

ShimNex CS C18 分析化妆品中对苯二胺等 32 种组分

SGLC-LC-323

摘要：本文建立了化妆品中对苯二胺等 32 种组分的 HPLC 测定方法。参照国家药品监督管理局 2021 年第 17 号通告《化妆品安全技术规范（2015 版）》新增修订版中对苯二胺等 32 种组分检验方法中色谱条件 2（分为 2 组，分别检测），并对色谱条件进行优化，采用色谱柱 ShimNex CS C18 分析对苯二胺等 32 种组分，32 个化合物峰形良好，分离度大于 1.5，满足日常检测需求。此方法可为化妆品中对苯二胺等 32 种组分的 HPLC 分析提供参考。

关键词：对苯二胺 化妆品 ShimNex CS C18 HPLC

1. 实验部分

1.1 实验仪器及耗材

Shimadzu LC-20AD 高效液相色谱仪（第一组）；

Shimadzu LC-2030 高效液相色谱仪（第二组）；

色谱柱：ShimNex CS C18 (4.6×250 mm, 5 μm; P/N: 380-01230-01)；

纯水机：PR-FP-0120α-MT1 (+ 60L 水箱 + 取水器)

SHIMSEN Arc Disc HPTFE 针式过滤器 (P/N: 380-00341-05)；

LC-MS 认证样品瓶 LabTotal Vial (P/N: 227-34001-01)；

SHIMSEN Pipet 移液枪：SHIMSEN Pipet PMII-10 (P/N: 380-00751-02)；

SHIMSEN Pipet PMII-100 (P/N: 380-00751-04)；

SHIMSEN Pipet PMII-1000 (P/N: 380-00751-06)。

1.2 混合标准溶液的制备

1.2.1 标准储备溶液的配制：

称取各染料对照品 0.1 g（精确到 0.0001 g），分别置 10 mL 容量瓶中，以 2 g/L 亚硫酸氢钠水溶液和无水乙醇（1:1）的混合溶液溶解并定容至 10 mL，制成浓度约为 10 g/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 2 g/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定容；2-硝基对苯二胺和 4-硝基邻苯二胺需将称样量减至 25 mg（精确

到 0.00001 g)，再用无水乙醇定容，配成约 2.5 g/L 的溶液。

1.2.2 混合标准工作溶液的配制：

参照色谱条件 2 项下的要求，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（1.2.1）适量于 10 mL 容量瓶中，用无水乙醇稀释至刻度，配制成浓度为 500 mg/L 的混合标准工作溶液。临用现配。

1.3 分析条件

1.3.1 分析条件（第一组）

色谱柱：ShimNex CS C18 (4.6×250 mm, 5 μm; P/N: 380-01230-01)

柱温：25℃

检测波长：280 nm

流速：1.2 mL/min

进样量：5 μL

流动相： A：20 mmol/L 磷酸氢二钾溶液（用磷酸调 pH 至 7.5） B：甲醇 C：乙腈

时间 (min)	0	15	22	35	50	50.1	65
A (%)	96	96	90	50	50	96	96
B (%)	2	2	5	10	10	2	2
C (%)	2	2	5	40	40	2	2

1.3.2 分析条件（第二组）

色谱柱：ShimNex CS C18 (4.6×250 mm, 5 μm; P/N: 380-01230-01)

柱温：25℃

检测波长：280 nm

流速：1.0 mL/min

进样量：5 μL

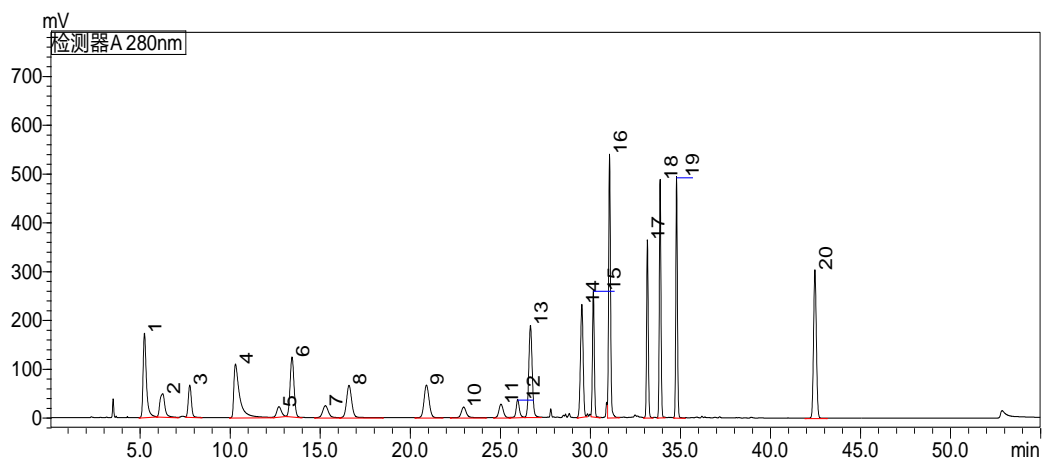
流动相： A：20 mmol/L 磷酸氢二钾溶液（用磷酸调 pH 至 7.5） B：甲醇

时间 (min)	0	8	35	45	45.1	60
A (%)	92	92	50	50	92	92
B (%)	8	8	50	50	8	8

2. 实验结果

按照上述色谱条件（1.3.1）进行采集，第一组混合标准工作溶液色谱图如下：

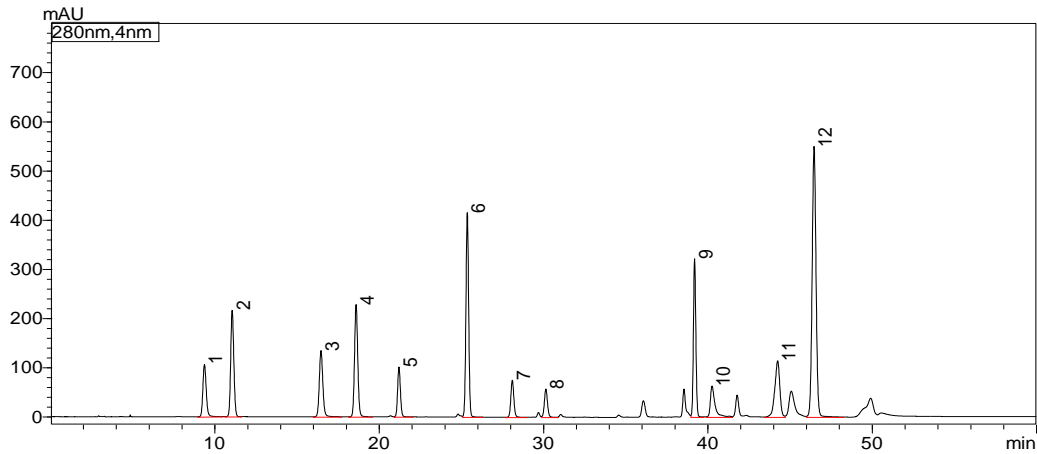
混合标准工作溶液（第一组）



序号*	目标物	保留时间	峰面积	峰高	理论塔板数	拖尾因子	分离度
1	2-氨基-3-羟基吡啶	5.260	2179466	172167	4310	1.516	--
2	对苯二胺	6.274	878696	47221	3175	1.124	2.648
3	对氨基苯酚	7.777	760918	65587	9973	1.099	3.973
4	2,6-二氨基吡啶	10.315	2391274	109619	6901	2.671	6.279
5	甲苯-2,5-二胺硫酸盐	12.725	355544	20562	11863	1.140	5.000
6	间氨基苯酚	13.452	1843030	122008	17570	1.071	1.666
7	2,4-二氨基苯氧基乙醇盐酸盐	15.306	516839	24372	12093	1.117	3.851
8	4-氨基间甲酚	16.620	1288800	66157	17021	1.087	2.464
9	间苯二酚	20.915	1298961	66954	26285	1.099	8.377
10	20 氯对苯二胺硫酸盐	22.981	415042	21852	35979	1.168	4.130
11	2-甲基间苯二酚	25.055	449374	27380	51552	1.090	4.478
12	N,N-双（2-羟乙基）对苯二胺硫酸盐	25.986	428851	36402	112209	1.123	2.476
13	2-硝基对苯二胺	26.693	2452973	187674	93383	1.052	2.144
14	苯基甲基吡啶啉酮	29.547	2348835	230357	179148	0.966	9.080
15	4-氨基-2-羟基甲苯	30.186	1803820	258256	380401	1.062	2.689
16	4-氨基-3-硝基苯酚	31.083	3868652	539545	395834	1.032	4.562
17	4-氯间苯二酚	33.185	2287822	363788	552908	1.096	11.179
18	6-羟基吡啶	33.892	3035416	487348	584539	1.077	3.972
19	1,5-萘二酚	34.806	3099280	493588	610173	1.083	5.142

按照上述色谱条件（1.3.2）进行采集，第二组混合标准工作溶液色谱图如下：

混合标准工作溶液（第二组）



序号*	目标物	保留时间	峰面积	峰高	理论塔板数	拖尾因子	分离度
1	间苯二胺	9.387	1496807	106099	10122	1.139	--
2	氢醌	11.074	2836425	216222	15408	1.094	4.621
3	邻苯二胺	16.479	1997938	134440	28145	1.105	14.419
4	邻氨基苯酚	18.615	3098958	228148	41541	1.082	5.633
5	对甲基氨基苯酚硫酸盐	21.225	1211171	101351	68824	1.074	7.575
6	4-硝基邻苯二胺	25.381	4777341	415550	105061	1.032	13.053
7	甲苯-3,4-二胺	28.123	955489	75159	108392	1.066	8.375
8	6-氨基间甲酚	30.164	754924	57509	117915	1.060	5.889
9	2,7-萘二酚	39.215	3313467	321774	306059	1.077	28.511
10	N,N-二乙基对苯二胺硫酸盐	40.276	1216171	62989	126830	1.985	2.884
11	N,N-二乙基甲苯-2,5-二胺盐酸盐	44.270	2415115	114555	100447	0.867	7.902
12	N-苯基对苯二胺	46.484	9016848	550184	182633	1.034	4.455

重现性

混合标准溶液（第一组）重现性

目标物	保留时间 (min, n=3)				峰面积 (Area, n=3)			
	数据 1	数据 2	数据 3	RSD (%)	数据 1	数据 2	数据 3	RSD (%)
2-氨基-3-羟基吡啶	5.260	5.262	5.250	0.12	2179466	2171409	2163238	0.37
对苯二胺	6.274	6.271	6.255	0.16	878696	874038	873757	0.32
对氨基苯酚	7.777	7.771	7.760	0.11	760918	755281	756200	0.40
2,6-二氨基吡啶	10.315	10.314	10.301	0.08	2391274	2393965	2392083	0.06
甲苯-2,5-二胺硫酸盐	12.725	12.733	12.716	0.07	355544	352931	352168	0.50
间氨基苯酚	13.452	13.453	13.438	0.06	1843030	1838052	1844343	0.18
2,4-二氨基苯氧基乙醇 盐酸盐	15.306	15.325	15.313	0.06	517347	505817	516839	1.27
4-氨基间甲酚	16.620	16.631	16.621	0.04	1288800	1280726	1277179	0.46
间苯二酚	20.915	20.908	20.914	0.02	1298961	1294863	1299384	0.19
20 氯对苯二胺硫酸盐	22.981	22.962	22.981	0.05	415042	413375	413362	0.23
2-甲基间苯二酚	25.055	25.029	25.049	0.05	449374	447907	449761	0.22
N,N-双(2-羟乙基) 对苯二胺硫酸盐	25.986	25.960	25.984	0.06	428851	424079	424450	0.62
2-硝基对苯二胺	26.693	26.666	26.695	0.06	2452973	2448348	2454046	0.12
苯基甲基吡唑啉酮	29.547	29.532	29.560	0.05	2348835	2347636	2378309	0.74
4-氨基-2-羟基甲苯	30.186	30.170	30.188	0.03	1803820	1793469	1787045	0.47
4-氨基-3-硝基苯酚	31.083	31.065	31.095	0.05	3868652	3885094	3893724	0.33
4-氯间苯二酚	33.185	33.176	33.206	0.05	2287822	2294027	2294529	0.16
6-羟基吡啶	33.892	33.881	33.911	0.04	3035416	3025382	3031169	0.17
1,5-萘二酚	34.806	34.793	34.817	0.03	3099280	3095196	3088976	0.17
1-萘酚	42.489	42.491	42.485	0.01	3270137	3267465	3254300	0.26

混合标准溶液（第二组）重现性

目标物	保留时间 (min, n=3)				峰面积 (Area, n=3)			
	数据 1	数据 2	数据 3	RSD (%)	数据 1	数据 2	数据 3	RSD (%)
间苯二胺	9.387	9.391	9.408	0.12	1496807	1472434	1468834	1.03
氢醌	11.074	11.079	11.098	0.11	2836425	2786167	2797573	0.94
邻苯二胺	16.479	16.488	16.505	0.08	1997938	1954569	1953677	1.29
邻氨基苯酚	18.615	18.623	18.639	0.07	3098958	3038110	3042803	1.11
对甲基氨基苯酚硫酸盐	21.225	21.230	21.236	0.03	1211171	1192318	1191428	0.93
4-硝基邻苯二胺	25.381	25.387	25.396	0.03	4777341	4675638	4714720	1.09
甲苯-3,4-二胺	28.123	28.132	28.141	0.03	934247	929787	920451	0.76
6-氨基间甲酚	30.164	30.174	30.179	0.03	720422	722260	707806	1.10
2,7-萘二酚	39.215	39.232	39.224	0.02	3313467	3256723	3274338	0.89
N,N-二乙基对苯二胺硫酸盐	40.276	40.281	40.265	0.02	1021354	1006743	1015931	0.73
N,N-二乙基甲苯-2,5-二胺盐酸盐	44.270	44.287	44.276	0.02	2415115	2400887	2431523	0.63
N-苯基对苯二胺	46.484	46.499	46.485	0.02	9016848	8847266	8912907	0.96

3. 结论

本文建立了化妆品中对苯二胺等 32 种组分的 HPLC 测定方法。参照国家药品监督管理局 2021 年第 17 号通告《化妆品安全技术规范（2015 版）》新增修订版中对苯二胺等 32 种组分检验方法中色谱条件 2（分为 2 组，分别检测），并对色谱条件进行优化，采用色谱柱 ShimNex CS C18 分析对苯二胺等 32 种组分，32 个化合物峰形良好，分离度大于 1.5，满足日常检测需求。此方法可为化妆品中对苯二胺等 32 种组分的 HPLC 分析提供参考。