

Gas Chromatography 에 의한 (乳化製品중에서의)

Fatty Acid 定量

鄭 廣 洙

(太平洋化學工業株式會社 研究部 主任技士)

1. 概 要

高級脂肪酸은 피부 위생학적인 特性 때문에化粧品에 添加된 原料들 가운데 큰 意味를 가지며 一般의 化粧品 工業에 널리 使用되어지고 있다. 이러한 脂肪酸을 Gas Chromatography의 利用으로 乳化製品(Cream, Lotion)中에서 分析을 試圖하였다. 動物脂 혹은 植物油 中에 含有된 脂肪酸의 分析은 여러 사람들에 의하여 報告되어 있다(Journal of the American Oil Chemist's Society 에 많이 소개되어 있다)

本 試驗에서 脂肪酸의 分析은 Beckman GC-5를 利用하였으며 絶對 檢量線法에 의하여 定量하였다. 脂肪酸의 Boiling Point가 높음으로서 Ester 化시켜 Boiling Point를 낮추어서 G.C 分析의 試料로 하였다.

Esterification reaction 으로서는 다음과 같은 方法들이 있다.

- 1) Anhydrous HCl in methanol.
- 2) Born trifluoride in anhydrous methanol
- 3) Diazo methane
- 4) Sulfuric Acid with methanol.

여기서 Born trifluoride에 의한 不飽和 脂肪酸들과의 Side reaction [Lough, A.K., Biochem. J 90, 4C-5C (1964)]과 Diazomethane과의 重合體 生成[Morrison, W.R., T.D.V. Lawrie and J. Blades chem. Ind (London)]은 試藥으로서 缺點이 指摘되어 여기 行한 試驗은 4)의 황산촉매下에서 methanol로서 反應을 일으켰다. Esterification의 完結은 反應物의 Acid Value를 測定하여 反應 程度를 檢討하였고 또 K_2CO_3 의 묽은 용액으로서 洗滌하여 Soap가 生成되지 않는 사

실로도 檢討하였다.

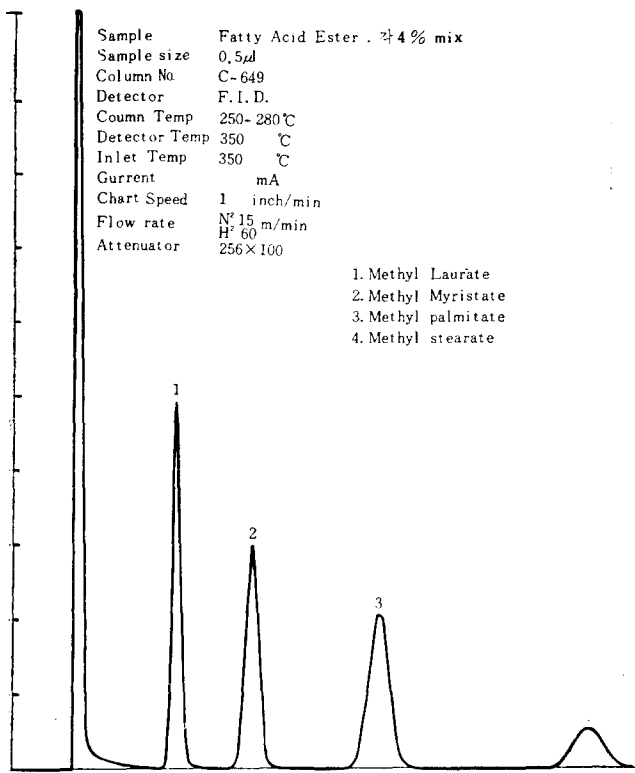
2. Gas Chromatography

Gas Chromatography의 原理는 移動相이 氣體로 되어있는 Chromatography를 말하는 것으로서 活性炭 Alumina 등의 吸着劑를 充塡한 column 또는 구조토등의 保持體(擔體)에 高沸點의 液體를 含浸한 것을 充塡한 column을 利用하여 이것을 어떤 溫度로서 加溫하여 column 入口에 試料를 注入하여 窒素, Helium 등의 不活性 gas를 Carrier Gas로하여 column을 通하여 展開한다. 試料成分의 固定相(吸着劑 어떤것은 擔體에 保持된 液體)에 吸着 또는 吸收되는 정도에 의하여 column 中の 移動 速度가 다른것으로 부터 各成分은 分離되어 column을 따라 流出한다. 流出된 成分은 熱傳導率法 외에 다른 適當한 方法으로 檢出하여 試料의 混合狀態를 알고 成分의 定性 및 定量을 하는 것이다.

本 試驗에서는 Beckman GC-5를 使用하였으며 column은 42-46mesh Chromosorb W에 20% DEGS로 充塡된 6ft×3/16 inch stain steel column과 42-60 mesh Chromosorb P(C-22 firebrick)에 15% SE-30으로 充塡된 6ft×3/16 inch Stain Steel column을 각각 使用하였고 Carrier Gas로서는 Nitrogen Gas를 利用하였다. SE-30 column으로 最適條件의 Flow rate (Carrier Gas)를 구하기 위하여 Theoretical plate number (n)를 구하고 여기에서 Equivalent to a Theoretical Plate (HETP)를 구하여서 Carrier Gas의 Flow rate를 20ml/min으로 하였으며 Theoretical Plate Number (n) 및 Equivalent to a Theoretical plate (HETP)는 다음 式으로 주어지며

Table 1 Aocs Smalley Gas Chromatography Series에서 발취

Instrument	Liqued Phase	Support	Length (ft)	Diam. (in)	Temp. C	Heater, C	Temp. C	Carrier Gas Type	Carrier Gas Flow
Aerograph-204-1B	25% DEGS	—	5, 75	0.093	185	295	325	N2	Optimum
Aerograph-A90-P3	20% DEGS	60/100 Chrom W, HMDS	10	5/32	190	230	250	He	68ml/min
P.E./800	15% DEGS	80/100 chrom W	12	1/8	140/10min	280	20>col	He	60cc/min
F&M-700	10% LAC 728	60/80 Chrom W	4	1/4	17@4/min	285	285	He	50ml/min
Aerograph Hi Fy III	15% DEGS	60/80 Chrom W,AW, DMCS	8	1/8	100-200	235	245	N2	28ml/min
F&M-720	20% DEGS	60/80 Chrom W,A,W	6	1/4	200	270	250	He	50ml/min
Aerograph A-90-P	20% DEGS	60/80 Chrom W,AW	12	1/4	196	246	228	He	45ml/min
E.-P.800	15% DEGS	Anakrom ABS	10	1/8	190	220	220	N2	40cc/min
F&M-810	5% DEGS	—	24	0.109	210	310	310	He	40ml/min
F&M-810	15% DEGS	80/100 Chrom W,AW	8	0.19	190	280	260	He	100ml/min
MicroTek-CC-2000R	12% DEGS, 2% H3PO	60/80 Chrom W HMDS	5	1/4	195	240	255	He	80cc/min
F&M-810	12% DEGS	60/70 Anakrom ABS	6	0.194	180	295	315	He	85ml/min
Aerograph-1520B	25% EGG2 % H3PO4	80/100 Chrom W	6	1/8	215	300	325	He	25ml/min
F&M-810	DEGS	Chrom W	12	1/8	140-200	240	240	He	50ml/min
F&M-810	20% DEGS	60/80 Chrom W	8	4mm	185	270	225	He	80ml/min
F&M-400	15% DEGS	100/120Gas Chrom P	6	4mm	179	230	208	Ar	40ml/min
Aerograph-A-90P	Phthalate EG-4 1/2	Chrom P	8	1/8	205-210	250-265	262-265	He	55ml/min
Aerograph-660	BDS	—	8	1/8	A, 195-B, 185	210	210	N2	25ml/min
Aerograph-A-90-P	Phthalate EG	Chrom P, AW	6	1/4	200	240	240	He	85ml/min
Aerograph 1522	10% Stab DEGS	60/70 Anakrom A	8	0.093	155	210	210	He	6ml/min



250°C Fig - I

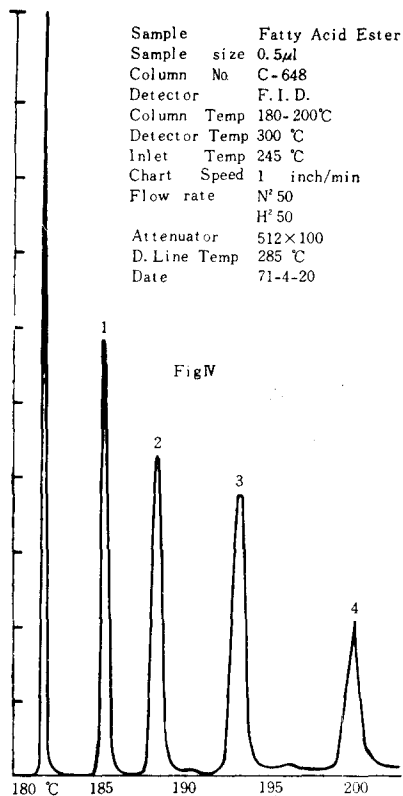


Fig IV

180 $^{\circ}$ C 185 190 195 200

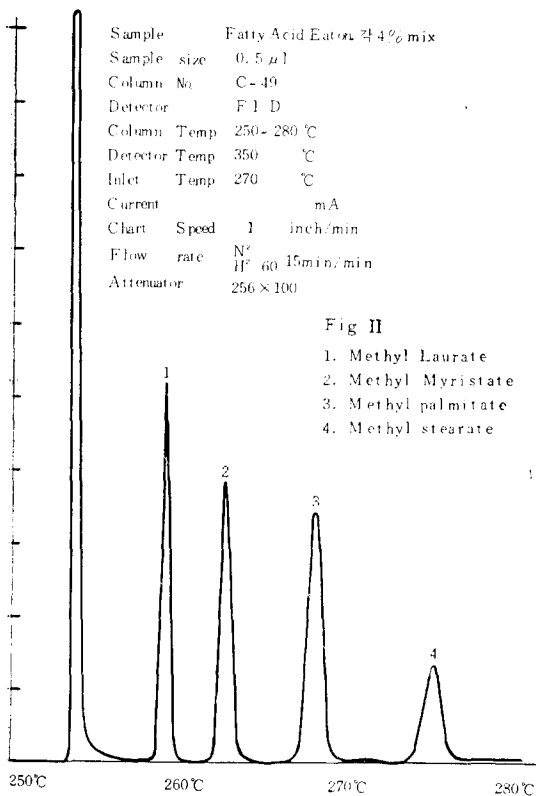


Fig II

1. Methyl Laurate
2. Methyl Myristate
3. Methyl palmitate
4. Methyl stearate

250°C 260°C 270°C 280°C

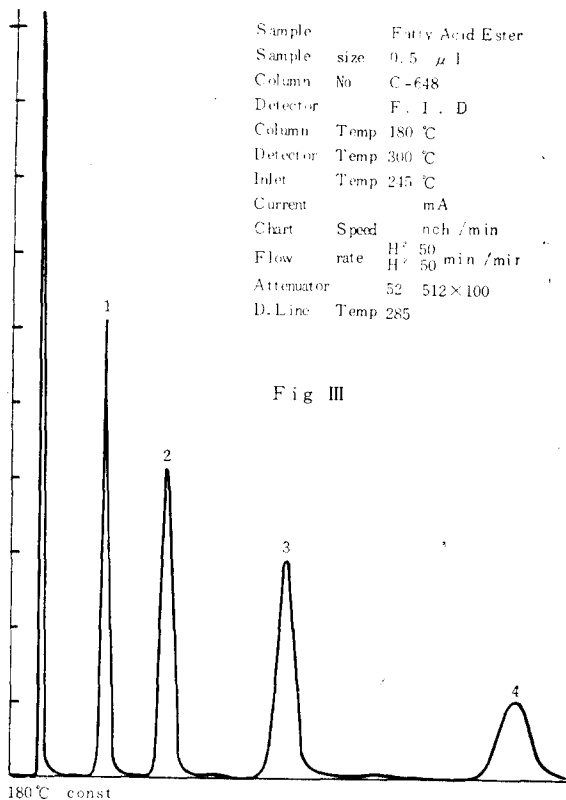


Fig III

180°C const

$$n = 16 \times \left(\frac{\text{Retention time}}{\text{Peak width}} \right)^2$$

$$\text{HETP} = \frac{\text{Column length}}{n}$$

이 식으로 부터 n가 큰것은 Peak의 나타나극 위치가 멀고 폭이 좁아진다. Flow rate를 횡축 HETP를 종축으로한 graph 위에서 HETP의 값이 최소가 되는 Flow rate가 가장 適合하다. 文獻에서 조사한 機器의 條件을 Table I에 실었다.

3. Retention Time 과 Chain Length 의 關係

column의 溫度를 一定하게 維持하였을 경우와 Programing 하였을 경우 포화 脂肪酸 에스테르가 나타나는 Retention Time과 탄소수 사이의 關係를 관찰하였다. Isothermal로서 試驗했을 경우 Retention Time과 成分들의 Chain Length 사이에는 曲線이 얻어 졌으나 Programing Temperature 조작으로서는 보다 直線關係가 存在함을 알았으며 이것은 Fig I, II, III, IV 및 Table II Graph I에 나타나 있다.

Table II

Carbon Number	Retention Time (minute)			
	SE-30 column.		PEGS column	
	Fig-I	Fig-II	Fig-III	Fig-IV
C ₁₂	1.95	1.90	1.10	1.05
C ₁₄	2.85	2.60	1.85	1.65
C ₁₆	4.35	3.70	3.25	2.60
C ₁₈	6.90	5.10	5.95	4.00

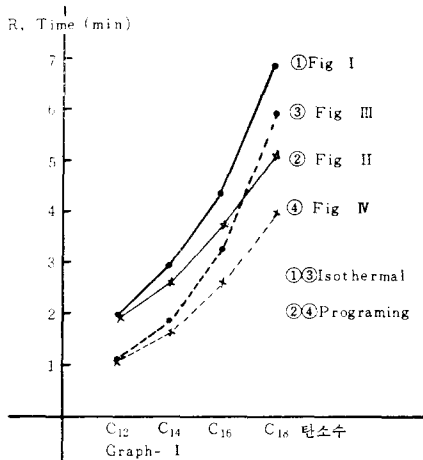
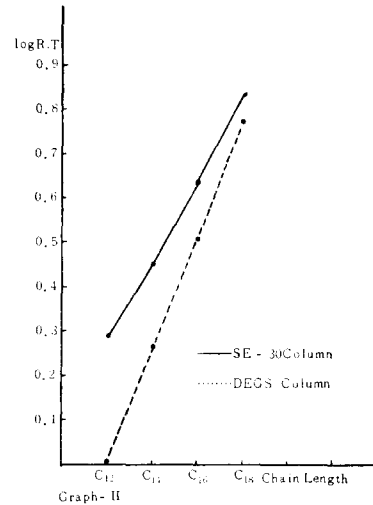


Table III

Carbon Number	SE-30 column (Fig I)		DEGS column (Fig-III)	
	Retention Time	log Retention Time	Retention Time	log Retention Time
C ₁₂	1.95	0.2900	1.10	0.0414
C ₁₄	2.85	0.4548	1.85	0.2672
C ₁₆	4.35	0.6385	3.25	0.5119
C ₁₈	6.90	0.8388	5.90	0.7745



Isothermal 條件下에서 Carbon Chain Length에 對한 Retention Time의 logarithm의 Plot가 直線에 부합됨을 알았으며 이것은 Fig I, III. 및 Table III과 Graph II가 나타내고 이것으로 부터 모르는 포화 지방산 에스테르가 나타내는 Retention Time의 logarithm이 Graph II의 line위에 合致될때 그 脂肪酸의 탄소수를 推定할수 있겠다.

4. 試驗 方法

4-1. 原理 및 試驗

化粧品에는 Glyceride 또는 Monoester Fatty acid ester들의 複雜한 混合物을 구성하고 있다. 乳化 製品의 成分중에서 脂 또는 Wax의 성분 酸들의 確認에 앞서 Gas Chromatograph로서 完全 分離를 위하여 그것들의 단순한 Monoester로서 얻는 것이 必要하다. 酸들의 混合物을 어떤 分離 工程에 적합시키려면 이들을 加水 分解하여 산성이 아닌 成分들을 分離하고 酸을 유리하는 것이 必要하다. 이러한 까닭으로 乳化 狀態

를 破壞시키고 Chloroform extractable matter를 검화한다. Alcohol性 KOH가 검화에 만족할 만하다. 分離와 確認의 目的으로 검화와 그 다음 단계들이 成分 脂肪酸들의 어느것도 工程에서 변경되지 않는 그러한 수단으로 行하여 貯야한다는 것은 필수적이다. 검화후 Benzene 혹은 Ether를 使用하여 비검화물을 除去하고 검화물을 加水分解하여 Fatty Acid 만을 뽑아내어 硫酸 촉매하에서 methyl Ester化 하여 Gas Chromatography의 試料로서 취한다.

1) Sample(乳化 製品)의 乳化 破壞

試驗果程 Fig V

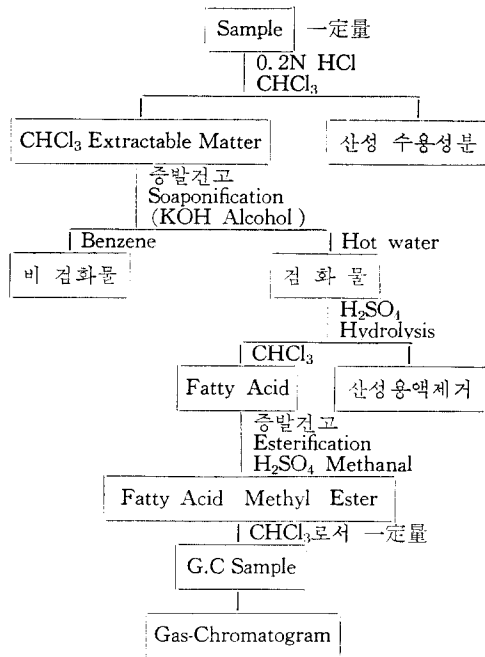
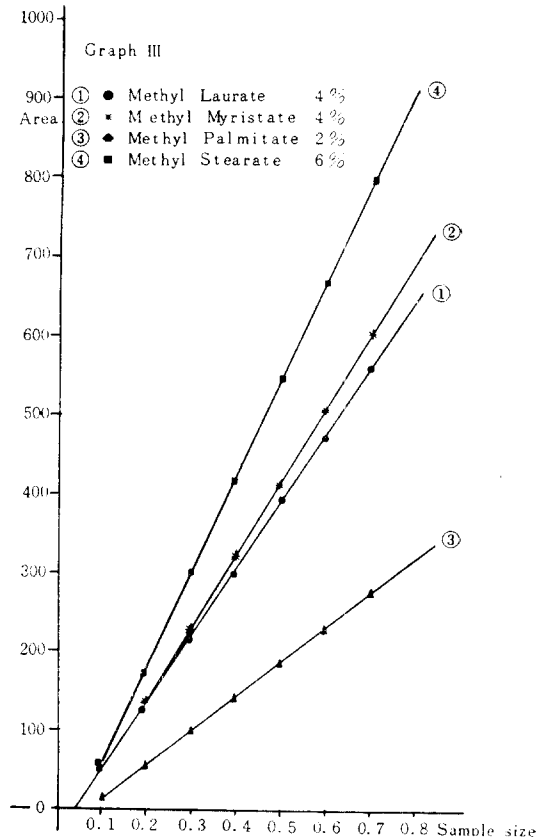


Table IV

Sample size	Methyl Laurate 4% Area	Methyl Myristate 4% Area	Methyl Palmitate 2% Area	Methyl Stearate 6% Area
0.1μl	54	56	20	65
0.2μl	132	137	59	179
0.3μl	224	236	104	304
0.4μl	302	320	145	443
0.5μl	410	430	190	565
0.6μl	472	500	222	659
0.7μl	585	615	283	820

- 2) Saponification (Alcohol性 KOH 로서)
- 3) 검화물의 Hydrolysis (H₂SO₄ 로서)
- 4) Fatty Acid의 Esterification (Sulfuric acid with methanol)

試驗 果程을 Fig V에 도표로서 나타내었다.



4-2 檢量線의 作成(Calibration Curve) Fatty Acid의 Methyl Ester의 量을 變化하여 가면서 Gas-Chromatogram에 나타나는 Peak Area를 機器에 부속되어 있는 Integrator로 읽어서 試料(標準)量을 稱측에 Area를 稱측으로 檢量線을 作成하였다. 대체로 直線을 나타내고 있으며 使用 可能하다. 이 檢量線은 Graph III에 나타나 있으며 精確한 수치는 Table IV에 나타나 있다.

5. 試驗 結根

5-1. 機器 Condition (Beckman GC-5)

- Column: DEGS 20%
- Column Temp: 200°C
- Inlet Temp: 225°C

D. Line Temp: 265°C
 Detector Temp: 300°C
 N₂ Flow rate: 50ml/min
 H₂ Flow rate: 50ml/min
 Recorder Range: 1mV
 Attenuator: 512×100
 Detector: F.I.D

結果

지방산 종류	처방%	Recovery rate	
		1 회	2 회
Lauric Acid	3.0%	99.6%	93.3%
Myristic Acid	3.0%	100.6%	95.0%
Palmitic Acid	3.0%	104.9%	96.4%
Stearic Acid	2.0%	108.3%	101.4%

5—2 機器 Condition (Beckman GC—5)

Column: SE—30 15%

Column Temp: 270°C

Inlet Temp: 270°C

D. Line Temp: 320°C

Detector Temp: 350°C

N₂Flow rate: 20ml/min

H₂Flow rate: 40ml/min

Recorder Range: 1mV

Attenuator: 512×100

Detector: F.I.D

6. 考察

分析하고자 하는 試料 중에 함유된 脂肪酸을

結果

지방산 종류	처방	Recovery rate			
		1 회	2 회	3 회	4 회
Lauric Acid	6.0%	113.6%	116.3%	118.5%	112.5%
Myristic Acid	9.0%	92.8%	101.2%	103.6%	100.4%
Palmitic Acid	4.5%	100.0%	109.5%	106.0%	108.2%
Stearic Acid	13.5%	96.3%	116.0%	105.0%	103.8%

추출하여 分析하기 위하여 脂肪酸을 完全히 檢
 화 시킨후 충분한 酸으로서 加水分解시켜서 脂
 肪酸의 含量이 Esterification Reaction 에 完結되
 어야 한다. 이때 試料中 Ester 로서 存在하는 물
 질이 있을 경우 이들의 分解로서 脂肪酸 含量에
 誤差를 가져오며 이러한 成分들의 영향은 정확
 한 定量은 곤란하게 한다.

定量 方法은 絕對檢量線法에 의한 것이므로
 試料 採取量을 一定하게 또 正確하게 注入한다
 는것이 곤란하며 여기에서 檢量線의 약간 벗어
 난점이 있게된다. 檢量線 作成에 使用된 試料가
 純粹 試料가 아닌점에서 결과에 誤差를 일부 생
 각 하여야 한다.

7. 結論

以上の 方法으로 化粧品類에의 脂肪酸 定量의
 可否를 檢討하였다. G.C 法은 乳化 製品類에 適
 用 可能하며 試料의 前處理 方法의 再檢討가 必
 要하다고 생각한다.