

동시분석법을 이용한 아토피 화장품 중 스테로이드 성분 모니터링

화장품연구팀

신지영 · 윤은선 · 홍미선 · 김동규 · 정윤경 · 김정현 · 채영주

Simultaneous Analysis of Steroids by High-Performance Liquid Chromatography Method in Cosmetics for Atopy

Cosmetics Research Team

**Ji-young Shin, Eun-sun Yun, Mi-sun Hong, Dong-gyu Kim,
Yoon-kyung Jung, Jung-hun Kim and Young-zoo Chae**

Abstract

This study was conducted to analyze 25 steroid hormones in 37 cosmetic samples for atopy. We simultaneously separated 25 steroid hormones by High-Performance Liquid Chromatography(HPLC) with Diode Array Detector(DAD) based on gradient programmed mobile phase(water and acetonitrile) and Shiseido Capcell PAK-C18(5 μ m, 4.6 \times 250 mm) column. The limit of detection(LOD) and limit of quantitation(LOQ) were 0.031~0.299 μ g/mL and 0.104~0.995 μ g/mL respectively. The recoveries for the 25 steroid hormones were 48.7~98.6% for lotion and 63.0~89.5% for cream. Steroid agents cannot be used in cosmetic products, and they are forbidden by Korean Cosmetic Law. Fortunately, steroid hormones in the 37 cosmetic samples for atopy were not detected.

Key words : steroid hormones, HPLC, cosmetics for atopy

서 론

스테로이드(Steroid)는 4원자 고리 탄화수소(사이클로펜타노하이드로페난트렌 고리)가 기본 구조인 호르몬으로 거의 모든 생물이 생합성 하고 있

으므로 생물체에 가장 널리 존재하는 성분 중 하나이다. 종류로는 고등동물이나 사람에게서 볼 수 있는 여성·자성의 생식선 호르몬이나 부신 피질 호르몬, 곤충이나 갑각류에서 볼 수 있는 탈피 호르몬 등이 있으며(1), 인간은 정소 등에서 분비되는

성호르몬과 부신 피질에서 분비되는 스테로이드 호르몬을 이용하여 다양한 의약품을 개발하였다. 협의의 스테로이드는 우리 몸의 부신 피질 호르몬을 흉내 내 화학적으로 합성한 호르몬제로서 류마티스, 루푸스, 피부질환, 안과질환 등 각종 질병 치료에 광범위하게 쓰이고 있다(2).

스테로이드 제제의 가장 큰 역할 중 하나는 강력한 소염작용과 면역억제 기능이다(3). 그래서 각종 알레르기 질환에 탁월한 효과를 발휘하며, 아토피 피부염에서는 가려움을 진정시키는 용도로 많이 사용되고 있다. 스테로이드제의 사용은 짧은 시간 내에 증상을 경감시켜 주는 면에서 좋은 치료법이 될 수 있다. 특히 아토피 피부염, 건선, 지루성 습진, 류마티스 관절염 등 난치성 면역질환의 경우에는 일시적으로 증상의 감소를 주지만, 그것이 곧 근본적인 치료는 될 수 없다는 점에서 사용상에 매우 세심한 주의가 필요하다(4).

스테로이드의 탁월한 약효만큼, 스테로이드 제제를 잘못 사용하면 갖가지 부작용이 따른다. 스테로이드제의 부작용으로는 비만, 얼굴부종, 당뇨병, 고혈압, 불면이나 우울증, 소화기관의 궤양, 소아의 성장장애, 수면장애, 정서장애, 여드름, 체형변화, 골괴사, 근육병, 상처치유 지연, 감염악화, 골다공증, 피부위축, 혈관확장, 색소침착, 다모증, 동맥경화, 지방간, 정신병, 뇌압증가, 백내장, 녹내장, 췌장염, 고지혈증, 혈관염 등 수많은 부작용 사례가 보고되고 있다. 이와 함께 스테로이드 부작용의 대표적인 예가 약물내성과 면역력 저하이다. 처음에는 강도가 낮은 스테로이드제를 사용하다가 점차 내성이 생겨 효과가 없어지게 되고, 다음에는 보다 강도가 높은 스테로이드제를 사용하게 된다. 불행하게도 가장 강도가 높은 스테로이드제에도 내성이 생기는 경우에는 더 이상 치료약이 없는 매우 힘든 상태에까지 이를 수도 있다. 그리고 인체의 면역력이 저하되어 감염증에 걸리기 쉽게 되며, 상처나 염증의 치유경과가 진행되지 않아 잘 낫지 않게 된다(3, 5).

특히 스테로이드 성분이 함유된 화장품을 발랐을 때 여드름 등 피부 트러블이 있는 사람이 바르면 일시적으로 피부 개선 효과를 보이나, 감염증, 모낭염, 부스럼 등 피부증상 등의 부작용을 나타

낼 수 있으며, 장기 연용 시 스테로이드 성 여드름, 스테로이드성 피부(피부 위축, 모세 혈관 확장, 붉은 반점) 등의 부작용이 나타날 수 있는 만큼 화장품은 의약품이 아니므로 피부 질환 등 의약적 효능이 있다고 판매하는 불법 화장품에 대한 주의가 요구된다(7). 그래서 우리나라에서는 스테로이드 제제를 전문의약품으로 분류해서 엄격히 관리하고 있다(8). 화장품 법 제4조 제3항 및 제13조 제6호의 규정에 의한 「화장품 원료 지정과 기준 및 시험방법 등에 관한 규정」(식품의약품안전청 고시 제2006-12호)에 따르면 스테로이드 구조를 갖는 성분은 배합금지 원료로 지정되어 있다. 유럽의 경우도 유럽연합에서 Directive 76/760(Enclosure II)에 근거하여 화장품 속에 스테로이드가 사용될 수 없도록 금지하고 있으나 이탈리아에서 1997년 클로베타솔 프로피오네이트가 처음으로 화장품 속에서 검출되는 등 마켓이나 인터넷을 통한 경로로 몇몇 소비자들에게 스테로이드가 사용된 화장품이 유통 되면서 Gas chromatography mass spectrometry(GC-MS), High-performance liquid chromatography ultraviolet(HPLC-UV), Thin-layer chromatography(TLC), High-performance liquid chromatography mass spectrometry(HPLC-MS), Radioimmunoassay(RIA) 등을 이용하여 합성 스테로이드를 정성·정량하였다(13). 우리나라에서도 식약청이 2010년 화장품 배합금지 원료인 스테로이드 성분이 함유된 불법화장품을 제조한 7개소 9개 제품을 적발하여 발표한 바 있으며(9), 서울시 보건환경 연구원에서는 의약품에 대한 스테로이드 호르몬 조사와 화장품에 대한 레티놀과 토코페롤 성분 분석과 보존제 사용 실태 조사 등의 약품과 화장품의 유효성과 안전성에 대한 연구 및 조사를 지속적으로 실시하고 있다(10,11,12).

이에 최근 스테로이드가 함유된 불법화장품이 적발되고 있는 시점에서 서울시내 유통화장품에 대한 안전성을 확립할 필요성이 제기되고 있으므로 본 연구를 통하여 회수율이 높은 diode array detector(DAD)를 이용한 액체크로마토그래피(HPLC) 법을 화장품 중 스테로이드 확인 방법으로 정립하여 제품에 대한 모니터링을 수행하겠다(13, 14).

재료 및 방법

1. 실험재료 및 검액 조제

서울시내에서 병의원 또는 인터넷으로 유통 중인 아토피 관련 화장품 37건을 실험재료로 하였다. 시험대상 제품은 제조사 20업체와 판매사 21업체에서 생산된 제품으로 제조사 두 곳은 각각 판매사 두 군대를 가지고 있었으며 판매사 한 곳은 두 군대의 제조사를 두고 있기도 했다. 제형별로는 로션이 15건, 크림이 22건이며, 원산지별로 보면 국내제품 32건과 수입제품 5건 이었다.

검액 조제 방법은 식품의약품안전평가원의 시험법을 참고하여 실험재료 약 4.0 g을 달아 methanol 15 mL을 넣어 초음파 진탕하여 충분히 분산시킨 후, methanol을 넣어 20 mL로 한 액을 3,000 rpm으로 원심분리 하였다. 원심분리한 상층액을 0.2 μ m syringe filter로 여과하여 검액으로 하였다.

2. 표준품 및 시약

실험에 사용된 스테로이드 의약품 25종의 표준품 중 betamethasone, betamethasone17-valerate, betamethasone17,21-dipropionate, betamethasone21-acetate, dexamethasone21-acetate, hydrocortisone, prednisolone, prednisolone21-acetate, triamcinolone acetonide, clobetasol17-propionate은 Sigma사 (Steinheim, Germany)에서 구입하여 사용하였으며, beclomethasone, beclomethasone17-propionate, beclomethasone17,21-dipropionate, beclomethasone21-acetate, beclomethasone21-propionate, betamethasone21-valerate, budesonide, hydrocortisone17-acetate, hydrocortisone21-acetate, hydrocortisone21-valerate, cortisone21-acetate, dexamethasone, hydrocortisone17-valerate, prednisone21-acetate, triamcinolone diacetate은 식품의약품안전평가원으로부터 제공받아 사용하였다.

표준품 조제 방법은 식품의약품안전평가원의 시험법을 참고하여 표준품은 10 mg을 각각 정밀하게 달아 메탄올 10 mL을 넣어 녹여 1,000 μ g/mL로 한 표준액을 만든 후 2, 4, 8 μ g/mL이 되도록 단계별로 희석하여 0.2 μ m 필터로 여과한 후 HPLC에 주입

하였다.

추출 및 표준용액 조제용 methanol은 Merck사 (Darmstadt, Germany)의 HPLC grade를 사용하였고, 이동상용 acetonitrile은 Burdick & Jackson사(SK chemicals, Ulsan, Korea)의 HPLC grade를 0.45 μ m membrane filter로 여과하여 사용하였다.

3. 실험기기

HPLC는 Waters사의 Acquity UPLC[®](USA)에 검출기로 DAD를 부착하여 사용하였고 HPLC 운영과 data 분석을 위해 Data Analysis software (Empower2)를 이용하였다.

실험재료의 용해와 추출을 위해 Ultra-sonicator (FS7652H, Fisher, USA)와 원심분리기(Universal 320, hettich, Germany)를 사용하였고, HPLC용 증류수는 Water purifier system(ELGA, Bucks, England)으로 조제하여 사용하였다.

4. 실험방법

1) HPLC 조건

식품의약품안전청 스테로이드 분석법(8)을 참고하여 표 1의 조건으로 실험하였다. HPLC용 칼럼은 Capcell PAK-C18(4.6 \times 250 mm, particle size 5 μ m, Shiseido, Japan)을 사용하였고, 기기조건은 검출과장을 190~400 nm로 하여 스펙트럼을 구하고 245 nm에서 정량하였다. 이동상은 A(acetonitrile, ACN)와 B(water)를 사용하여 gradient program을 이용하였다. Gradient 조건은 30% A 20분, 60% A 15분, 100% A 10분, 100 \rightarrow 30% A 5분, 30% A 5분이었으며, Flow rate는 분당 1.0 mL로 유지하였고, 주입량은 10 μ l로 실험하였다.

2) 정밀도 및 회수율

각각의 표준액을 3회 반복 주입하여 머무름 시간, 상대표준편차, 분산정도를 구하여 분석방법의 반복성을 측정하여 정밀도를 구하였다.

스테로이드(25종)를 함유하지 않는 로션과 크림 각각 1건을 선택하여 약 2.0 g을 달아 메스플라스크에 넣고 8 μ g/mL 농도의 스테로이드 혼합표준

Table 1. Condition of HPLC for analysis

Column	Shiseido Capcell PAK-C18 컬럼 (5 μ m, 4.6 \times 250 mm)	
Detector	Diode Array Detector (DAD)	
Wavelength	245 nm	
Flow rate	1.0 mL/min	
Injection vol.	10 μ l	
Mobile phase	A 100% ACN, B 100% Water	
Gradient program		
Time(min)	A(%)	B(%)
0~20	30	70
20~35	60	40
35~45	100	0
45~50	100 \rightarrow 30	0 \rightarrow 70
50~55	30	70

액을 10 mL을 넣은 후 초음파 진탕하여 충분히 분산시키고 3,000 rpm으로 원심분리 후 그 상층액을 0.2 μ m syringe filter로 여과하여 3회 반복 실험을 실시하여 회수율을 구하였다.

결과 및 고찰

1. 검량선 작성 및 검출·정량한계

스테로이드 표준용액을 표 2와 같이 A, B group으로 나누어 혼합 표준용액을 2, 4, 8 μ g/mL이 되도록 희석, 조제하여 HPLC에 주입한 후 얻어진 면적값으로 검량선을 작성한 결과는 그림 1과 같다. 스테로이드 25종 모두 0.99이상의 상관계수를 나타내어 양호한 직선성을 나타내었다. 분석기기 내의 데이터 분석프로그램(Empower 2)의 시스템적합성 프로그램을 이용하여 signal/noise ratio를 3으로 하였을 때 적분되어지는 한계를 검출한계(LOD)로, 10으로 하였을 때를 정량한계(LOQ)로 정하여 스테로이드 종류별 검출한계와 정량한계를 측정하였다. 실험결과는 표 3와 같은 결과를 얻었으며 전체적으로 검출한계는 0.031~0.299

μ g/mL, 정량한계는 0.104~0.995 μ g/mL로 나타났다.

2. 분석기기의 병행정밀성

25종의 스테로이드는 분리능을 향상시키고자 평균 머무름 시간에 따라 A, B 두 그룹으로 나누어 실험하였으며 245 nm에서의 25종의 Calibration curve는 그림 1에서와 같은 직선성을 보여서 표 3에서와 같이 검량선의 직선성을 나타내는 R²값이 0.9975이상이었다. 이 검량선을 이용하여 25종 스테로이드 표준액의 농도별 3회 반복 주입에 따른 오차를 측정하기 위한 반복성 검사를 하였다. 25종 스테로이드의 크로마토그램은 그림 2와 같으며, 평균 머무름 시간을 (분) \pm 표준편차로 나타낼 때 prednisolone이 8.291 \pm 0.04으로 가장 먼저 분리·용출되었으며 hydrocortisone 8.741 \pm 0.10, betamethasone 16.093 \pm 0.11, dexamethasone 17.066 \pm 0.30, hydrocortisone 17-acetate 18.381 \pm 0.12, beclomethasone 20.575 \pm 0.37, triamcinolone acetonide 21.624 \pm 0.17, prednisolone 21-acetate 26.459 \pm 0.19, triamcinolone diacetate 26.891 \pm 0.11, hydrocortisone 21-acetate 29.921 \pm 0.11, prednisone

21-acetate 29.119±0.08, cortisone 21-acetate 29.921±0.11, budesonide 30.944±0.05, betamethasone 21-acetate 31.483±0.09, dexamethasone 21-acetate 32.475±0.06, beclomethasone 21-acetate 32.812±0.07, beclomethasone 17-propionate 33.758±0.04, hydrocortisone 17-valerate 34.595±0.05, beclomethasone 21-propionate 35.526±0.05, betamethasone 17-valerate 36.959±0.04, hydrocortisone 21-valerate 37.96±0.04, clobetasol 17-propionate 39.227±0.04, betamethasone 21-valerate 39.406±0.08, betamethasone 17,21-dipropionate 39.90±0.03, beclomethasone 17,21-dipropionate 40.329±0.03 순으로 beclomethasone 17,21-dipropionate 가 40분대로 가장 나중에 분리, 용출 되었다.

3. 회수율

로션제와 크림제 각각 1개를 선택하여 총 2개의 회수율용 시료를 3회 반복 실험하여 회수율을 구하였다. HPLC에 주입하여 얻은 면적을 정량하여 제형별, 농도별로 측정된 결과는 표 4와 같다. 로션제의 회수율은 48.7~98.6%, 크림제의 회수율은 63.0~89.5%이었다. 로션제의 회수율은 편차가 크게 나타났으며 크림제의 경우는 beclomethasone-21 acetate, betamethasone-17,21 dipropionate, hydrocortisone을 제외한 나머지 성분들은 평균

88.6%로 고른 분포를 나타냈다.

4. 시료의 스테로이드 분석

시중에서 아토피용으로 판매되는 화장품 37건을 분석조건에 따라 시험한 결과 스테로이드는 검출되지 않았다. 화장품 법(시행 2010.3.19)에 의하면 스테로이드는 배합금지 성분으로 당연히 검출되어서는 안되는 성분이다.

5. 스테로이드 동시분석법

스테로이드의 분석은 Gas chromatography mass spectrometry(GC-MS), High-performance liquid chromatography ultraviolet(HPLC-UV), Thin-layer chromatography(TLC), High-performance liquid chromatography mass spectrometry(HPLC-MS), Radioimmunoassay(RIA) 등 다양한 방법이 사용될 수 있다. 처음에는 합성스테로이드가 열에 불안정한 물질이어서 oxo group의 유도체화와 hydroxyl group의 산화과정등 긴 전처리 과정이 필요한 Gas chromatography mass spectrometry (GC-MS)를 사용하였으나 요즘은 순상, 역상 컬럼을 이용해서 분리한 후 UV absorbance, fluorescence, MS or radioimmunoassay(RIA)등을 이용하여 검출하는 방법으로 주로 HPLC를 사용하고 있다.

본 연구도 쉽게 운용할 수 있는 장비인 High-

Table 2. Classification of steroids by retention time

A group	B group
Prednisolone	Hydrocortisone
Betamethasone	Dexamethasone
Cortisol-17 acetate	Beclomethasone
Triamcinolone acetonide	Prednisolone-21 acetate
Triamcinolone diacetate	Cortisol-21 acetate
Triamcinolone diacetate	Cortisone-21 acetate
Triamcinolone diacetate	Betamethasone-21 acetate
Prednisone-21 acetate	Beclomethasone-21 acetate
Budesonide	Cortisol-17 valerate
Dexamethasone-21 acetate	Betamethasone-17 valerate
Beclomethasone-17 propionate	Clobetasol-17 propionate
Beclomethasone-17,21 dipropionate	Betamethasone-17,21 dipropionate

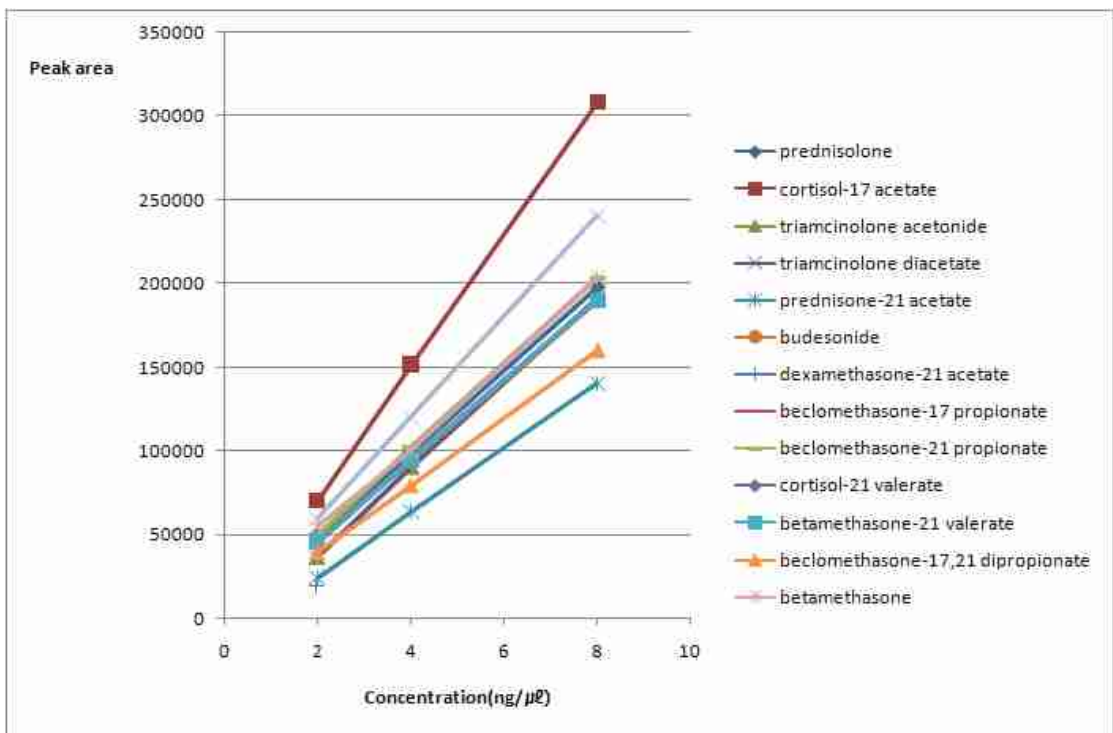
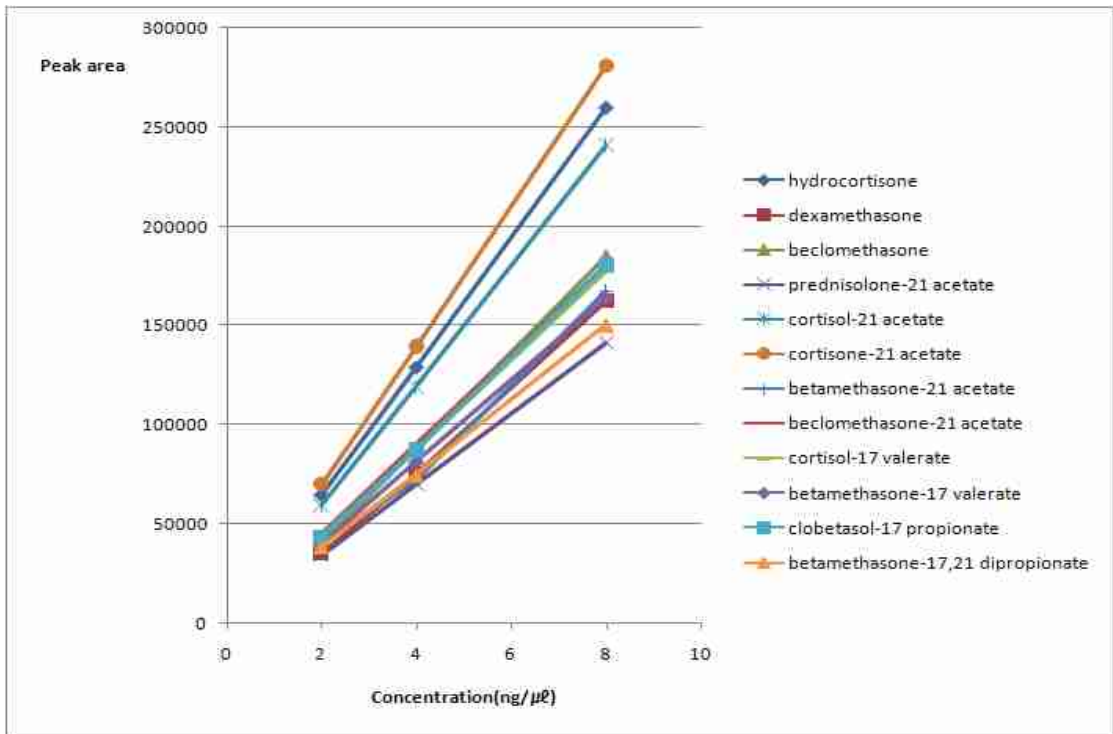


Fig. 1. Calibration curve of twenty five standard solution at 245 nm.

performance liquid chromatography(HPLC)-diode array detector(DAD)로 선제와 크림제 각각 평균 머무름 시간이 겹치지 않도록 A, B 두 그룹으로 나누어 동시에 분석하여 본 결과 로션제의 회수율은 고르지 못했으나 크림제의 경우는 고르

게 높은 회수율을 보인 만큼 스테로이드의 정성법으로 확립하기에 적합하다고 생각되며 정량법으로 High-performance liquid chromatography mass spectrometry(HPLC-MS)를 이용한 연구를 차후 진행 할 필요성이 제기되었다.

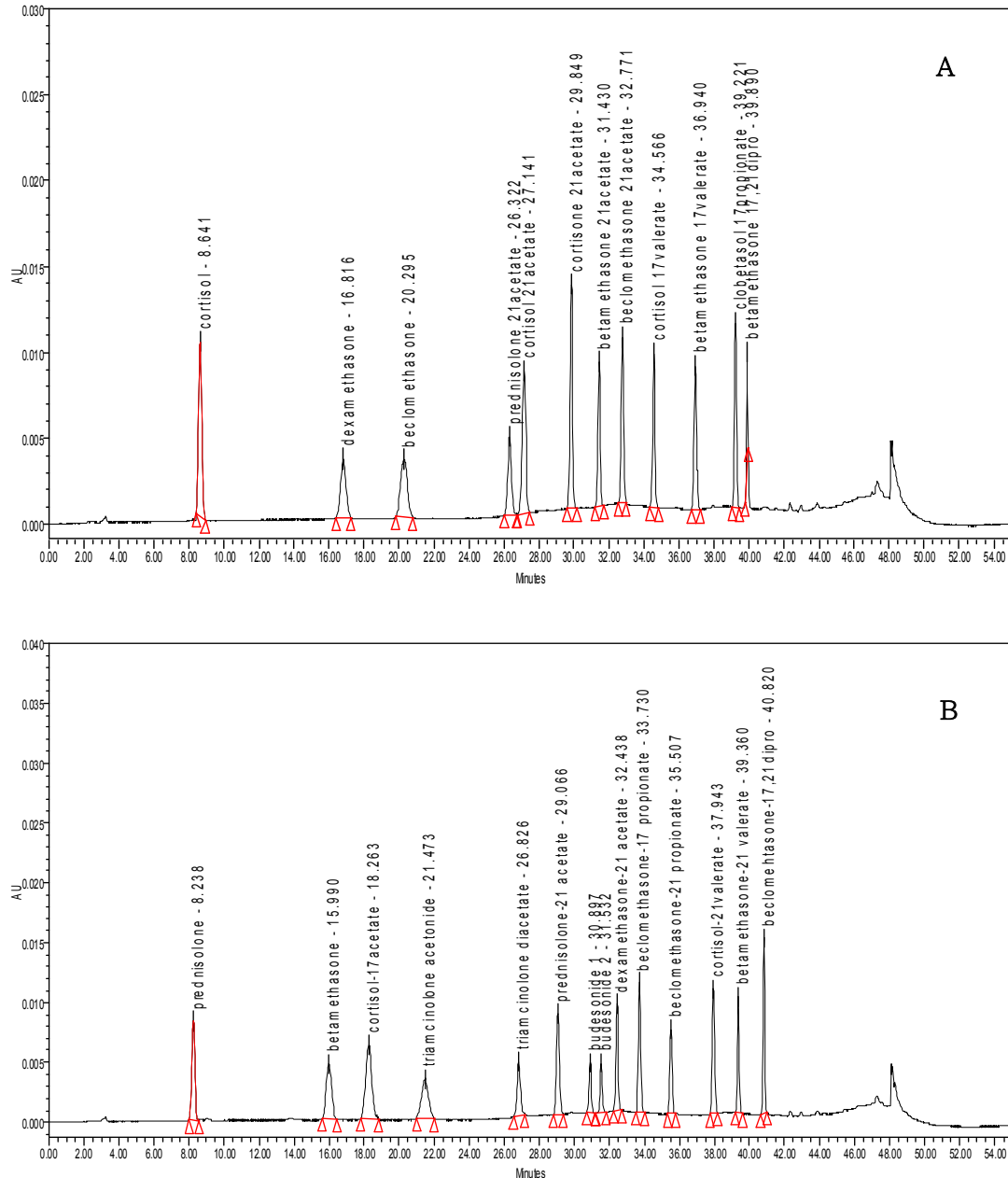


Fig. 2. Steroid A and B group chromatogram of steroids by HPLC-DAD.

Table 3. Linear regression equation and correlation coefficients(r^2) of standards

Standard	Equation	r^2	LOD($\mu\text{g/mL}$)	LOQ($\mu\text{g/mL}$)
prednisolone	$y = 2.48 \times 10^4 \times - 9.49 \times 10^2$	0.9999	0.108	0.360
betamethasone	$y = 2.58 \times 10^4 \times - 2.28 \times 10^3$	0.9975	0.183	0.609
cortisol-17 acetate	$y = 4.04 \times 10^4 \times - 1.49 \times 10^4$	0.9976	0.171	0.569
triamcinolone acetonide	$y = 2.57 \times 10^4 \times - 1.41 \times 10^4$	0.9993	0.299	0.995
triamcinolone diacetate	$y = 1.95 \times 10^4 \times - 1.47 \times 10^4$	0.9995	0.243	0.811
prednisone-21 acetate	$y = 2.40 \times 10^4 \times - 1.62 \times 10^3$	0.9999	0.108	0.361
budesonide	$y = 1.10 \times 10^4 \times - 1.39 \times 10^3$	0.9993	0.230	0.767
dexamethasone-21 acetate	$y = 2.40 \times 10^4 \times + 1.70 \times 10$	0.9999	0.101	0.337
beclomethasone-17 propionate	$y = 2.54 \times 10^4 \times - 2.3 \times 10^2$	0.9999	0.075	0.252
beclomethasone-21 propionate	$y = 1.65 \times 10^4 \times + 3.67 \times 10^2$	0.9999	0.089	0.299
cortisol-21 valerate	$y = 2.39 \times 10^4 \times - 1.07 \times 10^3$	0.9999	0.047	0.158
betamethasone -21 valerate	$y = 2.01 \times 10^4 \times - 5.22 \times 10^2$	0.9997	0.047	0.158
beclomethasone-17,21 dipropionate	$y = 3.00 \times 10^4 \times + 6.13 \times 10$	0.9999	0.031	0.104
hydrocortisone	$y = 3.29 \times 10^4 \times - 2.12 \times 10^3$	0.9998	0.089	0.296
dexamethasone	$y = 2.09 \times 10^4 \times - 6.74 \times 10^3$	0.9994	0.286	0.952
beclomethasone	$y = 2.45 \times 10^4 \times - 1.02 \times 10^4$	0.9997	0.293	0.977
prednisolone-21 acetate	$y = 1.80 \times 10^4 \times - 2.1 \times 10^3$	0.9997	0.204	0.680
cortisol-21 acetate	$y = 3.01 \times 10^4 \times - 1.12 \times 10^3$	0.9998	0.109	0.364
cortisone-21 acetate	$y = 3.54 \times 10^4 \times - 1.38 \times 10^3$	0.9998	0.071	0.235
betamethasone-21 acetate	$y = 2.01 \times 10^4 \times - 1.63 \times 10^3$	0.9998	0.110	0.366
beclomethasone-21 acetate	$y = 2.29 \times 10^4 \times - 8.13 \times 10^2$	0.9997	0.097	0.322
cortisol-17 valerate	$y = 2.22 \times 10^4 \times - 1.37 \times 10^3$	0.9998	0.104	0.347
betamethasone-17 valerate	$y = 2.07 \times 10^4 \times - 8.22 \times 10^2$	0.9998	0.11	0.366
clobetasol-17 propionate	$y = 2.26 \times 10^4 \times - 1.84 \times 10^3$	0.9996	0.086	0.288
betamethasone-17,21 dipropionate	$y = 1.89 \times 10^4 \times - 1.68 \times 10^2$	0.9997	0.107	0.357

Table 4. Recoveries of each steroid by cosmetic type

Compound	Spiked amount ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Lotion		Cream	
		Found amount \pm SD ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	recoveries (%)	Found amount \pm SD ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	recoveries (%)
prednisolone	8	7.2 \pm 0.12	90.2	7.1 \pm 0.01	89.1
betamethasone	8	6.6 \pm 0.14	83.0	7.1 \pm 0.01	89.2
cortisol-17 acetate	8	7.0 \pm 0.03	87.4	7.1 \pm 0.08	89.2
triamcinolone acetonide	8	6.8 \pm 0.10	85.2	7.1 \pm 0.04	88.2
triamcinolone diacetate	8	6.7 \pm 0.10	84.0	7.2 \pm 0.01	89.3
prednisone-21 acetate	8	7.4 \pm 0.04	92.5	7.1 \pm 0.11	89.1
budesonide	8	7.3 \pm 0.16	91.8	7.1 \pm 0.00	89.2
dexamethasone-21 acetate	8	6.9 \pm 0.03	86.4	7.1 \pm 0.01	89.0
beclomethasone-17 propionate	8	7.3 \pm 0.01	90.6	7.1 \pm 0.05	88.8
beclomethasone-21 propionate	8	7.9 \pm 0.13	98.6	7.1 \pm 0.08	89.1
cortisol-21 valerate	8	6.9 \pm 0.07	86.0	7.1 \pm 0.01	89.5
betamethasone -21 valerate	8	6.9 \pm 0.06	86.5	7.1 \pm 0.04	89.2
beclomethasone-17,21 dipropionate	8	7.7 \pm 0.07	96.3	7.1 \pm 0.07	89.5
hydrocortisone	8	5.3 \pm 0.28	66.2	6.1 \pm 0.07	75.7
dexamethasone	8	6.2 \pm 0.08	77.5	7.0 \pm 0.12	86.9
beclomethasone	8	6.8 \pm 0.10	84.6	7.1 \pm 0.03	88.3
prednisolone-21 acetate	8	6.7 \pm 0.05	83.7	7.1 \pm 0.10	88.5
cortisol-21 acetate	8	6.9 \pm 0.03	86.8	7.1 \pm 0.01	89.1
cortisone-21 acetate	8	6.8 \pm 0.03	84.6	7.1 \pm 0.01	88.7
betamethasone-21 acetate	8	6.7 \pm 0.04	83.7	7.0 \pm 0.03	87.9
beclomethasone-21 acetate	8	3.9 \pm 0.90	48.7	5.1 \pm 0.01	64.7
cortisol-17 valerate	8	6.7 \pm 0.01	84.1	7.0 \pm 0.04	86.7
betamethasone-17 valerate	8	7.0 \pm 0.02	87.9	7.0 \pm 0.06	88.0
clobetasol-17 propionate	8	6.9 \pm 0.01	86.4	6.9 \pm 0.09	87.2
betamethasone-17,21 dipropionate	8	4.6 \pm 0.43	58.0	5.0 \pm 0.03	63.0

결 론

HPLC-DAD를 이용하여 시중 유통되는 아토피용 화장품 중 스테로이드의 포함 여부를 분석하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 각 스테로이드 표준용액의 검량선은 R^2 값이 0.9975이상으로 양호한 직선성을 나타내었으며, 검출한계는 0.031~0.299 mg/L, 정량한계는 0.104~0.995 mg/L로 나타났다.
2. 스테로이드 표준액은 prednisolone이 8.291±0.04으로 가장 먼저 분리되었으며 beclomethasone 17,21-dipropionate가 42.329±0.03으로 가장 나중에 분리되었다.
3. 회수율시험 결과, 로션제는 48.7~98.6%, 크림제는 63.0~89.5%으로 나타났다.
4. 실험에 사용된 아토피용 화장품 37건의 모든 제품에서 배합금지 성분인 스테로이드는 검출되지 않았다.

참고문헌

1. <http://ko.wikipedia.org>.
2. Stephanie C. Manson, Ruth E. Brown, Annamaria Cerulli and Carlos Fernandez Vidaurre. The cumulative burden of oral corticosteroid side effects and the economic implications of steroid use. *Respiratory Medicin*, 103:975~994, 2009.
3. Cristina Varas-Lorenzo, Luis Alberto Garcia Rodriguez, Andrew Maguire, Jordi Castellsague and Susana Perez-Gutthann. Use of oral corticosteroids and the risk of acute myocardial infarction. *Atherosclerosis*, 192:376~383, 2007.
4. <http://atopy.or.kr/antiallergy/bbs/view.php?id=dictionary/&no=17>
5. Chun Woo Pak, MDAffiliation : The Pharmacologic Treatment of Atopic Dermatitis. *J Korean Med Assoc*, 49(11):1046~1053, 2006 Nov.
6. Yun-Sik Nam, Il-Keun Kwon and Kang-Bong Lee : Monitoring of clobetasol propionate and betamethasone dipropionate as undeclared steroids in cosmetic products manufactured in Korea. *Forensic Science International* 210:144~148, 2011.
7. <http://www.homfree.com/doctorlsj/?p=81081>
8. KFDA: 보건복지부 고시 제2009-218호 (2000.6.12)
9. <http://www.kfda.gv.kr>
10. 김화순, 이정숙, 고숙경, 홍윤정, 신재민, 정애희, 채영주, 김민영 : 영양제 중 스테로이드 호르몬 조사. *서울특별시보건환경연구원보*, 44:146~153, 2008.
11. 황인숙, 정희정, 박원희, 정보경, 이명숙, 김동규, 김리라, 채영주 : 유통화장품 중 보존제 사용실태 조사. *서울특별시보건환경연구원보*, 45:77~87, 2009.
12. 김유경, 김화순, 윤용태, 광재은, 김수연, 조남준 : 화장품 중 레티놀과 토크페롤 성분 분석. *서울특별시보건환경연구원보*, 40:201~207, 2004.
13. Luigi Gagliardi, Daniela Daniela De Orsi, Maria Rosaria Del Giudice, Franco Gatta, Rita Porra, Paola Chimenti and Domenica Tonelli : Development of a tandem thin-layer chromatography-high-performance liquid chromatography method for the identification and determination of corticosteroids in cosmetic products. *Analytica Chimica Acta* 457:187~198, 2002.
14. Daniela DO, Manuela P, Simona P, Donatella M, Emilia M and Luigi G : High-performance liquid chromatography-diode array and electrospray-mass spectrometry analysis of non-allowed substances in cosmetic products for preventing hair loss and other hormone-dependent skin diseases. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 48:641~648, 2008.