引言

罗丹明 B (CAS 号: 81-88-9)，又称玫瑰红 B、玫瑰精 B，俗称花粉红，是一种具有鲜艳颜色的人工合成色素，其结构式见图 1。由于罗丹明 B 鲜艳持久、价格低廉，被广泛应用于化妆品、食品、造纸、制漆、纺织、皮革和瓷器的染色。¹⁻⁴ 根据国际癌症研究组织研究，摄取、吸入以及皮肤接触罗丹明 B 均会造成急性和慢性的中毒伤害，并且有动物实验表明，该物质吸入时可能引起诱变致癌或致畸。⁵ 早在 1999 年，欧美等国家和地区均已禁止用于食品加工中；2006 年中国卫生部将其列在《食品中可能违法添加的非食用物质和易滥用的食品添加剂品种名单（第一批）》中，禁止在食品中使用，并于 2010 颁布了 SN/T 2430---2010 年《进出口食品中罗丹明 B 的检测方法》。⁶⁻⁸ 目前，虽然国内尚无针对化妆品中罗丹明 B 的相关规定，但是如果将罗丹明 B 添加到与人体皮肤直接接触的化妆品中，也会对人体造成致癌或致畸的危害。因此，需要建立一种快速、灵敏测定化妆品中的罗丹明 B。

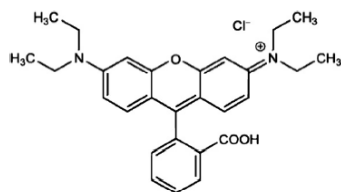


图 1. 罗丹明 B 的结构式



检测罗丹明 B 的主要方法有液相色谱 - 质谱法⁹、免疫法¹⁰、高效液相色谱 (HPLC) 法^{11、12} 和薄层色谱法¹³ 等。由于样品基质的复杂性和罗丹明 B 的低含量，样品前处理通常需要经过净化和浓缩来完成。^{1-4,14} 本文根据荧光检测器的高灵敏度和高选择性，通过超声萃取，采用高效液相色谱 - 荧光检测法对化妆品中的罗丹明 B 进行检测。

仪器

Thermo Scientific™ Dionex™ UltiMate™ 3000RS 双三元系统，包括：

- DGP-3600RS 双三元分析泵（具备溶剂脱气功能）
- WPS-3000TRS RS 自动进样器（配置 100 μL 定量环）
- TCC-3000RS 柱温箱（具备控温功能）
- FLD-3000RS, SST（检测池体积 2 μL）

Thermo Scientific Dionex Chromeleon 色谱系统控制软件，版本 6.80 或以上

试剂与标准品

去离子水, 18.2 M Ω -cm (Thermo Scientific GenPure Pro UV-TOC, P/N 50131948)

乙腈 (CH₃CN), HPLC 级 (Fisher Chemical, P/N AC610010040)

甲醇 (CH₃OH), HPLC 级 (Fisher Chemical, P/N AC610010040)

醋酸铵 (CH₃COONH₄), HPLC 级 (Fisher Chemical, Cat. No. A639-500)

罗丹明 B 标准品, 纯度 \geq 95.0%, (上海安谱科学仪器有限公司)

标准溶液的制备

标准储备液 1

准确称取 0.01 g 罗丹明 B 标准品, 用水将其定容到 10 mL, 浓度为 1000 μ g/L.

标准储备液 2

取 200 μ L 标准储备液 1, 并将其加入到 980 μ L 去离子水中, 浓度为 20 mg/L.

标准工作溶液

将标准储备液 2 稀释 20 倍, 得到浓度为 1000 μ g/L 的标准溶液; 分别取 1、2、5 mL 此标准溶液, 均定容至 10 mL, 依次得到浓度为 100、200 和 500 μ g/L 的标准溶液; 再将 100 μ g/L 的标准溶液分别适当稀释, 得到浓度为 1、2、5、10、20 和 50 μ g/L 的标准溶液。这样, 用于绘制标准工作曲线的系列标准溶液 (标准工作溶液) 达到 9 个, 从 1-1000 μ g/L, 覆盖 3 个数量级。

样品前处理

样品

从上海某品牌的化妆品专卖柜购买了指甲油、粉饼和唇彩各一份。分别称取 2g 的样品, 用去离子水定容至 5 mL。超声萃取 30 min 后, 用孔径为 0.45 μ m 的滤膜 (Thermo Scientific™ Target2™ Nylon Syringe Filters, 0.45 μ m, 30 mm, P/N F2500-1) 过滤后直接进样。

加标样品

称取 2 g 的指甲油, 加入 50 μ L 浓度为 500 μ g/L 的罗丹明 B 标准品, 用去离子水定容至 5 mL, 加标浓度为 5 μ g/Kg。

色谱条件

色谱柱: Thermo Scientific Acclaim 120 C18 分析柱, 3 μ m, 3 \times 150 mm (P/N 063691)

流动相: 乙腈 /100 mM 醋酸铵 (称取 7.708 g 醋酸铵, 用水定容至 1 L), 40 : 60 (v/v)

进样体积: 1 μ L

流速: 0.5 mL/min

柱温: 30 $^{\circ}$ C

检测: 荧光, λ_{ex} 550 nm; λ_{em} 580 nm

结果与讨论

实验条件的优化

使用 Acclaim 120 C18 分析柱, 比较了不同比例的乙腈 / 水、甲醇 / 水、乙腈 /100 mM 醋酸铵溶液、甲醇 /100 mM 醋酸铵溶液作流动相的结果。乙腈 / 水作流动相时, 罗丹明 B 色谱峰有明显的拖尾; 而乙腈 /100 mM 醋酸铵溶液作为流动相, 得到的峰形最好。由于罗丹明 B 具有较强的荧光吸收, 并且荧光检测的高选择性可以很好地消除化妆品中某些不具荧光吸收的物质的干扰。因此, 本实验选用灵敏度比紫外检测更高的荧光检测。

方法的重现性、线性范围和检测线

为考察方法的重现性, 通过连续进样 7 次浓度为 10 μ g/L 的标准溶液, 得到罗丹明 B 的保留时间和峰面积的相对标准偏差 (RSD) 分别是 0.09% 和 0.75%, 色谱图见图 2。在所述色谱条件下, 罗丹明 B 在 2-1000 μ g/L 范围内具有良好的线性, 得到的标准曲线方程为 $A = 288.02c - 2261$ 。其中, c 代表罗丹明 B 的浓度 (μ g/L), A 代表罗丹明 B 相应浓度所对应的峰面积。线性相关系数 $R^2 = 0.9995$ 。分别以 $S/N = 3$ 和 $S/N = 10$ 作为检测线 (LOD) 和定量线 (LOQ), 得到其 LOD 为 0.5 μ g/L, LOQ 为 2 μ g/L。

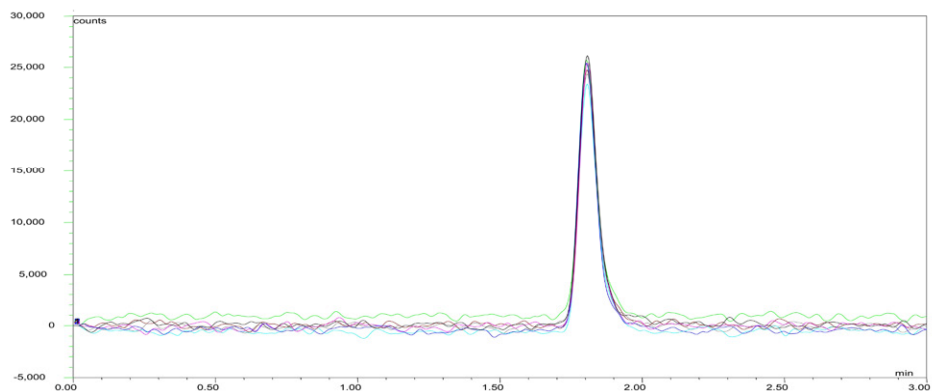


图 2. 罗丹明 B 标准品的重叠色谱图 (10 μ g/L, n=7)

样品分析

为考察化妆品中罗丹明 B 的添加情况，本研究选取了颜色较为鲜艳的指甲油、粉饼和唇彩作为考察对象。在粉饼和唇彩中罗丹明 B 无检出，在指甲油中的罗丹明 B 检出浓度为 13.5 ng/g。图 3 是指甲油样品的色谱图。基于罗丹明 B 对人体健康的危害性，应严格控制其在化妆品中，特别是指甲油等颜色鲜艳的化妆品中的含量。国内尚无化妆品中罗丹明 B 的相关规定，但在欧美等国家和地区已明确禁止。

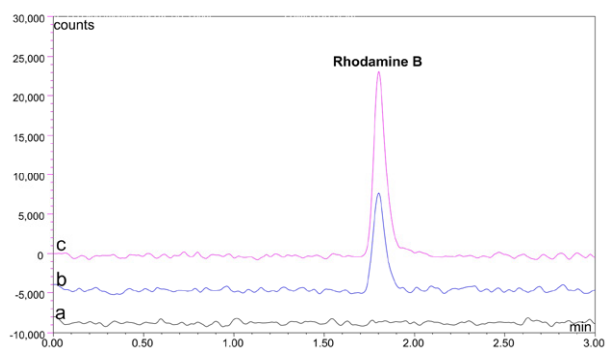


图 3. 指甲油样品、指甲油加标和空白的色谱图

结论

本文通过高效液相色谱-荧光检测法建立了一种快速、灵敏、简便的测定化妆品中痕量罗丹明 B 的方法，该方法具有重现性好、线性范围宽、灵敏度高等特点，为质监部门控制化妆品等行业罗丹明的使用提供了技术支持，也适用于化妆品等行业的产品质量控制。

致谢

本文的完成得到了张艳海等同仁的倾力协助，作者在此表示衷心感谢！

参考文献

1. 郝燕花. 高效液相色谱法测定化妆品的配方成分, 硕士论文, 2012.
2. 胡侠; 肖光; 潘炜; 毛希琴; 李鹏. 高效液相色谱-串联质谱法同时测定辣椒粉及辣椒油中的 7 种罗丹明染料, 色谱, 2010, 28, 590-595.
3. 张贞理, 张平, 申大忠. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定水产调味品中的罗丹明 B、结晶紫和孔雀石绿, 分析化学, 2012, 3, 487-488.
4. 杨仁惠, 胡立立, 许乾丽, 史蕙, 吴侯, 王烈, 杨蝉. 高效液相色谱荧光检测法测定辣椒制品中罗丹明 B 的含量, 现代医药卫生, 2013, 29, 481-483.
5. International Agency for Research on Cancer (IARC), IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to Man, Volume16: Some Aromatic Amines and Related Nitro Compounds.
6. 中国标准出版社, GB2760, 食品添加剂使用卫生标准.
7. 中国标准出版社, SN/T2430---2010, 进出口食品中罗丹明 B 的检测方法.
8. Harris, N.L.; Jaffe, E.S.; Diebold, J.; Flandrin, G.; Muller-Hermelink, H.K.; Vardiman, J.; Lister, T.A.; Bloomfield, C.D. The World Health Organization (WHO) classification of neoplastic diseases of the hematopoietic and lymphoid tissues (Report of the Clinical Advisory Committee meeting, Airlie House, Virginia, November, 1997), Ann Oncol, 1999, 10, 1419-1432.
9. Bains, A.; Lu, G.; Yao, H.; Luthra, R.; Medeiros, L.J.; Sargent, R.L. Molecular and clinicopathologic characterization of AML with isolated trisomy 4, Am J Clin Pathol, 2012, 137, 387-394.
10. Gupta, V.; Minden M.D.; Yi, Q.L.; Brandwein, J.; Chun, K. Prognostic significance of trisomy 4 as the sole cytogenetic abnormality in acute myeloid leukemia, Leuk Res, 2003, 27: 983-991.
11. 薛永权. 急性淋巴细胞白血病染色体改变及其意义, 诊断学理论与实践, 2011, 10, 290—291.
12. 李忠清, 罗军. Ph 染色体阳性成人急性淋巴细胞白血病 3 例临床分析, 内科, 2010, 5, 151-152.
13. 王学文. 成人伯基特 (Burkitt) 白血病和淋巴瘤的研究进展, 现代肿瘤医学, 2008, 16, 468-472.
14. 林灵超. 固相萃取-HPLC 法测定指甲油中的罗丹明 B, 香料香精化妆品, 2012, 5, 33-36.

禹重科技® UZONGLAB

成分分析仪器 | 表面测试仪器 | 样品前处理仪器

上海市闵行区春申路2525号芭洛商务大楼
电话: 021-8039 4499 传真: 021-5433 0867
上海|北京|沈阳|太原|长沙|广州|成都|青岛|香港
全国销售和售后服务电话: 400-808-4598

邮编: 201104, China
邮箱: shanghai@uzong.cn

更多信息请访问: www.uzong.cn

ThermoFisher
SCIENTIFIC



了解我们



微信公众号