2026 年 5 月 色 谱 Vol.44 No.5
May 2026 Chinese Journal of Chromatography 565~574

研究论文 DOI: 10.3724/SP.J.1123.2025.09016

超高效液相色谱-二极管阵列检测器串联电雾式检测器法测定化妆品中 6 种美白功效成分

李晓芳[1]， 王 晔[1]， 凡 凡[1]， 周 伟[1]， 陈 斌[2]， 史华进[3]， 蔡国强[1]，
刘 英[1*]， 何一波[4*]

（1. 纳爱斯浙江科技有限公司，浙江 杭州 310056；2. 南京野生植物综合利用研究所，江苏 南京 211100；
3. 赛默飞世尔科技（中国）有限公司，上海 201206；4. 纳爱斯集团有限公司，浙江 丽水 323000）

摘要：建立了一种超高效液相色谱-二极管阵列检测器串联电雾式检测器（UPLC-PDA-CAD）测定化妆品中乙酰壳糖胺、氨甲环酸、烟酰胺、苯乙基间苯二酚、光甘草定及抗坏血酸四异棕榈酸酯 6 种美白成分的分析方法。样品用二氯甲烷和水涡旋提取，收集二氯甲烷层和水层；水层经二氯甲烷洗涤后，合并二氯甲烷相，氮吹浓缩至<1 mL 并以异丙醇定容。水层和异丙醇定容液分别过滤，注入液相色谱仪，通过 Waters HSS T3 柱（150 mm×2.1 mm，1.7 μm）分离。流动相为异丙醇-乙腈-20 mmol/L 乙酸铵缓冲液（甲酸调节 pH 至 4.0），采用梯度洗脱方式，以二极管阵列检测器串联电雾式检测器进行检测，外标法定量。分别对样品前处理方法和色谱条件进行了优化。在优化的实验条件下，6 种美白功效成分在一定范围内线性关系良好，相关系数（r）均>0.999，在乳、霜、油 3 种化妆品基质中的加标回收率为 92.8%~110.1%，相对标准偏差（RSD，n=6）为 0.12%~5.54%。对市售的 7 款化妆品进行检测，检出的美白成分与产品包装标示成分一致，但各成分含量差异较大。烟酰胺的使用频率和测得含量均较高，5 款产品的测试结果为 0.19%~2.29%。该方法操作简便，稳定可靠，重复性好，适用于化妆品中这几种极性差异显著的美白成分的检测。

关键词：超高效液相色谱；二极管阵列检测器；电雾式检测器；美白成分；化妆品

中图分类号：O658 **文献标识码**：A

Determination of six whitening ingredients in cosmetics by ultra performance liquid chromatography coupled with photodiode array detector and corona charged aerosol detector

LI Xiaofang[1], WANG Ye[1], FAN Fan[1], ZHOU Wei[1], CHEN Bin[2], SHI Huajin[3], CAI Guoqiang[1], LIU Ying[1*], HE Yibo[4*]

(*1. NICE Zhejiang Technology Co. Ltd., Hangzhou 310056, China; 2. Nanjing Institute for Comprehensive Utilization of Wild Plants, Nanjing 211100, China; 3. Thermo Fisher Scientific (China) Co. Ltd., Shanghai 201206, China; 4. NICE Group Co.,Ltd., Lishui 323000, China*)

Abstract: Whitening is a core function of cosmetics, and ingredients including acetyl glucosamine, tranexamic acid, nicotinamide, phenethyl resorcinol, glabridin, and ascorbyl tetraisopalmitate are widely used due to their clearly established whitening mechanisms. However, existing analytical methods face notable limitations: photodiode array detectors (PDA) cannot reliably detect weakly or non-ultraviolet (UV)-absorbing components; evaporative light scattering detectors (ELSD) suffer from inadequate sensitivity for low-concentration analytes; mass spectrometry (MS) is costly; and

收稿日期：2025-10-14

* **通信联系人**. Tel：0571-85398708，E-mail：liuying@cnnice.com（刘英）；Tel：0571-85398706，E-mail：hyb@cnnice.com（何一波）.

基金项目：中华全国供销合作总社科技创新项目（GXKJ-2024-006）.

Foundation item: Science and Technology Innovation Project of All China Supply and Marketing Cooperatives (No. GXKJ-2024-006).

本文为“赛默飞专辑”稿件.

single-column cannot achieve the separation of ingredients with significantly different polarities. To address these challenges, this study established an analytical method for the determination of the six whitening ingredients in cosmetics using ultra performance liquid chromatography coupled with a photodiode array detector and a corona charged aerosol detector (UPLC-PDA-CAD). For sample pretreatment: 0.2 g of sample was weighed, and 10 mL dichloromethane and 10 mL deionized water were added for vortex extraction of whitening ingredients. The mixture was then centrifuged for phase separation. The aqueous layer and dichloromethane layer were collected separately. The aqueous layer was washed twice with dichloromethane; all dichloromethane fractions were combined, concentrated to less than 1 mL under a nitrogen stream, and finally made up to volume with isopropanol. Both the aqueous layer and the reconstituted isopropanol solution were filtered through 0.22 μm hydrophilic polytetrafluoroethylene (PTFE) membranes before UPLC injection. For chromatographic separation, a Waters HSS T3 column (150 mm×2.1 mm, 1.7 μm) was selected. The column temperature was set at 40 ℃, the injection volume was 1 μL, and the flow rate was 0.3 mL/min. The mobile phase consisted of isopropanol, acetonitrile, and 20 mmol/L ammonium acetate solution (pH adjusted to 4.5 using formic acid), using a gradient elution program. For detection, a tandem PDA-CAD system was used: PDA (scan range 200–400 nm) was employed for components with UV absorption, while CAD (nebulization temperature 35 °C, acquisition frequency 5 Hz) was used for components with weak UV absorption. Quantification was performed using the external standard method.Method validation results showed good linear relationships for all six whitening ingredients within their respective concentration ranges. The correlation coefficients (r) were all greater than 0.999. The limits of detection (LODs, S/N=3) were 5.0–50.0 μg/g, and the limits of quantification (LOQs, S/N=10) were 12.0–120.0 μg/g. Spiked recovery tests were conducted on negative cosmetic matrices (emulsion, cream, oil) at low, medium, and high levels. The recoveries ranged from 92.8% to 110.1%, and the relative standard deviations (RSDs, n=6) were 0.12%–5.45%, indicating excellent precision and accuracy. This method was applied to seven commercially cosmetics. The results revealed that all target whitening ingredients declared on the product labels were detected, with significant differences in their content. Nicotinamide was the most frequently detected compound, found in five products, and also exhibited the highest concentrations, ranging from 0.19% to 2.29%. Phenethyl resorcinol was detected in three products, with contents ranging from 0.02% to 0.52%. Ascorbyl tetraisopalmitate was detected in two products, at 0.09% and 3.08%, respectively. Acetyl glucosamine, tranexamic acid, and glabridin were each detected in only one product. In conclusion, this established UPLC-PDA-CAD method is simple, efficient, sensitive and accurate. It effectively overcomes the technical challenge of detecting whitening ingredients with widely varying polarities, offering reliable technical support for cosmetic quality control, regulatory supervision, and evaluation of product whitening efficacy and potential sensitization risks.

Keywords: ultra performance liquid chromatography (UPLC); photodiode array detector (PDA); corona charged aerosol detector (CAD); whitening ingredients; cosmetics

引用本文:李晓芳,王晔,凡凡,周伟,陈斌,史华进,蔡国强,刘英,何一波. 超高效液相色谱-二极管阵列检测器串联电雾式检测器法测定化妆品中6种美白功效成分. 色谱,2026,44(5):565-574.

LI Xiaofang, WANG Ye, FAN Fan, ZHOU Wei, CHEN Bin, SHI Huajin, CAI Guoqiang, LIU Ying, HE Yibo. Determination of six whitening ingredients in cosmetics by ultra performance liquid chromatography coupled with photodiode array detector and corona charged aerosol detector. Chinese Journal of Chromatography, 2026, 44(5): 565-574.

美白作为化妆品的核心功效之一,主要通过抑制酪氨酸酶活性、阻断黑色素转运、抗氧化等机制改善肤色[1-6],现已成为消费者首要诉求,市场规模持续扩大。烟酰胺、苯乙基间苯二酚、光甘草定等成分因美白功效机制明确,而被广泛应用于乳液、膏霜、油类等各类化妆品中[6,7]。例如,烟酰胺抑制黑色素小体转运,氨甲环酸间接抑制黑素细胞活化与黑素释放,乙酰壳糖胺可促进角质代谢,光甘草定和间苯二酚类衍生物则通过抑制酪氨酸酶活性减少黑色素生成[8]。这些成分的合理添加是产品功效的保障,因此建立高效准确的检测方法对产品质量控制至关重要。

目前,化妆品中美白成分的检测以色谱及色谱-质谱联用技术为核心[1,4,9],其在中国市场遵循的主要法规依据有 2015 版《化妆品安全技术规范》[10]和相关国家标准(如 GB/T 35954-2018 和 GB/T 30926-2014 等)。具体检测技术中,高效液相色谱(HPLC)及超高效液相色谱(UPLC)方法是主流方法,其核心在于通过优化色谱条件与检测器,以满足不同极性目标成分的分离和检测需求。例如针对具有紫外吸收的烟酰胺、苯乙基间苯二酚、光甘草定等,二极管阵列检测器(PDA)因可选择性提取特征波长(200~400 nm)信号而被广泛使用[11-15];而对于乙酰壳糖胺这类仅在紫外末端有弱吸收的强极性成分,目前化妆品领域暂未查询到相关文献,仅在药物分析领域有通过通用型蒸发光散射检测器(ELSD)检测的案例,但该方法检出限较高(>100 mg/L)[16]。色谱柱选择上,传统 C_{18} 柱多用于弱极性成分分离[17,18],而针对强极性成分,通常采用亲水作用色谱柱增强保留[19],或者通过衍生化反应提高待测组分在 C_{18} 柱上的保留能力[20,21]。此外,液相色谱-质谱联用(LC-MS)方法凭借高特异性与高灵敏度,在复杂基质的痕量成分检测中具有优势,可通过多反应监测(MRM)模式或平行反应监测(PRM)模式准确定量,尤其适用于低浓度美白功效成分的验证[22-25]。

然而,现有方法仍存在明显局限性:一是检测器适配性不足,PDA 无法覆盖无紫外或弱紫外吸收成分,ELSD 因灵敏度较低难以满足低浓度样本检测需求,质谱仪器成本较高且对弱极性成分的离子化效率较低,普及性受限;二是色谱分离面临挑战,单一色谱方法难以兼顾几种极性差异显著的成分(强极性成分如乙酰壳糖胺、氨甲环酸;弱极性成分如抗坏血酸四异棕榈酸酯),传统 C_{18} 色谱柱对强极性成分保留较弱,易出现峰形展宽或共流出现象,而亲水作用色谱柱则难以兼顾弱极性成分的保留。

针对上述问题,本研究拟选取 6 种极性差异较大的美白成分作为目标物,包括乙酰壳糖胺、氨甲环酸、烟酰胺、苯乙基间苯二酚、光甘草定和抗坏血酸四异棕榈酸酯。采用超高效液相色谱-二极管阵列检测器串联电雾式检测器建立 6 种美白成分的检测方法,以期为化妆品中多组分美白成分的检测提供新思路,为化妆品的产品质量控制和有效监管提供技术支持。

1　实验部分

1.1　仪器、试剂与材料

ACQUITY H-Class 超高效液相色谱仪(带二极管阵列检测器)(美国 Waters 公司);Corona Veo RS 电雾式检测器(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);HN-64 全自动氮吹仪(上海新仪微波化学科技有限公司);MS105 电子天平(瑞士梅特勒托利多公司);海道夫 Multi Reax 涡旋混匀器(德国 Heidolph 公司);KQ5200DE 超声波清洗器(昆山超声仪器公司);H1750R 高速冷冻离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司);PURELAB Flex 纯水仪(英国 ELGA LabWater 公司)。

乙腈(ACN,色谱纯,德国 Merck 公司);异丙醇(IPA,质谱级,德国 Merck 公司);乙酸铵和甲酸(色谱纯,美国 Fisher 公司);二氯甲烷(DCM,分析纯,科隆化学品);乙酰壳糖胺(≥99.5%)、氨甲环酸(≥98%)购自 Sigma-Aldrich;烟酰胺(≥99.8%)、苯乙基间苯二酚(≥98%)、光甘草定(≥99%)、抗坏血酸四异棕榈酸酯(≥95%)均购自阿拉丁生化科技;亲水聚四氟乙烯(PTFE)滤膜(0.22 μm,上海安谱科学仪器有限公司)。实验用水为超纯水(H_2O,电阻率为 18.2 MΩ·cm);化妆品样品均购自本地市场,包括乳、油、霜和膏 4 种基质。

1.2　对照品溶液配制

亲水性标准品配制:分别精确称取 100 mg 乙酰壳糖胺、氨甲环酸和烟酰胺标准品于 3 个 50 mL 容量瓶中,加去离子水溶解,并定容至刻度,得到质量浓度为 2 mg/mL 的单标储备液。采用铝箔避光保存于 4 ℃冰箱中,有效期 180 天。将以上单标储备液用去离子水逐级稀释,配制成系列混合标准工作溶液,使乙酰壳糖胺和氨甲环酸的质量浓度为

10、50、100、200、400 μg/mL，烟酰胺的质量浓度为10、50、125、250、500 μg/mL。此为混合标准工作溶液 A，临用前配制。

亲脂性标准品配制：分别精确称取 100 mg 苯乙基间苯二酚、光甘草定和抗坏血酸四异棕榈酸酯标准品于 3 个 50 mL 容量瓶中，加入异丙醇溶解，并定容至刻度，得到质量浓度为 2 mg/mL 的单标储备液。采用铝箔避光保存于 4 ℃冰箱中，有效期 180 天。将上述单标储备液用异丙醇逐级稀释，配制成系列混合标准工作溶液，使苯乙基间苯二酚和光甘草定的质量浓度为 5、20、50、100、200 μg/mL，抗坏血酸四异棕榈酸酯的质量浓度为 10、100、250、500、1 000 μg/mL。此为混合标准工作溶液 B，临用前配制。

1.3 样品前处理

精确称取待测化妆品样品 0.2 g（精确至 0.000 1 g）至 50 mL 离心管中，乳液和油类样品先经氮吹处理，膏霜类样品无需氮吹处理。准确加入 10 mL 二氯甲烷，涡旋 5 min 进行充分提取，再准确加入 10 mL 去离子水，涡旋 10 min 后，8 000 r/min 离心 5 min。收集二氯甲烷层和水层，水层用 10 mL 二氯甲烷分两次洗涤，合并所有二氯甲烷液，氮吹浓缩至<1 mL，加异丙醇复溶并定容至 10 mL。移取水层提取溶液和异丙醇复溶液分别过 0.22 μm 亲水 PTFE 滤膜，作为供试品溶液 A 和供试品溶液 B，待进样分析。

不同化妆品样品中 6 种美白成分含量差异较大，上述取样量按照微量进行操作，针对高于标准曲线范围的样品可以减小取样量，或者将待测液进一步稀释；针对低于标准曲线范围的样品可以增大取样量，或者减少萃取溶剂用量。

1.4 仪器条件

采用 Waters HSS T3 色谱柱（150 mm×2.1 mm，1.7 μm），柱温为 40 ℃，进样量为 1 μL，流速为 0.3 mL/min，检测器为 PDA 串联 CAD。PDA 扫描范围 200~400 nm，其中烟酰胺的检测波长为 260 nm，苯乙基间苯二酚和光甘草定的检测波长为 280 nm，抗坏血酸四异棕榈酸酯的检测波长为 220 nm，采集频率为 5 Hz。CAD 检测器检测乙酰壳糖胺和氨甲环酸，雾化温度为 35 ℃，采集频率为 5 Hz；流动相 A 为异丙醇，B 为乙腈，C 为 20 mmol/L 乙酸铵缓冲溶液（甲酸调节 pH 至 4.0），梯度洗脱，洗脱程序详见表 1。

表 1 梯度洗脱条件

Table 1 Gradient elution conditions

Step No.	Time/ min	φ(Isopropanol)/ %	φ(Acetonitrile)/ %	φ(Buffer) /%
1	0	0	2	98
2	2.5	0	2	98
3	12	0	45	55
4	16	60	40	0
5	18	85	15	0
6	25	85	15	0
7	26	0	2	98

Buffer: 20 mmol/L ammonium acetate buffer solution (adjusted to pH 4.0 using formic acid).

2 结果与讨论

2.1 仪器条件优化

2.1.1 检测器的选择及优化

在 200~400 nm 波长范围内对 6 种化合物进行扫描，结果显示烟酰胺、苯乙基间苯二酚、光甘草定和抗坏血酸四异棕榈酸酯具有紫外吸收，可选择的最大吸收波长分别为 260、280、280、220 nm，适合采用 PDA 进行检测；乙酰壳糖胺和氨甲环酸仅在紫外末端有弱吸收，需用通用型检测器。实验对比了 ELSD 与 CAD 对这两种成分的检测性能，表明采用 CAD 时的检出限（1 μg/mL）显著优于 ELSD（50 μg/mL），更适合化妆品中低浓度成分的检测。因此，最终选择将 PDA 和 CAD 进行串联的仪器方法，PDA 扫描波长 200~400 nm，按 260 nm（烟酰胺）、280 nm（苯乙基间苯二酚和光甘草定）、220 nm（抗坏血酸四异棕榈酸酯）提取检测信号，检测 4 种成分；CAD 检测氨甲环酸和乙酰壳糖胺。

2.1.2 色谱柱的选择

针对 6 种美白成分的极性差异，本实验系统比较了 Waters BEH C_{18}（150 mm×2.1 mm，1.7 μm）、Waters BEH Amide（150 mm×2.1 mm，1.7 μm）和 Waters HSS T3（150 mm×2.1 mm，1.7 μm）3 种不同色谱柱的分离性能，典型 CAD 检测谱图见图 1，PDA 提取谱图见图 2。从图 1 可以看出，乙酰壳糖胺在 Amide 柱上出现了分叉，而氨甲环酸则由于保留太强未出峰；两种极性成分在 C_{18} 柱上不能实现基线分离；相对而言，HSS T3 的分离效果略好于 C_{18} 柱，前者对乙酰壳糖胺和氨甲环酸的保留能力均变强，实现基线分离。由图 2 可知，Amide 柱对烟酰胺表现出较好的保留能力，但剩余 3 种弱极性目标物苯乙基间苯二酚、光甘草定和抗坏血酸四异棕榈

酸酯在 Amide 柱上均无有效保留，出现了色谱峰完全重叠现象。另外，在同样的色谱条件下，HSS T3 柱对烟酰胺的保留能力明显强于 C_{18} 柱，而两者对苯乙基间苯二酚和光甘草定的保留能力接近，均能满足分离要求。但抗坏血酸四异棕榈酸酯在 HSS T3 和 C_{18} 柱上均未能出峰，推测可能是该化合物极性较小、与固定相作用力较强导致的。综上，本实验选择 Waters HSS T3 色谱柱进行分离优化。

后续色谱条件的主要优化方向如下：调整流动相起始比例，使乙酰壳糖胺和氨甲环酸的保留时间尽可能延长，同时提高两者的分离度；进一步加强淋洗程序后半部分流动相的洗脱能力，使抗坏血酸四异棕榈酸酯顺利出峰并不受其他物质干扰。

2.1.3　流动相的优化

利用液相色谱法分析美白功效成分，文献和相关标准多采用磷酸二氢钾-甲醇或磷酸二氢钾-乙腈作为流动相[26-28]，但由于 CAD 不可使用非挥发性盐[29]，故本实验选用可挥发的乙酸铵缓冲溶液作为水相缓冲盐，乙腈作为有机相。实验对比了初始流动相中 20 mmol/L 乙酸铵缓冲溶液（甲酸调节 pH 至 4.5）体积占比为 100%、98% 和 95% 时，乙酰壳糖胺和氨甲环酸的分离情况，结果见图 3。当初始为 100% 缓冲盐时，乙酰壳糖胺的色谱峰轻微分叉，推测可能与吡喃环的异构有关[30,31]；当初始比例为 98% 和 95% 时，乙酰壳糖胺的色谱峰形正常无分叉。进一步对比可见，初始缓冲盐比例为 98% 时，乙酰壳糖胺和氨甲环酸的分离效果更佳，实现基线分离。因此，选择缓冲盐初始比例为 98%。

实验表明，乙酰壳糖胺、氨甲环酸和烟酰胺在 HSS T3 柱上的保留时间随缓冲盐 pH 值的变化而变化，如图 4 所示。在 pH 3.0~6.0 范围内，随着 pH 降低，乙酰壳糖胺和氨甲环酸保留值略有增强，烟酰胺则逐渐减弱。当缓冲盐 pH 用甲酸调整至 4.0 时，三者的保留与分离效果均较理想。弱极性的抗坏血酸四异棕榈酸酯仅用乙酸铵-乙腈体系无法洗脱，加入异丙醇后可有效改善其洗脱效果。最终确定流动相组成：A 相异丙醇、B 相乙腈、C 相 20

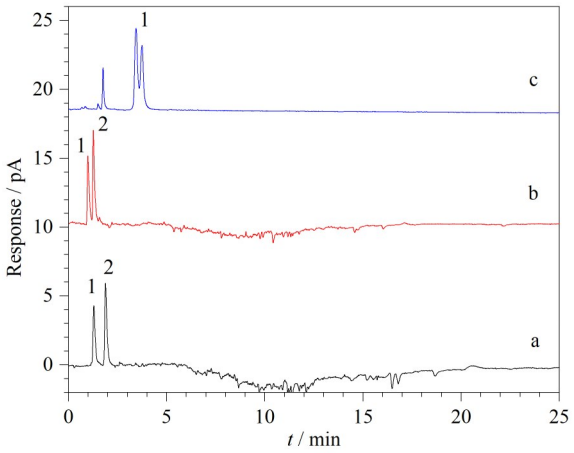


图 1　采用 CAD 检测器时乙酰壳糖胺和氨甲环酸在不同色谱柱上的色谱图

Fig. 1　Chromatograms of acetyl glucosamine and tranexamic acid on the different chromatographic columns using a CAD detector

For Fig. 1a, column: HSS T3 (150 mm×2.1 mm, 1.7 μm); mobile phase A: acetonitrile; mobile phase B: 20 mmol/L ammonium acetate solution (pH adjusted to 4.5 using formic acid); gradient elution program: 0–2.5 min, 5%A, 2.5–15 min, 5%A–100%A, 15–25 min, 100%A, 25–26 min, 100%–5%A. For Fig. 1b, column: BEH C_{18} (150 mm×2.1 mm, 1.7 μm). Mobile phases and gradient elution program were the same as those in Fig. 1a. For Fig. 1c, column: BEH Amide (150 mm×2.1 mm, 1.7 μm); mobile phase: acetonitrile-water (80∶20, *V*/*V*); elution program: isocratic elution for 5 min.

Peak identifications: 1. acetyl glucosamine; 2. tranexamic acid.

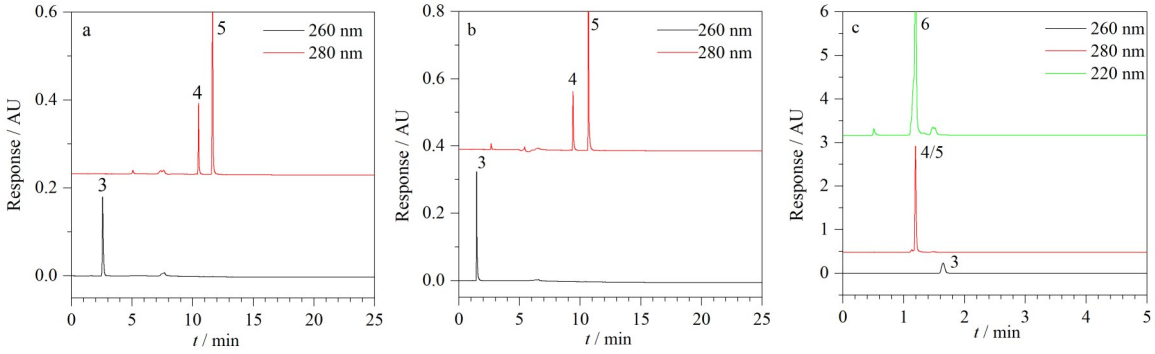


图 2　采用 PDA 检测器时 4 种美白成分在不同色谱柱上的色谱图

Fig. 2　Chromatograms of the four whitening ingredients on the different chromatographic columns using a PDA detector

For Fig. 2a–2c, the columns, mobile phases, and elution programs were the same as those in Fig. 1a–1c.

Peak identifications: 3. nicotinamide; 4. phenethyl resorcinol; 5. glabridin; 6. ascorbyl tetraisopalmitate.

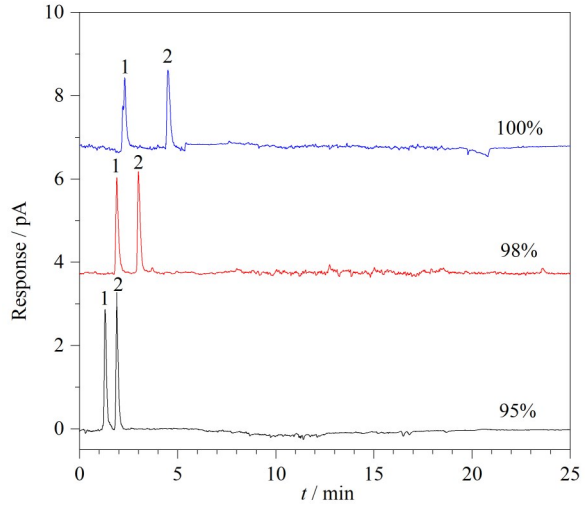


图 3 采用 CAD 检测器时乙酰壳糖胺与氨甲环酸在不同乙酸铵缓冲溶液体积分数下的色谱图

Fig. 3 Chromatograms of acetyl glucosamine and tranexamic acid under different volume fractions of ammonium acetate buffer solution using a CAD detector

mmol/L 乙酸铵缓冲溶液(甲酸调节 pH 至 4.0),按 1.4 节中表 1 的梯度洗脱条件,6 种美白成分的标准溶液谱图如图 5 所示。

2.2 前处理条件优化

乙酰壳糖胺、氨甲环酸和烟酰胺为强极性化合物,易溶于水;而苯乙基间苯二酚、光甘草定和抗坏血酸四异棕榈酸酯为弱极性化合物,难溶于水,易溶于有机溶剂。实验对比了甲醇-水(1∶1,体积比)、乙醇(EtOH)、二氯甲烷-水(1∶1,体积比)3 种萃取剂的提取效率(图 6)。其中使用甲醇-水提取时,操作步骤为加入 10 mL 甲醇-水涡旋振荡 10 min,离心过滤得到待测液;使用乙醇提取时,直接加入 10 mL 无水乙醇溶液,涡旋振荡 10 min,离心过滤得到待测液;使用二氯甲烷-水(1∶1,体积比)提取的操作步骤参照 1.3 节。

结果表明,MeOH-H_2O(1∶1,体积比)对苯乙基间苯二酚、光甘草定和抗坏血酸四异棕榈酸酯的回收率较差,尤其是抗坏血酸四异棕榈酸酯仅约 5%,可能是因为三者在该体系中溶解性不足。EtOH 提取的整体回收率不高,特别是几种强极性成分的回收率<50%,可能是溶剂效应导致色谱峰峰形变宽,回收率降低。而采用 DCM-H_2O(1∶1,体积比)体系提取时,目标物的回收率均>92.5%,可能得益于两相较大的极性差异——水相可有效萃取强极性成分,有机相可萃取弱极性成分。考虑到二氯甲烷可能损伤进样隔垫或色谱柱,有机相经氮吹浓缩后置换为高比例异丙醇;水层和异丙醇复溶液分别进样,既可避免高比例有机相导致强极性成分(如乙酰壳糖胺、氨甲环酸)出现溶剂效应,也可避免高比例水相导致弱极性成分(抗坏血酸四异棕榈酸酯)的溶解性和回收率不佳的问题。结合化妆品类型多样(乳、霜、油、膏等)且含有大量的油脂、表面活性剂和高分子物质,最终选择以下前处理方法:先

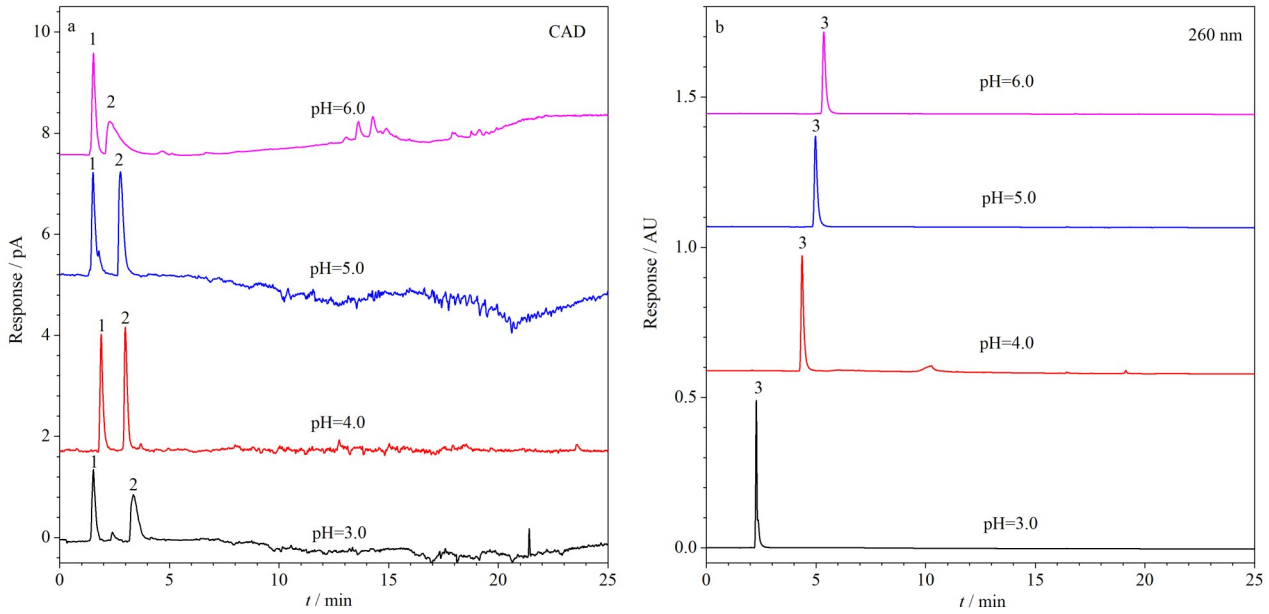


图 4 3种水溶性美白成分在不同 pH 值缓冲盐条件下的色谱图

Fig. 4 Chromatograms of the three water-soluble whitening ingredients under the different pH buffer salt conditions

a. CAD detector; b. PDA detector.

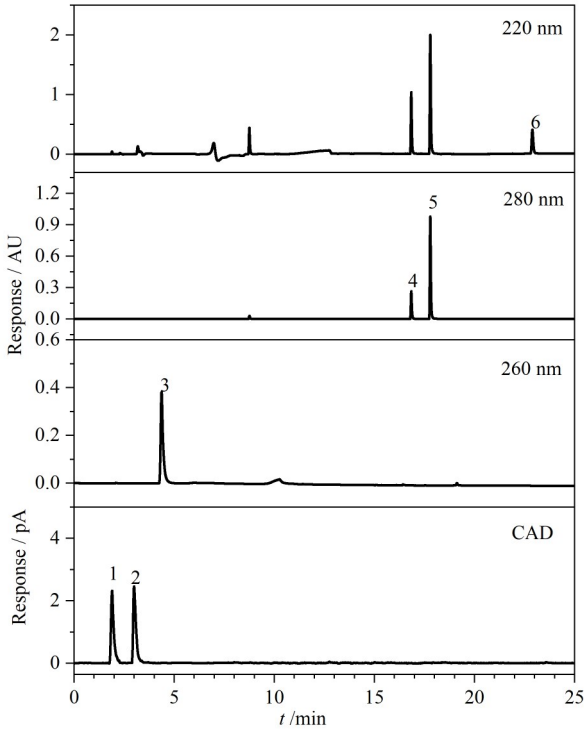


图5　6种美白成分的色谱图

Fig. 5　Chromatograms of the six whitening ingredients

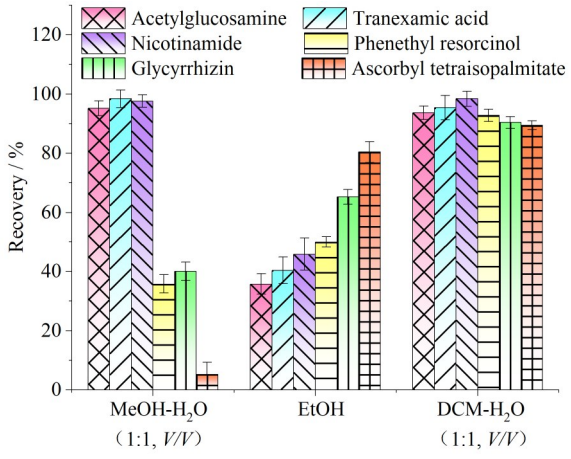


图6　不同提取溶剂对6种美白成分回收率的影响(n=3)

Fig. 6　Effect of different extraction solvents on the recoveries of the six whitening ingredients (n=3)

用二氯甲烷分散样品并萃取出弱极性成分,再加入水超声涡旋萃取出强极性成分,最后对二氯甲烷层进行溶剂置换。

2.3　方法学验证

2.3.1　线性范围和检出限

将 1.2 节配制的混合标准工作溶液 A 和 B 按照 1.4 节的色谱条件进行测定,每个浓度点测定 3 次,以目标化合物的质量浓度(x)为横坐标,其峰面积平均值(y)为纵坐标,绘制标准工作曲线并进行线性回归,得到各目标物的线性方程和相关系数,详细参数结果列于表 2。结果表明,在一定范围内,6 种美白成分的浓度与峰面积平均值呈现良好的线性关系,相关系数(r)均>0.999。为体现方法灵敏度,采用检出限(LOD)与定量限(LOQ)作为表征参数。在空白样品溶液中进行加标,并分别用超纯水和二氯甲烷进行逐级稀释,进样测得信噪比。以 S/N=3 计算检出限,以 S/N=10 计算定量限,当待测样品称样量为 0.2 g,提取溶剂体积为 10 mL,进样量为 1 μL 时,6 种待测成分的检出限为 5.0~50.0 μg/g,定量限为 12.0~120.0 μg/g。

2.3.2　回收率和精密度

以实验室自制的乳、霜、油 3 种化妆品阴性样本作为基质(称样量均为 0.2 g)进行加标试验,6 种美白成分的加标质量均为 0.1、0.5 和 2.0 mg,以优化后 1.3 节的方法进行前处理,按照 1.4 节的色谱条件进行测定,并重复 6 次,计算各美白功效成分的加标回收率和相对标准偏差(RSD)。结果如表 3 所示,6 种美白成分在 3 类不同化妆品中的加标回收率为 92.8%~110.1%,RSD 为 0.10%~5.45%,表明该方法性能良好。

2.3.3　干扰试验

为了进一步确认化妆品样本中保湿剂和防腐剂是否干扰实验结果并产生假阳性,首先对待测实际样品的背标成分进行分析,筛选出配方中可能存在干扰的保湿剂、防腐剂和抗氧化剂等,包括甘油、乙基己基甘油、1,2-己二醇、戊二醇、苯氧乙醇、对羟基苯乙酮、苯甲酸钠、山梨酸钾、丁羟基甲苯和甘草酸二钾。实验对配制的包含上述 10 种成分和 6 种美白成分的混合溶液进行分析。如图 7 所示,其中甘油以及苯氧乙醇等 7 种成分与本文分析的 6 种美白成分基线分离,乙基己基甘油、1,2-己二醇和戊二醇未出峰,说明待测化妆品配方中的保湿剂、防腐剂和抗氧化剂等不会对测试造成干扰。

2.4　实际样本检测

对市售化妆品进行筛选,选取含本研究方法所涉及的 1 种及以上美白功效成分的产品作为实际测试试样,共获得 7 份。其中乳液类 3 份、油类 1 份、霜类 2 份、膏类 1 份。分别精密称取适量试样,依据 1.3 节样品前处理方法制备供试品溶液,采用 1.4 节的液相色谱法进行进样检测,再根据待测组分浓度判断是否稀释样品溶液,确保其处于标准曲线线性范围内,最后计算各样品中美白功效成分的

表 2 6种美白成分的线性方程、相关系数、线性范围、检出限和定量限(n=3)

Table 2 Linear equations, correlation coefficients (r), linear ranges, limits of detection (LODs) and limits of quantification (LOQs) of the six whitening ingredients (n=3)

Compound	Linear equation	r	Linear range/(μg/mL)	LOD/(μg/g)	LOQ/(μg/g)
Acetylglucosamine	y=152633x+4020156	0.9991	10–400	50.0	120.0
Tranexamic acid	y=180629x+4898788	0.9994	10–400	50.0	120.0
Nicotinamide	y=20152.26x−111428	0.9992	10–500	25.0	60.0
Phenethyl resorcinol	y=8237.66x−8067.87	0.9999	5–200	12.5	35.0
Glabridin	y=27133x−62060	0.9999	5–200	5.0	12.0
Ascorbyl tetraisopalmitate	y=6716.53x−169227	0.9999	10–1000	25.0	60.0

y: peak areas; x: mass concentration, μg/mL.

表 3 不同体系化妆品中6种美白成分的加标回收率和精密度(n=6)

Table 3 Spiked recoveries and precisions of the six whitening ingredients in cosmetics with different systems (n=6)

Compound	Spiked/mg	Recoveries/%			RSDs/%		
		Emulsion	Cream	Oil	Emulsion	Cream	Oil
Acetylglucosamine	0.1	103.4	101.8	100.3	0.10	0.45	1.54
	0.5	97.2	102.0	101.5	0.21	0.43	5.45
	2.0	101.8	99.6	101.2	0.45	1.21	3.21
Tranexamic acid	0.1	101.1	100.4	108.7	0.54	1.54	1.58
	0.5	100.5	101.7	102.2	1.21	1.01	1.20
	2.0	99.5	99.0	98.3	0.45	0.89	0.98
Nicotinamide	0.1	99.9	97.2	95.6	0.48	1.21	1.21
	0.5	98.2	96.9	96.2	1.58	0.99	0.89
	2.0	97.3	95.7	96.7	2.15	0.12	0.54
Phenethyl resorcinol	0.1	98.1	105.4	103.8	4.58	1.01	0.57
	0.5	93.5	92.7	99.0	2.15	0.55	0.56
	2.0	110.1	103.9	102.4	1.20	0.22	0.85
Glabridin	0.1	98.9	104.3	101.1	3.51	0.99	0.78
	0.5	92.8	97.4	93.2	2.14	0.12	0.75
	2.0	94.4	102.3	100.9	0.21	0.35	0.89
Ascorbyl tetraisopalmitate	0.1	97.7	103.8	101.6	3.12	1.12	1.21
	0. 5	95.6	108.0	99.4	0.25	1.54	1.54
	2.0	100.7	109.2	104.5	0.21	1.56	3.69

含量,详细结果如表 4 所示。

表 4 7款化妆品样本中6种美白成分的检测结果(n=3)

Table 4 Detection results of the six whitening ingredients in the seven cosmetic samples (n=3)

Sample No.	Compound	Content/%
1	acetylglucosamine	1.54
	nicotinamide	2.29
2	tranexamic acid	1.61
3	nicotinamide	1.85
	phenethyl resorcinol	0.15
	glabridin	0.03
4	nicotinamide	0.25
	phenethyl resorcinol	0.52
5	nicotinamide	1.50
	ascorbyl tetraisopalmitate	0.09
6	nicotinamide	0.19
	phenethyl resorcinol	0.02
7	ascorbyl tetraisopalmitate	3.08

结果表明,本批实际样品检出的美白成分与产品包装中标注的美白成分均一致,但各成分含量差异显著。7 款产品中,烟酰胺的使用频率和检测含量均较高,5 款产品的测试结果为 0.19%~2.29%;其次 3 款产品中检出苯乙基间苯二酚,含量为 0.02%~0.52%;两款产品中检出抗坏血酸四异棕榈酸酯,分别为 0.09% 和 3.08%;乙酰壳糖胺、氨甲环酸和光甘草定分别只在一款产品中检出。另外,样品 2 和样品 7 分别使用单一的美白成分,且含量相对较高;另外 5 款产品选择了两种及两种以上美白成分复配使用,其中样品 1 中两种美白成分含量相对均较高(1.54% 和 2.29%),而样品 6 中使用的两种美白成分含量均较低(0.19% 和 0.02%),其余 3 款基本为 1 个高浓度美白成分和 1~2 个低浓度美白成分搭配。

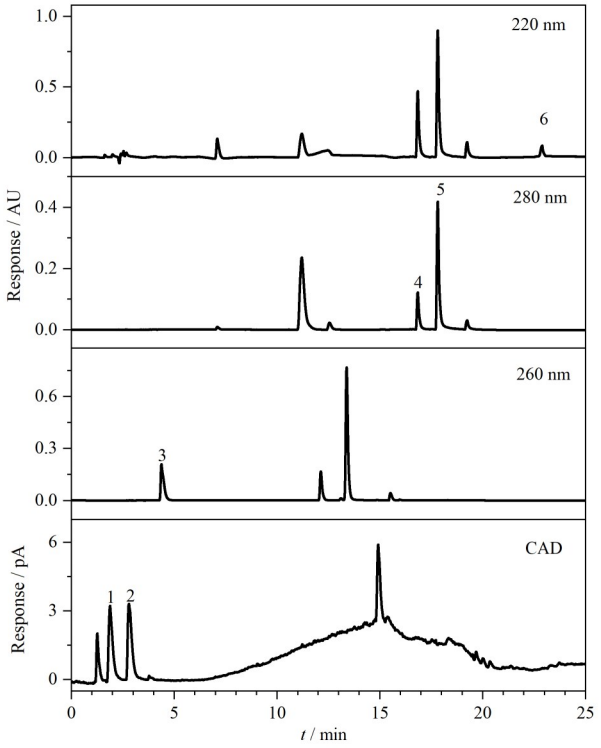


图7　化妆品中常用保湿剂和防腐剂对6种美白成分的干扰测试色谱图

Fig. 7　Chromatograms of interference test of common humectants and preservatives in cosmetics on the six whitening ingredients

Peak identifications were the same as those in Figs. 1 and 2.

3　结论

本研究建立了一种超高效液相色谱-二极管阵列检测器串联电雾式检测器的检测方法,用于测定化妆品中乙酰壳糖胺等 6 种极性差异显著的美白功效成分。该方法操作简便,准确性高,可抗常规保湿剂、防腐剂等基质干扰;通过二氯甲烷和水分步提取,有效解决了强极性和弱极性成分萃取率偏低的问题;采用二极管阵列检测器和电雾式检测器串联,实现有/无紫外吸收成分的同步检测。实际样品检测结果表明,6 种成分在乳、霜、油等化妆品中均能有效检出,可满足相关化妆品的质量控制需求,为当前化妆品美白功效成分的多组分检测提供了可靠的技术支撑。后续研究中可进一步拓展美白功效检测组分的范围,构建更全面的检测平台。

参考文献:

[1] Wawrzynczak A. Cosmetics, 2023, 10(3): 86
[2] Li B, Mei H, Zhou Z, et al. JDSCT, 2024, 1(2): 100020
[3] Huang Y Y, Gao P, Wang X Q, et al. Modern Chemical Research, 2023(19): 32
黄媛媛, 高平, 王秀桥, 等. 当代化工研究, 2023(19): 32
[4] Liu J, Xu X, Jian M, et al. J Ethnopharmacol, 2025, 349: 119948
[5] Li L, Tang Y, Li X, et al. Medicine, 2023, 102(13): e33420
[6] Lü W, Li Z, Hu B, et al. Flavour Fragrance Cosmetics, 2022(5): 60
吕稳, 李智, 胡贝, 等. 香精香料化妆品, 2022(5): 60
[7] Wang H C, Huang D C. Detergent & Cosmetics, 2025, 48(2): 47
王贺聪, 黄典超. 日用化学品科学, 2025, 48(2): 47
[8] Li N, Li E N, Chen H B, et al. China Surfactant Detergent & Cosmetics, 2024, 54(1): 80
李宁, 李恩念, 陈红波, 等. 日用化学工业(中英文), 2024, 54(1): 80
[9] Zou X, Tang J L, Gong Y K, et al. Applied Chemical Industry, 2020, 49(1): 244
邹孝, 唐加利, 龚迎昆, 等. 应用化工, 2020, 49(1): 244
[10] National Medical Products Administration. No. 41 Bulletin of the National Medical Products Administration (2023). (2023-08-23). https://www.nmpa.gov.cn/xxgk/ggtg/hzhpggtg/jmhzhptg/20230828170520159.html
国家药品监督管理局. 国家药品监督管理局第41号公告(2023年). (2023-08-23). https://www.nmpa.gov.cn/xxgk/ggtg/hzhpggtg/jmhzhptg/20230828170520159.html
[11] Permana B, Hasanah M, Tursino. J Chromatogr Sci, 2023, 61(3): 241
[12] Liang J W, Xie Y L. Chemical Research and Application, 2025, 37(6): 1692
梁静文, 谢苑林. 化学研究与应用, 2025, 37(6): 1692
[13] Wu J J, Zhao W, Pan X H, et al. Chemical Analysis and Meterage, 2025, 34(1): 26
吴姣娇, 赵薇, 潘小红, 等. 化学分析计量, 2025, 34(1): 26
[14] Hu J D, Wu A P, Sun L, et al. Chemical Research and Application, 2024, 36(7): 1658
胡积东, 吴爱平, 孙乐, 等. 化学研究与应用, 2024, 36(7): 1658
[15] Tao W, Li X. China Surfactant Detergent & Cosmetics, 2024, 54(4): 484
陶薇, 李翔. 日用化学工业(中英文), 2024, 54(4): 484
[16] Wang Y F, Yan L Z, Guo X Q. Journal of Capital Normal University (Natural Science Edition), 2008, 29(1): 40
王英锋, 晏利芝, 郭雪清. 首都师范大学学报(自然科学版), 2008, 29(1): 40
[17] Liu Y, Chen G, Ding B, et al. Chemical Analysis and Meterage, 2023, 32(8): 75
刘莹, 陈刚, 丁波, 等. 化学分析计量, 2023, 32(8): 75
[18] Yin G H, Zeng M S, Wu B J, et al. Guangdong Chemical Industry, 2022, 49(18): 203
尹国浩, 曾敏珊, 吴宝金, 等. 广东化工, 2022, 49(18): 203
[19] Jian L H, Ru G, Chen D D, et al. Flavour Fragrance Cosmetics, 2017(6): 35
简龙海, 茹歌, 陈丹丹, 等. 香精香料化妆品, 2017(6): 35
[20] Feng M Y, Luo M, He T, et al. Physical Testing and Chemical Analysis Part B: Chemical Analysis, 2020, 56(8): 883
冯梅艳, 罗敏, 何婷, 等. 理化检验-化学分册, 2020, 56

(8): 883
[21] Maggadani B P, Okataviani E, Harahap Y, et al. Int J App Pharm, 2020, 12(1): 167
[22] Huang W D. China Surfactant Detergent & Cosmetics, 2025, 55(4): 531
黄炜东. 日用化学工业(中英文), 2025, 55(4): 531
[23] Wang C Z, Li Z H, Wang Y X, et al. China Surfactant Detergent & Cosmetics, 2024, 54(7): 873
王昌钊, 李子豪, 王一欣, 等. 日用化学工业(中英文), 2024, 54(7): 873
[24] Tong L Y, Xiao Z J, Li G R, et al. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2022, 41(1): 96
童兰艳, 肖昭竞, 李根容, 等. 分析实验室, 2022, 41(1): 96
[25] Xiong C S H, Ding T M, Liu J, et al. Chinese Journal of Chromatography, 2022, 40(9): 817
熊陈思慧, 定天明, 刘杰, 等. 色谱, 2022, 40(9): 817
[26] Jeon J S, Kim H T, Kim M G, et al. Int J Cosmetic Sci, 2016, 38(3): 296
[27] Gao J M, Cao J, Wang G L, et al. Journal of Environment and Health, 2020, 37(10): 906
高家敏, 曹进, 王刚力, 等. 环境与健康杂志, 2020, 37(10): 906
[28] Chen P J, Liang H, Xiao F, et al. Journal of Instrumental Analysis, 2017, 36(3): 403
陈沛金, 梁宏, 肖锋, 等. 分析测试学报, 2017, 36(3): 403
[29] Li X F, Peng Y, Xin D, et al. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2025, 53(8): 1362
李晓芳, 彭燕, 辛迪, 等. 分析化学, 2025, 53(8): 1362
[30] Hou W N, Wang J, Nie X M, et al. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis, 2008, 28(7): 1117
侯卫南, 王健, 聂晓明, 等. 药物分析杂志, 2008, 28(7): 1117
[31] Alonso E R, Insausti A, Pena I, et al. J Phys Chem Lett, 2024, 15: 10314