

化粧品中のサリチル酸フェニルの分析法

森 謙一郎*, 寺 島 潔*, 中 村 義 昭*,
大 貫 奈穂美*, 横 山 敏 郎*, 伊 藤 弘 一*

Determination of Phenyl Salicylate in Cosmetics

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

Part of the, Drugs, Cosmetics and Medical Instruments Act was revised on April 1st. 2001. Formerly, phenyl salicylate (PS) had been allowed at a maximum proportion of 1.0% in cleansing preparations, 0.2% for hair care, treatment and makeup preparations, and condemned for eye liner, lipstick, inner mouth preparations, and bathing preparations. Since revision of the law, however, PS can be used at a maximum proportion of 1.0% in any cosmetics. We have not found PS in all cosmetics, but the amount of PS in cosmetics will likely increase hereafter. The method for determination of PS in cosmetics have not been reported. In this study, two different methods for determination of PS in cosmetics using HPLC and GC were developed.

A cosmetic sample of 1.0-2.0g was weighed and dissolved with tetrahydrofuran up to a volume of 50.0ml. Some of the solution was then injected for HPLC or GC. The conditions for HPLC were ODS column, acetonitril-water (60:40) as mobile phase, 310 nm as detection. The conditions for GC were DB-5 (0.53 mm i.d. × 15 m, 145) as column, 160 as injection temp., FID detection. The detection limit of PS was 0.01% for HPLC, and 0.1% for GC in cosmetic samples.

Keywords: 化粧品 cosmetics, サリチル酸フェニル phenyl salicylate, 高速液体クロマトグラフィー HPLC, ガスクロマトグラフィー GC

緒 言

平成13年4月1日より化粧品配合成分の基準量を規定した薬事法が改定¹⁾された。サリチル酸フェニル(PS)は従来、化粧品の防腐殺菌剤、または紫外線吸収剤として化粧品原料基準²⁾に記載されており、配合量は清浄用化粧品で1.0%以下、頭髮、基礎、メイクアップ、芳香、日焼け・日焼け止め、爪用の各化粧品で0.2%以下、そしてアイライナー及び、口唇、口腔、入浴用の各化粧品で使用禁止³⁾とされてきた。しかしながら法改定後はすべての化粧品で1.0%までは配合が認められ、PSは大幅な規制緩和がなされた。当研究科ではPSの化粧品への配合例は今まで確認していないが、今後この緩和策により多くの化粧品に配合される可能性が出てきたといえる。PS分析法は液体クロマトグラフィー(HPLC)によるうがい薬の分析報告²⁾があるが、化粧品の分析は化粧品原料基準³⁾のヨウ素滴定法のみであることから今回検討することにした。化粧品の行政検査においては、分析値に万全を期すためには2種類以上の異なる検査法による定量分析法が必要と考える。そこでHPLC及びガスクロマトグラフィー(GC)による分析を検討した。

実 験 の 部

1. 試薬及び装置

〔試薬〕PS標準溶液：PS(和光純薬工業(株)製試薬特級品)100.0mgをTHFに溶かして100.0mLとした。テトラヒドロフラン(THF)、アセトニトリル：和光純薬工業(株)製試薬特級品を用いた。

〔装置〕HPLC：日本分光(株)製Gulliver。GC：(株)島津製作所製GC-17A。GCMS：(株)島津製作所製GCMS-QP9050A。

2. 分析操作

(1) 試験溶液の調製 試料約1.0-2.0gを精密に秤り、THF約40mLを加え、超音波浴を用いて分散または溶解させたのち、THFで全量を50.0mLとし、不溶物があれば、0.45μmのメンブランフィルターを用いてろ過して試験溶液とした。

(2) HPLCによる定量 試験溶液10μLについてHPLCを行った。HPLCの測定条件はFig. 2に示した。得られたクロマトグラムピーク面積を測定し、別に作成した検量線から試験溶液中のPS濃度A(μg/mL)を求め、試料100g中の含有量を算出した。

* 東京都立衛生研究所理化学部微量分析研究科 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

検量線の作成：PS標準溶液をTHFで希釈し，1 mL あたり 10.0, 20.0, 40.0, 60.0 および 80.0 μg を含む標準系列をつくり，各 10 μL を高速液体クロマトグラフに注入し，得られたそれぞれのピーク面積と濃度から検量線を作成した．

$$\text{PS含有量(mg)} = \frac{A \times 50}{\text{試料採取量(g)}} \times \frac{1}{1000} \times 100$$

(3) GCによる定量 試験溶液 3 μL についてGCを行った．GCの測定条件はFig. 3 に示した．得られたクロマトグラムのピーク面積を測定し，別に作成した検量線から試験溶液中のPS濃度 A ($\mu\text{g} / \text{mL}$) を求め，試料 100 g 中の含有量を算出した．

検量線の作成：PS標準溶液をTHFで希釈し，1 mL 当たり 40.0, 60.0, 80.0, 100.0 および 120.0 μg を含む標準系列をつくり，各 3 μL をGCに注入し，得られたそれぞれのピーク面積と濃度から検量線を作成した．計算式はHPLCによる定量の項に同じ．

結果及び考察

1. 抽出溶媒の検討

PSはアルコール類^{2,4)}，アミン類⁵⁾とエステル交換反応し，副生成物を生ずることが知られている．そこで化粧品中のPS抽出に際して使用可能な溶媒を検討するため，各種溶媒の PS 20 ppm 溶液を作成し，PSの回収率を調べた．それぞれ 2時間加熱環流して分析値を比較し，その結果をTable 1

Table 1. The Stability of Phenyl Salicylate (PS) in Five Refluxing Solvents*

Solvent	Boiling Point()	Recovery of PS (%)	By-product (%)
Tetrahydrofuran	66	100	-
Acetonitrile	81.6	100	-
Acetone	56.5	100	-
Ethanol	78.5	49	Ethyl Salicylate (37)
Methanol	64.7	18	Methyl Salicylate (57)

*: PS 20ppm solution, two hours refluxing

に示したが，PSの回収率は THF，アセトニトリルおよびアセトンで良好であり，エタノールおよびメタノールで低いことがわかった．これらの溶媒の中ではTHFが最も多様な剤型の化粧品をよく溶解することができ，またHPLCにおいて紫外部に吸収が無いことから，THFを抽出溶媒とした．

2. HPLCによるPSの分析法

(1) 検出波長 HPLCの紫外外部吸収曲線をFig. 1 に示したが，242 nm に π π^* 転移に基づく，THF中分子吸光係数 ϵ 11,700 の吸収と，310 nm に n π^* 転移に基づく ϵ 4,900 の吸収がある．310 nmの分子吸光係数は243nmの約 42% であるが，検出波長はクロマトグラム上他成分との分離の良い 310 nm とした．

(2) HPLCカラム及び移動相の検討 カラムはInertsil

ODS-80A (粒径 5 μm , 4.6 mm i.d. \times 150 mm , ジーエルサイエンス社製)を用いた．TSK-GEL ODS-80Ts(東ソー(株)製)及び CAPCELL PAK C18 UG 120((株) 資生堂製)も使用可能であった．本条件で通常の化粧品配合成分との分離を検討したところ，*n*-ブチルパラベン，イソブチルパラベン，トリクロサンそしてサリチル酸メチル等が近傍に出現したがPSのピークを妨害しなかった．PSを 0.3 %添加したスキンクリーム中のHPLCクロマトグラムをFig. 2 に示した．PSの定量限界は試料中 0.01 %であり，検量線は 2.0%まで良好な直線性を得た．

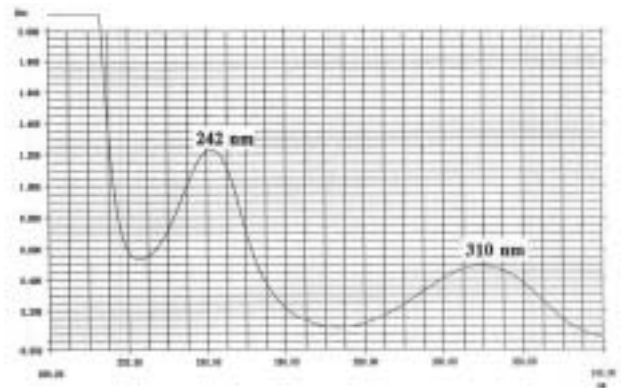


Fig. 1. UV Spectrum of Phenyl Salicylate

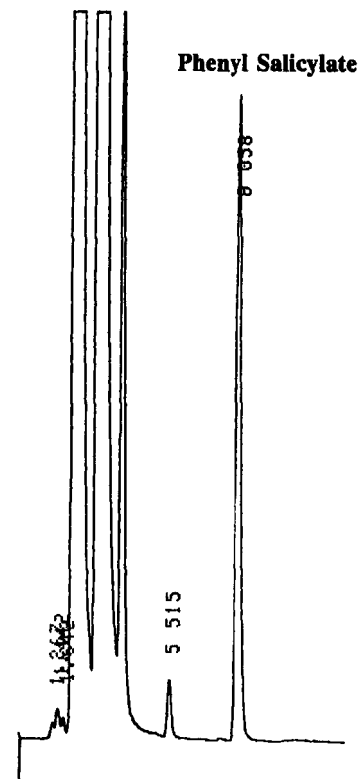


Fig.2. HPLC Chromatogram of Phenyl Salicylate Added (0.3%) to Commercial Skin Cream

column: Inertsil ODS-80A (4.6 mm i.d. \times 150 mm), column temp.:40 , mobil phase: acetonitril - water (6:4), flow rate: 1.0 mL / min, detection: 310 nm

3. GC による PS の分析法

(1) GCカラムの検討 カラムは内径 0.53mm, 長さ 15 m のワイドポアカラムについて, 無極性のDB-1, 微極性のDB-5, 中極性のDB-17, 強極性のDB-WAXについて検討した. その結果いずれのカラムも使用でき, DB-1 はカラム温度 135, DB-5は145, DB-17は155, そしてDB-WAXは165 で保持時間 8 - 9 分にピークを得た. PSピークの形状及び溶媒ピークからの分離を比較することで本法ではDB-5 を選択した. 実試料のPS分析において, 妨害物質によりGC分析が不能の場合は, 極性の異なるカラムに交換することで良好な結果を得ることも考えられる. PSを0.3% 添加したスキンクリームをGCクロマトグラムをFig. 3 に示した. PSの定量限界は試料中 0.1% であり, 検量線は 2.0% まで良好な直線性を得た.

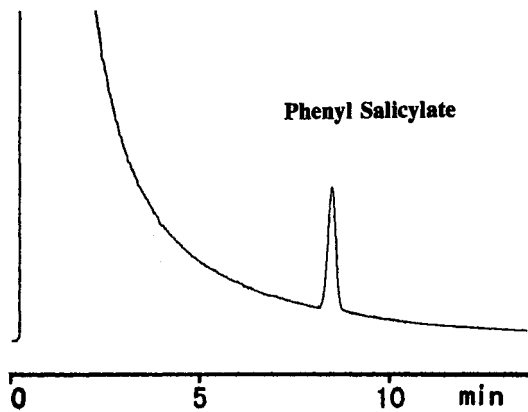


Fig.3. Gas Chromatogram of Phenyl Salicylate Added (0.3%) to Commercial Skin Cream

column: DB-5 (0.53 mm i.d. x 15 m), column temp.: 145°, injection temp.: 160, carrier gas: He, 24 mL/min, injection volume: 3µL, detector: FID

(2) GC/MS ピークの確認はEIモードのGC/MSにより行った. マスフラグメンテーションをFig. 4 に示したが, 分子イオン m/z 214 と $C_6H_4(OH)CO^+$ の m/z 121の明かなフラグメントを得た.

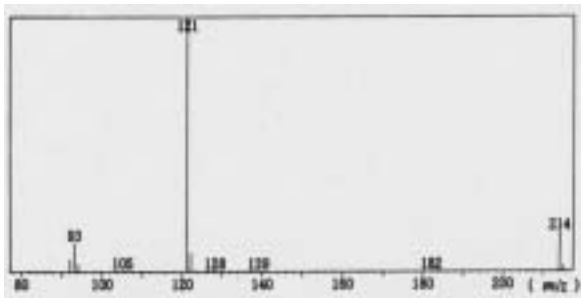


Fig.4. Mass Spectrum of Phenyl Salicylate
characteristic fragment: m/z 214 (M^+), 121

4. 添加回収実験

PSを 0.3, 1.0% 添加した市販スキンクリーム, 乳液及

びファンデーションを用いて, HPLC及びGCによる添加回収実験を行った. その結果をTable 2 に示した. いずれの添加量でも回収率 94.6 - 101.6%, 変動係数 0.86 - 6.17% と良好な結果が得られた. またHPLC及びGCによる違いは見られなかった.

Table 2. The Recovery of Phenyl Salicylate (PS)
in Cosmetic Oil and Cream by HPLC and GC

Cosmetics	Method	Added(%)	Recovery(%)*	C.V.(%)*
Skin Cream	HPLC	0.3	97.3	3.20
		1.0	101.0	3.96
	GC	0.3	94.6	5.36
		1.0	97.2	0.86
Skin Milk	HPLC	0.3	98.0	6.17
		1.0	101.6	2.66
	GC	0.3	101.3	4.98
		1.0	100.6	2.78
Foundation	HPLC	0.3	98.0	4.57
		1.0	101.0	3.05
	GC	0.3	97.3	5.07
		1.0	99.6	2.71

* n = 5

まとめ

HPLCとGCによる化粧品中PSの分析法を作成した. PSの抽出溶媒はTHFを用いることにより良好な結果を得た. HPLCはODSカラム, 移動相 アセトニトリル・水 (60 : 40), UV検出器 (310 nm) の条件で, GCは DB-5, カラム温度 145, FIDの条件で良好な結果を得た. 定量限界はHPLCで試料中 0.01%, GCで 0.1%であった. PSを添加した化粧品を用いた添加回収実験では回収率94.6 - 101.6%, 変動係数0.86 - 6.17% とHPLC, GCとも良好な結果を得た.

(本報告のうち, HPLCによる分析の項は社団法人日本薬学会衛生薬学委員会試験法担当会議化粧品試験法専門委員会として, 日本薬学会第122年会平成14年3月26日に報告⁶⁾された.)

文 献

- 化粧品規制緩和に係わる薬事法施行規則の一部改正等について, 厚生省医薬安全局長, 医薬発第990号, 平成12年9月29日.
- 宮武ノリエ, 上原真一, 西島基弘: 薬学雑誌, 116, 65-70, 1996.
- 化粧品原料基準第二版注解, 483-485, 1984, 薬事日報社.
- Irwin W.J., Masuda Q.N., Wan Po A., *Tetrahedron*, 40, 5217, 1984.
- Khan M.N., *J. Org. Chem.*, 48, 2046, 1983.
- 日本薬学会第122年会公衆衛生協議会資料 3.2 化粧品試験法, p.22, 日本薬学会衛生薬学委員会, 平成14年3月26日