

化粧品中防腐剤の検査結果（平成16－18年度）と検査法の改良

森 謙一郎, 中 村 義 昭, 大 貫 奈 穂 美, 寺 島 潔,
宮 本 道 子, 荻 野 周 三, 斉 藤 和 夫

**Examination of Antiseptics in Cosmetics (April 2004 - March 2006)
and Improvements in the Analytical Method**

Ken'ichiro MORI, Yoshiaki NAKAMURA, Nahomi OHNUKI, Kiyoshi TERAJIMA,
Michiko MIYAMOTO, Shuzo OGINO and Kazuo SAITO

化粧品中防腐剤の検査結果（平成16-18年度）と検査法の改良

森 謙一郎*, 中村 義昭*, 大貫 奈穂美*, 寺島 潔*,
宮本 道子*, 荻野 周三*, 斉藤 和夫**

Examination of Antiseptics in Cosmetics (April 2004 - March 2006) and Improvements in the Analytical Method

Ken'ichiro MORI *, Yoshiaki NAKAMURA *, Nahomi OHNUKI *, Kiyoshi TERAJIMA *,
Michiko MIYAMOTO *, Shuzo OGINO * and Kazuo SAITO **

Analysis data of antiseptics in 651 cosmetics, obtained in our laboratory between April 2004 and March 2006, were classified and aggregated. The following 24 compounds were studied as cosmetic antiseptics : methylparaben (MP), ethylparaben (EP), propylparaben (PP), isopropylparaben (IP), butylparaben (BP), isobutylparaben (IB), phenoxyethanol (PE), dehydroacetic acid and its salts (DA), sorbic acid and its salts (SO), benzoic acid and its salts (BA), salicylic acid and its salts (SA), isopropylmethylphenol (IM), 3-(4-chlorophenoxy)propane-1,2-diol (CP), methylchloroisothiazolinone/methylisothiazolinone (KS), chlorohexidine (CH), hinokitiol (HO), photosensitizer 201 (P2), p-chlorometaxyleneol (CX), triclosan (TC), benzyl alcohol (BO), benzalkonium chloride (BK), benzethonium chloride (BZ), methylchloroisothiazolinone (MT) and formaldehyde (F). Among these antiseptics, MP was used most frequently, followed by PE and then PP. Based on these results, improvements were made to the routine screening method for cosmetic antiseptics : 10% water was added to the HPLC mobile phase of the official method 1), preparing two standard solutions, one for the eleven compounds MP, PE, EP, PP, IP, BP, IB, DA, SO, BA and SA and the other for the two compounds, CP and IM. This method enabled sufficient separation of MP and PE and rational analysis of the thirteen antiseptics.

Keywords : 化粧品 cosmetics, 防腐剤 antiseptics, パラベン parabene, フェノキシエタノール phenoxyethanol, 液体クロマトグラフィー HPLC

緒 言

薬事法では化粧品に使用できる防腐剤を紫外線吸収剤、色素と同様に配合可能成分リスト（ポジティブリスト）に記載し、「すべての化粧品」、「粘膜に使用されることがない化粧品のうち洗い流すもの」、「粘膜に使用されることがない化粧品のうち洗い流さないもの」および「粘膜に使用されることがある化粧品」といった化粧品種類別に配合上限値を厳密に設定²⁾している。しかしながら防腐剤は当センターにおける化粧品検査で最も違反率の高い項目である。また化粧品に多用される防腐剤の種類は時代とともに変遷していることから、その傾向を把握しつつ検査法を改良する必要があると考え、検討を行った。

今回対象とした防腐剤は、メチルパラベン(MP)、エチルパラベン(EP)、プロピルパラベン(PP)、イソプロピル

パラベン(IP)、ブチルパラベン(BP)、イソブチルパラベン(IB)、フェノキシエタノール(PE)、デヒドロ酢酸およびその塩類(DA)、ソルビン酸およびその塩類(SO)、安息香酸およびその塩類(BA)、サリチル酸およびその塩類(SA)、イソプロピルメチルフェノール(IM)、クロロフェネシン(CP)、メチルクロロイソチアゾリノン・メチルイソチアゾリノン液(KS)、クロロヘキシジン塩類(CH)、ヒノキチオール(HO)、感光素201(P2)、クロロキシレノール(CX)、トリクロサン(TC)、ベンジルアルコール(BO)、塩化ベンザルコニウム(BK)、塩化ベンゼトニウム(BZ)、メチルイソチアゾリノン(MT)及びホルムアルデヒド(F)の計24種類である。

実 験 の 部

1. 化粧品から検出される防腐剤の種類と頻度調査

* 東京都健康安全研究センター医薬品部微量分析研究科 169-0073 東京都新宿区百人町 3-24-1

* Tokyo Metropolitan Institute of Public Health

3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073 Japan

** 東京都健康安全研究センター医薬品部

Table 1. Determination of Antiseptics in Cosmetics (Apr. 2004–Mar. 2006)

No.	Cosmetics	#	Violation #1	N.D. (m) #2	m/n × 100 (%) #3	MP	EP	PP	IP	BP	IB	PE	DA	SO	BA	SA	IM	CP	KS	CH	HO	P2	CX	TC	BO	BK	BZ	MT	F
1	Soap	20	1	19	95											1													
2	Face washer	34		13	38	13	1	4		3		11					1		2										
3	Face make remover	42	1	16	38	20	8	11	1	8	3	14	1		1	1	2	4	2					1					
4	Body shampoo	7	1	2	29	2	1	1		1		2	1		2				1										1
5	Body lotion	14				13	7	7		6	2	8			1	1	1	1	1										
6	Body cream	3				2	2	2		2	1	2																	
7	Body pack	1		1																									
8	Hair shampoo	24	1	4	17	10	2	6	1	2	1	5			8	2	1		3										
9	Hair rinse	22	1	4	18	10	2	5		3		4			2	1			5	1									
10	Hair colorant	18	1	10	56	4			3						1	2													
11	Coloring hair shampoo	2		1								1																	
12	Hair styling	29		9	31	20	2	10			3	14			1	1													
13	Hair treatment	12		4	33	8			3			2																	
14	Hair tonic	1	1			1						1																	
15	Skin Cream	56	2	3	5	42	24	33		17	9	25	1	1	1			1		2	1	1	1						
16	Skin Milk	19		2	11	13	4	6		3	1	10	2	1															
17	Skin Liquid	100	6	18	18	56	13	8		1		37	2	2	3	2		3			3	3			1			1	2
18	Skin Oil	8		8	100																								
19	Shaving cream	8		4	50	5		2				1																	
20	Aftershave lotion	3		1														1								1			
21	Pack	10	2			7	1	4		1		4	1			1													1
22	Powder	5		2	40	3	2	2		3			1																
23	Base cream	5				4	1			1		1																	
24	Foundation	24		4	17	13	5	5		9	1	5	1																
25	Mascara	3				2		1				2																	
26	Eyeshadow	8		2	25	4		5	1	3	1	1	2	2									1						
27	Eyeliners	6		4	67	2		1		1		1																	
28	Perfume, Eau de cologne	18		18	100																								
29	Suntan	1				1	1	1		1		1																	
30	Sunscreen	43	2	4	9	28	5	20	1	3	1	21	1	2	4		3	5											
31	Nailcolor	15	1	9	60										1	1													3
32	Nailcolor remover	12		12	100																								
33	Nailcream	4				3	1	1				2																	
34	Lipstick, Lipcream	34		18	53	3	2	7	1	5	1	4			1														
35	Toothpaste	10	3	3	30	6	1	1		1		4			1														
36	Bath Preparations	11		8	73	3																							
37	Eyelid Adhesives	4				3	1	2	2	3	2	1										1							
38	Eyelid Adhesive Remover	1																											
39	Cheek Color	6		2	33	1	1	2	2	3	3	1																	1
40	Eyebrow	4		2	50	1																							
41	Eyelashes Permanentwave	3		2		1																							
42	Eyelashes Curling	1				1																							
	Total	651	23	209	32	305	87	153	9	85	26	183	13	10	27	13	9	14	13	3	4	5	2	1	1	1	1	2	6

*1 : violation of Japanese pharmaceutical law *2 : samples undetected antiseptics *3 : percentage of samples undetected antiseptics
 MP: methylparaben, EP: ethylparaben, PP: propylparaben, IP: isopropylparaben, BP: butylparaben, IB: isobutylparaben, PE: phenoxyethanol, DA: dehydroacetic acid and its salts, SO: sorbic acid and its salts, BA: benzoic acid and its salts, SA: salicylic acid and its salts, IM: isopropylmethylphenol, CP: 3-(4-chlorophenoxy)propane-1,2-diol, KS: methylchloroisothiazolinone·methylisothiazolinone, CH: chlorohexidine, HO: hino kitilol, P2: photosensitizer 201, CX: p-chlorometaxyleneol, TC: triclosan, BO: benzyl alcohol, BK: benzalkonium chloride, BZ: benzethonium chloride, MT: methylchloroisothiazolinone, F: formaldehyde.

平成 16 から 18 年度の 3 年間に当センターで検査した化粧品 651 検体について、防腐剤検査の結果を化粧品種類別及び防腐剤種類別に分類し、集計した。

2. 防腐剤スクリーニング法の改良

1) 試薬、器具及び装置

BP, PE, DA, SO, BA, SA, CP, CH, CX, BO, BZ, F の標準試薬：和光純薬(株)製, MP, EP, PP, IP, IB, IM, HO, BK：東京化成工業(株)製, KS, MT：ロームアンドハースジャパン(株)製, P2：(株)林原生物化学研究所製, TC：日本チバガイギー(株)製, 液体クロマトグラフ：日本分光(株)製ガリバー, フォトダイオードアレイ検出器：日本分光(株)製 MD-915 型

2) 防腐剤 13 種のスクリーニング法

(1) 試料溶液の調製 試料約 0.4 g を精密に量り、メタノールを添加して超音波浴で分散し、20 mLとした。試料が石けんの場合は水 10 mLを加えて湯煎で溶かし、メタノールを添加して超音波浴で分散し、20 mLとした。ネイルエナメルは酢酸エチル 5 mLで溶かし、メタノール約12 mLを添加してかく拌し、水約 2 mLを加えて超音波

浴で 10 分間分散後、メタノールで 20 mLとした。これらの溶液は 2, 3 時間放置した後、上澄液を 0.45 μmのメンブランフィルターでろ過して試料溶液とした。

(2) 標準溶液の調製 標準溶液はMP, EP, PP, IP, BP, IB, PE, DA, SO, BA, SAの11成分を含む溶液と、CP, IMの2成分を含む溶液の2種類を調製した。PEの濃度は50 ppm, 他はすべて20 ppmのメタノール溶液とした。

(3) HPLC 条件 カラム：Tosoh TSK-GELODS-80TS (4.6mm i.d. × 150 mm), 流速：1 mL/min 移動相：0.02 mol/lりん酸二水素ナトリウム, 0.0018 mol/l塩化セチルトリメチルアンモニウム, 水 500 mL, メタノール 364 mL, アセトニトリル 136 mL, りん酸(1 → 10)182 μL 検出器：フォトダイオードアレイ検出器 注入量：20 μL

結果及び考察

1. 化粧品中防腐剤の検査結果

1) 化粧品中の防腐剤 平成16～18年度に行った化粧品中の防腐剤検査の結果をTable 1に示した。Table 1中の防腐剤の種類と検出数は化粧品容器表示でなく実際の

検査結果に基づいた。これは化粧品容器に複数種の防腐剤の成分表示があっても、全成分が検出されるとは限らないことから、実際の分析結果で定量限界値以上の値を計上した。定量限界値はPEが0.02%，SA, IM, KS, BK, BZが0.01%，パラベンエステル6種, SO, BA, CH, HO, P2, TC, BO, MTが0.005%，DA, CPが0.003%，Fが0.002%とした。

2) 化粧品の種類 防腐剤, 紫外線吸収剤, タール色素等の配合上限規制物質と、それらが配合される化粧品の種類間の相関を検討するために、化粧品の種類はできるだけ詳細に分類した。例えばTable 1の石けん, 洗顔料, メイク落とし, ボディーシャンプーはいずれも洗顔剤であるが、石けんは固形, 洗顔料は液体またはチューブ入りが多く、メイク落としには口紅やファンデーション, マスカラ等の脂溶成分を落としやすい界面活性剤が使われており、ボディーシャンプーには肌に刺激の少ない成分が使われている。このように同様の使用目的であっても、異なる特徴をとらえて可能な限り細分化した。

今回の検査に供した化粧品の中で検査件数が多いものは、化粧水100件, スキンクリーム56件, メイク落とし42件等であった。これらは主要化粧品であり、化粧品の市場流通実態を反映しているかに見える。しかし当センターで行う検査の中には東京都独自の、または国の一斉検査の一環として、その時々を設定した目的に従って化粧品種を選び、数多く検査することがある。例えば紫外線吸収剤は年2～3種類の新規成分が配合許可されることから、毎年恒常的にその検査を行っている。また染毛料成分は医薬部外品の染毛剤成分に類似の構造を持つことから重点的に検査を行った。さらにまつげパーマ, まつげカール剤も法違反の疑いがあるとして一斉検査を行った。これらの理由から、今回検査に供した化粧品の種類別件数割合はわが国の市場流通実態³⁾からは多少偏極している。

3) 防腐剤を含まない化粧品 化粧品651件中442件で防腐剤を検出し、209件で検出しなかった。Table 1中に防腐剤非含有件数の全検査件数に対する比、 $m/n \times 100$ (%)を化粧品の種類別に示した。なお、検査件数が3件以下のものについては評価対象外とした。比の値が100%、すなわちすべての検査検体に防腐剤が使用されていなかった化粧品種はNo.18化粧油, No.28香水, オーデコロンとNo.32除光剤で、以下、No.1石けん(95%), No.36入浴剤(73%), No.31ネイルカラー(60%), No.10染毛料(56%)等が続いた。固体, 粉末の製品, または香水, ネイルカラー等の有機溶剤を成分とする化粧品には防腐剤の配合は不要と考えられる。一方、比の値が0%、すなわち、すべてに防腐剤が入っていた種類はNo.5ボディーローション, No.21パック剤, No.33爪クリームで、以下、No.30日焼け防止剤(9%), No.16乳液(11%), No.8シャンプー(17%), No.9リンス(18%), No.17化粧水(18%)が続いた。

%)が続いた。

日焼け防止剤の多くは防腐剤を含有するが、高濃度の紫外線吸収剤は自身が防腐効果を持つことから、防腐剤を添加していない場合がある。染毛料もヘアカラーに防腐効果があることから、一部に防腐剤を含有しないものがある。また本来、防腐剤不要の化粧品に防腐剤配合表示があり、検査結果も防腐剤を検出しない例が時々あるが、メーカーによる、全成分表示義務に則ったキャリーオーバー対策と考えられる。

4) 検出された防腐剤の種類と検出頻度 Table 1より使用頻度の高い順に防腐剤を並べてTable 2に示した。検出頻度はMPが最も多く、防腐剤配合化粧品442件中、305件(69.0%)で使用されていた。検出頻度の上位はパラベン類が占めているが、2位にPEの183件(41.4%)が入っている。近年パラベンによる乳ガンの発生を示唆する報告⁴⁾があり、パラベン配合化粧品が敬遠される傾向にある。これを背景に「パラベンフリー」を標榜してPEを使用する化粧品が増加している⁵⁾。8位のCPは以前は使用量が少なかったが、Table 1に示したように、No.3メイク落としやNo.30日焼け止め剤への使用が近年目立って増加している。9位のKSは、用途が洗い流す化粧品に限定されるが、No.9リンス, No.8シャンプー等に多用されている。KSの成分である19位MTの最大配合量はKSの1/10であるが、粘膜以外の洗い流さない化粧品にも使用が許可されており、今回2件から検出した。15位Fは化粧品に添加することは禁止されており、No.17化粧水でFを検出した2検体は違反となる。しかし同様にFが検出されても、No.31ネイルカラーでは、容器に「トシルアミド/ホルムアルデヒド樹脂」の表示が有る場合は、樹脂の解重合によるホルムアルデヒド生成として違反にならない。

化粧品には複数の防腐剤を併用して使用する例が少ない。そこで検査結果を複数併用された場合の組み合わせを加味して検出頻度順に集計し、Table 3に示した。ここでもMP, PEの単独使用が多く、次いで3位はMP, PPの併用、4位はMP, PEの併用と続く。6位にはMP, EP, PP, IB, BPのパラベンエステルとPEの6種混合の防腐剤が入り、この混合による防腐剤が広く販売、使用されていることを示している。

2. 防腐剤スクリーニング法の改良

1) HPLC法の改良 著者らは化粧品検査のルーチンワークにおける防腐剤のスクリーニング試験法に衛生試験法防腐剤検査法¹⁾を採用している。対象とする防腐剤の種類はMP, EP, PP, IP, BP, IB, PE, DA, SO, BA, SA, IM及びCPの13種である。今回の調査で最も検出頻度が高かったMPとPEは、HPLCクロマトグラムで保持時間3.2分と3.5分と早く溶出し、またピークは分離しているが近接して妨害ピークの影響を受けやすかった。今回この点の改善を図る目的で、スクリーニング試験法の改良を検討した。その結果、衛生試験法¹⁾の移動相に

Table 2. Number of Antiseptics Detected in 651 Commercial Cosmetics

Ranking Antiseptic (n)		Ranking Antiseptic (n)	
1	MP (305)	12	SO (10)
2	PE (183)	13	IM (9)
3	PP (153)	13	IP (9)
4	EP (87)	15	F (6)
5	BP (85)	16	K2 (5)
6	BA (27)	17	HO (4)
7	IB (26)	18	CH (3)
8	CP (14)	19	CX (2)
9	DA (13)	19	MT (2)
9	SA (13)		
9	KS (13)	Total	(969)

Table 3. Number of Detected Mixed Antiseptics in 651 Commercial Cosmetics

Ranking Antiseptics (n)		Ranking Antiseptics (n)	
1	MP (71)	12	MP/EP/PE (6)
2	PE (47)	13	MP/PP/BP (5)
3	MP/PP (39)	13	BA (5)
4	MP/PE (36)	15	MP/EP/PP/BP (4)
5	MP/PP/PE (21)	15	EP/BP (4)
6	MP/EP/PP/IB/BP/PE (15)	15	KS (4)
7	MP/BP (13)	15	PP (4)
8	PP/BP (12)	15	BP (4)
9	MP/EP (10)	20	MP/EP/PP/BP/DA (3)
10	MP/EP/PP/BP/PE (8)	20	MP/EP/PP/BA (3)
11	EP (7)	20	SA (3)

水を 10% 添加することで PE の保持時間は 3.8 分に、MP は 4.3 分に変化し、十分な分離が確保できた。一方、IM と BP、DA と CP のピークに多少の重なりが生じたが、標準溶液を CP、IM の混合標準溶液と、他の 11 成分の混合標準溶液の 2 種類作製したところ、良好に検査することができた。Fig. 1 に各混合標準溶液のクロマトグラムを示した。本調査 651 件中 IM と BP が重なった例は 2 件、DA と CP は 0 件であり、重なった場合でもクロマトグラムのデータ処理によって定量分析することは可能であった。

2) MP、PE違反検体の精密検査 スクリーニング試験で違反となった検体は被検成分の特性に基づく精密な再検査を行った。MP、PE の精密検査は衛生試験法フェノキシエタノール検査法⁶⁾で行った。また GC/MS による確認試験を行った。測定条件はカラム DB-5 (0.25mm I.D. × 30m)、カラム温度 70 ~ 150 °、イオン化法 EI。

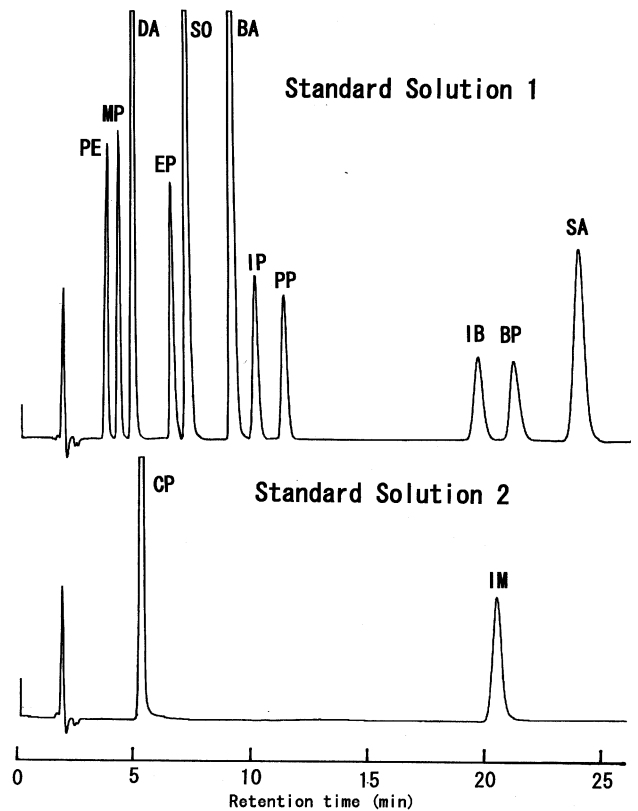


Fig. 1. HPLC Chromatograms of Mixed Antiseptics Standard Solutions
Analysis conditions of HPLC are described in the text.

まとめ

平成 16~18 年度に当センターで行った検査結果を基に、化粧品の種類別に防腐剤配合実態を調査した。その結果、検出頻度が多いものは MP、PE、PP、EP、BP の順であった。また、この結果を基に防腐剤スクリーニング法を改良し、MP と PE が十分に分離できる HPLC 分析条件を得た。

文献

- 1) 日本薬学会編, 衛生試験法・注解 2005, 668-670, 2005, 金原出版, 東京.
- 2) 薬務公報, 第 2079 号, 76, 平成 19 年 1 月 11 日, 薬務公報社, 東京.
- 3) 東京化粧品工業会編, 平成 18 年度事業報告, 5-8, 7, 2007.
- 4) Darbre P.D., Aljarrah A., Miller W.R. et al., *J. App. Toxicol.*, 5, Jan-Feb (2004)
- 5) T. Joseph Lin, *Fragrance J.*, 2, 4 (2007), 2, 6 (2007).
- 6) 日本薬学会編, 衛生試験法・注解 2005, 689-690, 2005, 金原出版, 東京.