

## 高效液相色谱法检测染发剂中的苯类有机物

化妆品是满足人们对美的需求的消费品，直接作用于人体，其质量关系人民群众健康。近年来，我国化妆品产业迅速发展，市场规模逐年增长，同时也出现了一些新情况、新问题。

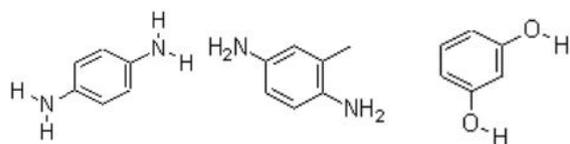
非法添加等违法现象日益突出，2018年我国药监局针对不合格化妆品发布公告30条；2019年针对不合格化妆品发布公告更是达到了54条。其中，染发剂通告批次占到了不合格化妆品8成以上的比例。



染发剂直接接触皮肤，且在染发过程中需要加热，会使其中的苯类有机物通过头皮进入毛细血管，然后随血液循环到达骨髓，长期反复作用于造血干细胞会导致造血干细胞发生恶变，从而诱发白血病。



为了对化妆品生产经营活动及其监督管理予以规范，国家药品监督管理局制定修改了新的《化妆品监督管理条例》。



对苯二胺      2,5-二氨基甲      苯间苯二酚

对苯二胺、2,5-二氨基甲苯和间苯二酚是染发剂中常见的物质，且这三种成分均具有一定的致毒致癌性。因此，新的《化妆品监督管理条例》对其添加限量进行了严格的规定。

当然，追求美丽是每个人都无法抗拒的事情，但要注意染发次数不宜太多，平时注重头发养护。



## 实验部分

### 高效液相色谱法检测染发剂中的对苯二胺、2,5-二氨基甲苯和间苯二酚

#### 仪器与试剂

##### 仪器与设备:

悟空 K2025 高效液相色谱仪; 分析天平; 涡旋振荡器; 离心机; 超声波清洗机; 容量瓶(10mL、25mL) 等。



K2025 高效液相色谱仪

##### 试剂与材料:

符合 GB/T6682 的一级水; 甲醇(色谱级); 乙腈(色谱级); 醋酸铵(色谱级); 氨水(色谱级); 对苯二胺, 99.9%; 2,5-二氨基甲苯,  $\geq 98.0\%$ ; 间苯二酚, 99.9%。

#### 实验方法

##### 样品前处理:

称取染发剂样品 0.1~0.5 g, 置于 25mL 棕色容量瓶中, 加入 5% (w/v) 亚硫酸钠 1mL, 再用 10mL 甲醇溶解样品, 最后用流动相定容至刻度, 在 4000r/min 条件下离心 3min, 取上清液用 0.22 $\mu$ m 有机相滤膜过滤, 上机测定。

##### 标准溶液配制:

将对苯二胺、2,5-二氨基甲苯和间苯二酚标准品各 10mg 用甲醇完全溶解, 转移至 10mL 棕色容量瓶中, 用甲醇定容至刻度, 混匀, 即得对苯二胺、2,5-二氨基甲苯和间苯二酚浓度均为 1000mg/L 的标准储备溶液; 用流动相配制对苯二胺、2,5-二氨基甲苯和间苯二酚浓度依次为 1mg/L、5mg/L、10mg/L、50mg/L 和 100mg/L 的系列混合标准工作液。

##### 色谱条件:

- 色谱柱: C<sub>18</sub> 4.6×150mm, 5 $\mu$ m 或者相当的色谱柱;
- 流动相: 乙腈:甲醇:0.02mol/L 醋酸铵缓冲液 (pH7.5) (2.5:2.5:95);
- 柱温: 25℃;
- 进样量: 20 $\mu$ L;
- 流速: 1.0mL/min;
- 波长: 280nm;

#### 结果与讨论:

1、按照上述色谱条件进行采集，对苯二胺、2,5-二氨基甲苯和间苯二酚系列混合标准溶液色谱图如图 1 所示 (n=7)。

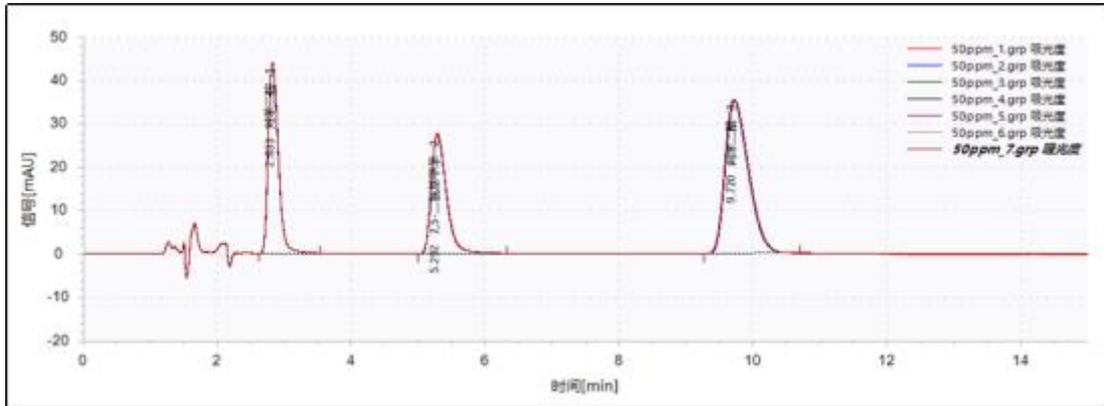


图 1 对苯二胺、2,5-二氨基甲苯和间苯二酚混标连续进样 7 针叠加色谱图

2、对苯二胺、2,5-二氨基甲苯和间苯二酚混合标准溶液连续进样 7 针重复性测试，保留时间 RSD 依次为 0.070%、0.045%和 0.061%，峰面积 RSD 依次为 0.374%、0.588%和 0.091%。

表 1 对苯二胺、2,5-二氨基甲苯和间苯二酚混标连续进样 7 针重复性数据统计

目标物	标准品	1	2	3	4	5	6	7	RSD%
对苯二胺	保留时间	2.835	2.838	2.838	2.837	2.838	2.835	2.833	0.070
	峰面积	468.465	466.082	465.424	464.380	464.623	464.024	463.133	0.374
2,5-二氨基 甲苯	保留时间	5.297	5.298	5.298	5.293	5.295	5.295	5.292	0.045
	峰面积	436.518	435.684	435.265	433.139	431.387	431.637	429.750	0.588
间苯二酚	保留时间	9.728	9.737	9.730	9.722	9.722	9.728	9.720	0.061
	峰面积	860.228	859.580	859.076	858.560	860.539	858.697	860.068	0.091

3、将市售染发剂样品按照上述方法进行前处理后提取液连续进样 7 针，色谱图如图 2 所示 (n=7)。

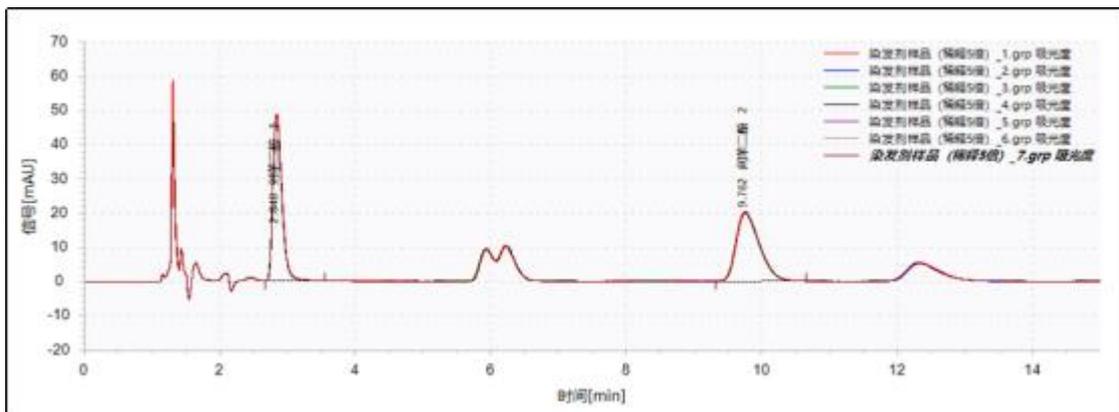


图 2 市售染发剂样品提取液连续进样 7 针色谱图

4、该市售染发剂样品连续进样 7 针重复性测试数据见表 2；经计算该染发剂中对苯二胺含量为 1.29%，间苯二酚含量为 0.97%，而 2,5-二氨基甲苯未检出。

表 2 样品提取液进样 7 针重复性数据统计



目标物	样品	1	2	3	4	5	6	7	RSD%
对苯二胺	保留时间	2.852	2.852	2.845	2.852	2.850	2.848	2.848	0.095
	峰面积	457.069	455.222	454.146	453.042	450.320	449.243	442.897	1.048
间苯二酚	保留时间	9.753	9.760	9.755	9.757	9.763	9.762	9.762	0.040
	峰面积	487.294	486.360	485.447	482.955	481.327	480.717	473.366	0.982

为了验证方法的可靠性，在染发剂样品中添加对苯二胺、2,5-二氨基甲苯和间苯二酚，计算回收率，实验得到对苯二胺的回收率为 93.29%，2,5-二氨基甲苯的回收率为 99.25%，间苯二酚的回收率为 99.77%，表明该方法完全满足要求。

### 讨论

结果表明，使用 Wooking K2025 高效液相色谱仪测定测定染发剂中的对苯二胺、2,5-二氨基甲苯和间苯二酚，完全满足 2021 年版《化妆品监督管理条例》相关法规标准，为提高化妆品质量控制和监管水平提供了参考。