

化粧品中防腐劑之檢驗方法(四)

Method of Test for Preservatives in Cosmetics (4)

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於化粧品中chlorhexidine等8項防腐劑(品項見附表一)之檢驗。
2. 檢驗方法：檢體經萃取後，以液相層析串聯質譜儀(liquid chromatograph/tandem mass spectrometer, LC-MS/MS)分析之方法。
 - 2.1. 裝置：
 - 2.1.1. 液相層析串聯質譜儀：
 - 2.1.1.1. 離子源：電灑離子化(electrospray ionization, ESI)。
 - 2.1.1.2. 層析管：ACQUITY BEH Shield RP18，1.7 μm ，內徑2.1 mm $\times$ 10 cm，或同級品。
 - 2.1.2. 超音波振盪器(Ultrasonicator)。
 - 2.1.3. 旋渦混合器(Vortex mixer)。
 - 2.2. 試藥：甲醇採用液相層析質譜級(honeywell，或同級品)；乙腈採用液相層析級；去離子水(比電阻於25 $^{\circ}\text{C}$ 可達18 $\text{M}\Omega \cdot \text{cm}$ 以上)；chlorhexidine等8項對照用標準品。
 - 2.3. 器具及材料：
 - 2.3.1. 容量瓶：10 mL及50 mL。
 - 2.3.2. 濾膜：孔徑0.22 μm ，Nylon材質。
 - 2.4. 試劑之調製：
 - 2.4.1. 甲醇：乙腈(3:1, v/v)溶液：
取甲醇與乙腈以3：1 (v/v)比例混勻。
 - 2.4.2. 萃取溶液：
取移動相溶液A與移動相溶液B以1：1 (v/v)比例混勻。
 - 2.5. 移動相溶液之調製：
 - 2.5.1. 移動相溶液A：
取甲酸8 mL，加去離子水使成1000 mL，以濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液A。
 - 2.5.2. 移動相溶液B：
取甲酸8 mL，加甲醇：乙腈(3:1, v/v)溶液，使成1000 mL，以濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液B。
 - 2.6. 標準溶液之配製：
取chlorhexidine等8項對照用標準品各約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，各標準溶液之濃度範圍如附表一。

2.7. 檢液之調製：

2.7.1. 一般化粧品(分析本法適用之8項防腐劑)

將檢體混勻，取約0.5 g，精確稱定，加入萃取溶液40 mL，以超音波振盪30分鐘，再以萃取溶液定容至50 mL，經濾膜過濾，供作檢液。

2.7.2. 漱口水及嬰兒專用濕巾(分析chlorhexidine成分)

2.7.2.1. 漱口水

將檢體混勻，取約1.0 g，精確稱定，加入萃取溶液8 mL，以超音波振盪30分鐘，再以萃取溶液定容至10 mL，經濾膜過濾，供作檢液。

2.7.2.2. 嬰兒專用濕巾

取檢體所含溶液約1.0 g，精確稱定，加入萃取溶液8 mL，以超音波振盪30分鐘，再以萃取溶液定容至10 mL，經濾膜過濾，供作檢液。

2.8. 鑑別試驗及含量測定：

精確量取檢液及標準溶液各1 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1)鑑別之，並依下列計算式求出檢體中各防腐劑之含量(%)：

$$\text{檢體中各防腐劑之含量(\%)} = \frac{C \times V}{M} \times 10^{-4}$$

C：由標準曲線求得檢液中各防腐劑之濃度(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)

液相層析串聯質譜分析條件^(註2)：

層析管：ACQUITY BEH Shield RP18，1.7 μ m，內徑2.1 mm
× 10 cm。

層析管溫度：40°C。

移動相溶液：A液與B液以下列條件，進行梯度分析

時間(min)	A (%)	B (%)
0.0 → 4.0	90 → 40	10 → 60

4.0 → 6.0	40 → 40	60 → 60
6.0 → 8.0	40 → 10	60 → 90
8.0 → 11.0	10 → 10	90 → 90
11.0 → 12.0	10 → 90	90 → 10
12.0 → 15.0	90 → 90	10 → 10

移動相流速：0.3 mL/min。

注入量：1 μ L。

毛細管電壓(Capillary voltage)：3.00 kV。

離子源溫度(Ion source temperature)：150°C。

溶媒揮散溫度(Desolvation temperature)：500°C。

進樣錐氣體流速(Cone gas flow rate)：30 L/hr。

溶媒揮散流速(Desolvation flow rate)：600 L/hr。

偵測模式：多重反應偵測(multiple reaction monitoring, MRM)。

離子對、進樣錐電壓(cone voltage)與碰撞能量(collision energy)如附表二。

註：1. 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

2. 上述測定條件分析不適時，可依所使用之儀器，設定適合之測定條件。

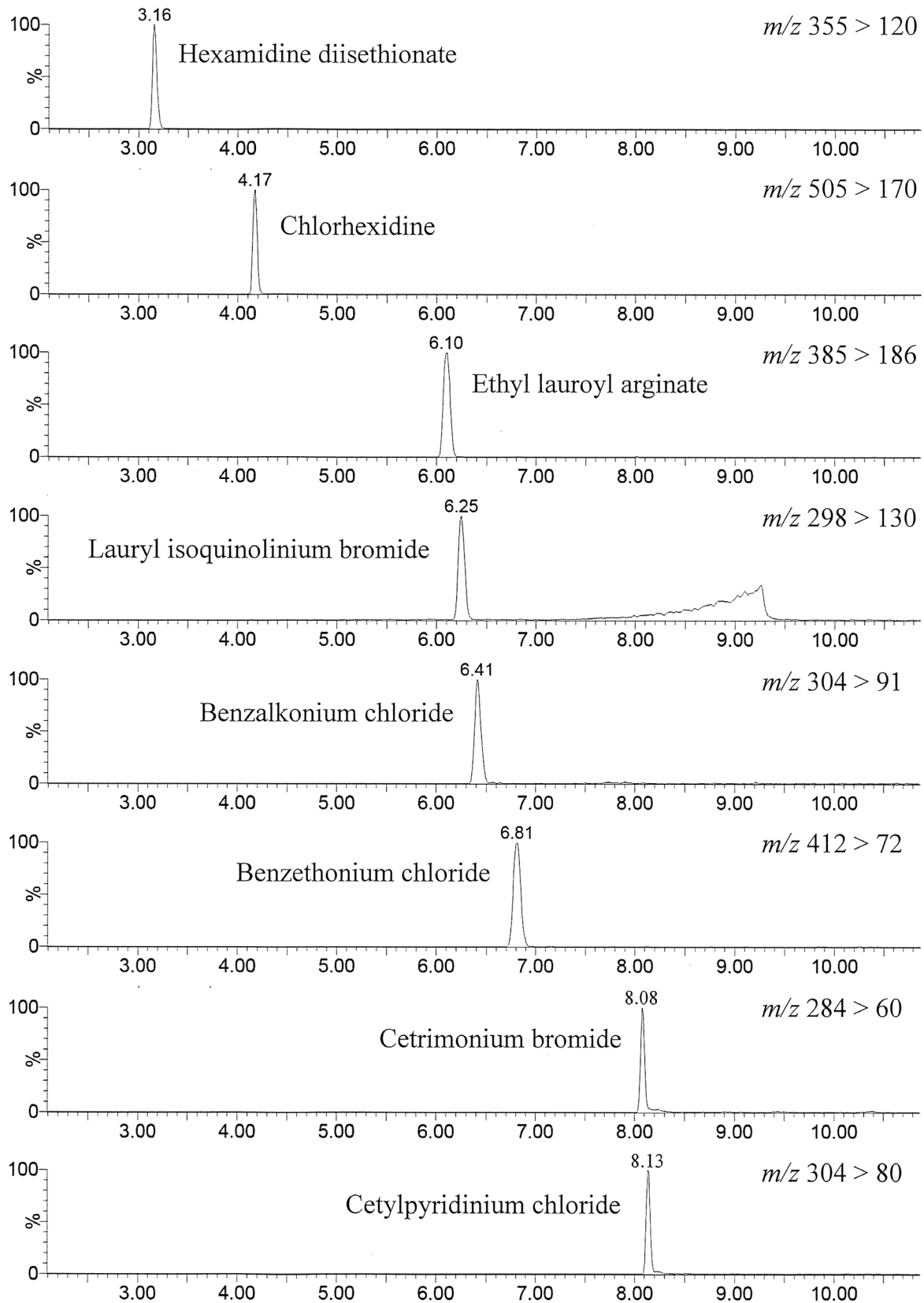
附註：1. 本檢驗方法之定量極限如附表二。

2. 檢體中有影響檢驗結果之物質時，應自行探討。

參考文獻：

1. Bukanski, B. W. and Masse, M. O. 1984. Analysis of hexamidine, dibromohexamidine, dibromopropamidine and chlorhexidine in cosmetic products by high-performance liquid chromatography. *Int. J. Cosmet. Sci.* 6: 283-292.
2. Liu, Y., Wang, H., Yang, H., Shi, H. and Guo, Q. 2011. Simultaneous determination of 3 benzalkonium chloride homologs in cosmetics by high performance liquid chromatography. *Chinese Journal of Chromatography* 29: 458-461.
3. Bukanski, B. W. 1987. Analysis of domiphen bromide and cetylpyridinium chloride in cosmetic products by high-performance liquid chromatography. *Int. J. Cosmet. Sci.* 9: 193-198.
4. Terol, A., Gómez-Mingot, M., Maestre, S. E., Prats, S., Luis Todolí, J. and Paredes, E. 2010. Simple and rapid analytical method for the simultaneous determination of cetrimonium chloride and alkyl alcohols in hair conditioners. *Int. J. Cosmet. Sci.* 32: 65-72.

參考層析圖譜



圖、以LC-MS/MS分析chlorhexidine等8項防腐劑標準品之MRM圖譜

附表一、各防腐劑之線性濃度範圍

分析物	濃度範圍(μg/mL)
Benzalkonium chloride	0.01～0.2
Benzethonium chloride	0.01～0.2
Cetylpyridinium chloride	0.01～0.2
Lauryl isoquinolinium bromide	0.01～0.2
Cetrimonium bromide	0.01～0.2
Ethyl lauroyl arginate	0.01～0.2
Hexamidine diisethionate	2～20
Chlorhexidine	2～20

附表二、各防腐劑之液相層析串聯質譜儀多重反應偵測模式參數

分析物	離子化 模式	離子對 前驅離子(m/z)> 產物離子(m/z)	進樣錐 電壓 (V)	碰撞 能量 (eV)	檢體類別	定量極限(%)
Hexamidine diisethionate	ESI ⁺	355 > 120* 355 > 338	40	50 18	一般化粧品	0.02
Chlorhexidine	ESI ⁺	505 > 170* 505 > 125	32	36 40	漱口水及嬰 兒專用濕巾 一般化粧品	0.002 0.02
Ethyl lauroyl arginate	ESI ⁺	385 > 186* 385 > 70	40	24 42	一般化粧品	0.0001
Lauryl isoquinolinium bromide	ESI ⁺	298 > 130* 298 > 57	48	26 26	一般化粧品	0.0001
Benzalkonium chloride	ESI ⁺	304 > 91* 304 > 58	44	24 28	一般化粧品	0.0001
Benzethonium chloride	ESI ⁺	412 > 72* 412 > 91	42	24 38	一般化粧品	0.0001
Cetrimonium bromide	ESI ⁺	284 > 60* 284 > 57	50	24 24	一般化粧品	0.0001
Cetylpyridinium chloride	ESI ⁺	304 > 80* 304 > 57	50	28 26	一般化粧品	0.0001

*定量離子對