染髮劑中芳胺成分之檢驗方法
Method of Test for Aromatic Amines in Hair Dyes

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於化粧品中4,4'-bi-*o*-toluidine等29品項芳胺成分(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：ZORBAX Eclipse XDB-C18，3.5 µm，內徑2.1 mm × 5 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；醋酸銨、甲酸及氨水(25%)均採用試藥特級；去離子水(比電阻於25℃可達18 MΩ．cm以上)；4,4'-bi-*o*-toluidine等29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. 試劑之調製：

2.4.1 含0.05%甲酸溶液:

取甲酸0.5 mL，加去離子水使成1000 mL。

2.4.2 萃取溶液之調製:

取氨水(25%) 4 mL，加甲醇使成1000 mL。

2.5. 移動相溶液之調製：

2.5.1. 移動相溶液A：

稱取醋酸銨0.385 g，以含0.05%甲酸溶液溶解使成1000 mL，經濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液A。

2.5.2. 移動相溶液B：乙腈

2.6. 標準溶液之配製：

取4,4'-bi-*o*-toluidine等29品項對照用標準品各約10 mg，精確稱定，分別以萃取溶液溶解並定容至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，以萃取溶液稀釋，供作標準溶液，各標準溶液之濃度範圍如附表一。

2.7. 檢液之調製：

將檢體混勻，取約1 g，精確稱定，加入萃取溶液15 mL，以超音波振盪30分鐘，再以萃取溶液定容至20 mL，經濾膜過濾，供作檢液。

2.8. 鑑別試驗及含量測定：

精確量取檢液及標準溶液各2 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芳胺成分之含量(ppm)：

$$檢體中各芳胺成分之含量(ppm) = \frac{C \times V}{M}$$

C：由標準曲線求得檢液中各芳胺成分之濃度(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：ZORBAX Eclipse XDB-C18，3.5 µm，內徑2.1 mm × 5 cm。

層析管溫度：30°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 → 4	98 → 80	2 → 20
4 → 8	80 → 70	20 → 30
8 → 10	70 → 3	30 → 97
10 → 12	3 → 3	97 → 97
12 → 12.5	3 → 98	97 → 2
12.5 → 15	98 → 98	2 → 2

移動相流速：0.5 mL/min。

注入量：2 µL。

毛細管電壓(Capillary voltage)：2.50 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

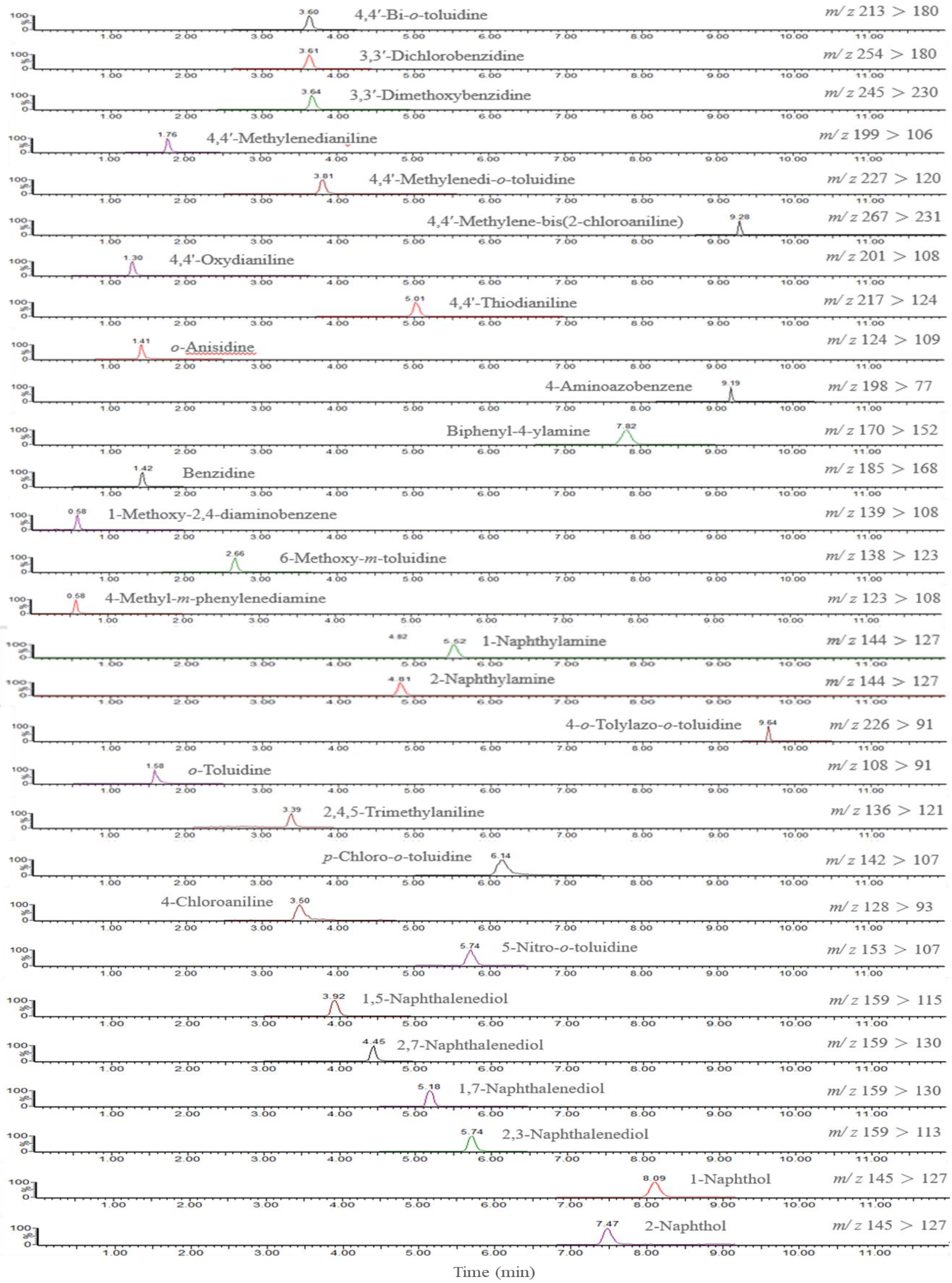
2. 上述測定條件分析不適時，可依所使用之儀器，設定適合之測定條件。

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'-bi-*o*-toluidine等29項芳胺成分之MRM圖譜

附表一、4,4'-Bi-*o*-toluidine等29項芳胺成分之標準溶液濃度範圍

項次	分析物	濃度範圍 (μg/mL)
1	4,4'-Bi-*o*-toluidine	0.001～0.02
2	3,3'-Dichlorobenzidine	
3	3,3'-Dimethoxybenzidine	
4	4,4'-Methylenedianiline	
5	4,4'-Methylenedi-*o*-toluidine	
6	4,4'-Methylene-bis(2-chloroaniline)	
7	4,4'-Oxydianiline	
8	4,4'-Thiodianiline	
9	*o*-Anisidine	0.01～0.2
10	4-Aminoazobenzene	
11	Biphenyl-4-ylamine	
12	Benzidine	
13	1-Methoxy-2,4-diaminobenzene	
14	6-Methoxy-*m*-toluidine	
15	4-Methyl-*m*-phenylenediamine	
16	1-Naphthylamine	
17	2-Naphthylamine	
18	4-*o*-Tolylazo-*o*-toluidine	
19	*o*-Toluidine	
20	2,4,5-Trimethylaniline	
21	*p*-Chloro-*o*-toluidine	0.1～2
22	4-Chloroaniline	
23	5-Nitro-*o*-toluidine	1～10
24	1,5-Naphthalenediol	
25	2,7-Naphthalenediol	
26	1,7-Naphthalenediol	
27	2,3-Naphthalenediol	
28	1-Naphthol	5～100
29	2-Naphthol	

附表二、4,4'-Bi-*o*-toluidine等29項芳胺成分之多重反應偵測模式參數及定量極限

項次	分析物	離子化模式	離子對 前驅離子(*m/z*)＞產物離子(*m/z*)	進樣錐電壓 (V)	碰撞能量 (eV)	定量極限 (μg/g)
1	4,4'-Bi-*o*-toluidine	ESI+	213 ＞ 180* 213 ＞ 152	30	30 52	0.02
2	3,3'-Dichlorobenzidine	ESI+	254 ＞ 180* 254 ＞ 198	2	42 24	0.02
3	3,3'-Dimethoxybenzidine	ESI+	245 ＞ 230* 245 ＞ 187	18	14 28	0.02
4	4,4'-Methylenedianiline	ESI+	199 ＞ 106* 199 ＞ 77	36	22 52	0.02
5	4,4'-Methylenedi-*o*-toluidine	ESI+	227 ＞ 120* 227 ＞ 178	26	24 22	0.02
6	4,4'-Methylene-bis-(2-chloroaniline)	ESI+	267 ＞ 231* 267 ＞ 140	26	20 26	0.02
7	4,4'-Oxydianiline	ESI+	201 ＞ 108* 201 ＞ 80	32	22 30	0.02
8	4,4'-Thiodianiline	ESI+	217 ＞ 124* 217 ＞ 139	20	32 18	0.02
9	*o*-Anisidine	ESI+	124 ＞ 109* 124 ＞ 65	30	14 22	0.2
10	4-Aminoazobenzene	ESI+	198 ＞ 77* 198 ＞ 105	26	20 14	0.2
11	Biphenyl-4-ylamine	ESI+	170 ＞ 152* 170 ＞ 127	30	26 32	0.2
12	Benzidine	ESI+	185 ＞ 168* 185 ＞ 151	54	18 26	0.2
13	1-Methoxy-2,4-diaminobenzene	ESI+	139 ＞ 108* 139 ＞ 124	14	12 8	0.2
14	6-Methoxy-*m*-toluidine	ESI+	138 ＞ 123* 138 ＞ 106	32	14 22	0.2
15	4-Methyl-*m*-phenylenediamine	ESI+	123 ＞ 108* 123 ＞ 79	30	16 20	0.2

*定量離子對

附表二、4,4'-Bi-*o*-toluidine等29項芳胺成分之多重反應偵測模式參數及定量極限(續)

項次	分析物	離子化模式	離子對 前驅離子(*m/z*) ＞ 產物離子(*m/z*)	進樣錐電壓 (V)	碰撞能量 (eV)	定量極限 (μg/g)
16	1-Naphthylamine	ESI+	144 ＞ 127* 144 ＞ 77	24	22 34	0.2
17	2-Naphthylamine	ESI+	144 ＞ 127* 144 ＞ 77	24	22 34	0.2
18	4-*o*-Tolylazo-*o*-toluidine	ESI+	226 ＞ 91* 226 ＞ 107	16	16 12	0.2
19	*o*-Toluidine	ESI+	108 ＞ 91* 108 ＞ 65	16	16 24	0.2
20	2,4,5-Trimethyl-aniline	ESI+	136 ＞ 121* 136 ＞ 91	30	14 22	0.2
21	*p*-Chloro-*o*-toluidine	ESI+	142 ＞ 107* 142 ＞ 125	30	8 26	2
22	4-Chloroaniline	ESI+	128 ＞ 93* 128 ＞ 111	32	22 18	2
23	5-Nitro-*o*-toluidine	ESI+	153 ＞ 107* 153 ＞ 90	28	14 18	20
24	1,5-Naphthalenediol	ESI-	159 ＞ 115* 159 ＞ 131	30	30 25	20
25	2,7-Naphthalenediol	ESI-	159 ＞ 130* 159 ＞ 158	30	15 10	20
26	1,7-Naphthalenediol	ESI-	159 ＞ 130* 159 ＞ 103	30	18 22	20
27	2,3-Naphthalenediol	ESI-	159 ＞ 113* 159 ＞ 130	18	32 18	20
28	1-Naphthol	ESI+	145 ＞ 127* 145 ＞ 91	50	12 25	100
29	2-Naphthol	ESI+	145 ＞ 127* 145 ＞ 115	50	12 16	100

*定量離子對