

化粧品中色素之檢驗方法

Method of Test for Colorants in Cosmetics

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於化粧品中rhodamine B等50項色素(品項見表一)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 RP18，1.7 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、乙腈及二氯甲烷均採用液相層析級；甲酸銨及甲酸均採用試藥特級；去離子水(比電阻於25°C可達18 M Ω ·cm以上)；rhodamine B等50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. 二氯甲烷：甲醇(2:8, v/v)溶液
取二氯甲烷與甲醇以2：8 (v/v)之比例混勻。
 - 2.4.2. 萃取溶液
取甲酸1 mL，加入二氯甲烷：甲醇(2:8, v/v)溶液使成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。
 - 2.5.2. 移動相溶液B：
取甲醇與乙腈以1：1 (v/v)比例混勻，經濾膜過濾，取濾液，供作移動相溶液B。
 - 2.6. 標準溶液之配製：
取對照用標準品各約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 μ L，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色素之含量(ppm)：

$$\text{檢體中各色素之含量(ppm)} = \frac{C \times V}{M}$$

C：由標準曲線求得檢液中各色素之濃度(μ g/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 RP18，1.7 μ m，內徑2.1 mm × 10 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 → 3	95 → 75	5 → 25
3 → 7	75 → 30	25 → 70
7 → 8	30 → 0	70 → 100
8 → 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：2 μ L。

毛細管電壓(Capillary voltage)：2.65 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)：650 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($\leq 100\%$)，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：

1. Cooper, J. 2015. Analysis of primary aromatic amines in cosmetics and personal care products using the ACQUITY UPLC H-Class System with the ACQUITY QDa Detector and Empower 3 Software. Application Note, Waters Corporation. Part number 720005355en.
2. Feng, F., Zhao, Y., Yong, W., Sun, L., Jiang, G. and Chu, X. 2011. Highly sensitive and accurate screening of 40 dyes in soft drinks by liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry. J. Chromatogr. B 879: 1813-1818.

表一、Rhodamine B等50項化粧品色素之標準溶液濃度範圍

項次	分析物	濃度範圍 ($\mu\text{g/mL}$)
1	Rhodamine B	0.001~0.02
2	Basic violet 1	
3	Basic violet 2	
4	Basic green 4	
5	Solvent yellow 33	
6	Pigment yellow 1	
7	Pigment red 22	
8	Basic red 1:1	
9	Benzidine	0.01~0.2
10	4-Aminoazobenzene	
11	4,4'-Thiodianiline	
12	4- <i>o</i> -Tolylazo- <i>o</i> -toluidine	
13	1-Methoxy-2,4-diaminobenzene	
14	Solvent red 23	
15	Solvent red 72	
16	Solvent violet 13	
17	3,3'-Dimethoxybenzidine	
18	2-Methyl- <i>m</i> -phenylenediamine	0.05~1.0
19	<i>o</i> -Anisidine	
20	6-Methoxy- <i>m</i> -toluidine	
21	Acid orange 7	
22	Acid red 88	
23	Acid violet 43	
24	Acid red 1	0.1~2.0
25	Acid black 1	
26	Acid red 52	
27	Acid violet 9	
28	<i>o</i> -Aminotoluene	
29	Pigment red 4	
30	Acid orange 6	
31	Acid red 87	
32	Solvent red 73	
33	Acid red 51	1.0~10
34	Food red 1	
35	Acid red 14	

36	Food green 3	
37	Food yellow 3	
38	Acid yellow 1	
39	Pigment red 3	
40	Aniline	1.0～20
41	4-Chloroaniline	
42	Acid blue 9	
43	Acid red 33	
44	Acid yellow 73	2.0～50
45	Food red 17	
46	Acid red 92	
47	Solvent green 7	
48	Acid green 25	5.0～50
49	Acid yellow 23	
50	Acid red 18	

表二、Rhodamine B等50項化粧品色素之液相層析串聯質譜儀多重反應偵測模式參數及定量極限

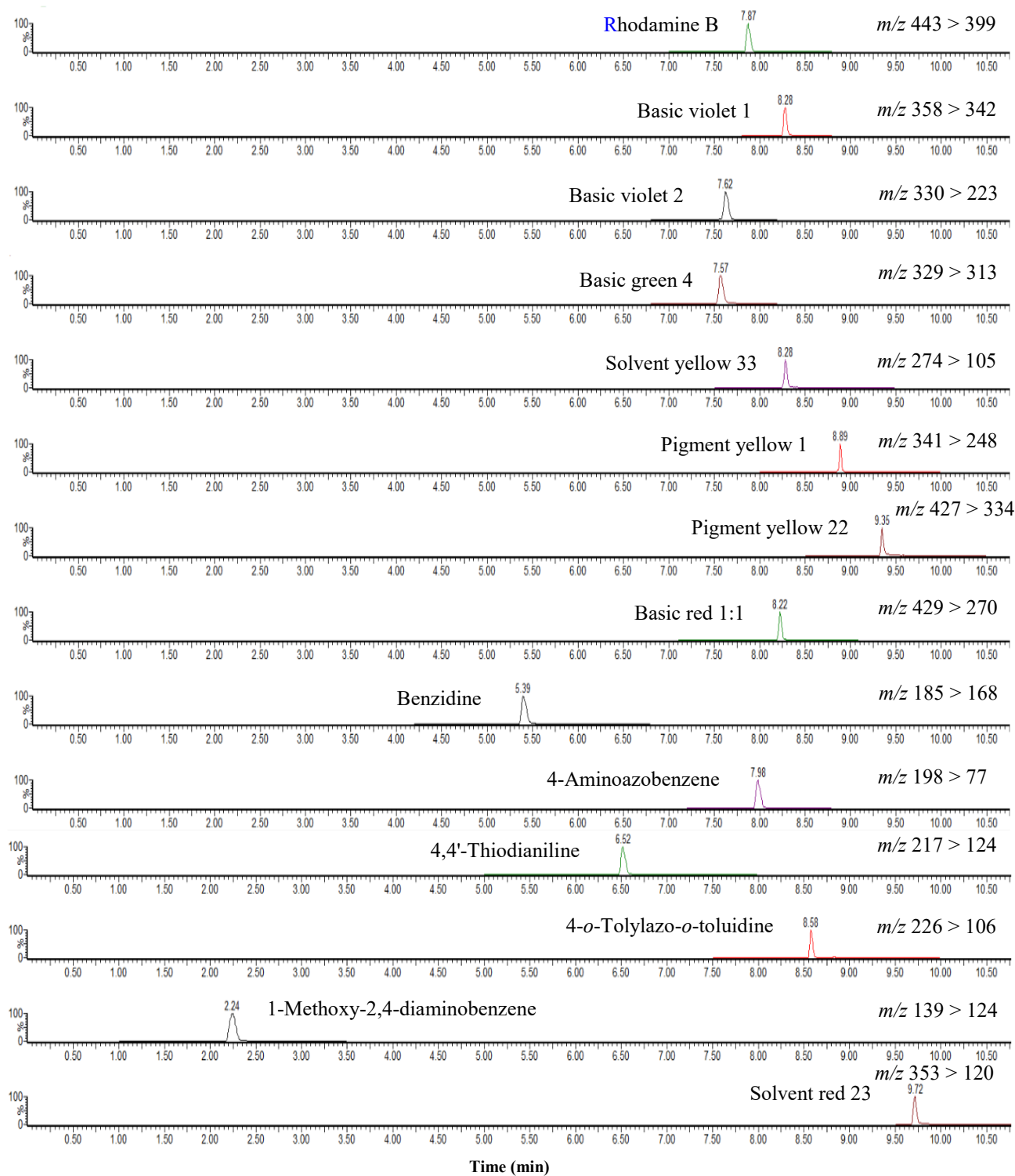
項次	分析物	離子化 模式	離子對	進樣錐 電壓 (V)	碰撞 能量 (eV)	定量極限 (ppm)
			前驅離子(m/z)> 產物離子(m/z)			
1	Rhodamine B	ESI ⁺	443 > 399* 443 > 355	32	44 58	0.02
2	Basic violet 1	ESI ⁺	358 > 342* 358 > 326	44	24 16	0.02
3	Basic violet 2	ESI ⁺	330 > 223* 330 > 208	84	32 40	0.02
4	Basic green 4	ESI ⁺	329 > 313* 329 > 165	40	34 66	0.02
5	Solvent yellow 33	ESI ⁺	274 > 105* 274 > 128	28	36 26	0.02
6	Pigment yellow 1	ESI ⁺	341 > 248* 341 > 150	32	8 16	0.02
7	Pigment red 22	ESI ⁺	427 > 334* 427 > 128	8	12 58	0.02
8	Basic red 1:1	ESI ⁺	429 > 270* 429 > 385	26	70 38	0.02
9	Benzidine	ESI ⁺	185 > 168* 185 > 151	54	18 26	0.2
10	4-Aminoazobenzene	ESI ⁺	198 > 77* 198 > 105	26	20 14	0.2
11	4,4'-Thiodianiline	ESI ⁺	217 > 124* 217 > 139	20	32 18	0.2
12	4- <i>o</i> -Tolylazo- <i>o</i> -toluidine	ESI ⁺	226 > 106* 226 > 121	2	22 20	0.2
13	1-Methoxy-2,4-diaminobenzene	ESI ⁺	139 > 124* 139 > 108	36	20 12	0.2
14	Solvent red 23	ESI ⁺	353 > 120* 353 > 156	32	24 22	0.2
15	Solvent red 72	ESI ⁺	491 > 189* 491 > 339	2	76 48	0.2
16	Solvent violet 13	ESI ⁺	330 > 312* 330 > 106	26	18 20	0.2

17	3,3'-Dimethoxy-benzidine	ESI ⁺	245 > 230* 245 > 213	18	14 16	0.2
18	2-Methyl- <i>m</i> -phenylene-diamine	ESI ⁺	123 > 106* 123 > 79	58	32 26	1
19	<i>o</i> -Anisidine	ESI ⁺	124 > 109* 124 > 65	30	14 22	1
20	6-Methoxy- <i>m</i> -toluidine	<u>ESI⁺</u>	138 > 123* 138 > 106	32	14 22	1
21	Acid orange 7	ESI ⁻	327 > 171* 327 > 156	28	28 30	1
22	Acid red 88	ESI ⁻	377 > 221* 377 > 143	12	26 26	1
23	Acid violet 43	ESI ⁻	408 > 328* 408 > 310	10	26 32	1
24	Acid red 1	ESI ⁻	232 > 179* 232 > 158	32	10 14	2
25	Acid black 1	ESI ⁻	571.1 > 507* 571.1 > 357	34	20 28	2
26	Acid red 52	ESI ⁻	557.1 > 513* 557.1 > 433	12	40 46	2
27	Acid violet 9	ESI ⁻	589.1 > 545* 589.1 > 185	42	20 22	2
28	<i>o</i> -Aminotoluene	ESI ⁺	108 > 91* 108 > 65	16	16 24	2
29	Pigment red 4	ESI ⁻	326 > 156* 326 > 172	4	14 22	2
30	Acid orange 6	ESI ⁻	293 > 156* 293 > 213	2	30 18	2
31	Acid red 87	ESI ⁺	648.9 > 200* 648.9 > 416	4	80 50	2
32	Solvent red 73	ESI ⁻	582.8 > 256* 582.8 > 411	4	42 22	2
33	Acid red 51	ESI ⁻	834.5 > 663* 835.5 > 537	8	18 34	20
34	Food red 1	ESI ⁻	435 > 355* 435 > 199	44	28 34	20

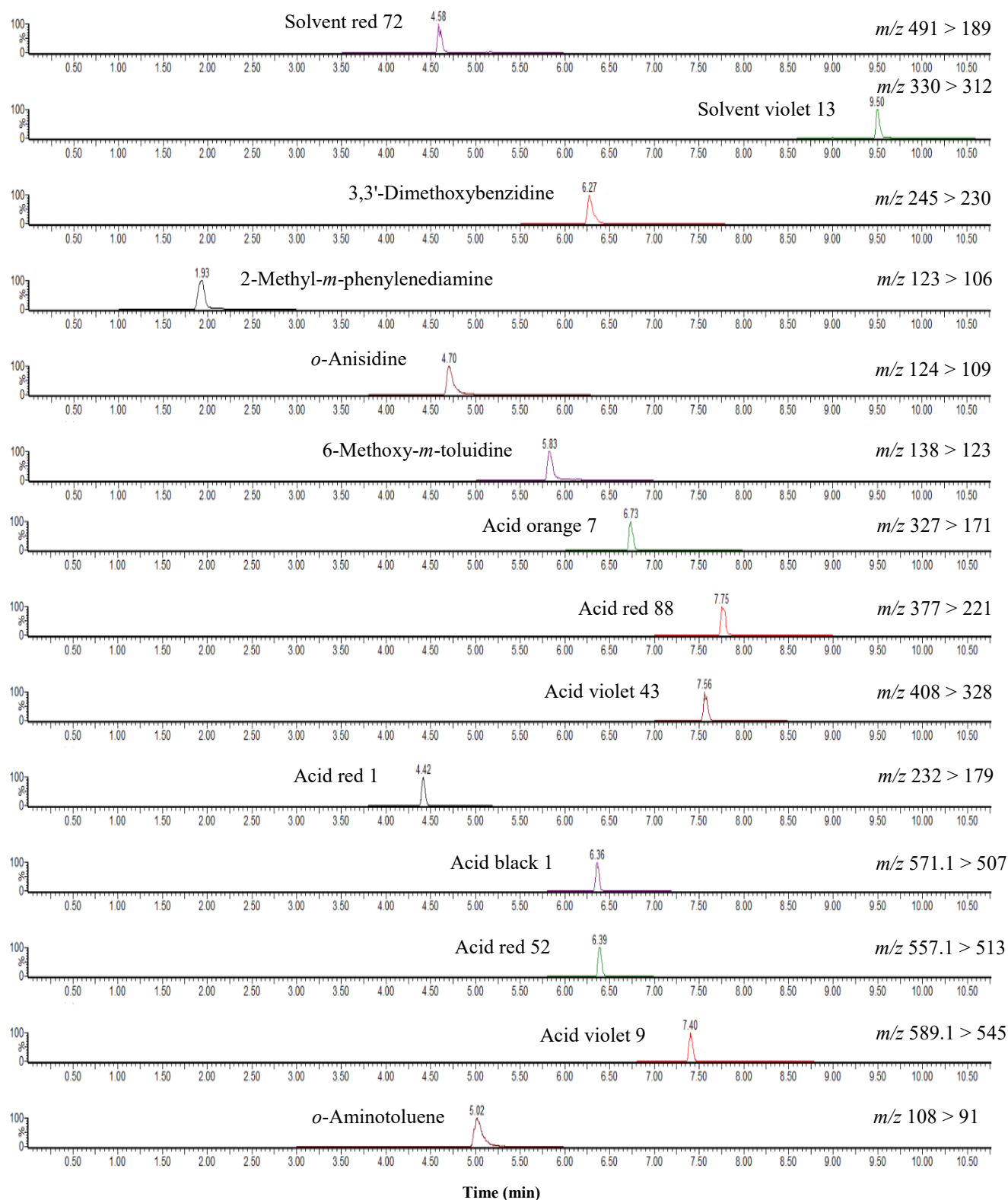
35	Acid red 14	ESI ⁻	457 > 221* 457 > 377	2	62 32	20
36	Food green 3	ESI ⁻	763.1 > 170* 763.1 > 683	4	16 6	20
37	Food yellow 3	ESI ⁻	203 > 107* 203 > 171	4	20 28	20
38	Acid yellow 1	ESI ⁻	313 > 233* 313 > 296	4	20 28	20
39	Pigment red 3	ESI ⁻	306 > 106* 306 > 136	30	25 15	20
40	Aniline	ESI ⁺	94 > 77* 94 > 51	8	14 14	20
41	4-Chloroaniline	ESI ⁺	128 > 93* 128 > 111	32	22 18	20
42	Acid blue 9	ESI ⁻	747.2 > 561* 747.2 > 667	8	46 36	20
43	Acid red 33	ESI ⁻	422 > 249* 422 > 185	4	20 28	40
44	Acid yellow 73	ESI ⁻	331 > 243* 331 > 259	2	24 38	40
45	Food red 17	ESI ⁻	451 > 207* 451 > 371	4	18 18	40
46	Acid red 92	ESI ⁻	784.5 > 705* 784.5 > 661	62	28 18	100
47	Solvent green 7	ESI ⁻	457 > 297* 457 > 233	58	26 38	100
48	Acid green 25	ESI ⁻	577.0 > 497* 577.0 > 417	4	28 38	100
49	Acid yellow 23	ESI ⁻	467 > 198* 467 > 172	10	10 12	100
50	Acid red 18	ESI ⁻	537.0 > 302* 537.0 > 509	40	22 12	100

*定量離子對

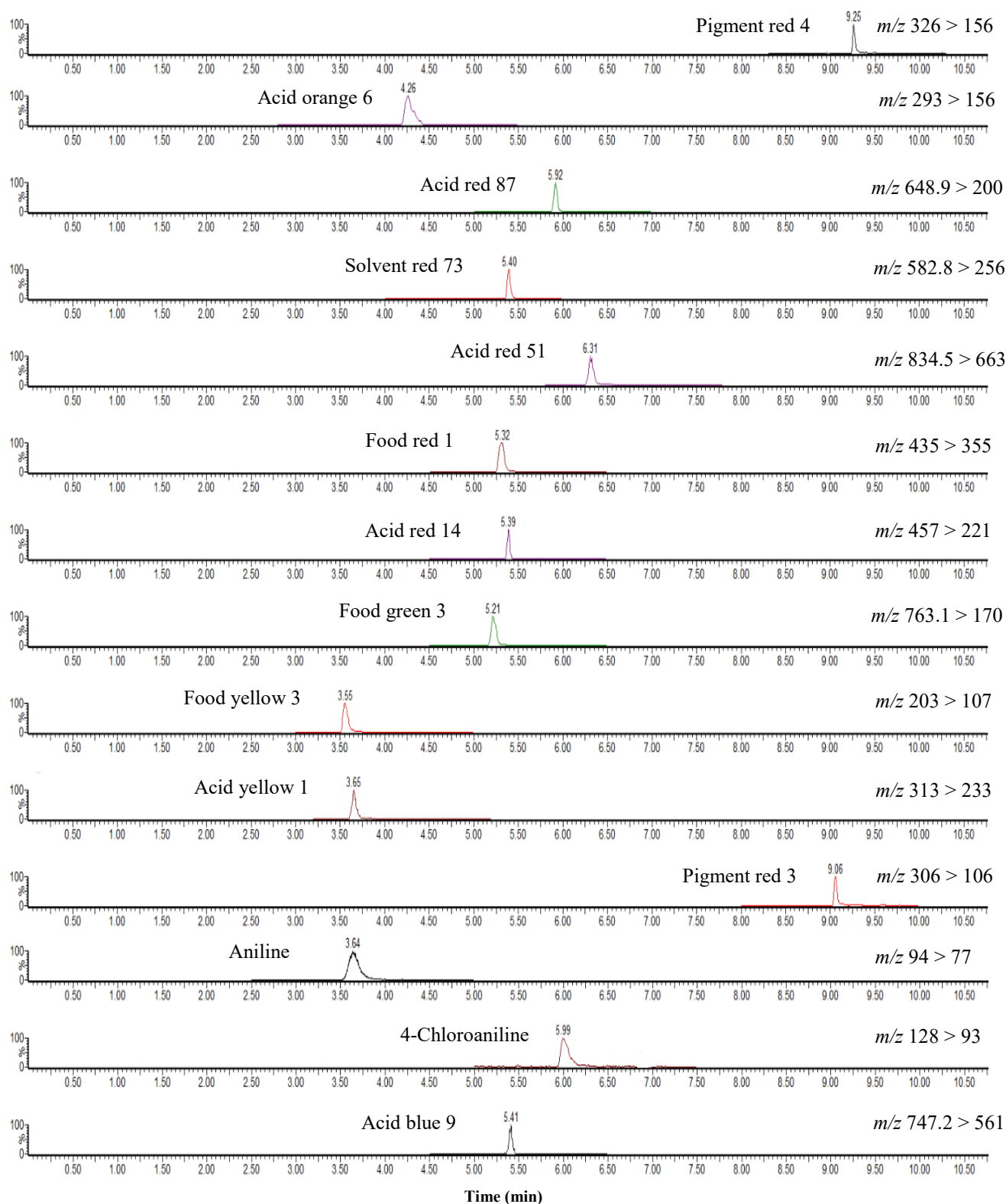
參考層析圖譜



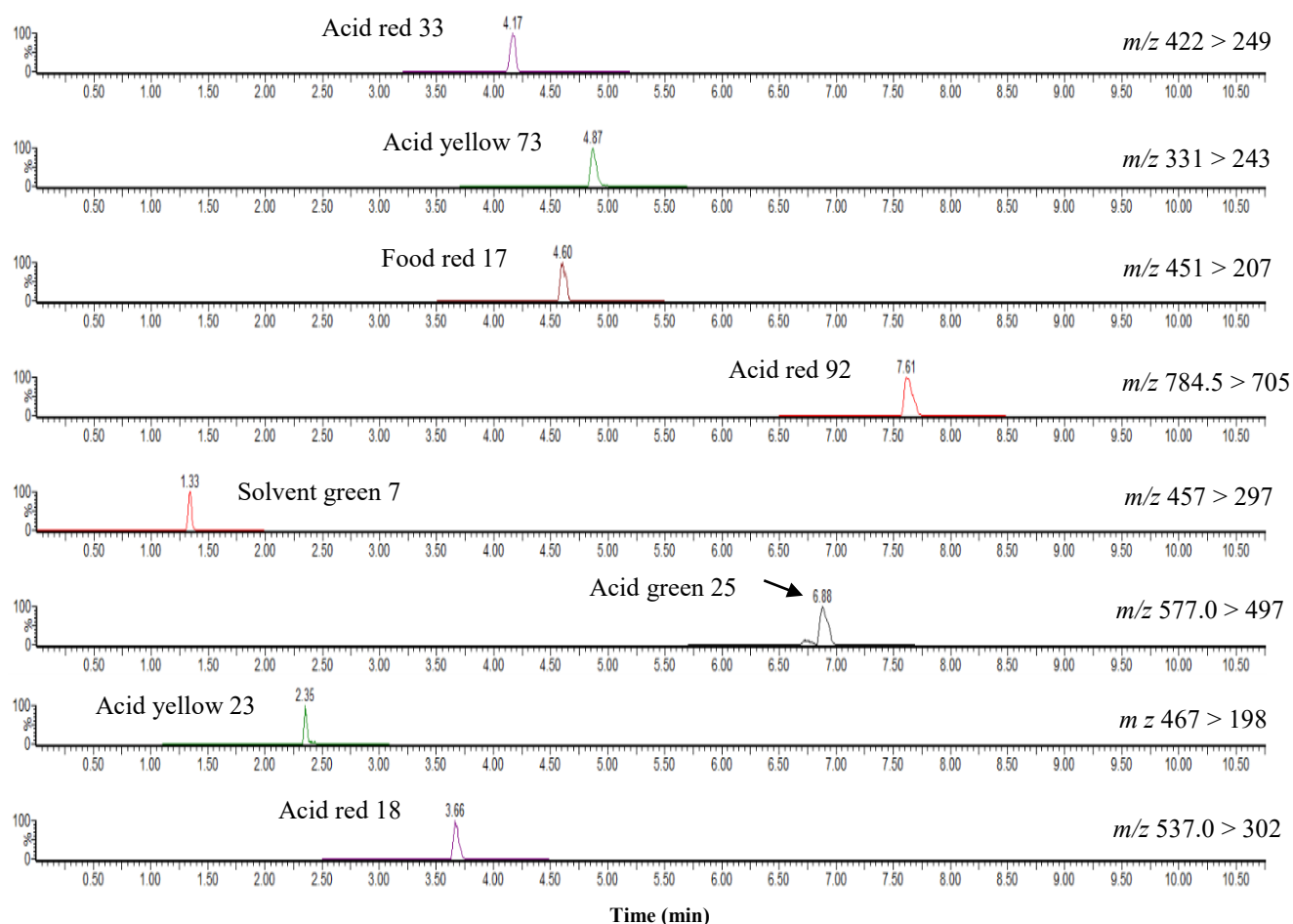
圖、以LC-MS/MS分析rhodamine B等50項化粧品色素標準品之MRM圖譜



圖、以LC-MS/MS分析rhodamine B等50項化粧品色素標準品之MRM圖譜(續)



圖、以LC-MS/MS分析rhodamine B等50項化粧品色素標準品之MRM圖譜(續)



圖、以LC-MS/MS分析rhodamine B等50項化粧品色素標準品之MRM圖譜(續)