

液相色谱-荧光检测器同时测定化妆品中 α -熊果苷、 β -熊果苷、脱氧熊果苷、氢醌和苯酚的含量

一、引言

熊果苷又名熊果素,呈白色针状结晶或粉末,能够通过抑制体内酪氨酸酶的活性,阻止黑色素的生成,具有良好的美白效果,因此常用于美白类化妆品中。 α -熊果苷和 β -熊果苷是异构体,不过美白效果存在差异,两者在一定条件下可以转化为氢醌;脱氧熊果苷具有强烈的抗氧化作用,也可有效抑制酪氨酸酶的活性,其在室温、弱酸或者水溶液光照下可以转化为氢醌。欧盟委员会发布的 2021/1099 号修订案禁止脱氧熊果苷用于化妆品中。氢醌和苯酚也具有良好的美白作用,但由于毒性大和刺激性强,长期接触有致癌风险,我国《化妆品安全技术规范》(2015 版)将二者列为化妆品禁用原料。因此,有必要建立对以上五种化合物同时测定的方法。

目前对这几种化合物的检测方法主要有胶束电动毛细管色谱法、高效液相色谱-二极管阵列检测法、气相色谱法、气相色谱-串联质谱法等,通常只能检测以上物质中的 1~3 种,且未检测过脱氧熊果苷。本应用通过高效液相色谱-荧光检测器同时对这五种化合物进行分析。

二、实验条件

1. 仪器设备:液相色谱仪(P40 四元梯度泵、A10 自动进样器、C10 柱温箱、D50 荧光检测器)



三、色谱条件

1. 色谱柱：Lotus C18, 5 μm , 4.6*250 mm

2. 柱温：25 $^{\circ}\text{C}$

3. 进样体积：10 μL

4. 检测波长：

Compound	Excitation wavelength/nm	Emission wavelength/nm
α -Arbutin	292	337
β -Arbutin	292	337
Deoxyarbutin	293	322
Hydroquinone	298	345
Pheno	280	318

5. 流动相 A：甲醇，流动相 B：水

6. 梯度程序：

Time (min)	Flow rate (mL/min)	A%	B%
0.0	0.5	10	90
11.0	0.5	10	90
11.1	1.0	15	85
30.0	1.0	80	20
30.1	1.0	10	90
40.0	1.0	10	90



四、实验结果

1. 系统适应性

由图 1 标准溶液色谱图可以看出，五种化合物均分离良好，其中 α -熊果苷和 β -熊果苷分离度达到 1.775，实现基线分离。

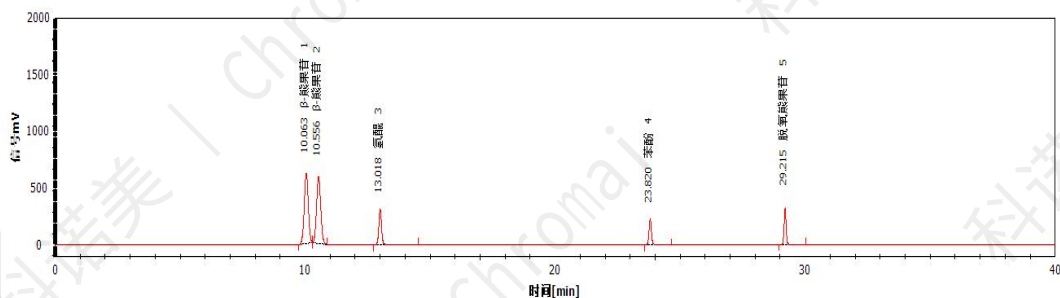


图 1 标准溶液色谱图

(α -熊果苷和 β -熊果苷 1.0 $\mu\text{g/mL}$ 、脱氧熊果苷、氢醌和苯酚 0.2 $\mu\text{g/mL}$)

表 1 系统适应性结果表

Compound	Concentration n ($\mu\text{g/mL}$)	Retention time	Tailing factor	Column efficiency	Resolution n
α - Arbutin	1.0	10.267	1.030	20849.043	-
β - Arbutin	1.0	10.784	1.013	20959.403	1.775
Deoxyarbutin	0.2	13.224	1.042	72694.007	9.871
Hydroquinone	0.2	23.946	1.054	307496.985	58.11
Phenol	0.2	29.293	1.054	632357.618	33.396



2. 线性及灵敏度

由表 2 可知, α -熊果苷和 β -熊果苷在 0.5~50 $\mu\text{g/mL}$, 脱氧熊果苷、氢醌和苯酚在 0.1~10 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内线性关系良好。

表 2 五种化合物线性和检出限、定量限结果表

Compund	Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	Regression equation	Correlation coefficient	LOD (ng/mL)	LOQ (ng/mL)
α - Arbutin	0.5~50	$Y=138.36X+10.349$	$r=1.0000$	3.08	10.25
β - Arbutin	0.5~50	$Y=142.91X+12.460$	$r=1.0000$	3.28	10.95
Deoxyarbutin	0.1~10	$Y=185.31X-8.1111$	$r=0.9999$	1.54	5.13
Hydroquinone	0.1~10	$Y=214.01X-12.108$	$r=0.9999$	1.84	6.14
Phenol	0.1~10	$Y=134.76X+1.2816$	$r=1.0000$	1.43	4.76

3. 重复性

将三种不同浓度的标准溶液分别进样 6 次, 计算各化合物峰面积和保留时间的 RSD%, 结果如表 3 所示, 三个浓度水平下各化合物保留时间 RSD% 均小于 0.2%, 峰面积 RSD% 均小于 0.4%。

表 3 五种化合物重复性结果表

Concentration	Retention time RSD%		Peak area RSD%	
level	α - Arbutin	β - Arbutin	α - Arbutin	β - Arbutin



0.5 µg/mL	0.15%	0.10%	0.24%	0.21%		
10 µg/mL	0.12%	0.09%	0.21%	0.16%		
50 µg/mL	0.06%	0.07%	0.07%	0.09%		
Concentration level	Retention time RSD%			Peak area RSD%		
	Deoxyarbutin	Hydroquinone	Phenol	Deoxyarbutin	Hydroquinone	Phenol
0.1 µg/mL	0.02%	0.08%	0.03%	0.35%	0.39%	0.36%
Concentration level	Retention time RSD%			Peak area RSD%		
	α - Arbutin	β - Arbutin		α - Arbutin	β - Arbutin	

4. 加标回收率

在面霜样本中添加α-熊果苷和β-熊果苷浓度 20 µg/kg，添加脱氧熊果苷、氢醌和苯酚浓度 4 µg/kg，加标回收率结果分别为 95.7%，96.0%，90.1%，98.1%，93.9%。

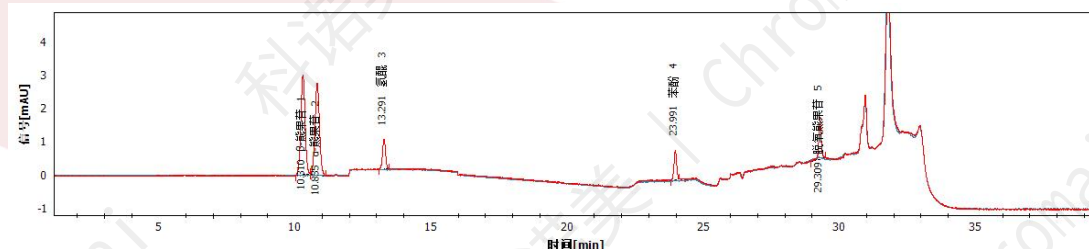


图 2 空白样本（蓝色）和样本加标（红色）色谱图

五、结论

本方案使用科诺美高效液相色谱-荧光检测器同时测定化妆品中α-熊果苷、β-熊果苷、脱氧熊果苷、氢醌和苯酚的含量，该方法线性关系良好，各化合物保留时间 RSD%均小于 0.2%，峰面积 RSD%均小于 0.4%；测试实际样本（面霜）目标峰处无干扰，实际样本加标回收率为 93.9%~98.1%；检出限和定量限满足检测要求。

