SHIMADZU
Excellence in Science

Application News

No. 01-00526-ENK

GC-MS GCMS-QP2020 NX

Twin Line MS 시스템을 이용한 화장품 내 57종 향 알레르기 유발물질 정량 분석

Quantitative Analysis of 57 Fragrance Allergens in Cosmetics Using Twin Line MS System

사용자 활용 포인트

- ◆ Twin Line MS 시스템을 이용하여 화장품 내 향 알레르기 유발물질 효율적으로 분석
- ◆ 두 개 유형의 컬럼이 장착된 GCMS를 이용한 보다 효과적인 화합물의 분리 분석 가능
- ◆ Twin Line MS 시스템은 컬럼 교체가 필요하지 않아 분석 장비 가동 중단 시간 단축 가능

■ 서론

현재 유럽에서는 유럽 화장품 지침(European Cosmetics(EC) 1223/2009)[1]에 따라 화장품에 사용되는 향료 중 24종을 향 알레르기 유발물질로 규제하여 관리하고 있다. 사용 후 씻어내지 않는 제품(leave-on product)에서 제품 함량의 0.001% 초과하거나, 사용 후 씻어내는 제품(rinse-off product)에서 제품 함량의 0.01%를 초과하는 화합물은 제품에 해당 화합물의 명칭을 표시해야 하는 표시대상 성분이다.

그러나 최근 소비자안전과학위원회(Scientific Committee on Consumer Safety, SCCS)의 규제 대상 화합물 추가 요청에 따라 규제 대상 화합물이 80종 이상으로 확대될 예정이다. 이에 따라 화장품 제조사는 원료와 완제품에 어떤 향료 화합물이 포함되어 있는지 알아야 한다.

본 뉴스레터에서는 국제 향료 협회 (IFRA, International Fragrance Association)[2]에서 보고된 분석방법을 바탕으로 Twin Line MS 시스템을 이용한 시판 헤어 오일에 함유된 57종의 향 알레르기 유발물질 분석에 대해 소개하고자 한다.

■ 향 알레르기 유발 물질

향료는 향수는 물론 세제, 섬유유연제, 기타 생활용품에 향을 내기 위해 사용되는 물질로 향료가 피부에 노출되면 알레르기를 유발할 수 있다.

SCCS는 "화장품의 향 알레르기 유발물질에 대한 의견(SCCS/1459/11)[3]"을 통해서 향 알레르기 유발물질에 노출되는 것은 상대적으로 흔한 일이며, 알레르기성 접촉성 피부염은 증상이 심각하고 광범위 할 수 있어 삶의 질을 크게 저하시키고 업무 적합성에 영향을 줄 수 있기 때문에 공중 보건 위험성 관리 조치를 통해 향 알레르기 유발물질을 적절한 양으로 사용해야 한다고 언급하였다.

또한 SCCS/1459/11에서 대부분의 향료 0.8 μg/㎠ (화장품의 경우 0.01%)의 농도까지는 향 알레르기 유발물질에 대한 접촉 알레르기가 있는 사람들을 포함한 대다수의 소비자에게 노출이 허용될 수 있다고 명시했다. SCCS의 권고에 따라 EU위원회는 2022년 9월 EU 화장품 지침에 대한 EU 화장품 지침 개정안(G/TBT/N/EU/924)[4]를 발표했다.

향 알레르기 유발 물질에 대한 규정은 유럽에만 국한되지 않고 미국에서도 2022년 12월 화장품 현대화 및 규제법(MoCRA)[5]이 채택되어 향 알레르기 유발물질 표시를 의무화 하였다.

그림 1. AOC™-30i + GCMS-QP2020 NX

국내에서도 제조 및 수입되는 화장품에 대해 25종 화합물에 대해 표시대상성분으로 관리하고 있다[6]. 이처럼 소비자들은 화장품에 대한 안전성과 보안성을 점점 더 요구하고 있으며, 향 알레르기 유발물질에 대한 정량 분석은 점점 더 중요해지고 있다.

표 1. 분석 조건

System	
GCMS Model	GCMS-QP2020NX
Autoinjector	AOC-30i
Column 1	SH-I-17 (30 m × 0.25 mm I.D. 0.25 μm)
Oven Temp.	80 ℃ (1 min) → 10 ℃/min → 135 ℃ (2 min) → 3 ℃/min → 170 ℃ (1 min) → 10 ℃/min → 280 ℃ (2 min)
Column 2	SH-1 (30 m × 0.25 mm I.D. 0.25 μm)
Oven Temp.	80 ℃ (4 min) → 15 ℃/min → 105 ℃ (2 min) → 4 ℃/min → 150 ℃ → 10 ℃/min → 280 ℃ (2 min)
GC condition	
Injection Mode	Split
Injection Volume	1 μL
Injection Temp.	280 ℃
Split Ratio	10:1
Carrier Gas	He
Carrier Gas Control	Linear velocity (40 cm/s)
MS Conditions	
Ion Source Temp.	200 ℃
Interface Temp.	280 ℃
Emission Current	20 μA
Data Acquisition Mode	SIM
Event Time	0.3 sec

■ 표준물질

표준품은 57종 향 알레르기 유발물질을 MtBE(Methyl tert-butyl ether)로 0.5 - 50 mg/kg 농도로 희석하여 사용하였다. 1,4-Dibromobenzene과 4,4'-Dibromobiphenyl을 내부 표준물질로 사용했고, 각각 50 mg/kg으로 농도를 설정하였다. 미지의 시료는 시판되는 헤어 오일을 사용하였고, 매트릭스 영향을 줄이기 위해 헤어 오일 1 g을 메스 실린더를 이용하여 MtBE 10 mL로 희석하였다. 헤어 오일 시료 중 각 화합물 검출을 확인하기 위해 해당 희석된 시료에 표준물질 1 mg/kg을 첨가하여 분석하였다. AOC-30i가 장착된 GCMS-QP2020NX에 Twin Line MS 시스템을 사용해 표1의 분석조건으로 분석하였다.

■ Twin Line MS 시스템

Twin Line MS 시스템은 MS에 동시에 연결된 두개의 서로 다른 컬럼을 사용하여 분석을 수행한다. 두 개의 컬럼이 동시에 MS에 연결되어 있어 MS를 중단하지 않고, 두 컬럼 사이를 전환하여 다른 컬럼으로 분석할 수 있다. 화장품 등 복잡한 매트릭스로 구성된 시료를 분석할 때는 극성이 다른 두개의 컬럼을 사용하는 것이 효과적이다. 한 컬럼이 방해 물질을 분리할 수 없는 경우 극성이 다른 컬럼을 사용하면 효과적으로 분석하고자 하는 화합물의 분리 가능성이 높아진다. 본 뉴스레터에서는 중간 극성 컬럼인 SH-I-17과 비극성 컬럼인 SH-1을 이용하여 분석하였다.

■ 스캔 분석에서 분리도

그림 2는 각 컬럼에 대한 57종 향 알레르기 유발 물질 표준품의 TIC 크로마토그램을 보여준다. SH-I-17은 중간 극성 컬럼이고, SH-1은 비극성 컬럼이므로 그림 2를 보면 두 컬럼의 분리 패턴이 서로 다르다는 것을 알 수 있다. SH-I-17 컬럼은 이성질체를 포함한 모든 화합물을 분리할 수 있었던 반면, SH-1 컬럼은 Galaxolide의 이성질체 피크 2개가 서로 중첩되어 검출되었다.

■ 검정 곡선

스캔 분석 후 SIM 분석을 통해 0.5 - 50 mg/kg 범위의 검정 곡선을 만들었다. SIM 이온과 각 화합물에 대한 검정 곡선의 R^2값은 표 2에 나타냈다. 57종 화합물 중 54종은 우수한 직선성($R^2 \geq 0.999$)을 보여주었고 그 외 3종(Farnesol, Benzyl salicylate 및 Sclareol)도 정량에 충분한 직선성($R^2 \geq 0.997$)을 보임을 확인하였다. 해당 3종을 포함하여 일부 분석대상 화합물 α-Pinene, DMBC acetate 및 Benzyl cinnamate에 대한 검정 곡선은 그림 3에서 나타냈다.

■ 반복성

검정 곡선의 최소 농도(0.5 mg/kg)에서 6번 연속 분석한 결과의 피크 면적을 이용해 반복성을 확인하였다. 각 화합물의 면적 %RSD는 표 2에 나타냈다. 모든 화합물의 면적 %RSD 또한 두 컬럼 모두 10 % 미만으로 나타났고 5 % 미만 값을 나타내는 화합물은 SH-I-17 컬럼에서 55종, SH-I-1 컬럼에서 50종으로 확인되었다.

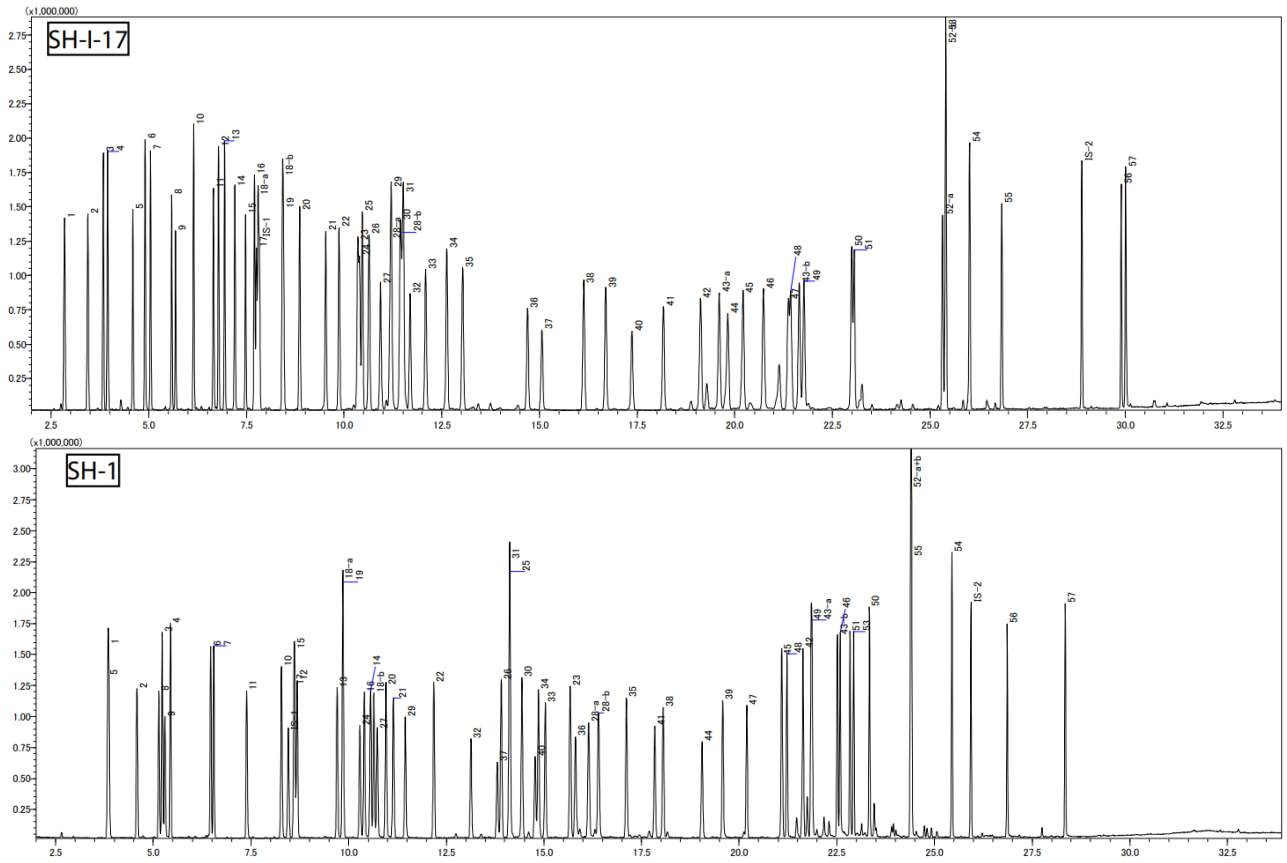

표 2. 57 종 향 알레르기 유발물질 표준품 TIC Chromatogram (50 mg/kg)

표 2. 알레르기 유발물질의 SIM 이온, R^2 및 % RSD

No.	Name	SIM ions			R^2		%RSD	
		1	2	3	SH-I-17	SH-1	SH-I-17	SH-1
1	α-Pinene	93.1	121.1	136.1	0.99995	0.99998	0.9	3.1
2	β-Pinene	121.1	93.1	91.1	0.99997	0.99997	2.2	3.5
3	α-Terpinene	121.1	136.1	93.1	0.99995	0.99993	1.3	3.9
4	Limonene	68.0	67.0	94.1	0.99999	0.99998	1.2	3.1
5	Benzaldehyde	106.0	77.0	105.1	0.99996	0.99998	1.1	3.5
6	Terpinolene	93.1	136.1	121.1	0.99999	0.99998	1.3	3.4
7	Linalool	93.1	71.1	121.1	1.00000	0.99990	1..3	3.7
8	Benzyl alcohol	108.1	79.1	107.1	0.99996	0.99972	1.0	4.6
9	Salicyladehyde	122.0	121.0	93.0	0.99957	0.99955	1.0	3.7
10	Menthol	95.1	123.1	138.1	0.99999	0.99996	2.4	3.4
11	Camphor	108.1	95.1	152.1	1.00000	0.99995	1.3	3.2
12	α-Terpineol	136.1	121.1	59.0	1.00000	0.99995	0.9	3.8
13	Citronellol	82.1	81.1	95.1	0.99990	0.99907	1.8	3.6
14	Linalyl acetate	121.1	93.1	80.1	0.99996	0.99993	1.0	3.4
15	Methyl 2-octynoate	123.1	95.1	67.0	0.99992	0.99987	1.6	4.9
16	Geraniol	69.1	123.1	41.0	0.99972	0.99909	1.4	5.0
17	Methyl salicylate	120.0	152.0	65.0	0.99990	0.99983	1.3	4.1
18-a	Neral	69	109.1	94.1	0.99997	0.99983	1.5	4.3
18-b	Geranial	69.1	84.1	137.1	0.99991	0.99978	1.8	3.1
19	Carvone	108.1	82.1	93.1	0.99998	0.99994	2.1	4.6
20	Hydroxycitronellal	96.1	81.1	95.1	0.99998	0.99992	3.0	7.2
21	trans-Anethole	148.1	121.1	133.1	0.99999	0.99999	1.3	3.2
22	Dimethylbenzylcarbinyl acetate	132.1	117.1	91.1	0.99995	0.99998	1.0	3.2
23	β-Caryophyllene	189.2	161.1	147.1	0.99999	0.99995	2.5	4.0
24	Cinnamaldehyde	131.1	132.1	103.1	0.99997	0.99968	1.4	3.6
25	Geranyl acetate	80.1	84.1	136.1	0.99999	0.99958	2.8	4.2
26	δ-Damascone	69.0	123.1	192.1	0.99996	0.99969	1.6	3.6
27	Anise alcoho	138.1	137.1	109.1	0.99995	0.99957	1.2	5.0
28-a	Ebanol 1	149.1	164.2	83.1	0.99996	0.99971	2.6	5.0
28-b	Ebanol 2	149.1	164.2	83.1	0.99998	0.99982	2.5	5.4
29	Cinnamyl alcohol	92.1	134.1	115.1	0.99972	0.99962	6.4	4.6
30	α-Damascone	192.1	123.1	177.1	0.99999	0.99988	2.1	4.1
31	β-Damascenone	190.1	175.1	105.1	0.99997	0.99985	2.5	5.3
32	Eugenol	164.1	149.0	131.1	0.99997	0.99949	1.6	4.0
33	β-Damascone (E)	177.1	192.1	135.1	0.99999	0.99990	1.6	3.8
34	Trimethyl-benzenepropanol	106.1	91.0	105.1	0.99999	0.99975	1.3	4.1
35	α-Isomethylionone	150.1	135.1	107.1	0.99999	0.99981	1.0	3.8
36	Isoeugenol	164.1	149.1	133.1	0.99987	0.99965	1.2	3.6
37	Vanillin	151.0	152.0	109.0	0.99930	0.99917	1.0	3.5
38	Butylphenyl methylpropional	204.1	189.1	147.1	0.99970	0.99982	1.5	2.9
39	Amyl salicylate	120.0	138.0	208.1	0.99934	0.99944	0.9	4.0
40	Coumarin	146.0	118.0	90.0	0.99994	0.99997	1.2	3.3
41	Eugenyl acetate	164.1	149.0	206.1	0.99961	0.99975	0.9	3.4
42	β-Tetramethylacetyloctahydronaphthalene	191.1	121.1	109.1	0.99982	0.99998	1.3	2.4
43-a	α-Santalol	94.1	93.1	122.1	0.99911	0.99973	1.6	5.0
43-b	β-Santalol	94.1	93.1	122.1	0.99980	0.99906	1.7	3.6
44	3-Propylidene phthalide	159.1	174.1	104.0	0.99990	0.99980	1.4	2.9
45	α-Amyl cinnamaldehyde	202.1	201.1	173.1	0.99939	0.99925	2.3	3.6
46	trans,trans-Farnesol	109.1	81.1	69.1	0.99621	0.99719	8.1	4.4
47	Isoeugenyl acetate	164.1	149.1	131.1	0.99989	0.99981	1.1	3.1
48	Hydroxyisohexyl 3-cyclohexene carboxaldehyde (major)	136.1	108.1	192.0	0.99972	0.99959	2.2	4.9
49	α-Amylcinnamyl alcoho	148.1	133.1	115.0	0.99957	0.99905	1.8	4.6
50	α-Acetyl cedrene	246.2	161.1	231.2	0.99975	0.99991	0.9	3.6
51	α-Hexylcinnamaldehyde	216.1	129.1	145.1	0.99952	0.99965	2.0	4.5
52-a	Galaxolide 1	213.2	258.2	244.2	0.99976	0.99995	1.3	2.8
52-b	Galaxolide 2	213.2	258.2	244.2	0.99995		1.0	
53	Benzyl benzoate	212.1	105.0	194.0	0.99995	0.99997	1.6	3.5
54	Hexadecanolactone	83.1	97.1	111.1	0.99992	0.99992	0.4	2.7
55	Benzyl salicylate	228.1	92.0	65.0	0.99899	0.99959	1.1	3.0
56	Benzyl cinnamate	192.1	193.1	238.1	0.99933	0.99916	1.1	2.9
57	Sclareol	109.1	177.1	257.2	0.99736	0.99669	1.9	5.2

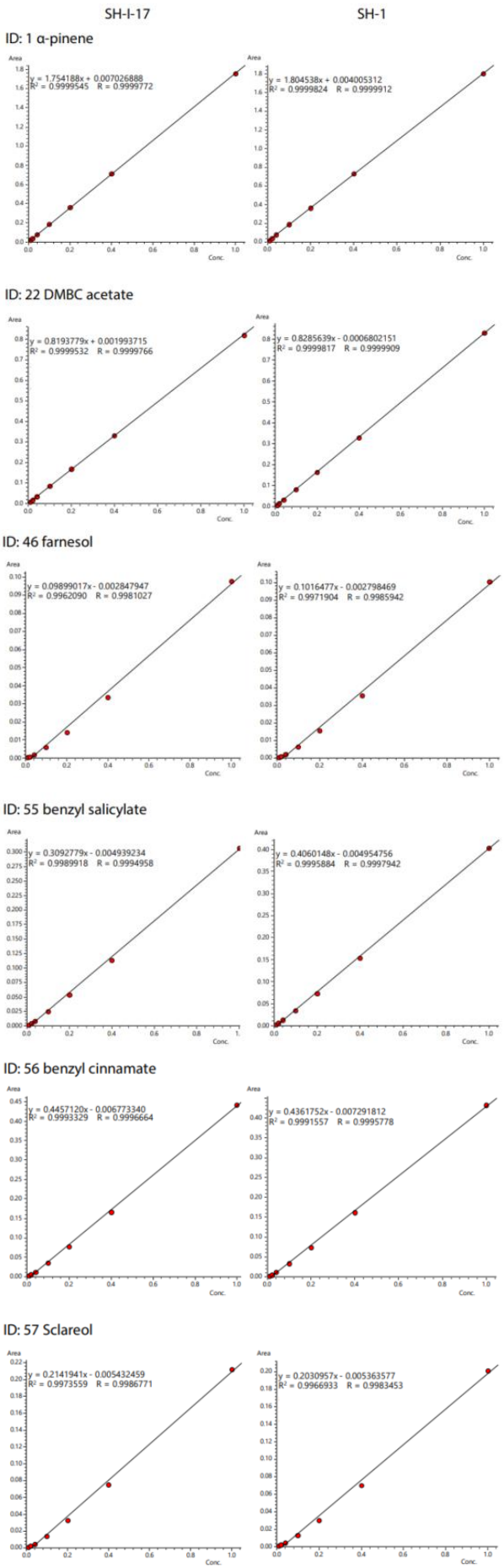

그림 3. 0.5 - 50 mg/kg 농도의 검정 곡선

■ 헤어 오일 정량 분석

미지 시료로 헤어 오일을 선택하여 분석하였다. 헤어 오일과 같이 복잡한 매트릭스가 포함된 시료의 경우 단일 컬럼을 사용하여 높은 선택성으로 정확하게 정량하는 것이 어려울 때는 극성이 다른 두 개의 컬럼을 사용하면 보다 정확한 정량 분석을 수행할 수 있다.

그림 4는 각 컬럼을 사용하여 분석한 헤어 오일과 표준품의 질량 크로마토그램을 보여준다. 그림 4는 서로 다른 극성을 갖는 두개의 컬럼을 사용할 때 미지시료에서 타겟 물질과 방해 물질의 분리도가 서로 다른 것을 보여준다. 예를 들면 Amyl salicylate 와 Methyl 2-octynoate의 경우 한 컬럼에서는 방해 물질의 영향으로 정확한 타겟 피크 검출이 어려웠으나 다른 컬럼에서는 타겟 피크가 정확하게 검출되었다. 반면 Neral과 Cironellol 피크는 두 컬럼 모두에서 정확하게 검출된 것처럼 보이나, 정량 결과를 비교해 보면 두 컬럼에서의 분석 농도가 다르게 계산된 것을 알 수 있다. 이는 정량값이 크게 검출된 컬럼에서 시료 중 방해 물질의 피크가 타겟 피크와 겹치기 때문일 수 있으며, 이 경우 정량 값이 작은 컬럼의 결과가 보다 정확한 정량 결과라고 볼 수 있다.

따라서 Twin Line MS 시스템을 이용하면 화장품 내 향 알레르기 유발물질을 충분한 감도로 효율적인 분석이 가능하다.

■ 결론

본 뉴스레터에서는 GCMS-QP2020NX를 이용하여 57종의 향 알레르기 유발물질을 정량 분석한 예를 보여준다. 분석은 극성이 다른 두 종류의 컬럼(SH-I-17 및 SH-1)을 연결한 Twin Line MS 시스템을 이용하여 수행하였다. 그 결과, 0.5 - 50 mg/kg의 넓은 범위에 걸쳐 90% 이상의 화합물의 R^2값이 0.999 이상으로 높은 직선성을 나타냈고 모든 화합물의 면적 %RSD가 10 % 미만으로 반복성 결과도 우수하였다. 또한 실제 헤어 오일 시료를 이용해 해당 시스템으로 분석한 결과, 한 종류의 컬럼을 이용해 분석했을 때보다 상호 보완적으로 방해 물질에 대해 효과적인 분리가 가능하여 보다 정확한 정량분석이 가능함을 확인하였다.

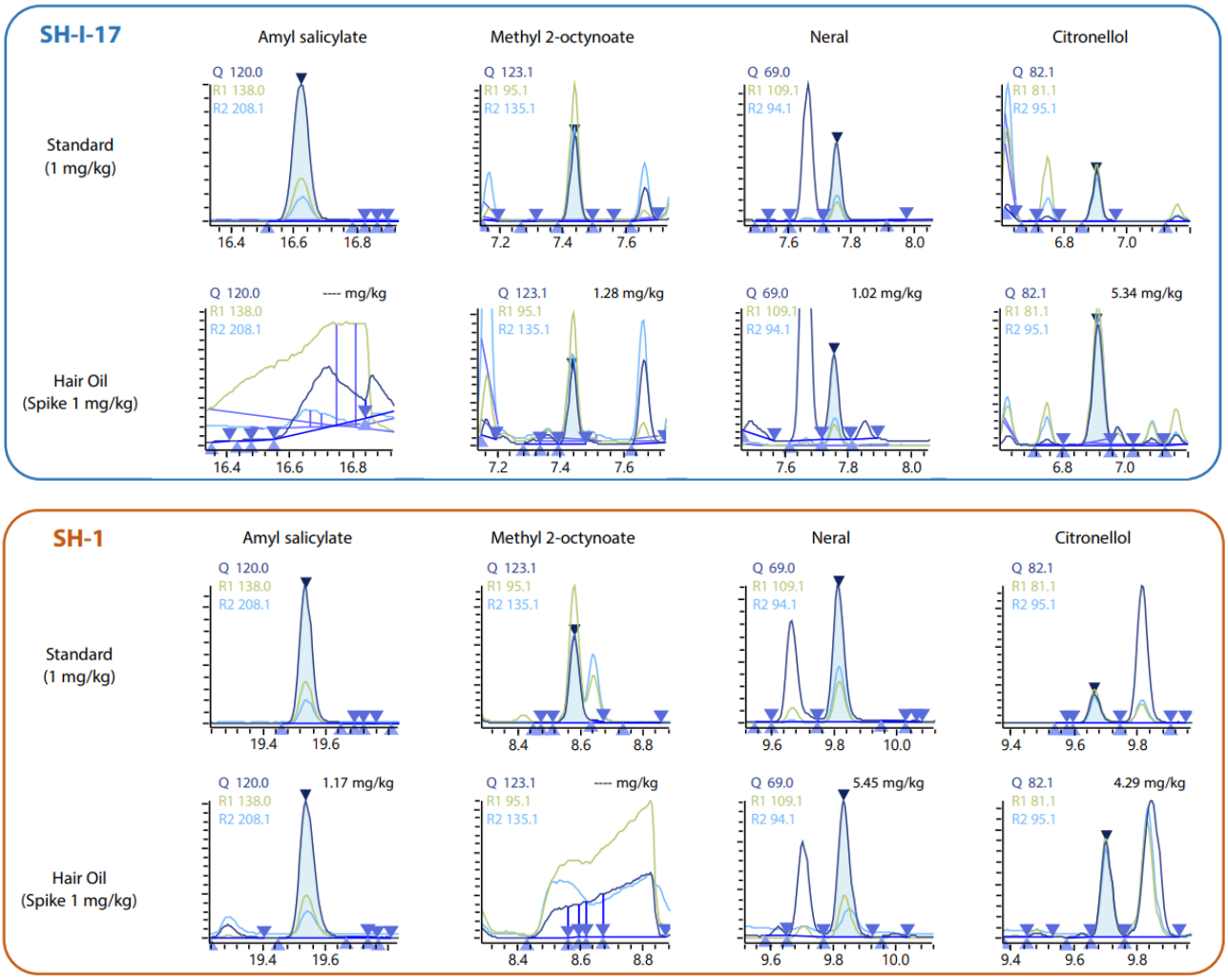

그림 4. 헤어 오일 내 향 알레르기 유발물질 질량 크로마토그램

■ 참고 문헌

1) Regulation (EC) No 1223/2009 of the European Parliament and of the Council of 30 November 2009 on cosmetic products
https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A32009R1223&qid=1713328042130metic Products Regulation - EUR-Lex (europa.eu)

2) Analytical method to quantify 57 suspected allergens (and isomers) in ready to inject fragrance materials by gas chromatography and mass spectrometry, the international fragrance association analytical working group, 2016
https://ifrafragrance.org/docs/default source/guidelines/23754_gd_2017_04_11_ifra_analytical_method_to_quantify_57_suspected_allergens_(and_isomers)_in_ready_to_inject_fragrance_materials_by_gc-ms(3).pdf?sfvrsn=ad55ac1_604_11_ifra_analytical_method_to_quantify_57_suspected_allergens_(and_isomers)_in_ready_to_inject_fragrance_materials_by_gc-ms-(3).pdf (ifrafragrance.org)

3) OPINION on fragrance allergens in cosmetic products
https://ec.europa.eu/health/scientific_committees/consumer_safety/docs/sccs_o_102.pdfu)

4) Draft Commission Regulation (EU) amending Regulation (EC) No 1223/2009 of the European Parliament and of the Council as regards labelling of fragrance allergens in cosmetic products.
https://docs.wto.org/dol2fe/Pages/FE_Search/FE_S_S009-DP.aspx?language=E&CatalogueIdList=287757&CurrentCatalogueIdIndex=0&FullTextHash=586948964&HasEnglishRecord=True&HasFrenchRecord=False&HasSpanishRecord=True4 (wto.org)

5) H.R.2617 - Consolidated Appropriations Act, 2023
https://www.congress.gov/bill/117th-congress/house-bill/2617ress (2021-2022): Consolidated Appropriations Act, 2023 | Congress.gov | Library of Congress

6) 화장품 사용할 때의 주의사항 및 알레르기 유발성분 표시에 관한 규정, 식품의약품안전처 고시 제 2022-33호

01-00526-ENK First Edition: Apr.2023

Shimadzu Corporation
www.shimadzu.com/an/
Shimadzu Scientific Korea
www.shimadzu.co.kr

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures. Not available in the USA, Canada, and China.
This publication may contain references to products that are not available in your country. Please contact us to check the availability of these products in your country.

The content of this publication shall not be reproduced, altered or sold for any commercial purpose without the written approval of Shimadzu.
Company names, products/service names and logos used in this publication are trademarks and trade names of Shimadzu Corporation, its subsidiaries or its affiliates, whether or not they are used with trademark symbol "TM" or "®".
Third-party trademarks and trade names may be used in this publication to refer to either the entities or their products/services, whether or not they are used with trademark symbol "TM" or "®".
Shimadzu disclaims any proprietary interest in trademarks and trade names other than its own.

The information contained herein is provided to you "as is" without warranty of any kind including without limitation warranties as to its accuracy or completeness. Shimadzu does not assume any responsibility or liability for any damage, whether direct or indirect, relating to the use of this publication. This publication is based upon the information available to Shimadzu on or before the date of publication, and subject to change without notice.

Copyright © 2024 SHIMADZU group. All rights reserved.