

研究简报

化妆品和食品中曲酸的高效液相色谱 ——电化学安培检测方法

钱 疆¹ 王凯云² 杨 方²

(1. 福州大学, 福建, 福州 350002; 2 福建检验检疫局, 福建, 福州 350001)

摘 要: 本文提出用高效液相色谱——安培检测食品或化妆品中曲酸的新方法。采用玻碳电极氧化电流 1.1V 检测, 使用 C_{18} 柱, 流动相为 20mM KH_2PO_4 (pH = 3)。在 20 μ L 进样下, 检测限可达 0.2ng, 线性范围 0.2ng~2 μ g。方法回收率为 86~91%。方法具有选择性好, 灵敏高的优点。

关键词: 曲酸; HPLC; 电化学; 食品; 化妆品

Determination of the kojic acid in food or cosmetic with the HPLC - electrochemistry detector

Qian Jiang¹ Wang Kaiyun² Yang Fang²

(1. Fuzhou University Fuzhou, Fujian, 350002; 2 Fujian Inspection and quarantine Bureau, Fuzhou, Fujian, 350001)

Abstract: In this article, a high performance liquid chromatographic (HPLC) method with the electrochemistry detector for the determination of the kojic acid in food or cosmetic product was studied. The oxidation current of 1.1V is applied on the glassy carbon electrode with the column of ODS C_{18} and the mobile phase 20mM KH_2PO_4 (pH = 3). The linearity ranges from 0.2ng~2 μ g when the 20 μ L sample is injected. The detection limit is 0.2ng with the recovery rate of 86~91%. This method is characterized by high specificity and sensitivity in the complex matrix.

Key words: Kojic acid; HPLC; electrochemistry detection; Food; cosmetic

曲酸, 化学名称为 5-羟基-2-羟甲基-1,4-吡喃酮, 具有弱酸性, 易溶于水, 醇, 丙酮, 微溶于乙醚, 乙酸乙酯, 氯仿和吡啶。它是曲霉菌、醋酸菌属、青霉菌生成代谢物, 做为多种酶如动植物多酚氧化酶的竞争体和抑制剂, 被广泛用于做为食品的抗氧化剂和化妆品的增白剂。曲酸广泛使用在日本, 1989年被日本厚生省批准作为食品抗氧化剂, 主要添加在酱油、日本米酒、及甜面酱中。由于近年来有报道说在毒理试验中, 发现大剂量喂服小白鼠会发生甲状腺瘤, 因而日本已修改食品法典, 禁止做为食用添加剂使用。在国内曲酸及其衍生物主要应用在化妆品中作为美白护肤用品。如化妆乳液, 护肤霜等美白化妆品。20 μ g/mL 就可以抑制。

国内外已有报道的曲酸检测方法主要有分光光度法^[1]、薄层色谱法^[2]、气相色谱法^[2]、高效液相色谱紫外检测方法^[3]、化学传感器法^[4]。由于分光法、薄层法难以准确定性; 气相色谱法需要衍生化, 操作较繁琐。液相色谱检测可以较好的满足定性及定量的要求, 已有报道的液相色谱法采用紫外检测。由于曲酸分子结构中含有易被氧化的烯醇式结构, 且其在食品中是作为一种抗氧化剂, 易被氧化, 本文尝试采用电化学安培检测, 建立了液相色谱——安培检测食品和化妆品中的曲酸的新方法, 检测限灵敏高, 选择性好。

1 实验部分:

收稿日期: 2005 - 2 - 23

作者简介: 钱疆 (1975 -), 工程师, 在职研究生, 主要从事食品理化分析工作。E-mail: tigergj@163.com

1.1 设备与试剂

KH_2PO_4 、浓硫酸、无水乙醚、均为分析纯。去离子水。标准品曲酸购自 sigma 公司 (k3125)。

美国戴安公司 DX-500 离子液相色谱仪配 ED40 电化学检测器, 工作电极玻碳电极, 参比电极 Ag/AgCl , 直流安培模式。色谱柱 (美国 waters xterra) 4.6mm $\times$ 250mm $5\mu\text{mC}_{18}$ 柱配保护柱: waters 公司 Sep-pak C_{18} 预处理小柱。

1.2 标准品的配制和标准曲线的绘制

标准储备液: 称取 10mg 曲酸标准品, 用经过超声脱氧的去离子水溶解, 定容 100mL, 含浓度为 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的曲酸, 置于 4°C 保存。可以使用 1 个月。

标准工作液: 分别取上述溶液 0.5, 1.5, 10, 20, 50mL 到 100mL 容量瓶, 去离子水定容, 1mL 分别含有 0.5, 1.5, 10, 20, 50 μg 的曲酸, 分别进样 20 μL , 以峰面积对浓度作曲线, 外标法定量。

1.3 流动相

流动相 25mM KH_2PO_4 , 用磷酸调 $\text{pH} = 3$, 流速 1.0mL/min, 柱温 40°C

2 样品前处理

2.1 固体样品

称取 5g 样品, 加入 30mL 去离子水, 超声振荡后, 用水定容 50mL, 离心 (3000rpm) 5 分钟, 取上清液 10mL。加入 9mol/L 硫酸 1mL, 用无水乙醚 30mL 提取 3 次, 合并上层乙醚, 减压浓缩至干, 残留物用水 5mL 溶解。调 pH 至 8, 过 Sep-Pak 小柱, 后过 0.45 μm 滤膜上机。

液体样品称取 5g, 加水 10mL 溶解, 加入 9mol/L 硫酸 1mL, 用无水乙醚 30mL 提取 3 次, 以下同上述 2.1 固体样品处理过程。

3 结果与讨论

3.1 氧化电位的选择

曲酸具有易被氧化的烯醇式结构 (如图 1)。采用玻碳电极, 施加氧化电位, 在流动相为 20mM KH_2PO_4 $\text{pH} = 3$, 流速物为 1mL/min 下以施加的电位

与峰高 (20 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 作图, 可知峰电位在 1.1V 时峰面积达到最大值, 大于 1.1V 时随着电压的增大, 信号变化不大, 而噪音迅速增大, 因而选择 1.1V 作为实际工作电位。

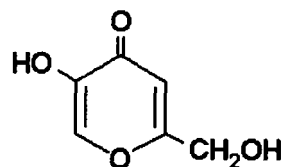


图 1 曲酸的结构

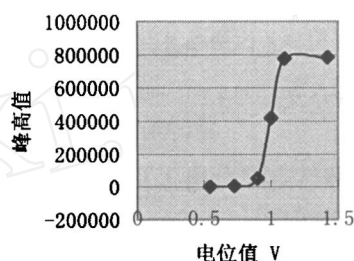


图 2 氧化电压对峰高的影响

3.2 流动相盐浓度及 pH 的选择

电化学安培检测, 需要在流动相加入一定的盐作导电物质, 我们加入常用的磷酸盐, 分别配制 5、10、20、50、100mmol/L, 发现在大于 20mmol/L 信号变化不大, 因此选择 20mmol/L。

已知曲酸的酸电离常数 $\text{pK}_a = 7.98$, 通过调节 pH 发现, 在 $\text{pH}10$ 以上完全解离, 在 $\text{pH}4$ 以下, 曲酸的保留时间变化不大。我们选择 $\text{pH} = 3$ 的流动相。

3.3 热稳定性的研究

25°C , 取 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 曲酸标准避光放置。2 周后, 峰面积变化小于 10%; 另取一份标准溶液水浴加热 80°C , 1h 后, 峰面积下降至 70%。因此在前处理过程中要避免长时间加热, 样液处理后尽量置于 4°C 避光保存, 立即上机分析。

3.4 检测限, 线性范围

以标准直接进样, 以信噪比为 5 计算, 进样量为 20 μL , 检测限 0.2ng, 其线性范围在 0.2ng - 2 μg 。

3.5 回收率试验

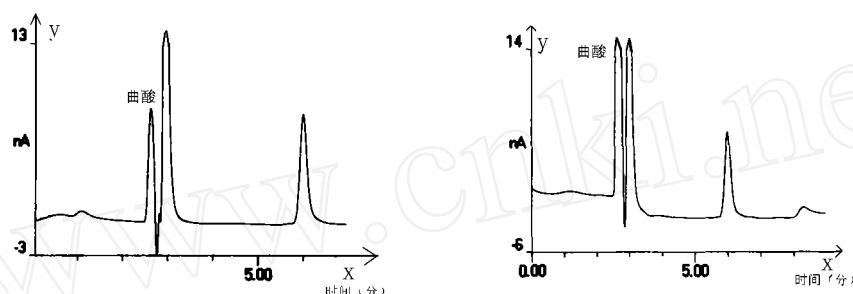
在洗面奶, 防晒霜, 酱油, 甜面酱中分别添加 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ($n = 5$), 回收率如下表 1:

表 1 曲酸回收试验结果

样品	加入量 ($\mu\text{g/ml}$)	测定值 (n=5)	平均回收率 (%)
洗面奶	20	18.04, 18.60, 17.52, 18.12, 18.90	91%
防晒霜	20	17.45, 17.90, 18.21, 18.20, 18.46	90%
酱油	20	16.90, 17.08, 18.12, 17.86, 18.24	88%
甜面酱	20	16.26, 18.19, 16.44, 17.18, 18.22	86%

4 前处理的探讨

由于曲酸易溶于水,在处理食品样品时中易带入水溶性杂质,我们采用在强酸性下,抑制曲酸离子化,用无水乙醚提取,减少水溶性干扰;对于食品及化妆品中的脂溶性物质,采用挥干乙醚后水溶解,调节 pH 弱碱性后,过 Sep - Pak_{C18}小柱以去除少量脂溶性杂质,图 3 为曲酸标准图谱 (1.5 $\mu\text{g/mL}$) 和某美白化妆品中的曲酸图谱。

图 3 曲酸标准图谱 (1.5 $\mu\text{g/mL}$) (左图) 和某美白化妆品图谱 (右图)

5 小结

本文应用曲酸的烯醇结构易氧化特点,建立了电化学安培检测食品、化妆品中曲酸的新方法。20 μL 进样检测限可达 0.2 ng, 线性 0.2 ng - 2 μg , 回收率在 86~91%。

参考文献:

- [1] 陈菲. 比色法测定曲酸霜中曲酸的含量. 中国现代应用医学. 1997, 14 (8): 52 - 53

- [2] George A, Madhusudan G, Iana G, Evaluation of Health Aspects of Kojic Acid in Food Regulatory Toxicology and Pharmacology 2001, 33, 80 - 101.
[3] 赵珊, 李业鹏, 赵海燕等. 离子对高效液相色谱法分析米曲霉发酵液中的曲酸. 卫生研究. 2003, 32 (4): 384—385.
[4] Katrin S, Helvi K, Christian G Application of a sensitive catechol detector for determination of tyrosinase inhibitors, Analytica Chimica Acta 362 (1998) 81 - 90.

(上接第 2211 页) 催化光度法测定痕量银——银 - 过硫酸钾 - 甲基紫 - 十二烷基苯磺酸钠体系 [J]. 分析科学学报, 2003, 19 (6): 567~569.

- [8] 黄晓东, 陈美珠, 庄建文, 洪惠君. 以十二烷基苯磺酸钠为增溶剂催化光度法测定痕量银 [J]. 光谱实验室, 2003, 20 (5): 757~760.

- [9] Weast R C (Ed). Handbook of Chemistry and Physics CRC, 55th ed, Clere Land: CRC Press Inc, 1975, B - 232.
[10] Dean J A. Lange's Handbook of Chemistry McGraw - Hill, 12th ed, New York: McGraw - Hill Book Company 1979: 5~11.