

HPLC-ECD法による医薬部外品中の トリエタノールアミンの分析

横山 敏郎*, 森 謙一郎*, 寺島 潔*,
中村 義昭*, 大貫 奈穂美*, 伊藤 弘一*

Determination of Triethanolamine in Quasi-drugs by HPLC-ECD

Toshiro YOKOYAMA*, Ken'ichiro MORI*, Kiyoshi TERAJIMA*, Yoshiaki NAKAMURA*
Nahomi OHNUKI* and Koichi ITO*

The method for determination of triethanolamine (TEA) in quasi-drugs by HPLC-ECD was improved. TEA is widely used as an ingredient in quasi-drugs and cosmetics. Determination of TEA by GC has some disadvantages, lacking of sensitivity and reproductivity. For HPLC analysis, UV-detector has not been utilized, because TEA has no specific UV-absorption.

The ECD-detector was Coulochem 5200A, pH6.8 of phosphate-buffer-ethanol(85:15), 0.5mL/min as mobile phase. The electric potential of ECD was 600mV for the first electrode and 900mV for the second electrode. By this method, 50ng/mL was the determination limit and high-level reproductivity was achieved. This was the best TEA detection method we have tested.

Keywords: トリエタノールアミン triethanolamine, 医薬部外品 quasi-drugs, 電気化学検出器 electrochemical detector, 高速液体クロマトグラフィー HPLC, 表示成分 indicative ingredients

緒言

トリエタノールアミン (TEA) は化粧品や医薬品に保湿剤や油脂の溶剤、pH調整剤などの目的で汎用されているほか、反応性に富んでいるため合成洗剤や農薬、繊維加工など広範囲に使用されている。

2001年4月から、化粧品については配合成分の規制が緩和されるとともに配合成分のすべてを表示することになったので、製造・輸入業者の責任とともに消費者自身の購入意識の向上も求められるようになった。一方、医薬部外品は規制緩和の対象外であるため、従来通り表示指定成分が決められており、皮膚刺激性の問題があるため TEA も製品への表示が義務付けられている。

TEA は紫外外部吸収がないため汎用されている紫外外部検出器付き高速液体クロマトグラフィー (HPLC-UV) では検出できない。これまで筆者らは、化粧品や医薬部外品中の TEA を他の汎用成分とともに水素炎検出器付きガスクロマトグラフィー (GC-FID) により同時一斉分析¹⁾を行ってきた。しかし、GC-FID法では TEA は他の成分に比べて極端に感度が低く、繰り返し測定をしているとピークの再現性が悪くなる等の問題点があった。

そこで、検出感度も選択性も高い電気化学検出器付き高速液体クロマトグラフィー (HPLC-ECD) による TEA の分析を

検討し、良好な結果を得たので報告する。

実験方法

1. 試薬

TEA, リン酸二ナトリウム (Na_2HPO_4), リン酸二水素カリウム (KH_2PO_4), メタノール及びテトラヒドロフラン (THF) は、和光純薬工業 (株) 製試薬特級を用いた。

2. 標準溶液の作成

TEA 10mg を精秤し、pH6.8 リン酸塩緩衝液 (1/15 mol/L- Na_2HPO_4 100mL + 1/15 mol/L KH_2PO_4 100mL) で溶解後 100mL にメスアップして 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の標準原液を作成した。この標準原液 25mL 及び 5mL をとり、緩衝液でそれぞれ 50mL に希釈して 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 及び 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の標準溶液を作成した。1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 標準溶液については、50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 標準溶液 1mL をとり、緩衝液で 50mL に希釈してを作成し、0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 標準溶液は、10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 標準溶液 1mL を緩衝液で 100mL に希釈して作製した。

3. 試料溶液の作成

試料 (医薬部外品) 1.0 g を 100mL ビーカーに精秤し、水 50mL を加えて超音波浴に 10 分間かけて溶解した。これを 1,000mL メスフラスコに移し、水を加えて 1,000mL とした。水で溶けにくいものは、メタノールまたは THF を 50mL 加えて

* 東京都立衛生研究所微生物部ウイルス研究科 169-0073 東京都新宿区百人町3-24-1

* The Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health
3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073 Japan

溶解した後、水を加えて1,000mLとした。この液を30mL採り、高速遠心器で15,000rpm、10分間遠心分離した。この水相部分2.5mLを正確に採り、移動相を加えて25mLとし試料溶液とした。

4. 分析条件

装置: 高速液体クロマトグラフLC10-AT(島津製作所製), 電気化学検出器 Coulochem 5200A, 5010型標準アナリティカルセル(ESA社製), カラム: TSK-GEL ODS-80Ts(東ソ - 製) 4.6mm I.D. × 150mm 40, 移動相: pH6.8リン酸塩緩衝液・メタノール(85:15), 流量: 0.5 mL/min, 注入量: 10 μ L

結果及び考察

1. 分析条件の検討

今回は電気化学検出器(ECD)によるTEAの分析条件の検討を行うため、カラムは最も汎用されている逆相系のオクタデシルシリル化シリカゲルカラム(ODS)を用いることにした。移動相はリン酸塩緩衝液とメタノールの混合液を用いてTEAの分離・検出条件を検討した。

移動相の緩衝液は、TEAがアルカリ性であることから、酸性側では検出感が悪くなり、アルカリ性になるとカラムを早期に劣化させる恐れがあるためpH6.8リン酸塩緩衝液を用いた。

次にECDの検出器電位の設定について検討した。検出器として用いたCoulochem 5200A(ESA社製)は独立した反応電極を2個有するクーロメトリック検出器であり、電極表面での反応が100%になることからクロマトグラムの面積が反応量(クーロン量)となる。目的物質の反応が100%となるよう最適電位を決めるために検出器電極電位と反応電流をプロットしてC-V曲線を作成した。TEA100ng/mLを用いて作成したC-V曲線をFig.1に示した。

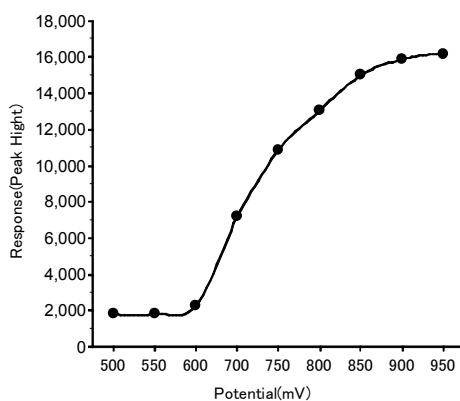


Fig.1. C-V Curve of Triethanolamine

TEAの酸化反応のみをとらえるため、スクリーンモードでの最適電位を以下の実験によって求めた。まず、第1電極(E1)の電位を0mVとし、第2電極(E2)の電位を300mVから900mVまで50~100mVステップで変化させて、各電位におけるピーク高(電流)をプロットした。検出器の選択性を高めるため、E1とE2の電位差はできるだけ小さくなるように

設定した。その結果、E1はTEAの酸化反応がほとんど起こらない600mVとし、E2はTEAの酸化反応が最大となる900mVとすることが最適であることが判明した。

2. 検量線の作成

検量線は、0.1 μ g/mL, 1 μ g/mL, 10 μ g/mL, 50 μ g/mL, 100 μ g/mL, 200 μ g/mL, 500 μ g/mL, 1,000 μ g/mLの8点で作成した。(Fig.2-1)

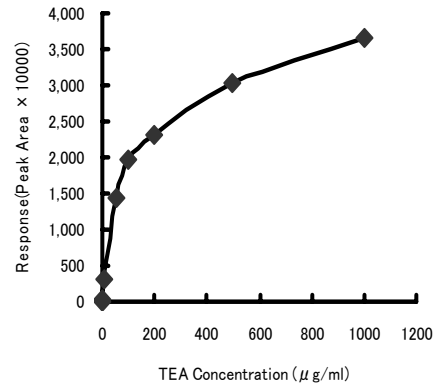


Fig.2-1. Calibration Curve of Triethanolamine (0.1 μ g/mL ~ 1,000 μ g/mL)

その結果、Fig.2-2に示すように0.1 μ g/mLから50 μ g/mLまではほぼ原点を通る直線性を示し、相関係数も0.9995と良好な結果となった。

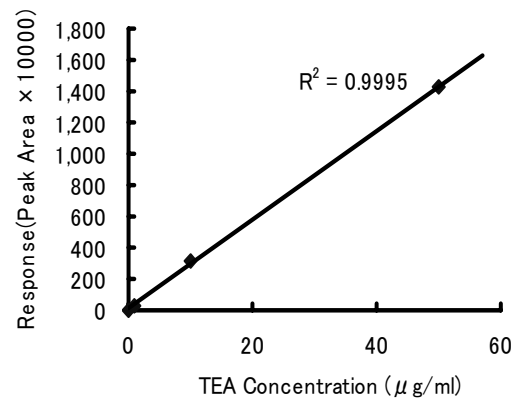


Fig.2-2. Calibration Curve of Triethanolamine (0.1 μ g/mL ~ 50 μ g/mL)

3. 添加回収実験

添加回収実験は、クリーム、日焼け止め乳液、シェービングフォームについて行った。Table 1は各々についての添加回収実験の結果であるが、ほぼ良好な結果を得ることができた。クリーム及び日焼け止め乳液の場合、添加回収率に若干のばらつきがみられたが、試料の粘度が高いため、添加時の混合に不十分な部分があったか、抽出時におけるTEAの水相移行が不完全であったためと推察された。

Table 1. Recovery of Triethanolamine(TEA) Added to Three kinds of Quasi-Drugs

Sample	Amount of TEA (mg)	Recovery (%) [*]	RSD(%) [*]
Skin Cream	5	99.2	7.59
Sun Screen Milk	5	114.7	4.09
Shaving Foam	40	100.1	6.00

*n=3

4. 実試料の分析

本法を用いて市販のクリーム、日焼け止め乳液及びシェービングフォームについて試験をおこなった結果、Fig.3に示したように妨害ピークもみられず、選択性の高い良好な結果を得ることができた。

ま と め

筆者らがこれまで医薬部外品や化粧品の試験検査に用いていたGC-FID法によるTEAの定量限界は、100 µg/mL程度であったが、今回開発したHPLC-ECD法は、50 ng/mLという高い検出限界値を示した。

医薬部外品は夾雑物が多く、精製したTEA用試料溶液を作製することは非常に困難だが、試料を大量の水で希釈し、

高い検出感度を利用することによって医薬部外品中のTEAの定量も可能となった。また、希薄な試料溶液を用いるため、検出器の汚れを最小限に抑えることができ、選択性・再現性も良好なことから、本法は実用分析法として優れた方法である。

文 献

- 1) 横山敏郎, 森謙一郎, 中村義昭, 他: 東京衛研年報, 48, 96-100, 1997.
- 2) 宮川弘之, 井部明広, 田端節子, 他: 東京衛研年報, 51, 160-165, 2000.
- 3) 宮川弘之, 井部明広, 田端節子, 他: 東京衛研年報, 52, 66-72, 2001.
- 4) 関根 茂 他編: 化粧品原料辞典, 1991, 日光ケミカルズ(株) 他, 東京
- 5) 日本公定書協会編: 化粧品原料基準, 第二版注解, 1984, 薬事日報社, 東京.
- 6) 厚生省薬務局審査課監修: 医薬部外品原料規格, 1991, 薬事日報社, 東京.

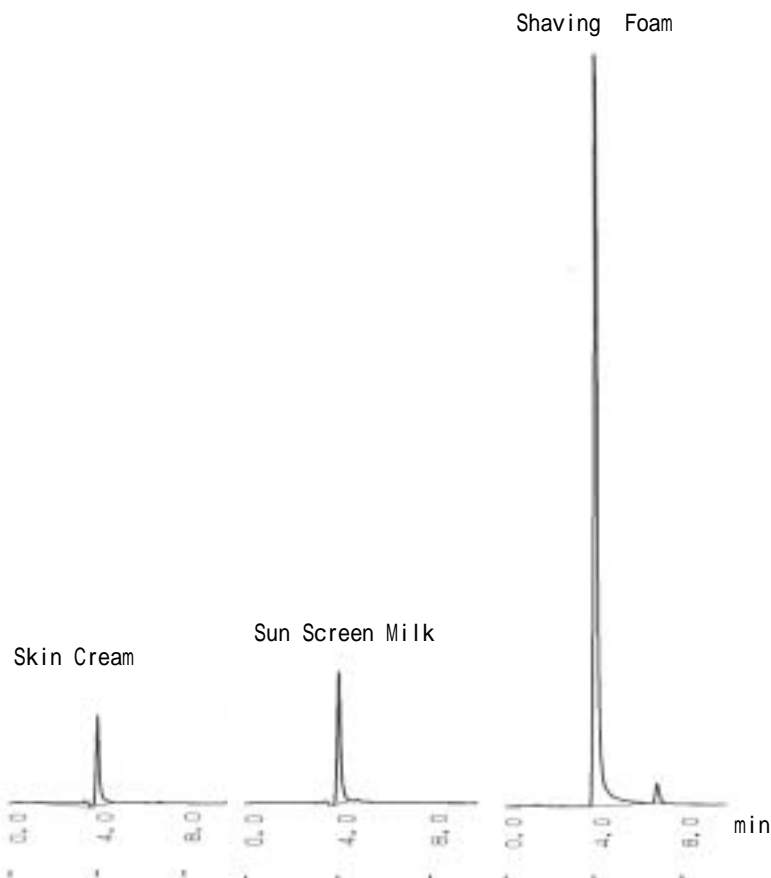


Fig.3. HPLC-ECD Chromatograms of Three kinds of Quasi-drugs
The retention time of Triethanolamine : 4.0min