

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 $\mu\text{g/g}$ 、適切な期間のうちに 10 $\mu\text{g/g}$ 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 $^{\circ}\text{C}$ 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($\mu\text{g/g}$)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($\mu\text{g/g}$)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団体が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。比較的多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