

# 化妆品中柠檬酸检测能力验证结果分析

刘彤彤, 李红霞, 高家敏\*, 曹进\*

(中国食品药品检定研究院, 北京 100050)

**摘要:** **目的** 考察相关实验室检测化妆品中柠檬酸的技术能力和水平, 促进参加实验室对该类项目检验能力的提高。**方法** 样品通过均匀性和稳定性评价后, 采用随机单盲方式分配至参与能力验证(proficiency testing, PT)的实验室。统计各参加实验室的测定结果, 进行稳健统计分析, 通过Z比分数评价实验室检测能力。**结果** 制备的200瓶样品均匀性符合要求且在整个计划周期内保持稳定, 满足能力验证计划要求。从参加的31家的结果来看, 共有27家满意, 满意率为87.1%。**结论** 化妆品中柠檬酸的检测水平总体良好, 个别实验室检测能力有待提高。

**关键词:** 能力验证; 化妆品; 柠檬酸; 高效液相色谱法

## Analysis of proficiency test results of determination of citric acid in cosmetics

LIU Tong-Tong, LI Hong-Xia, GAO Jia-Min\*, CAO Jin\*

(National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China)

**ABSTRACT: Objective** To investigate the technical ability and level of detecting citric acid in cosmetics, and promote the ability of participating laboratories to test such items. **Methods** The homogeneity and stability of the samples were examined. The samples were randomly and single blindly distributed to the laboratories participating in the proficiency testing (PT). Results from different laboratories were collected and analyzed using robust statistic analysis, and the proficiency of the participant laboratories was evaluated by Z score. **Results** The 200 bottles of prepared samples were homogeneous and stable in the whole program period, which met the requirement of PT. Total 27 laboratories among the 31 laboratories participating in the proficiency testing had satisfactory results, with satisfaction rate of 87.1%. **Conclusion** The detection level of citric acid in cosmetics is generally good, and the detection ability of individual laboratories needs to be improved.

**KEY WORDS:** proficiency testing; cosmetics; citric acid; high performance liquid chromatography

## 0 引言

$\alpha$ -羟基酸是指 $\alpha$ 位被羟基替代的一组有机酸, 包括柠檬酸、乳酸、乙醇酸、酒石酸、苹果酸等<sup>[1]</sup>, 常作为螯合剂、pH调节剂或香料成分被广泛应用于护肤类化妆品中,

具有调理皮肤、抗老化等功效<sup>[2-4]</sup>。然而, 美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)曾提醒, 使用含 $\alpha$ -羟基酸的化妆品, 会增加皮肤对光的敏感度尤其是晒伤的可能性<sup>[5]</sup>。我国《化妆品安全技术规范》(2015年版)中也规定化妆品配方中 $\alpha$ -羟基酸总量不得大于6%(以酸

\*通信作者: 高家敏, 硕士, 副主任药师, 主要研究方向为食品化妆品检测和研发。E-mail: 67701095@qq.com

曹进, 博士, 研究员, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: caojin@nifdc.org.cn

\*Corresponding author: GAO Jia-Min, Master, Associate Chief Pharmacist, National Institutes for Food and Drug Control, No.2, Tiantan Xili, Dongcheng District, Beijing 100050, China. E-mail: 67701095@qq.com

CAO Jin, Ph.D, Professor, National Institutes for Food and Drug Control, No.2, Tiantan Xili, Dongcheng District, Beijing 100050, China. E-mail: caojin@nifdc.org.cn

计)<sup>[6]</sup>,是化妆品中的限用组分。因此, $\alpha$ -羟基酸的检测是化妆品监督管理的一项重要指标。为客观反映实验室检测化妆品中 $\alpha$ -羟基酸的技术水平,促进该类检测能力不断提高,保证化妆品的质量与安全,有必要组织开展化妆品中 $\alpha$ -羟基酸的测定能力验证。本研究以 $\alpha$ -羟基酸中的柠檬酸为研究对象,制备了含柠檬酸的化妆品样品,组织实施了化妆品中柠檬酸测定的能力验证活动。

能力验证是利用实验室间比对,按照预先制定的准则评价参加者的能力<sup>[7]</sup>。通过参加能力验证,实验室可以从检测过程中发现自身的不足并分析产生问题的原因,采取有针对性的措施来弥补,有助于提升实验室管理能力,改善实验室质量管理体系,提高实验室检测人员整体水平,满足监管及认证机构要求<sup>[8-9]</sup>。另外,监管机构通过能力验证活动,能够掌握参与实验室的检测能力和水平,并进行全方面、多维度的分析,为检测行业提供科学的发展方向,促进整个行业的高水平发展<sup>[10-11]</sup>。本研究概述了中国食品药品检定研究院(以下简称“中检院”)组织的能力验证项目:化妆品中 $\alpha$ -羟基酸(柠檬酸)的测定(NIFDC-PT-232)的主要工作,并对此次能力验证活动的情况进行总结,对其中发现的问题进行解析,以期提高参与实验室的检测能力、改进质量管理体系。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器与试剂

Waters 2695 系列高效液相色谱仪,带二极管阵列检测器(美国 Waters 公司);AL204 电子天平(瑞士梅特勒公司)。

磷酸二氢铵、磷酸(优级纯,国药化学试剂有限公司);柠檬酸标准品(纯度 99.5%,德国 Dr. E 公司)。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 样品制备

委托专业机构生产样品,将水、聚乙二醇-400、黄原胶、矿油和鲸蜡硬脂醇等原料与柠檬酸原料按配方进行混均、包装。制备过程包括:原料溶解、混合、均质、乳化、总混,最终用白色带盖塑料瓶进行分装,铝塑袋真空密封,每瓶含样品约 10 g,共计 200 瓶。样品为霜剂,柠檬酸质量分数约为 1.66%,在铝塑袋外贴上带有编号 PT232-XXX 的标签(XXX 为随机代码),常温避光保存。

#### 1.2.2 测定方法

建议检测方法为《化妆品安全技术规范》(2015 版)3.1  $\alpha$ -羟基酸第一法高效液相色谱法<sup>[6]</sup>。称取样品 1 g(精确到 0.001 g)于 10 mL 具塞比色管中,水浴去除挥发性有机溶剂,加水至 10 mL,超声提取 20 min,取适量样品在 10000 r/min 下高速离心 15 min,取上清液过 0.45  $\mu$ m 滤膜后作为待测溶液。

参考色谱条件:色谱柱:C<sub>8</sub>柱(250 mm×4.6 mm, 10  $\mu$ m),或等效色谱柱;流动相:0.1 mol/L 的磷酸二氢铵溶液,用磷酸调 pH 值为 2.45;流速:0.8 mL/min;检测波长:214 nm;柱温:室温;进样量:5  $\mu$ L。

### 1.3 均匀性和稳定性检验

从分装好的样品中各随机抽取 12 份样品进行均匀性考察,每瓶样品重复测定 2 次,每次都单独取样,采用单因素方差分析判断样品均匀性。

在样品实际储存状态下,分别在均匀性检验完成后的 8 周随机抽取 4 瓶样品进行测定,测定结果与均匀性结果比较,时间覆盖整个计划周期,采用  $t$  检验法考察样品的稳定性。

### 1.4 结果评价原则

参照 CNAS—GL002《能力验证结果的统计处理和评价指南》<sup>[12]</sup>,采用稳健(robust)统计方法,以参加者结果的中位值为指定值,标准化四分位距(normalized interquartile range, NIQR)为能力评定标准差,计算柠檬酸测定结果的  $Z$  比分数。当  $|Z| \leq 2$  时,结果为满意;当  $2 < |Z| < 3$  时,结果为可疑,需要警戒,鼓励实验室复查;当  $|Z| \geq 3$  时,结果为不满意,要求采取整改措施。

## 2 结果与分析

### 2.1 样品均匀性和稳定性考察结果

按照 CNAS—GL003《能力验证样品均匀性和稳定性评价指南》<sup>[13]</sup>的要求,采用单因素方差分析法对样品进行均匀性检验。本次能力验证测试样品均匀性检验的  $F$  值  $< F_{\alpha}$  值,表明在 0.05 显著性水平时,测试样品中的柠檬酸是均匀的。采用  $t$  检验法对测试样品的稳定性进行考察,结果表明  $t_{Stat}$  值  $< t$  双尾临界值,这表明在本次能力验证计划期间,测试样品中的柠檬酸稳定性良好。均匀性检验和稳定性检验具体结果分别见表 1 和表 2。

表 1 样品中柠檬酸均匀性检验结果  
Table 1 Homogeneity results of citric acid of samples

| 差异源 | 平方和      | 自由度 | 均方       | $F$      | $P$ 值    | $F_{\alpha}$ |
|-----|----------|-----|----------|----------|----------|--------------|
| 组间  | 0.021453 | 11  | 0.00195  | 0.931285 | 0.543508 | 2.717331     |
| 组内  | 0.025131 | 12  | 0.002094 |          |          |              |
| 总计  | 0.046584 | 23  |          |          |          |              |

表 2 样品中柠檬酸稳定性检验结果  
Table 2 Stability results of citric acid of samples

| 方差来源     | 均匀性结果       | 稳定性结果       |
|----------|-------------|-------------|
| 平均       | 1.613993937 | 1.59727155  |
| 方差       | 0.002025395 | 0.000984116 |
| 观测值      | 24          | 8           |
| 合并方差     | 0.00178243  |             |
| 假设平均差    | 0           |             |
| df       | 30          |             |
| tStat    | 0.970214339 |             |
| P(T≤t)单尾 | 0.169848721 |             |
| t 单尾临界   | 1.697260887 |             |
| P(T≤t)双尾 | 0.339697442 |             |
| t 双尾临界   | 2.042272456 |             |

## 2.2 参加实验室情况分析

本次能力验证共有 31 家实验室报名, 共发出样品 31 份, 所有 31 家实验室均按要求提交了结果报告, 共收到有效数据 31 份。31 家实验室分布于全国 20 个省(自治区、直辖市), 包括 19 家地市级食品药品检验机构(占总参加实验室的 61.3%)、6 家省级食品药品检验机构(占总参加实验室的 19.4%)、4 家第三方检测机构(占总参加实验室的 12.9%)、1 家医疗器械检验机构(占总参加实验室的 3.2%)、1 家疾病预防控制中心(占总参加实验室的 3.2%)。参加实验室的地域分布情况和数量见表 3。

## 2.3 检测结果总体情况分析

本次能力验证共收回 31 个实验室的检测结果, 统计测定结果数据的频次和频率, 绘制正态分布直方图, 如图 1, 本次能力验证回收的检测结果近似服从正态分布, 可以用基于正态分布的稳健统计技术进行数据分析<sup>[12]</sup>。

对本次能力验证的总体情况进行了统计, 包括中位数、标准四分位数间距、变异系数、最大值、最小值和极差, 详见表 4。应用稳健统计方法, 计算各反馈结果实验室的实验室 Z 比分数。各参加实验室 Z 比分数分布结果见图 2。所有 31 家的结果来看, 共有 27 家满意, 满意率为 87.1%, 有 2 家不满意, 2 家可疑。检测结果总体情况见表 5。

## 2.4 检测方法及使用仪器分析

本次能力验证的推荐检测依据为《化妆品安全技术规范》(2015 版)3.1  $\alpha$ -羟基酸第一法高效液相色谱法, 检测方法为高效液相色谱-二极管阵列检测器法。其中, 30 家参加实验室均采用高效液相色谱法进行测定。1 家参加实验室采用其他方法进行测定, 该单位结果满意。本次能力验证活动中, 各实验室使用的液相色谱仪品牌共 5 种, 如表 6

所示, 其中使用戴安(2 家)、岛津(6 家)、安捷伦(12 家)、Waters(8 家)、Thermo(3 家), 使用不同仪器未造成测定结果的偏离。

## 2.5 不满意结果分析讨论

分析不满意和可疑实验室发现, 在参与本次能力验证的 4 家第三方检测实验室中, 有 2 家被评价为不满意, 在第三方检测实验室中占比 50%, 分析原始记录发现这两家的检测结果都偏低, 实验室应开展自查自纠, 包括实验操作、样品处理、标准品和仪器设备等方面。19 家地市级检验实验室中, 有 2 家被评价为可疑, 在地市级检验实验室中占比为 11%, 说明实验室内存在质量管理体系漏洞, 应引起足够重视, 及时采取弥补措施。通过仔细分析各实验室提交的原始记录, 发现有如下几个方面影响实验结果。

表 3 参加实验室地域分布情况  
Table 3 Regional distribution of participating laboratories

| 省份 | 实验室数 | 省份  | 实验室数 |
|----|------|-----|------|
| 山西 | 1    | 青海  | 1    |
| 山东 | 3    | 安徽  | 2    |
| 云南 | 2    | 甘肃  | 1    |
| 陕西 | 1    | 吉林  | 1    |
| 辽宁 | 2    | 上海  | 1    |
| 河南 | 1    | 河北  | 1    |
| 广东 | 4    | 福建  | 1    |
| 浙江 | 3    | 广西  | 1    |
| 江苏 | 2    | 黑龙江 | 1    |
| 天津 | 1    | 湖南  | 1    |

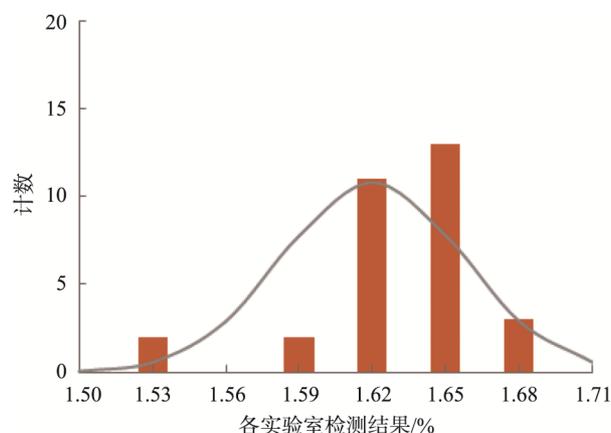


图 1 各实验室检测结果正态分布直方图  
Fig.1 Histogram of normal distribution of test results in each laboratory

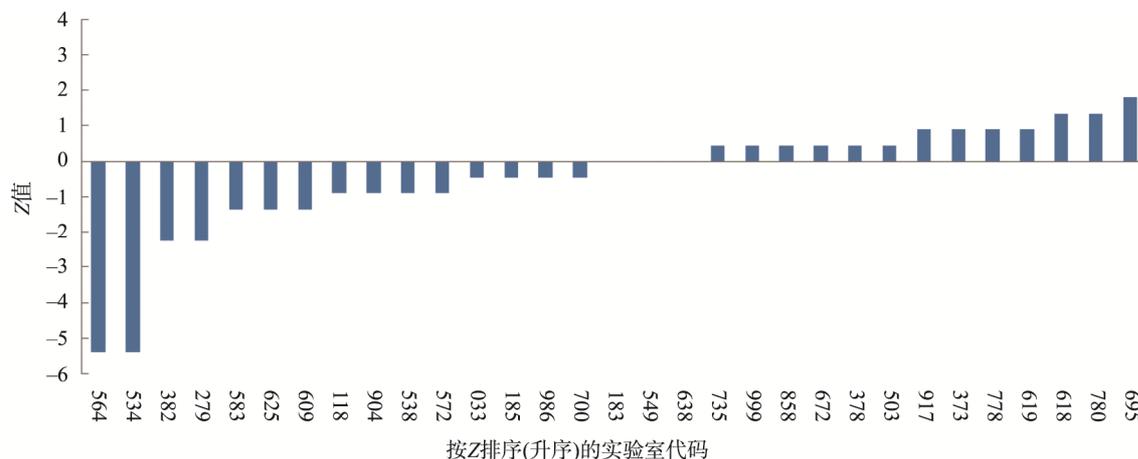


图2 柠檬酸检测结果Z值分布柱状图

Fig.2 Histogram of Z value distribution of citric acid test results

表4 能力验证总体情况

Table 4 Overall situation of proficiency testing

| 结果个数 | 中位值/% | NIQR/% | 变异系数/% | 最大值/% | 最小值/% | 极差/%  |
|------|-------|--------|--------|-------|-------|-------|
| 31   | 1.63  | 0.0222 | 2.28   | 1.67  | 1.51  | 0.160 |

表5 检测结果总体情况

Table 5 Overall situation of experimental results

| 结果数 | 满意结果数 | 满意率/% | 结果不满意者(离群)代码 $ Z  \geq 3$ | 结果可疑者代码( $2 <  Z  < 3$ ) |
|-----|-------|-------|---------------------------|--------------------------|
| 31  | 27    | 87.1  | 564、534                   | 279、382                  |

表6 使用的仪器信息

Table 6 Instrument information

| 仪器品牌   | 家数 |
|--------|----|
| 戴安     | 2  |
| 岛津     | 6  |
| 安捷伦    | 12 |
| Waters | 8  |
| Thermo | 3  |

### 2.5.1 前处理过程影响

部分实验室结果偏低,可能是由于前处理过程提取不完全造成的。化妆品组分复杂,多种理化性质相似的有机物常同时存在,其前处理过程要保证待测物提取完全。对于膏霜类样品,在取样时,应用玻璃棒将样品较均匀地涂布于管壁靠下位置,以提高柠檬酸的超声提取效率,减小因样品中柠檬酸提取不完全带来的误差。

### 2.5.2 仪器设备的工作状态

仪器设备的工作状态也是影响检测结果准确度的重要原因。从部分实验室上报的原始记录中不难发现,有些图谱中目标峰分离度较差,这很可能会导致定量不准确,造成结果偏差,因而检测人员进行实验的过程中,要密

切关注仪器的工作状态,稳定的仪器状态才能使检测结果精准可靠。

### 2.5.3 标准品和标准曲线线性范围影响

在实际操作过程中,标准物质的实际称样量、纯度、开封日期等都应有详细的记录,便于后续计算和溯源,对于已经开封的标准物质,在使用之前应进行核查,如浓度偏差大则应停用<sup>[14]</sup>,同时标准曲线的线性范围设计应合理,如果遇到待测物响应值偏离标准曲线范围的情况,应重新配制标准溶液<sup>[15]</sup>。查阅原始记录发现,534实验室用的是标准储备液,怀疑其在使用储备液前,未进行核查,没有发现储备液的浓度已经发生变化,造成实验结果的偏差。279实验室测定浓度接近标准曲线最低点,可能带入较大误差,影响最终结果。

## 3 结论

本次参与能力验证的绝大部分实验室提交的检测结果为满意,说明参加本次能力验证的大多数实验室检测化妆品中柠檬酸的水平较高,可为化妆品监督管理提供技术支持。结果为离群和不满意的实验室需按照中国合格评定国家认可委员会(China National Accreditation Service for Conformity Assessment, CNAS)的有关规定,认真分析实验

中可能产生误差的原因,提高实验室管理水平,加强检验检测能力建设。

### 参考文献

- [1] 杨艳伟,朱英,董兵,等.化妆品中 $\alpha$ -羟基酸的使用情况分析[J].中国卫生检验杂志,2008,18(1):133-134.  
YANG YW, ZHU Y, DONG B, *et al.* Analysis of use of  $\alpha$ -hydroxy acid in cosmetics [J]. Chin J Health Lab Technol, 2008, 18(1): 133-134.
- [2] GOTTSCHALCK TE, BRESLAWEK HP. International cosmetic ingredient dictionary and handbook, (14th Edition) [Z]. 2012.
- [3] FIUME MM, HELDRETH BA, BERGFELD WF, *et al.* Safety assessment of citric acid, inorganic citrate salts, and alkyl citrate esters as used in cosmetics [J]. Int J Toxicol, 2014, 33(2): 16S-46S.
- [4] 钟志雄,杜达安,梁旭霞.离子色谱法测定化妆品中的 $\alpha$ -羟基酸[J].中国卫生检验杂志,2001,11(1):21-26.  
ZHONG ZX, DU DA, LIANG XX. Determination of  $\alpha$ -hydroxy acids in cosmetics by ion chromatography [J]. Chin J Health Lab Technol, 2001, 11(1): 21-26.
- [5] Food and Drug Administration (FDA). Guidance: labeling for cosmetics containing alpha hydroxy acids. Guidance for industry, labeling for topically applied cosmetic products containing alphahydroxy acids as an ingredient, 2005. [Z].
- [6] 国家食品药品监督管理总局.化妆品安全技术规范[M].北京:中国标准出版社,2015.  
China Food and Drug Administration. Safety and technical standards for cosmetics [M]. Beijing: Standards Press of China, 2015.
- [7] CNAS—RL02 能力验证规则[S].  
CNAS—RL02 Rules for proficiency testing [S].
- [8] 唐凌天,符斌.实验室能力验证的发展[J].中国无机分析化学,2013,3(4):11-15.  
TANG LT, FU B. Development of laboratory proficiency testing [J]. Chin J Inorg Anal Chem, 2013, 3(4): 11-15.
- [9] 毛燕,闫林.实验室参加能力验证活动的意义分析[J].食品安全质量检测学报,2014,5(9):2958-2961.  
MAO Y, YAN L. Benefits analysis of the laboratories participation in proficiency testing programs [J]. J Food Saf Qual, 2014, 5(9): 2958-2961.
- [10] 袁磊,乔荣霞,杨洪,等.2017年食品检验实验室能力验证结果分析[J].食品安全质量检测学报,2018,9(20):5504-5510.  
YUAN L, QIAO RX, YANG H, *et al.* Analysis of proficiency test results of food inspection laboratories in 2017 [J]. J Food Saf Qual, 2018, 9(20): 5504-5510.
- [11] 宋昌盛,封君兴.对提升检验检疫实验室检测能力的思考[J].科技资讯,2017,15(27):136-138.  
SONG CS, FENG JX. Thinking on improving the testing ability of inspection and quarantine laboratory [J]. Sci Technol Inform, 2017, 15(27): 136-138.
- [12] CNAS—GL002 能力验证结果的统计处理和评价指南[S].  
CNAS—GL002 Guidance on statistic treatment of proficiency testing results and performance evaluation [S].
- [13] CNAS—GL003 能力验证样品均匀性和稳定性评价指南[S].  
CNAS—GL003 Guidance on evaluating the homogeneity and stability of samples used for proficiency testing [S].
- [14] 包秘,唐昭领,赵大庆.实验室的质量控制管理体系分析[J].食品安全质量检测学报,2020,11(3):981-987.  
BAO M, TANG ZL, ZHAO DQ. Review on quality control management system of laboratory [J]. J Food Saf Qual, 2020, 11(3): 981-987.
- [15] 毛燕,闫林.从能力验证结果分析标准物质的使用注意事项[J].食品安全质量检测学报,2014,5(12):4128-4131.  
MAO Y, YAN L. Study on the attentions in use of reference materials according to analysis of proficiency testing results [J]. J Food Saf Qual, 2014, 5(12): 4128-4131.

(责任编辑:张晓寒)

### 作者简介



刘彤彤,硕士,主要研究方向为食品安全检测。

E-mail: 15905171365@163.com

高家敏,硕士,副主任药师,主要研究方向为食品化妆品检测和研发。

E-mail: 67701095@qq.com

曹进,博士,研究员,主要研究方向为食品安全检测。

E-mail: caojin@nifdc.org.cn