

MALDI-TOF MS“MALDI-7090”を用いた 高エネルギーCID MS/MSによる化粧品中 顔料の確認

S. Salivo¹、西風隆司
¹KRATOS ANALYTICAL LTD.

ユーザーベネフィット

- ◆ 煩雑な手順や過剰量の溶媒を必要とせず、最小限の試料調製で測定が可能です。
- ◆ 高エネルギーCID MS/MSを使用して化粧品中の顔料の存在を確認することができます。
- ◆ 高い質量精度と分解能により、信頼性の高い顔料の同定確認が行えます。



■はじめに

化粧品は成長性の高い巨大産業であり、2024年にはおよそ8630億米ドルに達すると推定されています¹⁾。化粧品には、主にスキンケア、ヘアケア、メイクアップの3つの分野があります。色は、消費者にとっての魅力を決定し、身体イメージに対する自信を高めるため、化粧品が成功するための基本的な特性と捉えられています。

顔料は化粧品（メイクアップ）の着色剤として使われています。それらは、一部水溶性かつ混和性の「遊離型」として存在するか、水に溶けない塩の誘導体で、化粧品に長持ちする性質を与える「レーキ」として存在しています。

欧州では、顔料はその固有のカラーインデックス (CI) 番号を製品ラベルに表示することを義務づけた欧州化粧品規制 (EC 1223/2009) によって規制されています (表1)。安全性だけでなく、生活習慣や食生活に基づいた原材料の起源にも左右されるため、分析によって確認することが重要です。

例えば、ビーガン/ハラル市場は動物由来の顔料の使用を禁止しています。これらの中には、コチニールカイガラムシの体から抽出される強い赤色顔料であるCarmineがあります (図1)。

Carmineは、このような文化的問題のほかに、アレルギーであるという問題もあります。ビーガン/ハラル市場とは対照的に、オーガニックマーケットにおいてはCarmineのような天然（動物）ベースの顔料の使用を制限することはありませんが、顔料の由来が認証されている必要があります。このため、化粧品等の特定の顔料の有無を確認することは重要です。

分析技術の選択は、試料をどの程度詳細に特徴づける必要があるかに基づいています。MALDI-TOF MSは、単純性、堅牢性および費用対効果に関して利点があります。しかしながら、試料の複雑さや同定の信頼度によっては、MS/MSが必要となる場合もあります。

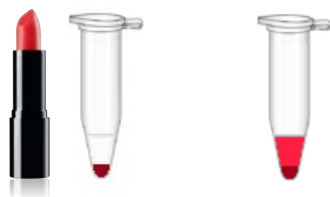
ここでは、MS/MSを用いて口紅中の顔料を同定する目的に対する、MALDI-7090 (MALDI-TOF-TOF質量分析計) の能力を評価しました。MALDI-8030 (図2) で以前に得られたMSプロファイル*に基づいて、口紅材料からの顔料の抽出と負イオンモードでの高エネルギーCID MS/MS分析からなる簡単に迅速な方法を提案します。

*別途当社アプリケーションニュース12-MO-484-JPをご覧ください。



図1 Carmine 顔料
(カーマイン、カーミン、カルミンと訳す場合もある)

シンプルな サンプル調製



- 溶媒添加
- 超音波 (30分)
- 遠心

シンプルなMS プロファイリング, 高速 MS/MS 構造同定



MALDI-8030
Dual polarity
卓上リニア型
MALDI-TOF











- MALDI-MS 分析
(負イオンモード)



MALDI-7090
MALDI-TOF-TOF

- 高エネルギー CID MS/MS 分析
(負イオンモード)

表1 ヨーロッパで化粧品への使用が認可されている代表的な顔料

一般名	カラーインデックス (CI)	色
YELLOW 5 LAKE	19140	
YELLOW 6 LAKE	15985	
RED 6	15850	
RED 7	15850:1	
RED 22 LAKE	45380	
RED 27	45410:1	
RED 28 LAKE	45410:2	
RED 36	12085	
CARMINE	75470	
BLUE 1 LAKE	42090	

■ サンプルと測定条件

以下の市販ブランド口紅サンプルを英国で購入しました。

- ✓ 非ビーガン/非オーガニック 2種
- ✓ オーガニック (非ビーガン) 1種
- ✓ ビーガン/ハラール (非オーガニック) 1種

顔料標準品としてYellow 6、Yellow 5、Carmineをメルクライフサイエンス社から購入しました。また、Red 7およびRed 36は東京化学工業 (TCI) から購入しました。これらを水/メタノール (1:1) 溶媒中に濃度 1 mg/mLで溶解したものを顔料標準品のストック溶液としました。CI 12085/Red 36はジクロロメタンを溶媒として使用しました。

サンプル調製ワークフローを図2に示しました。口紅サンプルをマイクロ遠心管に入れ、50 µLの水/メタノール (1:1)、またはジクロロメタンを加えました。溶媒が着色し濁るまで、少なくとも30分間超音波処理により顔料抽出を行いました。この超音波プロセスは、ワックス/オイル媒体から懸濁液への顔料の移動を容易にします。遠心分離後、抽出した顔料を含む溶液を分析のために回収しました。

試料はマトリックスとして9-Aminoacridine (9-AA、10 mg/mL メタノール溶液) とともにMALDIプレートに滴下しました。同位体分布を知るために、MALDI-8030を用いて負イオンモード測定を行いました (MS¹データ省略: 別途アプリケーションニュース12-MO-484-JPをご参照ください)。試料中の顔料種を同定するため、標準顔料品及び口紅試料についてMALDI-7090で負イオンモード高エネルギーCID MS/MS分析を行い、得られたMS/MSスペクトルを顔料標準品と口紅試料と比較しました。

■ 非ビーガン/非オーガニック口紅の高エネルギーCID MS/MS分析結果

4つの市販口紅のラベルに記載されている顔料の要約を、顔料の検出/不検出とそれらをどう確認したかも含めて表2に示しました。化粧品メーカーはさまざまな異なる色調の製品をシリーズ展開することがありますが、同一の成分/顔料がシリーズ全体にラベル表示されている場合があります。この場合、特定の色調の製品にはラベルされている顔料のいくつかが存在しないこともあります。

臭素及び塩素元素が非常に明確な同位体分布を与えるRed 22 及び Red 28については、MS¹スペクトルにおける理論同位体分布との一致度をもって同一であると判断しました (データ省略: 別途アプリケーションニュース12-MO-484-JPをご参照ください)。他の顔料に関しては、標準品と試料のMS/MSスペクトルを比較して、同定を行いました。

表2 市販4種類の口紅の成分表に記載されている顔料リスト

非ビーガン/非オーガニック 口紅 1		
+/- 成分 "May Contain" *	検出/不検出	確認手法
CI 45380 / RED 22 LAKE	YES	a
CI 15850 / RED 7	YES	b
CI 15985 / YELLOW 6 LAKE	YES	b
CI 45410 / RED 28 LAKE	NO	-
CI 19140 / YELLOW 5 LAKE	NO	-
CI 42090 / BLUE 1 LAKE	NO	-
CI 75470 / CARMINE	NO	-

非ビーガン/非オーガニック 口紅 2		
+/- 成分 "May Contain" *	検出/不検出	確認手法
CI 45410 / RED 28 LAKE	YES	a
CI 15850 / RED 7	YES	b
CI 15985 / YELLOW 6 LAKE	YES	b
CI 19140 / YELLOW 5 LAKE	YES	b
CI 45380 / RED 22 LAKE	NO	-
CI 42090 / BLUE 1 LAKE	NO	-
CI 75470 / CARMINE	NO	-

オーガニック (非ビーガン) 口紅 3		
成分	検出/不検出	確認手法
CI 75470 / CARMINE	YES	b

ビーガン/ハラール (非オーガニック) 口紅 4		
成分	検出/不検出	確認手法
CI 15850:1	YES	b
CI 12085	YES	b

* "May Contain"制度: 一種の化粧品を複数の色違いシリーズで展開する場合、その顔料成分を一括してラベル表示しても良いとする制度。ラベルに表示されている顔料であっても、化粧品の色調によってはいくつかの顔料が含まれない場合があります。
a; MS¹スペクトルの同位体分布によって確認されたもの (MALDI-8030)。
b; MS/MSスペクトルによって確認されたもの (MALDI-7090)。

口紅1 (非ビーガン/非オーガニック) では、以下の顔料の存在が高エネルギーCID MS/MS分析によって確認されました。

- ✓ CI 15850/Red 7 (m/z 385.049; 図3 A)
- ✓ CI 15985/Yellow 6 Lake (m/z 407.001; 図3 B)

図3のそれぞれの挿入図は、対応する顔料標準品の負イオンモード MS/MSスペクトルを示しています。このように、標準品と試料との間には高い類似性があり、顔料種の同一性を正確に確認することができます。すべてのフラグメントイオンはASDF™ (軸方向空間分布集束) により、隣接する同位体イオンピークを分離して観測できます²⁾。

CI 15850/Red 7顔料 (図3 A) では、標準品のMS/MSスペクトルでは検出されなかったフラグメントイオン (m/z 192, 326) が口紅中からは検出されました。これは、顔料と同じ m/z を有するアイソバリックな他のイオンが共存しており、それが共断片化している可能性を示唆しています。しかし、フラグメンテーションパターンとイオン強度比が全体的に一致していることから、同定の障害にはなりません。同様の考察をCI 15985/Yellow 6 Lake (図3 B) にも適用することができます。口紅1から検出された m/z 363でのフラグメントが、対応する顔料標準品の負イオンMS/MSスペクトルでは検出されませんでした。

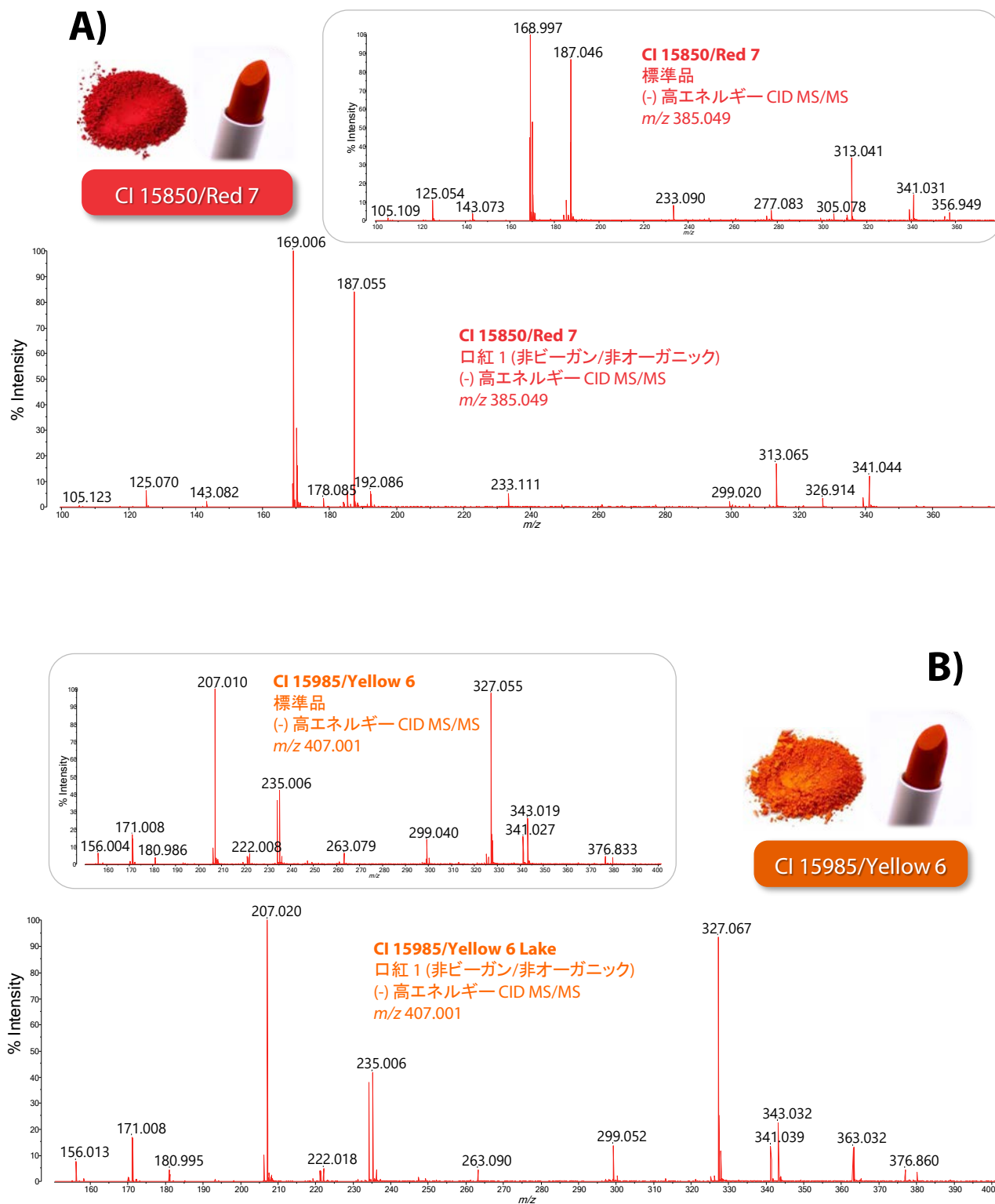


図3 口紅1 (非ビーガン/非オーガニック) における A) CI 15850/Red 7 (m/z 385.049) と B) CI 15985/Yellow 6 Lake (m/z 407.001)の負イオンモード高エネルギーCID MS/MSスペクトル。A) 及びB)の挿入図は対応する顔料標準品の負イオンモード高エネルギーCID MS/MSスペクトルを示す。

口紅2 (非ビーガン/非オーガニック) では、以下の顔料の存在が高エネルギーCID MS/MS分析によって確認されました。

- ✓ CI 15850/Red 7 (m/z 385.049; データ省略)
- ✓ CI 15985/Yellow 6 Lake (m/z 407.001; データ省略)
- ✓ CI 19140/Yellow 5 Lake (m/z 466.997; 図4)

標準品と比較して、口紅中のCI 19140/Yellow 5 Lakeの負イオンMS/MSスペクトルの強度が低いことは、顔料が少量しか存在していないことを示しています。このような場合でも、高いMS/MS感度を有するMALDI-7090は、同定の鍵となる顔料フラグメントを含む良好なスペクトルを与えました。

■オーガニック(非ビーガン)口紅の高エネルギーCID MS/MS分析結果

図5に口紅3 (オーガニック (非ビーガン)) に含有されるCI 75470/Carmines顔料 (m/z 491.083) の負イオンモード高エネルギーCID MS/MSスペクトルを示しました。口紅試料中のCarminesのフラグメンテーションパターンは対応する標準品のものとも一致しました。Carminesはイスラム宗教では「ハラーム (禁忌)」または許容されないと考えられているので³⁾、Carminesが存在しないと確認することは、このような特定の市場においては特に重要です。

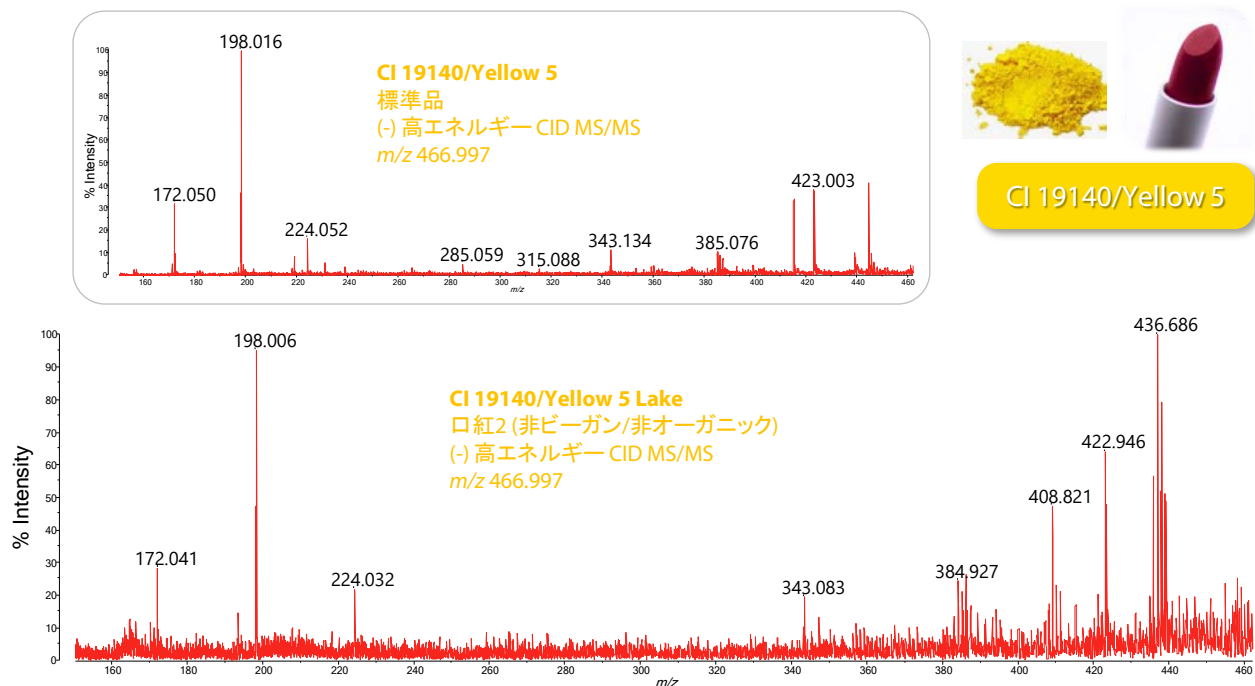


図4 口紅2 (非ビーガン/非オーガニック) におけるCI 19140/Yellow 5 Lake (m/z466.997) の負イオンモード高エネルギーCID MS/MSスペクトル。挿入図は、対応する顔料標準品の負イオンモードMS/MSスペクトルを示す。

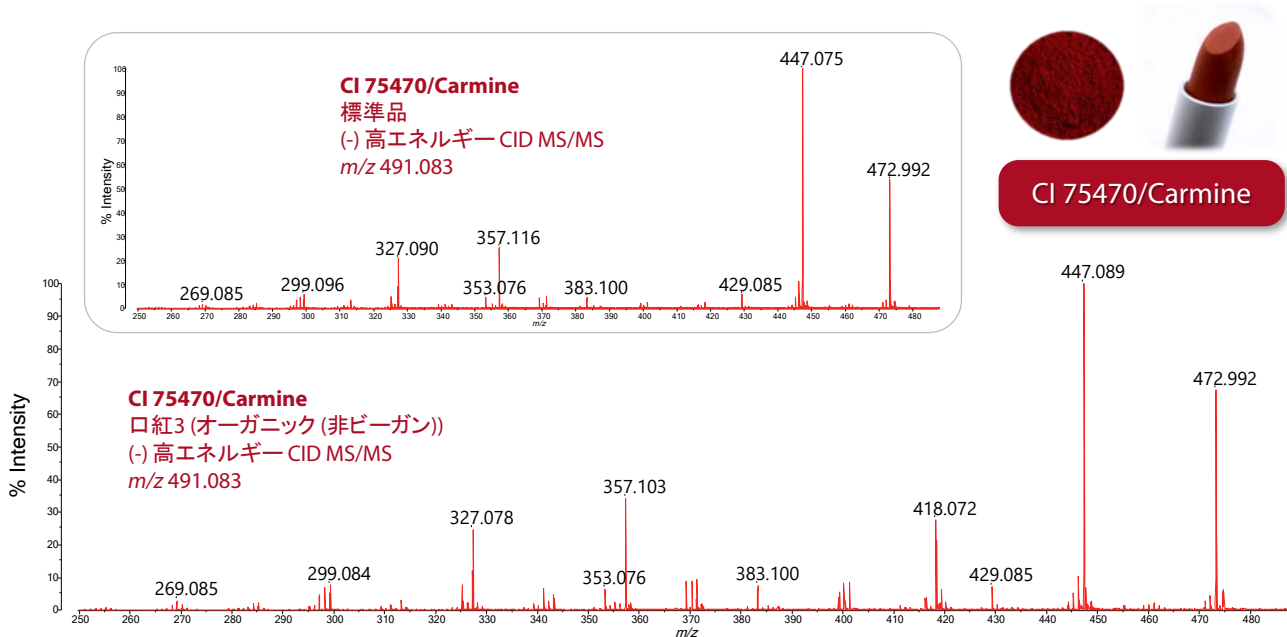


図5 口紅3 (オーガニック (非ビーガン)) におけるCI 75470/Carmines (m/z491.083) の負イオンモード高エネルギーCID MS/MSスペクトル。挿入図は、対応する顔料標準品の負イオンモードMS/MSスペクトルを示す。

■ビーガン/ハラール（非オーガニック）口紅の高エネルギーCID MS/MS分析結果

ビーガン/ハラール（非オーガニック）口紅4については、以下の顔料が高エネルギーCID MS/MS分析によって確認されました。

- ✓ CI 15850/Red 7 (m/z 385.049; データ省略)
- ✓ CI 12085 (m/z 326.034; 図6)

図6の挿入図は、対応する顔料標準品の負イオン高エネルギーCID MS/MSスペクトルを示しています。高い信頼性で顔料の同一性を確認することができました。

■まとめ

本アプリケーションニュースでは、化粧品中の顔料を構造同定する目的におけるMALDI-7090の能力を示しました。ここに示した例は、様々な市場（例えばビーガン/ハラール、オーガニック、非ビーガン/非オーガニック）の代表例と言えます。

様々な文化的バックグラウンドにその化粧品が適合しているかどうかを確かめる目的においては、シンプルな顔料抽出法とMALDI-7090の高分解能MS/MS能力の組み合わせは、高い確度で化粧品中の顔料を同定できる迅速で信頼性の高い分析ソリューションと言えます。

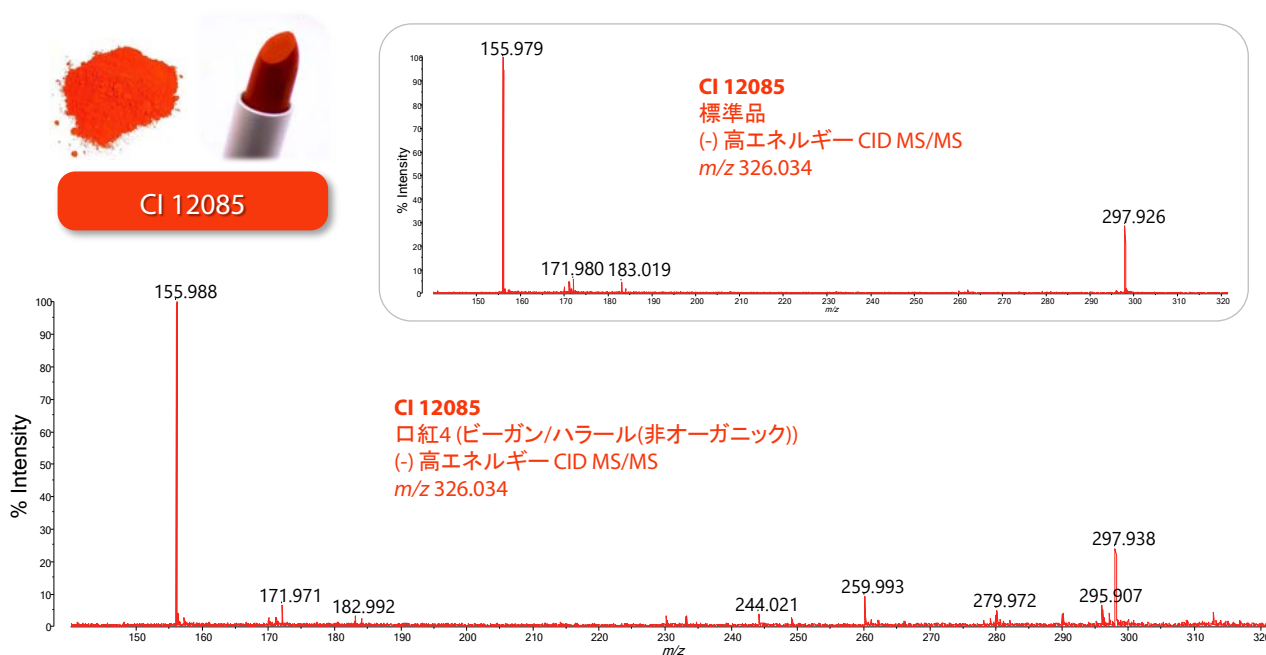


図6 口紅4 (ビーガン/ハラール (非オーガニック)) におけるCI 12085 (m/z 326.034) の負イオンモード高エネルギーCID MS/MSスペクトル。挿入図は、対応する顔料標準品の負イオンモードMS/MSスペクトルを示す。

■文献

- 1) Zion Market Research. 2018. 'A Global Cosmetic Products Market Size, Share 2017: Industry Trends, Growth Analysis and Forecast, 2024.' [online]. [Accessed 20 December 2020]. Available from: <http://www.globenewswire.com/news-release/2018/06/22/1528369>.
- 2) Belgacem, O., Pittenauer, E., Openshaw, M.E., Hart, P.J., Bowdler, A., Allmaier, G., 2016. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 30(3):343-51. doi: 10.1002/rcm.7458.
- 3) Riaz, M.N. and Chaudry, M.M., 2018. 30 Halal Food Model. Handbook of Halal Food Production, p.30.