

## 附件2

# 化妆品中对苯二胺等 32 种染发剂的检测方法

## 征求意见稿

### 1 范围

本方法规定了高效液相色谱法测定化妆品中对苯二胺等 32 种组分的含量。

本方法适用于染发类化妆品中对苯二胺等 32 种组分含量的测定。

化妆品中的染料成分以多种形式存在，如硫酸盐、盐酸盐等，当多种形式同时存在时，应以其中的一种形式表示。

本方法所指的 32 种组分为染料，包括对苯二胺、对氨基苯酚、甲苯-2,5-二胺硫酸盐、间氨基苯酚、邻苯二胺、2-氯对苯二胺硫酸盐、邻氨基苯酚、间苯二酚、2-硝基对苯二胺、甲苯-3,4-二胺、4-氨基-2-羟基甲苯、2-甲基间苯二酚、6-氨基间甲酚、苯基甲基吡唑啉酮、N,N-二乙基甲苯-2,5-二胺盐酸盐、4-氨基-3-硝基苯酚、间苯二胺、2,4-二氨基苯氧基乙醇盐酸盐、氢醌、4-氨基间甲酚、2-氨基-3-羟基吡啶、N,N-双(2-羟乙基)对苯二胺硫酸盐、对甲基氨基苯酚硫酸盐、4-硝基邻苯二胺、2,6-二氨基吡啶、N,N-二乙基对苯二胺硫酸盐、6-羟基吡啶、4-氯间苯二酚、2,7-萘二酚、N-苯基对苯二胺、1,5-萘二酚和 1-萘酚。

### 2 方法提要

样品提取后，经高效液相色谱仪分离，二极管阵列检测器检测，根据保留时间和紫外光谱定性，峰面积定量，以标准曲线计算含量。

本方法对对苯二胺等 32 种组分的检出限、定量下限及取样量为 0.5g 时的检出浓度及最低定量浓度见表 1。

表 1 32 种组分的检出限、检出浓度、定量下限、最低定量浓度

序号	组分名称	检出限/ μg	检出浓度/ (μg/g)	定量下限 / μg	最低定量浓 度/ (μg/g)
1	对苯二胺	$1.2 \times 10^{-2}$	48	$3.5 \times 10^{-2}$	140
2	对氨基苯酚	$6.5 \times 10^{-3}$	26	$2.0 \times 10^{-2}$	80
3	甲苯-2,5-二胺硫酸盐	$2.0 \times 10^{-2}$	80	$6.0 \times 10^{-2}$	240

序号	组分名称	检出限/ μg	检出浓度/ (μg/g)	定量下限 / μg	最低定量浓 度/ (μg/g)
4	间氨基苯酚	$6.5 \times 10^{-3}$	26	$2.0 \times 10^{-2}$	80
5	邻苯二胺	$8.0 \times 10^{-3}$	32	$2.5 \times 10^{-2}$	100
6	2-氯对苯二胺硫酸盐	$1.5 \times 10^{-2}$	60	$5.0 \times 10^{-2}$	200
7	邻氨基苯酚	$6.5 \times 10^{-3}$	26	$2.0 \times 10^{-2}$	80
8	间苯二酚	$8.0 \times 10^{-3}$	32	$2.5 \times 10^{-2}$	100
9	2-硝基对苯二胺	$5.0 \times 10^{-3}$	20	$1.5 \times 10^{-2}$	60
10	甲苯-3,4-二胺	$8.0 \times 10^{-3}$	32	$2.5 \times 10^{-2}$	100
11	4-氨基-2-羟基甲苯	$6.5 \times 10^{-3}$	26	$2.0 \times 10^{-2}$	80
12	2-甲基间苯二酚	$1.3 \times 10^{-2}$	52	$4.0 \times 10^{-2}$	160
13	6-氨基间甲酚	$1.0 \times 10^{-2}$	40	$3.0 \times 10^{-2}$	120
14	苯基甲基吡啶酮	$2.0 \times 10^{-2}$	80	$6.0 \times 10^{-2}$	240
15	N,N-二乙基甲苯-2,5-二胺盐酸 盐	$2.0 \times 10^{-2}$	80	$6.0 \times 10^{-2}$	240
16	4-氨基-3-硝基苯酚	$6.5 \times 10^{-3}$	26	$2.0 \times 10^{-2}$	80
17	间苯二胺	$8.0 \times 10^{-3}$	32	$2.5 \times 10^{-2}$	100
18	2,4-二氨基苯氧基乙醇盐酸盐	$8.0 \times 10^{-3}$	32	$2.5 \times 10^{-2}$	100
19	氢醌	$3.0 \times 10^{-3}$	12	$1.0 \times 10^{-2}$	40
20	4-氨基间甲酚	$8.0 \times 10^{-3}$	32	$2.5 \times 10^{-2}$	100
21	2-氨基-3-羟基吡啶	$1.3 \times 10^{-2}$	52	$4.0 \times 10^{-2}$	160
22	N,N-双(2-羟乙基)对苯二胺硫酸 盐	$2.5 \times 10^{-2}$	100	$7.5 \times 10^{-2}$	300
23	对甲基氨基苯酚硫酸盐	$1.0 \times 10^{-2}$	40	$3.0 \times 10^{-2}$	120
24	4-硝基邻苯二胺	$1.5 \times 10^{-2}$	60	$5.0 \times 10^{-2}$	200
25	2,6-二氨基吡啶	$1.5 \times 10^{-2}$	60	$5.0 \times 10^{-2}$	200
26	N,N-二乙基对苯二胺硫酸盐	$2.5 \times 10^{-2}$	100	$7.5 \times 10^{-2}$	300
27	6-羟基吡啶	$3.0 \times 10^{-3}$	12	$1.0 \times 10^{-2}$	40
28	4-氯间苯二酚	$5.0 \times 10^{-3}$	20	$1.5 \times 10^{-2}$	60

序号	组分名称	检出限/ μg	检出浓度/ (μg/g)	定量下限 / μg	最低定量浓 度/ (μg/g)
29	2,7-萘二酚	$3.0 \times 10^{-3}$	12	$1.0 \times 10^{-2}$	40
30	N-苯基对苯二胺	$2.5 \times 10^{-3}$	10	$8.0 \times 10^{-3}$	32
31	1,5-萘二酚	$5.0 \times 10^{-3}$	20	$1.5 \times 10^{-2}$	60
32	1-萘酚	$3.0 \times 10^{-3}$	12	$1.0 \times 10^{-2}$	40

### 3 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。

3.1 无水乙醇。

3.2 甲醇, 色谱纯。

3.3 乙腈, 色谱纯。

3.4 亚硫酸氢钠。

3.5 三水合磷酸氢二钾, 分析纯。

3.6 磷酸溶液: 取磷酸 ( $\rho_{20}=1.69\text{g/mL}$ ) 10mL, 加水 90mL, 混匀。

3.7 磷酸盐混合溶液: 称取十二水合磷酸氢二钠 1.8g、磷酸二氢钾 2.8g 和庚烷磺酸钠 ( $\text{C}_7\text{H}_{15}\text{SO}_3\text{Na}$ ) 1.0g, 用水稀释至 1L, 混匀, 制成含庚烷磺酸钠 (1g/L) 的磷酸盐缓冲液, 用磷酸溶液 (3.5) 调节 pH 至 6, 使用 0.45μm 微孔滤膜过滤, 滤液备用。

3.8 磷酸盐缓冲液: 称取三水合磷酸氢二钾 (3.5) 4.56g, 加水 1L 溶解, 混匀, 制成 20mmol/L 磷酸氢二钾水溶液, 用磷酸 (3.6) 调节 pH 至 7.5, 经 0.45 μ m 微孔滤膜过滤, 滤液备用。

3.9 标准储备溶液: 称取各染料对照品 0.1g (精确到 0.0001g), 分别置 10mL 容量瓶中, 以 2g/L 亚硫酸氢钠水溶液 和无水乙醇 (3.1) (1+1) 的混合溶液溶解并定容至 10mL, 制成浓度约为 10g/L 的各染料标准储备溶液。以下染料在上述溶剂中的溶解性较差, 可分别采取如下措施: 甲苯-2,5-二胺硫酸盐和 2-氯对苯二胺硫酸盐 2 种组分直接用 2g/L 亚硫酸氢钠水溶液溶解并定容; 甲苯-3,4-二胺直接用无水乙醇 (3.1) 定容; 2-硝基对苯二胺和 4-硝基邻苯二胺需将称样量减至 25mg (精确到 0.00001g), 再用无水乙醇 (3.1) 定容, 配成约 2.5g/L 的溶液。储备溶液保存于 0℃~4℃冰箱中, 应于 2 天内使用。

### 4 仪器和设备

4.1 高效液相色谱仪, 二极管阵列检测器。

4.2 天平。

4.3 精密 pH 计。

- 4.4 超声波清洗器。
- 4.5 离心机。
- 4.6 涡旋混合仪。

## 5 分析步骤

### 5.1 混合标准系列溶液的制备

参照色谱图 1~色谱图 3 或色谱图 4~色谱图 5，对 32 种染料成分进行分组，并根据分组情况，取标准储备溶液（3.9）适量于 10mL 容量瓶中，用无水乙醇（3.1）稀释至刻度，配制成浓度为 500mg/L 的混合标准溶液；取混合标准溶液适量，用无水乙醇（3.1）稀释，配制成浓度为 10mg/L、25mg/L、50mg/L、100mg/L、250mg/L、500mg/L 的混合标准系列溶液。临用现配。

### 5.2 样品处理

称取样品 0.5g（精确到 0.001g）于 10mL 具塞比色管中，加无水乙醇（3.1）+ 水(1+1) 的混合溶液至 10mL 刻度，涡旋 1min，冰浴超声提取 15min。如为浑浊溶液，可取适量离心（5000rpm）5min，取上清液经 0.45 $\mu$ m 微孔滤膜过滤，滤液作为待测溶液，并尽快测定。

### 5.3 参考色谱条件 1

色谱柱：RP-AMIDE C<sub>16</sub> 柱（250mm×4.6mm×5 $\mu$ m），或等效色谱柱；

色谱保护柱：RP-AMIDE C<sub>16</sub> 保护柱（20mm×4.0mm×5 $\mu$ m），或等效色谱柱；

流动相：流动相 I：乙腈（3.3）+ 磷酸盐混合溶液（3.7）=10 + 90；

流动相 II：甲醇（3.2）+ 磷酸盐混合溶液（3.7）=10 + 90；

流动相 III：乙腈（3.3）+ 磷酸盐混合溶液（3.7）=40 + 60；

流速：1.0mL/min；

检测波长：280nm；

柱温：25℃；

进样量：5 $\mu$ L。

### 5.4 参考色谱条件 2

色谱柱：C18 柱（250mm×4.6mm，5 $\mu$ m），或等效色谱柱；

色谱保护柱：C18 保护柱（20mm×4.0mm×5 $\mu$ m），或等效色谱柱；

流动相：分两组进行梯度洗脱，流动相组成和梯度洗脱程序见表 2 和表 3。

表 2 一组流动相梯度洗脱程序

A : 20 mmol/L 磷酸氢二钾（磷酸调 pH 7.5）(3.8)    B : 甲醇(3.2)    C : 乙腈(3.3)

Time(min)	A(%)	B(%)	C(%)
-----------	------	------	------

0	96	2	2
15	96	2	2
22	90	5	5
35	50	10	40
50	50	10	40
50.1	96	2	2
55	96	2	2

表 3 二组流动相梯度洗脱程序

A : 20 mM 磷酸氢二钾 (磷酸调 pH 7.5) (3.8) B : 甲醇 (3.2)

Time(min)	A(%)	B(%)
0	92	8
8	92	8
35	50	50
45	50	50
45.1	92	8
50	92	8

注：分组选择仅供参考，可根据实际分离情况和样品检出情况进行调整。参考色谱条件 2 中，两组液相条件下 32 种组分的分离和干扰情况见附录 A。

流速：1.0mL/min；

检测波长：280nm；

柱温：25℃；

进样量：5μL。

## 5.5 测定

在“5.3”或“5.4”色谱条件下，取染料混合标准系列溶液（5.1）分别进样，分别采用上述流动相系统进行分析，以混合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“5.2”项下的待测溶液进样，根据保留时间和紫外光谱图定性，测得峰面积，根据标准曲线得到待测溶液中各组分的浓度。按“6”计算样品中各组分的含量。

## 6 分析结果的表述

### 6.1 计算

$$\omega = \frac{D \times \rho \times V}{m \times 10^6} \times 100$$

式中： $\omega$ ——化妆品中对苯二胺等 32 种组分的质量分数，%；

$\rho$ ——从标准曲线上得到待测组分的质量浓度，mg/L；

$V$ ——样品定容体积，mL；

$m$ ——样品取样量，g；

$D$ ——稀释倍数（不稀释则取 1）。

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%。

### 6.2 回收率和精密度

32 种染料成分的提取回收率在 82%~115%之间，方法回收率在 86%~114%之间，相对标准偏差在 1.1%~9.9%之间。

## 7 图谱

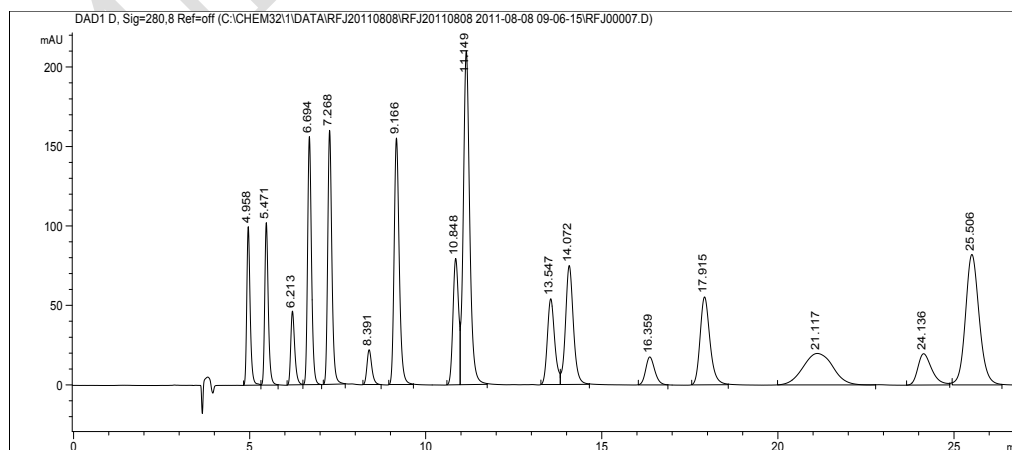


图 1 参考色谱条件 1，第一组混合标准溶液色谱图，流动相 I

- 1: 对苯二胺(4.958min); 2: 对氨基苯酚(5.471 min);
- 3: 甲苯-2,5-二胺硫酸盐(6.213 min); 4: 间氨基苯酚(6.694 min);
- 5: 邻苯二胺(7.268 min); 6: 2-氯对苯二胺硫酸盐(8.391 min);
- 7: 邻氨基苯酚(9.166 min); 8: 间苯二酚(10.848 min);
- 9: 2-硝基对苯二胺(11.149 min); 10: 甲苯-3,4-二胺(13.547 min);
- 11: 4-氨基-2-羟基甲苯(14.072 min); 12: 2-甲基间苯二酚(16.359 min);
- 13: 6-氨基间甲酚(17.915 min); 14: 苯基甲基吡唑啉酮(21.117 min);
- 15: N,N-二乙基甲苯-2,5-二胺盐酸盐(24.136 min); 16: 4-氨基-3-硝基苯酚(25.506 min)

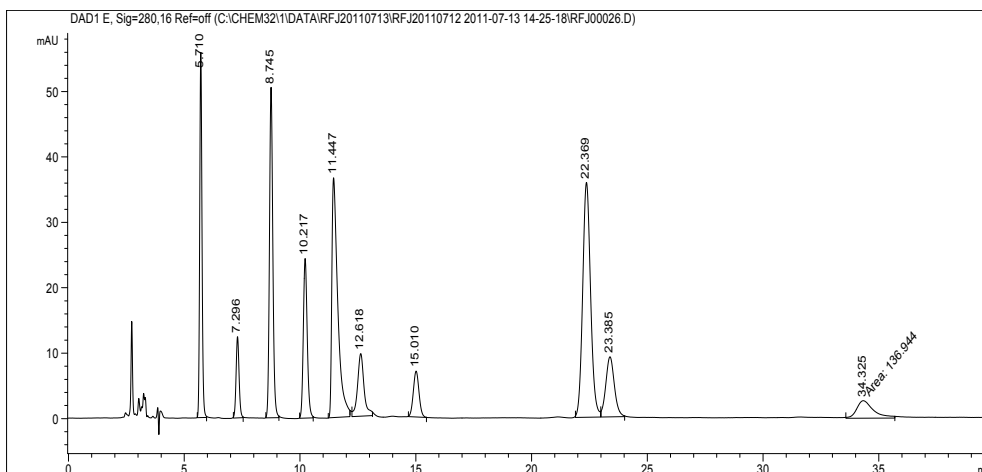


图2 参考色谱条件 1, 第二组混合标准溶液色谱图, 流动相 II

- 1: 间苯二胺(5.710 min); 2: 2,4-二氨基苯氧基乙醇盐酸盐(7.296 min);
- 3: 氢醌(8.745 min); 4: 4-氨基间甲酚(10.217 min);
- 5: 2-氨基-3-羟基吡啶(11.447 min); 6: N,N-双(2-羟乙基)对苯二胺硫酸盐(12.618 min);
- 7: 对甲基氨基苯酚硫酸盐(15.010 min); 8: 4-硝基邻苯二胺(22.369 min);
- 9: 2,6-二氨基吡啶(23.385 min); 10: N,N-二乙基对苯二胺硫酸盐(34.325 min)

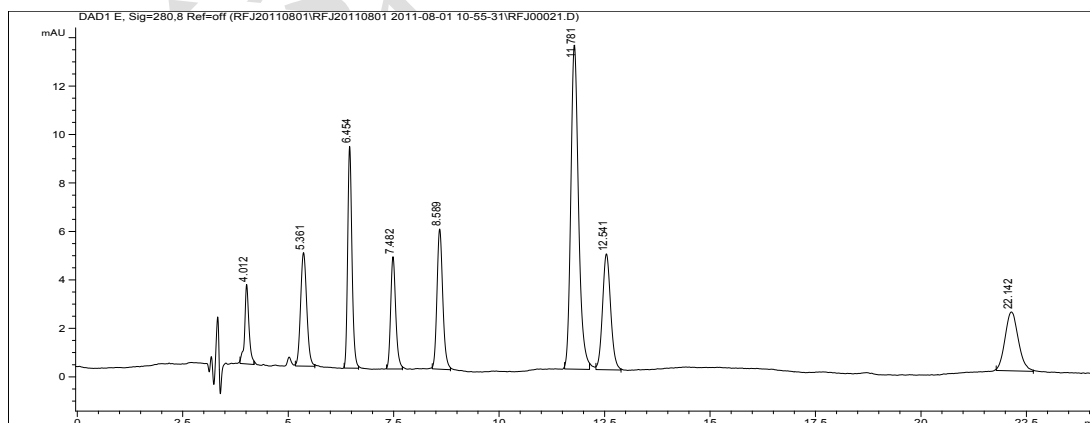


图3 参考色谱条件 1, 第三组混合标准溶液色谱图, 流动相 III

- 1: N,N-二乙基甲苯-2,5-二胺盐酸盐(4.012 min); 2.: 苯基甲基吡唑啉酮(5.361 min);
- 3: 6-羟基吡啶(6.454 min); 4.: 4-氯间苯二酚(7.482 min);
- 5.: 2,7-萘二酚(8.589 min); 6.: N-苯基对苯二胺(11.781 min);
- 7.: 1,5-萘二酚(12.541 min); 8.: 1-萘酚(22.142 min)

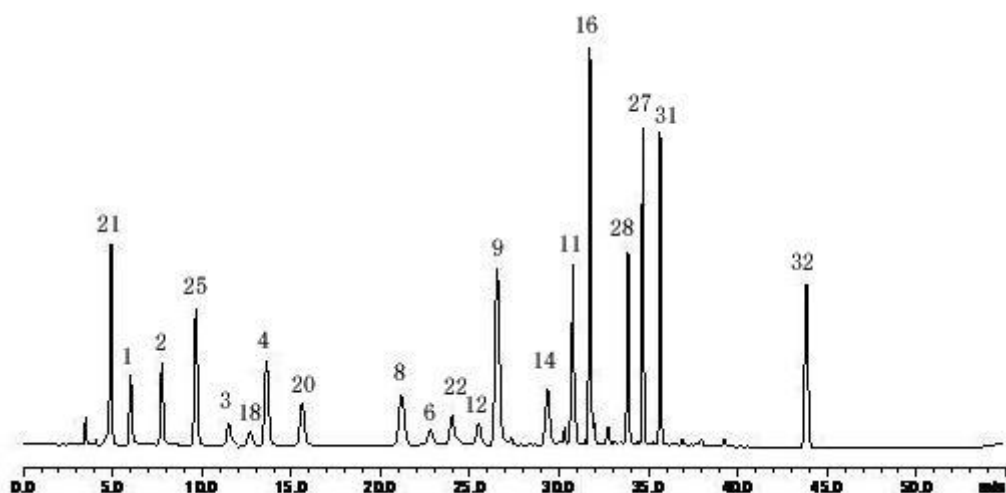


图 4 参考色谱条件 2，第一组混合标准溶液色谱图

21: 2-氨基-3-羟基吡啶(4.9min); 1: 对苯二胺(6.0min); 2: 对氨基苯酚(7.7min); 25: 2,6-二氨基吡啶(9.7min); 3: 甲苯-2,5-二胺硫酸盐(11.6min); 18: 2,4-二氨基苯氧基乙醇盐酸盐(12.7min); 4: 间氨基苯酚(13.4min); 20: 4-氨基间甲酚(15.6min); 8: 间苯二酚(21.0min); 6: 2-氯对苯二胺硫酸盐(22.8min); 22: N,N-双(2-羟乙基)对苯二胺硫酸盐(24.7min); 12: 2-甲基间苯二酚(25.5min); 9: 2-硝基对苯二胺(26.3min); 14: 苯基甲基吡唑啉酮(29.6min); 11: 4-氨基-2-羟基甲苯(30.6min); 16: 4-氨基-3-硝基苯酚(31.6min) ; 28: 4-氯间苯二酚(33.7min); 27: 6-羟基吡啶(34.5min); 31: 1,5-萘二酚(35.5min); 32: 1-萘酚(43.4min)

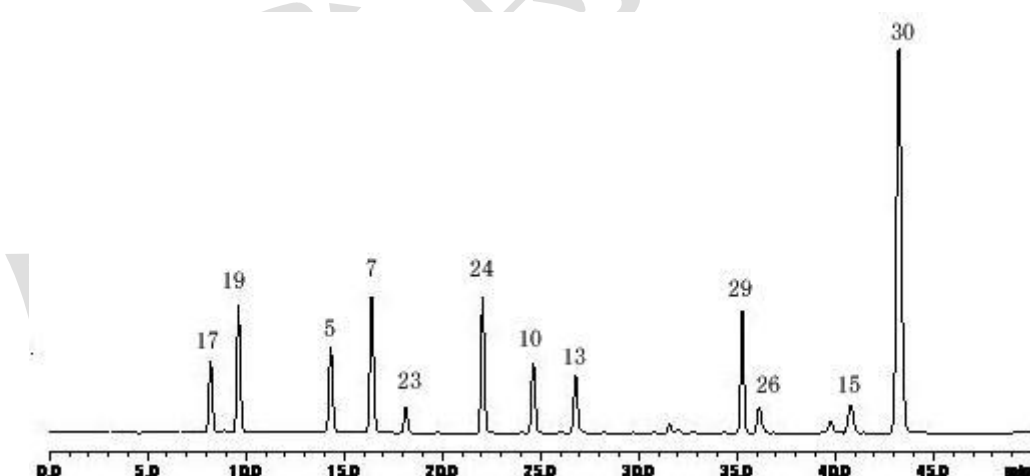


图 5 参考色谱条件 2，第二组混合标准溶液色谱图

17: 间苯二胺(8.3min); 19: 氢醌(9.7min); 5: 邻苯二胺(14.4min); 7: 邻氨基苯酚(16.8min); 23: 对甲基氨基苯酚硫酸盐(18.2min); 24: 4-硝基邻苯二胺(22.1min); 10: 甲苯-3,4-二胺(24.7min); 13: 6-氨基间甲酚(26.9min); 29: 2,7-萘二酚(35.2min); 26: N,N-二乙基对苯二胺硫酸盐(36.2min); 15: N,N-二乙基甲苯-2,5-二胺盐酸盐(40.9min); 30: N-苯基对苯二胺(43.2min)

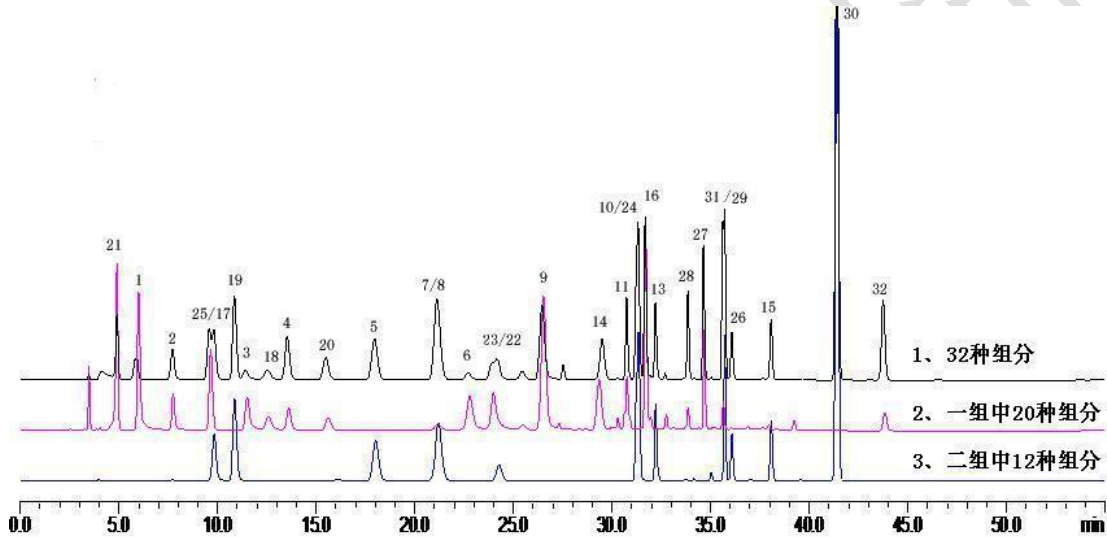


## 附录A

### 液相条件2中32种组分的分离和干扰情况

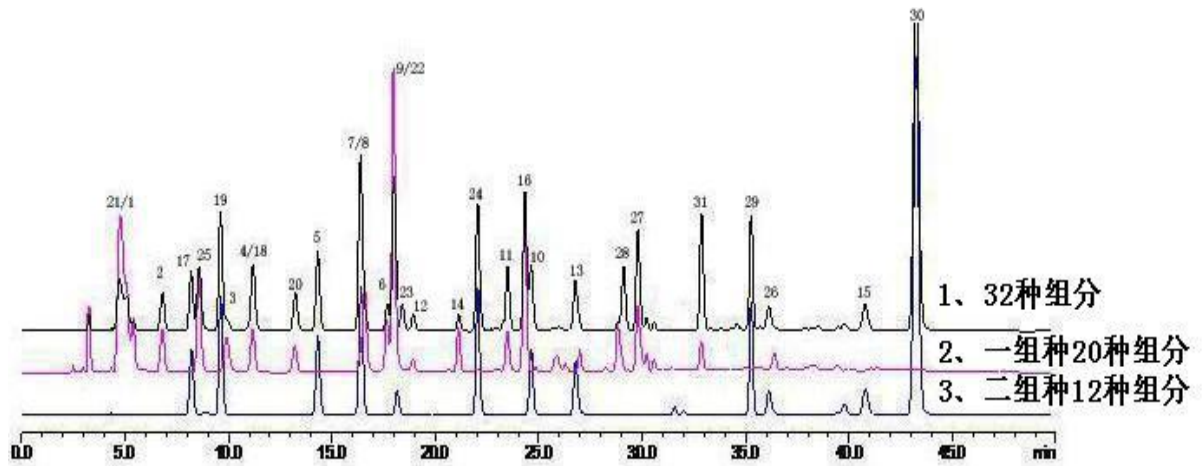
32种组分未在同一液相条件下分离,在参考液相条件2中,这些组分在第一组和第二组的液相条件下的分离图谱和出峰时间如图A.1和图A.2所示。在第一组的条件下,有10个组分未完全分离,分别为2,6-二氨基吡啶(R25)和间苯二胺(R17)、邻氨基苯酚(R7)和间苯二酚(R8)、对甲基氨基苯酚硫酸盐(R23)和N,N-双(2-羟乙基)对苯二胺硫酸盐(R22)、甲苯-3,4-二胺(R10)和4-硝基邻苯二胺(R24)、1,5-萘二酚(R31)和2,7-萘二酚(R29)。其中,除邻氨基苯酚(R7)和间苯二酚(R8)需要用液质确证外,其余八个组分均可用第二组液相条件完全分离。

以下分离和出峰时间仅供参考,可根据实际仪器条件和样品的实际检出情况进行调整。



图A.1 一组液相条件下32种组分的分离图谱

21: 2-氨基-3-羟基吡啶(4.9min); 1: 对苯二胺(6.0min); 2: 对氨基苯酚(7.7min); 25: 2,6-二氨基吡啶(9.7min); 17: 间苯二胺(9.8min); 19: 氢醌(10.8min); 3: 甲苯-2,5-二胺硫酸盐(11.6min); 18: 2,4-二氨基苯氧基乙醇盐酸盐(12.7min); 4: 间氨基苯酚(13.4min); 20: 4-氨基间甲酚(15.6min); 5: 邻苯二胺(17.8min); 7: 邻氨基苯酚(21.0min); 8: 间苯二酚(21.0min); 6: 2-氯对苯二胺硫酸盐(22.8min); 23: 对甲基氨基苯酚硫酸盐(24.5min); 22: N,N-双(2-羟乙基)对苯二胺硫酸盐(24.7min); 12: 2-甲基间苯二酚(25.5min); 9: 2-硝基对苯二胺(26.3min); 14: 苯基甲基吡唑啉酮(29.6min); 11: 4-氨基-2-羟基甲苯(30.6min); 10: 甲苯-3,4-二胺(31.1min); 24: 4-硝基邻苯二胺(31.1min); 16: 4-氨基-3-硝基苯酚(31.6min); 13: 6-氨基间甲酚(32.1min); 28: 4-氯间苯二酚(33.7min); 27: 6-羟基吡啶(34.5min); 31: 1,5-萘二酚(35.5min); 29: 2,7-萘二酚(35.6min); 26: N,N-二乙基对苯二胺硫酸盐(36.1min); 15: N,N-二乙基甲苯-2,5-二胺盐酸盐(38.1min); 30: N-苯基对苯二胺(41.2min); 32: 1-萘酚(43.4min)



图A.1 二组液相条件下32种组分的分离图谱

21: 2-氨基-3-羟基吡啶(4.8min); 1: 对苯二胺(5.0min); 2: 对氨基苯酚(6.8min); 17: 间苯二胺(8.3min); 25: 2,6-二氨基吡啶(8.7min); 19: 氢醌(9.7min); 3: 甲苯-2,5-二胺硫酸盐(9.9min); 4: 间氨基苯酚(11.2min); 18: 2,4-二氨基苯氧基乙醇盐酸盐(11.2min); 20: 4-氨基间甲酚(13.2min); 5: 邻苯二胺(14.4min); 7: 邻氨基苯酚(16.8min); 8: 间苯二酚(16.8min); 6: 2-氯对苯二胺硫酸盐(17.8min); 9: 2-硝基对苯二胺(18.0min); 22: N,N-双(2-羟乙基)对苯二胺硫酸盐(18.0min); 23: 对甲基氨基苯酚硫酸盐(18.2min); 12: 2-甲基间苯二酚(19.0min); 14: 苯基甲基吡唑啉酮(21.3min); 24: 4-硝基邻苯二胺(22.1min); 11: 4-氨基-2-羟基甲苯(23.7min); 16: 4-氨基-3-硝基苯酚(24.4min); 10: 甲苯-3,4-二胺(24.7min); 13: 6-氨基间甲酚(26.9min); 28: 4-氯间苯二酚(29.0min); 27: 6-羟基吡啶(29.9min); 31: 1,5-萘二酚(32.9min); 29: 2,7-萘二酚(35.2min); 26: N,N-二乙基对苯二胺硫酸盐(36.2min); 15: N,N-二乙基甲苯-2,5-二胺盐酸盐(40.9min); 30: N-苯基对苯二胺(43.2min)

## 附录B

### 对苯二胺等32种组分阳性结果的确证

32种组分在同一色谱条件下未实现完全分离，如检出结果和化妆品标签成分不一致，需采用液相色谱-质谱法确证结果。

B.1 样品前处理过程见5.2。

B.2 参考色谱条件

色谱柱： C18柱（2.1mm×100mm,3.0 μ m），或等效柱。

流动相： A: 5mmol/L乙酸铵水溶液（正离子模式），5mmol/L乙酸水溶液（负离子模式）； B: 乙腈。梯度洗脱程序见表B.1:

表B.1 流动相梯度洗脱程序

Time(min)	A(%)	B(%)
0	95	5
4	95	5
11	80	20
16	30	70
17	5	95
19	5	95
19.1	95	5
23	95	5

流速： 0.3mL/min

柱温： 30° C

进样量： 2ul

注：如需提高检测灵敏度，在满足分离条件的情况下，可将正离子模式改为乙酸水溶液作为流动相。

B.3 参考质谱条件

离子源： 电喷雾离子源（ESI）；

监测模式：正、负多反应监测模式；监测离子对及相关电压参数设定见表 B.2，可根据仪器实际情况选择两对监测离子对；

雾化气流速：3L/min

干燥气流速：15L/min

脱溶剂管温度：250° C

离子源加热温度：400° C

碰撞气：Ar， 230kpa

表B.2 32种组分的监测离子对及相关电压参数设定表

序号	名称	分子量	电离模式	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碰撞能 (CE)	时间 (min)
1	对苯二胺	108.14	+	109.2	65.2 92.1	31 26	2.68
2	对氨基苯酚	109.13	+	110.0	65.1 93	28 38	3.75
3	甲苯-2,5-二胺硫酸盐	220.27	+	123.1	108.2 77.1	24 40	9.95
4	间氨基苯酚	109.1	+	109.9	65.1 92.9	28 22	6.33
5	邻苯二胺	108.14	+	109.0	65.2 92.1	33 22	7.98
6	2-氯对苯二胺硫酸盐	240.66	+	143.1	108.1 80.1	25 36	9.65
7	邻氨基苯酚	109.12	+	110.0	65.1 92.1	30 22	9.06
8	间苯二酚	110.11	-	109.1	65.0 67.0 41 119.1	17 19 23 22	8.88
9	2-硝基对苯二胺	153.14	+	154.0	135.8 108.2 91.1 77.1	13 17 29 37	11
10	甲苯-3,4-二胺	122.17	+	123.0	106.0 108.1	22 21	13.6
11	4-氨基-2-羟基甲苯	123.15	+	124.0	109.0 77.1	26 35	13.2
12	2-甲间苯二酚	124.14	-	123.0	55.0 79.0	34 17	10.6
13	6-氨基间甲酚	123.15	+	124.1	106.0 77.1	30 36	14.2
14	苯基甲基吡唑啉酮	174.2	+	175.2	133.0 65.0	26 46	14.7

序号	名称	分子量	电离模式	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碰撞能 (CE)	时间 (min)
15	N,N-二乙基甲苯 -2,5-二胺盐酸盐	214.73	+	179.1	150.0	23	15.2
					135.1	36	
16	4-氨基-3-硝基苯酚	154.12	-	153.2	123.0	14	14.1
					122.0	25	
17	间苯二胺	108.14	+	109.2	65.2	31	4.6
					92.1	22	
18	2,4-二氨基苯氧基乙 醇盐酸盐	241.11	+	169.1	124.1	25	6.2
					108.0	27	
19	氢醌	100.08	-	109.0	108.0	21	5.2
					81.0	16	
20	4-氨基间甲酚	123.15	+	124.0	53.0	21	7.4
					109.2	31	
21	2-氨基-3-羟基吡啶	110.11	+	111.1	77.2	35	2.7
					94.0	25	
22	N,N-双(2-羟乙基)对 苯二胺硫酸盐	294.32	+	197.1	66.2	39	9.4
					121.1	36	
23	对甲基氨基苯酚硫酸 盐	221.23	+	124.0	152.2	22	9.9
					77.1	43	
24	4-硝基邻苯二胺	153.14	+	154.0	109.1	31	13.6
					137.0	19	
25	2,6-二氨基吡啶	109.13	+	110.0	107.0	28	4.6
					108.2	17	
26	N,N-二乙基对苯二胺 硫酸盐	262.33	+	165.10	66.1	33	14.3
					93.0	30	
27	6-羟基吡啶	133.15	+	134.0	121.0	21	15.7
					136.2	28	
28	4-氯间苯二酚	144.56	-	143.2	107.1	28	15.3
					77.1	42	
29	2,7-萘二酚	160.17	-	159.1	106.2	25	15.9
					79.0	19	
30	N-苯基对苯二胺	184.24	+	185.1	130.0	33	17.4
					102.2	33	
31	1,5-萘二酚	160.17	-	159.1	93.1	29	15.8
					108.1	31	
32	1-萘酚	144.17	-	143.1	115.1	25	17.8
					131.0	27	
					115.1	34	
					41.0	49	
					148.0	26	

#### B.4 定性

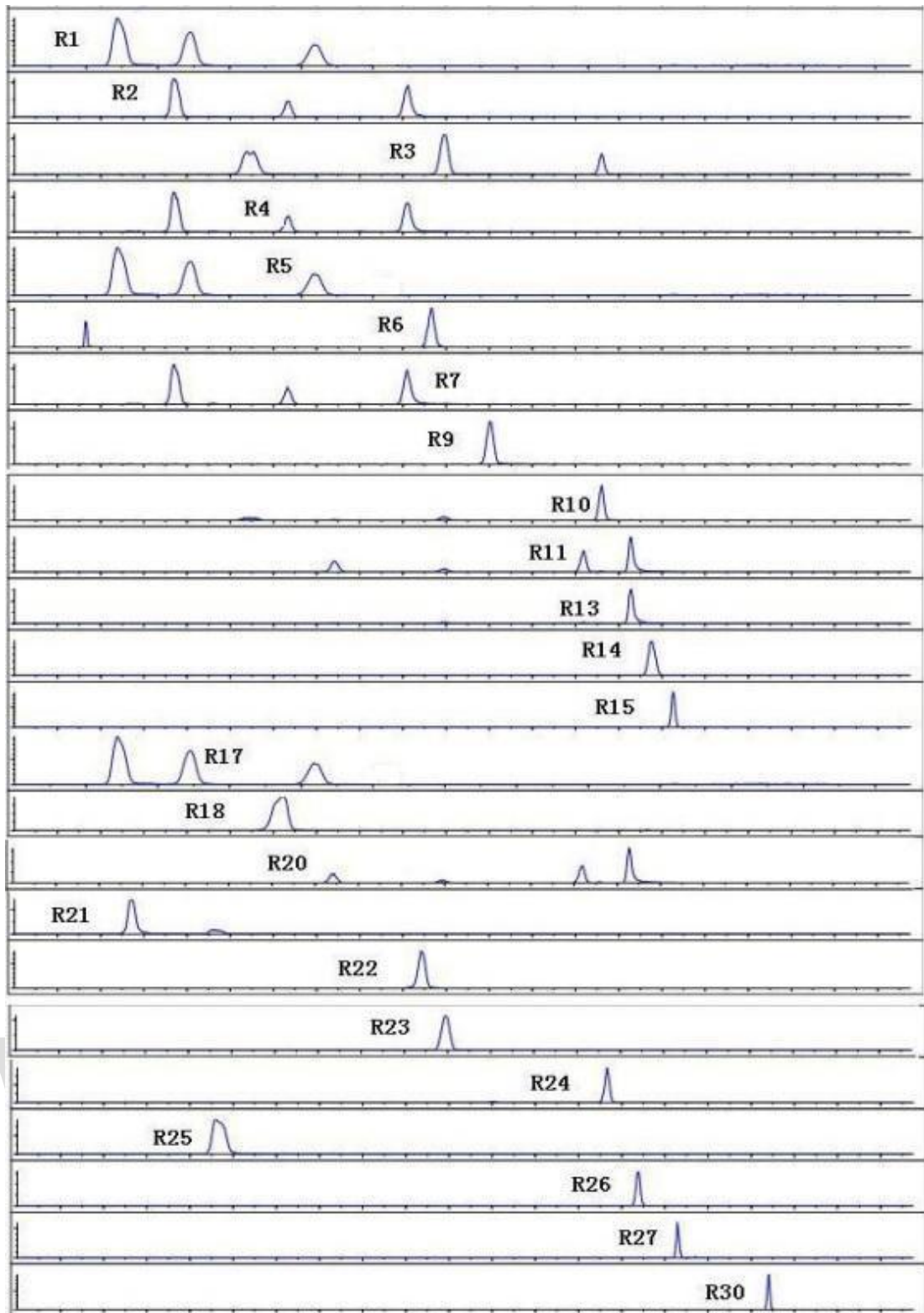
用液相色谱-三重四级杆串联质谱仪进行定性，如果样品中待测组分的色谱峰保留时间与浓度相近的标准工作溶液一致（变化范围在 $\pm 2.5\%$ 之内），并且在扣除背景后样品的质谱图中，所选择的的监测离子均出现，且所选择的离子对相对丰度与标准工作溶液的离子对相对丰度相一致，相对丰度偏差符合表 B.3 要求，则可判断样品中存在该待测组分。

表 B.3 结果确证时相对离子丰度比的最大允许偏差

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%

#### B.5 检出限

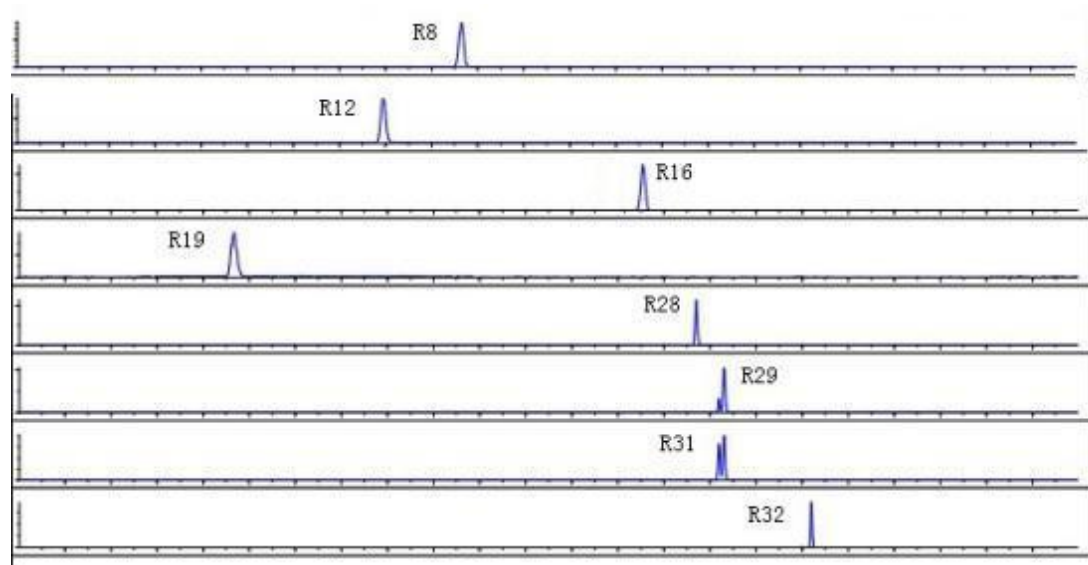
本确证方法中，氢醌的检出限为1ng，其余各组分的检出限为0.05ng。取样量为0.5g，稀释倍数为25mL时，氢醌的检出浓度为25 μg/g，其余各组分的检出浓度为1.25 μg/g。



图B.1 混合标准溶液LC-MS色谱图（正离子模式）

1: 对苯二胺; 2: 对氨基苯酚; 3: 甲苯-2,5-二胺硫酸盐; 4: 间氨基苯酚; 5: 邻苯二胺; 6: 2-氯对苯二胺硫酸盐; 7: 邻氨基苯酚; 9: 2-硝基对苯二胺; 10: 甲苯-3,4-二胺; 11: 4-氨基-2-羟基甲苯; 13: 6-氨基间甲酚; 14: 苯基甲基吡唑啉酮; 15: N,N-二乙基甲苯-2,5-二胺盐酸盐; 17: 间苯二胺; 18: 2,4-二氨基苯氧基乙醇盐酸盐; 20: 4-氨基间甲酚; 21: 2-氨基-3-羟基吡啶; 22: N,N-双(2-羟乙基)对苯二胺硫酸盐; 23: 对甲基氨基苯酚硫酸盐; 24:

4-硝基邻苯二胺; 25: 2,6-二氨基吡啶; 26: N,N-二乙基对苯二胺硫酸盐; 27: 6-羟基吡啶;  
30: N-苯基对苯二胺



图B.2 混合标准溶液LC-MS色谱图（负离子模式）

8: 间苯二酚; 12: 2-甲基间苯二酚; 16: 4-氨基-3-硝基苯酚; 19: 氢醌; 28: 4-氯间苯二酚; 29: 2,7-萘二酚; 31: 1,5-萘二酚; 32: 1-萘酚



## 附录c

表c.1 各组分的理化参数

序号	组分名称	化学式	CAS 号	相对分子量
1	对苯二胺	$C_6H_8N_2$	106-50-3	108.14
2	对氨基苯酚	$C_6H_7NO$	123-30-8	109.13
3	甲苯-2,5-二胺硫酸盐	$C_7H_{10}N_2 \cdot H_2SO_4$	615-50-9	220.27
4	间氨基苯酚	$C_6H_7NO$	591-27-5	109.1
5	邻苯二胺	$C_6H_4(NH_2)_2$	95-54-5	108.14
6	2-氯对苯二胺硫酸盐	$C_6H_9ClN_2O_4S$	61702-44-1	240.66
7	邻氨基苯酚	$C_6H_7NO$	95-55-6	109.12
8	间苯二酚	$C_6H_6O_2$	108-46-3	110.11
9	2-硝基对苯二胺	$C_6H_7N_3O_2$	5307-14-2	153.13
10	甲苯-3,4-二胺	$C_7H_{10}N_2$	496-72-0	122.17
11	4-氨基-2-羟基甲苯	$C_7H_9NO$	2835-95-2	123.15
12	2-甲基雷琐辛	$C_7H_8O_2$	608-25-3	124.14
13	6-氨基间甲酚	$C_7H_9NO$	2835-98-5	123.15
14	苯基甲基吡唑啉酮	$C_{10}H_{10}N_2O$	89-25-8	174.2
15	N,N-二乙基甲苯-2,5-二胺 HCl	$C_{11}H_{15}ClN_2$	2051-79-8	214.73
16	4-氨基-3-硝基苯酚	$C_6H_6N_2O_3$	610-81-1	154.12
17	m-苯二胺	$C_6H_8N_2$	108-45-2	108.14
18	2,4-二氨基苯氧基乙醇 HCl	$C_8H_{14}ClN_2O_2$	66422-95-5	241.11
19	氢醌	$C_6H_4N_2O_2$	123-31-9	100.08
20	4-氨基间甲酚	$C_7H_9NO$	2835-99-6	123.15
21	2-氨基-3-羟基吡啶	$C_5H_6N_2O$	16867-03-1	110.11
22	N,N-双(2-羟乙基)对苯二胺硫酸盐	$C_{10}H_{18}N_2O_6S$	54381-16-7	294.32
23	对甲基氨基苯酚硫酸盐	$C_{14}H_{20}N_2O_6S$	55-55-0	344.38
24	4-硝基邻苯二胺	$C_6H_7N_3O_2$	99-56-9	153.14
25	2,6-二氨基吡啶	$C_5H_7N_3$	141-86-6	109.13
26	N,N-二乙基对苯二胺硫酸盐	$C_{10}H_{18}N_2O_4S$	6283-63-2	262.33

序号	组分名称	化学式	CAS 号	相对分子量
27	6-羟基吡啶	$C_{10}H_{18}N_2O_4S$	2380-86-1	262.33
28	4-氯雷琐辛	$C_6H_5ClO_2$	95-88-5	144.56
29	2,7-萘二酚	$C_{10}H_8O_2$	582-17-2	160.17
30	N-苯基对苯二胺	$C_{12}H_{12}N_2$	101-54-2	184.24
31	1,5-萘二酚	$C_{10}H_8O_2$	83-56-7	160.17
32	1-萘酚	$C_{10}H_8O$	90-15-3	144.17

# 化妆品中对苯二胺等32种染发剂的检测方法

## 起草说明

为加强化妆品中禁用物质的监督管理，进一步提高化妆品使用安全性，国家药品监督管理局化妆品标准专家委员会秘书处组织开展了化妆品中对苯二胺等 32 种染发剂的检测方法的起草工作。现就起草工作有关情况说明如下：

### 一、起草的必要性

《化妆品安全技术规范》(2015 年版)中收录了两种液相色谱法检测染发剂中氧化型染发成分的检测方法。其中，“7.2 对苯二胺等 32 种组分”的方法覆盖种类多、定量准确，对染发剂含量测定和标签标识比对方面有重要作用。

在该方法的实际应用过程中，存在一些问题：(1) 缺少灵敏度高、特异性强的确证方法；(2) 染发剂产品中常用的染发成分（约 17 种）需要用三个液相体系测定，时间长，染料在体系转换中易降解；(3) 染发剂样品配方中的抗氧化剂种类和添加量各异，个别样品本身含有的抗氧化剂往往不足以防止氧化型染发成分在样品处理过程中的氧化，使得检测结果偏低。

因此，本研究建立了化妆品中对苯二胺等 32 种染发剂的检测方法，该方法按照相关要求进行了实验室内及实验室间的验证。

### 二、起草依据及主要参考文献

我国《化妆品安全技术规范》<sup>[1]</sup>中染发剂的相关检验方法包括“7.1 对苯二胺等 8 种组分”法和“7.2 对苯二胺等 32 种组分”法。两种方法均为液相色谱方法，缺少质谱确证方法。近年来化妆品国抽手册均明确要求染发产品的检出结果要与标签、批件核对，针对检出标签、批件以外的染发剂，检验机构应按未知物确认程序，对检出物质进行确认，质谱确证方法的缺失，导致该项工作的开展存在困难和不确定性。

“7.2 对苯二胺等 32 种组分”采用液相色谱分离 32 种染发成分，检测种类多，是目前最常用的染发成分检测方法。但该方法使用 C16 色谱柱、分 3 组流动相分离，方法重现性和通用性较差；样品前处理过程中未添加抗氧化剂，仅依靠样品本身含有的抗氧化剂，由于染发剂样品配方中的抗氧化剂种类和添加量各异，个别样品本身含有的抗氧化剂往往不足以防止氧化型染发成分在样品处理过程中的氧化，使得检测结果偏低。文献<sup>[2]</sup>所述方法采用 C18 色谱柱，按照 pKa 将 32 种染发成分分 3 组流动相系统测定，提高了方法的稳定性和重现性。

但 3 组体系使用了不同的流动相和色谱柱，工作量大。

染发剂的确证方法，已报道的包括气相色谱-质谱法<sup>[3]</sup>和液相色谱-质谱法<sup>[4-5]</sup>，气质方法适合于易挥发的组分的确证，不能完全覆盖 32 种组分；液质方法检测种类多、样品前处理简单，适合多种染发成分的定性确证。

32 种染发成分中包含有限用组分和禁用组分，市面染发剂样品中使用频率差异大<sup>[6-8]</sup>，根据使用频率对液相分离体系进行分组，将常用组分在一组内分离，能有效提高检验工作效率；改用 C18 柱，改善了柱子的耐用性和增加了方法的通用性；样品前处理时添加合适的抗氧化剂，提高了方法的定量准确性；同时，建立 32 种染发成分的液相色谱-串联质谱检测方法，作为染发剂的确证方法，满足监督抽检的未知物确认程序要求。该方法可作为组分检测的补充检测方法。

### 三、起草目的及原则

本方法起草内容包括新建的液相方法(后根据专家意见改为只对原液相方法进行补充)和液质确证方法，其中，新建的液相方法仅为了能在流动相和色谱柱上能有更好的适用性，在原方法基础上作了相应调整（从严格意义上上说，更改色谱柱填料和流动相组成属于改变方法），未实质性改变原方法。因此，建议在原标准方法的基础上增加新建的液相及分组条件，将新建的阳性确证液质方法作为标准方法中的附录B。从而在不增加工作量的基础上，方便检验机构在不作方法偏离的情况下可以选择更通用的色谱柱和流动相。

建立的检测方法兼具准确性以及可操作性强的特点，采用目前一般检测实验室普遍具备的分析技术，选择适宜、可行、便于实际操作的分析条件，保证检测方法的准确性和重现性。

### 四、重点说明的问题

#### 1.液相检测分组的选择

通过 91 批样品许可配方、国抽数据和部分文献报道等渠道共 2128 份样品的数据整理调查，发现染发剂产品中常规添加的染发成分有 17 种左右（平均概率>1%），其中，9 种染发成分的使用频率高（平均使用概率>10%）。具体情况如表 1 所示。

在现有检测标准中，17 种常规使用的染发成分分别在三个液相条件下测定，在检测中，标准溶液分为三组分别配制混合溶液，避免了对分离的干扰，但在实际样品中，三组的组分

往往是交叉使用，这就造成了标准溶液完全分离但实际样品存在干扰的情况。比如我们发现较多样品同时含有 R4 和 R18，通过标准检验方法这两个组分分别在第一组和第二组进行测定，但在第二组测定时，样品中的 R4 和 R18 出峰时间完全一致，无法定量或者只能通过重新调整流动相比比例单独分离这两个组分进行定量分析；尤其在这两个组分含量相差大的情况下，高含量组分的光谱图会覆盖低含量组分的光谱特征，极易误认为没有检出低含量的组分，造成定性结果的偏差。

表 1 32 种组分染发成分的使用频率

序号	染发成分名称	组分使用率 (%)				
		许可 (91 批)	2017 (1462 批)	文献 1 (203 批)	文献 2 (290 批)	文献 3 (82 批)
1	<i>p</i> -苯二胺	37.4	71.1	37.4	78.3	59.8
2	<i>p</i> -氨基苯酚	54.9	36.5	33.0	64.0	59.8
3	甲苯-2,5-二胺硫酸盐	29.7	25.0	32.0	44.8	36.6
4	<i>m</i> -氨基苯酚	45.1	70.9	39.9	54.2	56.1
5	<i>o</i> -苯二胺					
6	2-氯- <i>p</i> -苯二胺硫酸盐	5.5	0.3			
7	<i>o</i> -氨基苯酚		4.4		10.8	2.4
8	间苯二酚	45.1	77.3	52.2	84.2	52.4
9	2-硝基- <i>p</i> -苯二胺		0.1			
10	甲苯-3,4-二胺		0.1			
11	4-氨基-2-羟基甲苯	59.3	29.5	43.3	25.1	42.7
12	2-甲基雷琐辛	24.2	8.5	19.7	6.4	8.5
13	6-氨基- <i>m</i> -甲酚	3.3	0.1			1.2
14	苯基甲基吡唑啉酮	27.5	19.2	10.8		1.2
15	N,N-二乙基甲苯-2,5-二胺 HCl		0.1			
16	4-氨基-3-硝基苯酚	3.3	0.1			
17	<i>m</i> -苯二胺		0.3			
18	2,4-二氨基苯氧基乙醇 HCl	18.7	32.2	28.6	3.9	13.4
19	氢醌					
20	4-氨基- <i>m</i> -甲酚	3.3	5.0	12.3	5.4	8.5
21	2-氨基-3-羟基吡啶		7.0	10.3		7.3
22	N,N-双(2-羟乙基)- <i>p</i> -苯二胺硫酸盐	8.8	10.2	14.3		8.5
23	<i>p</i> -甲基氨基苯酚硫酸盐		1.0			1.2
24	4-硝基- <i>o</i> -苯二胺		0.2		4.4	1.2
25	2,6-二氨基吡啶		1.0			
26	N,N-二乙基- <i>p</i> -苯二胺硫酸盐		0.1			
27	6-羟基吡啶		1.5			
28	4-氯雷琐辛		6.8			2.4
29	2,7-萘二酚		0.1			

序号	染发成分名称	组分使用率 (%)				
		许可 (91 批)	2017 (1462 批)	文献 1 (203 批)	文献 2 (290 批)	文献 3 (82 批)
30	N-苯基-p-苯二胺					
31	1,5-萘二酚		3.6			
32	1-萘酚	15.4	10.5	10.8	3.9	6.1

文献 1: 染发类产品中染发剂使用现状调查 (2017)

文献 2: 染发类化妆品中染发剂的使用情况分析 (2007)

文献 3: 进口染发剂中 32 种组分检测结果分析 (2017) (进口)

在本方法中, 32 种组分分为两组液相分离体系进行检测, 其中, 17 种常用的染发成分和 3 种较常使用的染发成分在第一组分离, 其余 12 种在第二组测定。具体分组情况如表 2 所示。

表 2 32 种组分的液相分组表

序号	名称	分组
1	<i>p</i> -苯二胺	1 组
2	<i>p</i> -氨基苯酚	1 组
3	甲苯-2,5-二胺硫酸盐	1 组
4	<i>m</i> -氨基苯酚	1 组
5	<i>o</i> -苯二胺	2 组
6	2-氯- <i>p</i> -苯二胺硫酸盐	1 组
7	<i>o</i> -氨基苯酚	2 组
8	间苯二酚	1 组
9	2-硝基- <i>p</i> -苯二胺	1 组
10	甲苯-3,4-二胺	2 组
11	4-氨基-2-羟基甲苯	1 组
12	2-甲基雷琐辛	1 组
13	6-氨基- <i>m</i> -甲酚	2 组
14	苯基甲基吡啶啉酮	1 组
15	N,N-二乙基甲苯-2,5-二胺 HCl	2 组
16	4-氨基-3-硝基苯酚	1 组
17	<i>m</i> -苯二胺	2 组
18	2,4-二氨基苯氧基乙醇 HCl	1 组
19	氢醌	2 组
20	4-氨基- <i>m</i> -甲酚	1 组
21	2-氨基-3-羟基吡啶	1 组
22	N,N-双(2-羟乙基)- <i>p</i> -苯二胺硫酸盐	1 组
23	<i>p</i> -甲基氨基苯酚硫酸盐	2 组
24	4-硝基- <i>o</i> -苯二胺	2 组
25	2,6-二氨基吡啶	1 组
26	N,N-二乙基- <i>p</i> -苯二胺硫酸盐	2 组

序号	名称	分组
27	6-羟基吡啶	1 组
28	4-氯雷琐辛	1 组
29	2,7-萘二酚	2 组
30	N-苯基-p-苯二胺	2 组
31	1,5-萘二酚	1 组
32	1-萘酚	1 组

以 2017 年 1462 批样品的结果为参考,约 93%的样品可在第一组完成所有标识组分的检测。

## 2.抗氧化剂选择说明

染发成分不稳定,标准溶液中添加抗氧化剂能有效保证染发成分的稳定,在样品处理方法考察时,发现大部分样品加入抗氧化剂和不加入抗氧化剂的检测结果一致,考虑染发剂样品中本身含有抗氧化剂,因此,标准中的前处理方法未加入抗氧化剂。大批量检测时如不能保证及时测定,可在必要时加入 10g/L 亚硫酸氢钠或抗坏血酸溶液 2.0mL。

## 参考文献

- [1] 《化妆品安全技术规范》(2015 年版).中华人民共和国国家食品药品监督管理总局.
- [2] 严巍,胡磊,周明昊. 高效液相色谱法测定染发剂中 32 种禁限用染发剂[J]. 日用化学工业. 2015,45(1):49-54
- [3] 朱英,,杨艳伟,李静. 气相色谱-质谱法同时测定氧化型染发剂中的多种染发剂中间体[J]. 色谱.2005,23(5):566
- [4] 陈梦,胡磊,许立,周明昊. 高效液相色谱-质谱法同时测定染发剂中 33 种禁限用染发剂[J]. 日用化学工业. 2016,46(6):359-348
- [5] 戴 明. 超高效液相色谱-串联质谱法测定染发剂中 9 种染发剂[J]. 日用化学工业.2017,47(5):297-300
- [6] 杨艳伟,刘思然,张卓娜. 染发类产品中染发剂使用现状调查[J]. 中国卫生检验杂志. 2017,27(6):899-901
- [7] 杨伟艳,朱英. 染发类化妆品中染发剂的使用情况分析[J]. 中国卫生检验杂志. 2017,17(2): 279-281
- [8] 李莉,李硕,高家敏,等. 进口染发剂中 32 种染发剂检测结果分析[J]. 香料香精化妆品. 2017,5(1):59-63