

doi: 10.19969/j.fxcxb.23011902

高效液相色谱法同时测定化妆品中 辣椒碱等9种热感剂

吴志珊^{1,2}, 吴姣娇^{1,2}, 尹伟成^{1,2}, 殷帅^{1,2}, 李卓芳², 姜成君^{1*}

(1. 湖南省药品检验检测研究院, 湖南 长沙 410001; 2. 岳阳市食品药品检验所, 湖南 岳阳 414000)

摘要: 建立了测定化妆品中辣椒碱等9种热感剂的高效液相色谱法。样品经80%甲醇超声提取后, 过滤, 以乙腈-0.5%甲酸水溶液为流动相, 采用SymmetryShield™RP18色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm)分离, 液相色谱分离, 二极管阵列检测器进行检测。在优化实验条件下, 9种热感剂的分离度好, 专属性高, 其质量浓度在0.2 ~ 100 μg/mL范围内与峰面积呈良好线性关系, 相关系数(r^2)均不小于0.999 5, 检出限(LOD)为0.001 0 ~ 0.003 4 mg/kg。以水基类、乳剂类、膏霜类3种阴性样品作为空白基质, 9种热感剂在0.004、0.02、1 mg/kg 3种加标水平下的回收率为75.6% ~ 115%, 相对标准偏差(RSD)为0.083% ~ 7.0%。该方法专属性强、灵敏度高、准确度好, 可用于化妆品中9种热感剂含量的测定。

关键词: 热感剂; 化妆品; 高效液相色谱法(HPLC)

中图分类号: O657.72; S641.3 文献标识码: A 文章编号: 1004-4957(2023)05-0641-06

Simultaneous Determination of 9 Self-heating Compounds Including Capsaicin in Cosmetics by High Performance Liquid Chromatography

WU Zhi-shan^{1,2}, WU Jiao-jiao^{1,2}, YIN Wei-cheng^{1,2}, YIN Shuai^{1,2},
LI Zhuo-fang², JIANG Cheng-jun^{1*}

(1. Hunan Institute for Drug Control, Changsha 410001, China; 2. Food and Drug Inspection in Yueyang, Yueyang 414000, China)

Abstract: A high performance liquid chromatographic (HPLC) method was established for the determination of 9 self-heating compounds, including capsaicin in cosmetics. The samples were ultrasonically extracted with 80% methanol, and then filtered. The target compounds were separated on a SymmetryShield™RP18 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) with a mobile phase consisting of acetonitrile and 0.5% formic acid by gradient elution, and analyzed by HPLC with a PDA detector. Under the optimal conditions, good linear relationships were obtained for nine compounds in the concentration range of 0.2 – 100 μg/mL, with correlation coefficients (r^2) not less than 0.999 5. The limits of detection (LODs) were in the range of 0.001 0 – 0.003 4 mg/kg. The spiked recoveries for water, lotion and cream matrices at three levels of 0.004, 0.02, 1 mg/kg ranged from 75.6% to 115%, with relative standard deviations (RSDs, $n = 3$) of 0.083% – 7.0%. This method is accurate and sensitive, and is suitable for the qualitative and quantitative analysis of 9 self-heating compounds in cosmetics.

Key words: self-heating compounds; cosmetics; high performance liquid chromatography (HPLC)

近年来,随着人们审美要求的提高,消费者越来越注重自身形象和外表,具有健美功效的化妆品越来越受青睐。此类化妆品主要通过透皮吸收,外加按摩、热敷等方式,使化妆品中所含的活性物质被人体吸收,从而可以帮助皮下脂肪的分解,加速脂肪的代谢,并且有助于消除水肿,起到减肥健美的效果^[1-2]。而在化妆品中添加热感剂可使产品在皮肤上产生强烈热感,促进血液循环,使人体产生舒适感。市场上销售的一些化妆品产品中均含有不同种类的热感剂作为其有效成分^[3]。常用于添加的热感剂有:辣椒提取物类(辣椒素、二氢辣椒素),香草基醚类(香兰基丁醚、香兰基乙醚),生姜提取物类(姜酮、6-姜烯酚),马兜铃科细辛类(β -细辛脑、胡椒素、甲基胡椒酚)等,这些成分能促进血液的

收稿日期: 2023-01-19; 修回日期: 2023-02-28

* 通讯作者: 姜成君, 硕士, 工程师, 研究方向: 化妆品检测与分析, E-mail: 377907942@qq.com

循环,加速皮肤表面脂肪燃烧,使用含这些组分的化妆品,辅以人工按摩等操作,能迅速在皮肤表面产生发热,但该组分若含量过高,则会产生持久的灼热感,对皮肤具有较强的刺激。此外,这些组分中大部分为植物提取物成分,对皮肤会产生一定的过敏性。因此建立一种同时测定化妆品中热感剂的方法具有重要意义。

目前,化妆品中化学成分的检测主要有气相色谱-串联质谱法^[4-7]、液相色谱-串联质谱法^[8-12]、高效液相色谱法^[3,13-15]等。关于热感剂的检测也有相关报道^[3-4],主要集中在姜酮、香兰基丁醚、辣椒素、合成辣椒素等,但化妆品中9种热感剂(辣椒碱、二氢辣椒碱、香兰基丁醚、4-(乙氧基甲基)-2-甲氧基苯酚、姜酮、6-姜烯酚、4-烯丙基苯甲醚、水杨酸甲酯、 β -细辛脑)的同时检测未见报道,本文采用高效液相色谱法对化妆品中这9种组分进行同时测定,并用于市场上化妆品的检测。

1 实验部分

1.1 材料、试剂与仪器

甲醇、乙腈(色谱纯,美国 Honeywell 公司),乙醇(分析纯,国药集团化学试剂有限公司),甲酸(优级纯,阿拉丁试剂有限公司);标准品:辣椒碱(98.4%)、二氢辣椒碱(97.2%)、水杨酸甲酯(99.9%)、姜酮(98.5%)、6-姜烯酚(99.2%)、4-烯丙基苯甲醚(98.3%)、 β -细辛脑(99.9%)购自安谱公司,香兰基丁醚(98%,上海麦克林生化科技股份有限公司),4-(乙氧基甲基)-2-甲氧基苯酚(98.0%,阿拉丁试剂有限公司);实验用水均为 Milli-Q Integral 3 纯水机(默克密理博实验室设备(上海)有限公司)制备的超纯水。

Ultimate 3000 高效液相色谱仪,配二极管阵列检测器(美国赛默飞公司);TB-215D 电子分析天平(美国 Denver 公司);PM5-2000TD 超声波清洗器(英国 PRIMA 普律玛公司);IKA® 涡旋振荡器(广州仪科实验室技术有限公司);MULTI-FUGE X1R 台式冷冻离心机(美国赛默飞公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 标准储备液的制备 精密称取约 10 mg 各热感剂标准品(精确到 0.000 01 g),置于 10 mL 容量瓶中,用甲醇溶解并定容至刻度,作为标准储备液。

1.2.2 标准系列溶液的制备 精密量取上述标准储备液 2.00 mL 至 20 mL 容量瓶中,用甲醇定容至刻度,摇匀,配制成质量浓度为 100 μ g/mL 的标准使用溶液。取标准使用溶液适量,加甲醇稀释至标准系列浓度,现配现用。

1.2.3 样品前处理 称取试样约 0.5 g(精确至 0.001 g)于 15 mL 具塞塑料离心管中,加入 2.0 mL 提取溶剂后,涡旋振荡 30 s,加提取溶剂定容至刻度,超声 30 min 后,离心 5 min(转速为 10 000 r/min),取上清液过 0.45 μ m 滤膜,滤液作为待测溶液。

1.2.4 色谱条件 色谱柱:SymmetryShield™ RP18(250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m),或等效色谱柱;检测波长:280 nm;流速:1.00 mL/min;柱温:30 $^{\circ}$ C;进样量:10 μ L;流动相 A 为 0.5% 甲酸水溶液,流动相 B 为乙腈,梯度洗脱程序:0~30 min, 70%~50% A;30~45 min, 50% A, 45~46 min, 50%~70% A, 46~55 min, 70% A。

2 结果与讨论

2.1 样品前处理方法的选择

选取甲醇、乙腈、80%甲醇、80%乙腈、50%甲醇、50%乙腈、乙醇作为提取溶剂,考察不同提取溶剂对化妆品中 9 种热感剂提取效率的影响。结果表明 4-(乙氧基甲基)-2-甲氧基苯酚在甲醇水溶液中的提取效果较好,6-姜烯酚在甲醇水溶液和乙腈水溶液中峰面积较高,综合峰形考虑,选取 80% 甲醇作为样品的提取溶剂。本文还考察了超声时间对提取效率的影响,结果显示超声 15 min 后,提取效率并无明显提高,故选择最佳超声提取时间为 15 min。

2.2 色谱条件的选择

2.2.1 检测波长的选择 在波长 210~400 nm 范围内对 9 种热感剂进行扫描。结果显示,辣椒碱、二氢辣椒碱、香兰基丁醚、4-(乙氧基甲基)-2-甲氧基苯酚、姜酮、6-姜烯酚和 4-烯丙基苯甲醚 7 种热感剂

的最大吸收波长为 280 nm, 而水杨酸甲酯的最大吸收波长为 300 nm, β -细辛脑的最大吸收波长为 320 nm。综合考虑, 选取 280 nm 作为最佳检测波长。

2.2.2 液相色谱柱的选择 考察了 4 种相同规格 (250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m) 的 C_{18} 反相色谱柱 (SymmetryShieldTMRP18、Xtimate[®] C_{18} 、CAPCELL PAK、Suplex AQ - C_{18}) 对 9 种热感剂的分离效果, 结果如图 1 所示。结果显示: 水杨酸甲酯与香兰基丁醚、 β -细辛脑与辣椒碱、二氢辣椒碱与 4-烯丙基苯甲醚这 3 对组分的保留时间接近, 较难分离, 但其在 SymmetryShieldTMRP18 色谱柱上均能实现基线分离, 且峰形对称, 峰宽较窄。

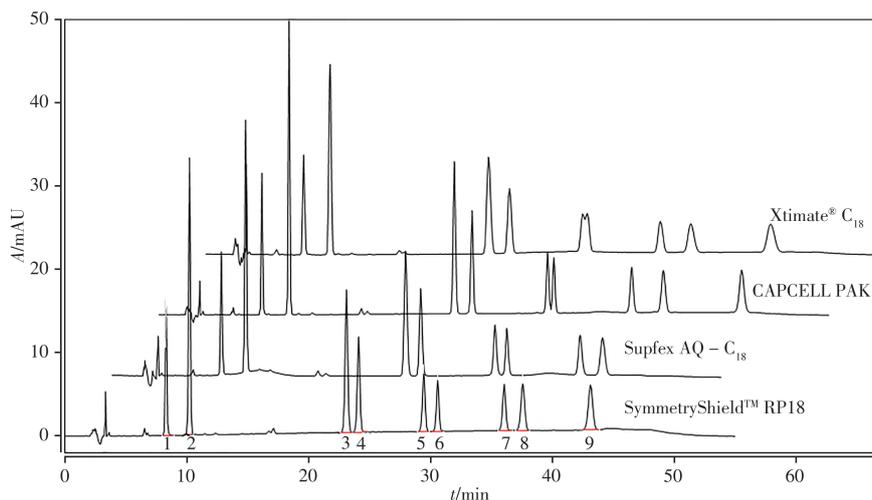


图 1 9 种热感剂混标溶液在不同色谱柱上的色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of 9 self-heating compounds mixed standard solution on different columns
1. zingerone; 2. vanillyl ethyl ether; 3. methyl salicylate; 4. vanillyl butyl ether; 5. β -asarone Injection; 6. capsaicin;
7. dihydrocapsaicin; 8. 4-allylanisole; 9. 6-shogaol

2.2.3 流动相的选择 比较了甲醇-水、乙腈-水、甲醇-0.5%甲酸、乙腈-0.5%甲酸 4 个流动相系统对其分离效果的影响 (见图 2)。结果显示, 采用乙腈-0.5%甲酸作为流动相梯度洗脱可实现 9 种物质的分离, 且峰形较好, 峰宽较窄。由于所测组分中酸性化合物较多, 为改善峰形, 选择在流动相中加入酸性物质。为了考察不同浓度甲酸的影响, 本实验选用乙腈-0.1%甲酸、乙腈-0.5%甲酸、乙腈-1%甲酸作为流动相进行考察。结果显示, 选用 0.5%甲酸时, 分离效果最好, 峰形对称, 故选用乙腈-0.5%甲酸作为最佳流动相。

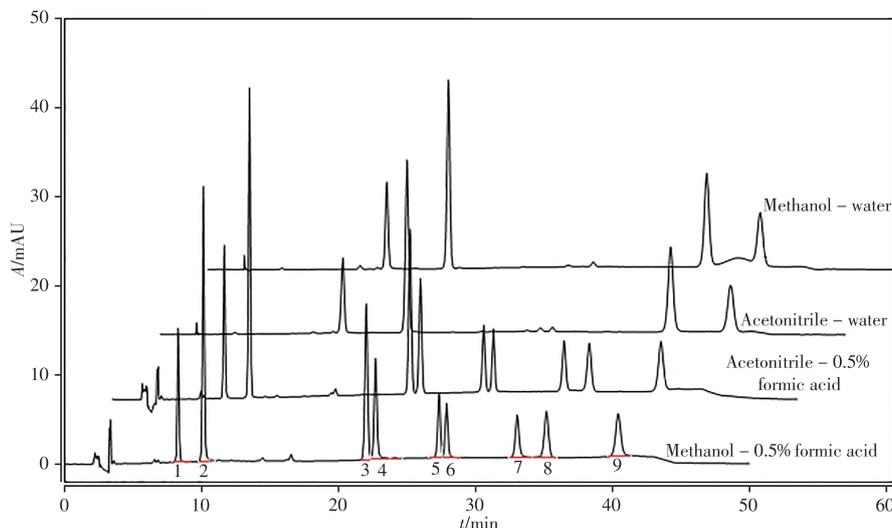


图 2 不同流动相系统中 9 种热感剂混标溶液的色谱图

Fig. 2 HPLC chromatograms of 9 self-heating compounds mixed standard solution in different mobile phase systems
the numbers denoted were the same as those in Table 1

2.2.4 柱温的选择 考察了柱温对分离效果的影响。实验发现,当柱温升高时,水杨酸甲酯与香兰基丁醚的分离度增加,但二氢辣椒碱与4-烯丙基甲醚的分离度会随之降低。相反,当温度降低时,水杨酸甲酯与香兰基丁醚的分离度降低,但二氢辣椒碱与4-烯丙基甲醚的分离度则增加(如图3)。综合考虑,本实验选择30℃作为最佳柱温。

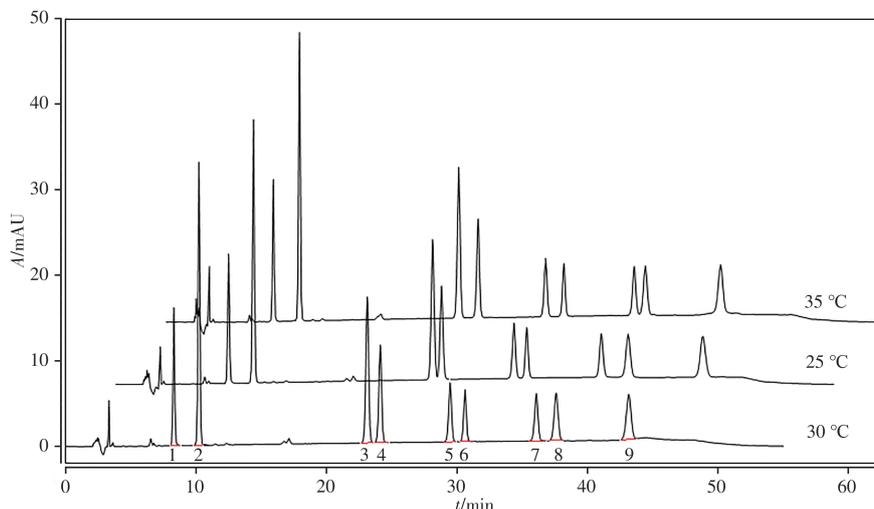


图3 不同柱温下9种热感剂混标溶液的色谱图

Fig. 3 HPLC chromatograms of 9 self-heating compounds mixed standard solution at different column temperatures the numbers denoted were the same as those in Table 1

2.3 线性范围与检出限

在优化条件下,对9种热感剂进行线性和灵敏度考察,以信噪比(S/N)为3时作为检出限。分别配制质量浓度为0.2~100 $\mu\text{g/mL}$ 系列标准溶液,以目标化合物的质量浓度为横坐标(X , $\mu\text{g/mL}$),响应值的峰面积为纵坐标(Y),绘制标准曲线。结果显示,9种热感剂在0.2~100 $\mu\text{g/mL}$ 范围内线性关系良好,相关系数(r^2)均不小于0.999 5,检出限(LOD)为0.001 0~0.003 4 mg/kg (见表1)。

表1 9种热感剂的线性方程、线性范围、相关系数(r^2)及检出限

Table 1 Regression equations, linear ranges, correlation coefficients(r^2) and LODs of 9 self-heating compounds

No.	Compound	Regression equation	Linear range/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	r^2	LOD/ $(\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1})$
1	Zingerone(姜酮)	$Y = 0.1832X - 0.0124$	0.2~100	0.9996	0.0015
2	Vanillyl ethyl ether(4-(乙氧基甲基)-2-甲氧基苯酚)	$Y = 0.2176X + 0.0072$	0.2~100	0.9995	0.0010
3	Methyl salicylate(水杨酸甲酯)	$Y = 0.2466X - 0.0133$	0.2~100	0.9997	0.0013
4	Vanillyl butyl ether(香兰基丁醚)	$Y = 0.1314X + 0.0060$	0.2~100	0.9996	0.0020
5	β -Asarone Injection(β -细辛脑)	$Y = 0.1029X + 0.0071$	0.2~100	0.9995	0.0027
6	Capsaicin(辣椒碱)	$Y = 0.0970X - 0.0024$	0.2~100	0.9996	0.0029
7	Dihydrocapsaicin(二氢辣椒碱)	$Y = 0.0970X - 0.0097$	0.2~100	0.9999	0.0032
8	4-Allylanisole(4-烯丙基苯甲醚)	$Y = 0.0985X - 0.0093$	0.2~100	0.9999	0.0034
9	6-Shogaol(6-姜烯酚)	$Y = 0.0970X - 0.0049$	0.2~100	0.9996	0.0034

2.4 回收率与相对标准偏差

为验证方法的准确度,选择3种阴性水基类、乳剂类、膏霜类化妆品作为空白基质,添加高、中、低3个水平浓度。按照上述所建方法进行测定,结果见表2。由表2可知,9种热感剂在不同加标水平下的回收率为75.6%~115%,相对标准偏差(RSD)为0.083%~7.0%。表明该方法具有较好的回收率和RSD。

2.5 方法的稳定性

考察了线性中间点浓度(5 $\mu\text{g/mL}$)在同1日内连续6次测定(0、4、8、12、24、48 h),记录各组分的峰面积,并计算其RSD。结果显示,峰面积的RSD均小于5.0%,表明9种热感剂在48 h内稳定性良好。

2.6 实际样品的测定

采用本方法对市售的30份化妆品样品进行检测,4-(乙氧基甲基)-2-甲氧基苯酚和 β -细辛脑均未检出,检出批数较多的组分为水杨酸甲酯、姜酮、辣椒碱,检出含量最高的组分为水杨酸甲酯,达到1.0%,其次为香兰基丁醚,为0.8%,9种热感剂组分的检出情况见表3。

表2 化妆品中9种热感剂的加标回收率及相对标准偏差($n=3$)
Table 2 Recoveries and RSDs of 9 self-heating compounds in cosmetic samples($n=3$)

Matrix	Compound	Added 0.004 mg/kg		Added 0.02 mg/kg		Added 1 mg/kg	
		Recovery/%	RSD/%	Recovery/%	RSD/%	Recovery/%	RSD/%
Water	Zingerone	103	1.8	91.1	2.7	82.1	0.25
	Vanillyl ethyl ether	90.7	4.6	99.5	2.1	75.7	0.50
	Methyl salicylate	114	3.8	106	6.6	101	0.18
	Vanillyl butyl ether	110	3.1	106	6.3	102	0.20
	β -Asarone Injection	87.2	3.3	98.6	6.4	99.3	0.12
	Capsaicin	87.0	3.0	98.9	3.9	102	0.16
	Dihydrocapsaicin	104	4.7	101	7.0	111	0.20
	4-Allylanisole	103	0.86	105	4.2	99.5	0.28
Lotion	6-Shogaol	91.6	3.8	109	4.9	97.9	0.083
	Zingerone	98.1	2.6	86.8	2.4	81.0	1.4
	Vanillyl ethyl ether	93.1	3.7	99.7	2.2	75.6	2.3
	Methyl salicylate	108	3.7	84.3	3.8	98.3	1.6
	Vanillyl butyl ether	81.5	0.78	96.4	2.5	99.9	1.4
	β -Asarone Injection	90.6	4.0	95.6	4.9	97.5	0.92
	Capsaicin	83.6	1.3	96.5	3.7	99.4	0.82
	Dihydrocapsaicin	115	2.4	112	3.8	109	1.5
Cream	4-Allylanisole	109	1.7	95.4	4.5	96.0	1.6
	6-Shogaol	97.5	2.6	103	3.4	96.5	2.2
	Zingerone	89.7	4.8	87.6	1.4	81.2	0.85
	Vanillyl ethyl ether	101	2.3	102	3.9	77.4	1.1
	Methyl salicylate	93.4	4.6	90.0	4.8	97.6	1.1
	Vanillyl butyl ether	89.2	3.1	98.5	2.3	100	0.84
	β -Asarone Injection	92.9	5.0	95.7	4.0	98.8	0.94
	Capsaicin	101	4.2	90.8	4.7	101	1.0
Dihydrocapsaicin	107	4.1	110	4.8	115	2.5	
	4-Allylanisole	89.4	2.3	85.8	4.1	94.1	1.6
	6-Shogaol	100	4.7	99.1	4.6	96.0	0.87

表3 实际样品中热感剂含量的检出结果(%)
Table 3 The detection result of self-heating compounds in the actual samples(%)

Sample No.	Zingerone	Vanillyl butyl ether	Methyl salicylate	Capsaicin	Dihydrocapsaicin	4-Allylanisole	6-Shogaol
1			0.19				
2	0.10		0.11				0.05
3	0.13		0.23		0.01		
4				0.03			
5			0.11				
6			0.19	0.02			
7	0.12			0.02			
8			0.03	0.02			
9				0.02			
10	0.17			0.005	0.005		
11	0.005		0.06				
12		0.01				0.004	
13			0.25				
14	0.03						
15	0.07						
16		0.8	1.0				
17		0.01					
18				0.04			

3 结 论

本文建立了高效液相色谱同时检测化妆品中辣椒碱等9种热感剂含量的方法。该方法适用性强, 样品前处理操作简便, 经验证, 其方法线性好、灵敏度高, 适用于市场上水剂类、乳剂类、膏霜类等化妆品中辣椒碱等9种热感剂的定性定量分析。

参考文献:

- [1] Vogel E M, Bronoski M, Marques L L M, Cardoso F A R. *Braz. J. Biol.*, **2022**, 82: e241025.
- [2] Li Y Y. *Capital Med.* (李玉衡, 首都医药), **2006**, (9): 35–37.
- [3] Zhao T T, Li H Y, Tan J H, Xiong X T, Zhao Q W, Zhang K D, Xia Z M. *Anal. Instrum.* (赵田甜, 李慧勇, 谭建华, 熊小婷, 招启文, 张可冬, 夏泽敏. 分析仪器), **2014**, 193(3): 40–43.
- [4] Zhao T T, Li H Y, Tan J H, Xiong X T, Zhao Q W, Zhang K D, Xia Z M. *Mod. Chem. Ind.* (赵田甜, 李慧勇, 谭建华, 熊小婷, 招启文, 张可冬, 夏泽敏. 现代化工), **2014**, 329(3): 163–165.
- [5] Luo D X, Chen S Y, Li Z H, Li H G. *China Pharm.* (罗德祥, 陈淑映, 李子鸿, 李怀国. 中国药师), **2008**, 106(11): 1321–1323.
- [6] Zhang J, Zeng M S, Lai J M, Li S Y, Yan X H, Ding Y. *J. Instrum. Anal.* (张静, 曾敏珊, 赖俊敏, 李思源, 严小红, 丁怡. 分析测试学报), **2022**, 41(6): 916–920.
- [7] Liang Z Y, Liang Z H, Ma Y F, Luo H T, Huang F, Wu H Q. *J. Instrum. Anal.* (梁梓洋, 梁梓豪, 马叶芬, 罗辉泰, 黄芳, 吴惠勤. 分析测试学报), **2022**, 41(11): 1591–1599.
- [8] Chen Y G, Zhang P L, Tan Z Z, Wang H H, Xia Z M, Tan J H. *Anal. Instrum.* (陈意光, 张沛林, 谭焯针, 王宏海, 夏泽敏, 谭建华. 分析仪器), **2020**, 232(5): 11–16.
- [9] Huang H, Liao Y Z. *Food and Machinery* (黄辉, 廖燕芝. 食品与机械), **2022**, 249(7): 80–84, 114.
- [10] Sun L J, Li H Q, Cai R B, Zhuang J Y, Tang Q Q, Tang Y Y, Zhong J, Huang W. *J. Instrum. Anal.* (孙良娟, 李红权, 蔡润斌, 庄姜云, 唐庆强, 唐媛媛, 钟键, 黄武. 分析测试学报), **2023**, 42(1): 89–95.
- [11] Wang Y, Nie M X, Jia F, Liang W Y, Li X Y, Wen J L, Xia Z M, Tan J H. *J. Instrum. Anal.* (汪毅, 聂明霞, 贾芳, 梁文耀, 李鑫宇, 文嘉林, 夏泽敏, 谭建华. 分析测试学报), **2022**, 41(12): 1746–1750.
- [12] Liang R, Zhao J, Sun Y, Gao H, Hai Y. *Food Sci. Technol.* (梁瑞, 赵静, 孙悦, 高晖, 海艳. 食品科技), **2021**, 355(5): 285–289.
- [13] Zheng Z Y, Gui S Y, Long Z J, Zhou X T. *J. Anhui Univ. Chin. Med.* (郑峙云, 桂双英, 龙子江, 周绪天. 安徽中医药大学学报), **2015**, 175(5): 87–89.
- [14] Wang S P, Xia Y B, Peng J, Zheng Y Y, Xiong K, Yang F, Lu W W. *Chin. J. Anal. Lab.* (王穗萍, 夏延斌, 彭进, 郑瑶瑶, 熊科, 杨峰, 陆微微. 分析实验室), **2007**, 26(12): 39–43.
- [15] Wu C S, Wang B, Liang M, Xian Y P, Wu Y L, Wang L, Chen J F, Guo X D, Liu D H. *J. Instrum. Anal.* (吴楚森, 王斌, 梁明, 洗燕萍, 吴玉奎, 王莉, 陈杰锋, 郭新东, 刘冬虹. 分析测试学报), **2019**, 38(8): 985–989.

(责任编辑: 龙秀芬)