

日本医療研究開発機構 医薬品等規制調和・評価研究事業
事後評価報告書

公開

I 基本情報

研究開発課題名: (日本語) 医薬部外品・化粧品とその原料中の不純物及び配合禁止物質等の試験法と規格
基準に関する研究

(英語) Studies on analytical methods and standards of impurities and prohibited
substances in quasi-drugs, cosmetics and their ingredients

研究開発実施期間: 令和4年8月1日～令和7年3月31日

研究開発代表者 氏名: (日本語) 内山 奈穂子
(英語) Nahoko Uchiyama

研究開発代表者 所属機関・部署・役職:
(日本語) 国立医薬品食品衛生研究所・生活衛生化学部・部長
(英語) National Institute of Health Sciences・Division of Environmental Chemistry・Division Head

II 研究開発の概要

研究開発の成果およびその意義等

医薬部外品・化粧品に配合される原料には元々共存する成分やその製造工程での副生成物が除去されずに混在する可能性が考えられる。そのうち、原料の配合目的に寄与しない副成分は不純物として捉え、その存在量を抑制すべきである。特に有害性が知られている不純物や、当該製品への配合禁止物質に該当する不純物は原料中又は製品中の定性又は定量のための試験法及び含有基準を整備する必要がある。一方、配合禁止物質が製品に意図的に配合されたり、非意図的に混入する可能性も考えられ、それらの分析も必要である。更に、元々共存する不純物については、許容値の設定が必要であり、それに資するための存在実態調査が重要である。

本研究では、医薬部外品・化粧品及びその原料中の不純物及び配合禁止物質等に関する行政施策の科学的根拠となるデータを示すことを目的として、対象成分を選定し、原料中の定量分析法開発、製品中の検出法、スクリーニング分析法、同定手法又は定量分析法開発、もしくは開発した試験法を用いた実態調査の結果検出された対象成分について、それぞれの現状に合わせた検討を行った。

具体的な研究課題は、以下の3項目である。

- (1) 医薬部外品・化粧品中の微量アレルギー性物質及び有害溶媒の試験法開発及び実態調査
- (2) 化粧品原料・色材等における微量金属不純物試験法開発・規格基準の整備に関する研究
- (3) 医薬部外品・化粧品及びその原料中不純物等の試験法開発

- (1) 医薬部外品・化粧品中の微量アレルギー性物質及び有害溶媒の試験法開発及び実態調査

医薬部外品・化粧品に配合される原料には元々共存する成分やその製造工程での副生成物が除去されずに混在する可能性が考えられる。そのうち、原料の配合目的に寄与しない副成分は不純物として捉え、その存在量を抑制すべきである。本研究では、以下項目について検討を行った。

1) 香料アレルゲン：欧州において化粧品に一定濃度（リーブオン製品 0.001% (10 $\mu\text{g/g}$) 及びリンスオフ製品 0.01% (100 $\mu\text{g/g}$) 以上含有する場合に表示義務が課されているアレルギー性接触皮膚炎を引き起こす可能性のある「香料アレルゲン」を対象として、GC-MS を用いた分析法の検討を行った。最終的に GC-EI-MS による直接注入法を確立した。確立した本法を用いて、国内流通化粧品 45 製品について成分分析及び実態調査を行った。香料アレルゲン測定対象 63 物質のうち、香水では 61 物質、ヘアオイルでは 39 物質、ボディスプレーでは 19 物質が検出された。また、欧州の表示義務濃度の 10 $\mu\text{g/g}$ (リーブオン製品) 及び 100 $\mu\text{g/g}$ (リンスオフ製品) 以上で検出されたのは、香水では 55 物質/21 物質、ヘアオイルでは 29 物質/7 物質、ボディスプレーでは 17 物質/12 物質であった。以上、「香料」表示のある国内流通化粧品において、欧州の表示義務濃度以上の物質や含量についての実態が明らかとなった。

2) コカミドプロピルベタイン：化粧品等多数の製品に配合されているコカミドプロピルベタインによるアレルギー性接触皮膚炎の原因と考えられている製造原料であるジメチルアミノプロピルアミン (DMAPA) 及びラウラミドプロピルジメチルアミン (LAPDMA) について、LC-MS を用いて 10 製品中の定量分析を行った。その結果、DMAPA 及び LAPDMA の含有濃度は、アレルギー性接触皮膚炎が報告されているコカミドプロピルベタイン含有製品中の DMAPA 及び LAPDMA の含有濃度と同程度であった。

3) 有害溶媒：スプレー噴射剤化粧品中に混入する有機溶媒ベンゼンについて、ヘッドスペース-GC-MS 法による定量法を開発した。本法を用いて、噴射剤として液化石油ガス (LPG) を使用したスプレー噴射剤化粧品 9 製品中のベンゼンを定量した結果、いずれも医薬品の基準である 2ppm 以下であった。

（２）化粧品原料・色材等における微量金属不純物試験法開発・規格基準の整備に関する研究

外原規の要改正箇所について外原規改定の原案作成のための状況の整理を行った。重金属の項目の鉛への変更は、現行の重金属試験法では現行法の前処理条件では重金属の限度たる全含有量の評価はできない。また、限度は鉛として表わすことから、鉛への変更を提案した。また、これにともない、現行の重金属試験の「１．試料溶液及び比較液の調整法」を現行の鉛試験法の第４法（新規）として追加することを提案した。ヒ素関連の変更は、現行のヒ素試験法では「その限度は三酸化二ヒ素（As₂O₃）の量として表わし、通例、質量百万分率（ppm）で表す」とあるが、これを「その限度はヒ素（As）の量として質量百万分率（ppm）で表わす」への変更を提案した。また、これに伴い、三酸化二ヒ素の限度値に 0.757 を乗じて換算してヒ素の限度値とすることと、ヒ素標準原液の分取量をヒ素への換算を想定した分取量及び一段階希釈を行うよう提案した。微量元素試験法（仮）及び同等以上の評価法の導入について具体的にまとめて提案した。

化粧品原料の内、タール色素や無機系顔料等の色材を対象に、主に有害性を示す金属類の含有実態を調査した。メイクアップ化粧品のアイシャドウの「シリーズ製品」について、８種の金属類濃度の検出頻度は、Cr、Co、Ni、Cu、As 及び Pb が最も高く、次いで Sb であり、Cd は未検出であった。検出濃度の各金属類の中央値は高い順で Cr、Ni、Pb、Co、Cu、As 及び Sb で、最大値で 100 µg/g を超えたのは Cr 及び Cu であった。アイシャドウ製品の全成分表示から選定した 14 種の色材等の化粧品原料を調査した。対象金属類の検出頻度は、Cr 及び Ni で最も高く、次いで Pb、As、Co、Cu、Sb で、Cd は未検出であった。検出濃度は、各金属類の中央値は高い順で Cr、Ni、Cu、Co、Pb、As、Sb 及び Cd であった。本研究で対象としたアイシャドウと化粧品原料について比較した結果、検出濃度はアイシャドウ＞化粧品原料となり、本研究の対象化粧品原料とアイシャドウ製品との関連性はないものの、金属類の起源を明らかにするために化粧品原料の継続調査が必要と考えられた。

化粧品原料の内タール色素を対象に、タール色素省令で不純物に規定されているものを含む複数の金属不純物の含有実態を調査した。測定対象金属類は、タール色素省令及び EN 規格 EN71 -Part3 より選定した 18 種とした。タール色素試料は合計 35 試料とした。試料の前処理は硝酸及びフッ化水素酸を添加したマイクロ波加熱分解し、ヘリウムによる多原子イオン干渉抑制機能を備えた ICP-MS にて定量分析を行った。対象金属類の検出頻度は、Cr、Mn、Fe 及び Ni で最も高く、次いで B、Sr と続き、最も低頻度は Cd であった。検出濃度は、各金属類の中央値の範囲は、0.0128 µg/g～33.8 µg/g で、Fe、Cr、Al、Sr、Zn の順であった。タール色素省令で純度規定の対象の As、Zn、Fe、Cr、Mn 及び Pb に限定すると、各金属類の最大値はいずれも各金属類の限度値を下回った。タール色素省令の金属類の試験法は、対象により比色法もしくは原子吸光光度法が規定され、煩雑な前処理法で定量分析も必要としていないが、本研究の分析法はタール色素の個別に規定された金属の代替法として適用可能であった。また、重金属規定について評価法等検討が追加が必要であることが示された。

（３）医薬部外品・化粧品及びその原料中不純物等の試験法開発

ワセリンや流動パラフィン中の多環芳香族炭化水素類（PAHs）に関する純度試験の三局調和案として、ヘキサン溶解後、DMSO で抽出し、紫外可視吸収スペクトル測定を行う方法が提案されている。この方法は、規定濃度のナフタレン溶液の 278 nm における吸光度と、試料溶液の 265～420 nm における最大吸光度とを比較する方法であり、欧州で家庭用品等において規制されている各種 PAH を個別に定量しないなどの課題がある。そこで、欧州の REACH で家庭用品等に基準値が定められている 8 種類を含む 19 種類の PAHs を対象とし、ワセリン及び流動パラフィン中のそれら PAHs を一斉分析する試験法を検討し、実態調査を行った。はじめに、各濃度の PAHs について、三局調和案に準じて吸光度を測定した。次いで、高速

液体クロマトグラフィー（HPLC）-フォトダイオードアレイ検出器（PDA）及び蛍光検出器（FLD）による分析法を検討した。その際の抽出は三局調和案の方法をスケールダウンして行った。その結果、各 PAH について濃度別に紫外可視吸収スペクトルを測定したところ、PAH によって最大吸光度を示す波長や単位濃度当たりの吸光度が異なっていた。HPLC 分析で、カラムに Zorbax Eclipse PAH を用いて検討したところ、コロネン（Co）とベンゾ[g, h, i]ペリレン（BghiP）が分離しなかった。次に、Inertsil ODS-P を用いて検討したところ、それらは分離したが全体の分析時間が大幅に長くなった。そこで、試料溶液は Zorbax Eclipse PAH を用いて分析し、Co と BghiP の存在が疑われる場合には Inertsil ODS-P を用いて分析することとし、結果、対象とする PAHs 全てを分離して測定する方法が開発できた。検出器に FLD を用いると PDA よりも高感度に各 PAH（蛍光を示さないアセナフチレンを除く）を分析することが可能であった。添加回収試験から求めた検出下限値は PDA で 22~330 ng/g、FLD で 3.9~12 ng/g であった。また、PAHs の環数が少ないほど回収率が低くなる傾向が認められた。開発した方法を用いて、ワセリン 9 製品及び流動パラフィン 6 製品について分析したところ、測定対象の PAHs はいずれも不検出であった。

化粧品基準では、配合禁止物質及び配合制限物質が指定されている。それらの試験法は、前処理や機器分析条件が個々に異なっており煩雑である。探針エレクトロスプレーイオン化質量分析法（PESI-MS）は簡便かつ迅速にイオン化し測定する方法であり、血中の薬物や農産物中の農薬のスクリーニング分析法が報告されている。そこで、本研究では化粧品基準で定められている配合禁止物質や配合制限物質を対象に、PESI-MS を用いたそれらの化粧品中スクリーニング法を検討した。配合禁止物質では局所麻酔薬等 9 物質を、配合制限物質ではパラベン類やヒノキチオール等 13 物質を対象化合物とし、内標準法による検量線を作成した。回収率は対象化合物を含まない 4 製品（シャンプー、全身洗浄料、化粧水、ローション）について、各化合物を 0.01% となるよう添加し、メタノールを加えて超音波抽出、遠心後に上清を一定量に定容し、イソプロパノールで希釈した溶液を測定して求めた。また、パラベン類等の配合が表示されている 9 製品を同様に抽出し、PESI-MS 及び高速液体グラフフォトダイオードアレイ検出器（HPLC-PDA）にて測定し、結果を比較した。その結果、検出感度は化合物によって異なり、検量線は数 ng/mL から数千 ng/mL の範囲で良好な直線性が認められた。各化合物の回収率は、試料の種類及び試料溶液の希釈倍率により異なったが、ほとんどの化合物は 100 倍希釈時には 50~150% の範囲に収まった。ただし、試料マトリックスの影響でばらつきが大きく、その度合いは化合物毎に異なっていた。パラベン類の配合が表示されている製品について PESI-MS と HPLC-PDA の分析結果を比較したところ、パラベン類はメチルパラベンを除きおおむね同程度の濃度を示したが、ヒノキチオールは PESI-MS の方が高濃度となった。試料マトリックスの影響は大小あるものの、対象化合物の多くは 0.01% 以上の含有を確認することができ、PESI-MS はスクリーニング法として有効と考えられた。マトリックス効果の低減のため、そこで、QuEChERS 法を用いた簡易精製を試みた。具体的には、メタノール抽出液を硫酸マグネシウムや PSA により処理し、その精製効果を検討した。その結果、十分な精製効果は認められず、さらなる検討が必要と考えられた。その他、化粧品中ポリアクリルアミドの LC-MS 分析条件を検討し、内部標準物質を用いることで、再現性の高い分析法が開発できた。化粧水を用いた添加回収試験では、EU のリープオン化粧品における限度値である $0.1 \mu\text{g/g}$ を十分に下回る $0.02 \mu\text{g/g}$ について、100% に近い回収率を得ることができた。開発した化粧品中アクリルアミド（AA）の LC-MS 分析法を用いて、原料 9 製品、化粧品 12 製品を分析したところ、原料で $0.14 \sim 2.5 \mu\text{g/g}$ 、化粧品で $0.022 \sim 0.076 \mu\text{g/g}$ の範囲で AA が検出され、EU のリープオン化粧品における限度値である $0.1 \mu\text{g/g}$ を超えるものは確認されなかった。

This study aimed to develop quantitative analytical methods and conduct a survey using the developed test methods to provide scientific evidence for administrative measures regarding impurities and prohibited substances in quasi-drugs, cosmetics, and their ingredients.

(1) Development of analytical methods and survey on trace allergenic substances and harmful solvents in quasi-drugs and cosmetics

1) Fragrance allergens: Targeting ‘fragrance allergens’ that may cause allergic contact dermatitis and are subject to labeling requirements in Europe when present at certain concentrations (0.001% (10 µg/g) or more in leave-on products and 0.01% (100 µg/g) or more in rinse-off products), we conducted component analysis and surveys of 45 cosmetics products distributed in Japan using GC-EI-MS. As a result, the actual status of substances and their concentrations exceeding the European labeling threshold concentrations was clarified in domestically distributed cosmetics labeled with ‘fragrance’.

2) Cocamidopropyl betaine (CAPB): Dimethylamino propylamine (DMAPA) and lauramidopropyl dimethylamine (LAPDMA), which are manufacturing raw materials considered to be the cause of allergic contact dermatitis caused by cocamidopropyl betaine contained in cosmetics, etc., were quantitatively analysed in 10 products using LC-MS. The concentrations of these compounds were comparable to those reported in cosmetics containing CAPB where allergic contact dermatitis has been reported. 3) Hazardous solvents: Benzene, an organic solvent that may be present in spray-type cosmetics, was quantified in nine cosmetic products using headspace-GC-MS. The results showed that all products contained benzene concentrations below the pharmaceutical standard of 2 ppm.

(2) Study on the development of analytical methods and establishment of standards for trace metal impurities in cosmetic ingredients and colorants

1) Examination for Drafting a Revised Proposal of the Heavy Metal Test Method in the Japanese Standards of Quasi-Drug Ingredients: A review was conducted to identify and organize the necessary revisions to the Japanese Standards of Quasi-Drug Ingredients. For heavy metals, proposed revisions included changing the item name and incorporating methods for the preparation of the sample solution and comparison solution for the heavy metal test into the lead test method. Regarding arsenic, a revision of the limit value was proposed in conjunction with changes to the acceptable limit. Additionally, concrete proposals were formulated for the introduction of a provisional test method for trace elements and alternative methods with equivalent or superior performance.

2) Survey on the Actual Content of Metals in Cosmetic Ingredients such as Colourants: A detailed survey was conducted on the actual content of metals in cosmetic ingredients such as colourants selected from the full ingredient lists of ‘series products’ of makeup cosmetics (eye shadow products). The results indicated that continued investigation of cosmetic ingredients is necessary to clarify the origins of the detected metals.

3) Preparation of Foundational Data for Revising the Metal Testing Methods in the Ministerial Ordinance on Tar Colorants: Microwave-assisted acid digestion followed by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) was applied to commercially available tar colorants. This method enabled the determination of whether the metal content complied with the limit values specified in the Ministerial Ordinance on Tar Colorants. The proposed method resolved issues associated with the current official test method (such as limited in elemental selectivity) and demonstrated performance equal to or greater than that of the existing method, indicating its applicability as an alternative analytical approach.

(3) Development of analytical methods for impurities, etc., in quasi-drugs, cosmetics, and their ingredients

1) Investigation of analytical methods for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in petroleum jelly and liquid paraffin We identified issues with the three-agency harmonization proposal for purity testing of petroleum jelly and similar products using ultraviolet-visible absorption spectroscopy. We developed an analytical method using high-performance liquid chromatography (HPLC) with two types of columns with different properties for separation and a photodiode array

detector (PDA) or a fluorescence detector (FLD) for detection, enabling simultaneous analysis of 19 kinds of PAHs. Using the developed method, we analyzed nine petroleum jelly products and six liquid paraffin products, and none of the target PAHs were detected.

2) Investigation of a screening analysis method using probe electro spray ionization mass spectrometry (PESI-MS)

We investigated a screening analysis method using PESI-MS, which does not require pretreatment, for substances prohibited or restricted in cosmetics. Although some substances showed significant variations in analytical values due to the influence of the sample matrix, most target compounds were confirmed to contain 0.01% or more, indicating that PESI-MS is effective as a screening method.

3) Investigation of an analysis method for acrylamide (AA) in cosmetics and cosmetic raw materials

An analytical method for AA in cosmetics using LC-MS/MS was developed, and 9 raw materials and 12 cosmetic products were analyzed. AA was detected in the range of 0.14–2.5 µg/g in raw materials and 0.022–0.076 µg/g in cosmetics, with no values exceeding the EU limit of 0.1 µg/g for leave-on cosmetics.