

# Application News

## No. L546

高速液体クロマトグラフィー

### 紫外可視吸収スペクトルに基づいた化粧品中の紫外線吸収剤の定性

多くの化粧品には、紫外線から肌を守るべく紫外線吸収剤が含まれています。日本では、紫外線吸収剤の配合成分及びそれらの最大配合量は、薬機法に基づく化粧品基準（平成 12 年厚生省告示第 331 号）によって定められています。これらの基準は国や地域ごとに異なっているため、輸出入の際には高速液体クロマトグラフィー（HPLC）を用いた確認が行われています。

このような背景から、アプリケーションニュース No. L541 では紫外線吸収剤 23 成分の高速分析例をご紹介しました。ここでは、対象の紫外線吸収剤 6 成分を紫外可視吸収スペクトルに基づいて定性する方法をご紹介します。

T. Yoshioka

#### ■ 標準物質の分析

図 1 に紫外線吸収剤 6 成分の混合標準溶液（各 100 mg/L）のクロマトグラムを示します。分析条件を表 1 に示します。今回は化粧品に配合される可能性のある紫外線吸収剤 6 成分を分析対象としました。

次頁の図 2 に混合標準溶液（各 100 mg/L）を分析して得た、各成分の紫外可視吸収スペクトルを示します。これらのスペクトルを基に、化粧品に含まれる紫外線吸収剤を定性します。

表 1 分析条件

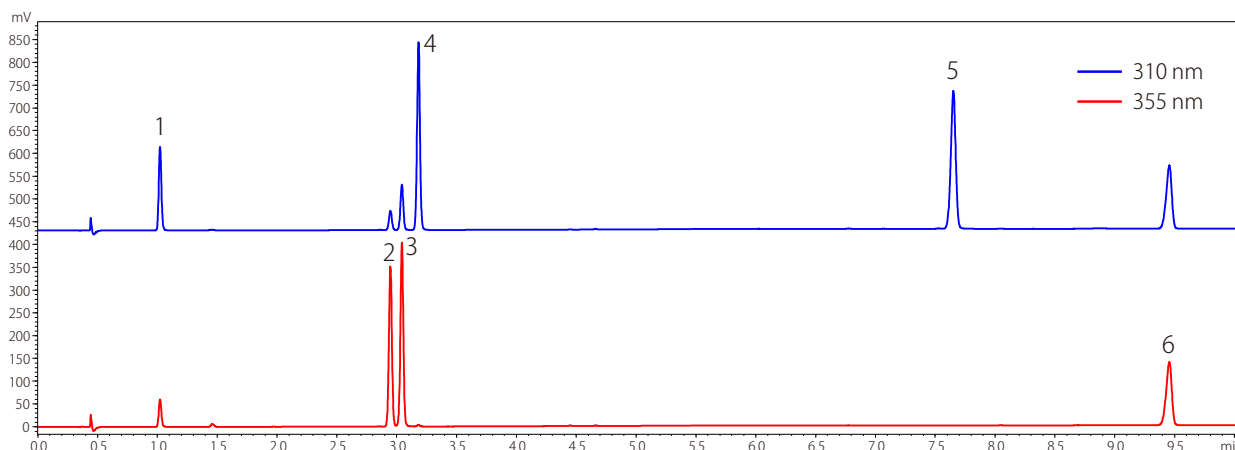
Column	: Shim-pack Velox™ C18 (100 mm L. × 3.0 mm I.D., 2.7 μm)
Mode	: High pressure gradient
Mobile phase	: A) 0.085% Phosphoric acid in water : B) Acetonitrile
Time program	: 60%B (0 min) → 60%B (0.5 min) → 90%B (4 min) → 100%B (10 min) → 60%B (10.01 min) → 60%B (15 min)
Flow rate	: 1 mL/min
Column temp.	: 60 °C
Injection volume	: 1 μL
Detection	: SPD-M40 (190-800 nm)

#### ■ 直線性および再現性

紫外線吸収剤 6 成分の混合標準溶液から、各成分の検量線を作成しました。各成分とも 1、5、25、50、100 mg/L の検量点にて検量線を作成し、その直線性を評価しました。また、100 mg/L における繰り返し分析（n=6）での保持時間および面積の再現性を評価しました。これらの結果を表 2 に示します。全ての成分において寄与率（R<sup>2</sup>）0.9999 以上と良好な直線性が得られました。再現性についても、保持時間、ピーク面積と共に良好なものでした。

表 2 紫外線吸収剤 6 成分の直線性と再現性

No.	Compound	Linearity (R <sup>2</sup> )	Retention time (%RSD)	Area (%RSD)
1	2-hydroxy-4-methoxybenzophenone	0.9999	0.24	0.35
2	4-tert-butyl-4'-methoxydibenzoylmethane	0.9999	0.10	0.34
3	2-ethylhexyl-4-methoxycinnamate	0.9999	0.09	0.29
4	2-[4-(diethylamino)-2-hydroxybenzoyl]benzoic acid hexyl ester	0.9999	0.08	0.33
5	2,4,6-tris[4-(2-ethylhexyloxycarbonyl)-anilino]-1,3,5-triazine	0.9999	0.03	0.30
6	bis-ethylhexyloxyphenol methoxyphenyl triazine	0.9999	0.02	0.33



1. 2-hydroxy-4-methoxybenzophenone 2. 4-tert-butyl-4'-methoxydibenzoylmethane 3. 2-ethylhexyl-4-methoxycinnamate 4. 2-[4-(diethylamino)-2-hydroxybenzoyl]benzoic acid hexyl ester 5. 2,4,6-tris[4-(2-ethylhexyloxycarbonyl)-anilino]-1,3,5-triazine 6. bis-ethylhexyloxyphenol methoxyphenyl triazine

図 1 紫外線吸収剤 6 成分混合標準溶液のクロマトグラム（各 100 mg/L）

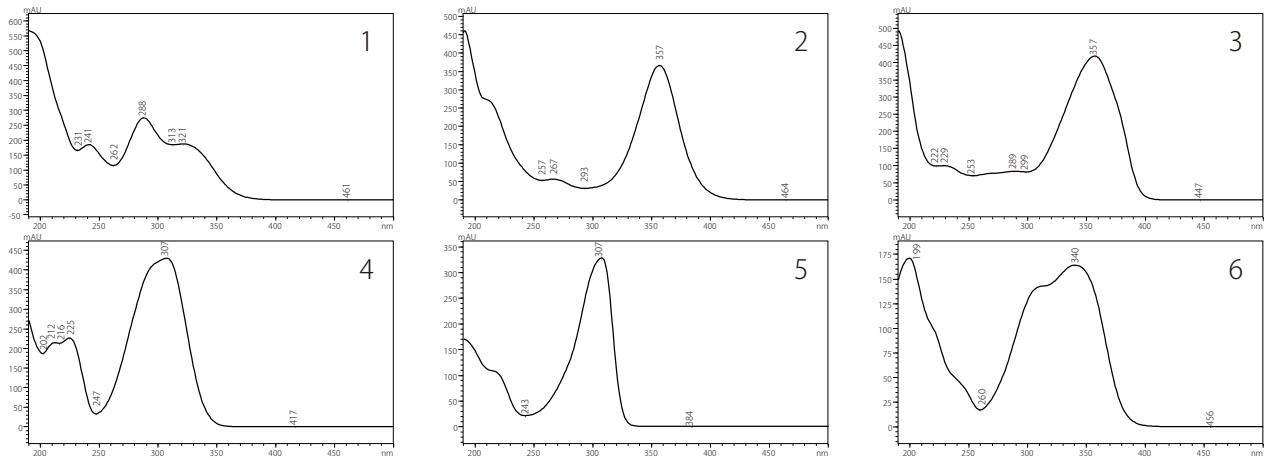


図2 紫外線吸収剤 6 成分の紫外可視吸収スペクトル

### ■化粧品（化粧下地）の分析

市販の化粧下地 100 mg を秤量し、テトラヒドロフラン (THF) 5 mL を加えて超音波抽出した後、遠心分離し、上清 0.5 mL を THF にて 10 mL に定容しました。その溶液を孔径 0.22 μm のメンブランフィルターにてろ過し、分析に供しました。

図 3 に化粧下地のクロマトグラムを示します。今回用いた試料には 3 種の紫外線吸収剤が含まれており、いずれも基準値以下の値でした。

図 4 に、混合標準溶液の分析および化粧品の分析における、化合物 4 の紫外可視吸収スペクトルの重ね書きを示します。標準試料と実試料で同様のスペクトルが得られ紫外可視吸収スペクトルに基づく化合物の定性が可能です。

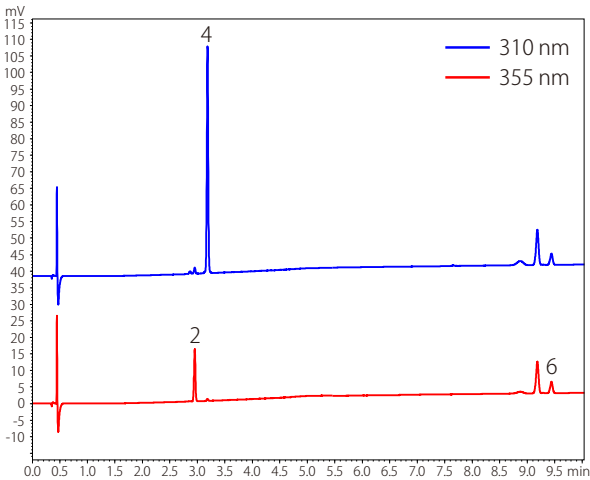


図3 化粧下地のクロマトグラム

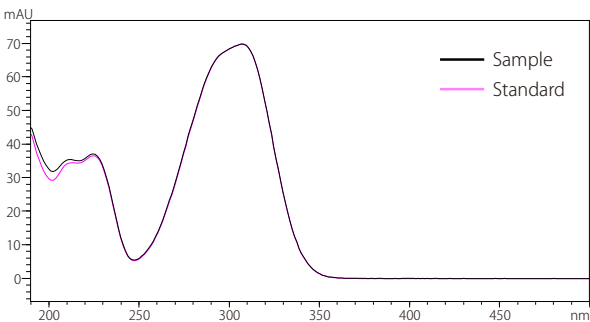


図4 化合物 4 の紫外可視吸収スペクトルの比較

### ■紫外可視吸収スペクトルに基づく定性

HPLC では保持時間を用いて化合物を定性します。したがって、化学構造情報の得られる NMR や LC-MS などと比較して、HPLC は定性が得意ではありません。しかし、フォトダイオードアレイ (PDA) 検出器を用いると、時間情報に加えてスペクトル情報も得ることができ、HPLC でもより信頼性の高い定性が可能になります。

当社製ワークステーション LabSolutions™ では、化合物の紫外可視吸収スペクトルをライブラリに登録することで、未知のスペクトルと比較することができます。また、スペクトルの類似度を見た目ではなく、数値を用いて定量的に評価することも可能です。

100 mg/L での紫外線吸収剤 6 種のスペクトルをライブラリに登録し、各成分 1 mg/L の混合標準溶液および化粧下地のスペクトルをライブラリ内のスペクトルと比較しました。その結果を表 3 に示します。各成分 1 mg/L でのスペクトルは 100 mg/L のものと高い類似度を示しており、このことから広い濃度範囲にて同様のスペクトルが得られることが分かります。また、化粧品含有成分のスペクトルにおいても標準試料のスペクトルと高い類似度を示していることから、類似度を用いた定性が有効な手段であることが分かります。

表3 スペクトルの類似度の比較

No.	Similarity	
	Standard (1 mg/L)	Sample
1	0.999979	-
2	0.991281	0.998648
3	0.999114	-
4	0.999913	0.999988
5	0.999938	-
6	0.999957	0.999991

類似度は 230 nm から 500 nm のスペクトルから算出しています。

### ■まとめ

本稿では、紫外可視吸収スペクトルに基づいた定性法を紹介しました。ここでは、類似度の単純な比較の紹介にとどまりましたが保持時間と類似度との両方でピーク同定をするような設定も可能です。PDA 検出器を用いることで、定性能力を向上させることが可能です。

Shim-pack Velox および LabSolutions は、株式会社 島津製作所の日本およびその他の国における商標です。

**株式会社 島津製作所**

分析計測事業部  
グローバルアプリケーション開発センター

初版発行：2019年8月

島津コールセンター ☎0120-131691  
(075) 813-1691

※本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。改訂版は下記の会員制 Web Solutions Navigator で閲覧できます。

<https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm>

会員制情報サービス「Shim-Solutions Club」にご登録ください。

<https://solutions.shimadzu.co.jp/>

会員制 Web の閲覧だけでなく、いろいろな情報サービスが受けられます。