

## 市販化粧水中のフェノキシエタノールおよび パラベン類の分析法に関する研究

徳永裕司<sup>#</sup>, 竹内織恵, 高 玲華, 内野 正, 安藤正典

### Studies for Analyzing Phenoxyethanol and Parabens in Commercial Lotions

Hiroshi Tokunaga<sup>#</sup>, Oriie Takeuchi, Reika Ko, Tadashi Uchino and Masanori Ando

Both phenoxyethanol and parabens are kinds of preservatives in cosmetics and are nominated as the restricted ingredients in cosmetics in Japanese Pharmaceutical Affairs Law. So the analytical methods for phenoxyethanol and parabens were investigated by HPLC. After adding methanol to phenoxyethanol and parabens in lotions, the testing solutions were analyzed by HPLC using the ODS column (CAPCELL PAK C<sub>18</sub> column, 4.6x250 mm), the mixture either of 50 mmol/l phosphate buffer(pH3.5) and acetonitrile (7:3) for phenoxyethanol or of 50 mmol/l phosphate buffer(pH3.5) and acetonitrile (3:2) for parabens and the detection wavelength of either 270 nm for phenoxyethanol or 255 nm for parabens. The working curves from 0.5 to 5 μg/ml passed through the origin. There were no interference of peaks of phenoxyethanol and parabens from the cosmetics. Eleven lotions out of 42 lotions did not have phenoxyethanol. Phenoxyethanol in thirty-one cosmetics ranged from 0.009 to 1.043% and those average was 0.264%. Parabens, especially methylparaben, were detected in all lotions. The amounts of parabens ranged from 0.016 to 0.267% and their average was 0.120%. There were 7 kinds of lotions whose contents of phenoxyethanol and methylparaben were below 0.1%.

Key Words: phenoxyethanol, paraben, preservative, Japanese Pharmaceutical Affairs Law, lotion

#### 1. 緒言

平成13年4月1日より,化粧品の承認・許可に当たっての規制緩和が行われ,化粧品に使用される成分のポジティブリスト,ネガティブリストの採用および製品に用いられた全成分の表示が義務付けられた.化粧品基準第4条の別表<sup>3)</sup>に化粧品に使用することのできる防腐剤が定められている.この中でフェノキシエタノール(PE)およびパラベン類は化粧品100g中に1gまで使用することが認められている. PEあるいはパラベン類の医薬品あるいは化粧品中での分析法としては,医薬品の塩酸クロコナゾールを含む製品中のパラベン類の液体クロマトグラフ法<sup>2)</sup>,パラベン類,imidazolidinylurea, ascorbyl phosphateを含む化粧クリーム中の液体クロマトグラフ法<sup>3)</sup>,「無添加」表示化粧品中の液体クロマトグラフ法など<sup>4,5)</sup>が報告されている.

今回,著者らは,化粧品に使用が認められているPE

およびパラベン類の化粧水中での分析法としてCAPCELL PAK C<sub>18</sub>カラムを用いた液体クロマトグラフ法を検討し,市販化粧水中のPEおよびパラベン類の測定に応用したので報告する.

#### 2. 実験

##### 2.1 装置

液体クロマトグラフ(HPLC)装置は,島津製LC-10A型ポンプ,島津製CTO-10A型カラムオープン,島津製SPD-6AV型紫外可視検出器,島津製L-10AXL型オートサンプラーおよび島津製C-R6A型クロマトパックを連結して用いた.

##### 2.2 試薬および試液

PEおよびパラベン類は和光純薬製のものを用いた.化粧水は市販の化粧水42品目を用いた.

PE原液:PE約25mgを精密に量り,メタノールを加えて正確に100mlとした.(0.25mg/ml)

パラベン類(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),イソブチルパラベン(IBP)およびブチルパラベン(BP))原液:各パラベン

<sup>#</sup>To whom correspondence should be addressed:

Hiroshi Tokunaga; 1-18-1, Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo, 158-8501 Japan; Tel. 03-3700-1141; Fax; 03-3707-6950; E-mail:tokunaga@nihs.go.jp

類約 50 mg を精密に量り，メタノールを加えて正確に 100 ml とした。(0.5 mg/ml)

リン酸試液：リン酸 4.90 g を水 1000 ml に溶かした。

リン酸二水素カリウム試液：リン酸二水素カリウム 6.80 g を水 1000 ml に溶かした。

50 mmol/l リン酸塩緩衝液 (pH 3.5)：リン酸二水素カリウム試液 500 ml にリン酸試液を加え，pH を 3.5 に調整した。

### 2.3 定量法

化粧水約 0.1 g を精密に量り，50 ml のメスフラスコに入れた。メタノールにて 50 ml とし，試料溶液とした。沈殿物が析出する場合には，水 2 ml あるいは 10 ml を加え，メタノールにて 50 ml とし，試料溶液とした。この液 20  $\mu$ l を液体クロマトグラフに注入し，得られたクロマトグラム上のピーク面積をはかり，別に作成した検量線から試料溶液中の PE あるいはパラベン類の濃度 A ( $\mu$ g/ml) を求め，次式により 100 g 中の含有量を算出した。

試料 100 g 中の PE あるいはパラベン類の含有量 (g)

$$= (A \times 50) / \text{試料採取量 (g)} \times 1/1000 \times 100$$

検量線の作成：PE あるいはパラベン類の標準溶液をメタノールで希釈し，1 ml 当たり 0.50, 1.0, 5.0  $\mu$ g を含む標準系列をつくり，各 20  $\mu$ l を液体クロマトグラムに注入し，得られたそれぞれのピーク面積と濃度から検量線を作成した。

### 2.4 HPLC 条件

PE の場合

検出器：紫外吸光度計 (測定波長：270 nm)

カラム：CAPCELL PAK C<sub>18</sub> (4.6 × 250 mm, 資生堂製)

移動相：50 mmol/l リン酸塩緩衝液 (pH 3.5) / アセトニトリル混液 (7 : 3)

カラム温度：35 付近の一定温度

流量：1 ml/min

パラベン類の場合

検出器：紫外吸光度計 (測定波長：255 nm)

カラム：CAPCELL PAK C<sub>18</sub> (4.6 × 250 mm, 資生堂製)

移動相：50 mmol/l リン酸塩緩衝液 (pH 3.5) / アセトニトリル混液 (3 : 2)

カラム温度：35 付近の一定温度

流量：1 ml/min

### 3. 結果および考察

化粧水には，防腐剤として，PE とパラベン類が一緒に添加されている場合がある。化粧水中の PE とパラベン類を分析するため，カラムとしてオクタデシルシリル化シリカゲルカラムを，移動相として，リン酸塩緩衝液

とアセトニトリルの混液を，検出波長として，PE の場合は 270 nm (吸収極大波長)，パラベン類の場合は 255 nm (吸収極大波長) を用いる分析法を検討した。検討に用いた試料溶液は，PE あるいはパラベン類の各種原液の一定量をメタノールで希釈し，1 ml 当たり 5  $\mu$ g の濃度に調製し，その 20  $\mu$ l を用いた。その結果を以下に示した。

#### 3.1 アセトニトリルの影響

50 mmol/l リン酸塩緩衝液 (pH 3.5) / アセトニトリル混液中のアセトニトリル濃度を 25 ~ 60 % と変化させ，PE およびパラベン類の保持時間 ( $t_R$ ) の変化を測定した。その結果を Fig.1 に示した。

Fig.1 から分かるように，PE の場合には，化粧水中に同時に存在する MP との分離が必要であることが分かった。また，検量線を示した Fig.3 から分かるように PE の 5  $\mu$ g/ml を用いたときのピーク面積は 46791 であり，それに比べて MP の 5  $\mu$ g/ml を用いたときのピーク面積は 501172 であった。MP のピーク面積は PE のその約 10 倍も大きな値を持っており，吸収極大波長は PE と MP は 15 nm 異なるが，両者の分離が十分でない場合，PE が大きな影響を受けることが考えられた。そこで，分析時間を加味し，PE の分析には，50 mmol / リン酸塩緩衝液 (pH 3.5) / アセトニトリル混液 (7 : 3) を用いることにした。また，パラベン類の分析には，50 mmol / リン酸塩緩衝液 (pH 3.5) / アセトニトリル混液 (3 : 2) を用いることにした。

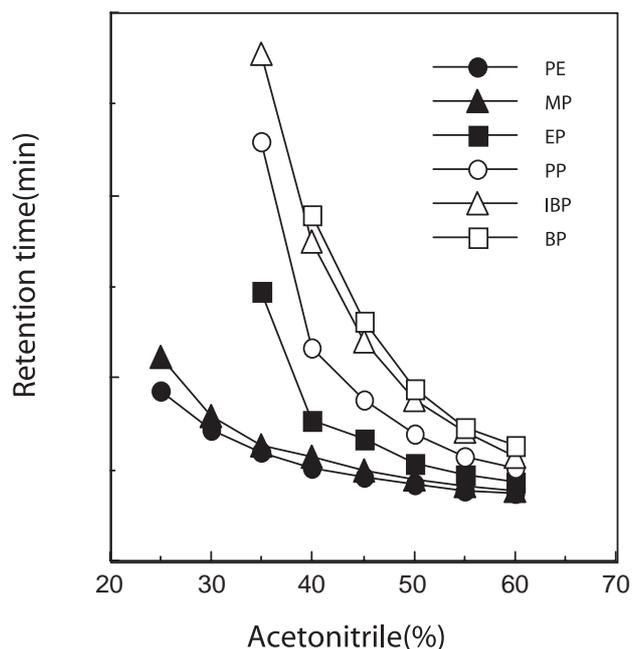


Fig.1 Effect of acetonitrile on retention times of phenoxyethanol and parabens.

### 3.2 pHの影響

移動相に用いた 50 mmol/l リン酸塩緩衝液の pH を 3.0 ~ 4.5 に変更し、PE およびパラベン類の  $t_R$  への影響を検討した。

リン酸塩緩衝液の pH を 3.0 ~ 4.5 に変更した時、PE の  $t_R$  は 7.1 分に、MP の  $t_R$  は 8.0 分と変化がなかった。しかし、EP、PP、IBP および BP は pH 3.0 ~ 4.0 まで  $t_R$  に変化がなかったが、pH 4.5 では、 $t_R$  の増加が観察された。その結果、リン酸塩緩衝液の pH を 3.5 とすることにした。

### 3.3 イオン強度の影響

移動相に用いた pH 3.5 リン酸塩緩衝液のイオン強度を 25 ~ 100 mmol/l に変更した。PE、EP、PP、IBP および BP の  $t_R$  への影響は観察されなかったが、MP の  $t_R$  は 25 と 50 mmol/l との間で低下し、100 mmol/l では 50 mmol/l の場合と同じ  $t_R$  を示した。このことより、イオン強度 50 mmol/l のリン酸塩緩衝液 (pH 3.5) を用いることにした。

### 3.4 カラム温度の影響

カラム温度を 25 ~ 40 に変更し、カラム温度の PE あ

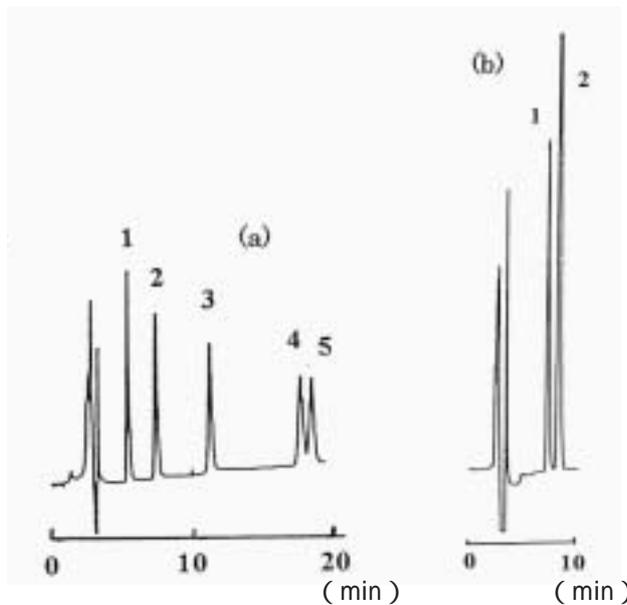


Fig.2 Chromatograms of parabens (a) and phenoxyethanol (b)

(a): 1-MP, 2-EP, 3-PP, 4-IBP, 5-BP, (b): 1-PE, 2-MP

HPLC conditions

(a): column, CAPCELL PAK C<sub>18</sub>; mobile phase, a mixture of 50 mM phosphate buffer (pH 3.5) and acetonitrile (3:2); flow rate, 1 ml/min; column temperature, 35 °C; detection wavelength, 255 nm

(b): column, CAPCELL PAK C<sub>18</sub>; mobile phase, a mixture of 50 mM phosphate buffer (pH 3.5) and acetonitrile (7:3); flow rate, 1 ml/min; column temperature, 35 °C; detection wavelength, 270 nm

るいはパラベン類の  $t_R$  への影響を検討した。カラム温度の上昇に伴い、 $t_R$  はわずかに低下した。カラム圧を考慮して、カラム温度を 35 °C に設定した。

### 3.5 PE あるいはパラベン類のクロマトグラムおよび検量線

パラベン類を 1 ml 当たり 5  $\mu$ g 含有する溶液あるいは PE と MP を 1 ml 当たり 5  $\mu$ g 含有する溶液を調製し、2.4 で示した HPLC の操作条件に従い、得られたクロマトグラムを Fig.2 に示した。

Fig.2 から分かるように、今回検討したパラベン類あるいは PE と MP は十分に分析できることが明らかになった。

PE あるいはパラベン類の 0.5, 1.0 および 5.0  $\mu$ g/ml の溶液 20  $\mu$ l を用い、検量線を作成し、その結果を Fig.3 に示した。

Fig.3 から分かるように、使用した PE あるいはパラベン類の濃度とピーク面積の間には、良好な直線関係が成立することが分かった。

### 3.6 市販化粧水への応用

市販化粧水 42 品目中の PE およびパラベン類を測定し、3 回の測定値の平均値 (%) を Table 1 に示した。

Table 1 から分かるように、調査した全ての化粧水はパラベン類を含んでおり、特に、MP は全ての化粧水に 0.012 ~ 0.204 % の範囲で含まれ、それらの平均値は 0.097 % であった。パラベン類の範囲は 0.016 ~ 0.267 % であり、その平均値は 0.120 % であった。No.1, No.4, No.12 等のように MP、EP、PP、IBP および BP の 5 種類のパラベン類が同時に検出される製品の場合、パラベン類のプレミックスの原料の使用が示唆された。化粧品基

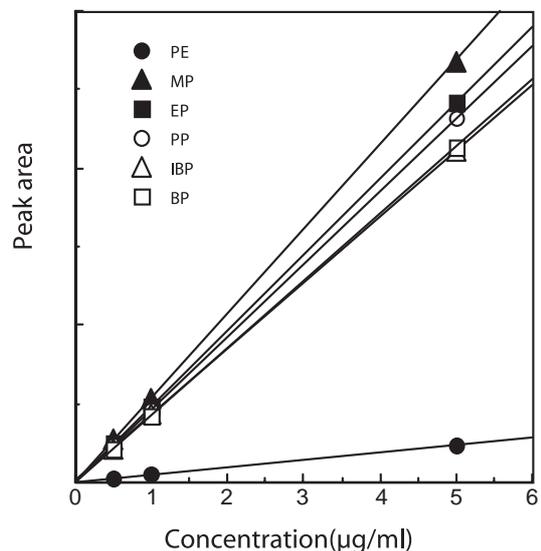


Fig.3 Working curves for phenoxyethanol and parabens

Table 1 Amounts of phenoxyethanol and parabens in lotions

	PE(%)	Total parabens(%)	MP(%)	EP(%)	PP(%)	IBP(%)	BP(%)
No.1	0.065	0.021	0.012	0.003	0.002	0.002	0.003
No.2	—	0.054	0.054	—	—	—	—
No.3	0.009	0.092	0.092	—	—	—	—
No.4	0.053	0.029	0.014	0.007	0.002	0.002	0.003
No.5	0.364	0.125	0.078	0.019	0.010	—	0.018
No.6	0.203	0.096	0.096	—	—	—	—
No.7	0.487	0.156	0.156	—	—	—	—
No.8	0.308	0.096	0.096	—	—	—	—
No.9	0.309	0.198	0.198	—	—	—	—
No.10	—	0.169	0.152	—	0.018	—	—
No.11	—	0.157	0.157	—	—	—	—
No.12	0.560	0.043	0.020	0.008	0.004	0.003	0.007
No.13	—	0.147	0.147	—	—	—	—
No.14	0.304	0.204	0.204	—	—	—	—
No.15	—	0.154	0.093	0.021	0.021	—	0.019
No.16	—	0.215	0.155	0.020	0.020	—	0.020
No.17	0.060	0.029	0.020	0.003	0.003	—	0.003
No.18	0.637	0.020	0.020	—	—	—	—
No.19	0.085	0.037	0.025	0.004	0.004	—	0.004
No.20	0.594	0.265	0.148	0.041	0.019	0.019	0.039
No.21	0.610	0.281	0.155	0.038	0.038	—	0.051
No.22	—	0.050	0.037	0.009	0.004	—	—
No.23	0.309	0.016	0.016	—	—	—	—
No.24	0.103	0.103	0.103	—	—	—	—
No.25	—	0.147	0.147	—	—	—	—
No.26	0.073	0.154	0.084	0.012	0.040	—	0.018
No.27	1.043	0.197	0.197	—	—	—	—
No.28	0.399	0.157	0.157	—	—	—	—
No.39	—	0.190	0.190	—	—	—	—
No.30	0.067	0.144	0.079	0.011	0.037	—	0.016
No.31	0.076	0.070	0.016	0.012	0.032	—	0.010
No.32	—	0.134	0.079	0.011	0.033	—	0.011
No.33	0.145	0.054	0.032	0.007	0.004	0.003	0.007
No.34	0.141	0.055	0.033	0.008	0.004	0.004	0.007
No.35	0.142	0.052	0.030	0.008	0.004	0.003	0.007
No.36	—	0.194	0.194	—	—	—	—
No.37	0.183	0.063	0.049	—	0.014	—	—
No.38	0.101	0.193	0.193	—	—	—	—
No.39	0.289	0.203	0.203	—	—	—	—
No.40	0.498	0.102	0.102	—	—	—	—
No.41	0.017	0.052	0.027	0.013	0.007	—	0.005
No.42	0.018	0.038	0.020	0.003	0.010	—	0.005
average	0.266	0.118	0.097	0.013	0.015	0.005	0.013
MAX	1.043	0.267	0.204	0.041	0.040	0.019	0.051
MIN	0.009	0.016	0.012	0.003	0.002	0.002	0.003

PE: phenoxyethanol, MP: methylparaben, EP: ethylparaben, PP: propylparaben,  
IBP: isobutylparaben, BP: butylparaben

MAX: maximum value, MIN: minimum value

— : not detected

準第4条の別表3のポジティブリストで示されるパラベン類の使用上限は、化粧品100 g中に1 gまでである。化粧品中のパラベン類の量が増すと皮膚に対する「ヒリヒリ感」が増すとされている。皮膚に対する作用を考慮し、パラベン類の配合の少ない処方設計がなされていることが示唆された。

検討した42品目の中で11品目がPEを含有していなかった。31品目中のPEの平均値は0.266%であり、その範囲は0.009~1.04%であった。製品中の含量が0.5~1.0%のものはNo.12, 18, 20, 21および27の5品目であった。PEの含有量が最も多い製品はNo.27の1.043%であり、化粧品への使用ができるPEの上限の値であった。また、含量の低い方を見てみるとNo.3の0.009%, No.4の0.053%というように0.1%以下の製品が10品目を占めており、PEのみでの防腐能力を考えた場合、製品の防腐に疑問が呈せられる製品であった。

製品の防腐効果は、使用された防腐剤とその他の防腐効果を持つ賦形剤の総合的な量で判断すべきである。防腐剤として、PEとパラベン類以外のものは製品に記載されていなかった。そこで、単純にPEとパラベン類の両者を含み、それぞれの含量が0.1%以下の製品を選択すると、No.1, 3, 4, 17, 19, 41および42の7品目であった。これらの製品はエタノールなどの防腐効果のある成分も含んでいなかった。製品の防腐力は、製品の防腐力試験の結果を見ることは当然のことであるが、防腐剤として記載される成分の含量から見た場合、防腐力が低いのではないのと考えられた。

#### 4. 結論

(1) 化粧水中のPEおよびパラベン類を分析する方法とし

て、ODSカラムおよび移動相として、50 mmol/lリン酸塩緩衝液 (pH 3.5)/アセトニトリル混液 (7:3) あるいは (3:2) 並びに検出波長として、270 nmあるいは255 nmを用いる液体クロマトグラフ法を確立した。化粧水42品目の他の賦形剤の影響もなく測定できることが分かった。

(2) 化粧水42品目中の31品目にPEが検出され、その範囲は0.009~1.043%であり、その平均値は0.266%であった。

(3) 化粧水42品目中の全ての製品にパラベン類が検出され、その範囲は0.016~0.267%であり、その平均値は0.120%であった。その中でMPは全ての製品中で検出され、その範囲は0.012~0.204%であり、その平均値は0.097%であった。

(4) 化粧水42品目中、PEとパラベン類を含み、それぞれの含有量が0.1%以下の製品が7品目あった。

#### 文 献

- 1) 厚生省告示第331号 (平成12年9月29日)
- 2) Akhtar, M.J., Khan, S., Roy, I.M. and Jafri, I.A.: *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **14**, 1609-1613 (1996)
- 3) Sottofattori, E., Anzaldi, M., Balbi, A. and Tonello, G.: *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **18**, 213-217 (1998)
- 4) 大森清美, 土井佳代, 岸美智子, 中岡正吉, 谷 孝之: 神奈川県衛研報告, **28**, 47-50 (1998)
- 5) 前田有美恵, 小和田和宏, 山本正利, 佐野智子, 増井俊夫: 静岡県衛生環境センター報告, **32**, 33-36 (1989)