

Application News

No. SSK-LCMS-2207

Liquid Chromatograph Mass Spectrometer, LCMS™-8050

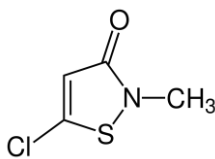
LC-MS/MS를 이용한 물티슈 내 CMIT/MIT의 분석 Quantitative Analysis of CMIT/MIT in Wet wipes Using LC-MS/MS

■ 서론

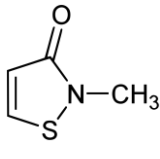
클로로메틸이소티아졸리논 (이하, CMIT)와 메틸이소티아졸리논 (이하, MIT) 두 성분의 혼합물은 박테리아의 번식을 막아 제품의 변패를 방지하고, 유통기한을 늘려주는 역할을 하여 목재, 화장품, 페인트의 보존제 등에 제한적으로 사용되고 있다. 이에 국내에서는 CMIT/MIT 혼합물의 경우, 고농도로 사용하면 피부 발진과 같은 알레르기 반응이 나타날 수 있기 때문에 화장품법에서 사용 후 씻어내는 제품에 대해 사용량을 0.0015 % 이하로 제한하고 있다.

물티슈는 인체 세정용 제품으로 화장품법 시행령의 적용을 받지만 사용 뒤 씻어내는 제품이 아니기 때문에 위 물질들의 첨가가 허용되지 않는다. 하지만, 최근 시중에 유통된 물티슈에서 CMIT와 MIT가 검출되어 식약처로부터 물티슈 회수 명령이 내려졌고, 이로 인해 물티슈 안정성 검사에 대한 중요성이 증가하고 있다.

이에 이 뉴스레터에서는 식약처에서 고시한 '화장품 사용해도 성분 분석법 가이드라인⁽¹⁾'에 제시된 CMIT와 MIT 시험법을 바탕으로 Shimadzu LCMS™-8050을 이용하여 각각의 정량한계, 직선성, 정확성, 반복성 및 회수율을 평가하였고, 시중에 유통 중인 5종의 물티슈에 대해 CMIT와 MIT 함량을 분석하였다.



CMIT
(Chloromethylisothiazolinone)



MIT
(Methylisothiazolinone)

■ 분석방법

CMIT와 MIT 표준물질을 메탄올로 희석하여 표준용액을 조제하였고, 이를 직선성, 정확성, 반복성 평가에 사용하였다.

물티슈 시료는 '화장품 안전기준 등에 관한 규정⁽²⁾' 중 <별표 4>의 유통화장품 안전관리 시험방법의 일반사항 항목에 따라 물티슈의 부자재를 제외한 액상만 취하여 준비하였다. 이에 따라, 물티슈 시료의 전처리에는 10 mL 일회용 주사기에 물티슈를 한 장씩 넣고 눌러 액상을 모은 후 매질효과를 줄이기 위해 메탄올로 500 배 희석하였고, 0.45 µm PTFE 필터를 사용하여 필터 후 분석을 진행하였다.

CMIT와 MIT 분석에 사용된 기기분석조건은 표1과 같다.

표 1. LC-MS/MS 분석 및 MRM 조건

Shimadzu Nexera X3 system	
System	: Nexera™ X3
Column	: Shim-pack GIST C18 (2.1 x 100 mm, 2.0 µm)
Flow rate	: 0.2 mL/min
Mobile phase	: A) 0.1% Acetic Acid in Water B) 0.1% Acetic Acid in Methanol
Gradient	: 30% B (0-4.0 min) - 90% B (5.0-7.0 min) - 30% B (8.0 - 12.0)
Column Temp.	: 25 ° C
Autosampler Temp.	: 15 ° C
Injection Volume	: 2 µL

Shimadzu LCMS-8050 Triple quadrupole Mass spectrometer

System	: LCMS-8050
Ionization method	: ESI (+)
Nebulizer gas flow	: 3 L/min
Dry gas flow	: 10 L/min
Heating gas flow	: 10 L/min
Interface Temp.	: 300 ° C
Desolvation Line Temp.	: 250 ° C
Heat block Temp.	: 400 ° C

MRM Condition

Compound	Polarity	Precursor ion m/z	Product ion m/z	Q1 (V)	Collision Energy (V)	Q3 (V)
CMIT	Positive	150.2	86.9	-12	-38	-11
		150.2	115.1	-11	-20	-14
		150.2	135.0	-12	-25	-27
MIT	Positive	116.2	71.1	-10	-21	-29
		116.2	101.1	-10	-22	-13
		116.2	53.0	-10	-35	-22

■ MRM 크로마토그램

표 1의 LC 및 MS 분석 조건으로 메탄올로 희석한 CMIT와 MIT 표준용액을 분석했을 때 얻은 각 물질의 MRM 크로마토그램은 그림 1과 같다.

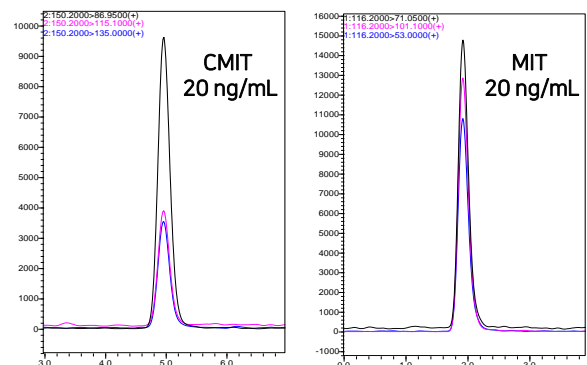


그림 1. CMIT와 MIT의 MRM 크로마토그램 (20 ng/mL)

■ 시험결과

직선성

검량선 작성에 사용된 표준용액의 조제를 위해 CMIT와 MIT 표준물질을 메탄올로 희석하여 각각 1 µg/mL 농도로 조제하였다. 이를 단계별로 희석하여 CMIT의 경우 (1-500) ng/mL, MIT의 경우 (1-200) ng/mL 농도 범위에서 각각의 검량선을 작성하였다. CMIT와 MIT의 검량선 결정계수(R²)는 0.999 이상으로 우수한 직선성을 보였으며, 정량한계는 두 물질 모두 1 ng/mL(S/N>10) 수준으로 확인되었다. 각 성분의 검량선과 정량한계 농도에서의 MRM 크로마토그램은 그림 2와 3에 각각 나타내었다.

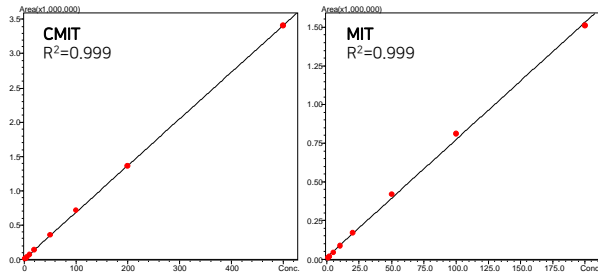


그림 2. CMIT와 MIT의 검량선

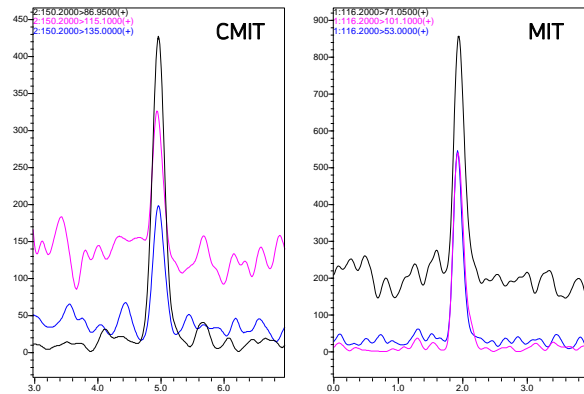


그림 3. 정량한계 농도(1 ng/mL)에서의 CMIT와 MIT의 MRM 크로마토그램

정확성 및 반복성

정확성 평가는 메탄올로 조제한 20 ng/mL 농도의 CMIT와 MIT 표준용액을 분석하여 산출하였으며, 반복성 평가는 20 ng/mL 농도의 표준용액을 6 개 조제하여 반복 분석한 값으로 산출하였다. 결과는 표 2와 같이 CMIT의 경우, 정확성 및 반복성(%RSD, n=6)이 93.9 %, 3.4 %로 나타났으며, MIT의 경우, 정확성 및 반복성(%RSD, n=6)이 99.5 %, 1.2 %로 나타났다.

표 2. CMIT와 MIT의 정확성 및 반복성 (n=6)

정확성 (반복성, %RSD)		
농도	CMIT	MIT
20 ng/mL	93.9 % (3.4)	99.5 % (1.2)

회수율

회수율 평가를 위해 CMIT와 MIT가 검출되지 않은 멀티슈 액을 메탄올로 500 배 희석한 시료에 CMIT의 경우 20 ng/mL, 100

ng/mL, 500 ng/mL, MIT의 경우 20 ng/mL, 100 ng/mL, 200 ng/mL 농도가 되도록 분석 물질을 첨가하여 PTFE 필터로 필터링한 시료를 분석하였다. 회수율 평가는 각 농도별로 6개의 시료를 조제한 후 분석하여 얻은 평균 농도로 계산하였으며, 결과는 표 3과 같이 CMIT의 경우, (78.6 - 87.3)%, MIT의 경우, (96.2 - 106.2)% 수준으로 나타났다.

표 3. CMIT와 MIT의 회수율 (n=6)

CMIT 농도 (ng/mL)	회수율 (%)	MIT 농도 (ng/mL)	회수율 (%)
20	78.6	20	102.8
100	87.3	100	106.2
500	85.4	200	96.2

■ 멀티슈 분석

시중에 유통 중인 서로 다른 브랜드 5종의 제품에서 취한 멀티슈 액을 메탄올로 500배 희석한 후, 0.45 µm PTFE 필터를 사용하여 필터한 후 분석을 수행하였다.

LC-MS/MS를 이용하여 멀티슈 5종을 분석한 결과, 그림 4와 5에서 보는 것과 같이 모든 멀티슈에서 CMIT 및 MIT는 검출되지 않는 것으로 나타났다.

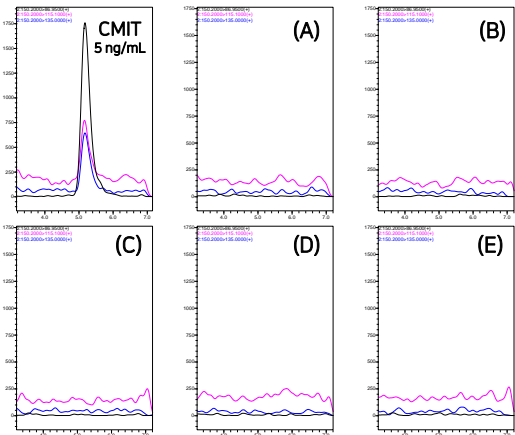


그림 4. CMIT 표준용액(5 ng/mL)과 멀티슈 5 종의 크로마토그램

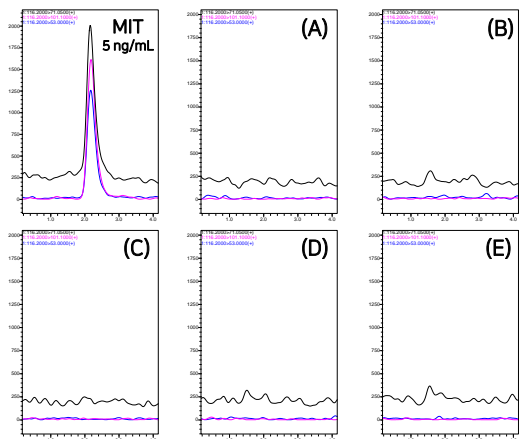


그림 5. MIT 표준용액(5 ng/mL)과 멀티슈 5 종의 크로마토그램

■ 결론

이 뉴스레터는 “화장품 사용한도 성분 분석법 가이드라인”의 시험법을 바탕으로 LC-MS/MS(Shimadzu LCMS-8050)를 이용하여 CMIT와 MIT 분석 가능 여부를 확인하였으며, 시중에 유통 중인 물티슈에 대해 CMIT와 MIT 정량 분석을 수행하였다. 시험 결과 CMIT와 MIT의 정량한계 농도는 두 성분 모두 1 ng/mL 수준으로 나타났으며, 검량선 결정계수(R^2) 0.999 이상으로 두 성분 모두 양호한 것으로 나타났다. 정확성 및 반복성(% RSD, $n=6$)은 CMIT의 경우, 93.9 %, 3.4 %로 나타났으며, MIT의 경우, 99.5 %, 1.2 %로 나타났다. 또한, 회수율은 CMIT의 경우, (78.6 - 87.3)%, MIT의 경우, (96.2 - 106.2)% 수준으로 나타났다.

■ 참고문헌

- 1) 화장품 사용한도 성분 분석법 가이드라인 (2017, 식품의약품 안전처)
- 2) 화장품 안전기준 등에 관한 규정 (2022, 식품의약품안전처)

