



中华人民共和国国家标准

GB/T 35824—2018

染发类化妆品中 20 种禁限用染料 成分的测定 高效液相色谱法

Determination of 20 kinds of prohibited and restricted dyestuff in hair dyes—
High performance liquid chromatography

2018-02-06 发布

2018-09-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局 发布
中国国家标准化管理委员会

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由中国轻工业联合会提出。

本标准由全国香料香精化妆品标准化技术委员会(SAC/TC 257)归口。

本标准起草单位:北京市产品质量监督检验院、欧莱雅(中国)有限公司、上海市日用化学工业研究所。

本标准主要起草人:卢晓蕊、沈虹、许海东、杜洪森、沈敏。

引 言

本标准的被测物质邻苯二胺、间苯二胺是我国《化妆品安全技术规范》规定的禁用物质。

禁用物质是指不能作为化妆品生产原料即组分添加到化妆品中的物质。《化妆品安全技术规范》规定：若技术上无法避免禁用物质作为杂质带入化妆品时，应进行安全性风险评估，确保在正常、合理及可预见的使用条件下不得对人体健康产生危害。

目前我国尚未规定这些物质的限量值，本标准的制定，仅对化妆品中测定这些物质提供检测方法。



染发类化妆品中 20 种禁限用染料成分的测定 高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了染发类化妆品中 20 种禁限用染料成分的高效液相色谱测定方法。
本标准适用于染发类化妆品中 20 种禁限用染料成分的测定。
本标准染料成分的检出限和定量限参见附录 A 的表 A.1。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是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 方法提要

试样经溶剂提取后,采用高效液相色谱分离,二极管阵列检测器检测,外标法定量。

4 试剂与材料

除非另有说明,所用水为 GB/T 6682 中规定的一级水。

- 4.1 标准物质:20 种禁限用染料成分的中文名称、INCI 名称、CAS 号、分子式、结构式、相对分子质量参见附录 B 的表 B.1。
- 4.2 甲醇:色谱纯。
- 4.3 乙醇:分析纯。
- 4.4 磷酸二氢钾:分析纯。
- 4.5 磷酸氢二钠:分析纯。
- 4.6 亚硫酸氢钠:分析纯。
- 4.7 亚硫酸氢钠水溶液(1 g/L):称取亚硫酸氢钠(4.6)1.00 g(精确至 0.01 g)于容量瓶中,加水定容至 1 000 mL。
- 4.8 乙醇水溶液:[乙醇+亚硫酸氢钠水溶液(4.7)]=1+1(体积比)。
- 4.9 0.05 mol/L 磷酸盐缓冲液溶液:准确称取磷酸二氢钾(4.4)6.804 5 g(精确至 0.000 1 g)和磷酸氢二钠(4.5)17.907 g(精确至 0.000 1 g)至容量瓶中,加水定容至 1 000 mL。
- 4.10 乙醇+0.05 mol/L 磷酸盐缓冲液=1+49(体积比)。
- 4.11 乙醇+0.05 mol/L 磷酸盐缓冲液=1+1(体积比)。
- 4.12 乙醇+0.05 mol/L 磷酸盐缓冲液=5+95(体积比)。
- 4.13 标准储备溶液 A:分别准确称取各标准物质(*p*-苯二胺、*o*-苯二胺、*m*-苯二胺、*p*-氨基苯酚、*m*-氨基苯酚、间苯二酚、4-氨基-2-羟基甲苯、2-甲基-5-羟乙氨基苯酚、5-氨基-6-氯-*o*-甲酚、6-羟基吡啶、4-氯间苯二酚、羟苯并吗啉、邻氨基苯酚、6-氨基间甲酚、1-萘酚、1,5 二羟基萘、2,7 二羟基萘,共 17 种)

50 mg(精确至 0.1 mg)于棕色容量瓶中,用乙醇水溶液(4.8)溶解后定容至 10 mL,配置成浓度为 5 mg/mL 的标准储备液,于 4℃~6℃条件下避光保存,保存期为 3 天。

标准储备溶液 B:分别准确称取各标准物质(甲苯-2,5-二胺硫酸盐、*N,N*-双(2-羟乙基)-*p*-苯二胺硫酸盐,共 2 种)50 mg(精确至 0.1 mg)于棕色容量瓶中,用亚硫酸氢钠水溶液(4.7)溶解后定容至 10 mL,配置成浓度为 5 mg/mL 的标准储备液,于 4℃~6℃条件下避光保存,保存期为 3 天。

标准储备溶液 C:准确称取标准物质(4-硝基-*o*-苯二胺,1 种)25 mg(精确至 0.1 mg)于棕色容量瓶中,用乙醇水溶液(4.8)溶解后定容至 10 mL,配置成浓度为 2.5 mg/mL 的标准储备液,于 4℃~6℃条件下避光保存,保存期为 3 天。

4.14 混合标准中间液:混合标准中间液:准确移取 A、B 标准储备液各 200 μ L, C 标准储备液 400 μ L 于 10 mL 容量瓶中,用磷酸盐缓冲液溶液稀释至刻度,配置成各标准物质浓度均为 100 μ g/mL 的混合标准溶液,需现用现配。

4.15 混合标准工作溶液:准确移取混合标准中间液(4.14),用磷酸盐缓冲液溶液稀释定容,配制成 1 μ g/mL, 5 μ g/mL, 10 μ g/mL, 20 μ g/mL, 40 μ g/mL, 80 μ g/mL, 100 μ g/mL 的系列标准混合溶液,需现用现配。

5 仪器和设备

5.1 高效液相色谱-二极管阵列检测器。



5.2 分析天平:感量 0.1 mg。

5.3 漩涡混合器。

5.4 超声波清洗器。

5.5 离心机:转速不小于 5 000 r/min。

6 试样制备

本标准提供三个前处理方法,可根据需要自行选择合适的方法。

方法一:准确称取 1.0 g 样品(精确至 0.001 g)于 25 mL 具塞刻度塑料离心管中,首先加入 10 mL 甲醇(4.2)涡旋并超声 10 min,使样品分散并提取目标物,用甲醇(4.2)定容至 25 mL,涡旋混合均匀,超声提取 10 min,然后于 5 000 r/min 离心 10 min。准确移取上层提取液 5 mL 于 5 mL 刻度塑料试管中,氮吹浓缩至约 0.5 mL,然后用乙醇+0.05 mol/L 磷酸盐缓冲液=5+95(体积比)(4.12)稀释并定容至 5 mL,涡旋 1 min 后,上清液经 0.45 μ m 滤膜过滤作为测定液,用高效液相色谱测定。

方法二:准确称取 1.0 g 样品(精确至 0.001 g)于 25 mL 具塞刻度塑料离心管中,加入乙醇+0.05 mol/L 磷酸盐缓冲液=1+49(体积比)(4.10)的混合溶液定容至 25 mL,剧烈振荡使样品分散,涡旋 1 min,超声 15 min,5 000 r/min 离心 10 min,取上清液经 0.45 μ m 滤膜过滤作为测定液,用高效液相色谱测定。

注:适合分离 *p*-苯二胺、*o*-苯二胺、*m*-苯二胺、*p*-氨基苯酚、*m*-氨基苯酚、间苯二酚、4-氨基-2-羟基甲苯、羟苯并吗啉、邻氨基苯酚、6-氨基间甲酚、甲苯-2,5-二胺硫酸盐、*N,N*-双(2-羟乙基)-*p*-苯二胺硫酸盐、4-硝基-*o*-苯二胺这 13 种染料。

方法三:准确称取 1.0 g 样品(精确至 0.001 g)于 25 mL 具塞刻度塑料离心管中,加入乙醇+0.05 mol/L 磷酸盐缓冲液=1+1(体积比)(4.11)的混合溶液定容至 25 mL,剧烈振荡使样品分散,涡旋 1 min,超声 15 min,5 000 r/min 离心 10 min,取上清液经 0.45 μ m 滤膜过滤作为测定液,用高效液相色谱测定。

注:适合分离 2-甲基-5-羟乙氨基苯酚、5-氨基-6-氯-*o*-甲酚、6-羟基吡啶、4-氯间苯二酚、1-萘酚、1,5 二羟基萘、2,7 二羟基萘这 7 种染料。

7 分析步骤

7.1 液相色谱参考条件

- 液相色谱参考条件如下：
- a) 色谱柱：Poroshell HPH C18, 2.7 μm , 3.0 mm $\times$ 100 mm(或相当者)；
 - b) 柱温：30 $^{\circ}\text{C}$ ；
 - c) 检测器：二极管阵列检测器；
 - d) 流动相：A:50 mmol/L 磷酸盐缓冲液溶液(含 3% 甲醇)；B:甲醇；
 - e) 流速：0.5 mL/min；
 - f) 进样量：2 μL ；
 - g) 液相色谱分离条件见表 1。

表 1 液相色谱分离条件

时间/min	流速/(mL/min)	流动相 A/%	流动相 B/%
0	0.5	94	6
10	0.5	94	6
20	0.5	70	30
25	0.5	50	50
30	0.5	50	50
33	0.5	94	6
35	0.5	94	6

色谱柱的型号,内径和长度及色谱填料粒径可根据色谱分离情况自由选择。流动相比例,流速等色谱条件随仪器而异,应通过试验选择最佳操作条件。

7.2 试样测定

移取系列标准溶液(4.15),按照色谱条件(7.1)进行高效液相色谱分析,以系列标准溶液浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,制作标准曲线。*p*-苯二胺、*o*-苯二胺、*m*-苯二胺、*p*-氨基苯酚、甲苯-2,5-二胺硫酸盐、*m*-氨基苯酚、间苯二酚、4-氨基-2-羟基甲苯、2-甲基-5-羟乙氨基苯酚、5-氨基-6-氯-*o*-甲酚、6-羟基吡啶、4-氯间苯二酚、羟苯并吗啉、邻氨基苯酚、*N,N*-双(2-羟乙基)-*p*-苯二胺硫酸盐、4-硝基-*o*-苯二胺、6-氨基间甲酚(17 种)根据 280 nm 下的紫外吸收进行定量计算；1-萘酚、1,5 二羟基萘、2,7 二羟基萘(3 种)根据 225 nm 下的紫外吸收进行定量计算。样品溶液中的被测物的响应值均应在仪器测定的线性范围之内。如果检出的目标染料的色谱峰的保留时间与标准品一致,并且在扣除背景后的样品色谱图中,该物质的紫外吸收光谱图与标准品一致,则可初步认定样品中存在目标染料,用外标法定量。20 种禁限用染料的标准物质液相色谱图参见附录 C 的图 C.1。20 待测样液中目标染料含量应该标准曲线之内,超出线性范围则应稀释后再进行分析。

7.3 空白试验

除不称取样品外,均按上述测定条件和步骤进行。

8 结果计算

试样中 20 种目标染料的含量按式(1)计算：

$$X = \frac{c \times V}{m \times 1\,000 \times 1\,000} \times 100 \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中：

X —— 试样中目标染料的含量，%；

c —— 试样溶液中目标染料的浓度，单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$)；

V —— 试样溶液体积，单位为毫升(mL)；

m —— 试样质量，单位为克(g)。

计算结果保留至小数点后两位。

注：对于混合使用的试样，取含有目标染料的试样进行检测，计算结果按实际使用时的比例进行折算。

9 回收率

在添加浓度 $100\ \mu\text{g/g} \sim 1\,000\ \mu\text{g/g}$ 浓度范围内，回收率在 $80\% \sim 115\%$ 之间，相对标准偏差小于 10% 。

10 精密度

在重复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% 。

附 录 A
(资料性附录)
20 种禁限用染料成分的检出限和定量限

20 种禁限用染料成分的检出限和定量限见表 A.1。

表 A.1 20 种禁限用染料成分的检出限和定量限

序号	化合物名称	检出限 %	定量限 %
1	<i>p</i> -苯二胺	0.003	0.01
2	<i>o</i> -苯二胺	0.003	0.01
3	<i>m</i> -苯二胺	0.003	0.01
4	<i>p</i> -氨基苯酚	0.003	0.01
5	甲苯-2,5-二胺硫酸盐	0.007 5	0.025
6	<i>m</i> -氨基苯酚	0.003	0.01
7	间苯二酚	0.003	0.01
8	4-氨基-2-羟基甲苯	0.006	0.02
9	2-甲基-5-羟乙氨基苯酚	0.006	0.02
10	5-氨基-6-氯- <i>o</i> -甲酚	0.006	0.02
11	<i>N,N</i> -双(2-羟乙基)- <i>p</i> -苯二胺硫酸盐	0.007 5	0.025
12	6-羟基吲哚	0.006	0.02
13	4-氯间苯二酚	0.006	0.02
14	羟苯并吗啉	0.006	0.02
15	邻氨基苯酚	0.003	0.01
16	6-氨基间甲酚	0.006	0.02
17	4-硝基- <i>o</i> -苯二胺	0.006	0.01
18	1-萘酚	0.001 5	0.005
19	1,5 二羟基萘	0.001 5	0.005
20	2,7 二羟基萘	0.001 5	0.005



附录 B
(资料性附录)

20 种禁限用染料成分的中文名称、INCI 名称、CAS 号、分子式、结构式、相对分子质量

20 种禁限用染料成分的中文名称、INCI 名称、CAS 号、分子式、结构式、相对分子质量见表 B.1。

表 B.1 20 种禁限用染料成分的中文名称、INCI 名称、CAS 号、分子式、结构式、相对分子质量

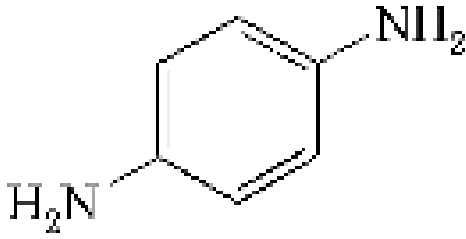
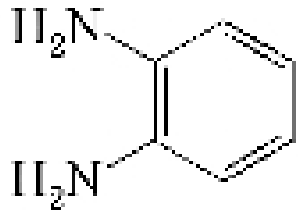
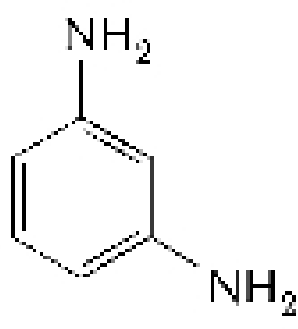
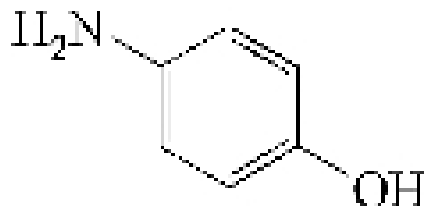
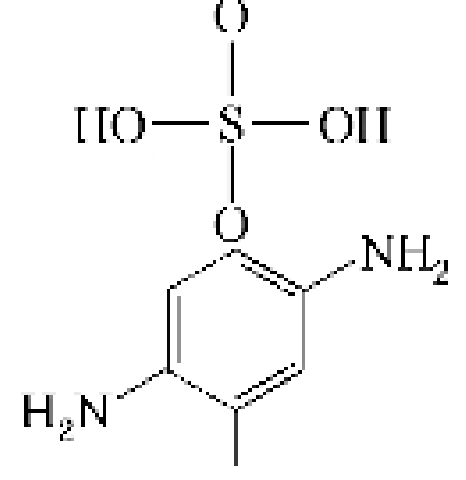
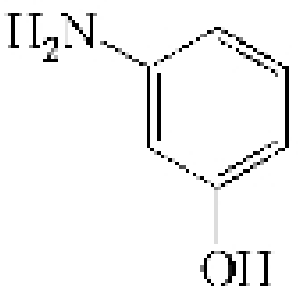
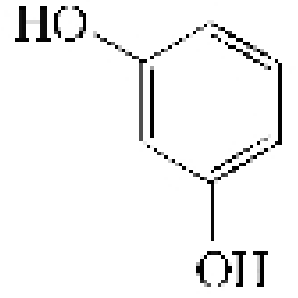
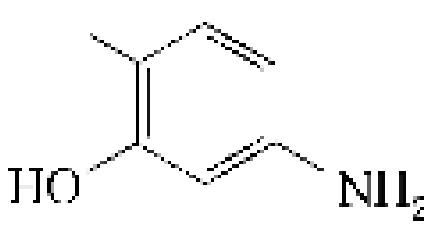
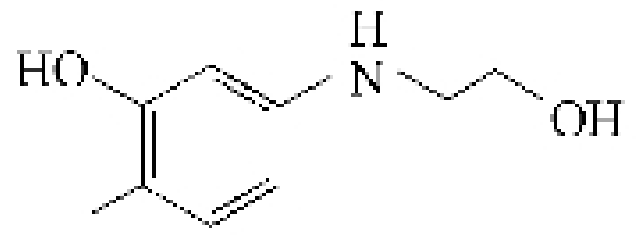
序号	中文名称	INCI 名称	CAS 号	分子式	结构式	相对分子质量
1	<i>p</i> -苯二胺	1,4-diaminobenzene	106-50-3	C ₆ H ₈ N ₂		108.14
2	<i>o</i> -苯二胺	1,2-diaminobenzene	95-54-5	C ₆ H ₈ N ₂		108.14
3	<i>m</i> -苯二胺	1,3-Diaminobenzene	108-45-2	C ₆ H ₈ N ₂		108.14
4	<i>p</i> -氨基苯酚	4-aminophenol	123-30-8	C ₆ H ₇ NO		109.13
5	甲 苯-2, 5-二 胺硫酸盐	2-Methyl- 1,4-benzenediamine sulfate	615-50-9	C ₇ H ₁₂ N ₂ O ₄ S		220.25
6	<i>m</i> -氨基苯酚	3-aminophenol	591-27-5	C ₆ H ₇ NO		109.13
7	间苯二酚	1,3-Dihydroxybenzene	108-46-3	C ₆ H ₆ O ₂		110.11
8	4-氨基-2-羟 基甲苯	4-Amino-2-hydroxy- toluene	2835-95-2	C ₇ H ₉ NO		123.15
9	2-甲基-5-羟 乙氨基苯酚	2-Methyl-5-N- hydroxyethylamino phenol	55302-96-0	C ₉ H ₁₃ NO ₂		167.21

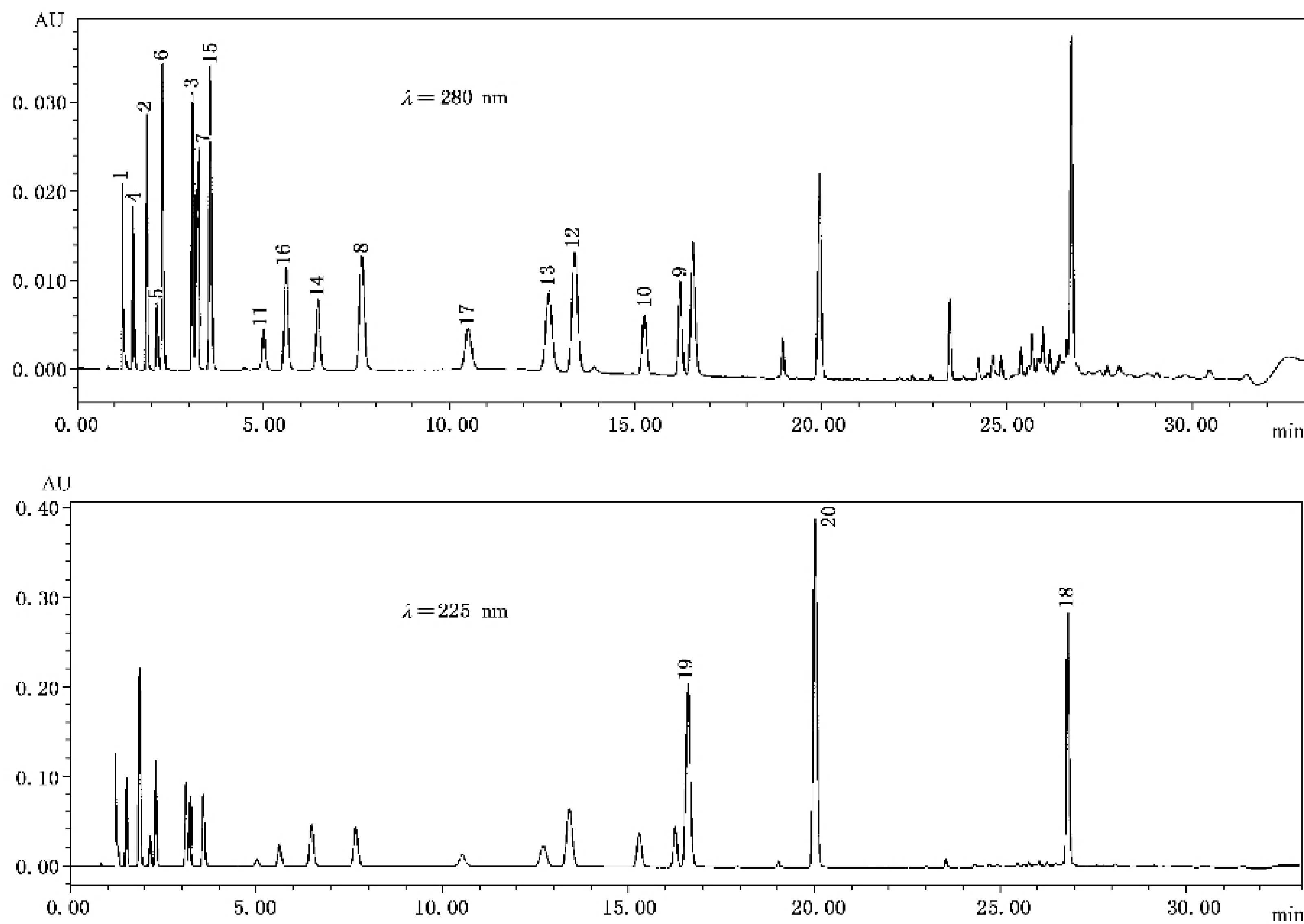
表 B.1 (续)

序号	中文名称	INCI 名称	CAS 号	分子式	结构式	相对分子质量
10	5-氨基-6-氯- <i>o</i> -甲酚	2-Methyl-5-amino-6-chlorophenol	84540-50-1	C_7H_8ClNO		157.6
11	<i>N,N</i> -双(2-羟乙基)- <i>p</i> -苯二胺硫酸盐	<i>N,N</i> -Bis(2-hydroxyethyl)- <i>p</i> -phenylenediamine sulphate	54381-16-7	$C_{10}H_{18}N_2O_6S$		294.32
12	6-羟基吲哚	6-Hydroxyindole	2380-86-1	C_8H_7NO		133.15
13	4-氯间苯二酚	4-Chlororesorcinol	95-88-5	$C_6H_5ClO_2$		144.56
14	羟苯并吗啉	Hydroxybenzomorpholine	26021-57-8	$C_8H_9NO_2$		151.16
15	邻氨基苯酚	<i>o</i> -aminophenol	95-55-6	C_6H_7NO		109.13
16	6-氨基间甲酚	6-Amino- <i>m</i> -cresol	2835-98-5	C_7H_9NO		123.15
17	4-硝基- <i>o</i> -苯二胺	4-Nitro- <i>o</i> -phenylenediamine	99-56-9	$C_6H_7N_3O_2$		153.14
18	1-萘酚	1-Naphthol	90-15-3	$C_{10}H_8O$		144.17
19	1,5-二羟基萘	1,5-Naphthalenediol	83-56-7	$C_{10}H_8O_2$		160.17
20	2,7-二羟基萘	2,7-Dihydroxynaphthalene	582-17-2	$C_{10}H_8O_2$		160.17

附录 C
(资料性附录)

20 种禁限用染料的标准物质液相色谱图

20 种禁限用染料的标准物质液相色谱图见图 C.1。



对应峰号：

- | | | |
|---------------------|--|--------------------------|
| 1—— <i>p</i> -苯二胺； | 8 ——4-氨基-2-羟基甲苯； | 15——邻氨基苯酚； |
| 2—— <i>o</i> -苯二胺； | 9 ——2-甲基-5-羟乙氨基苯酚； | 16——6-氨基间甲酚； |
| 3—— <i>m</i> -苯二胺； | 10——5-氨基-6-氯- <i>o</i> -甲酚； | 17——4-硝基- <i>o</i> -苯二胺； |
| 4—— <i>p</i> -氨基苯酚； | 11—— <i>N,N</i> -双(2-羟乙基)- <i>p</i> -苯二胺硫酸盐； | 18——1-萘酚； |
| 5——甲苯-2,5-二胺硫酸盐； | 12——6-羟基吡啶； | 19——1,5 二羟基萘； |
| 6—— <i>m</i> -氨基苯酚； | 13——4-氯间苯二酚； | 20——2,7 二羟基萘。 |
| 7——间苯二酚； | 14——羟苯并吗啉； | |

图 C.1 20 种禁限用染料的标准物质液相色谱图