

[事例・資料]

## HPLC を用いた化粧品中のタール色素分析

医薬品課 中園 陽子 八ヶ代 一郎  
理化学課 中山 秀幸

キーワード:化粧品、タール色素、高速液体クロマトグラフィー

## 【はじめに】

化粧品に使用することができるタール色素は省令により規定されており、現在は 83 種類について、その使用が認められている。また、化粧品に配合されるタール色素は、医薬品医療機器等法によりその名称を容器等に記載するよう規定されており、多くの化粧品で、タール色素が使われているが、その分析法についての報告は少ない。

そこで今回、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 法を用いた化粧品中のタール色素分析の検討を行ったので報告する。

## 【方法】

## 1. 試料

県内製造所から収去した化粧品3検体(化粧水1検体、香水1検体、フェイスクリーム1検体)を用いた。

## 2. 標準溶液

今回対象とした色素は、黄色4号、黄色5号、赤色40号及び青色1号である(図1)。色素標準品は、食品着色料検査用対象試液セット(0.1%溶液)を用い、標準液 1mL を精密に量り取り、50%メタノールを加えて正確に 100mL としたものを標準溶液として使用した。

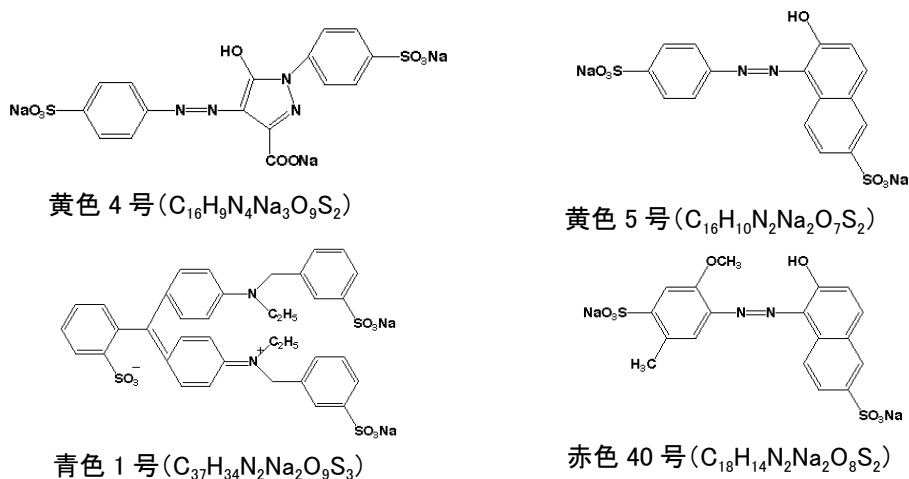


図1. 色素の構造

## [事例・資料]

## 3. 試料溶液の調製

試料の調製は次の手順で行った。

## 1) 化粧水及び香水

- ① 検体を約 2g ずつ量り、50mL 遠沈管に入れる。メタノール 5mL を加えて混和し、さらにメタノールを加えて 10mL とした。
- ② 15 分間超音波抽出後遠心し、得られた上清を孔径 0.45 $\mu$ m のメンブランフィルターでろ過し、試料溶液とした。

## 2) フェイスクリーム

油溶性成分含量が多いクリーム等の製品については、1)の方法では試料調製が困難であったため、試料調製法の検討が必要となった。そこで、食品中の合成着色料測定検査手順書を参考に、酸性タール色素をアンモニア・エタノール溶液で抽出し、ポリアミド法により精製することとした。

- ① 試料約 5g を遠沈管 2 本にそれぞれ量り取り、アンモニア・エタノール溶液を 10mL 加えて混和し、さらに同液を加えて 20mL とした。15 分間超音波抽出を行ったあと、遠心分離し、得られた上清の pH がアルカリ性になっていることを確認する。得られた液を合せ、水を加えて 50mL とする。
- ② この液に、10%酢酸を加えて酸性 (pH3~4) とした後、カラムクロマトグラフ用ポリアミドを適量加える。ゆっくりと攪拌しながら、ポリアミドに色素成分を吸着させ、静置後、上澄液を捨てる。さらに水 200mL を加えて攪拌静置する。これを上澄液が透明になるまで繰り返す。
- ③ 着色したポリアミドを、水を用いてクロマト管に流入する。メタノール 50mL で洗浄し、エタノール・アンモニア混液 30mL で溶出 (溶出速度 2mL/min) する。溶出液を酢酸 (3→50) で中和後、ロータリーエバポレーターで濃縮乾固し、得られた残留物にエタノール:水 (1:1) 1mL を加えて溶かしたものを、試料溶液とした。

## 4. HPLC 条件

衛生試験法 着色剤:タール色素の高速液体クロマトグラフィーによる定性および定量に準拠して行った。

装置:Agilent Technologies 社製 1100 シリーズ

カラム:Mightysil RP-18 GP 4.6mm×150 mm、5 $\mu$ m (関東化学株)

カラム温度:40°C付近の一定温度

移動相: (A)20mmol/L 酢酸アンモニウム溶液

(B)アセトニトリル

グラジエント条件:

(A):(B)=100:0(0min)→100:0(5min)→50:50(55min)→50:50(60min)→100:0(65min)

検出器:フォトダイオードアレイ検出器

検出波長:420nm、500nm、600nm

注入量:10 $\mu$ L

## 【結果および考察】

## 1. 色素標準品の分析結果

上記の分析条件で測定した標準溶液のクロマトグラムを下に示す(図2)。この結果から、分析対象とした4色素の測定波長は、黄色4号:420nm、黄色5号・赤色40号:500nm、青色1号:600nm とした。ここか

## [事例・資料]

ら得られた保持時間情報(RT)及びUVスペクトルを基に、試料の分析を行った。

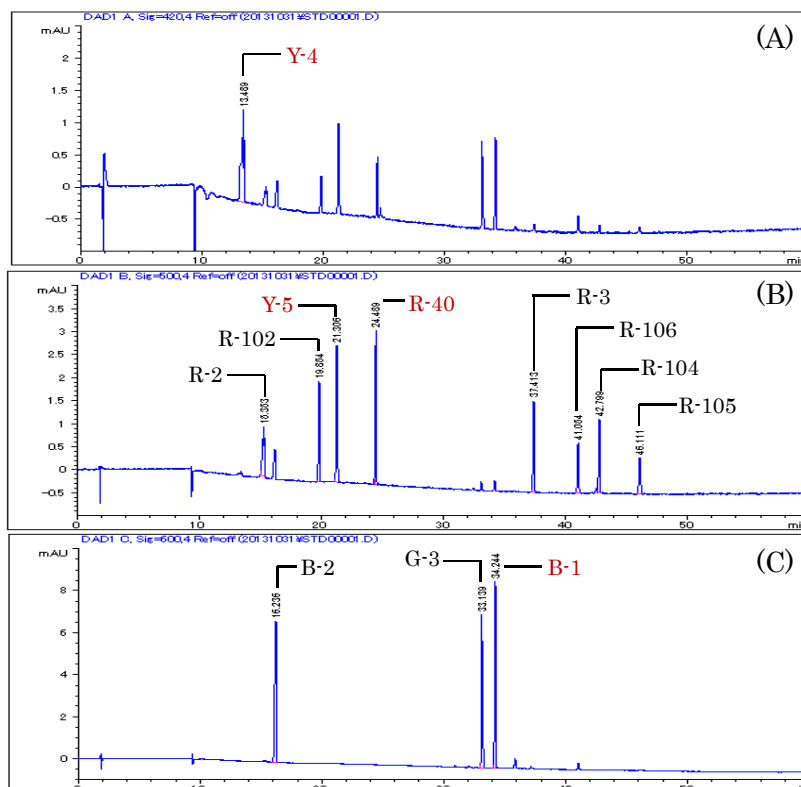


図 2. 色素標準品の分析(HPLC法)

(A) 検出波長: 420nm

Y-4: 黄色 4 号、RT=13.49min

(B) 検出波長: 500nm

R-2: 赤色 2 号、RT=15.35min

R-102: 赤色 102 号、RT=19.85min

Y-5: 黄色 5 号、RT=21.31min

R-40: 赤色 40 号、RT=24.49min

R-3: 赤色 3 号、RT=37.41min

R-106: 赤色 106 号、RT=41.05min

R-104: 赤色 104 号、RT=42.80min

R-105: 赤色 105 号、RT=46.11min

(C) 検出波長: 600nm

B-2: 青色 2 号、RT=16.24min

G-3: 緑色 3 号、RT=33.14min

B-1: 青色 1 号、RT=34.24min

## 2. 試料溶液の分析結果

製品に配合されている色素は極微量であり、特に黄色4号については、その他の色素と比較すると検出感度が悪く、またピーク形状も不良であったため、化粧水及び香水については、希釈倍率を変更することで検出を行った。一方、クリーム系化粧品は粘度が高く、希釈倍率を下げて試料調製を行うことが困難であったため、試料を濃縮調製する方法を検討し、前述の試料溶液の調製方法を見いだした。試料溶液のクロマトグラム及び検出されたピークのUVスペクトルの一例を下に示す(図3)。

本分析事例では、定性分析において、それぞれの化粧品の表示成分であった、黄色4号、黄色5号及び青色1号の配合を確認することができた。また、赤色40号については、青色1号と比較すると非常に微量の含量であること及びUVスペクトルの一致度が低かったことから、その含有を確定するに至らず、化粧品中のタール色素に係る違反は無しと判断した。

なお、今回、添加回収試験として、黄色4号標準原液(100 $\mu$ g/mL)を調製し、試料:フェイスクリームに添加し、その回収率を求めた結果、回収率は、約38%となり、本試験法を定量法とすることはできなかった。

酸性色素では、抽出時のアンモニア濃度がその抽出率に影響するとの報告があること及びポリアミドから色素を溶出する際、ポリアミドにわずかな着色が見られ、タール色素の残存が疑われたこと等から、試料調製時のpH値の管理やポリアミドからの溶出条件等に今後の検討の余地があると考えられる。

[事例・資料]

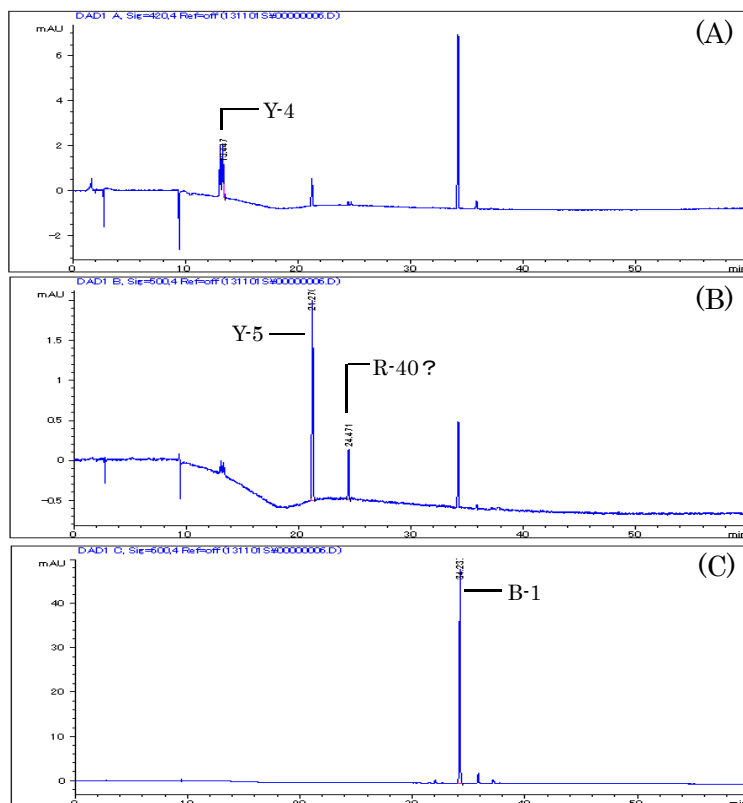


図 3. フェイスクリームの HPLC 分析

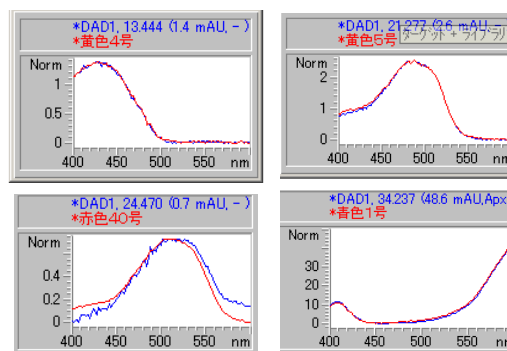
(A) 検出波長: 420nm

(B) 検出波長: 500nm

(C) 検出波長: 600nm

試料の濃縮調製を行うことにより、青色 1 号で 30 倍以上ピーク面積が上がった

UV 吸収スペクトルにより、標準品と比較



【まとめ】

着色料は、製品を美しく見せるためにかかせないものとなっており、色素を単体で使用するよりも、複数を混ぜて使用することが多い。また、色素によっては、UV 吸収スペクトルが類似したものもあるため、タール色素を分析するうえで、UV 吸収スペクトル及び保持時間情報を併せて確認することは重要である。

LC Q-TOF/MSにて試料溶液の測定を行ったところ、今回対象とした検体ではMSでの感度が極めて低く、微量色素の検出が難しかったことから、タール色素の分析についてはフォトダイオードアレイ検出器による方法が最も有用であると考えられた。

本報告では、クリーム剤の試料調製による定性分析では良好な結果が得られたが、今後さらなる調製法を検討し、多様なタール色素に対応した分析条件を確立していく方針である。また、化粧品におけるタール色素の扱いは国によって異なっているため、輸入化粧品等においては特に注意が必要であると考えられる。