

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：酢酸鉛（Ⅱ）

内野 正[#], 五十嵐良明, 徳永裕司, 西村哲治

Studies for Analyzing the Prohibited Ingredients Lead Acetate (Ⅱ) in Cosmetics

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

Lead acetate (Ⅱ) is one kind of the prohibited ingredients in cosmetics due to the Japanese Pharmaceutical Affairs Act. We established the analytical method for lead acetate (Ⅱ) in cosmetics by capillary electrophoresis (CE). The hair color of 1 g was put into a 50 ml plastic tube. After adding 10.0 mg of lead acetate (Ⅱ) and 50 ml of water into the plastic tube, the mixture was ultrasonicated for 10-30 min. After ultrasonication, the mixture was diluted 20-times with water and filtrated through a membrane (0.45 μm). After filtration, the solution used as the test solution. The testing solution was analyzed by CE. The working curve from 5 to 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ showed a linear line between the concentrations of lead (Ⅱ) ion or acetate ion and these peak areas. Detection limit of lead acetate (Ⅱ) is 0.3 $\mu\text{g}/\text{ml}$. There was no interference of lead acetate (Ⅱ) with the ingredients in the hair color.

Keywords: lead acetate, capillary electrophoresis, prohibited ingredients

1. 緒言

酢酸鉛（Ⅱ） $[(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb} \cdot 3\text{H}_2\text{O}]$ （分子量379.34）は鉛めっき、染色用剤としてまた局所血管収縮作用を持ち、局所収れん剤として用いられている¹⁾。酢酸鉛（Ⅱ）は平成12年9月から化粧品に配合が禁止されている²⁾。分析法としてはICP-発光分析法³⁾や原子吸光法⁴⁾等での定量が報告されている。今回我々は酢酸鉛（Ⅱ）の分析法としてキャピラリー電気泳動法を検討し、市販の染毛剤中の酢酸鉛（Ⅱ）の測定に応用したので報告する。

2. 実験

2.1 装置

Hewlett Packard製3D-CE型キャピラリー電気泳動装置を用いた。

2.2 試薬・試液

酢酸鉛（Ⅱ）は和光純薬工業製を、無機陽イオン分析用buffer及び有機酸分析用bufferはAgilent社製を用いた。市販染毛料3種類（日本製2種類（A, B）中国製1種類（C））を試料として用いた。

酢酸鉛（Ⅱ）標準原液：酢酸鉛（Ⅱ）10.0 mgを正確に量り、水を加えて正確に100 mlとした（100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ）。

酢酸鉛（Ⅱ）標準溶液：酢酸鉛（Ⅱ）標準原液の一定量を正確に量り、水で希釈して1 ml当たり酢酸鉛（Ⅱ）を5-50 μg 含む溶液を調製した。

2.3 定量法

試料約1 gを精密に量り、遠心チューブに入れ、50 mlの水を加えて超音波浴で10分間、分散しにくい試料の場合は30分間分散した。次に、一定量をとって水で正確に20倍希釈し、超音波浴で10分間分散後、孔径0.45 μm のフィルターでろ過し、試料溶液とした。

試料溶液及び標準溶液を次の2種類の条件でキャピラリー電気泳動装置による測定を行い、標準溶液から作成した検量線から試料溶液中の鉛（Ⅱ）イオンの濃度及び酢酸イオンの濃度を求めた。鉛（Ⅱ）イオンの濃度から換算した酢酸鉛（Ⅱ）の濃度C1（mg/l）及び酢酸イオンの濃度から換算した酢酸鉛（Ⅱ）の濃度C2（mg/l）を求め、試料中の酢酸鉛（Ⅱ）の濃度（mg/g）を次式により計算した。

試料中の酢酸鉛（Ⅱ）の濃度（mg/g）= $(C1+C2)/(2 \times W)$ W:試料の採取量（g）

ただし、C1, C2はいずれも検出限界以上の値でかつ、C1とC2との比が1.5倍以下、かつ測定条件2で標準溶液と一致する鉛（Ⅱ）イオン由来と推定される負ピークが

[#] To whom correspondence should be addressed:

Tadashi Uchino; Kamiyoga 1-18-1, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan; Tel: 03-3700-1141 ext.318, Fax: 03-3707-6950; E-mail: uchino@nihs.go.jp

検出された場合を有効とする。これ以外の場合は酢酸鉛(Ⅱ)の濃度は検出限界以下と見なす。

鉛(Ⅱ)イオン及び酢酸イオン由来のピークが検出されても、鉛(Ⅱ)イオン由来のピークから換算した濃度と酢酸イオン由来のピークから換算した濃度が大きく異なる(この場合は1.5倍を超える値とした)場合も酢酸(塩)と鉛(化合物)が別々に含まれ、酢酸鉛(Ⅱ)としては検出限界以下であると考えられる。このため試料中の酢酸鉛(Ⅱ)の濃度は上記のように鉛(Ⅱ)イオン及び酢酸イオン由来の両方のピークが検出され、かつ、それぞれのピークから換算した酢酸鉛(Ⅱ)の濃度比が1.5倍以下の時のみ検出限界以上と見なすこととした。

測定条件1:

キャピラリー: 内径75 μm , 有効長72 cm

キャピラリー温度: 25°C

泳動用buffer: 無機陽イオン分析用buffer

注入法: 加圧法, 50 mbar, 4 seconds

極性: Positive

印加電圧: 30 kV (373V/cm)

分析時間: 15 min

検出波長: 215 nm, バンド幅10 nm

リファレンス波長: 310 nm, バンド幅20 nm

測定条件2:

キャピラリー: 内径75 μm , 有効長72 cm,

キャピラリー温度: 25°C

泳動用buffer: 有機酸イオン分析用buffer

注入法: 加圧法, 50 mbar, 4 seconds

極性: Negative

印加電圧: 30 kV (373V/cm)

分析時間: 15 min

検出波長: 350 nm, バンド幅20 nm,

リファレンス波長: 200 nm, バンド幅10 nm

3. 結果及び考察

3.1 酢酸鉛(Ⅱ)のエレクトロフェログラム

酢酸鉛(Ⅱ) 10 $\mu\text{g/ml}$ の溶液を上記の測定条件1及び2のキャピラリー電気泳動装置に注入した時のエレクトロフェログラムをFig.1 (A)及び(B)に示す。Positiveモードでは保持時間10分付近に鉛(Ⅱ)イオンのピークが(Fig.1 (A)), Negativeモードでは保持時間5.2分付近に酢酸イオンのピークが検出された(Fig.1 (B))。鉛ピークの同定のため、鉛(Ⅱ)イオンの標準溶液(10 $\mu\text{g/ml}$)について、測定条件1で操作したところ、保持時間10分付近に同様のピークが出現した(データ未掲載)。

酢酸ナトリウムの標準溶液(10 $\mu\text{g/ml}$)を測定条件2(Negativeモード)で分析した(Fig.1 (C))。保持時間5.2分付近に酢酸イオンと一致するピークが見られたが、酢酸鉛(Ⅱ)標準溶液の時には見られた保持時間5.8分付近の負のピークは観察されなかった。よって、5.8分付近の負のピークを酢酸鉛(Ⅱ)定性用のピークとして用いることとした。

鉛(Ⅱ)イオンの標準溶液(20 $\mu\text{g/ml}$)を調製し、測定条件2を用いて分析したところ、保持時間5.8分付近に負のピークが見られたことから、この負ピークは鉛(Ⅱ)イオン由来であることが示唆された。

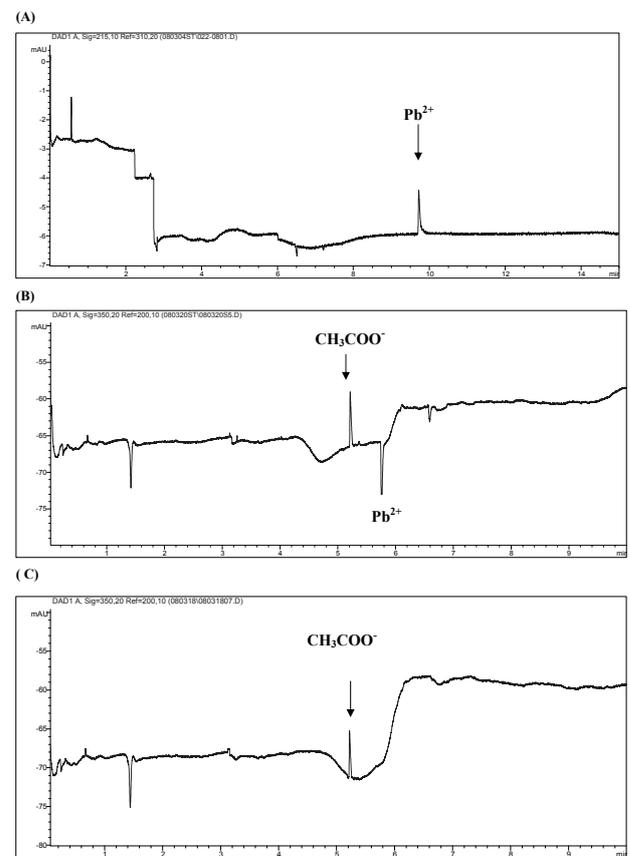


Fig. 1 Electropherogram of lead acetate (Ⅱ) or sodium acetate (A) Condition1 (positive mode) lead acetate (Ⅱ) solution (10 $\mu\text{g/ml}$) (B) Condition2 (negative mode) lead acetate (Ⅱ) solution (10 $\mu\text{g/ml}$) (C) Condition2 (negative mode) sodium acetate solution (10 $\mu\text{g/ml}$)

3.2 酢酸鉛(Ⅱ)の検量線及び再現性

酢酸鉛(Ⅱ)の濃度を5-100 $\mu\text{g/ml}$ とした標準溶液を調製し、キャピラリー電気泳動装置に注入して検量線を作製した。Fig.2から分かるように、酢酸鉛(Ⅱ)の濃度と鉛(Ⅱ)イオンピーク面積比及び酢酸イオンピーク面積比には良好な直線関係が成立した。

酢酸鉛（Ⅱ）の10 $\mu\text{g/ml}$ 及び100 $\mu\text{g/ml}$ を含む溶液を用い、3回の繰り返し注入を行った時の鉛（Ⅱ）イオンのピーク面積の相対標準偏差は2.8%及び0.8%であった。また酢酸イオンのピーク面積の相対標準偏差は2.7%及び1.1%であった。なお鉛（Ⅱ）イオンのピーク面積から換算したS/N = 3での酢酸鉛（Ⅱ）の検出限界は0.5 $\mu\text{g/ml}$, S/N = 10での定量下限は1.5 $\mu\text{g/ml}$ であった。同様に酢酸イオンのピーク面積から換算した酢酸鉛（Ⅱ）の検出限界は0.3 $\mu\text{g/ml}$, 定量下限は1 $\mu\text{g/ml}$ であった。

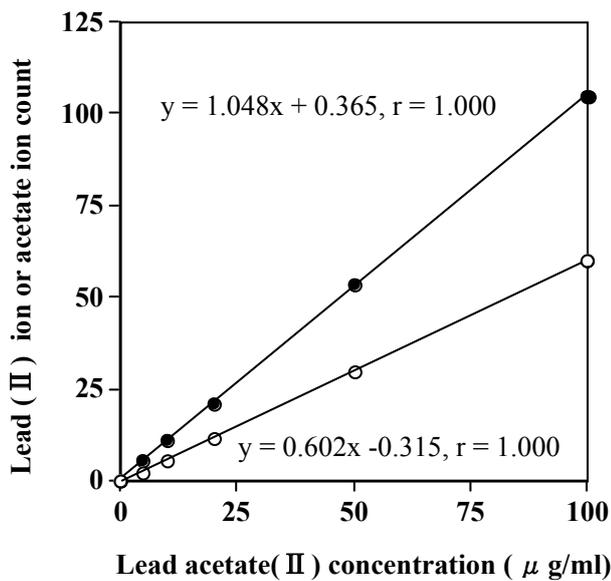


Fig. 2 Working curve for lead acetate (Ⅱ)

○: lead (Ⅱ) ion, ●: acetate ion

3.3 化粧品への応用

酢酸鉛（Ⅱ）は平成17年に米国及びオーストラリアからの個人輸入品からの白髪染めクリームからの検出例³⁾がある。Fig. 3に試料B及びこれに1%（鉛として0.6%）に相当する酢酸鉛（Ⅱ）を添加した時の測定条件1におけるエレクトロフェログラムを示す。

試料A及びCもほぼ同様のエレクトロフェログラムが得られた。今回検討した試料A～Cでは他の添加剤の妨害もなく、添加された酢酸鉛（Ⅱ）が測定出来ることが明らかになった。

測定条件2でのエレクトロフェログラムをFig. 4に示した。試料Aではピークはみられなかったが、試料B及びCでは保持時間5.2分付近にピークが見られた。しかし、Fig. 5に示すように酢酸鉛（Ⅱ）を添加した試料に見られる5.8分付近の負ピークはFig. 4に示すように酢酸鉛（Ⅱ）を添加していない試料には見られなかったことから、このピークは他の賦形剤に由来するもので、試料中の酢酸鉛（Ⅱ）は検出限界以下と思われた。試料Aの

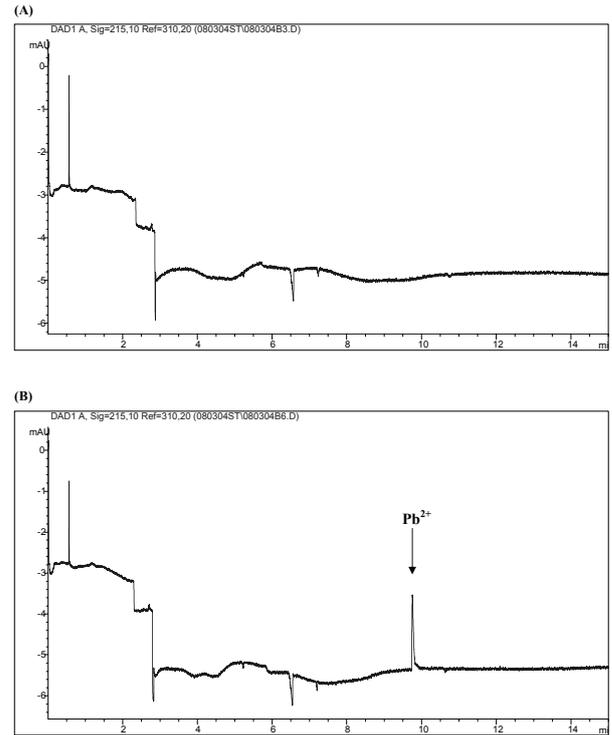


Fig. 3 Electropherogram of samples

(A) Sample B, (B) Sample B + 10 mg/g lead acetate (Ⅱ)

Analyzed condition is for positive

保持時間4.3分付近のピークは含有成分のクエン酸の保持時間と一致したが、4.9分付近及び5.0分付近のピークは同定出来なかった。また、試料Bの4.2分付近及び4.9分付近のピークはそれぞれ含有成分のリンゴ酸及びグリコール酸の保持時間と一致したが、5.2分付近のピークは同定できなかった。なお、試料Aにはリンゴ酸は含有成分として表示されていないことから、試料Aの4.9分付近のピークはリンゴ酸由来ではないものと推察される。試料Cの5.2分付近のピークは酢酸ラノリンアルコール由来の酢酸イオンのピークではないかと思われるが、酢酸ラノリンアルコールが入手出来ず同定できなかった。

3.4 添加回収試験

米国では頭髪用化粧品として白髪用染毛料に酢酸鉛（Ⅱ）は1%（鉛として0.6%）配合が認められている³⁾。試料に酢酸鉛（Ⅱ）を1%量添加し、回収試験を行った。鉛（Ⅱ）イオン、酢酸イオン由来のピークから換算した酢酸鉛（Ⅱ）の回収率及び両イオン由来のピーク換算し平均して求めた回収率をTable 1に示した。酢酸イオン由来のピークから換算した場合、試料B,Cでは賦形剤由来のピークと重なるため、酢酸鉛（Ⅱ）非添加時の賦形剤由来のピークを差し引いて換算した。

試料A, B及びCそれぞれ約1gに酢酸鉛（Ⅱ）10.0mgを添加した時の回収率はそれぞれ、97.9%, 100.1%及

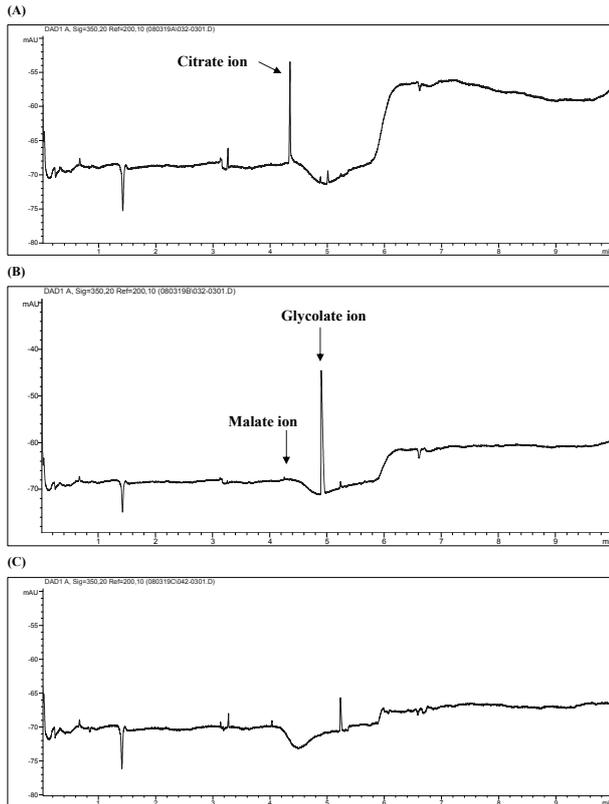


Fig. 4 Electropherogram of samples
(A) Sample A, (B) Sample B, (C) Sample C
Analyzed condition is for negative

び99.2%であった。また相対標準偏差はそれぞれ、2.3%、2.8%、2.1%と5%未満であった。各試料の鉛(II)イオン由来のピークから換算した回収率の平均値と酢酸イオン由来のピークから換算した回収率の平均値はいずれも94~104%とほぼ一致した。

また、試料B及びCでは賦形剤に由来すると思われる酢酸イオンのピークが見られたが、鉛(II)イオンは検出限界以下であったため、酢酸鉛(II)としては検出限界以下であると考えられる。

以上キャピラリー電気泳動法により鉛(II)イオン及び酢酸イオン由来の両方のピークを測定することにより、賦形剤由来のピークの妨害を受けることなく、化粧品中の酢酸鉛(II)の分離及び定量が出来ることが明らかになった。

文献

- 1) 中原勝儼, 無機化合物・錯体辞典, 講談社, 東京, pp.209 (1997)
- 2) Notification No.331 of Ministry of Health and Welfare dated on September
- 3) 独立行政法人国民生活センターホームページ (http://www.kokusen.go.jp/pdf/n-20051006_2.pdf)

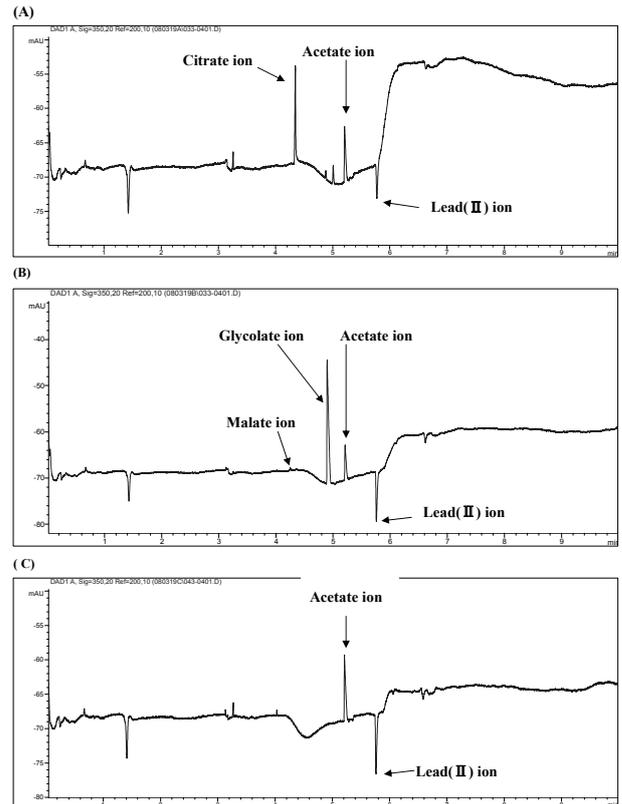


Fig. 5 Electropherogram of samples added 10 mg/g lead acetate (II)
(A) Sample A, (B) Sample B, (C) Sample C
Analyzed condition is for negative

- 4) Liao, M., Chen, C.L., Zeng, L.S., and Hunag, C.Y.: *Chemosphere*, 66,1197-1205 (2007)

Table 1 Recovery of added lead acetate in white hair color

(a) calculated from lead (Ⅱ) ion

	Hair color A	Hair color B	Hair color C
No.1	99.5	96.9	100.5
No.2	96.9	106.8	103.3
No.3	106.3	106.8	102.3
average	100.9	103.5	102.0
R.S.D.(%)	4.9	5.7	1.4

(b) calculated from acetate ion

	Hair color A	Hair color B	Hair color C
No.1	100.5	97.4	93.8
No.2	93.8	98.6	99.5
No.3	90.4	97.1	95.7
average	94.9	97.7	94.7
R.S.D.(%)	5.1	0.8	1.0

(c) calculated from lead (Ⅱ) ion and acetate ion

	Hair color A	Hair color B	Hair color C
No.1	100.0	97.2	97.2
No.2	95.4	102.7	101.4
No.3	98.4	100.3	95.7
average	97.9	100.1	99.2
R.S.D.(%)	2.3	2.8	2.1