ICS 71.100.70
分类号：Y 42
备案号：43649-2013

QB

中华人民共和国轻工行业标准

QB/T 4617—2013

化妆品中黄芩苷的测定 高效液相色谱法

Determination of baicalin in cosmetics - High performance liquid chromatography

2013-12-31 发布　　2014-07-01 实施

中华人民共和国工业和信息化部　发布

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：上海市质量监督检验技术研究院。

本标准主要起草人：周泽琳、杨轶眉、顾宇翔、冯俊、王庆贺。

化妆品中黄芩苷的测定　高效液相色谱法

1　范围

本标准规定了用高效液相色谱法测定化妆品中黄芩苷的含量。

本标准适用于水剂、乳剂化妆品中黄芩苷的测定。

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 6682－2008　分析实验室用水规格和试验方法

3　原理

试样经75%乙醇涡旋振荡、超声提取、离心沉淀、分离过滤、固相萃取（可选）去除杂质后，采用反相高效液相色谱分离，二极管阵列检测器检测，外标法定量。

4　试剂和材料

除非另有规定，所用试剂均为分析纯。水为符合GB/T 6682－2008规定的二级水。

4.1　乙腈（色谱纯）。

4.2　乙醇。

4.3　体积分数为 75 %的乙醇溶液。

4.4　磷酸。

4.5　体积分数为 0.1 %的磷酸溶液。

4.6　甲醇。

4.7　甲酸。

4.8　黄芩苷：含量不小于 95 %，CAS 号、分子式、相对分子质量和结构式参见附录 A 表 A.1。

4.9　黄芩苷标准储备溶液：准确称取黄芩苷 0.050 0 g 于 250 mL 的棕色容量瓶中，用 75%乙醇溶液（4.3）溶解并定容至刻度。此溶液 1 mL 相当于 0.200 mg 黄芩苷。该溶液棕色瓶于 4 ℃冰箱避光可保存 7 天。

4.10　黄芩苷标准工作溶液：分别吸取 0.2 mg/mL 黄芩苷标准储备溶液 0.00 mL、0.50 mL、5.00 mL、10.00 mL 于 100 mL 棕色容量瓶中，吸取 0.2 mg/mL 黄芩苷标准储备溶液 2.00 mL、5.00 mL 于 10 mL 棕色容量瓶中，再用 75 %乙醇溶液（4.3）稀释至刻度；配制成浓度为 0 μg/mL、1 μg/mL、10 μg/mL、20 μg/mL、40 μg/mL、100 μg/mL 标准系列溶液。配制好的黄芩苷溶液应于棕色瓶中避光 4 ℃保存。

4.11　体积分数为 5%的甲酸-甲醇溶液。

4.12　氢氧化钠。

4.13　质量分数为 1%的氢氧化钠溶液。

5　仪器和设备

5.1　高效液相色谱仪：与二极管阵列检测器联用。

5.2　分析天平：感量为 0.1 mg。

5.3　分析天平：感量为 0.01 g。

5.4　棕色容量瓶：10 mL、100 mL 和 250 mL。

5.5　具塞离心刻度试管：25 mL 或 50 mL。

5.6 超声振荡器。

5.7 离心机：转速不小于 8 000 r/min。

5.8 滤膜：孔径 0.22 μm，材质可用聚四氟乙烯（PTFE）、聚偏氟乙烯（PVDF）或混合纤维素膜。

5.9 涡旋振荡器。

5.10 阴离子交换固相萃取小柱。

5.11 氮吹装置。

5.12 移液管或移液器：2 mL 和 10 mL。

6 分析步骤

6.1 样品处理

6.1.1 提取

分析天平取样品 1.00 g（精确至 0.01 g）于具塞离心刻度试管（5.5）中，加入 75 %乙醇溶液（4.3）至近 10.0 mL，涡旋振荡 1 min，30 ℃水浴中超声提取 20 min，冷却至室温后用 75 %乙醇溶液（4.3）补足至 10.0 mL，8 000 r/min 离心分离 5 min，上清液经 0.22 μm 滤膜过滤。

6.1.2 净化（当需要降低检出限或试样中存在对黄芩苷检测有干扰的杂质时使用）

将阴离子交换固相萃取小柱（5.10）先用 5 mL 甲醇和 5 mL 水活化，然后取 6.1.1 步骤中离心后的样品上清液 5 mL 加入小柱进行上样（如上清液较为浑浊，可提高离心速度或用滤膜过滤后再上样）。上样结束后用 5 mL 甲醇（4.6）洗涤，然后用 5%甲酸-甲醇溶液（4.11）5 mL 洗脱，收集洗脱液氮并吹干，用 75%乙醇溶液（4.3）1 mL 定容并超声助溶，经 0.22 μm 滤膜过滤。上述过程的流速均应控制在 1 mL/min。

6.2 测定条件

高效液相色谱测定参考条件如下：

a）色谱柱规格：C18 色谱柱，250 mm×4.6 mm（内径 5 μm），或相当者；

b）流动相：乙腈（4.1）：0.1%磷酸（4.5）为 22：78（体积比）；

c）柱温：30 ℃；

d）流动相流速：1.0 mL/min；

e）进样量：10 μL；

f）检测波长：276 nm。

6.3 标准工作曲线绘制

按 6.2 色谱条件检测。以标准系列溶液（0 μg/mL、1 μg/mL、10 μg/mL、20 μg/mL、40 μg/mL、100μg/mL）的浓度为横坐标，对应的峰面积为纵坐标，进行线性回归得到标准曲线方程。

黄芩苷标准品的 HPLC 色谱图参见附录 B 中的图 B.1。

6.4 测定

按 6.2 的色谱条件，取 6.1.1 步骤中（采用固相萃取取用 6.1.2 步骤中）的滤液进样，得到试样溶液的峰面积，根据保留时间和二极管阵列的光谱图定性，黄芩苷标准品的 DAD 光谱图参见附录 B 中的图 B.2。从标准曲线上查得试样溶液中黄芩苷的含量。若在相同保留时间出现干扰峰且无法用固相萃取去除时，可用 1%氢氧化钠溶液（4.13）调节流动相的 pH 为 2.5 或 3，黄芩苷的保留时间会相应提前，借此可判断样品中是否存在黄芩苷。

试样溶液中黄芩苷的响应值应在标准曲线线性范围内，超过线性范围则应将提取液稀释后测定或增加提取溶液的量重新检测。

6.5 空白试验

除不称取试样外，均按上述步骤进行。

6.6 平行试验

样品中的黄芩苷含量应根据两次独立的平行试验结果的算术平均值确定。

7 结果计算

试样中的黄芩苷含量按公式（1）计算：

$$X = \frac{C \times V \times 1000}{m \times 1000} \times F \quad \cdots\cdots (1)$$

式中：

X ——试样中黄芩苷的含量，单位为毫克每千克（mg/kg）；

C ——从标准曲线中得出的黄芩苷浓度（应扣除空白值），单位为微克每毫升（μg/mL）；

V ——试样溶液的体积，单位为毫升（mL）；

m ——试样质量，单位为克（g）；

F ——不采用固相萃取时为1，采用固相萃取时为0.2。

计算结果保留3位有效数字。

8 检出限和定量限

本方法黄芩苷的检出限、定量下限分别为10.0 mg/kg、30.0 mg/kg；使用固相萃取时检出限、定量下限分别为3.0 mg/kg、10.0 mg/kg。

9 回收率和精密度

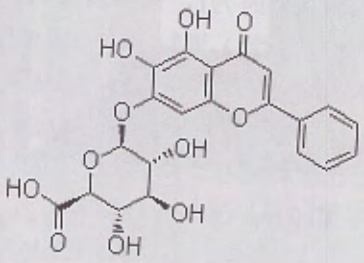
样品在添加浓度为16 mg/kg~82 mg/kg的范围内，回收率在81.3 %~104.5 %之间，相对标准偏差小于7 %。

10 允许差

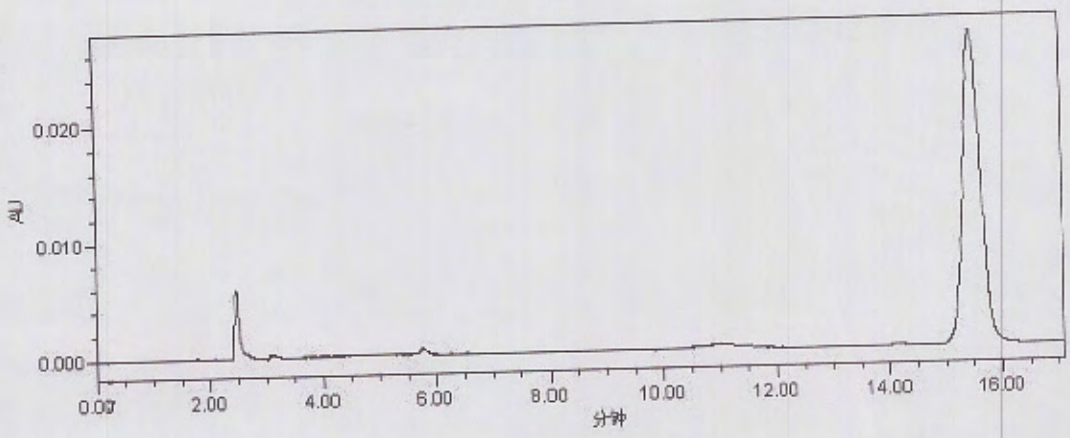
在重复条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不应超过算术平均值的10%。

附 录 A
（资料性附录）
黄芩苷的 CAS 号、分子式、相对分子质量和结构式

表 A.1 黄芩苷的 CAS 号、分子式、相对分子质量和结构式

中文名称	黄芩苷
英文名称	β-D-Glucopyranosiduronic acid, 5, 6-dihydroxy-4-oxo-2-phenyl-4H- 1-benzopyran-7-yl
INCI 名称	Baicalin
CAS 号	21967-41-9
分子式	$C_{21}H_{18}O_{11}$
相对分子量	446.36
结构式	

附 录 B
（资料性附录）
黄芩苷标准品 HPLC 色谱图和 DAD 光谱图



黄芩苷参考保留时间15.5 min。

图 B.1 黄芩苷标准品的 HPLC 色谱图

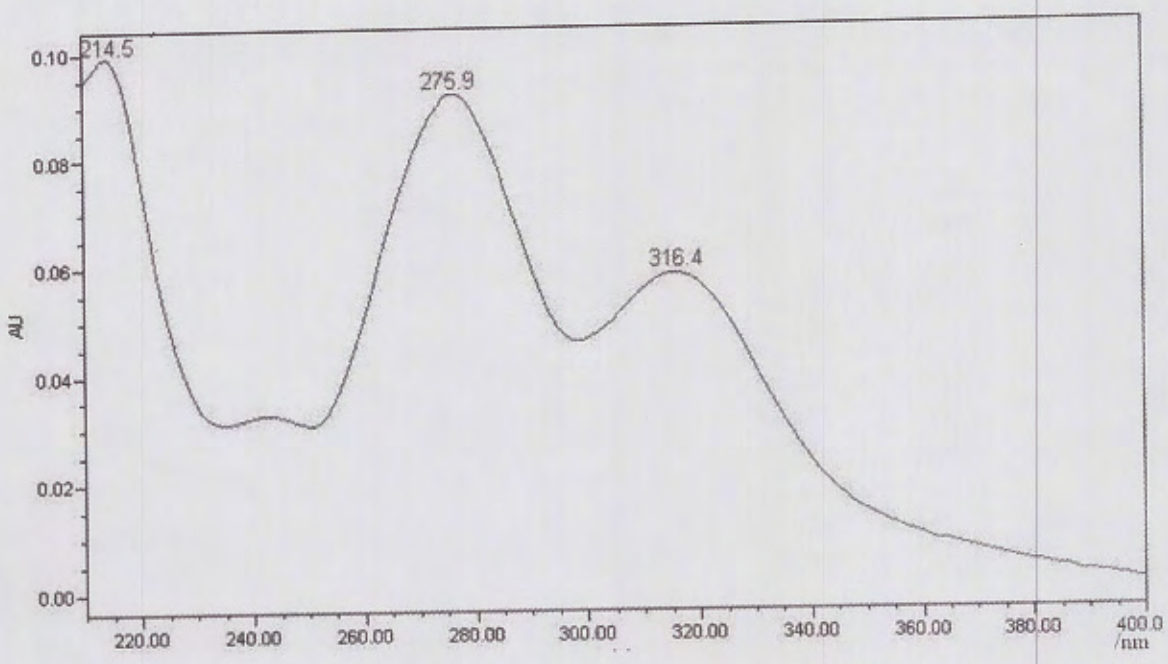


图 B.2 黄芩苷标准品的 DAD 光谱图

QB/T 4617—2013

中华人民共和国
轻工行业标准
化妆品中黄芩苷的测定
高效液相色谱法
QB/T 4617—2013
*
中国轻工业出版社出版发行
地址：北京东长安街6号
邮政编码：100740
发行电话：(010)65241695
网址：http://www.chlip.com.cn
Email：club@chlip.com.cn

轻工业标准化编辑出版委员会编辑
地址：北京西城区下斜街29号
邮政编码：100053
电话：(010)68049923/24/25
*
版权所有　侵权必究
书号：155019·4254
印数：1—200册　定价：16.00元

QB/T 4617-2013