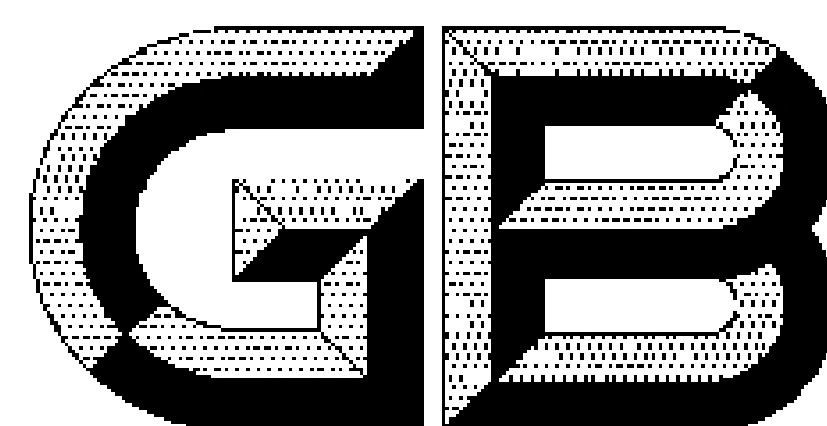




中华人民共和国国家标准

GB/T 35954—2018

化妆品中 10 种美白祛斑剂的测定 高效液相色谱法

Determination of 10 whitening and freckle-removing components
in cosmetics—High performance liquid chromatography

2018-02-06 发布

2018-09-01 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:深圳出入境检验检疫局、深圳市检验检疫科学研究院。
本标准主要起草人:陈沛金、涂小珂、张毅、肖锋、康海宁、林黎、沈金灿、罗耀。

化妆品中 10 种美白祛斑剂的测定

高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了化妆品中 10 种美白祛斑剂(抗坏血酸磷酸酯镁、抗坏血酸葡萄糖苷、 β -熊果苷、曲酸、烟酰胺、3-O-乙基抗坏血酸、甲氧基水杨酸钾、覆盆子酮葡萄糖苷、甘草酸二钾、4-丁基间苯二酚)的高效液相色谱测定方法的试剂和材料、仪器和设备、分析步骤、结果计算、回收率与精密度、允许差等内容。

本标准适用于水基、乳液、膏霜、凝胶、蜡基、粉基类等化妆品中 10 种美白祛斑剂的测定。

本标准方法检出限与定量限参见附录 A 中表 A.1。

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 方法提要

样品以磷酸二氢钾溶液为提取溶剂,水基样品、水包油样品直接超声提取,油包水样品、蜡基、粉基样品经二氯甲烷溶解分散后再加提取溶剂超声提取,离心,经 0.22 μm 的水系滤膜过滤,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 试剂和材料

- 除非另有说明,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 二氯甲烷:色谱纯。
 - 4.3 氢氧化钾溶液(100 g/L):称取 10 g(精确至 0.001 g)氢氧化钾固体,用水溶解并定容到 100 mL。
 - 4.4 磷酸二氢钾溶液(0.02 mol/L, pH 6.0):称取磷酸二氢钾(色谱级)2.722 g,用水溶解并转移至 1 000 mL 容量瓶中,定容到刻度。用氢氧化钾溶液(4.3)调 pH 至 6.0。
 - 4.5 标准样品/物质:纯度不小于 95%。抗坏血酸磷酸酯镁、抗坏血酸葡萄糖苷、 β -熊果苷、曲酸、烟酰胺、3-O-乙基抗坏血酸、甲氧基水杨酸钾、覆盆子酮葡萄糖苷、甘草酸二钾、4-丁基间苯二酚中文名称、INCI 名称、CAS 登录号、分子式、结构式、相对分子质量参见附录 B 中表 B.1。
注:抗坏血酸磷酸酯盐(主要是镁盐和钠盐)在液相色谱上均是以抗坏血酸磷酸酯形式被检出,本方法建议选择抗坏血酸磷酸酯镁作为标准物质。
 - 4.6 标准储备溶液:准确称取适量标准品(4.5)用水溶解分别配制成浓度为 5 000 mg/L 的标准储备溶液,4-丁基间苯二酚先用 0.5 mL 甲醇溶解后再用水配制成标准储备溶液,于-18 $^{\circ}\text{C}$ 下保存,有效期 1 个月。
 - 4.7 混合标准储备溶液:分别移取 5 mL 标准储备溶液(4.6)至 100 mL 的容量瓶中,用磷酸二氢钾溶

液(4.4)定容至刻度,转移至聚丙烯管中于 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下保存,有效期1周。

4.8 混合标准工作溶液:分别吸取0.1 mL、0.2 mL、0.4 mL、0.8 mL、2.0 mL、4.0 mL混合标准储备溶液(4.7),置于10 mL容量瓶中,用磷酸二氢钾溶液(4.4)定容至刻度。混匀。现用现配。标准曲线化合物质量浓度为2.5 mg/L、5.0 mg/L、10.0 mg/L、20.0 mg/L、50.0 mg/L、100.0 mg/L。

5 仪器和设备

5.1 高效液相色谱仪,配二极管阵列检测器(DAD)。

5.2 离心机: $>9\ 500\text{ r/min}$ 。

5.3 分析天平:感量为0.000 1 g和0.001 g。

5.4 酸度计。

5.5 涡旋混合器。

5.6 超声波清洗器。

5.7 水系微孔滤膜: $0.45\text{ }\mu\text{m}$ 。

6 分析步骤

6.1 样品处理

6.1.1 水基、水包油样品的制备

称取0.5 g(精确至0.001 g)样品于50 mL具塞比色管中,加入30 mL磷酸二氢钾溶液(4.4),涡旋振荡至样品完全分散,超声提取20 min,转移至50 mL容量瓶中,用磷酸二氢钾溶液(4.4)定容至刻度。混合均匀后取适量溶液放入离心管中,于9 500 r/min转速离心5 min,取离心后的上层水相溶液,经 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ 水系滤膜过滤,滤液待测定。

6.1.2 油包水、蜡基类、粉状类样品的制备

称取约0.5 g(精确至0.001 g)样品于50 mL具塞离心管中,加入2.5 mL二氯甲烷(4.2),涡旋振荡至样品完全分散(如有少量样品不分散可超声至完全分散),加入20 mL磷酸二氢钾溶液(4.4),超声提取20 min,涡旋振荡1 min,9 500 r/min转速离心5 min,移取上清至50 mL容量瓶中,再加入20 mL磷酸二氢钾溶液(4.4),涡旋振荡1 min,9 500 r/min转速离心5 min,合并上清液至50 mL容量瓶中,用磷酸二氢钾溶液(4.4)定容至刻度。混合均匀后取适量溶液经 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ 水系滤膜过滤,滤液待测定。

注1:被测物含量小于0.025%的试样可适当增大取样量。

注2:取样量在1 g~2 g时,按以上步骤进行样品制备;取样量大于2 g时,适当增加提取溶剂体积至50 mL~100 mL,并增加提取溶剂萃取次数至3~5次。

6.2 测定步骤

6.2.1 色谱条件

液相色谱分析条件参考如下:

- a) 色谱柱:Eclipse XDB-C18,250 mm $\times$ 4.6 mm (i.d), $5\text{ }\mu\text{m}$,或其他效果等同的色谱柱;
- b) 流动相:A:0.02 mol/L磷酸二氢钾溶液(pH 6.0),B:甲醇;
- c) 流速:1.0 mL/min;
- d) 柱温: $25\text{ }^{\circ}\text{C}$;
- e) 进样量:10 μL ;

- f) 检测波长:230 nm、250 nm;
- g) 梯度洗脱条件见表 1。

表 1 液相色谱流动相及参考分离条件

时间/min	流 动 相	
	A/ %	B/ %
0	95	5
3	95	5
8	80	20
14	10	90
18	10	90
25	95	5

6.2.2 标准曲线的绘制

取混合标准工作溶液(4.8)按色谱条件(6.2.1)进行测定,以色谱峰面积(Y)为纵坐标,标准溶液质量浓度(X,mg/L)为横坐标绘制标准工作曲线。10 种美白祛斑剂标准溶液液相色谱图参见附录 C 中图 C.1。

6.2.3 试样测定

依次取待测样品溶液(6.1)注入液相色谱仪,按色谱条件(6.2.1)进行测定,记录色谱峰的保留时间和峰面积。根据标准曲线求得样品溶液中目标化合物的含量。试样溶液中的被测物响应值应在标准曲线的线性范围之内。超过线性范围的试样可用磷酸二氢钾溶液(4.4)适当稀释后进行测定。

注: 为保证试样定量的准确性,尽量在 12 h 内完成测试过程。

6.2.4 定性确证

液相色谱仪对样品进行定性测定。样品测定时,如果检出被测美白祛斑剂色谱峰的保留时间与标准品一致,并且在扣除背景后的样品色谱图中,该物质的紫外吸收图与标准品的紫外吸收图相一致,可初步确定该样品含有被测的美白祛斑剂。必要时,需要采用其他方法进行确认。

6.3 空白试验

除不称取样品外,均按上述测定条件和步骤进行。

6.4 平行试验

按以上步骤,对同一样品进行平行试验测定。

7 结果计算

试样中美白祛斑剂含量按下式计算:

$$X_i = \frac{c_i \times V_i}{1\,000 \times 1\,000 \times m} \times 100 \times f$$

式中：

X_i ——样品中某一美白祛斑剂的质量分数，%；

c_i ——测试溶液中某一美白祛斑剂的质量浓度，单位为毫克每升(mg/L)；

V_i ——样品定容体积，单位为毫升(mL)；

m ——样品取样量，单位为克(g)；

f ——样品浓度超过工作曲线后的稀释倍数。

8 回收率与精密度

在添加浓度 0.025%~0.5% 的浓度范围内，回收率在 87.9%~102% 之间，相对标准偏差小于 4%。

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应超过算术平均值的 10%。

附 录 A
(资料性附录)

10 种美白祛斑剂测定方法检出限与定量限

本标准方法检出限与定量限参见表 A.1。

表 A.1 10 种美白祛斑剂测定方法检出限与定量限

化 合 物	检出限/%	定量限/%
抗坏血酸磷酸酯镁	0.003	0.008 5
抗坏血酸葡萄糖苷	0.002 5	0.007 5
β -熊果苷	0.016 7	0.025
曲酸	0.01	0.015
烟酰胺	0.005	0.010
3-O-乙基抗坏血酸	0.002 5	0.007 5
甲氧基水杨酸钾	0.002 5	0.006 5
覆盆子酮葡萄糖苷	0.008 3	0.015
甘草酸二钾	0.01	0.02
4-丁基间苯二酚	0.005 5	0.01
注：检出限与定量限以取样量 0.5 g,定容体积 50 mL,进样量 10 μ L 计。		



附录 B
(资料性附录)

标准物质的中文名称、INCI 名称、CAS 登录号、分子式、结构式及相对分子质量

10 种美白祛斑剂的中文名称、INCI 名称、CAS 登录号、分子式、结构式、相对分子质量参见表 B.1。

表 B.1 10 种美白祛斑剂的中文名称、INCI 名称、CAS 登录号、分子式、结构式及相对分子质量

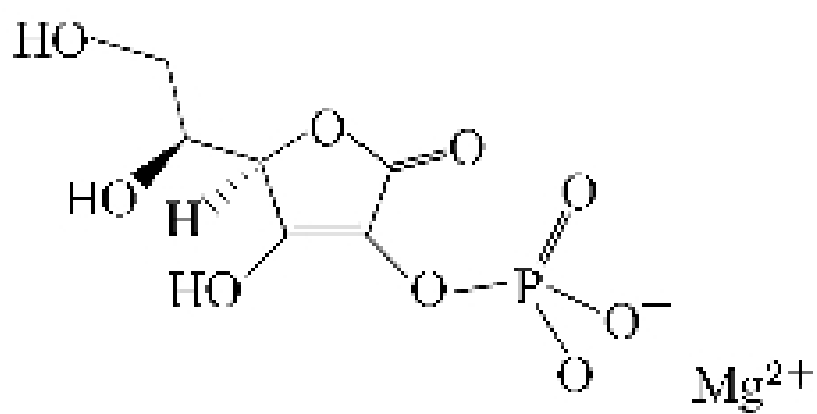
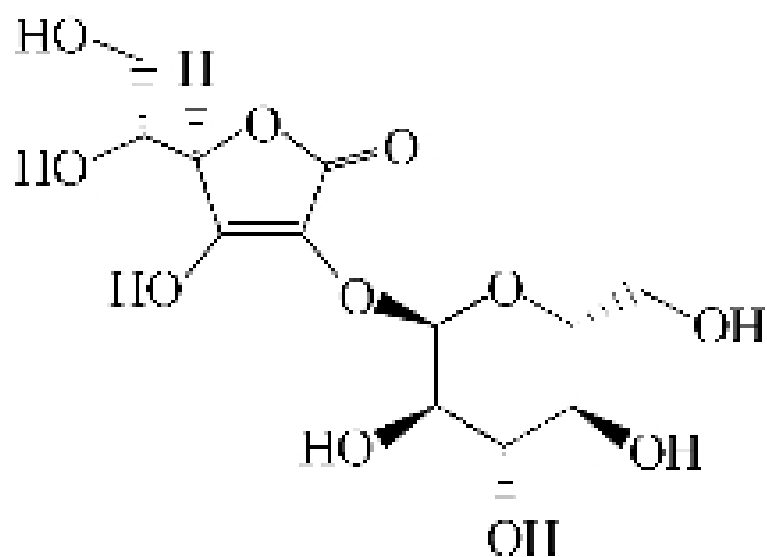
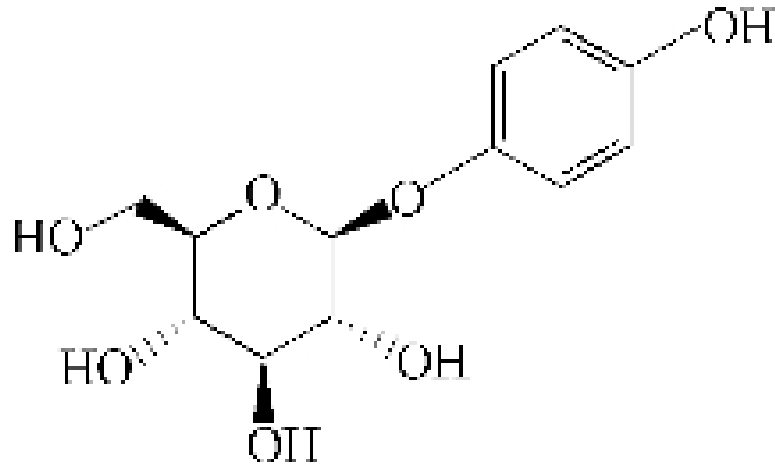
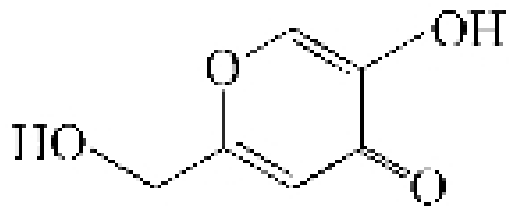
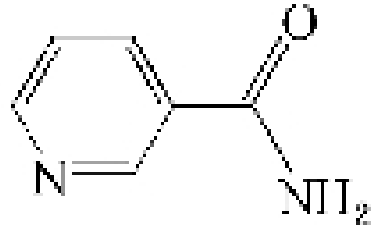
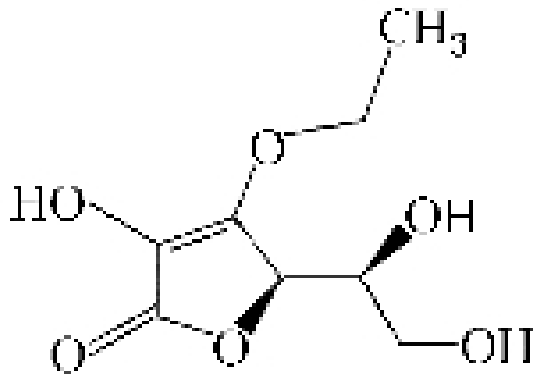
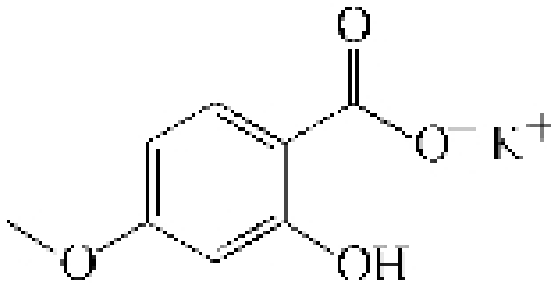
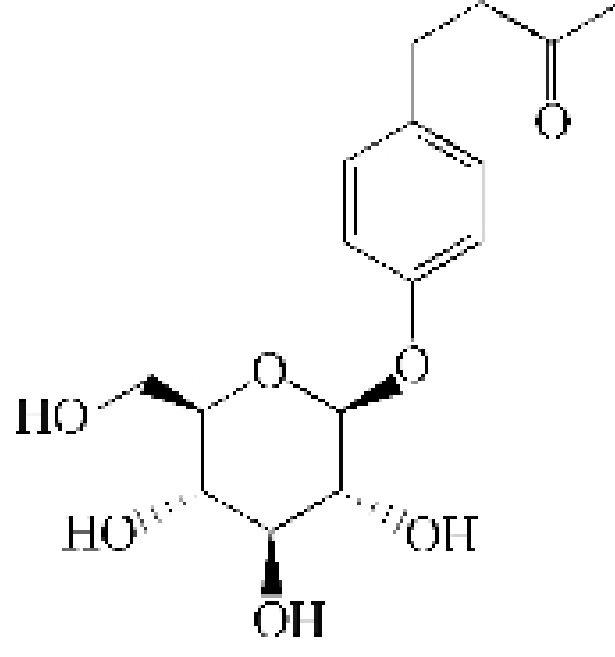
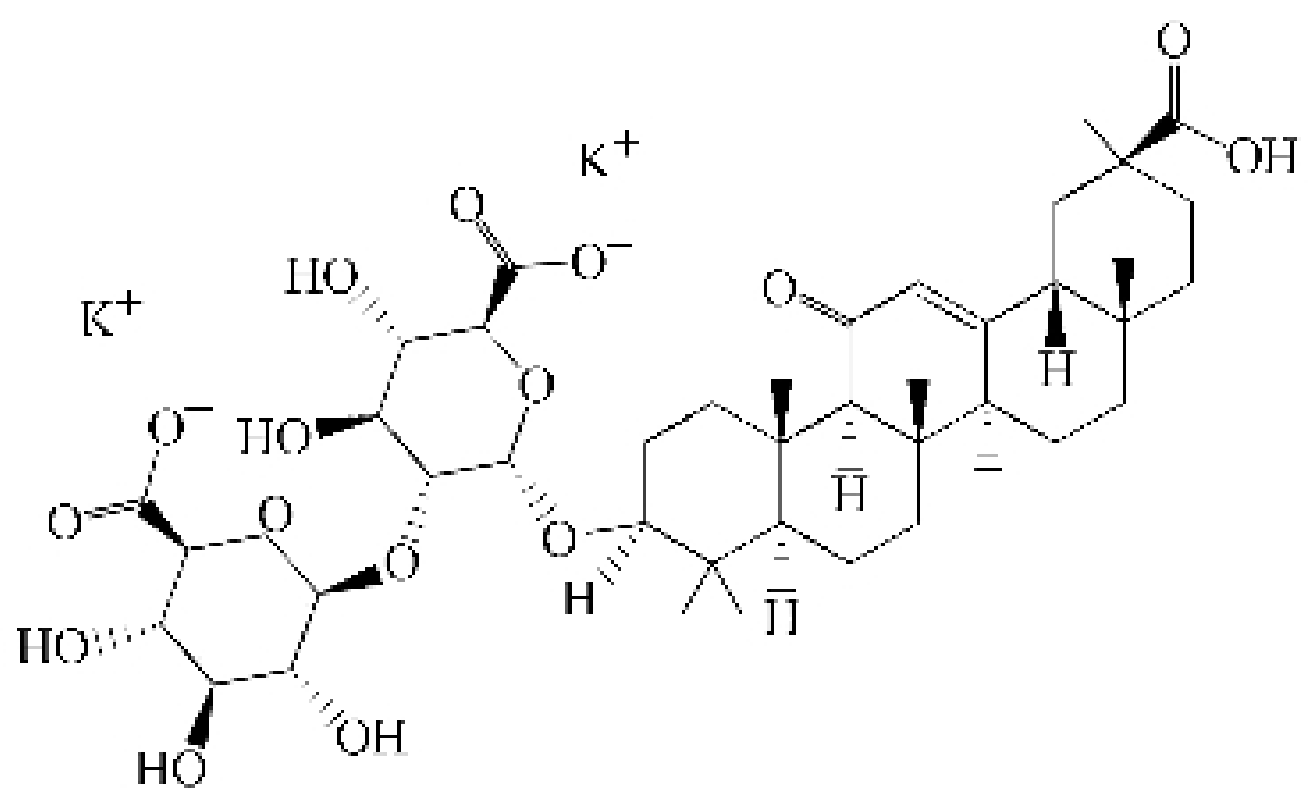
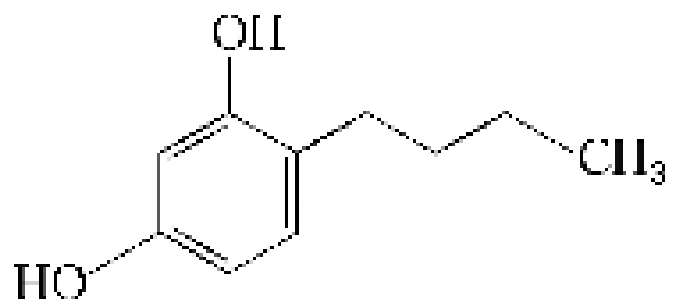
序号	中文名称	INCI 名称	CAS 登录号	分子式	结 构 式	相对分子质量
1	抗坏血酸磷酸酯镁	MAGNESIUM ASCORBYL PHOSPHATE	113170-55-1	$C_6H_7MgO_9P$		278.4
2	抗坏血酸葡萄糖苷	ASCORBYL GLUCOSIDE	129499-78-1	$C_{12}H_{18}O_{11}$		338.3
3	β-熊果苷	ARBUTIN	497-76-7	$C_{12}H_{16}O_7$		272.3
4	曲酸	KOJIC ACID	501-30-4	$C_6H_6O_4$		142.1
5	烟酰胺	NIACINAMIDE	98-92-0	$C_6H_6N_2O$		122.1
6	3-O-乙基抗坏血酸	3-O-ETHYL ASCORBIC ACID	86404-04-8	$C_8H_{12}O_6$		204.2
7	甲氧基水杨酸钾	POTASSIUM METHOXYSALICYLATE	152312-71-5	$C_8H_7KO_4$		206.2

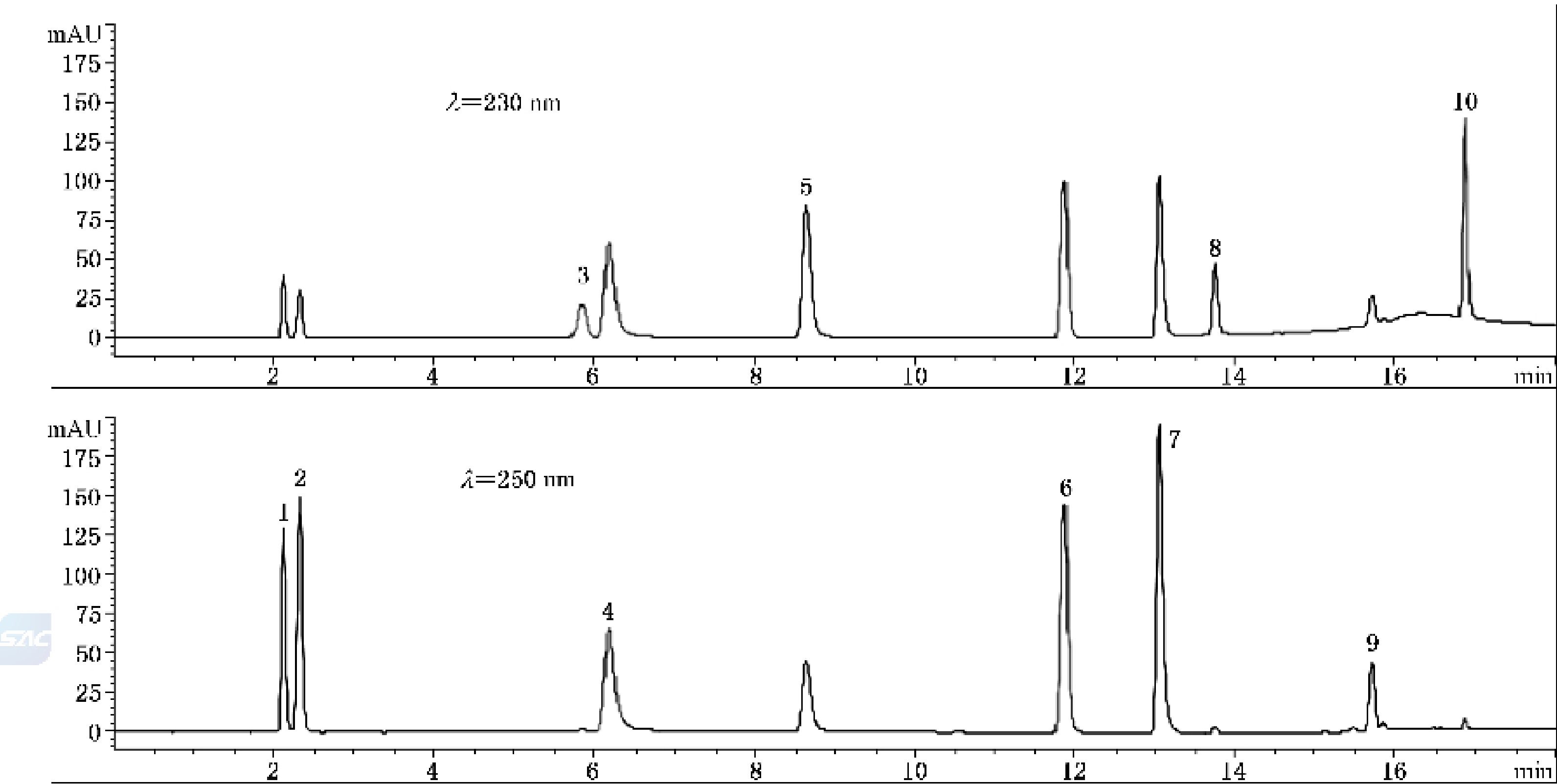
表 B.1 (续)

序号	中文名称	INCI 名称	CAS 登录号	分子式	结 构 式	相对分子质量
8	覆盆子酮 葡萄糖苷	RASPBERRY KETONE GLUCOSIDE	38963-94-9	$C_{16}H_{22}O_7$		326.3
9	甘草 酸二钾	DIPOTASSIUM GLYCYRRHIZATE	68797-35-3	$C_{42}H_{60}K_2O_{16}$		899.1
10	4-丁基间 苯二酚	4-BUTYLRESORCINOL	18979-61-8	$C_{10}H_{14}O_2$		166.2

附录 C
(资料性附录)

10 种美白祛斑剂标准溶液液相色谱图

10 种美白祛斑剂标准溶液液相色谱图参见图 C.1。



说明：

- | | |
|-------------------|------------------|
| 1——抗坏血酸磷酸酯镁； | 6 —— 3-O-乙基抗坏血酸； |
| 2——抗坏血酸葡萄糖苷； | 7 —— 甲氧基水杨酸钾； |
| 3—— β -熊果苷； | 8 —— 覆盆子酮葡萄糖苷； |
| 4——曲酸； | 9 —— 甘草酸二钾； |
| 5——烟酰胺； | 10—— 4-丁基间苯二酚。 |

图 C.1 10 种美白祛斑剂标准溶液液相色谱图(50 mg/L)