

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 $\mu\text{g/g}$ （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 $\mu\text{g/g}$ 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。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 $\mu\text{g/g}$ 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かった。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 - 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*-ブロモフルオロベンゼン（*p*-bromofluorobenzene, 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 μL 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 $^{\circ}\text{C}$ で 20 分間加熱し、0.1 分間 110 $^{\circ}\text{C}$ 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 / 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 μm , InertCap 624, GL Science)

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

注入口温度 : 200

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

インターフェース温度 : 200

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*-プ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油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するリスク評価結果、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としており、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った。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る。

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った。67 製品のうち定量限界 ($0.5 \mu\text{g/g}$) 以下となったものは 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。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、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。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ヤシ油脂肪酸アミド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 の成分表示順位が 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.