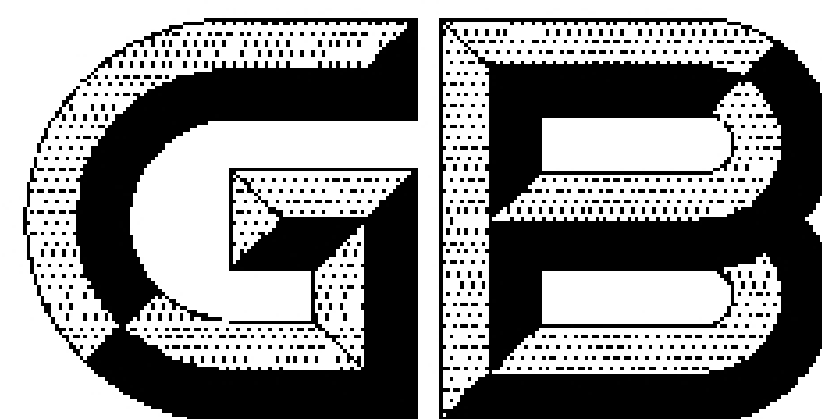




中华人民共和国国家标准

GB/T 29662—2013

化妆品中曲酸、曲酸二棕榈酸酯的测定 高效液相色谱法

Determination of kojic acid and kojic dipalmitate in cosmetics—
High performance liquid chromatography

2013-09-06 发布

2014-02-15 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局 发布
中国国家标准化管理委员会

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由中国轻工业联合会提出。

本标准由全国香料香精化妆品标准化技术委员会(SAC/TC 257)归口。

本标准起草单位：上海市日用化学工业研究所、大连市产品质量监督检验所、上海家化联合股份有限公司。

本标准主要起草人：崔俭杰、李琼、沈敏、毛希琴、胡侠、刘超、徐伟东。



化妆品中曲酸、曲酸二棕榈酸酯的测定

高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了化妆品中曲酸及其衍生物曲酸二棕榈酸酯的测定方法。

本标准适用于化妆品中曲酸的测定,检出限为 0.01%,定量限为 0.1%。

本标准适用于化妆品中曲酸二棕榈酸酯的测定,检出限为 0.04%,定量限为 0.4%。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 化妆品中曲酸的测定

3.1 原理

以流动相-甲醇与 1%醋酸水溶液(10:90)为溶剂,超声提取、离心,0.45 μm 的滤膜过滤,溶液注入配有二极管阵列检测器(DAD)的液相色谱仪检测,外标法定量。

3.2 试剂和材料

除非另有规定,所用试剂均为分析纯。水为 GB/T 6682 规定的一级水。

3.2.1 甲醇:色谱纯。

3.2.2 曲酸:纯度不小于 98%。

3.2.3 醋酸。

3.2.4 1%醋酸水溶液:取 10 mL 冰醋酸,定容至 1 000 mL。

3.2.5 流动相:甲醇:1%醋酸水溶液=10:90。

3.2.6 曲酸标准储备液:准确称取 0.1 g(精确到 0.000 1 g)曲酸于 50 mL 烧杯中,加 1%的醋酸水溶液溶解后,移入 100 mL 容量瓶中,用 1%的醋酸水溶液定容至刻度,即得曲酸溶液浓度为 1 000 mg/L 的标准储备液。密封阴凉处保存 3 个月。

3.2.7 标准工作溶液:分别移取标准储备液(3.2.6)0.2 mL、0.5 mL、1.0 mL、2.0 mL、5.0 mL 于 5 个 10 mL 容量瓶中,用流动相(3.2.5)定容至刻度,配成一系列浓度分别为 0.02 mg/mL、0.05 mg/mL、0.1 mg/mL、0.2 mg/mL、0.5 mg/mL 的标准工作溶液。

3.3 仪器和设备

3.3.1 高效液相色谱仪,配有二极管阵列检测器。

3.3.2 微量进样器,10 μL 。

3.3.3 超声波清洗器。

3.3.4 离心机,大于 8 000 r/min。

3.3.5 溶剂过滤器和 0.45 μm 有机滤膜。

3.3.6 天平:感量 0.01 g;感量 0.000 1 g。

3.4 测定步骤

3.4.1 样品处理

称取 0.2 g(精确至 0.01 g)试样于 10 mL 具塞比色管中,加入流动相(3.2.5)至刻度,超声提取 20 min。取部分溶液转移至 10 mL 具塞塑料离心管中,以 8 000 r/min 离心 20 min,上清液经 0.45 μm 滤膜过滤,供高效液相色谱测定。

注:如离心难以获得上清液可加适量氯化钠破乳。

3.4.2 色谱条件

高效液相色谱测定的参考条件如下:

- a) 高效液相色谱仪:配有二极管阵列检测器;
- b) 色谱柱: C_{18} 柱,250 mm $\times$ 4.6 mm(内径),5 μm (粒径),或相当者;
- c) 流动相(3.2.5);
- d) 流速:1.0 mL/min;
- e) 柱温:30 $^{\circ}\text{C}$;
- f) 检测波长:268 nm;
- g) 进样量:5 μL 。

3.4.3 标准工作曲线绘制

将曲酸标准工作溶液(3.2.7)按色谱条件(3.4.2)进行测定,以色谱峰的峰面积为纵坐标,对应的溶液浓度为横坐标作图,绘制标准工作曲线。标准物质色谱图见附录 A。

3.4.4 试样测定

将试样溶液(3.4.1)按色谱条件(3.4.2)进行测定,记录色谱峰的保留时间和峰面积,用外标法定量。样品试样溶液中的被测物的响应值应在仪器测定的线性范围之内。被测物含量高的试样可取适量试样溶液用流动相稀释后进行测定。

3.4.5 定性确证

液相色谱仪对样品进行定性测定,进行样品测定时,如果检出曲酸的色谱峰的保留时间与标准品相一致,并且在扣除背景后的样品色谱图中,该物质的紫外吸收图谱与标准品的紫外吸收图谱相一致,则可确认样品中存在曲酸。

3.4.6 空白试验

除不称取样品外,均按上述步骤同时完成空白试验。

3.4.7 平行试验

按上述步骤,对同一样品进行平行实验测定。

3.5 结果计算

结果按式(1)计算,计算结果应扣除空白值:

$$X_i = \frac{c_i \times V_i}{1\,000\,m_i} \times 100\% \quad \dots\dots\dots(1)$$

式中:

X_i ——样品中曲酸的质量浓度, %;

c_i ——标准曲线查得曲酸的浓度, 单位为毫克每毫升(mg/mL);

V_i ——样品稀释后的总体积, 单位为毫升(mL);

m_i ——样品质量, 单位为克(g)。

3.6 回收率和精密度

曲酸含量在 0.1%~2.5% 范围内, 回收率在 95%~105% 之间, 相对标准偏差小于 10%。

3.7 允许差

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对值差不得超过算数平均值的 10%。

4 化妆品中曲酸二棕榈酸酯的测定

4.1 原理

以四氢呋喃为溶剂, 超声提取, 0.45 μm 的滤膜过滤, 溶液注入配有二极管阵列检测器(DAD)的液相色谱仪检测, 外标法定量。

4.2 试剂和材料

除非另有规定, 所用试剂均为分析纯。

4.2.1 甲醇: 色谱纯。

4.2.2 四氢呋喃: 色谱纯。

4.2.3 曲酸二棕榈酸酯: 纯度不小于 98%。

4.2.4 曲酸二棕榈酸酯标准储备液: 准确称取 0.1 g(精确到 0.000 1 g)曲酸二棕榈酸酯于 50 mL 烧杯中, 加四氢呋喃(4.2.2)溶解(若不易溶解可稍微加热), 移入 100 mL 容量瓶中, 四氢呋喃(4.2.2)定容至刻度, 即得曲酸二棕榈酸酯溶液浓度为 1 000 mg/L 的标准储备液。

4.2.5 标准工作溶液: 分别移取标准储备液(4.2.4)0.2 mL、0.4 mL、0.6 mL、0.8 mL、1.0 mL 于 5 个 10 mL 容量瓶中, 用四氢呋喃(4.2.2)定容至刻度, 配成一系列浓度分别为 0.02 mg/L、0.04 mg/L、0.06 mg/L、0.08 mg/L、0.1 mg/L 的标准工作溶液。

4.3 仪器和设备

4.3.1 高效液相色谱仪, 配有二极管阵列检测器、金属管路、金属密封垫。

4.3.2 微量进样器, 10 μL。

4.3.3 超声波清洗器。

4.3.4 溶剂过滤器和 0.45 μm 有机滤膜。

4.3.5 天平: 感量 0.01 g; 感量 0.000 1 g。

4.4 测定步骤

4.4.1 样品处理

称取化妆品试样约 0.1 g(精确到 0.01 g), 于 20 mL 具塞比色管中, 用四氢呋喃(4.2.2)定容至刻度, 在超声波清洗器中超声振荡 15 min。取部分溶液经 0.45 μm 滤膜过滤, 滤液待测定用。

4.4.2 色谱条件

高效液相色谱测定的参考条件如下：

- a) 高效液相色谱仪，配有二极管阵列检测器、金属管路、金属密封垫；
- b) 色谱柱： C_{18} 柱，不锈钢柱，250 mm×4.6 mm(内径)，5 μ m(粒径)，或相当者；
- c) 流动相：甲醇：四氢呋喃=75：25；
- d) 流速：1.0 mL/min；
- e) 柱温：30 $^{\circ}$ C；
- f) 检测波长：252 nm；
- g) 进样量：5 μ L。

4.4.3 标准工作曲线绘制

将曲酸二棕榈酸酯标准工作溶液(4.2.5)，按色谱条件(4.4.2)进行测定，以色谱峰的峰面积为纵坐标，对应的溶液浓度为横坐标作图，绘制标准工作曲线。标准物质色谱图见附录 B。

4.4.4 试样测定

将试样溶液(4.4.1)按色谱条件(4.4.2)进行测定，记录色谱峰的保留时间和峰面积，用外标法定量。样品溶液中的被测物的响应值应在仪器测定的线性范围之内。被测物含量高的试样可取适量试样溶液用流动相稀释后进行测定。

4.4.5 定性确证

液相色谱仪对样品进行定性测定，进行样品测定时，如果检出曲酸的色谱峰的保留时间与标准品相一致，并且在扣除背景后的样品色谱图中，该物质的紫外吸收图谱与标准品的紫外吸收图谱相一致，则可确认样品中存在曲酸二棕榈酸酯。

4.4.6 空白试验

除不称取样品外，均按上述步骤同时完成空白试验。

4.4.7 平行试验

按上述步骤，对同一样品进行平行实验测定。

4.5 结果计算

结果按式(2)计算，计算结果应扣除空白值：

$$X_j = \frac{c_j \times V_j}{1\,000\,m_j} \times 100\% \quad \cdots \cdots (2)$$

式中：

- X_j ——样品中曲酸的质量浓度，%；
- c_j ——标准曲线查得曲酸的浓度，单位为毫克每毫升(mg/mL)；
- V_j ——样品稀释后的总体积，单位为毫升(mL)；
- m_j ——样品质量，单位为克(g)。

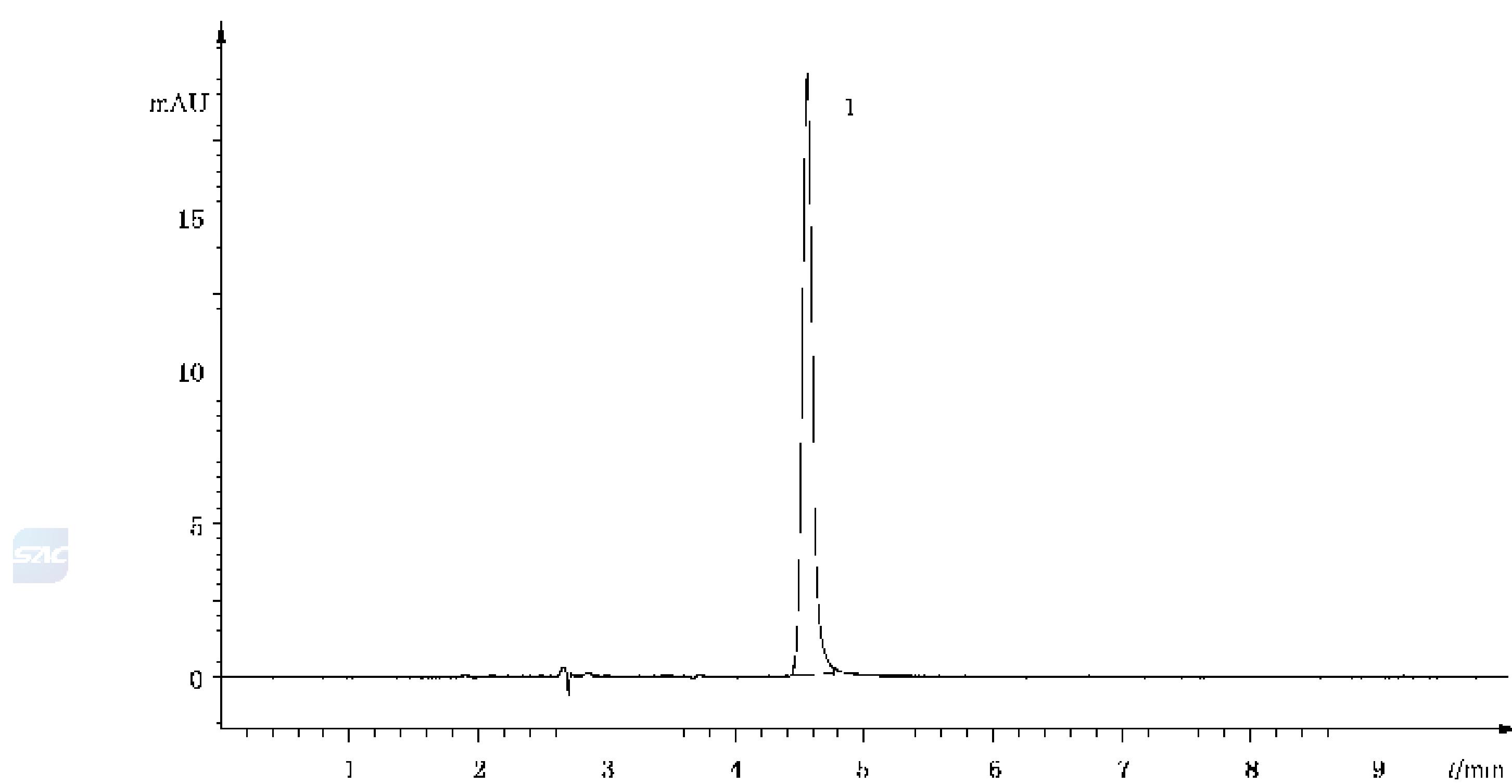
4.6 回收率和精密度

曲酸二棕榈酸酯含量在 0.4%~2.0%范围，回收率在 95%~105%之间，相对标准偏差小于 10%。

4.7 允许差

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对值差不得超过算数平均值的 10%。

附 录 A
(资料性附录)
曲酸标准物质的液相色谱图

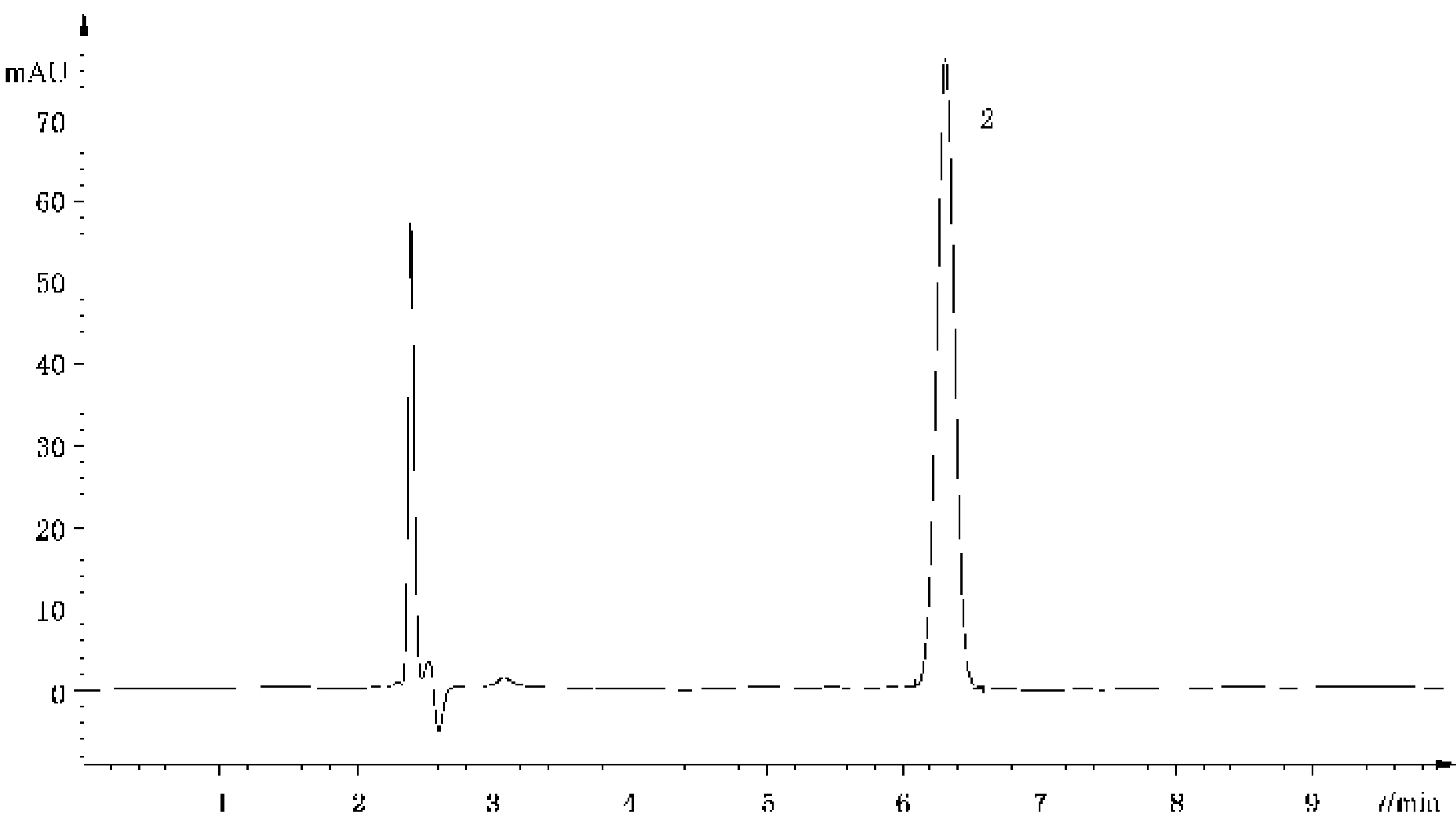


说明：

1——曲酸,保留时间为 4.553 min。

图 A.1 曲酸标准物质的液相色谱图

附 录 B
(资料性附录)
曲酸二棕榈酸酯标准物质的液相色谱图



说明：
2——曲酸二棕榈酸酯，保留时间为 6.316 min。

图 B.1 曲酸二棕榈酸酯标准物质的液相色谱图