

化粧品中染髮劑之檢驗方法(四)

Method of Test for Hair Dyes in Cosmetics (4)

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於化粧品中4,4'-methylenedianline等22項染髮劑(品項見附表一)之檢驗。
2. 檢驗方法：檢體經萃取後，以液相層析串聯質譜儀(liquid chromatograph/tandem mass spectrometer, LC-MS/MS)分析之方法。
 - 2.1. 裝置：
 - 2.1.1. 液相層析串聯質譜儀：
 - 2.1.1.1. 離子源：電灑離子化(electrospray ionization, ESI)。
 - 2.1.1.2. 層析管：ACQUITY BEH Shield RP 18，1.7 μm ，內徑2.1 mm \times 10 cm，或同級品。
 - 2.1.2. 超音波振盪器(Ultrasonicator)。
 - 2.2. 試藥：甲醇及乙腈均採用液相層析級；甲酸銨採用試藥特級；去離子水(比電阻於25 $^{\circ}\text{C}$ 可達18 $\text{M}\Omega \cdot \text{cm}$ 以上)；4,4'-Methylenedianline等22品項對照用標準品。
 - 2.3. 器具及材料：
 - 2.3.1. 容量瓶：10 mL及20 mL。
 - 2.3.2. 濾膜：孔徑0.22 μm ，PTFE材質。
 - 2.4. 移動相溶液之調製：
 - 2.4.1. 移動相溶液A：

稱取甲酸銨0.63 g，以去離子水溶解使成1000 mL，經濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液A。
 - 2.4.2. 移動相溶液B：乙腈
 - 2.5. 標準溶液之配製：

取對照用標準品各約10 mg，精確稱定，以甲醇溶解並定容至10 mL，作為標準原液，冷藏貯存。臨用時取適量各標準原液混合，以甲醇溶液稀釋，供作標準溶液，各標準溶液之濃度範圍如附表一。
 - 2.6. 檢液之調製：

將檢體混勻，取約1 g，精確稱定，加入甲醇15 mL，以超音波振盪30分鐘，再以甲醇定容至20 mL，經濾膜過濾，供作檢液。
 - 2.7. 鑑別試驗及含量測定：

精確量取檢液及標準溶液各3 μL ，分別注入液相層析串聯質譜儀中，依下列條件進行分析。就檢液與標準溶液所得波峰之滯留時間及多重反應

偵測相對離子強度^(註1)鑑別之，並依下列計算式求出檢體中各染髮劑之含量(ppm)：

$$\text{檢體中各染髮劑之含量(ppm)} = \frac{C \times V}{M}$$

C：由標準曲線求得檢液中各染髮劑之濃度(μg/mL)

V：檢體最後定容之體積(mL)

M：取樣分析檢體之重量(g)

液相層析串聯質譜分析條件^(註2)：

層析管：ACQUITY BEH Shield RP 18，1.7 μm，內徑2.1 mm × 10 cm。

層析管溫度：40°C。

移動相溶液：A液與B液以下列條件進行梯度分析

Time (min)	A (%)	B (%)
0 → 3	95 → 80	5 → 20
3 → 6	80 → 50	20 → 50
6 → 10	50 → 0	50 → 100
10 → 12	0 → 0	100 → 100
12 → 12.5	0 → 95	100 → 5
12.5 → 15	95 → 95	5 → 5

移動相流速：0.3 mL/min。

注入量：3 μL。

毛細管電壓(Capillary voltage)：2.85 kV。

離子源溫度(Ion source temperature)：150°C。

溶媒揮散溫度(Desolvation temperature)：500°C。

進樣錐氣體流速(Cone gas flow rate)：30 L/hr。

溶媒揮散流速(Desolvation flow rate)：800 L/hr。

偵測模式：多重反應偵測(multiple reaction monitoring, MRM)。離子對、進樣錐電壓(cone voltage)與碰撞能量(collision energy)如附表二。

註：1. 相對離子強度由定性離子對與定量離子對之波峰面積相除而得(≤100%)，容許範圍如下：

相對離子強度(%)	容許範圍(%)
> 50	± 20
> 20~50	± 25
> 10~20	± 30
≤ 10	± 50

2. 上述測定條件分析不適時，可依所使用之儀器，設定適合之測定條件。

附註：1. 本檢驗方法之定量極限如附表二。

2. 檢體中有影響檢驗結果之物質時，應自行探討。

參考文獻：

Szabó, B. S., Jakab, P. P., Hegedűs, J., Kirchkeszner, C., Petrovics, N., Nyiri, Z., Bodai, Z., Rikker, T. and Eke, Z. 2021. Determination of 24 primary aromatic amines in aqueous food simulants by combining solid phase extraction and salting-out assisted liquid-liquid extraction with liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Microchem. J.* 164: 105927.

參考層析圖譜



圖、以LC-MS/MS分析4,4'-methylenedianline等22項染髮劑之MRM圖譜

附表一、4,4'-Methylenedianiline 等 22 項染髮劑之標準溶液濃度範圍

分析物	濃度範圍(μg/mL)
4,4'-Methylenedianiline	
4,4'-Bi- <i>o</i> -toluidine	
6-Methoxy-2,3-pyridinediamine	
4,4'-Methylenedi- <i>o</i> -toluidine	
<i>N</i> -(2-Methoxyethyl)- <i>p</i> -phenylenediamine	0.001~0.02
6-Nitro-2,5-pyridinediamine	
4,4'-(4-Iminocyclohexa-2,5-dienylidenemethylene) dianiline hydrochloride (Basic red 9)	
4,4'-Carbonimidoylbis[<i>N,N</i> -dimethylaniline] (Solvent yellow 34)	
1,2-Diphenylhydrazine	
4,4'-Methylene-bis(2-chloroaniline)	
1-Naphthylamine	0.01~0.2
4,5-Diamino-1-methylpyrazole	
Diphenylamine	
2,4,5-Trimethylaniline	
4-Hydroxyindole	
2,3-Naphthalenediol	0.1~2
5-Nitroacenaphthene	
4-Amino-2-nitrophenol	
<i>p</i> -Chloro- <i>o</i> -toluidine	
2,4-Dinitrotoluene	
Disodium 4-amino-3-[[4'-[(2,4-diaminophenyl)azo][1,1'-biphenyl]-4-yl]azo]-5-hydroxy-6-(phenylazo)naphthalene-2,7-disulphonate (Direct black 38)	1~10
Disodium[5-[[4'-[[2,6-dihydroxy-3-[(2-hydroxy-5-sulphophenyl)azo]phenyl]azo][1,1'-biphenyl]-4-yl]azo]salicylato(4-)]cuprate(2-) (Direct brown 95)	

附表二、4,4'-Methylenedianiline等22項染髮劑之多重反應偵測模式參數及定量極限

分析物	離子化 模式	離子對		進樣錐 電壓 (V)	碰撞 能量 (eV)	定量極限 (ppm)
		前驅離子(m/z)>	產物離子(m/z)			
4,4'- Methylenedianiline	ESI ⁺	199 > 106*		36	22	0.02
		199 > 77			52	
4,4'-Bi- <i>o</i> -toluidine	ESI ⁺	213 > 180*		30	30	0.02
		213 > 152			52	
6-Methoxy-2,3- pyridinediamine	ESI ⁺	140 > 125*		8	14	0.02
		140 > 108			20	
4,4'-Methylenedi- <i>o</i> - toluidine	ESI ⁺	227 > 120*		32	32	0.02
		227 > 77			60	
<i>N</i> -(2-Methoxyethyl)- <i>p</i> -phenylenediamine	ESI ⁺	167 > 108*		24	16	0.02
		167 > 80			40	
6-Nitro-2,5- pyridinediamine	ESI ⁺	155 > 81*		16	18	0.02
		155 > 108			12	
Basic red 9	ESI ⁺	288 > 195*		26	28	0.02
		288 > 151			54	
Solvent yellow 34	ESI ⁺	268 > 147*		20	22	0.02
		268 > 122			26	
1,2- Diphenylhydrazine	ESI ⁺	183 > 77*		12	16	0.2
		183 > 51			38	
4,4'-Methylene-bis (2-chloroaniline)	ESI ⁺	267 > 231*		26	20	0.2
		267 > 195			32	
1-Naphthylamine	ESI ⁺	144 > 127*		24	22	0.2
		144 > 77			34	
4,5-Diamino-1- methylpyrazole	ESI ⁺	113 > 96*		25	14	0.2
		113 > 55			18	

*定量離子對

附表二、4,4'-Methylenedianiline等22項染髮劑之多重反應偵測模式參數及定量極限(續)

分析物	離子化 模式	離子對		進樣錐 電壓 (V)	碰撞 能量 (eV)	定量極限 (ppm)
		前驅離子(m/z)	> 產物離子(m/z)			
Diphenylamine	ESI ⁺	170	> 93*	28	30	0.2
		170	> 65		32	
2,4,5-Trimethylaniline	ESI ⁺	136	> 121*	20	14	0.2
		136	> 91		22	
4-Hydroxyindole	ESI ⁺	134	> 77*	14	6	2
		134	> 107		40	
2,3-Naphthalenediol	ESI ⁻	159	> 131*	2	16	2
		159	> 141		20	
5-Nitroacenaphthene	ESI ⁺	200	> 153*	16	22	2
		200	> 127		42	
4-Amino-2-nitrophenol	ESI ⁺	155	> 109*	48	14	20
		155	> 92		26	
<i>p</i> -Chloro- <i>o</i> -toluidine	ESI ⁺	142	> 107*	36	16	20
		142	> 125		20	
2,4-Dinitrotoluene	ESI ⁻	181	> 135*	12	6	20
		181	> 116		18	
Direct black 38	ESI ⁻	368	> 164*	38	14	20
		368	> 322		10	
Direct brown 95	ESI ⁻	357	> 92*	38	34	20
		357	> 186		22	

*定量離子對