[衛生化学]
THE JOURNAL OF
HYGIENIC CHEMISTRY
17 (6) 380-383 (1971)

香粧品の成分試験法に関する研究 (第3報¹⁾)
クロモトロープ酸法による化粧品中のメタノールの定量²⁾

松本 勲, 米山広勝, 田中国雄,^{3a)} 木本正二,
村上ユリエ, 小川清子^{3b)}
資生堂研究所,^{3a)} 大阪資生堂^{3b)}

The Studies on Analytical Test Methods for Cosmetics. III.¹⁾
On the Test Method of Methanol Content in Cosmetics
by Chromotropic Acid Colorimetry²⁾

ISAO MATSUMOTO, HIROKATSU YONEYAMA, KUNIO TANAKA,^{3a)}
SHOJI KIMOTO, YURIE MURAKAMI and KIYOKO OGAWA^{3b)}
Shiseido Laboratory^{3a)} and Osaka Shiseido Factory^{3b)}

(Received March 10, 1971)

The content of methanol in cosmetics must be less than 0.2%, and it has been usually analysed by chromotropic acid colorimetry. This method, however, was not always satisfactory owing to the interference of perfumes, surface-active agents, and others in cosmetics. The modified procedure has been developed as follows: 20 ml of water was added to 5 ml of a sample and distilled, 10 ml of the distillate was transferred to a separatory funnel, shaken with 5 ml of petroleum benzine, and K_2CO_3 was added to the aqueous layer to separate alcohol.

Alcohol layer was made up to 5 ml with ethanol, diluted to 50 ml with water, 0.5 g of active carbon was added, and the filtrate was applied to the colorimetry procedure.

Heating time and temperature in the color reaction were corrected to 40 min and 100°. Good reproducibility was obtained by this method.

緒 言

化粧品中のメタノールの含有量は0.2%以下⁴⁾と定められている。その定量法として衛生試験法⁵⁾ではクロモトロープ酸法が採用されているが、現在、市販の化粧品に適用するとき、呈色の障害と再現性に乏しいことを認めた。すなわち、試料を石油ベンジンで抽出する際、乳化現象を起して分離できなかったり、添加されている香料中のアルデヒド類のため真値より多く定量されたりする。

そこで著者らは、クロモトロープ酸法について改良を加えるべく検討し、分離困難なことについては、先ず、蒸留をおこなったのち、石油ベンジンで油分などを除く方法を取り、さらに呈色の障害の除去については活性炭処理を行なうことを試みた。さらにクロモトロープ酸法の改良については、加熱温度と時間をかえることにより再現性を向上することができた。

実 験 の 部

試薬 試薬は、とくにことわらない限り特級品を用

1) 松本 勲, 岡本正男, 猿渡希世子, 衛生化学, 17, 104 (1971).

2) 日本薬学会 第90年会発表, 札幌, 1970年7月.

3) Location: a) 13-7 Kamiya 3-Chome, Kita-ku, Tokyo (東京都北区神谷3丁目 13-7); b) 2-34 Komatsukitadori, Higashiyodogawa-ku, Osaka (大阪市東淀川区小松北通り 2-34).

4) 厚生省告示 第312号 (昭和42年8月8日).

5) “衛生試験法注解”, 日本薬学会編, 金原出版社 (1965), p. 640

いた。また、水は蒸留水を用い、試薬の調製については衛生試験法注解に従った。

1. 5%リン酸溶液 85%リン酸 8.5 ml をとり、水を加えて全量 200 ml とする。

2. 5%過マンガン酸カリウム溶液 過マンガン酸カリウム 12 g を 300 ml のビーカーにとり、水 200 ml を加えて煮沸する（ビーカーに印をつけておき、時々水を加えて大体 200 ml の液量に合わせておく）約 4 時間煮沸後、冷暗所に一夜放置後ガラスフィルターでろ過し、褐色ビンに貯蔵する。

3. 20%亜硫酸水素ナトリウム溶液 亜硫酸水素ナトリウム 2 g をとり、水を加えて全量 10 ml とする（使用時調製）。

4. 75 v/v %硫酸 蒸留水 50 ml を 300 ml のビーカーにとり、水冷しながら硫酸 150 ml を少量ずつ加える。

5. 2%クロモトロブ酸溶液 クロモトロブ酸ナトリウム 0.2 g をとり、水を加えて全量 10 ml とする（水で再結晶したものを用いる）。

装置 1. 日立パーキンエルマー 139 型分光光度計を使用し、10 mm のガラスセルを用いた。

試験溶液の調製 試料 5 ml を 50 ml の丸底フラスコにとり、水 20 ml を加えて静かに蒸留し、留液 10 ml をとる。これを 50 ml の分液ロートに移し、石油ベンジン 5 ml を加え、よくふりまぜ、下層を 25 ml の共栓メスシリンダーに移し、上層はさらに 2—3 ml の水で洗い、下層は共栓メスシリンダーに移す。この液に白濁するまで炭酸カリウムを加えて、アルコール分を分離する。このアルコール分にエタノールを加えて全量 50 ml とする。これにクロマトグラフィー用活性炭 0.5 g を加え、よくふりまぜたのち 5 分間放置し、ろ紙 No. 5C でろ過し、そのろ液を試験溶液とする。

定量法 試験溶液 1 ml およびメタノール標準液各 1 ml をそれぞれ別の共栓試験管にとり、5%リン酸溶液 1 ml および、5%過マンガン酸カリウム溶液 0.2 ml を加え、軽くふりまぜて 15 分間放置したのち、20%亜硫酸水素ナトリウム溶液 0.2 ml を加えて脱色し、これに 2%クロモトロブ酸溶液 0.3 ml ずつ加え、氷水で冷却しながら、各試験管に 75 v/v %硫酸 4 ml を静かに加え、栓をしてふりまぜたのち栓をとり、沸煮水中に 40 分間加熱し、冷後得られた呈色液を測定波長 580 mμ で吸光度を測定し、メタノール標準溶液について得られた検量線から試験溶液中のメタノール濃度を算出する。

結果および考察

還元剤とその添加量

還元剤として一般に使用されている^{5,6,7}亜硫酸ナトリウムと亜硫酸水素ナトリウムの各 20% 水溶液について、その添加容量と吸光度との関係を Fig. 1 に示した。結論として添加容量による変動の小さい亜硫酸水素ナトリウムを 0.2 ml 用いることにした。

加熱温度および時間

衛生試験法では加熱温度、時間を 80—85°, 10 分間と定めているが、著者らの実験では呈色強度が小さく、検量線がかけないこともあったので、加熱温度、時間について検討した。衛生試験法での加熱温度、時間の関係を Fig. 2-a および今回検討し定めた条件での結果を Fig.

Fig. 1. Effect of Reducers on the Absorbance
x : Na₂SO₃ o : NaHSO₃

Fig. 2-a. Reference between Absorbance and Heating Time at 80° on Various Concentration of MeOH by the Official Method

● : 0.060 μl/ml MeOH
○ : 0.045 μl/ml MeOH
△ : 0.030 μl/ml MeOH
□ : 0.015 μl/ml MeOH
● : 0.000 μl/ml MeOH

6) Methods of analysis A.O.A.C., 10, 138 (1965).

7) U.S.P. XVII, p. 21.

Fig. 2-b. Reference between Absorbance and Heating Time at 100° on Various Concentration of MeOH by the Developed Method

● : 0.060 $\mu\text{l/ml}$ MeOH
○ : 0.045 $\mu\text{l/ml}$ MeOH
△ : 0.030 $\mu\text{l/ml}$ MeOH
□ : 0.015 $\mu\text{l/ml}$ MeOH

Fig. 3. Influence of EtOH^{a)} Concentration
a) added 0.030 $\mu\text{l/ml}$ MeOH

2-b に示す. 加熱温度は 100°, 加熱時間は 30 分以上にすることにより安定した検量線を得ることができたので, 加熱温度, 時間を 100°, 40 分とした.

エタノール濃度の影響

クロマトロブ酸法はエタノール濃度が影響するといわれている.⁸⁾ 試料として 0.030 $\mu\text{l/ml}$ のメタノールにエタノール 0—10 % 添加したときの影響を調べ, その結果を Fig. 3 に示した. 図でわかるように, エタノール濃度の低いところでの影響は極端に大きい, 5 % を過ぎたあたりから小さくなっている. すなわち, エタノール濃度を一定にする必要がある. そこで, 液濃度の合わせやすさ, および濃度変化の小さいところからエタノール濃度を 10 % とした.

試験溶液の調製と検量線

試料に石油ベンジンを入れ油分などを除く操作の際, 活性剤などで乳化現象をおこし, 分離できないものがあ

Fig. 4. Calibration Curve

○ : proposed method without carbon
× : proposed method treated with carbon

るため, 水を加えて蒸留したのち, 石油ベンジンで抽出する⁸⁾ 方法を採用した(必要により消泡剤としてシリコンを適量添加する). また, 硫酸で着色する試料には活性炭処理⁹⁾ することにより着色を防いだ. Fig. 4 は標準のメタノール液を活性炭で処理したものとし, 検量線に影響があるかないかしらべた. この結果, 両者ともよく一致し, 活性炭処理によるメタノールの吸着は無視できることがわかった. また, 蒸留操作によりメタノールの揮散もなかった.

TABLE I. Influence of Pretreatment with Charcoal activated to Determine MeOH in Cosmetics

	Method I			Method II		
	Found(%)		Recovery rate(%)	Found(%)		Recovery rate(%)
	I	II		I	II	
A	0.005	0.014	45	0.009	0.020	37
B	0.007	0.008	5	0.002	0.018	53
C	0.012	0.015	15	0.002	0.020	60
D	0.005	0.019	70	0.002	0.028	87
E	can not determine			0.016	0.038	73
F	can not determine			0.004	0.031	90
G	can not determine			0.005	0.034	97
H	can not determine			0.005	0.024	63
I	can not determine			0.008	0.033	83

method I : official method (without charcoal)

method II : developed method (pretreated with charcoal)

I : sample only

II : added 0.02% MeOH

III : added 0.03% MeOH

8) 高林稔雄. 資生堂研究所報告, No 846, 1966.

9) 木本正二, 村上ユリエ, 小川清子. 大阪資生堂技術報告, No 942, 1969.

TABLE II. Repeated Determination of Methanol Content and Recovery Rate in Some Cosmetics

n	Sample P Found (%)			Sample Q Found (%)		
	Sample only	Added 0.03% MeOH		Sample only	Added 0.03% MeOH	
1	0.004	0.024		0.005	0.037	
2	0.004	0.022		0.006	0.037	
3	0.006	0.023		0.006	0.041	
4	0.007	0.020		0.006	0.031	
$\bar{x}$	0.005	0.022		0.006	0.037	
CV%	28	7.6		8.3	11.1	
Recovery rate(%)		57			103	

化粧品中のメタノールの定量

この方法を用いて従来の方法で測定できなかった各種化粧品9品をえらび一定量のメタノールを添加して、そ

の回収率もあわせて検討した。同時に活性炭処理しない場合を比較して Table I に示した。

試料A, B, C及びDは、活性炭処理しないものは、いずれも黄変, E, F, G, H及びIは強く着色して定量不可能であったが、活性炭処理を行なうことにより、メタノールの呈色を示したが、まだ回収率の低いものもみられる。

つぎに回収率からみた繰返し精度を検討し、その結果を Table II にまとめた。

2試料共直接得たメタノールの量は同程度であるが、回収率に差を認めた。これは組成の相違から来ている、個々の成分とかこれらの交互作用などが影響していると思われる。以上をまとめてみると、改良法により適用範囲がかなり広がり、回収率も向上することができた。

謝辞 本稿の発表を許可された石川誠一研究所長に深謝します。