

초고성능액체크로마토그래프법에 의한 화장품에서 몇가지 파라벤들의 정량

윤정호, 리현희, 김성희

화장품에 리용되고있는 파라벤계방부제인 메틸파라벤, 에틸파라벤, 프로필파라벤, 부틸파라벤은 피부에 아무런 자극도 주지 않고 살균, 살충작용을 하므로 화장품에서 방부제로 리용되고있다.[3] 화장품에서 메틸파라벤, 에틸파라벤, 프로필파라벤, 부틸파라벤의 분석은 HPLC법[4-6], 미셀전기영동크로마토그래프법(MEKC)[7-9], 모세관전기영동분석법(CZE)[10]으로 진행하고있다. 화장품에 들어있는 파라벤계방부제의 HPLC분석에서는 이것들을 다른 성분들과 분리하기 위하여 복잡한 구배분리를 진행하고있으며 모세관전기영동분석법에서는 추출분리를 진행하고있다.

분리탑에 $2\mu\text{m}$ 이하의 고정상립자들을 리용하는 초고성능액체크로마토그래프법(UPLC)은 전통적인 고성능액체크로마토그래프법(HPLC)에 비하여 분해능과 분석속도, 감도가 몇배 더 크다.[1, 2]

우리는 초고성능액체크로마토그래프법을 리용하여 화장품에서 파라벤계방부제인 메틸파라벤, 에틸파라벤, 프로필파라벤, 부틸파라벤을 신속히 분석하기 위한 분석법을 확립하고 크림과 살결물분석에 적용하였다.

실험 방법

기구로는 초고성능액체크로마토그래프(《ACQUITY UPLC》), 빛2극소자배렬검출기, 전자천평, 초음파분산기, 10mL 및 25mL 눈금플라스크를, 시약으로는 메틸알콜(HPLC급), 메틸파라벤, 에틸파라벤, 프로필파라벤, 부틸파라벤표준용액, 에틸알콜(순), 초순수, 0.02mol/L KH_2PO_4 용액을 리용하였다.

UPLC측정조건은 분리탑 ACQUITY BEH Shield RP18, $1.7\mu\text{m}$, $2.1\text{mm}\times 150\text{mm}$, 이동상 0.02mol/L KH_2PO_4 : 메틸알콜 = 40 : 60(체적비), 류속 0.15mL/min, 주입체적 $10\mu\text{L}$, 실행시간 10min, 측정파장 256nm이다.

이 조건에서 측정한 메틸파라벤, 에틸파라벤, 프로필파라벤, 부틸파라벤표준물질의 크로마토그램은 그림 1과 같다.

시료에서 메틸파라벤, 에틸파라벤, 프로필파라벤, 부틸파라벤을 추출하기 위하여 일정한 량의 시료를 취하여 메틸알콜 20mL에 넣고 초음파분산기로 5min동안 분산시켰다. 그다음 용액을 원심분리하고 적당한 량의 상등액을 취해 크로마토그래프분석을 진행하였다.

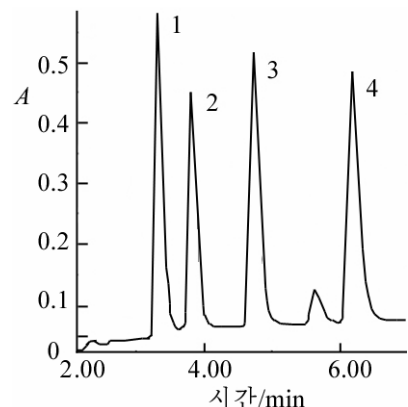


그림 1. 메틸파라벤(1), 에틸파라벤(2), 프로필파라벤(3), 부틸파라벤(4)표준물질의 크로마토그램

실험결과 및 해석

추출용매의 영향 메틸알콜과 에틸알콜에 의한 파라벤들의 추출률은 표 1과 같다.

표 1에서 보는바와 같이 메틸알콜과 에틸알콜에서의 추출률이 거의 차이가 없으므로 시료에서 메틸파라벤, 에틸파라벤, 프로필파라벤, 부틸파라벤의 추출용매로 메틸알콜을 리용하였다.

조음파분산시간의 영향 시료에서 조음파분산시간에 따르는 파라벤들의 추출률은 표 2와 같다.

표 1. 메틸알콜과 에틸알콜에 의한 파라벤들의 추출률(%)

| 추출성분 | 용매 | |
|--------|------|------|
| | 메틸알콜 | 에틸알콜 |
| 메틸파라벤 | 98.2 | 95.5 |
| 에틸파라벤 | 97.3 | 98.1 |
| 프로필파라벤 | 98.0 | 97.4 |
| 부틸파라벤 | 97.8 | 98.1 |

표 2. 조음파분산시간에 따르는 파라벤들의 추출률(%)

| 조음파분산시간/min | 메틸파라벤 | 에틸파라벤 | 프로필파라벤 | 부틸파라벤 |
|-------------|-------|-------|--------|-------|
| 1 | 72.0 | 74.0 | 71.0 | 75.0 |
| 2 | 81.0 | 82.0 | 80.0 | 84.0 |
| 3 | 91.0 | 90.0 | 90.0 | 92.0 |
| 4 | 96.0 | 96.0 | 96.0 | 97.0 |
| 5 | 97.8 | 97.3 | 98.0 | 98.2 |
| 6 | 97.8 | 97.3 | 98.0 | 98.2 |
| 7 | 97.8 | 97.3 | 98.0 | 98.2 |

표 2에서 보는바와 같이 분산시간 5min이상에서는 추출률이 일정하므로 조음파분산시간을 6min으로 정하였다.

온도의 영향 온도는 시료에서 메틸파라벤, 에틸파라벤, 프로필파라벤, 부틸파라벤의 추출률에 거의 영향을 미치지 않았다.

실지 시료에서 메틸파라벤, 에틸파라벤, 프로필파라벤, 부틸파라벤의 추출은 방온도에서 진행하였다.

추출용매체적의 영향 시료에서 메틸알콜의 체적에 따르는 파라벤들의 추출률은 표 3과 같다.

표 3. 메틸알콜의 체적에 따르는 파라벤들의 추출률(%)

| 메틸알콜체적/mL | 메틸파라벤 | 에틸파라벤 | 프로필파라벤 | 부틸파라벤 |
|-----------|-------|-------|--------|-------|
| 2 | 84.0 | 82.0 | 80.0 | 81.0 |
| 4 | 93.0 | 92.0 | 92.0 | 92.0 |
| 6 | 97.5 | 96.5 | 97.0 | 97.0 |
| 8 | 98.2 | 97.3 | 98.0 | 97.8 |
| 10 | 98.2 | 97.3 | 98.0 | 97.8 |

표 3에서 보는바와 같이 메틸알콜의 체적이 8mL이상에서는 추출률이 일정해지므로 메틸알콜첨가량을 10mL로 하였다.

선형범위와 검출한계 메틸파라벤, 에틸파라벤, 프로필파라벤, 부틸파라벤의 농도와 봉우

리면적사이의 선형성은 $0.03 \sim 40 \mu\text{g/mL}$ 의 범위에서 성립되었다.(그림 2) 상관결수(R^2)는 $0.997 \sim 0.999$ 이며 검출한계($S/N = 3$)는 $0.03 \mu\text{g/mL}$ 이다.

대상물분석 대상물분석은 표준첨가법으로 하였다.

저울질한 일정한 량의 시료와 메틸파라벤, 에틸파라벤, 프로필파라벤, 부틸파라벤 표준용액을 10mL 눈금플라스크에 넣고 눈금까지 메틸알콜을 넣었다.

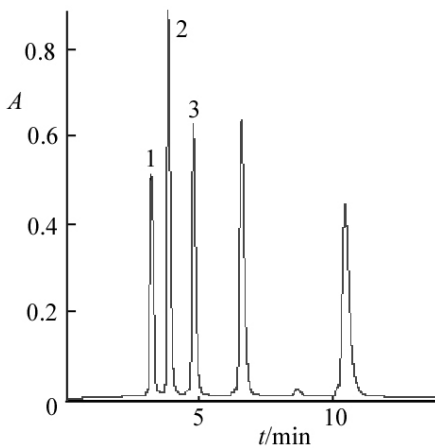


그림 3. 살결물(1)에서 추출한 메틸파라벤(1), 에틸파라벤(2), 프로필파라벤(3)의 크로마토그램

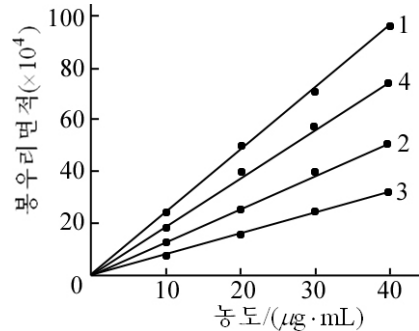


그림 2. 메틸파라벤(1), 에틸파라벤(2), 프로필파라벤(3), 부틸파라벤(4)의 농도와 크로마토그램 봉우리면적사이의 선형범위

5min동안 초음파분산시킨 후 원심분리관에 옮겨 7 000r/min에서 원심분리하고 일정한 량의 상등액을 취해 25mL 눈금플라스크에 넣었다. 눈금까지 메틸알콜을 채우고 진탕하여 잘 혼합한 후 이 용액을 UPLC체에 주입하였다.

살결물(1)에서 추출한 메틸파라벤, 에틸파라벤, 프로필파라벤, 부틸파라벤의 크로마토그램은 그림 3과 같다.

검량선법으로 정량한 몇가지 화장품에서 메틸파라벤, 에틸파라벤, 프로필파라벤, 부틸파라벤의 함량은 표 4와 같다.

표 4. 몇가지 화장품에서 메틸파라벤, 에틸파라벤, 프로필파라벤, 부틸파라벤의 함량

| 시료 | | 함량/% | 변동결수/% | 회수율/% |
|--------|---------|------|--------|-------|
| 살결물(1) | 메틸 파라벤 | 0.15 | 2.2 | 95.4 |
| | 에틸 파라벤 | 0.23 | 1.5 | 97.8 |
| | 프로필 파라벤 | 0.16 | 2.6 | 96.4 |
| 크림(1) | 메틸 파라벤 | 0.11 | 3.6 | 98.2 |
| | 프로필 파라벤 | 0.22 | 1.9 | 98.5 |
| | 부틸 파라벤 | 0.10 | 3.1 | 97.2 |
| 살결물(2) | 메틸 파라벤 | 0.17 | 2.1 | 96.3 |
| 크림(2) | 메틸 파라벤 | 0.25 | 1.2 | 96.7 |

표 4에서 보는바와 같이 살결물과 크림에서 메틸파라벤, 에틸파라벤, 프로필파라벤, 부틸파라벤을 정량할 때 변동결수($n=5$)는 3.6%이하이며 실지 시료에 첨가한 메틸파라벤, 에틸파라벤, 프로필파라벤, 부틸파라벤의 회수율은 95.4%이상이다.

맺는 말

우리는 초고성능액체크로마토그래프법(UPLC)을 리용하여 화장품에서 메틸파라벤, 에틸파라벤, 프로필파라벤, 부틸파라벤을 분석하기 위한 분석방법을 확립하고 크림과 살결물속에서 메틸파라벤, 에틸파라벤, 프로필파라벤, 부틸파라벤을 정량하였다.

우리가 확립한 분석법은 간단하며 짧은 시간에 높은 정밀도(변동계수 3.6%이하)로 측정할수 있으며 실지 시료에 첨가한 메틸파라벤, 에틸파라벤, 프로필파라벤, 부틸파라벤의 회수률은 95.4%이상이다.

참고 문헌

- [1] Yonghong Liang et al.; Journal of Chromatography, B 974, 75, 2015.
- [2] Valeria Cristina Jardim et al.; Journal of Chromatography, B 974, 35, 2015.
- [3] Muhammad Sajid et al.; Journal of Chromatography, B 1000, 192, 2015.
- [4] S. C. Rastogi et al.; J. Chromatogr. Acta, 1031, 315, 2004.
- [5] M. Borremans et al.; Chromatographia, 59, 47, 2004.
- [6] E. Marengo et al.; J. Chromatogr. Acta, 1029, 57, 2004.
- [7] S. He et al.; Talanta, 69, 166, 2006.
- [8] S. Sirichai et al.; Anal. Sci., 20, 1741, 2004.
- [9] H. Huang et al.; J. Chromatogr. Acta, 993, 153, 2003.
- [10] L. Labat et al.; Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 23, 763, 2000.

주체107(2018)년 1월 5일 원고접수

Determination of Different Parabens in Cosmetics by Ultra Performance Liquid Chromatography

Yun Jong Ho, Ri Hyon Hui and Kim Song Hui

We established the analytical method that could determinate simply different parabens in cosmetics by ultra performance liquid chromatography.

The linear range of calibration of methylparaben, ethylparaben, propylparaben and butylparaben is 0.03 ~ 40 µg/mL and the detection limit($S/N=3$) is 0.03 µg/mL, the variation coefficient of determination for different parabens in various cosmetics is below 3.6% and the recovery is up 95.4%.

Key words: ultra performance liquid chromatography, methylparaben, ethylparaben, propylparaben, butylparaben