

201403020A

厚生労働科学研究費補助金

地球規模保健課題推進研究事業

(地球規模保健課題解決推進のための研究事業)

## 化粧品中の微量不純物の分析法と実態調査に関する研究

平成 26 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 五十嵐良明 国立医薬品食品衛生研究所

平成 27 (2015) 年 3 月

# 目次

## I. 総括研究報告

化粧品中の微量不純物の分析法と実態調査に関する研究 五十嵐良明	1
------------------------------------	---

## II. 分担研究報告

1. 化粧品中の不純物濃度の実態調査に関する研究 五十嵐良明	7
2. 化粧品中に不純物として含まれる金属の分析に関する研究 秋山 卓美	17

## III. 研究成果の刊行に関する一覧表

## IV. 研究成果の刊行物・別刷

# I. 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金（地球規模保健課題推進研究事業）  
総括研究報告書（平成 26 年度）

化粧品中の微量不純物の分析法と実態調査に関する研究

研究代表者 五十嵐良明 国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部 部長

化粧品中の不純物については、日米欧カナダの化粧品規制当局及び業界団体から成る化粧品規制協力国際会議（ICCR）微量汚染物ワーキンググループにおいて、リスクアセスメント及び品質管理の観点から許容限度値設定に向けた議論が進められている。その設定のための根拠として最終製品の濃度を把握しておくことが重要であり、不純物の分析法の開発及びこれを用いた実態調査が求められている。

ヘッドスペースガスクロマトグラフ／質量分析計を用いた方法を用いて、各種界面活性剤原料及びシャンプー製品の 1,4-ジオキサンの実態調査を行った。同じ名称の原料であっても製造会社によって 1,4-ジオキサン含有量に違いがあり、25 µg/g を超える濃度の原料も認められた。シャンプーに使われる界面活性剤としては、ラウレス硫酸 Na、ラウレス硫酸アンモニウムが多かった。1,4-ジオキサンが定量された製品のほとんどは成分表示でこれら原料の表記が上位にあり、主たる界面活性剤成分となっていた。1,4-ジオキサンが定量限界以下とされた製品には別の界面活性剤名が上位に記されていた。試験した 60 超のシャンプー製品のうち、1,4-ジオキサン濃度が 10 µg/g を超える製品は 3 製品で、検出された量は原料中の濃度や配合量から想定される範囲であった。シャンプー中の 1,4-ジオキサンは特定の界面活性剤以外から由来することはないとされており、安全性の確保のためには界面活性剤原料中の低減化対策が重要と考えられる。

強い毒性を持つ水銀は、最終製品中の不純物としての量的制限勧告がされる予定である。今年度は、簡便な方法で調製した試験溶液を ICP 発光分析装置で分析できるかどうか検討した。硝酸溶液と混合する方法を用いて調製した検液について ICP 発光分析することにより、水銀を検出できることが示された。化粧水をモデル製品として添加回収試験をしたところ、製品により水銀の発光が増強された。このことから、本試験溶液の調製法を用いるときには標準添加法によって定量することが必要であることが判明した。市販化粧水 6 種について標準添加法で定量したところ 1 製品で水銀が定量可能なレベルとなるものがあつた。化粧品の試験を行うには、マトリックス成分の影響を受けない試料溶液の調製、すなわち前処理法の検討が必要と考えられた。

研究分担者

秋山 卓美 国立医薬品食品衛生研究所  
生活衛生化学部 室長

協力研究者

田原麻衣子 国立医薬品食品衛生研究所  
生活衛生化学部

小濱とも子 国立医薬品食品衛生研究所  
生活衛生化学部

## A. 研究目的

日米欧カナダの化粧品規制当局及び業界団体から成る化粧品規制協力国際会議 (ICCR) は、鉛、1,4-ジオキサン、水銀を取り上げ、リスクアセスメント及び品質管理の点から含有限度量を規制する議論を進めている。鉛については推奨文書が ICCR のホームページに掲載され、1,4-ジオキサン及び水銀については現在調整中である。日本は原料の品質管理によって最終製品の品質が確保されるとしているが、国際的な対応のためには今後最終製品での保証が重要となる。そのためには、規定される不純物の分析法の開発、及び規制値設定の根拠となるよう市販製品の実態調査をしておく必要がある。

1,4-ジオキサンについて ICCR 微量不純物ワーキンググループ (Trace WG) は、各国のリスク評価文書の評価、これまで報告されている実態調査結果、及び製造会社での達成可能性を議論した結果、限度値を 25 µg/g、適切な期間のうちに 10 µg/g に設定することで意見が調整されつつある。1,4-ジオキサンはポリオキシエチレン系界面活性剤の製造過程で副生成するとされているが、これまで各国とも規制措置はとっておらず、製品中の実態はほとんど知られていなかった。昨年度、化粧品中の 1,4-ジオキサン分析法として、ヘッドスペース・ガスクロマトグラフィー/質量分析法 (GC/MS) を開発し、多施設共同研究により頑健性を評価した。本年度はこの試験法を用いて、各種界面活性剤原料、及び界面活性剤を主成分として含有するシャンプー製品の分析を行い、1,4-ジオキサン含有量の実態を明らかにすることを目的とした。

水銀については米国とカナダでそれぞれ 1 ppm、3 ppm という規制値が色素原料及び最終製品に設けられ、欧州と日本では意図的な配合を禁止している。日本では有害重金属について総重金属量を 20 ppm 未満として原料の品質管理と最終製品の品質確保をしているが、今後は国際的な対応のため規制値設定の根拠となるデータ収集を行う必要

があり、製造事業者等が自ら試験を行えるように試験法の開発や改良を行うことが必要である。そこで、今年度は既報告を参考に調製した試験溶液を ICP 発光分析装置で分析することで、最終製品において 1 ppm に相当する濃度の定量ができるかどうか検討する。具体的には、水銀の ICP 発光分析装置での検出感度を明らかにするとともに試料前処理法の適用性について確認する。

## B. 研究方法

### 1. ジオキサンの分析

界面活性剤原料としては、ポリオキシエチレンラウリルエーテル硫酸ナトリウム、ポリオキシエチレンラウリルエーテル硫酸アンモニウム液等 5 種類を入手した。シャンプーは、ポリオキシエチレンラウリルエーテル硫酸ナトリウム (ラウレス硫酸 Na)、ポリオキシエチレンラウリルエーテル硫酸アンモニウム (ラウレス硫酸アンモニウム) 等を含む 67 製品を分析した。

昨年度開発したヘッドスペース・ガスクロマトグラフィー/質量分析 (HS-GC/MS) 条件で分析した。すなわち、試料約 1 g をバイアルにとり、各濃度の 1,4-ジオキサン添加内標準溶液を 20 µL ずつ加え密栓し (n=3)、80°C で 20 分間加熱し、ヘッドスペースガスを測定した。添加した 1,4-ジオキサン量を試料採取量で除したものを 1,4-ジオキサン濃度 (µg/g) として横軸に、1,4-ジオキサンと内標準物質とのピーク面積比を縦軸にしてプロットし、得られた回帰式の Y 値が 0 を示すときの X 値を、試料中の 1,4-ジオキサン濃度 (µg/g) とした。

### 2. 水銀分析法の検討

国内で製造されている 6 種の化粧水を試料とし、次の方法で試験溶液を調製した。方法 1: 試料 1.0 g に 18 mL の 12%硝酸を加えて 10 分間の超音波処理を施し、25 mL に定容した。方法 2: 試料 5.0 g に 15 mL の 12%硝酸を加えて 10 分間の超音波処理を施し、25 mL に定容した。ICP 発光分析装置での各金属の測定波長は Hg: 194.16 nm、

As : 228.81 nm、Cd : 214.44 nm、Co : 228.62 nm、Cr : 283.56 nm、Ni : 221.65 nm、Pb : 220.35 nm、Y : 371.02 nm とした。

一定量の金属標準液を添加した試料について、絶対検量線法、内部標準法及び標準添加法で試験を行い、それらの方法での金属の定量結果を比較した。

## C. 研究結果

### 1. 界面活性剤原料及びシャンプー中の 1,4-ジオキサンの実態調査

1,4-ジオキサンは試験した界面活性剤のいずれにも検出されたが、その含有量は製造会社によって大きく異なった。ラウレス硫酸 Na、ラウレス硫酸アンモニウム液、ポリオキシエチレンヤシ油脂肪酸物エタノールアミド硫酸ナトリウムいずれも比較的高い濃度で 1,4-ジオキサンを含有するものが多かった。原料の製造工程で硫酸エステル化が 1,4-ジオキサンの生成に寄与すると考えられていたが、そうした語句のない名称の原料、モノステアリン酸ポリエチレングリコールやポリオキシエチレン硬化ヒマシ油等でも 1,4-ジオキサンが定量された。それぞれの原料でエチレングリコールの付加重合度が異なる製品を分析したが、重合度の違いによる経口は認められなかった。1,4-ジオキサンの含有量が 25 µg/g を超える原料も多く認められた。

シャンプーに使われる界面活性剤としてはラウレス硫酸 Na とラウレス硫酸アンモニウムが多く、1,4-ジオキサンが定量されたシャンプーにはラウレス硫酸 Na またはラウレス硫酸アンモニウムが主成分となっており、定量限界以下とされた製品には別の界面活性剤が使われていた。本試験における定量限界は 0.5 µg/g で、今回試験した中でこれ以下となったものは 23 製品であった。1,4-ジオキサン濃度が 10 µg/g を超えるシャンプーは 3 製品認められ、最高 16.5 µg/g であった。

### 2. 硝酸希釈-ICP 発光分析法による水銀分析

ICP 発光分析装置における水銀 (Hg) 標準液

の検出下限濃度は 0.035 ppm、定量下限は 0.497 ppm であった。

水銀添加化粧水について、12%硝酸と混合して調製する試験溶液の水銀回収率を求めたところ 700~1000%となった。内部標準物質としてイットリウムを用いて補正しても同様であり、また、ヒ素、カドミウム、コバルト、クロム、ニッケルおよび鉛では起こらなかった。水銀特有に製品中の成分により発光が増強されている可能性があった。他 5 種の化粧水で検討したところ、いずれの製品でも回収率の増加が見られたが、製品間で大きな差が見られ、増強効果は製品によって異なることが判明した。

そこで、製品中の Hg 含有量は標準添加法を採用して測定した。標準溶液とのピーク高さを比較したところ、同濃度の添加試料溶液のピーク高が高く、発光の増強が観察できた。1 製品で約 2 ppm の定量値が得られたが、他の製品の Hg 含量は非常に低かった。

## D. 考察

1,4-ジオキサンはポリオキシエチレン系界面活性剤から積極的な除去処理を行わない場合、製品に残存する。日本ではこれまで洗剤等の家庭用品を少数分析した例があるだけで、界面活性剤原料及び界面活性剤を使用する化粧品や医薬部外品の最終製品についてはほとんど情報がなかった。Cosmetic Ingredient Review (CIR) Expert Panel による Alkyl PEG/PPG Ether あるいは PEGylated Alkyl Glycerides に関する報告書では、それぞれに微量の 1,4-ジオキサンが不純物として含まれることが示されている。よって POE アルキルエーテル硫酸塩以外の POE あるいは PEG 鎖を有する界面活性剤原料にも 1,4-ジオキサンが含まれている可能性が考えられた。そこで、POE または PEG 鎖を有する原料を入手し測定した。同じ名称の原料でも数十 µg/g 以上の値を示すものもあれば低い値を示すものもあり、名前の違いが値に関係するわけではなかった。モノステアリン

酸ポリエチレングリコールやポリオキシエチレン硬化ヒマシ油は硫酸塩ではないが、高濃度の1,4-ジオキサンが定量されるものがあった。硫酸化工程だけが1,4-ジオキサンの生成要因でなく、ポリオキシエチレン化が関与していると考えられる。一方で、重合度による違いはなく製造会社が1,4-ジオキサンを意識した除去処理を行っているかどうかに関係すると思われた。

シャンプーは非イオン性界面活性剤が配合され、ポリオキシエチレンラウリルエーテル硫酸ナトリウムはラウレス硫酸 Na、ポリオキシエチレンラウリルエーテル硫酸アンモニウムはラウレス硫酸アンモニウムの表示名称で用いられることが多い。今回試験した67製品のうち1,4-ジオキサンの最高値は16.5 µg/gであった。定量値が得られた製品のほとんどは、ラウレス硫酸 Na の表記が水の次にあり、定量限界以下とされた製品にはオレフィンスルホン酸 Na 等別の界面活性剤名が表記されていた。シャンプーには数十%の界面活性剤が配合されることから、検出された1,4-ジオキサンの濃度は想定される範囲内と思われた。ICCR Trace WG は、各国で行われた1,4-ジオキサンが使われた洗浄製品に対してのリスク評価結果、及びFDA及びNGO団体で実施した分析調査結果から、現状の界面活性剤含有製品はおおよそ安全性が保たれているレベルと考えている。シャンプー中の1,4-ジオキサンは特定の界面活性剤以外から由来することはないとされており、界面活性剤原料の品質向上が製品の安全性確保に重要と考えられる。

水銀化合物の毒性は周知のことであり、化粧品に混入しないよう十分な品質管理がされていると考えられる。化粧品中の水銀量を分析した報告はNGOによるもの以外ほとんどなく、その分析法自体も明確でなかった。化粧品の水銀について、簡便な方法で調製した検液を ICP 発光分析法で定量することを試みた。比較的少量に使用することが考えられるものの、試験溶液の調製が比較的容易と考えられる化粧水をモデル製品として検

討した。はじめに添加回収試験を行ったところ、標準溶液より大きいピークが検出され、試験溶液中の何らかの成分により発光が増強していると考えられた。さらに、他の化粧水の試験溶液では増強の程度が異なること、同じ化粧水でも調製する日が異なると増強の程度が異なることから、製品中の Hg 含量を求めるには標準添加法を行う必要があると考えられた。市販化粧水6種について標準添加法で定量したところ1製品で水銀が定量可能なレベルとなるものがあった。本調製法では以上のように妨害が認められ種々の化粧品に適用するには十分でないことから、今後マトリックスの影響を受けない前処理法の検討及びICP-MS などより選択性の高い検出感度を上げた方法を検討することが必要と考えた。

## E. 結論

各種界面活性剤原料及びシャンプー製品中の1,4-ジオキサンの実態調査を行った。1,4-ジオキサン濃度が25 µg/gを超える原料が認められた。10 µg/gを超えるシャンプーは3製品あった。シャンプーに使われる界面活性剤としてはラウレス硫酸 Na とラウレス硫酸アンモニウムが多く、1,4-ジオキサンが定量された製品はこれらの界面活性剤が主成分となっており、定量限界以下の製品には別の界面活性剤が使われていた。検出された1,4-ジオキサンの濃度は、原料の濃度や配合量から想定される範囲であった。1,4-ジオキサンは特定の界面活性剤以外から由来することはないとされており、界面活性剤原料の品質向上が市販製品の安全性確保に重要と考えられた。

化粧品中の Hg 定量法として、試料を硝酸溶液と混合して試験溶液を調製し ICP 発光分析を行う方法の適用可能性を検討した。Hg の検出は可能であったが、製品によっては Hg の発光強度が増強され、正確な定量が妨害される場合があった。このことから、本試験法を多くの化粧品に応用するには標準添加法によって定量することが必要なことがわかった。今後、マトリックス成分の影響

を受けない試料溶液の調製法等検討する。

**F. 健康危険情報**

なし

**G. 研究発表**

なし

**H. 知的財産権の出願・登録状況**

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし



## II. 分担研究報告

厚生労働科学研究費補助金（地球規模保健課題推進研究事業）

化粧品中の微量不純物の分析法と実態調査に関する研究

分担研究報告書（平成 26 年度）

化粧品中の不純物濃度の実態調査に関する研究

研究分担者 五十嵐良明 国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部 部長  
研究協力者 田原麻衣子 国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部  
小濱とも子 国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部

1,4-ジオキサンは発がん性の可能性が知られ、ポリオキシエチレン系界面活性剤に副生成物として混入する可能性が指摘されており、化粧品規制協力国際会議（ICCR）では化粧品中の許容限度値について議論を進めている。本年度は、昨年度開発したヘッドスペースガスクロマトグラフ/質量分析装置を用いた 1,4-ジオキサンの分析法（HS-GC/MS）を用いて、各種界面活性剤原料、及び界面活性剤を主成分として含有するシャンプー製品の実態調査を行った。原料及び製品中の 1,4-ジオキサンは最低 0.5 µg/g (ppm) まで定量した。1,4-ジオキサンは、ポリオキシエチレンエーテル化合物の硫酸塩に副生成物として含有されるとされているが、名称からは予想できない原料化合物からも検出された。同名称の物質であっても製造会社により定量値には大きな差があった。1,4-ジオキサン濃度が 25 µg/g を超える高濃度で含有する原料も認められており、製造会社によって製法及び 1,4-ジオキサンの低減化に関する考えに違いがあることが示唆された。シャンプー製品は、1,4-ジオキサンを含有する可能性が高いポリオキシエチレンラウリルエーテル硫酸塩を含む製品を中心に、そうでないものも一定数分析した。入手した製品の日本以外の製造国はタイ、中国及びマレーシアで、それぞれ 2 社、2 社及び 1 社の製品であった。1 つの会社で製品ブランド名が異なっても、それら製品の製造国は同一であった。ポリオキシエチレンラウリルエーテル硫酸塩はラウレス硫酸 Na、ラウレス硫酸アンモニウムと表示されていることが多かった。定量値が得られた製品のほとんどは、ポリオキシエチレンラウリルエーテル硫酸塩の表記が水の次の順位にあり、定量限界以下とされた製品には別の界面活性剤名が表記されていた。今回試験した 60 超のシャンプーのうち、1,4-ジオキサン濃度が 10 µg/g を超える製品は 3 製品であった。が、全体としてシャンプー中の濃度は安全性が直ちに危惧される状況ではないと考えた。今回分析した原料が市販シャンプーに配合されているかはわからないが、1,4-ジオキサンの濃度は、原料の配合量から想定される範囲であった。シャンプー中 1,4-ジオキサン濃度の低減化は、原料として配合されるポリオキシエチレンラウリルエーテル硫酸塩の品質を確保することが重要と考えられる。

## A. 研究目的

日米欧カナダの化粧品規制当局及び業界団体から成る化粧品規制協力国際会議 (ICCR) の微量汚染物ワーキンググループ (Trace WG) は、ヒトでの安全性を第一に科学的なリスクアセスメント、品質管理、達成可能性、及び適切な分析法を考慮し、製品中の微量汚染物、鉛、1,4-ジオキサン及び水銀の許容限度値の設定に向けて議論を進めている。

1,4-ジオキサンは PRTR 法 (化学物質排出把握管理促進法) の第1種指定化学物質にも指定されており、動物に対する急性毒性やヒトに対する眼・鼻・咽頭への刺激性、脳・腎臓・肝臓への障害が知られている。また、非遺伝毒性物質であるが、国際がん研究機関 (IARC) は「ヒトに対する発がん性の可能性あり (グループ 2)」と評価している。ICCR Trace WG では各国のリスク評価文書の評価、これまで報告されている実態調査結果、及び製造会社での達成可能性を議論した結果、限度値を 25 µg/g、適切な期間のうちに 10 µg/g に設定することで意見が調整されつつある。

化粧品において界面活性剤は、油性成分の分散、可溶化、浸透、洗浄、発砲、湿潤などの多様な作用をもたらす。種々の界面活性剤のうちポリオキシエチレン系界面活性剤は、その製造過程で 1,4-ジオキサンが副生成するため、意図的に除去処理をしないと界面活性剤に混入すると言われている。しかし、1,4-ジオキサンの製品中含有量はリスク上問題にならないレベルとして、各国とも規制措置はとっていない。そのため界面活性剤を主成分とするシャンプー、ボディソープ、ハンドソープ等製品中の 1,4-ジオキサンの実態は知られていない。また原料成分の種類と製品中 1,4-ジオキサンの濃度との関係も明らかではない。

昨年度、化粧品中の 1,4-ジオキサン分析法として、ヘッドスペースーガスクロマトグラフィー/質量分析法 (GC/MS) を開発し、多施

設共同研究により頑健性を評価した。本年度はこの試験法を用いて、各種界面活性剤原料、及び界面活性剤を主成分として含有するシャンプー製品の実態調査を行った。

## B. 研究方法

### 1. 試薬

1,4-ジオキサン 0.2 g をメタノール 20 ml で溶かしたものを、1,4-ジオキサン標準原液とした。内標準 (IS) はフルオロベンゼン (fluorobenzene, FB)、1,4-ジオキサン- $d_8$  ( $d_8$ ) 及び *p*-ブromofluorobenzene, pBF) をそれぞれが 50 µg/ml 及び 2500 µg/ml となるようメタノールで希釈したものを内標準溶液とした。この内標準溶液 1.0 ml をメスフラスコにとり、1,4-ジオキサン標準原液をそれぞれ 0、25、50、100、250 および 500 µl 加え、さらにメタノールを加えて 10 ml としたものを、1,4-ジオキサン添加内標準溶液とした。なお、試料中の 1,4-ジオキサン濃度が高い場合は 1,4-ジオキサン標準原液の添加量を増加した 1,4-ジオキサン添加内標準溶液を調製して定量に用いた。

### 2. 試料

界面活性剤原料は、ポリオキシエチレンラウリルエーテル硫酸ナトリウム、ポリオキシエチレンラウリルエーテル硫酸アンモニウム液、ポリオキシエチレンヤシ油脂肪酸モノエタノールアミド硫酸ナトリウム液、モノステアリン酸ポリエチレングリコール、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油についてそれぞれ数社ずつの製品を日本化粧品工業連合会から供与された。

シャンプーは、1,4-ジオキサンを含有する可能性が高いポリオキシエチレンラウリルエーテル硫酸ナトリウム (ラウレス硫酸 Na) またはポリオキシエチレンラウリルエーテル硫酸アンモニウム (ラウレス硫酸アンモニウム) を含む製品を中心に、そうでない製品も入れ

た計 67 種の製品を、2012 年から 2014 年に東京都及び神奈川県内のスーパー及び薬店等から購入した。

### 3. 装置及び器具

ヘッドスペースサンプラーは PerkinElmer 社製 TurboMatrix 40 を、ガスクロマトグラフ／質量分析計 (GC/MS) は島津製作所製 GCMS-QP2000Plus を用いた。PerkinElmer 社専用ヘッドスペースバイアルを用いた。

### 4. 試料の調製

試料約 1 g をバイアルに精密にはかり、各濃度の 1,4-ジオキサン添加内標準溶液を 20  $\mu\text{L}$  ずつマイクロシリンジで加え、ただちにセプトラムとアルミキャップで密栓した。各 1,4-ジオキサン添加量につき 3 本ずつ用いた。試料は用事調製を行い、調製後、直ちに測定に供した。

### 5. 定量

バイアルを 80°C で 20 分間加熱し、0.1 分間 110°C に加熱したニードルで 1 分間加圧後、ヘッドスペースガスを採取、下記条件のヘッドスペースガスクロマトグラフ／質量分析計に注入し、得られたそれぞれのピークの保持時間と質量スペクトルを比較して定性した。それぞれのモニターイオンにおける 1,4-ジオキサンと内標準物質のピーク面積比を求めた。バイアルに添加した 1,4-ジオキサン量を試料採取量で除したものを 1,4-ジオキサン濃度 ( $\mu\text{g}/\text{g}$ ) として横軸に、1,4-ジオキサンと内標準物質とのピーク面積比を縦軸にして、プロットした。これらのプロットから近似式を作成し、得られた回帰式の Y 値が 0 を示すときの X 値を、試料中の 1,4-ジオキサン濃度 ( $\mu\text{g}/\text{g}$ ) として算出した。

ガスクロマトグラフィー/質量分析の条件

カラム：6 % cyanopropylphenyl - 94 % methylpolysiloxane (0.25 mm i.d.  $\times$  60 m, 膜厚 1.40  $\mu\text{m}$ , InertCap 624, GL Science)

カラム温度：40°C (1 min), 40~240°C (8°C/min, 昇温), 240°C (3 min)

注入口温度：200°C

キャリアーガス：He, 1.5 mL/min

注入方式：スプリット/スプリットレス

イオン化法：電子イオン化法 (EI)

イオン化電圧：70 eV

イオン源温度：200°C

インターフェース温度：200°C

検出法：スキャン法 ( $m/z$  40~300) / 選択イオン検出法 (SIM)

モニターイオン：1,4-ジオキサン ( $m/z$  88), 1,4-ジオキサン- $d_8$  ( $m/z$  96), フルオロベンゼン ( $m/z$  96), *p*-ブロモフルオロベンゼン ( $m/z$  95)

## C. 研究結果

### 1. 界面活性剤原料の分析

ポリオキシエチレンラウリルエーテル硫酸ナトリウムは 8 社の 10 製品を分析した。このうち最も低い 1,4-ジオキサン濃度は 3.9  $\mu\text{g}/\text{g}$  で、10  $\mu\text{g}/\text{g}$  未満の値を示す原料は 3 製品であった。残りはいずれも 20  $\mu\text{g}/\text{g}$  以上で、最高は 48.9  $\mu\text{g}/\text{g}$  を示した。同じ会社の別製品については類似の値を示す製品もあれば、かなり差のある会社の製品もあった (表 1)。

ポリオキシエチレンラウリルエーテル硫酸アンモニウム液は 2 社から入手したものであるがいずれも 50  $\mu\text{g}/\text{g}$  以上と高い定量値を示した。ポリオキシエチレンヤシ脂肪酸モノエタノールアミド硫酸ナトリウム液 3 製品についても同様に高く、31.4~50.3  $\mu\text{g}/\text{g}$  であった。モノステアリン酸ポリエチレングリコール 1 製品に 1,4-ジオキサンは検出されなかった。モノステアリン酸ポリエチレングリコールは、3 社のそれぞれエチレングリコールの付加重合度が異なる製品を分析した。重合度による傾向は認められず、1 社の製品は低い値を示した。ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油についてもエチレングリコールの重合度が異なる 2 成分を対象とし、それぞれ 5~6 社の製品を分析した。本成分についても 0~33.2

µg/g と大きく差が認められたが、重合度よりは製造会社による差が大きかった。

## 2. シャンプーの分析

ポリオキシエチレンラウリルエーテル硫酸ナトリウム、ラウレス硫酸 Na、ポリオキシエチレンラウリルエーテル硫酸アンモニウム、ラウレス硫酸アンモニウムが成分表示に含まれる製品を中心に、そうでない製品、あるいは前述の界面活性剤の表示がある製品も含めた計 67 製品を購入し分析した。入手した製品の製造国については、日本以外はタイ、中国、マレーシアがあった。1 社が複数の国で製造しているものはなかった。複数ブランドの製品が対象となったのは 11 社で、合計約 40 社の製品を分析した。

本分析における定量限界は 0.5 µg/g で、これ以下のものは検出せず (nd) とした。今回入手したシャンプー製品で 1,4-ジオキサンが定量限界値以下となったものは 23 製品であった。1,4-ジオキサン量が 10 µg/g を超えるシャンプーは 3 製品あり、最高は 16.5 µg/g であった (表 2)。

## D. 考察

1,4-ジオキサンはポリオキシエチレン系界面活性剤の製造過程で副生成することが知られており、積極的な除去処理を行わない場合その界面活性剤に残存する。洗浄用化粧品や医薬部外品のうちシャンプーなどでは、非イオン性界面活性剤のポリオキシエチレンラウリルエーテル硫酸ナトリウムを配合する製品が多い。1,4-ジオキサンは一定の揮発性を有するため、これを含む界面活性剤が使われたシャンプーを使用すると、消費者は 1,4-ジオキサンに経皮及び吸入曝露される。IARC は 1,4-ジオキサンを「ヒトに対する発がん性の可能性あり (グループ 2)」と評価している。これをもってポリオキシエチレン系界面活性剤を使用する製品を危険とする向きがあるが、製品レベルで本物質のリスク評価を行い正し

い判断を示すことが必要である。ICCR Trace WG は、各国で行われた 1,4-ジオキサンが使われた洗浄製品に対してのリスク評価結果、及び FDA 及び NGO 団体で実施した分析調査結果から、現状の界面活性剤含有製品はおおよそ安全性が保たれているレベルと考えている。しかし、できるだけ毒性のある物質の含有量は減らすべきであることとして、最終製品中の 1,4-ジオキサンの推奨限量を定めるよう議論された。25 µg/g あるいは 10 µg/g という数値案が出されているが、リスク評価方法や達成可能性について意見があり確定していない。

日本ではこれまで洗剤等、少数の家庭用品を分析した例があるだけで、同様の界面活性剤を使用する化粧品や医薬部外品製品についてはどのくらい 1,4-ジオキサンが存在するのかほとんど情報がなかった。日本は原料の品質管理によって製品の品質も確保されるしており、一方で 1,4-ジオキサンの基準規制はなくリスクも考慮すべきレベルではないと考えていたため、国内の市販製品や原料について大規模に調査した報告はなかった。今回、製品の 1,4-ジオキサン分析法を開発し、妥当性のある試験法であることが確認した。多数の製品について示された数値は精度高い検査法で得られたものであり、国内の実態を正確に把握する結果として有用と考える。

昨年度、ポリオキシエチレンラウリルエーテルとその硫酸塩の界面活性剤原料の 1,4-ジオキサン検出量を比較したところ、ポリオキシエチレン (POE) アルキルエーテル硫酸塩の方が多く、硫酸エステル化の製造工程において副生成物として 1,4-ジオキサンが生成する可能性を考えた。しかし Cosmetic Ingredient Review (CIR) Expert Panel による Alkyl PEG/PPG Ether あるいは PEGylated Alkyl Glycerides に関する報告書では、それぞれに微量の 1,4-ジオキサンが不純物として含まれることが示されている。よって POE

アルキルエーテル硫酸塩以外の POE あるいは PEG 鎖を有する界面活性剤原料にも同様に 1,4-ジオキサンが含まれている可能性が考えられた。そこで、POE または PEG 鎖を有する原料を入手し、開発した方法を用いて 1,4-ジオキサンの濃度を測定した。ポリオキシシの名称がある原料 4 種、ポリエチレングリコールの名称がある原料が 1 種であった。同じ原料でも数十  $\mu\text{g/g}$  以上の高い定量値を示すものもあれば低い値を示すものもあり、原料の種類が定量値に関係するわけではないと考えられた。モノステアリン酸ポリエチレングリコールやポリオキシエチレン硬化ヒマシ油は硫酸塩ではないが、高濃度の 1,4-ジオキサンが定量されるものがあつた。製造工程の硫酸化だけが 1,4-ジオキサンの由来でなく、ポリオキシエチレン化が生成に関与していると考えられる。一方で、重合度による違いはなく、製造会社による差が大きいことから、1,4-ジオキサンを意識した除去処理を行っているかどうかに関係すると思われた。

ポリオキシエチレンラウリルエーテル硫酸ナトリウムはラウレス硫酸 Na、ポリオキシエチレンラウリルエーテル硫酸アンモニウムはラウレス硫酸アンモニウムの表示名称が用いられることが多い。シャンプーにはラウレス硫酸 Na が界面活性剤として用いられることが多いため、これらを成分表示した製品を中心に分析した。したがって、製品の製造会社ごとの品目数と実際の市場でのそれら製品の販売割合とはまったく相関しない。今回入手した製品はほとんど国内製造であつた。67 製品のうち定量限界 ( $0.5 \mu\text{g/g}$ ) 以下となつたものは 23 製品で、 $10 \mu\text{g/g}$  を超えるのは 3 製品あり、最高は  $16.5 \mu\text{g/g}$  であつた。定量値が得られた製品のほとんどは、ラウレス硫酸 Na の表記が水の次にあり、定量限界以下とされた製品にはオレフィンスルホン酸 Na、等別の界面活性剤名が表記されていた。シャンプーには数十%の界面活性剤が配合される。分

析した原料が今回の市販シャンプーに配合されているかはわからないが、検出された 1,4-ジオキサンの濃度は、原料の濃度や配合量から想定される範囲であつた。シャンプー中の 1,4-ジオキサンは特定の界面活性剤以外から由来することはないとされており、これを低減化して安全性を確保するには、界面活性剤原料の品質向上が重要と考えられる。

## E. 結論

昨年度開発したヘッドスペースガスクロマトグラフ/質量分析法(HS-GC/MS)を用いて、各種界面活性剤原料、及び界面活性剤を主成分として含有するシャンプー製品の実態調査を行った。1,4-ジオキサンは POE 系界面活性剤であるが硫酸塩でない原料からも検出された。1,4-ジオキサン濃度が  $25 \mu\text{g/g}$  を超える高濃度で含有する原料も認められており、製造会社によって製法及び 1,4-ジオキサンの低減化に関する考えに違いがあることが示唆された。ポリオキシエチレンラウリルエーテル硫酸塩を含むシャンプー製品を中心に、そうでない製品も合わせた計 67 製品を分析した。ポリオキシエチレンラウリルエーテル硫酸塩はラウレス硫酸 Na、ラウレス硫酸アンモニウムと表示されていることが多かった。定量値が得られた製品のほとんどは、ポリオキシエチレンラウリルエーテル硫酸塩の表記が水の次の順位にあり、定量限界以下とされた製品には別の界面活性剤名が表記されていた。1,4-ジオキサン濃度が  $10 \mu\text{g/g}$  を超える製品は 3 製品であつた。が、全体としてシャンプー中の濃度は安全性が直ちに危惧される状況ではないと考えた。シャンプー中の 1,4-ジオキサンは特定の界面活性剤以外から由来することはないとされており、これを低減化して安全性を確保するには、界面活性剤原料の品質向上が重要と考えられる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

1) 小濱とも子, 五十嵐良明, 田原麻衣子, 林正人, 安田純子, 武知めぐみ, 久世哲也, 高野勝弘, 宮澤法政, 小島 尚, 坂口 洋, 藤井まき子. 1,4-ジオキサン試験法の多施設共同試験と各種界面活性剤中の分析. 第51回全国衛生化学技術協議会年会 (2014. 11)

2) 五十嵐良明, 小濱とも子, 田原麻衣子. 洗淨製品及び界面活性剤中の 1,4-ジオキサンの分析. 日本薬学会第135年会 (2015. 3)

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他知的所有権の取得状況

なし

表 1. 各種界面活性剤中の 1,4-ジオキサンの濃度

外原規名称	化粧品表示名称	製造会社	製品番号	定量値(µg/g)
ポリオキシエチレンラウリルエーテル硫酸 ナトリウム	ラウレス硫酸Na	A		32.8
		B		28.9
		C		7.5
		D	1	40.5
		D	2	43.4
		E		38.2
		F		5.7
		G	1	48.9
		G	2	32.8
		H		3.9
		I	1	11.0
I	2	12.5		
ポリオキシエチレンラウリルエーテル硫酸 アンモニウム液	ラウレス・2硫酸アンモニウム	D	1	56.4
		D	2	66.8
		E		56.0
ポリオキシエチレンヤシ油脂肪酸モノエタ ノールアミド硫酸ナトリウム液	PEG-3ヤシ脂肪酸アミドMEA 硫酸Na	B		31.4
		E		41.3
		J		50.3
モノステアリン酸ポリエチレングリコール	ステアリン酸PEG-30	K		0.0
		J		25.3
		K		0.1
		L		21.0
ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油	PEG-40水添ヒマシ油	J		2.3
		K		0.0
		L		25.3
		M		6.1
		N		19.9
		O		1.9
	PEG-60水添ヒマシ油	K		0.2
		L		14.7
		M		6.5
		N		33.2
		P		1.9



表 2. シャンプー中の 1,4-ジオキサンの濃度

番号	試料		製造国	定量値(μg/g)	ラウレス硫酸Naまたはアンモニウム成分表示順位が5番目以内
	会社記号	試料番号			
1	C		日本	nd	N
2	D		日本	nd	N
3	J	1	日本	nd	N
4	M	1	日本	nd	N
5	CC	1	日本	nd	N
6	II		日本	nd	N
7	CC	2	日本	nd	N
8	NN		日本	nd	N
9	A		日本	nd	N
10	FF	1	日本	nd	N
11	HH		日本	nd	N
12	Z		日本	nd	N
13	E		日本	nd	N
14	BB		日本	nd	N
15	M	2	日本	nd	N
16	K		日本	nd	N
17	Q		日本	nd	N
18	J	2	日本	nd	N
19	KK	1	日本	nd	N
20	MM		日本	nd	N
21	CC	3	日本	nd	N
22	N		日本	nd	N
23	FF	2	日本	nd	Y
24	G	1	日本	0.54	Y
25	JJ	1	日本	0.59	Y
26	U		マレーシア	0.61	Y
27	S		中国	0.62	Y
28	O		日本	0.64	N
29	JJ	2	日本	0.70	Y
30	G	2	日本	0.79	Y
31	JJ	3	日本	0.83	Y
32	G	3	日本	0.84	Y
33	GG	1	日本	0.91	N
34	G	4	日本	1.0	Y
35	G	5	日本	1.3	Y

nd: 定量限界 (0.50 μg/g) 以下.

N: 表示なし, Y: 成分表示あり.

表 2. シャンプー中の 1,4-ジオキサンの濃度 (続き)

番号	試料		製造国	定量値(µg/g)	ラウレス硫酸Naまたはアンモニウム の成分表示順位が 5番目以内
	会社記号	試料番号			
36	OO		日本	1.3	Y
37	I		日本	1.3	Y
38	KK	2	日本	1.7	Y
39	AA	1	タイ	1.9	Y
40	Y	1	日本	2.0	Y
41	Y	2	日本	2.1	Y
42	KK	3	日本	2.2	Y
43	B	1	タイ	2.3	Y
44	AA	2	タイ	2.4	Y
45	F		中国	2.4	Y
46	P		日本	2.4	Y
47	AA	3	タイ	2.4	Y
48	B	2	タイ	2.5	Y
49	DD		日本	2.9	Y
50	AA	4	タイ	3.2	Y
51	LL		日本	3.4	Y
52	M	3	日本	3.5	Y
53	X		日本	3.8	Y
54	GG	2	日本	4.4	Y
55	L		日本	4.7	Y
56	M	4	日本	4.7	Y
57	M	5	日本	5.9	Y
58	R		日本	5.9	Y
59	J	3	日本	6.2	Y
60	M	6	日本	7.0	Y
61	J	4	日本	7.2	Y
62	GG	3	日本	7.8	Y
63	EE		日本	8.0	Y
64	W		日本	9.0	Y
65	H		日本	10.6	Y
66	T		日本	15.7	Y
67	V		日本	16.5	Y

nd: 定量限界(0.50 µg/g)以下.

N: 表示なし, Y: 成分表示あり.

t 厚生労働科学研究費補助金（地球規模保健課題推進研究事業）  
化粧品中の微量不純物の分析法と実態調査に関する研究  
分担研究報告書（平成 26 年度）

化粧品中に不純物として含まれる金属の分析に関する研究

研究分担者 秋山卓美 国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部 室長

研究要旨：

水銀は強い毒性を持つため、米国とカナダでは化粧品の最終製品中の含量が規制され、化粧品規制協力国際会議（ICCR）でも最終製品中の含量で規制すべきとの勧告がなされる可能性がある。今後国際的な対応のためには分析法の開発や規制値設定の根拠となるデータ収集が必要で、製造事業者等が自ら試験を行えるように簡便な試験法に改良する必要もある。今年度は簡便な方法で調製した試験溶液を ICP 発光分析装置で分析できるかどうか検討した。硝酸溶液と混合する方法を用いて調製した検液について ICP 発光分析を行うことにより、Hg の検出ができることが示された。化粧水をモデル製品として使用したところ、製品により Hg の発光が増強され、高感度に検出できる場合があった。この特徴により、定量は標準添加法に限られることが判明した。国内で製造される 6 種の化粧水について標準添加法で定量したところ、5 製品については Hg 含量は非常に小さかったが、1 製品で ICCR Traces WG の勧告で設定している 1 ppm を超える結果となった。

A. 研究目的

日米欧カナダの化粧品規制当局及び業界団体から成る化粧品規制協力国際会議（ICCR）の微量汚染物ワーキンググループ（Trace WG）は、ヒトでの安全性を第一に科学的なリスクアセスメント、品質管理、達成可能性、及び適切な分析法を考慮し、製品中の微量汚染物、鉛、1,4-ジオキサン及び水銀の許容限度値の設定に向けて議論を進めている。

水銀は様々な化学種（元素、無機及び有機化合物）で存在するが、無機水銀は腎臓、元素水銀及び有機水銀は中枢神経に対し特に強い毒性を示す。米国とカナダでそれぞれ 1 ppm、3 ppm という規制値が色素原料及び最終製品に設けられ、欧州と日本では意図的な配合を禁止している。日本では水銀化合物を化粧品に成分として配合することが禁止、医薬部外品原料規格として総重金属量を 20 ppm 未満としており、原料の品質管理に

よって最終製品の品質が確保されるとしていたため、水銀のみについて最終製品に対して規制という考えがなかった。しかし、化粧品のようなグローバルに展開される製品は、地球規模の国際的対応が求められ、最終製品でのチェックや個々の有害金属の精密分析が重要となる。今後国際的な対応のためには分析法の開発や規制値設定の根拠となるデータ収集を行う必要があり、製造事業者等が自ら試験を行えるように試験法に改良を行うことも必要である。

昨年度は、ICCR に参加して情報収集するとともに、近年の水銀分析法や化粧品中の濃度やヒトにおける曝露に関して文献調査を行った。ICCR では、文書の最終化に向けて検討中であるが、Traces WG の勧告に従って化粧品の最終製品において 1 ppm（総水銀換算）に相当する濃度未満に維持されるべきとの勧告がなされる可能性もあることがわかった。近年の化粧品中の水銀に関する報告につ

いて調査した結果、水銀に関しては不検出が多いが、口紅やハーブ化粧品では WHO 基準を超えて含有される製品が存在した。また、美白クリーム製品で  $10^4$  ppm レベルの違反製品が報告されていた。

今年度は既報告を参考に調製した試験溶液を ICP 発光分析装置で分析できるかどうか検討する。特に 1 ppm の Hg を定量出来るかどうか検討する。

## B. 研究方法

### 1. 試薬および試料

金属標準原液は関東化学製の約 1000 ppm 標準溶液を使用した。濃度は Hg : 1001 ppm、As : 1006 ppm、Cd : 999 ppm、Co : 1006 ppm、Cr : 1006 ppm、Ni : 1000 ppm、Pb : 1006 ppm である。内部標準物質として用いたイットリウムは SCP Science 製 100 ppm 溶液である。

硝酸は和光純薬工業製超微量分析用硝酸 (1.42) を超純水で希釈して使用した。

化粧品は国内で製造されている化粧水 A、B、C、D、E および F を用いた。

### 2. ICP 発光分析装置

日立ハイテクサイエンス社製 SPS7800 を使用した。装置のマニュアルに従って下記の 6 種類の測定を行った。①定性モード分析②定量測定条件決定③DL および BEC 測定④絶対検量線法による定量測定⑤内部標準法による定量測定⑥標準添加法による定量測定。

定量測定における各金属の測定波長は Hg : 194.16 nm、As : 228.81 nm、Cd : 214.44 nm、Co : 228.62 nm、Cr : 283.56 nm、Ni : 221.65 nm、Pb : 220.35 nm、Y : 371.02 nm とした。

### 3. 標準溶液

硝酸 (1.42) (=69.3%) 87 mL と水 415 mL を混合して 12%硝酸を調製した。この 12%硝酸を用いて各金属標準原液を希釈して標準溶液とした。

## 4. 化粧品製品中からの検液調製

### (1)方法 1

試料 1.0 g を正確に量り、添加回収試験では金属標準原液または標準溶液を加えた後、18 mL の 12%硝酸を加えて 10 分間の超音波処理を施し、25 mL に定容した。

### (2)方法 2

試料 5.0 g を正確に量り、添加回収試験では金属標準原液または標準溶液を加えた後、15 mL の 12%硝酸を加えて 10 分間の超音波処理を施し、25 mL に定容した。

## C. 研究結果

### 1. 水銀の検出下限および定量下限

本装置における水銀の検出下限および定量下限を検討した。ブランクの標準偏差の 3 倍を DL (Detection Limit) とし、BEC (Background Equivalent Concentration、バックグラウンド等価濃度) を求めて定量下限とすることとした。

ブランクとして水、標準液として 1 ppm Hg の 12%硝酸溶液を使用して測定したところ、DL = 0.035 ppm、BEC = 0.497 ppm であった。メソッドの定量下限は 1 ppm より小さいと考えられた。

### 2. 添加回収試験

化粧水 A を用いて添加回収試験を検討した。検液の調製は内野らの報告に従って行った。試料量は 1.0 g、添加濃度は製品中 25 ppm、検液中 1 ppm とし、絶対検量線法により検液中の Hg 濃度を求め、回収率を算出した。

表 1 に結果を示す。2 本試行し、いずれも約 700%となった。

### 3. 内部標準物質を用いた添加回収試験

検液の粘性が測定値に影響した可能性を考え、内部標準物質を共存させて添加回収試験を行った。試料量は 5.0 g とし、Hg 添加濃度を 1 ppm (検液中 0.2 ppm) または 0 ppm とした。Hg 標準溶液と Hg 添加検液にイットリウムを 1 ppm