

利用高效液相層析法定量化粧品中多種防曬劑成分

余勝壹 黃守潔 陳玉盆 闕麗卿 施養志

食品藥物管理局研究檢驗組

摘 要

市面上的防曬化粧品種類相當的多，近年來民眾防曬的觀念逐漸普及，如何選用適當的防曬產品避免曬傷與曬黑成為重要的課題。在調查市售防曬化粧品之品質時，為能提高檢驗效率同時準確分析化粧品中的多種防曬劑成分，本研究擬建立一快速且再現性高之液相層析法，用以同時分析常見的9種防曬劑成分2-Phenylbenzimidazole-5-sulfonic acid、Benzophenone-3、Diethylamino hydroxybenzoyl hexyl benzoate、Octocrylene、2-Ethylhexyl-*p*-dimethyl amino benzoate、Octyl methoxycinnamate、Butyl methoxydibenzoylmethane、Octyl salicylate及Homosalate。防曬劑標準品與檢體先經甲醇溶解萃取後，再以高效液相層析儀進行分析。使用之層析管柱為LiChrospher® 100 C18 (4.0 mm × 250 mm)，移動相為甲醇與0.1%醋酸溶液以9:1 (v/v)之比例混合，流速為0.8 mL/min，標準品溶液與檢液注入量為20 µL，分析時間20 min，檢測波長為310及350 nm。經實驗分析後，9種防曬劑所得標準曲線之線性回歸相關係數 R^2 介於0.99605-1.00000之間，而各防曬成分在同日內及異日間分析所得結果之相對標準偏差分別介於0.02-6.93及0.03-6.51%之間。接著進行已知濃度的標準品添加後，求得此9種防曬成分之回收率介於82.42-118.34%，而其添加回收率之相對標準偏差則介於0.07-4.23%之間。進一步分析各防曬成分之最低定量濃度及最低檢測濃度，由實驗結果得知此9種防曬劑之最低定量濃度及最低檢測濃度分別介於0.002-0.005及0.0007-0.0015%之間。綜合以上結果，此篇研究中所建立之快速且再現性高之液相層析法，應該能同時準確地分析化粧品中常見的9種防曬劑成分，並應用於例行性之防曬化粧品品質檢驗。

關鍵詞：2-Phenylbenzimidazole-5-sulfonic acid、Benzophenone-3、Diethylamino hydroxybenzoyl hexyl benzoate、Octocrylene、2-Ethylhexyl-*p*-dimethyl amino benzoate、Octyl methoxycinnamate、Butyl methoxydibenzoylmethane、Octyl salicylate、Homosalate、高效液相層析法

前 言

市面上的防曬化粧品種類相當的多，在近年來民眾防曬的觀念逐漸普及的情況下，如何選用適當的防曬產品避免曬傷與曬黑便成為重要的課題。

防曬劑的出現，主要是為了阻擋紫外線對人體造成的傷害⁽¹⁾。而紫外線對人體造成的傷害，是在第二次世界大戰時，由德國的科學家所發

現，當時的德軍進入高溫炎熱的亞洲地區作戰，許多士兵發現自己的皮膚出現紅疹斑塊等類似皮膚燒傷的現象。進一步研究發現，原來是連續曝曬在強烈的紫外線下所造成的一種皮膚曬傷。目前由諸多研究已知，照射太多紫外線不僅導致肌膚產生紅腫、變黑與老化，甚至造成免疫系統傷害及DNA病變，更與基底細胞癌、鱗狀細胞癌及惡性黑色素瘤發生有關⁽²⁻⁴⁾。而現今的物理學家依據波長範圍將紫外光區分為主要三種⁽⁵⁻⁷⁾：(-)

UVA，長波紫外線，波長介於400至320 nm之間。UVA幾乎不會被臭氧層阻擋，能量較低，但到達地表的量最多，並且穿透力較強，可直達皮膚的真皮組織，導致膠原纖維及彈性纖維萎縮變性，而產生皮膚鬆弛及皺紋。(二)UVB，中波紫外線，波長介於320至280 nm之間。UVB部分會被臭氧層隔離，但能量較高，雖然只能到達皮膚的表皮層，卻是造成曬傷的主因，致癌性及曬紅曬傷作用為UVA之數倍。(三)UVC，短波紫外線，波長介於280至200 nm之間。UVC雖然能量最高，但在抵達地面之前，大部分已被臭氧層吸收，對人體之影響不大。

防曬成分於商業化為產品並廣為大眾使用後，一般而言防曬劑可分為物理性防曬與化學性防曬兩種，防曬產品常合併物理性與化學性成分以達到廣波防護效果(完整的UVA及UVB波長防曬範圍)⁽⁸⁻¹⁰⁾。物理性防曬大多是利用反射及散射紫外線的原理來達到保護的效用，主要的有二氧化鈦(Titanium dioxide)與氧化鋅(Zinc oxide)這兩種成分。在防曬產品的使用上，物理性防曬劑相較於化學性防曬劑穩定，同時其具有不易被肌膚吸收的特性，這也使得物理性防曬劑成為敏感性肌膚、異位性肌膚及嬰幼兒肌膚最佳選擇。然而物理性防曬劑也有其缺點，其在質地上比較厚重及滋潤(使用後容易有皮膚泛白的效果)，對於油性肌膚、混合性肌膚與青春痘肌膚較不適合使用。化學性防曬的作用原理則是在塗抹於皮膚後，利用其吸收紫外線的方式，將紫外線的輻射能量轉化為分子振動能或熱能，減輕對皮膚直接的傷害，常見的有Octyl methoxycinnamate與Butyl methoxydibenzoylmethane等成分。由於化學性防曬劑比起物理性防曬劑可能較容易造成皮膚的刺激與過敏，因此對於敏感性肌膚、異位性肌膚和嬰幼兒肌膚來說較不適合使用。但化學性防曬劑使用上能讓皮膚保持清爽舒適感，不易有油膩感，因此深受混合性肌膚和青春痘肌膚的喜愛。

而在所有化粧品中，防曬劑是防曬效能具有量化的產品，因為理論上所有防曬劑在出廠前都應經過客觀的效能測定，將其功能指數化，常見的防曬劑保護效能指數有SPF (Sun Protection Fac-

tor)、PA (Protection Grade of UVA)及★(Boots Star Rating)等⁽¹¹⁾。SPF即一般所稱的防曬係數，主要指的是抵抗UVB的防護時間有多長，簡單來說，SPF是指在塗抹防曬劑後，在人工或天然光源照射下，皮膚產生發紅曬傷現象所需時間與不擦防曬劑時所需時間之比值，此就是所謂防曬係數。PA與★則是針對防曬產品對於UVA的防禦效果的表示，隨著PA的+號或★的數量增多，意指可使皮膚在陽光下愈不易被曬黑，即防護UVA的效果愈好。以往防曬產品主要針對抗UVB，以防止曬傷為主，隨著研究不斷進展，人們逐漸了解到曝曬於長波紫外線波段的危險性，包括會促使皮膚老化及對肌膚造成慢性與長期的傷害，於是針對阻斷UVA的新成分研發在近幾年也成為熱門方向。因此，這已改變化粧品製造業者對於防曬UVB+UVA之全方位功能處方的推出。

目前各國對於防曬劑之管理現況歸類不同，於美國列屬非處方用藥⁽¹²⁾，其防曬成分之原料規格大部分收載於美國藥典，在中國則列屬特殊用途化粧品⁽¹³⁾，我國依據化粧品衛生管理條例暨相關法規規定⁽¹⁴⁾，將防曬成分列於「化粧品含有醫療或毒劇藥品基準」當中，歸屬含藥化粧品管理，並公告49種防曬劑成分及其使用限量，化粧品處方中若含有公告的成分，且用途宣稱防曬功能者，上市前需辦理查驗登記，經核發許可證後，始得輸入、製造及販售。而現今防曬化粧品許可證申請仍持續增加中，可見防曬產品有其市場必需性。

有鑑於此，為能提高檢驗效率及同時準確分析化粧品中多種的防曬劑成分，本研究擬建立一快速且再現性高之液相層析法⁽¹⁵⁻²²⁾，用以同時分析常見的9種防曬劑成分2-Phenylbenzimidazole-5-sulfonic acid、Benzophenone-3、Diethylamino hydroxybenzoyl hexyl benzoate、Octocrylene、2-Ethylhexyl-*p*-dimethyl amino benzoate、Octyl methoxycinnamate、Butyl methoxydibenzoylmethane、Octyl salicylate及Homosalate，並應用於例行性之防曬化粧品品質檢驗。

材料與方法

一、材料

(一)標準品

2-Phenylbenzimidazole-5-sulfonic acid及Octyl methoxycinnamate對照用標準品購自Merck (Merck KGaA, Germany)。Benzophenone-3對照用標準品購自Fluka (Fluka Chemie GmbH, Switzerland)。Diethylamino hydroxybenzoyl hexyl benzoate對照用標準品購自BASF (BASF Corp., Germany)。Octocrylene、2-Ethylhexyl-*p*-dimethyl amino benzoate及Octyl salicylate對照用標準品購自Tokyo Chemical Industry (TCI Co., Ltd., Japan)。Butyl methoxydibenzoylmethane及Homosalate對照用標準品購自The United States Pharmacopeial Convention (USP Conv. Inc., USA)。

(二)試藥

甲醇採用液相層析級。醋酸採用試藥特級。

(三)濾膜

孔徑0.45 μm ，Nylon材質。

(四)空白檢體

檢體來源購自市售防曬化粧品(且經實驗確定均不含本研究所要分析之9種防曬劑成分)。使用之空白檢體有KAMERIA童顏無瑕水凝保濕BB霜、MEILIN完美無瑕亮白BB霜、ORIKS BB CREAM珠光無瑕保養霜及Natural Free MAGIC BB霜。

二、儀器設備

本實驗使用高效液相層析儀Waters 2690 Separations Module (Waters Corp., USA)連接Waters 996 Photodiode Array Detector (Waters Corp., USA)及PerkinElmer Series 200 Vacuum Degasser (PerkinElmer Inc., USA)。水淨化組件為Milli-Q Water Purification System (Millipore Corp., USA)。

三、實驗方法

(一)分析條件

層析管柱為LiChrospher® 100 C18 (4.0 mm

$\times 250\text{ mm}$)，移動相為甲醇與0.1%醋酸溶液以9:1 (v/v)之比例混合，流速為0.8 mL/min，標準品溶液與檢液注入量為20 μL ，分析時間20 min，檢測波長為310 nm (2-Phenylbenzimidazole-5-sulfonic acid、Benzophenone-3、Octocrylene、2-Ethylhexyl-*p*-dimethyl amino benzoate、Octyl methoxycinnamate、Octyl salicylate及Homosalate)與350 nm (Diethylamino hydroxybenzoyl hexyl benzoate及Butyl methoxydibenzoylmethane)。

(二)標準品儲備溶液之配製

1. 取防曬劑成分對照用標準品各約10 mg，精確稱定，分別置於10 mL容量瓶中，以甲醇溶解並定容，作為標準品儲備溶液。
2. 標準品溶液臨用時再由上述之儲備溶液，以甲醇稀釋配製。

(三)檢液之調製

將檢體混勻，取約0.5 g，精確稱定，置於25 mL容量瓶中，加入甲醇10 mL，以超音波震盪溶解後，再以甲醇定容，經濾膜過濾，取濾液供作檢液。若檢液中各成分最終濃度超出標準品線性範圍內時，應估算適當之稀釋倍數。

(四)檢量線之製作

分別量取適量標準品儲備溶液共置於容量瓶中，以甲醇稀釋至Benzophenone-3、Diethylamino hydroxybenzoyl hexyl benzoate、2-Ethylhexyl-*p*-dimethyl amino benzoate及Octyl methoxycinnamate為0.4-10 $\mu\text{g/mL}$ 之系列濃度，2-Phenylbenzimidazole-5-sulfonic acid、Octocrylene及Butyl methoxydibenzoylmethane為0.5-20 $\mu\text{g/mL}$ 之系列濃度，Octyl salicylate及Homosalate為1-50 $\mu\text{g/mL}$ 之系列濃度，注入高效液相層析儀分析後，製作檢量線，求出檢量線之線性迴歸方程式及相關係數。

(五)確效試驗

1. 精密度(Precision)

於對照標準品檢量線範圍內，精確量取

上述標準品儲備溶液適量，置於容量瓶中以甲醇稀釋，各配製6種不同濃度之標準品溶液，使Benzophenone-3、Diethylamino hydroxybenzoyl hexyl benzoate、2-Ethylhexyl-*p*-dimethyl amino benzoate及Octyl methoxycinnamate之濃度為0.4、0.5、1、2、5及10 $\mu\text{g/mL}$ ，2-Phenylbenzimidazole-5-sulfonic acid、Octocrylene及Butyl methoxydibenzoylmethane之濃度為0.5、1、2、5、10及20 $\mu\text{g/mL}$ ，Octyl salicylate及Homosalate之濃度為1、2、5、10、20及50 $\mu\text{g/mL}$ ，於同一日內及不同的三日間連續注入高效液相層析儀分析，每一濃度各進行3重覆分析，並計算標準偏差(S.D.)及相對標準偏差(R.S.D.)。

2. 準確度(Accuracy)

添加已知濃度之標準品於不含此9種防曬劑成分之化粧品中，同上述方法(三)調製成檢液後，注入高效液相層析儀分析，求得回收率，以用來計算準確度。即稱取不含此9種防曬劑成分之空白檢體0.5 g分別置於25 mL容量瓶中，加入適量標準品儲備溶液，混合均勻後，並依前述方法調製成檢液，使得每份檢液中最終所含有標準品濃度分別是Benzophenone-3、Diethylamino hydroxybenzoyl hexyl benzoate、2-Ethylhexyl-*p*-dimethyl amino benzoate及Octyl methoxycinnamate為0.4、1、2及10 $\mu\text{g/mL}$ ，2-Phenylbenzimidazole-5-sulfonic acid、Octocrylene及Butyl methoxydibenzoylmethane為0.5、2、5及20 $\mu\text{g/mL}$ ，Octyl salicylate及Homosalate為1、5、10及50 $\mu\text{g/mL}$ ，再注入高效液相層析儀分析，重覆分析3次，由各標的成分所得之波峰面積代入檢量線換算，以求出各標的成分之回收率，並計算出準確度。

3. 最低檢測濃度(Limit of Detection)

分別將9種成分之標準品溶液，以甲醇稀釋，配製成一系列濃度，置於不含此9種防曬劑成分之空白檢體(0.5 g)中，混合均

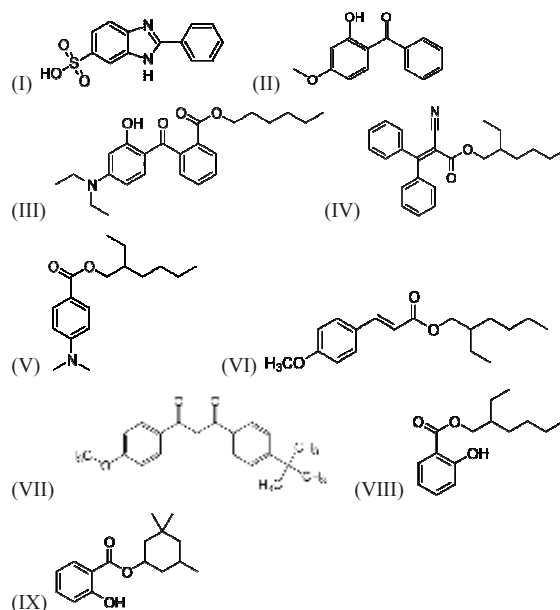
勻，依前述方法(定容至25 mL)調製成檢液，再注入高效液相層析儀分析，求出訊號雜訊比為3:1時之濃度作為最低檢測濃度值之估計值。

4. 最低定量濃度(Limit of Quantity)

分別將9種成分之標準品溶液，以甲醇稀釋，配製成一系列濃度，置於不含此9種防曬劑成分之空白檢體(0.5 g)中，混合均勻，依前述方法(定容至25 mL)調製成檢液，再注入高效液相層析儀分析，求出訊號雜訊比為10:1時之濃度作為最低定量濃度值之估計值。

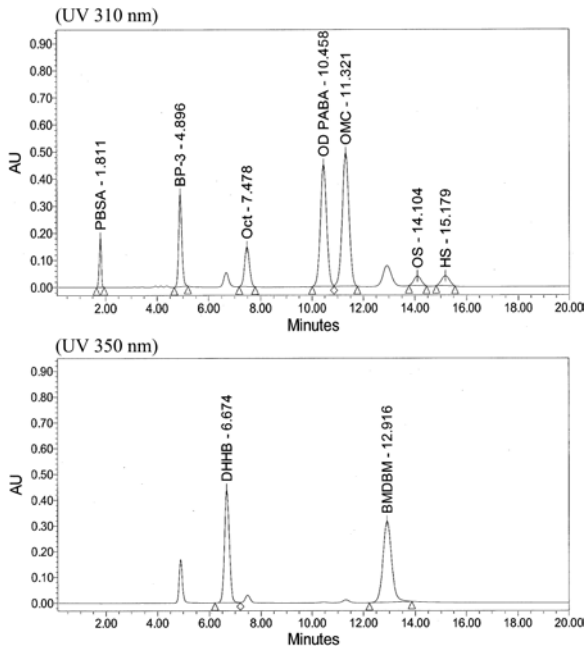
結果與討論

首先以甲醇配製含9種防曬劑成分(圖一)之標



圖一、9種防曬劑標準品之化學結構式

(I) PBSA, 2-phenylbenzimidazole-5-sulfonic acid; (II) BP-3, benzophenone-3; (III) DHHB, diethylamino hydroxybenzoyl hexyl benzoate; (IV) Oct, octocrylene; (V) OD PABA, 2-ethylhexyl-*p*-dimethyl amino benzoate; (VI) OMC, octyl methoxycinnamate; (VII) BMDBM, butyl methoxydibenzoylmethane; (VIII) OS, octyl salicylate; (IX) HS, homosalate.

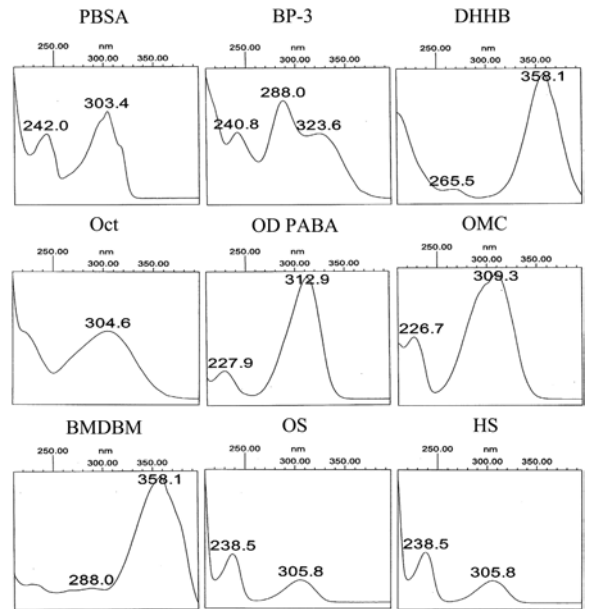


圖二、9 種防曬劑標準品之 HPLC 層析圖

(I) PBSA, 2-phenylbenzimidazole-5-sulfonic acid; (II) BP-3, benzophenone-3; (III) DHHB, diethylamino hydroxybenzoyl hexyl benzoate; (IV) Oct, octocrylene; (V) OD PABA, 2-ethylhexyl-*p*-dimethyl amino benzoate; (VI) OMC, octyl methoxycinnamate; (VII) BMDMB, butyl methoxydibenzoylmethane; (VIII) OS, octyl salicylate; (IX) HS, homosalate.

準品溶液，注入高效液相層析儀分析後，得到此9種防曬劑的層析結果(圖二及三)，由圖可知這9種防曬成分在此分析方法下能有良好的層析效果，並且在20分鐘內即可分析完畢。其中防曬成分2-Phenylbenzimidazole-5-sulfonic acid由於結構上帶有一個硫酸根，屬於比較水溶性的化合物，因此使用此篇研究中的逆相層析方法進行分析時，形成比較不滯留的情況，在實務的應用上或許要考量會有干擾的問題。不過由於防曬化粧品多屬油性或乳霜類性質，因此使用本篇研究中的逆相層析方法進行分析已能符合快速檢驗例行性的多種常見防曬化粧品。

得到初步的層析數據後，接著將各防曬標準品稀釋成系列濃度，製作檢量線，求出檢量線



圖三、9 種防曬劑標準品之 UV 圖譜

(I) PBSA, 2-phenylbenzimidazole-5-sulfonic acid; (II) BP-3, benzophenone-3; (III) DHHB, diethylamino hydroxybenzoyl hexyl benzoate; (IV) Oct, octocrylene; (V) OD PABA, 2-ethylhexyl-*p*-dimethyl amino benzoate; (VI) OMC, octyl methoxycinnamate; (VII) BMDMB, butyl methoxydibenzoylmethane; (VIII) OS, octyl salicylate; (IX) HS, homosalate.

之線性迴歸方程式及其相關係數(表一)，各成分標準品所得標準曲線之線性回歸相關係數 R^2 介於0.99605-1.00000之間，顯示各防曬標準品在所選定的濃度範圍內由該方法分析所得之試驗結果與所要分析的防曬劑濃度具有成正比的能力，即各防曬成分其濃度與分析所得之訊號在此範圍內可呈良好的線性關係。

之後將各防曬成分進行同日內及異日間之試驗分析，以評估此9種防曬劑在此分析方法下之實驗精密度。由實驗結果(表二)得知，各防曬成分在同日內及異日間分析所得結果之相對標準偏差分別介於0.02-6.93及0.03-6.51%之間，顯示此高效液相層析法用於這9種防曬成分之分析有良好的可重覆性及中間精密度，即各防曬劑在其選定的線性範圍內所分析之結果均有穩定的再現性。

表一、9種防曬劑標準品標準曲線線性方程式及R²值

Compounds	Conc. (μg/mL)	Regression equation	R ²
2-Phenylbenzimidazole-5-sulfonic acid	0.5, 1, 2, 5, 10, 20	$y = 92811.64875x - 58764.85475$	0.99605
		$y = 89102.51211x - 51709.60792$	0.99616
		$y = 91470.00821x - 57733.99878$	0.99628
Benzophenone-3	0.4, 0.5, 1, 2, 5, 10	$y = 57938.50834x - 1829.37664$	1.00000
		$y = 58446.27465x - 3617.18647$	0.99998
		$y = 57927.69959x - 1437.20705$	0.99999
Diethylamino hydroxybenzoyl hexyl benzoate	0.4, 0.5, 1, 2, 5, 10	$y = 120249.51244x - 1977.00475$	0.99999
		$y = 121040.55457x - 4647.01838$	0.99995
		$y = 120815.29265x - 881.88625$	0.99999
Octocrylene	0.5, 1, 2, 5, 10, 20	$y = 47872.45199x - 210.68108$	1.00000
		$y = 47906.05078x - 1725.37211$	0.99998
		$y = 47904.65264x - 218.68217$	0.99999
2-Ethylhexyl- <i>p</i> -dimethyl amino benzoate	0.4, 0.5, 1, 2, 5, 10	$y = 148193.85995x - 1435.63814$	0.99996
		$y = 148237.23275x - 3096.09539$	0.99986
		$y = 148555.52013x + 1537.96816$	0.99994
Octyl methoxycinnamate	0.4, 0.5, 1, 2, 5, 10	$y = 124363.60747x - 844.21019$	0.99989
		$y = 123731.02225x - 6214.70186$	0.99982
		$y = 123340.02367x - 5699.04466$	0.99983
Butyl methoxydibenzoylmethane	0.5, 1, 2, 5, 10, 20	$y = 115591.43368x - 45705.64165$	0.99924
		$y = 122918.97057x - 41420.89563$	0.99966
		$y = 119869.92105x - 43012.31845$	0.99948
Octyl salicylate	1, 2, 5, 10, 20, 50	$y = 25897.30887x - 1126.87526$	0.99998
		$y = 25623.65560x - 2397.20787$	0.99999
		$y = 25990.64251x - 1699.40349$	0.99999
Homosalate	1, 2, 5, 10, 20, 50	$y = 25205.99287x - 3749.13572$	0.99998
		$y = 25230.40279x - 5247.33124$	0.99998
		$y = 25403.82340x - 4648.07466$	0.99999

進一步添加此9種防曬劑的標準品溶液於不含此9種防曬成分之化粧品中，計算其回收率。在進行已知濃度的標準品添加(表三)後，求得2-Phenylbenzimidazole-5-sulfonic acid、Benzophenone-3、Diethylamino hydroxybenzoyl hexyl benzoate、Octocrylene、2-Ethylhexyl-*p*-dimethyl amino benzoate、Octyl methoxycinnamate、Butyl methoxydibenzoylmethane、Octyl salicylate及Homosalate之回收率分別介於82.42-118.34、102.84-109.80、102.03-108.38、101.67-

115.35、101.07-106.43、103.85-114.43、96.66-106.91、103.01-114.84及101.22-114.19%之間，而此9種防曬成分添加回收率之相對標準偏差則介於0.07-4.23%之間。由這些數據得知此9種防曬劑於其選定的線性範圍內，使用此高效液相層析法分析所得之結果具有良好的實驗準確度。

同時依前述方法添加已知濃度之標準品於不含有這些防曬劑成分之化粧品中並調製成檢液後，注入高效液相層析儀分析，求出各防曬成分之最低定量濃度(LOQ)及最低檢測濃度(LOD)。

表二、9種防曬劑標準品同日內及異日間之重覆性分析

Compounds	Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	R.S.D. (%)			
		Intraday ^a			Interday ^b
		1 st day	2 nd day	3 rd day	
2-Phenyl-benzimidazole-5-sulfonic acid	0.5	0.19	0.11	0.27	2.40
	1	0.33	0.44	0.15	1.22
	2	0.19	0.12	0.09	1.47
	5	0.23	0.15	0.06	1.87
	10	0.02	0.10	0.06	1.04
	20	0.06	0.06	0.06	0.13
Benzophenone-3	0.4	4.79	1.20	2.47	6.51
	0.5	1.08	0.78	1.04	2.76
	1	0.70	3.73	1.84	1.01
	2	0.46	0.07	0.41	0.50
	5	0.16	0.59	0.31	0.12
	10	0.23	1.28	0.21	0.04
Diethylamino hydroxybenzoyl hexyl benzoate	0.4	6.93	5.62	1.89	2.83
	0.5	0.77	3.36	1.91	2.77
	1	1.17	2.96	1.63	0.91
	2	1.34	0.57	0.31	0.85
	5	0.19	0.23	0.29	0.19
	10	0.02	0.11	0.14	0.07
Octocrylene	0.5	1.85	2.96	2.51	5.03
	1	1.55	4.63	2.09	0.69
	2	0.46	0.26	0.82	0.96
	5	0.27	0.37	0.22	0.31
	10	0.08	0.10	0.05	0.11
	20	0.16	0.12	0.16	0.04
2-Ethylhexyl- <i>p</i> -dimethyl amino benzoate	0.4	2.70	5.60	1.32	4.05
	0.5	0.50	4.02	1.46	3.66
	1	0.28	4.14	0.44	1.28
	2	0.76	0.47	0.34	0.93
	5	0.14	0.21	0.10	0.31
	10	0.05	0.08	0.07	0.09
Octyl methoxy-cinnamate	0.4	1.80	1.20	0.62	5.59
	0.5	0.73	2.94	1.39	3.63
	1	0.62	3.74	0.56	1.96
	2	0.67	0.20	0.08	1.44
	5	0.29	0.15	0.12	0.28
	10	0.02	0.11	0.21	0.09

Compounds	Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	R.S.D. (%)			
		Intraday ^a			Interday ^b
		1 st day	2 nd day	3 rd day	
Butyl methoxy-dibenzoylmethane	0.5	2.37	2.77	6.40	6.49
	1	1.96	2.72	1.84	2.02
	2	0.34	0.33	0.89	1.29
	5	1.94	0.47	1.42	0.95
	10	0.69	0.35	1.51	0.56
	20	0.64	0.68	1.48	0.15
Octyl salicylate	1	2.09	3.04	4.86	3.43
	2	1.26	2.50	2.47	0.93
	5	1.72	1.09	1.86	0.32
	10	0.45	0.58	0.34	0.24
	20	0.18	0.33	0.20	0.11
	50	0.12	0.27	0.18	0.03
Homosalate	1	1.52	6.68	5.81	5.70
	2	2.05	1.33	2.56	0.43
	5	2.09	1.70	0.64	0.46
	10	0.44	0.56	0.31	0.51
	20	0.67	0.12	0.13	0.24
	50	0.14	0.32	0.19	0.04

^a n=3, Repeat injection three times on the same day^b n=9, Repeat injection three times each day and a successive three-day

經分析結果(表四)得知，Benzophenone-3、Diethylamino hydroxybenzoyl hexyl benzoate、2-Ethylhexyl-*p*-dimethyl amino benzoate及Octyl methoxycinnamate之LOQ與LOD分別為0.002及0.0007%，2-Phenylbenzimidazole-5-sulfonic acid、Octocrylene及Butyl methoxydibenzoylmethane之LOQ與LOD分別為0.0025及0.0008%，Octyl salicylate及Homosalate之LOQ與LOD分別為0.005及0.0015%。以目前此9種防曬成分公告的限值在4-10%之間來看，此實驗結果也顯示使用此高效液相層析法來分析這9種防曬劑可符合檢驗的要求。

綜合以上結果，此篇研究中所建立之快速且再現性高之液相層析法，應該能同時準確地分析化粧品中常見的

表三、9種防曬劑標準品之添加回收率

Compounds	Spiked conc (µg/mL)	Recovery ^a (%)	R.S.D. (%)
		Mean ± S.D.	
2-Phenylbenzimidazole-5-sulfonic acid	0.5	118.34 ± 1.34	1.14
	2	110.33 ± 0.76	0.69
	5	91.19 ± 1.70	1.86
	20	82.42 ± 0.57	0.69
Benzophenone-3	0.4	109.80 ± 2.80	2.55
	1	106.57 ± 1.18	1.11
	2	105.14 ± 0.69	0.65
	10	102.84 ± 0.21	0.21
Diethylamino hydroxybenzoyl hexyl benzoate	0.4	104.88 ± 3.33	3.18
	1	108.38 ± 0.27	0.25
	2	106.16 ± 0.26	0.24
	10	102.03 ± 0.11	0.11
Octocrylene	0.5	115.35 ± 4.38	3.80
	2	106.55 ± 0.95	0.89
	5	103.17 ± 0.40	0.39
	20	101.67 ± 0.19	0.19
2-Ethylhexyl- <i>p</i> -dimethyl amino benzoate	0.4	101.07 ± 0.42	0.41
	1	104.93 ± 0.73	0.70
	2	106.43 ± 0.38	0.36
	10	103.08 ± 0.08	0.07
Octyl methoxy-cinnamate	0.4	114.43 ± 2.12	1.85
	1	106.17 ± 0.52	0.49
	2	106.32 ± 0.47	0.44
	10	103.85 ± 0.11	0.10
Butyl methoxy-dibenzoylmethane	0.5	106.91 ± 0.32	0.30
	2	103.45 ± 0.65	0.63
	5	96.66 ± 4.09	4.23
	20	101.49 ± 0.87	0.86
Octyl salicylate	1	114.84 ± 3.81	3.31
	5	106.41 ± 1.70	1.60
	10	105.10 ± 0.74	0.70
	50	103.01 ± 0.20	0.19
Homosalate	1	114.19 ± 0.80	0.70
	5	104.27 ± 1.10	1.06
	10	102.88 ± 0.60	0.58
	50	101.22 ± 0.43	0.43

^a n=3, Repeat injection three times

表四、9種防曬劑標準品之最低檢測極限及最低定量極限

Compounds	Limit of quantity (%)	Limit of detection (%)
2-Phenylbenzimidazole-5-sulfonic acid	0.0025	0.0008
Benzophenone-3	0.002	0.0007
Diethylamino hydroxybenzoyl hexyl benzoate	0.002	0.0007
Octocrylene	0.0025	0.0008
2-Ethylhexyl- <i>p</i> -dimethyl amino benzoate	0.002	0.0007
Octyl methoxycinnamate	0.002	0.0007
Butyl methoxydibenzoylmethane	0.0025	0.0008
Octyl salicylate	0.005	0.0015
Homosalate	0.005	0.0015

附錄一、9種防曬劑成分之法規限量標準

UV filters	Maximum concentration (%)		
	Taiwan	China	USA
2-Phenylbenzimidazole-5-sulfonic acid	4	8	8
Benzophenone-3	6	10	6
Diethylamino hydroxybenzoyl hexyl benzoate	10	10	*
Octocrylene	10	10	10
2-Ethylhexyl- <i>p</i> -dimethyl amino benzoate	8	8	8
Octyl methoxycinnamate	10	10	7.5
Butyl methoxydibenzoylmethane	5	5	3
Octyl salicylate	5	5	5
Homosalate	10	10	15

* That have not been included in the current FDA Monograph

9種防曬劑成分2-Phenylbenzimidazole-5-sulfonic acid、Benzophenone-3、Diethylamino hydroxybenzoyl hexyl benzoate、Octocrylene、2-Ethylhexyl-*p*-dimethyl amino benzoate、Octyl methoxycinnamate、Butyl methoxydibenzoylmethane、Octyl salicylate及Homosalate，並應用於例行性之防曬化粧品品質

附錄二、9種防曬劑成分之分類

Types	Active ingredients
UVB filters	2-Phenylbenzimidazole-5-sulfonic acid
	2-Ethylhexyl- <i>p</i> -dimethyl amino benzoate
	Octyl methoxycinnamate
	Octyl salicylate
	Homosalate
UVA filters	Diethylamino hydroxybenzoyl hexyl benzoate
	Butyl methoxydibenzoylmethane
UVB + UVA filters	Benzophenone-3
	Octocrylene

檢驗。

參考文獻

- Forestier, S. 2008. Rationale for sunscreen development. *J. Am. Acad. Dermatol.* 58: S133-S138.
- 黃維生、王心怡、黃守潔、王雅惠、黃琴曉、黃明權、鄒玫君、孫慈悌、陳樹功。2006。市售防曬化粧品品質調查。藥物食品檢驗局調查研究年報，24: 35-47。
- 黃維生、林宮華、王雅惠、黃明權、溫國慶、廖俊亨。2002。市售防曬化粧品品質調查。藥物食品檢驗局調查研究年報，20: 42-50。
- 吳珍瑗、王雅惠、黃明權、張柏林、廖俊亨。2000。市售防曬化粧品品質調查。藥物食品檢驗局調查研究年報，18: 1-9。
- 黃維生、黃守潔、黃琴曉、黃明權、鄒玫君。2007。市售防曬化粧品品質調查。藥物食品檢驗局調查研究年報，25: 20-27。
- 林澄琴、林宮華、王雅惠、黃明權。2003。市售防曬化粧品品質調查。藥物食品檢驗局調查研究年報，21: 70-80。
- 黃維生、黃守潔、王雅惠、黃明權、溫國慶、廖俊亨。2001。市售防曬化粧品品質調查。藥物食品檢驗局調查研究年報，19: 34-41。
- Serpone, N., Dondi, D. and Albini, A. 2007. Inorganic and organic UV filters: their role and efficacy in sunscreens and suncare products. *Inorg. Chim. Acta* 360: 794-802.
- Kockler, J., Oelgemöller, M., Robertson, S. and Glass, B. D. 2012. Photostability of sunscreens. *J. Photochem. Photobiol. C* 13: 91-110.
- Santoro, M. I., Da Costa E Oliveira, D. A., Kedor-Hackmann, E. R. and Singh, A. K. 2005. The effect of packaging materials on the stability of sunscreen emulsions. *Int. J. Pharm.* 297: 197-203.
- Hojerová, J., Medovčíková, A. and Mikula, M. 2011. Photoprotective efficacy and photostability of fifteen sunscreen products having the same label SPF subjected to natural sunlight. *Int. J. Pharm.* 408: 27-38.
- Wang, S. Q. and Lim, H. W. 2011. Current status of the sunscreen regulation in the United States: 2011 Food and Drug Administration's final rule on labeling and effectiveness testing. *J. Am. Acad. Dermatol.* 65: 863-869.
- 中華人民共和國衛生部。2007。化粧品衛生規範。
- 行政院衛生署食品藥物管理局。2010。化粧品衛生管理條例暨相關法規彙編。
- Potard, G., Laugel, C., Baillet, A., Schaefer, H. and Marty, J. P. 1999. Quantitative HPLC analysis of sunscreens and caffeine during *in vitro* percutaneous penetration studies. *Int. J. Pharm.* 189: 249-260.
- Maw, K. L., Caton-Williams, J., Salon, J. and Huang, Z. 2011. Simple ultraviolet and high-performance liquid chromatography methods for the evaluation of sunscreen efficacy. *J. Am. Acad. Dermatol.* 65: 328-335.
- Rastogi, S. C. and Jensen, G. H. 1998. Identification of UV filters in sunscreen products by high-performance liquid chromatography-diode array detection. *J. Chromatogr. A* 828: 311-316.
- Salvador, A. and Chisvert, A. 2005. Sunscreen analysis: a critical survey on UV filters

- determination. Anal. Chim. Acta 537: 1-14.
19. Sarveiya, V., Risk, S. and Benson, H. A. 2004. Liquid chromatographic assay for common sunscreen agents: application to *in vivo* assessment of skin penetration and systemic absorption in human volunteers. J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci. 803: 225-231.
20. Shih, Y. and Cheng, F. C. 2000. Determination of sunscreen agents in cosmetic products using microwave-assisted extraction and liquid chromatography. J. Chromatogr. A 876: 243-246.
21. Scalia, S. 2000. Determination of sunscreen agents in cosmetic products by supercritical fluid extraction and high-performance liquid chromatography. J. Chromatogr. A 870: 199-205.
22. Zhang, X., Liu, Y., Zhang, J., Hu, Z., Hu, B., Ding, L., Jia, L. and Chen, H. 2011. Neutral desorption extractive electrospray ionization mass spectrometry for fast screening sunscreen agents in cream cosmetic products. Talanta 85: 1665-1671.

Quantitative Analysis for Common Sunscreen Agents in Cosmetics by HPLC

SHENG-YI YU, SHOU-CHIEH HUANG, YU-PEN CHEN,
LIH-CHING CHIUEH AND DANIEL YANG-CHIH SHIH

Division of Research and Analysis, FDA

ABSTRACT

A simplified quick and reliable high performance liquid chromatography (HPLC) method for the quantitative analysis of common sunscreen agents (2-phenylbenzimidazole-5-sulfonic acid, benzophenone-3, diethylamino hydroxybenzoyl hexyl benzoate, octocrylene, 2-ethylhexyl-*p*-dimethyl amino benzoate, octyl methoxycinnamate, butyl methoxydibenzoylmethane, octyl salicylate and homosalate) in cosmetics was developed in this study. Nine sunscreen standards and samples were extracted with methanol solution, followed by HPLC analysis. The HPLC was performed on a LiChrospher® 100 C18 (4.0 mm × 250 mm) column using methanol and 0.1% acetic acid (9 : 1, v/v) as the mobile phase at a flow rate of 0.8 mL/min and injection volume was 20 µL. The run time was 20 min and the chromatography was monitored by absorbance at 310 and 350 nm. The linear coefficients of regression equation of nine sunscreen agents were 0.99605-1.00000. The relative standard deviations of 9 sunscreen agents ranged between 0.02-6.93% (intraday) and 0.03-6.51% (interday). Recovery analysis was performed by spiking standard compounds into blank samples. The recoveries of 9 sunscreen agents were 82.42-118.34% and the coefficients of variation were 0.07-4.23%. The quantity limits and detection limits of 9 sunscreen agents were 0.002-0.005% and 0.0007-0.0015%, respectively. As a whole, this method was well qualified for the quantitative analysis of 9 sunscreen agents in commercial cosmetics.

Key words: 2-phenylbenzimidazole-5-sulfonic acid, benzophenone-3, diethylamino hydroxybenzoyl hexyl benzoate, octocrylene, 2-ethylhexyl-*p*-dimethyl amino benzoate, octyl methoxycinnamate, butyl methoxydibenzoylmethane, octyl salicylate, homosalate, HPLC