

中华人民共和国国家标准

GB/T 43777—2024

化妆品中功效组分虾青素的测定 高效液相色谱法

Determination of functional component astaxanthin in cosmetics—
High performance liquid chromatography

2024-03-15 发布

2024-10-01 实施

国家市场监督管理总局
国家标准化管理委员会 发布

前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中国轻工业联合会提出。

本文件由全国香料香精化妆品标准化技术委员会(SAC/TC 257)归口。

本文件起草单位：北京市产品质量监督检验研究院、湖州嘉亨实业有限公司、安科化妆品(浙江)有限公司、上海香料研究所有限公司、云南贝泰妮生物科技集团股份有限公司、西安市产品质量监督检验院。

本文件主要起草人：卢晓蕊、杜洪森、王静、杨萌、孙娅娜、班楠、杨斌、曹平、康薇、陈军、苏温柔、王飞飞、张耀武、张亚芳、许海东、齐月。

化妆品中功效组分虾青素的测定

高效液相色谱法

警示——使用本文件的人员应有正规实验室工作的实践经验。本文件并未指出所有可能的安全问题。使用者有责任采取适当的安全和健康措施,并保证符合国家有关规定的条件。

1 范围

本文件描述了化妆品中虾青素的高效液相色谱测定方法的原理、试剂和材料、仪器设备、试验步骤、试验数据处理、回收率、精密度等内容。

本文件适用于水剂类、乳液类、膏霜类和面膜等化妆品中虾青素的测定。

本文件方法检出限为 0.15 mg/kg,定量限为 0.50 mg/kg。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中,注日期的引用文件,仅该日期对应的版本适用于本文件;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 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

试样中待测物经皂化反应处理后,使其中的虾青素酯转化为游离态的虾青素,采用高效液相色谱分离,二极管阵列检测器测定,保留时间和色谱图定性,内标法定量。

5 试剂和材料

5.1 水:GB/T 6682,一级。

5.2 虾青素标准物质:纯度不小于 95%,CAS 号为 472-61-7。

5.3 β -阿朴胡萝卜素醛标准物质:纯度不小于 95%,CAS 号为 1107-26-2。

5.4 丙酮:优级纯。

5.5 甲醇:色谱纯。

5.6 二氯甲烷:优级纯。

5.7 氢氧化钠:分析纯。

5.8 二丁基羟基甲苯(BHT):分析纯。

5.9 磷酸:分析纯。

5.10 甲醇-二氯甲烷溶液:量取 750 mL 甲醇与 250 mL 二氯甲烷,加入 0.2 g BHT,混匀。

- 5.11 氢氧化钠-甲醇溶液(0.1 mol/L):称取 2.0 g 氢氧化钠,用甲醇溶解并稀释至 500 mL,混匀。
- 5.12 2%磷酸-甲醇溶液:量取 1 mL 磷酸,用甲醇稀释至 50 mL。
- 5.13 虾青素标准储备溶液:准确称取虾青素标准物质约 10 mg(精确至 0.1 mg)于 100 mL 棕色容量瓶中,用丙酮(5.4)溶解后定容至刻度,配制成质量浓度为 100 $\mu\text{g/mL}$ 的虾青素标准储备溶液,充氮密封,置于 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中避光保存,有效期 1 个月。
- 5.14 内标标准储备溶液:准确称取 β -阿朴胡萝卜素醛标准物质约 10 mg(精确至 0.1 mg)于 100 mL 棕色容量瓶中,用丙酮(5.4)溶解后定容至刻度,配制成质量浓度为 100 $\mu\text{g/mL}$ 的内标标准储备液,充氮密封, $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 避光保存,有效期 1 个月。
- 5.15 微孔滤膜:尼龙或者聚四氟乙烯(PTFE)材质,孔径 0.22 μm 。

6 仪器设备

- 6.1 高效液相色谱仪:配二极管阵列检测器。
- 6.2 分析天平:感量分别为 0.01 g 和 0.1 mg。
- 6.3 涡旋混合器。
- 6.4 冷冻离心机:转速不小于 5 000 r/min,温控精度 $\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。
- 6.5 精密 pH 计。
- 6.6 具塞刻度离心管:15 mL。

7 试样制备和试验步骤

7.1 试样制备

- 7.1.1 取样前应将试样充分混匀。水剂类试样将试样摇匀后取样;乳液类和膏霜类试样将试样挤出、混匀后取样;无纺布面膜挤出吸附在无纺布上的液体,混匀后取样。
- 7.1.2 准确称取 1 g(精确至 0.001 g)试样于 15 mL 具塞刻度离心管中,加入质量浓度为 100 $\mu\text{g/mL}$ 内标标准储备溶液(5.14)适当体积,使内标最终上机质量浓度达到 2.0 $\mu\text{g/mL}$,涡旋混匀 30 s,加入 2.0 mL 甲醇-二氯甲烷溶液(5.10),涡旋振荡 30 s 使之完全溶解,再加入 0.7 mL 氢氧化钠-甲醇溶液(5.11),涡旋 1 min。再向离心管中加入 1.0 mL 甲醇-二氯甲烷溶液(5.10),涡旋混匀,充氮密封,在避光条件下 $0\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温反应 12 h。取出离心管恢复至室温,使用 2%磷酸-甲醇溶液(5.12)调节 pH 至 7.0 ± 0.2 ,用甲醇-二氯甲烷溶液(5.10)定容至 5.0 mL。于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下 5000 r/min 离心 5 min,取上层清液过 0.22 μm 微孔滤膜后,滤液作为试样溶液供测试。

7.2 高效液相色谱参考条件

由于不同型号分析仪器设备具有一定差异,经验证,以下仪器条件适用于本文件测试要求。高效液相色谱参考条件如下:

- a) 色谱柱: C_{18} 色谱柱,150 mm \times 2.0 mm,粒径 1.6 μm ,或性能相当者;
- b) 柱温: $40\text{ }^{\circ}\text{C}$;
- c) 流动相:A 相为甲醇(5.5),B 相为水(5.1),梯度洗脱条件见表 1;
- d) 流速:0.5 mL/min;
- e) 进样量:2 μL ;
- f) 波长:471 nm。

表 1 流动相梯度洗脱程序

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0	95	5
3.9	95	5
4.0	100	0
8.0	100	0
8.1	95	5
12.0	95	5

7.3 标准工作曲线的制备与绘制

7.3.1 标准工作曲线的制备

7.3.1.1 虾青素标准中间液：从虾青素标准储备溶液(5.13)中准确移取 10.0 mL 溶液于 100 mL 棕色容量瓶中，用甲醇-二氯甲烷溶液(5.10)定容至刻度，制得质量浓度为 10 μg/mL 的虾青素标准中间液，-18 ℃避光保存。

7.3.1.2 虾青素系列标准工作溶液：准确移取适量虾青素标准中间液和内标标准储备溶液(5.14)，用甲醇-二氯甲烷溶液(5.10)稀释定容至 10 mL 棕色容量瓶中，配制成质量浓度为 0.1 μg/mL、0.2 μg/mL、0.5 μg/mL、1.0 μg/mL、2.0 μg/mL、4.0 μg/mL 的系列标准工作溶液，其中内标质量浓度为 2.0 μg/mL，现用现配。

7.3.2 标准工作曲线的绘制

将虾青素系列标准工作溶液按照色谱条件(7.2)进行测定，以系列标准工作溶液的浓度为横坐标，以外标峰面积/内标峰面积为纵坐标，绘制标准工作曲线，内标法定量。虾青素标准物质和内标物的液相色谱图见附录 A 中图 A.1，虾青素标准物质的紫外吸收光谱图见图 A.2。

7.4 试样测定

将试样溶液(7.1)按照色谱条件(7.2)进行测定。如果试样中待测物质的色谱峰保留时间与虾青素标准物质一致，并且其扣除背景后的紫外吸收光谱图与虾青素标准物质的紫外吸收光谱图一致，则可判定试样中含有虾青素。记录目标化合物的色谱峰面积与内标物峰面积，以内标法定量。

试样溶液中的被测物的响应值应在标准曲线的线性范围内，超出线性范围可用甲醇-二氯甲烷溶液(5.10)稀释后再进行测定。

7.5 空白试验

除不称取试样外，均按 7.1~7.4 步骤进行测定。

8 试验数据处理

试样中虾青素含量按公式(1)计算：

$$X = \frac{\rho \times V \times f \times 1\,000}{m \times 1\,000}$$

.....(1)

式中：

- X ——试样中虾青素的含量,单位为毫克每千克(mg/kg)；
 - ρ ——从标准曲线中得到的试样溶液中虾青素的质量浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$)；
 - V ——试样的最终定容体积,单位为毫升(mL)；
 - f ——稀释倍数；
 - m ——试样的质量,单位为克(g)；
 - 1 000 ——换算系数。
- 计算结果应扣除空白值,保留三位有效数字。

9 回收率

在添加浓度 0.50 mg/kg~5.0 mg/kg 范围内,回收率应在 80%~110%之间。

10 精密度

在重复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 10%。

附 录 A
(资料性)
液相色谱图和紫外吸收光谱图

A.1 虾青素标准物质和内标物液相色谱图见图 A.1。

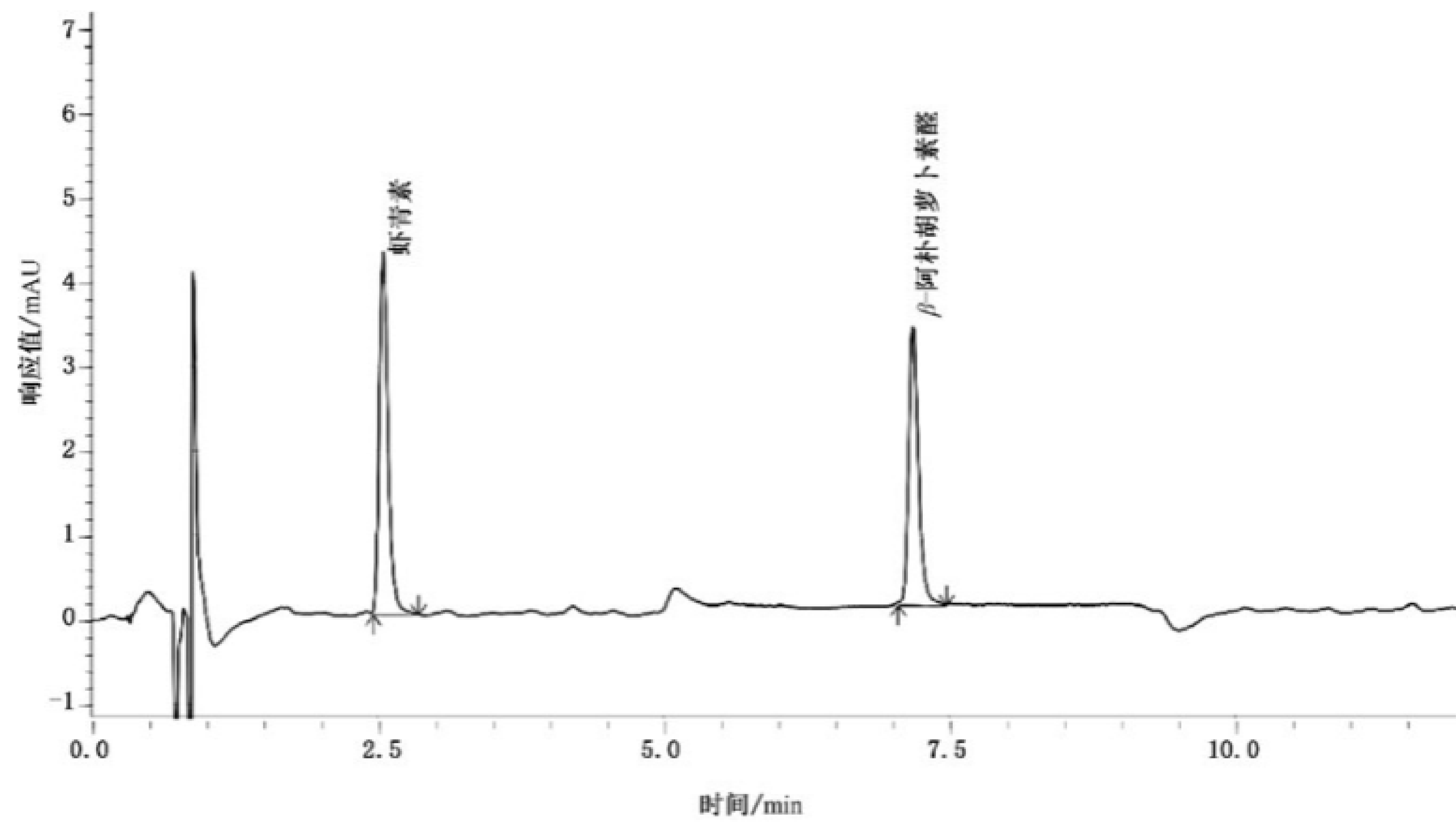


图 A.1 虾青素标准物质和内标物的液相色谱图

A.2 虾青素标准物质的紫外吸收光谱图见图 A.2。

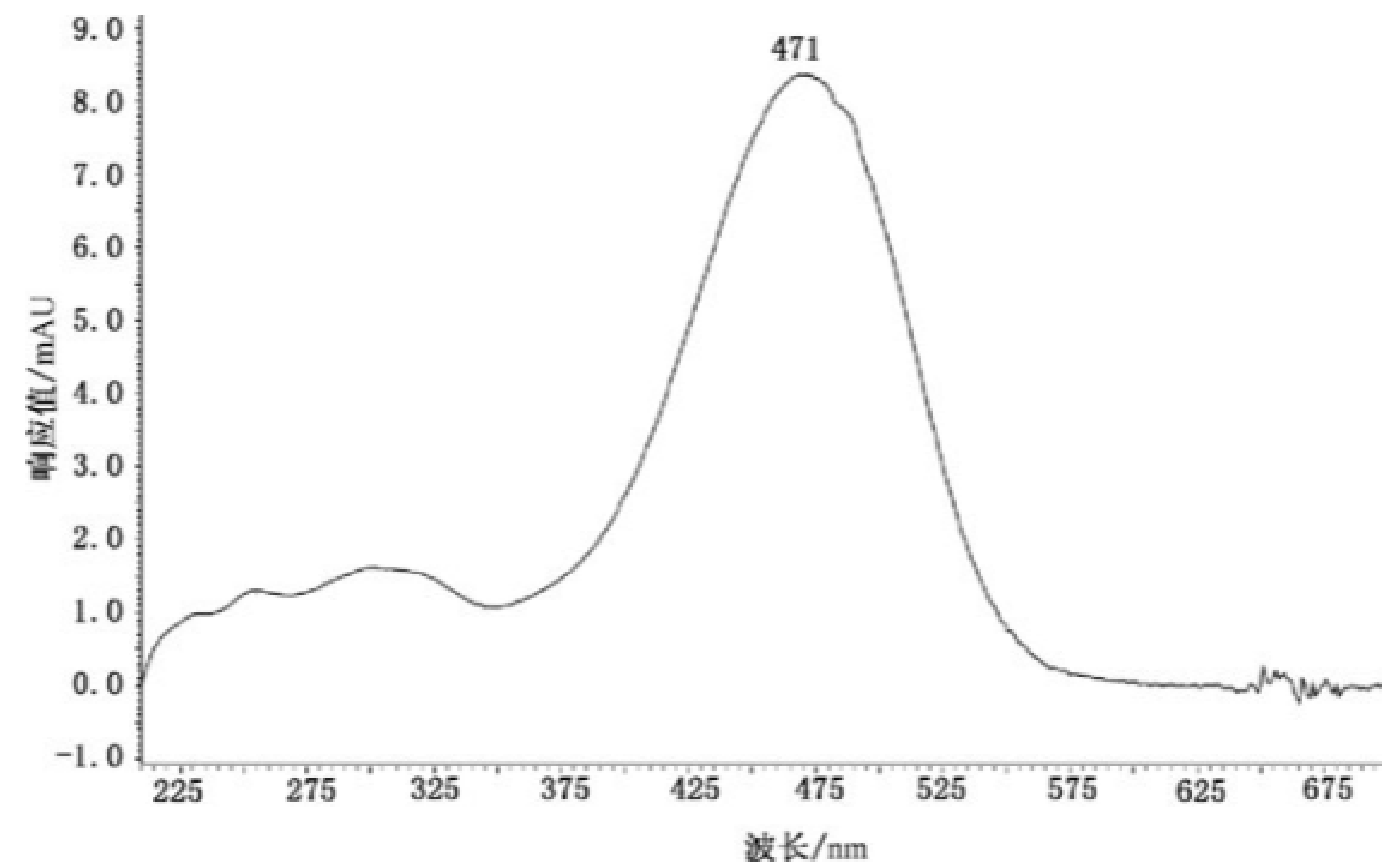


图 A.2 虾青素标准物质的紫外吸收光谱图

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
化妆品中功效组分虾青素的测定
高效液相色谱法
GB/T 43777—2024

*

中国标准出版社出版发行
北京市朝阳区和平里西街甲2号(100029)
北京市西城区三里河北街16号(100045)

网址:www.spc.net.cn

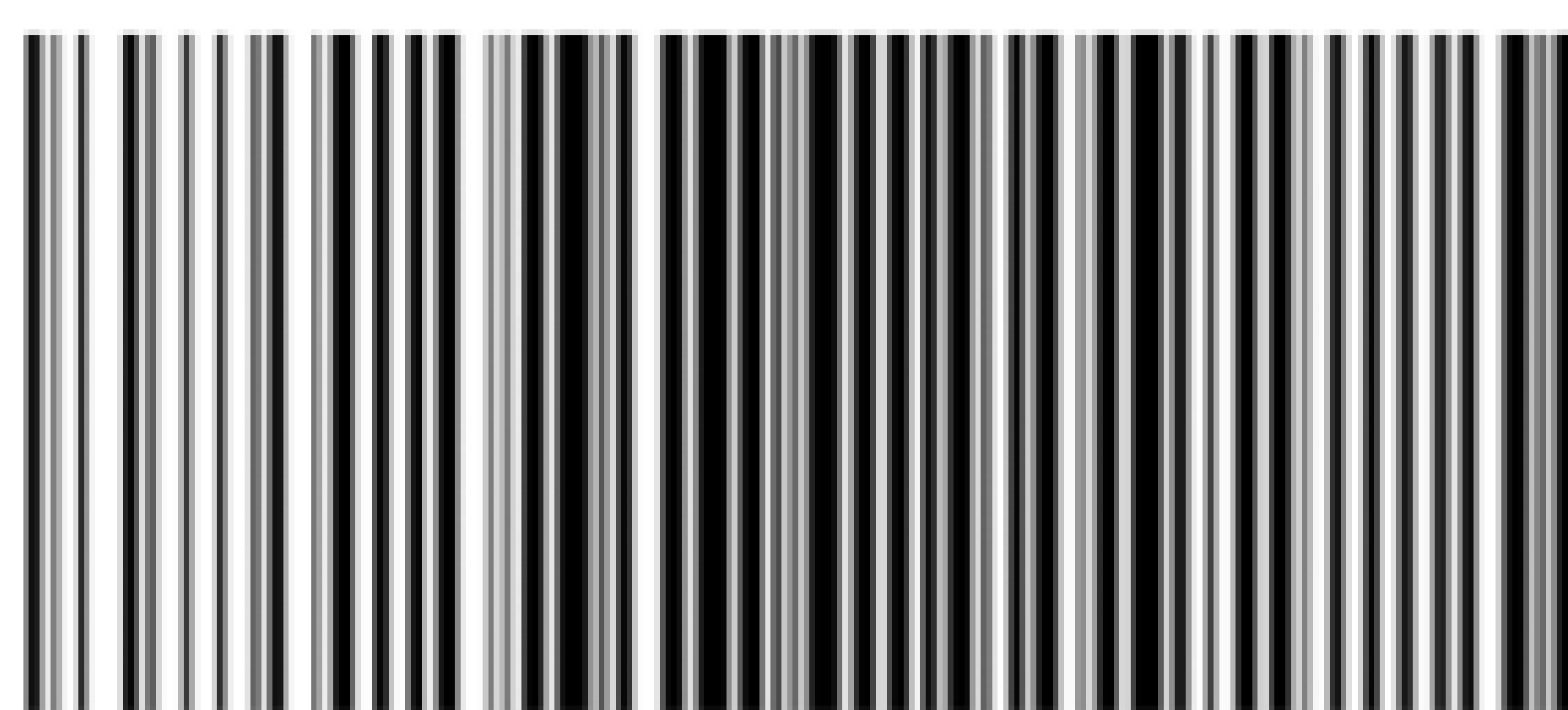
服务热线:400-168-0010

2024年3月第一版

*

书号:155066·1-75476

版权专有 侵权必究



GB/T 43777-2024

www.bzxz.net

免费标准下载网