



中华人民共和国国家标准

GB/T 30938—2014

化妆品中食品橙 8 号的测定 高效液相色谱法

Determination of canthaxanthin in cosmetics—
High performance liquid chromatography

2014-07-08 发布

2014-11-01 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：宁波市产品质量监督检验研究院、上海市日用化学工业研究所、上海香料研究所。

本标准主要起草人：王全林、武晓剑、何一芳、程晓寅、张爱芝、沈敏。



化妆品中食品橙 8 号的测定 高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了化妆品中食品橙 8 号(又称斑螫黄)的液相色谱测定与液相色谱-质谱/质谱确证法。

本标准适用于化妆品中食品橙 8 号的含量测定和确证。

当称样量为 0.5 g,定容体积 10 mL,进样量 20 μ L 时,本方法检出限为 0.5 mg/kg,定量限为 1 mg/kg。

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 原理

化妆品中的食品橙 8 号用溶剂提取、净化后,高效液相色谱法进行测定,外标法定量。如有必要,可用液相色谱-质谱/质谱法确证。

4 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。

4.1 甲醇:色谱纯。

4.2 *N,N*-二甲基甲酰胺:色谱纯。

4.3 三氟乙酸:色谱纯。

4.4 四氢呋喃:分析纯。

4.5 食品橙 8 号标准品:纯度不小于 90%,于 4 $^{\circ}$ C 避光保存。英文名称、INCI 中文名称、CAS 号、分子式、相对分子质量和结构式参见附录 A。

4.6 标准储备液:准确称取适量食品橙 8 号标准品(相当于 10.00 mg 纯品,精确至 0.01 mg),用 *N,N*-二甲基甲酰胺(4.2)溶解并定容到 100 mL 棕色容量瓶中,得到 100 mg/L 食品橙 8 号标准储备液。充氮气置 -18 $^{\circ}$ C 避光保存,可使用 2 周。

4.7 标准使用液:移取标准储备液适量,用甲醇进行稀释、定容,获得所需浓度的标准使用液,即配即用。

5 仪器与设备



5.1 高效液相色谱仪:配二极管阵列检测器(DAD)或紫外-可见(UV-Vis)检测器。

5.2 液相色谱-串联质谱仪:配有电喷雾离子源。

5.3 分析天平:感量 0.01 mg 和 0.1 mg。

- 5.4 涡旋混合器。
- 5.5 超声提取器。
- 5.6 离心机:5 000 r/min。
- 5.7 微孔滤膜:孔径 0.22 μm 和 0.45 μm ,聚四氟乙烯膜,聚偏氟乙烯膜及聚醚砜膜等有机系滤膜。

6 测定步骤



6.1 提取与净化

6.1.1 水基化妆品和膏霜乳液类化妆品

称取试样 0.5 g~1.0 g(精确至 0.1 mg)于 10 mL 比色管中,加入甲醇至刻度,涡旋振荡使其混合均匀,超声提取 15 min 后,取部分溶液至 10 mL 离心管中,以 4 000 r/min 离心分离,取上清液经 0.45 μm 滤膜(5.7)过滤后上液相色谱测定,0.22 μm 滤膜(5.7)过滤后上液相色谱-串联质谱测定。

6.1.2 粉类化妆品、唇膏类化妆品和油性化妆品

称取试样 0.5 g~1.0 g(精确至 0.1 mg)于 10 mL 比色管中,加入四氢呋喃(4.4)1.5 mL,涡旋振荡使样品分散,再加甲醇至刻度,超声波提取 15 min 后,取部分溶液至 10 mL 离心管中,4 000 r/min 离心分离。上清液经 0.45 μm 滤膜(5.7)过滤后上液相色谱测定,0.22 μm 滤膜(5.7)过滤后上液相色谱-串联质谱测定。

注:操作过程应避强光、连续进行。

6.2 高效液相色谱法测定

6.2.1 色谱条件

高效液相色谱参考条件如下:

- a) 色谱柱:ZORBAX Eclipse XDB- C_{18} ,4.6 mm(内径) $\times$ 250 mm,5 μm ,或相当者;
- b) 柱温:30 $^{\circ}\text{C}$;
- c) 流动相:甲醇-0.05%三氟乙酸(97+3,体积比);
- d) 流速:1.0 mL/min;
- e) 检测波长:470 nm;
- f) 进样量:20 μL 。

6.2.2 色谱测定

根据试样中被测物的含量情况,选取响应适宜的标准工作液进行色谱分析。标准工作液和待测样液中食品橙 8 号的响应值应在仪器线性响应范围内。在上述色谱条件(6.2.1)下,标准工作液与待测样液等体积进样检测。以顺式、反式峰面积之和为纵坐标,食品橙 8 号标准系列浓度为横坐标作图,得到校准曲线及回归方程,外标法定量。标准品色谱图参见附录 B。

6.3 确证

6.3.1 液相色谱-质谱/质谱条件

液相色谱-质谱/质谱参考条件如下:

- a) 色谱柱:ACQUITY™ BEH C_{18} 柱,100 mm $\times$ 2.1 mm(内径),1.7 μm ,或相当者;
- b) 流动相:甲醇-0.1%甲酸水溶液(90+10,体积比);

- c) 流速:0.2 mL/min;
 - d) 柱温:40 ℃;
 - e) 进样量:10 μL;
 - f) 离子源:电喷雾源 ESI,正离子模式;
 - g) 扫描方式:多反应监测(MRM)。
- 其他参考质谱条件参见附录 C。

6.3.2 液相色谱-质谱/质谱确证

将 6.1 中所得样液(必要时用色谱纯甲醇稀释至适当浓度)和标准工作液用液相色谱-质谱/质谱检测。如果样液和标准工作液两者检出的色谱峰保留时间一致,并且在扣除背景后的样品谱图中各定性离子的相对丰度与浓度接近的同样条件下得到的标准溶液谱图相比,其相对偏差不超过表 1 中规定的范围,则可判断样品中存在对应的被测物。食品橙 8 号标准品多反应监测(MRM)色谱图参见附录 D。

表 1 定性确证时相对离子丰度的最大允许偏差

相对离子丰度/%	>50	>20~50	>10~20	≤10
允许的相对偏差/%	±20	±25	±30	±50

6.4 空白试验

除不称取试样外,均按上述操作步骤进行。

6.5 结果计算

化妆品样品中食品橙 8 号的含量按式(1)进行计算:

$$X = \frac{c \times V}{m} \dots\dots\dots (1)$$

- 式中:
- X ——试样中食品橙 8 号含量,单位为毫克每千克(mg/kg);
 - c ——试样中食品橙 8 号峰面积对应的浓度,单位为毫克每升(mg/L);
 - V ——最终样液的定容体积,单位为毫升(mL);
 - m ——最终样液所代表样品质量,单位为克(g)。
- 计算结果应表示到小数点后两位。

7 检出限与定量限

当称样量为 0.5 g,定容体积 10 mL,进样量 20 μL 时,本方法检出限为 0.5 mg/kg,定量限为 1 mg/kg。

8 回收率和精密度

在添加浓度 2 mg/kg~20 mg/kg 范围内,回收率在 92.54%~103.76%之间,相对标准偏差小于 5%。

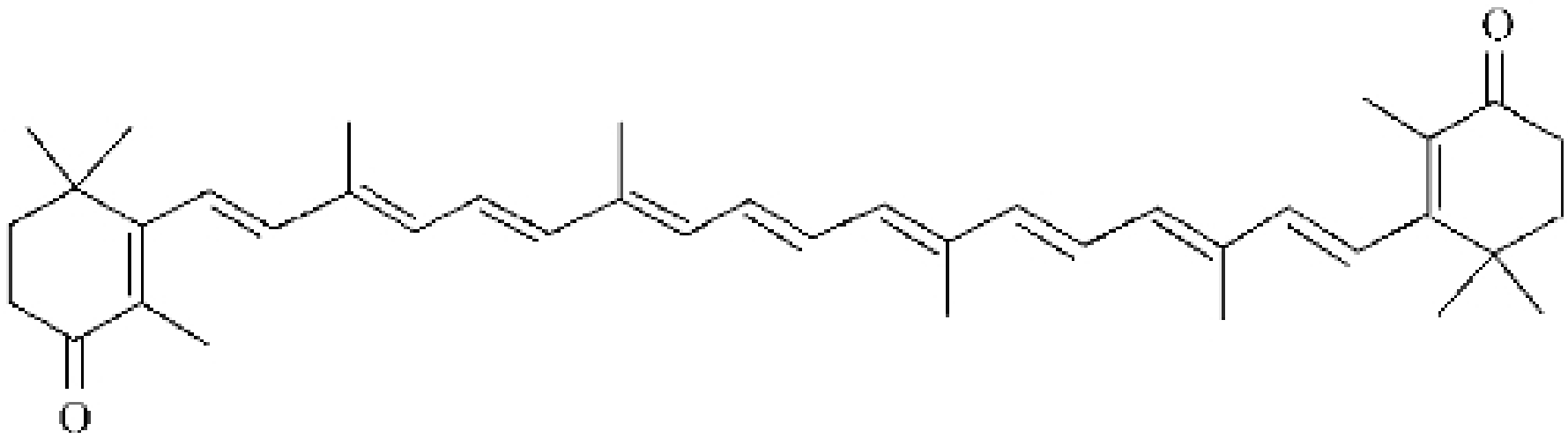
9 允许差

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10%。

附 录 A
(资料性附录)

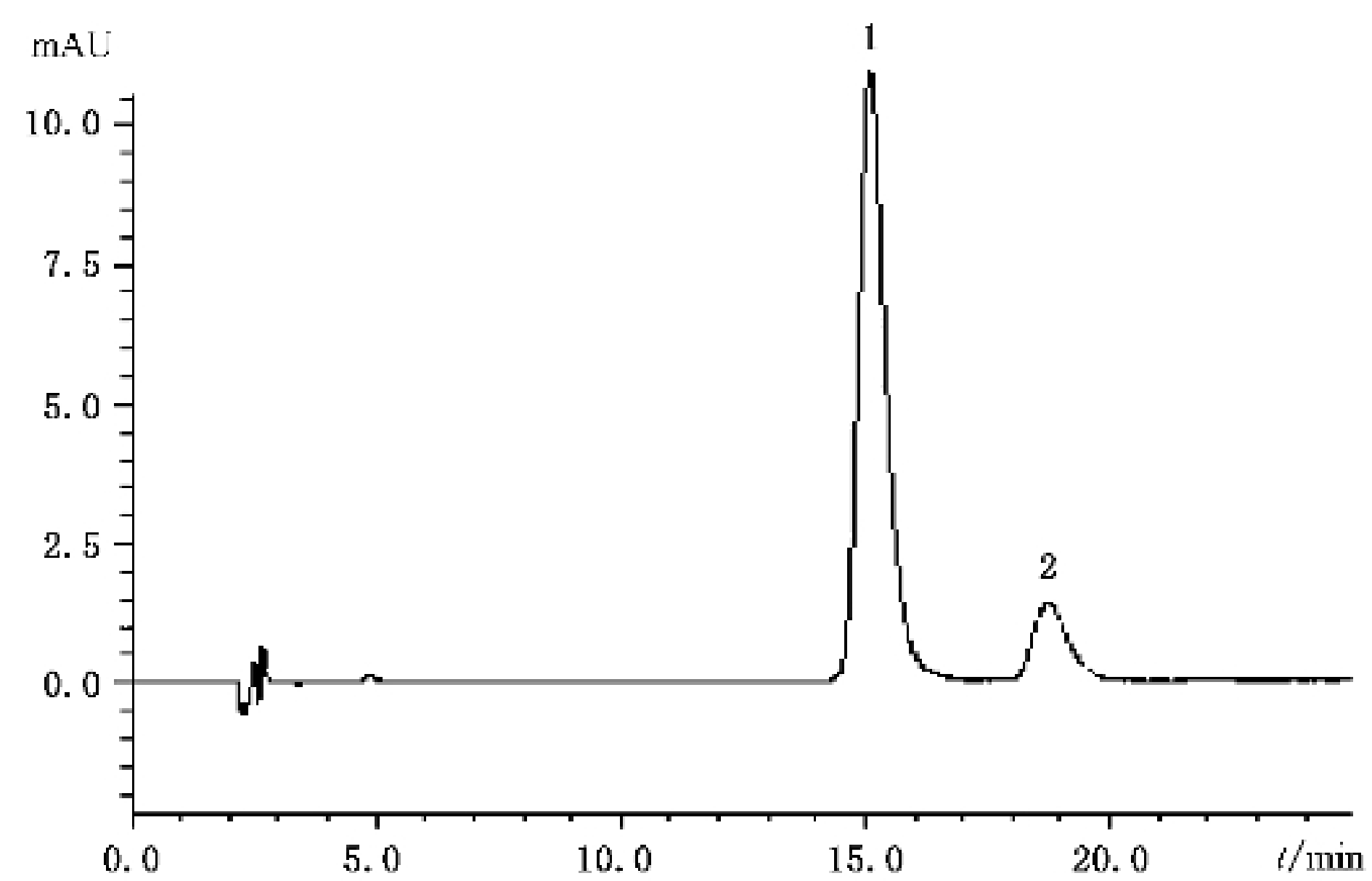
食品橙 8 号标准品英文名称、INCI 中文名称、CAS 号、分子式、相对分子质量和结构式

表 A.1 食品橙 8 号标准品英文名称、INCI 中文名称、CAS 号、分子式、相对分子质量和结构式

中文名称	食品橙 8 号
英文名称	Canthaxanthin
INCI 中文名称	CI40850
CAS 号	517-78-3
分子式	C ₄₀ H ₅₂ O ₂
相对分子质量	564.84
结构式	



附 录 B
(资料性附录)
食品橙 8 号标准品高效液相色谱图



说明：

1——食品橙 8 号反式体；

2——食品橙 8 号顺式体。

图 B.1 食品橙 8 号标准溶液的高效液相色谱图

附 录 C
(资料性附录)
参考质谱参数

质谱参考条件如下：

- a) 电离方式:ESI⁺；
- b) 电离电压:3 kV；
- c) 离子源温度:120 ℃；
- d) 脱溶剂气温度:350 ℃；
- e) 锥孔反吹气流量:45 L/h；
- f) 脱溶剂气流量:600 L/h；
- g) 碰撞室压力: 4.06×10^{-3} mbar(氩气为碰撞气,1 mbar=100 Pa)；
- h) 射频透镜 1 电压:15.0 V；
- i) 射频透镜 2 电压:13.0 V；
- j) 其他质谱参数见表 C.1。

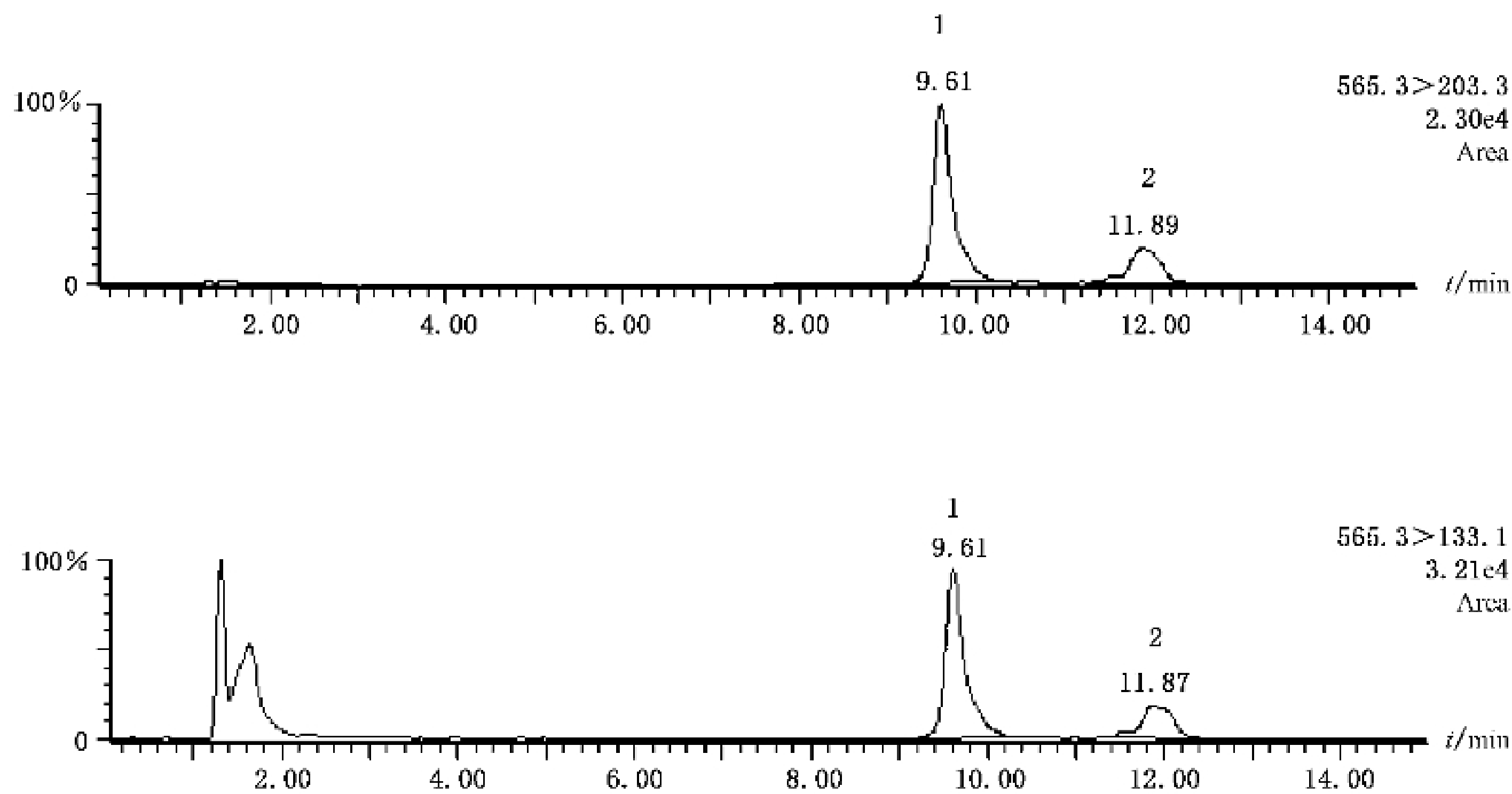
注：所列参考质谱条件是在 Quattro Premier XE 型液相色谱-质谱联用仪上完成的,对于不同质谱仪,仪器参数可能存在差异,测定前应将质谱参数优化到最佳。另外,此处列出试验用仪器型号仅为提供参考,并不涉及商业目的,鼓励标准使用者尝试不同厂家或型号的仪器。

表 C.1 主要参考质谱参数

化合物	母离子(<i>m/z</i>)	子离子(<i>m/z</i>)	锥孔电压/V	碰撞能量/eV	驻留时间/s
食品橙 8 号	565.3	133.1	40	29	0.1
		203.3	40	23	0.1



附 录 D
(资料性附录)
标准品多反应监测(MRM)离子色谱图



说明：
1——食品橙 8 号反式体；
2——食品橙 8 号顺式体。

图 D.1 食品橙 8 号标准品多反应监测(MRM)离子色谱图