

化粧品中偶氮及天然色素檢驗方法之建立

陳信豪 許芸華 鄧書芳 張靜嘉 黃守潔 林美智 曾素香

衛生福利部食品藥物管理署研究檢驗組

摘 要

化粧品中色素除用於改善產品外觀，以吸引消費者購買，更是彩粧產品中重要的組成。合成色素因其顏色多樣、著色力強及持久度佳，被廣泛用於指甲油、眼影及唇膏等化粧品中。為確保化粧品之使用安全，衛生福利部公告「化粧品色素成分使用限制表」，列載色素成分之使用範圍及限制規定。本研究利用液相層析串聯質譜儀(Liquid Chromatograph/Tandem Mass Spectrometer, LC-MS/MS)建立簡單、快速之定性檢驗方法，可同時分析CI 16155 (food red 6)等共8項色素成分。本研究以二氯甲烷：甲醇(2：8, v/v)溶液(內含0.1%甲酸)萃取檢體，分析管柱使用ACQUITY BEH Shield RP 18管柱，並以10 mM甲酸銨溶液(pH值6.3)及甲醇：乙腈(1：1, v/v)溶液作為移動相進行梯度沖提；質譜儀偵測器選用電灑游離法(ElectroSpray Ionization, ESI)搭配多重反應偵測模式(Multiple Reaction Monitoring, MRM)偵測，可於15分鐘內完成8項色素之分析。本方法之偵測極限及專一性評估結果顯示，8項色素於指甲油、唇蜜及唇膏之偵測極限介於0.2-50 $\mu\text{g/g}$ ，且空白檢液中無干擾。再以市售指甲油、唇蜜、唇膏、入浴劑及化粧水等共12件產品評估本方法適用性，結果有標示相關標的物之產品，均能檢出該色素成分，顯示本研究所開發之方法可實際應用於市售化粧品之品質監測。

關鍵詞：化粧品、色素、液相層析串聯質譜儀

前 言

色素作為化粧品中的重要原料，被廣泛應用於各類產品中。色素在化粧品中作用是為產品著色，同時調節其他原料對產品色調的影響，達到產品外觀的一致性及其區分不同產品類別的目的。在彩粧類化產品中，色素的作用更為顯著，不僅賦予產品豐富的色彩表現，更起到美化膚色和修飾容貌的功能。色素大多為合成色素，其中偶氮色素佔60%以上，合成色素具備許多重要優勢，例如對光、氧氣和pH值更高的穩定性、微生物污染風險低、

色彩持久性高及價格低廉。天然色素可來自植物、動物及礦物，但其缺點在於穩定性差及成本高且易受光線、溫度及pH值變化的影響，在生產和儲存過程中容易分解。因此天然色素在許多應用中已部分或完全替換為合成色素⁽¹⁻³⁾。顏色指數(Color Index, CI)是由英國染色師協會(Society of Dyers and Colourists, SDC)和美國紡織化學(American Association of Textile Chemists and Colorists, AATCC)聯合制定的一個國際標準化參考系統，是按化學結構進行分類，每個結構都有相應的顏色指數，是由五個數字所組成的代碼，可用於識別這些色素並全

球通用⁽⁴⁾。我國依據化粧品衛生安全管理法，訂定化粧品色素成分使用限制表，規定化粧品可使用的色素成分及使用範圍，依使用範圍共分四類，第1類為所有化粧品均可使用；第2類限用於非接觸眼部周圍之化粧品；第3類限用於非接觸黏膜之化粧品；第4類限用於用後立即洗去之化粧品⁽⁵⁾，本研究選擇衛生福利部食品藥物管理署尚未建立檢驗方法的品項，並考量標準品的可獲得性及儀器分析的適用性等因素，最終選定8項成分作為研究對象，其中food red 6及acid yellow 9等2項色素，分子結構具偶氮基，皆為偶氮色素，natural white 1、capsanthin、natural yellow 27、riboflavin、natural brown 10、natural yellow 6則皆為天然色素。其中food red 6為不可使用於化粧品之色素，其餘7項皆屬第1類色素(相關資訊彙整於表一)，依化粧品衛生安全管理法第7條第1項第5款規定，化粧品之外包裝或容器應標示全成分名稱，為確認產品中所含色素成分是否與標示相符，故有檢驗實務需求。

化粧品基質複雜且產品中常使用多項色素，因此發展多重分析方法是一大挑戰。色素於紫外線及可見光波長具有顯著吸收，一

般多採用液相層析儀搭配光二極體陣列檢測器(High Performance Liquid Chromatograph-photodiode array detector, HPLC-PDA)進行分析，但因其多為結構異構物或類似物，於液相層析系統中不易分離，且基質複雜常有干擾，容易導致圖譜誤判情形⁽⁶⁻¹¹⁾。利用液相層析串聯質譜儀則可提高分析選擇性及鑑別度，輔以多重反應偵測(Multiple Reaction Monitoring, MRM)模式，具有高靈敏度與選擇性，可解決因複雜基質造成之干擾，提高定性分析結果之正確性⁽¹²⁾。

本研究擬以液相層析串聯質譜法(Liquid Chromatography tandem Mass Spectrometry, LC-MS/MS)，建立food red 6等8項化粧品色素之簡單、快速定性方法，並進行儀器參數之最佳化，進行8項化粧品色素於指甲油、唇蜜及唇膏產品中偵測極限及專一性評估探討。

材料與方法

一、檢體來源

本研究檢體來源為市售之指甲油、唇膏、唇蜜、入浴劑及化粧水等化粧品共12件。

表一、8項化粧品色素於我國之管理規定

項次	Color Index Number/ 成分名	別名	使用範圍				
			1	2	3	4	5
			所有化粧品 均可使用	限用於非接 觸眼部周圍 之化粧品	限用於非接 觸黏膜之化 粧品	限用於用後 立即洗去之 化粧品	不可使用
1	13015	Acid Yellow 9	●				
2	75100	Natural Yellow 6	●				
3	75125	Natural Yellow 27	●				
4	75170	Natural White 1	●				
5	Lactoflavin	Riboflavin	●				
6	Caramel	Natural Brown 10	●				
7	Capsanthin, capsorubin	--	●				
8	16155	Food Red 6					●

二、化學試藥及器材

(一) 標準品：acid yellow 9對照用標準品購自Toronto Research Chemicals (Canada, NY, USA)；natural yellow 6、natural yellow 27及capsanthin等對照用標準品皆購自Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA)；natural white 1及riboflavin皆購自USP (New Brunswick, NJ, USA)；natural brown 10對照用標準品購自Spectrum Chemical Mfg Corp (Jersey, NB, USA)；food red 6對照用標準品購自Dr. Ehrenstorfer (Augsburg, Germany)。

(二) 試藥及溶劑：甲酸銨(ammonium acetate)採用試藥特級，購自Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)；甲醇(methanol)、乙腈(acetonitrile)及二甲基亞砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)均採用LC級，皆購自Merck (Darmstadt, Germany)。二氯甲烷(methylene chloride)購自J. T. Baker Chemical Company (Radnor, PA, USA)。氨水(ammonia solution, 25%)購自Merck公司(Darmstadt, Germany)。甲酸(formic acid, 100%)購自Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA)。

(三) 器材：針筒式濾頭(syringe filter)採用PTFE材質，直徑為13 mm，孔徑為0.22 μm ，購自Waters (Waters, Milford, MA, USA)。

三、儀器與裝置

(一) 液相層析串聯質譜儀(Waters ACQUITY UPLC、Waters Xevo TQ-S micro Detector及MassLynx Workstation Software Quantitative Analysis, Waters corporation, USA)。

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

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

四、方法

(一) 萃取溶液之調製

取甲酸1 mL，加入二氯甲烷：甲醇(2：8, v/v)溶液使成1,000 mL，供作萃取溶液。

(二) 移動相溶液之調製

1. 移動相溶液A

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

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。

(三) 標準溶液之配製

取food red 6等對照用標準品各約10 mg，精確稱定，分別以適當溶劑溶解(表二)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二。

(四) 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

表二、8項化粧品色素之標準原液配製溶劑及標準溶液稀釋濃度

項次	分析物	標準原液配製溶劑	標準溶液稀釋濃度($\mu\text{g/mL}$)
1	Food red 6	50%甲醇	0.01
2	Natural white 1	1%氨水	0.01
3	Capsanthin	DMSO	0.1
4	Natural yellow 27	DMSO	0.1
5	Riboflavin	50%甲醇	0.1
6	Natural brown 10	50%甲醇	1
7	Natural yellow 6	DMSO	1
8	Acid yellow 9	50%甲醇	2.5

表三、移動相A (10 mM甲酸鉍溶液)及移動相B [甲醇：乙腈(1：1, v/v)溶液]之沖提條件

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

濾，供作檢液。

(五)液相層析串聯質譜儀測定條件

層析管柱為ACQUITY BEH Shield RP18 (1.7 μm ，內徑2.1 mm $\times$ 10 cm)，移動相為10 mM甲酸鉍溶液與甲醇：乙腈(1：1, v/v)溶液進行梯度沖提(表三)，流速為0.3 mL/min；注入量為2 μL ；管柱溫度為30 $^{\circ}\text{C}$ 。質譜儀參數設定，以電灑離子法(ElectroSpray Ionization, ESI)搭配多重反應偵測模式(MRM)進行偵測，毛細管電壓(capillary voltage)為2.65 kV，離子源(ion source)溫度為150 $^{\circ}\text{C}$ ，溶媒揮散溫度(desolvation temperature)為500 $^{\circ}\text{C}$ ，進樣錐氣體流速為30 L/hr，溶媒揮散流速(desolvation gas flow)為650 L/hr，碰撞氣體(collison gas)為氬氣。

(六)鑑別試驗

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^(A)鑑別之。

^A：相對離子強度由二偵測離子對之波峰面積相除而得(100%)，容許範圍如下⁽¹³⁾：

相對離子強度(%)	容許範圍(%)
> 50	± 20
> 20~50	± 25
> 10~20	± 30
≤ 10	± 50

(七)確效試驗

本研究參考食藥署及歐盟官方化粧品品質監控實驗室(European Network of Official Cosmetics Control Laboratories, OCCL)檢驗方法之確效規範^(14,15)，執行確效試驗如下：

1. 方法偵測極限之評估

取指甲油、唇蜜及唇膏等作為空白樣品，添加一系列不同濃度之標準溶液，依前述(四)檢液之調製進行5重複配製及分析，以感度最佳之第一離子對及感度次佳之第二離子對波峰訊噪比(Signal-to-Noise ratio, S/N ratio)均大於或等於3，且MRM層析圖譜波峰面積於5重複分析之滯留時間與相對離子強度均相符的最低添加濃度作為偵測極限(Limit of Detection, LOD)。

2. 方法專一性試驗

(1)空白檢體分析

以指甲油、唇蜜及唇膏作為空白樣品，依前述(四)進行檢液之調製，以(五)之測定條件進行分析比對，以確認空白樣品不含待測物。

(2)添加基質分析

取上述經分析不含待測物之指甲油、唇蜜及唇膏等作為本方法之空白基質，添加相當於方法偵測極限濃度之色素標準品，各色素添加濃度介於0.2-50 $\mu\text{g/g}$ ，進行5重複添加試驗，依(四)檢液之調製步驟製備檢液，再注入液相層析串聯質譜儀檢測，就所得波峰面積之訊號強度計算其相對

離子強度比(ion ratio)，記錄5重複試驗之滯留時間及相對離子強度比(ion ratio)。

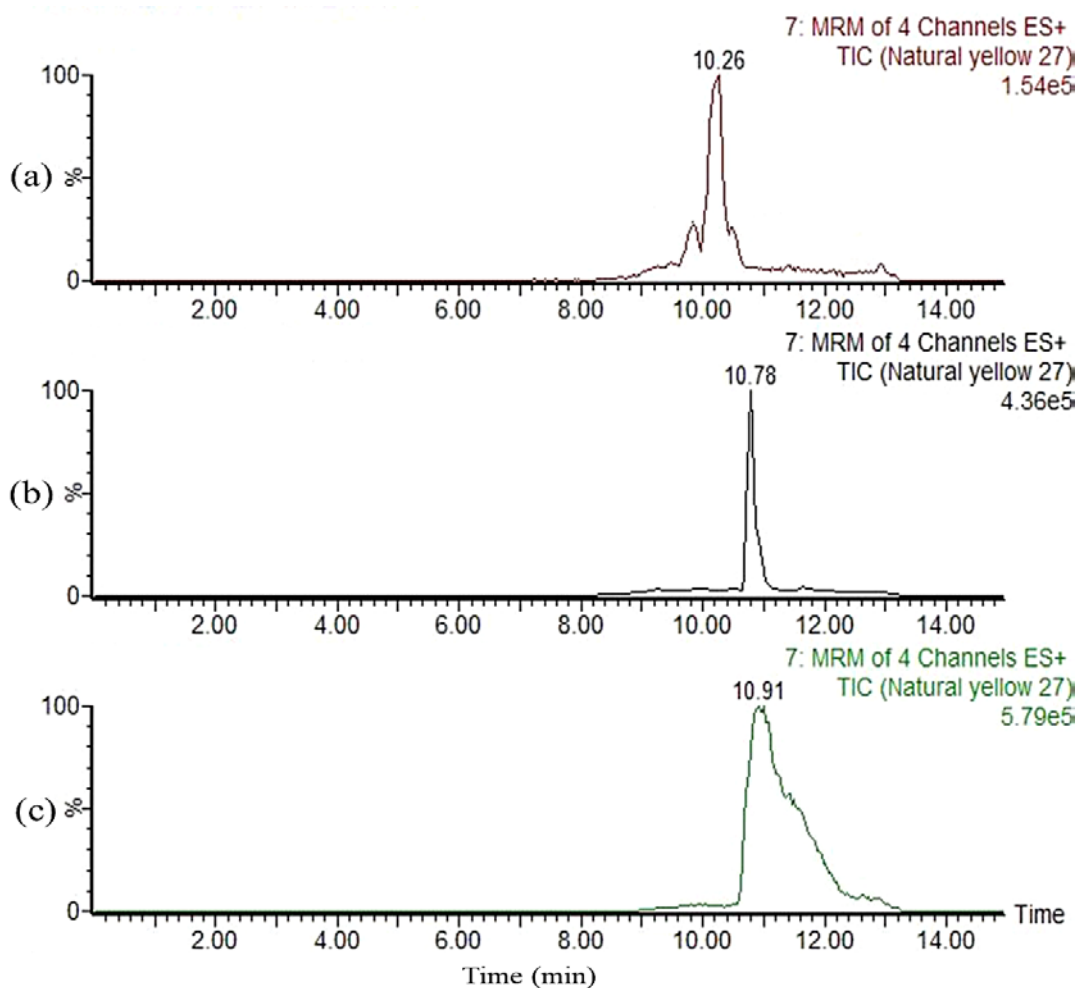
結果與討論

一、分析條件最適化探討

(一)層析管柱最適化之測試

以食藥署公開建議檢驗方法「化粧品

品中禁用色素類之鑑別及含量測定(RA03D005.001)」等3篇方法⁽¹⁶⁻¹⁸⁾中所使用之3種層析管柱進行測試，分別為ACQUITY UPLC BEH C18 (1.7 μm ，內徑2.1 mm $\times$ 100 mm)、ACQUITY BEH Shield RP 18 (1.7 μm ，內徑2.1 mm $\times$ 100 mm)及ACQUITY UPLC HSS T3 (1.8 μm ，內徑2.1 mm $\times$ 100 mm)，以natural yellow 27為例，結果如圖一之一所示，測試結果

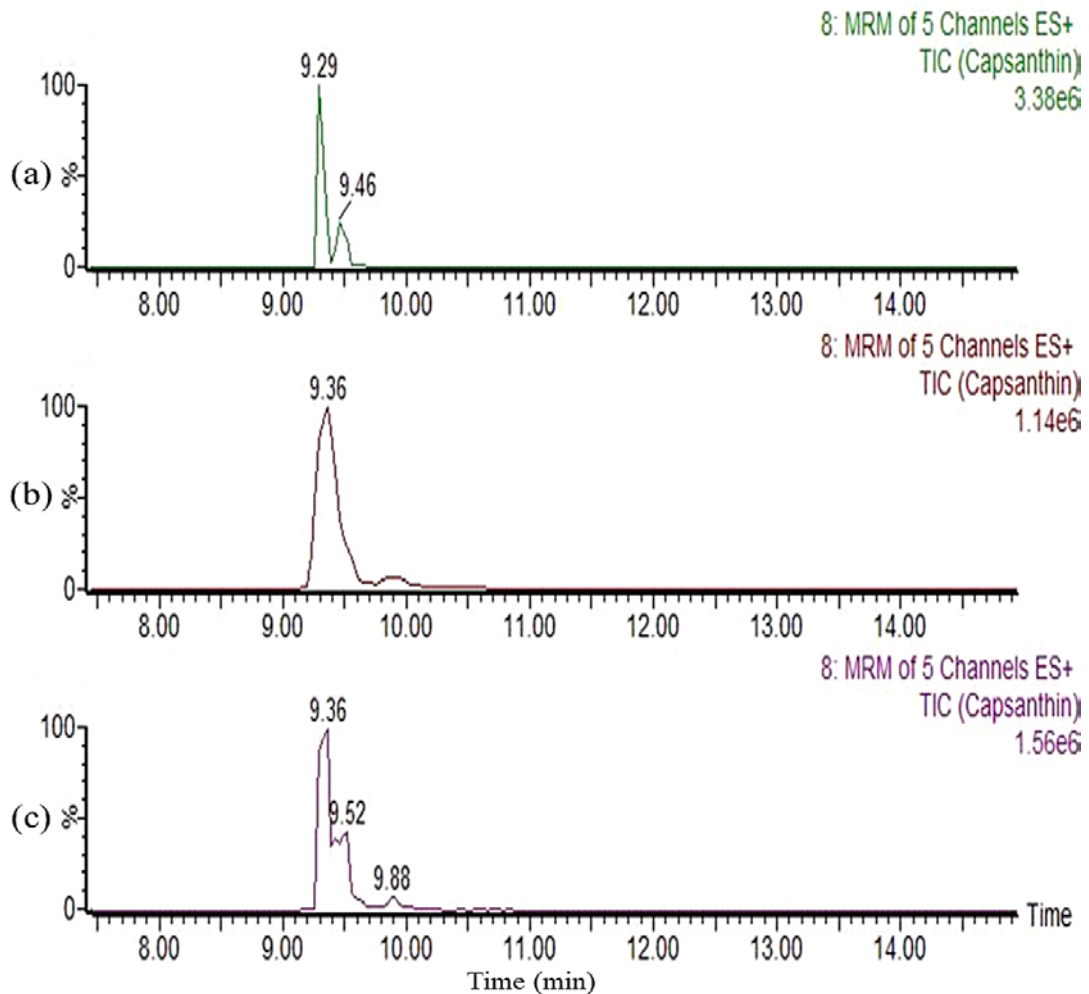


圖一之一、Natural yellow 27分別以ACQUITY UPLC BEH C18 (a)、ACQUITY BEH Shield RP 18 (b)及ACQUITY UPLC HSS T3 (c)等層析管柱分析之MRM層析圖

以使用ACQUITY BEH Shield RP 18層析管柱時，natural yellow 27有較窄的峰型及較佳的解析度。在與直鏈烷基管柱相比，ACQUITY BEH Shield RP18 所具備的鍵結相配位基內嵌的胺基甲酸酯基團可有效改善峰型並減少尾峰現象，對極性較高及具鹼性之化合物有良好解析度及峰型表現。

(二)萃取溶液之選擇

在萃取溶液的選擇上，本研究延續採用ACQUITY BEH Shield RP 18層析管柱，並分別以三種萃取溶液，50%乙腈溶液、二氯甲烷：甲醇(2：8, v/v)溶液(內含0.1%甲酸)及二氯甲烷：甲醇(2：8, v/v)溶液(內含0.1%氨水)進行測試，以capsanthin為例(圖一之二)，結果顯示當以50%乙腈及二



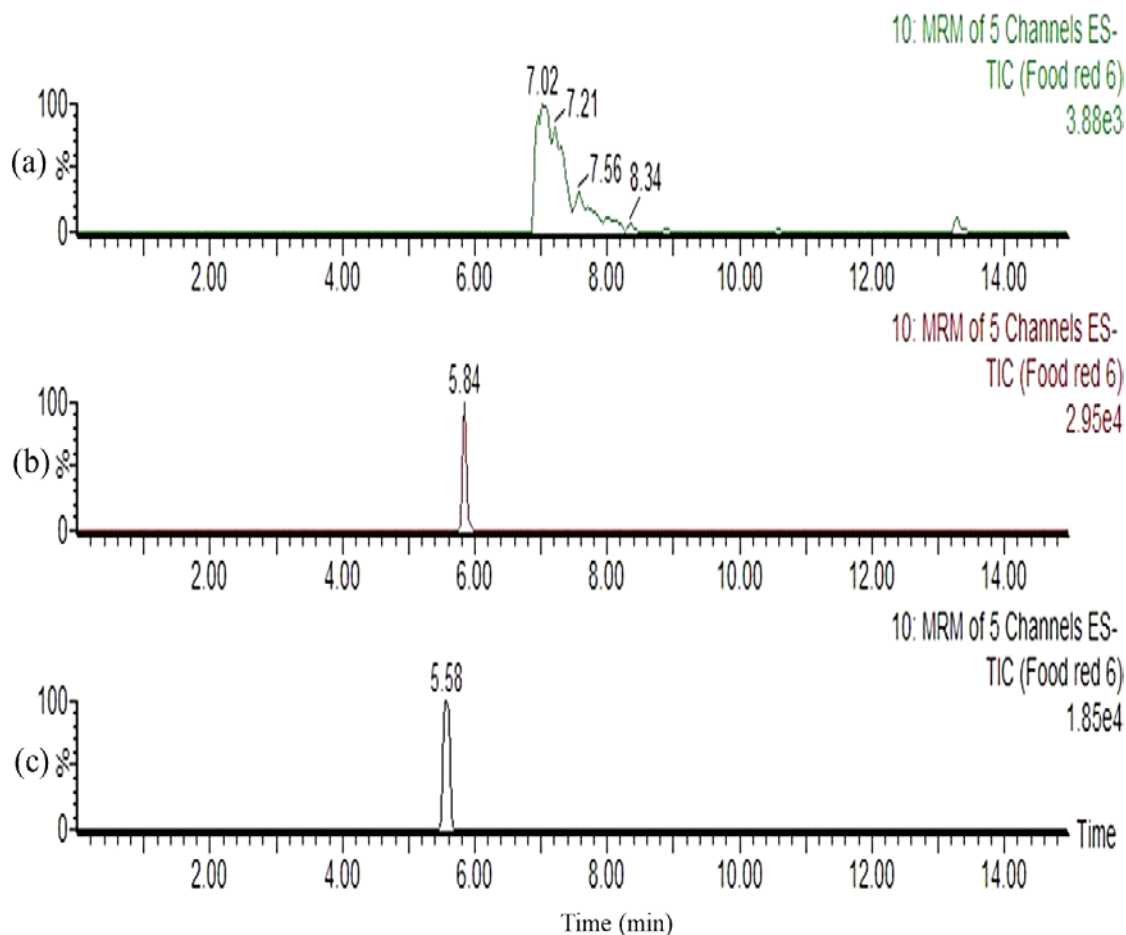
圖一之二、Capsanthin分別以50%乙腈溶液 (a)二氯甲烷：甲醇(2：8, v/v)溶液(含0.1%甲酸) (b)及二氯甲烷：甲醇(2：8, v/v)溶液(含0.1%氨水) (c)等不同萃取溶液進行萃取之MRM層析圖

氯甲烷：甲醇(2：8, v/v)溶液(內含0.1%氨水)作為萃取溶劑時，皆出現明顯的裂峰現象。相較之下使用二氯甲烷：甲醇(2：8, v/v)溶液(內含0.1%甲酸)為萃取溶液時有較良好的峰型。

(三)移動相pH值條件之測試

調整移動相A之pH值，以改變分析物之滯留性，有助化合物於層析管柱中穩定進行分離。配製10 mM甲酸銨溶液作為移動相溶液A (pH 6.3)，並分別以甲酸及氨

水調整其pH值為pH 3.5及9.0，另搭配甲醇：乙腈(1：1, v/v)溶液作為移動相B，以food red 6為例(圖一之三)，結果以含10 mM甲酸銨溶液(pH 6.3)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。綜合上述層析條件探討，本研究以「化粧品中色素之檢驗方法(RA03D008.003)」⁽¹⁷⁾之層析條件為基礎，使用二氯甲烷：甲醇(2：8, v/v)溶液(內含0.1%甲酸)為萃取溶劑，採用ACQUITY



圖一之三、Food red 6分別以不同pH值之10 mM甲酸銨溶液作為移動相溶液A進行梯度沖提之MRM層析圖
pH 3.5 (a)、pH 6.3 (b)及pH 9.0 (c)

BEH Shield RP18搭配10 mM甲酸銨溶液(pH 6.3)與甲醇：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8項色素之分析。

二、液相層析串聯質譜儀之參數最佳化

本研究利用LC-MS/MS進行分析，利用電灑游離法(ESI)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)選擇一特定離子作為前驅離子，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之產物離子為第1離子對，訊號次之為第2離子對，各色素之MRM偵測參數如表四。

本方法以最佳化層析條件及質譜參數進行

分析，利用MRM偵測模式，可將8項色素成分分離，層析圖譜如圖二。

三、方法偵測極限之評估

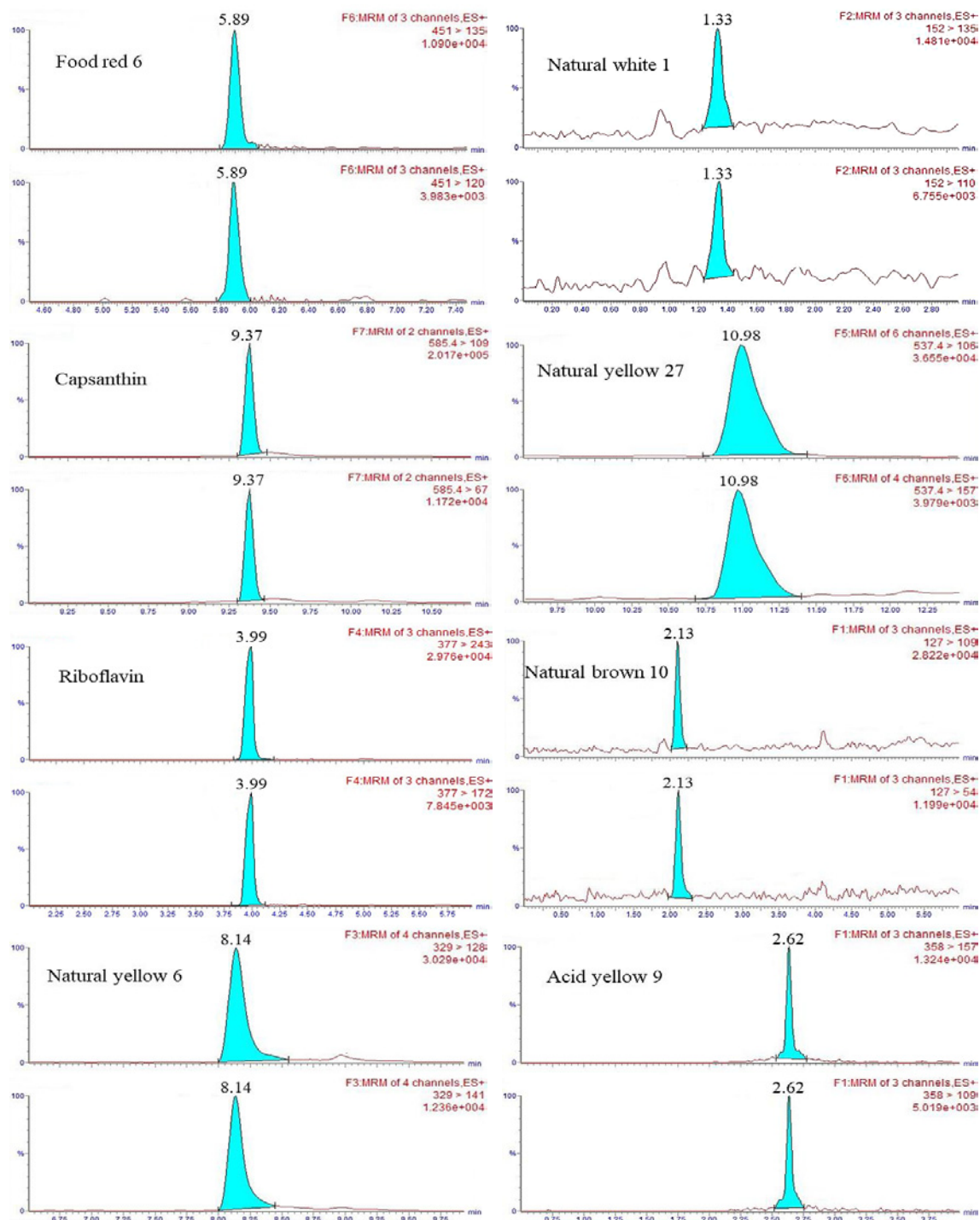
本研究取指甲油、唇蜜及唇膏檢體，添加一系列不同濃度之色素標準品，評估8項色素於指甲油、唇蜜及唇膏中之偵測極限，結果顯示8項色素於指甲油、唇蜜及唇膏中之添加標準品濃度介於0.2-50 µg/g時，檢液中各色素之第一離子對及第二離子對訊噪比(S/N ratio)皆大於3 (詳如表五)，本方法偵測極限於food red 6及natural white 1 均為0.2 µg/g；capsanthin、natural yellow 27及riboflavin均為2 µg/g；natural brown 10及natural yellow 6均為20 µg/g；acid yellow 9為50 µg/g。

四、方法專一性之評估

取指甲油、唇蜜及唇膏空白檢體，依前述檢液調製方法配製及分析，結果空白樣品

表四、8項化粧品色素之質譜MRM偵測參數

項次	分析物	離子化模式	離子對		進樣錐電壓(V)	碰撞能量(eV)	標準原液配製溶劑
			前驅離子(m/z)	產物離子(m/z)			
1	Food red 6	ESI ⁺	451	> 135 > 120	60	20 52	50%甲醇
2	Natural white 1	ESI ⁺	152	> 135 > 110	58	10 12	1%氨水
3	Capsanthin	ESI ⁺	585.4	> 109 > 67	20	26 60	DMSO
4	Natural yellow 27	ESI ⁺	537.4	> 106 > 157	46	44 38	DMSO
5	Riboflavin	ESI ⁺	377	> 243 > 172	16	18 32	50%甲醇
6	Natural brown 10	ESI ⁺	127	> 109 > 54	30	10 20	50%甲醇
7	Natural yellow 6	ESI ⁺	329	> 128 > 141	10	60 52	DMSO
8	Acid yellow 9	ESI ⁺	358	> 157 > 109	48	20 36	50%甲醇



圖二、8項化粧品色素標準品之MRM層析圖

表五、8項色素標準品及添加LOD濃度於空白樣品(唇膏、指甲油)之5重複分析訊噪比(S/N ratio)

名稱	標準品(LOD)			唇膏(LOD)			指甲油(LOD)		
	濃度 (μg/mL)	S/N ratio (1)*	S/N ratio (2)*	添加濃度 (μg/g)	S/N ratio 平 均 ± SD (1)* (n=5)	S/N ratio 平 均 ± SD (2)* (n=5)	添加濃度 (μg/g)	S/N ratio 平 均 ± SD (1)* (n=5)	S/N ratio 平 均 ± SD (2)* (n=5)
空白測試	無干擾	--	--	無干擾	--	--	無干擾	--	--
Food red 6	0.01	39	22	0.2	34 ± 2	16 ± 4	0.2	29 ± 4	16 ± 4
Natural white 1	0.01	10	7	0.2	9 ± 1	8 ± 2	0.2	7 ± 1	6 ± 1
Capsanthin	0.1	19	15	2	11 ± 1	8 ± 1	2	16 ± 1	10 ± 2
Natural yellow 27	0.1	47	39	2	17 ± 3	14 ± 2	2	14 ± 2	6 ± 1
Riboflavin	0.1	19	11	2	16 ± 1	11 ± 2	2	20 ± 1	18 ± 3
Natural brown 10	1	17	12	20	17 ± 3	11 ± 2	20	12 ± 2	11 ± 3
Natural yellow 6	1	19	44	20	22 ± 3	44 ± 6	20	21 ± 3	20 ± 1
Acid yellow 9	2.5	28	27	50	8 ± 1	8 ± 1	50	9 ± 1	9 ± 1

* S/N ratio (1)：第一性離子對之訊噪比；S/N ratio (2)：第二性離子對之訊噪比

於8項色素標準品滯留時間處無出現波峰，顯示空白樣品無干擾，另取指甲油、唇膏及唇膏空白檢體，添加各色素標準品濃度介於0.2-50 μg/g，再依前述檢液調製方法配製及分析，就檢液與標準品中各項色素滯留時間與相對離子強度鑑別之(如表六之一-表六之三)，結果各色素並無基質干擾現象，顯示方法具有良好專一性。

五、方法適用性評估

市售化粧品檢體類別於表七所示，共計12件分別為指甲油3件、唇膏4件、唇膏3件，入浴劑1件及化粧水1件，其中檢體編號SA04及SA11均檢出riboflavin，與產品標示成分riboflavin相符；檢體編號SA07及SA12均檢出natural brown 10，亦與產品成分標示相符，另8件檢體，其包裝成分標示均無本研究之分析標的，以本方法分析8項色素成分，則均未檢出。

結 論

本研究利用LC-MS/MS建立化粧品中8項色素之定性鑑別檢驗方法，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。所建立方法已完成定性方法確效，經以指甲油、唇膏及唇膏評估方法之偵測極限及專一性，8項色素於指甲油、唇膏及唇膏之偵測極限介於0.2-50 μg/g，確效結果顯示方法具良好專一性，可應用於化粧品中色素成分之檢驗，擴增現行公開方法「化粧品中色素之檢驗方法(RA03D008.003)」⁽¹⁷⁾之可檢測品項數，由50項增加為58項。為利市售產品監測及協助行政調查案件，擴增及完備色素成分檢驗方法庫有其必要性，本研究持續參考相關法規精進色素成分之檢驗方法，以提升產品檢驗之作業量能及效率，保護國人健康。

表六之一、8項色素標準品及添加LOD濃度於空白樣品(指甲油)之5重複分析滯留時間及相對離子強度

分析物	添加濃度 (µg/g)	標準品				
		RT* (min)	Ion ratio*	RT* (min)	Ion ratio*	RT* (min)
Food red 6	0.2	5.89	0.370	5.89	0.412	5.89
Natural white 1	0.2	1.33	0.413	1.33	0.427	1.33
Capsanthin	2	9.43	0.059	9.44	0.052	9.44
Natural yellow 27	2	10.87	0.094	10.89	0.103	10.89
Riboflavin	2	3.82	0.287	3.82	0.247	3.82
Natural brown 10	20	2.06	0.486	2.06	0.464	2.04
Natural yellow 6	20	8.24	0.423	8.22	0.401	8.21
Acid yellow 9	50	2.64	0.400	2.69	0.405	2.68

* RT：滯留時間；ion ratio：相對離子強度

表六之二、8項色素標準品及添加LOD濃度於空白樣品(唇蜜)之5重複分析滯留時間及相對離子強度

分析物	添加濃度 (µg/g)	標準品				
		RT* (min)	Ion ratio*	RT* (min)	Ion ratio*	RT* (min)
Food red 6	0.2	5.89	0.367	5.89	0.363	5.88
Natural white 1	0.2	1.33	0.434	1.34	0.426	1.33
Capsanthin	2	9.37	0.057	9.37	0.052	9.36
Natural yellow 27	2	10.98	0.104	10.98	0.097	10.98
Riboflavin	2	3.99	0.255	3.99	0.273	3.99
Natural brown 10	20	2.13	0.533	2.13	0.594	2.10
Natural yellow 6	20	8.14	0.459	8.11	0.423	8.10
Acid yellow 9	50	2.62	0.397	2.65	0.401	2.65

* RT：滯留時間；ion ratio：相對離子強度

表六之三、8項色素標準品及添加LOD濃度於空白樣品(唇膏)之5重複分析滯留時間及相對離子強度

分析物	添加濃度 ($\mu\text{g/g}$)	標準品									
		1		2		3		4		5	
		RT* (min)	Ion ratio*	RT* (min)	Ion ratio*	RT* (min)	Ion ratio*	RT* (min)	Ion ratio*	RT* (min)	Ion ratio*
Food red 6	0.2	5.91	0.321	5.92	0.360	5.92	0.318	5.91	0.346	5.92	0.319
Natural white 1	0.2	1.32	0.389	1.34	0.384	1.34	0.374	1.33	0.345	1.32	0.395
Capsanthin	2	9.37	0.052	9.39	0.050	9.39	0.051	9.39	0.053	9.39	0.050
Natural yellow 27	2	10.96	0.060	10.96	0.065	10.96	0.061	10.96	0.066	10.96	0.069
Riboflavin	2	4.01	0.233	4.01	0.255	3.99	0.242	4.01	0.246	3.99	0.233
Natural brown 10	20	2.04	0.465	2.04	0.478	2.06	0.473	2.06	0.496	2.06	0.458
Natural yellow 6	20	8.28	0.470	8.27	0.479	8.27	0.492	8.27	0.463	8.27	0.461
Acid yellow 9	50	2.63	0.403	2.65	0.401	2.66	0.407	2.65	0.401	2.66	0.407

* RT : 滯留時間 ; ion ratio : 相對離子強度

參考文獻

1. Gaviria, L.F.F., Camaño, C.L., Soto, L.L., Gómez. *et al.* 2015. Colorantes. [<https://prezi.com/jfuqmvkwemcs/colorantes/>]
2. Department of chemistry, University of York. 2013. The Essential Chemical Industry-online: Colorants. [<http://www.essentialchemicalindustry.org/materials-and-applications/colorants.html>]
3. Gürses, A, Açıkyıldız, M., Güneş, K. and Sadi Gürses, M. 2016. Dye and Pigments. pp.31-45. Springer, Cham, Switzerland.
4. American Association of Textile Chemists and Colourists (AATCC). 2013. Colour Index™ Constitution Number. [<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。
6. 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.
7. 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.
8. 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.
9. Minioti, K.S., Sakellariou, C.F. and Thomaidis, N.S. 2007. Determination of 13

表七、方法適用性評估

檢體編號	檢體類別	產地	標示含有本方法涵蓋之色素成分	檢驗結果
SA01	指甲油	臺灣	未標示	未檢出
SA02	指甲油	日本	未標示	未檢出
SA03	指甲油	臺灣	未標示	未檢出
SA04	唇膏	中國	Riboflavin	檢出Riboflavin
SA05	唇膏	中國	未標示	未檢出
SA06	唇膏	英國	未標示	未檢出
SA07	唇膏	中國	Natural brown 10	檢出Natural brown 10
SA08	唇蜜	日本	未標示	未檢出
SA09	唇蜜	法國	未標示	未檢出
SA10	唇蜜	美國	未標示	未檢出
SA11	入浴劑	日本	Riboflavin	檢出Riboflavin
SA12	化粧水	韓國	Natural brown 10	檢出Natural brown 10

synthetic food colorants in water-soluble foods by reversed-phase high-performance liquid chromatography coupled with diode-array detector. *Anal. Chim. Acta* 583: 103-110.

10. Culzoni, M.J., Schenone, A.V., Llamas, N.E., Garrido, M. *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.
11. 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.
12. Guerra, E., Celeiro, M., Lamas, J.P., Llompart, M. *et al.* 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.
13. Official Journal of the European Communities.

2002/657/EC: commission decision of 12 August 2002 implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results. 2002.

14. 衛生福利部食品藥物管理署。2021。食品化學檢驗方法之確效規範。[<http://www.fda.gov.tw/TC/siteList.aspx?sid=4115>]
15. The European Network of official Cosmetics Control Laboratories (OCCL). 2021. OCCL Guideline on validation and verification of the performance of analytical procedures for cosmetic products. PA/PH/OCCL (19) 3 R5.
16. 衛生福利部食品藥物管理署。2017。化粧品中禁用色素類之鑑別及含量測定 (RA03D005.001)。
17. 衛生福利部食品藥物管理署。2022。化粧品中色素之檢驗方法 (RA03D008.003)。
18. 衛生福利部食品藥物管理署。2024。化粧品中色素之檢驗方法(二)(RA03D009.002)。

Establishment of the Analytical Method for Azo and Natural Colorants in Cosmetics

SHIN-HAO CHEN, YUN-HUA HSU, SHU-FANG TENG,
CHING-CHIA CHANG, SHOU-CHIEH HUANG, MEI-CHIH LIN
AND SU-HSIANG TSENG

Division of Research and Analysis, TFDA, MOHW

ABSTRACT

Colorants in cosmetics are not only used to enhance product appearance and attract consumers, but also serve as crucial components in makeup formulations. Synthetic colorants are widely used in cosmetics such as nail polish, eyeshadow, and lipstick due to their diverse colors, strong coloring ability, and long-lasting performance. To ensure the safe use of cosmetics, the Ministry of Health and Welfare has announced the “List of Colorants in Cosmetic Products”, which outlines the permitted usage scope and restrictions of colorant components. This study uses liquid chromatograph/tandem mass spectrometer (LC-MS/MS) to establish a simple and rapid qualitative testing method for the simultaneous analysis of eight pigment ingredients, including CI 16155 (Food Red 6). In this study, a dichloromethane:methanol (1:1, v/v) solution containing 0.1% formic acid was used to extract the samples. Chromatographic separation was performed on an ACQUITY BEH Shield RP18 column with gradient elution using 10 mM ammonium formate (pH 6.3) and methanol:acetonitrile (1:1, v/v) solution. Detection was carried out using electrospray ionization (ESI) in combination with multiple reaction monitoring (MRM) mode. This method enables the analysis of eight pigments to be completed within 15 minutes. Method performance was evaluated for detection limit and specificity. The detection limits of the eight colorants in nail polish, lip gloss and lipstick range from 0.2 to 50 µg/g, with no interference observed in blank samples. Additionally, the applicability of this method was evaluated using 12 commercial products, including nail polish, lip gloss, lipstick, bath additives, and facial lotion. The results demonstrated that products labeled with the target colorants were successfully detected, indicating that the method developed in this research is reliable for detecting colorants in real samples. It is suitable for quality monitoring of cosmetic products and supports regulatory compliance.

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