

## 유통 산화형 염모제의 접촉성피부염 유발물질 함량 연구

나 영 란<sup>†</sup> · 구 희 수 · 이 승 주 · 강 정 미 · 진 성 현

부산광역시보건환경연구원  
(2014년 1월 23일 접수, 2014년 2월 3일 수정, 2014년 4월 9일 채택)

### A Study on Contact Dermatitis-Causing Substances Concentration in Commercial Oxidative Hair-Coloring Products

Young Ran Na<sup>†</sup>, Hee Soo Koo, Seung Ju Lee, Jung Mi Kang, and Seong Hyeon Jin

Busan Metropolitan City Institute of Health & Environment, Hambakbongro 140 gil 120, Bukgu, Busan-metropolitan city, Korea  
(Received January 23, 2014; Revised February 3, 2014; Accepted April 9, 2014)

**요약:** 시중에 유통 중인 산화형 염모제 28건을 대상으로 접촉성피부염 유발 성분 함량 조사를 수행하여, 관련 분야에 기초자료를 제공하고자 본 연구를 수행하였다. 접촉성피부염을 유발하는 물질로 산화염료 10종(p-phenylenediamine, toluene-2,5-diamine, m-phenylenediamine, nitro-p-phenylenediamine, p-amino-phenol, m-aminophenol, o-aminophenol, p-methylaminophenol, N,N'-bis(2-hydroxyethyl)-p-phenylenediamine sulfate, 2-methyl-5-hydroxyethylaminophenol)과 중금속 4종(니켈; Ni, 크롬; Cr, 코발트; Co, 구리; Cu)을 선정하였다. 10종의 접촉성피부염 유발 산화염료의 함량조사를 위하여 hexan-2% 아황산나트륨을 이용하여 빠르고 간단하게 시료전처리를 하였고, 초고성능액체크로마토그래피를 이용하여 분석시간이 12 min으로 짧은 동시분석조건을 확립하였다. 분석 결과 10종의 산화염료 성분은 제품에 표기된 성분이 모두 확인되었고, 각 성분의 농도는 의약품등 표준제조규정에 제시된 사용할 수 있는 농도상한 이하로 나타났다(식품의약품안전처 고시 제2013-228호). 또한, 4종의 중금속성분을 확인하기 위하여 microwave를 이용하여 시료를 분해하였고, 유도결합플라즈마분광계를 이용하여 정량 분석하였다. 각 제품에서 중금속별 검출량은 Ni 0.572  $\mu\text{g/g}$ , Cr 3.161  $\mu\text{g/g}$ , Co 2.029  $\mu\text{g/g}$ , Cu 0.420  $\mu\text{g/g}$ 이었다. 염모제의 색상별 중금속 농도를 비교한 결과 분말타입(헤나) 염모제의 평균 중금속 농도는 Ni 1.800  $\mu\text{g/g}$ , Cr 10.127  $\mu\text{g/g}$ , Co 7.082  $\mu\text{g/g}$ , Cu 1.451  $\mu\text{g/g}$ 로 거품타입이나 크림타입 보다 높았다. 염모제를 흑색, 흑갈색, 갈색, 짙은 갈색, 옅은 갈색, 붉은 갈색의 6개 색상으로 구분하여 분석한 결과, 갈색의 경우 Co 농도가 가장 높고 나머지 색상에서는 모두 Cr의 농도가 높은 것을 알 수 있었다.

**Abstract:** We measured the contact dermatitis-causing substances concentrations in 28 commercial oxidative hair-coloring products. This study was aimed to provide the fundamental data about oxidative hair-coloring products. We selected 10 oxidation dyes (p-phenylenediamine, toluene-2,5-diamine, m-phenylenediamine, nitro-p-phenylenediamine, p-amino-phenol, m-aminophenol, o-aminophenol, p-methylaminophenol, N,N'-bis(2-hydroxyethyl)-p-phenylenediamine sulfate, 2-methyl-5-hydroxyethylaminophenol) and 4 heavy metal (nikel; Ni, chromium; Cr, cobalt; Co, copper; Cu) as contact dermatitis-causing substances. To identify 10 oxidation dyes, hexane-2% sodium sulfite was used for the rapid and simple extraction and ultra performance liquid chromatography (UPLC) analysis was used for simultaneous analysis in 12 minutes. 10 oxidative dyes were detected as indicated on the product packaging and each concentration was lower than prescribed upper concentration limit by pharmaceutical manufacturing standards. And we analysed inductively coupled plasma-optical emission spectrophotometer (ICP-OES) for content search of heavy metal after microwave digestion.

<sup>†</sup> 주 저자 (e-mail: na9502@korea.kr)

The heavy metal average concentration in oxidative hair-coloring products was 0.572  $\mu\text{g/g}$  for Ni, 3.161  $\mu\text{g/g}$  for Cr, 2.029  $\mu\text{g/g}$  for Co, 0.420  $\mu\text{g/g}$  for Cu, respectively. The average of concentration in powder type (henna) was higher than those of other foam and cream type oxidative hair-coloring products as follows; 1.800  $\mu\text{g/g}$  for Ni, 10.127  $\mu\text{g/g}$  for Cr, 7.082  $\mu\text{g/g}$  for Co, 1.451  $\mu\text{g/g}$  for Cu. Hair coloring products were classified into the six colors - black, dark brown, brown, dark brown, light brown, red brown and analyzed. Brown color had the highest average concentration of Co and the others had the highest average concentration of Cr.

**Keywords:** Oxidative hair-coloring products, Contact dermatitis, Oxidation dyes, Heavy metal

## 1. 서 론

기원전 3천 년부터 염색의 역사가 시작되어 1863년 독일의 호프만에 의하여 p-phenylenediamine (PPD)이 개발되면서부터 본격적으로 미용의 한 부분을 차지하게 되었다. 그 후 1924년에 미국의 에반스에 의해 p-toluenediamine (PTD)이 개발되었다. PPD는 초기에는 유럽에서 피부에 알러지를 유발한다고 알려지면서 대신 PTD가 사용되고 있다. 그러나 이러한 PPD의 안전성의 문제에도 불구하고 우수한 염색효과로 인하여 우리나라와 중국, 일본에서는 지금까지 염모제에 널리 사용되고 있다[1]. 최근 우리나라는 노령 인구의 급속한 증가에 따라 흰머리 염색의 수요가 증가하고 있고, 젊은 층에서도 염색을 패션의 일부분으로 받아들임에 따라 모발미용시장도 세분화·다양화되어가는 추세이다. 이에 따라 미용실에서 뿐만 아니라 가정에서 직접 염색을 시술하는 등 염모제 이용자가 늘고 있다. 식품의약품안전처의 「2011년도 의약외품 허가현황」에 따르면 전체 의약외품 2,347건 중 염모제는 1,347건에 달하여 가장 많이 허가받은 의약외품으로 확인되어 염모제 생산량도 증가하는 추세를 확인할 수 있다[2].

염모제의 사용 증가와 더불어 모발미용에 대한 관심이 집중되어짐에 따라 염모제품의 안전성에 대한 관심도 증대되고 있다. 한국소비자원에 접수된 염모제 관련 위해 사례는 2009년 94건, 2010년 105건, 2011년 상반기 118건으로 매년 증가하는 추세이다. 부작용 유형으로는 가려움(19.1%), 부종(12.7%), 발진(8.4%), 홍반(7.4%) 등 접촉성 피부염 증세가 대부분을 차지하고 있다[3]. 염모제품의 피부반응에 관련한 연구결과 디아민계열과 아미노페놀계열 등의 산화염료는 자극성 또는 알레르기성 접촉성피부염 유발가능성이 높은 것으로 보고되고 있다[4-9]. 또한 염모제에는 산화염

료 이외에도 다양한 성분이 함유되어 있으므로 인체에 유해한 중금속이 오염될 가능성이 있다. 그러나 현재 우리나라는 화장품에서는 납, 비소, 수은, 카드뮴, 안티몬의 기준이 설정되어 있으나 염모제에서는 인체에 유해한 중금속에 대한 허용치는 마련되어 있지 않은 실정이다. 인체에 유해한 중금속 중 니켈(Ni), 코발트(Co), 크롬(Cr)은 수포, 습진, 다형홍반, 육아종, 구진, 소양증 등을 동반한 알레르기성 피부염을 초래하는 물질로 알려져 있다[10,11]. 또한 구리(Cu)로 인한 알러지성 접촉성 피부염, 비 출혈, 금속 맛, 호흡기 자극, 금속열 등의 건강장애가 나타났다는 보고도 있다[12].

염모제품은 미국이나 유럽에서는 화장품으로 분류하고 있으나 일본, 중국을 비롯한 동아시아 국가에서는 의약외품으로 분류하여 관리하고 있다[13]. 우리나라는 「의약품등 표준제조기준」(식품의약품안전처 고시 제2013-228호)에 염모제에 사용할 수 있는 산화염료의 농도상한을 규정하여 관리하고 있으며, 기준규격검사는 「의약외품에 관한 기준 및 시험방법」(식품의약품안전처 고시 제2013-34호)에 따라 제품의 주성분으로 기재된 산화염료들을 박층크로마토그래프(thin-layer chromatography, TLC) 방법에 따라 확인하고 염모력 시험으로 함량시험을 대체하고 있다. TLC방법은 고가의 장비를 사용하지 않고 수종의 시약과 TLC판을 이용하여 산화염료를 검출할 수 있는 장점이 있으나 검체의 전처리 등에 많은 시간이 소요되며 산화염료의 함유여부에 대한 확인만 가능하고 정량분석에는 어려움이 있었다. 이에 따라 산화염료의 확인과 정량 분석을 위하여 gas chromatography, liquid chromatography를 이용한 분석방법이 보고되었다[14-16].

이에 본 연구에서는 초고성능액체크로마토그래피(ultra performance liquid chromatography, UPLC) 및 유도결합플라즈마분광계(inductively coupled plasma-opti-

**Table 1.** The Operating Conditions of UPLC

Column	Acquity UPLC <sup>®</sup> BEH C18 (1.7 $\mu$ m, 2.1 $\times$ 100 mm, Waters, USA)			
Flow rate	0.35 mL/min			
Injection Vol.	2.0 $\mu$ L			
UV wavelength	235 nm			
Mobile phase	Time (min)	A (%)	B (%)	Slope
	0	100	0	
	7	95	5	7
	10	45	55	6
	10.5	100	0	6
	12	100	0	6
A: 0.02 mol/L ammonium phosphate (pH 5.1)				
B: Acetonitrile				

cal emission spectrophotometer, ICP-OES) 분석법을 사용하여 접촉성 피부염을 유발하는 것으로 알려진 디아민 계열과 아미노페놀 계열의 산화염료 및 Ni, Cr, Co, Cu의 중금속 성분에 대한 전처리 방법과 정성·정량 조건을 탐색하였다. 이를 토대로 시중에 유통되는 염모제품을 대상으로 접촉성피부염 유발 성분 모니터링을 수행하여 관련 분야에 기초자료를 제공하고 자한다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 연구대상

부산지역 마트, 대형 인터넷 쇼핑몰에서 판매 중인 염모제 등 28건을 대상으로 하였다. 원산지별로는 국내산 20건, 수입산 8건(헤나 염모제 8건)이었고, 성상별로는 크림타입 염모제 17건, 분말타입(헤나)염모제 8건, 거품타입 염모제 3건이었다. 색상별로는 흑색 7건, 밝은 갈색 6건, 갈색 5건, 짙은 갈색 4건, 흑갈색과 붉은 갈색 각각 3건이었다.

### 2.2. 표준품 및 시약

산화염료 표준물질은 p-phenylenediamine (Supelco, USA), toluene-2,5-diamine sulfate (Fluka, Germany), p-nitro-m-phenylenediamine sulfate, 2-nitro-p-phenylenediaminesulfate, p-aminophenol, m-aminophenol, o-aminophenol (Sigma, USA), p-methylaminophenol (Aldrich, USA), N,N'-bis(2-hydroxyethyl)-p-phenylenedi-

amine sulfate (Wako, Japan), 2-methyl-5-hydroxyethylaminophenol (Tokyo Chemical LTD., Japan)을 사용하였고, 시료준비 및 UPLC 분석을 위하여 ethanol, acetonitrile (Merck, Germany, HPLC grade) n-hexane (Merck, Germany, GC grade), ammonium phosphate monobasic, ammonium phosphate dibasic (Sigma, USA)을 사용하였다.

중금속 표준품은 ICP-multi-element standard solution XVI (As, Be, Cd, Ca, Cr, Co, Cu, Fe, Pb, Li, Mg, Mn, Mo, Ni, Sb, Se, Sr, Ti, Tl, V, Zn 100 mg/L, Merck KGaA, Germany)을 사용하였고, 중금속 전처리에는 질산, 염산(Matsunoen Chemicals LTD., Japan, 유해금속분석용), 황산(Merck, Germany)을 사용하였다. 시험에 사용한 증류수는 ELGA water purification system (ELGA, UK)을 통하여 제조하였다.

### 2.3. 기기 및 분석조건

산화염료 분석을 위한 이동상은 0.02 mol/L ammonium phosphate monobasic에 0.02 mol/L ammonium phosphate dibasic을 첨가하면서 pH를 5.1로 맞추는 후 0.2  $\mu$ m filter로 여과한 용액을 acetonitrile과 혼합하는 gradient 조건을 사용하여 UPLC (Acquity UPLC I-Class, Waters, USA)로 분석하였다(Table 1). TLC는 「의약품에 관한 기준 및 시험방법」 2제형 산화형 염모제에 따라 수행하였다. 시료의 전처리에는 초음파 세척기(Powersonic420, 화신테크), 원심분리기(MF-80, 한일), pH측정기(SevenCompact pH/Ion, Mettler-toledo

**Table 2.** The Operating Conditions of ICP-OES

Parameter	Operating conditions
RF Power	1,400 watts
Nebulizer flow	0.55 L/min
Auxiliary flow	0.2 L/min
Plasma flow	17.0 L/min
Sample flow	1.5 L/min
Plasma viewing	Axial
Processing mode	Area
Wavelength	Ni (231.604 nm), Cr (267.716 nm), Co (228.616 nm), Cu (324.752 nm)

AG, Switzerland)를 사용하였다.

중금속 분석에 사용된 기구들은 중금속 오염을 방지하기 위하여 세척 후 30% 질산에 6 h 담근 뒤 1차 및 3차 증류수로 세척 후 건조시켜 사용하였다. 중금속 분석을 위하여 시료는 microwave 장치(CEM MAR6, Agilent, USA)를 이용하여 전처리하였고, ICP-OES (Optima 7000DV, PerkinElmer, USA)를 사용하여 분석하였다(Table 2).

#### 2.4. 검량선 작성

산화염료 표준물질을 각각 50 mg을 취하여 에탄올 2.5 mL에 녹인 후, 2% 아황산나트륨을 넣어 50 mL로 하여 표준용액(100  $\mu\text{g/mL}$ )을 제조하여 차광상태로 밀봉 냉장보관하면서 사용하였다. 각각의 표준품을 혼합 희석하여 0.5, 1, 5, 10, 50  $\mu\text{g/mL}$ 농도의 혼합표준액을 제조하여 검량선을 작성하였다. 유해중금속 분석을 위하여 Ni, Cr, Co, Cu를 포함하는 ICP-multi-element standard solution XVI 100 mg/L (Merck KGaA, Germany)을 3% 질산으로 희석하여 25, 50, 100, 200, 500  $\mu\text{g/L}$ 로 각각 조제하여 검량선을 작성하였다. 그것을 분석기기의 데이터 분석 프로그램 (Empower3) 상에서 신호 대 잡음비율(S/N, signal to noise)이 10이 되는 농도를 예상 정량 한계농도로 설정하였다. 이후 예상정량한계농도를 포함하여 그것의 10배 농도 사이에서 3개 농도의 혼합 표준용액을 제작하였고, 이를 분석하여 얻은 검량선의 기울기(S)와 예상정량한계농도를 7회 연속 분석하여 얻은 피크면적의 표준편차( $\delta$ )로 하여 정량한계(limit of quantification, LOQ,  $10\delta \times S^{-1}$ )와 검출한계(limit of detection, LOD,

$3.3\delta \times S^{-1}$ )를 산출하였다.

#### 2.5. 시료 전처리

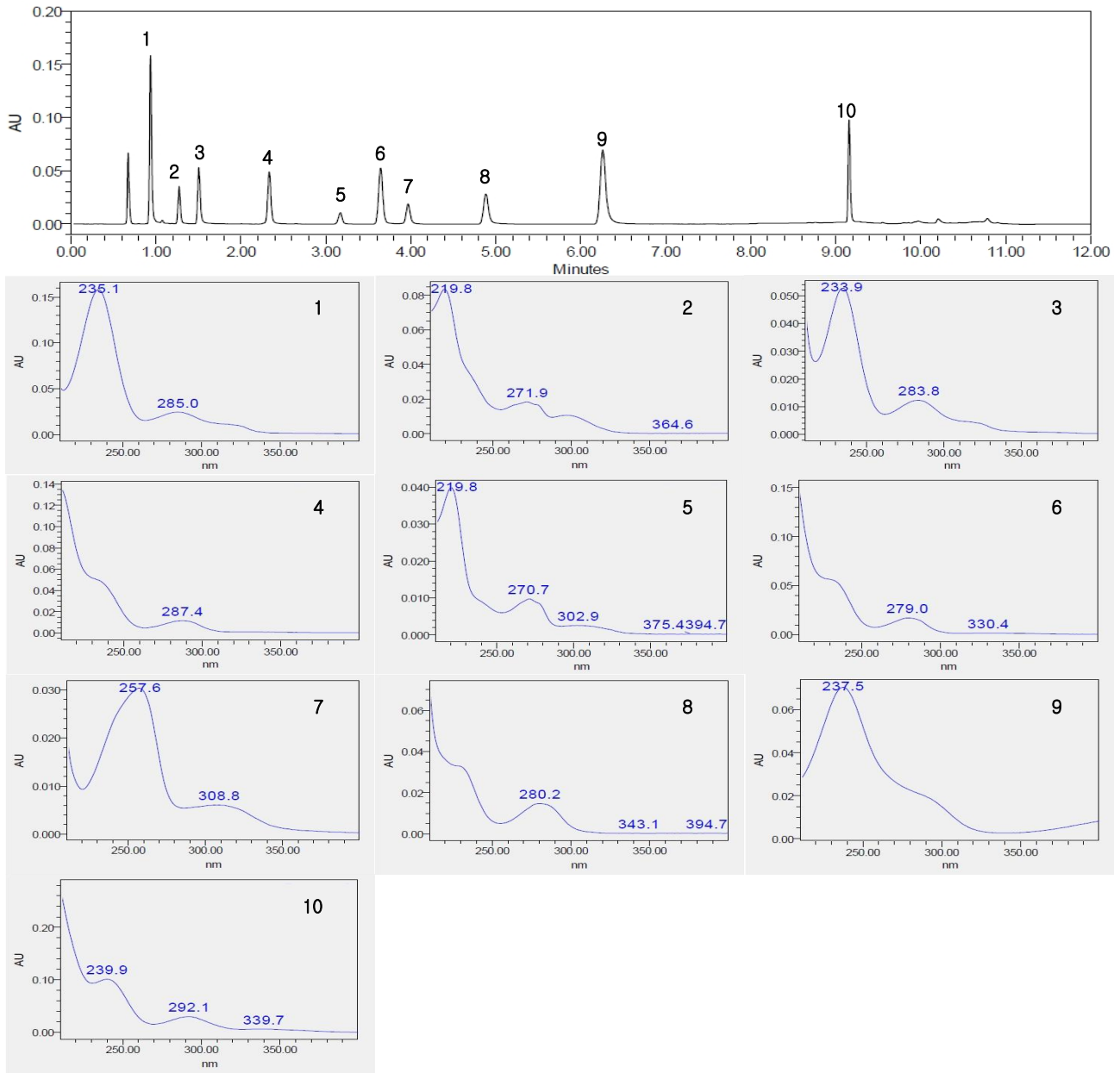
산화염료의 확인을 위하여 시료 100 mg을 원심분리용 튜브에 취하고, n-hexane 0.3 mL 첨가 후 2% sodium sulfite 10 mL을 가하여 분산 후 3,000 rpm으로 20 min 원심 분리하고 하층액을 0.2  $\mu\text{m}$  필터로 여과하여 시험액으로 하였다.

TLC는 「의약품에 관한 기준 및 시험방법」 2제형 산화형 염모제에 따라 수행하였다.

중금속 시료 전처리를 위하여 시료 100 mg을 microwave 전용용기에 취하고 질산 7 mL, 염산 2 mL, 황산 1 mL (헤나염모제의 경우 질산 9 mL, 염산 1 mL)를 첨가한 후 2 h 이상 방치한 후, microwave 장비를 이용하여 최대파워 1,000 watts, 최고온도 200  $^{\circ}\text{C}$ , 분해시간 35 min의 조건으로 분해하였다. 상온으로 식힌 다음 뚜껑을 열고 증류수로 용기 및 뚜껑을 씻은 후 침전물이 있을 경우 여과하고 전체량을 25 mL로 하여 유해중금속 분석용 시험용액으로 하였다. 따로 시료 없이 검액과 동일하게 조작하여 공 시험액으로 하여 결과 보정에 사용하였다. 본 연구에 사용한 염모제품은 모두 1제와 2제(헤나염모제의 경우 물)를 일정 비율로 혼합하여 사용하는 제품으로, 실제 모발에 적용하였을 때의 중금속 농도를 확인하기 위하여 각 제품설명서에 명시된 혼합비율을 중금속 농도 계산식에 반영하였다.

#### 2.6. 회수율

크림타입 염모제 1건과 분말타입(헤나) 염모제 1건을 바탕 시료로 하여 검체 100 g을 취한 후 산화염료



**Figure 1.** The chromatogram and spectra of 10 oxidation dyes by UPLC.

1. p-phenylenediamine; 2. p-aminophenol; 3. toluene-2,5-diamine; 4. m-phenylenediamine; 5. p-methylaminophenol; 6. m-aminophenol; 7. N,N'-bis(2-hydroxyethyl)-p-phenylenediamine sulfate; 8. o-aminophenol; 9. nitro-p-phenylenediamine; 10. 2-methyl-5-hydroxyaminophenol.

표준용액 100  $\mu\text{g/mL}$  1 mL과 중금속 혼합표준액 100  $\mu\text{g/mL}$  100  $\mu\text{L}$ 를 각각 첨가한 후 이 후 과정은 확립된 방법과 동일하게 처리하였다.

### 2.7. 통계처리

염모제품에서 검출된 중금속의 성상별, 색상별 농도를 비교하기 위하여 일원분산분석(One-way ANOVA)과 사후 검정으로 던컨(Duncan)의 방법으로 분석하였고, 통계 package는 SPSS (13.0 for Windows, September 2004)를 이용하였다.

**Table 3.** Regression Data of Oxidation Dyes by UPLC

Oxidation dyes	R <sup>2</sup> <sup>1)</sup>	LOD <sup>2)</sup> ( $\mu$ g/L)	LOQ <sup>3)</sup> ( $\mu$ g/L)	Average recovery rate (%, n=3)	
				Cream	Henna
p-phenylenediamine	0.999997	92.6	280.6	95.9	91.2
p-aminophenol	0.999976	88.4	267.9	99.5	93.8
toluene-2,5-diamine	0.999974	120.0	363.7	98.7	96.5
m-phenylenediamine	0.999992	243.3	737.4	96.9	92.8
p-methylaminophenol	0.999995	75.3	228.1	98.1	92.0
m-aminophenol	0.999977	124.9	378.6	97.6	96.2
N,N'-bis(2-hydroxyethyl)-p-phenylenediamine sulfate	0.999979	55.8	169.0	96.0	95.4
o-aminophenol	0.999956	81.5	247.1	95.6	93.8
nitro-p-phenylenediamine	0.999982	102.1	309.4	98.4	89.8
2-methyl-5-hydroxyaminophenol	0.999969	95.9	290.6	98.3	99.1

<sup>1)</sup> Coefficient of Correlation, R<sup>2</sup>

<sup>2)</sup> Limit of Detection, LOD

<sup>3)</sup> Limit of Quantification, LOQ

### 3. 결과 및 고찰

#### 3.1. 접촉성피부염유발 산화염료 검출

##### 3.1.1. 동시분석조건

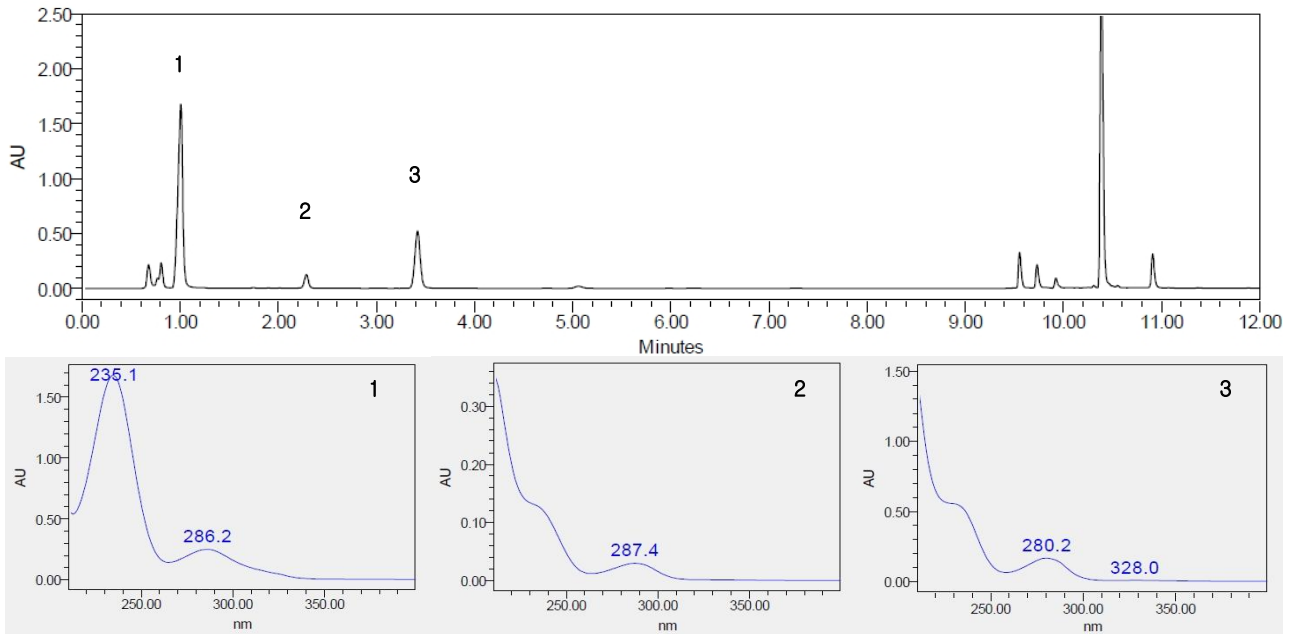
본 연구에서는 디아민계열 및 아미노페놀계열 산화염료 중 자극성 또는 알레르기성 접촉성피부염 유발가능성이 있는 것으로 보고된 PPD, toluene-2,5-diamine[4-9], m-phenylenediamine, nitro-p-phenylenediamine[6], p-aminophenol[4-6,8,9], m-aminophenol[4,5,7-9], o-aminophenol[4,6,8,9], p-methylaminophenol, N,N'-bis(2-hydroxyethyl)-p-phenylenediamine sulfate, 2-methyl-5-hydroxyethylaminophenol[7] 10종의 산화염료를 동시 분리하기 위하여 UPLC를 이용하여 0.02 mol/L ammonium phosphate (pH 5.1)와 acetonitrile 간의 적절한 농도구배(%) 조건을 탐색하였다(Table 1). 확립된 분석조건으로 10종의 성분을 12 min 이내에 동시분석 할 수 있었다(Figure 1). 0.5, 1, 5, 10, 50  $\mu$ g/mL농도의 혼합표준액을 가지고 작성된 검량선의 직선상관계수(R<sup>2</sup>)는 모두 0.9999 이상이었다. 또한 각 산화염료의 LOD는 55.8 ~ 243.3  $\mu$ g/L, LOQ는 169.0 ~ 737.4  $\mu$ g/L로 나타났다(Table 3).

##### 3.1.2. 시료전처리 조건

시료 100 mg을 원심분리용 튜브에 취하여 0.3 mL n-hexane을 넣어 분산하고 다시 증류수를 10 mL 가하여 초음파 분산하였다. 이 액을 원심분리한 후 그 하층액을 여과하는 과정을 통하여 0.2  $\mu$ m 실린지 필터로 여과가 용이하게 하였다. 바탕시료 100 mg에 산화염료 표준용액을 첨가하여 동일한 전처리 조건으로 회수율을 확인한 결과 크림타입 염모제 95.6 ~ 99.5%, 헤나 염모제 89.8 ~ 99.1%로 양호하였다(Table 3).

##### 3.1.3. UPLC를 이용한 시료 중 산화염료의 확인

시중에서 유통되는 염모제품 28종을 대상으로 접촉성피부염을 유발하는 성분으로 선정한 10종의 산화염료 성분을 확인하고자 UPLC chromatogram상의 머무름 시간과 PDA로 분석된 spectrum을 확인하는 방법으로 동시분석하였다(Figure 2). 본 연구에서 사용된 염모제품 28건 중 25건에서는 겉면에 표기되어 있는 산화염료 성분 중 분석대상에 해당하는 성분은 모두를 확인할 수 있었다. 그리고 제품의 표기사항에 페닐렌디아민과 아미노페놀로 표시되어 있었던 1건의 경우, 제품의 정확한 성분이 p-phenylenediamine, p-aminophenol, m-aminophenol, o-aminophenol인 것을 확인할



**Figure 2.** The chromatogram and spectra of oxidation dyes in sample by UPLC.

1. p-phenylenediamine; 2. m-phenylenediamine; 3. m-aminophenol

수 있었다. 이렇게 확인된 산화염료 10종의 정량값은 모두 「의약품등 표준제조기준」에 규정된 사용할 때 농도상한(%) 이하인 것으로 확인되었고, 이들 유통염모제에 다빈도로 포함된 산화염료는 m-aminophenol, p-phenylenediamine, p-aminophenol, o-aminophenol 등이었다(Table 4). 나머지 2건의 경우는 헤나가루 100%라고 표시되어 있었는데 분석대상 산화염료가 모두 검출되지 않았다.

### 3.1.4. TLC를 이용한 시료 중 산화염료의 확인

TLC는 이소프로필에틸·아세톤·이소프로판올(10 : 1 : 1)을 전개용매로 사용하여 수거된 염모제품에서 산화염료 성분 10종을 확인한 결과 디아민 계열의 염모제인 p-phenylenediamine, toluene-2,5-diamine, m-phenylenediamine, nitro-p-phenylenediamine, N,N'-bis(2-hydroxyethyl)-p-phenylenediamine sulfate는 각각 0.21, 0.26, 0.34, 0.78, 0.65 부근의 R<sub>f</sub> 값에서 연한 녹색의 반점이 나타났다. 또한 아미노페놀 계열인 p-aminophenol, m-aminophenol, o-aminophenol, p-methylaminophenol, 2-methyl-5-hydroxyethylaminophenol은 각각 0.51, 0.58, 0.71, 0.84, 0.47 부근의 R<sub>f</sub> 값에서 황색 ~ 주황색의 반점을 확인할 수 있었다. UPLC에서와

마찬가지로 TLC를 통해서도 분석대상 산화염료 10종 성분 모두를 확인할 수 있었지만 TLC는 정량분석이 불가능하다는 문제가 있다. 또한, TLC를 위한 시료의 전처리는 미량으로 함유된 성분의 확인을 위하여 시료의 혼합, 가열, 방치 등 시료의 전처리 과정이 복잡하고, 크립제, 액제 또는 로션제, 산제 등의 시료의 제형에 따라 전처리 방법이 상이하여 많은 시간이 소요되었다. 이에 반해 본 연구에서 확립된 방법은 시료의 전처리가 염모제의 제형과 상관없이 비교적 간단하고 짧은 시간이 소요되며, UPLC를 이용하여 짧은 분석 시간으로 미량으로 함유되어 있는 성분들을 동시에 확인 및 정량분석 할 수 있었다.

## 3.2. 접촉성피부염유발 중금속 검출

### 3.2.1. 분석법의 정량 및 검출한계, 회수율 측정

염모제품 시료를 microwave법으로 분해한 후 염모제에서 알려지성 피부염을 유발하는 것으로 보고되어진 Ni, Co, Cr[10,11], Cu[12]에 대해 ICP-OES를 이용하여 분석하였다. 혼합 중금속표준액에서 4종 중금속의 검량선은 모두 0.9999 이상의 R<sup>2</sup>를 보였다. 각 중금속의 LOD는 0.7 ~ 2.7 μg/L이었고, LOQ는 2.2 ~ 8.2

**Table 4.** Detection of Oxidation Dyes in Samples (n=28) by UPLC

Oxidation dyes	No. of samples	Amount <sup>1)</sup> (%)	UCL <sup>2)</sup> (%)
m-aminophenol	21	0.187 ± 0.279 <sup>3)</sup> 0.007 ~ 1.033	2.0
p-phenylenediamine	17	0.659 ± 0.703 0.066 ~ 1.975	3.0
p-aminophenol	14	0.240 ± 0.481 0.006 ~ 0.773	3.0
o-aminophenol	10	0.042 ± 0.090 0.006 ~ 0.298	3.0
toluene-2,5-diamine	8	0.118 ± 0.145 0.007 ~ 0.387	2.5
m-phenylenediamine	5	0.143 ± 0.043 0.109 ~ 0.212	1.0
p-methylaminophenol	3	0.055 ± 0.054 0.013 ~ 0.115	1.0
2-methyl-5-hydroxyaminophenol	3	0.042 ± 0.022 0.027 ~ 0.032	0.5
nitro-p-phenylenediamine	1	0.008	3.0
N,N'-bis(2-hydroxyethyl)-p-phenylenediamine sulfate	0	-	2.9

<sup>1)</sup> Amount (%) of Oxidation Dyes in Samples by UPLC

<sup>2)</sup> Upper Concentration Limits (UCL) in Hair-coloring Products

<sup>3)</sup> Data were Expressed as Mean ± Standard Deviation (minimum ~ maximum)

**Table 5.** Regression Data of Heavy Metals by ICP-OES

Heavy metals	R <sup>2</sup> <sup>1)</sup>	LOD <sup>2)</sup> ( $\mu$ g/L)	LOQ <sup>3)</sup> ( $\mu$ g/L)	Average recovery rate (%, n=3)	
				Cream	Henna
Ni	0.999979	0.7	2.2	93.4	97.0
Cr	0.999980	1.9	5.6	93.3	98.3
Co	0.999971	2.2	6.8	91.9	95.0
Cu	0.999958	2.7	8.2	91.2	93.5

<sup>1)</sup> Coefficient of Correlation, R<sup>2</sup>

<sup>2)</sup> Limit of Detection, LOD

<sup>3)</sup> Limit of Quantification, LOQ

$\mu$ g/L이었다. 크림타입과 헤나염모제 시료에 각각 중금속 혼합표준액을 첨가하여 회수율을 확인한 결과 평균 회수율은 크림타입 91.2 ~ 93.4%, 헤나염모제 93.5 ~ 98.3%로 양호하게 나타났다(Table 5).

### 3.2.2. 시료에서의 Ni, Cr, Co, Cu의 검출

Ni은 Cr과 더불어 가장 흔한 알러지의 원인 물질 중의 하나로 특히 여성에 있어서는 빈번한 접촉성 피부염의 원인물질이다[17]. 본 연구결과 분석된 시료 전체의 Ni 평균농도는 0.572  $\mu$ g/g으로, 최영진의 0.51  $\mu$ g/g, 최채만 0.591  $\mu$ g/g과 유사한 결과를 나타내었다[13,18].



Cr은 접촉성피부염의 빈번한 원인물질 중의 하나로 목타르(Wood Tar)와 Ni에 이어 3번째로 빈번한 유발물을 가지며 성별 알레르기 유발률은 7 : 1로 남성이 여성보다 높은 유발률을 보인다[1]. 본 연구결과 총 Cr의 함량은 평균 3.161  $\mu\text{g/g}$ 으로 최체만 0.954  $\mu\text{g/g}$ 보다 높은 결과를 나타내었다[13].

Co는 독성이 적은 중금속 중의 하나이며 비타민 B12의 전구체로서 인체에 필수적인 원소이나, Co 화합물 중 cobalt chloride는 알러지를 유발한다고 알려져 있다[19,20]. 본 연구의 결과 시료 중 Co는 평균 2.029  $\mu\text{g/g}$ 이 검출되어 최영진의 0.003  $\mu\text{g/g}$ 보다 높은 결과를 나타내었다[18].

Cu는 생체 내에서 철의 대사와 관련된 필수 원소이나 알러지성 접촉성 피부염, 비출혈, 호흡기 자극 등의 건강장애를 유발할 수 있다[16]. 본 연구의 결과 Cu 농도 평균은 0.420  $\mu\text{g/g}$ 으로 최영진의 1.63  $\mu\text{g/g}$ , 최체만 0.544  $\mu\text{g/g}$ 보다 낮은 결과를 나타내었다[13,18].

현재 우리나라는 유통 화장품에 납, 비소, 수은, 카드뮴, 안티몬의 기준을 설정하여 관리하고 있으나(식품의약품안전처 고시 제2013-24호), 염모제에서는 인체에 유해한 중금속에 대한 허용치는 마련되어 있지 않은 실정이므로 염모제에서도 안전기준을 설정하여 관리하는 것이 필요하다고 생각된다.

피부안전성에 영향을 줄 수 있는 중금속들은 불용성화합물이 아닌 수용성염의 형태가 피부를 투과할 수 있어 유해한 영향을 미칠 수 있다. 특히 Cr은 분자 구조에 따라 성질 및 독성에 대한 안전성이 판이하게 달라 3가 Cr은 인체대사에 필요한 필수 원소이지만 6가 Cr은 피부투과성이 매우 커서 쉽게 피부염을 초래하여 피부에 대한 유해성이 매우 크다[21]. 또한 Co에서도 수용성 Co인 cobalt chloride 알러지를 유발하여 피부에 유해한 반면 cobalt aluminium oxide와 cobalt titanium oxide 및 cobalt blue는 그 안전성이 인정되어 국제적으로 화장품 원료로 널리 사용되고 있다[22]. 따라서 본 연구의 결과로 검출된 중금속의 함량은 수용성 및 불용성 염이 혼합된 총합의 형태로 분석되어, 이것만으로 유해성여부를 판단하는 것은 성급하다고 생각되며 향후 수용성 및 불용성 염으로 나누어 분석할 필요가 있다고 생각된다.

### 3.2.3. 성상별 중금속 함량

본 연구에 사용된 염모제는 성상별로 크림, 거품, 분말타입으로 분류하였다. 성상별 중금속 농도 분석 결과 통계적으로 유의한 차이를 보였으며( $p < 0.05$ ), 헤나를 원료로 하는 분말 타입에서 평균 Ni 1.800  $\mu\text{g/g}$ , Cr 10.127  $\mu\text{g/g}$ , Co 7.082  $\mu\text{g/g}$ , Cu 1.451  $\mu\text{g/g}$ 이 검출되어, 크림이나 거품 타입보다 중금속 함량이 높게 측정되었다(Table 6). 이는 크림과 액체타입에서는 Ni과 Cr이 가장 높은 농도를 나타내었고 분말 타입에서는 Cu가 높게 측정되었다는 최체만의 보고와 상이한 결과이다[13]. 이전의 연구에서도 천연헤나가 원료로 사용된 경우에는 피부 자극 및 알러지성 접촉성 피부염을 일으킬 수 있는 중금속이 함유될 가능성이 높으며 Ni과 Co 및 납 등이 검출된 연구결과가 보고되었다[23,24]. 이는 생산과정에서 일차로 정제된 염료를 원료로 하여 생산되는 거품 타입이나 크림 타입 염모제에 비하여, 헤나를 단순히 건조하여 분말로 한 헤나가루를 기본 원료로 하는 분말제품의 경우, 헤나의 재배환경에 따라 중금속이 오염될 가능성이 높고, 별도의 정제과정을 거치지 않은 원료를 사용하기 때문에 염모제품에 잔류된 중금속의 농도가 상대적으로 높아진 것으로 생각된다. 본 연구에 사용한 분말타입 헤나염모제는 모두 수입산(인도산)으로 나타나 제품에 대한 생산, 수입, 유통 등에 대한 철저한 관리가 필요할 것으로 생각된다.

### 3.2.4. 색상별 중금속 함량

염모제의 색상은 제품 포장 겉면에 표기된 색상을 기준으로 흑색, 흑갈색, 갈색, 짙은 갈색, 옅은 갈색, 붉은 갈색의 6개 색상으로 구분하였고, 색상별 중금속 농도의 평균 분포는 Table 7과 같고 통계적으로 유의한 차이는 보이지 않았다. 갈색의 경우 Co 농도가 가장 높고 나머지 색상에서는 모두 Cr의 농도가 높은 것을 알 수 있었다.

### 3.3. 염모제의 표시실태 조사

본 연구에 사용한 28건의 염모제품 중 11건의 제품은 ‘암모니아, PPD를 첨가하지 않아 저자극 염모제’ 또는 ‘천연성분함유 저자극 염모제’, ‘옷이 타지 않은 염모제’ 등으로 표시 광고하고 있었지만 본 연구의 결과 접촉성 피부염 등의 부작용을 유발할 수 있는 산화염료 및 중금속 성분들이 검출되었다. 수거된 염모제

**Table 6.** Heavy Metal Concentration According to Type in Hair-coloring Products

Type	No. of sample	Ni ( $\mu\text{g/g}$ )	Cr ( $\mu\text{g/g}$ )	Co ( $\mu\text{g/g}$ )	Cu ( $\mu\text{g/g}$ )
Foam	3	$0.162 \pm 0.099^{1)}$	$0.286 \pm 0.235$	$0.024 \pm 0.036$	$\text{ND}^{2)} \pm 0.001$
		0.048 ~ 0.224	0.016 ~ 0.447	0.001 ~ 0.066	ND ~ 0.001
Cream	17	$0.067 \pm 0.085$	$0.390 \pm 0.508$	$0.005 \pm 0.009$	$0.009 \pm 0.017$
		ND ~ 0.320	ND ~ 1.873	ND ~ 0.027	ND ~ 0.050
Powder	8	$1.800 \pm 1.464$	$10.127 \pm 8.390$	$7.082 \pm 13.079$	$1.451 \pm 0.351$
		0.378 ~ 3.336	0.513 ~ 19.213	0.050 ~ 31.885	0.842 ~ 1.793

<sup>1)</sup> Data were Expressed as Average  $\pm$  Standard Deviation (minimum ~ maximum)

<sup>2)</sup> Not Detected, ND

**Table 7.** Heavy Metal Concentration According to Color in Hair-coloring Products

Color	No. of Sample	Ni ( $\mu\text{g/g}$ )	Cr ( $\mu\text{g/g}$ )	Co ( $\mu\text{g/g}$ )	Cu ( $\mu\text{g/g}$ )
Black	7	$0.552 \pm 1.187^{1)}$	$2.506 \pm 6.062$	$0.037 \pm 0.062$	$0.204 \pm 0.518$
		$\text{ND}^{2)} \sim 3.229$	ND ~ 16.241	ND ~ 0.167	ND ~ 1.378
Light brown	6	$0.686 \pm 1.176$	$4.488 \pm 6.973$	$4.049 \pm 9.835$	$0.722 \pm 0.848$
		ND ~ 3.046	0.251 ~ 17.703	ND ~ 24.124	ND ~ 1.793
Brown	5	$0.795 \pm 1.429$	$3.844 \pm 7.786$	$6.396 \pm 14.249$	$0.530 \pm 0.746$
		ND ~ 3.336	ND ~ 17.730	ND ~ 31.885	ND ~ 1.624
Dark brown	4	$0.827 \pm 1.484$	$5.561 \pm 9.125$	$0.047 \pm 0.078$	$0.421 \pm 0.843$
		ND ~ 3.050	0.256 ~ 19.213	ND ~ 0.163	ND ~ 1.686
Black brown	3	$0.036 \pm 0.032$	$0.172 \pm 0.162$	$0.002 \pm 0.004$	$0.014 \pm 0.025$
		ND ~ 0.049	ND ~ 0.321	ND ~ 0.007	ND ~ 0.043
Red brown	3	$0.217 \pm 0.165$	$0.687 \pm 0.462$	$0.028 \pm 0.044$	$0.539 \pm 0.932$
		0.048 ~ 0.378	0.395 ~ 1.219	0.001 ~ 0.079	ND ~ 1.615

<sup>1)</sup> Data were Expressed as Average  $\pm$  Standard Deviation (minimum ~ maximum)

<sup>2)</sup> Not Detected, ND

중 17건은 헤나, 한방, 오디, 감잎 등 천연성분을 함유하고 있다고 광고하고 있었으나 천연성분 100%인 제품은 헤나염모제 중 2건 뿐이었고 그 외 제품에는 PPD 등의 산화염료가 포함되어 있는 것을 확인할 수 있었다. 또한 헤나가루 100%인 두 제품에서도 산화염료는 검출되지 않았지만, Ni, Co, Cr, Cu 등의 피부건강에 유해한 중금속이 검출된 것을 확인할 수 있었다.

이와 같이 본 연구에 사용된 대부분의 염모제에서 접촉성 피부염을 유발할 수 있는 성분들이 확인되었다. 2008년 한국소비자원에 접수된 주요한 부작용은 피부발진, 진물, 염증이 22.1%로 가장 많고 부중,

가려움(17.2%), 안구통증, 시력손상, 이물감(11.4%)이었고, 여러 부작용이 동시에 나타나는 경우가 많았다 [11]. 그러므로 염색 전 염모제에 대한 피부 알레르기 반응을 확인하기 위해 염모제를 붙인 패치를 팔 안쪽 혹은 귀 뒤쪽에 붙인 다음 48 h 방치한 후 피부에 이상 유무를 검사하는 패치테스트가 중요할 것으로 생각된다. 그러나 김남희 등이 서울 및 수도권 소재의 미용실에 근무하고 있는 염색시술자들에 대한 산화염모제 사용실태에 관한 연구결과 염색 전 피부 알레르기 검사를 하는지 여부에 대한 문항에서 약 84%가 패치테스트를 시행하지 않는 것으로 응답하였다고 보고

하였고[25], 가정에서 직접 염색 시술하는 소비자들 대상으로 조사한다면 패치 테스트율은 더 떨어질 것으로 생각된다.

또한 강무선 등이 미용사를 대상으로 염모제품의 표기사항 확인 여부를 설문조사한 결과 ‘중요한 내용만 살펴본다’라는 응답이 가장 높았다는 보고가 있었고 이는 소비자들이 염색을 시술하기 전에 제품의 표기사항을 상세하게 확인하지 않고 있음을 시사한다 [26]. 이에 따라 염모제의 안전한 사용을 위하여 제품 포장의 겉면에 주의 문구를 눈에 띄게 표시하는 것이 필요하고 생각된다. 본 연구에서 수행한 제품 중 포장의 겉면에 패치테스트 권장 문구를 별도로 표시한 제품은 28건 중 5건이었고, 알러지 등 부작용 발생가능성 경고 문구를 표시한 제품은 11건으로 나타나 염모제품의 제조업자나 수입자에게 제품 포장에 별도로 주의사항 문구를 표시하도록 권고하는 것이 필요할 것으로 생각된다.

#### 4. 결 론

산화형 염모제품에서 접촉성 피부염을 유발하는 것으로 알려진 산화염료 10종과 중금속 4종을 선정하여 간단하고 신속한 분석방법을 확립하고, 대형마트와 인터넷 쇼핑몰에서 유통 중인 염모제 28건을 대상으로 검출 실태를 확인하여 관련분야에 기초자료를 제공하고자 본 연구를 실시하였다.

1. 문헌고찰을 통하여 접촉성피부염 유발물질로 보고된 p-phenylenediamine, toluene-2,5-diamine, m-phenylenediamine, nitro-p-phenylenediamine, p-aminophenol, m-aminophenol, o-aminophenol, p-methylaminophenol, N,N'-bis(2-hydroxyethyl)-p-phenylenediamine sulfate, 2-methyl-5-hydroxyethyl-aminophenol 10종을 접촉성피부염 유발 산화염료로, Ni, Cr, Co, Cu를 접촉성피부염 유발 중금속으로 선정하여 분석하였다.

2. 염모제품 중 접촉성피부염을 유발하는 10종의 산화염료를 분석하기 위하여 2% sodium sulfite와 n-hexane을 이용하여 신속하고 간단한 시료의 전처리법을 확립하였고, 미량성분의 검출이 용이한 UPLC를 이용하여 분석시간이 12 min으로 짧은 동시 분석조건을 확립하였다.

3. 확립된 10종의 산화염료 시험법을 시료 28건에

적용한 결과 각 제품에 표시된 성분 중 분석대상 산화염료 10종에 해당하는 성분은 모두 확인할 수 있었고, 이 성분들의 정량값은 모두 식품의약품안전처 고시 「의약품등 표준제조기준」에 규정된 농도상한(%)이하로 검출되었다.

4. 중금속 시험을 위한 전처리에는 microwave를 이용하였고, ICP-OES를 이용하여 분석방법을 확립하였다. Ni, Cr, Co, Cu에 대한 검량선은 모두 0.9999 이상의 R<sup>2</sup>를 보였고, 회수율 평균은 91.2 ~ 98.3%로 양호하였다.

5. 28종 시료에서 검출된 중금속 농도평균은 Ni 0.572  $\mu\text{g/g}$ , Cr 3.161  $\mu\text{g/g}$ , Co 2.029  $\mu\text{g/g}$ , Cu 0.420  $\mu\text{g/g}$ 으로 나타났다.

6. 염모제의 성상을 크림, 거품, 분말 타입으로 분류하여 분석한 결과, 헤나를 원료로 하는 분말 타입에서 평균 Ni 1.800  $\mu\text{g/g}$ , Cr 10.127  $\mu\text{g/g}$ , Co 7.082  $\mu\text{g/g}$ , Cu 1.451  $\mu\text{g/g}$ 으로 크림이나 거품타입보다 중금속 함량이 높게 측정되었다.

7. 흑색, 흑갈색, 갈색, 짙은 갈색, 옅은 갈색, 붉은 갈색의 6개 색상으로 구분하여 분석한 결과, 갈색의 경우 Co 농도가 가장 높고 나머지 색상에서는 모두 Cr의 농도가 높은 것을 알 수 있었다.

8. 수거된 염모제 28건의 표시·광고 사항을 확인한 결과 저자극 등으로 광고한 염모제는 11건이었고, 천연성분이 함유되었다고 표시한 제품은 17건이었다. 또한 포장지 겉면에 패치테스트 권장 문구를 표시한 제품은 28건 중 5건이었고, 알레르기 발생가능성 경고 문구를 표시한 제품은 11건으로 나타났다.

#### Reference

1. H. S. Kwak, Art of hair color, Chunggu, 53, Seoul, Korea (2005).
2. State permit of Quasi-drug in 2011, KFDA (2011).
3. Survey of hair dye safety, KCA (2011).
4. J. A. Cho and K. M. Cho, A Study on the ways of supervision and noxiousness cognition of hazard chemical materials in hairdye, *J. Make-up Design*, 2(1), 91 (2006).
5. H. Sosted, S. C. Rastogi, K. E. Anderson, J. D. Johansen, and T. Menne, Hair dye contact allergy : quantitative exposure assessment of selected products and clinical cases,

- Contact. Dermatitis*, **50**(6), 344 (2004).
6. H. Sosted, Allergic contact dermatitis to hair dye ingredients, *Trykt. I. forum. Nordic. dermato-venereology*, **12**(14), 1 (2007).
  7. If you use the familiar, hair dye gives the flavor and youth, KFDA (2009).
  8. E. Schledule, W. Aberer, T. Fuchs, I. Gerner, H. Lessemann, T. Maurer, R. Rosbacher, G. Stropp, E. Wagner, and D. Kayger, Chemical substances and contact allergy-244 substances ranked according to allergic potency, *Toxicology*, **193**, 219 (2003).
  9. H. Y. Roh and Y. S. Kim, A study on harmful effects of hair dyeing products and safty measures, Master's Thesis Dissertation, Health Study Dept., Hanyang Univ., Seoul, Korea (2008).
  10. D. A. Basketter, G. Briatico-Vangosa, W. Kaestner, C. Lally, and W. J. Bontinck, Nickel, Cobalt and Chromium in allergic contact dermatitis, *Contact Dermatitis*, **25**, 15 (1993).
  11. Y. Yoshihisa and T. Shimizu, Metal allergy and systemic contact dermatitis: An overview, *Dermatology research and practice*, **2012**, 749561 (2012).
  12. J. M. Kim, J. Y. Jung, and D. H. Kim, A study on concentration of the airbrone copper and biological exposure index in the workplaces manipulationg the copper, *Korean Industrial Hygiene Association*, **3**(1), 78 (1993).
  13. C. M. Choi, M. S. Hong, Y. J. Lee, H. S. Kim, H. J. Kim, J. H. Kim, and Y. Z. Chae, A study on heavy metal concentrations of oxidized hair coloring products in korea market, *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **39**(3), 241 (2013).
  14. Y. K. Kim, W. H. Park, K. E. Park, B. C. Choe, H. J. Jeong, and N. J. Chough, Analytical method of oxidation dye components in hair dyes, *Report of S.I.H.E.*, **43**, 183 (2007).
  15. T. Norihiko, K. Seiichi, K. Mitsuyoshi, and H. Kenji, Practical GC/MS analysis of oxidation dye components in hair fiber as forensic investigative procedure, *J. Forensic. Sci.*, **44**, 292 (1999).
  16. D. G. Kim, Y. K. Kim, E. S. Yun, M. S. Hong, J. Y. Shin, Y. K. Jeong, J. H. Kim, Y. J. Che, and S. K. Park, Quality inspections of active components in oxidative hair coloring products by UPLC, *Analytical Science & Technology*, **26**(1), 99 (2013).
  17. S. Alexander, Allergy and the skin, *Practitioner*, **227**(1382), 1271 (1983).
  18. Y. J. Choi and Y. J. You, A study on heavy metal concetration in hair dye on the market, *J. Kor. Soc. Beauty and Art*, **1**(2), 167 (2000).
  19. H. J. Jeeong, Y. K. Kim, W. H. Park, M. S. Lee, In. S. Cho, and Y. Z. Chae, Analysis of hazadous heavy metals in cosmetic packs by ICP-OES, *Report of S.I.H.E.*, **44**, 166 (2008).
  20. Y. S. Kim, H. J. Jeong, and I. S. Jang, Heavy metals and cosmetics, *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **28**(1), 15 (2002).
  21. H. J. Jeong, K. M. Joo, Y. S. Kim, J. E. Park, and J. H. Park, Safety evaluation of water-soluble chromium in makeup products, *J. Toxicol. Pub. Health*, **21**(1), 15 (2005).
  22. C. L. Goh, Epidemiology of contact allergy in Singapore, *Int. J. Dermatol.*, **27**(5), 308 (1988).
  23. I. J. Kang, H. H. Park, O. Y. Shim, C. R. Heo, and M. H. Lee, The quantitative analysis of PPD and heavy metals henna dyes on the market or used, *Ann. Dermatol.*, **42**(10), 155 (2004).
  24. H. S. Woo, The study on the analysis with a part of the heavy metal in the hair dyeing and the safety recognition, Master's Thesis Dissertation, Beuty-Art Dept., Seokyoung University, Seoul, Korea (2006).
  25. N. H. Kim, A study on the oxidized hair dye using and safety recognition, *Kor. J. Aesthet. Cosmetol.*, **5**(2), 219 (2007).
  26. M. S. Kang, A study of use and marking & quantitative analysis on chemical ingredients of color henna hairdye, Master's Thesis Dissertation, Beuty-Art Dept., Seokyoung University, Seoul, Korea (2005).