

## 化粧品中蘇丹色素之檢驗方法

### Method of Test for Sudan Dyes in Cosmetics

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於化粧品中蘇丹一號(Sudan I, CI 12055)、蘇丹二號(Sudan II, CI 12140)、蘇丹三號(Sudan III, CI 26100)及蘇丹四號(Sudan IV, CI 26105)等4項蘇丹色素之檢驗。
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  $\mu\text{m}$ ，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：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 $\Omega$ ·cm以上)；蘇丹一號、蘇丹二號、蘇丹三號及蘇丹四號對照用標準品；蘇丹一號-d<sub>5</sub> (Sudan I -d<sub>5</sub>)、蘇丹二號-d<sub>6</sub> (Sudan II-d<sub>6</sub>)、蘇丹三號-d<sub>6</sub> (Sudan III-d<sub>6</sub>)及蘇丹四號-d<sub>6</sub> (Sudan IV-d<sub>6</sub>)同位素內部標準品。
  - 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. 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. 內部標準溶液之配製：

取蘇丹一號-d<sub>5</sub>、蘇丹二號-d<sub>6</sub>、蘇丹三號-d<sub>6</sub>及蘇丹四號-d<sub>6</sub>同位素內部標準品適量，分別以萃取溶液溶解並定容至10 mL，作為內部標準原液，冷藏貯存。臨用時取適量各內部標準原液混合，以萃取溶液稀釋至0.5 µg/mL，供作內部標準溶液。

#### 2.7 標準溶液之配製：

取蘇丹一號、蘇丹二號、蘇丹三號及蘇丹四號對照用標準品適量，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，以萃取溶液稀釋至0.01~0.2 µg/mL(含內部標準品濃度0.05 µg/mL)，供作標準溶液。

#### 2.8 檢液之調製：

將檢體混勻，取約1 g，精確稱定，加入內部標準溶液2 mL及萃取溶液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。

#### 2.9 標準曲線之製作：

精確量取標準溶液各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，就各蘇丹色素與其內部標準品波峰面積比，與對應之各蘇丹色素濃度，分別製作標準曲線。

液相層析串聯質譜分析條件<sup>(註1)</sup>：

層析管：ACQUITY BEH Shield RP18，1.7 µm，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  $\mu$ 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)。

偵測離子對、進樣錐電壓(cone voltage)與碰撞能量(collision energy)如下表。

項次	分析物	離子化 模式	離子對	進樣錐 電壓 (V)	碰撞 能量 (eV)
			前驅離子( $m/z$ )> 產物離子( $m/z$ )		
1	Sudan I	ESI <sup>+</sup>	249 > 128* 249 > 156	12	22 10
2	Sudan II	ESI <sup>+</sup>	277 > 156* 277 > 260	18	12 8
3	Sudan III	ESI <sup>+</sup>	353 > 197* 353 > 156	32	16 22
4	Sudan IV	ESI <sup>+</sup>	381 > 91* 381 > 224	30	40 14
5	Sudan I- d <sub>5</sub> (I.S.)	ESI <sup>+</sup>	254 > 156	12	10
6	Sudan II-d <sub>6</sub> (I.S.)	ESI <sup>+</sup>	283 > 162	18	12
7	Sudan III-d <sub>6</sub> (I.S.)	ESI <sup>+</sup>	359 > 162	32	22
8	Sudan IV-d <sub>6</sub> (I.S.)	ESI <sup>+</sup>	387 > 225	30	14

\*定量離子對

註1：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。

## 2.10 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2.9節條件進行分析。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2)</sup>鑑別之，並依下列計算式求出檢體中各蘇丹色素之含量(µg/g)：

$$\text{檢體中各蘇丹色素之含量}(\mu\text{g/g}) = \frac{C \times V}{M}$$

C：由標準曲線求得檢液中各蘇丹色素之濃度(µg/mL)

V：檢體最後定容之體積(mL)

M：取樣分析檢體之重量(g)

註2：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

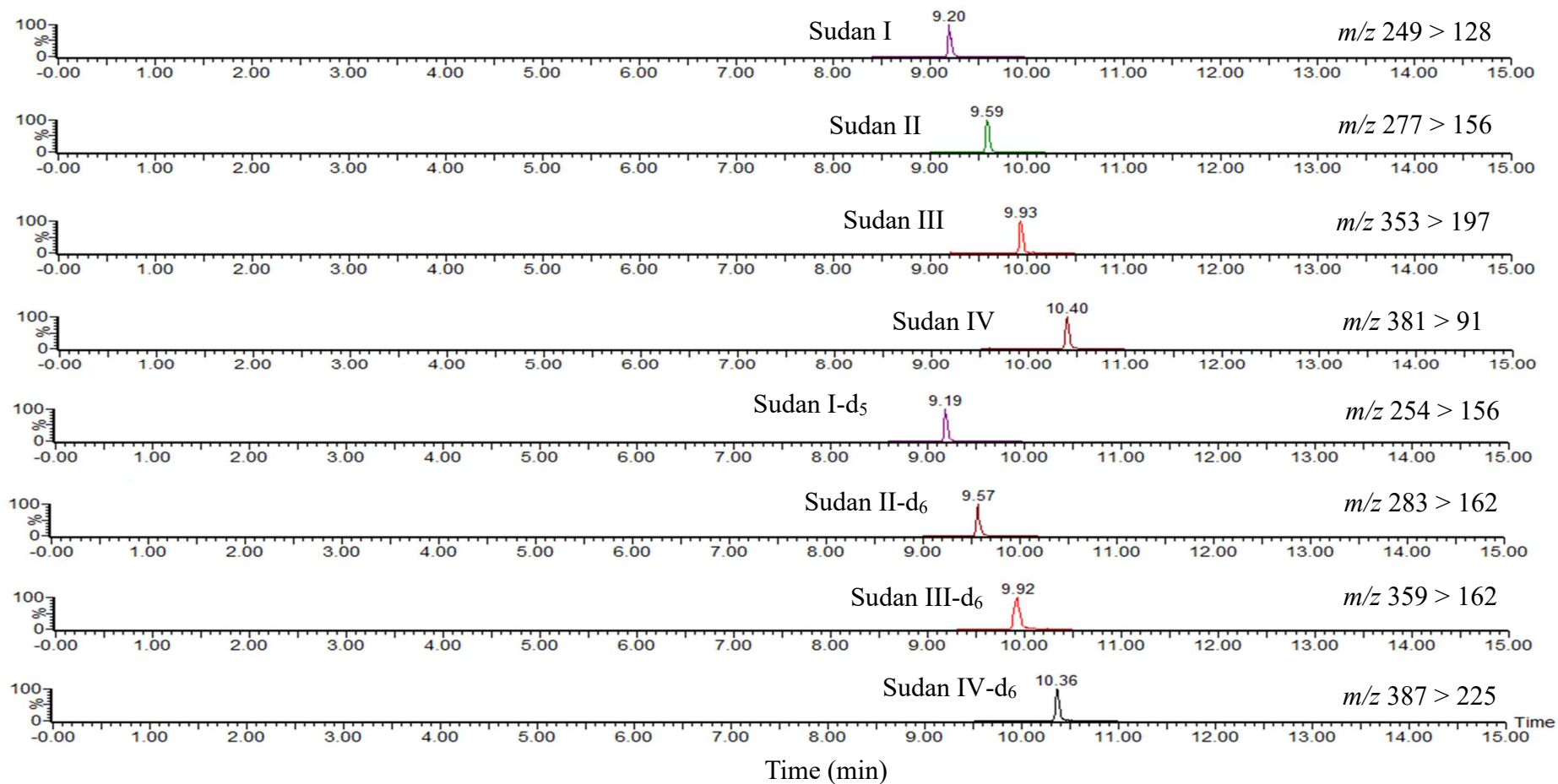
附註：1. 本檢驗方法之定量極限均為0.2 µg/g。

2. 檢體中有影響檢驗結果之物質時，應自行探討。

## 參考文獻：

Tsai, C.F., Kuo, C.H. and Shih, Y.C. 2015. Determination of 20 synthetic dyes in chili powders and syrup-preserved fruits by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. J Food Drug Anal. 23: 453 462.

## 參考層析圖



圖、以 LC-MS/MS 分析化粧品中 Sudan I 等 4 項蘇丹色素標準品及 Sudan I-d<sub>5</sub> 等 4 項同位素內部標準品之 MRM 圖譜