

GC를 이용한 염모제 성분의 분리 확인

생 약 과

김도정·박양순·김명희

Separation and Identification of Multi-Components in Oxidative Hair Dye by Fused-Silica Capillary Gas Chromatography

Division of Herb Drug

Do Jung Kim, Yang Soon Park and Myung Hee Kim

= Abstract =

The simultaneous determination of p-phenylenediamine (PPDA), resorcin (Res), m-phenylenediamine (MPDA), m-aminophenol (MAP), α -naphthol (Nap), 4-ethoxy-m-phenylenediamine (4EMPDA), p-nitro-o-phenylenediamine (PNOPDA) was developed by gas chromatography with fused-silica capillary column.

Experimental subjects were used four commercial oxidative-type hair dye (one domestic and three imported products)

The obtained results were as follows;

1. PPDA, Res, PNOPDA were completely separated but MAP and MPDA, 4EMPDA and Nap were overlapped by using a HP-1 megabore column
2. Using a HP-5 megabore column, PPDA, MPDA, Nap, 4EMPDA and PNOPDA were separated clearly meanwhile Res and MAP were overlapped. Therefore HP-1 and HP-5 columns are recommended to analyze multi-components in hair dyes.
3. Organic solvent extraction method was better than that of the using sep-pak cartridge. But the simple and precise dilution method without any pretreatment is applicable for the separation or identification of dye components in commercial hair dyes.

緒 論

염모제는 의약부외품으로서 최근들어 백발을 감추기 위하여 흑색으로 염색하는 목적 이외에 젊은 사람들까지 머릿을 내기 위하여 모발을 다양한 색상으로 염색하는 풍조에 따라 그 사용이 급격히 증가하고 있다.

일반적으로 흔히 사용되는 염모제는 염색제와 산화제

로 구성되어 있고 그 중 염색제는 5~6가지의 주성분으로 이루어져 그 조성비율을 변화시키므로서 다양한 색상을 발현하게 된다.

염색제는 주성분으로 phenylenediamine류의 이성체들(o, m, p-phenylenediamine), aminophenol류의 이성체들(m, p-aminophenol), resorcin, α -naphthol, 4-ethoxy-m-phenylenediamine, p-nitro-o-phenylenediamine 등이 사용되며 이외에도 제품의 안

정성을 유지하기 위하여 항산화제, 킬레이트제, 유화제, 모발습윤제, 모발유연제, 용제, 착향제, pH 조절제 등 일반적으로 15~20여종의 성분들이 첨가되어 이루어진 복합제제로서 이들의 분석에 관한 보고는 1960년대에 TLC¹⁻³⁾에 의한 분리 이외에는 거의 없으며, 1980년대에 이르러 GC⁴⁻⁶⁾ 및 HPLC⁷⁻⁹⁾ 등을 이용한 일부 성분들에 대한 분석만이 보고되고 있다.

현재 염모제에 대한 품질관리는 자가기준에 따라 산화제중의 과산화수소 함량만을 규제할 뿐 염색제중에 함유된 주성분을 비롯한 기타 성분들에 대한 함량기준이 설정되어 있지 않고 염모력 시험 및 확인시험만을 실시하도록 되어 있으며 그 시험방법 또한 TLC 방법에 따라 주성분 일부를 확인하는데 그치고 있다. 그러므로 염색제 중 각 성분들의 확인시험은 품질관리시 매우 중요하나 실제로 TLC법에 의하여 다양한 주성분 및 기타 첨가성분들을 분리 확인하는데는 여러가지 어려움이 따라 판정이 애매할 경우가 많다.

이에 저자 등은 GC를 이용하여 염색제의 주성분 중 사용빈도가 높고 화학적 성질이 유사한 p-phenylenediamine, resorcin, m-phenylenediamine, m-aminophenol, α -naphtol 4-ethoxy-m-phenylenediamine, p-nitro-o-phenylenediamine 등의 동시분석법을 개발하기 위해 우선 다양한 추출방법을 시도하는 동시에 HP-1과 HP-5 column을 사용하여 각각 기기의 최적 분리조건을 모색하였다.

材料 및 方法

1. 시 약

resorcin, p-phenylenediamine, m-phenylenediamine, m-aminophenol, α -naphtol, 4-ethoxy-m-phenylenediamine, p-nitro-o-phenylenediamine, diphenylamine은 국립보건원으로부터 분양받은 working standard를 사용하였고, ethanol, methanol, et-

hyl acetate, diethyl ether, NaCl, NaOH, hexane 및 chloroform 등은 특급시약을 사용하였으며, 증류수는 Maxima-Elga를 통과시킨 정제수를 사용하였다.

2. 재 료

시판되는 염모제 (수입품 3종, 국내제품 1종)

3. 기 기

Hewlette Packard사의 GC Model 5890 series II, HP-3396 series II integrator

4. 시험방법

1) 표준액 조제

p-Phenylenediamine 10.0 mg, m-phenylenediamine 9.9 mg, α -naphtol 10.0 mg, m-aminophenol 10.4 mg, resorcin 9.8 mg, 4-ethoxy-m-phenylenediamine 12.3 mg, p-nitro-o-phenylenediamine 11.4 mg 그리고 내부표준물질로 diphenylamine 9.9 mg을 ethanol에 녹인 후 25 ml로 표선을 맞추었다.

2) 검 액

검액은 시판되는 염모제 중의 염색제를 약 2g씩 취해 ethanol에 녹인 후 50 ml로 표선을 맞추었다.

염색제 내의 성분조성은 다음과 같다 (Table 1).

3) 추출방법

(1) Sep-pak cartridge를 이용한 추출 방법

Sep-pak C₁₈ 및 Sep-pak silica에 검액 5 ml를 loading 한 후 증류수 5 ml로 세척하고 cartridge에 흡착된 성분을 ethanol 5 ml로 elution시켜 GC로 분석하였다. 따로 그 loading액과 물은 chloroform으로 추출 후 chloroform을 제거하고 ethanol 25 ml에 녹여 GC로 분석하였다.

(2) 유기용매를 이용한 추출방법

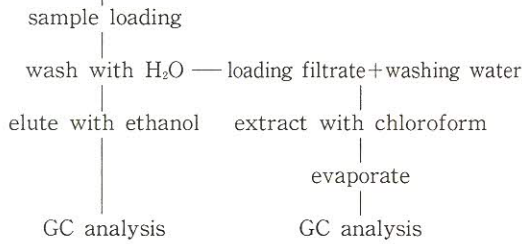
① 검액 5 ml에 증류수 5 ml를 넣고 chloroform으로

Table 1. Main components of four commercial hair dyes.

(단위 : g/100g)

	abbreviation	sample A	sample B	sample C	sample D
resorcin	Res	0.740	0.9	0.2	1.00
p-phenylenediamine	PPDA	0.390	0.6	0.07	0.20
m-aminophenol	MAP	0.330	0.05	0.01	0.01
m-phenylenediamine	MPDA		0.025		0.025
α -naphtol	Nap	0.240	0.05		
p-nitro-o-phenylenediamine	PNOPDA	0.610			
4-ethoxy-m-phenylenediamine	4EMPDA	0.580			

Sep-pak C₁₈ or Silica



3회 추출한 후 chloroform을 증발시키고 ethanol 5 ml에 녹여 GC로 분석하였다.

- ② 검액 5 ml를 1.25 N-NaOH 10 ml로 알칼리화한 후 chloroform으로 3회 추출하여 chloroform층을 증발시키고 ethanol 5 ml에 녹여 GC로 분석하였다.
- ③ 검액 5 ml를 d-HCl 10 ml로 산성화한 후 chloroform으로 세척한다. 1.25 N-NaOH 10 ml로 다시 알칼리화하여 chloroform으로 3회 추출한 후 chloroform층을 증발시켜 ethanol 5 ml에 녹여 GC로 분석하였다.
- ④ 검액 5 ml에 증류수 5 ml를 넣고 NaCl으로 포화시킨 후 ethyl acetate로 3회 추출하고 증발건고하여 ethanol 5 ml에 녹여 GC로 분석하였다.

4) 기기조건

각 성분을 GC로 각기 분석하여 retention time을 확인한 후 표준액을 일정비율로 섞어 찾은 최적의 GC 분석 조건은 다음과 같다 (Table 2).

結果 및 考察

염모제 중 염색제에 사용되는 약 30여종의 주성분은 크게 5종류로 나누어 diamine류, aminophenol류, polyphenol류, nitrophenol류 및 그 염류들로 나뉜다. 이중 사용빈도가 높은 7종을 선택하여 그 표준품을 이용, GC로 분리, 확인할 수 있는 방법을 검토한 결과 비극성 성질을 지닌 column에서 비교적 다양한 성분들이 분리, 확인되었다. 따라서 packed column과 capillary column의 양면성을 지닌 megabore column을 이용하여 분석조건을 찾고자 하였으며 HP-1 column (methyl silicone gum, 10 m × 0.53 mm × 2.65 μm)에서는 p-phenylenediamine, m-phenylenediamine, m-aminophenol, resorcin, α-naphtol, 4-ethoxy-m-phenylenediamine, p-nitro-o-phenylenediamine 중 3종류의 성분은 용이하게 peak가 분리되었으나 m-phenylenediamine과 m-aminophenol 및 naphtol과 4-ethoxy-phenylenediamine이 각각 한개의 peak로 겹쳐 분리되지 않았다. 반면 HP-5 column (5% phenylmethyl silicone, 10 m × 0.53 mm × 2.65 μm)에서는 resorcin과 m-aminophenol이 분리되지 않고 나머지 성분들은 용이하게 분리가 되었다. 각 성분들에 대한 retention time 및 chromatogram이 표 3 및 Fig. 1에 제시되었다.

실제로 상기 분리조건을 이용하여 시료를 분석하고자 표 1과 같은 성분을 가진 시판 염모제 4종류를 선택, 사용하여 분석하였다. 실제 제품의 경우에는 위에서 언급된 주성분 이외에 많은 첨가성분들이 혼합되어 있을 뿐만 아니라 주성분들의 함량 범위가 0.01%~수 %에 이르러

Table 2. Analytical conditions of GC.

	Condition 1	Condition 2
Column	HP-1 (530 μm × 10 m)	HP-5 (530 μm × 10 m)
Detector	FID	FID
Injector temp.	150°C	200°C
Detector temp.	240°C	260°C
Sample size	2 μl	1 μl
Attenuation	2°	2°
Chart Speed	0.25 cm/min.	0.25 cm/min.
Column temp. program	initial temp./time 85°C/11 min rate 5°C/min final temp./time 120°C/10 min rate A 5°C/min final A temp./time 200°C/5 min	initial temp./time 90°C/2 min rate 5°C/min final temp./time 110°C/3 min rate A 2°C/min final A temp./time 120°C/2 min rate B 10°C/min final B temp./time 210°C/4 min

Table 3. Comparison of retention time by experimental condition.

	Condition 1 (HP-1)	Condition 2 (HP-5)
p-phenylenediamine	7.830	12.341
m-phenylenediamine	9.845	14.091
m-aminophenol	9.845	13.656
resorcin	11.390	13.656
α -naphthol	20.439	23.255
4-ethoxy-m-phenylenediamine	20.439	23.836
diphenylamine (I.S.)	26.364	25.521
p-nitro-o-phenylenediamine	36.085	29.304

주성분을 분석하기 위해서는 추출 및 정제과정이 고려되어야 할 것이다. 이에 저자 등은 이들 시료들을 몇가지 방법으로 추출 정제과정을 모색하였다. 우선 Sep-pak C₁₈ 및 Sep-pak silica cartridge를 사용하여 주성분이외의 타물질을 제거하여 보았으나 매우 많은 종류의 첨가제들로 인하여 cartridge가 성분들을 충분히 retaining하지 못하므로 loading한 여액과 washing액에서도 성분

이 검출되었다. 다음은 liquid-liquid extraction으로 산성, 중성 및 알칼리성하에서 각각 chloroform으로 추출하였다. 중성-chloroform으로 추출시에는 불순물이 완전히 제거되지 않아 peak가 overlap 되었으며 알칼리성하에서 추출한 결과 4-ethoxy-m-phenylenediamine이 불검출되었다. 또한 산성하에서 chloroform추출시 Kijima¹⁰⁾ 등의 보고에 따르면 유화제나 기타 첨가성분들이 효율적으로 제거되었다고 하나 이에 맞서 주성분들의 손실이 컸다. 따라서 유기용매 추출방법 중 NaCl로 포화시킨 후 Gangadhar⁵⁾ 등의 방법을 약간 변형시켜 ethyl acetate로 추출한 방법이 비교적 효과적이며, 이를 전처리과정 없이 시료를 일정량의 EtOH에 녹여 HP-1 column에 주입한 chromatogram과 비교하여 보면 resorcin과 p-phenylenediamine은 분리가 잘 된 반면 m-aminophenol, m-phenylenediamine과 α -naphthol 및 4-ethoxy-m-phenylenediamine은 분리가 되지 않았다. 그러나 ethyl acetate로 추출한 시료 (B)의 경우는 retention time이 8분 이내에서 나타났던

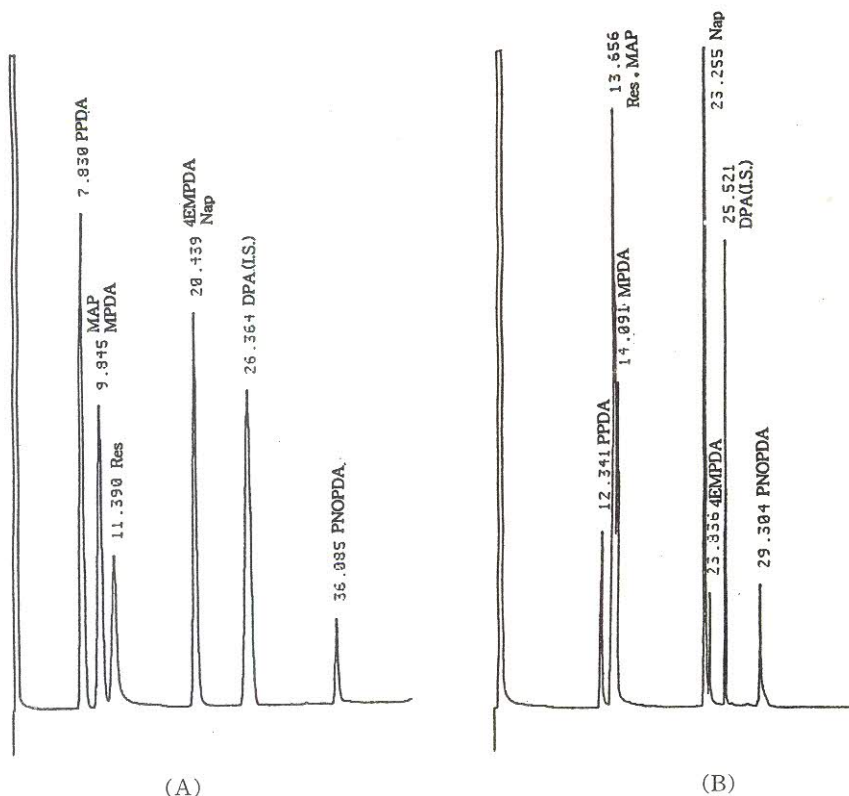


Fig. 1. Comparison of the chromatogram of standard mixture of 7 dye components on two types of megabore column (A) HP-1 with GC condition 1 (B) HP-5 with GC condition 2

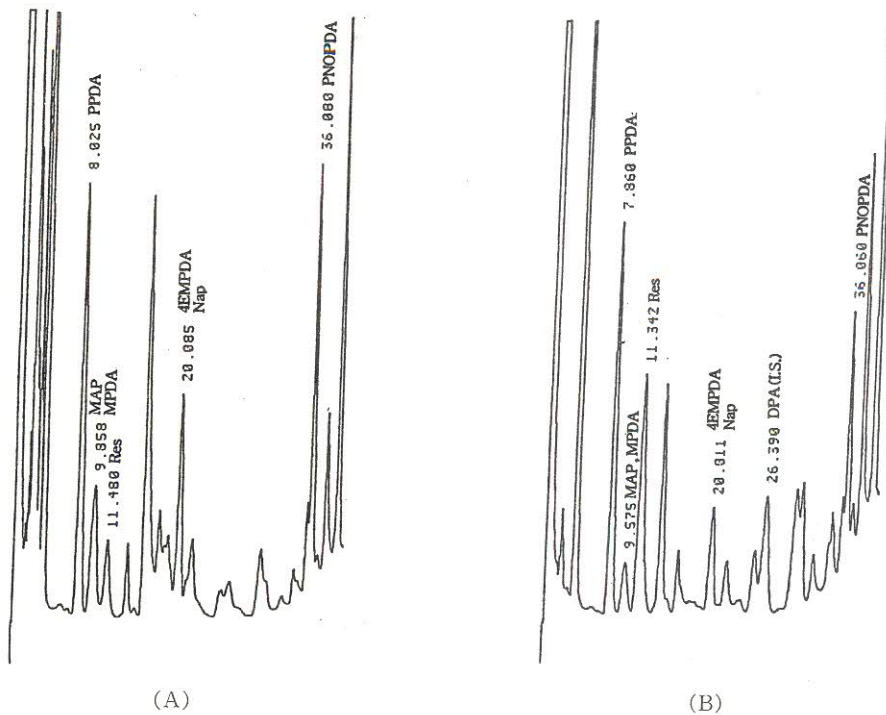


Fig. 2. Comparison of the chromatogram of diluted and extracted commercial hair dye (sample A) on HP-1 column. (A) diluted with EtOH (B) extracted with ethyl acetate

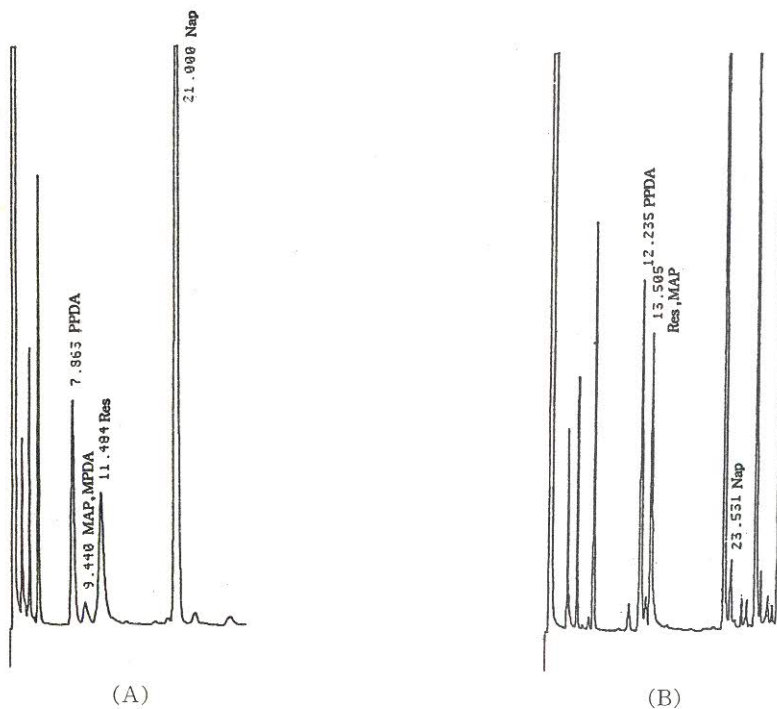


Fig. 3. Comparison of the chromatogram for the separation of a commercial hair dye (sample B) on two types of megabore columns. (A) HP-1 with GC condition 1 (B) HP-5 with GC condition 2

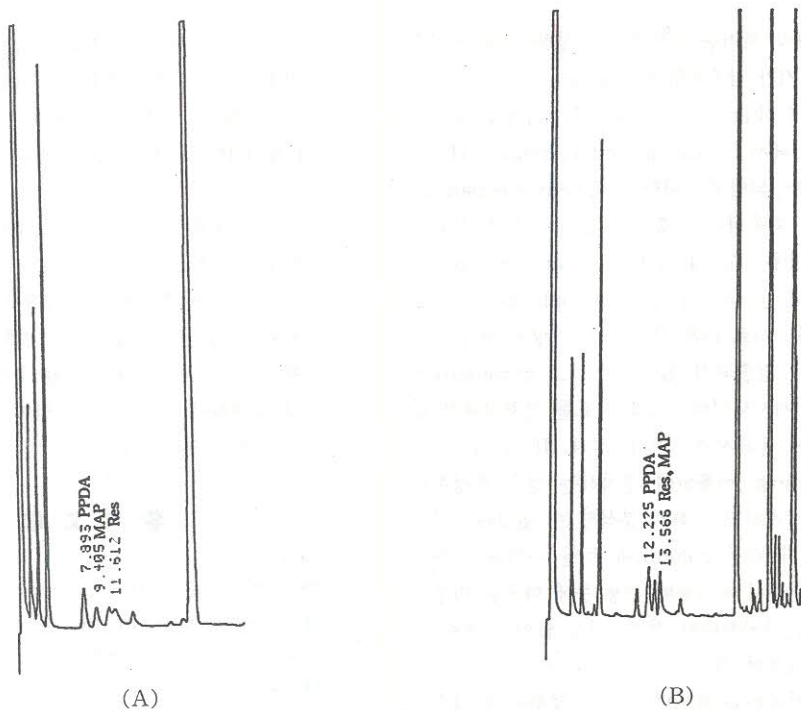


Fig. 4. Comparison of the chromatogram for the separation of a commercial hair dye (sample C) on two types of megabore columns. (A) HP-1 with GC condition 1 (B) HP-5 with GC condition 2

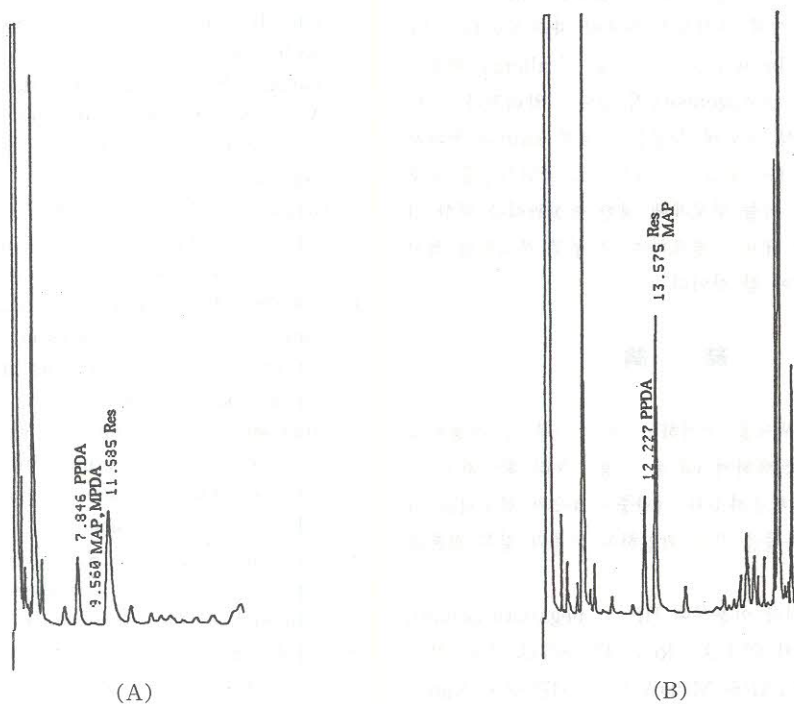


Fig. 5. Comparison of the chromatogram for the separation of a commercial hair dye (sample D) on two types of megabore columns. (A) HP-1 with GC condition 1 (B) HP-5 with GC condition 2

미지성분들이 많이 제거는 되었으나 주성분 역시 손실이 있어 peak의 크기가 감소되었다(Fig. 2).

시료 B의 경우(Fig. 3) resorcin과 p-phenylenediamine은 HP-1에서 그리고 m-aminophenol은 HP-5에서 잘 분리 확인되었고, 다만 m-phenylenediamine은 워낙 미량이 함유되어 검출되지 않은 것으로 사료된다. 시료 C의 경우(Fig. 4) HP-1 column에서 p-phenylenediamine, resorcin, m-aminophenol 등이 잘 분리 확인되었다. 시료 D의 경우 역시 미량의 m-phenylenediamine는 검출되지 않았으며, 그 chromatogram이 Fig. 5에 제시되었다. 다음 시료를 전처리과정 없이 직접 EtOH에 용해시켜 분석한 결과 HP-1 및 HP-5, 2개의 column을 이용하여 분석하는 경우 주성분의 손실없이 가장 신속하고 정확히 분석할 수 있었다. 다만 같은 시료를 각기 다른 column에 두번 주입해야 하는 단점은 있으나 추출시 유기용매 사용 등에 따르는 비용과 시간, 노력 등을 감안한다면 전처리과정 없이 그대로 시료를 적당히 희석하여 각기 다른 column으로 확인 분리하는 방법이 최선이라 사료되며 특히 주성분이 3~4종류로 비교적 간단한 경우에는 그 분석이 용이할 것으로 사료된다.

염색제에 사용되는 p-phenylenediamine을 비롯한 amine류들의 독성과 부작용은 개체에 따라 swollen face, asphyxia, brown color urine 및 allergy 반응을 나타내기도 하고 mutagenicity가 있다고 알려졌다.¹¹⁾ 더우기 이들 산화성 염색제 성분들은 일부 skin을 투과하여 흡수 배설된다는 보고¹²⁾도 있으므로 국민건강을 보호한다는 차원에서 이들 염모제에 대한 품질관리를 위한 엄격한 기준설정과 규제가 필요하며 그 성분 분석방법 역시 더욱 연구되어야 할 것이다.

結 論

염모제 중 염색제를 구성하는 많은 성분 중 사용빈도가 높은 7종을 선택하여 GC를 이용, 분리 확인하고 이를 실제 검정에 활용하고자 시판중인 4종의 염모제를 시료로 각각의 성분들을 분리 확인하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. FID 검출기를 이용하여 HP-1 megabore column으로 분석시 PPDA, Res, PNOPDA 등이 분리 되었으며 MAP와 MPDA 및 4EMPDA와 Nap이 overlap 되었다.
2. FID검출기를 이용하여 HP-5 megabore column

에서는 PPDA, MPDA, Nap, 4EMPDA, PNOPDA가 잘 분리되었으며 Res와 MAP가 overlap 되었다. 따라서 염색제의 주성분에 따라 HP-1 및 HP-5 column을 적절히 이용하여야 할 것이다.

3. 전처리 과정은 Sep-pak cartridge를 이용하는 방법보다는 NaCl 포화 후 ethyl acetate를 사용하는 유기용매 추출법이 효과적이기는 하나 미량 함유된 주성분의 손실과 경시변화 등을 고려한다면 제품의 성분에 따라 적절한 유기용매에 시료를 직접 용해하여 전처리 과정 없이 직접 GC로 분석하는 방법이 권장할만 하다.

參 考 文 獻

1. 竹村 功 : Qualitative analysis of oxidation dyes and intermediates by thin layer chromatography, J. Japan Analyst 19:899(1970)
2. Mancini, G., Polesi, R., Cantarini, R. : Study on the presence of banned dyes in hair coloring materials, Boll. Chim. Farm. 120:708(1981)
3. Gottschalck, H., Machens, R. : Identification and quantitative determination of oxidation dyes in hair dyes and hair tints, J. Soc. Cosmet. Chem. 33:97(1982)
4. Tanada, N., Kageura, M., Hara, K., Takamoto, M. : Identification hair dyes by gas chromatographic-mass spectrometric analysis, Forensic Sci. Int. 52:5(1991)
5. Gangadhar, C. : Gas-liquid chromatographic determination of toxic diamines in permanent hair dyes, J. Chromatogr. 193:277(1980)
6. Tokuda, H., Kimura, Y., Takano, S. : Determination of dye intermediates in oxidative hair dyes by fused-silica capillary gas chromatography, J. Chromatogr. 376:345(1986)
7. Andrisano, V., Cavrini, V., Summer, P., Passuti, S. : Determination of impurities in oxidation hair dyes as raw materials by liquid chromatography (HPLC), Int. J. Cosmet. Sci. 17:53(1995)
8. Andrisano, V., Gotti, R., Cavrini, V. : HPLC analysis of oxidation hair dyes in permanent hair colorants. J. Liq. Chromatogr. 17:2919(1994)
9. Suzuki, S., Ikeda, K., Kishimoto, K., Nakamura, H. : Determination of oxidative dyes in permanent hair dyes by HPLC. Kenkyu-Nenpo-Tyokotoritsu Eisei Kenkyusho. 41:70(1990)

10. Keiji Kijima : Analysis of oxidative dyes in hair dyes. *Fragrance Journal* 5:65(1984)

11. Yagi, H., Hind, A., Klalil, S. : Acute poisoning from hair dye, *J. Announcemnt* 9204(1992)

12. Maibach, H., Leaffer, M., Skinner, W. : Percutaneous penetration following use of hair dyes, *Arch. Dermatol.*, 111:1444(1975)

이 논문은 한국화학연구원 연구보고서 제 100호에 실려 있다.

본 논문은 화학연구원 연구보고서 제 100호에 실려 있다.

Permeability of P-aminosalicylic acid in human skin
 after hair dyeing

Y. H. Kwon, S. H. Lee, J. H. Park, and H. S. Park
 Department of Chemistry, Seoul National University, Seoul 151-747, Korea

Abstract

The permeability of P-aminosalicylic acid (PAS) in human skin after hair dyeing was investigated. The permeability of PAS in human skin after hair dyeing was significantly higher than that in normal human skin. The permeability of PAS in human skin after hair dyeing was significantly higher than that in normal human skin. The permeability of PAS in human skin after hair dyeing was significantly higher than that in normal human skin.

총론

이 논문은 한국화학연구원 연구보고서 제 100호에 실려 있다. 본 논문은 화학연구원 연구보고서 제 100호에 실려 있다. 이 논문은 한국화학연구원 연구보고서 제 100호에 실려 있다.