ICS 71.100.70
CCS Y42

T/HPCIA

团　　体　　标　　准

T/HPCIA 011—2024

化妆品用原料
光甘草定（Glabridin）

Glabridin for cosmetics

2024－09－30 发布　　2024－09－30 实施

广州开发区黄埔化妆品产业协会　　发 布

全国团体标准信息平台

目　　次

前言 II
1　范围 1
2　规范性引用文件 1
3　术语和定义 1
4　基本情况 1
5　技术要求 1
6　试验方法 2
7　检验规则 2
8　标志、包装、运输、贮藏和保质期 3
附录 A（规范性）　光甘草酚含量测定方法 4
附录 B（规范性）　光甘草定生物安全性检测方法 7

全国团体标准信息平台

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。

本文件由广东省人民医院提出。

本文件由广州开发区黄埔化妆品产业协会归口。

本文件起草单位：广东省人民医院、深圳市一木生物科技有限公司、南方美谷（广州）集团有限公司、广州梵之容化妆品有限公司、泉后（广州）生物科技研究院有限公司、深圳市禾葡兰化妆品有限公司、无限极(中国)有限公司、甘肃泛植制药有限公司、江苏天晟药业股份有限公司、广州市络捷生物科技有限公司、广州天玺生物科技有限公司、广州睿森生物科技有限公司、广州质量监督检测研究院、广东省保化检测中心有限公司、广州山海生物科技有限公司、暨南大学、广东药科大学、广东工业大学。

本文件主要起草人：赵海山、谭建华、王冰瑶、李安章、侯森、韩志东、张耀宇、麦卓贤、赵富虎、季浩、郑伟军、吴明城、聂舟、郑伟东、刘洁、钟洁瑶、徐俊、田海研、郭清泉、吴培诚、蒋晨阳、王雅馨、何铭杰、吴少娟。

全国团体标准信息平台

化妆品用原料
光甘草定（Glabridin）

1 范围

本标准规定了光甘草定的基本情况、技术要求、试验方法、检验规则、标志、包装、运输、贮藏和保质期等内容。

本标准适用于由光果甘草根提取的用于化妆品原料的光甘草定。

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 39665-2020 含植物提取物类化妆品中 55 种禁用农药残留量的测定

QB/T 4951-2016 化妆品用原料 光果甘草（Glycyrrhiza glabra）根提取物

GB/T 6678-2003 化工产品采样总则

GB/T 6680-2003 液体化工产品采样通则

GB/T 8170-2008 数值修约规则与极限数值的表示和判定

GB/T 191-2016 包装储运图示标志

GB/T 6682-2008 分析实验室用水规格和试验方法

T/HPCIA 003—2022 化妆品 斑马鱼实验通用技术规范

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 基本情况

产品中文INCI名称：光甘草定

产品英文INCI名称：Glabridin

活性成分：光甘草定

建议配方添加量：≤0.1%

CAS：59870-68-7

分子量：324.29

光甘草定，一般是指以光果甘草根为原料通过提取纯化得到的粉末提取物。

5 技术要求

符合表1的要求。

表 1 光甘草定质量指标要求

项目		B	A
理化指标	颜色与外观	棕黄色粉末	白色粉末
	气味	无明显气味	无明显气味

表 1　光甘草定质量指标要求（续）

项目		B	A
理化指标	溶解性	溶于醇	溶于醇
	光甘草定（%）	≥80%	≥95%
	光甘草酚（%）	≤1%	≤1%
	甲醇	≤ 0.2%（仅限生产过程使用乙醇）	
安全性	安全性评价	符合附录B	-
重金属	汞，mg/kg	应符合《化妆品安全技术规范》的规定	
	砷，mg/kg		
	铅，mg/kg		
	镉，mg/kg		
微生物	菌落总数CFU/mL		
	霉菌和酵母菌总数CFU/mL		
	耐热大肠菌群菌		
	铜绿假单胞菌		
	金黄色葡萄球菌		
农残	应按照GB/T 39665-2020《含植物提取物类化妆品中 55 种禁用农药残留量的测定》执行		

6　试验方法

除非另有说明，所有试剂均为分析纯，水为GB/T 6682规定的三级水。

6.1　颜色与外观

在非直射阳光条件下，取样品进行目测。

6.2　气味

取样品感官判定，不应有异常气味。

6.3　光甘草定 (Glabridin) 含量

按QBT 4951-2016《化妆品用原料 光果甘草（Glycyrrhiza glabra）根提取物》规定操作。

6.4　微生物

菌落总数、霉菌和酵母菌按《化妆品安全技术规范》微生物检验方法规定操作。

6.5　重金属

汞、砷，按《化妆品安全技术规范》中氢化物原子荧光光度法规定操作。
铅、镉，按《化妆品安全技术规范》中火焰原子吸收分光光度法规定操作。

6.6　光甘草酚

按本标准附录A的方法进行检测。

6.7　安全性

按本标准附录B的方法进行检测。

7　检验规则

7.1　出厂检验

光果甘草根提取物由生产厂质量检验部门取样检验，出厂检验项目为:外观、光甘草定含量、光甘草酚含量、重金属、微生物，生产厂应保证每批出厂的产品都符合本标准的要求。每一批出厂的产品都

应有一定格式的质量证书，内容包括出厂检验项目、产品名称、生产厂名称、生产日期或批号、净重、执行标准编号。

7.2 型式检验

型式检验每年不应少于2次。型式检验的项目为技术要求中的全部项目，有下列情况之一时，也应进行型式检验:

a) 当原料、工艺和设备发生重大改变时；
b) 产品首次投产或停产 6 个月以上恢复生产时；
c) 出厂检验结果与上次型式检验有较大差异时；
d) 生产场所改变时；
e) 国家质量监督机构提出进行型式检验的要求时。

7.3 检验结果若有 1 项不符合标准要求，应重新自双倍量的包装中取样进行复验，复验结果仍有指标不符合标准要求，即整批产品判定为不合格。若微生物指标不符合标准要求，不得复检。

7.4 采样按 GB/T 6678、GB/T 6680 中有关规定进行，采样量 40 g，分别装入两个洁净、干燥的玻璃瓶中，密封、贴上标签，一瓶供检验，另一瓶作留样备查。

7.5 检验结果的判定按 GB/T 8170 数值修约值比较法进行。

7.6 使用单位有权按照本标准的检验规则和试验方法对所收到的该产品进行验收，如有异议需在收到产品 15 天内向生产厂提出:当供需双方对产品质量发生异议时，由双方协商解决或请仲裁单位进行仲裁分析，仲裁分析时应按本标准规定的试验方法和检验规则进行。

8 标志、包装、运输、贮藏和保质期

8.1 标志

产品销售包装图示标志应按GB/T 191执行，标注内容为：产品名称、商标(如有)、保质期(用生产日期、保质期或生产批号、限期使用日期等方式组合表示)、生产者名称、地址、净含量、执行标准号以及根据产品特点所应标注的其他内容。

8.2 包装

产品采用适宜包装，根据用户要求包装。

8.3 运输

本产品属于非危险品，可采用任何运输工具，在运输时应防火、防热、防雨淋、防受潮。

8.4 贮藏

通风处、干燥密封保存。

8.5 保质期

在符合规定的运输和贮存条件下,产品在包装完整和未启封的情况下,保质期按销售包装标注执行。

附 录 A
（规范性）
光甘草酚含量测定方法

A.1 规范性引用文件

GB/T 6682《分析实验室用水规格和试验方法》

A.2 原理

试样经甲醇提取，用高效液相色谱仪测定，外标法定量。

A.3 试剂和材料

A.3.1 水：GB/T 6682，一级。

A.3.2 甲醇：色谱纯

A.3.3 对照物质

光甘草酚，CAS：59870-65-4，纯度≥98%。

A.3.4 标准储备溶液

1000 μg/mL：准确称取适量（精确至0.0001 g）对照物质光甘草酚，用甲醇溶解并定容至10 mL，于4 ℃下冷藏保存。

A.3.5 标准工作溶液

准确移取标准储备溶液10 μL、50 μL、100 μL、500 μL和1000 μL于10 mL容量瓶中，用甲醇定容，配制成浓度分别为1 μg/mL、5 μg/mL、10 μg/mL、50 μg/mL和100 μg/mL的标准工作溶液。

A.3.6 有机滤膜

孔径0.22 μm，材质为尼龙。

A.4 仪器设备

A.4.1 高效液相色谱仪（HPLC）

配二极管阵列检测器（DAD）或紫外检测器（UV）。

A.4.2 分析天平

感量为0.0001 g。

A.4.3 涡旋振荡器

A.4.4 超声波清洗仪

功率不低于250 W。

A.5 测定步骤

A.5.1 试样制备

称取试样约0.1 g（精确至0.0001 g）于10 mL具塞比色管中，加入甲醇至近刻度，涡旋30 s，超声提取20 min，静置冷却至室温，用甲醇定容至刻度，混匀，经0.22 μm有机滤膜过滤，滤液供液相色谱串联质谱仪测定。

A.5.2 测定参考条件

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

b） 流动相：A：水，B：甲醇，梯度洗脱，梯度洗脱程序见表 A.1；
c） 流速：1.0 mL/min；
d） 柱温：30℃；
e） 进样体积：10 μL；
f） 检测波长：285 nm。

表 A.1 高效液相色谱梯度洗脱程序

时间 min	流动相A %	流动相B %
0	25	75
14	5	95
15	5	95
15.5	25	75
20	25	75

A.5.3 标准曲线绘制

取试样溶液与标准工作溶液在相同试验条件下测定，试样溶液中待测组分的保留时间与标准溶液中对应组分的保留时间一致（偏差在±2.5%之内），以标准溶液浓度为横坐标，对应的峰面积为纵坐标，绘制标准工作曲线，根据峰面积对应标准工作曲线上的溶液浓度定量。试样溶液中待测组分的响应值应在标准工作曲线的线性范围内，超过线性范围则应稀释后测定。

光甘草酚的高效液相色谱图参见图A.1。

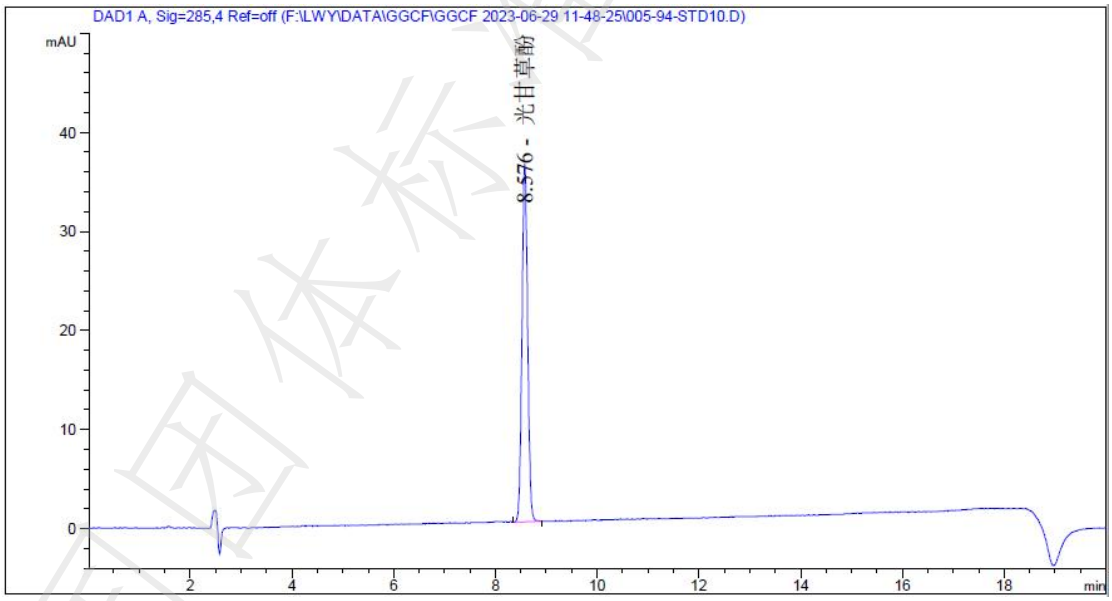

图 A.1 光甘草酚的高效液相色谱图（10 μg/mL）

A.5.4 空白试验

除不加入试样外，均按A.5.1~A.5.3进行测定。

A.5.5 检出限和定量限

本方法在取样量为0.1 g时，对于光甘草酚的方法检出限为0.003%，定量限为0.01%。

A.6 结果计算

试样中光甘草酚的含量按式（A.1）计算获得：

$$\omega = \frac{\rho \times V \times 10^{-6}}{m} \times 100\% \quad \cdots\cdots (A.1)$$

式中：

ω —— 试样中光甘草酚的含量，单位为质量百分比（%）；

ρ —— 上机溶液中光甘草酚的质量浓度，单位为微克每毫升（μg/mL）；

V —— 试样的定容体积，单位为毫升（mL）；

10^{-6} —— 单位转换系数；

m —— 试样的称样量，单位为克（g）。

全国团体标准信息平台

附 录 B
（规范性）
光甘草定生物安全性检测方法

B.1 方法原理

光甘草定中的杂质成分是影响光甘草定生物安全性的主要因素之一，但现有的质量控制方法很难反映其存在的生物安全性风险。将待测光甘草定与标准参照物的LC_{50}比较，过低的LC_{50}说明可能存在潜在的生物安全性风险。

B.2 生物模型

实验动物模型及维护要求应符合T/HPCIA 003—2022《化妆品 斑马鱼实验通用技术规范》要求。

B.3 材料试剂

B.3.1 斑马鱼胚胎

推荐使用野生型AB品系斑马鱼的鱼卵。

B.3.2 斑马鱼交配盒

B.3.3 实验用水

采用符合GB/T 6682规定的一级水。

B.3.4 缓冲水

用于空白对照组及胚胎培养，推荐使用Holt-Buffer、E3 Buffer等，配置方法见B.3.4.1、B.3.4.2。

B.3.4.1 Holt-Buffer 配制方法

B.3.4.1.1 按照（B.1）表格中的试剂，依次加入 2 L 烧杯中，用超纯水定容至 2000 mL。

表 B.1 Holt-Buffer 配方表

配方成分	添加量
NaCl	7.000g
$NaHCO_3$	0.400g
KCl	0.100g
$CaCl_2$	0.235g

B.3.4.1.2 使用真空过滤器（孔径：0.2 μm）过滤。

B.3.4.1.3 使用高压灭菌锅灭菌，常温保存，备用。

B.3.4.2 E3 Buffer 配制方法

B.3.4.2.1 60×母液：按照（B.2）表格中的试剂依次加入 2L 烧杯中，用超纯水定容至 2000 mL。

配方成分	添加量
NaCl	34.800g
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	5.800g
KCl	1.600g
$CaCl_2$	0.235g

B.3.4.2.2 使用氢氧化钠调 pH 至 7.2。

B.3.4.2.3 1×E3 Buffer：量取 16.5 mL 的 60×培养液，用水定容至 1 L。

B.3.5 二甲基亚砜（DMSO）

分析纯，CAS号：67-68-5

B.3.6 光甘草定对照品

纯度≥99%，CAS号：59870-68-7

B.4 仪器设备

B.4.1 斑马鱼养殖系统

B.4.2 生化培养箱

B.4.3 分析天平

精密度为0.0001 g。

B.4.4 移液器

B.4.5 光学显微镜

放大倍数不低于50倍（如连续变焦体式显微镜、荧光显微镜等）。

B.4.6 实验室一般常见器材

B.5 实验过程

B.5.1 样品前处理

精确称量光甘草定对照品与测试样品，使用DMSO溶解将其溶解为10 g/L母液。

实验前，使用DMSO将对照品及测试样品母液稀释为600、500、450、400、300、200 mg/L溶液，再分别使用缓冲水稀释100倍至6、5、4.5、4、3、2 mg/L工作液，最终各工作液中DMSO浓度应一致，且为1%（v/v）。

B.5.2 斑马鱼胚胎的获取

实验前1天下午喂食后1小时，选取健康的成年野生型斑马鱼，雌雄各半，置配种缸中，每缸1对，并用隔板将雌雄隔开。次日上午9:00，抽离隔板，自由交配后1小时后收集胚胎，挑选发育正常受精卵于容器中，加入适量缓冲水，置于28.5±0.5℃生化培养箱中孵育。正常胚胎发育状态应参考T/HPCIA 003—2022《化妆品 斑马鱼实验通用技术规范》要求。

B.5.3 实验方法

B.5.3.1 试验分组

本试验根据以下方法进行分组：

1) 空白对照组：含斑马鱼胚胎和缓冲水。
2) 溶剂对照组：含斑马鱼胚胎和1% DMSO。
3) 试样测试组：含斑马鱼胚胎和不同浓度试样溶液。
4) 光甘草定对照组：含斑马鱼胚胎和不同浓度光甘草定对照溶液。

B.5.3.2 受试物处理

随机挑选正常发育的野生型斑马鱼24 hpf （Prim-5 stage）胚胎于96孔板，每孔1枚胚胎，每个浓度设24个平行组，去除原有缓冲水，每孔加入200 μL受试溶液，盖上盖板，置于28.5±0.5℃生化培养箱中避光孵育48小时（发育至72 hpf）。

在光学显微镜下观察和记录胚胎的死亡和畸形情况，计算存活率和LC_{50}。以心跳停止作为胚胎死亡标记，光甘草定对胚胎畸形主要表现为：体节减少、尾部弯曲和卵黄肿大，具体见附录D。

B.6 结果计算

B.6.1 斑马鱼胚胎存活率

按式（B.1）计算：

$$斑马鱼胚胎存活率（\%）=（1-Ve/Vc）\times 100\% \cdots\cdots (B.1)$$

式中：

Ve —— 胚胎死亡数；

Vc —— 胚胎总数。

结果用平均值（Mean）±标准差（Standard Error，SE）表示。

B.6.2 LC_{50}值

使用数据分析软件如SPSS计算受试样品的LC_{50}和95%置信区间。

B.7 试验有效性验证

空白对照组、溶剂对照组斑马鱼胚胎存活率≥90% 以及光甘草定对照组中6 mg/L组存活率≤20%且2 mg/L组存活率≥80%，则认为试验系统有效。

B.8 结果判定

光甘草定测试样品的LC_{50}≥光甘草定对照样品LC_{50}×0.9，则认为该样品不存在生物安全性风险。

全国团体标准信息平台