

# 毛细管气相色谱测定染发剂中苯二胺

薛金花, 梁超, 李程

(南华大学 公共卫生学院, 湖南 衡阳 421001)

**摘 要:** 建立了毛细管气相色谱法测定染发剂中邻、间、对苯二胺含量的分析方法。样品用乙酸乙酯、超声波提取, 离心除去杂质, 然后采用毛细管分离, FID 检测, 保留时间定性, 峰面积定量。苯二胺三种异构体在 0.01~10 g/L 浓度范围内线性关系良好, 相关系数为 0.9995~0.9996。邻苯二胺、对苯二胺、间苯二胺加标回收率分别为 88.6%~97.8%, 93.3%~105.0%, 88.5%~99.1%, 相对标准偏差为 1.94%~2.05% (n=7), 检出限分别为 2.25, 2 ng/mL。该方法简单、快速应用于实际样品测定, 结果满意。

**关键词:** 气相色谱法; 苯二胺; 染发剂; 毛细管柱

中图分类号: R 115 文献标识码: A 文章编号: 1671-3206(2011)02-0349-04

## Determination of phenylenediamine in hair dyes by capillary gas chromatography

XUE Jin-hua, LIANG Chao, LI Cheng

(School of Public Health, University of South China, Hengyang 421001, China)

**Abstract** A capillary gas chromatographic method for simultaneous determination of *p*-phenylenediamine, *m*-phenylenediamine, *o*-phenylenediamine in hair dyes was established. The samples of hair dyes were accurately weighed, selected with the ethyl acetate and extracted by the ultrasonic, the impurity was removed by centrifugal work. The extraction was separated by capillary column and detected by FID for qualitative with retention time and peak area. The linear relation of these three kinds of phenylenediamine isomers in the range of 0.01~10 g/L were positive, and the "r" was about 0.9995~0.9996. The spiked recovery rates of the *o*-phenylenediamine, *p*-phenylenediamine and *m*-phenylenediamine were 88.6%~97.8%, 93.3%~105.0% and 88.5%~99.1%, respectively. RSDs were 1.94%~2.05% (n=7), and the detection limits were 2.25, 2 ng/mL, respectively. This method was simple and rapid which can effectively extract and separate the phenylenediamine isomer in hair dyes with satisfactory results.

**Key words** gas chromatography; phenylenediamine; hair dyes; capillary column

随着人民生活水平的提高,人们越来越重视自己的形象,染发已成为一种时尚。染发剂分为氧化型、直接型、天然型。氧化型染发剂以其染色效果好、色调变化宽、维持时间长等诸多优点而成为最受欢迎的染发剂,其使用量在欧洲和美国约占市场份额 80%。染发剂在改善生活质量的同时,对人体健

康的影响也越来越大。氧化型染发剂中苯胺类化合物可经皮肤吸收,引起皮疹,并使肝脏受损,吸入粉尘可引起过敏、鼻炎、支气管炎、发烧等不同症状<sup>[1]</sup>。苯二胺是氧化型染发剂中最常用的有机化合物,我国《化妆品卫生规范》将染发剂中邻苯二胺、间苯二胺列为禁用物质,对苯二胺列为限用物

收稿日期: 2010-12-02 修改稿日期: 2010-12-11

项目基金: 湖南省教育厅科研资助项目 (08C718); 衡阳市基础研究计划项目 (2009kj01)

作者简介: 薛金花 (1976-), 女, 湖南怀化人, 南华大学实验师, 硕士, 主要从事卫生检验工作。电话: 13974732746

E-mail: jk76xjh77@126.com

质,规定化妆品中最大允许浓度为 6%,因此染发剂中成分及含量的测定越来越受到国内外研究者重视<sup>[2]</sup>。

目前检测邻苯二胺、对苯二胺、间苯二胺的方法有光度法<sup>[3]</sup>、高效液相色谱法<sup>[4-5]</sup>、气相色谱质谱联用法<sup>[6]</sup>、气相色谱法等<sup>[7-8]</sup>。其中光度法仪器简单,但步骤冗长费时,灵敏低且易受干扰;高效液相色谱法、气相色谱质谱联用法具有检出限低、分析灵敏度高优点,使用较多,但在推广应用上受到限制。本文采用分流进样方式、毛细管气相色谱柱分离、氢火焰离子化检测器(FID)检测,建立了一种同时测定苯二胺三种异构体的新方法。该方法简单,分析时间短,选择性好,应用于实际样品测定结果满意。

## 1 实验部分

### 1.1 试剂与仪器

邻苯二胺、对苯二胺、间苯二胺(纯度 > 99.0%)、三乙醇胺、1:5磷酸均为分析纯;乙酸乙酯、乙腈均为色谱纯;蒸馏水。高效液相所需试剂、溶液、水必须经过抽滤。

岛津 GC-2010型气相色谱仪,氢火焰离子化检测器(FID),Rtx-1型非极性毛细管色谱柱(30 m × 0.25 mm, 0.25 μm),GCSolution 工作站;岛津 LC-20AT 高效液相色谱仪,光电二极管阵列检测器(DAD),C<sub>18</sub>柱(5 μm, 4.6 mm × 150 mm);KQ2200型超声波清洗器;LXJ-64型高速离心机;METTLER-TOLEDO型电子天平。

### 1.2 色谱条件

Rtx-1非极性毛细管色谱柱(30 m × 0.25 mm, 0.25 μm);柱温 150 °C,进样口温度 210 °C,检测器温度 290 °C,进样量 1 μL,总流量 43 mL/min,氮气 40 mL/min,氢气 40 mL/min,空气 400 mL/min,柱流量 1 mL/min,吹扫流量 30 mL/min,分流比 39:1。

## 2 结果与讨论

### 2.1 色谱柱的选择

色谱柱直接关系样品分离效果和测定结果的准确性。由于苯二胺沸点较高,在极性色谱柱中,样品极性组份在固定液分子间的强极性分配,分析时间延长,峰形因扩张而变宽,影响低浓度组份的检测,

且极性柱在高温易流失,影响柱使用寿命;实验发现,苯二胺在非极性色谱柱中可以得到良好分离,且分析时间较极性柱短。本法选择非极性柱 Rtx-1 柱,具有低流失、耐高温,适合于含苯基化合物分析,分离样品时,检测峰形尖锐、对称,整个分析过程仅需 4 min。

### 2.2 柱温的选择

柱温在 250 °C 时,气体挥发性大,组分相对保留值降低,3种异构体峰未能完全分离;在 240 °C 时,苯二胺异构体可得到分离,但峰形较差;在 140 °C 时,可得到良好峰形,但分析时间较长;当柱温在 150~230 °C 范围内时,分析速度较快,且异构体峰分离良好,见图 1。

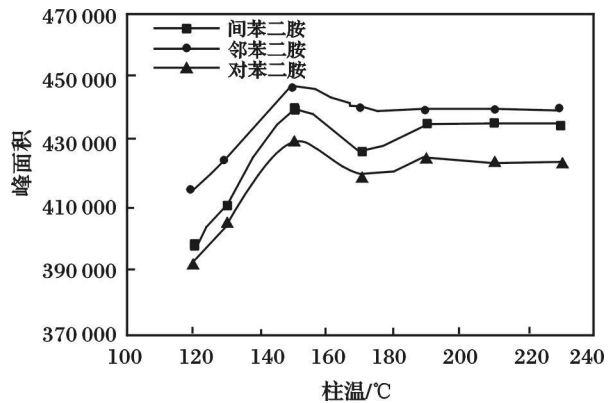


图 1 温度对峰面积的影响

Fig 1 The effect of temperature on the peak area

由图 1 可知,当柱温为 150 °C,柱效最高,邻、对、间苯二胺的保留时间分别为 2.880, 3.171, 3.397 min,总分析时间为 4 min。因此,选择柱温 150 °C。

### 2.3 气化温度的选择

气化温度主要取决于试样的挥发性、沸点范围、稳定性等因素,一般为组分沸点或稍高于其沸点,以保证试样完全气化。固定已优化条件,测定 1 mg/mL 标准溶液不同气化温度时的峰面积峰值。实验发现,当温度 < 210 °C 时,随着气化温度的升高,峰面积峰高之比降低;当温度 > 210 °C 后,变化不大,由于苯二胺在 > 210 °C 后,热稳定性变差。所以气化温度不能过高。故选择气化温度 210 °C。

### 2.4 流速的选择

固定已优化条件,测定 1 mg/mL 标准溶液在不

同流速时的峰面积, 结果见图 2。

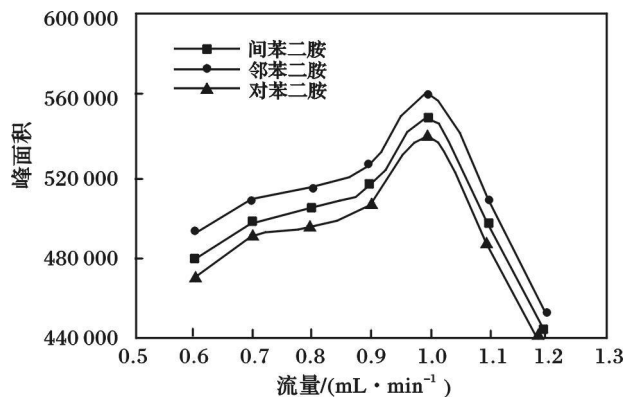


图 2 流速对峰面积的影响

Fig 2 The effect of flow rate on the peak area

由图 2 可知, 当流速在 0.6~1.0 mL/min 时, 随流速升高保留时间降低; 当流速大于 1.0~1.2 mL/min 时, 保留时间变化不大; 在流量为 1.0 mL/min 时, 峰面积最大, 灵敏度最高, 因此选择流速为 1.0 mL/min。

### 2.5 分流比、检测器温度的选择

毛细管柱进样量不能太大, 否则会导致色谱峰的峰形变差, 柱效下降, 故采用分流进样。测定 1 mg/mL 标准溶液在不同分流比 (9:1~79:1) 时的

峰面积。实验发现随着分流比的降低, 峰面积逐渐增高, 峰形变差; 当分流比 < 9:1 时, 各组分峰未分离; 分流比在 29:1, 19:1 时, 各组分峰可分离, 但峰形较差。因此, 根据实验及色谱柱的要求选择分流比为 39:1, 既可保证方法的灵敏度, 又能确保峰形良好。

测定 1 mg/mL 的标准溶液在不同温度时的峰面积, 当检测器温度 < 290 °C 时, 随着温度的升高, 峰面积显著增高; 当 > 290 °C 时, 随着温度的升高, 峰面积有所降低; 当温度为 290 °C 时, 柱效最高。因此选择检测器温度为 290 °C。

### 2.6 标准曲线、检出限、精密度

将苯二胺标准应用液 (5.0 mg/mL) 用乙酸乙酯稀释至浓度分别为 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 5.0 mg/mL, 在优化的色谱条件下进行测定 (标准系列色谱见图 3), 以峰面积对质量浓度绘制标准曲线, 并根据信噪比  $S/N = 3$  测得各组分检出限。对浓度为 1 mg/mL 的邻、对、间苯二胺混合标准溶液进行 7 次重复测定, 计算其精密度, 结果见表 1。

表 1 标准曲线、检出限、方法精密度

Table 1 Standard curve, detection limits and the precision of the method

名称	回归方程	相关系数	检测限 / (ng·mL <sup>-1</sup> )	相对标准偏差 / %
邻苯二胺	$y = 460.353x - 45.734$	0.9995	2.0	1.93
对苯二胺	$y = 434.397x - 40.507$	0.9995	2.5	1.93
间苯二胺	$y = 464.810x - 44.985$	0.9996	2.0	2.05

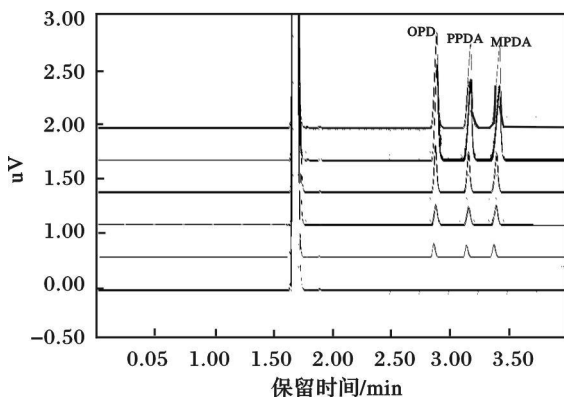


图 3 苯二胺标准溶液色谱图

Fig 3 The standard solution chromatogram of phenylenediamine

### 2.7 样品处理及加标样品的测定、方法学比较

准确称取同一种染发剂样品 0.05 g 数份, 于 10 mL 离心管中, 加入 5 mL 乙酸乙酯, 超声波提取 5 min, 于离心机中离心 2 min (2200 r/min), 吸出上层有机相, 管中试样再用 3 mL 乙酸乙酯萃取, 吸出有机相, 合并萃取液, 并用乙酸乙酯定容至 10 mL 待测。用本文建立的气相色谱法及高效液相色谱法<sup>[5]</sup>对一样品及加标样品进行测定, 结果见表 2。

测定结果经统计分析 ( $t < t_{0.05(10)} = 2.28$ ,  $p > 0.05$ ), 两种方法间无统计学差异, 测定结果基本一致。对比发现气相色谱法线性范围宽、样品处理简单, 分析速度快。

表 2 CGC与 HPLC对样品测定结果的比较

Table 2 Comparison of sample determination results with CGC and HPLC

名称	指标	气相色谱法	高效液相色谱法
邻苯二胺	回归方程	$y = 460.353.00x - 45.734$	$y = 4.138.114.80x + 14.483.40$
	线性范围 /( $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	0~ 10	0~ 5
	相关系数	0.999 5	0.999 5
	检测限 /( $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	2.0	11.9
	测定结果	-	-
	回收率 /%	88.6~ 97.8	98.5~ 113.6
	分析时间 /min	4	8
对苯二胺	回归方程	$y = 434.397x - 40.507$	$y = 9.783.834.95x + 1.879.957.78$
	线性范围 /( $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	0~ 10	0~ 5
	相关系数	0.999 5	0.999 8
	检测限 /( $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	2.5	6.03
	测定结果	1.85	1.83
	回收率 /%	93.3~ 105.0	97.0~ 125.0
	分析时间 /min	4	8
间苯二胺	回归方程	$y = 464.810x - 44.985$	$y = 4.980.683.50x + 270.177.75$
	线性范围 /( $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	0~ 10	0~ 5
	相关系数	0.999 6	0.999 8
	检测限 /( $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	2.0	9.4
	测定结果	-	-
	回收率 /%	88.5~ 99.1	101.8~ 116.7
	分析时间 /min	4	8

### 3 结论

采用非极性毛细管柱 RTX-1, 在柱温 150 ℃、进样口温度 210 ℃、检测器温度 290 ℃、进样量 1  $\mu\text{L}$ 、柱流量 1  $\text{mL}/\text{min}$ 、吹扫流量 3  $\text{mL}/\text{min}$ 、分流比 39:1 的色谱条件下测定染发剂中苯二胺异构体分离效果好、灵敏度高、线性范围宽、分析速度快, 测定结果与液相色谱法基本一致。用本文建立的方法检测实际样品, 结果发现所采集的膏状染发剂样品全部符合《化妆品卫生规范》粉状染发剂样品中未检出邻苯二胺, 对苯二胺含量超过《化妆品卫生规范》限量的要求, 且含有禁用物质间苯二胺。

### 参考文献:

- [1] Wang L H, Jen S. Simultaneous determination of oxidative hair dye *p*-phenylenediamine and its metabolites in human and rabbit biological fluids [J]. Analytical Biochemistry, 2003, 312: 201-207.
- [2] 朱会卷, 杨艳伟, 张卫强, 等. 高效液相色谱法测定染发剂中的 22 种染料成分 [J]. 色谱, 2008, 26(5): 554-

- 558
- [3] 王胜忠, 陈宁生. 间苯二胺的动力学光度法测定 [J]. 中国公共卫生, 2007, 23(2): 248-249.
- [4] Meyer A, Bhncke B, Fischer K. Determination of *p*-phenylenediamine and its metabolites MAPPD and DAPPD in biological samples using HPLC-DAD diode array detection [J]. Journal of Chromatography B, 2009, 877: 162-163.
- [5] 曹美龄, 徐立, 麦琦. 染发剂中对苯二胺的测定方法研究与改进 [J]. 中国卫生检验杂志, 2008, 18(1): 168-169.
- [6] Giò M L, Leggio A, Pera A L. Determination by gas chromatography/mass spectrometry of *p*-phenylenediamine in hair tyles after conversion to an imine derivative [J]. Journal of Chromatography A, 2005, 1066: 143-148.
- [7] 李艳松, 徐静. 气相色谱法测定染发剂中对苯二胺 [J]. 分析与检测, 2008(6): 92-93.
- [8] 尹江伟, 谷素英, 黎源倩. 头发中 5 种染发剂残留的毛细管气相色谱分析 [J]. 现代预防医学, 2008, 35(16): 3135-3137.