离子色谱法测定化妆品中的海藻糖

许　丽，周光明，余　娜，张丽贤，熊建飞
（西南大学 化学化工学院，重庆　400715）

摘要：建立了一种高效阴离子交换－脉冲安培检测（HPAE－PAD）测定化妆品中海藻糖的方法。采用不同的样品前处理方法，用METROSEP CARB 1分离柱（150 mm×4.0 mm）进行分离，以200.0 mmol·L^{-1}的NaOH溶液为流动相进行洗脱，7 min内可完成对样品的分析。结果表明，海藻糖的检出限为0.02 mg·L^{-1}，峰面积的相对标准偏差为0.17%，保留时间的相对标准偏差为0.28%；化妆品中常见的甘油和丙二醇不会对其测定产生干扰，平均回收率为95.2%～99.2%。

关键词：化妆品；海藻糖；离子色谱法；脉冲安培检测
中图分类号：TQ658　　**文献标识码：**A　　**文章编号：**1001－1803（2012）01－0076－03

Quick determination of trehalose in cosmetics by ion chromatography

XU Li，ZHOU Guang－ming，YU Na，ZHANG Li－xian，XIONG Jian－fei
（School of Chemistry and Chemical Engineering，Southwest University，Chongqing　400715，China）

Abstract: An analysis method for determining trehalose in cosmetics based on high performance anion exchange chromatography with pulsed amperage detection（HPAE－PAD）was established. Various sample pretreatment methods were adopted. The samples were analyzed by ion chromatography with METROSEP CARB 1 column（150 mm×4.0 mm）. NaOH solution of 200.0 mmol·L^{-1} was used as the mobile phase for elution. Analysis of a sample can be completed within 7 min. The detection limit of trehalose was 0.02 mg·L^{-1}. The RSD of peak area achieves 0.17%，and the RSD of retention time achieves 0.28%. Glycerol and propylene glycol which can be easily found in cosmetics have no interference on the determination of the trehalose. The average recoveries achieves 95.2%～99.2%.

Key words: cosmetics; trehalose; ion chromatography; pulsed amperage detection

海藻糖是由两个葡萄糖分子以α，α，1，1－糖苷键构成的稳定的非还原性双糖，广泛存在于自然界的动植物和微生物中。海藻糖对酸和热都非常稳定[1]，即使在高温、高寒及高渗透压等恶劣的条件下，海藻糖也能在细胞表面形成独特的保护膜，有效地保护生物分子内部结构不被破坏，从而维持生命体正常的生命过程和生物特征[2-4]。由于这些独特的功能，海藻糖在保湿类化妆品中得到广泛的应用。但到目前为止，国内化妆品中海藻糖的添加量尚无统一的国家标准和行业标准。为保证化妆品质量，有必要建立一种简便、快速测定化妆品中海藻糖的分析方法。

目前，关于海藻糖的分析方法主要有纸层析分离洗脱法[5]、蒽酮－硫酸法[6]、高效液相色谱法[7]、气相色谱法[8]等。纸层析分离洗脱法和蒽酮－硫酸法操作繁琐，干扰较大，准确度和重现性较差；气相色谱法准确度和重现性较高，但需要使用衍生化试剂，操作繁琐；高效液相色谱法能同时测定样品中的海藻糖、果糖、蔗糖、麦芽糖等[9]，但海藻糖的出峰时间太长；而离子色谱法不需要使用衍生化试剂，操作简单，准确度和重现性高，检出限低，是分析海藻糖的一种有效方法。目前，已有采用离子色谱法测定海藻糖的研究报道[10]，而用离子色谱法测定化妆品中海藻糖的研究未见文献报道。作者以NaOH溶液为淋洗液，建立了高效阴离子交换－脉冲安培检测（HPAE－PAD）测定化妆品中海藻糖的方法，以期为化妆品中海藻糖的检测和监控提供一种简单、快速、准确、检出限低的方法。

收稿日期：2011－08－09；修回日期：2011－11－22
基金项目：科技部重大专项资助项目（2008ZX07315）；重庆市自然科学基金资助项目（CSTC2007BB5370）
作者简介：许　丽（1985－），女，四川资阳人，硕士研究生，电话：13883713031，E－mail：xuli1103@163.com。
通讯联系人：周光明，教授，博士后，电话：13983364339，E－mail：gmzhou@swu.edu.cn。

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

1　实验部分

1.1　主要仪器和试剂

861 Advanced Compact IC 离子色谱仪,817 Bioscan脉冲安培检测器,METROSEP CARB 1 分离柱(150 mm×4.0 mm),Metrohm IC－Net 2.3 色谱工作站,瑞士万通公司;TGL－16G 高速离心机,上海安亭科学仪器厂;隔膜真空泵,天津市腾达过滤器件厂;0.45 μm 微孔滤膜,北京卓信伟业科技有限公司;超声波清洗器,上海必能信超声波有限公司;电子分析天平,梅特勒－托利多仪器上海有限公司。1,2－丙二醇,分析纯,宁波大川精细化工有限公司;甘油、*D*－海藻糖,生化试剂,成都市科龙化工试剂厂;甲醇、NaOH,分析纯,重庆川东化工集团有限公司;4 种化妆品,市购;超纯水,电阻率 18.2 MΩ·cm。

1.2　标准溶液的配制

精密称取海藻糖、甘油标准样品各 0.100 0 g,分别用超纯水溶解并定容于 100 mL 容量瓶中,配成质量浓度为 1 000 mg·L^{-1}的标准储备液。用移液管准确移取 1.0 mL 丙二醇于 100 mL 容量瓶中,用超纯水定容至刻度,配成体积分数为 1% 的标准储备液。

分别准确移取 0.1,0.5,1.0,2.0,3.0 和 4.0 mL 海藻糖标准储备液于 100 mL 容量瓶中,用超纯水定容至刻度,得到质量浓度分别为 1.0,5.0,10.0,20.0,30.0 和 40.0 mg·L^{-1}的海藻糖标准溶液。分别移取 1.0 mL 甘油、丙二醇、海藻糖的标准储备液,配制成质量浓度为 10.0 mg·L^{-1}的混合标准溶液。

1.3　样品前处理

称取膏状化妆品约 0.5 g,分别加入 10.0 mL 甲醇和 10.0 mL 超纯水,超声提取 20 min,离心、过滤,然后将得到的清液定容于 100 mL 容量瓶中。准确移取 1.0 mL 水状化妆品至 100 mL 容量瓶中,加入超纯水定容至刻度,摇匀备用。分别移取 2.0 mL 上述处理后的样品溶液于 100 mL 容量瓶中,用超纯水定容、摇匀,用 0.45 μm 微孔滤膜过滤,待测。

1.4　色谱条件

色谱柱为 METROSEP CARB 1 分离柱(150 mm×4.0 mm);采用 200.0 mmol·L^{-1}的 NaOH 溶液等梯度洗脱;淋洗液流速为 1.0 mL·min^{-1};柱温为 33 ℃;检测条件为脉冲安培检测器;进样量为 20 μL。以保留时间定性,峰面积(外标法)定量。

2　结果与讨论

2.1　色谱条件的选择

采用阴离子交换－脉冲安培检测(HPAE－PAD)分析糖类时,常使用 NaOH 溶液和醋酸盐溶液作为淋洗液。因为糖在强碱性条件下会部分或全部以阴离子形式存在,可以在阴离子交换柱上被保留而得以分离。NaOH 所提供的强碱性条件还可以使安培检测器对糖有较高的响应灵敏度,所以,实验选用 NaOH 溶液作为淋洗液。结果表明,海藻糖的保留时间随着 NaOH 溶液浓度的增大而缓慢缩短。当 NaOH 溶液浓度为 200.0 mmol·L^{-1}时,海藻糖与化妆品中常见的甘油和丙二醇具有良好的分离效果,且在 7 min 内能完成对样品的分析。若选用低浓度的 NaOH 溶液作为淋洗液,分析时间会延长且每次进样前需要用较高浓度的 NaOH 溶液进行再生处理,操作繁琐。因此,实验中选用 200.0 mmol·L^{-1}的 NaOH 溶液为淋洗液。

按优化的色谱条件测定海藻糖、甘油、丙二醇的混合标准溶液,调节流速分别为 1.0,0.9,0.8,0.7 和 0.6 mL·min^{-1},海藻糖的保留时间从 3.1 min 延长到 5.1 min,但对海藻糖与甘油及丙二醇的分离程度影响很小。因此,选用 1.0 mL·min^{-1}的流速,此时海藻糖标准溶液的色谱图见图 1。

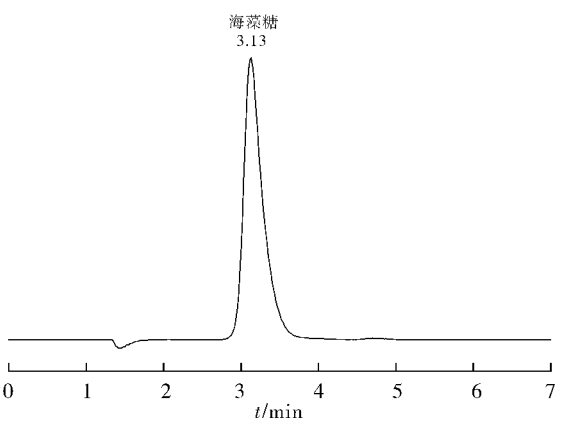

图 1　海藻糖的色谱图

Fig. 1　Chromatogram of trehalose

2.2　线性范围与检出限

在优化的色谱条件下,分别测定质量浓度为 1.0,10.0,20.0,30.0 和 40.0 mg·L^{-1}的海藻糖标准溶液。以质量浓度(ρ,mg·L^{-1})为横坐标,峰面积(A)为纵坐标进行线性回归。回归方程为 $A = 2\ 106.28\rho + 393.67$,相关系数 $r = 0.999\ 95$,海藻糖在 1.0～40.0 mg·L^{-1}内线性关系良好。稀释低质量浓度的标准溶液,确定海藻糖的检出限为 0.02 mg·L^{-1}。

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

2.3 精密度

按照1.4的色谱条件，连续8次测定质量浓度为10 mg·L^{-1}的海藻糖标准溶液，得到峰面积的相对标准偏差为0.17%，保留时间的相对标准偏差为0.28%。由此可知，该方法的精密度良好。

2.4 其他物质的影响

甘油和丙二醇是化妆品中常见的保湿剂，可帮助化妆品中的活性成分渗入肌肤。按照1.4的色谱条件测定甘油、丙二醇、海藻糖的混合标准溶液。结果表明，甘油和丙二醇的出峰时间相近，色谱峰重叠，但出峰时间均比海藻糖短，不会干扰海藻糖的测定，测定结果见图2。

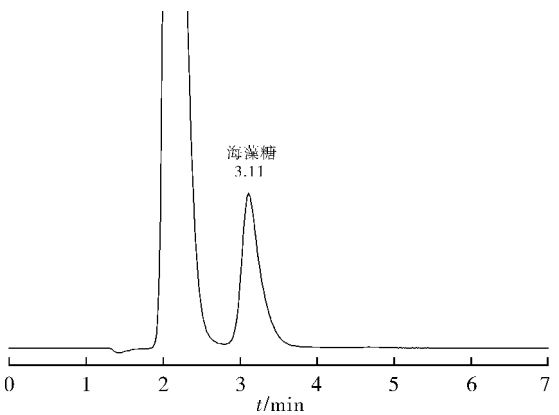

图2　混合标准溶液的色谱图

Fig. 2　Chromatogram of the mixed standard solution

2.5 样品色谱图

按照1.3节进行样品前处理，将处理好的样品按照1.4节的色谱条件进行分析，色谱图见图3。

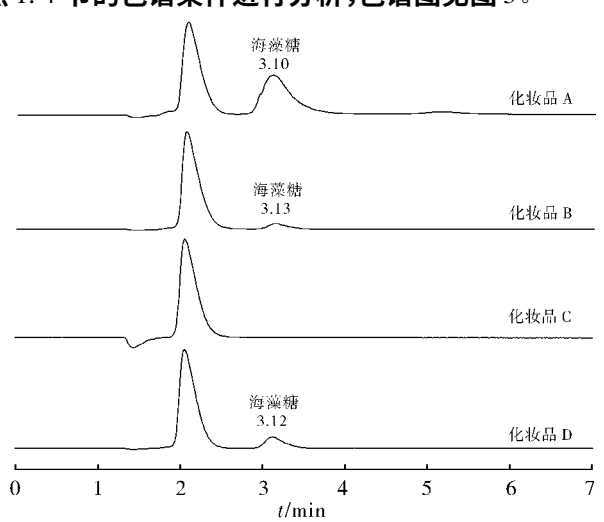

图3　4种化妆品的色谱图

Fig. 3　Chromatogram of four kinds of cosmetic product

由图3可知，在所测定的4种成分表中均标注有海藻糖的样品中，其中3种含有海藻糖，且含量不同，1种未检测出。实际样品的分析测定在5 min内完成，且样品中的其他杂质不会影响海藻糖的测定。

2.6 样品加标回收率

分别在2.5节所测定的4种不同的样品中添加适量的标准物质，按照1.3进行处理，处理所得溶液按照1.4的色谱条件进行测定，得到海藻糖的加标回收率见表1。由表1可知，样品加标回收率为95.2%～99.2%，回收率高，可以用于实际样品的测定。

表1　回收率的试验结果($n=3$)

Tab. 1　Results of recoveries ($n=3$)

样品	本底值 /(mg·L^{-1})	加标值 /(mg·L^{-1})	测定值 /(mg·L^{-1})	回收率 /%
化妆品A	3.47	2.50	5.85	95.2
化妆品B	0.69	2.50	3.17	99.2
化妆品C	0.00	2.50	2.42	96.8
化妆品D	1.71	2.50	4.12	96.4

3 结论

建立了一种高效阴离子交换－脉冲安培检测(HPAE－PAD)测定化妆品中海藻糖的方法。峰面积的相对标准偏差为0.17%，保留时间的相对标准偏差为0.28%；化妆品中常见的甘油和丙二醇不会对海藻糖的测定产生干扰。在选用的4种成分表中均标注有海藻糖的化妆品中，检测出其中3种产品含有海藻糖，1种不含海藻糖。方法选择性好、灵敏度高，可用于实际样品的测定。

参考文献：

[1] 张丽杰，张雪莲，邸进申. 新型食品添加剂海藻糖的发展前景[J]. 中国食品添加剂，2004(2)：61－65.

[2] 李毅，章宗维，袁勤生. 胁迫条件下海藻糖的代谢调控及保护作用[J]. 药物生物技术，2000，7(4)：248－250.

[3] 彭亚锋，周耀斌，李勤，等. 海藻糖的特性及其应用[J]. 中国食品添加剂，2009(1)：65－69.

[4] RICHARDS A B，KRAKOWKA S，DEXTER L B，et al. Trehalose: A review of properties，history of use and human tolerance，and results of multiple safety studies[J]. Food and Chemical Toxicology，2002，40：871－898.

[5] 王兰，肖冬光. 纸层析分离洗脱法定量测定海藻糖[J]. 生物技术，2002，12(3)：27－29.

[6] 李艳玲，史仁玖，张显忠，等. 蒽酮－硫酸法测定泰山灰树花中海藻糖含量的研究[J]. 食品科学，2009，30(8)：218－220.

[7] 魏泱，丁明玉. 高效液相色谱分离－蒸发光散射检测法测定海藻糖的纯度[J]. 分析试验室，2001，20(1)：5－7.

[8] 赵华，何聪芬，秦允荣，等. 气相色谱检测芦荟中海藻糖方法的建立[J]. 吉首大学学报：自然科学版，2009，30(1)：79－83.

[9] 甘宾宾. 高效液相色谱法测定海藻糖[J]. 化工技术与开发，2003，32(1)：22－23.

[10] 王荔，葛良法. 离子色谱法测定抗逆转基因水稻中的海藻糖[J]. 化学研究，2009，20(4)：80－82.

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net