

化粧品に配合が禁止されている成分の分析法に関する研究：モノフルオロリン酸ナトリウム

内野 正[#], 五十嵐良明, 徳永裕司

Studies for Analyzing the Prohibited Ingredients Such As Disodium Monofluorophosphate in Cosmetics

Tadashi Uchino[#], Yoshiaki Ikarashi and Hiroshi Tokunaga

Disodium monofluorophosphate is one kind of the prohibited ingredients in cosmetics due to the Japanese Pharmaceutical Affairs Act. We established the analytical method for disodium monofluorophosphate in cosmetics by capillary electrophoresis (CE). The tooth paste of 1 g was put into a 50-ml plastic tube. After adding 7.0 mg of disodium monofluorophosphate and 50 ml of milliQ water into the plastic tube, the mixture was ultrasonicated for 10 min. After centrifuging, the supernatant was filtrated through a milli-pore membrane (0.45 μm). After filtration, the solution was put into a 100-ml volumetric flask, made up to 100 ml with milliQ water and used as the test solution. The mouthwash of 1 ml and 7.0 mg of disodium monofluorophosphate were put into a 100-ml volumetric flask, made up to 100 ml with milliQ water and used as the test solution. The testing solution was analyzed by CE. The working curve from 10 to 100 $\mu\text{g/ml}$ showed a linear line between the concentrations of disodium monofluorophosphate and monofluorophosphate peak areas. Detection limit of disodium monofluorophosphate is 0.3 $\mu\text{g/ml}$. There was no interference of peak of monofluorophosphate with the ingredients in the tooth paste and mouthwash.

Key Words: sodium monofluorophosphate, capillary electrophoresis, prohibited ingredients, cosmetics

1. 緒言

平成13年4月1日より、化粧品に使用される成分のポジティブリスト、ネガティブリストの採用及び製品に使用された全成分の表示が義務づけられた。モノフルオロリン酸ナトリウムは Na_2FPO_3 の分子式で表される、分子量143.95の化合物である。歯の再石化作用、抗菌作用、抗酸化作用等を持ち¹⁾、医薬部外品の「薬用歯磨き」として最も多く使用されている。モノフルオロリン酸ナトリウムは平成12年9月29日、厚生省告示第331号の化粧品基準第4条の別表第1²⁾に収載された化粧品に配合が禁止されているフッ素化合物の一種である。分析法としてはキャピラリー電気泳動法³⁾やイオン電極法⁴⁾等での定量が報告されている。今回我々はモノフルオロリン酸ナトリウムの分析法としてキャピラリー電気泳動法を検討し、市販の歯磨き中のモノフルオロリン酸ナトリウムの測定に応用したので報告する。

2. 実験

2.1 装置

Hewlett Packard製3D・CE型キャピラリー電気泳動装置を用いた。

2.2 試薬・試液

モノフルオロリン酸ナトリウムはSigma・Aldrich社製を、無機陰イオン分析用bufferはAgilent社製を用いた。化粧品は市販の歯磨き3種類（ペースト状2種類、液体1種類）を用いた。

モノフルオロリン酸ナトリウム標準原液：モノフルオロリン酸ナトリウム約20 mgを精密に量り、ミリQ水を加えて正確に20 mlとした（1 mg/ml）。

モノフルオロリン酸ナトリウム標準溶液：モノフルオロリン酸ナトリウム原液の一定量を正確に量り、ミリQ水で希釈して1 ml当たりモノフルオロリン酸ナトリウムを10～100 μg 含む溶液を調製した。

2.3 定量法

ペースト状歯磨きの場合：ペースト状歯磨き約1 gを精密に量り、50 mlの遠心チューブに入れ、モノフルオロリン酸ナトリウム約7 mgを精密に量り、50 mlのミリQ水を加えて超音波浴で10分間分散した。その後、3000 rpmで10分間遠心分離し、上澄み液を孔径450 nm

[#]To whom correspondence should be addressed:

Tadashi Uchino; Kamiyoga 1-18-1, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan; Tel: 03-3700-1141 ext.318, Fax: 03-3707-6950; E-mail: uchino@nihs.go.jp

のメンブランフィルターでろ過し、100 mlのメスフラスコに入れてミリQ水で正確に100 mlとし、試料溶液とした。

液体歯磨きの場合：液体歯磨き1 mlを正確に量り、モノフルオロリン酸ナトリウム約7 mgを精密に量り、100 mlのメスフラスコに入れてミリQ水で正確に100 mlとし、試料溶液とした。

試料溶液及びモノフルオロリン酸ナトリウム100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の標準溶液を次の条件でキャピラリー電気泳動法による測定を行い、モノフルオロリン酸のピーク面積値 A_T 及び A_S を求めた。

試料溶液中のモノフルオロリン酸ナトリウムの濃度($\mu\text{g}/\text{ml}$) = $A_T/A_S \times 100$

キャピラリー電気泳動装置の測定条件：

キャピラリー：内径75 μm ，有効長72 cm，

キャピラリー温度：20

泳動用緩衝液：無機陰イオン分析用緩衝液

分析と分析の間のコンディショニング：無機陰イオン分析用緩衝液で4分間キャピラリー

をフラッシング

注入法：加圧法，50 mbar，4 秒

極性：Negative

印加電圧：30 kV (373V/cm)

分析時間：15 min

検出波長：350 nm，バンド幅80 nm

リファレンス波長：245 nm，バンド幅10 nm

3. 結果及び考察

3.1 モノフルオロリン酸のエレクトロフェログラム

モノフルオロリン酸ナトリウム100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の溶液を上記の、陰イオンを分析する際の標準法を用いてキャピラリー電気泳動装置に注入した時のモノフルオロリン酸のエレクトロフェログラムをFig.1に示す。Fig.1にあるように保持時間11分付近にモノフルオロリン酸のピークが検出されたため、泳動用緩衝液やキャピラリー温度などの条件は変更せず、以降の試験を行った。

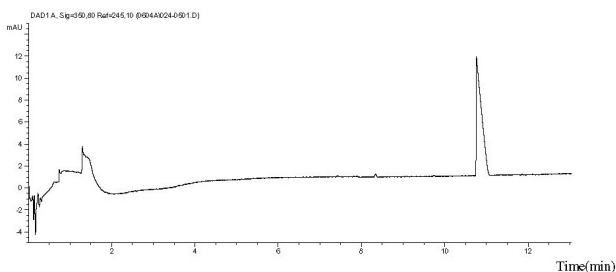


Fig.1 Electropherogram onofluorophosphate in disodium monofluorophosphate

3.2 モノフルオロリン酸ナトリウムの検量線及び再現性

モノフルオロリン酸ナトリウムの濃度を10 ~ 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ とした標準溶液を調製し、キャピラリー電気泳動装置に注入して検量線を作製し、Fig.2に示した。Fig.2から分かるように、モノフルオロリン酸ナトリウムの濃度とピーク面積比には良好な直線関係が成立した。モノフルオロリン酸ナトリウムの10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 及び100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を含む溶液を用い、3回の繰り返し注入を行った時のピーク面積の平均値は7.9及び96.4，相対標準偏差は3.8%及び0.93%であった。なお、S/N = 3での検出限界は0.3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ，S/N = 10での定量下限は1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であった。

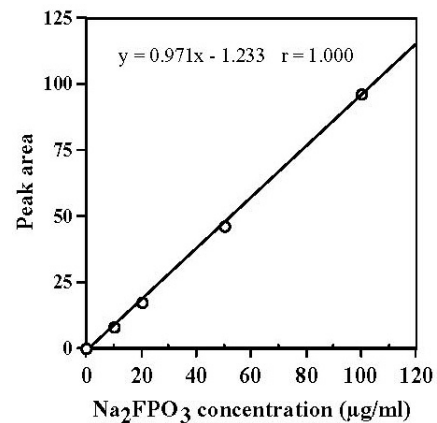


Fig.2 Working curve for disodium monofluorophosphate standard solution

3.3 化粧品への応用

モノフルオロリン酸ナトリウムは薬用歯磨きに添加されて使用されているため、歯磨きを対象品目とした。Fig.3にペースト状歯磨きA及びB 1 g，並びに液体歯磨きC 1 mlにモノフルオロリン酸ナトリウム7.0 mg (フッ素として医薬部外品の上限の1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を含む)を添加した時のモノフルオロリン酸のエレクトロフェログラムを示す。今回検討したペースト状歯磨きA及びB，並びに液体歯磨きCに用いられている賦形剤の妨害もなく，添加されたモノフルオロリン酸が測定出来ることが明らかになった。なお，Fig.3のA・Dに見られる保持時間約8.1分のピークはペースト状歯磨きA及びBに含まれ，かつ液体歯磨きCに含まれていない賦形剤のうち，メチルパラベン及びSDS以外のものであることがわかったが，同定することが出来なかった。

ペースト状歯磨きA及びB 1 gにモノフルオロリン酸ナトリウム7.0 mg，液体歯磨きC 1 mlにモノフルオロリン酸ナトリウム7.0 mgを添加した時の回収率をTable.1に示した。ペースト状歯磨きA及びB，並びに液体歯磨きCにフッ素として0.1%相当量(医薬部外品として上限量)のモノフルオロリン酸ナトリウムを添加し

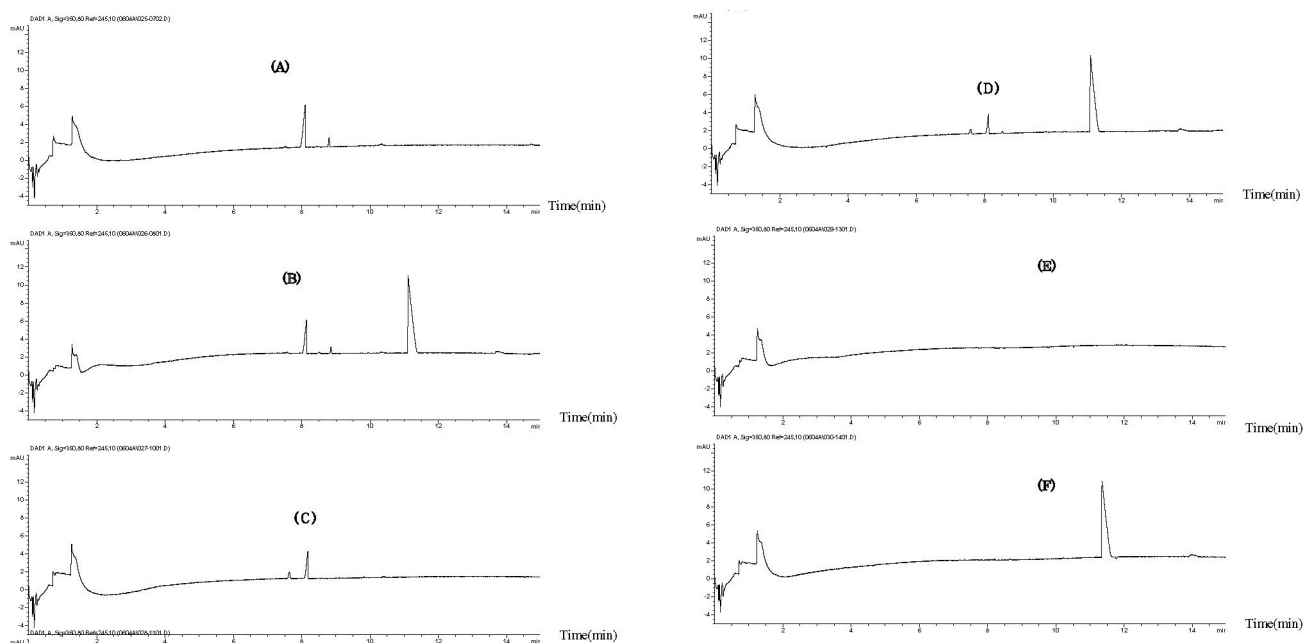


Fig.3 Electropherograms tooth paste and mouthwash (A) tooth paste A, (B) tooth paste A +7 mg/ml disodium monofluorophosphate, (C) tooth paste B, (D) tooth paste B +7 mg/ml disodium monofluorophosphate, (E) mouthwash C, (F) mouthwash C +7 mg/ml disodium monofluorophosphate

Table.1 . Recovery of added monofluorophosphate in disodium monofluorophosphate in tooth paste and mouthwash

| | Toothpaste A | Toothpaste B | Mouthwash C |
|-----------|--------------|--------------|-------------|
| No.1 | 100.7 | 95.1 | 100.0 |
| No.2 | 101.4 | 95.6 | 101.4 |
| No.3 | 100.7 | 93.9 | 100.7 |
| average | 100.9 | 94.9 | 100.7 |
| R.S.D.(%) | 0.4 | 0.9 | 0.7 |

た時、その回収率はそれぞれ、100.9%、94.9%、100.7%であった。一方、モノフルオロリン酸ナトリウムの検出限界より、ペースト状歯磨き中にモノフルオロリン酸ナトリウムが30 $\mu\text{g}/\text{g}$ 、液体歯磨き中に30 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、以上含まれていれば、検出可能である。これらの結果より、今

回確立したキャピラリー電気泳動法により十分に化粧品中のモノフルオロリン酸ナトリウムの分離及び定量が出来ることが明らかになった。

文 献

- 1) 日本歯磨工業会ホームページ, <http://www.hamigaki.gr.jp/hamigaki1/fusso03.html>
- 2) Notification No.331 of Ministry of Health and Welfare dated on September
- 3) Jones, R. W.: *J. Chromatogr.*, **608**, 431,(1992)
- 4) Sato, E. and Tokunaga, H.: "Methods of Analysis in Health Science 2000" eds. by Pharmaceutical Society of Japan, Kanahara Inc., Tokyo, pp.647-648 (2000)