大西重樹 西島 靖 呉地恵理子

Determination of Dyes in Lip Stick by the Dual Wave Length Densitometry

Shigeki OHNISHI, Yasushi NISHIJIMA and Eriko KURECHI

A new simple method for the determination of dyes (erythrosine, rhodamine B, tetrachloromofluorescein, deep maroon, eosine YS, permanent orange, lake red CBA) in lip sticks was studied.

The lip stick was dissolved in a few milliliter of chloroform and filled up with ethanol (erythrosine, rhodamine B, eosine YS, tetrachlorotetrabromofluorescein), acidic ethanol (lake red CBA, deep maroon) or 1,1,2-trichloroethane (permanent orange). The coloring materials were separated by thin-layer chromatography. Ethanol, mixed solvents of petroleum ether:toluene:chloroform (1:2:3) or n-buthanol:ethanol:0.5 N acetic acid (6:2:3) were used for the chromatography. After the thin-layer chromatographic separation, each spot on the thin-layer chromatogram was scanned by a dual wave length densitometer under visible ray.

The coefficients of variation of dual wave length densitometer were 0.85-1.74%. The recoveries of dyes added into lip stick were 90.9-102.4%.

1 緒 言

化粧品の色素の分離についてはすでに数多くの報告があるが、その多くは種々の溶媒を用いて系統的に分離したのち、カラムクロマトグラフ法、ペーパークロマトグラフ法あるいは薄層クロマトグラフ法によって分離確認されている。また近年急速に発展してきた高速液体クロマトグラフ法に色素分離の可能性が認められている¹⁾。

一方、定量法については薄層クロマトグラフ法によって分離したのち、かき取り抽出を行ない吸光度法によって定量する方法²⁾が食用色素などに用いられている。しかしながら、同法は抽出操作が困難であり、またその回収率は必ずしも満足のいくものではない。著者らは口紅のように複雑な混合油脂中に一般に使用されている色素

について薄層クロマトグラフィーにより分離したのち、スポットの形状や大きさの影響を除去するために微小光束によるジグザグスキャンニング法を、また薄層の厚みむらの影響を除去するために二波長測光法を利用した二波長デンストメトリーによる可視反射法で測定する方法について検討した結果、迅速に定量し得ることを見出したので報告する。

2 実験方法

2.1 試料、試薬

1) 色素——使用した色素は薬事法により定められている色素であるエリスロシン、ローダミンB、テトラクロルテトラブromフルオレセイン、ディープマルーン、エオシンYS、レーキレッドCBA、パーマメントオレンジの7種類を用いた。これらの色素はいずれも市販品で薄層クロマトグラフ的に単一スポットを与えることを確認し用いた。

2) 試作口紅——分析に供した試作口紅はヒマシ油60部、カルナウバロウ5部、キャンデリラロウ5部、ミツロウ5部、流動パラフィン10部、セレンシワックス5部

鐘紡株式会社化粧品研究所 (神奈川県小田原市寿町5-3-28)

Kanebo Ltd., Cosmetic Laboratory (5-3-28, Koto-buki-cho, Odawara-shi, Kanagawa)

*この報文を“化粧品用タール色素のクロマトグラフィーによる分析(第2報)”とする。

及び白色ワセリン10部を加熱溶解混合したワックスベースに、冷後、色素の一定量を添加し、ローラーにより練り込んだものを用いた。

3) 薄層板——メルク社製キーゼルゲルガラスプレート、厚さ0.25 mm, 20 cm 四方のものをそのまま用いた。

2.2 装置

島津製作所製二波長クロマトスキャナーCS-900型を用いた。

2.3 操作

試作口紅約300mgを精密にはかり、クロロホルム10mlを加えて溶かし、エリスロシン、ローダミンB、エオシンYSおよびテトラクロルテトラブromフルオレセインを定量するときはエタノールで、レーキレッドCBAおよびディープマルーンを定量するときは塩酸酸性エタノールで、パーマネントオレンジを定量するときは1,1,2-トリクロルエタンで50 mlに定容する。静置後、上澄液を正確にガスクロマトグラフ用マイクロシリンジで10~30 μ lスポットする。

3 結果及び考察

3.1 薄層クロマトグラフィー

各種展開溶媒を用いたときの各色素のRf値をTable Iに示した。油溶性色素であるパーマネントオレンジは展開溶媒Fで展開される。他の色素はアルコール系あるいは展開溶媒Eで展開される。なお本実験に用いた展開溶媒はB, E, Fであるが参考までに他の溶媒についても記した。

Table I. Rf Values of Dyes

Solvent system Dyes	(A)	(B)	(C)	(D)	(E)	(F)
Erythrosine	0.91	0.83	0.74	0.80	0.93	-
Lake red CBA	-	-	-	-	0.79	-
Rhodamine B	0.58	0.35	0.07	0.12	0.59	-
Tetrachlorotetra bromofluorescein	0.94	0.84	0.66	0.67	0.74	-
Deep maroon	-	-	-	-	0.67	-
Eosine YS	0.87	0.83	0.56	0.76	0.87	-
Permanent orange	-	-	-	-	-	0.30

(A). Methanol

(B). Ethanol

(C). n-Propanol

(D). i-Propanol

(E). n-Butanol : Ethanol : 0.5 N Acetic acid
= 6 : 2 : 3 (v/v)

(F). Petroleum ether : Toluene : Chloroform =
1 : 2 : 3 (v/v)

3.2 測定波長

本実験においては反射法により測定を行なったので反射法による吸収曲線を求め測定波長を決定した。すなわち、各色素を各種溶媒で展開し、エリスロシンおよびエオシンYSを展開溶媒Eで展開したときは3時間後に、他の場合は30分後に各波長における吸光度を求め吸収曲線を作成し、極大吸収波長を λ_s , 吸収が認められない700 nmを λ_R とした。

3.3 スキャンニングの方法

リアスキャンニングの場合は、スポットの大きさによってスリット幅を変えなければならないこと、また光束の選び方によってあるいはスキャンニングの方向によって積分値が異なってくるため、これらの欠点を補うジグザグスキャンニング法³⁾を用いた。Table IIはエリスロシン、エオシンYSおよびパーマネントオレンジを各々同一薄層板上に同一量5回スポットしたときの面積積分値を示したものである。変動係数にして0.85~1.74%とほぼ満足のいく結果が得られた。

Table II. Reproducibility

	Erythrosine	Eosine YS	Permanent orange
1.	23.8 ^{a)}	36.4	38.0
2.	24.0	36.1	38.5
3.	24.0	35.5	38.5
4.	24.3	36.2	38.7
5.	25.0	35.9	38.5
mean value	24.2	36.0	38.4
standard deviation	0.421	0.306	0.233
cv(%)	1.74	0.85	1.26

a). Integrated value, mm

3.4 展開後の色素の安定性

色素はpHにより色調や吸収強度が異なることがある。そこで展開後の色素の安定性について検討を行なったところローダミンB、テトラクロルテトラブromフルオレセイン、ディープマルーン、レーキレッドCBAおよびパーマネントオレンジはほぼ安定であったがFig. 1に示すように展開溶媒Eで展開したとき、エリスロシンおよびエオシンYSに展開後90分迄吸光度増大の傾向が認められ、90分から180分の間は一定の値を示した。この傾向は上記色素のn-ブタノール：エタノール：0.5N酢酸(6:2:3)溶液およびエタノール溶液での吸収曲線を比較するとき、酸性溶液中でその吸光度減少および

極大吸収波長のシフト現象が認められることより、薄層板が乾燥するに従い酸の影響が少なくなり、吸光度が増大するためであると推定された。従って展開後短時間で測定できると云う観点から色素間の分離に問題がなければ中性の低沸点溶媒を用いるのが好ましい。

3.5 検量線

本装置は薄層のデントメトリーにおいて薄層板の厚みむらに起因するベースラインの変動をなくすために二波長法を用い、スポットの形による誤差やスポットと光束の合わせ方による誤差を除くためにジグザグスキャンニング方式を用いている³⁾ 訳であるが、なお検量線が原点を通る直線とならない場合がある。これらの原因および対策については山本⁴⁾ がすでに報告しているが、今回の実験ではある一定の範囲内で直線とならないものについては試料量の平方根を横軸にとることによって直線関係を得ることが出来たので同法を用いて検量線を作成した。ローダミンBおよびパーマネントオレンジの例をFig.2 Fig.3 に示した。

Fig. 1 Effect of Drying Time on the Absorbance

Solvent system ; n-Butanol : Ethanol :
0.5 N Acetic acid=6 : 2 : 3 (v/v)
-○- : Eosine YS
-●- : Erythrosine

3.6 回収実験

実験方法 2.3 に従い調整した試料を展開し、測定した3回の平均を Table III に示した。この定量結果は本法が口紅中の色素の定量に十分利用できることを示して

Fig. 2 Calibration Curves of Rhodamine B

Solvent system ; n-Butanol : Ethanol :
0.5N Acetic acid=6 : 2 : 3 (v/v)
-○- : $\mu\text{g}/\text{spot}$
-●- : root of $\mu\text{g}/\text{spot}$
Solvent system ; Ethanol
-△- : $\mu\text{g}/\text{spot}$
-▲- : root of $\mu\text{g}/\text{spot}$

Fig. 3 Calibration Curve of Permanent orange

Solvent system ; Petroleum ether :
Toluene : Chloroform=1 : 2 : 3 (v/v)
-○- : $\mu\text{g}/\text{spot}$
-●- : root of $\mu\text{g}/\text{spot}$

いる。

終わりに、本研究の発表を許可された鐘紡株式会社に感謝します。

(第11回化粧品討論会で講演、東京、1974年11月)

Table III. Recovery Tests of Added Dyes from Lip Sticks

No.	Dyes	Added, mg	Found, mg	Recovery, %	Solvent
1.	Erythrosine	2.46	2.44	99.2	B
	Rhodamine B	2.41	2.43	100.8	B
	Permanent orange	1.76	1.60	90.9	F
2.	Lake red CBA	1.46	1.39	95.2	E
	Permanent orange	2.05	1.92	93.7	F
3.	Rhodamine B	1.89	1.86	98.4	E
	Tetrachlorotetra bromofluorescein	2.88	2.95	102.4	E
	Eosine YS	1.76	1.80	102.3	E
4.	Erythrosine	2.21	2.16	97.7	B
	Deep maroon	1.39	1.41	101.4	E

文 献

- 1) 大西重樹ら；「日本化学会第33秋季年会」（1975年10月）講演予稿集Ⅲ，p.951
 - 2) Charles Stein；J. of the AOAC, 53 (2) 240 (1970). ibid, 53 (3), 534 (1970)
 - 3) 山本裕志ら；分析化学, 23, 133 (1974)
 - 4) 山本裕志ら；分析化学, 23, 1016 (1974)
- （昭和51年2月25日受理）