

## 化粧品中色素之檢驗方法(二)

### Method of Test for Colorants in Cosmetics (2)

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於化粧品中pigment orange 13等12項色素(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 HSS T3，1.8  $\mu\text{m}$ ，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：異丙醇、乙腈、二甲基亞砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)、二甲苯(xylene)及氯仿均採用液相層析級；甲酸銨及氨水(25%)均採用試藥特級；去離子水(比電阻於25°C可達18 M $\Omega$ ·cm以上)；pigment orange 13等12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  $\mu\text{m}$ ，PTFE材質。
  - 2.4. 萃取溶液之調製：

取DMSO、二甲苯與氯仿以7：2：1 (v/v/v)比例混勻。
  - 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，以氨水調整pH值至9，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：

取異丙醇與乙腈以2：8 (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，分別以適當溶劑(如附表一)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<sup>(註1)</sup>鑑別之，並依下列計算式求出檢體中各色素之含量(%)：

$$\text{檢體中各色素之含量(\%)} = \frac{C \times V}{M} \times 10^{-4}$$

C：由標準曲線求得檢液中各色素之濃度(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<sup>(註2)</sup>：

層析管：ACQUITY HSS T3，1.8 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	90 → 40	10 → 60
3 → 6	40 → 0	60 → 100
6 → 14	0 → 0	100 → 100
14 → 14.5	0 → 90	100 → 10
14.5 → 16	90 → 90	10 → 10

移動相流速：0.4 mL/min。

注入量：3 μL。

毛細管電壓(Capillary voltage)：2.9 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

( $\leq 100\%$ )，容許範圍如下：

相對離子強度(%)	容許範圍(%)
> 50	$\pm 20$
> 20~50	$\pm 25$
> 10~20	$\pm 30$
$\leq 10$	$\pm 50$

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。

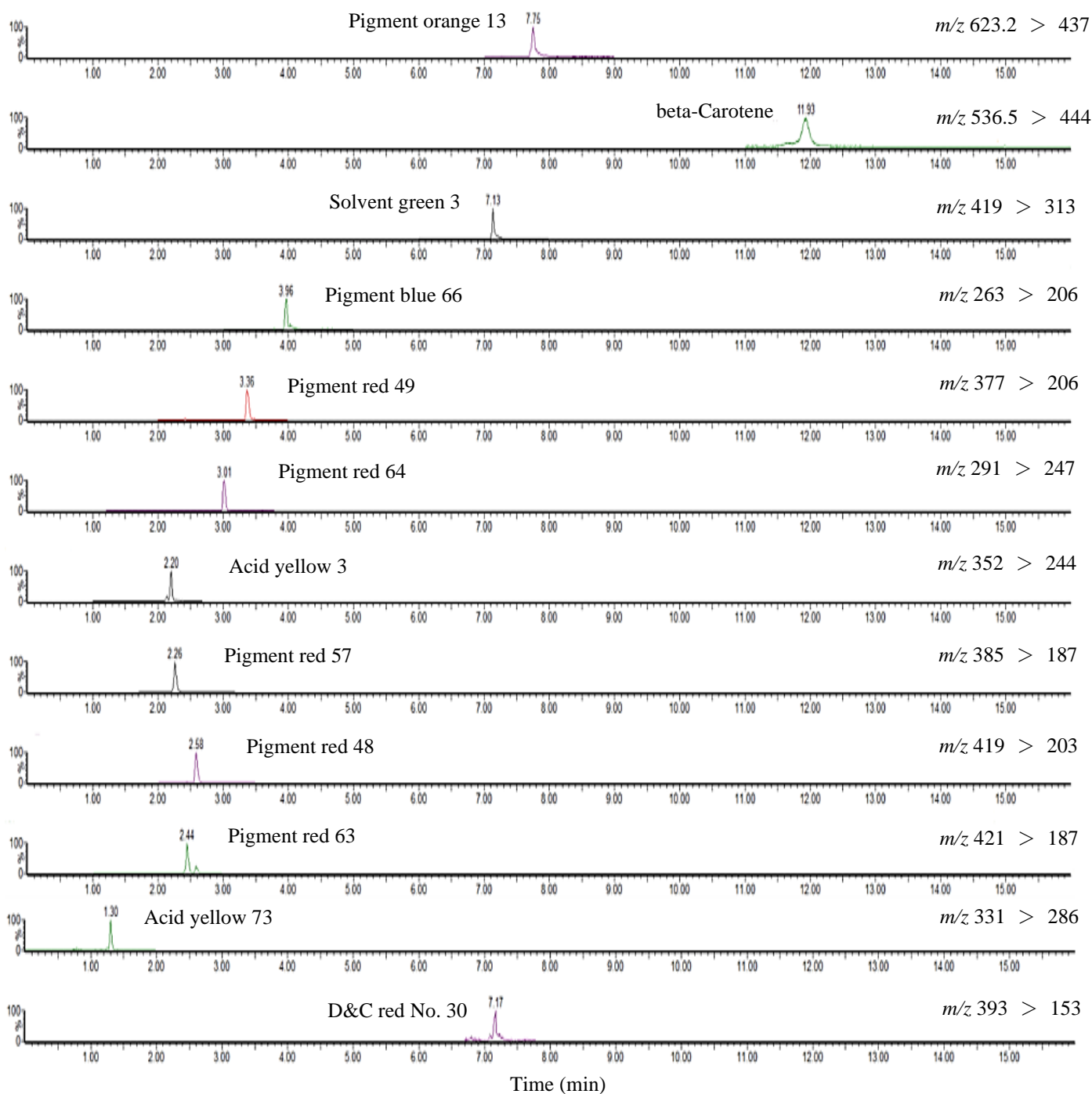
附註：1. 本檢驗方法之定量極限如附表二。

2. 檢體中有影響檢驗結果之物質時，應自行探討。

參考文獻：

1. Guerra, E., Celeiro, M., Lamas, J. P., Llompart, M. and Garcia-Jares, C. 2015. Determination of dyes in cosmetic products by micro-matrix solid phase dispersion and liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. J. Chromatogr. A 1415: 27-37.
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.

### 參考層析圖



圖、以LC-MS/MS分析pigment orange 13等12項化粧品色素之MRM圖譜

附表一、Pigment orange 13等12項化粧品色素之標準溶液濃度範圍

項次	分析物	Color index number	標準原液配製溶劑	濃度範圍 (µg/mL)
1	Pigment orange 13	CI 21110	氯仿	0.01~0.1
2	beta-Carotene	CI 40800	DMSO	
3	Solvent green 3	CI 61565	DMSO	
4	Pigment blue 66	CI 73000	DMSO	
5	Pigment red 49	CI 15630	DMSO	0.2~2.0
6	Pigment red 64	CI 15800	DMSO	
7	Acid yellow 3	CI 47005	甲醇	
8	Pigment red 57	CI 15850	DMSO	0.5~5.0
9	Pigment red 48	CI 15865	DMSO	
10	Pigment red 63	CI 15880	DMSO	
11	Acid yellow 73	CI 45350	甲醇	
12	D&C red No. 30	CI 73360	二甲苯	

附表二、Pigment orange 13等12項化粧品色素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		進樣錐 電壓 (V)	碰撞 能量 (eV)	定量 極限 (%)
			前驅離子(m/z)	> 產物離子(m/z)			
1	Pigment orange 13	ESI <sup>+</sup>	623.2	> 437* > 250	70	26 46	0.00002
2	beta-Carotene	ESI <sup>+</sup>	536.5	> 444* > 105	36	16 66	0.00002
3	Solvent green 3	ESI <sup>+</sup>	419	> 313* > 401	56	24 26	0.00002
4	Pigment blue 66	ESI <sup>-</sup>	263	> 206* > 235	50	20 28	0.00002
5	Pigment red 49	ESI <sup>-</sup>	377	> 206* > 297	48	28 18	0.0004
6	Pigment red 64	ESI <sup>-</sup>	291	> 247* > 142	26	14 26	0.0004
7	Acid yellow 3	ESI <sup>-</sup>	352	> 244* > 259	64	26 38	0.0004
8	Pigment red 57	ESI <sup>-</sup>	385	> 187* > 170	44	22 26	0.001
9	Pigment red 48	ESI <sup>-</sup>	419	> 203* > 139	50	16 30	0.001
10	Pigment red 63	ESI <sup>-</sup>	421	> 187* > 269	50	28 20	0.001
11	Acid yellow 73	ESI <sup>-</sup>	331	> 286* > 243	42	28 30	0.001
12	D&C Red No. 30	ESI <sup>+</sup>	393	> 153* > 89	25	14 18	0.001

\*定量離子對