

抗坏血酸磷酸酯镁及熊果苷的检测方法进展

杨园园*, 郁荣华, 李勤, 周泽琳

(上海市质量监督检验技术研究院, 上海 200233)

摘要: 本文简要介绍了近年应用十分广泛的美白成分抗坏血酸磷酸酯镁及熊果苷的作用机制以及对人体的影响, 综述了目前采用的多种检测方法, 并对各种检测方法进行比较及分析。目前较为常用的检测方法为液相色谱法, 可以同时检测包含抗坏血酸磷酸酯镁及熊果苷在内的五种美白成分; 另外, 气相色谱-质谱联用法以及液相色谱-质谱联用法也能够检测熊果苷, 而且能得到更低的检出限和较高的回收率, 灵敏度高, 能提高分析效率。但是由于方法中流动相、检测基质等因素, 仍需进一步完善改进检测方法。综合上述方法考虑, 质谱联用以及同时检测多种成分在今后美白成分检测的主要发展方向。

关键词: 美白; 抗坏血酸磷酸酯镁; 熊果苷; 检测方法

Advances in detection method of magnesium ascorbyl phosphate and arbutin

YANG Yuan-Yuan*, YU Rong-Hua, LI Qin, ZHOU Ze-Lin

(Shanghai Institute of Quality Inspection and Technical Research, Shanghai 200233, China)

ABSTRACT: Whitening mechanism and effects on the human body of magnesium ascorbyl phosphate and arbutin are introduced in this paper. The various detection methods currently used for magnesium ascorbyl phosphate and arbutin were summarized, compared and analyzed. The common detection method is liquid chromatography, which can detect five whitening ingredients containing magnesium ascorbyl phosphate and arbutin; in addition, GC/MS and LC/MS/MS method can also detect arbutin, and the detection limit and recovery are better than HPLC. The mass spectrometry and simultaneous detection of multiple components will be the mainstream in the future.

KEY WORDS: whitening; magnesium ascorbyl phosphate; arbutin; detection method

近年来美白类化妆品受到广大消费者的欢迎, 不仅有传统上直接作用于皮肤的化妆品, 另外还推出相应的口服美白化妆品, 产品的表现形式有胶囊、丸、口服冲剂、口服液、精油等。尽管其中添加的部分美白成分可能存在安全性的问题, 但是我国并未对其进行含量限制, 而仅仅是推出了一些检测方法方面的标准加以监控。比较典型的是曲酸, 曲酸能够有效抑制酪氨酸酶的活性, 在对比试验中发现, 现有

的美白成分中, 它的效果最明显。但是曲酸一般从青霉、曲霉等丝状真菌中提取, 可能还有毒性^[1], 在日本则被认定为口服具有致癌性, 已被禁用^[2]。在我国, 曲酸虽未得到广泛应用, 但是也并未限制。

常见的美白成分中, 抗坏血酸磷酸酯镁是还原剂; 熊果苷、曲酸、黄酮类是酪氨酸酶抑制剂; 甘草提取物是黑素细胞毒性剂; 维A酸、亚油酸是黑素运输阻断剂; α -羟基酸是化学剥脱剂等等。目前化妆品

*通讯作者: 杨园园, 工程师, 主要研究方向为食品安全及产品质量检测。E-mail: ylyf2001@163.com

*Corresponding author: YANG Yuan-Yuan, Engineer, Shanghai Institute of Quality Inspection and Technical Research, Shanghai 200233, China. E-mail: ylyf2001@163.com

产品中往往将美白成分复合使用, 以达到抑制黑色素细胞内黑素的生成、影响黑色素细胞的存活和生长、还原淡化已合成的黑素或抑制多巴的自身氧化、干扰及控制黑素的代谢途径、减少外源性因素刺激黑色素的形成的目的^[3]。

通过对市场上的美白产品进行抽样调查, 发现使用最为广泛的美白成分有: 抗坏血酸衍生物、熊果苷、甜菜碱、烟酰胺、甘草提取物、 α -羟基酸、各类氨基酸等。本文中仅对应用较广的抗坏血酸衍生物、熊果苷的检测方法进行阐述。

1 抗坏血酸磷酸酯镁

抗坏血酸磷酸酯镁是维生素 C 的衍生物之一, 具有抑制酪氨酸酶活性、还原黑色素的作用, 而且安全性较好, 但是过量的使用则会干扰皮肤中酪氨酸向黑色素的正常酶转化, 有可能引起皮肤的不良反应^[4]。

较早前的测试方法有电化学方法, 都是以动力学技术为基础, 通过测定不同浓度抗坏血酸磷酸酯镁的测定电流、电势、电量等参数来进行定量^[5]。

另外还有紫外分光光度法, 其原理为在酸性溶液中, 抗坏血酸磷酸酯镁在 237 nm 处有最大吸收, 且符合朗伯-比尔定律, 据此可测定出样品溶液的吸光度, 进而精确计算抗坏血酸磷酸酯镁的百分含量^[6]。

但是紫外分光光度法与电化学方法都不能区分抗坏血酸磷酸酯镁、脱氢抗坏血酸磷酸酯镁、右旋异抗坏血酸磷酸酯镁或其他可氧化的化合物, 而要常常借助于分离手段来提高方法的选择性。近年来, 实验室常用的分析手段则是色谱法, 包括薄层色谱法和液相色谱法^[7]。尤其是液相色谱法得到了飞速的发展, 方法不仅灵敏度高, 而且选择性好, 迅速方便。

Shih 等^[8]采用液相色谱法采用 95% 的 pH 5, 0.5 mol/L 的磷酸盐缓冲液与 5% 的甲醇作为流动相同时测定化妆品中的抗坏血酸磷酸酯镁与曲酸, 前者的检出限可达到 1 mg/L, 精密度为 0.31%。Zhang 等^[9]采用高效液相色谱法, 流动相为磷酸盐: 甲醇=70:30 (v:v), Lichrospher-NH₂ 色谱柱, 在 254 nm 下对作为食品添加剂的抗坏血酸以及抗坏血酸磷酸酯镁进行测定, 后者可达到 95.6%~99.1% 的回收率, 方法检出限为 1 mg/L。目前尚未见质谱在抗坏血酸磷酸酯镁检测方面的应用。

从现有文献看, Zhang 等研究的检验方法采用较

低比率的缓冲溶液, 不易有晶体析出, 对色谱损耗较小, 清洗程序简易, 分析效率更高, 检出限和精密度也能够达到日常检测需求。但是由于食品与化妆品有基质上的差异, 仍需继续研究其前处理方法, 以继续完善和改进检测方法。

2 熊果苷

在不影响细胞增殖的浓度下, 熊果苷可以有效减少黑色素的生成, 也就是说, 它的安全性比较高。熊果苷又叫杨梅苷或熊葡萄叶素, 从植物中提取而得, 是对苯二酚的衍生物, 与对苯二酚不同的是, 它由于具有较好的安全性而得到广泛的应用^[10]。

熊果苷的检测方法有电化学法、色谱法等。据报道, 通过方波伏安法, 检测限可达到 0.18 $\mu\text{mol/L}$, 0~90 $\mu\text{mol/L}$ 的线性范围内相关系数达到 0.9999^[11]。

Lin 等^[12]所报道的美白化妆品中的熊果苷的液相色谱检测方法, 可达到 15 $\mu\text{mol/L}$ 的检出限, RSD < 7.64%。Lamien-Meda A 等^[13]则分别采用气相色谱质谱联用法与液相色谱法检测熊果苷, 并对 RSD、回收率、检出限等指标进行比较, 结果表明采用气相色谱质谱联用法优于液相色谱法。

Kong 等^[14]采用 UPLC/MS/MS 法对苹果汁中的熊果苷进行检测分析, 得出熊果苷的检出限为 0.02 mg/L, 回收率为 75.2%~102.7%, RSD < 8.9%。此方法快速, 灵敏度高。

上述大多数相关文献报道以单独测定美白成分居多, 所以, 尽管检测方法均能满足日常分析的需要, 但由于日益严格的产品安全管理以及生产技术发展的需求, 仍然不断的有多种美白祛斑剂同时测定的研究被报道。如 Huang 等^[15]同时测定化妆品中抗坏血酸磷酸酯镁、抗坏血酸葡糖苷、曲酸、熊果苷、氢醌等五种化合物, 采用 pH 2.5 的 0.05 mol/L 磷酸二氢钾缓冲溶液与甲醇为 99:1 (v:v) 的流动相, C₁₈ 色谱柱为固定相, 在 280 nm 下进行检测, 抗坏血酸磷酸酯镁以及熊果苷均可以得到 1 $\mu\text{g/mL}$ 的检出限, 回收率则为 (94.2 \pm 0.17)% 与 (101.8 \pm 0.95)%, 不仅前处理简单, 检测迅速, 而且检出限、回收率等都比较理想。但是由于缓冲溶液比例十分高, 采用 C₁₈ 色谱柱的情况下, 极易堵塞色谱柱, 而且需要采用大量的试剂冲洗, 损耗较大, 耗时较长, 仍需进一步研究更为简便、效率高的检测方法。

随着现代分析仪器的不断发展, 色谱分离-质谱

联用法越来越呈现出重要的地位, 在分析实验室中, 尤其是 LC/MS/MS 以其灵敏、快速的特点, 在对含量较低、不易分离得到的美白成分分析中显示了独特的优势, 这决定了它在多种美白成分同时测定方面具有广阔的发展前景。同时, 随着美白功效成分朝着高效、安全性高、稳定性好的方向发展, 尽管我们可以判断美白成分的功能, 并检测出成分含量等重要数据, 但是功效成分的检测分析, 不应止于样品分析, 美白成分的含量分析也应与美白效果结合起来, 以适应实际生产需求的变化。

参考文献

- [1] 陈永红, 邹志飞, 王岚, 等. 曲酸对动物的毒性研究及安全性评价[J]. 食品科学, 2007, 28(9): 536-540.
Chen YH, Zhou ZF, Wang L, *et al.* Toxicity Study of Kojic Acid on Animals and Safety Assessment [J]. Food Sci, 2007, 28(9): 536-540.
- [2] 黄娟, 刘艳, 丁涛, 等. 高效液相色谱串联质谱法测定食品中曲酸[J]. 色谱, 2012, 30(6): 578-583.
Huang J, Liu Y, Ding T, *et al.* Determination of kojic acid in foods using high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chin J Chromatogr, 2012, 30(6): 578-583.
- [3] 程艳, 董益阳, 王超, 等. 美白化妆品卫生安全及功效评价[J]. 环境与职业医学, 2006, 23(6): 520-522.
Cheng Y, Dong YY, Wang C, *et al.* Sanitary and Efficacy Evaluation for Whitening Cosmetics [J]. J Environ Occup Med, 2006, 23(6): 520-522.
- [4] Smaoui S, Ben Hlima H, Kadri A. Application of L-Ascorbic Acid and its Derivatives (Sodium Ascorbyl Phosphate and Magnesium Ascorbyl Phosphate) in Topical Cosmetic Formulations: Stability Studies [J]. J Chem Soc PAK, 2013, 35(4): 1096-1102.
- [5] Ballantine J, Woolfson AD. The application of differential pulse voltammetry at the glassy carbon electrode to multivitamin analysis [J]. J Pharm Pharmacol, 1980, 32(1): 353-356.
- [6] 张玮. L-抗坏血酸-2-磷酸酯镁的合成及提纯研究[D]. 北京: 北京化工大学, 2006.
Zhang W. Study on synthesis and purification of magnesium L-ascorbate-2-phosphate [D]. Beijing: Beijing University of Chemical Technology, 2006.
- [7] 刘云. 食品、生物样品和药物中抗坏血酸的检测[J]. 化学试剂, 1994, 16(5): 282-288.
Liu Y. Test method of ascorbic acid in food, pharmaceutical and biological samples [J]. Chin Reagent, 1994, 16(5): 282-288.
- [8] Shih Y. Simultaneous determination of magnesium L-ascorbyl-2-phosphate and kojic acid in cosmetic bleaching products by using a microbore column and ion-pair liquid chromatography [J]. J AOAC Int, 2001, 84(4): 1045-1049.
- [9] Zhang CY, Zhou XZ. Study on simultaneous determination of vitamin C and vitamin C phosphate in premix feed by high performance liquid chromatography method [J]. China Feed, 2010, 10: 18.
- [10] Jin W, Wang WY, Zhang YL, *et al.* Determination of phenolic whitening agents in cosmetics by micellar electrokinetic capillary chromatography with amperometric detection [J]. Chin Chem Letters, 2013.
- [11] Shih Y, Zen JM. An electrochemical sensor based on a clay-coated screen-printed electrode for the determination of arbutin [J]. Anal Chim Acta, 2000, 412(1): 63-68.
- [12] Lin CH, Wu HL, Huang YL. Microdialysis sampling coupled to on-line high-performance liquid chromatography for determination of arbutin in whitening cosmetics [J]. J Chromatogr B, 2005, 829(1): 149-152.
- [13] Lamien-Meda A, Lukas B, Schmider C, *et al.* Validation of a quantitative assay of arbutin using gas chromatography in Origanum majorana and Arctostaphylos uva-ursi extracts [J]. Phytochem Anal, 2009, 20(5): 416-420.
- [14] Kong X, He Q, Yue A, *et al.* Determination of arbutin in apple juice concentrate by ultra performance liquid chromatography with electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. Chin J Chromatogr, 2010, 28(6): 632-634.
- [15] Huang SC, Lin CC, Huang MC, *et al.* Simultaneous determination of magnesium ascorbyl phosphate, ascorbyl glucoside, kojic acid, arbutin and hydroquinone in skin whitening cosmetics by HPLC [J]. J Food Drug Anal, 2004, 12(1): 13-18.

(责任编辑: 项丽霞)

作者简介

杨园园, 工程师, 主要研究方向为食品安全及产品质量检测。
E-mail: ylyf2001@163.com