

化粧品中甲醛成分之分析方法探討

陳信豪 黃守潔 陳玉盆 闕麗卿 施養志

食品藥物管理署研究檢驗組

摘 要

本計畫採乙醯丙酮(acetylacetone)衍生化法，建立準確、快速且再現性高的液相層析法分析市售化粧品中甲醛。層析管柱使用CAPCELL PAK C18 UG120 (管徑4.6 mm × 150 mm, 5 μ m)，並採用甲醇及水1:1 (v/v)作為移動相；流速為0.8 mL/min；以光二極體陣列檢出器偵測，檢測波長為412 nm。確效結果，標準曲線之線性範圍為0.5-10 μ g/mL，線性回歸之判定係數(r^2)大於0.995，同日內及異日間試驗之相對標準偏差均小於3.5%，添加不同濃度之標準品於空白檢體中，回收率介於96.5-115.4%，相對標準偏差均小於2.8%。於化粧品中甲醛之最低定量極限為5 ppm。

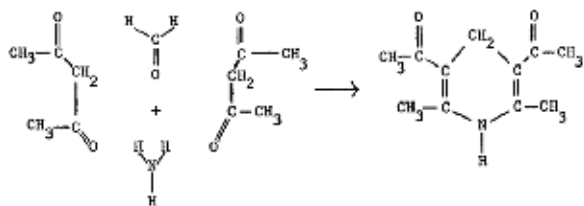
關鍵詞：高效液相層析法、衍生化、化粧品、甲醛、乙醯丙酮

前 言

為避免化粧品在長期使用過程中遭受微生物之污染，引起腐敗變質，防腐劑之添加有其必要性⁽¹⁵⁾。甲醛具防腐殺菌效力，但對皮膚具刺激性，易引起過敏，因此行政院衛生署於94.04.21以衛署藥字第0940306865號公告禁止甲醛使用於化粧品中⁽¹⁾，惟某些防腐劑本身會釋放出甲醛(稱為甲醛供體)，依據87.07.07衛署藥字第87041266號公告，化粧品中以DMDM hydantoin、Imidazolidinyl urea、Quaternium 15等類成分作為防腐劑時，其總釋出之Free formaldehyde量不得超過1000 ppm⁽²⁾。歐盟化粧品指令則規定化粧品中游離甲醛之最大容許量為0.2%，當含量超過0.05%時，則需標示⁽³⁾。美國FDA對化粧品中甲醛成分並無特殊限量規定，但美國化粧品公會CTFA曾於1984年提出甲醛成分評估報告，結論為0.2%甲醛添加於一般化粧品中對人體的危害不高⁽⁴⁾，惟近年來許多文獻則探討甲醛供體釋放出甲醛成分而引起皮膚過敏之相關性^(5,6)。另，除行政

院衛生署公告上述3個成分外，實際會釋放出甲醛之防腐劑還包括Diazolidinyl Urea、Bronopol、Benzylhemiformal、5-Bromo-5-nitro-1,3-dioxane、Sodium hydroxymethylglycinate等⁽⁷⁾。有鑑於甲醛具有潛在的健康危害，且甲醛供體防腐劑是常被添加於化粧品中，基於保障消費者使用化粧品之衛生安全，市售化粧品中甲醛成分的含量是否合乎規定是值得關切。

有關化粧品中甲醛之檢測方法文獻相當多，但由於甲醛成分對UV偵測器之感度低，因此所使用之方法皆需利用衍生試劑與其反應，包括變色酸(chromotropic acid)、2,4-二硝基苯肼(2,4-dinitrophenylhydrazine; 2,4-DNPH)、乙醯丙酮(acetylacetone)及Nash's Reagent等⁽⁸⁻¹³⁾，生成物或直接用分光光度計或螢光偵測，或是配合高效液相層析儀。由於化粧品種類繁多，且色彩繽紛，為避免色素造成檢測上之干擾，本計畫擬採用乙醯丙酮法，將甲醛與乙醯丙酮和鉍反應形成高度螢光二甲基吡啶衍生物(圖一)，再以高效液相層析儀分析，建立一快速且再現性高之方法，

圖一、甲醛衍生化應式⁽⁷⁾

應用於例行性之化粧品檢驗。

材料與方法

一、材料

甲醛(1000 mg/L)對照用標準品購自關東化學股份有限公司。不含甲醛成分之空白乳液，購自日本株式會社資生堂。乙醯丙酮為分析用試劑、甲醇採用液相層析級，冰醋酸及醋酸鉍均為試藥特級，皆購自德國Merck公司。濾膜(0.45 μm ，Nylon)購自Titan。

二、儀器設備

本實驗使用高效液相層析儀Waters 2695 Separations Module (Waters Corp., USA)連接Waters 996 Photodiode Array Detector (Waters Corp., USA)。水淨化組件為Milli-Q Waters Purification System (Millipore Corp., USA)。

三、實驗方法

(一)分析條件

層析管柱為CAPCELL PAK C18 UG120 (管徑4.6 mm $\times$ 250mm, 5 μm)，移動相為甲醇和水比例為1:1 (v/v)；流速為0.8 mL/min；檢測波長為412 nm；注射體積為10 μL 。

(二)乙醯丙酮溶液之製備

稱取醋酸鉍150 g，加去離水約500 mL溶解後，加冰醋酸3 mL及乙醯丙酮2 mL，混合均勻，加去離子水使成1000 mL。

(三)標準溶液之配製

精確量取適量甲醛對照用標準品，以甲醇稀釋至0.5-10 $\mu\text{g/mL}$ ，

供作標準溶液。

(四)檢液之調製

將檢體混勻，取約1 g，精確稱定，置於10 mL容量瓶中，加入甲醇8 mL，以超音波振盪30分鐘溶解後，冷卻，再以甲醇定容，以2200 $\times$ g離心30分鐘，取上清液供作檢液。

(五)衍生化反應

精確量取檢液、空白檢液及標準溶液各2 mL，置於試管中，加入乙醯丙酮溶液2 mL，混合均勻後，於40 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中加熱30分鐘，取出並冷卻至室溫，經濾膜過濾，供作檢液。

(六)標準曲線之製作

取經衍生後之標準品溶液，注入高效液相層析儀分析後，以標準品溶液之波峰面積製作標準曲線，求出標準曲線之線性迴歸方程式及相關係數。

(七)添加回收試驗

稱取對照空白乳液(不含甲醛成分)1 g分別置於10 mL容量瓶，加入標準品儲備液，使每份檢液中標準品添加之濃度分別為0.5、2.0及5.0 $\mu\text{g/mL}$ ，混和均勻，依前述方法(四)配製成檢液，經衍生後注入高效液相層析儀分析，重複三次，求出標的成分之回收率。

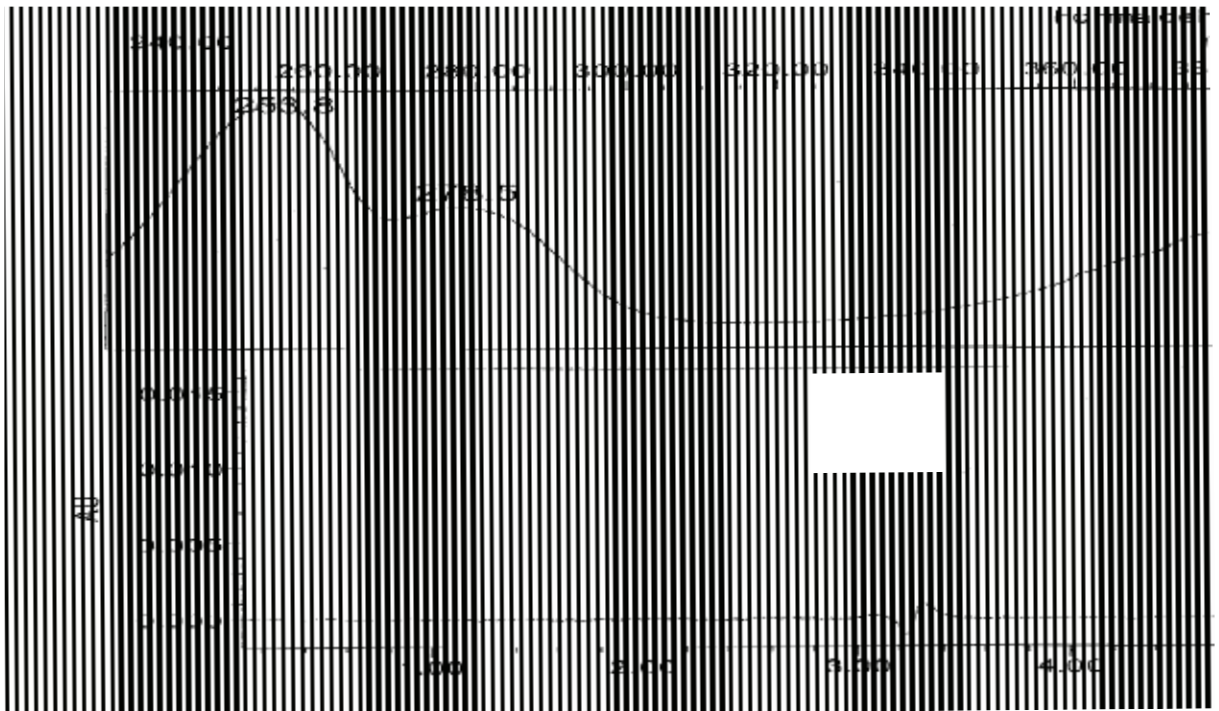
(八)最低定量濃度(Limit of Quantity)

將甲醛標準品溶液，以甲醇稀釋，配製成一系列濃度之溶液，置於對照空白乳液中，以甲醇溶解並混和均勻後，定容至10 mL依前述方法配製成檢液，經衍生後注入高效液相層析儀分析，求出10倍於雜訊之波峰面積比之濃度為最低定量濃度。

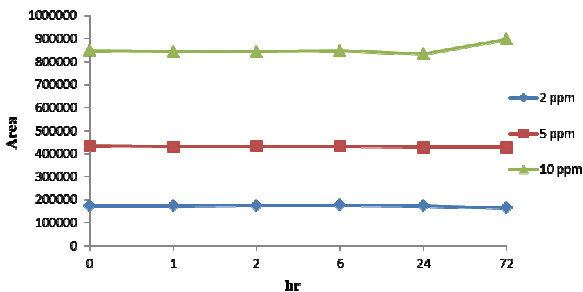
結果與討論

一、甲醛衍生之穩定性試驗

本試驗主要將甲醛標準液，利用乙醯丙酮試劑進行衍生反應，於40 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中加熱30分鐘，取出並冷卻至室溫後，在一般室溫環境下分別放置0-72小時並在個別時間點，取樣分析分別為0、1、2、6、24及72小時於HPLC進行分析(圖二)，層析光譜圖吸收峰分別為254 nm及412 nm，在



圖二、甲醛標準液衍生之層析圖及UV光譜圖



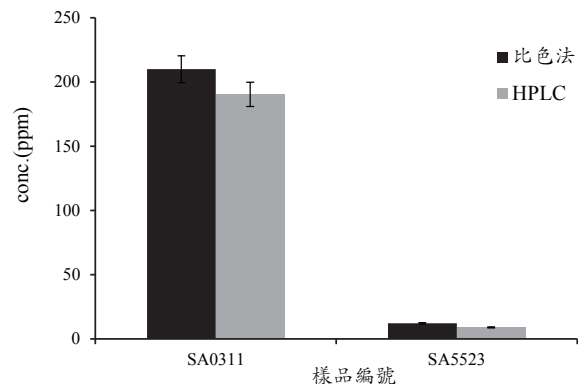
圖三、甲醛衍生穩定性分析圖

本實驗中選取412 nm當作檢測波長，此處波長有較高之專一性，可排除化粧品中色素及基質之干擾。由圖三所示，當甲醛標準品濃度為0.5、2及5 $\mu\text{g/mL}$ 添加在空白乳液中，並於0、1、2、6、24及72小時進行分析，所顯示之結果非常安定，其安定性可高達三天。

二、乙醯丙酮衍生物之比色法及HPLC法比較

目前文獻中利用乙醯丙酮與甲醛衍生後，用

比色法分析，但比色法於化粧品檢驗時，易受到色素及基質干擾造成吸光值偏高，本計畫利用乙醯丙酮試劑於衍生後，利用HPLC進行分析，藉由層析管柱分離化粧品中色素及基質之成分，減少干擾之產生。2種含甲醛之化粧品於不同分析方法所得之結果(圖四)，可看出在比色法所分析之



圖四、市售檢體衍生化後比色法及HPLC分析之甲醛濃度比較圖

表一、甲醛於同日內及異日間分析

Compounds	Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	Mean $\pm$ S.D.		R.S.D. (%)	
		Intraday *	Interday **	Intraday *	Interday **
Formaldehyde	0.5	0.61 $\pm$ 0.002	0.61 $\pm$ 0.012	0.27	1.92
	1.0	1.1 $\pm$ 0.003	1.0 $\pm$ 0.036	0.29	3.51
	2.0	2.1 $\pm$ 0.004	2.0 $\pm$ 0.067	0.19	3.4
	5.0	5.1 $\pm$ 0.003	5.0 $\pm$ 0.134	0.06	2.7
	10.0	10.0 $\pm$ 0.016	10.0 $\pm$ 0.045	0.16	0.45

*n=3 (於同日內注射三次)

**n=9 (於同日內注射三次持續三日)

表二、甲醛標準品添加於樣品中之回收率

Compounds	Spiked conc. ($\mu\text{g/mL}$)	Recovery (%)	R.S.D.
		Mean $\pm$ S.D.	(%) *
Formaldehyde	0.5	89.7 $\pm$ 0.018	4.10
	2.0	108.0 $\pm$ 0.009	0.42
	5.0	103.0 $\pm$ 0.010	0.19

*n=3

濃度都相對偏高，故利用HPLC可分離化粧品中色素及基質之干擾，以達到準確定量之目的。

三、方法確效實驗

依前述標準曲線製作方法所得甲醛對照用標準品，其線性迴歸之判定係數(r^2)，在濃度範圍0.5-10 $\mu\text{g/mL}$ 內，均 > 0.995 ，呈良好線性關係。分別配製含5種不同濃度之標準品溶液，於同日內及異日間分析，其結果如表一，同日內及異日間試驗之相對標準偏差，分別介於0.06-0.29%及0.45-3.51%之間，顯示此方法之再現性良好。

表二則為甲醛標準品溶液添加於空白乳液之回收率。添加甲醛溶液(0.5、2及5 $\mu\text{g/mL}$)於化粧品中之回收率介於89.7-108.0 $\mu\text{g/mL}$ ，而回收率之相對標準偏差範圍介於0.42-4.1%，顯示出此方法具高度準確性，最低定量極限(LOQ)為5.0 ppm。

四、市售化粧品甲醛之檢驗

為了解本研究所建立之方法對市售化粧品之適用性並監測甲醛之含量，共計抽驗檢體160件，

表三、市售化粧品之甲醛檢驗結果

類別	檢出件數/檢驗件數	檢出範圍(ppm)
清潔類	14/53	7.3-593.4
假睫毛膠	18/30	10.1-522.1
睫毛膏	8/30	14.8-69.5
精華液	2/26	43.2-158
彩粧類	0/10	0
面膜	1/6	202.1
髮膠(蠟)	1/3	175.6
指甲油	1/2	7380.0

檢出甲醛者45件，檢出量介於7.3-7380 ppm (表三)，其中13件檢體中，全成分均標示含有DMDM hydantoin (甲醛供體防腐劑)，檢出量介於92.8-522.1 ppm，均未超出公告釋出總量1000 ppm，另1件指甲油檢出甲醛7380ppm，該檢體成分標示含甲醛樹脂，甲醛樹脂通常添加於指甲油當作硬化劑，依據行政院衛生署98.07.15衛署藥字第0980316608號公告指甲油以芳烴基磺醯胺-甲醛樹脂成分為原料時，其最終製品之使用含量不得超過25%⁽¹⁴⁾，而甲醛樹脂可能會釋放出甲醛，造成檢出甲醛殘留量過高之現象。

綜合前述結果本計畫建立之方法，具簡單、準確、快速地鑑別及定量化化粧品中之甲醛。

參考文獻

1. 行政院衛生署。2005。1,4-二氧六環(1,4-Dioxane)成分係不得添加於化粧品中。

- 94.04.21衛署藥字第0940306865號公告。
2. 行政院衛生署。1998。化粧品中使用此類成分(DMDM Hydantoin、Imidazolidinyl urea及Quaternium 15)作為防腐劑之規範。87.07.07衛署藥字第87041266號公告。
 3. The Council of the European Communities. 2005. LIST of PRESERVATIVES WHICH COSMETIC PRODUCTS MAY CONTAIN. EU Cosmetics Directive 76/768/EEC Annex VI. p.147.
 4. Steinberg, D. C. 1992. Cosmetics Preservations: Current International Trends. *Cosmetics & Toiletries*. 107: 77-82.
 5. De Groot, A. C., Le Coz., C. J., Lensen, G. J., Flyvholm, M. A., Maibach, H. I. and Coenraads, P. J. 2010. Formaldehyde-releasers: relationship to formaldehyde contact allergy. Formaldehyde-releasers in clothes: durable press chemical finishes. Part 1. *Contact Dermatitis*. 62: 259-271.
 6. De Groot, A. C., Flyvholm, M. A., Lensen, G., Menn'e, T. and Coenraads, P.J. 2009. Formaldehyde-releasers: relationship to formaldehyde contact allergy. Contact allergy to formaldehyde and inventory of formaldehyde-releasers. *Contact Dermatitis*. 61: 63-85.
 7. De Groot, A. C. and Veenstra, M. 2010. Formaldehyde-releasers in cosmetics in the USA and in Europe. *Contact Dermatitis*. 62: 221-224.
 8. Benassi, C. A, Semenzato, A. and Bettero, A. 1989. High-performance liquid chromatographic dertermination of free formaldehyde in cosmetics. *J. of Chromatography*. 464: 387-393.
 9. Rastogi, S. C. 1992. A survey of formaldehyde in shampoos and skin creams on the Danish market. *Contact Dermatitis*. 27: 235-240.
 10. Wlison, C. H. 1974. Fluorometric Determination of Formaldehyde in Cosmetic Products. *J. Soc. Cosmet. Chem*. 25: 67-71.
 11. Gryllaki-Berger, M., Mugny, C., Perrenoud, D., Pannatier, A. and Frenk, E. 1992. A comparative study of formaldehyde detection using chromotropic acid acetylacetone and HPLC in cosmetics and household cleaning products. *Contact Dermatitis*. 26: 149-154.
 12. Kruijf, N. D., Schouten, A., Rijk, M. A. H. and Pranoto-Soetardhi, L. A. 1989. Determination of preservatives in cosmetic products II. High-performance liquid chromatographic identification. *J. Chrom*. 469:317-328.
 13. Engelhardt, H. and Klinkner, R. 1985. Determination of free formaldehyde in the presence of donators in cosmetics by HPLC and post-column derivation. *Chromatographia*. 20: 559-565.
 14. 行政院衛生署。2009。訂定化粧品中含芳烴基磺醯胺-甲醛樹脂(arylsulfonamide-formaldehyde resin)成分之管理規定。98.07.15衛署藥字第0980316608號公告。
 15. Muhammed, H. J. 2011. Bacterial and Fungal Contamination in Three Brands of Cosmetic Marketed in Iraq. *Iraqi J Pharm Sci*. 20 (1): 39-42.

Determination of Formaldehyde in Cosmetics by HPLC

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

Division of Research and Analysis, FDA

ABSTRACT

A simple and reliable high performance liquid chromatography (HPLC) method was establish for the quantitative analysis of formaldehyde based acetylacetone derivatization. The separation was performed on a CAPCELL PAK C18 UG120 (4.6 mm×250 mm, 5 μ m) column using methanol and water (1:1 v/v) as the mobile phase; The flow rate was set at 0.8mL/min the detection wavelength was set at 412 nm. The standard curve was found to be linear in the range 0.5-10 μ g/mL, with an r^2 value greater than 0.995. The relative standard deviations of formaldehyde ranged between 0.06-0.29% (intraday) and 0.45-3.51% (interday). The recoveries of formaldehyde were 89.7-108.0% and the coefficients of variation were 0.19-4.10%. The quantitative limit in cosmetic obtained was 5.0 ppm. 161 samples of cosmetic analyzed for formaldehyde, 45 did not comply with the regulation limits. The formaldehyde levels ranged between 7.3-7380 ppm .

Key words: HPLC, derivatization, cosmetic, formaldehyde, acetylacetone