

化粧品に配合が禁止されている成分の分析法に関する研究：二硫化セレン

内野 正[#], 五十嵐良明, 徳永裕司

Studies for Analyzing the Prohibited Ingredients Such As Selenium Disulfide in Cosmetics

Tadashi Uchino[#], Yoshiaki Ikarashi and Hiroshi Tokunaga

Selenium disulfide is one kind of prohibited ingredients in cosmetics by the Japanese Pharmaceutical Affairs Act. We established the analytical method for selenium disulfide in cosmetics by ICP-MS. Selenium disulfide of 20 mg was put into a teflon vessel. After adding 5 ml of concentrated nitric acid and 2 ml of the shampoo into the teflon vessel, the mixture was digested with microwave-oven. After digesting, the mixture was made up to 25 ml with milliQ water and then it was filtrated through a milli-pore membrane (0.45 μm). After filtration, the solution was diluted with 7% of nitric acid and used as the test solution. The test solution of 100 μl was analyzed by ICP-MS (HP-4500, monitoring mass 82). The working curve from 10 to 1000 $\mu\text{g/l}$ showed a linear line between the concentrations of selenium and the peak areas. Detection limit of selenium disulfide is 22 $\mu\text{g/l}$. There was no effect of the ingredients in the shampoo on selenium disulfide determination.

Keywords: selenium disulfide, ICP-MS, prohibited ingredients, cosmetics

1. 緒言

平成13年4月1日より、化粧品に使用される成分のポジティブリスト、ネガティブリスト制の採用及び製品に使用された全成分の表示が義務づけられた。二硫化セレンは SeS_2 の分子式で示される分子量143.09の化合物であり、動物用医薬品の有効成分として、フケ取り用のシャンプーに配合されて使用されている。化粧品基準第4条の別表1¹⁾にセレン化合物として化粧品への配合が禁止されている成分として収載されている。この化合物は抗菌作用、抗酸化作用を持ち、1952年にフィリップにより洗浄用シャンプーとしての有効性が発表され²⁾、動物用医薬品の洗浄用シャンプーの有効成分として使用が許可されている。また医薬品としてUSP³⁾やEP⁴⁾ではチオ硫酸ナトリウムによる滴定法³⁾での定量が用いられている。セレンの分析法は誘導結合プラズマ質量分析(ICP-MS)法⁵⁾や中性子放射化分析法⁶⁾が用いられている。化粧品への配合が禁止されている二硫化セレンの分析法として硝酸存在下でマイクロウェーブオーブンで疎解した後、ICP-MS法で分析する方法を検討し、市販化粧品のシャンプーに添加、回収試験を行ったので報告する。

[#]To whom correspondence should be addressed:

Tadashi Uchino; Kamiyoga 1-18-1, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan; Tel: 03-3700-1141 ext.255, Fax: 03-3707-6950; E-mail: uchino@nihs.go.jp

2. 実験

2.1 装置

マイクロウェーブオーブンはCEM社製MRAS5を用いた。使用した装置はHewlett Packard株式会社製HP-4500型ICP-MS装置であった。

2.2 試薬・試液

二硫化セレンは和光純薬製の和光一級品を、セレン標準原液(1000 $\mu\text{g/ml}$)は関東化学製の化学分析用を、イオウは関東化学製試薬特級品を用いた。濃硝酸は和光純薬製有害金属測定用を用いた。化粧品は市販のシャンプー3種類を購入して用いた。

セレン標準溶液：セレン標準原液の一定量を正確に量り、テフロン製分解容器に入れ、濃硝酸5 mlとミリQ水2 mlを加えて2時間以上室温に放置した後、マイクロウェーブオーブンで湿式分解(20分後に80 PSIになるよう加圧、2分間保持)し、ミリQ水で正確に25 mlにした。これを孔径0.45 μm のメンブランフィルターでろ過し、ろ液を7%硝酸で希釈し、1 lあたりセレンを1000 μg を含む溶液を調製した。

イオウ標準溶液：イオウ約25 mgを精密に量り、テフロン製分解容器に入れ、これに濃硝酸5 mlとミリQ水2 mlを加えて2時間以上室温に放置した後、マイクロウェーブオーブンで湿式分解し、ミリQ水で正確に25 mlにした。これを孔径0.45 μm のメンブランフィルターでろ過し、ろ液を7%硝酸で希釈して1 lあたりイオウを

100・1000 mgを含む溶液を調製した。

2.3 定量法

テフロン製分解容器(HP・500)に二硫化セレン20.0 mg(サンプルの粘性が高い場合は10.0 mg)を正確に量り,これに濃硝酸5 mlとサンプル2 ml(サンプルの粘性が高い場合はミリQ水で2倍希釈したサンプル2 ml)を加えて2時間以上室温に放置した後,マイクロウェーブオーブンで湿式分解(20分後に80 PSIになるよう加圧,2分間保持)し,ミリQ水で正確に25 mlにした。これを孔径0.45 μm のメンブランフィルターでろ過し,ろ液を7%硝酸で1000倍希釈して試料溶液とした。テフロン製分解容器にセレン標準原液(1000 mg/l)25 μl を入れ,濃硝酸5 mlとミリQ水2 mlを加えて2時間以上室温に放置した後,同様に湿式分解して7%硝酸で希釈してセレンの濃度が1000 $\mu\text{g/l}$ の標準溶液を調製した。試料溶液及び標準溶液100 μl につき,次の条件でICP・MSによる測定を行い,セレンのピーク面積 A_T 及び A_s を求めた。試料溶液中の二硫化セレンの濃度は以下の計算式により求めた。

試料溶液中の二硫化セレンの濃度($\mu\text{g/l}$)= 試料溶液中のセレン濃度($\mu\text{g/l}$) \times 143.1(二硫化セレンの分子量)/79(セレンの分子量)

$$= A_T/A_s \times 1000 \times 143.1/79$$

ICP・MSの測定条件

RF power:1450W, RF refraction current:5W, Plasma gas current:15 l/min,

Carrier gas current:0.85 l/min, Peri Pump, 0.2 rps,

Monitoring mass: m/z 34(S), 82(Se), Integrating interval:0.1 sec.,

Sampling Period:0.31 sec.

3. 結果及び考察

3.1 前処理条件の検討

二硫化セレンは二硫化炭素に溶けやすく,ベンゼンに可溶だが,水にほとんど溶けず,7%硝酸にもほとんど溶けない。このため当初は湿式分解しないままICP・MS法での測定を試みたが,ICP・MSのクロマトグラムにピークを観察出来なかった。そこで二硫化セレンに濃硝酸を加えてマイルドな条件(20分後に80 PSIになるよう加圧,2分間保持)で湿式分解を行い,セレンイオンとしてICP・MS法による測定を行うこととした。二硫化セレン20.0 mgを湿式分解容器に入れ,5 mlの濃硝酸を加えてマイルドな条件で湿式分解し,ミリQ水で25 mlにメスアップ後,孔径0.45 μm のメンブランフィルターでろ過し,ろ液を7%硝酸で1000倍希釈してICP・MS装置に注入しセレンの分解率を求めた。n = 3での測定の結果,その測定値の平均値が101%を示し,良好な結果を

得ることが出来た。この結果より,二硫化セレンを濃硝酸を加えて前処理する方法を用いることとした。

3.2 二硫化セレンのICP・MSクロマトグラム

二硫化セレン20.0 mgを湿式分解容器に入れ,5 mlの濃硝酸を加えてマイクロウェーブオーブンで湿式分解を行った。冷後,湿式分解後の溶液を25 mlのメスフラスコに移し,容器をミリQ水で洗い容器に合わす。ミリQ水を加えて25 mlとした。これを孔径0.45 μm のメンブランフィルターでろ過し,ろ液の一定量を正確に量り,7%硝酸を加えて希釈し,1 l当り800 μg の二硫化セレンを含む溶液を調製した。この溶液100 μl をICP・MS装置に注入した時のセレンの測定質量数82のICP・MSクロマトグラムをFig.1に示す。なお,この時のイオウのピークは検出限界(イオウの標準溶液を用いて計算。S/N = 3の時で60 mg/l)以下であった。

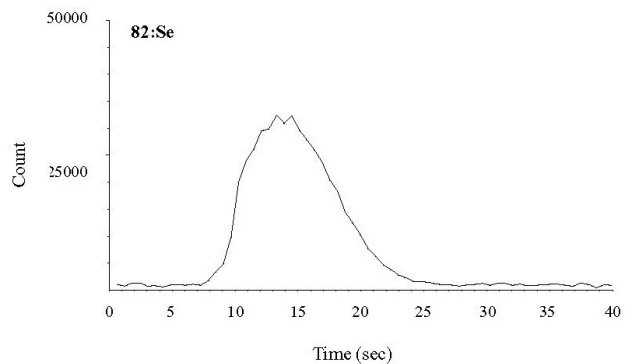


Fig.1 ICP-MS chromatogram for selenium in selenium disulfide

3.3 セレンの検量線及び再現性

セレンの濃度を10 ~ 1000 $\mu\text{g/l}$ とした標準溶液を調製し,その100 μl を用いて検量線を作製し, Fig.2に示した。Fig.2から分かるように,セレン濃度とピーク面積比には良好な直線関係が成立した。セレンの100 $\mu\text{g/l}$ 及び1000 $\mu\text{g/l}$ を含む溶液100 μl を用い,3回の繰り返し注

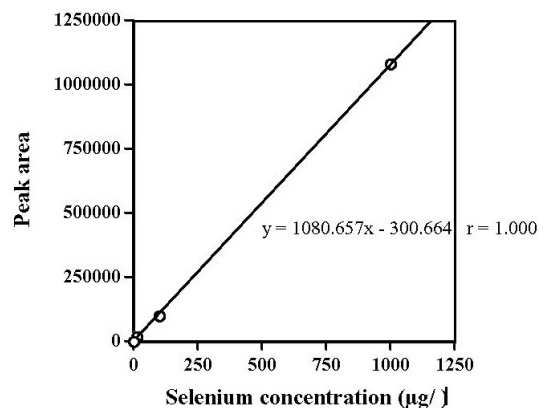


Fig.2 Working curve for selenium standard solution

入を行った時のピーク面積の平均値は98456及び1081206, 相対標準偏差は4.64%及び2.13%であった。またS/N = 3の時の検出限界(標準溶液から求めた値)は10 $\mu\text{g/l}$ であった。

イオウの標準溶液(1000 mg/l)を用いてICP-MS法によるイオウの測定を試みた。イオウの検出限界は60 mg/lと感度が非常に悪く、市販のシャンプーをブランクとして用いた場合、製品由来のイオウのクロマトグラムが観察された。この結果、イオウの定量は行わず、セレンのみの定量を行うこととした。

3.4 化粧品への応用

LeBlancら⁷⁾はPerkin Elmer Sciex Elan 5000型のICP-MS装置を用い、15種類のシャンプーまたはコンディショナーを希硝酸で100倍希釈してその中に含まれるセレンや亜鉛、銅等の微量元素濃度を測定し、報告した。二硫化セレンを含む薬用シャンプーでは140 mg/lのセレンが検出されたが、他は0.12 mg/l以下であったと報告している。

二硫化セレンは動物用医薬品の洗浄用シャンプーの有効成分として使用されているため、化粧品のシャンプーを対象品目とした。テフロン製分解容器に二硫化セレン約10 mgを精密に量って加え、これに濃硝酸5 mlとミリQ水で2倍希釈したシャンプーCの溶液2 mlを加えて2時間以上室温放置した後、マイクロウェーブオーブンで湿式分解した。冷後、容器より溶液を25 mlのメスフラスコに移し、容器をミリQ水で洗い、メスフラスコに合わせた。ミリQ水を加えて25 mlとした。この液を孔径0.45 μm のメンブランフィルターでろ過し、ろ液の一定量を正確に量り、7%硝酸で希釈して1 l当たり800 μg の二硫化セレンを含む溶液を調製した。この液100 μl を用いてICP-MS装置による測定を行い、その結果をFig.3(a)に示した。同様に濃硝酸5 mlとミリQ水で2倍希釈したシャンプーCの溶液2 mlを分解容器に入れ、同様に操作を行い、その結果をFig.3(b)に示した。

Fig.3(b)に示したようにブランクの場合には、セレン由来のピークは観察されなかった。今回検討した他の2種類のシャンプー(A,B)を用いた場合も同様の結果を示した。

今回の二硫化セレンの測定の目的は化粧品(主にシャンプー)への添加が禁止されている二硫化セレンを検出する方法を開発することである。実際、医薬品の有効成分として1%が配合された商品(シャンプー)が市販されていることから、化粧品のシャンプーに1%相当量の二硫化セレンを添加し、医薬品としてシャンプー定量に応用できるかどうかを検討した。シャンプーA~C 2 mlを用いて検討を行った時、その回収率はそれぞれTable.1に示すように、103.5%、93.7%、98.3%であった。

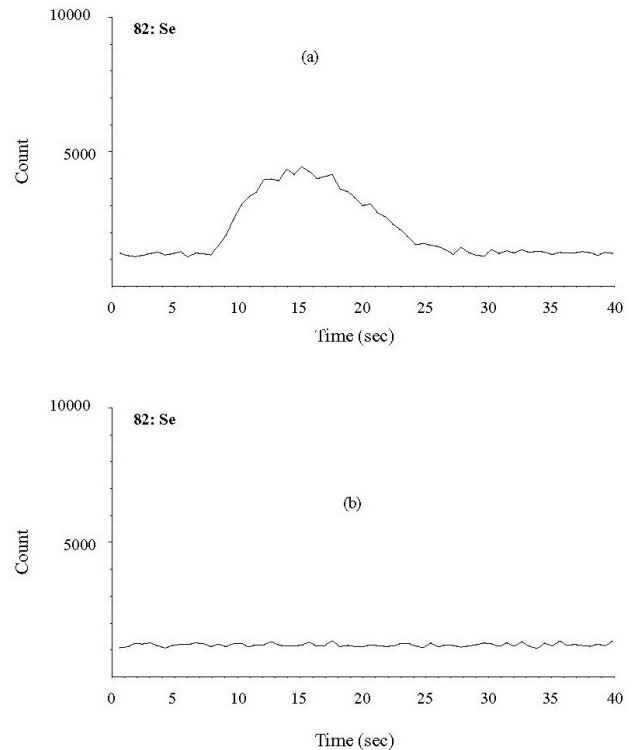


Fig.3 ICP-MS chromatograms for Shampoo C with (a) or without (b) selenium disulfide

なお、B及びCは粘性が高かったためにミリQ水で2倍希釈して湿式分解を行った。一方、二硫化セレンの検出限界、S/N = 3の時での22 $\mu\text{g/l}$ の値を用いた時、シャンプーAでの二硫化セレンの検出限界は275 $\mu\text{g/l}$ 、シャンプーB及びCでは550 $\mu\text{g/l}$ であった。これらの結果より、今回確立したICP-MS法により十分に化粧品中の二硫化セレンの定量が出来ることが明らかになった。

Table.1 . Recovery of added selenium disulfide in Shampoos

	Recovery (%)		
	ShampooA	ShampooB	ShampooC
No.1	103.2	98.9	99.5
No.2	103.3	90.1	96.8
No.3	104.1	92.1	98.6
average (%)	103.5	93.7	98.3
RSD (%)	0.5	4.9	1.4

文 献

- 1) Notification No.331 of Ministry of Health and Welfare dated on September 29, 2000
- 2) 動物医薬品共同組合ホームページ, <http://www.nval.go.jp/vet-cop/sub4/selenium.htm> .
- 3) The United States Pharmacopeia, 29 th Revision, 1957-1958 (2006)
- 4) The European Pharmacopeia, 5 th Ed.,Vol.2, 2401

- (2005)
- 5) Nakamura, K. and Kawamura, Y.: "Methods of Analysis in Health Science 2000" eds. by Pharmaceutical Society of Japan, Kanahara Inc., Tokyo, pp.640 (2000)
- 6) Ramakrishna, V. S.V., Singh, V., and Garg, N. A.: *The Sci. Total Environ.*, **192**, 259-267 (1996)
- 7) LeBlanc A., Dumas, P. and Lefebvre, L.: *The Sci. Total Environ.*, **229**, 121-124 (1999)