

短報

化粧品中のフェノキシエタノールの高速液体クロマトグラフィーによる分析

土井佳代

The Analytical Methods of Phenoxyethanol in Cosmetics by High Performance Liquid Chromatography

Kayo Doi

はじめに

化粧品にはその品質を保持するために、防腐剤等多くの成分が配合されている。従来は配合禁止成分、表示成分等が規定されていたが、平成12年9月に化粧品基準¹⁾が施行され、配合全成分表示等義務付けられると共に、防腐剤、紫外線吸収剤、タル色素以外の成分の配合禁止及び防腐剤、紫外線吸収剤、タル色素の配合の制限が定められた。フェノキシエタノール(2-phenoxyethanol, PE)は従来から化粧品や医薬部外品に防腐剤及び酸化防止剤として使用されているが、表示成分には指定されていなかった。今回の化粧品基準では、PEは、すべての化粧品に100gあたり1g以下の配合が認められた成分である。そこで、クリーム及び化粧水中のPEの定量方法について高速液体クロマトグラフィー(HPLC)による分析条件の検討を行い、良好な結果が得られたので報告する。

方法

(1) 試薬及び標準溶液の調整

試薬はすべて和光純薬製 試薬特級品を用い、標準品

神奈川県衛生研究所 食品薬品部

〒241-0815 横浜市旭区中尾1-1-1

としたPEについてはHPLCによる不純物ピーク含量比による純度を試験し、PEのピーク保持時間の6倍では0.05%以下であることを認めた。

PE約0.1gを精密に量り取り、メタノールで正確に100mLとし、標準原液とする。標準原液5mLを取り、メタノールで正確に25mLとした液を1%配合用の標準液とし、標準原液2mLを正確に取り、メタノールで正確に100mLとし0.1%配合用の標準液とした。なお、定量範囲等の試験には4段階に希釈した各標準液について注入量5～40μLで試験した。

(2) 試料

試験に供した化粧水及びクリームは、表1に示した配合成分および配合量で調製した0.1%PE配合及び1%PE配合品を用いた。

(3) 試料溶液の調製

化粧水は、試料約1gを精密に量り取り、メタノールで正確に50mLとする。この液を孔径0.45μm、口径

表1 試験に用いた化粧水及びクリームの処方

化粧水		
成分	0.1%PE	1%PE
PHENOXYETHANOL	0.1	1
ALCOHOL	15	15
PEG-60 HYDROGENATED CASTOR O	0.5	0.5
GLYCERIN	3	3
BUTYLENE GLYCOL	5	5
CITRIC ACID	0.05	0.05
SODIUM CITRATE	0.15	0.15
METHYLPARABEN	0.1	0.1
WATER	76.1	75.2

クリーム		
成分	0.1%PE	1%PE
PHENOXYETHANOL	0.1	1
GLYCERYL STEARATE SE	1	1
GLYCERYL STEARATE	1	1
CETYL ALCOHOL	3	3
MINERAL OIL	15	15
PETROLATUM	3	3
OCTYLDODECYL MYRISTATE	6	6
SODIUM CETYL SULFATE	2.4	2.4
GLYCERIN	3	3
BUTYLPARABEN	0.1	0.1
METHYLPARABEN	0.2	0.2
WATER	65.2	64.3

13mmのメンブランフィルターによりろ過し、最初のろ液2mLを捨て、次のろ液を試料溶液とした。

クリームは、水/メタノール(1:1)およびメタノールに分散する方法について行った。

水/メタノール(1:1)に分散する方法は、試料約1gを精密に量りとり、水/メタノール(1:1)を30mL程度加えて、超音波に5分間かけて分散する。室温になるまで放置後正確に50mLとする。この液を孔径0.45μm、口径25mmのメンブランフィルターによりろ過し、最初のろ液2mLを捨て、次のろ液を試料溶液とした。

メタノールで抽出する方法は、試料約1gを共栓試験管に精密に量りとり、メタノール20mLを加えて良く

振り混ぜた後、超音波洗浄機により 5 分間抽出する。No. 6 のろ紙を用いてろ過し、残分についてメタノール 10mL で同様に 2 回行う。ろ紙をメタノールで洗い、全ろ液及び洗液を合わせてメタノールで正確に 50mL とする。この液を孔径 0.45μm、口径 13mm のメンブランフィルターによりろ過し、最初のろ液 2mL を捨て、次のろ液を試料溶液とした。

(3)HPLC による分析

HPLC 測定機器には、ウォーターズ社の M996PDA-32 のフォトダイオードアレイ検出器を付したアライアンス 2690 システムを用いた。カラムは Inertsil ODS 4.6x150mm (5μm, GL サイエンス製)を用いた。移動相に水／アセトニトリル(7:3)を流量 1mL/min で流し、10 ~ 20μL 注入し、検出は紫外外部吸光光度計（測定波長 270nm）で行った。

結果

(1) HPLC 測定条件

PE は、メチルパラベン(MPABA)と保持時間が接近していることが知られている²⁾。そこで PE と MPABA の分離及び他のパラベンとの保持時間の関係を、ODS 系カラムにおける移動相の違いについて検討を行った。パラベン類に関する HPLC 分析法の報告は多く³⁻⁵⁾、これらの移動相を参考に、水、アセトニトリル、メタノール、塩化トリメチルアンモニウムおよびリン酸緩衝液等の配合による保持時間への影響を測定した。その結果、水／アセトニトリル(7:3)を移動相として用いた場合、PE と MPABA の分離がよく、保持時間が長いブチルパラベンが約 36 分と比較的短い結果が得られた。また、検出は PE の吸収極大の 270nm によることとした。本条件による PE の理論段数は 11900、シンメトリー係数は 1.1、MPABA の理論段数は 11400、シンメトリー係数は 1.2 で、PE と MPABA の分離度は 4 であった。標準液 50ng 及び 100ng 相当量の 6 回繰り返し注入によるピーク面積の変動係数は 1 % 以下であった。

本条件における PE の定性下限値を S/N 比 3.3 以上で求めた結果 2ng で、定量下限値を S/N 比 10 以上で求めた結果 10ng 以上であった。

(2)検量線の作成

10ng ~ 40μg の範囲で PE のピーク面積と PE 量 (ng)より検量線を作成した結果、相関係数 0.999 以上で直線性が認められた。3 回検量線を作製した結果、傾き 581.79 ± 1.45 Y 切片・6700 ± 957 と変動は小さかった。なお、定量には Y=581.55X-7514.5 の回帰式を

用いた。

(2)試料溶液の調製方法の検討

化粧水はメタノールにより澄明に溶解したことから、試料約 1g を精密に量り取り、メタノールで正確に 50mL とし試料溶液とした。クリームは、メタノールでは不溶分が認められた。水／メタノール(1:1)では白濁状態で分散した。そこで、水、水／メタノール(3:1)、水／メタノール(1:1)、水／メタノール(1:3)及びメタノールによる懸濁での比較を 1%PE 配合クリームについて行った。その結果、表 2 に示したようにメタノール量が増えるに従って若干増加する傾向が見られた。ただし、

水／メタノール(1:3)及びメタノールでは不溶分を認めた。そこで、溶解液を水／メタノール(1:1)とする方法とメタノール抽出による方法について試験を行った。次に、材質がナイロン、ポリプロピレン、ポリビニリデンフロリド、ポリエーテルスルホン、ポリテトラフロロエチレン及びポリプロピレン、ポリテトラフロロエチレンあるいはナイロンとガラスフィルターの 2 重構造の 8 種類のメンブランフィルターについて吸着の

表 2 溶解液の違いによる PE の定量結果

溶解液	PE 量 mg/g
水	9.54
水／メタノール(3:1)	9.68
水／メタノール(1:1)	9.74
水／メタノール(1:3)	9.81
メタノール	9.90

有無をみた結果、PE 標準液についてはいずれのフィルターでも最初のろ液 0.5mL から PE 量に変動を認めなかつた。試料溶液では、最初のろ液 0.5mL では PE 量の低いものが認められたが、いずれのフィルターもその倍の 1mL あるいは 2mL を捨てれば吸着は無視できることがわかった。

(3)試験結果

1%PE 配合化粧水及び水／メタノール(1:1)に分散する方法による 0.1% 及び 1%PE 配合クリームより得られたクロマトグラムを図 1 に、また各 6 回試験を行った結果を表 3 に示した。

まとめ

化粧品に防腐剤等として配合される PE の定量方法について試作のローションおよびクリームについて検討を行った。まず、PE は防腐目的で頻用されている MPABA と HPLC の保持時間が接近していることから、HPLC 溶離条件を検討し、水／アセトニトリル(7:3)で

表3 各試料6回繰り返し試験結果

試料	化粧水		クリーム		メタノール抽出	
	0.1%PE配合	1%PE配合	0.1%PE配合	1%PE配合	0.1%PE配合	1%PE配合
平均値(%)	0.1052	1.0149	0.1055	0.9994	0.1037	0.9794
S.D.	0.0002	0.0040	0.0003	0.0059	0.0009	0.0083
CV値	0.2249	0.3960	0.3102	0.5931	0.8911	0.8468

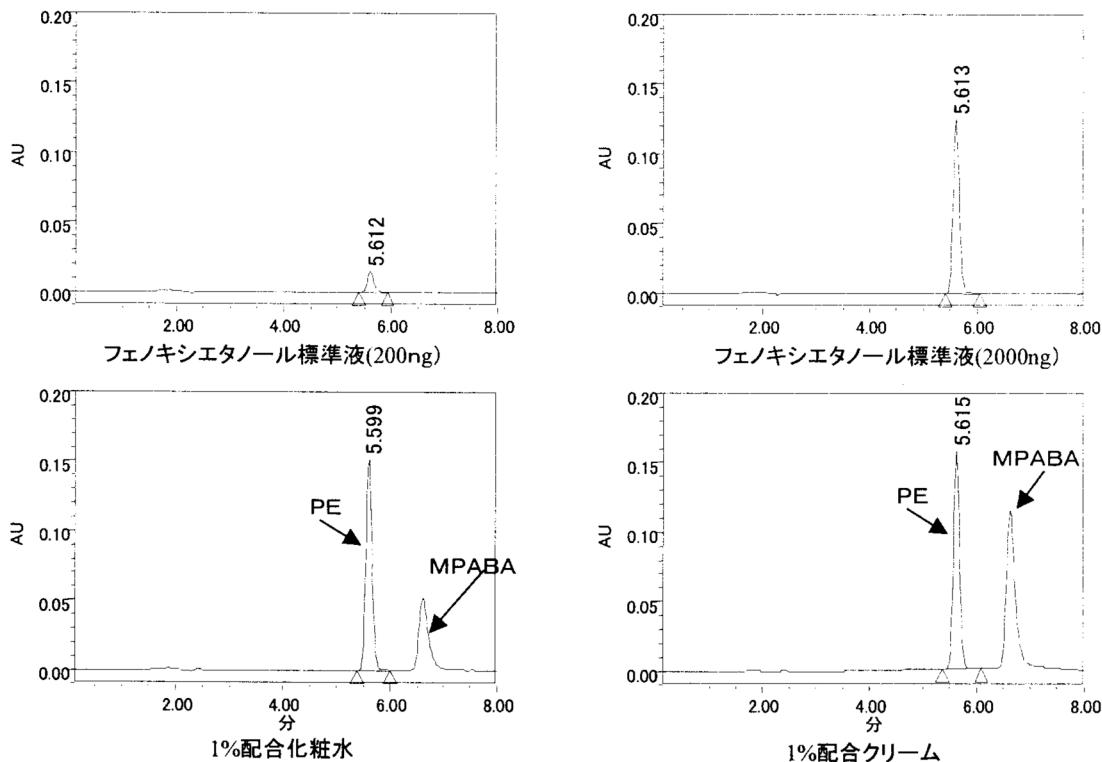


図1 フェノキシエタノール標準品及び化粧品のクロマトグラム

分離度が高く、他のパラベン類の測定でも長時間を要しない結果が得られた。試料溶液の調製では、ローションはメタノールで希釈するだけで測定が可能であったが、クリームは、メタノールのみでは不溶分が認められたことから水／メタノールの溶解液あるいはメタノールで抽出する方法について検討を行った。その結果、水／メタノール(1:1)の溶解液で、99%以上の回収率が得られ、メタノール抽出でも98%以上の回収率が得られた。また、各6回繰り返しの結果も1%以下と良好な結果が得られた。クリームの配合成分により調整方法を選択することが可能と思われる。

(平成14年7月24日受理)

文献

1) 平成12年9月厚生省告示第330号および厚生省

告示331号

- 2) 前田有美恵, 小和田宏, 山本政利, 佐野智子, 増井俊夫: フェノキシエタノールを含有する化粧品中のパラベン類の分析, 静岡県環境衛生センター報告, 32, 33-36(1989)
- 3) 日本薬学会編, 衛生試験法・注解, 658-660, 金原出版, 東京(2000)
- 4) 斎藤恵美子, 木嶋敬二, 武田明治: 高速液体クロマトグラフィーによるアイライナー中のパラオキシ安息香酸エステル類の定量, 衛生試験所報告, 106, 97-101(1988)
- 5) 三上栄一, 藤井裕子, 河村典久, 早川順子: アイライナー中に含まれるパラオキシ安息香酸エステル類の定量及びその実態調査, 愛知衛所報, 43, 29-33(1993)