

化粧品中の防腐剤の検査結果（平成 24－26 年度）及び

一斉分析法の改良

青山愛倫* 田上貴臣* 皐月由香* 川口正美* 沢辺善之*

平成 24－26 年度の 3 年間で収去された化粧品 110 品目中の防腐剤の検査を行った。そのうち 4 品目から配合禁止成分または表示のない成分を検出し、いずれの品目も製造販売業者による自主回収が行われた。また、現在検査で用いている化粧品中の防腐剤の一斉分析法を改良した。

キーワード：化粧品、防腐剤、化粧品基準

Key words：cosmetics, preservatives, Standards for Cosmetics

化粧品に配合されている成分は、「医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律（以後、医薬品医療機器等法）」により全成分を表示するように義務付けられている。化粧品に配合される様々な成分のうち防腐剤は、微生物の増殖を抑制することによって製品の品質を維持するため幅広く使用されている添加物であり、用途や性状等の違いにより数種類が配合されることもある。

大阪府では、化粧品による健康被害の防止のため、健康医療部薬務課によって収去された化粧品の検査を当研究所で行っている。検査内容は、配合禁止成分の有無、防腐剤の配合制限量の超過の有無及び表示義務違反の確認である。化粧品中に配合される防腐剤については、化粧品基準により配合禁止成分と配合制限成分に分類された上で規定されている¹⁾。配合制限成分の上限量は、パラオキシ安息香酸エステル及びそのナトリウム塩：合計量として 1.0%、安息香酸：0.2%、安息香酸塩類：合計量として 1.0%、サリチル酸：0.20%、サリチル酸塩類：合計量として 1.0%、ソルビン酸及び

その塩類：合計量として 0.50%、デヒドロ酢酸及びその塩類：合計量として 0.50%、フェノキシエタノール：1.0%である¹⁾。本報では、平成 24－26 年度に収去された化粧品 110 品目中 4 品目について、配合禁止成分及び化粧品に表示のない成分を検出したので報告する。また、今後の多検体の化粧品の検査に対応するため、化粧品中の防腐剤（配合制限のある防腐剤 11 成分）の一斉分析法の改良が必要であると考えられた。そこで今回、化粧品中の防腐剤の一斉分析法の検討を行い、良好な結果が得られたので併せて報告する。

調査方法

1. 収去検体及び使用した化粧品

平成 24－26 年度大阪府医薬品等収去試験（以後、検査）では、収去された化粧品 110 品目（化粧水 28 品目、乳液 22 品目、クリーム 46 品目、クレンジングオイル 13 品目、浴用液剤〔医薬部外品の浴用剤とは異なる〕1 品目）中の配合制限のある防腐剤 11 成分とホルマリンを検査した。一斉分析法の検討では、国内で市販されている化粧水、乳液、クリームをそれぞれ 3 品目ずつ用いた。

2. 試薬

標準物質として、パラオキシ安息香酸メチル (MP)、パラオキシ安息香酸エチル (EP)、パラオキシ安息香酸プロピル (PP)、パラオキシ安息香酸ブチル (BP)、安息

*大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部 薬事指導課

Examination Results of Preservatives in Cosmetics (April

2012-March 2015) and Improvement of Simultaneous

Analytical Method

By Airin AOYAMA, Takaomi TAGAMI, Yuka SATSUKI,

Masami KAWAGUCHI, and Yoshiyuki SAWABE

表 1 違反化粧品の一覧

収去年度	検体No.	化粧品剤形	検出成分	検出量	違反事項
25	1	クリーム	フェノキシエタノール	0.67%	表示のない成分の配合
	2	クリーム	ホルムアルデヒド	0.034%	化粧品基準に記載のない成分の配合
26	3	乳液	フェノキシエタノール	0.14%	表示のない成分の配合
	4	クリーム	フェノキシエタノール	0.51%	表示のない成分の配合
			ソルビン酸	0.06%	

香酸 (BA)、サリチル酸 (SA)、ソルビン酸 (SO)、デヒドロ酢酸 (DA)、フェノキシエタノール (PE) は和光純薬工業株式会社製を用いた。パラオキシ安息香酸イソプロピル (IPP) 及びパラオキシ安息香酸イソブチル (IBP) はワコーケミカル株式会社製を用いた。また、フェノールフタレイン (PhP) は和光純薬工業株式会社より購入し、内標準物質として用いた。その他試薬はすべて市販品を用いた。

3. 装置及び分析方法

装置は、フォトダイオードアレイ検出器 (PDA) を備えた高速液体クロマトグラフ (HPLC) Alliance HPLC e2695/2998 (Waters 製) を用いた。

平成 24 年度の検査は既報²⁾の分析条件、平成 25・26 年度の検査は既報^{3,4)}の分析条件を用いた。なお、一斉分析法の検討での分析条件は、既報^{3,4)}と同一分析条件に設定した。以下、既報^{3,4)}の分析条件を示す。

カラム：L-column ODS (4.6 mm i.d.×250 mm, 3 µm：化学物質評価研究機構製)

移動相：(A) 5 mM ギ酸アンモニウム (pH4.2)、(B) アセトニトリル

グラジエント条件 (A/B)：75/25 (0-6 min)－50/50 (30 min, 5 min hold)

測定波長：230 nm (スペクトル測定範囲：190－400 nm)

カラム温度：40℃

流速：1.0 mL/min

注入量：10 µL

4. 標準溶液の調製

検査で用いた標準溶液の調製方法は、既報^{2,4)}に従った。一斉分析法の検討での調製は以下に行なった。

各防腐剤約 1.0 g を精密に量り、メタノールで正確に 100 mL とした液を標準原液とした。また、PhP 約 0.1 g

を精密に量り、メタノールで正確に 100 mL とした液を内標準溶液とした。標準原液を 1 mL ずつ正確に取り、メタノールで正確に 20 mL とした。さらに、その液 1 mL を正確に取り、内標準溶液 0.5 mL を正確に加え、メタノールで 10 mL とした液を混合標準溶液とした (各防腐剤 50 ppm)。

5. 試料溶液の調製

検査で用いた試料溶液の調製方法は、既報^{2,4)}に従った。一斉分析法の検討での調製は以下に行なった。

試料約 0.2 g をポリプロピレン製遠心管に精密に量りとった。次に、内標準溶液 0.5 mL を正確に加え、メタノールで 10 mL とし、60 分間超音波抽出を行なった。その後、遠心分離 (3000 rpm, 30 min) し、0.45 µm のメンブランフィルターでろ過した液を試料溶液とした。

結果及び考察

収去された化粧品 110 品目のうち、医薬品医療機器等法及び化粧品基準に違反する化粧品について表 1 に示した。配合上限量を超過する防腐剤を含有する化粧品はなかった。

1. ホルマリンの検出

配合禁止成分であるホルマリンを検出した化粧品は 1 品目 (表 1 中の検体 No.2) であった。当該化粧品のホルマリン (以後、ホルムアルデヒド) について、2,4-ジニトロフェニルヒドラジン法 (HPLC 法)⁵⁾で分析を行なったところ、ホルムアルデヒド同じ保持時間にピークを認め、UV スペクトルが一致した (定量値：0.034%)。分析方法をアセチルアセトン法 (吸光度法)⁵⁾に変更し分析したところ、ホルムアルデヒドと UV スペクトルが一致した (参考定量値：0.037%)。さらに、

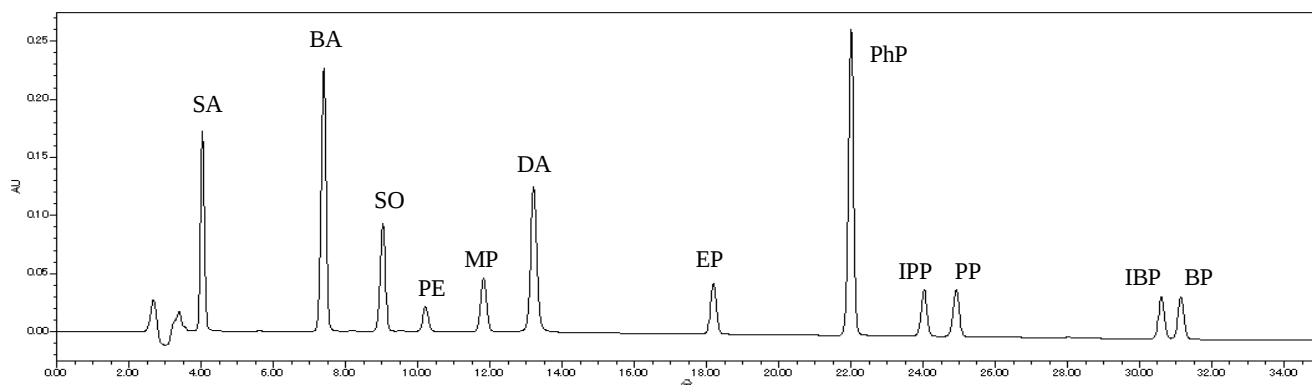


図1 混合標準溶液のクロマトグラム

GC/MS（分析条件は財津らの方法⁶⁾を一部改変したもの）で分析を行ったところ、ホルムアルデヒドと同じ保持時間にピークを認め、また、MS スペクトルもホルムアルデヒドに一致した。当該化粧品の成分表示を確認したところ、ヒドロキシメチルグリシンナトリウム (HMGNa) の表示があり、検出されたホルムアルデヒドは HMGNa 由来であると考えられた。この HMGNa は、分解されてホルムアルデヒドを遊離するホルムアルデヒドドナー型防腐剤の一種であり、化粧品基準では配合が認められている防腐剤ではない。

その後、化粧品基準に記載されていない HMGNa を防腐剤として配合されていたことが判明したため、健康医療部薬務課の指導の下、製造販売業者により自主回収が行われた。現在自主回収は終了している（2015 年 5 月確認）。

2. 化粧品に表示のない成分の検出

化粧品に表示のない成分を検出した化粧品は 3 品目（表 1 中の検体 No.1、3、4）であった。当該化粧品の配合制限成分である防腐剤について、HPLC/PDA で分析を行ったところ、検体 No.1 及び No.3 は PE、検体 No.4 は PE と SO と同じ保持時間にピークを認め、UV スペクトルが一致した。また、GC/MS（分析条件は財津らの方法⁶⁾を一部改変したもの）で分析を行ったところ、検体 No.1 及び No.3 は PE、検体 No.4 は PE と SO と同じ保持時間にピークを認め、MS スペクトルも一致した。

以上の結果より、この 3 検体の化粧品中には、それぞれ表示のない成分を含有すると判断し、健康医療部薬務課に試験結果を報告した。その後、それぞれの化粧品中に表 1 中の検出成分が配合されていたことが判

明したため、健康医療部薬務課の指導の下、製造販売業者により自主回収が行われた。現在自主回収は終了している（2015 年 5 月確認）。

3. 一斉分析法の改良

既報^{3,4)}における試料溶液の調製方法（従来法）では 10 mL のメスフラスコに試料を適切な操作で精密に量り取る必要があるため、多検体の化粧品を一斉分析する場合に効率が良好ではなく最適な方法ではなかった。直近 3 年間の化粧品の搬入数は年間 35 または 40 検体であり、今後においても多検体の化粧品の搬入が予想された。そこで、多検体の化粧品の試験操作を迅速かつ簡便に行うことができるよう内標準物質を用いた分析法の検討を行い、従来法の試料溶液の調製方法を改良することとした。内標準物質の選定条件を、対象防腐剤成分と保持時間が近接しないこと、測定波長 (230 nm) で十分な吸収があること及び医薬品成分など化粧品では配合の可能性が考えにくい成分であることと設定し検討した結果、PhP を内標準物質として選択した。改良法の試料溶液の調製方法は、試料溶液の調製に示した通りである。分析条件については既報^{3,4)}と同一条件とし、直線性、定量限界、真度、精度の検討により分析法としての妥当性を確認することとした。混合標準溶液（各防腐剤 50 ppm）のクロマトグラムを図 1 に示した。

直線性・定量限界：各標準原液を段階的に希釈した液に、内標準溶液 0.5 mL を正確に加え、メタノールで 10 mL とした液を用い、検量線の直線性を検討した。範囲は各防腐剤 1.0–200 ppm、検量点数は 9 点とした。各防腐剤について回帰式（X 軸：対象防腐剤成分/内標

準物質比、Y 軸：ピーク面積比) を求めたところ、原点付近を通る良好な直線性を得た。また、相関係数は 0.999 以上であった。定量限界については、既報³⁻⁴⁾における定量限界 (1.0 ppm) まで定量可能であることを確認した。

真度・精度：各防腐剤を試料に添加し、その回収率を求め、真度及び精度を検討した。試料としては、化粧水、乳液、クリームをそれぞれ 1 品目ずつ用いた。試料約 0.2 g (n = 3) を精密に量り、0.025、0.25、1.0% になるよう各防腐剤標準原液を添加し、内標準溶液 0.5 mL を正確に加え、その後は試料溶液の調製と同様の操作で作製した。その結果、回収率は、94.4－115.6%、相対標準偏差 (RSD) は 2.5%未満であった。既報³⁻⁴⁾での結果 (回収率：92.8－111.9%、RSD4.3%未満) と比べると、回収率はほぼ同等であり、RSD も良好な結果であった。また、試料に各防腐剤原液及び内標準溶液を添加しないブランク溶液を分析したところ、妨害となるピークはなく、特異性も満足いくものであった。

従来法との比較：改良法により化粧品中の防腐剤を定量し、従来法の定量値と比較した。試料としては、化粧水、乳液、クリームをそれぞれ2品目ずつ用いた。結果は表2に示した。従来法と改良法では、検出量はほぼ同等量であり、また、RSDも従来法では0.12－3.44%、改良法では0.12－2.78%と、従来法よりも幅は狭く、良好な結果であるといえた。

表 2 従来法と改良法による分析結果 (n = 3)

	検出成分	従来法		改良法	
		検出量(%)	RSD(%)	検出量(%)	RSD(%)
化粧水①	MP	0.16	0.14	0.15	2.25
	BA	0.15	0.25	0.12	1.17
	PE	0.20	0.56	0.19	2.36
化粧水②	MP	0.10	0.51	0.09	1.18
	EP	0.02	0.74	0.02	2.74
乳液①	MP	0.20	0.26	0.18	0.28
	PP	0.10	0.32	0.09	0.12
	PE	0.20	0.60	0.18	0.28
乳液②	BA	0.01	0.12	0.02	0.81
	PE	0.46	2.33	0.44	1.83
クリーム①	MP	0.14	0.60	0.14	0.70
	PE	0.31	1.05	0.30	0.51
クリーム②	BA	0.003	0.99	0.002	1.62
	SO	0.003	3.44	0.002	2.78
	PE	0.97	0.20	0.97	1.66

以上の結果より、内標準法を用いて化粧品中の防腐剤

の一斉分析が可能であり、試験法としての妥当性を確認した。今回改良した一斉分析法は、試験操作が簡便であり今後の多検体の検査に有用であると考えられた。

結論

平成 24－26 年度の大阪府医薬品等収去試験において、配合禁止成分及び表示のない成分を検出した化粧品が 110 品目中 4 品目あった。4 品目とも製造販売業者による自主回収が行われた。

また、化粧品中の防腐剤の一斉分析法を従来法 (絶対検量線法) より内標準法に変更し、試料溶液の調製を迅速かつ簡便なものに改良した。本法は、今後の多検体の化粧品の分析に有用であると考えられた。

参考文献

- 1) 厚生省：化粧品基準，厚生省告示第 331 号，平成 12 年 9 月 29 日
<http://www.mhlw.go.jp/bunya/iyakuhin/keshouhin/dl/keshouhin-a.pdf> (参照 2015.5).
- 2) 沢辺善之，川口正美：HPLC を用いた化粧品中の防腐剤の定量法，大阪府立公衆衛生研究所研究報告，**47**，33-36 (2009)
- 3) Aoyama, A., Doi, T., Tagami, T., and Kajimura, K.: Simultaneous determination of 11 preservatives in cosmetics by high-performance liquid chromatography, *J. Chromatogr. Sci.*, **52**, 1010-1015 (2014)
- 4) 青山愛倫，浅田安紀子，土井崇広，田上貴臣，梶村計志，沢辺善之：化粧品中の防腐剤の一斉分析について，第 50 回全国衛生化学技術協議会年会 (富山県) 講演集，268-269 (2013)
- 5) 木嶋敬二編：最新香粧品分析法，p.832-836，フレグランスジャーナル社，東京，(1995)
- 6) 財津桂，片木宗弘，中西啓子，志摩典明，鎌田寛恵，鎌田徹，西岡裕，三木昭宏，辰野道昭，岩村樹憲，佐藤貴子，土橋均，鈴木廣一：違法ドラッグとして流通している合成カンナビノイド類の分析，法科学技術，**16**，73-90 (2011)