

초고성능액체크로마토그래프법에 의한 치약에서 소르비톨과 글리세린의 정량

윤금성, 리현희

경애하는 최고령도자 김정은동지께서는 다음과 같이 말씀하시였다.

《과학연구부문에서는 나라의 경제발전과 인민생활향상에서 전망적으로 풀어야 할 문제들과 현실에서 제기되는 과학기술적문제들을 풀고 첨단을 돌파하여 지식경제건설의 지름길을 열어놓아야 합니다.》

소르비톨과 글리세린은 치약에서 습윤제로 리용된다. 치약들에서 습윤제의 함량을 정확히 결정하는것은 세계적인 경쟁력을 가지는 치약제품을 많이 생산하여 우리 인민들의 건강증진에 적극 이바지하는데서 중요한 의의를 가진다.

치약이나 식료품, 생체시료들에서 소르비톨, 글리세린과 같은 당알콜, 다가알콜의 분석은 주로 화학분석법[2], 액체크로마토그래프분석법[3, 5], 액체크로마토그래프-질량분석법[4], 기체크로마토그래프분석법[6, 7]을 리용하여 진행하고있다.

차외선흡수가 거의 없는 소르비톨과 글리세린의 액체크로마토그래프분석에서는 검출기로 굴절률검출기나 증발빛산란검출기(ELSD)를, 분리탑으로 화학결합상아미노탑 혹은 디올탑이 많이 리용되고있다.[8] 화학결합상아미노탑과 디올탑은 당류, 당알콜류, 글리세린, 프로필렌글리콜, 에틸렌글리콜과 같은 다가알콜의 분석에 많이 리용되지만 리용과정에 아민기의 손실, 재현성이 떨어지는것과 같은 결함이 있으므로 실리카겔탑에 여러가지 아민화합물을 변성제로 첨가하여 화학결합상아미노탑의 분리효과를 높이기 위한 연구[4]도 많이 진행되고있다.

우리는 실리카겔탑의 성질을 가지는 에틸렌가교된 실리카겔탑인 BEH HILIC탑과 증발빛산란검출기를 리용하여 초고성능액체크로마토그래프(UPLC)법으로 치약에서 소르비톨과 글리세린을 정량하기 위한 연구를 하였다.

실험 방법

기구로는 초고성능액체크로마토그래프(《Acquity UPLC》), 증발빛산란검출기(《Acquity UPLC ELSD》), 초순수기(《MILLIPORE》), 질소분리기(《GKG49-1》), 원심분리기(《Allegra X-12》), 초음파추출기, 마이크로피펫(《WKYⅢ》), 분리탑(《ACQUITY UPLC® BEH HILIC》, 2.1mm×150mm, 1.7μm)을, 시약으로는 소르비톨(70%), 분석순의 글리세린, 트리에틸아민, 에타놀아민, 에틸렌디아민, HPLC급의 아세토니트릴과 물(초순수)를 리용하였다.

표준용액과 이동상의 준비 소르비톨(70%) 0.060g을 정확히 저울질하여 100mL의 초순수에 풀어 600μg/mL의 표준용액을, 글리세린 0.070g을 정확히 저울질하여 100mL의 초순수에 풀어 700μg/mL의 표준용액을 준비하였다. 표준용액들은 측정하기 전에 필요한 농도로 희석하였다. 액체크로마토그래프이동상으로서 HPLC급의 초순수와 아세토니트릴

(ACN)을 리용하였으며 당화합물의 분석[1]에 기초하여 아민변성제로서 트리에틸아민(TEA), 에타놀아민(EA), 에틸렌디아민(EDA)을 0.025, 0.050% 등 각이한 농도로 첨가하여 리용하였다.

시료처리 및 분석방법 먼저 시료를 0.2~0.3g정도 되게 0.001g의 정확도로 저울질하여 10mL 원심분리시험관에 넣고 초순수 5mL를 넣어 잘 혼합한다. 초음파추출기에서 5~10min동안 초음파추출한 다음 여기에 다시 초순수 혹은 ACN 3mL를 넣고 진탕한다. 마개를 꼭 막고 5 000r/min으로 10min간 원심분리를 진행한 다음 시험관을 꺼내고 옷층의 맑은 용액을 조심히 분리한다.

초순수를 리용하여 이 용액을 일정한 배수로 희석하고 0.25 μ m 려과기로 려과하여 액체크로마토그래프에 주입한다.

분리특성이 좋은 이동상조성과 검출기측정조건을 선택하고 소르비톨과 글리세린의 표준용액농도와 봉우리면적사이의 표준곡선을 얻는다.

실험결과 및 해석

초고성능액체크로마토그래프측정조건의 최적화 물 : ACN=20 : 80(체적%)을 이동상으로 하고 이동상흐름속도 0.1mL/min, 표류관온도가 각각 50, 100 $^{\circ}$ C인 조건에서 소르비톨과 글리세린표준용액의 액체크로마토그램은 그림 1과 같다.

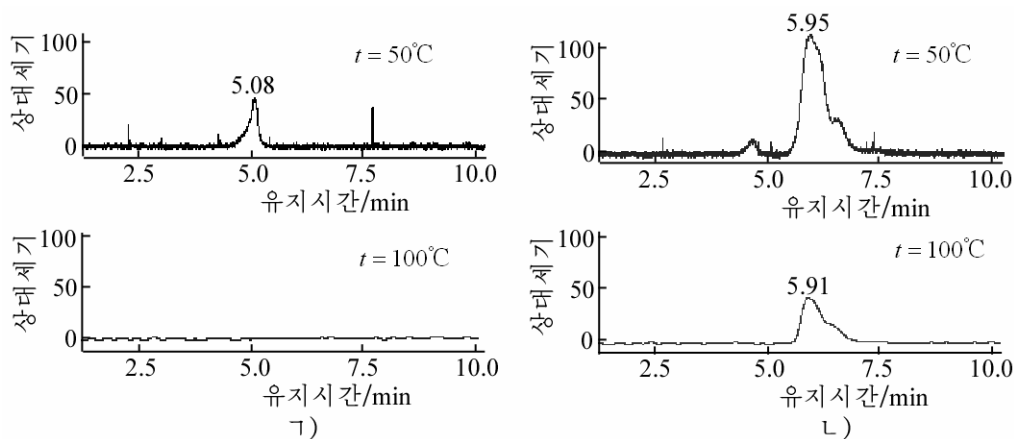


그림 1. 소르비톨(Г)과 글리세린(Л)표준용액의 액체크로마토그램

그림 1에서 보는바와 같이 표류관온도를 높이면 글리세린은 검출되지 않았으며 소르비톨의 봉우리면적도 절반이하로 줄어들었다. 이것은 표류관의 온도를 100 $^{\circ}$ C로 설정하면 글리세린은 전부가, 소르비톨은 일부가 같이 증발되어 손실되기때문이라고 볼수 있다. 반면에 표류관의 온도를 50 $^{\circ}$ C로 하면 잡음봉우리들이 많이 나타난다.

그리고 유지시간에서 차이가 작기때문에 봉우리가 잘 분리되지 않으므로 아민변성제를 리용하여야 한다는것을 알수 있다.

BEH HILIC탑에서 소르비톨과 글리세린의 유지에 주는 이동상조성의 영향을 고찰하기 위하여 이동상에서 물의 함량에 따르는 봉우리면적변화를 고찰하였다.(그림 2)

그림 2에서 보는바와 같이 이동상에서 물의 함량이 많아짐에 따라 두 물질의 봉우리 면적이 전반적으로 감소되는데 그것은 소르비톨과 글리세린이 탑에 유지되지 못하고 빨리 용출되기때문이라고 볼수 있다. 그리고 이동상에서 물의 함량이 10%일 때에는 분석물질의 유지시간이 길어져 30min내에 봉우리가 나타나지 않았다.

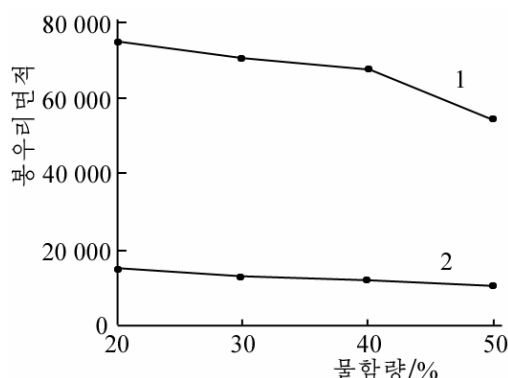


그림 2. 이동상에서 물의 함량에 따르는 소르비톨(1)과 글리세린(2)의 봉우리면적변화

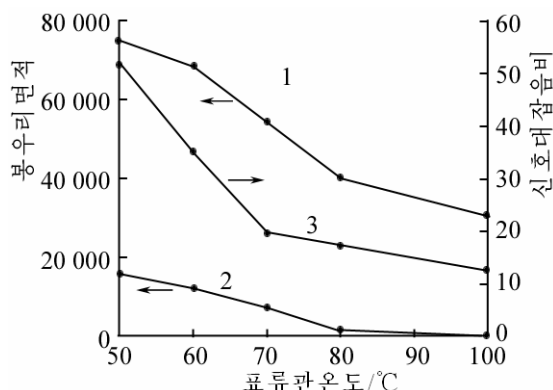


그림 3. 표류관온도에 따르는 소르비톨과 글리세린의 봉우리면적과 신호대잡음비변화
1-소르비톨, 2-글리세린, 3-신호대잡음비

따라서 이동상에서 물의 함량을 20%로 하고 검출기의 표류관온도에 따르는 소르비톨과 글리세린의 봉우리면적과 신호대잡음비변화를 측정 한 결과는 그림 3과 같다.

그림 3에서 보는바와 같이 표류관온도가 높아짐에 따라 소르비톨과 글리세린의 봉우리면적과 함께 신호대잡음비도 작아진다는것을 알수 있다.

따라서 신호대잡음비와 봉우리면적을 고려하여 검출기의 표류관온도를 70°C로 정하였다.

다음으로 아민화합물을 첨가한 각이한 이동상을 리용하여 소르비톨과 글리세린, 공백(초순수를 주입했을 때)의 크로마토그램을 측정하고 유지시간과 분리도를 평가하였다.(표 1)

표 1. 이동상조성에 따르는 소르비톨과 글리세린의 유지시간과 분리도

이동상조성	유지시간/min			분리도		
	소르비톨	글리세린	공백	R_{s-b}	R_{g-b}	R_{s-g}
0.025% TEA+H ₂ O : 0.025% TEA+ACN=30 : 70	5.00	—	2.28	2.79	—	—
0.1% 개미산수용액 : 0.05% EA+ACN=30 : 70	4.03	3.59	4.28	0.29	0.58	0.85
물 : 0.05% EA+ACN=30 : 70	4.26	—	4.26	0	—	—
물 : 0.05% EDA+ACN=30 : 70	5.76	—	4.29	1.29	—	—
0.1% 개미산수용액 : 0.025% TEA + 0.05% EA+ACN=30 : 70	5.51	3.66	4.22	0.92	1.03	1.74
0.1% 개미산수용액 : 0.025% TEA + 0.05% EA+ACN=20 : 80	8.31	3.90	4.50	2.40	0.73	3.64

R_{s-b} : 소르비톨과 공백봉우리의 분리도, R_{s-g} : 소르비톨과 글리세린의 분리도,

R_{g-b} : 글리세린과 공백봉우리의 분리도, 이동상흐름속도 0.1mL/min

표 1의 결과로부터 이동상조성을 0.1% 개미산수용액 : 0.025% TEA + 0.05% EA + ACN = 20 : 80으로 하였을 때 소르비톨과 글리세린에 대해 가장 좋은 분리결과가 얻어진다는것을 알수 있다. 소르비톨은 공백봉우리, 글리세린봉우리와 완전히 분리되며 글리세린은 공백봉

우리와의 분리도가 0.73으로서 다른 조건에 비해 가장 분리가 잘 되었다.

시료처리조건 및 검량선 5종의 치약을 대상으로 시료량에 따르는 소르비톨의 함량을 결정하였는데 시료량을 0.20~0.30g 취하여 추출조작을 진행할 때 소르비톨함량이 최대 되었다.

다음 초음파추출시간을 5, 10, 15min으로 변화시키면서 소르비톨함량변화를 측정한 결과 10min이상에서 변화가 없었다. 따라서 초음파추출시간은 10min으로 정하였다.

액체크로마토그래프체계에 주입된 소르비톨과 글리세린의 표준용액농도와 봉우리면적 사이 관계는 다음과 같다. 소르비톨용액은 1.4~42.0 μ g/mL구간에서 회귀방정식 $y = 10\,480x + 4\,862.7 (R^2 = 0.995\,6)$, 글리세린용액은 4.0~70.0 μ g/mL구간에서 회귀방정식 $y = 430.3x + 252.3 (R^2 = 0.995\,6)$ 으로서 좋은 선형성을 가진다. 소르비톨과 글리세린용액의 검출한계(잡음신호의 3배)는 각각 1.2, 3.5 μ g/mL이며 치약에서 정량한계는 각각 0.003 2, 0.009 3%이다.

대상물분석 분리탑 BEH HILIC탑, 이동상 0.1% 개미산수용액 : 0.025% TEA + 0.05% EA + ACN = 20 : 80, 이동상흐름속도 0.1mL/min, 표류관온도 70 $^{\circ}$ C, 기체흐름속도 2.5L/min, 신호증폭결수 100인 UPLC-ELSD측정조건에서 5종의 견본치약에 대한 소르비톨과 글리세린의 분석결과는 표 2와 같다.

표 2. 견본치약에서 소르비톨과 글리세린의 분석결과

시료 번호	소르비톨함량/%						글리세린 함량/%					
	측정값		평균값		표준 편차	변동 계수	측정값		평균값		표준 편차	변동 계수
1	68.11	66.27	67.59	67.32	0.95	1.41	—	—	—	—	—	—
2	13.10	13.17	12.89	13.05	0.15	1.12	5.62	5.45	5.7	5.59	0.13	2.28
3	7.74	7.89	7.65	7.76	0.12	1.56	—	—	—	—	—	—
4	20.84	19.76	19.98	20.19	0.57	2.82	7.74	8.26	7.98	7.99	0.26	3.26
5	9.56	10.29	9.97	9.94	0.36	3.67	10.26	9.74	10.14	10.05	0.27	2.70

표 2에서 보는바와 같이 치약에서 소르비톨과 글리세린을 각각 3.67, 3.26%이하의 정밀도로 분석할수 있었다. 시료에 소르비톨과 글리세린을 20.0 μ g/mL 되게 첨가하여 회수율을 결정한 결과 평균회수율은 각각 95.2~98.0, 94.0~96.2%이다.

맺 는 말

초고성능액체크로마토그래프법으로 치약에서 소르비톨과 글리세린을 분석하기 위한 방법을 확립하였다. BEH HILIC탑과 증발빛산란검출기를 리용할 때 소르비톨과 글리세린의 분석에 미치는 아민변성제의 종류와 농도에 따르는 이동상조성과 표류관온도의 영향을 검토하고 최적조건을 찾았으며 5종의 견본치약에 대한 분석을 진행하였다.

치약에서 소르비톨과 글리세린의 정량한계는 각각 0.003 2, 0.009 3%이며 평균회수율은 각각 95.2~98.0, 94.0~96.2%이다.

참 고 문 헌

- [1] 리현희 등; 분석, 24, 292, 주체107(2018).
- [2] Hilda Butler; Poucher's Perfumes, Cosmetics and Soaps, Kluwer Academic Publishers, 231~234, 2000.
- [3] Rikke Andersen et al.; Journal of Chromatography, A 897, 195, 2000.
- [4] Ziad El Rassi; Carbohydrate Analysis, Elsevier, 116~120, 1995.
- [5] Michiko Miyagi et al.; Journal of Chromatography, B 854, 286, 2007.
- [6] Jeongae Lee et al.; Journal of Chromatography, B 831, 126, 2006.
- [7] Zs. F. Katona et al.; Journal of Chromatography, A 847, 91, 1999.
- [8] 史海良 等; 分析试验室, 28, 12, 294, 2009.

주체108(2019)년 1월 5일 원고접수

Determination of Sorbitol and Glycerin in Toothpaste by Ultra-Performance Liquid Chromatography

Yun Kum Song, Ri Hyon Hui

We established the method to determine sorbitol and glycerin in toothpaste by ultra-performance liquid chromatography. When we used BEH HILIC column, the evaporative light scattering detector and mobile phase adding amine compounds as modifier, in toothpaste the determination limit of sorbitol and glycerin are 0.003 2, 0.009 3%, respectively.

Key words: ultra-performance liquid chromatography, sorbitol, glycerin