

化粧品中色素檢驗方法之建立

陳信豪 黃秋羽 鄧書芳 林美智 曾素香 王德原

衛生福利部食品藥物管理署研究檢驗組

摘 要

本研究係利用液相層析串聯質譜儀(Liquid Chromatograph/tandem Mass Spectrometer, LC-MS/MS)建立一簡單、快速的方法，可同時分析化粧品中Acid blue 62 等13項色素。檢體以含0.1%氨水之二氯甲烷：甲醇(2: 8, v/v)溶液萃取，經超音波振盪30分鐘後定容，經濾膜過濾後，以LC-MS/MS進行分析。使用ACQUITY BEH Shield RP 18層析管柱，並採用10 mM甲酸銨溶液及甲醇：乙腈(1: 1, v/v)溶液作為移動相進行梯度沖提；利用電灑游離法(Electrospray Ionization, ESI)，搭配多重反應偵測模式(Multiple Reaction Monitoring, MRM)，可於15分鐘完成分析。於空白唇膏基質中添加標準品溶液(依各成分之分析範圍添加濃度介於0.2-50 µg/g)，進行連續3日5重複之回收率試驗，其平均回收率為87.7-113.2%，變異係數均小於9.4%，基質之離子增強或抑制效應皆小於19.54%。本檢驗方法可應用於上市後產品之監測，以確保消費者之健康安全。

關鍵詞：液相層析串聯質譜儀、化粧品、色素

前 言

色素在化粧品中扮演重要的角色，使化粧品具有吸引力，色素用途廣泛，應用於食品、玩具、塑料、藥品或化粧品等。化粧品色素被添加於個人護理的產品中，主要目的為提供皮膚、指甲、頭髮甚至是睫毛著色以修飾容貌⁽¹⁾。色素種類繁多，現今已有10,000種以有機或無機化合物之化學品，而其分類方式可根據其結構、來源、顏色、溶解度及應用進行分類。依照溶解度可分為顏料(Pigment)及染料(Dye)，顏料一般是不溶於水和有機溶劑之色素，僅會均勻分散或懸浮，常被添加於眼影、牙膏及修飾彩粧品中。按材質可簡單分成無機顏料、有機顏料及金屬顏料等；染料根據

溶解性可分為水溶性染料及油溶性染料，油溶性染料所合成的有機化合物，主要用於個人護理產品中像乳液或洗髮精等^(2,3)。色素的分類主要根據顏色指數(Colour Index, CI)所編號，是由五個數字所組全球共同使用的代碼，用於識別這些物質⁽⁴⁾。依據我國化粧品衛生安全管理法，訂定化粧品色素使用限制表，規定化粧品可使用的色素成分及使用範圍：第1類為所有化粧品均可使用(Colorants allowed in all cosmetic products)；第2類：限用於非接觸眼部周圍之化粧品(Colorants allowed in all cosmetic products except those intended to be applied in the vicinity of the eyes)；第3類：限用於非接觸黏膜之化粧品(Colorants allowed exclusively in cosmetic products intended not to come into

contact with the mucous membranes)；第4類：限用於用後立即洗去之化粧品(Colorants allowed exclusively in cosmetic products intended to come into contact only briefly with the skin)，共152項色素⁽⁵⁾，另也載列19項成分，不適用已於歐美日等三國家地區之任何其中一個國家地區官方公告其使用基準即得參照該基準規定准予使用之規定，為化粧品不可用色素。

為有效監控化粧品產品之品質，衛生福利部食品藥管理署(下稱食藥署)積極建置化粧品色素之檢驗方法，已陸續完成載列於化粧品色素使用限制表中共53項色素之檢驗方法，並公開於食藥署網站，111年持續就法規品項建立檢驗方法，以Acid blue 62等13項色素為方

法開發對象，13項色素皆屬染料，相關資訊彙整於表一。本研究13項色素中，有12項係列載於我國「化粧品色素成分使用限制表」內，為化粧品可使用的色素成分，另Pigment red 53 (CI 15585)則收載於歐盟化粧品法規附錄二(Regulation (EC) No 1223/2009 Annex II)之化粧品禁止使用物質列表內，因於111年曾發生泰國知名美粧品牌口紅於泰國境內遭檢出含有該歐盟禁用色素成分之國際輿情事件，且於雄性大鼠之長期餵養實驗中，導致動物脾臟肉瘤，疑有致癌風險⁽⁶⁾，已分別於1988與1992年被美國及歐盟公告禁止使用於化粧品中，故一併納入本研究中進行方法開發。

化粧品基質複雜且產品中常使用多種色

表一、13項色素之法規使用範圍及限制規定

編號	Color Index Number	別名	使用範圍				限制規定
			1 所有化粧品均可使用	2 限用於非接觸眼部周圍之化粧品	3 限用於非接觸黏膜之化粧品	4 限用於用後立即洗去之化粧品	
1	CI 62045	Acid blue 62				●	限量5 ppm
2	CI 42520	Basic violet 2				●	
3	CI 12700	Disperse yellow 16				●	
4	CI 11920	Food orange 3	●				不得使用於染髮用途化粧品
5	CI 12010	Solvent red 3			●		不得使用於染髮用途化粧品
6	CI 15585	Pigment red 53 ^a					不得使用於染髮用途化粧品
7	CI 15800	Pigment red 64			●		
8	CI 42080	Acid blue 7				●	
9	CI 45220	Acid red 50				●	不得使用於染髮用途化粧品
10	CI 40215	Direct orange 39				●	
11	CI 42051	Food blue 5	●				
12	CI 44090	Food green 4	●				不得使用於染髮用途化粧品
13	CI 45380	Solvent red 43	●				

^a Pigment red 53 (CI 15585)係收載於歐盟化粧品法規附錄二(Regulation (EC) No 1223/2009 Annex II)禁用物質列表中。

素，因此發展多重分析方法是一大挑戰。魚、肉、糖果等食物及化粧品中色素，可採用液相層析儀搭配光二極體陣列檢測器(Liquid Chromatograph-Photodiode Array Detector, LC-PAD)進行分析⁽⁷⁻¹²⁾。染料雖在紫外線及可見光波長有強烈吸收，但因多為異構物及結構類似物，分離較為困難，且基質複雜常有干擾，容易導致圖譜誤判，故不適合以LC-PDA同時大量篩選。利用液相層析串聯質譜法(Liquid Chromatography/tandem Mass Spectrometry, LC-MS/MS)則可提高分析選擇性及鑑別度，以多重反應監測(Multiple Reaction Monitoring, MRM)模式，具有高靈敏度與選擇性，可排除基質干擾，提高定量準確性⁽¹³⁾。關於化粧品色素檢驗方法，食藥署前有公開「化粧品中色素之檢驗方法」及「化粧品中限用色素之檢驗方法」等2篇採用液相層析串聯質譜法分析之建議檢驗方法，分別適用於50項及13項化粧品色素成分之檢驗，本研究13項色素亦曾先以該2篇公開檢驗方法進行測試，惟方法並不適用，又查文獻無相關質譜分析方法，因此進行檢驗方法之開發研究。

本研究針對液相層析與串聯質譜儀之參數進行最佳化，並於標準曲線範圍、方法定量極限、回收率及重複性等進行確效探討與評估，建立了高靈敏及準確度之液相層析串聯質譜方法，可同時檢測Acid blue 62等13項化粧品色素成分。

材料與方法

一、檢體來源：

本研究檢體來源係於專櫃購買之唇膏及唇蜜化粧品共6件。

二、試藥與實驗器材

(一)試藥

1. 對照用標準品

Acid blue 62、Basic violet 2、Disperse yellow 16、Food orange 3、Solvent red 3、Pigment red 64、Acid blue 7及Direct orange 39等對照用標準品(BOC Sciences, USA)；Pigment red 53、Acid red 50、Food blue 5及Food green 4等對照用標準品(Sigma-Aldrich, USA)；Solvent red 43 (Pure Chemistry Scientific, USA)。

2. 試藥及溶劑

甲酸銨(Ammonium acetate)採用LC-MS級(Sigma-Aldrich, USA)；氨水(Ammonium hydroxide, 25%)；甲醇(Methanol)、乙腈(Acetonitrile)及二氯甲烷(Dichloromethane)，均採用LC級(Merck, Germany)。

(二)實驗器材

3 mL無針針筒(Terumo, Taiwan)；PTFE針筒式濾膜(直徑為13 mm，孔徑為0.2 μm)(PALL, USA)。

三、儀器與裝置

(一)液相層析串聯質譜儀(Waters Xevo TQ-S micro Detector, Waters, USA)。

(二)質譜資料之分析軟體(MassLynx 4.2 SCN 989, Waters, USA)

(三)純水製造機(Milli-Q SP Advantage A10 System, Millipore, USA)。

(四)旋渦混合器(Vortex Genie 2, Scientific Industries, USA)。

四、實驗方法：

(一)移動相溶液之調製

稱取甲酸銨0.63 g，以去離子水溶液溶解使成1,000 mL，經濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液。

(二)萃取溶液之調製

取氨水(25%) 4 mL，以甲醇：二氯甲烷(8:

2, v/v)定容至1,000 mL，調製成含0.1%氨水之甲醇：二氯甲烷(8: 2, v/v)溶液。

(三)標準溶液之配製

取Acid blue 62等對照用標準品各約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。

(四)檢液之配製

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。

(五)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)鑑別之，並依下列計算式求出檢體中色素成分之含量(μ g/g)：

$$\text{檢體中色素成分之含量}(\mu\text{g/g}) = \frac{C \times V}{M}$$

C：由標準曲線求得檢液中各色素成分之濃度(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)

註：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

(六)儀器參數之設定

層析管柱為ACQUITY BEH Shield RP18 (1.7 μ m，內徑2.1 mm $\times$ 10 cm)，移動相為10 mM甲酸銨溶液與甲醇:乙腈(1:

表二、移動相梯度沖提條件

Time (min)	A (%)	B (%)
0 $\rightarrow$ 3	95 $\rightarrow$ 75	5 $\rightarrow$ 25
3 $\rightarrow$ 7	75 $\rightarrow$ 30	25 $\rightarrow$ 70
7 $\rightarrow$ 8	30 $\rightarrow$ 0	70 $\rightarrow$ 100
8 $\rightarrow$ 12	0 $\rightarrow$ 0	100 $\rightarrow$ 100
12 $\rightarrow$ 12.5	0 $\rightarrow$ 95	100 $\rightarrow$ 5
12.5 $\rightarrow$ 15	95 $\rightarrow$ 95	5 $\rightarrow$ 5

A: 10 mM甲酸銨溶液；B: 甲醇：乙腈(1: 1, v/v)溶液

1, v/v)溶液進行梯度沖提(表二)，流速為0.3 mL/min；注入量為2 μ L；管柱溫度為30 $^{\circ}$ C。質譜儀參數設定，以電灑游離法(Electrospray Ionization, ESI)搭配多重反應偵測模式進行偵測，毛細管電壓(Capillary Voltage)為2.90 kV，離子源(Ion Source)溫度為150 $^{\circ}$ C，溶媒揮散溫度(Desolvation Temperature)為500 $^{\circ}$ C，進樣錐氣體流速(Cone Gas Flow Rate)為30 L/hr，溶媒揮散流速(Desolvation Gas Flow)為650 L/hr，碰撞氣體(Collision Gas)為氬氣。

(七)添加回收及重複性試驗

取空白唇膏檢體，於基質中添加標準溶液0.2-50 μ g/g (依檢測品項之濃度範圍選定添加濃度)，依前述(四)進行檢液調製、儀器分析及含量測定，求得5重複連續3天之平均回收率及變異係數(CV%)，以評估本研究建立分析方法之準確性及再現性。

(八)統計分析

平均值、標準偏差及變異係數運用Microsoft Excel 2019軟體進行計算。13項色素線性迴歸及相關係數(r)由MassLynx Workstation Software Quantitative Analysis數據分析軟體產生。

(九)定量極限(Limit of Quantification, LOQ)之評估

取均質後之唇膏空白基質1 g，加入適量13項色素標準溶液，依所建立之檢驗方

法步驟求得定量離子訊號與雜訊之比值 (Signal to Noise ratio, S/N ratio) 大於10之最低濃度，作為方法之定量極限。

(十) 基質效應 (Matrix effect) 評估

基質效應之探討，分別以下列方式建立檢量線：

1. 標準曲線 (Standard Calibration Curve, SCC)：同標準曲線之製作，使其最終濃度為0.01-10 µg/mL。
2. 基質匹配檢量線 (Matrix Calibration Curve, MCC)：取唇膏空白基質添加標準溶液，使其最終濃度為0.01-10 µg/mL。
3. 基質效應計算公式如下：

$$\text{基質效應(\%)} = (\text{基質匹配檢量線之斜率} - \text{標準曲線之斜率}) / \text{標準曲線之斜率} \times 100\%$$

結果與討論

一、層析與萃取條件之選擇與優化

本研究在層析管柱最適化之測試，選用了ACQUITY BEH Shield RP 18 (1.7 µm, 內徑2.1 mm × 100 mm)、CORTECS UPLC C18⁺ (1.6 µm, 內徑2.1 mm × 100 mm)及ACQUITY UPLC HSS T3 (1.8 µm, 內徑2.1 mm × 100 mm)等3種層析管柱進行測試，以Basic violet 2分析，結果如圖一所示，以ACQUITY BEH Shield RP 18層析管柱進行分析時，化合物滯留情形較為理想且感度最佳，主要係該層析管柱特性對於鹼性、小分子及高極性之化合物都有較好的滯留性與波峰。萃取溶液分別以含0.1%氨水之甲醇：二氯甲烷(8: 2, v/v)溶液、甲醇：二氯甲烷(8: 2, v/v)溶液及含0.1%甲酸之甲醇：二氯甲烷(8: 2, v/v)溶液進行測試，以Direct orange 39為例(圖二)，使用含0.1%氨水之甲醇：二氯甲烷(8: 2, v/v)溶液為萃取溶液時，所呈現峰型及感度為最好。在移動相

pH值條件之測試，調整移動相之pH值可提供分析物不同選擇性，有助化合物於層析管柱中穩定進行分離。分別配製10 mM甲酸鉍溶液(以甲酸調整成pH 3.5)、10 mM甲酸鉍溶液(pH 6.2)及10 mM甲酸鉍溶液(以氨水調整成pH 9.0)，搭配甲醇：乙腈(1: 1, v/v)溶液作為移動相，以Food orange 3為例(圖三)，結果以含10 mM甲酸鉍溶液(pH 6.2)搭配甲醇：乙腈(1: 1, v/v)溶液之移動相組成，所得峰型及感度為最好。透過上述層析條件探討，選定10 mM甲酸鉍溶液及甲醇：乙腈(1: 1, v/v)溶液之移動相，進行梯度沖提，可於15分鐘完成13項色素之分析。

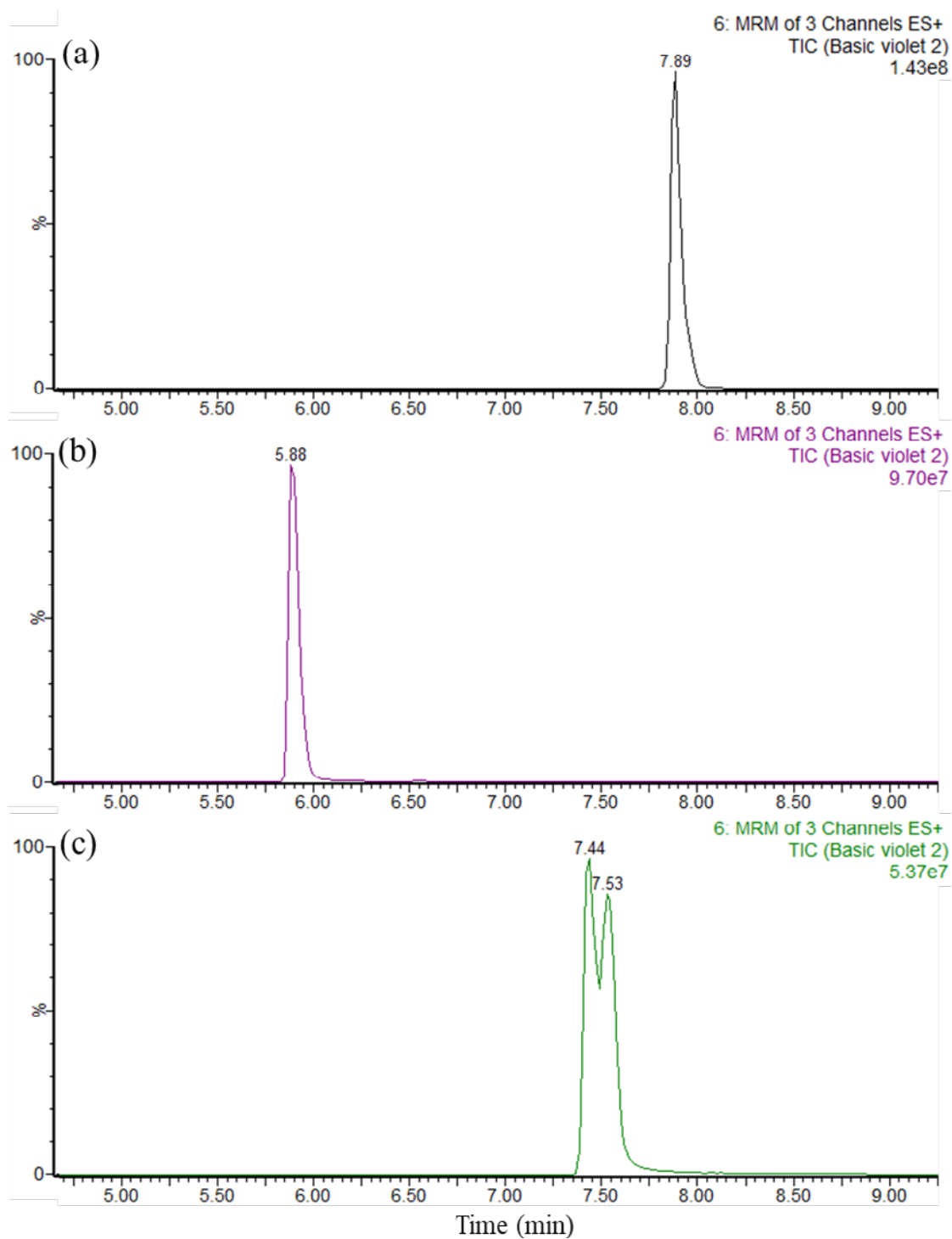
二、液相層析串聯質譜儀參數

本研究利用LC-MS/MS進行分析，利用電灑離子化之離子化方式，針對質譜之質量解析度及感度進行最佳化參數之調整，以三段式四極桿MRM模式進行分析，先於第一段四極桿(Q1)選擇一特定離子，於第二段四極桿(Q2)通入氬氣進行碰撞後，產生產物離子碎片，再由第三段四極桿(Q3)選擇特定之產物離子進行偵測。於個別化合物之選擇反應偵測得到一個最佳化之條件，經氬氣碰撞後產生訊號最強的產物離子為定量離子(Quantitative Ion)，訊號次之為定性離子(Qualitative Ion)，各化合物之MRM偵測參數於表三。本方法以最佳化層析條件及質譜參數進行分析，利用MRM模式偵測，可將13項色素波峰分離，MRM層析圖譜如圖四。

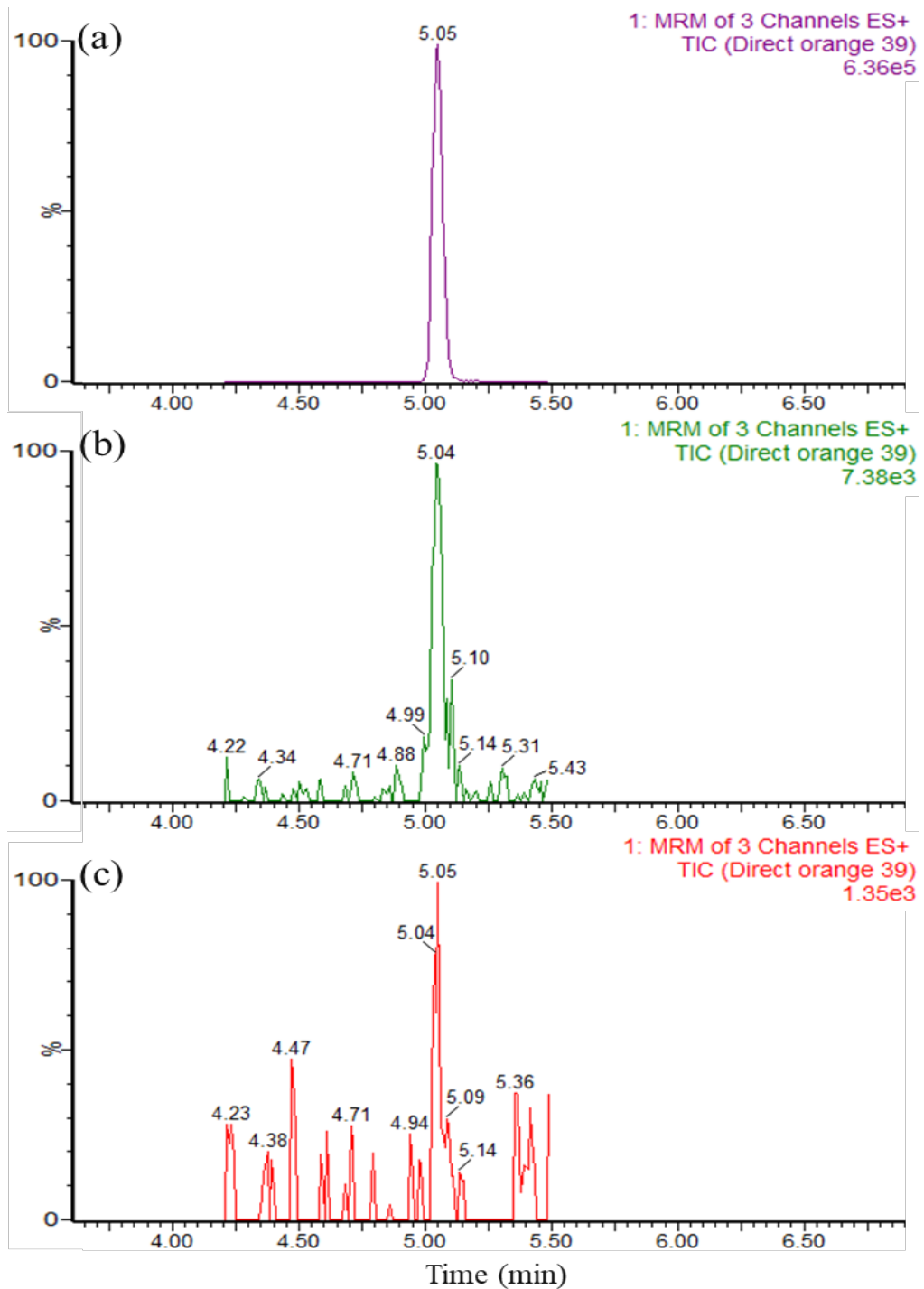
三、標準曲線之測試

13項色素混合標準溶液，針對個別成分進行感度測試，設定適當之標準曲線濃度範圍，標準曲線迴歸方程式之相關係數(r)皆在0.995以上。

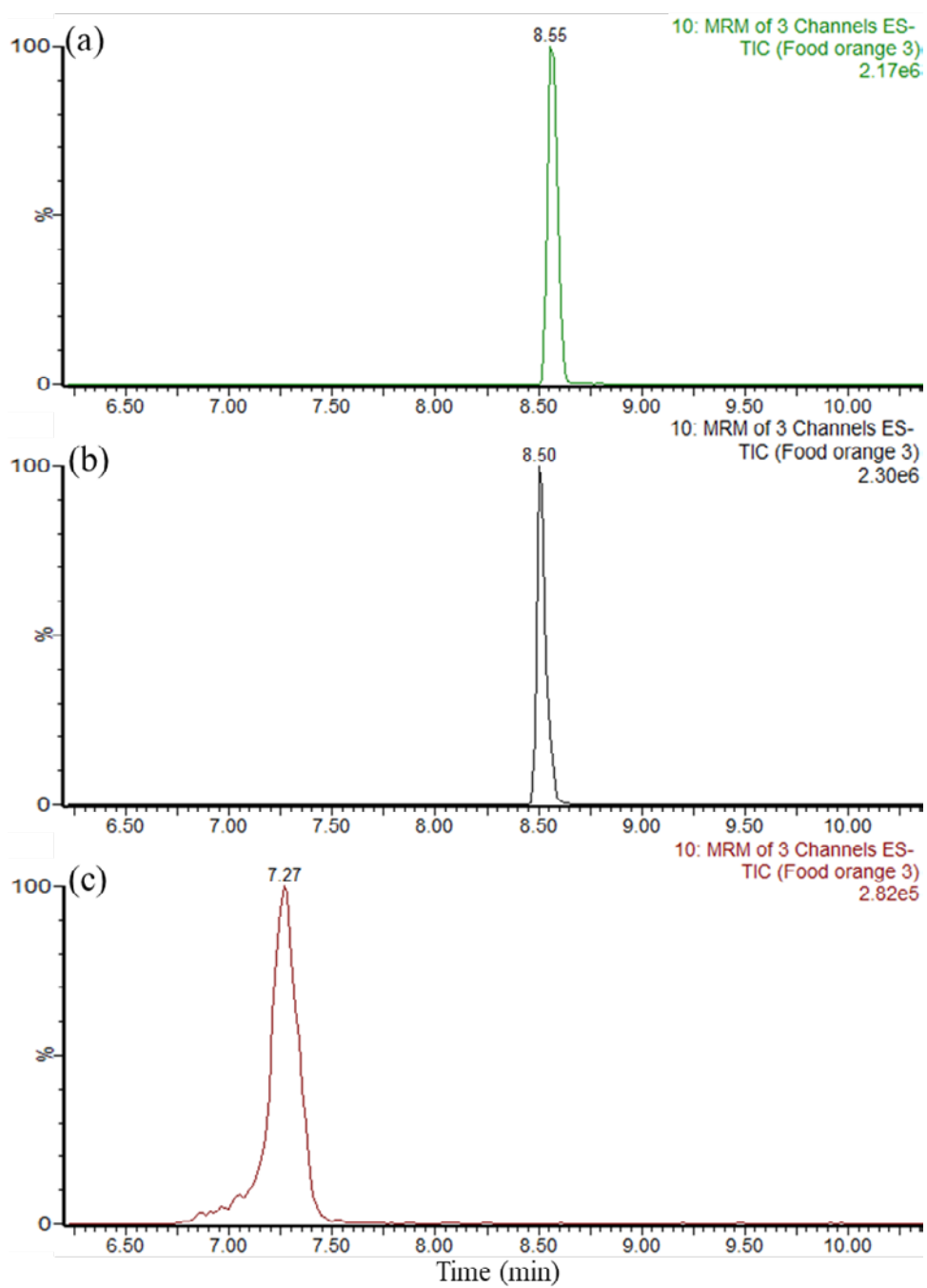
四、基質效應之評估



圖一、Basic violet 2標準品分別以(a) ACQUITY BEH Shield RP 18、(b) CORTECS C18⁺及(c) ACQUITY UPLC HSS T3等層析管柱分析之MRM層析圖



圖二、Direct orange 39標準品分別以(a)含0.1%氨水之甲醇：二氯甲烷(8: 2, v/v)溶液、(b)甲醇：二氯甲烷(8: 2, v/v)溶液及(c)含0.1%甲酸之甲醇：二氯甲烷(8: 2, v/v)溶液進行萃取之MRM圖譜



圖三、Food orange 3標準品分別以(a) pH 3.5、(b) pH 6.2及(c) pH 9 之移動相A(10 mM甲酸銨溶液)分析之 MRM圖譜

表三、13項色素之MRM偵測參數

分析物	離子化模式	RT (min)	離子對		進樣錐電壓 (V)	碰撞能量 (eV)
			前驅離子(<i>m/z</i>)	產物離子(<i>m/z</i>)		
Acid blue 62	ESI ⁻	8.25	399	> 316 ^a > 80	8	32 62
Basic violet 2	ESI ⁺	7.70	330	> 223 ^a > 208	78	34 42
Disperse yellow 16	ESI ⁺	9.03	279	> 93 ^a > 117	58	24 18
Food orange 3	ESI ⁻	8.51	213	> 121 ^a > 120	6	12 24
Solvent red 3	ESI ⁺	9.18	293	> 121 ^a > 77	62	16 24
Pigment red 53	ESI ⁻	8.06	375	> 204 ^a > 80	40	16 40
Pigment red 64	ESI ⁻	7.60	291	> 247 ^a > 219	2	10 14
Acid blue 7	ESI ⁻	7.72	667.3	> 455 ^a > 375	98	48 58
Acid red 50	ESI ⁻	6.12	529.2	> 485 ^a > 80	10	34 60
Direct orange 39	ESI ⁻	5.05	276	> 80 ^a > 92	48	38 30
Food blue 5	ESI ⁻	6.75	559.2	> 391 ^a > 435	40	58 38
Food green 4	ESI ⁻	5.23	553.1	> 496 ^a > 416	56	30 42
Solvent red 43	ESI ⁺	6.00	648.7	> 200 ^a > 188	26	78 80

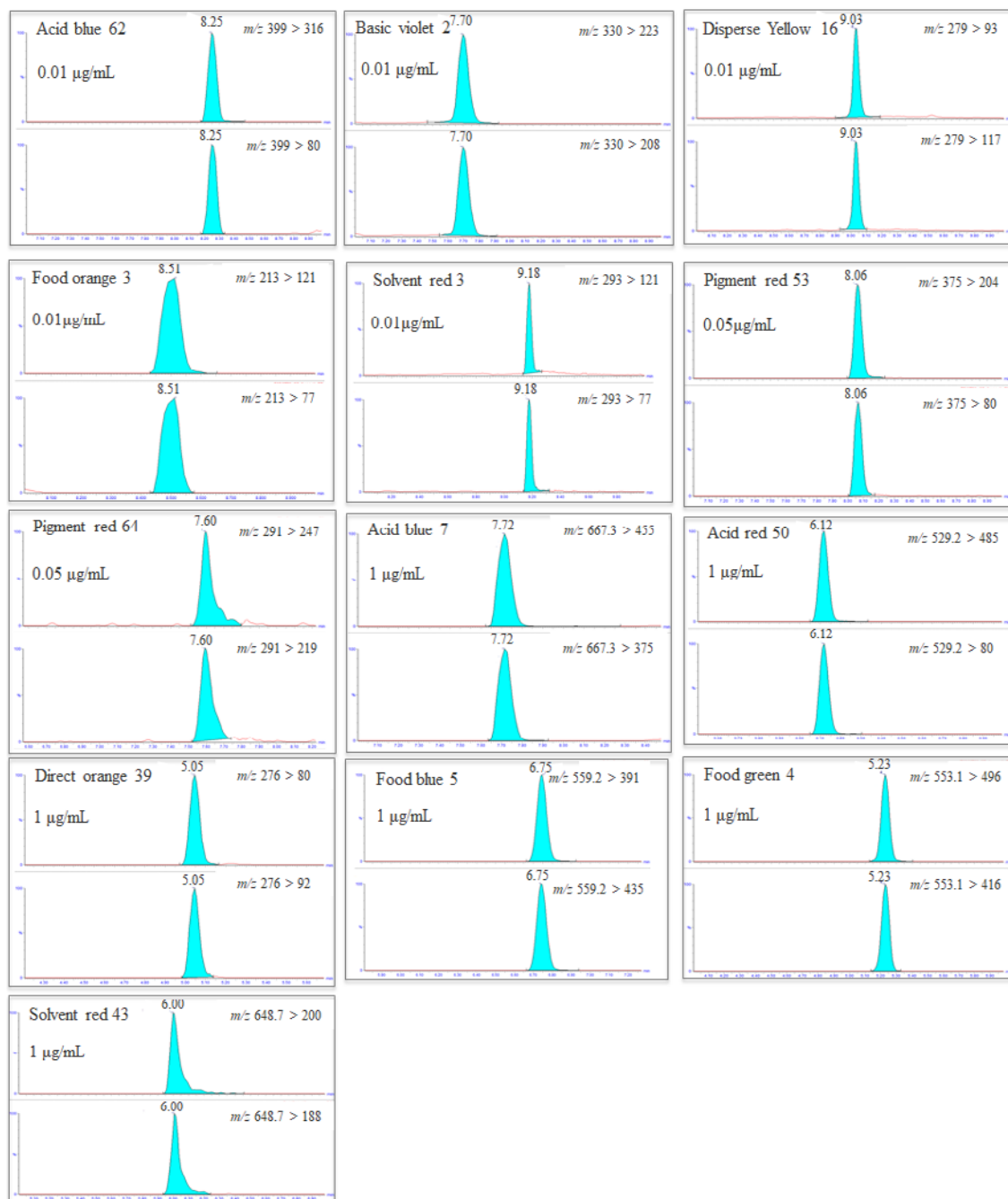
^a定量離子

化粧品中基質複雜，產品中所含基質可能會干擾分析訊號，產生基質效應。為確認方法有無受基質的影響，以標準曲線斜率及基質匹配檢量線斜率評估基質效應，如基質效應微弱(增強或抑制0-20%)，可忽視基質之干擾，但具中等(增強或抑制20-50%)或強烈(增強或抑制 > 50%)之基質效應，則必須利用基質匹配檢量線來克服基質的影響。經評估結果顯示13項化粧品色素之基質效應皆小於19.54% (表

四)。

五、回收率及重複性試驗

將混勻之空白基質進行添加回收試驗，分別添加13項色素標準品，其濃度範圍介於0.2-50 µg/g之間，所得共15重複之平均回收率介於87.7-113.2%，變異係數(Coefficient of variation, CV)皆小於9.4%，由結果顯示，本研究方法具有良好之回收率及重複性，如表五。



圖四、13項色素標準品之MRM層析圖譜

表四、13項色素之線性範圍及基質效應評估

分析物	線性範圍($\mu\text{g/mL}$)	標準曲線	基質匹配檢量線	基質效應(%)
Acid blue 62	0.01 - 0.2	$y = 44,605x + 195.5$	$y = 43,640x + 324.03$	-2.16
Basic violet 2	0.01 - 0.2	$y = 1,820,014x + 3,938.12$	$y = 1,908,997x + 5,053.07$	4.89
Disperse yellow 16	0.01 - 0.2	$y = 256,029x + 386.44$	$y = 286,474x + 550.39$	11.89
Food orange 3	0.01 - 0.2	$y = 69,457x + 298.7$	$y = 67,839x + 285.37$	-2.33
Solvent red 3	0.01 - 0.2	$y = 573,453x + 2,989.7$	$y = 541,886x + 1,688.2$	-5.50
Pigment red 53	0.05 - 1	$y = 4,657.8x + 112.14$	$y = 4,121.1x + 210.72$	-11.52
Pigment red 64	0.05 - 1	$y = 1,776.2x + 68.113$	$y = 1,674.6x + 83.487$	-5.72
Acid blue 7	1 - 10	$y = 629.52x - 28.282$	$y = 687.01x + 2.5321$	9.13
Acid red 50	1 - 10	$y = 3,728.7x - 406.27$	$y = 4,235x - 1,737.9$	13.58
Direct orange 39	1 - 10	$y = 425.2x + 122.59$	$y = 442.47x + 236.28$	4.06
Food blue 5	1 - 10	$y = 4,177.9x - 991.4$	$y = 4,642.9x - 1,867$	11.13
Food green 4	1 - 10	$y = 457.09x - 89.041$	$y = 546.4x - 271.32$	19.54
Solvent red 43	1 - 10	$y = 8,138.7x - 3,649.1$	$y = 8,757.3x - 4,049.8$	7.60

六、定量極限之評估

本計畫所建立色素之檢驗方法，各分析物在儀器感度不同，經測試之定量極限分別為0.2、1及20 $\mu\text{g/g}$ (表五)。

結 論

本研究利用LC-MS/MS建立化粧品中Acid blue 62等13項色素檢驗方法，針對無明確標示或無標示成分之產品可進行快速篩檢分析，有效降低分析時間及基質複雜造成檢驗誤判之可能性。所建立的方法已完成方法確效，其回收率及重複性良好，可應用於化粧品中色素之例行性檢驗。本研究建立之檢驗方法將公開於本署網站，提供地方衛生局及檢驗單位使用，可提升國內產業水準，增加國際競爭力並監測上市化粧品之品質，保護國人健康。

參考文獻

1. Gran enciclopedia planeta. 2015. Colorants, fabric dyes and 345 foods. [http://www.planetasaber.com/theworld/gats/seccions/cards/default.asp?pk=796&art=59].
2. The Essential Chemical Industry. 2013. Colorants. [http://www.essentialchemicalindustry.org/materials-and-applications/colorants.html].
3. Ahlström, L. H., Eskilsson, C. S., and Björklund, E. 2005. Determination of banned azo dyes in consumer goods. Trends Anal. Chem. 24: 49-56.
4. Colour Index™ Online. [https://colour-index.com/cicn-explained].
5. 衛生福利部。2020。化粧品色素成分使用限制表。109.09.29衛授食字第1091605373號公告。
6. Keck-Wilhelm, A., Kratz, E., Mildau, G., Ilse, M., and *et al.* 2015. Chemical analysis and risk assessment of prohibited colouring agents in face paint with special regard to CI 15585 (D&C Red No. 9, Pigment Red 53:1). Int. J. Cosm. Sci. 37: 187-195.

表五、13項色素之平均回收率、變異係數及定量極限

分析物	Spiked level (µg/g)	Recovery ^a (%)	CV (%)	定量極限 (µg/g)
Acid blue 62	0.2	93.3	6.35	0.2
	1	109.3	2.15	
Basic violet 2	0.2	100.0	3.36	0.2
	1	104.0	1.62	
Disperse yellow 16	0.2	90.4	6.02	0.2
	1	95.5	8.00	
Food orange 3	0.2	93.8	2.38	0.2
	1	103.6	3.33	
Solvent red 3	0.2	90.4	0.31	0.2
	1	97.9	0.44	
Pigment red 53	1	101.0	7.12	1
	4	103.9	6.58	
Pigment red 64	1	103.4	9.40	1
	4	110.3	4.62	
Acid blue 7	20	110.4	0.86	20
	50	101.1	3.20	
Acid red 50	20	108.2	4.55	20
	50	101.4	2.42	
Direct orange 39	20	111.9	4.64	20
	50	105.7	3.81	
Food blue 5	20	113.2	1.36	20
	50	102.7	0.60	
Food green 4	20	106.7	7.89	20
	50	87.7	8.04	
Solvent red 43	20	113.0	3.27	20
	50	101.0	2.04	

^a n=3

7. Alves, S. P., Brum, D. M., de Andrade, E. C. B. and Netto, A. D. P. 2008. Determination of synthetic dyes in selected foodstuffs by high performance liquid chromatography with UV-DAD detection. *Food Chem.* 107: 489-496.
8. Trandafir, I., Nour, V. and Ionică, M. E. 2009. The liquid-chromatographic quantification of some synthetic colorants in soft drinks. *Sci. Study Res.* 10: 73-82.
9. Zou, T., He, P., Yasen, A. and Li, Z. 2013. Determination of seven synthetic dyes in animal feeds and meat by high performance liquid chromatography with diode array and tandem mass detectors. *Food Chem.* 138: 1742-1748.
10. Minioti, K. S., Sakellariou, C. F. and Thomaidis, N. S. 2007. Determination of 13 synthetic food colorants in water-soluble foods by reversed-phase high-performance liquid chromatography coupled with diode-array detector. *Anal. Chim. Acta* 583 (1): 103-110.
11. Culzoni, M. J., Schenone, A. V., Llamas, N. E., Garrido, M. and *et al.* 2009. Fast chromatographic method for the determination of dyes in beverages by using high performance liquid chromatography-diode array detection data and second order algorithms. *J. Chromatogr. A* 1216: 7063-7070.
12. Rastogi, S. C., Barwick, V. J. and Barwick, S. V. 1997. Identification of organic colourants in cosmetics by HPLC-diode array detection. *Chromatographia* 45: 215-228.
13. 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.

Establishment of Analytical Method for Colorants in Cosmetics

SHIN-HAO CHEN, CHIU-YU HUANG, SHU-FANG TENG, MEI-CHIN LIN,
SU-HSIANG TSENG AND DER-YUAN WANG

Division of Research and Analysis, TFDA, MOHW

ABSTRACT

A simple and fast method was developed for simultaneous determination of Acid blue 62 and other 12 colorants in cosmetics by liquid chromatography/tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). The sample was uniformly dispersed with a solution of methanol: dichloromethane (8: 2, v/v) containing 0.1% ammonia water and then extracted by ultrasonication for 30 mins. After centrifugation and filtration, the filtrate was separated by a ACQUITY BEH Shield RP 18 column using gradient elution with 10 mM ammonium formate and methanol: acetonitrile (1: 1, v/v) solutions. The analysis could be accomplished within 15 mins by employing electrospray ionization (ESI) with the multiple reaction monitoring (MRM) mode for detection. The average recoveries of 13 compounds ranged from 87.7-113.2%, and the coefficients of variation were all less than 9.4%, by spiking multiple concentrations levels of standards ranging from 0.2-50 µg/g in lipstick samples. The matrix effects for ion enhancement or inhibition were less than 19.54%. This method can be employed to monitor the post-marketing products and further safeguard the health and safety of consumers.

Key words: LC-MS/MS, cosmetics, colorants