

# T/SITA

团 体 标 准

T/SITA XXX—XXXX

## 化妆品中8种甜菊糖苷的测定 液相色谱-高分辨质谱法

Determination of 8 Steviolosides in Cosmetics by Liquid Chromatography High Resolution Mass Spectrometry

（征求意见稿）

XXXX—XX—XX 发布

XXXX—XX—XX 实施

山东省检验检测协会 发布



## 版 权 声 明

本文件系由山东省检验检测协会（简称“协会”）组织创制的团体标准文本（含制定过程中的草案），协会拥有本文件的著作权，受《中华人民共和国著作权法》保护。除法律所允许的情形或事先得到协会书面许可外，任何组织和个人不得以任何理由进行复制、销售、传播本文件，或抄袭、歪曲本文件等侵权行为，否则，行为人应承担相应的民事、行政责任，构成犯罪的，将依法追究其刑事责任。其他文件引用本文件，不属侵权行为。

凡利用本文件进行或支持贸易、认证等商业活动，应事先购买正式文本或得到协会书面授权。购买本文件或获得授权，请与协会联系。

欢迎社会各界举报侵权盗版行为，协会将依法严格保护举报人信息。

联系人：范红梅

联系电话：0531-51758070 15668365153

联系邮箱：keyanjishuzhongxin@163.com

协会对本版权声明拥有最终解释权。

## 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。

本文件由山东省检验检测协会提出、归口并组织实施。

本文件起草单位：山东省产品质量检验研究院。

本文件主要起草人：

# 化妆品中 8 种甜菊糖苷的测定 液相色谱-高分辨质谱法

## 1 范围

本文件描述了化妆品中8种甜菊糖苷含量的液相色谱质谱测定方法的原理、试剂和材料、仪器设备、试验步骤、结果计算、回收率和精密度、允许差等内容。

本文件适用于化妆品中8种甜菊糖苷含量的测定。

本文件8种甜菊糖苷方法检出限为2.3-3.4  $\mu\text{g/kg}$ ，定量限为9.2-13.6  $\mu\text{g/kg}$ 。

## 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

试样经甲醇溶解提取，净化过柱后，采用液相色谱质谱法进行测定，外标法定量。

## 5 试剂或材料

5.1 水：GB/T 6682 规定的一级水。

5.2 8 种甜菊糖苷对照品：英文名称、CAS 号、分子式、相对分子质量参见附录 A 表 A.1。

5.3 甲醇：色谱纯。

5.4 乙腈：色谱纯。

5.5 10 mmol/L 乙酸铵：取 0.77g 色谱纯乙酸铵，用纯水定容至 1L。

5.6 65%乙腈/乙酸铵溶液：取乙腈、10 mmol/L 乙酸铵按照体积比 65：35 混合，摇匀。

5.7 标准工作储备溶液：准确称取 8 种甜菊糖苷对照品（5.2）10 mg（精确至 0.1 mg）置于 10 mL 容量瓶中，加入甲醇（5.3）溶解定容制得质量浓度为 1.0 mg/mL 的标准储备液（于 4 °C 避光保存，有效期 3 个月）。

## 6 仪器设备

6.1 液相色谱-高分辨质谱仪：静电场轨道阱质谱配有电喷雾离子源（ESI）。

6.2 电子分析天平：感量为 0.0001 g。

6.3 超声波清洗器。

6.4 旋涡振荡器。

6.5 离心机：转速不低于 10 000 r/min。

6.6 微孔滤膜：有机相，孔径 0.22 μm。

## 7 试验步骤

### 7.1 样品处理

称取 1 g（精确到 0.0001 g）样品于 50 mL 离心管中，加入 10 mL 甲醇，涡旋振荡 1 min 后置于超声振荡器上超声提取 30 min。提取液在 4000 r/min 转速离心 5 min，取上清液过 0.22 μm 滤膜，待测。

### 7.2 测定

#### 7.2.1 色谱条件

液相色谱参考条件如下：

- a) 色谱柱：ACQUITY BEH Amide，100 mm×2.1 mm（内径），1.7 μm，或其他等效色谱柱；
- b) 流动相：A相，10 mmol/L 乙酸铵溶液；B相，乙腈；
- c) 流速：0.2 mL/min；
- d) 柱温：35 °C；
- e) 进样量：5 μL；
- f) 洗脱程序：65%B 等度洗脱。

质谱参考条件如下：

- a) 离子源：电喷雾离子源；

- b) 扫描方式：正离子扫描；
- c) 喷雾电压：3.5 kV；
- d) 离子源温度：350 °C；
- e) 监测方式：多反应监测（MRM）；
- f) 定性离子、定量离子及碰撞电压见表 1。

表 1 8 种甜菊糖苷的质谱参数

| 化合物     | 定性离子[M+H] <sup>+</sup> (m/z) | 定量离子 (m/z)        |
|---------|------------------------------|-------------------|
| 甜茶苷     | 641.3179                     | 479.2648、317.2118 |
| 瑞鲍迪甘 B  | 803.3706                     | 641.3164、479.2654 |
| 杜克苷 A   | 787.3758                     | 625.3223、479.2649 |
| 甜菊苷     | 803.3706                     | 641.3173、479.2652 |
| 瑞鲍迪甘 C  | 949.4286                     | 787.3752、625.3220 |
| 瑞鲍迪甘 F  | 935.413                      | 773.3592、641.3173 |
| 甜菊双糖苷 A | 965.4235                     | 803.3701、641.3172 |
| 瑞鲍迪甘 D  | 1127.4763                    | 803.3701、641.3172 |

7.2.2 标准工作曲线绘制

称取空白试样 1.0 g（精确到 0.0001 g），置于 50 mL 离心管中，与样品同法处理，作为空白基质提取液。量取适量的 8 种甜菊糖苷标准储备液，用空白基质提取液稀释成浓度分别为 1.0 µg/L、5.0 µg/L、10.0 µg/L、20.0 µg/L 、50.0 µg/L 的标准工作溶液，现用现配。将标准工作溶液按色谱条件（7.2.1）进行测定，以色谱峰的峰面积为纵坐标，对应的溶液浓度为横坐标，绘制标准曲线。8 种甜菊糖苷标准溶液的典型色谱图见附录 B 图 B.1。

7.2.3 试样测定

将试样溶液（7.1）按色谱条件（7.2.1）进行测定，如果试样中被测物质的色谱峰保留时间与标准溶液的一致,并且在扣除背景后的试样质谱图中,所选择的离子均出现,而且选择离子的相对丰度与标准物质的进行比较，相对偏差不超过表2规定的范围，可判定为试样中含有对应的被测物质。记录目标化合物定量离子和内标化合物色谱峰的峰面积,以外标法定量。

试样溶液中被测物的响应值应在标准曲线的线性范围内，超出线性范围则应稀释后再进行分析。

表 2 定性确证时相对离子丰度的最大允许偏差

| 相对离子丰度 k/% | k>50 | 50≥k>20 | 20≥k>10 | k≤10 |
|------------|------|---------|---------|------|
|------------|------|---------|---------|------|

|           |     |     |     |     |
|-----------|-----|-----|-----|-----|
| 允许的最大偏差/% | ±20 | ±25 | ±30 | ±50 |
|-----------|-----|-----|-----|-----|

7.3 空白试验

除不称取试样外，均按上述步骤进行。

8 结果计算

试样中8种甜菊糖苷的含量按式（1）计算：

$$Y = \frac{c \times V}{m \times 1000} \dots\dots\dots(1)$$

式中：

- Y—— 试样中8种甜菊糖苷的含量，单位为毫克每千克（mg/kg）；
- c—— 从标准工作曲线上查出的样液中8种甜菊糖苷的浓度，单位为微克每升（μg/L）；
- V—— 试样提取溶液的体积，单位为毫升（mL）；
- m—— 试样质量，单位为克（g）；
- 1000—— 单位换算常数。

计算结果须扣除空白值，保留两位小数。

9 回收率和精密度

在添加浓度1.0 μg/L～50.0 μg/L 浓度范围内，回收率在85 %～115 %。

10 允许差

在重复性条件下获得两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的10 %。



附 录 A  
(资料性)  
8 种甜菊糖苷基本信息

8种甜菊糖苷的英文名称、CAS 号、分子式、相对分子质量见表A.1

表A.1 8种甜菊糖苷基本信息

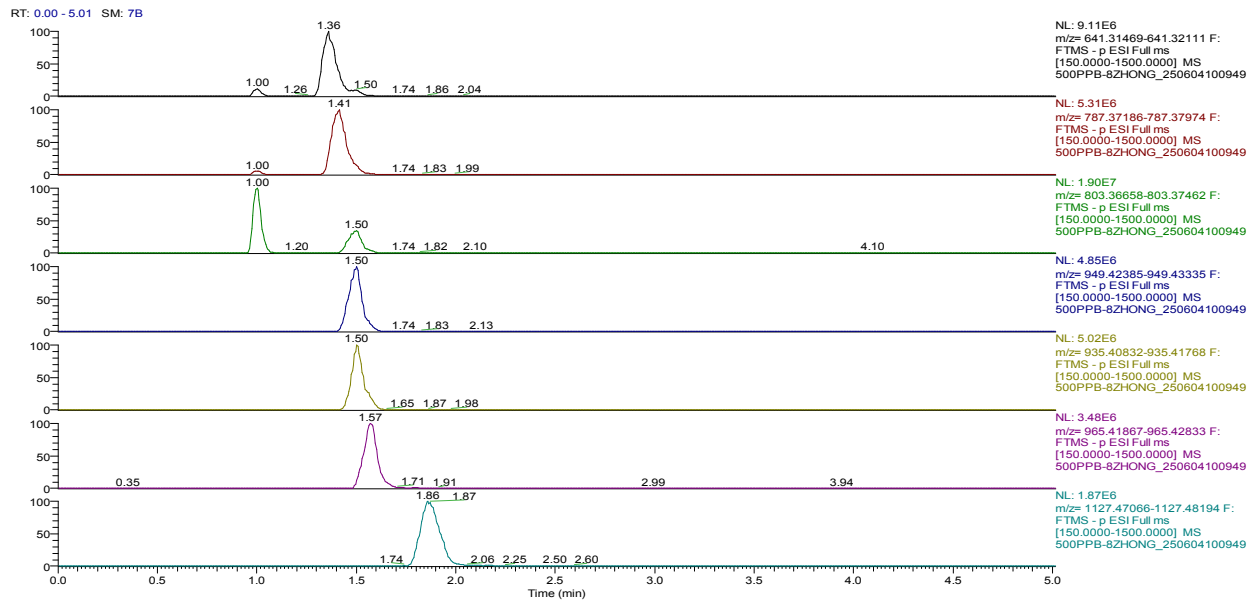
| 中文名称   | 英文名称           | CAS 号       | 分子式                                             | 相对分子质量  |
|--------|----------------|-------------|-------------------------------------------------|---------|
| 甜茶苷    | rebusoside     | 64849-39-4  | C <sub>32</sub> H <sub>50</sub> O <sub>13</sub> | 642.73  |
| 瑞鲍迪甘B  | rebaudioside B | 58543-17-2  | C <sub>38</sub> H <sub>60</sub> O <sub>18</sub> | 804.87  |
| 杜克苷A   | dulcoside A    | 64432-06-0  | C <sub>38</sub> H <sub>60</sub> O <sub>17</sub> | 788.87  |
| 甜菊苷    | stevioside     | 57817-89-7  | C <sub>38</sub> H <sub>60</sub> O <sub>18</sub> | 804.87  |
| 瑞鲍迪甘C  | rebaudioside C | 63550-99-2  | C <sub>44</sub> H <sub>70</sub> O <sub>22</sub> | 951.01  |
| 瑞鲍迪甘F  | rebaudioside F | 438045-89-7 | C <sub>43</sub> H <sub>68</sub> O <sub>22</sub> | 936.99  |
| 甜菊双糖苷A | rebaudioside A | 58543-16-1  | C <sub>44</sub> H <sub>70</sub> O <sub>23</sub> | 967.01  |
| 瑞鲍迪甘D  | rebaudioside D | 63279-13-0  | C <sub>50</sub> H <sub>80</sub> O <sub>28</sub> | 1129.16 |

附 录 B

(资料性)

依克多因标准溶液的典型色谱图

8种甜菊糖苷标准溶液的典型色谱图参见图B.1。



图B.1 8种甜菊糖苷典型色谱图