衛生化学
THE JOURNAL OF
HYGIENIC CHEMISTRY
18 (4) 278-280 (1972)

化粧品品質保証に関する研究 (第6報¹⁾)
アニオン界面活性剤を含む化粧品中の微量色素確認²⁾

松本 勲, 高柴和子, 本間康子
資生堂研究所³⁾

Studies on Quality Assurance of Cosmetics. VI.¹⁾
Detection of a Micro Amounts of Coal-tar Dyes in Cosmetic
containing Anion Surface Active Agents²⁾

ISAO MATSUMOTO, KAZUKO TAKASHIBA and YASUKO HONMA
Shiseido Laboratory³⁾

(Received August 10, 1971)

An ion exchange method is described for the separatory detection of a microquantity of coal-tar dyes in cosmetics which contain a large quantity of anionic surfactant. In this method, a sample (3-5 g) is warmed on a water bath to remove volatile components and then dissolved in 20 ml of ethanol. The ethanol-soluble portion is passed through a column of 10 ml of DEAE-Sephadex A-25, and then the column is washed with 100 ml of 30 % ethanol. The dyes are eluted with hydrochloric acid-30 % ethanol mixture (1 : 9), at a flow rate of 0.4 ml/min, until they have completely been eluted. The effluent is evaporated on a water bath, the residue is dissolved in 1-2 ml of ethanol, and this ethanolic solution is submitted to thin-layer chromatography for the identification of each dye.

This method was found to give a satisfactory result in the detection of a microquantity of coal-tar dyes in various cosmetics, shampoo, and kitchen-use liquid detergents containing a large amount of anionic surfactant.

緒 言

現在タール色素は色の美しさ, 経済性などの理由で食品, 化粧品などに広く使用されている。しかしながら, 人体に対する安全性の面で許可された色素以外は使用できない。⁴⁾ また, 許可基準についても最近は一層厳しくなり, 化粧品メーカーとして, 使用した色素が許可された色素であることを確実に証明し, かつ, 保証できる方法を確立しておかなければならない。

タール色素の分離手段としては, 毛糸染色法,⁵⁾ 溶媒分離法,⁵⁾ 吸着カラムクロマトグラフィー法などがある。⁶⁾ 対象試料が多量のアニオン活性剤を含んでいるため, 毛糸染色法, 溶媒分離法および吸着カラムクロマトグラフィー法では好結果を得られなかった。そこでイオン交換法に着目した。イオン交換法については, M. Dolinsky ら^{7,8)}は, 液体アニオン交換体 Amberlite LA-2 を用い, 食品および薬品から色素を分離している。また

- 1) 第5報: J. Soc. Cosmetic. Chemists., **22** (9), 589 (1971).
- 2) 日本薬学会第91年回, 福岡1971年4月。
- 3) Location: Kamiya-cho 3-chome, Kita-ku, Tokyo (東京都北区神谷町3-13-7)。
- 4) 昭和41年厚生省令第30号。
- 5) 衛生試験法注解, 日本薬学会編, 金原出版, 1965, p. 249.
- 6) Y. Yanuka, Y. Shalon, E. Weissenberg, Nir-Grosfeld, *Analyst.*, **88**, 872 (1963).
- 7) M. Dolinsky, C. Stein, *J. Ass. Offic. Anal. Chem.*, **45**, 767 (1962).
- 8) C. Graichen, J. C. Molitor, *J. Ass. Offic. Anal. Chem.*, **46**, 1022 (1963).

竹下^{9,10)}は、食品中の色素について DEAE Sephadex A-25 を用い、パッチ法で吸着させたのちカラムに導入し、2N 塩酸：イソプロパノール (1:1)、2N 硫酸：イソプロパノール (1:1) で色素を溶離している。しかしこれらの方法でもアニオン界面活性剤が多量に含まれている化粧品の場合、多くのタール色素がスルホン基、カルボキシル基を有しているため、活性剤と同じように挙動して、分離したのち確認することはなかなか困難であった。そこで著者らは、DEAE Sephadex A-25 を用い活性剤と色素の分離に最適な溶離剤の選択を行なった。その結果、溶離剤として濃塩酸-30%エタノール(1:9)を用いればよいことが分った。これを応用してシャンプー、台所用洗剤など多量のアニオン界面活性剤を含む化粧品中の微量色素の確認をより確実にこなうことができた。なお、最終的な色素の確認には薄層クロマトグラフィー (TLC) を用いた。

実験の部

試験および試液 標準タール色素溶液——Amaranth, Ponceau-SX, Lithol Rubine B, Phloxine B, Fast Green FCF の 0.005% 水溶液。

アニオン界面活性剤：Sodium Dodecyl Benzene Sulfonate (DBS-Na 東京化成), Sodium Lauryl Sulfate (LS-Na 東京化成)

イオン交換体：DEAE Sephadex A-25

溶離剤：濃塩酸-30%エタノール (1:9)

0.5N アンモニア水

装置 カラム：25 cm × 1.5 cm φ

薄層クロマトグラフィー装置

実験方法 DEAE Sephadex A-25 を水で膨潤させたのち、その 10 ml をカラムに充填する。0.5N アンモニア水 100 ml 流したのち、洗液がフェノールフタレンで赤色を呈しなくなるまでイオン交換水で洗浄し、さらに 95%エタノール 50 ml 流す。試料 3—5 g の揮発分を水浴上で除いたのち、95%エタノール 20 ml 加え、かくはん通過し、エタノール可溶分のみをカラムに導入する。試料液がイオン交換体の上部にほとんどなくなった時、30%エタノール溶液を 100 ml 流す。つぎに濃塩酸-30%エタノール (1:9) を毎分 0.4 ml の流速で流し、色素を完全に溶出させる。色素の溶出部分を分取し、溶媒を水浴上で除いたのち、エタノール 1—2 ml に色素分を溶かし、TLC の試料とする。キサンティン系の色素は、酸性になると色が消えるため溶離液 5 ml ずつとり、30

%水酸化ナトリウム液 1 ml 加え、アルカリ性にして色を戻し、水浴上で約 2 ml になるまで濃縮し、TLC の試料とする。TLC の条件は、吸着剤としてシリカゲル G (メルク社)、展開剤として酢酸エチル：メタノール：28%アンモニア (33:10:10) を用いる。¹⁰⁾

結果と考察

溶離剤の検討

アニオン界面活性剤と色素を分離するための溶離剤として今回は、塩酸-水・エタノール混液を用いた。アニオン界面活性剤 0.3 g をイオン交換水 2 ml にとかし、DEAE Sephadex A-25 カラムに導入する。溶離剤（濃塩酸：水-エタノール混液=1:9）の塩酸濃度は一定とし、エタノール含量を 10, 20, 30, 40, 50% と変えたときのアニオン界面活性剤の溶離状況を調べた。Fig. 1 にエタノール含量 30, 40, 50% のときのアニオン界面活性剤の溶離曲線を示す。

Fig. 1. Elution Curves of Anion Surfactants on DEAE Sephadex A-25

sample loaded: 0.3 g of anion surfactants dissolved in 2 ml of water

eluting system: —○— conc. HCl-30% ethanol (1:9)
—△— conc. HCl-40% ethanol (1:9)
—×— conc. HCl-50% ethanol (1:9)

Fig. 1 より明らかなように、溶離剤のエタノール含量が多いほど活性剤の溶出量は増し、50%になると活性剤の大部分は 75 ml 以内に溶出することが分った。

つぎに各色素溶液 2 ml およびアニオン界面活性剤 0.3 g について溶離剤中のエタノール含量を変えた時の活性剤と色素の溶離状況を Table I に示した。

表中×印は溶離剤 100 ml 流したときほとんど溶離してこない場合、△印は一部溶出、○印は溶離剤 100 ml で、ほぼ完全に溶離する場合である。さらに DBS-Na

9) 坂上米次, 竹下隆三, 水島久雄, 岩村泰子, 公衆衛生院研究報告, **15**, 13 (1966).

10) 竹下隆三, 坂上米次, 衛生化学, **15**, 72 (1969).

TABLE I. Desorption of Anionic Surfactants and Dyes by Variation of Ethanol Content in Eluting System

Sample	EtOH content (%) in EtOH-H ₂ O mixture as a component of the eluting system, conc. HCl-aqueous EtOH(1:9)					
	10	20	30	40	50	95
LS-Na	×	×	×	△	○	○
DSB-Na	×	×	△	△	○	○
Amaranth		△	△	○	○	○
Ponceau SX		○	○	○	○	○
Lithol rubine B		○	○	○	○	○
Phloxine B		×	○	○	○	○
Fast green FCF		○	○	○	○	○
Interference of surfactants in detection of the dye	Nil			Interference		

○; completely eluted △; partly eluted

×; hardly eluted

sample used: A solution containing 0.3g each of anionic surfactants and 100 μ g each of dyes

0.3g と色素溶液 2 ml 混合した試料を用い、溶離剤中のエタノール含量が、30%、40%のとき、色素の定性における活性剤の妨害の有無を調べた。その結果を表中の縦線で示した。この結果、エタノール含量が30%の溶離剤を用いれば、色素フラクション中のアニオン界面活性剤の濃度をかなり低くすることができ、TLC で定性分析することが可能であることが判った。

実試料への適用

本法を市販のシャンプー 2 品、台所用洗剤 1 品に適用した。その結果、色素の確認を TLC で行う場合、大過剰に共存するアニオン界面活性剤が色素の確認を妨害しない程度まで除去することができ、シャンプーからは、Brilliant Blue FCF と Uranine を、また台所用洗剤からは、Tartrazine および Fast Green FCF の 2 色素をそれぞれ確認することができた。

謝辞 本研究の発表を許可された石川誠一研究所長に謝意を表します。