



# 中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 3529—2013

---

## 进出口染发剂中 2,4-二氨基苯酚、 2,3-二氨基苯酚和 2,4-二氨基苯甲醚的 检测方法

Determination of 2,4-diaminophenol, 2,3-diaminophenol and  
2,4-diaminoanisole in hair dyes for import and export

2013-03-01 发布

2013-09-16 实施

---

中 华 人 民 共 和 国  
国家质量监督检验检疫总局 发 布

## 前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本标准起草单位：中华人民共和国山东出入境检验检疫局。

本标准主要起草人：耿金培、曹鹏、曲志勇、隋涛、李晓玉、尹大路、梁君妮、李金强、王海涛。

# 进出口染发剂中 2,4-二氨基苯酚、 2,3-二氨基苯酚和 2,4-二氨基苯甲醚的 检测方法

## 1 范围

本标准规定了氧化型染发剂中 2,4-二氨基苯酚、2,3-二氨基苯酚的液相色谱测定方法和 2,4-二氨基苯酚、2,3-二氨基苯酚、2,4-二氨基苯甲醚的液相色谱-质谱/质谱测定方法。

本标准适用于染发霜、染发膏、焗发霜、染发剂等氧化型染发产品中 2,4-二氨基苯酚、2,3-二氨基苯酚和 2,4-二氨基苯甲醚的测定和确证。

## 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

试样用添加抗氧化剂的甲酸水溶液提取,正己烷净化,离心,取下层水相过滤,采用液相色谱仪测定,液相色谱-质谱/质谱仪确证,外标法定量。

### 方法一 液相色谱法

## 4 试剂和材料

除非另有说明,所有试剂均为分析纯,水为 GB/T 6682 规定的一级水。

4.1 甲酸。

4.2 甲醇:色谱纯。

4.3 乙腈:色谱纯。

4.4 抗坏血酸:优级纯。

4.5 正己烷:色谱纯。

4.6 乙酸铵。

4.7 庚烷磺酸钠。

4.8 柠檬酸。

4.9 0.2%庚烷磺酸钠水溶液(pH 值=3):称取 2.0g 庚烷磺酸钠(4.7),用水溶解并定容至 1 000 mL,柠檬酸(4.8)调节 pH 值=3。

- 4.10 0.1%甲酸甲醇溶液:称取 0.2 g 抗坏血酸(4.4),加入 1 mL 甲酸(4.1),用甲醇(4.2)定容至 1 L。
- 4.11 0.1%甲酸溶液:称取 0.2 g 抗坏血酸(4.4),加入 1 mL 甲酸(4.1),用水定容至 1 L。
- 4.12 标准品:2,4-二氨基苯酚(CAS 号 95-86-3):纯度 $\geq 99.0\%$ ;2,3-二氨基苯酚(CAS 号 59649-56-8):纯度 $\geq 97.0\%$ 。
- 4.13 标准储备溶液:精确称取适量 2,4-二氨基苯酚、2,3-二氨基苯酚(精确至 0.1 mg)于 50 mL 棕色容量瓶中,用 0.1%甲酸甲醇溶液(4.10)溶解并定容至刻度,2,3-二氨基苯酚需采用差量法称取。储备液保存于 4℃冰箱中,1 周内使用。
- 4.14 标准工作溶液:根据需要移取适量标准储备溶液,用 0.1%甲酸甲醇溶液(4.10)稀释成适用浓度的标准工作溶液,现用现配,使用棕色容量瓶。
- 4.15 滤膜:0.22  $\mu\text{m}$  微孔滤膜,无机相。

## 5 仪器和设备

- 5.1 液相色谱仪:配有二极管阵列检测器或双波长紫外检测器。
- 5.2 漩涡混合器。
- 5.3 超声波提取仪。
- 5.4 离心机:转速不低于 5 000 r/min。
- 5.5 分析天平:感量为 0.1 mg。
- 5.6 具塞离心管:聚四氟乙烯,100 mL。

## 6 测定步骤

### 6.1 试样的制备与保存

样品检测时现用现取,在取样过程中,需防止样品受到氧化而发生残留物含量的变化。样品开封后,立即取出样品,并迅速加入含抗氧化剂的 0.1%甲酸溶液(4.11)混匀,密封并做好标示,避光,常温下保存。

### 6.2 试样的处理

称取 0.1 g 试样(精确至 0.001 g)于 100 mL 离心管中,迅速准确加入 50 mL 0.1%甲酸溶液(4.11)及 15 mL 正己烷,涡旋 1 min,超声 5 min,再涡旋 1 min,5 000 r/min 离心 5 min,弃去上层液体。再次加入 15 mL 正己烷,涡旋 1 min,5 000 r/min 离心 5 min,吸取下层水相过 0.22  $\mu\text{m}$  微孔滤膜,滤液供上机测定。

### 6.3 测定

#### 6.3.1 液相色谱条件

液相色谱条件如下:

- a) 色谱柱:ZORBAX Eclipse Plus  $\text{C}_8$ , 5  $\mu\text{m}$ , 4.6 mm(内径) $\times$ 250 mm 或相当者;
- b) 流动相:(A)0.2%庚烷磺酸钠水溶液(柠檬酸调 pH 值=3);(B)乙腈;(C)甲醇。梯度洗脱程序见表 1;



表 1 梯度洗脱条件

时间/min	流动相 A/% <sup>a</sup>	流动相 B/%	流动相 C/%
0	84	6	10
16	72	18	10
21	72	18	10
21.01	84	6	10

- c) 检测波长:286 nm;
- d) 流速:1.0 mL/min;
- e) 柱温:30 ℃;
- f) 进样量:20 μL。

6.3.2 液相色谱测定

根据样液中被测物含量,选定浓度相近的标准工作溶液,待测样液中目标物的响应值均应在仪器检测的线性范围内。对标准工作溶液与样液等体积参插进样测定。在上述仪器条件下,2,4-二氨基苯酚和 2,3-二氨基苯酚的保留时间约为 17.6 min 和 13.2 min。标准溶液的色谱图参见附录 A。

6.4 空白试验

除不称取样品外,均按上述测定条件和步骤进行。

7 结果计算与表述

用色谱数据处理机或按式(1)计算试样中目标物的含量,计算结果需扣除空白值。

$$X = \frac{A \times c \times V}{A_s \times m} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

- X —— 染发剂中目标物的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);
- A —— 样品溶液中目标物的峰面积;
- c —— 标准溶液中目标物的浓度,单位为毫克每升(mg/L);
- V —— 样品加入提取液的体积,单位为毫升(mL);
- A<sub>s</sub> —— 标准溶液中目标物的峰面积;
- m —— 最终样液代表的试样质量,单位为(g)。

8 测定低限和回收率

8.1 测定低限

本方法中 2,4-二氨基苯酚和 2,3-二氨基苯酚的测定低限均为 100.0 mg/kg。

8.2 回收率

本方法的添加浓度范围及回收率的实验数据参见附录 B 中表 B.1

SN/T 3529—2013

方法二 液相色谱-质谱/质谱法

9 试剂和材料

除特殊注明外,所用试剂和材料均同 4.1~4.6、4.10~4.11 和 4.14~4.15。

9.1 标准品:2,4-二氨基苯酚(CAS 95-86-3):纯度 $\geq 99.0\%$ ;2,3-二氨基苯酚(CAS 59649-56-8):纯度 $\geq 97.0\%$ ;2,4-氨基苯甲醚(CAS 615-05-4):纯度 $\geq 99.0\%$ 。

9.2 标准储备溶液:精确称取适量 2,4-二氨基苯酚、2,3-二氨基苯酚、2,4-二氨基苯甲醚(精确至 0.1 mg)于 50 mL 棕色容量瓶中,用 0.1%甲酸甲醇溶液定容至刻度,2,3-二氨基苯酚需采用差量法称取。储备液保存于 4℃冰箱中,1 周内使用。

10 仪器和设备

除特殊注明外,所用仪器和设备均同 5.2~5.6。

液相色谱-质谱/质谱联用仪:配备电喷雾离子源(ESI)。

11 测定步骤

11.1 试样的制备与保存

同 6.1。

11.2 试样的处理

同 6.2。

11.3 测定

11.3.1 液相色谱条件

液相色谱条件如下:

a) 色谱柱:ACQUITY UPLCTM BEH Shield RP18,1.7  $\mu\text{m}$ ,2.1 mm(内径) $\times$ 100 mm 或相当者;

b) 流动相:(A)5 mmol 乙酸铵-0.1%甲酸水:(B)0.1%甲酸乙腈。梯度洗脱条件见表 2;

表 2 梯度洗脱条件

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0	100	0
2.0	100	0
3.0	50	50
3.01	20	80

表 2 (续)

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
3.8	20	80
3.81	100	0
5.0	100	0

- c) 流速:0.25 mL/min;
- d) 柱温:35 ℃;
- e) 进样量:3 μL。

11.3.2 质谱条件

质谱条件如下:

- a) 离子源:电喷雾离子源;
- b) 扫描方式:正离子扫描;
- c) 检测方式:多反应监测(MRM);
- d) 其他质谱参考条件参见附录 C,其中氮气和氩气纯度均大于等于 99.999%。

11.3.3 高效液相色谱-质谱/质谱检测

11.3.3.1 定量测定

根据样液中被测物含量,选定浓度相近的标准工作溶液,待测样液中目标物的响应值均应在仪器检测的线性范围内。对标准工作溶液与样液等体积参插进样测定。在上述仪器条件下,2,4-二氨基苯酚、2,3-二氨基苯酚、2,4-二氨基苯甲醚的保留时间约为 1.08 min、1.44 min 和 1.81 min。标准溶液的液相色谱-质谱/质谱图参见附录 A。鉴于国内外对二氨基酚类物质的限量要求比较高,因此按照第一法液相色谱法检出超线性浓度的目标物时,应对定容液进行适当的稀释处理再进样检测,并且如果检出则可采用本方法即超高效液相色谱-串联质谱法进行定性确证。

11.3.3.2 定性测定

按照上述条件测定样品和混合标准工作溶液,如果检测的质量色谱峰保留时间与混合标准工作溶液一致,允许偏差小于±2.5%;定性离子对的相对丰度与浓度相当混合标准工作液的相对丰度一致,相对丰度偏差不超过表 3 规定的范围,则可判断样品中存在相应的被测物。

表 3 定性测定时相对离子丰度的最大允许偏差

相对离子丰度/%	>50	>20 <50	>10 <20	≤10
允许的相对偏差/%	±20	±25	±30	±50

11.4 空白试验

除不加试样外,均按上述测定步骤进行。

SN/T 3529—2013

## 12 结果计算与表述

同第 7 章。

## 13 测定低限和回收率

### 13.1 测定低限

本方法中 2,4-二氨基苯酚、2,3-二氨基苯酚和 2,4-二氨基苯甲醚的测定低限均为 1.0 mg/kg。

### 13.2 回收率

本标准的添加浓度范围及回收率的实验数据参见附录 B 中表 B. 2。





附录 A  
(资料性附录)  
标准溶液色谱图

A.1 液相色谱法标准溶液色谱图见图 A.1。

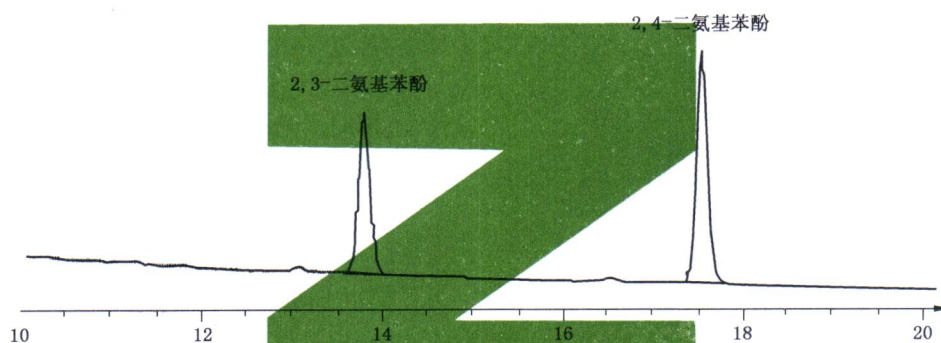


图 A.1 3 种二氨基酚类化合物混合标准溶液液相色谱图

A.2 液相色谱质谱/质谱法标准溶液色相谱图见 A.2~A.5。

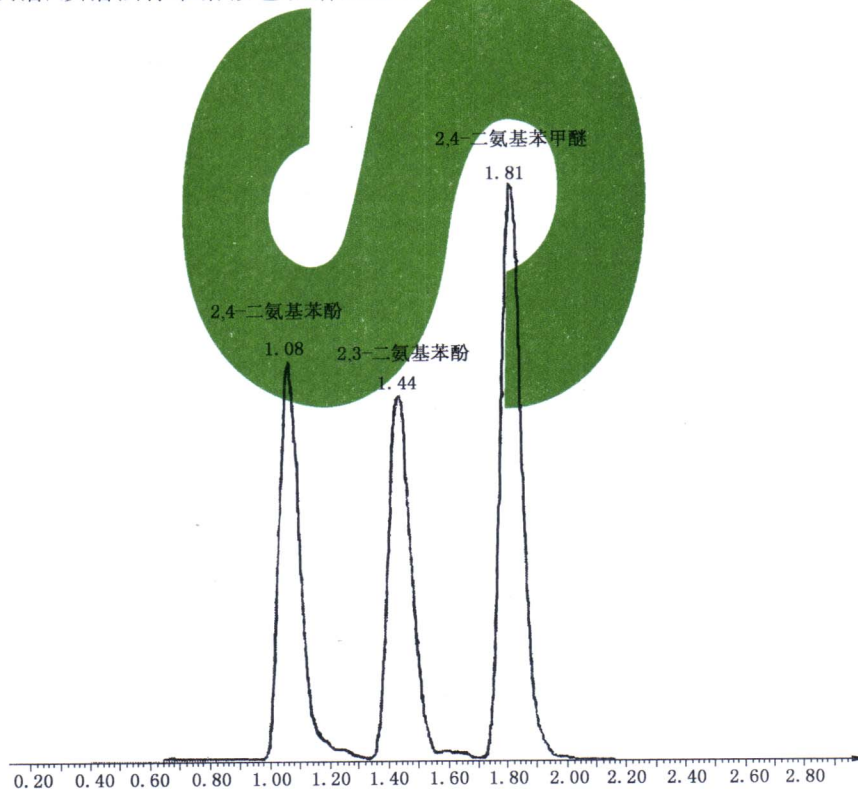


图 A.2 3 种二氨基酚类化合物的 TIC 总离子流图

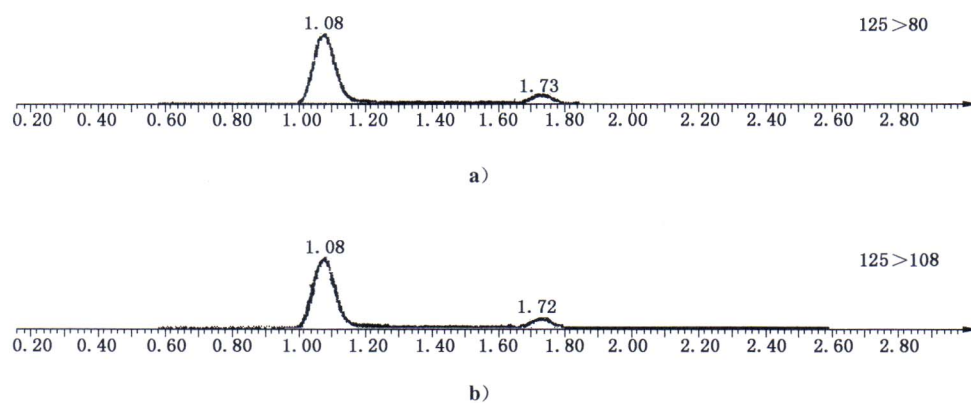


图 A.3 2,4-二氨基苯酚多反应监测谱图

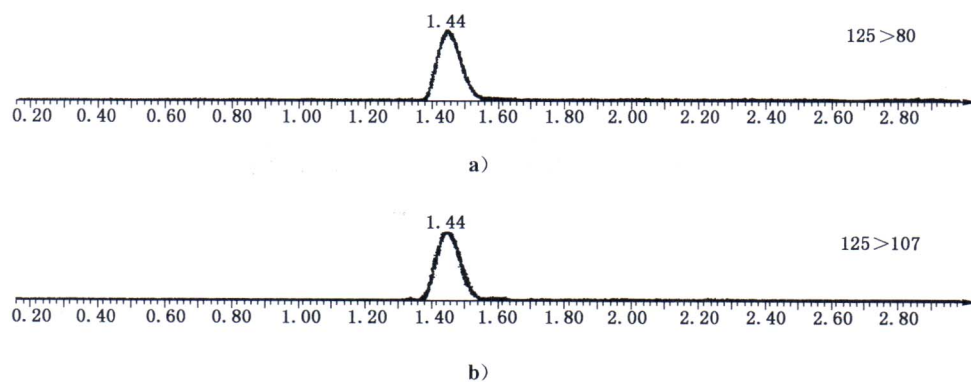


图 A.4 2,3-二氨基苯酚多反应监测谱图

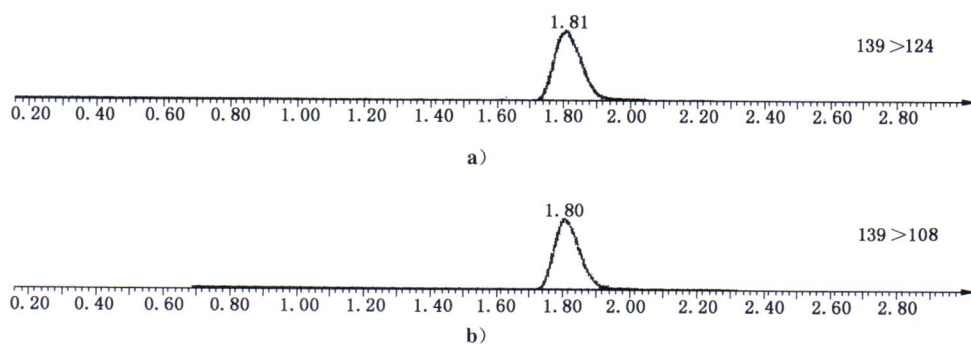


图 A.5 2,4-二氨基苯甲醚多反应监测谱图

## 附 录 B

(资料性附录)

## 液相色谱法与液相色谱-质谱/质谱法回收率数据

表 B.1 4 种染发产品中二氨基酚类物质的回收率和精密度(LC 法)

样品名称	项目名称	添加浓度/(mg/kg)	回收率/%
养护染发霜	2,4-二氨基苯酚	100	76.0~95.5
		500	79.2~102.2
		1 000	83.5~107.6
	2,3-二氨基苯酚	100	92.6~111.1
		500	95.5~115.0
		1 000	100.2~119.8
染发膏	2,4-二氨基苯酚	100	88.5~106.8
		500	91.2~108.4
		1 000	96.1~112.7
	2,3-二氨基苯酚	100	75.5~91.2
		500	78.8~96.6
		1 000	83.4~102.2
焗发霜	2,4-二氨基苯酚	100	78.8~95.2
		500	83.8~101.2
		1 000	86.1~105.8
	2,3-二氨基苯酚	100	92.9~107.5
		500	96.8~115.5
		1 000	99.9~120.9
染发剂	2,4-二氨基苯酚	100	96.0~112.6
		500	99.6~118.8
		1 000	103.8~123.3
	2,3-二氨基苯酚	100	75.0~90.8
		500	83.2~98.7
		1 000	88.5~105.4

表 B.2 4 种染发产品中二氨基酚类物质的回收率和精密度(LC-MS/MS 法)

样品名称	项目名称	添加浓度/(mg/kg)	回收率/%
养护染发霜	2,4-二氨基苯酚	1	65.1~86.3
		5	67.0~89.5
		10	71.3~93.7
	2,3-二氨基苯酚	1	90.3~110.5
		5	92.1~115.2
		10	96.4~119.0
	2,4-二氨基苯甲醚	1	70.1~91.8
		5	74.0~95.2
		10	78.1~97.3
染发膏	2,4-二氨基苯酚	1	84.5~102.4
		5	87.9~107.3
		10	89.7~110.6
	2,3-二氨基苯酚	1	66.6~86.7
		5	69.3~90.0
		10	72.6~95.9
	2,4-二氨基苯甲醚	1	91.1~110.0
		5	93.4~115.3
		10	96.5~118.2
焗发霜	2,4-二氨基苯酚	1	71.2~90.2
		5	75.0~96.1
		10	79.2~100.4
	2,3-二氨基苯酚	1	90.2~108.7
		5	93.2~111.2
		10	95.0~116.9
	2,4-二氨基苯甲醚	1	75.0~92.3
		5	79.8~97.4
		10	85.0~102.8



表 B.2 (续)

样品名称	项目名称	添加浓度/(mg/kg)	回收率/%
染发剂	2,4-二氨基苯酚	1	90.7~112.1
		5	94.2~115.9
		10	99.7~120.5
	2,3-二氨基苯酚	1	65.1~80.6
		5	68.5~88.9
		10	72.5~91.2
	2,4-二氨基苯甲醚	1	74.0~90.1
		5	78.2~95.2
		10	82.5~98.6

## 附录 C

(资料性附录)

液相色谱-质谱/质谱法仪器参数与监测离子<sup>1)</sup>

## C.1 仪器参数与监测离子

- a) 毛细管电压:3.0 kV;
- b) 离子源温度:120 °C;
- c) 脱溶剂气:氮气;
- d) 脱溶剂气温度:380 °C;
- e) 脱溶剂气流速:750 L/h;
- f) 碰撞气:氩气;
- g) 监测模式:多反应监测,多反应监测条件见表 C.1。

表 C.1 多反应监测条件

化合物	母离子 m/z	锥孔电压 V	子离子 1 m/z	碰撞能量 1 eV	子离子 2 m/z	碰撞能量 2 eV
2,4-二氨基苯酚	125	25	80*	13	107	18
2,3-二氨基苯酚	125	25	108*	15	80	18
2,4-二氨基苯甲醚	139	23	108*	15	124	15
加“*”的离子用于定量。						

<sup>1)</sup> 非商业性声明:附录 A 所列参数是在 Waters Quattro PremierXE 质谱仪上完成的,此处列出试验用仪器型号仅是为了提供参考,并不涉及商业目的,鼓励标准使用者尝试采用不同厂家或型号的仪器。