

化粧品中の防腐剤の分析：サリチル酸，安息香酸ナトリウム，デヒドロ酢酸ナトリウム，ソルビン酸カリウム，フェノキシエタノール及びパラベン類

五十嵐良明[#]，内野 正，西村哲治

Analysis of preservatives used in cosmetic products: salicylic acid, sodium benzoate, sodium dehydroacetate, potassium sorbate, phenoxyethanol, and parabens

Yoshiaki Ikarashi[#], Tadashi Uchino, and Tetsuji Nishimura

Preservatives are used to inhibit the growth of microorganisms in cosmetic products. The Japanese standards for cosmetics set restrictions on the maximum amount of each preservative added to cosmetics as per the purpose of use of cosmetics. For the investigation into the actual conditions of commonly used preservatives in commercial cosmetics, we analyzed parabens, phenoxyethanol, sodium benzoate, sodium dehydroacetate, salicylic acid, and potassium sorbate by high-performance liquid chromatography (HPLC). Twenty-one samples were obtained from cosmetic product manufacturers located in 14 prefectures in Japan. Among different acid- and salt-based preservatives, sodium benzoate was observed to have been used in many products. These acid- and salt-based preservatives were used with parabens in personal washing products, such as shampoo and soap. The labels of two of the cosmetic product samples displayed inaccurate ingredient information, that is, a preservative other than the one used in the corresponding product was listed on them. The amount of preservatives used did not exceed regulatory limits in any of the analyzed samples.

Keywords: preservative, cosmetics, determination, HPLC

緒言

防腐剤は製品の外部から混入する微生物の増殖を抑え死滅させることによって、製品の劣化を抑制し品質を維持する¹⁾。化粧品はその用途及び性状等の違いによって、様々な防腐剤が選択され添加される。パラオキシ安息香酸エステル類（パラベン類）は毒性が低く皮膚刺激や過敏症なども少ないため、化粧品に最もよく用いられている防腐剤である。また、パラベン類にフェノキシエタノール、安息香酸ナトリウム、サリチル酸のような防腐剤を併用することも多い^{1, 2)}。一方で、防腐効果を持つ天然植物成分を使用し、パラベン等の防腐剤を含まないとの触れ込みで販売される化粧品もある。化粧品に防腐剤を添加することに対して消費者の関心は高く、化粧

品基準ではポジティブリストで、配合できる防腐剤の種類と量を制限している³⁾。

防腐剤の配合に関しては化粧品で最も違反例が多く、これまでも防腐剤の種類を決めて一斉収去を行い、その最大配合量が守られているかどうか検査してきた。過去には化粧水中のパラベン類を定量している。本年度の一斉収去検査では、種々の化粧品中のサリチル酸、安息香酸、ソルビン酸、デヒドロ酢酸及びその塩類を定量することとし、合わせて最もよく用いられるパラベン類とフェノキシエタノールを分析することで、市販製品への使用実態を明らかにすることにした。全国都道府県から一斉収去した種々の化粧品について、衛生試験法・注解化粧品試験法の防腐剤用HPLC条件⁴⁾を若干改良して分析調査した。

[#]To whom correspondence should be addressed:

Yoshiaki Ikarashi; 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan; Tel: +81-3-3700-1141 ext.255, Fax: +81-3-3707-6950; E-mail: ikarashi@nihs.go.jp

実験方法

1. 試料

14の府県からシャンプー、ボディーシャンプー、石け

ん、マスカラ、オードトワレ、化粧水、練り歯磨き、保湿クリーム、入浴剤、ヘアコンディショナー等21品目を収去した (Table 1)。

2. 試薬

メチルパラベン (methyl paraben, methyl *p*-hydroxybenzoate, MP), プロピルパラベン (propyl paraben, *n*-propyl *p*-hydroxybenzoate, PP) 及びヘキサデシルトリメチルアンモニウムクロリド (別名: 塩化セチルトリメチルアンモニウム) は東京化成工業 (株) から購入した。安息香酸ナトリウム (sodium benzoate, BA-Na) は関東化学 (株) から入手した。エチルパラベン (ethyl paraben, ethyl *p*-hydroxybenzoate, EP), フェノキシエタノール (phenoxyethanol, PE), サリチル酸 (salicylic acid, SA), デヒドロ酢酸ナトリウム (sodium dehydroacetate, DA-Na), ソルビン酸カリウム (potassium sorbate, SO-K) 及びリン酸二水素カリウムは和光純薬工業 (株) から入手した。メタノール及びテトラヒドロフラン (THF) は市販HPLC用を用いた。防腐剤はそれぞれメタノールに溶解して標準原液 (約 2000 $\mu\text{g}/\text{ml}$) を調製して保存した。各標準原液を混合及び希釈して約 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の混合標準原液を調製した。

3. 器具及び装置

超音波洗浄機: シャープマニファクチャリングシステム (株) 製 UT205 型

メンブランフィルター: Millipore 社製 Millex-LG (孔径 0.20 μm , PTFE 膜)

高速液体クロマトグラフ (HPLC): (株) 島津製作所製 LC-10AD 型ポンプに SPD-M20A 型フォトダイオードアレイ検出器, CTO-10AC 型カラムオーブン, SIL-10AD 型オートサンプラーを連結して用いた。

4. 試験操作

4.1 試料溶液の調製

試料約 0.4 g を量りとり, 溶媒を加えて正確に 20 ml とし, 10 分間超音波処理して分散させ, メンブランフィルターに通したものを試料溶液とした。濁りが取れない場合は, 10000 rpm で 10 分間遠心した。

4.2 HPLC による定量

試料溶液 10 μl を下記条件⁵⁾ の HPLC に注入し, 得られたクロマトグラム上の各ピークの保持時間及び紫外可視吸収スペクトルを各標準溶液のものと比較した。

Table 1 Preservatives listed on the labels of cosmetic product samples

No.	Use	Salicylic acid	Sodium benzoate	Sodium dehydroacetate	Potassium sorbate	Phenoxyethanol	Parabens		
							Mehtyl	Ethyl	Propyl
1	Shampoo	✓				✓	✓		
2	Mascara			✓					
3	Eau de Toilette		✓				✓	✓	
4	Shampoo		✓				✓		
5	Lotion						✓		
6	Tooth paste		✓				✓		✓
7	Moisturizing cream						✓		✓
8	Bath preparation						✓		
9	Shampoo		✓						
10	Conditioner for hair iron			✓			✓		✓
11	Shampoo	✓	✓ ^{a)}			✓	✓ ^{b)}		
12	Moisturizing cream					✓	✓		
13	Shampoo		✓				✓	✓	✓
14	Body shampoo		✓				✓		
15	Shampoo		✓						
16	Moisturizing cream					✓	✓		✓
17	Hair conditioner		✓			✓	✓	✓	✓
18	Shampoo	✓	✓			✓	✓		✓
19	Soap			✓			✓ ^{c)}		✓ ^{d)}
20	Body shampoo				✓	✓			
21	Shampoo		✓			✓			

a) labeled as salt benzoate

b) labeled as paraben

c) labeled as methyl paraben Na

d) labeled as propyl paraben Na

HPLC条件

カラム：L-column2 ODS (4.6 mm i.d. × 150 mm,
粒径5 μ m, (財) 化学物質評価研究機構)

カラム温度：40 $^{\circ}$ C

移動相：ヘキサデシルトリメチルアンモニウムクロ
リド1.60 g及びリン酸二水素カリウム2.72
gを水500 mlに溶解した後、メタノール400
ml及びTHF100 mlを加えてよく混和し、1
mol/l NaOHを加えてpHを6.8に調製し
た。

流速：1.0 ml/min

検出波長：280 nm

結果と考察

1. 製品の表示

化粧品は配合する全成分を包装等に表示することが義務付けられている³⁾。今回収去されたそれぞれの製品の防腐剤に関する記載をTable 1に示した。酸及びその塩類を防腐剤として配合する製品としてはシャンプーや石けんのように洗い流して使うものが多く、パラベンを併用しているものがほとんどであった。パラベンの中ではメチルパラベンが最もよく用いられ、プロピルパラベン、あるいはフェノキシエタノールと一緒に配合されることも多かった。今回収去した製品では、酸及びその塩類の防腐剤のうち安息香酸ナトリウムが最も多くの製品に使われていた。酸及びその塩類を防腐剤として複数配合する製品は2例だけで、ほとんどはどれか1種であった。

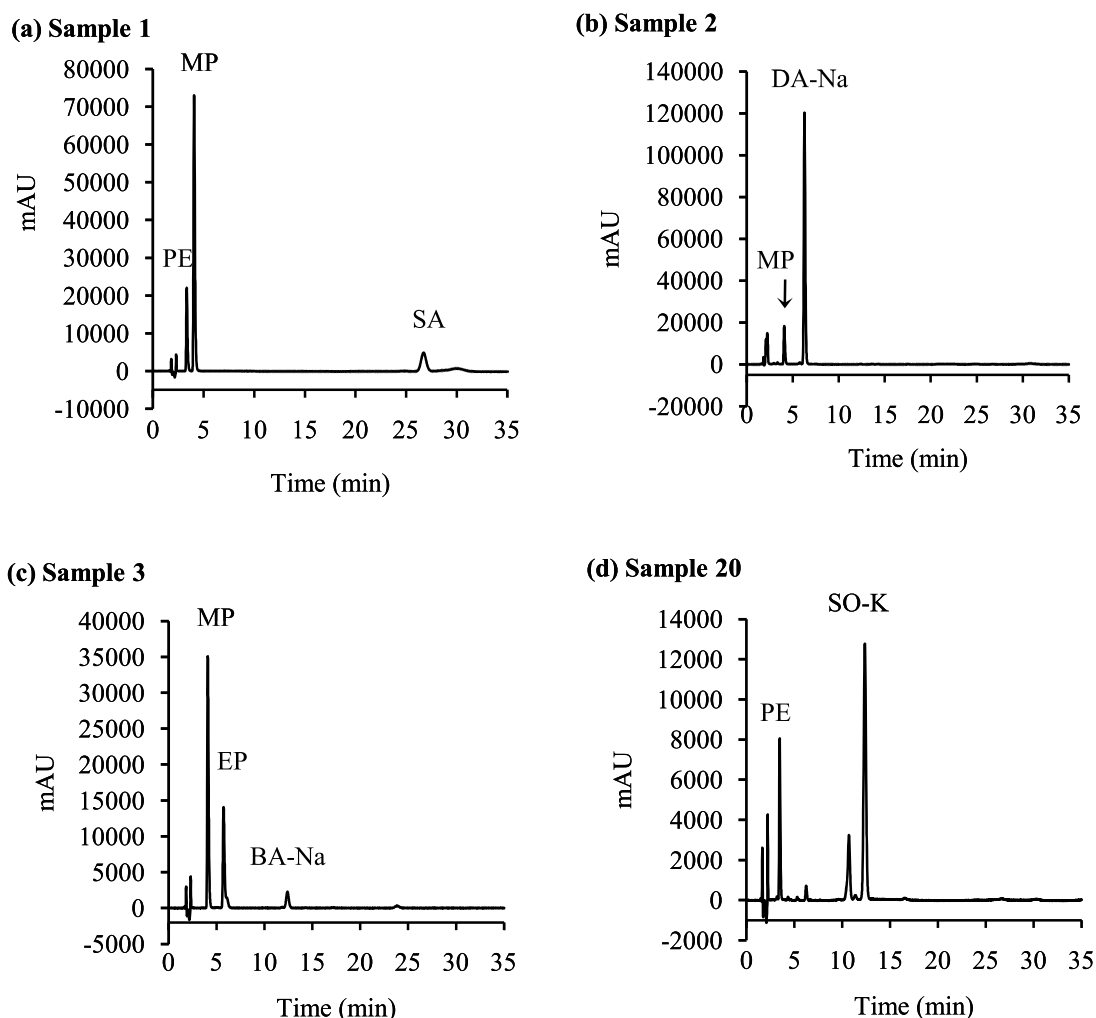


Fig. 1 Typical chromatograms obtained for cosmetic product samples

A sample (0.4 g) was dissolved in 20 ml of methanol and ultrasonicated.

PE: phenoxyethanol, MP: methyl p-hydroxybenzoate, EP: ethyl p-hydroxybenzoate, PP: propyl p-hydroxybenzoate, BA-Na: sodium benzoate, DA-Na: sodium dehydroacetate, SA: salicylic acid, SO-K: potassium sorbate.

The HPLC conditions were as follows. HPLC column: L-column2 ODS (4.6 mm i.d. × 150 mm), column temperature: 40 $^{\circ}$ C, mobile phase: 5 mmol/l hexadecyltrimethylammonium chloride, 20 mmol/l potassium dihydrogenphosphate in water-methanol-THF (5:4:1) (pH 6.8), flow rate: 1.0 ml/min, detection wavelength: 280 nm, and injection volume: 10 μ l.

Table 2 Analysis of preservatives in samples dissolved in each solvent

(a) 0.01 mol/l HCl-methanol

Sample No.	Concentration (%)								
	Salicylic acid	Sodium benzoate	Sodium dehydroacetate	Potassium sorbate	Phenoxy-ethanol	Parabens			Total
						Mehtyl	Ethyl	Propyl	
1	0.097				0.28	0.18			0.18
2			0.39			0.059			0.059
3		0.20				0.095	0.048		0.14
4		0.52							
5						0.096			0.096
6		0.42				ND		ND	
7						0.19		0.098	0.29
8					0.33	ND			
9		0.52							
10			0.053			0.47		0.096	0.57
11	0.17	0.038			0.11	0.19			0.19
12					0.49	0.011			0.011
13		0.46				0.26	0.15	0.15	0.55
14		0.19				0.093			0.093
15		0.20							
16					0.049	0.095		0.048	0.14
17		0.056			0.51	0.15	0.001	0.001	0.15
18	ND	0.94			ND	0.29		ND	0.29
19			0.034			0.079		0.048	0.13
20				0.055	0.11				
21		0.39			0.49				

(b) THF-methanol (1: 3)

Sample No.	Concentration (%)								
	Salicylic acid	Sodium benzoate	Sodium dehydroacetate	Potassium sorbate	Phenoxy-ethanol	Parabens			Total
						Mehtyl	Ethyl	Propyl	
1	0.098				0.27	0.18			0.18
2			0.38			0.061			0.061
3		0.21				0.095	0.053		0.15
4		0.53							
5						0.095			0.095
6		0.37				ND		ND	
7						0.19		0.097	0.29
8					0.35	ND			
9		0.55							
10			0.053			0.48		0.098	0.58
11	0.17	0.038			0.13	0.19			0.19
12					0.49	0.011			0.011
13		0.46				0.26	0.14	0.14	0.55
14		0.19				0.093			0.093
15		0.20							
16					0.050	0.095		0.049	0.14
17		0.054			0.50	0.15	ND	0.001	0.15
18	ND	0.91			ND	0.29		ND	0.29
19			0.036			0.078		0.049	0.13
20				0.053	0.093				
21		0.39			0.49				

(c) Methanol

Sample No.	Concentration (%)								
	Salicylic acid	Sodium benzoate	Sodium dehydroacetate	Potassium sorbate	Phenoxyethanol	Parabens			Total
						Mehtyl	Ethyl	Propyl	
1	0.10				0.29	0.19			0.19
2			0.39			0.058			0.058
3		0.20				0.097	0.049		0.15
4		0.53							
5						0.099			0.099
6		0.38				ND		ND	
7						0.20		0.10	0.30
8					0.34	ND			
9		0.53							
10			0.056			0.49		0.10	0.59
11	0.17	0.043			0.13	0.19			0.19
12					0.50	0.012			0.012
13		0.46				0.27	0.15	0.15	0.57
14		0.20				0.094			0.094
15		0.20							
16					0.050	0.098		0.049	0.15
17		0.058			0.52	0.15	0.001	0.002	0.16
18	ND	0.93			ND	0.30		ND	0.29
19			0.037			0.085		0.052	0.14
20				0.067	0.092				
21		0.39			0.50				

(d) THF

Sample No.	Concentration (%)								
	Salicylic acid	Sodium benzoate	Sodium dehydroacetate	Potassium sorbate	Phenoxyethanol	Parabens			Total
						Mehtyl	Ethyl	Propyl	
1	0.10				0.29	0.19			0.19
2			0.31			0.063			0.063
3		0.21				0.099	0.055		0.15
4		0.54							
5						0.099			0.099
6		0.044				ND		ND	
7						0.20		0.10	0.30
8					0.34	ND			
9		0.54							
10			0.054			0.49		0.10	0.59
11	0.17	0.020			0.21	0.20			0.20
12					0.50	0.012			0.012
13		0.45				0.28	0.15	0.15	0.57
14		0.19				0.095			0.095
15		0.20							
16					0.049	0.095		0.048	0.14
17		0.054			0.61	0.16	0.007	0.001	0.17
18	ND	0.90			ND	0.29		ND	0.29
19			0.008			0.083		0.051	0.13
20				0.077	0.091				
21		0.39			0.50				

ND = Ingredient was stated on the label of the cosmetic product but not detected in this study.

A sample (0.4 g) was dissolved in 20 ml of each of the following solutions: (a) 0.01 mol/l HCl-methanol, (b) THF-methanol (1: 3), (c) methanol, and (d) THF. After ultrasonication, each of the filtrated solutions was injected into the HPLC instrument. The HPLC conditions are as shown in Fig. 1.

2. 検出波長と検量線

化粧品中の防腐剤はHPLCを用いて分析するのが一般的である⁴⁻¹⁰⁾。衛生試験法にはイオンペアHPLC法が記載されているが⁴⁾、我々は、より多成分を分離可能な一斉分析法を開発している⁵⁾。防腐剤はそれぞれ紫外吸収スペクトル及び極大吸収波長が異なるため、一斉分析での最適検出波長を決定することは難しい。例えばパラベン類は280 nmで吸収が大きいが、安息香酸ナトリウム等は280 nmでの吸収が少なく、235 nmで検出した方が微量まで定量できる。しかし規制に際して微量分析は必要ないこと、及び235 nmでモニターしたときのベースラインは不安定で分析成分の選択性が劣る等から、今回は280 nmを検出波長とした。各成分とも1~100 μ g/mlの範囲で良好な直線性を示した。今回最大配合量を超えるかどうかを調査目的としていること、防腐剤としての使用目的を果たさないような量を製品に配合することはないこと、及び化学物質ごとに検出感度が異なることから、ここでは便宜上すべての成分について、検量線の下限濃度1 μ g/mlを検出限界濃度とした。試料中では50 μ g/gが検出限界 (ND) に相当する。

3. 試料の分析

試料に溶媒を加えて超音波処理後、不溶物を除くという通常法によって試料溶液を調製した。化粧品は様々な性状を有し、モデル処方化粧品の添加回収試験で最適とされた溶媒がこれらの化粧品に対しても適切かどうかはわからない。酸類についてはファンデーションからの抽出率が悪いと言われている⁵⁾。THFはメタノールよりもワックスや油性クリームのようなものからの抽出に優れている⁴⁾。そこで、各種溶媒を使って調製した試料溶液の定量値を比較し、対象の防腐剤が正確に定量されたかどうか判断した。メタノールで調製した試料溶液のうち代表的なクロマトグラムをFig. 1に、分析結果をTable 2に示した。ソルビン酸カリウムについては、塩酸-メタノールで調製するとメタノールより定量値が低くなり、THFで調製した時に最も定量値が高くなった。しかし、安息香酸ナトリウム及びデヒドロ酢酸ナトリウムを含む一部の製品ではTHFを用いると他の溶媒より定量値が低かった。サリチル酸、安息香酸ナトリウム、デヒドロ酢酸ナトリウムに関しては溶媒間で定量値にほとんど差がなかった。今回は多くが水性試料であってTHFを使わなければならないようなものはなく、むしろ極性の強い溶媒で成分抽出するのがよいと思われた。

試料2にはパラベン類の表示はないが、検査の結果メチルパラベンが0.06%含有されていることがわかった。試料8にはメチルパラベンの表示があるが、実際にはフェノキシエタノールを約0.34%含有していた。よって、

これら2品は成分表示に不備があるとした。

化粧品基準ではサリチル酸及び安息香酸の配合限度は0.20%と規定され、その塩類との合計で1.0%が限量とされている。ソルビン酸及びデヒドロ酢酸とその塩類は合計で0.50%に規定されている³⁾。試料18に関してはサリチル酸の表示があるものの検出限界以下であった。試料19の安息香酸ナトリウムが0.90%と規制値に近い値を示したが超えることはなかった。試料11のサリチル酸も0.17%と規定内であった。パラベン類も含め今回指定した防腐剤の配合量に関しては、取去した試料に制限値を超えるものはなかった。

文 献

- 1) "Encyclopedia of Cosmetics," eds. by The Society of Cosmetic Chemists of Japan, MARUZEN Co. Ltd., Tokyo (2003)
- 2) Soni, M.G., Carabin, I.G., and Burdock, G.A.: *Fd. Chem. Toxicol.*, **43**, 985-1015 (2005)
- 3) Ministry of Health, Labour and Welfare. Notification of No. 331 of Ministry of Health and Welfare (2000)
- 4) "Methods of Analysis in Health Science 2005," eds. by The Pharmaceutical Society of Japan, KANEHARA & Co., LTD., Tokyo, Japan (2005)
- 5) Ikarashi, Y., Shimamura, K., Hayashi, M., Miyazawa, N., Kojima, T., Miyamoto, M., Sato, N., Yoshizawa, K., Takano, K., Sakaguchi, H., and Fujii, M. *In preparation*
- 6) Mikami, E., Goto, T., Ohno, T., Matsumoto, H., and Nishida M.: *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **28**, 261-267 (2002)
- 7) Marengo, E., Gennaro, M.C., and Gianotti, V.: *J. Chromatogr. Sci.*, **39**, 339-344 (2001)
- 8) Marengo, E., Gianotti, V., Angioi, S., and Gennaro, M.C.: *J. Chromatogr. A.*, **1029**, 57-65 (2004)
- 9) Lee, M.-R., Lin, C.-Y., Li, Z.-G., and Tsai, T.-F.: *J. Chromatogr. A.*, **1120**, 244-251 (2006)
- 10) Mori, K., Nakamura, Y., Ohnuki, N., Terajima, K., Miyamoto, M., Ogino, S., and Saito, K.: *Ann. Rep. Tokyo Metr. Inst. P.H.*, **58**, 103-106 (2007)