

발간등록번호
안내서-0745-05



화장품 사용한도 성분 분석법 가이드라인(민원인 안내서)

2023. 7.



식품의약품안전처
식품의약품안전평가원

의료제품연구부 화장품연구과

지침서·안내서 제·개정 점검표

명칭

화장품 중 사용한도 성분 분석법 가이드라인(민원인 안내서)

아래에 해당하는 사항에 체크하여 주시기 바랍니다.

등록대상 여부	<input type="checkbox"/> 이미 등록된 지침서·안내서 중 동일·유사한 내용의 지침서·안내서가 있습니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input type="checkbox"/> 아니오	
	☞ 상기 질문에 '예'라고 답하신 경우 기존의 지침서·안내서의 개정을 우선적으로 고려하시기 바랍니다. 그럼에도 불구하고 동 지침서·안내서의 제정이 필요한 경우 그 사유를 아래에 기재해 주시기 바랍니다. (사유 : _____)		
	<input type="checkbox"/> 법령(법·시행령·시행규칙) 또는 행정규칙(고시·훈령·예규)의 내용을 단순 편집 또는 나열한 것입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오	
	<input type="checkbox"/> 단순한 사실을 대외적으로 알리는 공고의 내용입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오	
	<input type="checkbox"/> 1년 이내 한시적 적용 또는 일회성 지시·명령에 해당하는 내용입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오	
	<input type="checkbox"/> 외국 규정을 번역하거나 설명하는 내용입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오	
	<input type="checkbox"/> 신규 직원 교육을 위해 법령 또는 행정규칙을 알기 쉽게 정리한 자료입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오	
☞ 상기 사항 중 어느 하나라도 '예'에 해당되는 경우에 지침서·안내서 등록 대상이 아닙니다. 지침서·안내서 제·개정 절차를 적용하실 필요는 없습니다.			
지침서·안내 서 구분	<input type="checkbox"/> 행정사무의 통일을 기하기 위하여 내부적으로 행정사무의 세부기준이나 절차를 제시하는 것입니까? (공무원용)	<input type="checkbox"/> 예(☞ 지침서) <input checked="" type="checkbox"/> 아니오	
	<input type="checkbox"/> 민원인들의 이해를 돕기 위하여 법령 또는 행정규칙을 알기 쉽게 설명하거나 특정 민원업무에 대한 행정기관의 대외적인 입장을 기술하는 것입니까? (민원인용)	<input checked="" type="checkbox"/> 예(☞ 안내서) <input type="checkbox"/> 아니오	
기타 확인 사항	<input type="checkbox"/> 상위 법령을 일탈하여 새로운 규제를 신설·강화하거나 민원인을 구속하는 내용이 있습니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오	
	☞ 상기 질문에 '예'라고 답하신 경우 상위법령 일탈 내용을 삭제하시고 지침서·안내서 제·개정 절차를 진행하시기 바랍니다.		
상기 사항에 대하여 확인하였음. 2023년 7월 20일 <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="text-align: center;"> 담당자 확 인(부서장) </div> <div style="text-align: center;"> 한지혜 송영미 </div> </div>			

이 안내서는 화장품 사용한도 성분 분석법에 대하여 알기 쉽게 설명하거나 식품의약품안전처의 입장을 기술한 것입니다.

본 안내서는 대외적으로 법적 효력을 가지는 것이 아니므로 본문의 기술방식 ('~하여야 한다' 등)에도 불구하고 참고로만 활용하시기 바랍니다. 또한, 본 안내서는 2023년 7월 현재의 과학적·기술적 사실 및 유효한 법규를 토대로 작성되었으므로 이후 최신 개정 법규 내용 및 구체적인 사실관계 등에 따라 달리 적용될 수 있음을 알려드립니다.

※ "민원인 안내서"란 민원인들의 이해를 돕기 위하여 법령 또는 행정규칙을 알기 쉽게 설명하거나 특정 민원업무에 대한 행정기관의 대외적인 입장을 기술하는 것(식품의약품안전처 지침서등의 관리에 관한 규정 제2조)

※ 본 안내서에 대한 의견이나 문의사항이 있을 경우 식품의약품안전처 식품의약품안전평가원 화장품연구과에 문의하시기 바랍니다.

전화번호: 043-719-4860

팩스번호: 043-719-4850

제·개정 이력

화장품 사용한도 성분 분석법 가이드라인(민원인 안내서)

제 · 개정번호	승인일자	주요 내용
11-1470000-001660-01	2008.4.	화장품 배합한도성분 분석법 가이드라인 제정
B2-2013-4-002	2013.8.	자외선 차단 성분(티타늄디옥사이드, 징크 옥사이드 및 드로메트리졸트리실록산), 살균보존 성분(메칠클로로이소치아졸리논 및 메칠이소치아졸리논) 및 기타 성분(징크피리치온) 분석법 추가
B2-2015-4-002	2015.7.	자외선 차단 성분(벤조페논-3, 부틸메톡시 디벤조일메탄 등 8종) 및 기타 성분(비타민 E(토코페롤), 톨루엔, 폴리아크릴아마이드) 분석법 추가
B2-2016-4-002	2016.10.	살균보존 성분(이미다졸리디닐우레아, 디아졸리디닐우레아 및 파라벤류) 분석법 삭제 살균보존 성분(세트리모늄브로마이드, 클로라이드 및 트리클로산) 및 기타(트리에탄올아민) 분석법 추가
안내서-0745-01	2017.5.	살균보존 성분(세틸피리디늄클로라이드, 벤잘코늄클로라이드 등 5종), 기타 성분(우레아) 및 퍼머넌트웨이브 및 헤어스트레이트너 성분(치오글라이콜릭애씨드, 시스테인, 아세틸시스테인 등 6종) 분석법 추가
안내서-0745-02	2018.8.	살균보존 성분(피록톤올아민, 클로로자이레놀 등 4종) 및 기타 성분(레조시놀) 분석법 추가
안내서-0745-03	2020.6.	자외선 차단 성분(비스에칠헥실옥시페놀 메톡시페닐트리아진) 분석법 추가
안내서-0745-04	2022.10.	색소 성분(녹색204호, 황색4호 등 10종) 분석법 추가
안내서-0745-05	2023. 7.	소듐라우로일사코시네이트 등 43종 분석법 개선 및 계산식 추가

「화장품 사용한도 성분 분석법 가이드라인」 개정

1. 개정 이유

- 식품의약품안전평가원은 「화장품법」 제8조 및 제15조에 따라 부정·불량 화장품의 제조·판매 방지 및 유통 화장품 품질 향상을 위하여 사용한도 성분 분석법의 현대화를 위해 소듐라우로일사코시네이트 등 43종에 대한 분석법을 개선함으로써 화장품의 품질 및 안전성 확보에 기여하고자 함

2. 주요 내용

- ‘화장품 사용한도 성분 분석법 가이드라인’에 수재된 분석법 중 소듐라우로일사코시네이트 등 43종에 대한 분석법 개선 및 계산식 추가
 - * 보존제 : 소듐라우로일사코시네이트 등 14종
 - 자외선차단제 : 벤조페논-3 등 20종
 - 기타 : 비타민E 등 3종
 - 퍼머넌트웨이브 및 헤어스트레이트너 : 치오글라이콜릭에씨드 등 6종

목 차

I. 서론	1
II. 보존제	2
1. 소듐라우로일사코시네이트	2
2. 클로페네신 및 클림바졸의 동시분석	4
3. 벤질알코올, 페녹시에탄올, 소르빅애씨드, 벤조익애씨드, 클로페네신, 데하이드로아세트애씨드, 살리실릭애씨드, <i>p</i> -하이드록시벤조익애씨드 (에스텔류)의 동시분석	7
4. 디엠디엠하이단토인	16
5. 엠디엠하이단토인	18
6. 아이오도프로피닐부틸카바메이트(아이피비씨)	20
7. 메칠클로로이소치아졸리논과 메칠이소치아졸리논 혼합물, 메칠이소 치아졸리논	22
8. 알킬(C ₁₂ -C ₂₂)트리메칠암모늄브로마이드 및 클로라이드(브롬화세 트리모늄 포함)	27
9. 트리클로산	30
10. 세틸피리디늄클로라이드	33
11. 벤잘코늄클로라이드	37
12. 트리클로카반	40

목 차

13. 피록톤올아민	42
14. 클로로자이레놀	44
15. 헥사미딘	46
16. 프로피오닉애씨드	48
17. 클로헥시딘	50
18. 벤제토늄클로라이드	52
19. 2,4-디클로로벤질알코올	54
20. 클로로펜	56
21. <i>p</i> -클로로- <i>m</i> -크레졸	58
22. 2-브로모-2-나이트로프로판-1,3-디올	60
Ⅲ. 자외선차단제	62
1. 벤조페논-3, 에칠헥실디메칠파바, 부틸메톡시디벤조일메탄, 에칠헥실메톡시신나메이트, 에칠헥실살리실레이트의 동시분석 ...	62
2. 이소아밀- <i>p</i> -메톡시신나메이트, 4-메칠벤질리덴캠퍼, 에칠헥실메톡시신나메이트, 부틸메톡시디벤조일메탄, 에칠헥실살리실레이트, 에칠헥실디메칠파바의 동시분석	67
3. 벤조페논-3, 벤조페논-4, 벤조페논-8 및 에칠헥실메톡시신나메이트의 동시분석	72

목 차

4. 드로메트리졸, 4-메칠벤질리덴캄퍼, 멘틸안트라닐레이트, 벤조페논-3, 벤조페논-8, 부틸메톡시디벤조일메탄, 에칠헥실트리아존, 옥토크릴렌, 에칠헥실디메칠과바, 에칠헥실메톡시신나메이트, 페닐벤즈이미다졸 설펜아씨드, 이소아밀- <i>p</i> -메톡시신나메이트, 디에칠헥실부타미도 트리아존, 메칠렌비스-벤조트리아졸일테트라메칠부틸페놀, 테레 프탈릴리덴디캄퍼설펜아씨드의 동시분석	76
5. 폴리실리콘-15	87
6. 티타늄디옥사이드 및 징크옥사이드의 동시분석	90
7. 드로메트리졸트리실록산	94
8. 벤조페논-3, 부틸메톡시디벤조일메탄, 에칠헥실메톡시신나메이트, 에칠헥실살리실레이트, 4-메칠벤질리덴캄퍼, 옥토크릴렌, 이소아밀 - <i>p</i> -메톡시신나메이트, 호모살레이트의 동시분석	96
9. 디에칠아미노하이드록시벤조일헥실벤조에이트	102
10. 비스에칠헥실옥시페놀메톡시페닐트리아진	105
IV. 기타	107
1. 징크피리치온	107
2. 비타민E(토코페롤)	109
3. 톨루엔	112

목 차

4. 폴리아크릴아마이드류	115
5. 트리알킬아민, 트리알칸올아민	118
6. 우레아	121
7. 레조시놀	124
8. 2,4-디아미노-피리미딘-3-옥사이드	126
V. 퍼머넌트웨이브 및 헤어스트레이트너	128
1. 치오글라이콜릭애씨드, 시스테인, 아세틸시스테인, 디치오디글라이콜릭애씨드, 시스틴, 디아세틸시스틴의 동시분석법	128
VI. 색소	134
1. 녹색204호, 황색4호, 적색2호, 청색2호의 동시분석법	134
2. 적색102호, 적색40호, 황색202호의(1), 적색103호의(1), 등색205호, 자색401호의 동시분석법	138

I. 서론

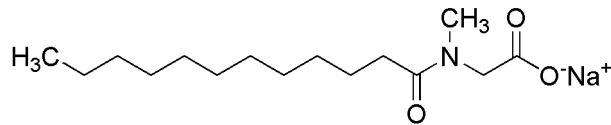
1. 화장품 중 보존제 성분, 자외선차단제 성분 및 기타 필요성이 있는 일부 성분은 과도하게 사용할 경우 안전성 문제를 야기할 수 있어 그 종류와 사용한도가 지정되어 있다.
2. 화장품 사용한도 성분의 기준 내 사용여부를 확인하기 위한 분석법을 제시함으로써 화장품 제조업자, 책임판매업자 및 관련 시험·검사기관의 화장품 품질 관리에 도움을 주고자 한다.
3. 이 가이드라인의 분석조건에 따라 분석할 때 분리에 방해를 주는 성분이 함유된 제품의 경우에는 분석조건을 재조정하여 검증할 필요가 있다.
4. 이 가이드라인은 법적 강제력이 없으며, 과학적으로 검증된 타당한 방법인 경우 이 방법을 대신하여 사용할 수 있다.

II. 보존제

1. 소듐라우로일사코시네이트(Sodium Lauroyl Sarcosinate)

가. 분석물질

- 분자식 : $C_{15}H_{28}NNaO_3$
- 분자량 : 293.38
- 구조식 :



- CAS 번호 : 137-16-6
- 사용한다 : 사용 후 씻어내는 제품에 허용
기타제품에는 사용금지

나. 시험방법

검체 약 5 g을 정밀하게 달아 50 mL 용량플라스크에 넣고, 물을 넣어 정확하게 50 mL로 한다. 이 액 5 mL를 정확하게 취하여 100 mL 용량플라스크에 넣고, 내부표준액 5 mL 및 물을 넣어 정확하게 100 mL로 하고 멤브레인 필터로 여과한 액을 검액으로 한다. 따로 소듐 라우로일사코시네이트 표준품 약 1 g을 정밀하게 달아 100 mL 용량플라스크에 넣고 물을 넣어 정확하게 100 mL로 하여 표준원액으로 한다(10000 μ g/mL). 이 액 0.5, 1, 2, 3 및 4 mL를 각각 정확하게 취하여 100 mL 용량플라스크에 넣고 내부표준액 각 5 mL 및 물을 넣어 정확하게 100 mL로 한 액을 표준액으로 한다.

표준액과 검액을 가지고 다음 조작조건으로 「기능성화장품 기준 및 시험방법」 일반시험법의 액체크로마토그래프법의 내부표준법에 따라 시험한다. 필요한 경우 표준액의 검량선 범위 내에서 검체 채취량 또는 희석배수는 조정할 수 있다.

- 내부표준액 : 히드로코티손 약 100 mg을 정밀하게 달아 100 mL 용량플라스크에 넣고, 소량의 메탄올에 녹인 후 물을 넣어 정확하게 100 mL로 한다.

다. 시험조작

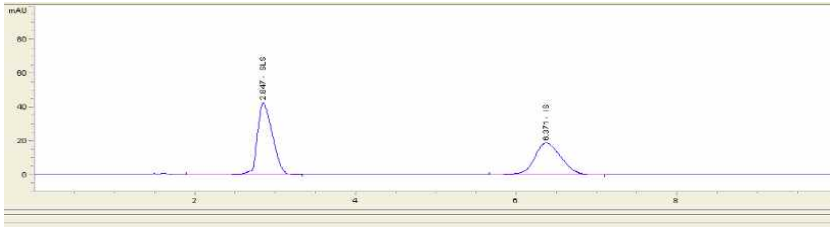
1) 액체크로마토그래프 조작조건

- 가) 칼럼 : Waters, μ -Bondpak phenyl(10 μ m, 3.9 x 300 mm) 또는 이와 동등 이상의 칼럼
- 나) 칼럼온도 : 25 $^{\circ}$ C
- 다) 이동상 : 0.05 mmol/L 암모늄아세테이트 함유 60 % 메탄올
- 라) 유속 : 1.0 mL/min

마) 주입량 : 10 μ L

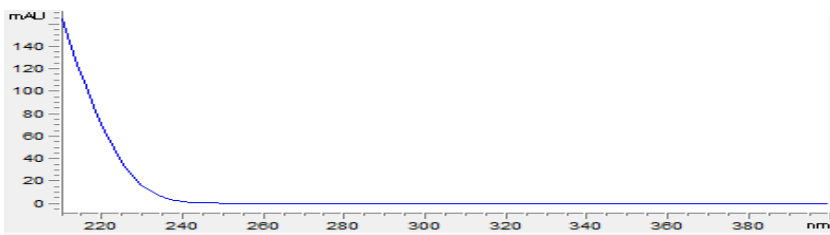
바) 검출기(파장) : 자외부흡광광도계(측정파장: 225 nm)

라. 크로마토그램 및 스펙트럼

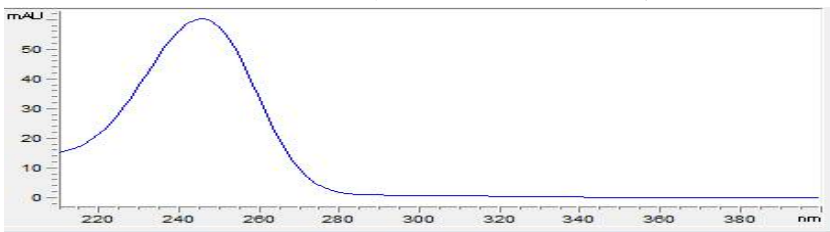


<액체크로마토그래프 크로마토그램>

소듐라우로일사코시네이트(2.8분), 히드로코티손(내부표준물질, 6.3분)



<소듐라우로일사코시네이트 스펙트럼>



<히드로코티손 스펙트럼>

마. 계산식

소듐라우로일사코시네이트의 함량(%) = $C \times V / (S \times 10000) \times$ 희석배수

C : 검량선에서 구한 소듐라우로일사코시네이트의 농도 (μ g/mL)

V : 검액의 최종 부피(mL)

S : 검체 채취량(g)

10000 : 단위 환산계수

바. 참고문헌

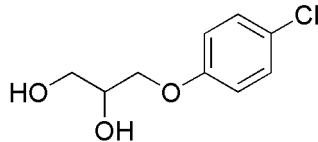
- 1) 의약품 등 시험방법 밸리데이션 가이드라인 해설서(민원인안내서), 식품의약품안전처, 2015.
- 2) Molever, K. : Quantitative determination of sodium lauroyl sarcosinate by gas chromatography, *Journal of the American Oil chemists' Society*, 70, 101-103, 1993
- 3) Liu, X., Poul, C. : A versatile column for surfactant Analysis by HPLC, *Thermo Fisher Scientific*, 2005

2. 클로페네신 및 클림바졸의 동시분석

가. 분석물질

1) 클로페네신(Chlorphenesin, 3-(*p*-클로로페녹시)-프로판-1,2-디올)

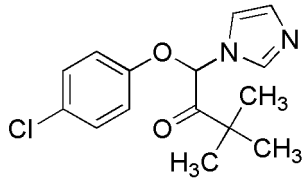
- 분자식 : $C_9H_{11}ClO_3$
- 분자량 : 202.63
- 구조식 :



- CAS 번호 : 104-29-0
- 사용한도 : 0.3 %

2) 클림바졸(Climbazole, 1-(4-클로로페녹시)-1-(1H-이미다졸릴)-3,3-디메틸-2-부타논)

- 분자식 : $C_{15}H_{17}ClN_2O_2$
- 분자량 : 292.76
- 구조식 :



- CAS 번호 : 38083-17-9
- 사용한도 : 두발용 제품에 0.5 %, 기타 제품에는 사용금지

나. 시험방법

검체 약 0.5~1 g을 정밀하게 달아 50 mL 용량플라스크에 넣고, 내부표준액 1 mL 및 이동상을 넣어 초음파 진탕하여 검체를 충분히 분산시킨다. 여기에 이동상을 넣어 정확하게 50 mL로 하고, 멤브레인 필터로 여과한 액을 검액으로 한다. 따로 클로페네신 및 클림바졸 표준품 약 50 mg을 각각 정밀하게 달아 100 mL 용량플라스크에 넣고, 이동상을 넣어 정확하게 100 mL로 하여 표준원액으로 한다(500 μ g/mL). 이 액 1, 2, 4, 6, 8 및 10 mL를 각각 정확하게 취하여 50 mL 용량플라스크에 넣고 내부표준액 각 1 mL 및 이동상을 넣어 정확하게 50 mL로 한 액을 표준액으로 한다.

표준액과 검액을 가지고 다음 조작조건으로 「기능성화장품 기준 및 시험방법」 일반시험법의 액체크로마토그래프법의 내부표준법에 따라 시험한다. 필요한 경우 표준액의 검량선 범위 내에서 검체 채취량 또는 희석배수는 조정할 수 있다.

- 내부표준액 : 아세틸살리실릭에씨드 약 100 mg을 정밀하게 달아 메탄올에 녹여 정확하게 50 mL로 한다.

다. 시험조작

1) 액체크로마토그래프 조작조건

가) 칼럼 : Waters, Xterra C18(3.5 μ m, 4.6 \times 250 mm) 또는 이와 동등 이상의 칼럼

나) 칼럼온도 : 25 $^{\circ}$ C

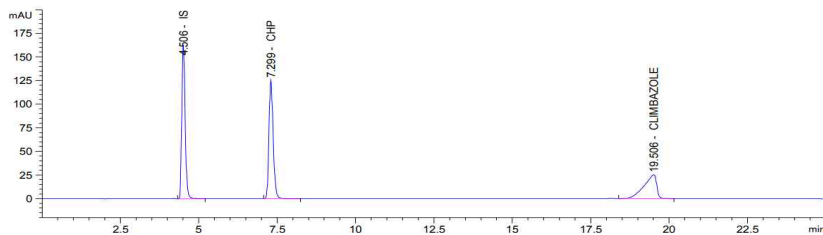
다) 이동상 : 메탄올 : 0.005 mmol/L 1-Hexane Sulfonic Acid(65 : 35)

라) 유속 : 1.0 mL/min

마) 주입량 : 20 μ L

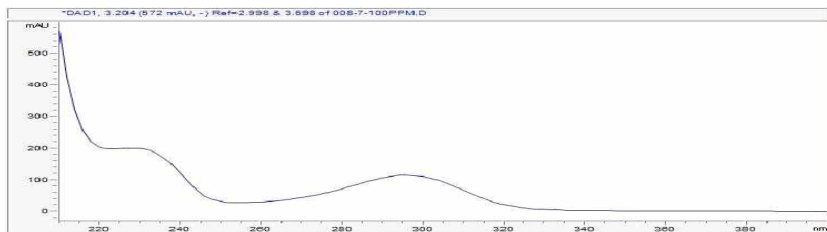
바) 검출기(과장) : 자외부흡광광도계(측정과장: 275 nm)

라. 크로마토그램 및 스펙트럼

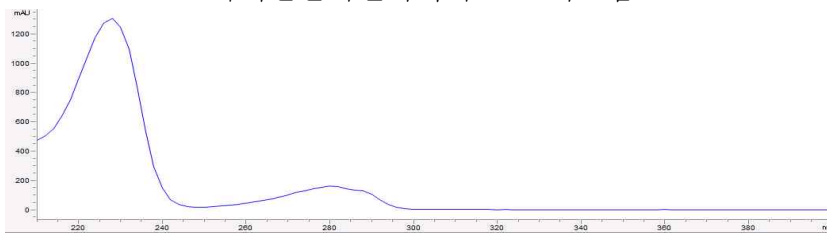


<액체크로마토그래프 크로마토그램>

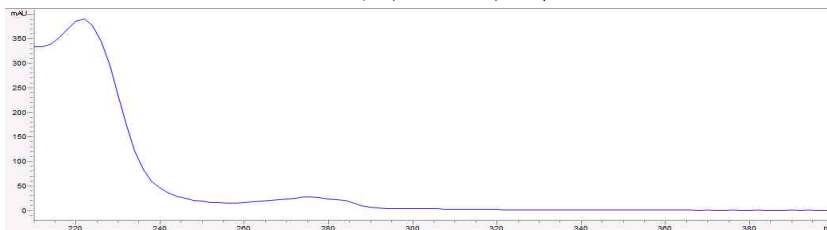
아세틸살리실릭애씨드(내부표준물질, 4.5분), 클로페네신(7.3분),
클림바졸(19.5분)



<아세틸살리실릭애씨드 스펙트럼>



<클로페네신 스펙트럼>



<클림바졸 스펙트럼>

마. 계산식

각 성분의 함량(%) = $C \times V / (S \times 10000)$

C : 검량선에서 구한 각 성분의 농도 ($\mu\text{g/mL}$)

V : 검액의 최종 부피(mL)

S : 검체 채취량(g)

10000 : 단위 환산계수

바. 참고문헌

- 1) Park, J. E., Lee, S. M., Jeong, H. J., Chang, I. S. : Simultaneous Determination of 8 Preservatives (6 Parabens, 2-Phenoxyethanol, and Chlorphenesin) in Cosmetics by UPLC, *Journal of the Society of Cosmetic Scientists of Korea*, 33.4, 263-267, 2007

3. 벤질알코올, 페녹시에탄올, 소르빅애씨드, 벤조익애씨드, 클로페네신, 데하이드로아세트애씨드, 살리실릭애씨드, *p*-하이드록시벤조익애씨드(에스텔류)*의 동시분석

* *p*-하이드록시벤조익애씨드(에스텔류) : 메틸파라벤, 에틸파라벤, 프로필파라벤, 부틸파라벤, 이소프로필파라벤, 이소부틸파라벤

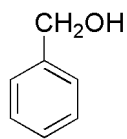
가. 분석물질

1) 벤질알코올(Benzyl alcohol)

- 분자식 : C₇H₈O

- 분자량 : 108.14

- 구조식 :



- CAS 번호 : 100-51-6

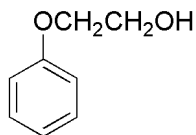
- 사용한도 : 1.0 %(다만, 염모용제품류에 용제로 사용할 경우에는 10 %)

2) 페녹시에탄올(Phenoxy ethanol)

- 분자식 : C₈H₁₀O₂

- 분자량 : 138.16

- 구조식 :



- CAS 번호 : 122-99-6

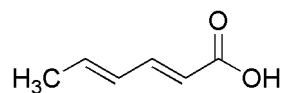
- 사용한도 : 1.0 %

3) 소르빅애씨드(Sorbic acid, 헥사-2,4-디에노익애씨드)

- 분자식 : C₆H₈O₂

- 분자량 : 112.13

- 구조식 :



- CAS 번호 : 110-44-1

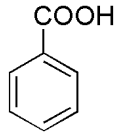
- 사용한도 : 소르빅애씨드로서 0.6 %

4) 벤조익애씨드(Benzoic acid)

- 분자식 : $C_7H_6O_2$

- 분자량 : 122.12

- 구조식 :



- CAS 번호 : 65-85-0

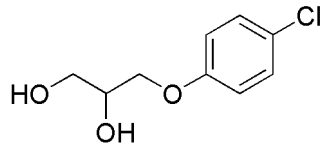
- 사용한도 : 산으로서 0.5 %(다만, 벤조익애씨드 및 그 소듐염은 사용 후 씻어내는 제품에는 산으로서 2.5 %)

5) 클로페네신(Chlorphenesin, 3-(*p*-클로로페녹시)-프로판-1,2-디올)

- 분자식 : $C_9H_{11}ClO_3$

- 분자량 : 202.63

- 구조식 :



- CAS 번호 : 104-29-0

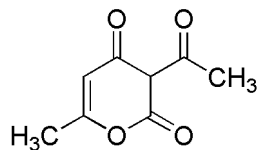
- 사용한도 : 0.3 %

6) 데하이드로아세트익애씨드(Dehydroacetic acid, 3-아세틸-6-메틸피란-2,4(3H)-디온)

- 분자식 : $C_8H_8O_4$

- 분자량 : 168.15

- 구조식 :



- CAS 번호 : 520-45-6

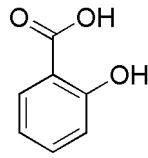
- 사용한도 : 데하이드로아세트익애씨드로서 0.6 %
에어로졸(스프레이에 한함) 제품에는 사용금지

7) 살리실릭애씨드(Salicylic acid)

- 분자식 : $C_7H_6O_3$

- 분자량 : 138.12

- 구조식 :



- CAS 번호 : 69-72-7

- 사용한도 : 살리실릭애씨드로서 0.5 %

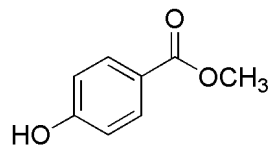
영유아용 제품류 또는 만 13세 이하 어린이가 사용할 수 있음을 특정하여 표시하는 제품에는 사용금지(다만, 샴푸는 제외)

8) 메칠파라벤(Methyl paraben)

- 분자식 : $C_8H_8O_3$

- 분자량 : 152.15

- 구조식 :



- CAS 번호 : 99-76-3

- 사용한도 : 단일성분일 경우 0.4 %(산으로서)

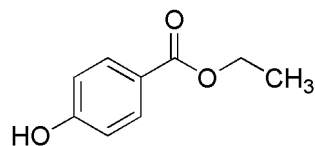
혼합사용의 경우 0.8 %(산으로서)

9) 에칠파라벤(Ethyl paraben)

- 분자식 : $C_9H_{10}O_3$

- 분자량 : 166.17

- 구조식 :



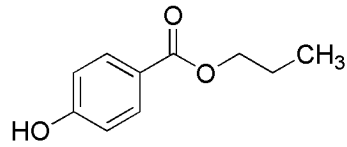
- CAS 번호 : 120-47-8

- 사용한도 : 단일성분일 경우 0.4 %(산으로서)

혼합사용의 경우 0.8 %(산으로서)

10) 프로필파라벤(Propyl paraben)

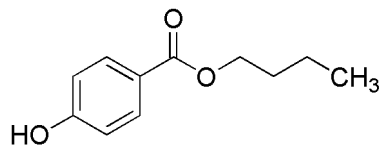
- 분자식 : $C_{10}H_{12}O_3$
- 분자량 : 180.20
- 구조식 :



- CAS 번호 : 94-13-3
- 사용한도 : 단일성분일 경우 0.4 %(산으로서)
혼합사용의 경우 0.8 %(산으로서)

11) 부틸파라벤(Butyl paraben)

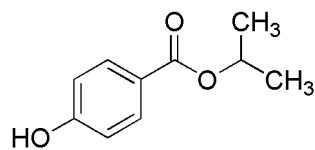
- 분자식 : $C_{11}H_{14}O_3$
- 분자량 : 194.23
- 구조식 :



- CAS 번호 : 94-26-8
- 사용한도 : 단일성분일 경우 0.4 %(산으로서)
혼합사용의 경우 0.8 %(산으로서)

12) 이소프로필파라벤(Isopropyl paraben)

- 분자식 : $C_{10}H_{12}O_3$
- 분자량 : 180.20
- 구조식 :



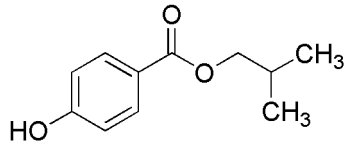
- CAS 번호 : 4191-73-5
- 사용한도 : 단일성분일 경우 0.4 %(산으로서)
혼합사용의 경우 0.8 %(산으로서)

13) 이소부틸파라벤(Isobutyl paraben)

- 분자식 : $C_{11}H_{14}O_3$

- 분자량 : 194.23

- 구조식 :



- CAS 번호 : 4247-02-3

- 사용限度 : 단일성분일 경우 0.4 %(산으로서)

혼합사용의 경우 0.8 %(산으로서)

나. 시험방법

검체 약 2 g을 정밀하게 달아 100 mL 용량플라스크에 넣고, 1 % 인산 함유 50 % 아세트니트릴 70 mL를 넣어 초음파 진탕하여 검체를 충분히 분산시킨다. 여기에 내부표준액 1 mL 및 1 % 인산 함유 50 % 아세트니트릴을 넣어 정확하게 100 mL로 하고 멤브레인 필터로 여과한 액을 검액으로 한다. 따로 벤질알코올, 페녹시에탄올, 메칠파라벤, 에칠파라벤, 이소프로필파라벤, 프로필파라벤, 이소부틸파라벤, 부틸파라벤 표준품 약 100 mg, 벤조익애씨드, 데하이드로아세트익애씨드, 소르빅애씨드, 클로페네신, 살리실릭애씨드 표준품 약 50 mg을 각각 정밀하게 달아 25 mL 용량플라스크에 넣고, 1 % 인산 함유 50 % 아세트니트릴을 넣어 정확하게 25 mL로 한 액을 표준원액으로 한다. 이 액 0.63, 1.25, 2.5, 5 및 10 mL를 각각 정확하게 취하여 100 mL 용량플라스크에 넣고, 내부표준액 1 mL 및 1 % 인산 함유 50 % 아세트니트릴을 넣어 정확하게 100 mL로 한 액을 각각의 표준액으로 한다.

표준액과 검액을 가지고 다음 조작조건으로 「기능성화장품 기준 및 시험방법」 일반시험법의 액체크로마토그래프법의 내부표준법에 따라 시험한다. 필요한 경우 표준액의 검량선 범위 내에서 검체 채취량 또는 희석배수는 조정할 수 있다.

- 내부표준액 : 아세트아미노펜 약 100 mg을 정밀하게 달아 50 mL 용량플라스크에 넣고, 1 % 인산함유 50 % 아세트니트릴에 녹여 정확하게 50 mL로 한다.

다. 시험조작

1) 액체크로마토그래프 조작조건

가) 칼럼 : Shiseido, Capcellpak C18 UG120(5 μ m, 4.6 \times 250 mm) 또는 이와 동등 이상의 칼럼

나) 칼럼온도 : 30 $^{\circ}$ C

다) 이동상 : (A) 1.0 % 인산 함유 20 % 아세트니트릴

(B) 1.0 % 인산 함유 70 % 아세트니트릴

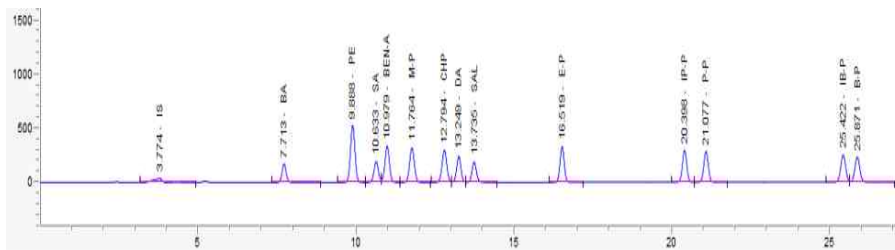
시간	A (%)	B (%)
0	100	0
8	90	10
15	60	40
25	40	60
30	0	100
37	100	0

라) 유속 : 1.0 mL/min

마) 주입량 : 20 μ L

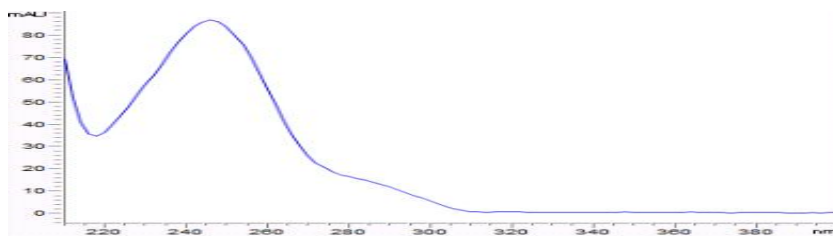
바) 검출기(과장) : 자외부흡광광도계(측정과장: 220 nm)

라. 크로마토그램 및 스펙트럼

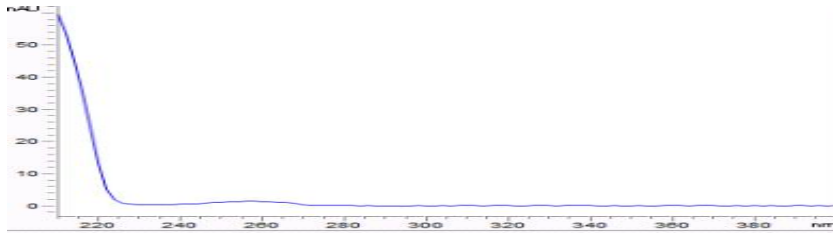


<액체크로마토그래프 크로마토그램 >

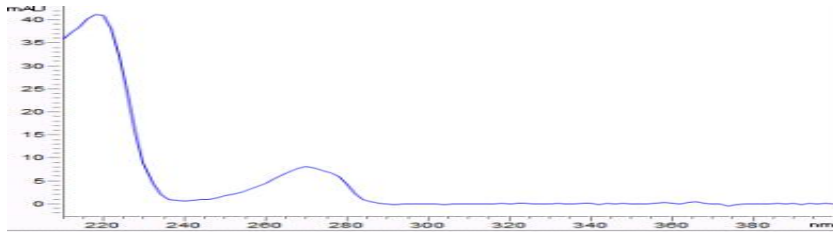
아세트아미노펜(내부표준물질, 3.7분), 벤질알코올(7.7분),
 페녹시에탄올(9.8분), 소르비에씨드(10.6분), 벤조익에씨드(10.9분),
 메칠파라벤(11.7분), 클로페네신(12.7분),
 데하이드로아세트에씨드(13.2분), 살리실릭에씨드(13.7분),
 에칠파라벤(16.5분), 이소프로필파라벤(20.3분),
 프로필파라벤(21.0분), 이소부틸파라벤(25.4분), 부틸파라벤(25.8분)



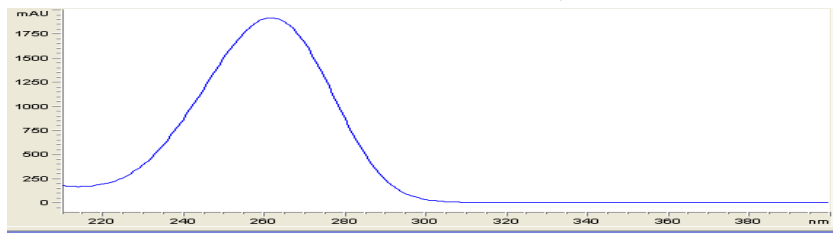
<아세트아미노펜 스펙트럼>



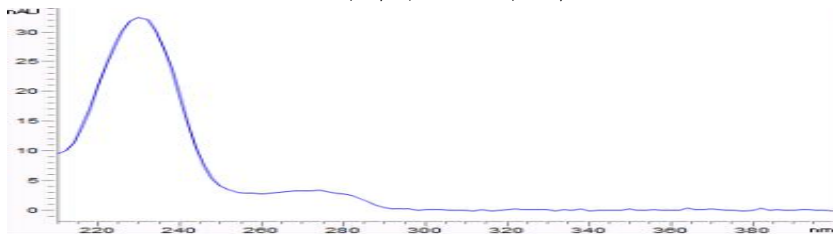
<벤질알코올 스펙트럼>



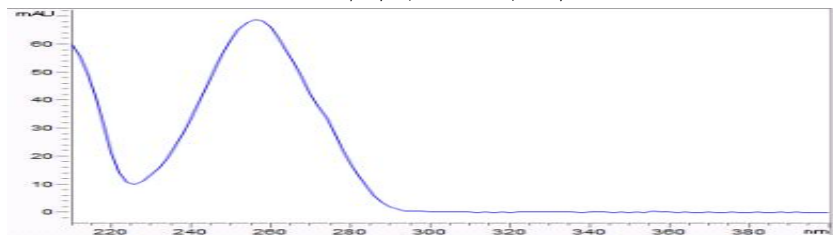
<페녹시에탄올 스펙트럼>



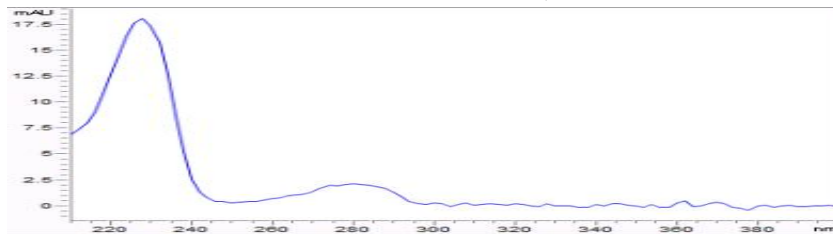
<소르빅애씨드 스펙트럼>



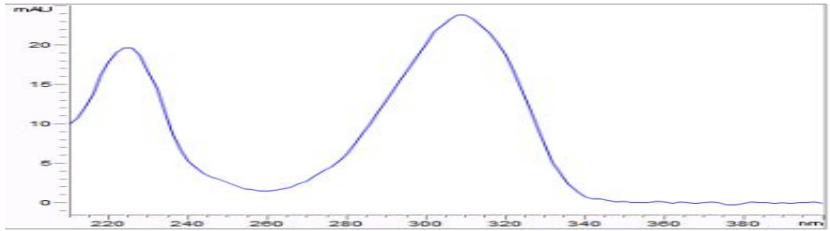
<벤조익애씨드 스펙트럼>



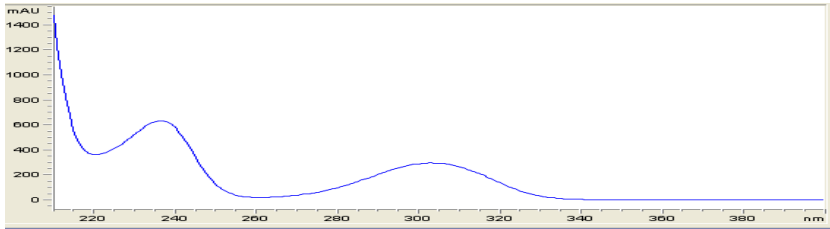
<메칠파라벤 스펙트럼>



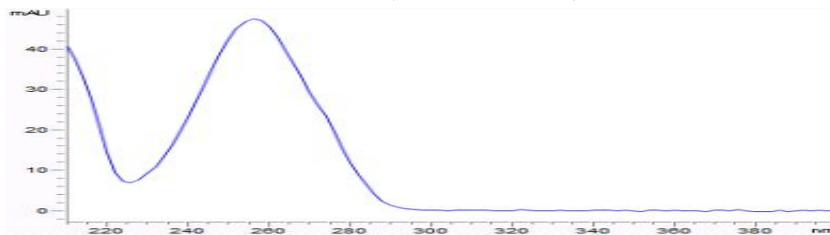
<클로페네신 스펙트럼>



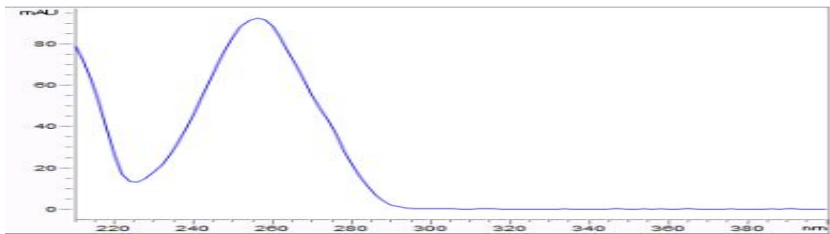
<데하이드로아세트산 스펙트럼>



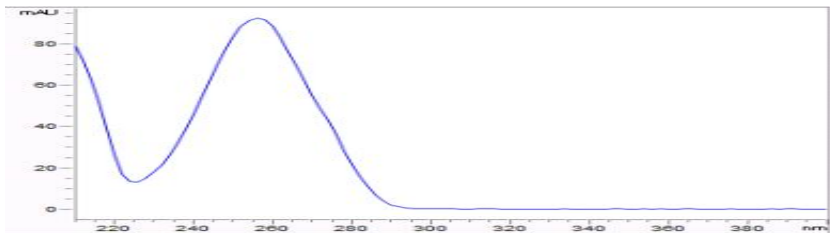
<살리실릭산 스펙트럼>



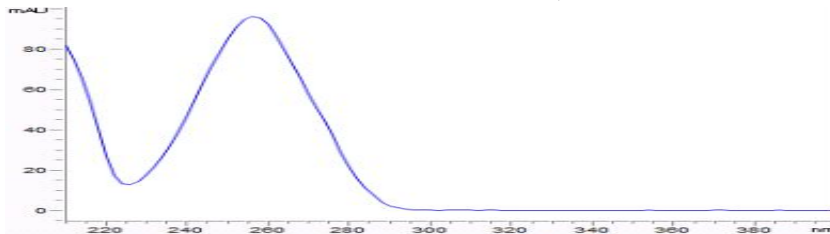
<에틸파라벤 스펙트럼>



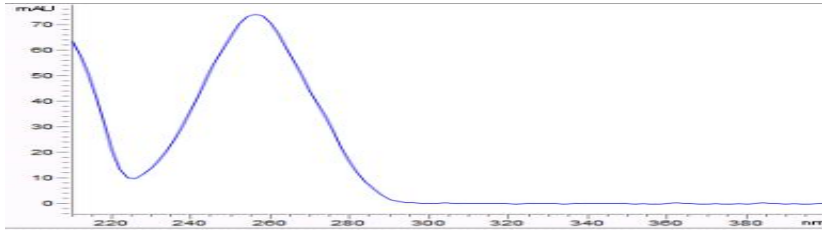
<이소프로필파라벤 스펙트럼>



<프로필파라벤 스펙트럼>



<이소부틸파라벤 스펙트럼>



〈부틸파라벤 스펙트럼〉

마. 계산식

$$\text{각 성분의 함량(\%)} = C \times V / (S \times 10000)$$

C : 검량선에서 구한 각 성분의 농도 ($\mu\text{g/mL}$)

V : 검액의 최종 부피(mL)

S : 검체 채취량(g)

10000 : 단위 환산계수

바. 참고문헌

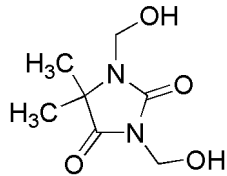
- 1) Shabir, G. A. : A new validated HPLC method for the simultaneous determination of 2-phenoxyethanol, methylparaben, ethylparaben and propylparaben in a pharmaceutical gel, *Indian J Pharm Sci.*, 72(4), 421-425, 2010
- 2) Emily, A. M., Thomas, H. P., Thomas, A. B. : Determination of preservatives in cosmetics and personal care products by LC-MS-MS, *Solutions for Separation Sci.*, 33(4), 16-22, 2015

4. 디엠디엠하이단토인(DMDM Hydantoin)

(1,3-비스(히드록시메틸)-5,5-디메틸이미다졸리딘-2,4-디온)

가. 분석물질

- 분자식 : $C_7H_{12}N_2O_4$
- 분자량 : 188.18
- 구조식 :



- CAS 번호 : 6440-58-0
- 사용한도 : 0.6 %

나. 시험방법

검체 약 0.5 g을 정밀하게 달아 50 mL 용량플라스크에 넣고, 내부표준액 30 mL를 넣어 초음파 진탕하여 검체를 충분히 분산시킨다. 여기에 내부표준액을 넣어 정확하게 50 mL로 하고 멤브레인 필터로 여과한 액을 검액으로 한다. 따로 디엠디엠하이단토인 표준품 약 50 mg을 정밀하게 달아 50 mL 용량플라스크에 넣고 메탄올을 넣어 정확하게 50 mL로 한 액을 표준원액으로 한다(1000 μ g/mL). 이 액 1, 2, 3, 4 및 5 mL를 각각 정확하게 취하여 50 mL 용량플라스크에 넣고, 내부표준액을 넣어 정확하게 50 mL로 한 액을 표준액으로 한다.

표준액과 검액을 가지고 다음 조작조건으로 「기능성화장품 기준 및 시험방법」 일반시험법의 액체크로마토그래프법의 내부표준법에 따라 시험한다. 필요한 경우 표준액의 검량선 범위 내에서 검체 채취량 또는 희석배수는 조정할 수 있다.

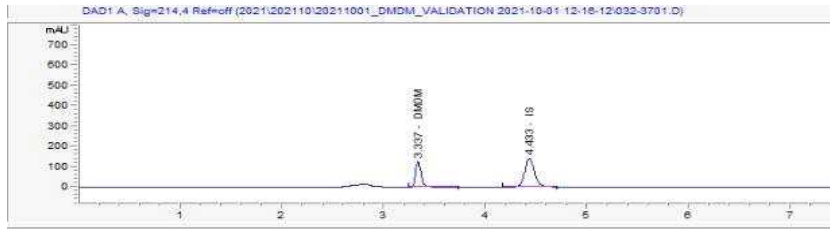
- 내부표준액 : 카페인 표준품 약 20 mg을 정밀하게 달아 1000 mL 용량플라스크에 넣고 메탄올을 넣어 정확하게 1000 mL로 한다.

다. 시험조작

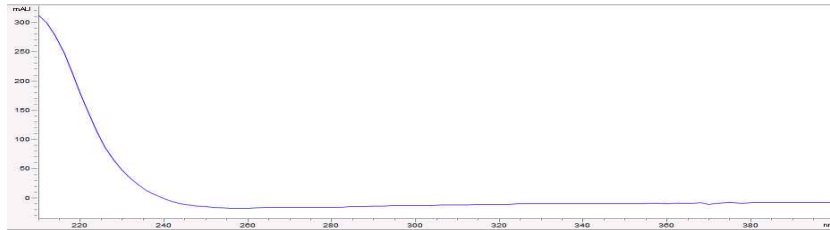
1) 액체크로마토그래프 조작조건

- 가) 칼럼 : Waters, Xterra C18(5 μ m, 4.6 \times 250 mm) 또는 이와 동등 이상의 칼럼
- 나) 칼럼온도 : 25 $^{\circ}$ C
- 다) 이동상 : 1 % 인산 함유 20 % 아세트니트릴
- 라) 유속 : 1.0 mL/min
- 마) 주입량 : 10 μ L
- 바) 검출기(파장) : 자외부흡광광도계(측정파장: 214 nm)

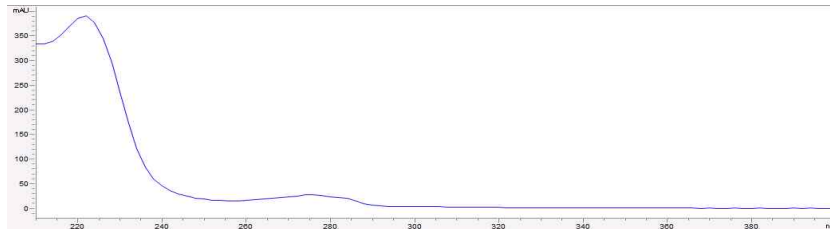
라. 크로마토그램 및 스펙트럼



<액체크로마토그래프 크로마토그램>
 디엠디엠하이단토인(3.3분), 카페인(내부표준물질, 4.4분)



<디엠디엠하이단토인 스펙트럼>



<카페인 스펙트럼>

마. 계산식

$$\text{디엠디엠하이단토인의 함량(\%)} = C \times V / (S \times 10000)$$

C : 검량선에서 구한 디엠디엠하이단토인의 농도 ($\mu\text{g/mL}$)

V : 검액의 최종 부피(mL)

S : 검체 채취량(g)

10000 : 단위 환산계수

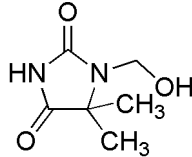
바. 참고문헌

- 1) Asada, A., Doi, T., Takeda, A., Kajimura, K. : Quantification of 1,3-dimethylol-5,5-dimethylhydantoin and its decomposition products in cosmetics by high-performance liquid chromatography, *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 67, 163-168, 2012

5. 엠디엠하이단토인(MDM Hydantoin)

가. 분석물질

- 분자식 : $C_6H_{10}N_2O_3$
- 분자량 : 158.16
- 구조식 :



- CAS 번호 : 116-25-6
- 사용한도 : 0.2 %

나. 시험방법

검체 약 0.5 g을 정밀하게 달아 50 mL 용량플라스크에 넣고, 내부표준액 30 mL를 넣어 초음파 진탕하여 검체를 충분히 분산시킨다. 여기에 내부표준액을 넣어 정확하게 50 mL로 하고 멤브레인 필터로 여과한 액을 검액으로 한다. 따로 엠디엠하이단토인 표준품 약 50 mg을 정밀하게 달아 50 mL 용량플라스크에 넣고 메탄올을 넣어 정확하게 50 mL로 한 액을 표준원액으로 한다(1000 μ g/mL). 이 액 0.5, 1, 2, 3 및 5 mL를 각각 정확하게 취하여 50 mL 용량플라스크에 넣고, 내부표준액을 넣어 정확하게 50 mL로 한 액을 표준액으로 한다.

표준액과 검액을 가지고 다음 조작조건으로 「기능성화장품 기준 및 시험방법」 일반시험법의 액체크로마토그래프법의 내부표준법에 따라 시험한다. 필요한 경우 표준액의 검량선 범위 내에서 검체 채취량 또는 희석배수는 조정할 수 있다.

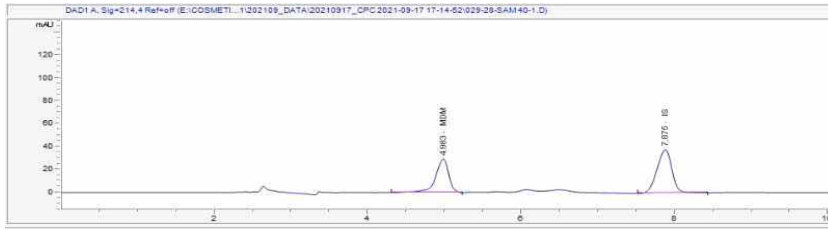
- 내부표준액 : 히드로퀴논 표준품 약 20 mg을 정밀하게 달아 1000 mL 용량플라스크에 넣고 메탄올 넣어 정확하게 1000 mL로 한다.

다. 시험조작

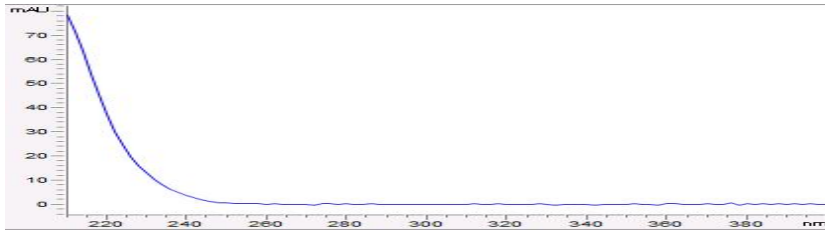
1) 액체크로마토그래프 조작조건

- 가) 칼럼 : Waters, Xterra C18(5 μ m, 4.6 \times 250 mm) 또는 이와 동등 이상의 칼럼
- 나) 칼럼온도 : 25 $^{\circ}$ C
- 다) 이동상 : 0.01 % 인산 : 아세토니트릴 : 테트라하이드로퓨란(95 : 5 : 1)
- 라) 유속 : 1.0 mL/min
- 마) 주입량 : 10 μ L
- 바) 검출기(파장) : 자외부흡광광도계(측정파장: 214 nm)

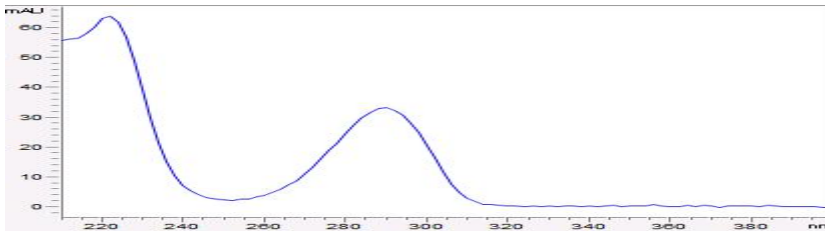
라. 크로마토그램 및 스펙트럼



<액체크로마토그래프 크로마토그램>
 엠디엠하이단토인(4.9분), 히드로퀴논(내부표준물질, 7.8분)



<엠디엠하이단토인 스펙트럼>



<히드로퀴논 스펙트럼>

마. 계산식

$$\text{엠디엠하이단토인의 함량(\%)} = C \times V / (S \times 10000)$$

C : 검량선에서 구한 엠디엠하이단토인의 농도 ($\mu\text{g/mL}$)

V : 검액의 최종 부피(mL)

S : 검체 채취량(g)

10000 : 단위 환산계수

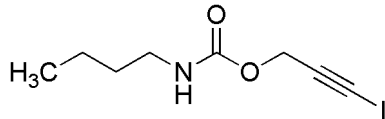
바. 참고문헌

- 1) Asada, A., Doi, T., Takeda, A., Kajimura, K. : Quantification of 1,3-dimethylol-5,5-dimethylhydantoin and its decomposition products in cosmetics by high-performance liquid chromatography, *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 67, 163-168, 2012

6. 아이오도프로피닐부틸카바메이트(아이피비씨) (Iodopropynyl Butylcarbamate)

가. 분석물질

- 분자식 : $C_8H_{12}INO_2$
- 분자량 : 281.09
- 구조식 :



- CAS 번호 : 55406-53-6
- 사용한도 : 사용 후 씻어내는 제품에 0.02 %
사용 후 씻어내지 않는 제품에 0.01 %
다만, 데오드란트에 배합할 경우에는 0.0075 %
입술에 사용되는 제품, 에어로졸(스프레이에 한함)제품, 바디로션 및 바디크림에는 사용 금지
영유아용 제품류 또는 만 13세 이하 어린이가 사용할 수 있음을 특정하여 표시하는 제품에는 사용금지(목욕용 제품, 샤워젤류 및 샴푸류는 제외)

나. 시험방법

검체 약 2 g을 정밀하게 달아 50 mL 용량플라스크에 넣고, 아세토니트릴 30 mL를 넣어 초음파 진탕하여 검체를 충분히 분산시킨 후 규조토 약 2 g을 첨가하여 잘 혼합한다. 이후 아세토니트릴을 넣어 정확하게 50 mL로 한 후 냉동실에서 약 6시간 동안 가끔씩 저어주면서 방치한 다음 이 액을 멤브레인 필터로 여과하여 검액으로 한다. 따로 아이오도프로피닐부틸카바메이트 표준품 약 50 mg을 정밀하게 달아 50 mL 용량플라스크에 넣고, 아세토니트릴을 넣어 정확하게 50 mL로 한 액을 표준원액으로 한다(1000 μ g/mL). 이 액 0.15, 0.25, 0.5, 1.25 및 2.5 mL를 각각 취하여 50 mL 용량플라스크에 넣고, 아세토니트릴을 넣어 정확하게 50 mL로 한 액을 표준액으로 한다.

표준액과 검액을 가지고 다음 조작조건으로 「기능성화장품 기준 및 시험방법」 일반시험법의 액체크로마토그래프법 중 절대검량선법에 따라 시험한다. 필요한 경우 표준액의 검량선 범위내에서 검체 채취량과 희석배수를 조정할 수 있다.

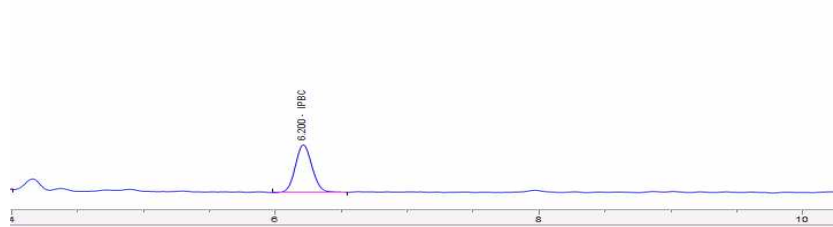
다. 시험조작

- 1) 액체크로마토그래프 조작조건
 - 가) 칼럼 : Shiseido, Capcell Pak C18(5 μ m, 4.6 x 250 mm) 또는 이와 동등 이상의 칼럼
 - 나) 칼럼온도 : 25 $^{\circ}$ C
 - 다) 이동상 : 60 % 아세토니트릴
 - 라) 유속 : 1.0 mL/min

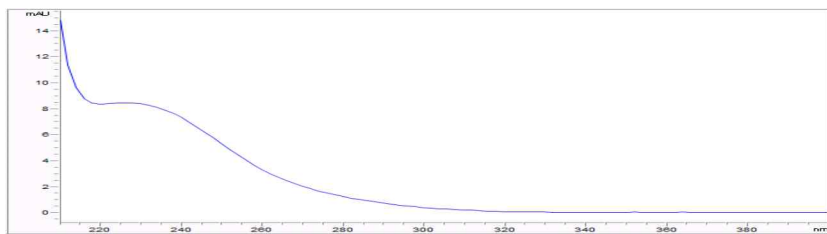
마) 주입량 : 10 μ L

바) 검출기(파장) : 자외부흡광광도계(측정파장: 220 nm)

라. 크로마토그램 및 스펙트럼



<액체크로마토그래프 크로마토그램>
아이오도프로피닐부틸카바메이트(6.2분)



<아이오도프로피닐부틸카바메이트 스펙트럼>

마. 계산식

아이오도프로피닐부틸카바메이트(아이피비씨)의 함량(%) = $C \times V / (S \times 10000)$

C : 검량선에서 구한 아이오도프로피닐부틸카바메이트(아이피비씨)의 농도 (μ g/mL)

V : 검액의 최종 부피(mL)

S : 검체 채취량(g)

10000 : 단위 환산계수

바. 참고문헌

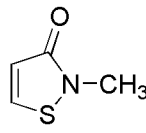
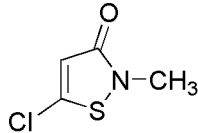
- 1) Markus, F. : Rapid quantification of iodopropynyl butylcarbamate as the preservative in cosmetic formulations using high-performance liquid chromatography-electrospray mass spectrometry, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 25, 965-970, 2001
- 2) Horev, L. : Preservatives in cosmetics in the Israeli market conform well to the EU legislation, DOI: *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 29, 761-766, 2015

7. 메칠클로로이소치아졸리논과 메칠이소치아졸리논 혼합물, 메칠이소치아졸리논

가. 분석물질

1) 메칠클로로이소치아졸리논(Methylchloroisothiazolinone)과 메칠이소치아졸리논(Methylisothiazolinone) 혼합물(염화마그네슘과 질산마그네슘 포함)

- 분자식 : C_4H_4ClNOS
- 분자량 : 149.60
- 구조식 :

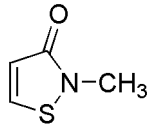


메칠클로로이소치아졸리논 메칠이소치아졸리논

- CAS 번호 : 26172-55-4
- 사용한도 : 사용 후 씻어내는 제품에 0.0015 %(메칠클로로이소치아졸리논:메칠이소치아졸리논=(3:1) 혼합물로서), 기타 제품에는 사용금지

2) 메칠이소치아졸리논(Methylisothiazolinone)

- 분자식 : C_4H_5NOS
- 분자량 : 115.15
- 구조식 :



- CAS 번호 : 2682-20-4
- 사용한도 : 사용 후 씻어내는 제품에 0.0015 %(단, 메칠클로로이소치아졸리논과 메칠이소치아졸리논 혼합물과 병행 사용 금지)
기타 제품에는 사용금지

나. 시험방법

1) 액체크로마토그래프 방법

검체 약 1 g을 정밀하게 달아 10 mL 용량플라스크에 넣고, 5 mL의 메탄올을 넣어 60분간 초음파 진탕하고 상온으로 식힌 다음 메탄올을 넣어 정확하게 10 mL로 한다. 이 액을 멤브레인 필터로 여과하여 검액으로 한다. 따로 메칠클로로이소치아졸리논 및 메칠이소치아졸리논 표준품 약 10 mg을 각각 정밀하게 달아 100 mL 용량플라스크에 넣고, 메탄올을 넣어 정확하게 100 mL로 하여 표준원액으로 한다(100 μ g/mL). 이 액 0.1, 0.2, 0.5, 1 및 2 mL를 각각 정확하게 취하여 100 mL 용량플라스크에 넣고, 메탄올을 넣어 정확하게 100 mL로 한 액을 표준액으로 한다.

표준액과 검액을 가지고 다음 조작조건으로 「기능성화장품 기준 및 시험방법」 일반시험법의 액체크로마토그래프법 중 절대검량선법에 따라 시험한다. 필요한 경우 표준액의 검량선 범위내에서 검체 채취량과 희석배수를 조정할 수 있다.

2) 액체크로마토그래프-질량분석기 방법

검체 약 1 g을 정밀하게 달아 50 mL 용량플라스크에 넣고, 메탄올 30 mL를 넣어 60분 동안 초음파 진탕하여 검체를 충분히 분산시킨다. 여기에 메탄올을 넣어 정확하게 50 mL로 한 후 멤브레인 필터로 여과한 액을 검액으로 한다. 따로 메칠이소치아졸리논, 메칠클로로이소치아졸리논 표준품 약 10 mg을 각각 정밀하게 달아 10 mL 용량플라스크에 넣고, 메탄올을 넣어 정확하게 10 mL로 하여 표준원액으로 한다(1000 µg/mL). 이 액 1 mL를 정확하게 취하여 10 mL 용량플라스크에 넣고, 메탄올을 넣어 정확하게 10 mL로 한다. 이 액 각각 0.01, 0.1, 0.5, 1, 2 및 5 mL를 정확하게 취해 100 mL 용량플라스크에 넣고, 메탄올을 넣어 정확하게 100 mL로 하고 멤브레인 필터로 여과한 액을 표준액으로 한다.

표준액과 검액을 가지고 다음 조작조건으로 액체크로마토그래프-질량분석기로 시험한다. 필요한 경우 표준액의 검량선 범위 내에서 검체 채취량 또는 희석배수는 조정할 수 있다.

다. 시험조작

1) 액체크로마토그래프 조작조건

가) 칼럼 : Shiseido, Capcell Pak C18(5 µm, 4.6 x 250 mm) 또는 이와 동등 이상의 칼럼

나) 칼럼온도 : 30°C

다) 이동상 : (A) 0.1 % 인산용액 : 아세토니트릴(95 : 5)

(B) 0.1 % 인산용액 : 아세토니트릴(5 : 95)

시간	A (%)	B (%)
0	100	0
8	100	0
15	20	80
20	20	80
25	100	0
30	100	0

라) 유속 : 0.8 mL/min

마) 주입량 : 10 µL

바) 검출기(파장) : 자외부흡광광도계(측정파장: 275 nm)

2) 액체크로마토그래프-질량분석기의 측정조건

가) 칼럼 : Waters, ACQUITY UPLC® HSS T3(1.8 µm, 2.1 x 100 mm) 또는 이와 동등 이상의 칼럼

나) 칼럼온도 : 25°C

- 다) 이동상 : (A) 0.1% 아세트산 용액
 (B) 0.1% 아세트산 함유 메탄올

시간	A (%)	B (%)
0	70	30
4	70	30
5	10	90
7	10	90
8	70	30
9	70	30

라) 유속 : 0.2 mL/min

마) 주입량: 5 μ L

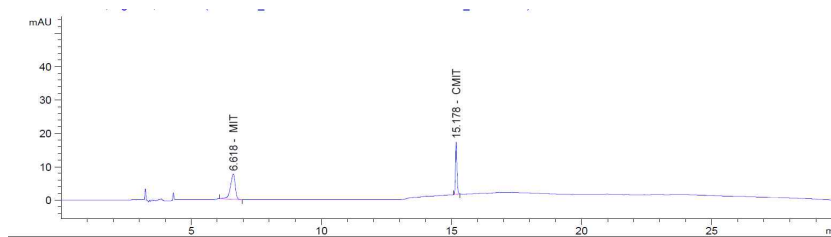
바) 다중반응모니터링 (MRM, Multiple reaction monitoring) 조작조건

성분명	Exact Mass	[M+H] ⁺ ion	Cone Voltage	Product ions	Collision Energy
메칠이소치아졸리논	115.0	116.00	30	71.00	15
				98.00	15
				101.00	20
메칠클로로이소치아졸리논	149.59	150.15	30	87.00	30
				96.00	20
				115.01	20

* 다중반응모니터링(MRM, multiple reaction monitoring)조건은 기기 상태 및 용매 조건에 의해 변경 가능함

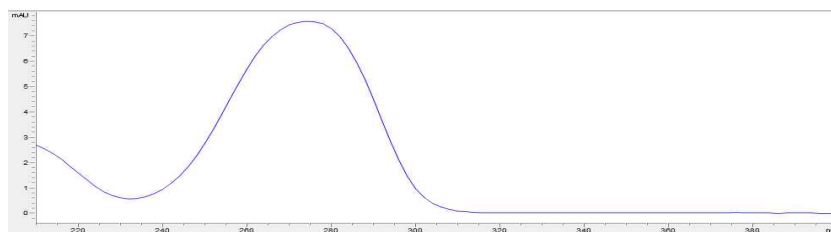
라. 크로마토그램 및 스펙트럼

1) 액체크로마토그래프

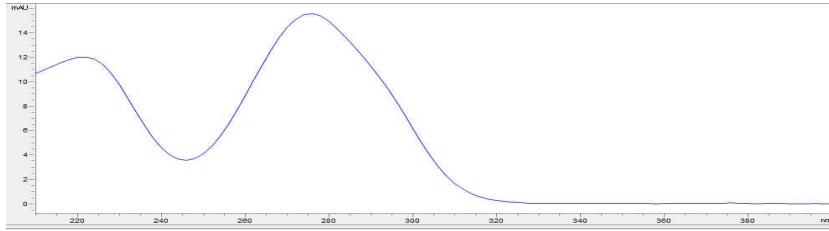


<액체크로마토그래프 크로마토그램>

메칠이소치아졸리논(MIT) (6.6분) 메칠클로로이소치아졸리논(CMIT) (15.1분)

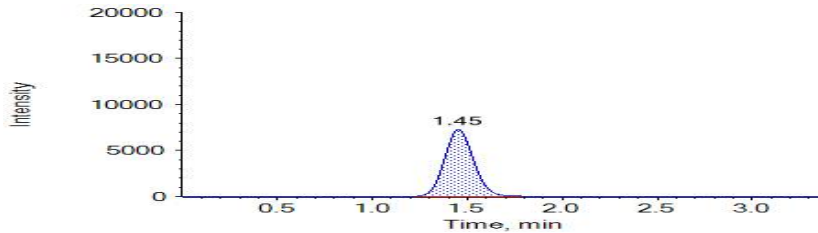


<메칠이소치아졸리논 스펙트럼>



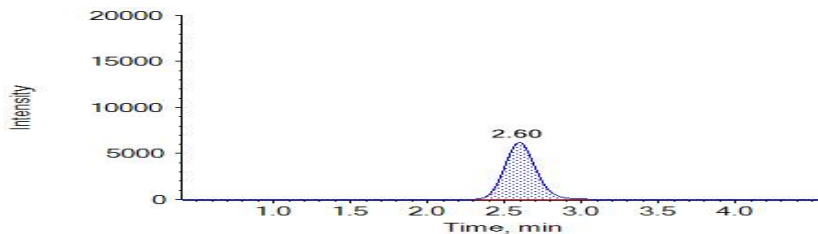
<메틸클로로이소치아졸리논 스펙트럼>

2) 액체크로마토그래프-질량분석기



<액체크로마토그래프-질량분석기 크로마토그램>

메칠이소치아졸리논(MIT) (1.4분)



<액체크로마토그래프-질량분석기 크로마토그램>

메칠클로로이소치아졸리논(CMIT) (2.6분)

마. 계산식

$$\text{각 성분의 함량(\%)} = C \times V / (S \times 10000)$$

C : 검량선에서 구한 각 성분의 농도 ($\mu\text{g/mL}$)

V : 검액의 최종 부피(mL)

S : 검체 채취량(g)

10000 : 단위 환산계수

바. 참고문헌

- 1) 화장품 중 배합한도 성분 분석법 개발에 관한연구 - 자외선차단성분 및 살균보존성분, 식품의약품안전처, 2012
- 2) 의약품 등 시험방법 밸리데이션 가이드라인, 식품의약품안전처, 2015
- 3) 화장품 사용한도 성분 분석법 개발, 식품의약품안전처, 2016
- 4) Baranowska, I., Wojciechowska, I. : The Determination of preservatives in Cosmetics and Environmental Waters by HPLC. *J. Environ. Stud.*, 22(6), 1609-1625, 2013
- 5) Wittenberg, J. B. : Determination of methylisothiazolinone and methylchloroisothiazolinone in cosmetic products by ultra high performance liquid

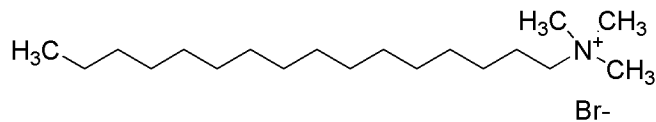
- chromatography with tandem mass spectrometry, *J Sep Sci.*, 38(17), 2983-8, 2015
- 6) Baranowska, I. : Determination of Preservatives in Cosmetics, Cleaning Agents and Pharmaceuticals Using Fast Liquid Chromatography, *J Chromatoger Sci.*, 52(1):88-94, 2014

8. 알킬(C₁₂-C₂₂ 트리메칠암모늄브로마이드) 및 클로라이드(브롬화세트리모늄 포함)

가. 분석물질

1) 세트리모늄브로마이드 (Cetrimonium Bromide)

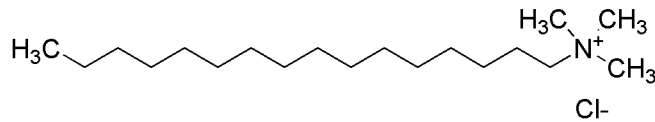
- 이명 : 세틸(C16)트리메칠암모늄브로마이드
- 분자식 : C₁₉H₄₂BrN
- 분자량 : 364.45
- 구조식 :



- CAS 번호 : 57-09-0
- 사용한도 : 두발용 제품류를 제외한 화장품에 0.1 %

2) 세트리모늄클로라이드 (Cetrimonium Chloride)

- 분자식 : C₁₉H₄₂ClN
- 분자량 : 320.00
- 구조식 :



- CAS 번호 : 112-02-7
- 사용한도 : 두발용 제품류를 제외한 화장품에 0.1 %

나. 시험방법

1) 세트리모늄브로마이드 시험

검체 약 1 g을 정밀하게 달아 100 mL 용량플라스크에 넣고, 아세토니트릴을 넣어 정확하게 100 mL로 하여 0.2 μm 소수성 멤브레인 필터로 여과한 액을 검액으로 한다. 따로 세트리모늄 브로마이드 표준품 약 100 mg을 정밀하게 달아 100 mL 용량플라스크에 넣고, 아세토니트릴을 넣어 정확하게 100 mL로 한 액을 표준원액으로 한다(1000 μg/mL). 이 액을 각각 1, 2, 5, 10 및 20 μg/mL이 되도록 아세토니트릴로 희석하고 0.2 μm 소수성 멤브레인 필터로 여과한 액을 표준액으로 한다.

표준액과 검액을 가지고 다음 조작조건으로 액체크로마토그래프-질량분석기로 시험한다. 필요한 경우 표준액의 검량선 범위내에서 검체 채취량과 희석배수를 조정할 수 있다.

2) 세트리모늄클로라이드 시험

검체 약 1 g을 정밀하게 달아 100 mL 용량플라스크에 넣고, 아세트니트릴을 넣어 정확하게 100 mL로 한다. 이 액 1 mL를 정확하게 취하여 10 mL 용량플라스크에 넣고 아세트니트릴을 넣어 정확하게 10 mL로 하고 0.2 μm 소수성 멤브레인 필터로 여과한 액을 검액으로 한다. 따로 세트리모늄클로라이드 표준품 약 100 mg을 정밀하게 달아 100 mL용량 플라스크에 넣고 아세트니트릴을 넣어 정확하게 100 mL로 한다(1000 μg/mL). 이 액을 각각 0.1, 0.2, 0.5, 1 및 2 μg/mL이 되도록 아세트니트릴로 희석하고, 0.2 μm 소수성 멤브레인 필터로 여과한 액을 표준액으로 한다.

표준액과 검액을 가지고 다음 조작조건으로 액체크로마토그래프-질량분석기로 시험한다. 필요한 경우 표준액의 검량선 범위내에서 검체 채취량과 희석배수를 조정할 수 있다.

다. 시험조작

1) 액체크로마토그래프-질량분석기 조작조건

가) 칼럼 : C18(1.7 μm, 2.1 x 50 mm) 또는 이와 동등 이상의 칼럼

나) 칼럼온도 : 35°C

다) 이동상 : (A) 0.1 % 포름산 용액

(B) 아세트니트릴

시간	A (%)	B (%)
0	45	55
2	30	70
3	40	60
5	40	60

라) 유속 : 0.5 mL/min

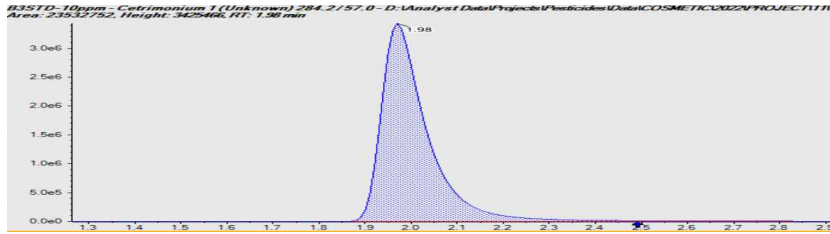
마) 주입량 : 0.4 μL

바) 다중반응모니터링 (MRM, Multiple reaction monitoring) 조작조건

성분명	Exact Mass	[M+H] ⁺ ion	Cone Voltage	Product ions	Collision Energy
세트리모늄	284.3	284.5	40	57	25
				60	25
				85	25

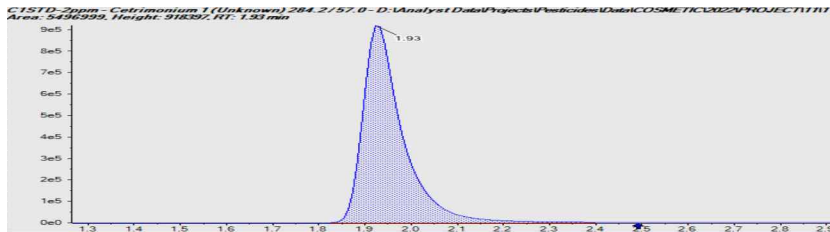
* 다중반응모니터링(MRM, multiple reaction monitoring)조건은 기기 상태 및 용매 조건에 의해 변경 가능함

라. 크로마토그램



<액체크로마토그래프-질량분석기 크로마토그램>

세트리모늄브로마이드 크로마토그램 (1.9분)



<액체크로마토그래프-질량분석기 크로마토그램>

세트리모늄클로라이드 크로마토그램 (1.9분)

마. 계산식

1) 세트리모늄브로마이드의 함량(%) = $C \times V / (S \times 10000)$

C : 검량선에서 구한 세트리모늄브로마이드의 농도 ($\mu\text{g/mL}$)

V : 검액의 최종 부피(mL)

S : 검체 채취량(g)

10000 : 단위 환산계수

2) 세트리모늄클로라이드의 함량(%) = $C \times V / (S \times 10000) \times \text{회석배수}$

C : 검량선에서 구한 세트리모늄클로라이드의 농도 ($\mu\text{g/mL}$)

V : 검액의 최종 부피(mL)

S : 검체 채취량(g)

10000 : 단위 환산계수

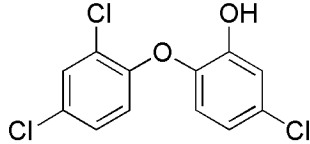
바. 참고문헌

- 1) 의약품등 시험방법 밸리데이션에 대한 가이드라인, 식품의약품안전처, 2015
- 2) 화장품 중 배합한도 성분 분석법 연구(II), 식품의약품안전처, 2015
- 3) Sneh, K. D. : Absorption and Fluorescence Spectral Characteristics of Aromatic Amines in Cetyltrimethylammonium Bromide, *J Chem Soc.*, 88(18), 2725-2731, 1992
- 4) Malenovic, A. : Development and validation of RP-HPLC method for cetrimonium bromide and lidocaine determination, *Il Farmaco*, 60, 157-61, 2005

9. 트리클로산(Triclosan)

가. 분석물질

- 분자식 : $C_{12}H_7Cl_3O_2$
- 분자량 : 289.54
- 구조식 :



- CAS 번호 : 3380-34-5
- 사용한다 : 사용 후 씻어내는 인체세정용 제품류, 데오도란트(스프레이 제품 제외), 페이스 파우더, 피부결점을 감추기 위해 국소적으로 사용하는 파운데이션(예: 블레미쉬 컨실러)에 0.3 %
기타 제품에는 사용금지

나. 시험방법

1) 액체크로마토그래프 방법

검체 약 1 g을 정밀하게 달아 100 mL 용량플라스크에 넣고 에탄올을 넣어 정확하게 100 mL로 하고, 멤브레인 필터로 여과한 액을 검액으로 한다. 따로 트리클로산 표준품 약 10 mg을 정밀하게 달아 10 mL 용량플라스크에 넣고 에탄올을 넣어 정확하게 10 mL로 하여 표준원액으로 한다(1000 μ g/mL). 이 액 0.5, 1, 3, 5 및 10 mL을 각각 정확하게 취하여 100 mL 용량플라스크에 넣고 에탄올을 넣어 정확하게 100 mL로 한 액을 표준액으로 한다.

표준액과 검액을 가지고 다음 조작조건으로 「기능성화장품 기준 및 시험방법」 일반시험법의 액체크로마토그래프법에 따라 시험한다. 필요한 경우 표준액의 검량선 범위 내에서 검체 채취량과 희석배수를 조정할 수 있다.

2) 기체크로마토그래프-질량분석기 방법

검체 약 1 g을 정밀하게 달아 100 mL 용량플라스크에 넣고, 에탄올을 넣어 정확하게 100 mL로 하고, 멤브레인 필터로 여과한 액을 검액으로 한다. 따로 트리클로산 표준품 약 10 mg을 정밀하게 달아 10 mL 용량플라스크에 넣고 에탄올을 넣어 정확하게 10 mL로 한다(1000 μ g/mL). 이 액 10 mL를 정확하게 취하여 100 mL 용량플라스크에 넣고 에탄올을 넣어 정확하게 100 mL로 한 액을 표준액으로 한다.

표준액과 검액을 가지고 다음 조작조건으로 기체크로마토그래프-질량분석기로 시험한다. 필요한 경우 표준액의 검량선 범위 내에서 검체 채취량 또는 희석배수는 조정할 수 있다.

다. 시험조작

1) 액체크로마토그래프 조작조건

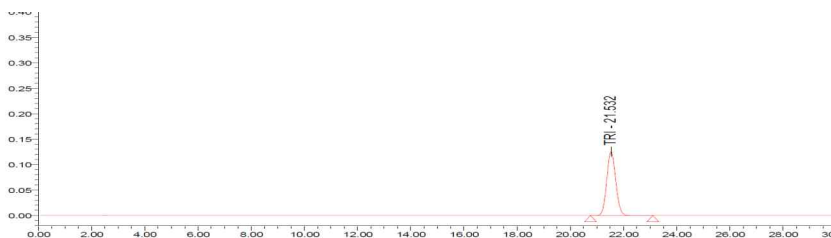
- 가) 칼럼 : C18(5 μ m, 3.0 x 250 mm) 또는 이와 동등 이상의 칼럼
- 나) 칼럼온도 : 25 $^{\circ}$ C
- 다) 이동상 : 60 % 아세트니트릴 용액
- 라) 유속 : 1.0 mL/min
- 마) 주입량 : 10 μ L
- 바) 검출기(과장) : 자외부흡광광도계(측정과장: 280 nm)

2) 기체크로마토그래프-질량분석기의 조작조건

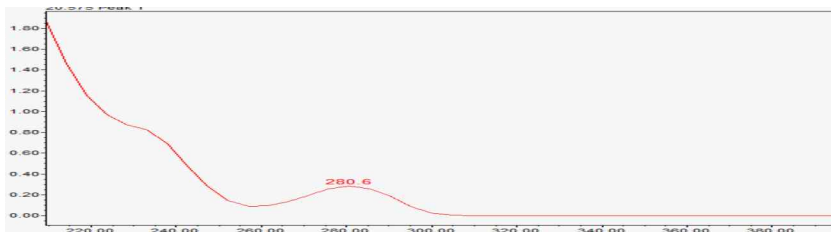
- 가) 칼럼 : Agilent, HP-5(0.25 μ m, 0.25 mm x 30 m) 또는 이와 동등 이상의 칼럼
- 나) 칼럼온도 : 처음 2분간 150 $^{\circ}$ C로 유지하고 280 $^{\circ}$ C까지 1분에 15 $^{\circ}$ C씩 상승시킨다.
5분간 280 $^{\circ}$ C로 유지시킨다.
- 다) 이동상 : 헬륨(1 mL/min)
- 라) 주입모드 : 스플릿(20 : 1)
- 마) 인터페이스온도 : 250 $^{\circ}$ C
- 바) 이온소스온도 : 230 $^{\circ}$ C
- 사) 질량분석기모드 : Scan(50-550 m/z)

라. 크로마토그램 및 스펙트럼

1) 액체크로마토그래프

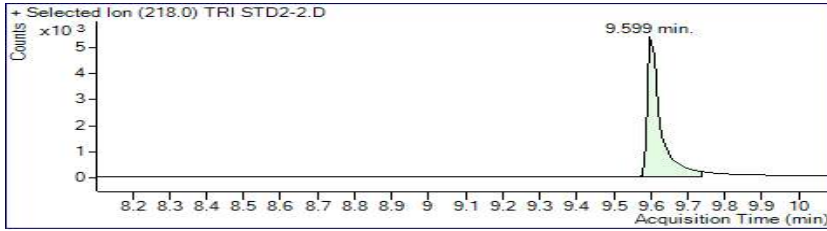


<액체크로마토그래프 크로마토그램>
트리클로산 크로마토그램 (21.5분)

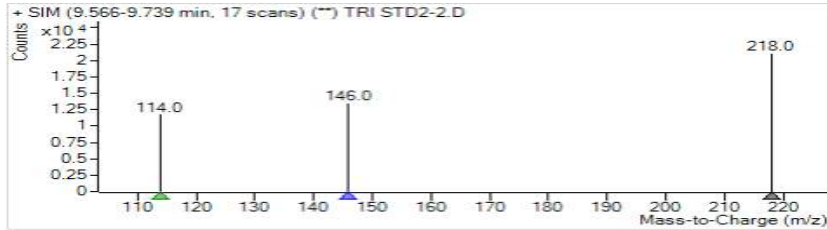


<트리클로산 스펙트럼>

2) 기체크로마토그래프-질량분석기



<기체크로마토그래프-질량분석기 크로마토그램>
 트리클로산 크로마토그램 (9.5분)



<트리클로산 질량스펙트럼>

마. 계산식

$$\text{트리클로산의 함량(\%)} = C \times V / (S \times 10000)$$

C : 검량선에서 구한 트리클로산의 농도 ($\mu\text{g/mL}$)

V : 검액의 최종 부피(mL)

S : 검체 채취량(g)

10000 : 단위 환산계수

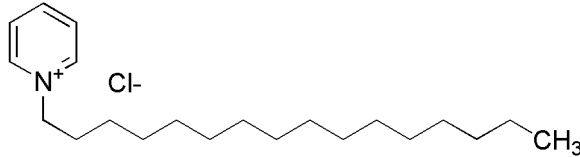
바. 참고문헌

- 1) 의약품 등 시험방법 밸리데이션에 대한 가이드라인 적용을 위한 해설서, 식품의약품안전처, 2015
- 2) 화장품 중 배합금지 및 배합한도 성분의 분석법 확립 및 유해물질 안전관리 기준 국제화, 식품의약품안전처, 2010
- 3) 화장품 성분 위해평가 및 리스크프로파일링 연구, 식품의약품안전처, 2015
- 4) Tohidi, F., Cai, Z. : GC/MS analysis of triclosan and its degradation by-products in-wastewater and sludge samples from different treatments. *Environ Sci Pollut Res Int.*, 22(15), 11397-400, 2015
- 5) Mahitha et al. : Analytical method development and validation of triclosan in dental formulaions. *IJPSR*, 5(9), 3810-3816, 2014

10. 세틸피리디늄클로라이드(Cetyl Pyridinium Chloride)

가. 분석물질

- 분자식 : $C_{21}H_{38}ClN$
- 분자량 : 339.99
- 구조식 :



- CAS 번호 : 123-03-5
- 사용한도 : 사용 후 씻어내는 제품에 허용 0.08 %
기타제품에는 사용금지

나. 시험방법

1) 액체크로마토그래프 방법

검체 약 1 g을 정밀하게 달아 100 mL 용량플라스크에 넣고, 메탄올 50 mL 및 내부표준액 1 mL를 넣어 60분 동안 초음파 진탕하여 검체를 충분히 분산시킨다. 여기에 메탄올을 넣어 정확하게 100 mL로 하고, 멤브레인 필터로 여과한 액을 검액으로 한다. 따로 세틸피리디늄클로라이드 표준품 약 10 mg을 정밀하게 달아 10 mL 용량플라스크에 넣고, 메탄올을 넣어 정확하게 10 mL로 하여 표준원액으로 한다(1000 μ g/mL). 이 액 10 mL를 정확하게 취하여 100 mL 용량플라스크에 넣고, 메탄올을 넣어 정확하게 100 mL로 한다. 이 액을 각각 1, 2, 5, 10 및 20 mL를 정확하게 취하여 100 mL 용량플라스크에 넣고, 내부표준액 1 mL와 메탄올을 넣어 정확하게 100 mL로 하여 멤브레인 필터로 여과한 액을 표준액으로 한다.

표준액과 검액을 가지고 다음 조작조건으로 「기능성화장품 기준 및 시험방법」 일반시험법의 액체크로마토그래프법의 내부표준법에 따라 시험한다. 필요한 경우 표준액의 검량선 범위 내에서 검체 채취량 또는 희석배수는 조정할 수 있다.

- 내부표준액 : 1-도데실피리디늄클로라이드 약 10 mg을 정밀하게 달아 메탄올에 녹여 50 mL로 한다.

2) 액체크로마토그래프-질량분석기 방법

검체 약 1 g을 정밀하게 달아 100 mL 용량플라스크에 넣고 메탄올 50 mL 및 내부표준액 1 mL를 넣어 60분 동안 초음파 진탕하여 검체를 충분히 분산시킨다. 여기에 메탄올을 넣어 정확하게 100 mL로 하고, 멤브레인 필터로 여과한 액을 검액으로 한다. 따로 세틸피리디늄클로라이드 표준품 약 10 mg을 정밀하게 달아 10 mL 용량플라스크에 넣고, 메탄올을 넣어 정확하게 10 mL로 한 후 이 액 1 mL를 정확하게 취하여 100 mL 용량플라스크에

넣고, 메탄올을 넣어 정확하게 100 mL로 하여 표준원액으로 한다. 이 액 0.5, 1, 2.5 및 10 mL를 정확하게 취하여 100 mL로 하고, 멤브레인 필터로 여과한 액을 표준액으로 한다. 표준액과 검액을 가지고 다음 조작조건으로 액체크로마토그래프-질량분석기로 시험한다. 필요한 경우 표준액의 검량선 범위 내에서 검체 채취량 또는 희석배수는 조정할 수 있다.

○ 내부표준액 : 1-도데실피리디늄클로라이드 약 10 mg을 정밀하게 달아 메탄올에 녹여 50 mL로 한다.

다. 시험조작

1) 액체크로마토그래프 조작조건

- 가) 칼럼 : Waters, μ -Bondpak phenyl(10 μ m, 3.9 x 300 mm) 또는 이와 동등 이상의 칼럼
- 나) 칼럼온도 : 25°C
- 다) 이동상 : 0.05 mmol/L 암모늄아세테이트 함유 60 % 메탄올 혼합액
- 라) 유속 : 1.0 mL/min
- 마) 주입량: 10 μ L
- 바) 검출기(과장): 자외부흡광광도계(측정과장: 225 nm)

2) 액체크로마토그래프-질량분석기의 측정조건

- 가) 칼럼 : Waters, ACQUITY UPLC BEH(1.7 μ m, 2.1 x 100 mm) 또는 이와 동등 이상의 칼럼
- 나) 칼럼온도 : 40°C
- 다) 이동상 : (A) 5 mmol/L 포름산암모늄 용액
(B) 5 mmol/L 포름산암모늄 함유 메탄올

시간(분)	A (%)	B (%)
0	100	0
2	30	70
3	15	85
5	10	90
7.5	10	90
10	100	0

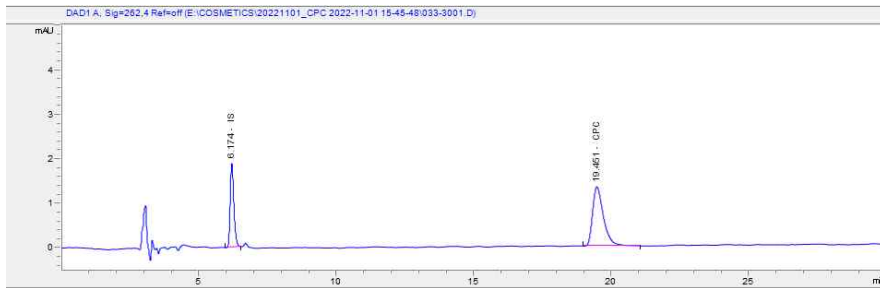
- 라) 유속 : 0.2 mL/min
- 마) 주입량 : 3 μ L
- 바) 다중반응모니터링 (MRM, Multiple reaction monitoring) 조작조건

성분명	Exact Mass	[M+H] ⁺ ion	Cone Voltage	Product ions	Collision Energy
1-도데실피리디늄클로라이드 (ISTD)	283.0	248.0	60	79.9	27
				43.0	49
				57.0	41
세틸피리디늄클로라이드	340.0	304.1	111	80.0	77
				43.1	61
				57.0	61

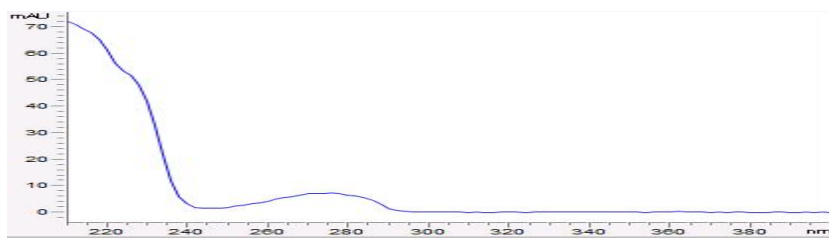
* 다중반응모니터링(MRM, multiple reaction monitoring)조건은 기기 상태 및 용매 조건에 의해 변경 가능함

라. 크로마토그램 및 스펙트럼

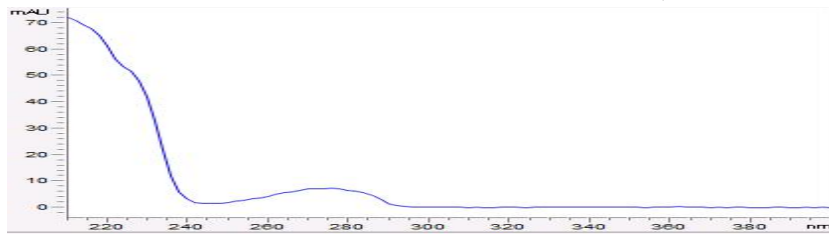
1) 액체크로마토그래프



<액체크로마토그래프 크로마토그램>
1-도데실피리디늄클로라이드(내부표준물질, 6.1분),
세틸피리디늄클로라이드의 크로마토그램(19.4분)

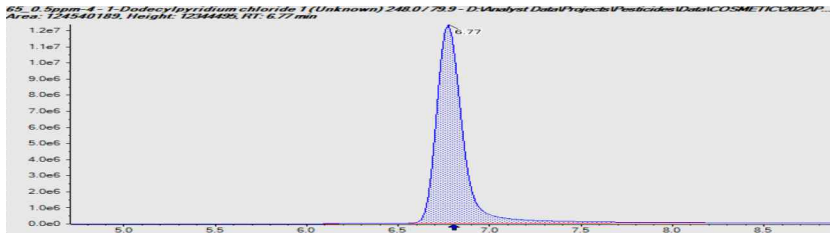


<1-도데실피리디늄클로라이드 스펙트럼>



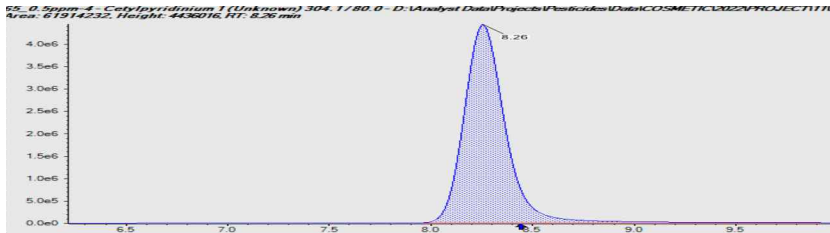
<세틸피리디늄클로라이드 스펙트럼>

2) 액체 크로마토그래프-질량분석기



<액체 크로마토그래프-질량분석기 크로마토그램>

1-도데실피리디늄클로라이드(내부표준물질, 6.7분)



<액체 크로마토그래프-질량분석기 크로마토그램>

세틸피리디늄클로라이드 질량분석기 크로마토그램 (8.2분)

마. 계산식

세틸피리디늄클로라이드의 함량(%) = $C \times V / (S \times 10000)$

C : 검량선에서 구한 세틸피리디늄클로라이드의 농도 ($\mu\text{g/mL}$)

V : 검액의 최종 부피(mL)

S : 검체 채취량(g)

10000 : 단위 환산계수

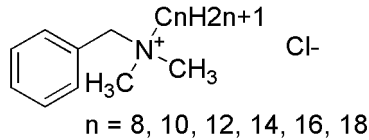
바. 참고문헌

- 1) 의약품 등 시험방법 벨리데이션 가이드라인 해설서(민원인안내서), 식품의약품안전처, 2015.
- 2) 화장품 사용한도 성분 분석법 개발, 식품의약품안전처, 2016
- 3) Krajisnik, D. : Properties of diclofenac sodium sorption onto natural zeolite modified with cetylpyridinium chloride, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 83, 165-172, 2011
- 4) Tarel, S. B. : Gradient HPLC_Diode Array Detector stability_Indication Determination of Lidocaine Hydrochloride and Cetylpyridinium Chloride in Two combined Oral Gel Dosage Forms, *Journal of AOAC International*, 94, NO. 2, 2011

11. 벤잘코늄클로라이드(Benzalkonium Chloride), 브로마이드 및 사카리네이트

가. 분석물질

- 분자식 :
- 구조식 :



- CAS 번호 : 8001-54-5(2peaks), 63449-41-2(3peaks)
- 사용한도 : 사용 후 씻어내는 제품에 벤잘코늄클로라이드로서 0.1 %
기타 제품에 벤잘코늄클로라이드로서 0.05 %

나. 시험방법

검체 약 1 g을 정밀하게 달아 100 mL 용량플라스크에 넣고, 메탄올 50 mL를 넣어 60분 동안 초음파 진탕하여 검체를 충분히 분산시킨 후 메탄올을 넣어 정확하게 100 mL로 한다. 이 액 및 내부표준액 각각 1 mL씩 정확하게 취하여 100 mL 용량플라스크에 넣고 메탄올을 넣어 정확하게 100 mL로 하여 멤브레인 필터로 여과한 액을 검액으로 한다. 따로 벤잘코늄클로라이드 표준품 약 10 mg을 정밀하게 달아 10 mL 용량플라스크에 넣고, 메탄올을 넣어 정확하게 10 mL로 하여 표준원액으로 한다(1000 $\mu\text{g/mL}$). 이 액 1 mL를 정확하게 취하여 100 mL 용량플라스크에 넣고 메탄올을 넣어 정확하게 100 mL로 한다. 이 액 각각 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 및 1 mL를 정확하게 취하여 100 mL 용량플라스크에 넣고, 내부표준액 1.0 mL를 넣은 후 메탄올을 넣어 정확하게 100 mL로 하여 멤브레인 필터로 여과한 액을 표준액으로 한다.

표준액과 검액을 가지고 다음 조작조건으로 「기능성화장품 기준 및 시험방법」 일반시험법의 액체크로마토그래프법의 내부표준법에 따라 시험한다. 필요한 경우 표준액의 검량선 범위 내에서 검체 채취량 또는 희석배수는 조정할 수 있다.

- 내부표준액 : 메틸트리옥틸암모늄클로라이드 약 0.2 mg을 정밀하게 달아 100 mL 용량플라스크에 넣고 메탄올을 넣어 정확하게 100 mL로 한다.

다. 시험조작

1) 액체크로마토그래프-질량분석기 조작조건

- 가) 칼럼 : Agilent, Poroshell 120 SB-C18(2.7 μm , 2.1 X 150 mm) 또는 이와 동등 이상의 칼럼
- 나) 칼럼온도 : 35°C

- 다) 이동상 : (A) 5 mmol/L 포름산암모늄 용액
 (B) 5 mmol/L 포름산암모늄 함유 메탄올

시간(분)	A (%)	B (%)
0	20	80
1	20	80
5	1	99
10	1	99
11	20	80
12	20	80

라) 유속 : 0.2 mL/min

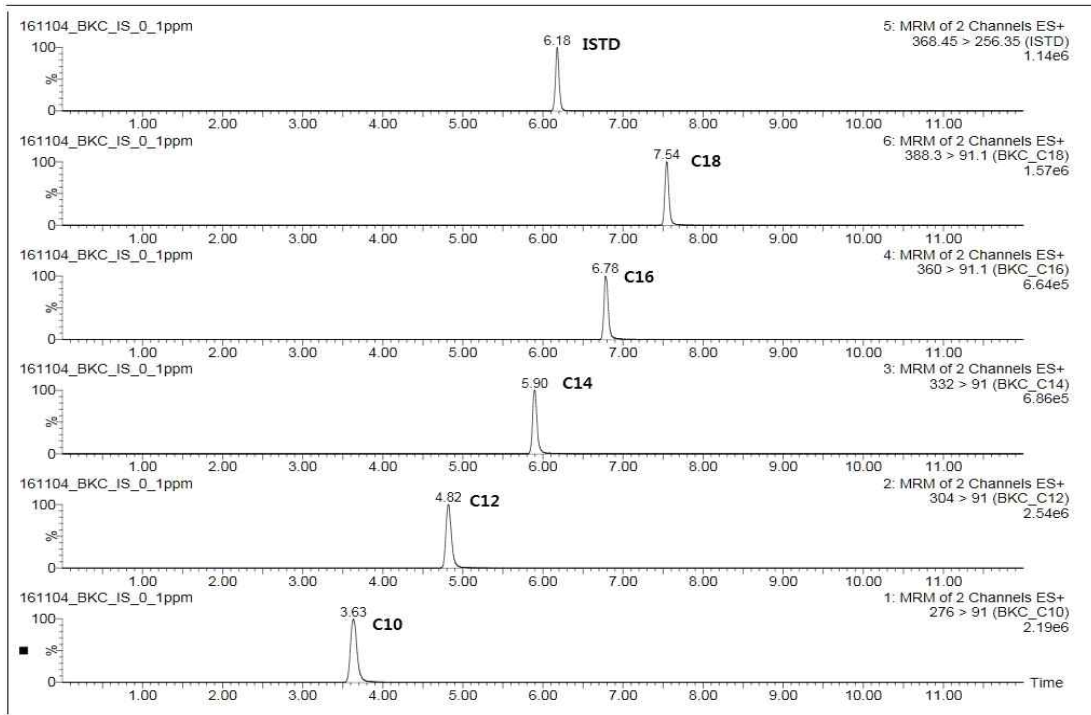
마) 주입량 : 2 μ L

바) 다중반응모니터링(MRM, Multiple reaction monitoring) 조작조건

성분명	Exact Mass	[M+H] ⁺ ion	Cone Voltage	Product ions	Collision Energy
벤잘코늄클로라이드 C10	311.93	276	20	91	20
				184	20
벤잘코늄클로라이드 C12	339.99	304	20	91	20
				212	20
벤잘코늄클로라이드 C14	368.04	332	20	91	20
				240	20
벤잘코늄클로라이드 C16	396.09	360	20	91	25
				268	20
벤잘코늄클로라이드 C18	424.14	388.3	20	91	20
				296	20
메틸트리옥틸암모늄 클로라이드	404.16	368.45	50	156.20	30
				256.35	30

* 다중반응모니터링(MRM, multiple reaction monitoring)조건은 기기 상태 및 용매 조건에 의해 변경 가능함

라. 크로마토그램



<액체크로마토그래프-질량분석기 크로마토그램>

벤잘코늄클로라이드 C10(3.6분), C12(4.8분), C14(5.9분), C16(6.7분), C18(7.5분) 및 메틸트리옥틸암모늄클로라이드(내부표준물질)(6.1분)

마. 계산식

벤잘코늄클로라이드 C10, C12, C14, C16, C18의 함량(%) = $C \times V / (S \times 10000) \times$ 회석배수

C : 검량선에서 구한 벤잘코늄클로라이드 C10, C12, C14, C16, C18의 농도 ($\mu\text{g/mL}$)

V : 검액의 최종 부피(mL)

S : 검체 채취량(g)

10000 : 단위 환산계수

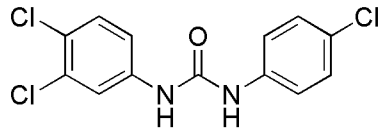
바. 참고문헌

- 1) 의약품 등 시험방법 밸리데이션 가이드라인 해설서(민원인안내서), 식품의약품안전처, 2015.
- 2) 화장품 사용한도 성분 분석법 개발, 식품의약품안전처, 2016
- 3) Dudkiewicz-Wilczynska, J : Application of the HPLC method for benzalkonium chloride determination in aerosol preparations, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 34, 909-920, 2004
- 4) Kummerer, K. : Analysis of benzalkonium chloride in the effluent from European hospitals by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography with post-column ion-pairing and fluorescence detection, *Journal of chromatography*, 774, 281-286, 1997
- 5) Bianca, V. P. : Analysis of benzalkonium chloride by capillary electrophoresis-tandem mass spectrometry, *Electrophoresis*, 27, 2225-2232, 2006

12. 트리클로카반(Triclocarban)

가. 분석물질

- 분자식 : $C_{13}H_9Cl_3N_2O$
- 분자량 : 315.58
- 구조식 :



- CAS 번호 : 101-20-2
- 사용한다 : 0.2 % (다만, 원료 중 3,3',4,4'-테트라클로로아조벤젠 1 ppm 미만, 3,3',4,4'-테트라클로로아족시벤젠 1 ppm 미만 함유하여야 함)

나. 시험방법

검체 약 1 g을 정밀하게 달아 100 mL 용량플라스크에 넣고, 아세토니트릴 50 mL 및 내부표준액 1 mL를 넣고 60분 동안 초음파 진탕하여 검체를 충분히 분산시킨 후 아세토니트릴을 넣어 정확하게 100 mL로 한다. 이 액 1 mL를 정확하게 취하여 10 mL 용량플라스크에 넣고, 아세토니트릴을 넣어 정확하게 10 mL로 하여 멤브레인 필터로 여과한 액을 검액으로 한다. 따로 트리클로카반 표준품 약 10 mg을 정밀하게 달아 100 mL 용량플라스크에 넣고, 아세토니트릴을 넣어 정확하게 100 mL로 하여 표준원액으로 한다(100 μ g/mL). 이 액 각각 0.2, 0.5, 1, 2, 5 및 10 mL를 정확하게 취하여 100 mL 용량플라스크에 넣고, 각각에 내부표준액 0.1 mL를 넣은 후 아세토니트릴을 넣어 정확하게 100 mL로 하여 멤브레인 필터로 여과한 액을 표준액으로 한다.

표준액과 검액을 가지고 다음 조작조건으로 「기능성화장품 기준 및 시험방법」 일반시험법의 액체크로마토그래피법의 내부표준법에 따라 시험한다. 필요한 경우 표준액의 검량선 범위 내에서 검체 채취량 또는 희석배수는 조정할 수 있다.

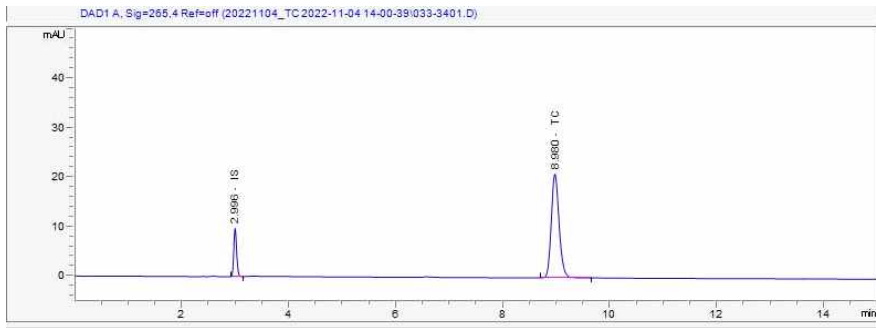
○ 내부표준액 : 카페인 약 10 mg을 정밀하게 달아 메탄올에 녹여 정확하게 10 mL로 한다.

다. 시험조작

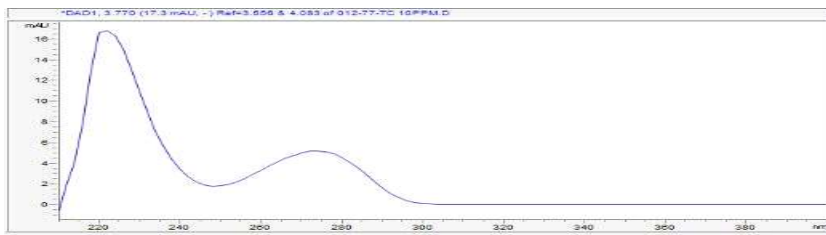
1) 액체크로마토그래피 조작조건

- 가) 칼럼 : Waters, X-bridge C18(25 μ m, 4.6 X 250 mm) 또는 이와 동등 이상의 칼럼
- 나) 칼럼온도 : 25 $^{\circ}$ C
- 다) 이동상 : 3 % 빙초산 용액 : 아세토니트릴(25 : 75)
- 라) 유속 : 0.8 mL/min
- 마) 주입량: 10 μ L
- 바) 검출기(파장) : 자외부흡광광도계(측정파장 265 nm)

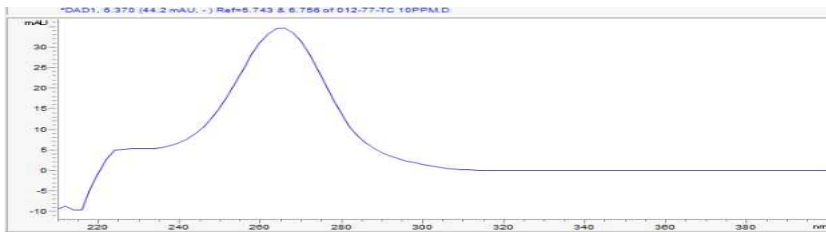
라. 크로마토그램 및 스펙트럼



<액체크로마토그래프 크로마토그램>
카페인(내부표준물질, 2.9분), 트리클로카반(8.9분)



<카페인 스펙트럼>



<트리클로카반 스펙트럼>

마. 계산식

트리클로카반의 함량(%) = $C \times V / (S \times 10000) \times$ 희석배수

C : 검량선에서 구한 트리클로카반의 농도 ($\mu\text{g/mL}$)

V : 검액의 최종 부피(mL)

S : 검체 채취량(g)

10000 : 단위 환산계수

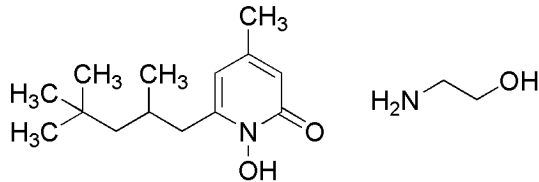
바. 참고문헌

- 1) 의약품 등 시험방법 밸리데이션 가이드라인 해설서(민원인안내서), 식품의약품안전처, 2015.
- 2) 화장품 사용한도 성분 분석법 개발, 식품의약품안전처, 2016
- 3) Shi, Y. : Anaysis of triclosan and triclocarban in human nails using isotopic dillution liquid chromatography-tandem mass spectrimetry, *Journal of Chromatography B*, 934, 97-101, 2013
- 4) Cha, J. : Detection of the antimicrobials triclocarban and triclsan in agricultural soils following land application of municipal biosolids, *Water Tesearch*, 43, 2522-2530, 2009

13. 피록톤올아민(Piroctone olamine)

가. 분석물질

- 분자식 : $C_{16}H_{30}N_2O_3$
- 분자량 : 298.42
- 구조식 :



- CAS 번호 : 68890-66-4
- 사용한도 : 사용 후 씻어내는 제품에 1.0 %
기타 제품에 0.5 %

나. 시험방법

검체 약 0.5 g을 정밀하게 달아 메탄올 50 mL를 넣고 초음파 진탕하여 검체를 충분히 분산시킨다. 여기에 메탄올을 넣어 사용 후 씻어내는 제품은 정확하게 200 mL, 기타제품은 100 mL로 하여 0.45 μ m 이하의 멤브레인 필터로 여과한 액을 검액으로 한다. 따로 피록톤올아민 표준품 약 10 mg을 정밀하게 달아 100 mL 용량플라스크에 넣고 메탄올을 넣어 정확하게 100 mL로 한 액을 표준원액으로 한다(100 μ g/mL). 이 액 각각 2.5, 5, 10, 15, 20 및 25 mL를 정확하게 취하여 메탄올을 넣어 정확하게 50 mL로 하여 0.45 μ m 이하의 멤브레인 필터로 여과한 액을 표준액으로 한다.

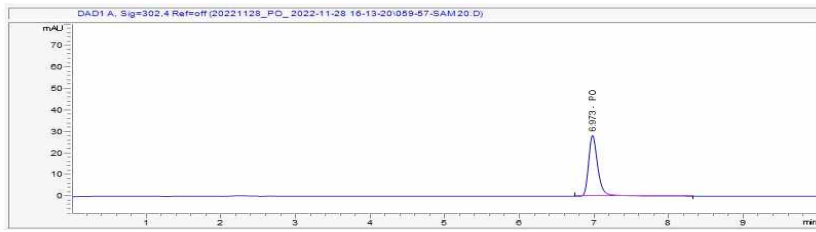
표준액과 검액을 가지고 다음 조작조건으로 「기능성화장품 기준 및 시험방법」 일반시험법의 액체크로마토그래프법 중 절대검량선법에 따라 시험한다. 필요한 경우 표준액의 검량선 범위내에서 검체 채취량과 희석배수를 조정할 수 있다.

다. 시험조작

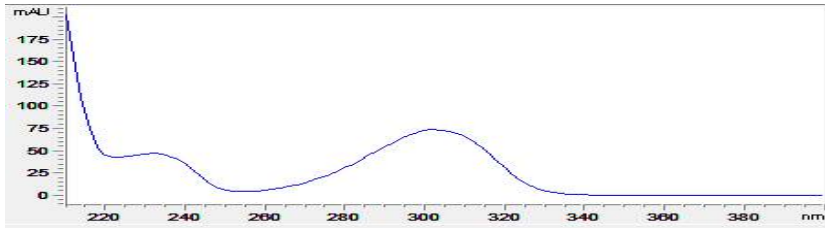
1) 액체크로마토그래피 조작조건

- 가) 칼럼 : C18(5 μ m, 4.6 x 250 mm) 또는 이와 동등 이상의 칼럼
- 나) 칼럼온도 : 35 $^{\circ}$ C
- 다) 이동상 : 아세트니트릴 : 0.02 mol/L 메타인산 · 0.5 mmol/L 디소듐이디티에이 (70 : 30)
- 라) 유속 : 1.0 mL/min
- 마) 주입량 : 10 μ L
- 바) 검출기(파장) : 자외부흡광광도계(측정파장 302 nm)

라. 크로마토그램 및 스펙트럼



<액체크로마토그래프 크로마토그램>
피록톤올아민(6.9분)



<피록톤올아민 스펙트럼>

마. 계산식

피록톤올아민의 함량(%) = $C \times V / (S \times 10000)$

C : 검량선에서 구한 피록톤올아민의 농도 ($\mu\text{g/mL}$)

V : 검액의 최종 부피(mL)

S : 검체 채취량(g)

10000 : 단위 환산계수

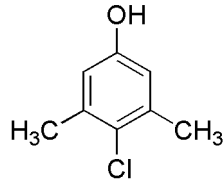
바. 참고문헌

- 1) 의약품 등 시험방법 밸리데이션 가이드라인 해설서, 2015
- 2) Gagliardi, L : HPLC Determination of Ciclopirox, Octopirox, and Pyrithiones in Pharmaceuticals and Antidandruff Preparations, *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologie*, 2365-2373, 1998
- 3) Chao, L : Simultaneous determination of four anti-dandruff agents including octopirox in shampoo products by reversed-phase liquid chromatography, *Journal of Cosmetic Science*, 23, 188,2001

14. 클로로자이레놀(Chloroxylenol)

가. 분석물질

- 분자식 : C_8H_9ClO
- 분자량 : 156.61
- 구조식 :



- CAS 번호 : 88-04-0
- 사용한도 : 0.5 %

나. 시험방법

검체 약 0.2 g을 정밀하게 달아 100 mL 용량플라스크에 넣고, 메탄올 50 mL를 넣어 초음파 진탕하여 검체를 충분히 분산시킨다. 여기에 메탄올을 넣어 정확하게 100 mL로 하고 0.45 μ m 이하의 멤브레인 필터로 여과한 액을 검액으로 한다. 따로 클로로자이레놀 표준품 약 10 mg을 정밀하게 달아 100 mL 용량플라스크에 넣고 메탄올을 넣어 정확하게 100 mL로 하여 표준원액으로 한다(100 μ g/mL). 이 액 각각 0.2, 0.5, 1, 2, 5, 및 10 mL를 정확하게 취하여 메탄올을 넣어 정확하게 100 mL로 하고, 0.45 μ m 이하 멤브레인 필터로 여과한 액을 표준액으로 한다.

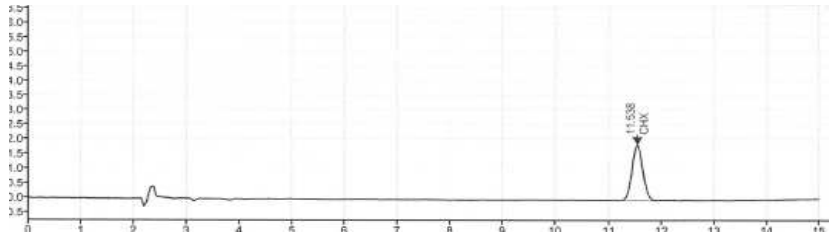
표준액과 검액을 가지고 다음 조작조건으로 「기능성화장품 기준 및 시험방법」 일반시험법의 액체크로마토그래프법 중 절대검량선법에 따라 시험한다. 필요한 경우 표준액의 검량선 범위내에서 검체 채취량과 희석배수를 조정할 수 있다.

다. 시험조작

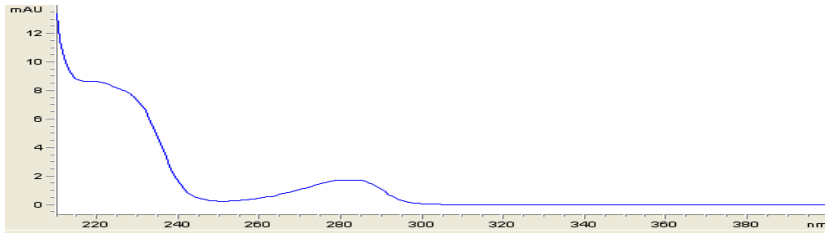
1) 액체크로마토그래프 조작조건

- 가) 칼럼 : C18(5 μ m, 4.6 x 250 mm) 또는 이와 동등 이상의 칼럼
- 나) 칼럼온도 : 25°C
- 다) 이동상 : 70 % 메탄올
- 라) 유속 : 1.0 mL/min
- 마) 주입량 : 10 μ L
- 바) 검출기(파장) : 자외부흡광광도계(측정파장: 280 nm)

라. 크로마토그램 및 스펙트럼



<액체크로마토그래프 크로마토그램>
클로로자이레놀(11.5분)



<클로로자이레놀 스펙트럼>

마. 계산식

$$\text{클로로자이레놀의 함량(\%)} = C \times V / (S \times 10000)$$

C : 검량선에서 구한 클로로자이레놀의 농도 ($\mu\text{g/mL}$)

V : 검액의 최종 부피(mL)

S : 검체 채취량(g)

10000 : 단위 환산계수

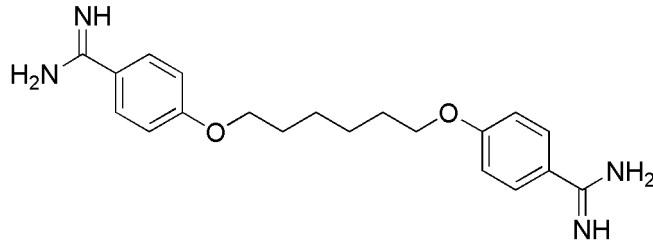
바. 참고문헌

- 1) 의약품 등 시험방법 밸리데이션 가이드라인 해설서, 2015
- 2) Saleem, S : A Simple RP-HPLC Method for the Simultaneous Quantitation of Chlorocresol, Mometasibe Furoate, and Fusidic Acid in Creams, *Journal of Chromatographic Science*, 47(2), 178-183, 2009

15. 헥사미딘(1,6-디(4-아미노페녹시)-n-헥산) 및 그 염류(Hexamidine)

가. 분석물질

- 분자식 : $C_{20}H_{26}N_4O_2$
- 분자량 : 354.45
- 구조식 :



- CAS 번호 : 3811-75-4
- 사용한도 : 헥사미딘으로서 0.1 %

나. 시험방법

검체 약 1 g을 정밀하게 달아 100 mL 용량플라스크에 넣고, 이동상 50 mL를 넣어 초음파 진탕하여 검체를 충분히 분산시킨 다음 이동상을 넣어 정확하게 100 mL로 한다. 이 액 10 mL를 정확하게 취하여 50 mL 용량플라스크에 넣고, 이동상을 넣어 정확하게 50 mL로 한다. 이 액을 3,500 rpm으로 10분간 원심분리 한 뒤 0.45 μ m 이하의 멤브레인 필터로 여과한 액을 검액으로 한다. 따로 헥사미딘 표준품 약 10 mg을 정밀하게 달아 100 mL 용량 플라스크에 넣고 이동상을 넣어 정확하게 100 mL로 하여 표준원액으로 한다(100 μ g/mL). 이 액 각각 0.5, 1, 2, 5 및 10 mL를 각각 정확하게 취하고 이동상을 넣어 정확하게 100 mL로 하여 0.45 μ m 이하 멤브레인 필터로 여과한 액을 표준액으로 한다.

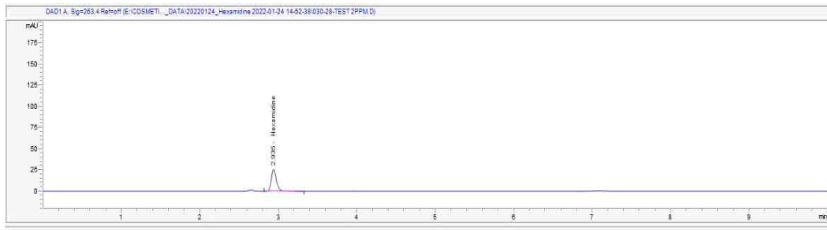
표준액과 검액을 가지고 다음 조작조건으로 「기능성화장품 기준 및 시험방법」 일반시험법의 액체크로마토그래프법 중 절대검량선법에 따라 시험한다. 필요한 경우 표준액의 검량선 범위내에서 검체 채취량과 희석배수를 조정할 수 있다.

다. 시험조작

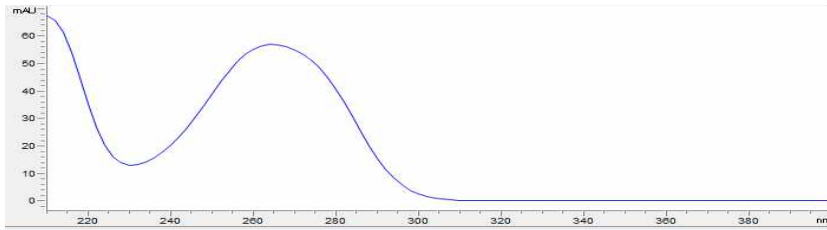
1) 액체크로마토그래프 조작조건

- 가) 칼럼 : C18(5 μ m, 4.6 x 250 mm) 또는 이와 동등 이상의 칼럼
- 나) 칼럼온도 : 40°C
- 다) 이동상 : 0.1 % 인산 용액 : 아세토니트릴(70 : 30)
- 라) 유속 : 0.8 mL/min
- 마) 주입량 : 10 μ L
- 바) 검출기(파장) : 자외부흡광광도계(측정과장: 263 nm)

라. 크로마토그램 및 스펙트럼



<액체크로마토그래프 크로마토그램>
헥사미딘(2.9분)



<헥사미딘 스펙트럼>

마. 계산식

헥사미딘의 함량(%) = $C \times V / (S \times 10000) \times$ 회석배수

C : 검량선에서 구한 헥사미딘의 농도 ($\mu\text{g/mL}$)

V : 검액의 최종 부피(mL)

S : 검체 채취량(g)

10000 : 단위 환산계수

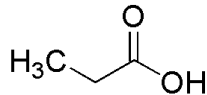
바. 참고문헌

- 1) 의약품 등 시험방법 밸리데이션 가이드라인 해설서, 2015
- 2) Okudzhava, V. M : Simultaneous quantitative determination of hexamidine, phenobarbital, carbamazepine, and diphenine by microroplumn HPLC, *Khimilo-Farmatsevticheskii Zhurnal*, 24(4), 79-80, 1990
- 3) Parisi, N : Preparation and characterisation of hexamidine salts, *International Journal of Pharmaceutics*, 496(1-2), 404-411, 2015

16. 프로피오닉애씨드(Propionic acid)

가. 분석물질

- 분자식 : $C_3H_6O_2$
- 분자량 : 74.08
- 구조식 :



- CAS 번호 : 79-09-4
- 사용한도 : 프로피오닉애씨드로서 0.9 %

나. 시험방법

검체 약 1 g을 정밀하게 달아 100 mL 용량플라스크에 넣고, 희석액 50 mL를 넣어 초음파 진탕하여 검체를 충분히 분산시킨다. 여기에 희석액을 넣어 정확하게 100 mL로 하고, 0.45 μ m 멤브레인 필터로 여과한 액을 검액으로 한다. 따로 프로피오닉애씨드 표준품 약 10 mg을 정밀하게 달아 100 mL 용량플라스크에 넣고 희석액을 넣어 정확하게 100 mL로 하여 표준원액으로 한다(100 μ g/mL). 이 액을 각각 2, 4, 10, 16 mL를 각각 정확하게 취하여 희석액을 넣어 정확하게 20 mL로 하고, 이 액 및 표준원액을 0.45 μ m 이하의 멤브레인 필터로 여과한 액을 표준액으로 한다.

표준액과 검액을 가지고 다음 조작조건으로 기체크로마토그래프-질량분석기로 시험한다. 필요한 경우 표준액의 검량선 범위내에서 검체 채취량과 희석배수를 조정할 수 있다.

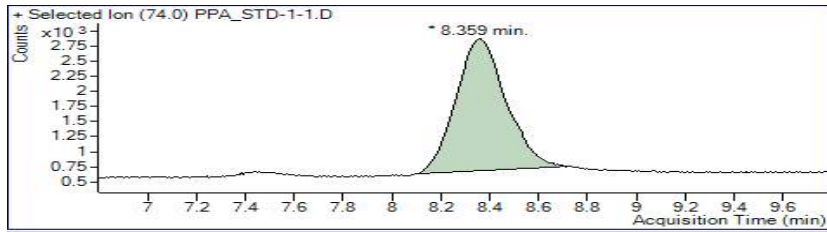
○ 희석액 : 디클로로메탄 : 아세트산무수물(1000 : 1)

다. 시험조작

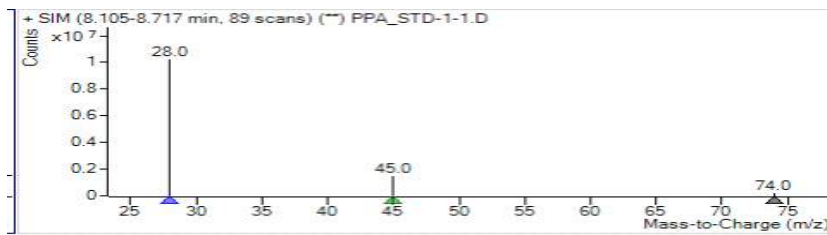
1) 기체크로마토그래프-질량분석기 조작조건

- 가) 칼럼 : Agilent, DB-WAX(0.5 μ m, 0.32 mm x 60 m) 또는 이와 동등 이상의 칼럼
- 나) 오븐온도 : 180 $^{\circ}$ C
- 다) 검체 주입부 온도 : 220 $^{\circ}$ C
- 라) 주입모드 : 스플릿(10 : 1)
- 마) 운반기체 및 유량 : 헬륨(1.0 mL/분)
- 바) 검출기 : 질량분석기
- 사) 인터페이스 온도 : 230 $^{\circ}$ C
- 아) 이온소스 온도 : 230 $^{\circ}$ C
- 자) 분석시간 : 8분
- 차) 질량분석기모드 : 선택이온(SIM)모드(74.00, 28.00, 45.00 m/z)

라. 크로마토그램 및 스펙트럼



<기체크로마토그래프-질량분석기 크로마토그램>
프로피오닉애씨드(8.3분)



<프로피오닉애씨드 질량스펙트럼>

마. 계산식

프로피오닉애씨드의 함량(%) = $C \times V / (S \times 10000)$

C : 검량선에서 구한 프로피오닉애씨드의 농도 ($\mu\text{g/mL}$)

V : 검액의 최종 부피(mL)

S : 검체 채취량(g)

10000 : 단위 환산계수

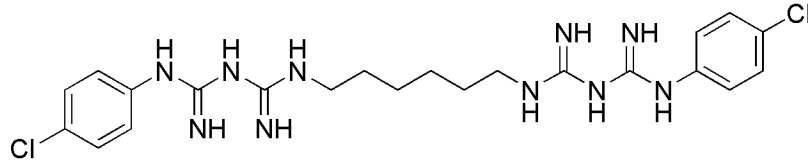
바. 참고문헌

- 1) 의약품 등 시험방법 밸리데이션 가이드라인 해설서, 2015
- 2) De' prez, S: Polymeric Proanthocyanidins Are Catabolized by Human Colonic Microflora into Low-Molecular-Weight Phenolic Acids, *The journal of nutrition*, 130(11). 2733-2738,2000
- 3) Khaldun, M: Determination of propionates and propionic acid in bakery products using gas chromatography, *Journal of International Food Research*, 17(4), 1107-1112, 2010

17. 클로헥시딘(Chlorhexidine)

가. 분석물질

- 분자식 : $C_{22}H_{30}Cl_2N_{10}$
- 분자량 : 505.45
- 구조식 :



- CAS 번호 : 55-56-1
- 사용한다 : 점막에 사용하지 않고 씻어내는 제품에 클로헥시딘으로서 0.1 %, 기타 제품에 클로헥시딘으로서 0.05 %

나. 시험방법

검체 약 0.5 g을 정밀하게 달아 50 mL 용량플라스크에 넣고 이동상 적당량을 넣어 초음파 진탕하여 검체를 충분히 분산시킨다. 여기에 이동상을 넣어 정확하게 50 mL로 한 후 0.2 μ m 멤브레인 필터로 여과한 액을 검액으로 한다. 따로 클로헥시딘 표준품 약 10 mg을 정밀하게 달아 10 mL 용량플라스크에 넣고 이동상을 넣어 정확하게 10 mL로 한 액을 표준원액으로 한다(1000 μ g/mL). 이 액 각각 1, 2, 5, 10 및 20 μ g/mL이 되도록 이동상으로 희석하여 0.2 μ m 멤브레인 필터로 여과한 액을 표준액으로 한다.

표준액과 검액을 가지고 다음 조작조건으로 「기능성화장품 기준 및 시험방법」 일반시험법의 액체크로마토그래프법 중 절대검량선법에 따라 시험한다. 필요한 경우 표준액의 검량선 범위내에서 검체 채취량과 희석배수를 조정할 수 있다.

다. 시험조작

1) 액체크로마토그래프 조작조건

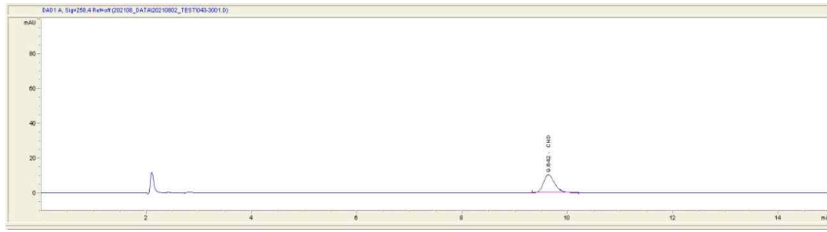
- 가) 칼럼 : C18(5 μ m, 4.6 x 250 mm) 또는 이와 동등 이상의 칼럼
- 나) 칼럼온도 : 40°C
- 다) 이동상 : A : B(70 : 30)

· A : 정제수 1000 mL에 제1인산나트륨무수물 13.8 g 및 트리에틸아민 10 mL을 넣고, 인산으로 pH 3.0이 되도록 조정한다.

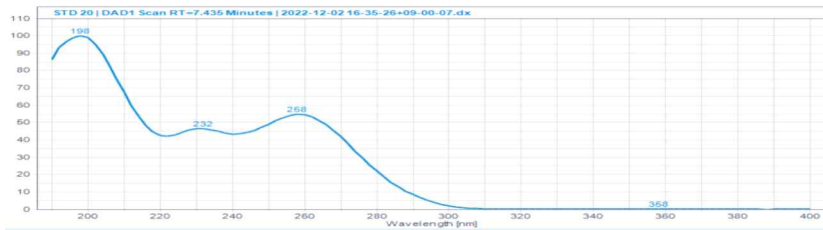
· B : 아세트니트릴

- 라) 유속 : 1.0 mL/min
- 마) 주입량 : 10 μ L
- 바) 검출기(과장) : 자외부흡광광도계(측정과장 258 nm)

라. 크로마토그램 및 스펙트럼



<액체크로마토그래프 크로마토그램>
클로헥시딘(9.6분)



<클로헥시딘 스펙트럼>

마. 계산식

$$\text{클로헥시딘의 함량(\%)} = C \times V / (S \times 10000)$$

C : 검량선에서 구한 클로헥시딘의 농도 ($\mu\text{g/mL}$)

V : 검액의 최종 부피(mL)

S : 검체 채취량(g)

10000 : 단위 환산계수

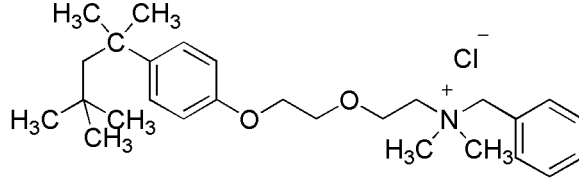
바. 참고문헌

- 1) 의약품 등 시험방법 밸리데이션 가이드라인 해설서, 2015
- 2) Havlikova, L : HPLC determination of chlorhexidine gluconate and p-chloroaniline in topical ointment, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 43(3), 1169-1173, 2007
- 3) Nicolay, A : Rapid HPLC Method for Determination of Parachloroaniline in chlorhexidine Antiseptic Agent in Mouthrinses, Ophthalmic and Skin Solution, *American Journal of Analytical Chemistry*, 2(4), 422-428, 2011

18. 벤제토늄클로라이드 (Benzethonium chloride)

가. 분석물질

- 분자식 : C₂₇H₄₂ClNO₂
- 분자량 : 448.08
- 구조식 :



- CAS 번호 : 121-54-0
- 사용한도 : 0.1 %
점막에 사용되는 제품에는 사용금지

나. 시험방법

검체 약 1 g을 정밀하게 달아 100 mL 용량플라스크에 넣고 이동상을 적당량 넣어 초음파 진탕하여 검체를 충분히 분산시킨다. 여기에 이동상을 넣어 정확하게 100 mL로 하고 0.2 μm 멤브레인 필터로 여과한 액을 검액으로 한다. 따로 벤제토늄클로라이드 표준품 약 10 mg을 정밀하게 달아 100 mL 용량플라스크에 넣고 이동상을 넣어 정확하게 100 mL로 하여 표준 원액으로 한다(100 μg/mL). 이 액을 각각 1, 2, 5, 10, 20 μg/mL이 되도록 이동상으로 희석하고 0.2 μm 멤브레인 필터로 여과한 액을 표준액으로 한다.

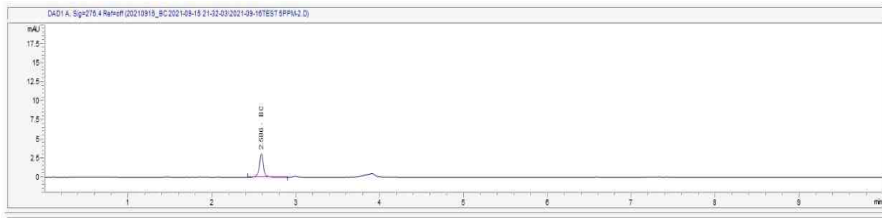
표준액과 검액을 가지고 다음 조작조건으로 「기능성화장품 기준 및 시험방법」 일반시험법의 액체크로마토그래프법 중 절대검량선법에 따라 시험한다. 필요한 경우 표준액의 검량선 범위내에서 검체 채취량과 희석배수를 조정할 수 있다.

다. 시험조작

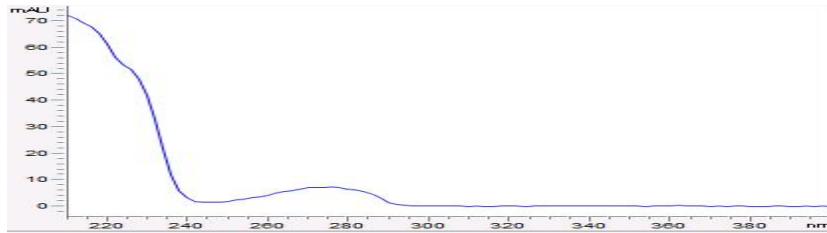
1) 액체크로마토그래프 조작조건

- 가) 칼럼 : Waters, X-bridge HILIC(5 μm, 4.6 x 250 mm) 또는 이와 동등 이상의 칼럼
- 나) 칼럼온도 : 40℃
- 다) 이동상 : 0.1 % 아세트산 함유 용액 : 0.1 % 아세트산 함유 아세토니트릴(70 : 30)
- 라) 유속 : 0.8 mL/min
- 마) 주입량 : 10 μL
- 바) 검출기(파장) : 자외부흡광광도계(측정파장: 275 nm)

라. 크로마토그램 및 스펙트럼



<액체크로마토그래프 크로마토그램>
벤제토늄클로라이드(2.5분)



<벤제토늄클로라이드 스펙트럼>

마. 계산식

$$\text{벤제토늄클로라이드의 함량(\%)} = C \times V / (S \times 10000)$$

C : 검량선에서 구한 벤제토늄클로라이드의 농도 ($\mu\text{g/mL}$)

V : 검액의 최종 부피(mL)

S : 검체 채취량(g)

10000 : 단위 환산계수

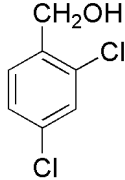
바. 참고문헌

- 1) 의약품 등 시험방법 밸리데이션 가이드라인 해설서, 식품의약품안전처, 2015.
- 2) Avula. B, Simultaneous identification and quantification by liquid chromatography of benzethonium chloride, methyl paraben and triclosan in commercial products labeled as grapefruit seed extract, Phamazie, 62(8), 593-596, 2007
- 3) Gary Takeoka, Lan Dao, Identification of Benzethonium Chloride in Commercial Grapefruit Seed Extracts, J. Agric. Food Chem, 49(7), 3316-3320, 2001
- 4) Hsiaoling, W, Determination of benzethonium chloride in anthrax vaccine adsorbed by HPLC, Biologicals, 34(4), 257-263, 2006

19. 2,4-디클로로벤질알코올(2,4-Dichlorobenzyl alcohol)

가. 분석물질

- 분자식 : $C_7H_6Cl_2O$
- 분자량 : 177.03
- 구조식 :



- CAS 번호 : 1777-82-8
- 사용한도 : 0.15 %

나. 시험방법

검체 약 1 g을 정밀하게 달아 100 mL 용량플라스크에 넣고 아세토니트릴 적당량을 넣어 초음파 진탕하여 검체를 충분히 분산시킨다. 여기에 아세토니트릴을 넣어 정확하게 100 mL로 하고 0.2 μ m 멤브레인 필터로 여과한 액을 검액으로 한다. 따로 2,4-디클로로벤질알코올 표준품 약 10 mg을 정밀하게 달아 100 mL 용량플라스크에 넣고 아세토니트릴을 넣어 정확하게 100 mL로 하여 표준원액으로 한다(100 μ g/mL). 이 액을 각각 1, 2, 5, 10, 20 μ g/mL이 되도록 아세토니트릴로 희석하고 0.2 μ m 멤브레인 필터로 여과한 액을 표준액으로 한다.

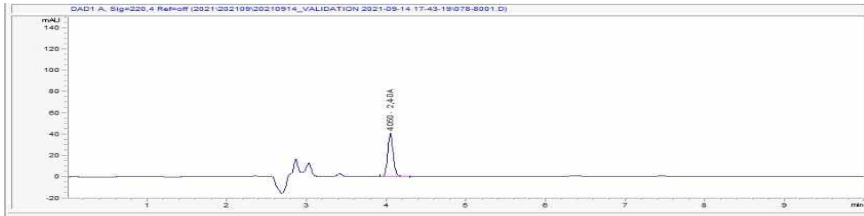
표준액과 검액을 가지고 다음 조작조건으로 「기능성화장품 기준 및 시험방법」 일반시험법의 액체크로마토그래프법 중 절대검량선법에 따라 시험한다. 필요한 경우 표준액의 검량선 범위내에서 검체 채취량과 희석배수를 조정할 수 있다.

다. 시험조작

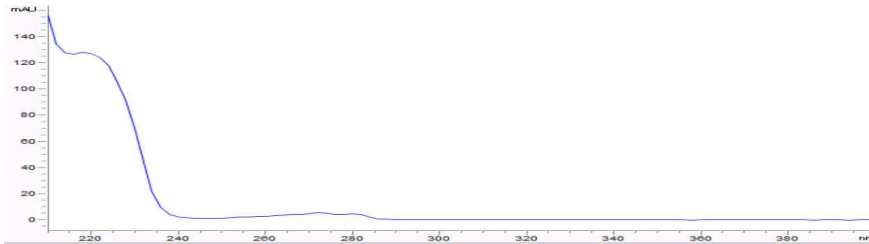
1) 액체크로마토그래프 조작조건

- 가) 칼럼 : C18(5 μ m, 4.6 x 250 mm) 또는 이와 동등 이상의 칼럼
- 나) 칼럼온도 : 30°C
- 다) 이동상 : 20 mmol/L 아세트산암모늄 용액 : 아세토니트릴(15 : 85)
- 라) 유속 : 0.8 mL/min
- 마) 주입량 : 10 μ L
- 바) 검출기(파장) : 자외부흡광광도계(측정파장: 220 nm)

라. 크로마토그램 및 스펙트럼



<액체크로마토그래프 크로마토그램>
2,4-디클로로벤질알코올(4.0분)



2,4-디클로로벤질알코올 스펙트럼

마. 계산식

$$2,4\text{-디클로로벤질알코올의 함량(\%)} = C \times V / (S \times 10000)$$

C : 검량선에서구한 2,4-디클로로벤질알코올의 농도 ($\mu\text{g/mL}$)

V : 검액의 최종 부피(mL)

S : 검체 채취량(g)

10000 : 단위 환산계수

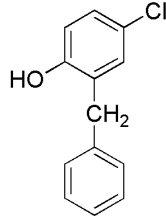
바. 참고문헌

- 1) 의약품 등 시험방법 밸리데이션 가이드라인 해설서, 식품의약품안전처, 2015
- 2) Nandan Kumar, D : Improved Analytical Method for Dichlorobenzaldehyde Impurity Detection In Lozenges by Convergence Chromatography, *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Health Care*, vol 10(1), 21-29, 2018
- 3) Freeke, J. A : HPLC Analysis of Twenty One Preservative Compounds Found in Cosmetics Using a Thermo Scientific Hypersil GOLD Phenyl Column, Thermo scientific, 2011

20. 클로로펜(Chlorophene)

가. 분석물질

- 분자식 : $C_{13}H_{11}ClO$
- 분자량 : 218.68
- 구조식 :



- CAS 번호 : 120-32-1
- 사용한도 : 0.05 %

나. 시험방법

검체 약 0.5 g을 정밀하게 달아 50 mL 용량플라스크에 넣고 메탄올 적당량을 넣어 초음파 진탕하여 검체를 충분히 분산시킨다. 여기에 메탄올을 넣어 정확하게 50 mL로 하고 0.2 μ m 멤브레인 필터로 여과한 액을 검액으로 한다. 따로 클로로펜 표준품을 약 100 mg을 정밀하게 달아 100 mL용량 플라스크에 넣고 메탄올을 넣어 정확하게 100 mL로 하여 표준원액으로 한다(1000 μ g/mL). 이 액을 각각 10, 20, 50, 100, 200 μ g/mL이 되도록 메탄올로 희석하여 0.2 μ m 멤브레인 필터로 여과한 액을 표준액으로 한다.

표준액과 검액을 가지고 다음 조작조건으로 「기능성화장품 기준 및 시험방법」 일반시험법의 액체크로마토그래프법 중 절대검량선법에 따라 시험한다. 필요한 경우 표준액의 검량선 범위내에서 검체 채취량과 희석배수를 조정할 수 있다.

다. 시험조작

1) 액체크로마토그래프 조작조건

- 가) 칼럼 : C18(3 μ m, 4.6 x 100 mm) 또는 이와 동등 이상의 칼럼
- 나) 칼럼온도 : 55°C
- 다) 이동상 : (A) 0.1 % 포름산 용액
(B) 메탄올

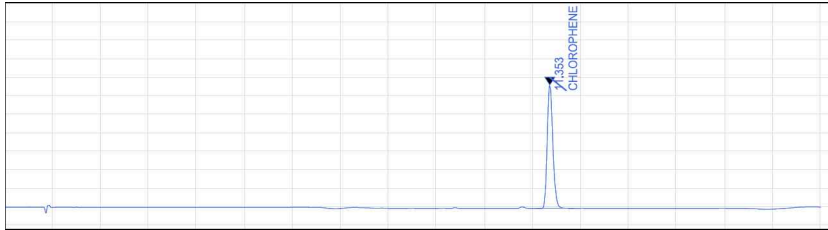
시간	A (%)	B (%)
0	80	20
5	80	20
5.5	30	70
14	30	70
15	80	20
17	80	20

- 라) 유속 : 1.2 mL/min

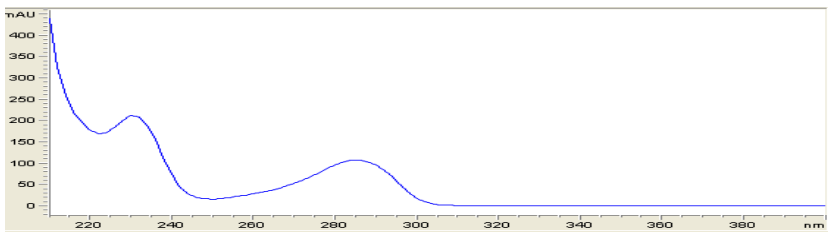
마) 주입량 : 10 μ L

바) 검출기(파장) : 자외부흡광광도계(측정파장: 282 nm)

라. 크로마토그램 및 스펙트럼



<액체크로마토그래프 크로마토그램>
클로로펜(11.4분)



<클로로펜 스펙트럼>

마. 계산식

$$\text{클로로펜의 함량(\%)} = C \times V / (S \times 10000)$$

C : 검량선에서 구한 클로로펜의 농도 (μ g/mL)

V : 검액의 최종 부피(mL)

S : 검체 채취량(g)

10000 : 단위 환산계수

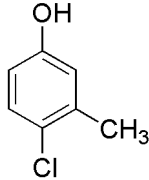
바. 참고문헌

- 1) 의약품 등 시험방법 밸리데이션 가이드라인 해설서 (2015.12., 식품의약품안전처)
- 2) T. Wu, C. Wang, X. Wang, Q. Ma. : Simultaneous determination of 21 Preservatives in Cosmetics by Ultra Performance Liquid Chromatography, *International Journal of Cosmetic Science*, 30, 367-372, 2008
- 3) Richard D. Thompson : Determination of Phenolic Disinfectant Agents in Commercial Formulations by Liquid Chromatography, *Journal of AOAC International*, 84(3), 815-822, 2001

21. *p*-클로로-*m*-크레졸(*p*-Chloro-*m*-cresol)

가. 분석물질

- 분자식 : C₇H₇ClO
- 분자량 : 142.58
- 구조식 :



- CAS 번호 : 59-50-7
- 사용한도 : 0.04 %

점막에 사용되는 제품에는 사용금지

나. 시험방법

검체 약 0.5 g을 정밀하게 달아 50 mL 용량플라스크에 넣고 메탄올 적당량을 넣어 초음파 진탕하여 검체를 충분히 분산시킨다. 여기에 메탄올을 넣어 정확하게 50 mL로 하고 0.2 μm 멤브레인 필터로 여과한 액을 검액으로 한다. 따로 *p*-클로로-*m*-크레졸 표준품을 약 100 mg을 정밀하게 달아 100 mL 용량플라스크에 넣고 메탄올을 넣어 정확하게 100 mL로 하여 표준 원액으로 한다 (1000 μg/mL). 이 액을 각각 2, 5, 10, 20, 50, 100 μg/mL이 되도록 메탄올로 희석하여 0.2 μm 멤브레인 필터로 여과한 액을 표준액으로 한다.

표준액과 검액을 가지고 다음 조작조건으로 「기능성화장품 기준 및 시험방법」 일반시험법의 액체크로마토그래프법 중 절대검량선법에 따라 시험한다. 필요한 경우 표준액의 검량선 범위내에서 검체 채취량과 희석배수를 조정할 수 있다.

다. 시험조작

1) 액체크로마토그래프 조작조건

- 가) 칼럼 : C18(5 μm, 4.6 x 250 mm) 또는 이와 동등 이상의 칼럼
- 나) 칼럼온도 : 30°C
- 다) 이동상 : (A) 0.1% 포름산 용액
(B) 메탄올

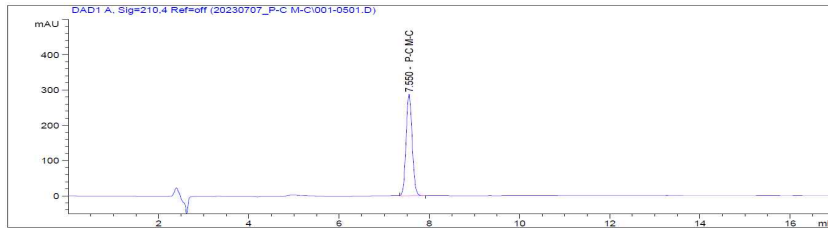
시간	A (%)	B (%)
0	80	20
5	80	20
5.5	30	70
14	30	70
15	80	20
17	80	20

라) 유속 : 1.0 mL/min

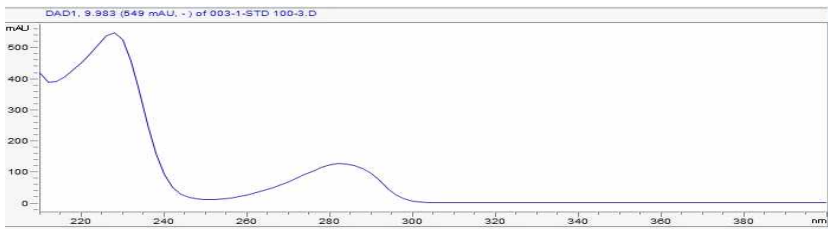
마) 주입량: 10 μ L

바) 검출기(파장): 자외부흡광광도계(측정파장: 210 nm)

라. 크로마토그램 및 스펙트럼



<액체크로마토그램 크로마토그램>
p-클로로-*m*-크레졸(7.5분)



<*p*-클로로-*m*-크레졸 스펙트럼>

마. 계산식

$$p\text{-클로로-}m\text{-크레졸의 함량(\%)} = C \times V / (S \times 10000)$$

C : 검량선에서 구한 *p*-클로로-*m*-크레졸의 농도 (μ g/mL)

V : 검액의 최종 부피(mL)

S : 검체 채취량(g)

10000 : 단위 환산계수

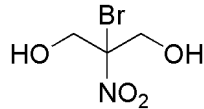
바. 참고문헌

- 1) 의약품 등 시험방법 밸리데이션 가이드라인 해설서, 식품의약품안전처, 2015.
- 2) T. Wu, C. Wang, X. Wang, Q. Ma. : Simultaneous Determination of 21 Preservatives in Cosmetics by Ultra Performance Liquid Chromatography, *International Journal of Cosmetic Science*, 30, 367-372, 2008
- 3) Cheng Zhong, Man He, Huaping Liao, Beibei Chen, Cheng Wang, Bin Hu: Polydimethylsiloxane /Covalent Triazine Frameworks Coated Stir Bar Sorptive Extraction Coupled with High Performance Liquid Chromatography-Ultraviolet Detection for the Determination of Phenols in Environmental Water Samples, *Journal of Chromatography A*, 1483, 40-47, 2017

22. 2-브로모-2-나이트로프로판-1,3-디올(2-Bromo-2-nitropropane-1,3-Diol)

가. 분석물질

- 이명 : 브로노플
- 분자식 : $C_3H_6BrNO_4$
- 분자량 : 199.99
- 구조식 :



- CAS 번호 : 52-51-7
- 사용한도 : 0.1 %

아민류나 아마이드류를 함유하고 있는 제품에는 사용금지

나. 시험방법

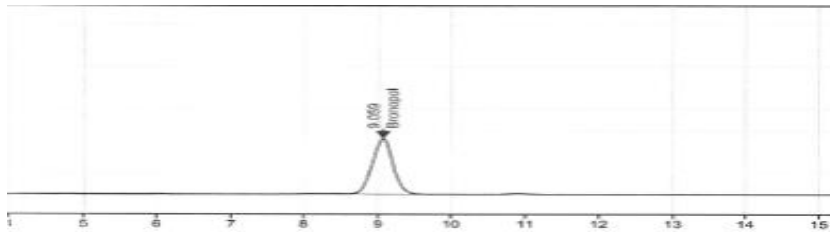
검체 약 0.5 g을 정밀하게 달아 10 mL 용량플라스크에 넣고 메탄올 적당량을 넣어 초음파 진탕하여 검체를 충분히 분산시킨 다음 메탄올을 넣어 정확하게 10 mL로 하고, 0.45 μ m 멤브레인 필터로 여과한 액을 검액으로 한다. 필요한 경우 여과 전 원심분리 등을 할 수 있다. 따로 2-브로모-2-나이트로프로판-1,3-디올 표준품 10 mg을 정밀하게 달아 10 mL 용량플라스크에 넣고 메탄올을 넣어 정확하게 10 mL로 하여 표준원액으로 한다(1000 μ g/mL). 이 액을 각각 2.5, 5, 10, 20, 40, 60, 100 μ g/mL이 되도록 메탄올로 희석하여 0.45 μ m 멤브레인 필터로 여과한 액을 표준액으로 한다.

표준액과 검액을 가지고 다음 조작조건으로 「기능성화장품 기준 및 시험방법」 일반시험법의 액체크로마토그래프법 중 절대검량선법에 따라 시험한다. 필요한 경우 표준액의 검량선 범위내에서 검체 채취량과 희석배수를 조정할 수 있다.

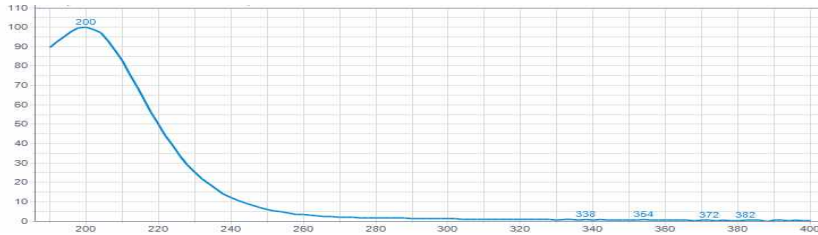
다. 시험조작

- 1) 액체크로마토그래프 조작조건
 - 가) 칼럼 : C18(5 μ m, 4.6 x 250 mm) 또는 이와 동등 이상의 칼럼
 - 나) 칼럼온도 : 30°C
 - 다) 이동상 : 메탄올 : 정제수 : 오르토인산(5 : 95 : 0.1)
 - 라) 유속 : 1.0 mL/min
 - 마) 주입량 : 10 μ L
 - 바) 검출기(과장) : 자외부흡광광도계(측정과장: 210 nm)

라. 크로마토그램 및 스펙트럼



<액체크로마토그래피 크로마토그램>
2-브로모-2-나이트로프로판-1,3-디올(9.0분)



<2-브로모-2-나이트로프로판-1,3-디올 스펙트럼>

마. 계산식

$$2\text{-브로모-2-나이트로프로판-1,3-디올의 함량(\%)} = C \times V / (S \times 10000)$$

C : 검량선에서 구한 2-브로모-2-나이트로프로판-1,3-디올의 함량의 농도 ($\mu\text{g/mL}$)

V : 검액의 최종 부피(mL)

S : 검체 채취량(g)

10000 : 단위 환산계수

바. 참고문헌

- 1) 의약품 등 시험방법 밸리데이션 가이드라인 해설서, 식품의약품안전처, 2015
- 2) Huafu Wang, Gordon J. Provan, Keith Helliwell : Determination of bronopol and its degradation products by HPLC, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 29, 387-392, 2002

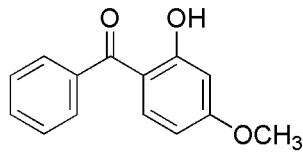
III. 자외선차단제

1. 벤조페논-3, 에칠헥실디메틸파바, 부틸메톡시디벤조일메탄, 에칠헥실메톡시신나메이트, 에칠헥실살리실레이트의 동시분석

가. 분석물질

1) 벤조페논-3(옥시벤존)(Benzophenone-3)

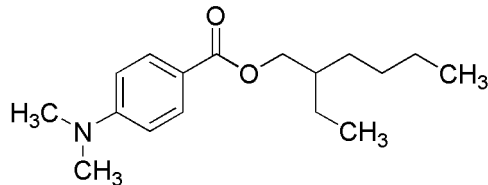
- 분자식 : $C_{14}H_{12}O_3$
- 분자량 : 228.24
- 구조식 :



- CAS 번호 : 131-57-7
- 사용한도 : 5 %

2) 에칠헥실디메틸파바(Ethylhexyl Dimethyl PABA)

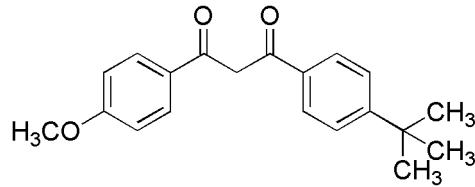
- 분자식 : $C_{17}H_{27}NO_2$
- 분자량 : 277.40
- 구조식 :



- CAS 번호 : 21245-02-3
- 사용한도 : 8 %

3) 부틸메톡시디벤조일메탄(Butyl Methoxydibenzoylmethane)

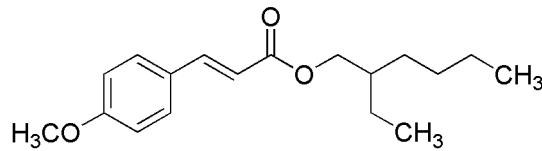
- 분자식 : $C_{20}H_{22}O_3$
- 분자량 : 310.39
- 구조식 :



- CAS 번호 : 70356-09-1
- 사용한도 : 5 %

4) 에칠헥실메톡시신나메이트(Ethylhexyl Methoxycinnamate)

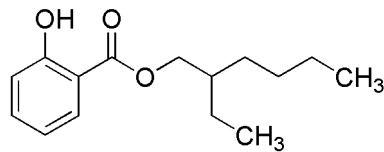
- 분자식 : $C_{18}H_{26}O_3$
- 분자량 : 290.40
- 구조식 :



- CAS 번호 : 5466-77-3
- 사용한도 : 7.5 %

5) 에칠헥실살리실레이트(Ethylhexyl Salicylate)

- 분자식 : $C_{15}H_{22}O_3$
- 분자량 : 250.33
- 구조식 :



- CAS 번호 : 118-60-5
- 사용한도 : 5 %

나. 시험방법

검체 약 1 g을 정밀하게 달아 100 mL 용량플라스크에 넣고, 메탄올 50 mL을 넣어 초음파 진탕하여 검체를 충분히 분산시킨 후 메탄올을 넣어 정확하게 100 mL로 한다. 이 액 10 mL를 정확하게 취하여 50 mL 용량플라스크에 넣고, 내부표준액 5 mL 및 메탄올을 넣어 정확하게 50 mL로 한다. 이 액을 0.2 μ m 멤브레인 필터로 여과한 액을 검액으로 한다. 따로 벤조페논-3, 에칠헥실디메틸파바, 에칠헥실메톡시신나메이트, 부틸메톡시디벤조일메탄, 에칠헥실살리실레이트 표준품 100 mg을 각각 정밀하게 달아 100 mL 용량플라스크에 넣고 테트라하이드로퓨란을 넣어 정확하게 100 mL로 하여 각각의 표준원액으로 한다. 이 액 1, 2, 3, 4 및 5 mL를 각각 정확하게 취하여 50 mL 용량플라스크에 넣고, 내부표준액 5 mL 및 메탄올을 넣어 정확하게 50 mL로 한 액을 표준액으로 한다.

표준액과 검액을 가지고 다음 조작조건으로 「기능성화장품 기준 및 시험방법」 일반시험법의 액체 크로마토그래프법의 내부표준법에 따라 시험한다. 필요한 경우 표준액의 검량선 범위 내에서 검체 채취량 또는 희석배수는 조정할 수 있다.

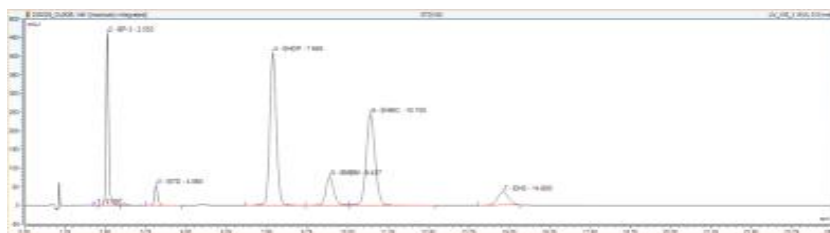
- 내부표준액 : 안트라센 표준품 100 mg을 100 mL 용량플라스크에 넣고 테트라하이드로퓨란에 넣어 녹여 정확하게 100 mL로 한 액을 내부표준액으로 한다.

다. 시험조작

1) 액체크로마토그래프법 조작조건

- 가) 칼럼 : Waters, Nova-Pak C18(4 μ m, 3.9 mm \times 150 mm) 또는 이와 동등 이상의 칼럼
- 나) 칼럼온도 : 25 $^{\circ}$ C
- 다) 이동상 : 테트라하이드로퓨란 : 메탄올 : 정제수(7 : 5 : 8)
- 라) 유속 : 1.0 mL/min
- 마) 주입량 : 10 μ L
- 바) 검출기(과장) : 자외부흡광광도계(측정과장 313 nm)

라. 크로마토그램 및 스펙트럼

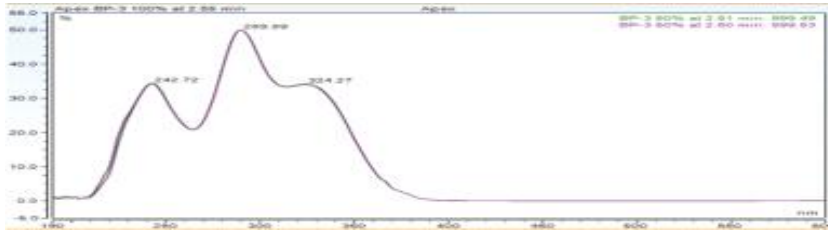


<액체크로마토그래프 크로마토그램>

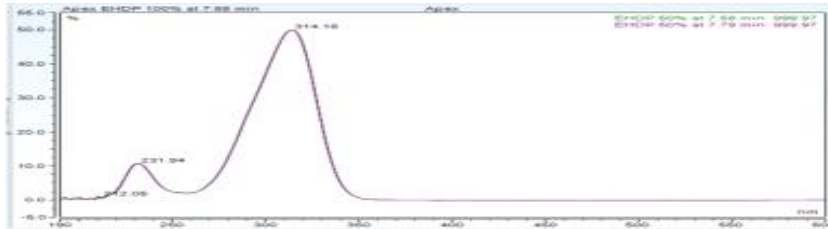
벤조페논-3(2.5분), 에칠헥실디메틸파바(7.8분),

부틸메톡시디벤조일메탄(9.4분),

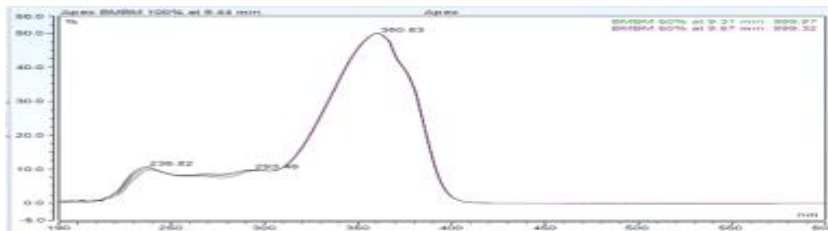
에칠헥실메톡시신나메이트(10.7분), 에칠헥실살리실레이트(14.8분)



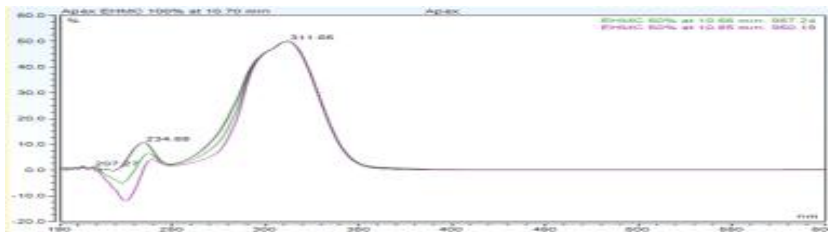
<벤조페논-3 스펙트럼>



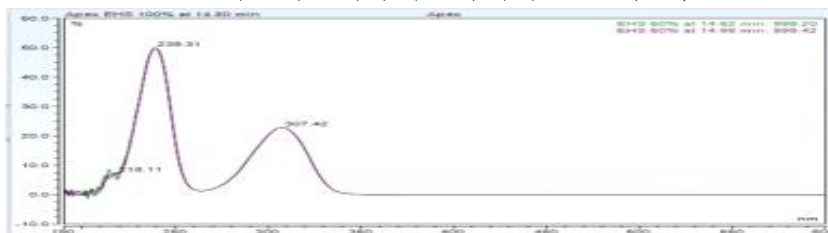
<에칠헥실디메칠파바 스펙트럼>



<부틸메톡시디벤조일메탄 스펙트럼>



<에칠헥실메톡시신나메이트 스펙트럼>



<에칠헥실살리실레이트 스펙트럼>

마. 계산식

각 성분의 함량(%) = $C \times V / (S \times 10000) \times \text{희석배수}$

C : 검량선에서 구한 각 성분의 농도 ($\mu\text{g/mL}$)

V : 검액의 최종부피 (mL)

S : 검체 채취량 (g)

10000 : 단위 환산계수

바. 참고문헌

- 1) Chisvert, A., Salvador, A. : Determination of water-soluble UV-filters in sunscreen sprays by liquid chromatography, *J. Chromatogr. A*, 977(2), 277-280, 2002
- 2) Schakel, D. J. , Kalsbeek, D., Boer. K. : Determination of sixteen UV filters in suncare formulations by high-performance liquid chromatography, *J. Chromatogr. A*, 1049(1-2), 127-130, 2004
- 3) Dencausse, L., Galland, A., Clamou, J. L., Basso, J. : Validation of HPLC method for quantitative determination of Tinosorb S and three other sunscreens in a high protection cosmetic product, *Int. J. Cosmet. Sci.*, 30(5), 373-382, 2008
- 4) Lee, S. M., Jeong, H. J., Chang, I. S. : Determination and validation of six sunscreen agents in suncare products by UPLC and HPLC., *J. Cosmet. Sci.*, 59, 469-480, 2008

2. 이소아밀-*p*-메톡시신나메이트, 4-메틸벤질리덴캠퍼, 에칠헥실메톡시신나메이트, 부틸메톡시디벤조일메탄, 에칠헥실살리실레이트, 에칠헥실디메칠파바의 동시분석

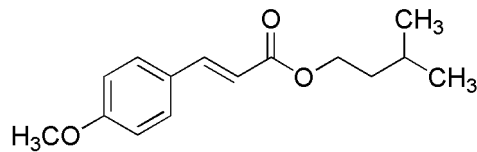
가. 분석물질

1) 이소아밀-*p*-메톡시신나메이트(Isoamyl 4-Methoxycinnamate)

- 분자식 : C₁₅H₂₀O₃

- 분자량 : 248.32

- 구조식 :



- CAS 번호 : 71617-10-2

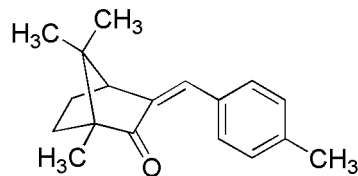
- 사용한도 : 10 %

2) 4-메틸벤질리덴캠퍼(4-Methylbenzylidene Camphor)

- 분자식 : C₁₈H₂₂O

- 분자량 : 254.37

- 구조식 :



- CAS 번호 : 36861-47-9

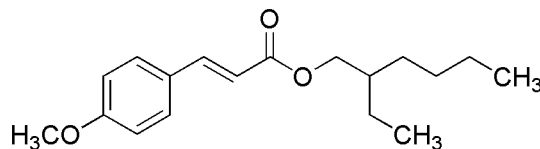
- 사용한도 : 4 %

3) 에칠헥실메톡시신나메이트(Ethylhexyl Methoxycinnamate)

- 분자식 : C₁₈H₂₆O₃

- 분자량 : 290.40

- 구조식 :



- CAS 번호 : 5466-77-3

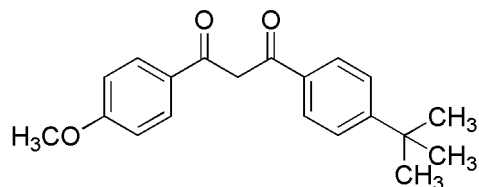
- 사용한도 : 7.5 %

4) 부틸메톡시디벤조일메탄(Butyl Methoxydibenzoylmethane)

- 분자식 : $C_{20}H_{22}O_3$

- 분자량 : 310.39

- 구조식 :



- CAS 번호 : 70356-09-1

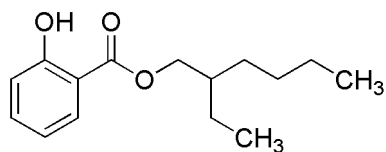
- 사용한도 : 5 %

5) 에칠헥실살리실레이트(Ethylhexyl Salicylate)

- 분자식 : $C_{15}H_{22}O_3$

- 분자량 : 250.33

- 구조식 :



- CAS 번호 : 118-60-5

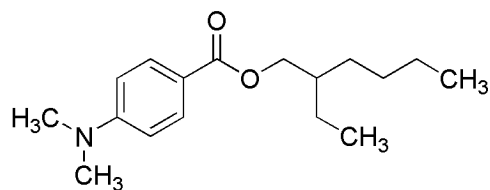
- 사용한도 : 5 %

6) 에칠헥실디메틸파마(Ethylhexyl Dimethyl PABA)

- 분자식 : $C_{17}H_{27}NO_2$

- 분자량 : 277.40

- 구조식 :



- CAS 번호 : 21245-02-3

- 사용한도 : 8 %

나. 시험방법

검체 약 1 g을 정밀하게 달아 100 mL 용량플라스크에 넣고, 메탄올 50 mL를 넣어 초음파 진탕하여 검체를 충분히 분산시킨 다음 메탄올을 넣어 정확하게 100 mL로 한다. 이 액 10 mL를 정확하게 취하여 50 mL 용량플라스크에 넣고, 메탄올을 넣어 정확하게 50 mL로 하여 멤브레인 필터로 여과한 액을 검액으로 한다. 따로 이소아밀-*p*-메톡시신나메이트, 4-메칠 벤질리덴캄퍼, 에칠헥실메톡시신나메이트, 부틸메톡시디벤조일메탄, 에칠헥실살리실레이트, 에칠헥실디메칠파바 표준품 약 100 mg을 각각 정밀하게 달아 100 mL 용량플라스크에 넣고, 메탄올을 넣어 정확하게 100 mL로 한 액을 표준원액으로 한다. 이 액 2, 4, 6, 8 및 10 mL를 각각 정확하게 취하여 100 mL 용량플라스크에 넣고 메탄올을 넣어 정확하게 100 mL로 한 액을 표준액으로 한다.

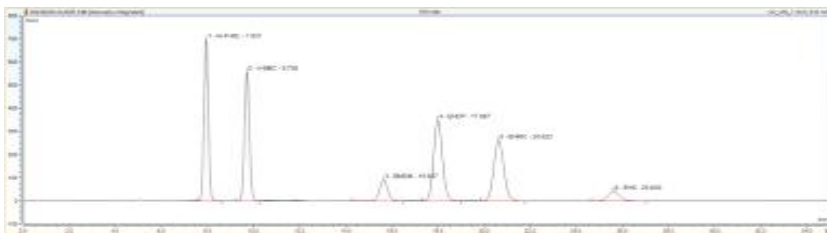
표준액과 검액을 가지고 다음 조작조건으로 「기능성화장품 기준 및 시험방법」 일반시험법의 액체크로마토그래프법 중 절대검량선법에 따라 시험한다. 필요한 경우 표준액의 검량선 범위내에서 검체 채취량과 희석배수를 조정할 수 있다.

다. 시험조작

1) 액체크로마토그래프법 조작조건

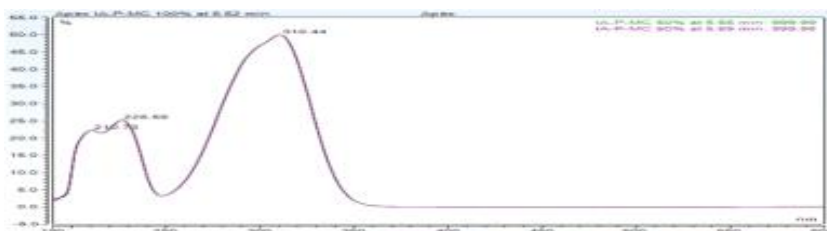
- 가) 칼럼 : C8(4.6 mm × 250 mm, 4.6 μm) 또는 이와 동등 이상의 칼럼
- 나) 칼럼온도 : 25℃
- 다) 이동상 : 메탄올 : 정제수 : 초산(70 : 25 : 5)
- 라) 유속 : 1.3 mL/min
- 마) 주입량 : 20 μL
- 바) 검출기(파장) : 자외부흡광광도계(측정과장 310 nm)

라. 크로마토그램 및 스펙트럼



<액체크로마토그래프 크로마토그램>

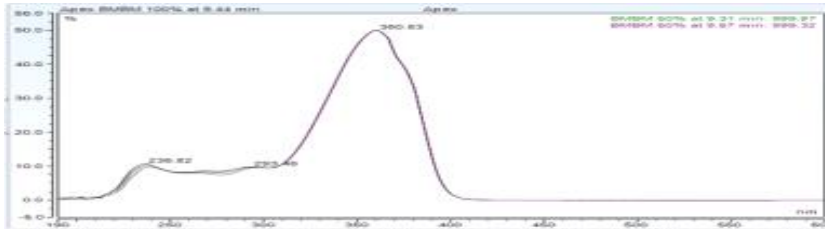
이소아밀-*p*-메톡시신나메이트(7.9분), 4-메칠벤질리덴캄퍼(9.7분),
부틸메톡시디벤조일메탄(15.6분), 에칠헥실디메칠파바(17.9분),
에칠헥실메톡시신나메이트(20.6분), 에칠헥실살리실레이트(25.6분)



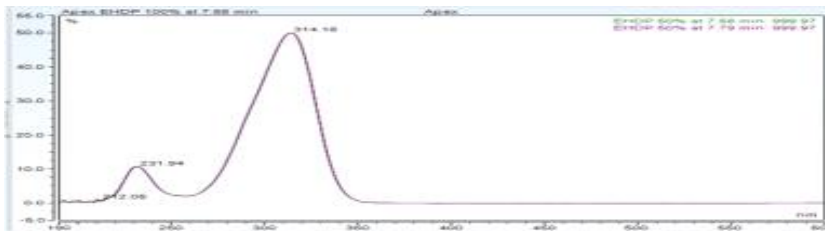
<이소아밀-*p*-메톡시신나메이트 스펙트럼>



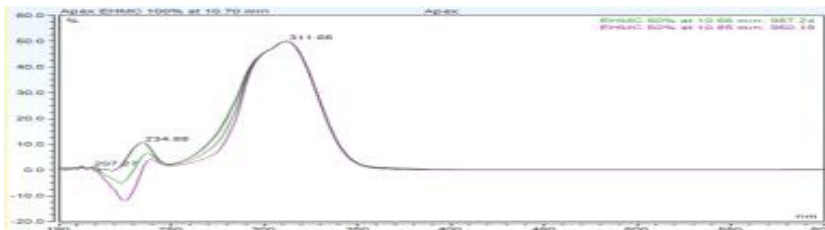
<4-메틸벤질리텐캄퍼 스펙트럼>



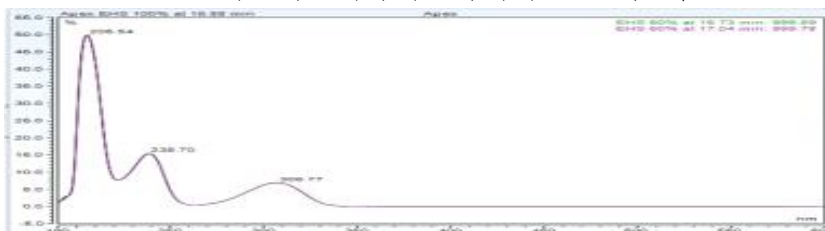
<부틸메톡시디벤조일메탄 스펙트럼>



<에칠헥실디메틸파바 스펙트럼>



<에칠헥실메톡시신나메이트 스펙트럼>



<에칠헥실살리실레이트 스펙트럼>

마. 계산식

각 성분의 함량(%) = $C \times V / (S \times 10000) \times \text{회석배수}$

C : 검량선에서 구한 각 성분의 농도 ($\mu\text{g/mL}$)

V : 검액의 최종부피 (mL)

S : 검체 채취량 (g)

10000 : 단위 환산계수

바. 참고문헌

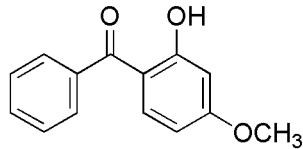
- 1) Chisvert, A., Salvador, A. : Determination of water-soluble UV-filters in sunscreen sprays by liquid chromatography, *J. Chromatogr. A*, 977(2), 277-280, 2002
- 2) Schakel, D. J., Kalsbeek, D., Boer, K. : Determination of sixteen UV filters in sun care formulations by high-performance liquid chromatography, *J. Chromatogr. A*, 1049(1-2), 127-130, 2004
- 3) Dencausse, L., Galland, A., Clamou, J. L., Basso, J. : Validation of HPLC method for quantitative determination of Tinosorb S and three other sunscreens in a high protection cosmetic product, *Int. J. Cosmet. Sci.*, 30(5), 373-382, 2008

3. 벤조페논-3, 벤조페논-4, 벤조페논-8 및 에칠헥실메톡시신나메이트의 동시분석

가. 분석물질

1) 벤조페논-3(옥시벤존)(Benzophenone-3)

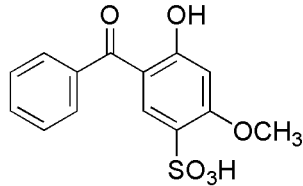
- 분자식 : $C_{14}H_{12}O_3$
- 분자량 : 228.24
- 구조식 :



- CAS 번호 : 131-57-7
- 사용한도 : 5 %

2) 벤조페논-4(벤조페논-4)

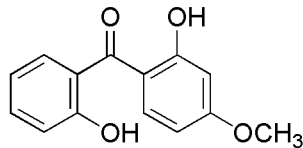
- 분자식 : $C_{14}H_{12}O_6S$
- 분자량 : 308.31
- 구조식 :



- CAS 번호 : 4065-45-6
- 사용한도 : 5 %

3) 벤조페논-8(디옥시벤존)(Benzophenone-8)

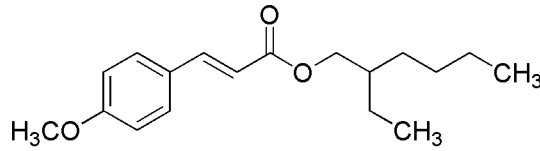
- 분자식 : $C_{14}H_{12}O_4$
- 분자량 : 244.25
- 구조식 :



- CAS 번호 : 131-53-3
- 사용한도 : 3 %

4) 에칠헥실메톡시신나메이트(Ethylhexyl Methoxycinnamate)

- 분자식 : C₁₈H₂₆O₃
- 분자량 : 290.40
- 구조식 :



- CAS 번호 : 5466-77-3
- 사용한도 : 7.5 %

나. 시험방법

검체 약 5 g을 정밀하게 달아 100 mL 용량플라스크에 넣고, 83 % 메탄올 50 mL을 넣어 초음파 진탕하여 검체를 충분히 분산시킨 후 83 % 메탄올을 넣어 정확하게 100 mL로 한다. 이 액을 0.2 μm 멤브레인 필터로 여과한 액을 검액으로 한다. 따로 벤조페논-3, 벤조페논-4, 벤조페논-8 및 에칠헥실메톡시신나메이트 표준품 약 100 mg을 각각 정밀하게 달아 100 mL 용량플라스크에 넣고 메탄올을 넣어 정확하게 100 mL로 한 액을 표준원액으로 한다. 이 액 2, 4, 6, 8 및 10 mL를 각각 정확하게 취하여 100 mL 용량플라스크에 넣고 83 % 메탄올을 넣어 정확하게 100 mL로 한 액을 표준액으로 한다.

표준액과 검액을 가지고 다음 조작조건으로 「기능성화장품 기준 및 시험방법」 일반시험법의 액체크로마토그래프법 중 절대검량선법에 따라 시험한다. 필요한 경우 표준액의 검량선 범위내에서 검체 채취량과 희석배수를 조정할 수 있다.

다. 시험조작

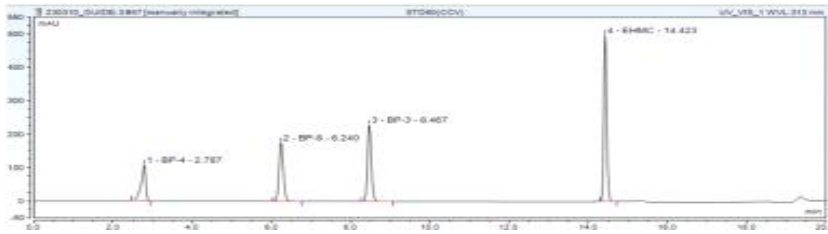
1) 액체크로마토그래프 조작조건

- 가) 칼럼 : C18(5 μm, 4.6 mm × 250 mm) 또는 이와 동등 이상의 칼럼
- 나) 칼럼온도 : 25°C
- 나) 이동상 : (A) 10 mmol/L 인산이수소칼륨
(B) 메탄올

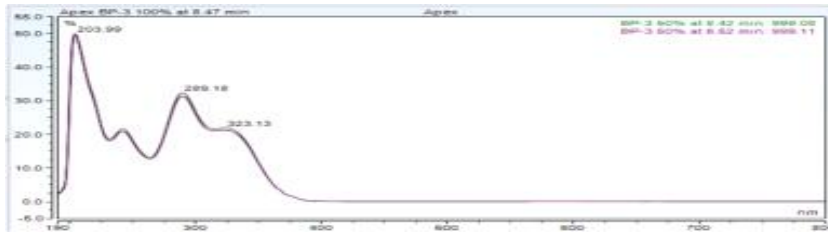
시간	A (%)	B (%)
0	70	30
10	0	100
16	0	100
16.5	70	30
20	70	30

- 다) 유속 : 1.2 mL/min
- 라) 주입량 : 20 μL
- 마) 검출기(파장) : 자외부흡광광도계(측정파장 313 nm)

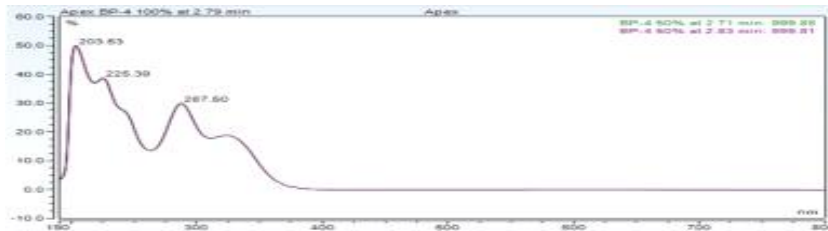
라. 크로마토그램 및 스펙트럼



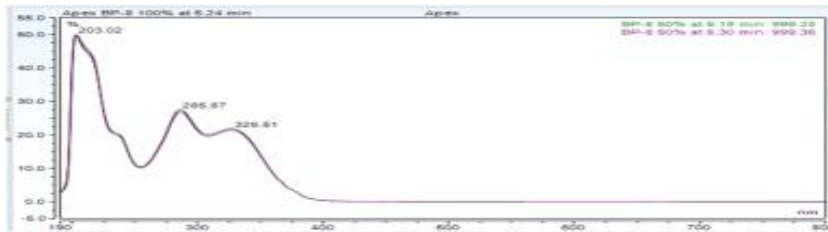
<액체크로마토그래프 크로마토그램>
 벤조페논-4(2.7분), 벤조페논-8(6.2분), 벤조페논-3(8.4분),
 에칠헥실메톡시신나메이트(14.4분)



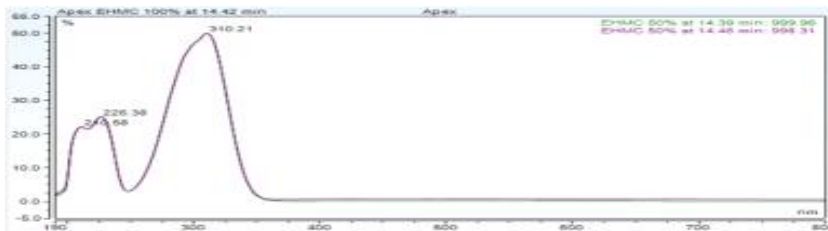
<벤조페논-3 스펙트럼>



<벤조페논-4 스펙트럼>



<벤조페논-8 스펙트럼>



<에칠헥실메톡시신나메이트 스펙트럼>

마. 계산식

각 성분의 함량(%) = $C \times V / (S \times 10000)$

C : 검량선에서 구한 각 성분의 농도 ($\mu\text{g/mL}$)

V : 검액의 최종부피 (mL)

S : 검체 채취량 (g)

10000 : 단위 환산계수

바. 참고문헌

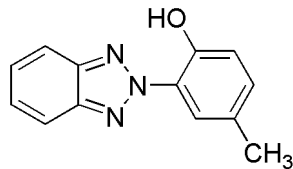
1. Chisvert, A., Salvador, A. : Determination of water-soluble UV-filters in sunscreen sprays by liquid chromatography, *J. Chromatogr. A*, 977(2), 277-280, 2002
2. Schakel, D. J., Kalsbeek, D., Boer, K. : Determination of sixteen UV filters in suncare formulations by high-performance liquid chromatography, *J. Chromatogr. A*, 1049(1-2), 127-130, 2004
3. Lee, S. M., Jeong, H. J., Chang, I. S. : Determination and validation of six sunscreen agents in suncare products by UPLC and HPLC., *J. Cosmet. Sci.*, 59, 469-480, 2008
4. Dencausse, L., Galland, A., Clamou, J. L., Basso, J., : Validation of HPLC method for quantitative determination of Tinosorb S and three other sunscreens in a high protection cosmetic product, *Int. J. Cosmet. Sci.*, 30(5), 373-382, 2008

4. 드로메트리졸, 4-메칠벤질리덴캠퍼, 멘틸안트라닐레이트, 벤조페논-3, 벤조페논-8, 부틸메톡시디벤조일메탄, 에칠헥실트리아존, 옥토크릴렌, 에칠헥실디메칠파바, 에칠헥실메톡시신나메이트, 페닐벤즈이미다졸설포닉 애씨드, 이소아밀-*p*-메톡시신나메이트, 디에칠헥실부타미도트리아존, 메칠렌비스-벤조트리아졸릴테트라메칠부틸페놀, 테레프탈릴리덴디캠퍼설포닉애씨드의 동시분석

가. 분석물질

1) 드로메트리졸(2-(2-hydroxy-5-methylphenyl) benzotriazol)

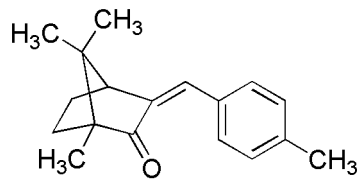
- 분자식 : C₁₃H₁₁N₃O
- 분자량 : 225.25
- 구조식 :



- CAS 번호 : 2440-22-4
- 사용한도 : 1.0 %

2) 4-메칠벤질리덴캠퍼(3-(4-Methylbenzylidene)camphor)

- 분자식 : C₁₈H₂₂O
- 분자량 : 254.37
- 구조식 :



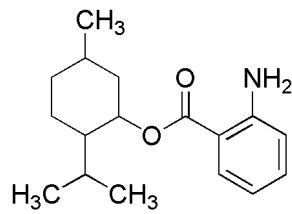
- CAS 번호 : 36861-47-9
- 사용한도 : 4 %

3) 멘틸안트라닐레이트(Menthyl anthranilate)

- 분자식 : $C_{17}H_{25}NO_2$

- 분자량 : 275.40

- 구조식 :



- CAS 번호 : 134-09-8

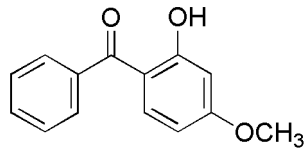
- 사용한도 : 5 %

4) 벤조페논-3(옥시벤존)(Benzophenone-3)

- 분자식 : $C_{14}H_{12}O_3$

- 분자량 : 228.24

- 구조식 :



- CAS 번호 : 131-57-7

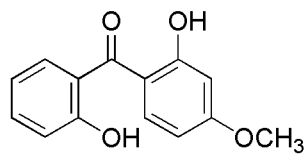
- 사용한도 : 5 %

5) 벤조페논-8(디옥시벤존)(Benzophenone-8)

- 분자식 : $C_{14}H_{12}O_4$

- 분자량 : 244.25

- 구조식 :

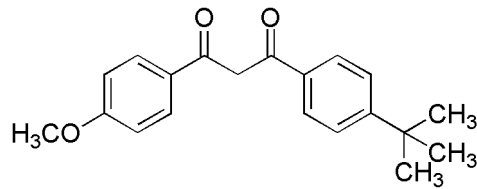


- CAS 번호 : 131-53-3

- 사용한도 : 3 %

6) 부틸메톡시디벤조일메탄(Butyl Methoxydibenzoylmethane)

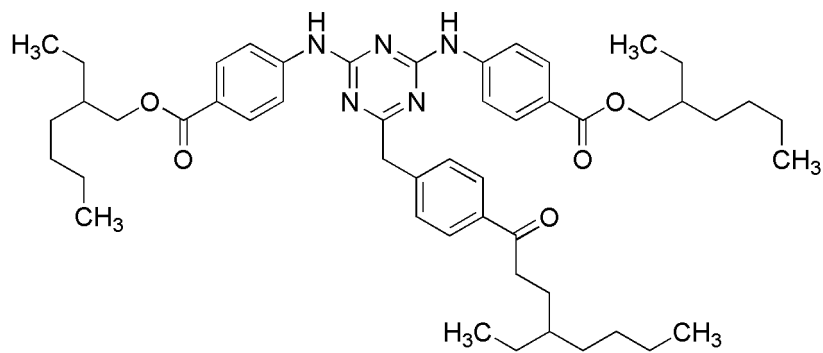
- 분자식 : $C_{20}H_{22}O_3$
- 분자량 : 310.38
- 구조식 :



- CAS 번호 : 70356-09-1
- 사용한도 : 5 %

7) 에칠헥실트리아존(Ethylhexyltriazone)

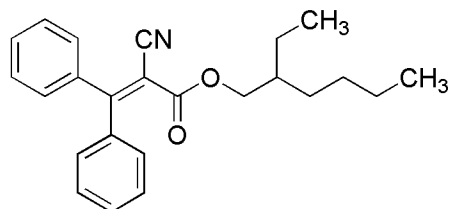
- 분자식 : $C_{48}H_{66}N_6O_6$
- 분자량 : 823.07
- 구조식 :



- CAS 번호 : 88122-99-0
- 사용한도 : 5 %

8) 옥토크릴렌(Octocrylene)

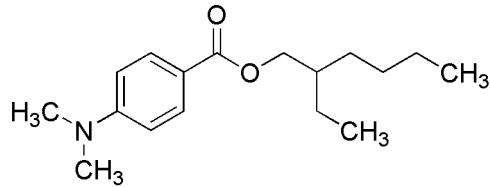
- 분자식 : $C_{24}H_{27}NO_2$
- 분자량 : 361.48
- 구조식 :



- CAS 번호 : 6197-30-4
- 사용한도 : 10 %

9) 에칠헥실디메틸파바(Ethylhexyl Dimethyl PABA)

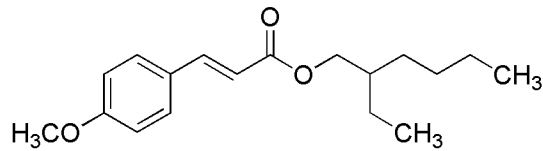
- 분자식 : $C_{17}H_{27}NO_2$
- 분자량 : 277.41
- 구조식 :



- CAS 번호 : 21245-02-3
- 사용한도 : 8 %

10) 에칠헥실메톡시신나메이트(Ethylhexyl Methoxycinnamate)

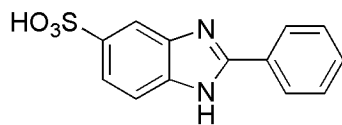
- 분자식 : $C_{18}H_{26}O_3$
- 분자량 : 290.40
- 구조식 :



- CAS 번호 : 5466-77-3
- 사용한도 : 7.5 %

11) 페닐벤즈이미다졸설폰익애씨드(Phenylbenzimidazole Sulfonic Acid)

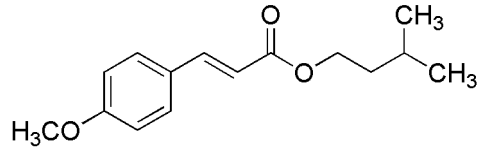
- 분자식 : $C_{13}H_{10}N_2O_3S$
- 분자량 : 274.29
- 구조식 :



- CAS 번호 : 27503-81-7
- 사용한도 : 4 %

12) 이소아밀-*p*-메톡시신나메이트(Isoamyl 4-Methoxycinnamate)

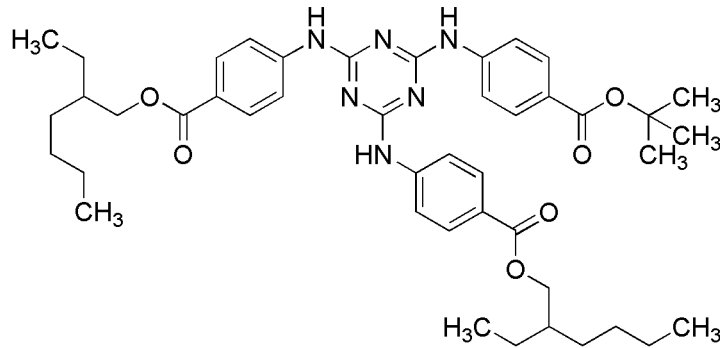
- 분자식 : C₁₅H₂₀O₃
- 분자량 : 248.32
- 구조식 :



- CAS 번호 : 71617-10-2
- 사용한다 : 10 %

13) 디에틸헥실부타미도트리아존(Diethylhexyl Butamido Triazone)

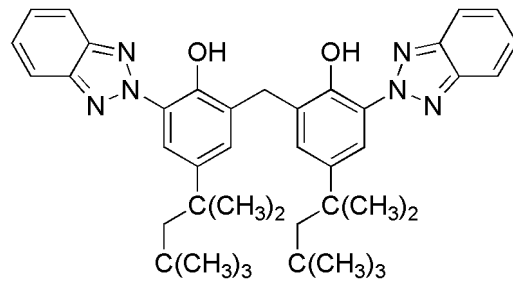
- 분자식 : C₄₄H₅₉N₇O₅
- 분자량 : 765.98
- 구조식 :



- CAS 번호 : 154702-15-5
- 사용한다 : 10 %

14) 메틸렌비스-벤조트리아졸릴테트라메틸부틸페놀(Methylene Bis-Benzotriazolyl Tetramethylbutylphenol)

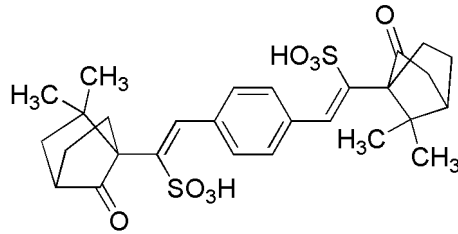
- 분자식 : C₄₁H₅₀N₆O₂
- 분자량 : 658.88
- 구조식 :



- CAS 번호 : 103597-45-1
- 사용한다 : 10 %

15) 테레프탈릴리덴디캄퍼설포닉애씨드(Terephthalylidene dicamphor sulfonic acid)

- 분자식 : $C_{28}H_{34}O_8S_2$
- 분자량 : 562.69
- 구조식 :



- CAS 번호 : 92761-26-7(90457-82-2)
- 사용한다 : 산으로서 10 %

나. 시험방법

검체 약 1 g을 정밀하게 달아 100 mL 용량플라스크에 넣고, 메탄올 50 mL을 넣어 초음파 진탕하여 검체를 충분히 분산시킨 후 메탄올을 넣어 정확하게 100 mL로 한다. 이 액을 0.2 μm 멤브레인 필터로 여과한 액을 검액으로 한다. 따로 4-메칠벤질리덴캄퍼, 멘틸안트라닐레이트, 벤조페논-3, 벤조페논-8, 부틸메톡시디벤조일메탄, 옥토크릴렌, 에칠헥실디메칠파바, 에칠헥실 메톡시신나메이트, 이소아밀-*p*-메톡시신나메이트, 디에칠헥실부타미도트리아존, 테레프탈릴 리덴디캄퍼설포닉애씨드, 드로메트리졸, 에칠헥실트리아존, 메칠렌비스-벤조트리아졸릴테트 라메칠부틸페놀 표준품 약 10 mg을 각각 정밀하게 달아 10 mL 용량플라스크에 넣고 메탄올을 넣어 정확하게 10 mL로 한 액을 표준원액으로 하고, 페닐벤즈이미다졸설포닉애씨드 표준품 약 10 mg을 각각 정밀하게 달아 10 mL 용량플라스크에 넣고 메탄올 : 정제수 : 초산(50 : 44 : 6)을 넣어 정확하게 10 mL로 한 액을 표준원액으로 한다. 각 표준원액을 0.1, 0.5, 1, 2, 3 및 4 mL를 각각 정확하게 취하여 100 mL 용량플라스크에 넣고 메탄올을 넣어 정확하게 100 mL로 한 액을 표준액으로 한다.

표준액과 검액을 가지고 다음 조작조건으로 「기능성화장품 기준 및 시험방법」 일반시험법의 액체크로마토그래프법 중 절대검량선법에 따라 시험한다. 필요한 경우 표준액의 검량선 범위내에서 검체 채취량과 희석배수를 조정할 수 있다.

다. 시험조작

1) 액체크로마토그래프 조작조건

가) 칼럼 : C18(4.6 μm , 4.6 mm x 250 mm) 또는 이와 동등 이상의 칼럼

나) 칼럼온도 : 40°C

다) 이동상 : (A) 10 mmol/L 인산이수소칼륨

(B) 메탄올

시간	A (%)	B (%)
0	60	40
5	30	70
8	20	80
45	0	100
80	0	100
80.5	60	40
85	60	40

※ 제품에 함유된 자외선차단성분의 종류에 따라 메탄올 함량을 조절하여 분석할 수 있다.

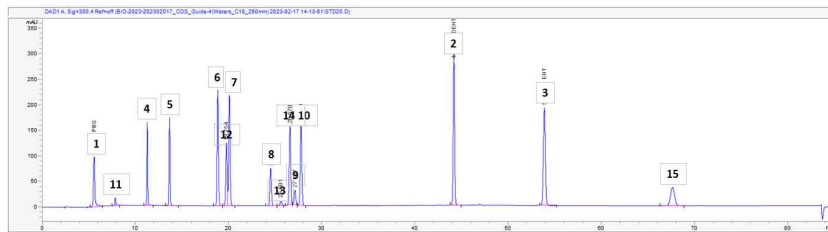
라) 유속 : 1.0 mL/min

마) 주입량 : 20 μL

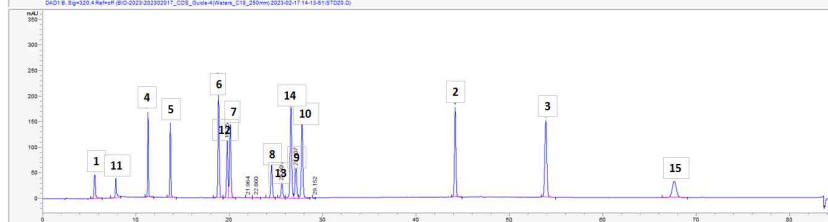
바) 검출기(파장) : 자외부흡광광도계(측정과장 300, 320, 360 nm)

라. 크로마토그램 및 스펙트럼

측정과장
300 nm



측정과장
320 nm



측정과장
360 nm



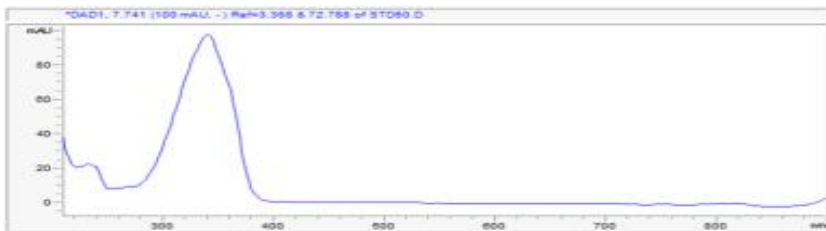
<액체크로마토그래프 크로마토그램>

1. 페닐벤즈이미다졸설포닉애씨드(5.5분),
2. 디에칠헥실부타미도트리아존(44.4분), 3. 에칠헥실트리아존(53.8분),
4. 벤조페논-8(11.2분), 5. 벤조페논-3(13.6분),
6. 이소아밀-*p*-메톡시신나메이트(18.8분),

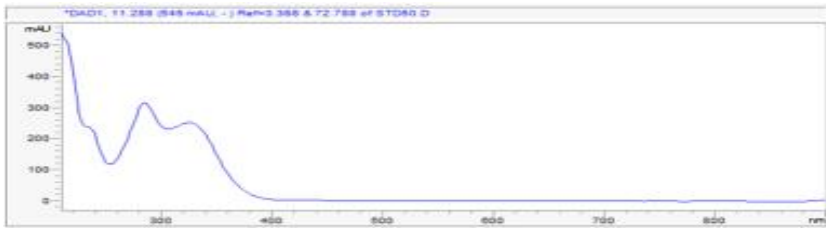
- 7.4-메칠벤질리덴캄퍼(20.0분), 8.옥토크릴렌(24.4분)
 9.에칠헥실디메틸파바(27.1분), 10.에칠헥실메톡시신나메이트(27.7분),
 11.테레프탈릴리덴디캄퍼설포닉애씨드(7.7분), 12.드로메트리졸(19.7분),
 13.멘틸안트라닐레이트(25.6분), 14.부틸메톡시디벤조일메탄(27.1분),
 15.메칠렌비스-벤조트리아졸릴테트라메칠부틸페놀(67.5분)



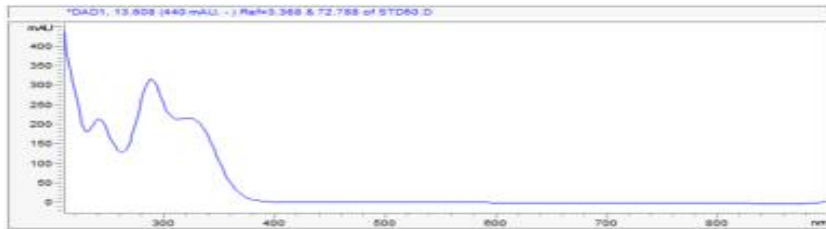
<페닐벤즈이미다졸설포닉애씨드 스펙트럼>



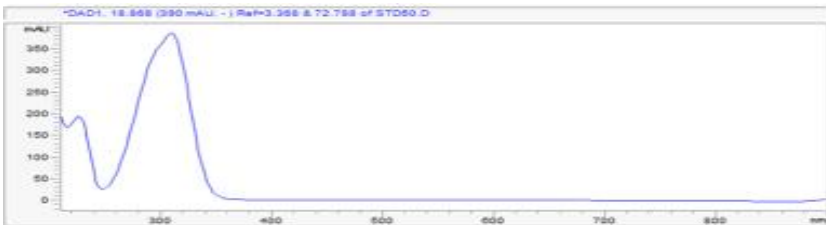
<테레프탈릴리덴디캄퍼설포닉애씨드 스펙트럼>



<벤조페논-8 스펙트럼>



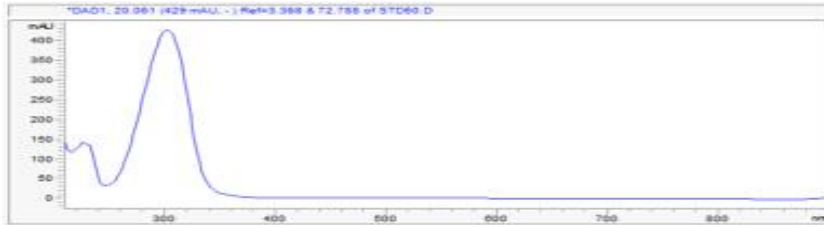
<벤조페논-3 스펙트럼>



<이소아밀-p-메톡시신나메이트 스펙트럼>



<드로메트리졸 스펙트럼>



<4-메칠벤질리덴캠퍼 스펙트럼>



<옥토크릴렌 스펙트럼>



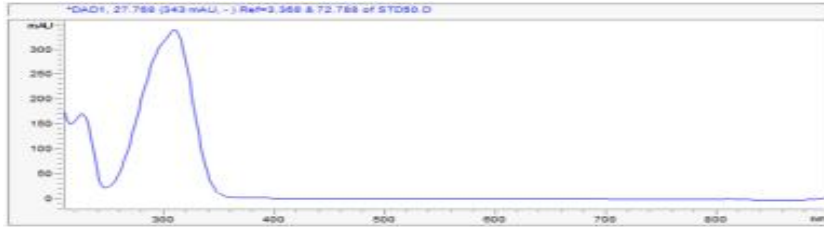
<멘틸안트라닐레이트 스펙트럼>



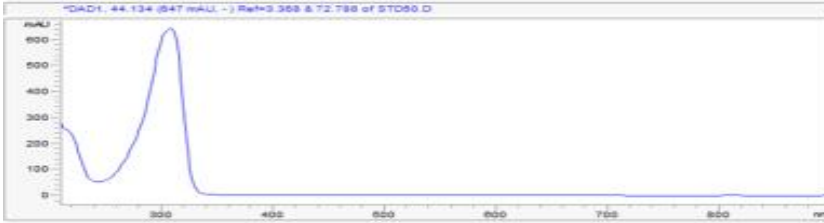
<에칠헥실디메칠파마 스펙트럼>



<부틸메톡시디벤조일메탄 스펙트럼>



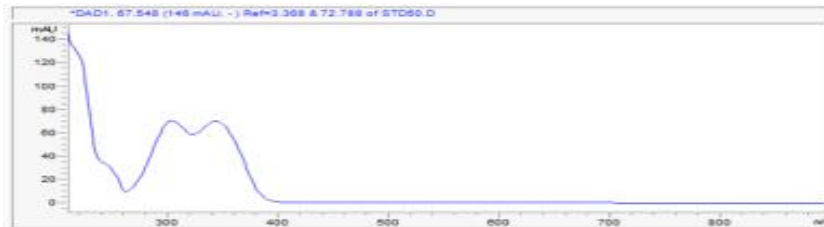
<에칠헥실메톡시신나메이트 스펙트럼>



<디에칠헥실부타미도트리아존 스펙트럼>



<에칠헥실트리아존 스펙트럼>



<메칠렌비스-벤조트리아졸릴테트라메칠부틸페놀 스펙트럼>

마. 계산식

각 성분의 함량(%) = $C \times V / (S \times 10000)$

C : 검량선에서 구한 각 성분의 농도 ($\mu\text{g/mL}$)

V : 검액의 최종부피 (mL)

S : 검체 채취량 (g)

10000 : 단위 환산계수

바. 참고문헌

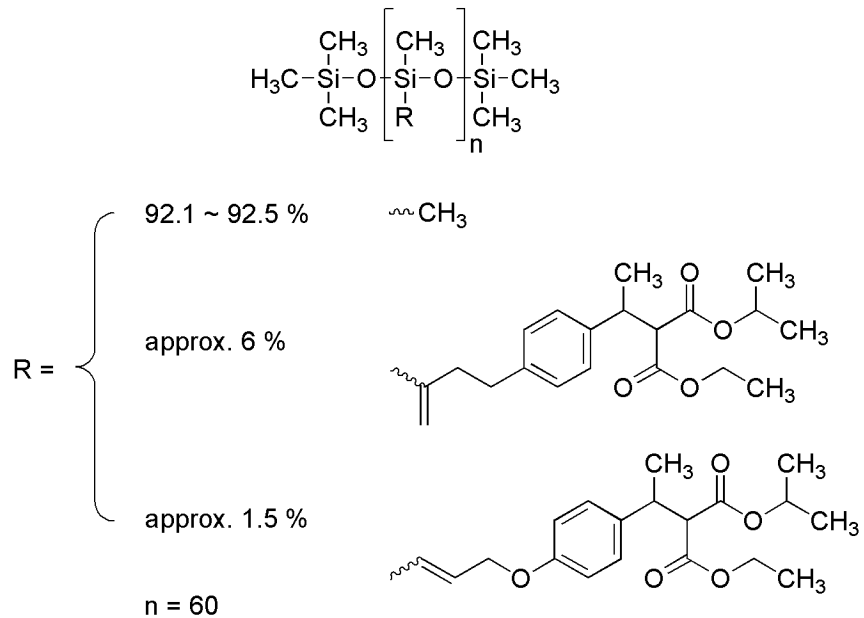
- 1) Chisvert, A., Salvador, A., : Determination of water-soluble UV-filters in sunscreen sprays by liquid chromatography, *J. Chromatogr. A*, 977(2), 277-280, 2002
- 2) Schakel, D. J., Kalsbeek, D., Boer, K. : Determination of sixteen UV filters in suncare formulations by high-performance liquid chromatography, *J. Chromatogr. A*, 1049(1-2), 127-130, 2004
- 3) Kedor-Hackmann, E. R., De Lourdes Perez Gonzalez, M. L., Singh, A. K., Santoro M. I. : Validation of a HPLC method for simultaneous determination of five sunscreens

- in lotion preparation, *Int. J. Cosmet. Sci.*, 28(3), 219-224, 2006
- 4) Dencausse, L., Galland, A., Clamou, J. L., Basso, J. : Validation of HPLC method for quantitative determination of Tinosorb S and three other sunscreens in a high protection cosmetic product, *Int. J. Cosmet. Sci.*, 30(5), 373-382, 2008

5. 폴리실리콘-15(디메치코디에칠벤잘말로네이트)(Dimethicodiethylbenzal Malonate)

가. 분석물질

- 분자량 : 평균 2550
- 구조식 :



- CAS 번호 : 207574-74-1
- 사용한도 : 10 %

나. 시험방법

검체 약 0.5 g을 정밀하게 달아 500 mL 용량플라스크에 넣고, 테트라하이드로퓨란 400 mL를 넣어 초음파 진탕하여 충분히 분산시킨다. 여기에 테트라하이드로퓨란을 넣어 정확하게 500 mL로 하고, 이 액을 0.2 μm 멤브레인 필터로 여과한 액을 검액으로 한다. 따로 폴리실리콘-15 표준품 약 10 mg을 정밀하게 달아 100 mL 용량플라스크에 넣고 테트라하이드로퓨란을 넣어 정확하게 100 mL로 한 액을 표준원액으로 한다(100 $\mu\text{g/mL}$). 이 액 0.5, 1, 2, 5 및 10 mL를 각각 정확하게 취하여 10 mL 용량플라스크에 넣고, 테트라하이드로퓨란을 넣어 정확하게 10 mL로 하고 멤브레인 필터로 여과한 액을 표준액으로 한다.

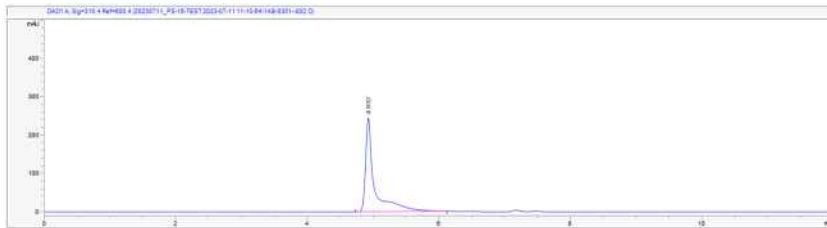
표준액과 검액을 가지고 다음 조작조건으로 「기능성화장품 기준 및 시험방법」 일반시험법의 액체크로마토그래프법 중 절대검량선법에 따라 시험한다. 필요한 경우 표준액의 검량선 범위내에서 검체 채취량과 희석배수를 조정할 수 있다.

다. 시험조작

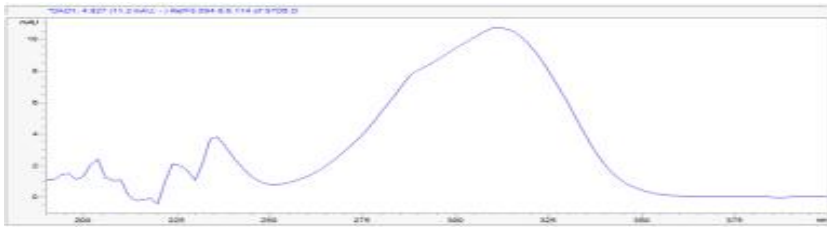
1) 액체크로마토그래프 조작조건

- 가) 칼럼 : Agilent, PLgel(5 μ m, 7.5 mm \times 300 mm) 또는 이와 동등 이상의 칼럼
- 나) 칼럼온도 : 40 $^{\circ}$ C
- 다) 이동상 : 테트라하이드로퓨란
- 라) 유속 : 1.0 mL/min
- 마) 주입량 : 20 μ L
- 바) 검출기(과장) : 자외부흡광광도계(측정과장 310 nm)

라. 크로마토그램 및 스펙트럼



<액체크로마토그래프 크로마토그램>
폴리실리콘-15(4.9분)



<폴리실리콘-15 스펙트럼>

마. 계산식

$$\text{폴리실리콘의 함량(\%)} = C \times V / (S \times 10000)$$

C : 검량선에서 구한 폴리실리콘-15의 농도 (μ g/mL)

V : 검액의 최종부피 (mL)

S : 검체 채취량 (g)

10000 : 단위 환산계수

바. 참고문헌

- 1) Schakel, D. J., Kalsbeek, D., Boer, K. : Determination of sixteen UV filters in sun-care formulations by high-performance liquid chromatography, *J. Chromatogr. A*, 1049(1-2), 127-130, 2004
- 2) Kedor-Hackmann, E. R., De Lourdes Perez Gonzalez, M. L., Singh, A. K., Santoro, M. I. : Validation of a HPLC method for simultaneous determination of five sunscreens in lotion preparation, *Int. J. Cosmet. Sci.*, 28(3), 219-224, 2006

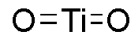
- 3) Dencausse, L., Galland, A., Clamou, J. L., Basso, J., : Validation of HPLC method for quantitative determination of Tinosorb S and three other sunscreens in a high protection cosmetic product, *Int. J. Cosmet. Sci.*, 30(5), 373-382, 2008

6. 티타늄디옥사이드(Titanium dioxide) 및 징크옥사이드(Zinc oxide)의 동시분석

가. 분석물질

1) 티타늄디옥사이드

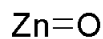
- 분자식 : TiO_2
- 분자량 : 79.87
- 구조식 :



- CAS 번호 : 13463-67-7
- 사용한도 : 25 %

2) 징크옥사이드

- 분자식 : ZnO
- 분자량 : 81.38
- 구조식 :



- CAS 번호 : 1314-13-2
- 사용한도 : 25 %

나. 시험방법

검체 약 0.1 g을 정밀하게 달아 테플론 재질의 극초단파분해용 용기의 기벽에 닿지 않도록 조심하여 넣는다. 검체를 분해하기 위하여 질산 7 mL, 황산 2 mL, 불산 1 mL를 넣고 뚜껑을 닫은 다음 용기를 극초단파분해 장치에 장착하고 조작조건에 따라 무색~엷은 황색이 될 때까지 분해한다. 분해가 완료되면 상온에서 1시간 동안 방치한 후 마개를 열고 극초단파분해용 용기를 가열 판에서 가열하여 불화수소산을 제거한다. 상온으로 식힌 다음 내용물을 넣고 물을 넣어 정확하게 500 mL 로 하여 검액으로 한다.

따로 질산 7 mL, 황산 2 mL 및 불화수소산 1 mL를 가지고 검액과 동일하게 조작하여 공시험액으로 한다. 필요하다면 검체를 분해하기 위하여 사용하는 산의 종류와 양, 극초단파 분해조건은 변경할 수 있다.

티타늄 및 아연 표준원액(1,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$)을 희석시킨 질산(3→100)으로 희석하여 농도가 다른 3가지 이상의 검량선용 표준액을 만든다. 이 표준액은 1 mL 당 티타늄(Ti) 및 아연(Zn)이 5 μg ~100 μg 농도범위에 포함되게 한다.

표준액 및 검액을 유도결합플라즈마 발광 분광분석기(ICP-OES)에 주입하고 티타늄 및 아연의 검량 선으로부터 검액 중의 티타늄 및 아연의 양을 산출한다.

다. 시험조작

1) 마이크로웨이브 분석조건

가) 최대파워 : 1,000 W

나) 최고온도 : 220°C

다) 분해조건 : 0°C ~ 120°C (15분) → 120°C (5분) → 220°C (10분)

라) 분해시간 : 45분

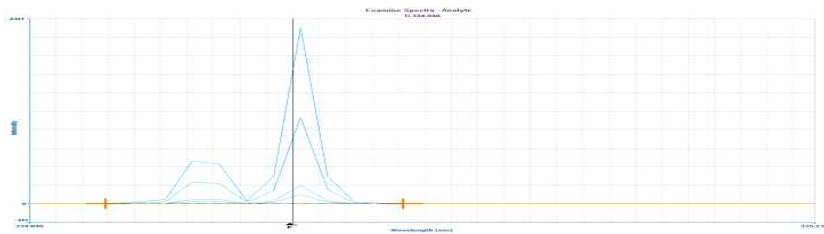
2) ICP-OES 분석조건

가) 파장 : 티타늄 334.940 nm

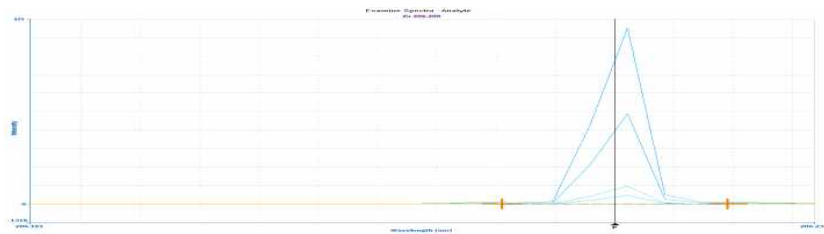
아연 206.200 nm

나) 플라즈마기체 : 아르곤 (99.99 v/v % 이상)

라. 스펙트럼



<티타늄디옥사이드 스펙트럼 (334.940 nm)>



<아연 스펙트럼 (206.200 nm)>

마. 계산식

티타늄디옥사이드의 함량(%) = $(C-B) \times f \times V / (S \times 10000)$

C : 검정곡선에서 구한 티타늄의 농도 ($\mu\text{g/mL}$)

B : 공시험액의 농도 ($\mu\text{g/mL}$)

V : 검액의 최종 부피(mL)

S : 검체 채취량(g)

f : 환산계수 (1.6680)

10000 : 단위 환산계수

징크옥사이드의 함량(%) = $(C-B) \times f \times V / (S \times 10000)$

C : 검정곡선에서 구한 아연의 농도 ($\mu\text{g/mL}$)

B : 공시험액의 농도 ($\mu\text{g/mL}$)

V : 검액의 최종 부피(mL)

S : 검체 채취량(g)

f : 환산계수 (1.2447)

10000 : 단위 환산계수

<주의사항>

- 1) 극초단파 분해법은 습식 산분해법에 비해 전처리시간 단축, 외부오염 차단, 난분해성 검체의 분해용이 및 재현성 있는 결과 등의 이유로 일반적으로 많이 사용되는 전처리법이지만 검체양의 한계, 산 종류의 선택 등에 대해 유의해야 한다.
- 2) 검체에 산을 가하고 바로 극초단파 분해를 할 경우 유기물이 분해되면서 발생한 기체로 인해 용액이 새어나올 수 있으므로 산을 가하고 최소 15분 이상 극초단파 분해용 용기(vessel)의 뚜껑을 덮지 않고 방치한 다음 분해한다.
- 3) 극초단파 분해시 분해가 완료되면 상온으로 충분히 식힌 다음 여과한다.
- 4) 만약 검체가 완전히 분해되지 않으면 산의 종류 및 극초단파 분해조건을 변경한다.
- 5) 분해에 사용된 불화수소산은 유리 재질의 초자류 및 ICP 부품에 영향을 줄 수 있으므로 불화수소산을 제거한 후 여과 등의 과정을 진행한다.
- 6) ICP-OES의 Ti 및 Zn의 측정파장은 각 제조사별 사용 장비에 따라 방해물질의 간섭이 없는 파장영역을 선택해서 측정하도록 한다.

< 측정 피크의 단일성 여부 확인 >

방해물질의 영향을 확인하기 위해 표준액과 검액의 ICP-AES 측정 피크의 스펙트럼에 대해 비교·확인하는 것이 필요하다. 만약 방해물질이 있을 경우 용매추출법 등을 이용하여 방해물질을 제거하여야 한다.

바. 참고문헌

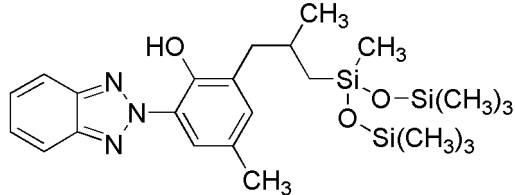
- 1) 화장품 중 배합한도 성분 분석법 개발에 관한 연구 - 자외선차단제 성분 및 살균보존제 성분, 식품의약품안전처, 2012
- 2) Lu, P. J., Huang, S. C., : Analysis of titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles in cosmetics, *Journal of Food and Drug Analysis*, 23(3), 587-594, 2015

- 3) Smijs, T. G., Pavel, S., : Titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles in sunscreens: focus on their safety and effectiveness, *Nanotechnol Sci Appl.*, 4, 95-112, 2011

7. 드로메트리졸트리실록산(Drometrizole trisiloxane)

가. 분석물질

- 분자식 : $C_{24}H_{39}N_3O_3Si_3$
- 분자량 : 501.84
- 구조식 :



- CAS 번호 : 155633-54-8
- 사용한도 : 15 %

나. 시험방법

검체 약 0.1 g을 정밀하게 달아 100 mL 용량플라스크에 넣고, 메탄올 50 mL를 넣어 60분간 초음파 진탕하여 분산시키고 상온에서 식힌다. 여기에 메탄올을 넣어 정확하게 100 mL로 하고, 0.2 μ m 멤브레인 필터로 여과한 액을 검액으로 한다. 따로 드로메트리졸트리실록산 표준품 약 100 mg을 정밀하게 달아 100 mL 용량플라스크에 넣고 메탄올을 넣어 정확하게 100 mL로 한 액을 표준 원액(1000 μ g/mL)으로 한다. 표준원액 1, 2, 5, 10 및 20 mL를 정확하게 취하여 100 mL 용량플라스크에 넣고 메탄올을 넣어 정확하게 100 mL로 한 액을 검량선용 표준액으로 한다.

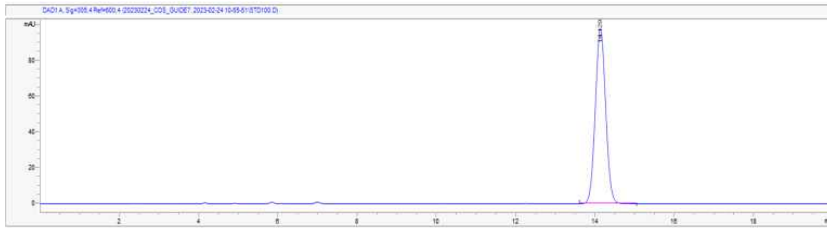
표준액과 검액을 가지고 다음 조작조건으로 「기능성화장품 기준 및 시험방법」 일반시험법의 액체크로마토그래프법 중 절대검량선법에 따라 시험한다. 필요한 경우 표준액의 검량선 범위내에서 검체 채취량과 희석배수를 조정할 수 있다.

다. 시험조작

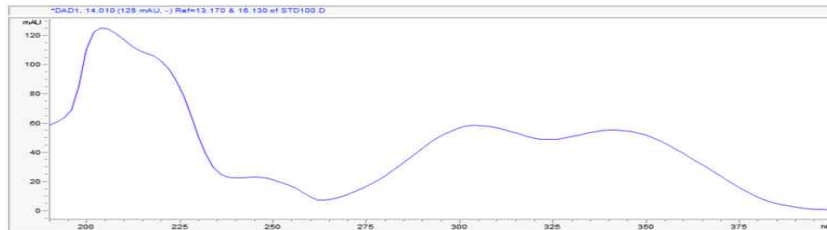
1) 액체크로마토그래프법 조작조건

- 가) 칼럼 : C18(5 μ m, 4.6 mm x 250 mm) 또는 이와 동등 이상의 칼럼
- 나) 칼럼온도 : 30 $^{\circ}$ C
- 다) 이동상 : 메탄올
- 라) 유속 : 1.0 mL/min
- 마) 주입량 : 10 μ L
- 바) 검출기(파장) : 자외부흡광광도계(측정파장 305 nm)

라. 크로마토그램 및 스펙트럼



<액체크로마토그래프 크로마토그램>
드리메트리졸트리실록산(14.1 분)



<드리메트리졸트리실록산 스펙트럼>

마. 계산식

드리메트리졸트리실록산의 함량(%) = $C \times V / (S \times 10000)$

C : 검량선에서 구한 드리메트리졸트리실록산의 농도 ($\mu\text{g/mL}$)

V : 검액의 최종부피 (mL)

S : 검체 채취량 (g)

10000 : 단위 환산계수

바. 참고문헌

- 1) 화장품 중 배합한도 성분 분석법 개발에 관한연구 - 자외선차단성분 및 살균보존성분, 식품의약품안전처, 2012
- 2) Schakel, D. J. : Determination of sixteen UV filters in suncare formulation by highperformance liquid chromatography, *Journal of Chromatography A*, 1049, 127-130, 2004
- 3) Chang, N. I. : Determination of fourteen sunscreen agents in cosmetics using high-performance liquid chromatography, *International Journal of Cosmetic Science*, 37, 175-180, 2015
- 4) Vila, M. : Determination of fourteen UV filters in bathing water by headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-tandem mass spectrometry, *Analytical Methods*, 21, 2016

8. 벤조페논-3, 부틸메톡시디벤조일메탄, 에칠헥실메톡시신나메이트, 에칠헥실살리실레이트, 4-메칠벤질리텐캄퍼, 옥토크릴렌, 이소아밀-*p*-메톡시신나메이트, 호모살레이트의 동시분석

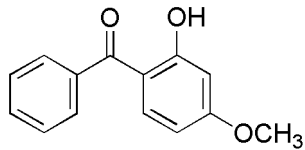
가. 분석물질

1) 벤조페논-3(옥시벤존)(Benzophenone-3)

- 분자식 : $C_{14}H_{12}O_3$

- 분자량 : 228.24

- 구조식 :



- CAS 번호 : 131-57-7

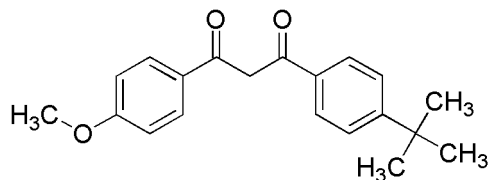
- 사용한도 : 5 %

2) 부틸메톡시디벤조일메탄(Butyl Methoxydibenzoylmethane)

- 분자식 : $C_{20}H_{22}O_3$

- 분자량 : 310.38

- 구조식 :



- CAS 번호 : 70356-09-1

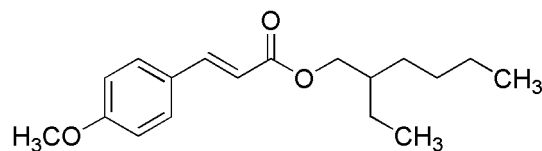
- 사용한도 : 5 %

3) 에칠헥실메톡시신나메이트(Ethylhexyl Methoxycinnamate)

- 분자식 : $C_{18}H_{26}O_3$

- 분자량 : 290.40

- 구조식 :



- CAS 번호 : 5466-77-3

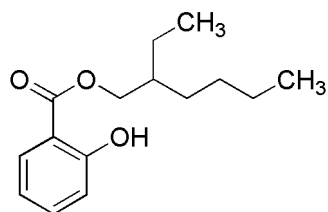
- 사용한도 : 7.5 %

4) 에칠헥실살리실레이트(Ethylhexyl Salicylate)

- 분자식 : $C_{15}H_{22}O_3$

- 분자량 : 250.33

- 구조식 :



- CAS 번호 : 118-60-5

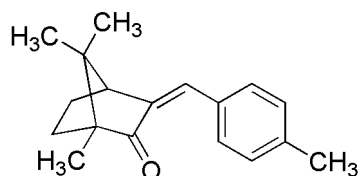
- 사용한도 : 5 %

5) 4-메틸벤질리덴캠퍼(4-Methylbenzylidene Camphor)

- 분자식 : $C_{18}H_{22}O$

- 분자량 : 254.37

- 구조식 :



- CAS 번호 : 36861-47-9

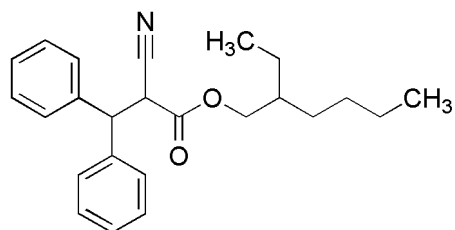
- 사용한도 : 4 %

6) 옥토크릴렌(Octocrylene)

- 분자식 : $C_{24}H_{27}NO_2$

- 분자량 : 361.48

- 구조식 :

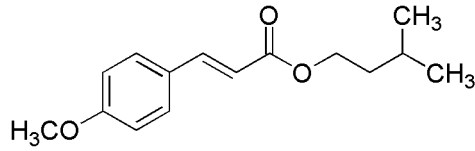


- CAS 번호 : 6197-30-4

- 사용한도 : 10 %

7) 이소아밀-*p*-메톡시신나메이트(Isoamyl 4-Methoxycinnamate)

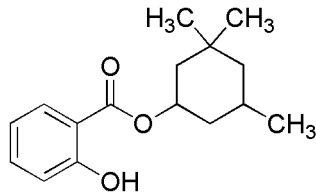
- 분자식 : C₁₅H₂₀O₃
- 분자량 : 248.32
- 구조식 :



- CAS 번호 : 71617-10-2
- 사용한도 : 10 %

8) 호모살레이트(Homosalate)

- 분자식 : C₁₆H₂₂O₃
- 분자량 : 262.36
- 구조식 :



- CAS 번호 : 118-56-9
- 사용한도 : 10 %

나. 시험방법

검체 약 0.5 g을 정밀하게 달아 50 mL 용량플라스크에 넣고, 메탄올 30 mL를 넣어 초음파 진탕하여 충분히 분산시킨다. 여기에 메탄올을 넣어 정확하게 50 mL로 하고, 이 액을 멤브레인 필터로 여과한 액을 검액으로 한다. 따로 벤조페논-3, 부틸메톡시디벤조일메탄, 에칠헥실메톡시신나메이트, 에칠헥실살리실레이트, 4-메칠벤질리텐캄퍼, 옥토크릴렌, 이소아밀-*p*-메톡시신나메이트 및 호모살레이트 표준품 약 50 mg을 각각 정밀하게 달아 50 mL 용량플라스크에 넣고 메탄올을 넣어 정확하게 50 mL로 한 액을 표준원액으로 한다(1000 μg/mL). 이 액 1, 2, 5, 10 및 20 mL를 각각 정확하게 취하여 100 mL 용량플라스크에 넣고, 메탄올을 넣어 정확하게 100 mL로 하고 멤브레인 필터로 여과한 액을 표준액으로 한다.

표준액과 검액을 가지고 다음 조작조건으로 「기능성화장품 기준 및 시험방법」 일반시험법의 액체크로마토그래프법 중 절대검량선법에 따라 시험한다. 필요한 경우 표준액의 검량선 범위내에서 검체 채취량과 희석배수를 조정할 수 있다.

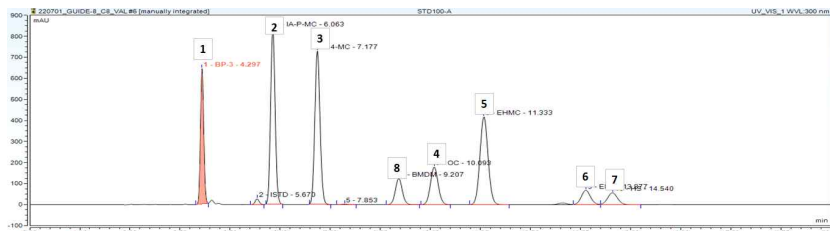
다. 시험조작

1) 액체크로마토그래프법 조작조건

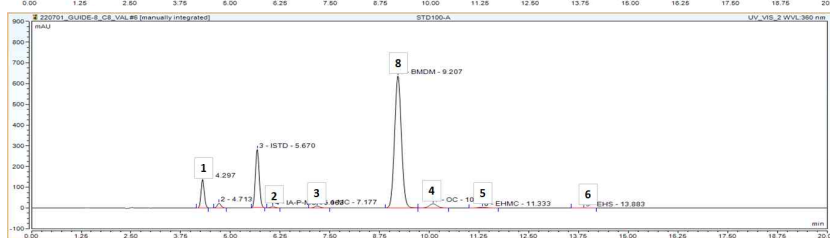
- 가) 칼럼 : Agilent, Zorbax C8(4.6 mm x 250 mm, 5 μ m) 또는 이와 동등 이상의 칼럼
- 나) 칼럼온도 : 25°C
- 다) 이동상 : 메탄올 : 10 mmol/L 인산이수소칼륨 용액(83 : 17)
- 라) 유속 : 1.0 mL/min
- 마) 주입량 : 10 μ L
- 바) 검출기(과장) : 자외부흡광광도계(측정과장 300, 360 nm)

라. 크로마토그램 및 스펙트럼

측정과장
300 nm

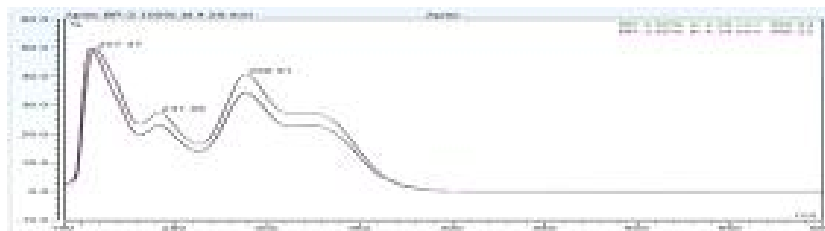


측정과장
360 nm

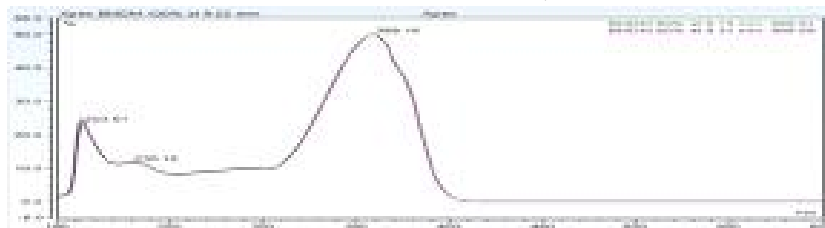


<액체크로마토그래프 크로마토그램 >

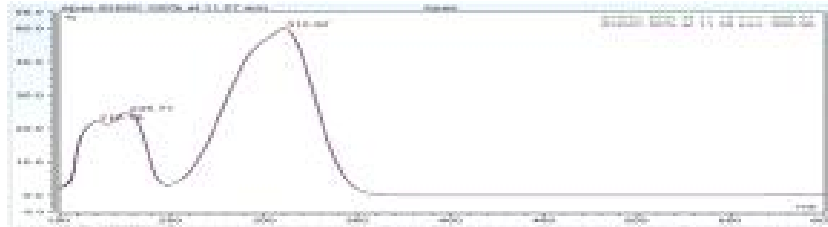
1. 벤조페논-3(4.2분), 2. 이소아밀-*p*-메톡시신나메이트(6.0분),
3. 4-메칠벤질리덴캄퍼(7.1분), 4. 옥토크릴렌(10.0분),
5. 에칠헥실메톡시신나메이트(11.3분),
6. 에칠헥실살리실레이트(13.8분), 7. 호모살레이트(14.5분)
8. 부틸메톡시디벤조일메탄(9.2분),



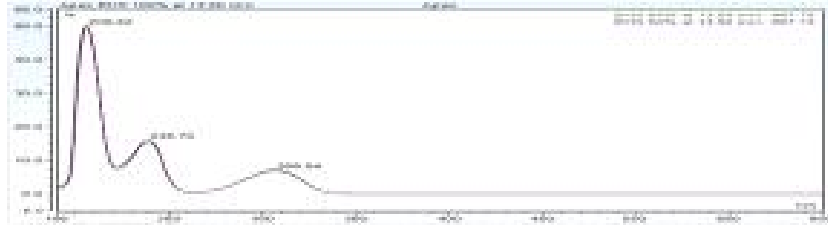
<벤조페논-3 스펙트럼>



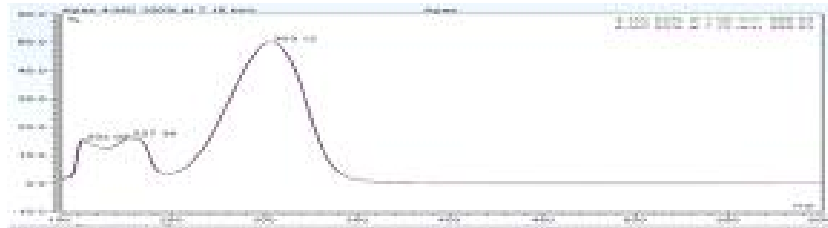
<부틸메톡시디벤조일메탄 스펙트럼>



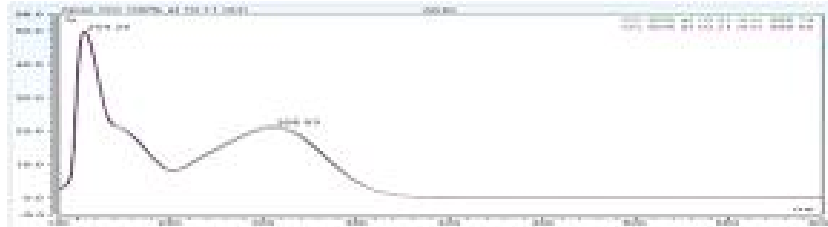
<에칠헥실메톡시신나메이트 스펙트럼>



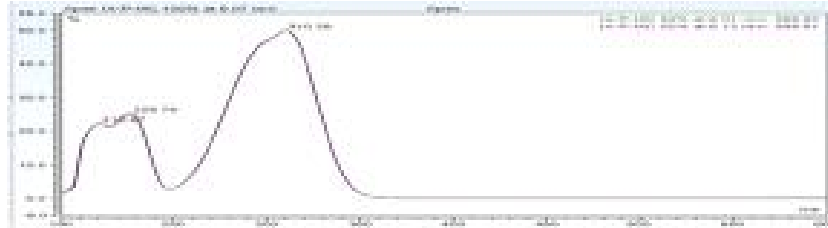
<에칠헥실살리실레이트 스펙트럼>



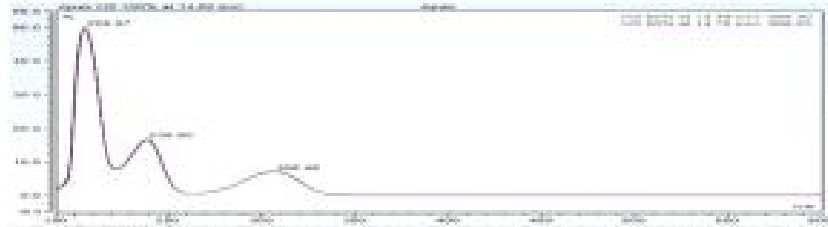
<4-메칠벤질리덴캄퍼 스펙트럼>



<옥토크릴렌 스펙트럼>



<이소아밀-*p*-메톡시신나메이트 스펙트럼>



<호모살리이트 스펙트럼>

마. 계산식

각 성분의 함량(%) = $C \times V / (S \times 10000)$

C : 검량선에서 구한 각 성분의 농도 ($\mu\text{g/mL}$)

V : 검액의 최종부피 (mL)

S : 검체 채취량 (g)

10000 : 단위 환산계수

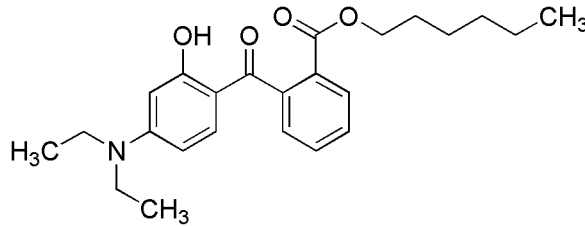
바. 참고문헌

- 1) 의약품 등 시험방법 밸리데이션 가이드라인 해설서(민원인안내서), 식품의약품안전처, 2015.
- 2) 기능성화장품 품질평가에 관한 연구, 식품의약품안전처, 2014
- 3) Rivera, C., Rodriguez, R. : Horwitz Equation as quality benchmark in ISO/IEC 17025 testing laboratory
- 4) Lee, S. M., Jeong, H. J., Chang, I. S. : Determination and validation of six sunscreen agents in suncare products by UPLC and HPLC., *J. Cosmet. Sci.*, 59, 469-480, 2008
- 5) Determination of Ten Active Ingredients in Sunscreen-Containing Products in a Single Injection. DIONEX, Application Note 223

9. 디에칠아미노하이드록시벤조일헥실벤조에이트(Diethylamino Hydroxybenzoyl Hexyl Benzoate)

가. 분석물질

- 분자식 : $C_{24}H_{31}NO_4$
- 분자량 : 397.51
- 구조식 :



- CAS 번호 : 302776-68-7
- 사용한도 : 10 %

나. 시험방법

검체 약 1 g을 정밀하게 달아 50 mL 용량플라스크에 넣고 아세토니트릴 적당량을 넣어 초음파 진탕하여 검체를 충분히 분산시킨 다음 아세토니트릴을 넣어 정확하게 50 mL로 한다. 이 액 10 mL를 정확하게 취하여 100 mL 용량플라스크에 넣고 아세토니트릴을 넣어 정확하게 100 mL로 하여 0.45 μ m 멤브레인 필터로 여과한 액을 검액으로 한다. 필요한 경우 여과 전 원심분리 등을 할 수 있다. 따로 디에칠아미노하이드록시벤조일헥실벤조에이트 표준품 약 10 mg을 정밀하게 달아 10 mL 용량플라스크에 넣고 아세토니트릴을 넣어 정확하게 10 mL로 하여 표준원액으로 한다(1000 μ g/mL). 이 액을 각각 2.6, 6.5, 32, 80, 160, 320 μ g/mL이 되도록 아세토니트릴로 희석하고 0.45 μ m 멤브레인 필터로 여과한 액을 표준액으로 한다.

표준액과 검액을 가지고 다음 조작조건으로 「기능성화장품 기준 및 시험방법」 일반시험법의 액체크로마토그래프법 중 절대검량선법에 따라 시험한다. 필요한 경우 표준액의 검량선 범위내에서 검체 채취량과 희석배수를 조정할 수 있다.

다. 시험조작

1) 액체크로마토그래프 조작조건

가) 칼럼 : C18(5 μ m, 4.6 mm x 250 mm) 또는 이와 동등 이상의 칼럼

나) 칼럼온도 : 30°C

다) 이동상 : (A) 정제수 pH 2.0 : 아세토니트릴 : 테트라하이드로퓨란(60 : 30 : 10)

(B) 아세토니트릴 : 테트라 하이드로퓨란(70 : 30)

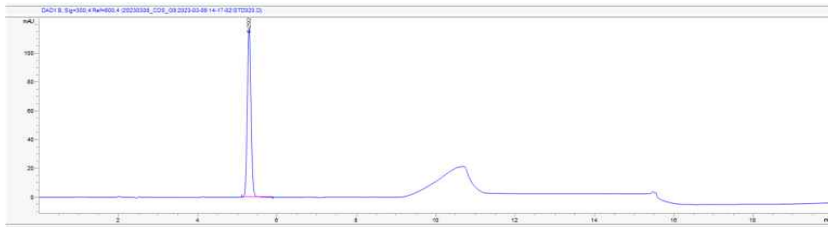
시간	A (%)	B (%)
0	30	70
7	30	70
8	0	100
13	0	100
14	30	70
20	30	70

라) 유속 : 1.0 mL/min

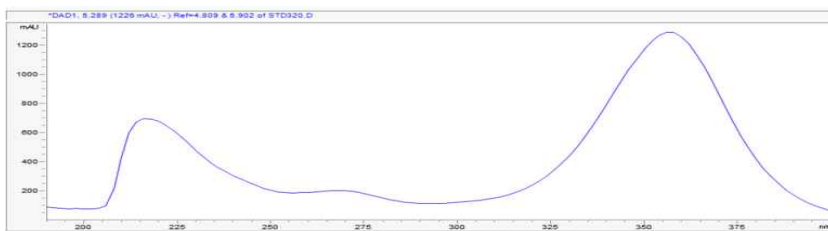
마) 주입량 : 5 μ L

바) 검출기(파장) : 자외부흡광광도계(측정파장 257 nm)

라. 크로마토그램 및 스펙트럼



<액체크로마토그래프 크로마토그램>
디에칠아미노하이드록시벤조일헥실벤조에이트(5.2분)



<디에칠아미노하이드록시벤조일헥실벤조에이트 스펙트럼>

마. 계산식

디에칠아미노하이드록시벤조일헥실벤조에이트의 함량(%) = $C \times V / (S \times 10000) \times$ 희석배수

C : 검량선에서 구한 디에칠아미노하이드록시벤조일헥실벤조에이트의 농도 (μ g/mL)

V : 검액의 최종부피 (mL)

S : 검체 채취량 (g)

10000 : 단위 환산계수

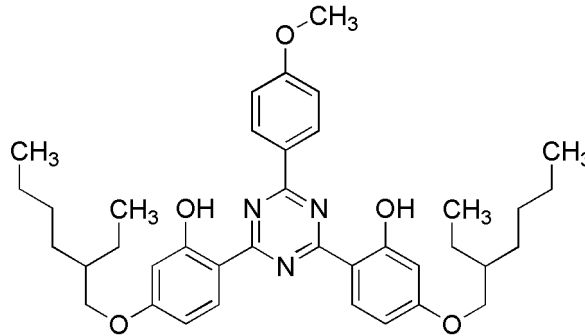
바. 참고문헌

- 1) 의약품 등 시험방법 밸리데이션 가이드라인 해설서, 식품의약품안전처, 2015
- 2) Chinmoy Roy, Jitamanyu CHAKRABARTY : Quality by Design-Based Development of a Stability-Indicating RP-HPLC Method for the Simultaneous Determination of Methylparaben, Propylparaben, Diethylamino Hydroxybenzoyl Hexyl Benzoatem and Octinoxate in Topical harmaceutical Formulation, Scientia Pharmaceutica, 82, 519-539, 2014

10. 비스에칠헥실옥시페놀메톡시페닐트리아진(Bis-Ethylhexyloxyphenol Methoxyphenyl Triazine)

가. 분석물질

- 분자식 : $C_{38}H_{49}N_3O_5$
- 분자량 : 627.81
- 구조식 :



- CAS 번호 : 187393-00-6
- 사용한도 : 10 %

나. 시험방법

검체 약 0.5 g을 정밀하게 달아 100 mL 용량플라스크에 넣고 테트라하이드로퓨란 적당량을 넣어 30분 초음파 진탕하여 검체를 충분히 진탕시킨 후 테트라하이드로퓨란으로 정확하게 100 mL로 한다. 이 액 10 mL를 취하여 50 mL 용량플라스크에 넣은 후 메탄올로 정확하게 50 mL로 하고, 0.2 μ m 멤브레인 필터로 여과한 액을 검액으로 한다. 따로 비스에칠헥실옥시페놀메톡시페닐트리아진 표준품 약 100 mg을 정밀하게 달아 100 mL 용량플라스크에 넣고 테트라하이드로-퓨란을 넣어 정확하게 100 mL로 하여 표준원액으로 한다 (1000 μ g/mL). 이 액을 각각 20, 50, 100, 200, 300 μ g/mL이 되도록 메탄올로 희석하고 0.2 μ m 멤브레인 필터로 여과한 액을 표준액으로 한다.

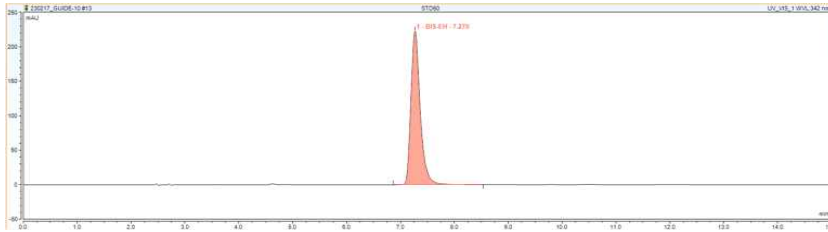
표준액과 검액을 가지고 다음 조작조건으로 「기능성화장품 기준 및 시험방법」 일반시험법의 액체크로마토그래프법 중 절대검량선법에 따라 시험한다. 필요한 경우 표준액의 검량선 범위내에서 검체 채취량과 희석배수를 조정할 수 있다.

다. 시험조작

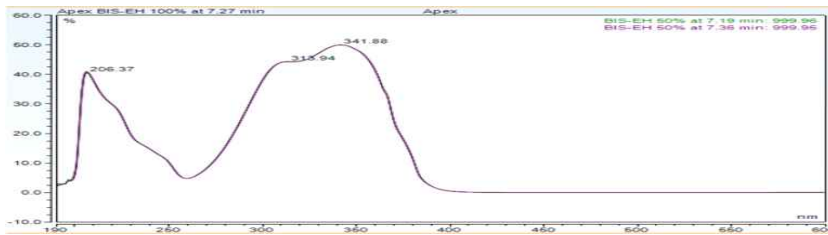
1) 액체크로마토그래프 조작조건

- 가) 칼럼 : Agilent, Zorbax C8(5 μ m, 4.6 mm x 250 mm) 또는 이와 동등 이상의 칼럼
- 나) 칼럼온도 : 25 $^{\circ}$ C
- 다) 이동상 : 메탄올
- 라) 유속 : 1 mL/min
- 마) 주입량 : 10 μ L
- 바) 검출기(파장) : 자외부흡광광도계(측정파장 342 nm)

라. 크로마토그램 및 스펙트럼



<액체크로마토그래프 크로마토그램>
비스에칠헥실옥시페놀메톡시페닐트리아진(7.2분)



<비스에칠헥실옥시페놀메톡시페닐트리아진 스펙트럼>

마. 계산식

비스에칠헥실옥시페놀메톡시페닐트리아진의 함량(%) = $C \times V / (S \times 10000) \times$ 회석배수

C : 검량선에서 구한 비스에칠헥실옥시페놀메톡시페닐트리아진의 농도 ($\mu\text{g/mL}$)

V : 검액의 최종부피 (mL)

S : 검체 채취량 (g)

10000 : 단위 환산계수

바. 참고문헌

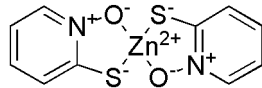
- 1) 의약품 등 시험방법 밸리데이션 가이드라인 해설서(민원인안내서), 식품의약품안전처, 2015.
- 2) L. Dencausse, A. Galland, J. L. Clamou, J. Basso, Validation of HPLC method for quantitative determination of Tinosorb® S and three other dem. *Cosmetic Science*.30, 373-382, 2008
- 3) M,aria A. Khalikova, Eric Lesellier, Eric Chapuzet, Dalibor Satinsky, Caroline West, Development and Validation of ultra-high performance supercritical fluid chromatography method for quantitative determination of nine sunscreens in cosmetic samples. *Analytica Chimica Acta*.1034, 184-194, 2018

IV. 기타

1. 징크피리치온(Zinc Pyrithione)

가. 분석물질

- 분자식 : $C_{10}H_8N_2O_2S_2Zn$
- 분자량 : 317.7
- 구조식 :



- CAS 번호 : 13463-41-7
- 사용한다 : 비듬 및 가려움을 덜어주고 씻어 내는 제품(샴푸, 린스) 및 탈모 증상의 완화에 도움을 주는 화장품에 총 징크피리치온으로서 1.0 %, 기타 제품에는 사용 금지

나. 시험방법

검체 약 0.1 g을 정밀하게 달아 10 mL 용량플라스크에 넣고, 디메틸설폭사이드(DMSO) 3 mL를 넣어 60분간 초음파 진탕하여 검체를 충분히 분산시킨 다음 DMSO를 넣어 정확하게 10 mL로 한다. 이 용액 1 mL, 0.3 mol/L EDTA 용액¹⁾ 1 mL와 0.1 % DPDS 용액²⁾ 1 mL를 각각 10 mL 용량플라스크에 넣은 다음 물을 넣어 정확하게 10 mL로 하고, 상온에서 1시간 동안 반응시킨 액을 검액으로 한다. 따로 징크피리치온 표준품 약 100 mg을 정밀하게 달아 100 mL 용량플라스크에 넣고, DMSO를 넣어 정확하게 100 mL로 한 액을 표준원액으로 한다(1000 μ g/mL). 표준원액 0.5, 1, 5, 10 및 20 mL를 각각 정확하게 취하여 100 mL 용량플라스크에 넣고, DMSO를 넣어 정확하게 100 mL로 한다. 이 액을 각각 1 mL씩 넣은 후 0.3 mol/L EDTA 용액 1 mL 0.1 % DPDS 용액 1 mL를 10 mL 용량플라스크에 넣고 물을 넣어 정확하게 10 mL로 하고, 상온에서 1시간 동안 반응시킨 액을 표준액으로 한다.

표준액과 검액을 가지고 다음 조작조건으로 「기능성화장품 기준 및 시험방법」 일반시험법의 액체크로마토그래프법 중 절대검량선법에 따라 시험한다. 필요한 경우 표준액의 검량선 범위내에서 검체 채취량과 희석배수를 조정할 수 있다.

<주의사항>

징크피리치온의 검량선 작성 시 표준액의 농도는 반응의 희석배수를 고려하여 계산한다.

1) 0.3 mol/L EDTA 용액 : 2Na-EDTA · 2H₂O 11.1672 g을 취해 100 mL 용량플라스크에 넣고 증류수로 표선을 맞추고 투명해질 때까지 완전히 용해시킨다.
2) 0.1 % DPDS(2,2'-Dipyridyl disulfide) 용액 : DPDS 0.1 g을 취해 100 mL 용량플라스크에 넣고 아세토니트릴 (25 mL) 및 증류수 (75 mL)를 넣은 후 초음파 진탕하여 완전히 용해시킨다.

다. 시험조작

1) 액체크로마토그래프 조작조건

가) 칼럼 : C18(5 μ m, 4.6 mm \times 250 mm) 또는 이와 동등 이상의 칼럼

나) 칼럼온도 : 25 $^{\circ}$ C

다) 이동상 : 60 % 아세트니트릴

라) 유속 : 1.0 mL/min

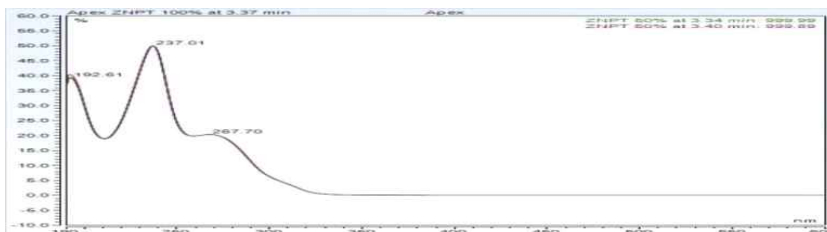
마) 주입량 : 10 μ L

바) 검출기(과장) : 자외부흡광광도계(측정과장 235 nm)

라. 크로마토그램 및 스펙트럼



<액체크로마토그래프 크로마토그램>
징크피리치온(3.3분)



<징크피리치온 스펙트럼>

마. 계산식

징크피리치온의 함량(%) = $C \times V / (S \times 10000) \times$ 회석배수

C : 검량선에서 구한 징크피리치온의 농도 (μ g/mL)

V : 검액의 최종부피 (mL)

S : 검체 채취량 (g)

10000 : 단위 환산계수

바. 참고문헌

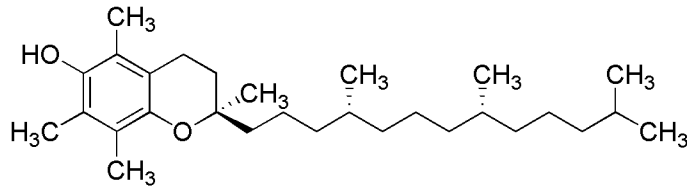
- 1) 화장품 중 배합한도 성분 분석법 개발에 관한연구-자외선차단성분 및 살균보존성분, 식품의약품안전처, 2012
- 2) SAKKAS, V.A., SHIBATA, K. : Aquatic photodegradation study of zinc pyridone : Degradation kinetics and byproduct identification, *Proceedings of the 10th International conference on environmental science and technology*, B-731, 2007

2. 비타민E(토코페롤)

가. 분석물질

1) 토코페롤- α (Tocopherol- α)

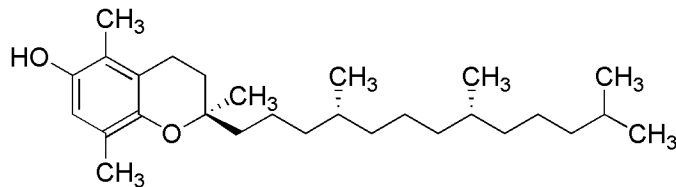
- 분자식 : $C_{29}H_{50}O_2$
- 분자량 : 430.71
- 구조식 :



- CAS 번호 : 59-02-9

2) 토코페롤- β (Tocopherol- β)

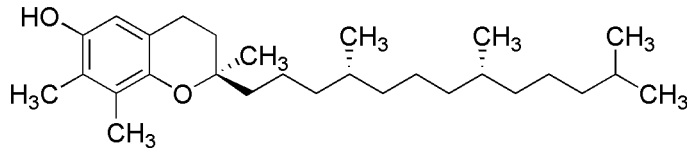
- 분자식 : $C_{28}H_{48}O_2$
- 분자량 : 416.68
- 구조식 :



- CAS 번호 : 16698-35-4

3) 토코페롤- γ (Tocopherol- γ)

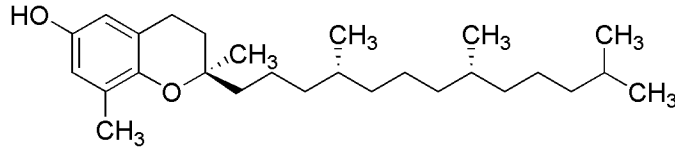
- 분자식 : $C_{28}H_{48}O_2$
- 분자량 : 416.68
- 구조식 :



- CAS 번호 : 54-28-4

4) 토코페롤-δ (Tocopherol-δ)

- 분자식 : C₂₇H₄₆O₂
- 분자량 : 402.65
- 구조식 :



- CAS 번호 : 119-13-1
- 비타민E(토코페롤) 사용 한도: 20 %

나. 시험방법

검체 약 1 g을 정밀하게 달아 100 mL 용량플라스크에 넣고, 메탄올 50 mL 및 내부표준액 0.5 mL를 넣어 초음파 진탕하여 검체를 충분히 분산시킨 후 메탄올을 넣어 정확하게 100 mL로 한다. 이 액을 0.2 μm 멤브레인 필터로 여과한 액을 검액으로 한다. 따로 토코페롤 표준품 약 100 mg을 정밀하게 달아 용량플라스크에 넣고 메탄올을 넣어 정확하게 100 mL로 한 액을 표준원액으로 한다(1000 μg/mL). 표준원액 0.1, 0.2, 0.5, 1 및 2 mL를 정확하게 취하여 각각 100 mL 용량플라스크에 넣고, 내부표준액 0.5 mL와 메탄올을 넣어 정확하게 100 mL로 하여 0.2 μm 멤브레인 필터로 여과한 액을 표준액으로 한다.

표준액과 검액을 가지고 다음 조작조건으로 「기능성화장품 기준 및 시험방법」 일반시험법의 액체크로마토그래프법의 내부표준법으로 시험한다. 필요한 경우 표준액의 검량선 범위 내에서 검체 채취량 또는 희석배수는 조정할 수 있다.

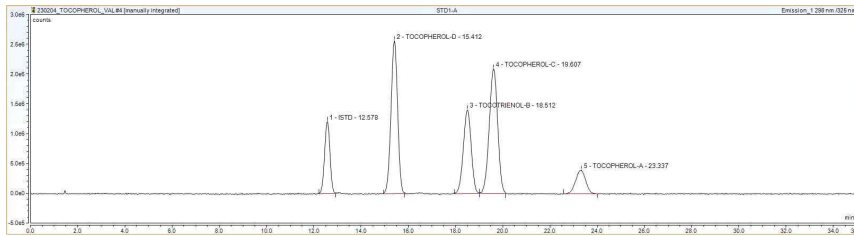
- 내부표준액 : 토콜(Tocol) 표준품 100 mg을 100 mL 용량플라스크에 넣고 메탄올에 넣어 녹여 정확하게 100 mL로 한 액을 내부표준액으로 한다.

다. 시험조작

1) 액체크로마토그래프 조작조건

- 가) 칼럼 : Inspire PFP(5 μm, 4.6 × 250 mm) 또는 이와 동등 이상의 칼럼
- 나) 칼럼온도 : 40℃
- 다) 이동상 : 88 % 메탄올
- 라) 유속 : 1.0 mL/min
- 마) 주입량: 10 μL
- 바) 검출기(파장): 형광광도검출기(여기파장 298 nm, 측정파장 325 nm)

라. 크로마토그램



<액체 크로마토그래프 크로마토그램>
토콜(내부표준물질, 12.5분), 토코페롤- δ (15.4분),
토코페롤- γ (18.5분), 토코페롤- β (19.6분), 토코페롤- α (23.3분)

마. 계산식

비타민E(토코페롤)의 함량(%) = $C \times V / (S \times 10000)$

C : 검량선에서 구한 비타민E(토코페롤)의 농도 ($\mu\text{g/mL}$)

V : 검액의 최종부피 (mL)

S : 검체 채취량 (g)

10000 : 단위 환산계수

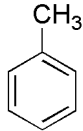
바. 참고문헌

- 1) 의약품 등 시험방법 밸리데이션 가이드라인, 식품의약품안전처, 2015
- 2) 화장품 중 배합한도 성분 분석법 연구, 식품의약품안전처, 2014
- 3) 식품 및 건강기능식품 중 비타민 A, E 동시분석법 개발 연구, 식품의약품안전처, 2018
- 4) Simultaneous HPLC-DAD Analysis of Tocopherols, Phytosterols, and Squalene in Vegetable Oil Deodorizer Distillates, 2014

3. 톨루엔(Toluene)

가. 분석물질

- 분자식 : C₇H₈
- 분자량 : 92.14
- 구조식 :



- CAS 번호 : 108-88-3
- 사용한다 : 손발톱용 제품류에 25 %, 기타 제품에는 사용금지

나. 시험방법

검체 약 1 g을 정밀하게 달아 100 mL 용량플라스크에 넣고, 아세톤 60 mL를 넣어 30분 동안 초음파 진탕하여 검체를 충분히 분산시킨 후 아세톤을 넣어 정확하게 100 mL로 한다. 이 액 1 mL 및 내부표준액 1 mL를 정확하게 취하여 100 mL 용량플라스크에 넣고, 아세톤을 넣어 정확하게 100 mL로 하고, 0.2 μm 멤브레인 필터로 여과한 액을 검액으로 한다. 따로 톨루엔 표준품 약 50 mg을 정밀하게 달아 50 mL 용량플라스크에 넣고, 아세톤을 넣어 정확하게 50 mL로 한 액을 표준원액으로 한다(1000 μg/mL). 표준원액 0.1, 0.5, 1, 2 및 4 mL를 각각 정확하게 취하여 100 mL 용량플라스크에 넣고, 내부표준액 1 mL 및 아세톤을 넣어 정확하게 100 mL로 하고, 0.2 μm 멤브레인 필터로 여과한 액을 표준액으로 한다.

표준액과 검액을 가지고 아래 조작조건으로 기체크로마토그래프-질량분석기로 시험한다. 필요한 경우 표준액의 검량선 범위 내에서 검체 채취량 또는 희석배수는 조정할 수 있다.

○ 내부표준액 : 염화벤질 약 5 mg을 정밀하게 달아 아세톤을 넣어 녹여 50 mL로 한다.

다. 시험조작

1) 기체크로마토그래프-질량분석기 조작조건

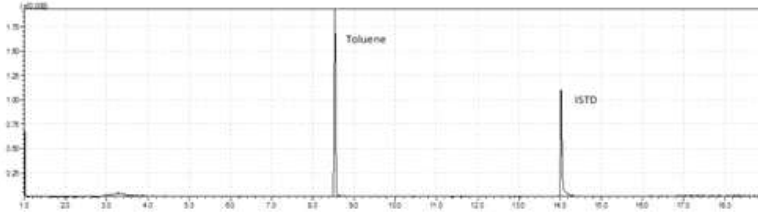
- 가) 칼럼 : Restek, Rix-5MS(0.25 μm, 0.25 mm × 30 m) 또는 이와 동등 이상의 칼럼
- 나) 오븐온도 : 60°C → 100°C(2 min) → 8°C/min → 200°C(5 min)
- 다) 주입구온도 : 250°C
- 라) 주입모드 : 스플릿(20 : 1)
- 마) 운반기체 : 헬륨
- 바) 주입량 : 1 μL
- 마) 검출기 : 질량분석기(Quadrupole, 150°C)
- 사) 인터페이스온도 : 250°C
- 아) 이온소스온도 : 230°C

자) 이온화모드 : Electron Impact(EI)

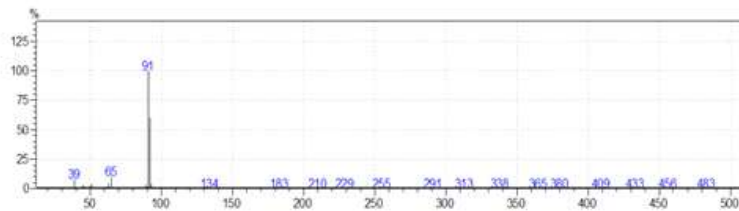
차) 전자에너지 : 70eV

카) 질량분석기 모드 : 선택이온(SIM)모드(65, 91, 92, 126, 128 m/z), solvent delay: 2 min

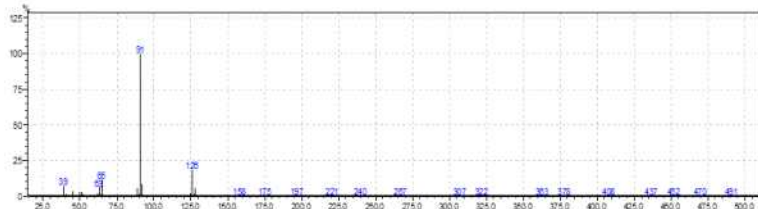
라. 크로마토그램 및 스펙트럼



<액체크로마토그래프 크로마토그램>
톨루엔(8.5분), 염화벤질(내부표준물질, 14분)



<톨루엔 질량 스펙트럼>



<염화벤질 질량 스펙트럼>

마. 계산식

톨루엔의 함량(%) = $C \times V / (S \times 10000) \times$ 회석배수

C : 검량선에서 구한 톨루엔의 농도 ($\mu\text{g/mL}$)

V : 검액의 최종부피 (mL)

S : 검체 채취량 (g)

10000 : 단위 환산계수

바. 참고문헌

- 1) 의약품 등 시험방법 밸리데이션 가이드라인, 식품의약품안전처, 2015
- 2) 화장품 중 배합한도 성분 분석법 연구, 식품의약품안전처, 2014
- 3) Sieg, K., Fries, E., Puttmann, W., Analysis of benzene, toluene, ethylbenzene, xylenes and n-aldehydes in melted snow water via solid-phase dynamic extraction combined with gas chromatography/mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1178, 178-186, 2008

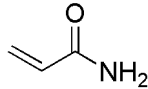
- 4) Ei-Haj, B. M., Al-Amri, A. M., Hassan, M. H., Bin-Khadem, R. K., Al-Hadi, A. A., A GC-MS Method for the Detection of Toluene and Ethylbenzene in Volatile Substance Abuse, *Journal of Analysis Toxicology*, 24, 2000

4. 폴리아크릴아마이드류(Acrylamide)

가. 분석물질

1) 아크릴아마이드(Acrylamide)

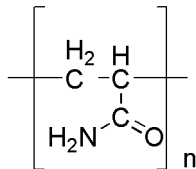
- 분자식 : C_3H_5NO
- 분자량 : 71.08
- 구조식 :



- CAS 번호 : 79-06-1

2) 폴리아크릴아마이드(Polyacrylamide)

- 분자식 : $(C_3H_5NO)_n$
- 구조식 :



- CAS 번호 : 9003-05-8
- 사용한다 : 사용 후 씻어내지 않는 바디화장품에 잔류 아크릴아마이드로서 0.00001 %
기타 제품에 잔류 아크릴아마이드로서 0.00005 %

나. 시험방법

검체 약 1 g을 정밀하게 달아 20 mL 용량플라스크에 넣고, 내부표준액 80 μ L 및 물을 넣어 정확하게 20 mL로 한 후 30분 동안 초음파 진탕하여 검체를 충분히 분산시킨다. 이 액을 10분간 원심분리(4000 rpm, 15 $^{\circ}$ C)하여 상등액을 멤브레인 필터로 여과한 액을 검액으로 한다. 따로 아크릴아마이드 표준품 약 50 mg을 정밀하게 달아 50 mL 용량플라스크에 넣고 물을 넣어 정확하게 50 mL로 한 액을 표준원액으로 한다(1000 μ g/mL). 이 액을 1 mL 정확하게 취하여 100 mL 용량플라스크에 넣고 물을 넣어 정확하게 100 mL로 한다(10 μ g/mL). 10 μ g/mL의 표준액을 각각 0.01, 0.02, 0.04, 0.1, 0.2, 0.4 및 1 mL를 각각 정확하게 취하여 20 mL 용량플라스크에 넣고, 내부표준액 80 μ L 및 물을 넣어 정확하게 20 mL로 하고, 멤브레인 필터로 여과한 액을 표준액으로 한다.

표준액과 검액을 가지고 아래 조작조건으로 액체크로마토그래프법-질량분석기로 시험한다. 필요한 경우 표준액의 검량선 범위 내에서 검체 채취량 또는 희석배수는 조정할 수 있다.

- 내부표준액 : 탄소13 동위원소로 치환된 아크릴아마이드($^{13}C_3$ -acrylamide) 약 1 mg을 정밀하게 달아 정제수에 녹여 정확하게 100 mL로 한다.

다. 시험조작

1) 액체크로마토그래프-질량분석기 조작조건

가) 칼럼 : Waters, ACQUITY UPLC® BEH C18(1.7 μ m, 2.1 mm \times 50 mm) 또는 이와 동등 이상의 칼럼

나) 이동상 : (A) 0.1 % 초산액

(B) 0.1 % 초산 함유 90 % 메탄올

시간	A (%)	B (%)
0	100	0
1	100	0
3	40	60
4	40	60
5	100	0
7	100	0

다) 유속 : 0.2 mL/min

라) 주입량: 5 μ L

마) 다중반응모니터링(MRM, Multiple reaction monitoring) 측정조건

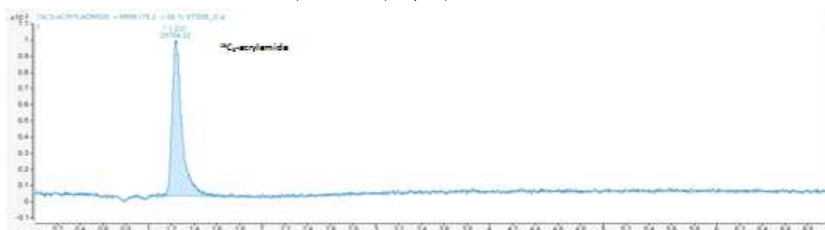
성분명	Exact Mass	[M+H] ⁺ ion	Cone Voltage	Product ions	Collision Energy
아크릴아마이드	71.08	72.08	20	55.02	10
¹³ C ₃ -아크릴아마이드	74.06	75.09	10	58.00	10

* 다중반응모니터링(MRM, multiple reaction monitoring)조건은 기기 상태 및 용매 조건에 의해 변경 가능함

라. 크로마토그램



<액체크로마토그래프 크로마토그램>
아크릴아마이드(1.2분)



<액체크로마토그래프 크로마토그램>
¹³C₃-acrylamide(내부표준물질, 1.2분)

마. 계산식

아크릴아마이드의 함량(%) = $C \times V / (S \times 10000)$

C : 검량선에서 구한 아크릴아마이드의 농도 ($\mu\text{g/mL}$)

V : 검액의 최종부피 (mL)

S : 검체 채취량 (g)

10000 : 단위 환산계수

바. 참고문헌

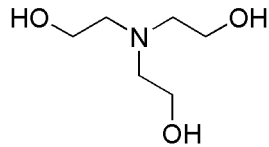
- 1) 의약품 등 시험방법 밸리데이션 가이드라인, 식품의약품안전처, 2015
- 2) 화장품 중 배합한도 성분 분석법 연구, 식품의약품안전처, 2014
- 3) Gokmen, V. : Analysis of Acrylamide by LC/MS, *Building Skills on the Analysis of Thermal Process Contaminants in Foods*, 22-26, 2007
- 4) Cheng, W. C., Kao, Y. M., Shih, D. Y., Chou, S. S., Yeh, A. I. : Validation of an Improved LC/MS/MS Method for Acrylamide Analysis in Food, *Journal of Food and Drug Analysis*, 17(3), 190-197, 2009
- 5) Armond, P. D., Goregorio, A. L. : Characterization of Liquid Chromatography -Tandem Mass Spectrometry Method for the Determination of Acrylamide in Complex Enviromentals Samples, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2013

5. 트리알킬아민, 트리알칸올아민

가. 분석물질

트리에탄올아민(Triethanolamine)

- 분자식 : $N(CH_2CH_2OH)_3$
- 분자량 : 149.19
- 구조식 :



- CAS 번호 : 102-71-6
- 사용한도 : 사용 후 씻어내지 않는 제품에 2.5 %

나. 시험방법

검체 약 1 g을 정밀하게 달아 100 mL 용량플라스크에 넣고, 메탄올 60 mL를 넣어 1시간 동안 초음파 진탕하여 충분히 분산시킨 후 내부표준액 12.5 mL 및 메탄올을 넣어 정확하게 100 mL로 한다. 이 액 1 mL를 정확하게 취하여 250 mL용량플라스크에 넣고, 메탄올을 넣어 정확하게 250 mL로 하여 0.2 μ m 멤브레인 필터로 여과한 액을 검액으로 한다. 따로 트리에탄올아민 표준품 약 100.0 mg을 정밀히 달아 100 mL 용량플라스크에 넣고, 메탄올을 넣어 정확하게 100 mL로 한 액을 표준원액으로 한다(1000 μ g/mL). 표준원액 0.01, 0.02, 0.04, 0.1, 0.2 및 0.4 mL를 각각 정확하게 취하여 200 mL 용량플라스크에 넣고, 내부표준액 0.1 mL 및 메탄올을 넣어 정확하게 200 mL로 하고, 0.2 μ m 멤브레인 필터로 여과한 액을 표준액으로 한다.

표준액과 검액을 가지고 다음 조작조건으로 액체크로마토그래프-질량분석기로 시험한다. 필요한 경우 표준액의 검량선 범위 내에서 검체 채취량 또는 희석배수는 조정할 수 있다.

- 내부표준액 : 트리에탄올아민 중수소-15 치환체(Triethanolamine- d_{15}) 약 20 mg을 정밀하게 달아 메탄올에 녹여 정확하게 10 mL로 한다.

다. 시험조작

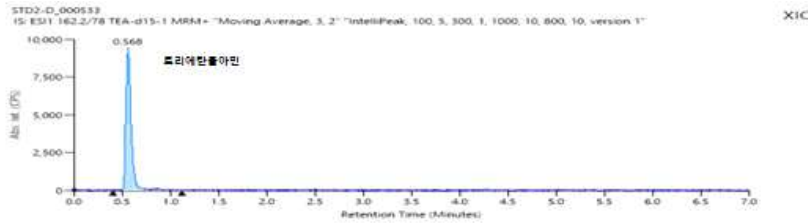
- 1) 액체크로마토그래프-질량분석기 조작조건
 - 가) 칼럼 : C18(1.7 μ m, 2.1 mm x 50 mm) 또는 이와 동등 이상의 칼럼
 - 나) 칼럼온도 : 35°C
 - 다) 이동상 : 2 mmol/L 암모늄아세테이트 : 메탄올(35 : 65)
 - 라) 유속 : 0.2 mL/min
 - 마) 주입량 : 0.4 μ L

바) 다중반응모니터링(MRM, Multiple reaction monitoring) 측정조건

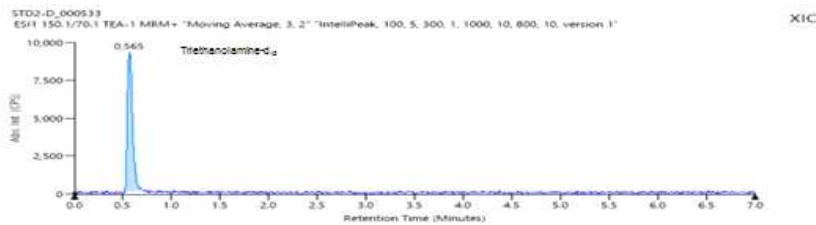
성분명	Exact Mass	[M+H] ⁺ ion	Cone Voltage	Product ions	Collision Energy
트리에탄올아민	149	150.15	20	132.1	15
				88.05	15
트리에탄올아민-d ₁₅ (ISTD)	164.28	162.15	10	144.08	20
				96.00	20
				77.97	20

* 다중반응모니터링(MRM, multiple reaction monitoring)조건은 기기 상태 및 용매 조건에 의해 변경 가능함

라. 크로마토그램



<액체크로마토그래프 크로마토그램>
트리에탄올아민(0.5분)



<액체크로마토그래프 크로마토그램>
트리에탄올아민-d₁₅(내부표준물질, 0.5분)

마. 계산식

트리에탄올아민의 함량(%) = $C \times V / (S \times 10000) \times$ 회석배수

C : 검량선에서 구한 트리에탄올아민의 농도 ($\mu\text{g/mL}$)

V : 검액의 최종부피 (mL)

S : 검체 채취량 (g)

10000 : 단위 환산계수

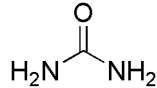
바. 참고문헌

- 1) 의약품 등 시험방법 밸리데이션 가이드라인, 식품의약품안전처, 2015
- 2) Giachetti, C. : Determination of triethanolamine in air samples by gas chromatography-mass spectrometry, Chromatographia, 1998
- 3) Niina, N., Kodamatani, H., Uozumi, K., Kokufu, Y., Saito, K., Yamazaki, S. : Simultaneous detection of monoethanolamine, diethanolamine, and triethanolamine by HPLC with a chemiluminescence reaction and online derivatization to tertiary amine, Analytical Sciences, 2005
- 4) Headley : Determination of alkanolamines in cattails(*Typhalatifolia*) utilizing electrospray ionization with selected reaction monitoring and ion-exchange chromatography, Rapid Commun. Mass Spectrom., 15, 1629-1634, 2004
- 5) Derivatization to Yamazaki: Simultaneous Detection of Monoethanolamine, Diethanolamine, and Triethanolamine by HPLC with a Chemiluminescence Reaction and Online, Analytical Sciences, 21, 497-500, 2005

6. 우레아(Urea)

가. 분석물질

- 분자식 : $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$
- 분자량 : 60.06
- 구조식 :



- CAS 번호 : 57-13-6
- 사용한도 : 10 %

나. 시험방법

검체 약 1 g을 정밀하게 달아 200 mL 용량플라스크에 넣고, 아세트니트릴 50 mL 및 내부표준액 1 mL를 넣고 60분 동안 초음파 진탕하여 검체를 충분히 분산시킨다. 여기에 아세트니트릴을 넣어 정확하게 200 mL로 하고, 멤브레인 필터로 여과한 액을 검액으로 한다. 따로 우레아 표준품 약 50 mg을 정밀하게 달아 10 mL 용량플라스크에 넣고, 아세트니트릴을 넣어 정확하게 10 mL로 한 액을 표준원액으로 한다(5000 $\mu\text{g/mL}$). 이 액 각각 1, 2, 3, 5 및 10 mL을 정확하게 취하여 100 mL 용량플라스크에 넣고, 내부표준액 0.5 mL 및 아세트니트릴을 넣어 정확하게 100 mL로 하고, 멤브레인 필터로 여과한 액을 표준액으로 한다.

표준액과 검액을 가지고 다음 조작조건으로 「기능성화장품 기준 및 시험방법」 일반시험법의 액체크로마토그래프법의 내부표준법으로 시험한다. 필요한 경우 표준액의 검량선 범위 내에서 검체 채취량 또는 희석배수는 조정할 수 있다.

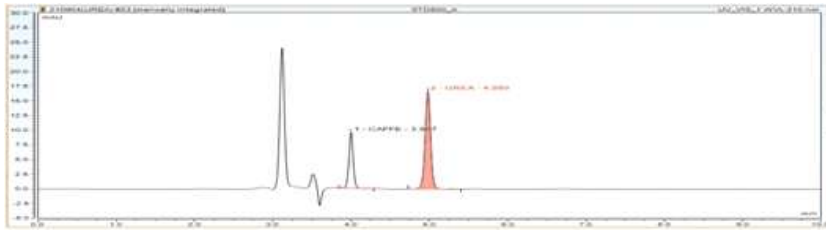
- 내부표준액 : 카페인 표준품 약 5 mg을 정밀하게 달아 아세트니트릴에 녹여 정확하게 50 mL로 한다.

다. 시험조작

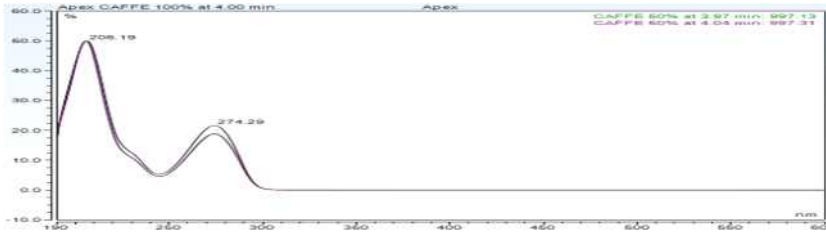
1) 액체크로마토그래프 조작조건

- 가) 칼럼 : HILIC(5 μm , 4.6 mm x 250 mm) 또는 이와 동등 이상의 칼럼
- 나) 칼럼온도 : 25°C
- 다) 이동상 : 1 % 인산 용액 : 아세트니트릴(10 : 90)
- 라) 유속 : 1.0 mL/min
- 마) 주입량 : 10 μL
- 바) 검출기(파장) : 자외부흡광광도계(측정파장 210 nm)

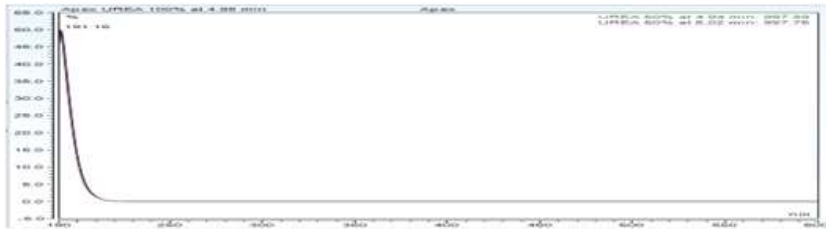
라. 크로마토그램 및 스펙트럼



<액체크로마토그래프 크로마토그램 >
카페인(내부표준물질, 3.9분), 우레아(4.9분)



<카페인(내부표준물질) 스펙트럼>



<우레아 스펙트럼>

마. 계산식

$$\text{우레아의 함량(\%)} = C \times V / (S \times 10000)$$

C : 검량선에서 구한 우레아의 농도 ($\mu\text{g/mL}$)

V : 검액의 최종부피 (mL)

S : 검체 채취량 (g)

10000 : 단위 환산계수

바. 참고문헌

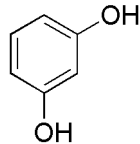
- 1) 의약품 등 시험방법 밸리데이션 가이드라인, 식품의약품안전처, 2015
- 2) 화장품 사용한도 성분 분석법 개발, 식품의약품안전처, 2016
- 3) Doi, T., Kajimura, K. : Simultaneous measurement of diazolidinyl urea, urea, and allantoin in cosmetic samples by hydrophilic interaction chromatography, *Osaka Prefectural Institute of Public Health*, 877, 1005-1010, 2009
- 4) Chester, L. B., Licea-perez, H. : Development of sensitive and selective LC-MS/MS method for the determination of urea in human epithelial lining fluid, *Bioanalytical Science and Toxicokinetics*, 917-918, 24-29, 2013
- 5) Pibarot, P., Nestle, S. P. : Analysis of Urea in Petfood Matrices: Comparison of Spectro-Colorimetric, Enzymatic and Liquid Chromatography Electrospray Ionization

High Resolution Mass Spectrometry Methods, *Research and Development Centers*, 3,
613-621, 2012

7. 레조시놀(Resorcinol)

가. 분석물질

- 분자식 : $C_6H_6O_2$
- 분자량 : 110.10
- 구조식 :



- CAS 번호 : 108-46-3
- 사용한도 : 산화염모제에 용법·용량에 따른 혼합물의 염모성분으로서 2.0 %
기타제품에 0.1 %

나. 시험방법

산화형 염모제는 약 0.5 g을 정밀하게 달아 메탄올 50 mL를 넣고 초음파 진탕하여 충분히 분산시킨 후 메탄올을 넣어 정확하게 500 mL로 한다. 이 액 5 mL를 취해 메탄올을 넣어 정확하게 20 mL로 한다. 기타 제품은 약 0.5 g을 정밀하게 달아 메탄올 50 mL를 넣고 초음파 진탕하여 충분히 분산시킨 후 메탄올을 넣어 정확하게 100 mL로 한다. 이 액을 0.45 μ m 이하의 멤브레인 필터로 여과한 액을 검액으로 한다. 따로 레조시놀 표준품 약 10 mg을 정밀하게 달아 100 mL 용량플라스크에 넣고, 메탄올을 넣어 정확하게 100 mL로 하여 표준원액으로 한다(100 μ g/mL). 이 액 각각 1, 2, 5, 10 및 20 mL를 정확하게 취하여 메탄올을 넣어 정확하게 100 mL로 하고 공경 0.45 μ m 이하의 멤브레인 필터로 여과한 액을 표준액으로 한다.

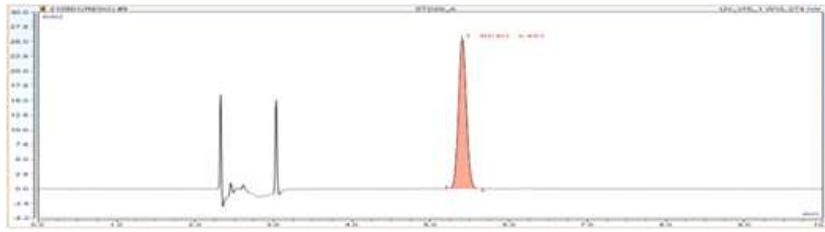
표준액과 검액을 가지고 다음 조작조건으로 「기능성화장품 기준 및 시험방법」 일반시험법의 액체크로마토그래프법 중 절대검량선법에 따라 시험한다. 필요한 경우 표준액의 검량선 범위내에서 검체 채취량과 희석배수를 조정할 수 있다.

다. 시험조작

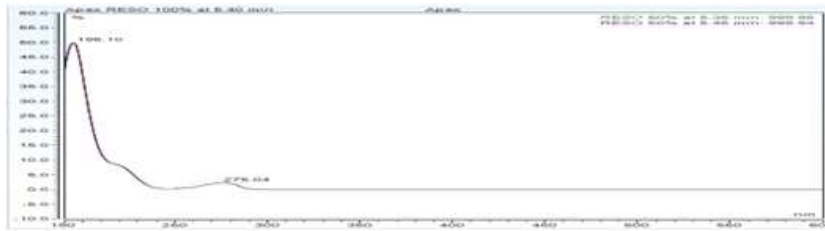
1) 액체크로마토그래프 조작조건

- 가) 칼럼 : C18(5 μ m, 4.6 mm x 250 mm) 또는 이와 동등 이상의 칼럼
- 나) 칼럼온도 : 35°C
- 다) 이동상 : 85 % 아세토니트릴
- 라) 유속 : 1.0 mL/min
- 마) 주입량 : 10 μ L
- 바) 검출기(파장) : 자외부흡광광도계(측정과장 274 nm)

라. 크로마토그램 및 스펙트럼



<액체크로마토그래프 크로마토그램>
레조시놀(6.4분)



<레조시놀 스펙트럼>

마. 계산식

- 산화형 염모제

레조시놀의 함량(%) = $C \times V / (S \times 10000) \times \text{희석배수}$

C : 검량선에서 구한 레조시놀의 농도 ($\mu\text{g/mL}$)

V : 검액의 최종부피 (mL)

S : 검체 채취량 (g)

10000 : 단위 환산계수

- 기타제품

레조시놀의 함량(%) = $C \times V / (S \times 10000)$

C : 검량선에서 구한 레조시놀의 농도 ($\mu\text{g/mL}$)

V : 검액의 최종부피 (mL)

S : 검체 채취량 (g)

10000 : 단위 환산계수

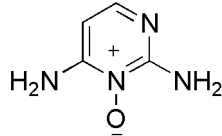
바. 참고문헌

- 1) 의약품 등 시험방법 밸리데이션 가이드라인 해설서, 2015
- 2) Ronald, L : Determination of phenol, resorcinol, salicylic acid and α -hydroxy acids in cosmetic products and salon preparations, *Journal of Cosmetic science*, 50, 315-325, 1999
- 3) Penner, N. A : Use of Hypercrosslinked Polystyrene for the Determination of Pyrocatechol, Resorcinol, and Hydroquinone by Reversed-Phase HPLC with Dynamic On-line Preconcentration, *Journal of Analytical Chemistry*, 56(10), 934-939, 2001

8. 2,4-디아미노-피리미딘-3-옥사이드(2,4-Diamino-pyrimidine-3-Oxide)

가. 분석물질

- 분자식 : C₄H₆N₄O
- 분자량 : 126.12
- 구조식 :



- CAS 번호 : 74638-76-9
- 사용한다 : 두발용 제품에 1.5 %, 기타 제품에는 사용금지

나. 시험방법

검체 약 1 g을 정밀하게 달아 100 mL 용량플라스크에 넣고, 아세토니트릴 적당량을 넣어 초음파 진탕하여 검체를 충분히 분산시킨다. 여기에 아세토니트릴을 넣어 정확하게 100 mL로 하고 4,000 rpm으로 10분간 원심분리한다. 이 상등액 1 mL를 정확하게 취하여 10 mL 용량 플라스크에 넣고 아세토니트릴로 정확하게 10 mL로 하여 0.45 μm 멤브레인 필터로 여과한 액을 검액으로 한다. 따로 2,4-디아미노-피리미딘-3-옥사이드 표준품 약 10 mg을 정밀하게 달아 100 mL 용량플라스크에 넣고 아세토니트릴을 넣어 정확하게 100 mL로 하여 표준원액으로 한다(100 μg/mL). 이 액을 각각 10, 20, 50, 150, 200, 250 μg/mL이 되도록 아세토니트릴로 희석하여 0.45 μm 멤브레인 필터로 여과한 액을 표준액으로 한다.

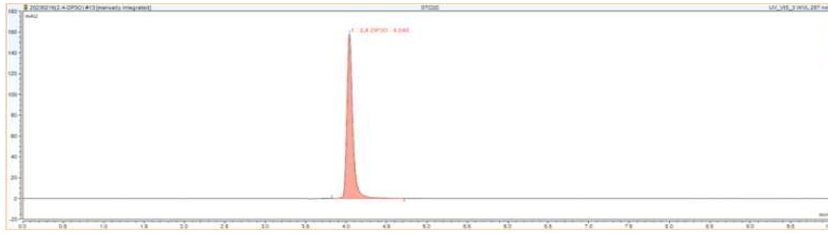
표준액과 검액을 가지고 다음 조작조건으로 「기능성화장품 기준 및 시험방법」 일반시험법의 액체크로마토그래프법 중 절대검량선법에 따라 시험한다. 필요한 경우 표준액의 검량선 범위내에서 검체 채취량과 희석배수를 조정할 수 있다.

다. 시험조작

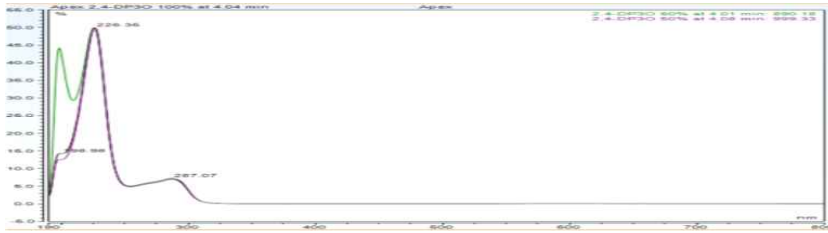
1) 액체크로마토그래프법 조작조건

- 가) 칼럼 : C18(5 μm, 4.6 mm x 250 mm) 또는 이와 동등 이상의 칼럼
- 나) 칼럼온도 : 40℃
- 다) 이동상 : 10 mM Ammonium Acetate : Acetonitrile(30: 70)
- 라) 유속 : 0.5 mL/min
- 마) 주입량 : 10 μL
- 바) 검출기(파장) : 자외부흡광광도계(측정파장 287 nm)

라. 크로마토그램 및 스펙트럼



<액체크로마토그래프 크로마토그램>
2,4-디아미노-피리미딘-3-옥사이드(2.4분)



<2,4-디아미노-피리미딘-3-옥사이드 스펙트럼>

마. 계산식

2,4-디아미노-피리미딘-3-옥사이드의 함량(%) = $C \times V / (S \times 10000) \times$ 회석배수

C : 검량선에서 구한 2,4-디아미노-피리미딘-3-옥사이드의 농도 ($\mu\text{g/mL}$)

V : 검액의 최종부피 (mL)

S : 검체 채취량 (g)

10000 : 단위 환산계수

마. 참고문헌

- 1) 의약품 등 시험방법 밸리데이션 가이드라인 해설서, 식품의약품안전처, 2015
- 2) M.RUDRAPAL, B.V.V.S. SURYA KIRAN, N.SRIDHAR and M. RAGHAVENDRA : Development and Validation of RP-HPLC Method for Simultaneous Estimation of Minoxidil and Aminexil in Topical Formulation, *Asian Journal of Chemistry*, 28, 157-160, 2016

V. 퍼머넌트웨이브 및 헤어스트레이트너

1. 치오글라이콜릭애씨드, 시스테인, 아세틸시스테인, 디치오디글라이콜릭애씨드, 시스틴, 디아세틸시스틴의 동시분석법

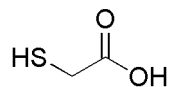
가. 분석물질

1) 치오글라이콜릭애씨드(Thioglycolic acid)

- 분자식 : $C_2H_4O_2S$

- 분자량 : 92.11

- 구조식 :



- CAS 번호 : 68-11-1

- 사용한도 :

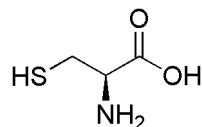
- 퍼머넌트웨이브용 및 헤어스트레이트너 제품에 치오글라이콜릭애씨드로서 11 % (다만, 가온2육식 헤어스트레이트너 제품의 경우에는 치오글라이콜릭애씨드로서 5 %, 치오글라이콜릭애씨드 및 그 염류를 주성분으로 하고 제1제 사용시 조제하는 발열2육식 퍼머넌트웨이브용 제품의 경우 치오글라이콜릭애씨드로서 19 %에 해당하는 양)
- 제모용 제품에 치오글라이콜릭애씨드로서 5 %
- 염모제에 치오글라이콜릭애씨드로서 1 %
- 사용 후 씻어내는 두발용 제품류에 2 %
- 기타 제품에는 사용금지

2) 시스테인(L-Cysteine)

- 분자식 : $C_2H_7NO_2S$

- 분자량 : 92.11

- 구조식 :



- CAS 번호 : 52-90-4

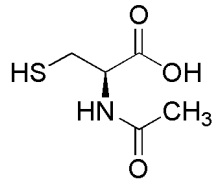
- 사용한도 : 퍼머넌트웨이브용 제품이 시스테인으로서 3.0~7.5 % (다만, 가온2육식 퍼머넌트웨이브용 제품의 경우에는 시스테인으로서 1.5~5.5 %, 안정제로서 치오글라이콜릭애씨드의 양을 최대한 1.0 %로 했을 때 주성분인 시스테인의 양은 6.5 %를 초과할 수 없다)

3) 아세틸시스테인(N-Acetyl-L-cysteine) 및 그 염류

- 분자식 : $C_5H_9NO_3S$

- 분자량 : 163.19

- 구조식 :



- CAS 번호 : 616-91-1

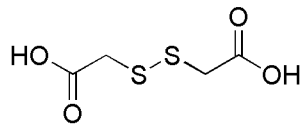
- 사용한도 : 퍼머넌트웨이브용 제품에 시스테인으로서 3.0~7.5 % (다만, 가온2육식 퍼머넌트웨이브용 제품의 경우에는 시스테인으로서 1.5~5.5 %, 안정제로서 치오글라이콜릭애씨드 1.0 %를 배합할 수 있으며, 첨가하는 치오글라이콜릭애씨드의 양을 최대한 1.0 %로 했을 때 주성분인 시스테인의 양은 6.5 %를 초과할 수 없다.)

4) 디치오디글라이콜릭애씨드(Dithiodiglycolic Acid)

- 분자식 : $C_4H_6O_4S_2$

- 분자량 : 182.21

- 구조식 :



- CAS 번호 : 505-73-7

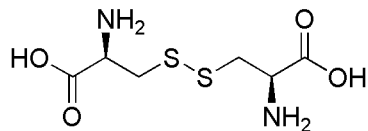
- 사용한도 : SOD2육식 및 가온2육식(고온정발용열기구 포함) 퍼머넌트웨이브용 및 헤어스트레이트너 제품의 경우 환원 후의 환원성 물질로 4.0 %, 냉1육식 및 제1제 사용시 조제하는 발열2육식 퍼머넌트웨이브용 제품의 경우 환원후의 환원성 물질로 0.5 %

5) 시스틴(L-Cystine)

- 분자식 : $C_6H_{12}N_2O_4S_2$

- 분자량 : 240.29

- 구조식 :

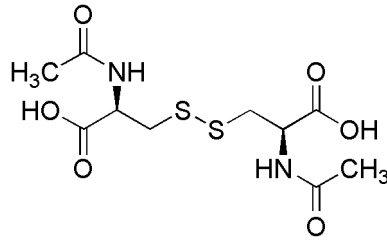


- CAS 번호 : 56-89-3

- 사용한도 : 0.65 %

6) 디아세틸시스틴(N,N'-diacetyl-L-cystine)

- 분자식 : C₁₀H₁₆N₂O₆S₂
- 분자량 : 324.38
- 구조식 :



- CAS 번호 : 5545-17-5
- 사용한도 : 시스틴으로서 0.65 %

나. 시험방법

검체 약 1 g을 정밀하게 달아 200 mL 용량플라스크에 넣고, 묽은 염산 10 mL 및 정제수를 넣어 정확하게 200 mL로 한다. 이 액에 클로로포름 20 mL를 가하여 2회 추출한 후 물층을 취하여 원심분리하고 상등액을 취하여 멤브레인 필터로 여과한 액을 검액으로 한다. 시스틴, 시스테인 표준품 10.0 mg을 정밀하게 달아 10 mL 용량플라스크에 넣고, 0.1 mol/L 염산 5 mL에 완전히 용해 후 정제수를 넣어 10 mL로 한 액을 표준 원액으로 한다(1000 μg/mL, 동시분석 그룹1). 치오글라이콜릭애씨드, 아세틸시스테인, 디치오디글라이콜릭애씨드, 디아세틸시스틴 표준품 10 mg을 각각 정밀하게 달아 10 mL 용량플라스크에 넣고 정제수를 넣어 10 mL로 한다(1000 μg/mL, 동시분석 그룹2). 이 액 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1 및 2 mL를 정확하게 취하여 10 mL 용량플라스크에 넣고 물을 넣어 정확하게 10 mL로 하고, 멤브레인 필터로 여과한 액을 표준액으로 한다.

표준액과 검액을 가지고 다음 조작조건으로 「기능성화장품 기준 및 시험방법」 일반시험법의 액체크로마토그래프법 중 절대검량선법에 따라 시험한다. 필요한 경우 표준액의 검량선 범위내에서 검체 채취량과 희석배수를 조정할 수 있다.

다. 시험조작

1) 액체크로마토그래프 조작조건

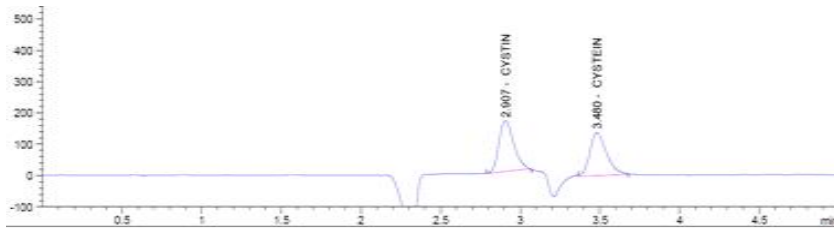
* 그룹1(시스틴, 시스테인)

- 가) 칼럼 : Shiseido, Capcell Pak C18(5 μm, 4.6 x 250 mm) 또는 이와 동등 이상의 칼럼
- 나) 칼럼온도 : 25°C
- 다) 이동상 : 2 % 삼불화초산
- 라) 유속 : 1.0 mL/min
- 마) 주입량: 20 μL
- 바) 검출기(파장): 자외부흡광광도계(측정파장: 200 nm)

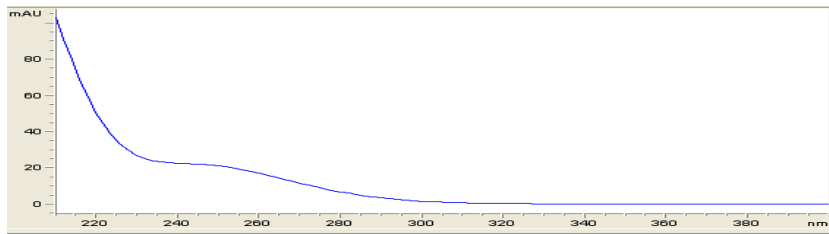
- * 그룹2(치오글라이콜릭애씨드, 디치오글라이콜릭애씨드, 아세틸시스테인, 디아세틸시스틴)
- 가) 칼럼 : Shiseido, Capcell Pak C18(5 μ m, 4.6 x 250 mm) 또는 이와 동등 이상의 칼럼
- 나) 칼럼온도 : 25°C
- 다) 이동상 : 0.1 % 인산을 함유한 4 mol/L 헥산설폰산나트륨액 : 아세토니트릴(95 : 5)
- 라) 유속 : 1.0 mL/min
- 마) 주입량 : 20 μ L
- 바) 검출기(파장) : 자외부흡광광도계(측정파장: 215 nm)

라. 크로마토그램 및 스펙트럼

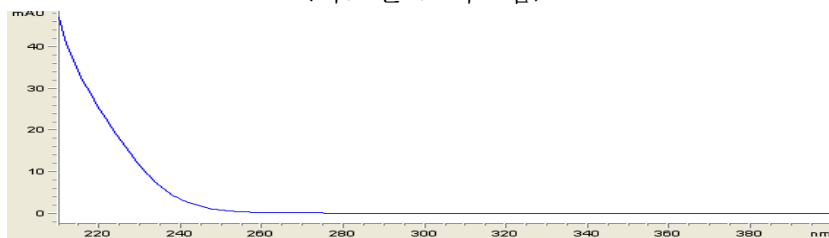
- 그룹 1



< 액체크로마토그래프 크로마토그램 >
시스틴(2.9분), 시스테인(3.4분)

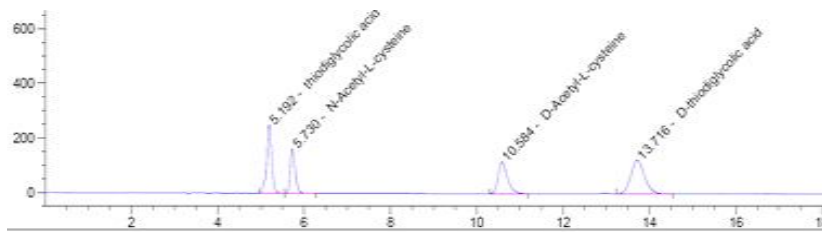


<시스틴 스펙트럼>

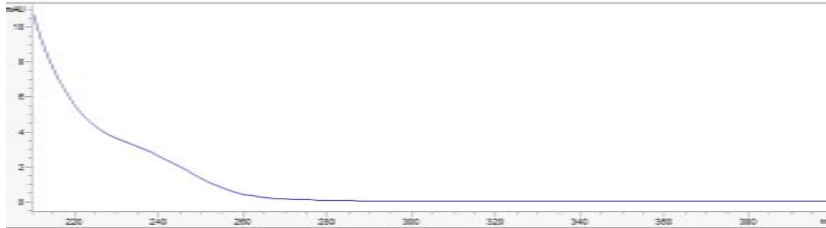


<시스테인 스펙트럼>

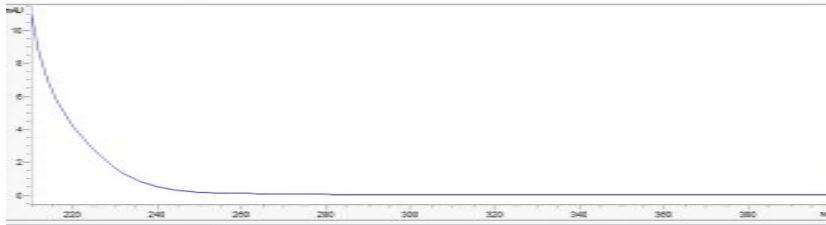
- 그룹 2



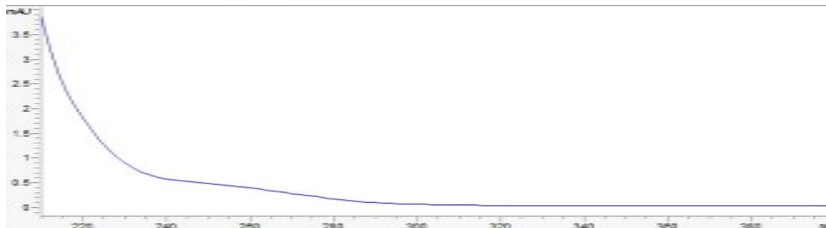
<액체크로마토그래프 크로마토그램 >
 치오글라이콜릭애씨드(5.1분), 아세틸시스테인(5.7분),
 디아세틸시스틴(10.5분), 디치오글라이콜릭애씨드(13.7분)



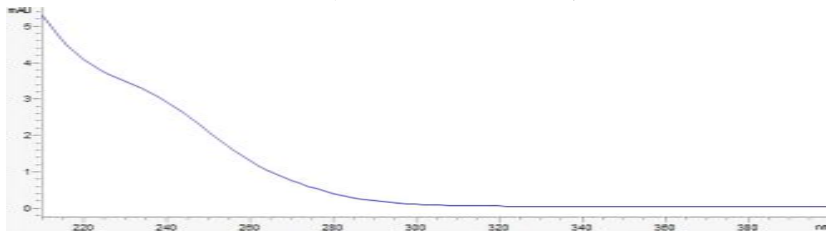
<치오글라이콜릭애씨드 스펙트럼>



<아세틸시스테인 스펙트럼>



<디아세틸시스틴 스펙트럼>



<디치오글라이콜릭애씨드 스펙트럼>

마. 계산식

각 성분의 함량(%) = $C \times V / (S \times 10000)$

C : 검량선에서 구한 각 성분의 농도 ($\mu\text{g/mL}$)

V : 검액의 최종부피 (mL)

S : 검체 채취량 (g)

10000 : 단위 환산계수

바. 참고문헌

- 1) 의약품 등 시험방법 밸리데이션 가이드라인 해설서, 식품의약품안전처, 2015
- 2) 퍼머넌트웨이브제의 기준규격 개선연구, 식품의약품안전처, 2016
- 3) Oikawa, D., Takeuchi, W., Murata, S., Takahashi, K., Sekine, Y. : Measurement of concentrations of thioglycolic acid, dithiodiglycolic acid and ammonia in indoor air of a beauty salon. *J. Occup. Health.*, 54, 370-375, 2012
- 4) Xie, N., Ding, X., Wang, X., Wang, P., Zhao, S., Wang, Z. : Determination of thioglycolic acid in cosmetics by capillary electrophoresis. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 88, 509-512, 2014
- 5) Zen, J. M., Yang, H. H., Chiu, M. H., Chen, Y. J., Shih, Y. : Determination of thioglycolic acid in hair-waving products by disposable electrochemical sensor coupled with high-performance liquid chromatography. *J. AOAC Int.*, 92, 574-579, 2009

VI. 색소

1. 녹색204호, 황색4호, 적색2호, 청색2호의 동시분석법

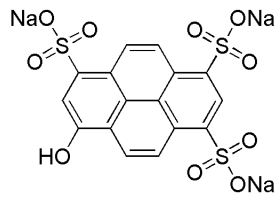
가. 분석물질

1) 녹색204호(피라닌콘크, Pyranine Conc)

- 분자식 : $C_{16}H_7Na_3O_{10}S_3$

- 분자량 : 524.39

- 구조식 :



- CAS 번호 : 6358-69-6

- CI 번호 : 59040

- 사용한도 : 0.01 %

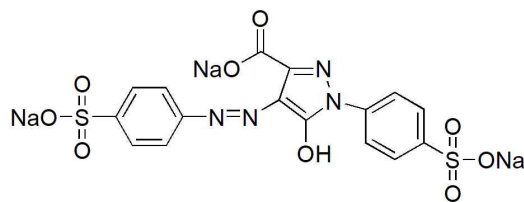
- 사용제한 : 눈 주위 및 입술에 사용할 수 없음

2) 황색4호(타르트라진, Tartrazine)

- 분자식 : $C_{16}H_9N_4Na_3O_9S_2$

- 분자량 : 534.36

- 구조식 :



- CAS 번호 : 1934-21-0

- CI 번호 : 19140

- 사용한도 : -

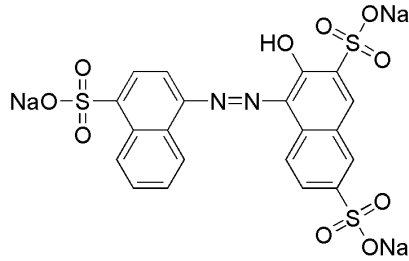
- 사용제한 : -

3) 적색2호(아마란트, Amaranth)

- 분자식 : $C_{20}H_{11}N_2Na_3O_{10}S_3$

- 분자량 : 604.47

- 구조식 :



- CAS 번호 : 915-67-3

- CI 번호 : 16185

- 사용한도 : -

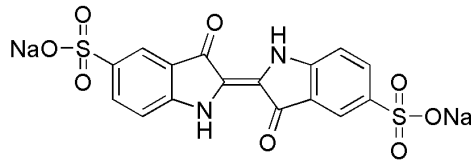
- 사용제한 : 영유아용 제품류 또는 만 13세 이하 어린이가 사용할 수 있음을 특정하여 표시하는 제품에 사용할 수 없음

4) 청색2호(인디고카르민, Indigo Carmine)

- 분자식 : $C_{16}H_8N_2Na_2O_8S_2$

- 분자량 : 466.35

- 구조식 :



- CAS 번호 : 860-22-0

- CI 번호 : 73015

- 사용한도 : -

- 사용제한 : -

나. 시험방법

검체 약 0.25 g을 정밀하게 달아 정제수 적당량을 넣어 30분 초음파 진탕 후 정확하게 50 mL로 하여 0.2 μ m PVDF 필터로 여과한 액을 검액으로 한다. 따로 색소4종(녹색204호, 황색4호, 적색2호, 청색2호) 표준품 약 10.0 mg을 정밀하게 달아 정제수를 넣어 정확하게 10 mL로 하여 표준원액으로 한다(1000 μ g/mL). 이 표준원액을 정제수로 희석하여 각각 0.5, 1, 2.5, 5, 10, 20, 40, 80 μ g/mL이 되도록 한 액을 검량선용 표준액으로 한다.

표준액과 검액을 가지고 다음 조작조건으로 「기능성화장품 기준 및 시험방법」 일반시험법의 액체크로마토그래프법 중 절대검량선법에 따라 시험한다. 필요한 경우 표준액의 검량선 범위내에서 검체 채취량과 희석배수를 조정할 수 있다.

다. 시험조작

1) 액체크로마토그래프 조작조건

가) 칼럼 : Xbridge C18(5 μ m, 4.6 m \times 250 mm) 또는 이와 동등 이상의 칼럼

나) 칼럼온도 : 40 $^{\circ}$ C

다) 이동상 : (A) 10 mmol/L 포름산 암모늄 수용액

(B) 아세토니트릴 : 메탄올(1 : 1)

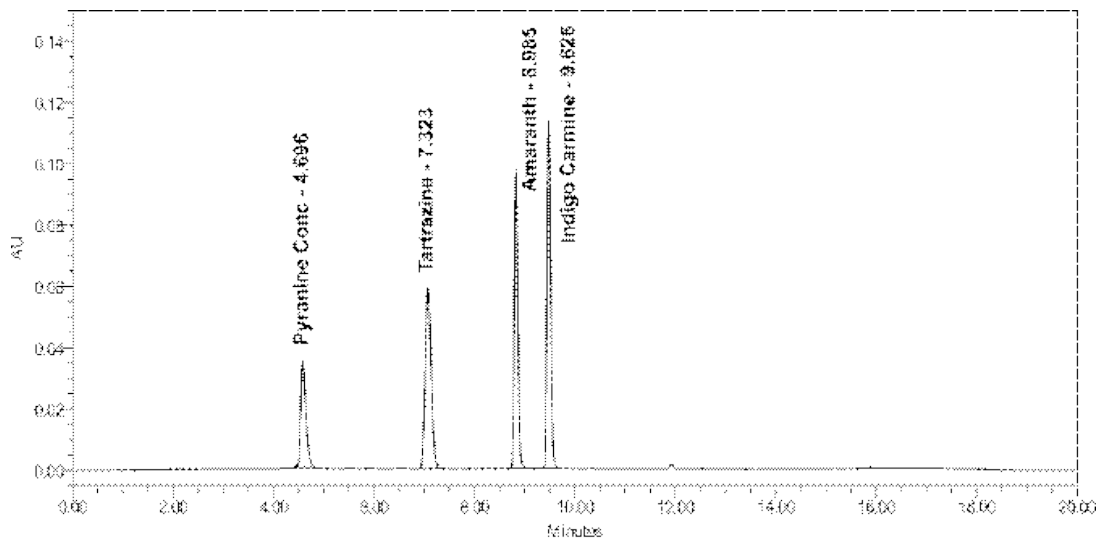
시간(분)	A(%)	B(%)
0.0	95	5
10.0	60	40
15.0	95	5
20.0	95	5

라) 유속 : 0.5 mL/min

마) 주입량: 10 μ L

바) 검출기(과장): 자외부흡광광도계(측정과장: 254 nm)

라. 크로마토그램



<액체크로마토그래프 크로마토그램>

녹색204호(4.6분), 황색4호(7.3분), 적색2호(8.9분), 청색2호(9.6분)

마. 계산식

각 성분의 함량(%) = $C \times V / (S \times 10000)$

C : 검량선에서 구한 각 성분의 농도 (μ g/mL)

V : 검액의 최종부피 (mL)

S : 검체 채취량 (g)

10000 : 단위 환산계수

바. 참고문헌

1. 의약품 등 시험방법 밸리데이션 가이드라인 해설서(민원인안내서), 식품의약품안전처, 2017
2. Fast separation of synthetic/artificial food colors on agilent poroshell 120 EC-C18, Agilent technologies, 2012
3. Fast HPLC analysis of dyes in foods and beverages, Thermo scientific.

2. 적색102호, 적색40호, 황색202호의(1), 적색103호의(1), 등색205호, 자색401호의 동시분석법

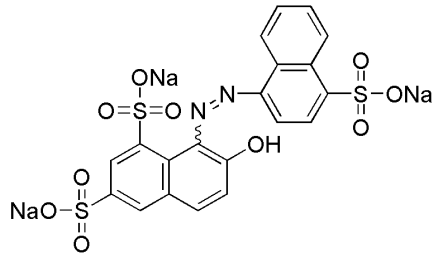
가. 분석물질

1) 적색102호(뉴코신, New Coccine)

- 분자식 : $C_{20}H_{11}N_2Na_3O_{10}S_3$

- 분자량 : 604.47

- 구조식 :



- CAS 번호 : 2611-82-7

- CI 번호 : 16255

- 사용한도 : -

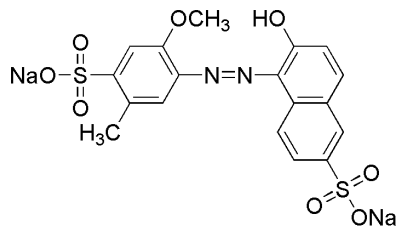
- 사용제한 : 영유아용 제품류 또는 만 13세 이하 어린이가 사용할 수 있음을 특정하여 표시하는 제품에 사용할 수 없음

2) 적색40호(알루라레드 AC, Allura Red AC)

- 분자식 : $C_{18}H_{14}N_2Na_2O_8S_2$

- 분자량 : 496.42

- 구조식 :



- CAS 번호 : 25956-17-6

- CI 번호 : 16035

- 사용한도 : -

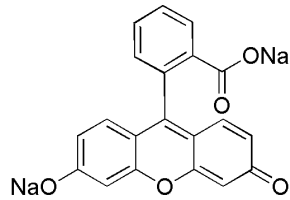
- 사용제한 : -

3) 황색202호의(1)(우라닌, Uranine)

- 분자식 : $C_{20}H_{10}Na_2O_5$

- 분자량 : 376.27

- 구조식 :



- CAS 번호 : 518-47-8

- CI 번호 : 45350

- 사용한도 : 6 %

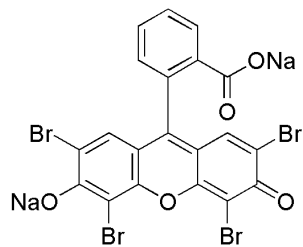
- 사용제한 : -

4) 적색103호의(1)(에오신 YS, Eosine YS)

- 분자식 : $C_{20}H_6Br_4Na_2O_5$

- 분자량 : 691.85

- 구조식 :



- CAS 번호 : 17372-87-1

- CI 번호 : 45380

- 사용한도 : -

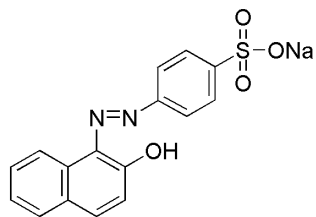
- 사용제한 : 눈 주위에 사용할 수 없음

5) 등색205호(오렌지 II, Orange II)

- 분자식 : $C_{16}H_{11}N_2NaO_4S$

- 분자량 : 350.32

- 구조식 :



- CAS 번호 : 633-96-5

- CI 번호 : 15510

- 사용한도 : -

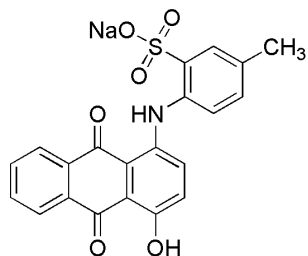
- 사용제한 : 눈 주위에 사용할 수 없음

6) 자색401호(알리주롤 퍼플, Alizurol Purple)

- 분자식 : $C_{21}H_{15}NNaO_6S$

- 분자량 : 431.40

- 구조식 :



- CAS 번호 : 4430-18-6

- CI 번호 : 60730

- 사용한도 : -

- 사용제한 : 눈 주위 및 입술에 사용할 수 없음

나. 시험방법

검체 약 0.25 g을 정밀하게 달아 1 % 아세토니트릴 적당량을 넣어 30분 초음파 진탕 후 정확하게 50 mL로 하여 0.2 μ m PVDF 필터로 여과한 액을 검액으로 한다. 따로 색소6종 (적색102호, 적색40호, 황색202호의(1), 적색103호의(1), 등색205호, 자색401호) 표준품 약 10.0 mg을 정밀하게 달아 1 % 아세토니트릴을 넣어 정확하게 10 mL로 하여 표준원액으로 한다(1000 μ g/mL). 이 표준원액을 정제수로 희석하여 각각 1, 2.5, 5, 10, 20, 40 및 80 μ g/mL이 되도록 한 액을 검량선용 표준액으로 한다.

표준액과 검액을 가지고 다음 조작조건으로 「기능성화장품 기준 및 시험방법」 일반시험법의 액체크로마토그래프법 중 절대검량선법에 따라 시험한다. 필요한 경우 표준액의 검량선 범위내에서 검체 채취량과 희석배수를 조정할 수 있다.

다. 시험조작

1) 액체크로마토그래프 조작조건

가) 칼럼 : Hypersil GOLD(5 μ m, 4.6 m \times 250 mm) 또는 이와 동등 이상의 칼럼

나) 칼럼온도 : 40 $^{\circ}$ C

다) 이동상 : (A) 10 mmol/L 포름산 암모늄 수용액

(B) 아세토니트릴 : 메탄올(1 : 1)

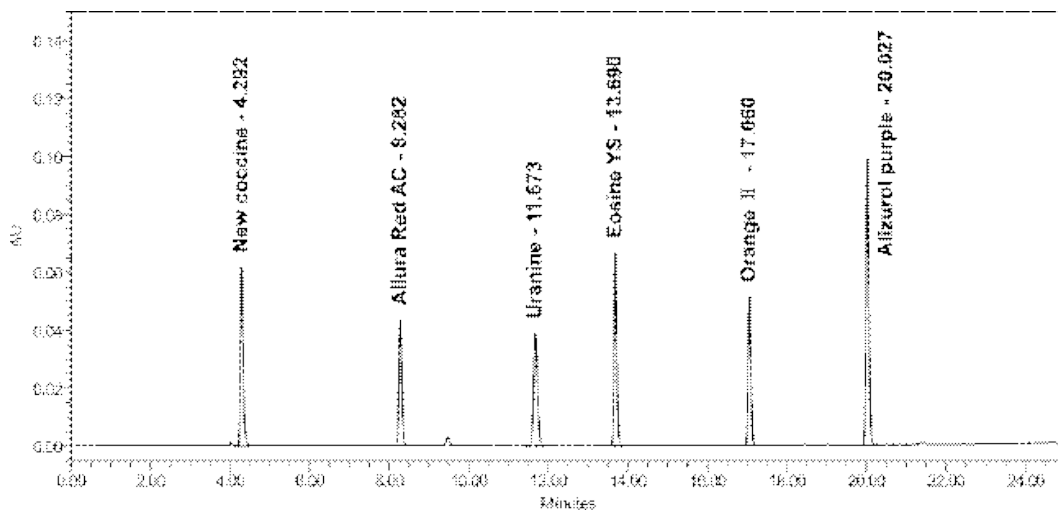
시간(분)	A(%)	B(%)
0.0	80	20
2.0	80	20
20.0	20	80
21.0	80	20
24.0	80	20

라) 유속 : 0.8 mL/min

마) 주입량: 10 μ L

바) 검출기(파장): 자외부흡광광도계(측정파장: 254 nm)

라. 크로마토그램



<액체크로마토그래프 크로마토그램>

적색102호(4.2분), 적색40호(8.2분), 황색202호의(1)(11.6분), 적색103호의(1)(13.6분),
등색205호(17.0분), 자색401호(20.0분)

마. 계산식

$$\text{각 성분의 함량(\%)} = C \times V / (S \times 10000)$$

C : 검량선에서 구한 각 성분의 농도 (μ g/mL)

V : 검액의 최종부피 (mL)

S : 검체 채취량 (g)

10000 : 단위 환산계수

라. 참고문헌

1. 의약품 등 시험방법 벨리데이션 가이드라인 해설서(민원인안내서), 식품의약품안전처, 2017
2. Fast separation of synthetic/artificial food colors on agilent poroshell 120 EC-C18, Agilent technologies, 2012
3. Fast HPLC analysis of dyes in foods and beverages, Thermo scientific.

“화장품 사용한도 성분 분석법 가이드라인(민원인 안내서)”

발 행 일 2023. 7.
발 행 인 박 윤 주
편 집 위 원 장 손 수 정
편 집 위 원 송영미, 김도정, 윤해석, 김상섭, 지정은, 고미선, 심지은, 한지혜,
박은재, 김의정, 김수진, 정혜경
발 행 처 식품의약품안전평가원 의료제품연구부 화장품연구과
[전화 : 043-719-4860, 팩스 043-719-4850]

본 가이드라인은 '21~'22년도 식품의약품안전처의 연구개발사업
'화장품 사용한도 성분 분석법 가이드라인 선진화 연구(21172화의안164)'의 결과를
활용하였습니다.



“청렴한 식약처
국민 안심의 시작”

공익신고자 보호제도란?

공익신고자등(친족 또는 동거인 포함)이 공익신고등으로 인하여 피해를 받지 않도록 **비밀보장, 불이익보호조치, 신변보호조치** 등을 통하여 보호하는 제도

보호조치 요구 방법

우편(30102) 세종특별자치시 도움5로 정부세종청사 7동
국민권익위원회 공익보호지원과 / 전화 044-200-7773 / 팩스 044-200-7949

【공직자 부조리 및 공익신고안내】 ** 신고자 및 신고내용은 보호됩니다.

- ▶ **부조리 신고** : 식약처 홈페이지 “국민신문고 > 공직자 부조리 신고” 코너
- ▶ **공익 신고** : 식약처 홈페이지 “국민소통 > 신고센터 > 부패.공익신고 상담” 코너