

利用氣相層析串聯質譜儀建立化粧品中禁限用成分分析方法

許闊顯 黃守潔 高雅敏 曾素香 王德原

食品藥物管理署研究檢驗組

摘 要

本研究利用氣相層析串聯質譜儀(GC-MS/MS)建立簡單、快速分析化粧品中呋喃香豆素類化合物等8種禁、限用化合物之方法。檢體以丙酮萃取呋喃香豆素等8種禁、限用化合物，經HP-5MS UI層析管柱分離後，利用電子游離(EI)及多重反應監測(Multiple reaction monitoring, MRM)模式進行鑑別與含量測定，其中黃樟素(Safrole)、6-甲基香豆素(6-Methylcoumarin)、8-甲氧基補骨脂(8-methoxypsoralen, 8-MOP)、5-甲氧基補骨脂(5-methoxypsoralen, 5-MOP)及三甲沙林(Trioxsalen)之線性範圍為5 - 100 ng/mL，另碘丙炔正丁胺甲酸酯(Iodopropynyl butylcarbamate, IPBC)、合成麝香(Musk ambrette)及歐前胡素(Imperatorin)之線性範圍為10 - 100 ng/mL，線性相關係數皆為0.999以上，空白檢體之平均添加回收率介於80.9 - 127.4%，變異係數為7.8%以下。呋喃香豆素及其他禁、限用成分之定量極限除Imperatorin、Musk ambrette及IPBC為0.2 ppm外，其餘皆可達0.1 ppm。利用本方法檢測30件市售化粧品檢體，結果均未檢出Musk ambrette、Safrole及呋喃香豆素類化合物等禁用成分；另標示含有IPBC者，共計12件，檢出之含量均符合法規限量。

關鍵詞：呋喃香豆素類、黃樟素、碘丙炔正丁胺甲酸酯、合成麝香、氣相層析串聯質譜儀

前 言

碘丙炔正丁胺甲酸酯(Iodopropynyl butylcarbamate, IPBC)是化粧品常見防腐劑之一，因其結構中含有碘，按歐盟SCCNFP/0826/04⁽¹⁾文件建議每日從化粧品中獲取的碘不應超過30 mg，因此歐盟化粧品法規附錄五(Regulation (EC) No 1223/2009 Annex V)⁽²⁾規範IPBC之使用限量，依不同產品類別，分別訂為0.0075 - 0.02%，我國現行管理規範與歐盟相同。呋喃香豆

素類化合物(5-Methoxypsoralen, 5-MOP；8-Methoxypsoralen, 8-MOP及Trioxsalen)、合成麝香(Musk ambrette)及黃樟素(Safrole)已被國際癌症研究署(International Agency for Research on Cancer, IARC)列為明確或可能致癌物⁽³⁾，歐盟SCCP/0942/05⁽⁴⁾文件指出呋喃香豆素類化合物因其光毒性，建議均不得添加於化粧品中，另歐盟SCCS/1459/11⁽⁵⁾文件中亦指出，合成麝香及6-甲基香豆素(6-Methylcoumarin)具有高致敏性，呋喃香豆素類化合物及合成麝香亦均列為歐盟化粧品法規附錄二(Regulation (EC) No

1223/2009 Annex II)⁽⁶⁾之禁止使用成分，並訂有呋喃香豆素類化合物於防曬及助曬產品之殘留量必須低於1 mg/kg；而6-甲基香豆素則列為歐盟化粧品法規附錄三(Regulation (EC) No 1223/2009 Annex III)⁽⁷⁾之限用成分，限用於口腔衛生用品且用量不得超過0.003%。我國目前已禁用6-甲基香豆素、黃樟素及合成麝香，其中倘化粧品以樟科植物為原料，黃樟素之殘留量不得超過100 ppm。為因應國際管理趨勢，我國已將呋喃香豆素類化合物預告列為禁止使用成分。為確保民眾健康及因應化粧品管理法規變革，本研究擬利用氣相層析串聯質譜儀(Gas Chromatograph / Tandem Mass Spectrometer，GC-MS/MS)建立8種禁、限用成分之檢驗方法，保障民眾化粧品使用安全。

材料與方法

一、檢體來源

本研究檢體來源為食藥署於化粧品販售處所或專櫃購買之化粧品檢體共30件。

二、試藥及器具

(一)標準品

5-甲氧基補骨脂(5-methoxypsoralen)、6-甲基香豆素(6-methylcoumarin)、8-甲氧基補骨脂(8-methoxypsoralen)、歐前胡素(Imperatorin)、碘丙炔正丁胺甲酸酯(Iodopropynyl butylcarbamate)、合成麝香(Musk ambrette)、黃樟素(Safrole)及三甲沙林(Trioxsalen) (Sigma-Aldrich, USA) 對照用標準品純度皆98%以上。

(二)溶劑與藥品

丙酮採用液相層析級，去離子水(比電阻於25℃可達18 MΩ·cm以上)，濾膜(0.22 mm，Nylone材質)。

三、儀器設備

(一)氣相層析串聯質譜儀，為Agilent 7890B氣相層析系統，搭配Agilent 7693自動注射系統及Agilent 7000 GC/MS Triple Quad串聯式質譜儀(7000C, Agilent Technologies, USA)

(二)氣相層析管柱，內膜厚度0.25 mm，內徑0.25 mm × 30 m (HP-5ms Ultra Inert, Agilent Technologies, USA)

(三)超音波振盪器(Sonorex RK 1028 H, Bandelin, Germany)

(四)去離子水製造機(Milipore mili-Q, Milipore, USA)

四、標準溶液之配製

各取碘丙炔正丁胺甲酸酯等8種化合物對照用標準品25 mg，分別以丙酮溶解並定容至25 mL，作為標準原液(1000 mg/mL)，避光於4℃貯存備用。取適量5-甲氧基補骨脂、6-甲基香豆素、8-甲氧基補骨脂、歐前胡素、碘丙炔正丁胺甲酸酯、合成麝香、黃樟素及三甲沙林等8種化合物標準原液混合，以丙酮稀釋至200 ng/mL，作為混合標準原液。臨用時，取適量混合標準原液，以丙酮稀釋配製成5-100 ng/mL之標準溶液，進行標準曲線之製作。

五、檢液之調製

取檢體1 g，加入丙酮溶液5 mL，均勻混合，以超音波震盪30分鐘，定容至20 mL，以0.22 mm Nylon濾膜過濾，供作檢液。

六、儀器參數之設定

(一)GC分析條件

氣相層析管柱：HP-5ms Ultra Inert

層析管溫度：初溫：50℃，1 min

升溫速率：25℃/min

中溫：150℃，1 min

升溫速率：25°C/min

中溫：200°C，2 min

升溫速率：30°C/min

終溫：290°C，2 min

移動相流速：氮氣，2 mL/min

注入器溫度：300°C

注入模式：不分流(Splitless)

注入量：2 µL

(二)質譜條件

介面溫度：280°C

離子化模式：電子游離(EI)，70 eV

離子源溫度：300°C

偵測模式：MRM。偵測離子對與碰撞能量(Collision energy)如表一

七、鑑別試驗及含量測定

表一、禁、限用成分之多重反應監測模式(MRM)分析參數

分析物	離子對		碰撞 能量 (eV)
	前驅離子 (m/z)	產物離子 (m/z)	
5-甲氧基補骨脂	216	> 89 ^a	20
	173	> 89	20
6-甲基香豆素	160	> 132 ^a	10
	132	> 77	40
8-甲氧基補骨脂	216	> 89 ^a	45
	173	> 89	20
歐前胡素	202	> 89 ^a	45
	174	> 89	40
碘丙炔正丁胺甲酸酯	165	> 38 ^a	10
	182	> 154	10
合成麝香	268	> 253 ^a	5
	253	> 91	30
黃樟素	162	> 104 ^a	12
	162	> 131	12
三甲沙林	228	> 199 ^a	30
	199	> 128	30

^a 定量離子對

精確量取檢液及標準溶液各2 µL，分別注入氣相層析串聯質譜儀中，依第六節儀器參數條件進行分析，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鑑別之，並依下列計算式求出檢體中5-甲氧基補骨脂、6-甲基香豆素、8-甲氧基補骨脂、歐前胡素、碘丙炔正丁胺甲酸酯、合成麝香、黃樟素及三甲沙林之含量(ppm)：

檢體中各禁限用成分之含量(ppm) =

$$\frac{C \times V}{M} \times 10^{-3}$$

C：由標準曲線求得檢液中禁限用成分之濃度(ng/mL)

V：檢體最後定容之體積(mL)

M：取樣分析檢體之重量(g)

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 (≤ 100%)，容許範圍如表二。

八、方法確效

(一)精密度評估

- 重複性：配製3種濃度的標準品溶液，於同一日內連續分析3次，計算相對標準偏差(RSD)，n=3。
- 中間精密度：配製3種濃度的標準品溶液，於不同3日分析，每一濃度重複亦分析3次，計算相對標準偏差(RSD)，n=9。

(二)準確度評估

- 空白樣品分析：取空白樣品檢體，依第五節步驟製備。

表二、定性離子對與定量離子對相對離子強度之容許範圍表

相對離子強度(%)	容許範圍(%)
> 50	± 10
> 20 - 50	± 15
> 10 - 20	± 20
≤ 10	± 50

2. 添加回收試驗：選用一般化粧品作為測試檢體，添加適量5種呋喃香豆素類化合物、碘丙炔正丁胺甲酸酯、合成麝香及黃樟素等8種標準品原液，使最終濃度為0.1 - 1 ppm，依第五至七節進行檢液調製、儀器分析及含量測定，求得三重複平均回收率及相對標準偏差(RSD%)，以評估本研究建立分析方法之精確度。

(三) 定量極限評估：取標準溶液分別注入氣相層析串聯質譜儀，就所得波峰之訊號強度計算其訊噪比(S/N ratio)，以雜訊比大於3之最低濃度為儀器之最低偵測極限，以此濃度以上濃度進行樣品之一系列添加回收試驗，每一添加量進行三重複試驗，同時操作空白試驗，依前述方法進行分析，就所得波峰之訊號強度計算其訊噪比(S/N ratio)，以訊噪比大於10之最低濃度為檢驗方法之定量極限(Limit of Quantification, LOQ)。

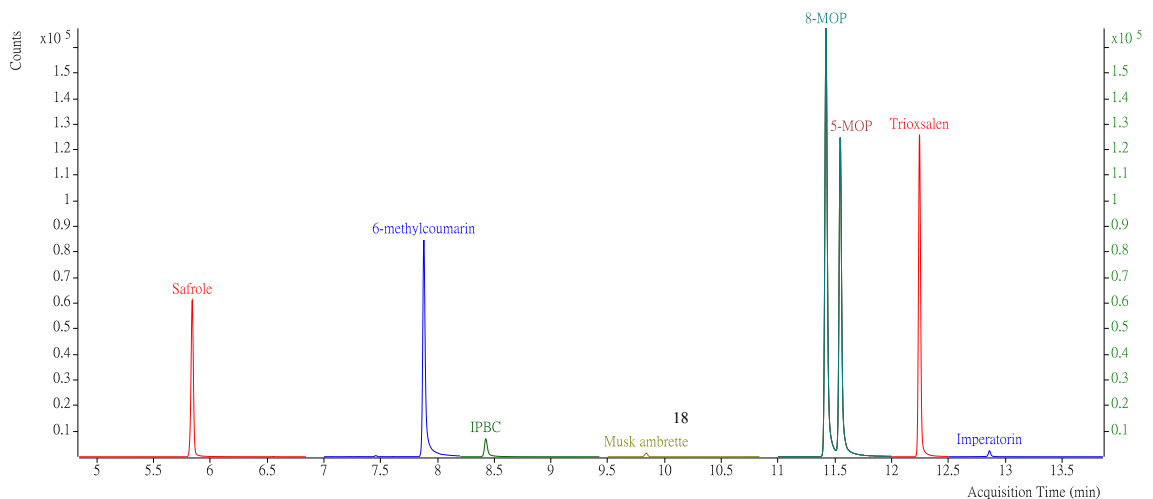
結果與討論

一、GC/MS/MS最適條件分析

本研究參考衛生福利部公告「飲料中黃樟素之檢驗方法」⁽⁸⁾及相關文獻後⁽⁹⁾，採用丙酮為溶劑，並針對Agilent DB-5MS UI、HP-5MS UI、DB-1301及DB-WAX層析管柱進行分析評估，結果以HP-5MS UI層析效果最佳，氣相層析初溫條件為50℃維持1分鐘，升溫速率為25℃/min，中溫為150℃及200℃，分別維持1及2分鐘，終溫為290℃，維持2分鐘；注入模式為不分流模式，注入量為2 mL，搭配MRM模式可於15分鐘內完成(圖一)。

二、方法確效試驗

依據個別化合物感度不同，採用不同線性範圍，5-甲氧基補骨脂、6-甲基香豆素、8-甲氧基補骨脂、黃樟素及三甲沙林線性範圍為5-100 ng/mL，歐前胡素、碘丙炔正丁胺甲酸酯及合成麝香線性範圍為10-100 ng/mL，線性迴歸方程式如表三，相關係數(r)皆在0.999以上，在重複性分析之相對標準偏差(RSD)介於0.40 - 8.90%；在中間精密度分析之相對標準偏差(RSD)介於0.23 - 5.78%(表四)。取市售



圖一、以HP-5MS UI分析8種禁、限用成分之離子層析圖

表三、8種化粧品禁、限用成分之標準曲線及線性範圍

分析物	y = ax + b		相關係數 r	線性範圍 (ng/mL)
	a	b		
5-甲氧基補骨脂	4316.139	-5184.958	0.9998	5-100
6-甲基香豆素	2695.766	-2681.546	0.9999	5-100
8-甲氧基補骨脂	5607.343	-9611.775	0.9998	5-100
歐前胡素	84.564	-248.525	0.9995	10-100
碘丙炔正丁胺甲酸酯	280.228	-1020.309	0.9995	10-100
合成麝香	46.307	-122.627	0.9996	10-100
黃樟素	1768.387	-170.558	0.9999	5-100
三甲沙林	3366.043	580.312	0.9999	5-100

表四、8種化粧品禁、限用成分精密度評估結果

分析物	線性範圍(ng/mL)	重複性RSD (%)	中間精密度RSD (%)
5-甲氧基補骨脂	5-100	1.79-5.46	0.25-3.62
6-甲基香豆素	5-100	0.86-1.99	0.28-4.00
8-甲氧基補骨脂	5-100	1.00-2.40	0.29-4.00
歐前胡素	10-100	2.04-8.90	0.96-4.41
碘丙炔正丁胺甲酸酯	10-100	1.63-6.06	0.56-3.29
合成麝香	10-100	2.27-6.54	0.23-2.75
黃樟素	5-100	0.40-2.26	0.23-3.98
三甲沙林	5-100	1.34-4.02	0.31-5.78

化粧品做為準確度試驗測試檢體，添加濃度範圍介於0.1-1 ppm之5種呋喃香豆素類化合物、碘丙炔正丁胺甲酸酯、黃樟素及合成麝香標準品，經GC-MS/MS分析後計算其回收率介於80.9 - 127.4%，相對標準偏差(RSD)介於0.17 - 7.77%間(表五)。以所得波峰之訊號強度計算其訊噪比(S/N ratio)，以定性離子訊噪比大於3且定量離子訊噪比大於10之最低濃度為檢驗方法之定量極限(LOQ)。5-甲氧基補骨脂、6-甲基香豆素、8-甲氧基補骨脂、黃樟素及三甲沙林之定量極限為0.1 ppm；歐前胡素、碘丙炔正丁胺甲酸酯及合成麝香之定量極限為0.2 ppm。

三、市售化粧品檢測結果與管理規定之探討

本研究檢測共30件市售化粧品(表六)，檢測標的包含5種呋喃香豆素類化合物、碘丙炔正丁胺甲酸酯、黃樟素及合成麝香，其中標示含有碘丙炔正丁胺甲酸酯計12件，其中使用後立即沖洗類(rinse-off)檢體有4件，非立即沖洗類(leave-on)檢體有8件，結果均有檢出，含量範圍為0.0001 - 0.0025%，依據我國管理規定碘丙炔正丁胺甲酸酯在沖洗類限量為0.02%，非立即沖洗類為0.01%，檢驗結果顯示其含量均符合管理規定；另30件檢體中大都標示含有植物萃取物(Plant extracts)、香豆素(Coumarin)

或香料(Fragrance)等成分，可能有黃樟素、呋喃香豆素及合成麝香殘留疑慮，經檢測後皆未檢出。

本研究為因應衛生福利部發布訂定之「化粧品防腐劑成分使用及限量規定基準表」及

表五、8種化粧品禁、限用成分準確度評估結果

分析物	添加濃度 (ppm)	回收率 (%)	RSD (%)
5-甲氧基補骨脂	0.1	99.94	1.20
	0.2	103.42	2.28
	0.5	99.58	0.17
	1.0	99.38	1.23
6-甲基香豆素	0.1	102.68	3.88
	0.2	103.47	4.28
	0.5	96.38	1.84
	1.0	96.62	1.00
8-甲氧基補骨脂	0.1	115.28	1.50
	0.2	112.81	0.80
	0.5	108.42	0.17
	1.0	106.38	1.36
歐前胡素	0.2	80.86	6.71
	0.5	87.78	3.77
	1.0	96.21	2.09
碘丙炔正丁胺甲酸酯	0.2	127.43	0.68
	0.5	113.29	4.09
	1.0	115.24	1.97
合成麝香	0.2	109.74	7.77
	0.5	118.80	2.67
	1.0	116.35	2.31
黃樟素	0.1	90.31	1.63
	0.2	85.62	1.32
	0.5	84.53	3.07
	1.0	88.58	1.07
三甲沙林	0.1	111.37	2.18
	0.2	106.77	1.33
	0.5	102.86	0.63
	1.0	100.84	1.64

表六、8種化粧品禁、限用成分準確度評估結果

編號	成分標示				檢測 結果 (%)
	IPBC	Plant extracts	Coumarin	Fragrance	
1	V	-	-	-	0.0020
2	V	V	-	-	0.0025
3	V	V	-	-	0.0017
4	V	V	-	-	0.0023
5	V	V	-	-	0.0001
6	V	-	-	V	0.0017
7	V	V	-	-	0.0007
8	V	V	-	-	0.0008
9	V	V	-	-	0.0004
10	V	V	-	-	0.0023
11	V	-	-	V	0.0004
12	V	V	-	-	0.0003
13	-	V	-	-	-
14	-	V	-	-	-
15	-	V	-	-	-
16	-	V	-	-	-
17	-	-	-	V	-
18	-	-	-	V	-
19	-	-	V	-	-
20	-	-	-	-	-
21	-	-	-	-	-
22	-	-	-	-	-
23	-	V	-	-	-
24	-	-	V	-	-
25	-	V	-	-	-
26	-	V	-	-	-
27	-	-	-	V	-
28	-	-	-	-	-
29	-	-	-	V	-
30	-	V	-	-	-

^a-表示產品未標示或未檢出

^bV表示產品有標示

^c5-甲氧基補骨脂、6-甲基香豆素、8-甲氧基補骨脂、歐前胡素、合成麝香、黃樟素及三甲沙林均未檢出

「化粧品中禁止使用成分總表」，開發化粧品中禁限用成分檢驗方法。經由簡易萃取步驟搭配GC/MS/MS可於15分鐘內快速分析呋喃香豆素等8種禁、限用成分，另進行30件市售產品含量調查，檢驗結果皆符合管理規定。本研究所建立之方法可供各衛生單位及檢驗機構參考使用。

參考文獻

1. Scientific Committee on Consumer Safety. 2004. Opinion concerning iodopropynyl butylcarbamate. [http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/sccp/documents/out288_en.pdf.]
2. European Commission. 2009. Regulation (EC) No 1223/2009 of the European Parliament and of the Council on cosmetic products. Annex V List of preservatives allowed in cosmetic products.
3. International Agency for Research on Cancer. 2019. Agents Classified by the IARC Monographs, Volumes 1-123. [<https://monographs.iarc.fr/list-of-classifications>].
4. Scientific Committee on Consumer Products. 2005. Opinion on furocoumarins in cosmetic products. [https://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/04_sccp/docs/sccp_o_036.pdf.]
5. Scientific Committee on Consumer Safety. 2011. Opinion on fragrance allergens in cosmetic products. [https://ec.europa.eu/health/scientific_committees/consumer_safety/docs/sccs_o_073.pdf.]
6. European Commission. 2009. Regulation (EC) No 1223/2009 of the European Parliament and of the Council on cosmetic products. Annex II List of substances prohibited in cosmetic products. [http://ec.europa.eu/growth/tools-databases/cosing/pdf/COSING_Annex%20II_v2.pdf.]
7. European Commission. 2009. Regulation (EC) No 1223/2009 of the European Parliament and of the Council on cosmetic products. Annex III List of substances which cosmetic products must not contain except subject to the restrictions laid down. [http://ec.europa.eu/growth/tools-databases/cosing/pdf/COSING_Annex%20III_v2.pdf.]
8. 衛生福利部。2016。飲料中黃樟素之檢驗方法。105.06.03部授食字第1051900867號公告。
9. Scientific Committee on Cosmetics products and Non-Food Products Intended for Consumers. 2003. Furocoumarins in sun protection and bronzing products. [https://ec.europa.eu/health/archive/ph_risk/committees/sccp/documents/out243_en.pdf.]

Determination of Banned and Restricted Compounds in Cosmetics by GC-MS/MS

KUO-HSIEN HSU, SHOU-CHIEH HUANG, YA-MIN KAO,
SU-HSIANG TSENG AND DER-YUAN WANG

Division of Research and Analysis, TFDA

ABSTRACT

A gas chromatography coupled with tandem mass spectrometry (GC-MS/MS) method was developed to determine furanocoumarins (5-methoxypsoralen, 8-methoxypsoralen, trioxsalen, imperatorin), iodopropynyl butylcarbamate, safrole, musk ambrette and 6-methylcoumarin in cosmetics. Samples were extracted by acetone and separated on a HP-5MS UI column. The compounds detection was on multiple reaction monitoring (MRM) mode. The linearities of 8 compounds were evaluated by several concentrations of standard compounds between the range of 5-100 ng/mL individually. The coefficients of correlation (r) were all higher than 0.999. The recoveries were conducted by spiking 3 different concentration levels, and were between 80.9% and 127.4% for all compounds. The relative standard deviations (RSDs) were all below 7.7%. The limits of quantitation (LOQs) of 8 compounds ranged were from 0.1 ppm to 0.2 ppm. The surveillance results of 30 commercial cosmetic samples showed that no sample contained furanocoumarins, safrole and musk ambrette. There were 12 samples labeled IPBC in their packages, the testing results showed all were complied with the regulation.

Key words: furanocoumarins, safrole, iodopropynyl butylcarbamate, musk ambrette, GC-MS/MS