

短 報

化粧品中のサリチル酸オクチルの高速液体クロマトグラフィーによる分析

松阪綾子¹, 伊藤理恵², 佐藤信夫², 土井佳代¹

The Analytical Method for Octyl Salicylate Determination in Cosmetics with High Performance Liquid Chromatography

Ayako MATSUZAKA, Rie ITO,
Nobuo SATO and Kayo DOI

はじめに

サリチル酸オクチル (Octyl Salicylate, OS) は紫外線吸収剤として広く用いられており, その配合量は薬事法上, 全ての化粧品100g中の最大配合量が1.0g以下とされてきた。しかし平成13年3月30日より化粧品基準が改定¹⁾され, 紫外線吸収剤として用いられる最大配合量が緩和された。このことからOSがより多くの化粧品に配合される可能性が考えられた。OSの分析法としては高速液体クロマトグラフィー (HPLC) による化粧品中の紫外線吸収剤の一斉分析法²⁾がある。この分析法は定性に関する検討が主であり, 定量性についての検討が不十分であると思われた。そこで, 今回HPLCを用いて化粧水及びクリーム中のOSの定量方法について検討を行ったところ, 良好な結果が得られたので報告する。

方 法

(1) 試薬及び器材

標準品として用いたOSはシグマ・アルドリッチ, サリチル酸メチルは東京化成工業, 移動相に用いるアセトニトリルは和光純薬のHPLC用を用い, その他の試薬は全て和光純薬の特級品を用いた。また, 標準品として用いたOSの純度はHPLCを用いて99%以上であることを確認した。シリンジフィルターはDISMIC-13HP (孔径0.45

μm , アドバンテック) 及びGHPアクロディスク (孔径0.45 μm , ゲルマン) を用いた。

(2) 試料溶液及び標準溶液の調製

0.1%及び1.0%OS配合の化粧水及びクリームを試料として用いた。試料約0.1g及び1.0gを精密に量り, アセトニトリル10mlを加え, クリームについては超音波浴を用いて分散させた後, アセトニトリルで全量20mlとした。これらの溶液を各々シリンジフィルターでろ過し, 試料溶液とした。標準溶液はOS約0.01gを精密に量り, アセトニトリルを加えて溶かし正確に100mlとする。この溶液をアセトニトリルで正確に希釈し, 0.1~750 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度のOS標準溶液を調製した。

(3) HPLC装置

HPLCはアジレント社製1100シリーズを用いた。カラムにTSKgel ODS-80Ts 4.6 \times 150mm (5 μm , 東ソー製) を用い, 測定波長190~400nm (検出波長306nm), カラム温度40 $^{\circ}\text{C}$, 流量1.0ml/min, 注入量10 μl とした。

(4) HPLCによる定量範囲の直線性及び再現性

0.1~750 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度に調製したOS標準溶液10 μl をHPLCに注入し, ピーク面積を求め, そのピーク面積より定量範囲の直線性を確認した。また5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 及び50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の標準溶液を各々6回繰り返し注入し, その再現性を求めた。定量試験では1~110 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の標準溶液を調製し, 検量線は得られたピーク面積値より絶対検量線法により作成した。

結果及び考察

(1) HPLCによる検討

移動相としてアセトニトリル/水混液(8:2)を用いたところ, OS標準溶液では保持時間12.1分付近にピークを認め, その紫外部吸収スペクトルは図1に示したとおり, 205nm, 237nm及び306nmに極大吸収が認められた。また, 試料溶液についても図2に示したとおり, 約12.1分にピークが認められた。Dinunzio²⁾らの方法は測定に30~40分を要するが, 本法は測定時間が半分以下に短縮され, ピークの分離も良好であった。本条件の検出限界はS/N比3で約0.7ng, 定量限界はS/N比10で約2.3ng, 理論段数は13000以上, シンメトリー係数は1.16であった。

(2) 抽出溶媒の検討

メタノール, エタノール, アセトニトリル及びアセトン溶媒として, OS標準溶液の紫外部吸収スペクトルを測定した。図1に示したとおり, アセトンでは紫外部吸収スペクトルが測定できなかった。また, サリチル酸化合物であるサリチル酸フェニルは, アルコール類とエステル交換反応し, 副生成物のサリチル酸エステル類を生ずることが知られている³⁾。このためOSについても同様

1 神奈川県衛生研究所 理化学部
〒253-0087 茅ヶ崎市下町屋1-3-1

2 (株) コーセイ研究本部

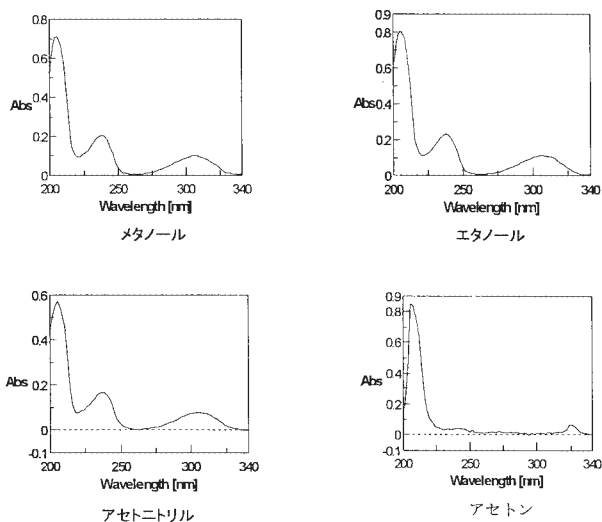


図1 各溶媒に溶解したOS標準溶液の紫外外部吸収スペクトル

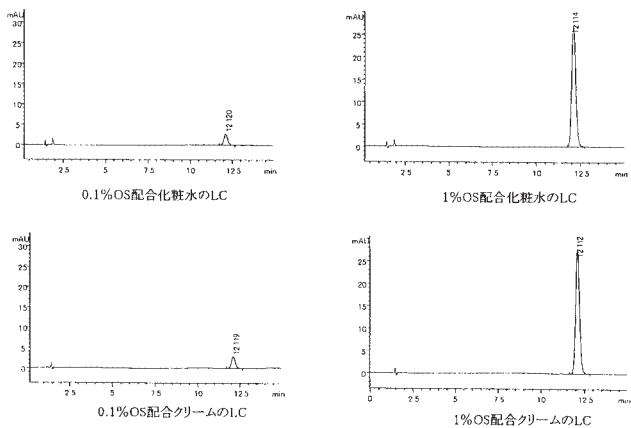


図2 OS配合化粧水及びクリームのHPLCクロマトグラフ

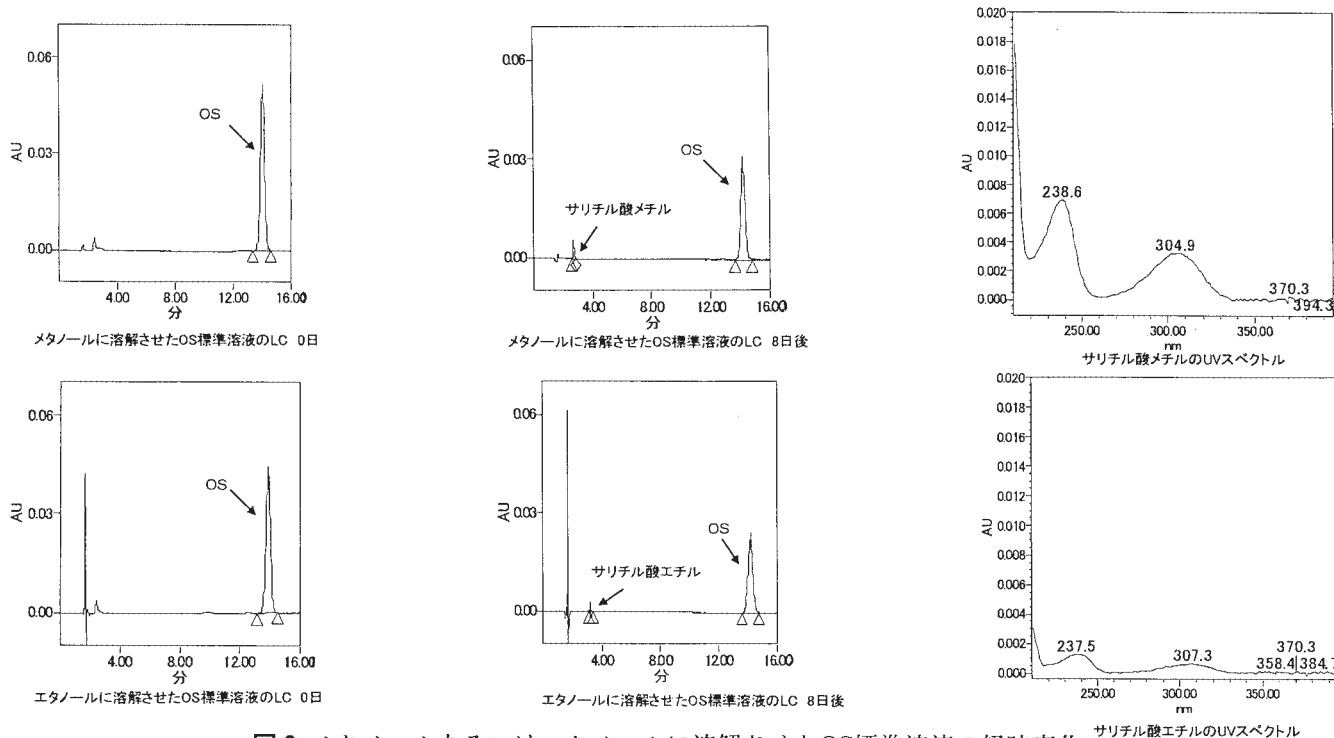


図3 メタノールあるいはエタノールに溶解させたOS標準溶液の経時変化

に副生成物を生ずることが予測された。そこでメタノール、エタノール及びアセトニトリルを用い、各溶媒にOSを溶解させ、40℃の恒温水槽に放置し、0,1,5及び8日後のOS標準溶液中に生成されるサリチル酸エステル類の生成量を調べた。表1及び図3に示したとおり、メタノール及びエタノールを溶媒とした場合、サリチル酸エステル類であるサリチル酸メチル及びサリチル酸エチルの生成が認められた。以上の結果から、メタノール、エタノール及びアセトンは抽出溶媒に適さないと考えられた。従って、抽出溶媒としてアセトニトリルを選択した。次に試料約1.0gを精密に量り、アセトニトリル及び移動相を抽出溶媒として試料溶液を調製した。表2に示したとおり、化粧水はいずれの抽出溶媒を用いても、100%の回収率が得られ、変動係数は0.3%以下であった。一方、クリームはアセトニトリルを抽出溶媒とした場合は98%以上の回収率が得られ、変動係数は0.4%以下であった。しかし、移動相を抽出溶媒とした場合は96~98%程度の回収率であり、変動係数は0.5%以下であった。以上の結果から、化粧水はいずれの抽出溶媒によっても差を生じないが、クリームではアセトニトリル抽出が適していると考えられた。ただし試料採取量が1.0gの場合、化粧水はやや透明度を欠き、クリームは浮遊物を生じ白濁した。そこで、試料採取量を0.1gとし、アセトニトリルで抽出したところ、化粧水は澄明に溶解し、クリームは浮遊物を生じず白濁して分散した。また、いずれの試料溶液においても回収率は向上し、変動係数も0.5%以下と良好であった。これらのことから、定量は試料0.1gを採取し、アセトニト

リルを抽出溶媒として用いることとした。

表1 各溶媒によるOSからのサリチル酸エステルの生成

溶解溶媒	生成成分	生成量(%)		
		1日	5日	8日
メタノール	サリチル酸メチル	0.4	2.0	3.0
エタノール	サリチル酸エチル	0.0	0.6	1.0
アセトニトリル	不検出	-	-	-

(3) 添加回収試験の検討

添加回収試験の結果,表3に示したとおり,いずれの試料溶液においても100%の回収率が得られ,変動係数も0.6%以下であった。従って,化粧水及びクリームに対する本抽出条件は適切であり,抽出時のクリーム試料溶液の白濁は,OSの回収率にはほとんど影響をしないことがわかった。

(4) HPLCによる定量範囲の直線性,再現性及び試料の分析結果

OSの定量限界をS/N比10で求めた結果,2.3ngであったため,注入量として4.0ng~7.5?gの範囲で検量線を作成したところ,良好な直線性を示し,相関係数は0.999以上であった。3回検量線を作成した結果,傾き 8.36 ± 0.06 ,Y切片 0.72 ± 3.2 と良好な結果を得た。また標準溶液の繰り返し注入時における相対標準偏差も0.4%以下と良好であった。各試料におけるOSの含有量についてHPLCにより3回測定した結果,表2に示すとおり良好な結果を得た。

まとめ

HPLCによる化粧品中のOSの分析法を検討した。OSの抽出溶媒はアセトニトリルを用いることにより良好な結果を得た。HPLCは試料0.1gを採取し,移動相としてアセトニトリル/水混液(8:2)を用いることにより良好な結果を得た。本法は(Dinunzioらの方法2)と比較し,分析時間は半分以下に短縮できた。添加回収試験では,HPLCによる6回測定の結果,100%の回収率が得られ,変動係数は0.6%以下と良好であった。また,定量範囲は注入量として4.0ng~7.5?gの範囲で検量線を作成したところ,良好な直線性を示し,相関係数は0.999以上であった。

(平成18年7月20日受理)

文献

- 1) 化粧品基準の一部改正について,厚生労働省医薬局長医薬発第306号,平成13年3月30日
- 2) J.E.Dinunzio and R.R.GADDE : Determination of sunscreen compounds in topical sunscreen products, J. Chromatogr., **519**, 117-124(1990)
- 3) 森謙一郎,寺島潔,中村義昭,大貫奈緒美,横山敏郎,伊藤弘一:化粧品中のサリチル酸フェニルの分析法,東京衛研年報,**53**,65-67(2002)

表2 OS配合化粧水及びクリームの定量試験結果

試料	化粧水							
	アセトニトリル抽出				移動相抽出			
	0.1%OS配合		1.0%OS配合		0.1%OS配合		1.0%OS配合	
採取量(g)	0.1	1.0	0.1	1.0	0.1	1.0	0.1	1.0
平均値(%)	0.0993	0.0983	1.0190	1.0070	0.0991	0.0983	1.0187	1.0106
S.D	0.0028	0.1330	0.0188	0.0785	0.0010	0.1053	0.0299	0.2975
RSD(%)	0.2828	0.1360	0.1846	0.0779	0.1052	0.1070	0.2938	0.2943

n=3

試料	クリーム							
	アセトニトリル抽出				移動相抽出			
	0.1%OS配合		1.0%OS配合		0.1%OS配合		1.0%OS配合	
採取量(g)	0.1	1.0	0.1	1.0	0.1	1.0	0.1	1.0
平均値(%)	0.1023	0.0999	1.0052	0.9829	0.0971	0.0963	0.9843	0.9764
S.D	0.0050	0.3587	0.0311	0.2146	0.0033	0.3317	0.0464	0.4664
RSD(%)	0.4935	0.3589	0.3097	0.2180	0.3447	0.3443	0.4715	0.4776

n=3

表3 添加回収試験結果

試料	化粧水		クリーム	
	アセトニトリル抽出		アセトニトリル抽出	
	0.1%OS標準溶液添加	1.0%OS標準溶液添加	0.1%OS標準溶液添加	1.0%OS標準溶液添加
平均値(%)	100.33	100.36	100.51	100.76
S.D	0.51	0.32	0.61	0.26
RSD(%)	0.50	0.32	0.61	0.26

n=6