

電気化学検出器付き高速液体クロマトグラフィーによる 染毛剤中のアミノフェノール類の定量

Determination of Aminophenols in hair dyeing agent using high performance liquid chromatograph with electrochemical detector

成田 素子

Motoko NARITA

キーワード：染毛剤, アミノフェノール類, 電気化学検出器, 高速液体クロマトグラフィー

Key Word : Hair dyeing agent , Aminophenols, Electrochemical detector,
High performance liquid chromatography

1. 緒言

近年若者の間では髪を染めるのが当たり前の時代となっており、それがおしゃれの常識にもなりつつある。かつて染毛剤は白髪染めといった一部の人たちしか利用されていなかったが、現在ではあらゆる年齢層で使われているために生産量、消費量が増えている。街中で売られている製品を見ると多くのメーカーから非常に多くの種類が出ており驚かされる。最近の染毛剤の使用者は1000万人をはるかに超えると予測され、全国理美容製造者協会の調査のサロンユーザーweb調査(2002年度版)によると現在のヘアカラー利用者は、約6割、20代では約7割が利用者となっている。それほど私たちに身近な製品となっている。それだけにトラブルも発生しているのが現状である。国民生活センターに寄せられた染毛剤の相談・苦情には、「頭部にコブができた」「目も開かないくらい顔が腫れ上がった」などの皮膚障害や、「誤使用で目に入り角膜剥離が起こった」などの目の障害が多かったと報告されている。そして染毛剤の使用にあたってはパッチテストの必要性などの使用上の注意が書き記してあり、製品によっては

パッチテストに48時間もの時間を毎回要すると書いてある。しかし、実際に行っている人は数少ないのではないだろうか。また、妊娠中または妊娠している可能性のある方は使用しないでくださいとあり、ということは子供にも何らかの影響が考えられるのではないかと考えてしまう。使用者は使用説明書もたいては読まずに使用し、染毛剤中の成分についてもあまり気にしていないのではないだろうか。染料として使用されているフェノール化合物であるアミノフェノール類は環境ホルモンの疑いがあるものが多い。また米国立ガン研究所は、「髪を染めている女性は、ガンの一種であるリンパ腫にかかる危険性が50%も増す」と報告している。東京家政大学的女子学生の多くも髪を染めており将来子供を産む女性として環境ホルモンの影響を考えると非常に心配である。また家庭で手軽に使用できるため使用後の廃液として環境中にも大量に排出されている恐れがある。そこで当研究室では市販染毛剤中に多く使用されている6種のアミノフェノール類がどれくらい含まれているのかについて電気化学検出器付き高速液体クロマトグラフィーにより検討した。

2. 実験

2.1 試薬および装置

試薬：

6種のアミノフェノール類

p-Aminophenol, o-Aminophenol,
m-Aminophenol, 2-Amino-4-nitrophenol,
p-Methylaminophenol sulfate

：和光純薬株式会社製

2-Amino-5-nitrophenol

：東京化成工業株式会社製

移動相溶液溶の試薬

酢酸、酢酸ナトリウム、メタノール (HPLC
用)：和光純薬工業株式会社製

装置：HPLC装置：LKB製2150HPLCポンプ，
BAS製LC-4C アンペロメトリック検出器，
カラム Chemcosorb-ODS-H (15cm×4.6mm)
測定条件：10%メタノール-90%酢酸緩衝溶液
(0.1M, pH4.5)，流量0.8ml/min、電気化学
検出器の設定電位 +0.95V vs. AgCl

2.2 試料

試料としてA社10製品 (A, B, C, D, E, F, G, H, I, J) について、色はA (深い栗色)、B (自然な褐色)、C (自然な黒色)、D (ミルクキャラメル)、E (モカベージュ)、F (キャラメルオレンジ)、G (ハニーブラウン)、H (ナチュラルブラック)、I (ブラウン)、J (ブラウン)、またB社3製品 (A, B, C) について、色はA (やや明るい栗色)、B (栗色)、C (やや濃い栗色)、またC社製品において1製品、A (ナチュラルブラック) について調べた。

試料はそれぞれ0.1g採取したものをメタノール希釈し、HPLCに導入した。得られたクロマトグラムのピーク面積から、検量線を用いて試料中のアミノフェノール類を測定した。

3. 結果及び考察

3.1 HPLC分離条件検討

6種のアミノフェノール類の分離条件を移動

相にメタノール-水溶液系を用いて検討した。移動相の保持値に影響を与える要因としては酢酸緩衝溶液濃度、pH、メタノール含量がある。図1は6種のアミノフェノール類の保持時間に対するメタノール濃度の影響を示した。p-Aminophenol, p-Methylaminophenol, m-Aminophenol, o-Aminophenol, 2-Amino-4-nitrophenol, 2-Amino-5-nitrophenolの順で溶出した。各アミノフェノール類のピークはメタノール含量の増大とともに接近し、メタノール含量50%を越すと重なってしまった。このことから移動相は各ピークがシャープで全ピークが25分以内に溶出するメタノール含量10%とした。

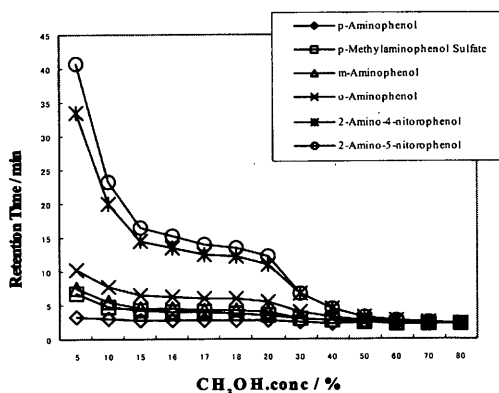


Fig.1 Influence of CH₃OH Content in Mobile Phase on Retention times of six Aminophenols (pH=5.0).

メタノール含量10%として緩衝溶液濃度0.05～0.30Mでは保持値は殆ど一定で緩衝溶液の影響はなかった。緩衝溶液濃度はカラムの寿命を考慮し濃度の低い0.10Mとした。また各ピークの保持時間へのpHの影響はpH4.5～5.5で一般に保持時間が遅くなった。m-Aminophenol、p-Methylaminophenolのピーク同士の接近がみられたが6物質のピークがよく分離するpH4.5とした。

図2はHPLCに一定量の6種のアミノフェノール類を導入したときのハイドロダイナミックボルトモグラムである。どのアミノフェノール類もピーク面積は電位と共に増大し、ある電位以

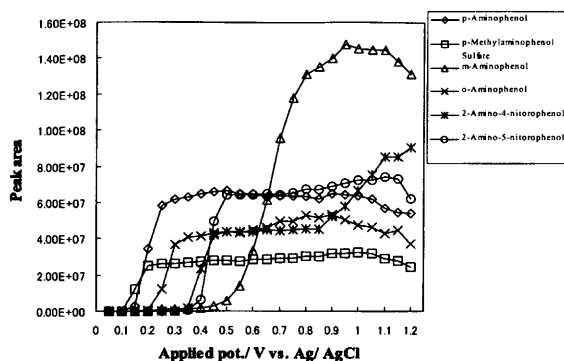


Fig2. Hydrodynamics Voltammograms of Six Aminophenols each Aminophenols 1×10^{-8} g

上では一定となった。そこで電気化学検出器の設定電位は各ピーク面積が一定となり、しかも低い電位である $+0.95$ V vs. Ag/AgCl とした。

以上の実験結果から、測定条件は10%メタノール-90%酢酸緩衝溶液 (0.1M, pH4.5)、流量 0.8 ml/min、電気化学検出器の設定電位 $+0.95$ V vs. Ag/AgCl とした。図2はこの条件で測定した6種のアミノフェノール類の代表的なクロマトグラムである。この条件下で検量線を作成し、市販染毛剤中のアミノフェノール類を定量した。

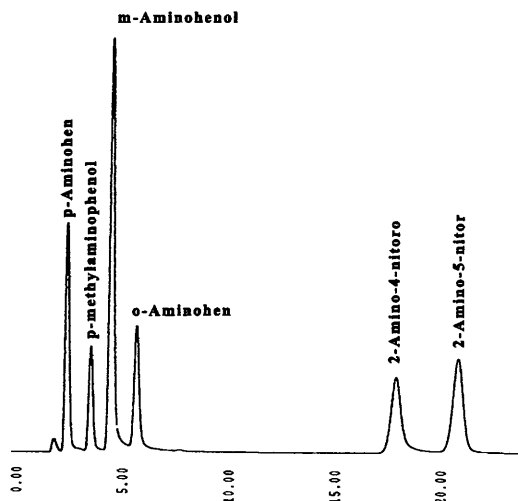


Fig.2 Typical Chromatogram of Six Aminophenols

3.2 検量線の作成

6種のアミノフェノール類の標準溶液を調製し、ピーク面積と溶液の濃度から検量線を作成した。 $1 \times 10^{-9} \sim 1 \times 10^{-7}$ g の濃度範囲で良好な直線 (各検量線とも $R > 0.999$) を示した。ダイナミックレンジは100倍で、最小検出量 300pg であった。また添加回収試験は6物質ともほぼ100%であった。

3.3 市販染毛剤のアミノフェノール類の定量

市販されている14種類の染毛剤について測定した。試料をそれぞれ0.1g採取したものをメタノールで希釈して測定した。図3はB社製品Aやや明るい栗色の染毛剤中のアミノフェノール類のクロマトグラムである。そして表1には染毛剤中のアミノフェノール類の測定結果を示した。染毛剤中のアミノフェノール類は色の濃さによって含有量が異なっていた。濃いものほどアミノフェノール類が多く含まれていた。特に白髪染めにはアミノフェノール類が多く含まれていた。また同じ系統の色の場合は同じアミノフェノール類が含まれていた。(図4) このよ

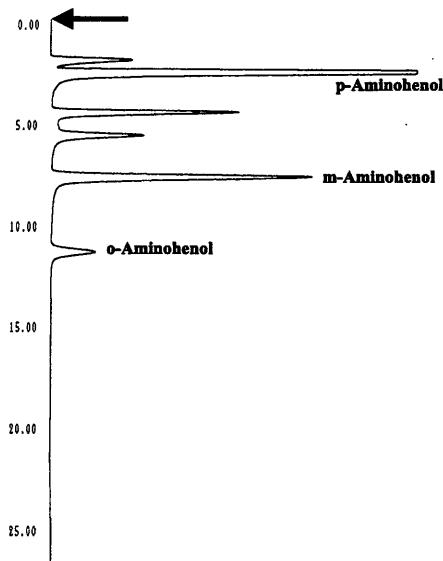


Fig.3 Chromatogram of Aminophenols in hair dyeing agent (B社 製品A やや明るい栗色)

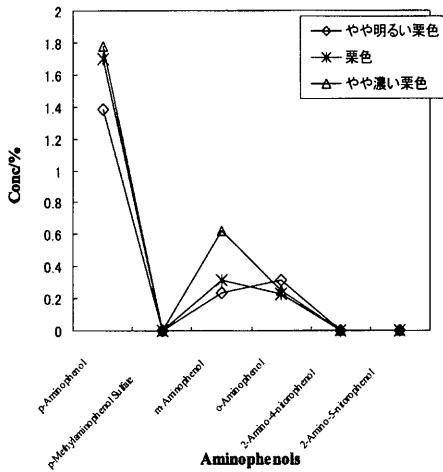


Fig.4 Patterns of Aminophenols content in Chestnut brown hair dyeing agents. (B社)

うに市販染毛剤にはアミノフェノール類がかなり含まれていた。これらアミノフェノール類は環境ホルモン性も疑われており、発ガン性、ア

レルギー性の危険度も高い。手軽に利用することが多い染毛剤にはアミノフェノール類が多く含まれていることが本研究でわかり、十分に注意して使用しなければならないと考えられる。

4. 終わりに

以上本分析法は染色剤中に含まれるアミノフェノール類を測定するのに非常に有効であり、高感度に測定できた。今後これらの結果を用いて河川の濁水中に含まれているアミノフェノール類を固相抽出し、環境中にどれくらい排出されているかを調査していきたい。

5. 謝辞

本研究を進めるにあたり熱心なご指導をしてくださいました環境情報学科 環境分析研究室 村上和雄教授に深謝の意を表します。

Table.1 Aminophenols content (%) in various kinds of hair dyeing agent

	A社 F	A社 G	A社 H	A社 I	A社 J
色	キャラメルオレンジ	ハニーブラウン	ナチュラルブラック	ブラウン	ブラウン
p-Aminophenol	0.39	ND	1.15	1.17	0.13
p-Methylaminophenol Sulfate	0.02	ND	0.0	ND	0.03
m-Aminophenol	0.02	ND	0.18	0.07	0.05
o-Aminophenol	0.03	0.07	0.05	ND	0.07
2-Amino-4-nitrophenol	ND	ND	ND	ND	ND
2-Amino-5-nitrophenol	ND	ND	ND	ND	ND

	A社 F	A社 G	A社 H	A社 I	A社 J
色	深い栗色	自然な褐色	自然な黒色	ミルクキャラメル	モカページュ
p-Aminophenol	0.92	0.28	ND	0.15	0.56
p-Methylaminophenol Sulfate	1.10	ND	ND	ND	ND
m-Aminophenol	ND	0.002	0.76	0.003	0.02
o-Aminophenol	ND	0.04	0.63	0.03	0.03
2-Amino-4-nitrophenol	ND	ND	ND	ND	ND
2-Amino-5-nitrophenol	ND	ND	ND	ND	ND

	A社 F	A社 G	A社 H	A社 I
色	やや明るい栗色	栗色	やや濃い栗色	ナチュラルブラック
p-Aminophenol	1.38	1.70	1.78	ND
p-Methylaminophenol Sulfate	ND	ND	ND	ND
m-Aminophenol	0.23	0.32	0.62	ND
o-Aminophenol	0.31	0.23	0.25	0.11
2-Amino-4-nitrophenol	ND	ND	ND	ND
2-Amino-5-nitrophenol	ND	ND	ND	ND

村上和雄教授に深謝の意を表します。

2) 全国理美容製造者協会

6. 参考文献

[http:// www.nba.gr.jp/2002/index.html](http://www.nba.gr.jp/2002/index.html)

1) 食品と暮らしの安全, 特定非営利活動法人

日本子孫基金 P.9-15

(2002.1 No. 153)

Abstract

In Japan, many youths and old people dye their hair with coloring agent recently. Youths hope that they look like Westerners and old people do that they look like young. The aminophenols which are the dye components in coloring agent are toxic and there is doubt environmental disrupter. We studied the determination of aminophenols in coloring agent with high performance liquid chromatography using electrochemical detector.

Six Aminophenols were separated using Chemcosorb 5-ODS-H(4.6×150mm) as the stationary phase and acetic acid methanol solution (10%-methanol, 0.1M ,pH4.5) as mobile phase. The order of elution was p-Aminophenol, p-Methylaminophenol, m-Aminophenol, o-Aminophenol, 2-Amino-4-nitrophenol, 2-Amino-5-nitrophenol. The potential of electrochemical detector was set at +0.95V vs.Ag/ AgCl. The liner dynamic range was approximately 1×10^{-3} ($1 \times 10^{-9} \sim 1 \times 10^{-7}$ g). The electrochemical detection method enabled to perform highly selective detection of Aminophenols. This method was applied to determination of Aminophenols in hair dyeing agent.