

ICS

CCS 点击此处添加 CCS 号

T/YHPACIA

云南省健康和化妆品行业协会团体标准

T/YHPACIA XXXX—XXXX

含积雪草提取物化妆品中积雪草苷和 羟基积雪草苷含量的测定高效液相色谱法

Method for the Determination of Asiaticoside and Madecassoside in Cosmetics
Containing Centella Asiatica Extract — High Performance Liquid Chromatography

(征求意见稿)

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

20XX - XX - XX 发布

20XX - XX - XX 实施

云南省健康和化妆品行业协会 发布

目 次

前言	III
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 原理	1
5 试剂和材料	1
6 仪器和设备	2
7 试样制备与保存	2
8 分析步骤	2
8.1 混合标准系列溶液的制备	2
8.2 样品处理	2
8.3 仪器参考条件	2
8.4 定性测定	3
8.5 定量测定	3
8.6 平行试验	3
8.7 空白试验	3
9 结果计算	3
10 精密度和准确度	3
11 检出限和定量限	4
12 图谱	4
附录 A（资料性） 积雪草苷和羟基积雪草苷与的相关信息	5
参考文献	5

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。

本文件由云南省食品药品监督检验研究院提出。

本文件由云南省健康产品和化妆品行业协会归口。

本文件起草单位：云南省食品药品监督检验研究院、云南远方生物医药有限公司、云南贝泰妮生物科技集团股份有限公司、云南天正检测技术有限公司。

本文件主要起草人：

含积雪草提取物化妆品中积雪草苷和羟基积雪草苷含量的测定高效液相色谱法

1 范围

本方法规定了含积雪草提取物化妆品中积雪草苷和羟基积雪草苷含量的高效液相色谱测定方法。

本方法适用于膏霜乳液类、液态水基类、凝胶类、面膜类（面贴）等化妆品中积雪草苷、羟基积雪草苷的含量测定。

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。

《化妆品安全技术规范》；

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法。

3 术语和定义

积雪草提取物：以积雪草（*Centella asiatica* (L.) Urban）为原料，经提取、分离、纯化制得的，以积雪草苷、羟基积雪草苷为主要活性成分的混合物。

积雪草苷：积雪草中主要的五环三萜类活性成分，化学名称为积雪草皂苷，是积雪草提取物质量控制的指标性成分。

羟基积雪草苷：积雪草中主要的五环三萜类活性成分，化学名称为羟基积雪草皂苷，是积雪草提取物质量控制的指标性成分。

高效液相色谱法：以液体为流动相，采用高压输液系统，将样品溶液注入色谱柱进行分离，再经检测器检测，实现样品定性与定量分析的色谱分析方法，本标准采用该方法完成目标物检测。

4 原理

样品经提取、离心、过滤后，采用高效液相色谱仪分离，紫外检测器检测，根据保留时间定性，峰面积定量，以标准曲线法计算样品中积雪草苷和羟基积雪草苷的含量。

5 试剂和材料

除另有规定外，本方法所用试剂均为分析纯或以上规格，水为 GB/T 6682 规定的一级水。

5.1 甲醇，色谱纯。

5.2 乙腈，色谱纯。

5.3 积雪草苷标准品：纯度 $\geq 98\%$ 。

5.4 羟基积雪草苷标准品：纯度 $\geq 98\%$ 。

5.5 标准储备溶液：准确称取积雪草苷、羟基积雪草苷标准品各 10 mg（精确至 0.00001 g），分别置于 10 mL 棕色容量瓶中，用甲醇溶解并定容至刻度，摇匀，配制成质量浓度为 1 mg/mL 的标准储备溶液，于 4 °C 避光保存。

6 仪器和设备

6.1 高效液相色谱仪，配紫外检测器或二极管阵列检测器。

6.2 分析天平：感量 0.0001 g；感量 0.00001 g。

6.3 超声波清洗器。

6.4 涡旋振荡器。

6.5 高速离心机。

6.6 微孔滤膜：孔径 0.22 μm ，有机相。

7 试样制备与保存

样品应按照标签标示的贮存条件进行保存。取样前，应检查封口的完整性，观察样品的性状和特征，并使样品混匀。打开包装后，应尽可能快地取出所要测定部分进行分析，取样后，应将样品进行密封保存。

8 分析步骤

8.1 混合标准系列溶液的制备

准确移取混合标准中间溶液（5.5）适量，用甲醇稀释成浓度分别为 2.5、5、12.5、25、50 $\mu\text{g/mL}$ 的标准品系列溶液，即配即用。

8.2 样品处理

水类化妆品：称取样品 1.0 g（精确至 0.001 g）于 10 mL 具塞比色管/离心管中，加入甲醇约 8 mL，涡旋振荡 1 min，超声提取 20 min，冷却至室温后用甲醇定容至 10 mL，涡旋混匀。以 10000 r/min 离心 10 min，取上清液经 0.22 μm 有机相滤膜过滤，滤液作为待测溶液。

膏霜、乳液类化妆品：称取样品 1.0 g（精确至 0.001 g）于 10 mL 具塞比色管/离心管中，加入样品提取液（甲醇：乙腈=8:2）约 8 mL，涡旋振荡 1 min，超声提取 20 min，冷却至室温后用甲醇定容至 10 mL，涡旋混匀。以 10000 r/min 离心 10 min，取上清液经 0.22 μm 有机相滤膜过滤，滤液作为待测溶液。

8.3 仪器参考条件

色谱柱：C18 色谱柱（250 mm \times 4.6 mm，5 μm ），或等效色谱柱；

流动相：水 + 乙腈 + 甲醇 = 56 + 22 + 22（体积比）；

流速：1.0 mL/min；

柱温：35℃；

检测波长：205 nm；

进样量：10 μL；

洗脱方式：等度洗脱。

8.4 定性测定

在相同色谱条件下，样品溶液中目标物色谱峰的保留时间与标准品一致，即可判定含有该待测成分。

8.5 定量测定

在“8.3”仪器条件下，取混合标准系列溶液（8.1）分别进样，进行色谱分析，以标准系列溶液浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制标准曲线。

取“8.2”项下的待测溶液进样，测得峰面积，代入标准曲线得到待测溶液中各组分的质量浓度。按“9”计算样品中各组分的含量。

8.6 平行试验

按上述步骤，对同一样品进行平行实验测定。

8.7 空白试验

除不加试样外，均按上述测定条件和步骤进行。

9 计算结果

结果按式(1)计算：

$$\omega = \frac{\rho \times V \times D}{m} \dots \dots \dots (1)$$

式中：

ω —化妆品中待测积雪草苷和羟基积雪草苷的质量分数，μg/g；

ρ —从标准曲线得到待测积雪草苷和羟基积雪草苷的质量浓度，μg/mL；

V —样品定容体积，mL；

m —样品取样量，g；

D —稀释倍数（如未稀释则为1）。

计算结果保留三位有效数字。

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%。

10 精密度和准确度

加标回收率在 90%~115%范围内，相对标准偏差小于 5.0% (n=6)

11 检出限和定量限

本方法中各组分的检出限、定量限及取样量为 1.0 g，定容体积为 10 mL 时的检出浓度、最低定量浓度见表 1。

表 1 积雪草苷和羟基积雪草苷的检出限、定量下限、检出浓度和最低定量浓度

序号	中文名称	检出限	定量限	检出浓度	最低定量浓度
		(ng)	(ng)	($\mu\text{g/g}$)	($\mu\text{g/g}$)
1	积雪草苷	9	28	9	28
2	羟基积雪草苷	9	28	9	28

12 图谱

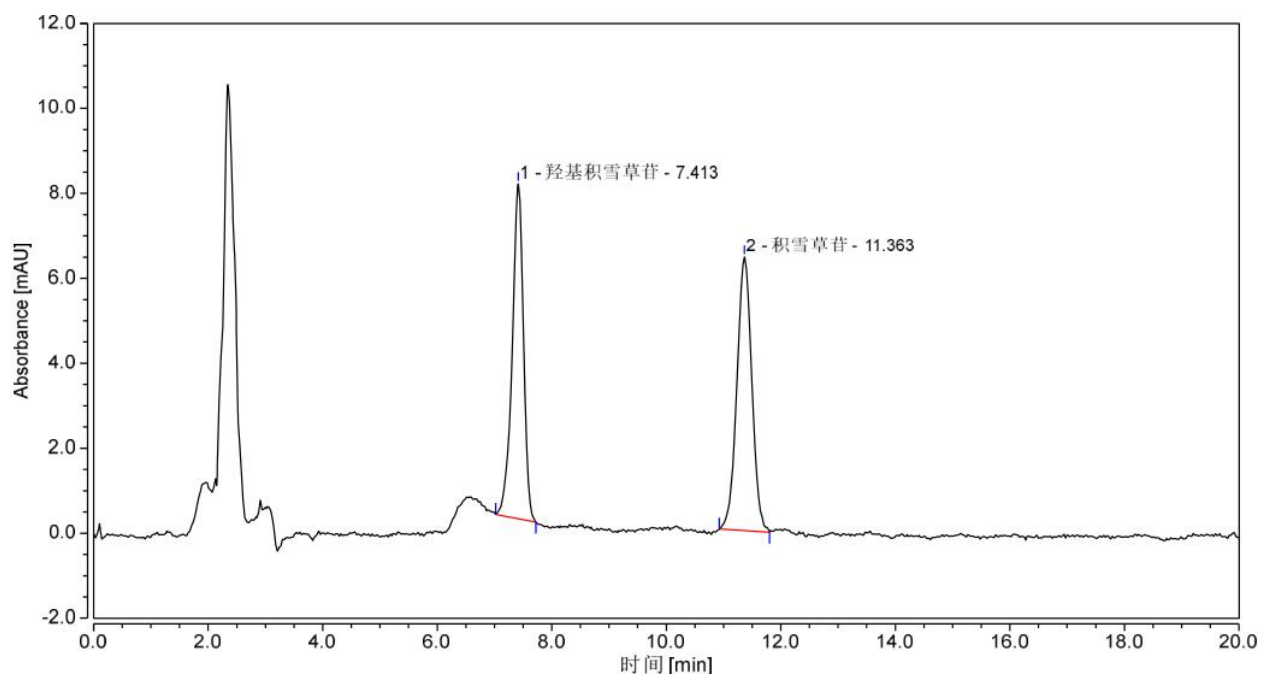


图 1 积雪草苷、羟基积雪草苷混合标准品高效液相色谱图 (检测波长: 205 nm)

附录 A

积雪草苷和羟基积雪草苷的相关信息

表 B.1 积雪草苷和羟基积雪草苷的中文名称、英文名称、CAS 号、分子式、相对分子质量及结构式

中文名称	英文名称	CAS 号	分子式	相对分子质量
积雪草苷	Asiaticoside	16830-15-2	C ₄₈ H ₇₈ O ₁₉	959.12
羟基积雪草苷	Madecassoside	34540-22-2	C ₄₈ H ₇₈ O ₂₀	975.12

参 考 文 献

- 《化妆品用原料积雪草提取物》YY/T 10003-2026；
《化妆品用原料积雪草提取物》T/CAFFCI 17-2019