

## HPLC를 이용한 화장품 중의 자외선 차단제 동시분석방법 연구

이용화 · 양재찬<sup>†</sup>

호서대학교 융합기술연구소, <sup>†</sup>목원대학교 테크노과학대학 생의약화장품학부  
(2012년 11월 19일 접수 ; 2012년 12월 14일 수정 ; 2012년 12월 16일 채택)

### Simultaneous determination of sunscreen agents in cosmetics by HPLC

Yong-Hwa Lee · Jae-Chan Yang<sup>†</sup>

*Hoseo University, Fusion technology,  
165, Sechul-li, Beabang-eup, Asan-city, Chungnam, Korea  
Mokwon University, College of Sciences & Technology, Division of Biomedicinal & Cosmetics  
Doanbuk-ro 88, Seo-gu, Daejeon 302-729, Korea  
(Received November 19, 2012 ; Revised December 14, 2012 ; Accepted December 16, 2012)*

**요약** : 액체크로마토그래피법(HPLC)을 이용하여 화장품에 들어있는 자외선차단제류 등을 동시 분석하였다. 화장품 시료를 Tetrahydrofurane(THF)에 직접 용해시키고 0.45 $\mu$ m 필터로 여과하여 물/메탄올/THF를 이동상으로 하여 Extend C18의 비극성 컬럼을 사용하여 기울기용리조건에서 20분 안에 분리하여 UV/Vis detector방법으로 정량하였다. HPLC분석결과 검량선은 50~800 $\mu$ g/mL 농도범위에서 상관계수가  $r^2=0.9992$  이상의 좋은 직선성을 나타내었으며 검출한계는 0.01 $\mu$ g/mL였다.

주제어 : 자외선차단제, 화장품, HPLC.

**Abstract** : The simultaneous analysis of sun screen agents in commercial cosmetic samples was carried out by High Perfomance Liquid Chromatography(HPLC).

The cosmetic samples are directly dissolved in Tetrahydrofurane(THF) and filtered using 0.45  $\mu$ m filter. The water/methanol/THF was used for the mobile phase of gradient conditions. An Extend C18 reversed-phase column and the selected UV/Visible detector was applied. The analysis results of HPLC showed good linearity with correlation coefficient of  $r^2=0.9992$  in the rage of 50~800  $\mu$ g/mL and detection limit of 0.01  $\mu$ g/mL.

*Keywords* : sunscreen agents, cosmetics, HPLC.

<sup>†</sup>교신저자 (E-mail : rabbit@mokwon.ac.kr)

## 1. 서론

화장품법이 2000년에 제정되면서 지금까지 수많은 기능성화장품이 개발되고 판매되어왔으며 2011년 국내 화장품시장에서 25.2%의 점유율을 기록할 정도로 중요한 부분을 차지하고 있다[1]. 기능성 화장품규정이 신설된 이후 가장 많은 제품이 개발되고 판매 되어온 기능성 화장품이 자외선 차단제품이라고 할 수 있다. 또한 단순히 자외선 차단효과를 갖는 제품뿐만 아니라 색조 화장품에서도 본래의 기능에 부가적으로 자외선 차단효과를 부여하는 제품이 많아지고 있다. 이와 같이 다양한 제형 및 용도의 제품에서 자외선 차단제가 적용되어지고 있으며 그에 따라 낮은 Sun Protection Factor(SPF)부터 높은 SPF까지, 자외선 A의 차단능을 표시하는 Protection grade of UVA(PA)까지 복합적으로 표기하고 있으며 수 많은 자외선 차단 제품들이 소비자들에게 판매 되고 있으며 이제 자외선 차단제품은 여름뿐만 아니라 사계절 사용되는 화장품으로 자리매김 하고 있다.

자외선을 차단 또는 산란시켜 자외선으로부터 피부를 보호하는 기능을 가지기 위해서는 자외선 차단제가 필수적으로 함유되며 적절한 자외선 차단효과 및 효율성을 나타내기 위해서는 여러 종류의 자외선 차단제를 사용 하는 것이 일반적이다. 자외선차단 기능성분은 크게 광 에너지를 화학적으로 흡수하는 물질인 유기계 자외선 흡수제와 광을 물리적으로 산란 반사시키는 물질인 무기계 자외선 산란제로 나눌 수 있는데 [2], 이들을 총칭하여 자외선차단제라고 부른다. 자외선 차단제는 인체에 대한 안전성 측면을 고려하여 각 나라별로 성분 및 최대도 사용할 수 있는 배합한도가 지정되어 있으며, 대한민국에서는 0.5% 이하 사용 시에는 자외선차단제품으로 보지 않고 변색방지 등 다른 목적으로 배합한 경우라고 할 수 있다.

자외선차단용 화장품의 자외선 차단효과를 나타내는 표시방법인 SPF와 PA에 대해서도 세계 각국에서 시험법을 별도로 규정하여 그에 따르는 시험을 실시한 후 이를 바탕으로 효과를 표시하도록 되어있다. 자외선과 인체에 대한 연구는 다양하게 진행되고 있다[3-5]. SPF는 자외선에 의해 홍반이 일어나는 것을 막아주는 정도를 나타내는 것으로 주로 UVB 차단 효과를 의미한다. 이것은 SPF만 표기된 자외선차단 제품을 피부

에 바로고 햇빛에 노출되면 피부 흑화 및 노화에 영향을 많이 주는 UVA에 상대적으로 노출될 가능성이 많다. 그러므로 높은 SPF 뿐만 아니라 UVA도 효과적으로 차단할 수 있는 제품을 선택하는 것이 무엇보다 중요하다. 자외선A 차단효과는 SPF와는 다르게 구체적 수치로 나타내기 어렵기 때문에 일정 범위로 나누어서 PA+, PA++, PA+++의 3단계로 표시하도록 규정되어 있다[6]. 기존에는 UVB 차단제가 대부분이었는데 최근에는 UVA에 대한 관심이 높아지면서 UVA 차단제들의 개발도 이루어지고 있으며 [7-9], 기능성 화장품에서 적절한 품질유지 및 관리를 위해서 주성분에 대한 물리화학적 안정성과 주성분의 유효농도를 검증하기 위해서는 화장품 분석기술에 대한 다양한 방법적 연구가 필수적이다. 그래서 자외선 차단제 분석에 관한 연구는 HPLC(High Performance Liquid Chromatography), GC(Gas Chromatography) 등에 의한 각 개별 성분에 대한 분석연구가 진행되고 있다[10-14].

기능성 화장품에 사용되는 주성분의 함량은 제품별 설정된 사용기간 내에 초기함량대비 90.0%이상 유지되어야 하며[15], 주성분의 함량이 이에 미치지 못하였을 경우에는 제재가 가해지고 있다. 그러므로 기능성 화장품 개발시에 주성분의 함량을 일정농도 이상 유지시키기 위하여 주성분의 물리화학적 특성과 그에 맞는 제형을 고려하기 위한 많은 노력이 진행된다. 또한 식품의약품 안전청에서도 기능성화장품의 효율적인 관리를 위하여 적절한 시험법을 개발하려는 노력을 지속하고 있으며[16], 한해에도 수많은 기능성화장품이 새롭게 제조되고 있어 주성분과 제형에 관계없이 일률적으로 적용 할 수 있는 분석법의 확립은 시간 및 비용을 줄여 주어 품질관리와 제품의 질 향상에 필요하다.

본 연구에서는 HPLC를 이용하여 유기계 자외선 흡수제로 사용되는 Octyl methoxy cinnamate, Octylsalicylate, Octocrylene, 4-Methylbenzylidene Camphor, Butyl Methoxy dibenzomethane 5종의 성분을 시판 되고 있는 자외선차단 화장품 중에서 시료 전처리 후 동시에 분석 할 수 있는 효율적인 분석법을 개발하고자 하였다.

## 2. 실험

### 2.1. 시약

본 연구에서 표준물질로 사용된 Octyl methoxy cinnamate는 (주)Sigma-Aldrich, Octyl salicylate과 Octocrylene는 (주)ISP코리아, 4-Methylbenzylidene Camphor와 Butyl Methoxydibenzoylmethane은 (주)디엠에스 뉴트리션 코리아에서 제조한 원료를 사용하였고, 사용한 자외선 차단제의 배합한도 및 화학적 구조는 Table 1과 Fig. 1에 나타내었다. Methanol 및 Acetonitrile은 Berdick & Jackson사(Muskegon,

MI,USA)의 HPLC급 고 순도 용매를 구입하여 사용하였다. 증류수는 Mili-Q water purification system을 통과한 3차 증류수를 사용 하였다. 각 용매와 3차 증류수는 모두 pore size 0.45 $\mu$ m의 Millipore (Bedford, MA, USA)사의 membrane filter로 여과한 후 사용하였다. 그리고 이동상에 사용한 Trifluoroacetic acid는 Sigma사제 제품을 구입하여 사용하였다. 시료를 녹이기 위해서 초음파 진동기(Fisher Scientific state/ultrasonic FS-28)를 사용하였고 여과는 0.45 $\mu$ m(Millipore, Bedford, USA) syringe filter를 사용하였다.

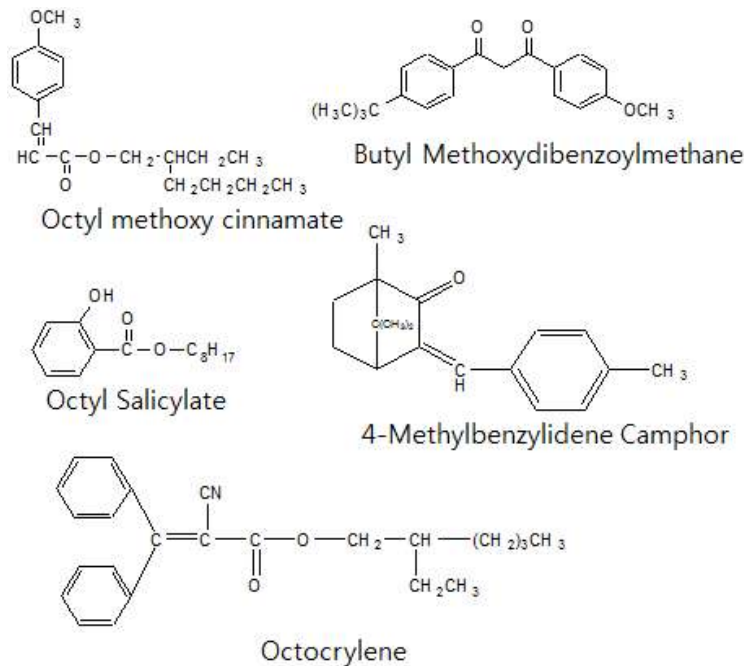


Fig. 1. Chemical structures of sunscreen agents.

Table 1. The Mixing Limit of Sunscreen Agents in Cosmetic Products[17]

Ingredients	Maximum limit
Butyl Methoxydibenzoylmethane	5%
Ethylhexyl Methoxycinnamate	7.5%
Ethylhexyl Salicylate	5%
4-Methylbenzylidene Camphor	4%
Octocrylene	10%

**2.2. HPLC기기 및 조건**

본 연구에 사용한 고성능 액체크로마토그래피는 variable wavelength 검출기가 부착된 Perkin Elmer seriee 200를 사용하였으며, 분리조건으로는 Extend-C18 (250mm\*4.6 mm i.d, 5um) 분리관을 사용하였으며, 자외부 흡광검출기의 파장은 302 nm로 하였다. 이동상으로는 0.2 % TFA(trifluoroacetic acid), MeOH(methanol), THF(Tetrahydrofurane)을 사용한 기울기 용리 조건으로 Table 2에 나타내었으며 이때 유속은 1 mL/min 이었다. 분석결과 얻어진 각 피크의 머무름 시간을 비교하여 피크면적으로 검량선을 작성하여 시료중의 자외선 차단제 함량을 구하였다.

**2.3. 표준용액의 제조**

HPLC에 사용한 자외선차단제의 표준용액 제조는 구입한 표준품을 0.1mg 까지 무게를 달아 메탄올로 1000 µg/mL의 농도가 되도록 표준용액을 만들고 이를 50, 100, 200, 400, 800 ug/mL의 농도범위로 희석하여 검정곡선 작성에 사용

하였으며 제조한 모든 표준용액들은 냉장고에 보관하여 사용하였다.

**2.4. 시료**

화장품시료는 국내에서 시판되고 있는 5종을 구입하여 사용하였으며, HPLC로 분석하기 전 화장품시료를 각각 0.5 g씩 취하여 50 mL Tetrahydrofurane 에 용해시킨 후 20분간 초음파처리 후 0.45 µm필터를 사용하여 여과한 다음 여액5 uL를 주입하여 HPLC로 분석하였다.

**3. 결과 및 고찰**

**3.1. 검정곡선**

검정곡선을 작성하기위해 50~800 µg/mL 의 농도범위로 희석하여 만든 자외선 차단제 표준물질을 HPLC로 분석하여 얻어진 상관관계식을 Table 3에 나타내었다. Table 3에서와 같이 표준용액의 농도범위에서 상관계수(r<sup>2</sup>)값이 모두 0.9992이상을 나타냄에 따라 직선성이 매우 좋

Table 2. Eluent Condition for Determination of Five Sunscreen Agents

Time(min)	Eluent(%)		
	TFA	MeOH	THF
0	15	83	2
15	15	83	2
16	11	87	2
23	11	87	2
28	15	83	2

Table 3. Simple Linear Regression of Standard Calibration for the Sunscreen Agents

Ingredients	Concentration range(µg/mL)	Regression eqn.	Correlation coefficient
4-Methylbenzylidene Camphor	50.0~800.0	y=136524x+12635	0.9995
Octyl methoxy cinnamate	50.0~800.0	y=298653x+32561	0.9992
Octocrylene	50.0~800.0	y=352647x+11125	0.9995
Butyl Methoxydibenzomethane	50.0~800.0	y=296581x+32654	0.9997
Octyl salicylate	50.0~800.0	y=165832x+26547	0.9999

고, 검출한계는 0.01  $\mu\text{g/mL}$ 로 분석방법이 적합함을 알 수 있었다.

### 3.2. HPLC분석

화장품 중에 함유된 자외선 차단제를 검출하기 위하여 표준물질을 앞의 기울기 용리조건에서 HPLC로 분석한 크로마토그램을 Fig. 2에 나타내었다. 이는 표준물질에 대한 크로마토그램으로서 HPLC의 기울기용리 이동상조건을 이용하여 50~800  $\mu\text{g/mL}$ 범위에서 분석하여 얻어진 결과들이다.

크로마토그램에서 보는 바와 같이 표준물질들은 본 실험에서 사용한 Extend-C18 (250mm\*4.6 mm i.d, 5 $\mu\text{m}$ )컬럼의 분리조건에 의하여 모두 20분 이내에 완전히 분리되어 나온 것을 알 수 있었다. 용리순서는 4-Methylbenzylidene camphor, Octyl methoxy cinnamate, Octocrylene, Butyl Methoxydibenzoylmethane, Octyl salicylate의 순으로 용리되었다.

이 결과는 HPLC의 기울기 용리조건으로 높은 감도와 선택성이 좋아 유도체화나 전처리 필요없이 바로 다섯가지 종류의 자외선차단제를 1회 분석으로 동시 분석할 수 있어 분석시간을 획기적으로 단축할 수 있었다.

### 3.3. 시료의 분석

시판되는 자외선차단 화장품 5종을 HPLC로 분석한 크로마토그램을 Fig. 3에 나타내었고 정량결과는 Table 4에 나타내었다. 분석결과 A사 제품은 Octyl methoxy cinnamate, Octocrylene, Butyl Methoxy dibenzoylmethane성분이 약 13.8% 함유하고 있었고, B사제품은 4-Methylbenzylidene camphor, Octocrylene, Butyl Methoxydibenzoylmethane, Octyl salicylate등 4종류의 자외선차단제가 17.0%, C사제품은 Octyl methoxy cinnamate, Butyl Methoxydibenzoylmethane, Octyl salicylate등 3종류의 자외선 차단제 17.6%, D사제품 경우는 Octyl methoxy cinnamate, Octocrylene, Butyl Methoxydibenzoylmethane, Octyl salicylate 등 21.5%, E사제품은 Octyl methoxy cinnamate 5.0%, Octocrylene 3.9%, Butyl Methoxydibenzoylmethane 4.0%, Octyl salicylate 4.0%로 총 16.9%의 자외선 차단제를 함유하고 있는 것으로 나타났다.

이는 시판되고 있는 자외선차단 5종의 화장품에서 검출된 자외선차단제의 양은 정해진 배합한도를(Table 1) 넘지 않는 것을 확인 할 수 있었다.

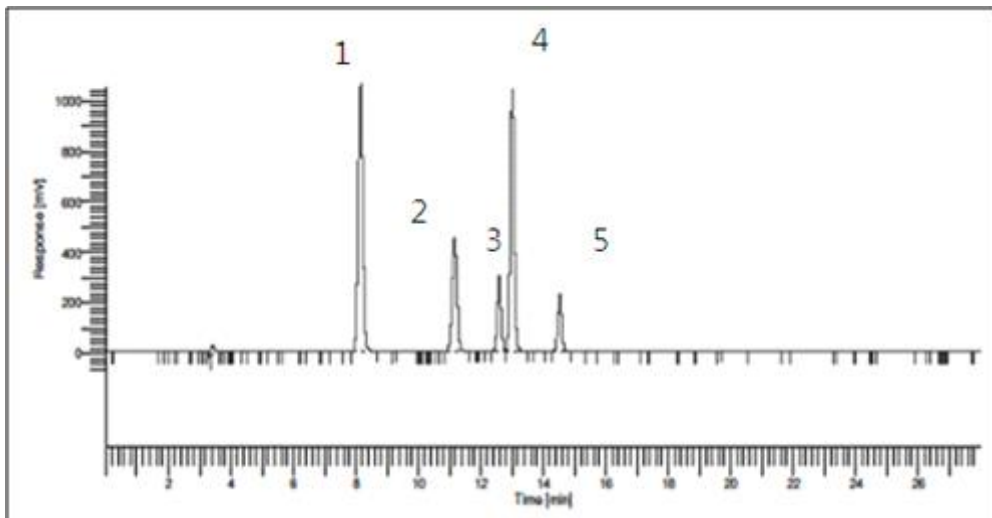


Fig. 2. HPLC chromatogram of a mixture of the studied sunscreen agents.

1. 4-Methylbenzylidene camphor,
2. Octyl methoxy cinnamate,
3. Octocrylene,
4. Butyl Methoxydibenzoylmethane,
5. Octyl salicylate

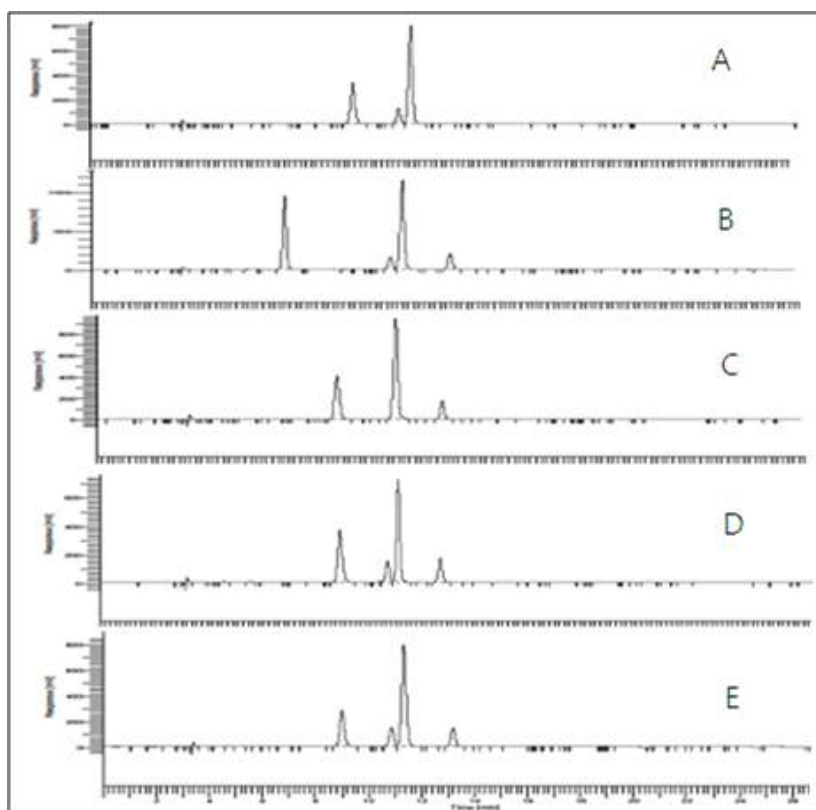


Fig. 3. HPLC chromatogram of sunscreen agents in commercial goods A, B, C, D, E.

Table 4. Concentration ( $\mu\text{g/g}$ ) of Sunscreen Agents in Commercial Goods

Sample	Mean $\pm$ S.D				
	4-Methylbenzylidene camphor	Octyl methoxy cinnamate	Octocrylene	Butyl Methoxydibenzoyl methane	Octyl salicylate
A		65,330 $\pm$ 3.6	33,000 $\pm$ 3.2	40,023 $\pm$ 10.2	
B		70,231 $\pm$ 11.2		50,012 $\pm$ 5.6	49,356 $\pm$ 8.2
C	28,352 $\pm$ 3.5	68,935 $\pm$ 3.6	30,234 $\pm$ 8.2	50,232 $\pm$ 8.2	
D		71,241 $\pm$ 8.2	48,235 $\pm$ 6.2	45,326 $\pm$ 2.3	51,362 $\pm$ 3.1
E		50,123 $\pm$ 9.6	38,965 $\pm$ 1.2	40,215 $\pm$ 11.0	40,325 $\pm$ 3.4

#### 4. 결론

1. 시판되고 있는 자외선차단 화장품 중에 함유되어 있는 자외선 차단제 5종을 신속하고 정확하게 분석할 수 있는 고감도 동시 분석법을 확립 하였다.
2. 여러 가지 자외선차단제를 함께 사용하는 경우가 대부분인 자외선 차단 화장품 특성을 고려하면 본 연구에서 개발된 혼합성분의 동시분석 방법을 이용하면 각각의 자외선차단 성분 분석에 따른 분석 시간의 증가 및 사용한 자외선차단제 스크리닝에 대한 어려운 점을 해결할 수 있다.
3. 본 연구에서는 시료를 THF에 직접녹인 후 HPLC를 이용하여 혼합 자외선 차단제를 동시에 분석하는 새로운 분석방법이며 분석결과 정량범위는 50~800 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도범위에서 검정곡선이 직선성( $r^2=0.9996$ )을 나타냄으로서 여러 가지 유성성분과 수성성분을 함유하고 있어 복합적인 구성 성분을 갖는 화장품 제제로 부터 4-Methylbenzylidene camphor, Octyl methoxy cinnamate, Octocrylene, Butyl Methoxy dibenzoylmethane, Octyl salicylate 등을 정량하기 위해서는 기존의 방법보다 간편하고 분석 시간을 획기적으로 줄일 수 있는 좋은 방법이 될 수 있음을 보여주었다. 확립된 분석방법은 화장품에 사용되는 자외선 차단제의 모니터링에 효과적으로 사용될 수 있을 것이다.

#### 참고문헌

1. Koea Health Industry Development Institute "Report of analysis for cosmetic industry" (2011).
2. Food and Drug Administration and Health and Human Services, "Sunscreen drug products for over-the-counter human use; final monograph. Final rule," *Fed Regist.*, **64**, 27666(1999) .
3. Priti Bandi, "Physician Sun Protection Counseling: Prevalence, Correlates, and Association with Sun Protection Practices Among US Adolescents and Their Parents." *Preventive Medicine* 51(2010).
4. Liesbeth van Osch, "Predicting Parental Sunscreen use: Disentangling the Role of Action Planning in the Intention-behavior Relationship." *Psychology & Health*, 23(2008).
5. Barbara A. Gilcrest, "Sun Protection and Vitamin D: Three Dimensions of Obfuscation." *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 103(2007).
6. Korea Food & Drug Administration, "Korean Measurement Standards for UV Protection efficacy," Notification No.2012-88unit(2012).
7. K.S. Yoon, "Development of UV-screening Polysilsesquioxane Spheres." *Journal of the Society of Cosmetic Scientists of Korea*, 31(2005).
8. A. Fourtanier, "Mexoryl SX Protects Against Solar-Simulated UVR-Induced Photocarcinogenesis in Mice," *Photochemistry and Photobiology*, 64 (1996).
9. Dominique Moyal, "Prevention of Ultraviolet-induced Skin Pigmentation." *Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine*, 20(2004).
10. Tonya Felix, "Simultaneous Determination of Water-soluble and Oil-soluble UV-filters by High-performance Liquid Chromatography." *Analytica Chimica Acta*, 371(1998).
11. G. Potard, "Quantitative HPLC Analysis of Sunscreens and Caffeine During in Vitro Percutaneous Penetration Studies." *International Journal of Pharmaceutics*, 189(1999).
12. C.G. Smyrniotakis, "Development and Validation of a Non-aqueous Reversed-phase High-performance Liquid Chromatographic Method for the Determination of Four Chemical UV Filters in Suncare Formulations." *Journal*

- of Chromatography A*, 1031(2004).
13. Antonio Nieto, "Determination of Personal Care Products in Sewage Sludge by Pressurized Liquid Extraction and Ultra High Performance Liquid Chromatography - Tandem Mass Spectrometry." *Journal of Chromatography A*, 1216(2009).
  14. A. Salvador, "Sunscreen Analysis: A Critical Survey on UV Filters Determination." *Analytica Chimica Acta*, 537 (2005).
  15. Korea Food & Drug Administration, "Rul on Evaluate of Fungtionality Cosmetics" Notification No. 2012-59unit(2012).
  16. S.H.Son, "Studies on the Evaluation of Efficacy of Functional Cosmetics(I) -Studies on the in Vitro SPF Test Method of Sunscreen Products." *Journal of the society of cosmetic scientists of Korea*, 28,(2002).
  17. Korea Food & Drug Administration, "Rul on Designation of Raw Meterial of Cosmetics" Notification No. 2012-137unit(2012).