

高效液相法测定颜料中氯己定等 3 种防腐剂的含量

邵秋凤*, 蒋莹, 张慧

(上海市质量监督检验技术研究院有限公司, 上海 201114)

摘要: 颜料在工业和日常生活中运用广泛, 常应用于绘画、涂料等, 根据颜料的特性, 除了颜填料或染料外, 存在大量天然成分和水等溶剂, 存在滋生微生物和霉菌的营养成分和条件, 都不可避免使用防腐剂延长使用期限。氯己定、氯二甲酚和己脒定二(羟基磺酸)盐是较为常见的防腐剂但其仍为有害物质。因此, 需要建立相应的防腐剂的检测方法控制防腐剂的限量。以甲醇作为提取溶剂, 通过超声提取 2 次后, 离心并过滤, 滤液通过高效液相色谱进行梯度分离, 二级阵列检测器检测, 用外标法定量。3 种防腐剂在 0.50~50.0 mg/L 范围内线性关系良好, 相关系数均大于 0.995。检出限分别为氯己定 0.05 mg/kg、己脒定二(羟基磺酸)盐 0.05 mg/kg 和氯二甲酚 0.1 mg/kg, 平均加标回收率为 95%~110%, 重复性 RSD 均小于 1%。该方法简便、快速、准确、可靠, 适用于颜料中氯己定、氯二甲酚和己脒定二(羟基磺酸)盐的含量测定。

关键词: 氯己定; 氯二甲酚; 己脒定二(羟基磺酸)盐; 颜料; 高效液相色谱法

中图分类号: O65 **文献标识码:** A **文章编号:** 0258-3283 (2026) --

DOI: 10.13822/j.cnki.hxsj.2026.0045

Method for Determining the Content of Chlorhexidine, Chloroxylenol, and Hexamidine Diisethionate in Paints by High-Performance Liquid Chromatography SHAO Qiu-feng*, JIANG Ying, ZHANG Hui (Shanghai Institute of Quality Inspection and Technical Research, Shanghai 201114, China)

Abstract: Pigments are widely used in industry and daily life, particularly in applications such as painting and coatings. Due to their composition, which includes pigments, fillers, dyes, natural components, and solvents (e.g., water), these materials provide an environment conducive to the growth of microorganisms and molds. Therefore, preservatives are inevitably used to extend their service life. Common preservatives such as chlorhexidine, chlorhexylphenol, and hexamidine diisethionate are effective but may pose potential health risks. Therefore, it is necessary to establish reliable detection methods for preservatives to monitor and control their limits. In this study, a new analytical method was developed for the determination of chlorhexidine, chloroxylenol, and hexamidine diisethionate in paints using high-performance liquid chromatography. Methanol was employed as the extraction solvent in combination with ultrasonic extraction, and quantification was performed using an external standard.

A linear correlation was observed between peak area and analyte concentrations over the range of 0.50 mg/L to 50.0 mg/L, with the correlation coefficients exceeding 0.995 for all compounds. The limits of determination (LOD) were 0.05 mg/kg for chlorhexidine, 0.05 mg/kg for hexamidine diisethionate, and 0.1 mg/kg for chlorhexylphenol. The average spiked recoveries were 95%~110%, and the repeatability for all analytes was below 1% (RSD, $n = 7$). This method is simple, rapid, accurate, reliable, and suitable for the determination of chlorhexidine, chloroxylenol, and hexamidine diisethionate in pigments-based materials.

Key words: chlorhexidine; chloroxylenol; hexamidine diisethionate; paints; HPLC

颜料在工业和生活上运用非常广泛, 常应用于绘画、涂料、油墨、塑料、陶瓷、服饰等各种领域^[1]。根据颜料的涂布特点, 生产过程中除使用颜填料或染料外, 主要由粘合剂及各种天然成分或合成的高分子化合物在水等溶剂中混合分散而成, 无可避免的

存在滋生微生物、霉菌的营养物和条件, 因此, 添加适量的防腐剂以延长保质期是非常必要一环^[2]。氯己定(Chlorhexidine, CHX)、氯二甲酚(Chloroxylenol, PCMX)和己脒定二(羟基磺酸)盐(Hexamidine diisethionate, HD) 为较为常见的 3 种防腐剂。己脒定及

收稿日期: 2026-02-28; **修回日期:** 2026-04-24; **接受日期:** 2026-04-29

作者简介: 邵秋凤 (1988-), 女, 上海人, 硕士, 工程师, 主要研究方向为日用化学品检测及分析方法, E-mail: shaoqf@sqi.org.cn.

其盐类作为光谱抗菌和杀菌性能,与日化用品原料配伍性强等性能且对皮肤刺激较低,广泛运用于化妆品行业^[3-5]。氯己定化学名为双氯苯双胍己烷,又名洗必泰^[6]。常作为皮肤消毒剂,因腐蚀性低、杀菌效果好等优点,被广泛运用于漱口水、皮肤消毒剂等医用及化妆品中。氯二甲酚及己脒定同时也作为杀菌剂被广泛使用,高效、光谱,其化学性质稳定,在消毒产品、洗涤用品、化妆品中大量被使用^[7]。

这3种防腐杀菌剂虽然常用,但其仍为会刺激到眼部和呼吸道的有害物质,且容易引发接触性皮炎等过敏反应,也有过敏性休克致死的报告^[8]。但氯己定、氯二甲酚和己脒定二(羟基磺酸)盐任然是现行指画颜料标准 ISO 8124-7:2015《玩具安全 第7部分:指画颜料的要求和测定方法》^[9]和国标国家标准 GB 6675.14-2016《玩具安全 第14部分:指画颜料要求和测试方法》^[10]中允许添加的3种防腐剂。

查玉立等^[11]使用了高效液相色谱法测定了化妆品中的7种防腐剂。孙成宏等^[12]和望秀丽等^[13]均使用了紫外分光光度法测定防腐剂。朱俐等^[14]、王友升等^[15]、庄晓梅等^[16]总结了目前对化妆品中防腐剂多采用高效液相色谱法,超高效液相色谱法,气相色谱非和气相色谱质谱法,薄层层析法,进行定性测定,并指出液相色谱法操作简便,效果更好。漆爱明等^[17]使用高效液相色谱法测定了15种化妆品中防腐剂。除文献报道外,包括化妆品安全技术规范 2015版^[18]、GB/T 41436-2022《指画颜料中三氯生和三氯卡班含量的测定 高效液相色谱法》^[19]和 GB/T 41437-2022《指画颜料中苦味剂柚皮苷和苯甲酸地那铵含量的测定 高效液相色谱法》^[20]等一些现行有效标准中也多采用液相色谱法测定化妆品和颜料中防腐剂。

本次采用高效液相色谱法测定颜料中氯己定、氯二甲酚和己脒定二(羟基磺酸)盐3种防腐剂。通过采用超声萃取,HPLC外标法定量的方法。该方法简单、准确,灵敏度高,可用于颜料中防腐剂的测定。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

Agilent 1260 型高效液相色谱仪(配二极管阵列检测器 DAD,美国 Agilent 公司); Milli-Q 型超纯水仪(美国 Millipore 公司); 6-16 型离心机(德国 SIGMA 公司); SK8210HP 型超声波清洗仪(上海科导超声仪器有限公司); BSA224S-CW 型电子天平(德国 Sartorius 集团)。

甲醇(色谱纯)、甲酸(分析纯)、乙醇(分析纯)、L-组氨酸盐酸盐(分析纯)、氯化钠(分析纯)、二水合磷酸二氢钠(分析纯)、氢氧化钠(分析纯)、盐酸(分析纯)(国药集团化学试剂有限公司)。

氯己定(99.165%)、氯二甲酚(99.725%,上海麦克林生物科技有限公司);己脒定二(羟基磺酸)盐(99.7%,上海源叶生物科技有限公司)。

1.2 色谱条件

色谱柱(4.6mm×250mm, 5 μm): ZORBAX-C₁₈柱;流动相:流动相 A: 0.1%甲酸甲醇溶液,流动相 B: 0.1%甲酸水溶液,按表1梯度洗脱条件;流速: 1.0 mL/min;柱温: 30 °C;检测波长: 280 nm;进样体积 20 μL。

表1 流动相梯度

Tab.1 Eluent gradient		
t/min	A/%	B/%
0.0	30	70
2.0	30	70
10.0	50	50
20.0	80	20
22.0	80	20
23.0	30	70
25.0	30	70

1.3 测定步骤

1.3.1 标准工作曲线的绘制

分别准确称取氯己定、氯二甲酚和己脒定二(羟基磺酸)盐标准品,用甲醇配制成1000 mg/L的储备液;准确移取氯己定、氯二甲酚和己脒定二(羟基磺酸)盐标准储备液各1 mL,置于10 mL棕色容量瓶中,用甲醇稀释并定容,配制成100 mg/L的中间液。用甲醇逐级稀释混合标准中间液,得到质量浓度为0.50、1.00、2.00、5.00、10.0、

50.0 mg/L 系列混合标准工作溶液，过滤后经高效液相色谱仪测定。

1.3.2 样品前处理

称取 0.2 g (精确至 0.0001 g) 样品置于 50 mL 离心管中，加入 10 mL 甲醇，振荡 1 min 使试样充分浸润，在超声波清洗器中室温下超声提取 10 min，使用离心机离心 5 min，取出清液，清液用滤膜过滤后，重复上述步骤，合并两次滤液，经高效液相色谱仪测定。

2 结果与讨论

2.1 样品前处理的优化

根据颜料的特性，并结合使用中的实际情况，选取甲醇、乙醇、水、模拟汗液（每升含有 0.5g L-组氨酸盐酸盐、5.0 g 氯化钠、2.2 g 二水合磷酸二氢钠，用氢氧化钠溶液调至 pH 5.5±0.2）、模拟胃酸（0.07 mol/L 盐

酸溶液）作为溶剂进行分析。选取一个不含待测物的指画颜料作为空白，加入一定量的标准溶液混匀，作为阳性样品。分别对萃取 1、2 和 3 次的提取效率进行数据比对分析。

具体实验步骤为：称取 0.2 g 样品于具塞锥形瓶中，加入 10 mL 提取溶液，振荡 1 min 使其充分浸润，超声提取 10 min，冷却至室温，离心 5 min，取出上清液，用 0.22 μm 的滤膜过滤，所得滤液为 1 次提取溶液。重复上述萃取步骤，重复上述萃取步骤，滤液为 2 次提取溶液，合并 1 次提取溶液和 2 次提取溶液，为提取 2 次溶液。再重复一次步骤，将 3 次提取滤液和提取 2 次滤液合并为提取 3 次溶液。按照提取 1 次，提取 2 次和提取 3 次的溶液分别进行仪器分析检测，根据检测结果计算提取率，详见图 1。

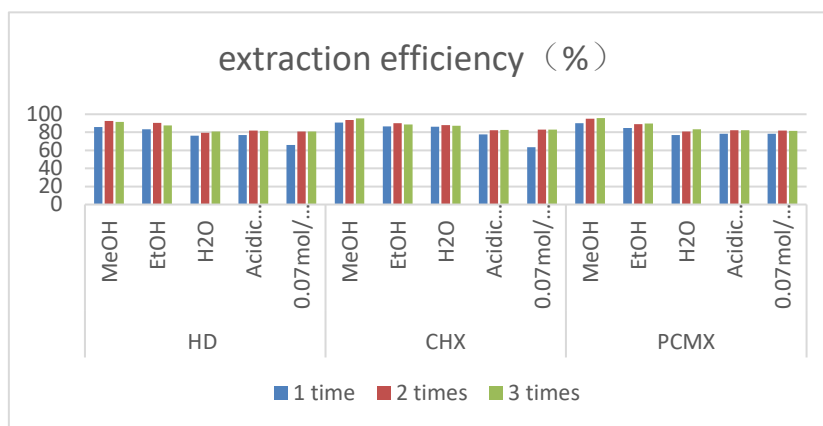


图 1 不同溶剂的提取效率

Fig 1 Extraction efficiency of solvents

因超声提取时间对提取效率也存在一定的影响，按照提取 2 次提取测定上述加标样品，根据萃取时间的不同，测定样品的提取率。分别测试了单次萃取时间为 10、15、

20、25、30 min。结果如图 2 所示。根据结果显示，提取时间无明显差异，考虑提取效率和成本，故选用最少的时间 10 min 为单次萃取时间。

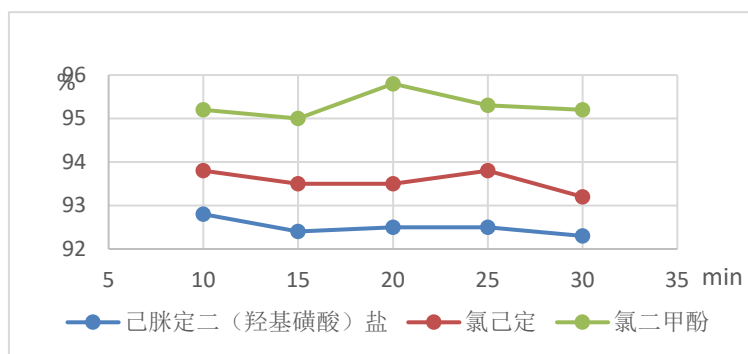


图 2 提取时间对提取率的影响

Fig.2 Influence of extraction time on the extraction rate

同时对使用 20 mL 提取溶液 1 次提取 20 min 和使用 10 mL 提取溶液分别提取 2 次 10 min 的结果进行了提取效率的对比。3 种防腐剂使用 2 次提取的提取效率都较 1 次提取有所提高, 故选择 2 次提取。

2.2 优化色谱条件

根据 3 种物质特性, 分别用液相进行测定时, 均可在甲醇-水的流动相中完全分离, 但响应值较低, 加入部分甲酸后, 可相对提高仪器对 3 种物质的响应值。由于 3 种物质的极性分离效果差异, 等度洗脱会导致无法完全分离的状态, 故使用梯度洗脱。调节流动相的比例和流速, 综合分析时间及分离效率等因素调节流动相, 选择流速为 1.0 mL/min, 表 1 的洗脱程序为流动相。分离效果如图 3 所示。

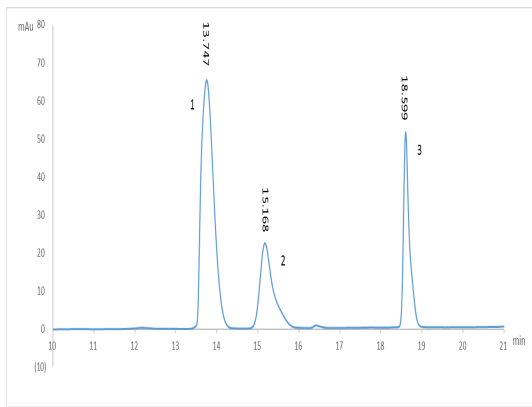


表 3 检出限

Tab.3 Limit of detection

HD	<i>n</i>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	SNR	25	43.9	40.4	47.4	26.2	49.1	53.5	22.3	34.1	43.6
	Average value	38.55									
	LOD (\bar{D}) / (mg·L ⁻¹)	0.038									
CHX	<i>n</i>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	SNR	40.3	69.1	64.8	76.7	42.4	78.6	87.4	36	55.6	63
	Average value	61.39									
	LOD (\bar{D}) / (mg·L ⁻¹)	0.024									
PCMX	<i>n</i>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	SNR	14.2	24.6	22.8	27.4	15	28.4	31.3	12.7	13.4	13.3
	Average value	20.31									
	LOD (\bar{D}) / (mg·L ⁻¹)	0.073									

1.己脒定二(羟基磺酸)盐(HD); 2.氯己定(CHX); 3. 氯二甲酚(PCMX)

图 3 色谱图

Fig.3 Chromatogram figures

2.3 方法线性范围和检出限

根据 1.3.1 配制的标准溶液, 经液相色谱测定, 以峰面积为纵坐标, 浓度为横坐标作图, 绘制标准工作曲线。见表 2。

表 2 线性范围

Tab.2 Linearity range

Compound	Line	R ²
HD	y = 42.976x + 4.201	0.9998
CHX	y = 29.163x + 9.2746	0.9996
PCMX	y = 11.043x - 1.1738	0.9998

线性相关系数 R² ≥ 0.995 时, 可认为线性良好, 3 种物质的线性相关系数均大于 0.999, 因此, 由上表可知, 3 种防腐剂在 0.50~50.0 mg/L 范围内线性良好。

根据定量检出限定义为信噪比的 3 倍。配制标样的浓度为: c=0.5 mg/L, 标样在相同条件下进样 10 次, 按检出限的定义分析数据如表 3 所示。

收稿日期: 2026-02-28; 修回日期: 2026-04-24; 接受日期: 2026-04-29

作者简介: 邵秋凤 (1988-), 女, 上海人, 硕士, 工程师, 主要研究方向为日用化学品检测及分析方法, E-mail: shaoqf@sqi.org.cn.

在同样条件下,根据称样量为 0.2 g,提取液为 20 mL,可以得检出限为分别为己脒定二(羟基磺酸)盐、氯己定和氯二甲酚分别为 0.038、0.024、0.073 mg/kg。根据实际操作中存在的误差,方法检出限分别为己脒定二(羟基磺酸)盐、氯己定和氯二甲酚分别为 0.05、0.05、0.1 mg/kg。

2.4 重复性试验

由于样品均未检出,所以在未检出样品中添加了 5.0 mg/L 标准溶液,用该样品进行测定,重复测定 7 次,结果见表 4。根据表 5 结果可知,重复性结果的相对标准偏差均小于 1%,说明此方法的重复性良好。

表 4 重复性

Tab.4 Repeatability			
Compound	Results/(mg·L ⁻¹)	Average value/(mg·L ⁻¹)	RSD/%
HD	4.78,4.80,4.78,4.82,4.83,4.83,4.81	4.81	0.44
CHX	4.81,4.82,4.82,4.78,4.83,4.83,4.90	4.82	0.75
PCMX	5.33,5.34,5.29,5.34,5.35,5.35,5.23	5.32	0.83

2.5 回收试验

在未检出样品中加入一定已知浓度的标准样品(低、中、高 3 个浓度),混合均匀后,按照相同的检验方法进行测量,比较加入标准样品后的含量和理论含量,两者的比值即为标样回收率,测得样品的回收率见表 5。

表 5 回收率

Tab.5 Recoveries			
Compound	Adding standard concentration/(mg·kg ⁻¹)	Results/(mg·kg ⁻¹)	Recoveries/%
HD	0.01	0.00963	96.3
	0.05	0.0479	95.7
	0.10	0.0985	98.5
CHX	0.01	0.0102	102.7
	0.05	0.0517	103.4
	0.10	0.0989	98.9
PCMX	0.01	0.0108	108.7

0.05	0.0517	103.4
0.10	0.0971	97.2

结果表明在添加浓度的对应平均回收率范围均在 95%~110%之间,说明此方法的回收率良好,能够满足定量分析要求。

3 结论

建立高效液相色谱法测定指画颜料中的氯己定、氯二甲酚和己脒定二(羟基磺酸)盐的方法,方法检出限较低,重复性、回收率均效果良好、准确,可满足分析检测要求。该方法可用于指画颜料中防腐剂的有效测定。

参考文献:

- [1] Wei Y. *Chin. J. Appl. Chem.*, 2024, **41(12)**:1817-1818.
魏义. 应用化学, 2024, **41(12)**:1817-1818.
- [2] Pi X L. *HuBei ZaoZhi*, 2009, **4**:26-27.
皮小兰. 湖北造纸, 2009, **4**:26-27.
- [3] Meng X S, Li J R, Ma Q, Bai H, Zhang Q, Lü Q, Guo X Y. *J. Instrum. Anal.*, 2015, **34(8)**: 944-948.
孟宪双, 李晶瑞, 马强, 白桦, 张庆, 吕庆, 郭项雨. 分析测试学报, 2015, **34(8)**: 944-948.
- [4] Chen Z B, Liu X J. *Chin. J. Disinfect.*, 2015, **32(10)**: 1020-1022.
陈昭斌, 刘晓娟. 中国消毒学杂志, 2015, **32(10)**: 1020-1022.
- [5] Su Q, Guo J W, Zheng S H. *Deterg. Cosmet.*, 2011, **34(8)**: 35-37.
苏强, 郭建维, 郑生华. 日用化学品科学, 2011, **34(8)**: 35-37.
- [6] Qiu K. *Chin. J. Disinfect.*, 2010, **27(4)**: 460-462.
邱凯. 中国消毒学杂志, 2010, **27(4)**: 460-462.
- [7] Yang S J, Cui H Y. *China Surfactant Soap Deterg.*, 2004(5): 67-69.
杨韶娟, 崔鸿跃. 中国洗涤用品工业, 2004(5): 67-69.
- [8] Lei Z B, Lei G Y. *J. Pharm. Pract.*, 2009, **27(6)**: 473-475.
雷招宝, 雷光远. 药学实践杂志, 2009, **27(6)**: 473-475.
- [9] ISO 8124—7:2015. Safety of toys -- Part 7: Requirements and test methods for finger paints,

- 2015-10.
ISO 8124—7:2015. 玩具安全 第7部分: 指画颜料的测定方法, 2015-10.
- [10] GB 6675.14—2014. Safety of toys: Part 14: Requirements and test methods of finger paints, 2014-12-05.
GB 6675.14—2014. 玩具安全 第14部分: 指画颜料技术要求及测试方法.
- [11] Zha Y L, Zhao Y H. *Occup. Health*, 2002, **18(4)**: 47-48.
查玉立, 赵亚华. 职业与健康, 2002, **18(4)**: 47-48.
- [12] Sun C H, Li Y X. *Med. Pharm. J. Chin. PLA*, 2013, **25(8)**: 91-93.
孙成宏, 李云霞. 解放军医药杂志, 2013, **25(8)**: 91-93.
- [13] Wang X L, Huang H, Quan W S, Zhang Y W. *Phys. Test. Chem. Anal. Part B Chem. Anal.*, 2024, **60(7)**: 707-709.
望秀丽, 黄华, 全王樵, 张烨雯. 理化检验-化学分册, 2024, **60(7)**: 707-709.
- [14] Zhu L, Liu Y, Zeng S P, Wang W J, Chen Y F, Yin L H. *J. Instrum. Anal.*, 2016, **35(2)**: 185-193.
朱俐, 刘洋, 曾三平, 王伟娇, 陈亚飞, 尹利辉. 分析测试学报, 2016, **35(2)**: 185-193
- [15] Wang Y S, Zhu Y Y, Dong Y M. *Deterg. Cosmet.*, 2007, **30(12)**: 15-18.
王友升, 朱昱燕, 董银卯. 日用化学品科学, 2007, **30(12)**: 15-18.
- [16] Zhuang X M, Zhao D M, Han S Q. *Deterg. Cosmet.*, 2011, **34(11)**: 38-42.
庄晓梅, 赵冬梅, 韩淑琴. 日用化学品科学, 2011, **34(11)**: 38-42.
- [17] Qi A M, Xiao S X. *Shengwu Huagong*, 2019, **5(4)**: 38-40, 50.
漆爱明, 肖树雄. 生物化工, 2019, **5(4)**: 38-40, 50.
- [18] National Medical Products Administration. Safety and Technical Standards for Cosmetics(2015), 2016-12-01.
国家食品药品监督管理总局. 化妆品安全技术规范(2015版), 2016-12-01.
- [19] GB/T 41436—2022. Determination of triclosan and triclosan in finger painting—high-performance liquid chromatography, 2022-04-15.
GB/T 41436-2022. 指画颜料中三氯生和三氯卡班含量的测定 高效液相色谱法, 2022-04-15.
- [20] GB/T 41437—2022. Determination of naringin and denatonium benzoate in finger paints—High performance liquid chromatography, 2022-04-15.
GB/T 41437-2022. 指画颜料中苦味剂柚皮苷和苯甲酸地那铵含量的测定 高效液相色谱法, 2022-04-15.