

[ 別掲 ]

化粧品用タール色素中の有機性不純物  
( $\beta$ -ナフチルアミン)に関する自主基準の実施について

( 昭和55年10月30日, 55粧工連第50号 )  
( 日本化粧品工業連合会から傘下会員あて )

化粧品用タール色素中、赤色205号(リゾールレッド)、206号(リゾールレッドGA)、207号(リゾールレッドBA)、208号(リゾールレッドSR)及び220号(ディープマルーン)中に、その製造の過程から混入してくるおそれのある $\beta$ -ナフチルアミンの確認については、かねてからご連絡申し上げておりました通り、主として技術委員会を中心として

- (1) これら色素中の $\beta$ -ナフチルアミンの分析法の開発
- (2) 市販色素中の $\beta$ -ナフチルアミンの分析実施等実態の調査
- (3)  $\beta$ -ナフチルアミンの人体に及ぼす影響と化粧品中に混入した場合の安全率の算出

等の検討を進めて参りました。

その結果、これら色素中に $\beta$ -ナフチルアミンが仮に1ppm混在したとしても、口紅などから人体に摂取される量は、動物実験によって示される最小発ガン量の約1千万分の1から1億分の1という極々微量であって、安全性が極めて高く、問題はないという評価が得られ、また分析法の開発と併せて実態を調査したところ、精製原料の使用、精製工程の導入等により、かなり低い値にコントロールされていることも判明致しました。

しかしながら、このような物質が不純物として色素中に混入することは、極力避けるべきであるとの観点から、これらの色素については、別冊「化粧品用タール色素中の有機性不純物の基準」に従って万全を期して参ることに致しました。

以上の経過により当会では色素業界とも協議した結果、その諒解を得、今後、

色素業者は、赤色205、206、207、208及び220号の5色素の納入に際しては予め、公的試験機関等において品質を検査し、別記基準に適合することを確認した上で、その試験成績表等を附して化粧品製造業者に納入することと相成りました。

つきましては、これら色素の購入に際しましては、以上のご確認にご配慮下され、品質の管理と安全性の確保に万全を期せられるようお願い傍々ご連絡申し上げます。敬具

追記 上記試験の実施について下記機関の協力を得ることに相成っております。

東京都立衛生研究所

財団法人 日本食品分析センター大阪支所

(別冊「化粧品用タール色素中の有機性不純物の基準」略)

# 化粧品用タール色素中 の有機性不純物の基準

(附．タール色素中の $\beta$ -ナフチルアミンの試験法)

昭和55年10月30日

日本化粧品工業連合会

## 化粧品用タール色素中の有機性不純物の基準

基準 下記試験法により $\beta$ -ナフチルアミンのピーク面積は、標準 $\alpha$ -ナフチルアミン溶液から得られる $\alpha$ -ナフチルアミンのピーク面積を起さないこと。

### タール色素中の $\beta$ -ナフチルアミンの試験法

本法は高速液体クロマトグラフィーを用いたタール色素中に混在する可能性のある $\beta$ -ナフチルアミン( $\beta$ -NH<sub>2</sub>)の試験法である。<sup>1), 2)</sup>

#### 装置・器具

高速液体クロマトグラフ, 分光けい光光度計(フローセル付, セル容量: 70  $\mu$ l), 上下振とう器(200~500 r.p.m), クデルナダニッシュ濃縮器(KD濃縮器, 濃縮管容量: 10 ml, 濃縮フラスコ容量: 250~500 ml), カラム:<sup>3)</sup> Lichrosorb-NH<sub>2</sub> (10  $\mu$ , 4mmid $\times$ 250mm, ステンレス製), 遠心分離器。

#### 試薬<sup>4)</sup>

$\alpha$ -ナフチルアミン( $\alpha$ -NH<sub>2</sub>), エチルベンゼン, ジクロルメタン, エルエーテル, n-ノナン, ヘキサン, エタノール, 塩化ナトリウム, 炭酸ナトリウム, 無水硫酸ナトリウム, 塩酸。

#### 試験操作<sup>5)</sup>

試料 2.00 g を 50 ml ガラス製遠心分離管にとりエチルエーテル 20 ml を加え、超音波洗浄器を用いてガラス棒にて攪拌・抽出(10分間)し、ついで遠心分離(3000 r.p.m.・5分間)を行い上澄液をコマゴメピペットで採取する。

基準

は、標準  
面積を起

存在する可能

セル容量  
ッシュ濃縮  
0~500ml  
テンレス製

メタン、エチ  
ム、炭酸ナ

0mlを加え  
ついで遠心  
で採取する。

残分にエチルエーテル 20 ml を加え同様の操作をさらに 2 回くり返す。エチルエーテル抽出液を合せ分液ロートに移し、0.1 N 塩酸 20 ml ずつで 3 回抽出を行う（上下振とう器を用い各 5 分間）。0.1 N 塩酸抽出液を合せ分液ロートに移し、炭酸ナトリウム溶液（1→10）15 ml を加えアルカリ性（リトマス試験紙で確認）としたのち、塩化ナトリウム 15 g を加え、ジクロロメタン 20 ml ずつで 3 回抽出を行う（上下振とう器を用い各 5 分間）。ジクロロメタン溶液を合せ下部にガラスウールを詰め、無水硫酸ナトリウム 20 g を充てんしたガラスカラムを通過させ脱水<sup>6)</sup>する。n-ノナン・ジクロロメタン溶液（1→50）10 ml を加え、KD 濃縮器を用い、水浴温度 40°C にて 0.3~0.5 ml まで濃縮<sup>7)</sup>し、ついで濃縮管をつけたまま少量のヘキサンにてキャピラリーおよび濃縮フラスコの内壁の付着物を濃縮管中に洗い込み、さらに、ヘキサンを濃縮管の 10 ml の標線まで加え定容量とする。ついで無水硫酸ナトリウム 1 g を加えて再び脱水し、その上澄液を試験溶液とする。試験溶液 10 μl をとり、高速液体クロマトグラフィーにより試験を行う。

高速液体クロマトグラフィー

(1) 測定条件

カラム：Lichrosorb·NH<sub>2</sub> (10μ), 4mmid×250mm, 40°C

移動相溶媒：2, 3 または 4 % エタノール/ヘキサン<sup>8)</sup>

流速：1.5 ml/min

検出器：分光けい光光度計

表-1. 励起波長およびけい光波長<sup>9)</sup>

	α, β-NH <sub>2</sub>	エチルベンゼン
励起波長 (Ex)	340 nm	280 nm
けい光波長 (Em)	400 nm	320 nm

(2) 定性法

エチルベンゼン標準溶液<sup>10)</sup>および α-NH<sub>2</sub> の標準溶液<sup>11)</sup> 10 μl を注入し、

上記測定条件のもとで各々の保持時間を求め、使用した移動相溶媒中のエタノール濃度にもとずき、 $\alpha$ -NH<sub>2</sub> に対する $\beta$ -NH<sub>2</sub>の分離係数<sup>12)</sup>を式-2から選び次式により、 $\beta$ -NH<sub>2</sub>の保持時間を求める。

$\beta$ -NH<sub>2</sub>の保持時間

$$= (\text{分離係数}) (\alpha\text{-NH}_2\text{の保持時間} - \text{エチルベンゼンの保持時間}) + \text{エチルベンゼンの保持時間}$$

表-2 エタノール濃度と分離係数の関係

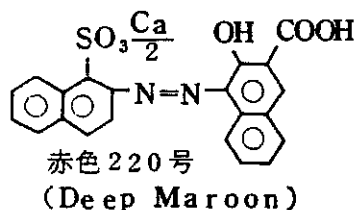
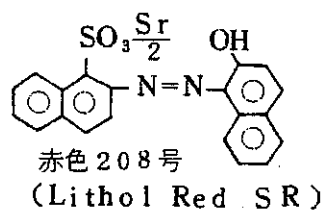
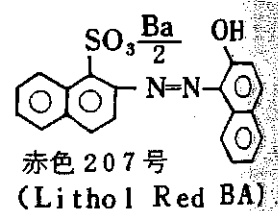
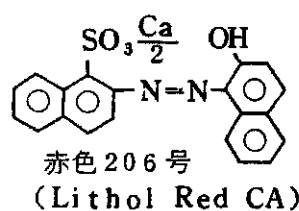
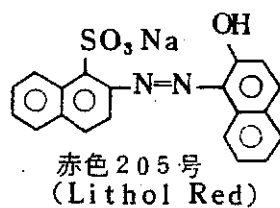
移動相溶媒中のエタノール濃度	2%	3%	4%
分離係数	1.263	1.255	1.243

(3) 試験法

$\alpha$ -NH<sub>2</sub>の標準溶液<sup>11)</sup>を10 $\mu$ L注入し、そのピーク面積(半値巾 $\times$ 高さ)を求め、次に試験溶液10 $\mu$ Lを注入し、 $\beta$ -NH<sub>2</sub>に相当するピーク面積を求めるとき、そのピーク面積は、標準溶液で得た $\alpha$ -NH<sub>2</sub>のピーク面積<sup>13)</sup>より小さくならなければならない。

〔注 解〕

1) 下記、5種のタール色素は、その構造および製造原料由来の $\beta$ -NH<sub>2</sub>の混在の可能性が考えられる。



- 2)  $\beta$ -NH<sub>2</sub> は労働安全衛生法の適用を受ける一般企業の従業員は、1977年4月以降労働基準局長の許可を受けることなく、使用することが出来なくなることから（人事院規則の適用を受ける公務員は1978年7月25日以降、人事院の承認が必要となった） $\beta$ -NH<sub>2</sub> を標品に使用して分析することは事実上、不可能になると判断し、 $\alpha$ -NH<sub>2</sub> を代用標準とするタール色素中の $\beta$ -NH<sub>2</sub> の試験法を定めた。
- 3) 充てんカラムの作成は粘度分散によるスラリー充てん法にて行った。充てん剤をグリセリン、メタノール混合溶媒（35:65）に分散させ、水を加圧溶媒として250～500（kg/cm）にて充てんする。
- 4) 本法に用いる試薬類は、あらかじめ空試験を行い妨害のないことを確認する。
- 5) 試験操作の概要を図-1に示す。

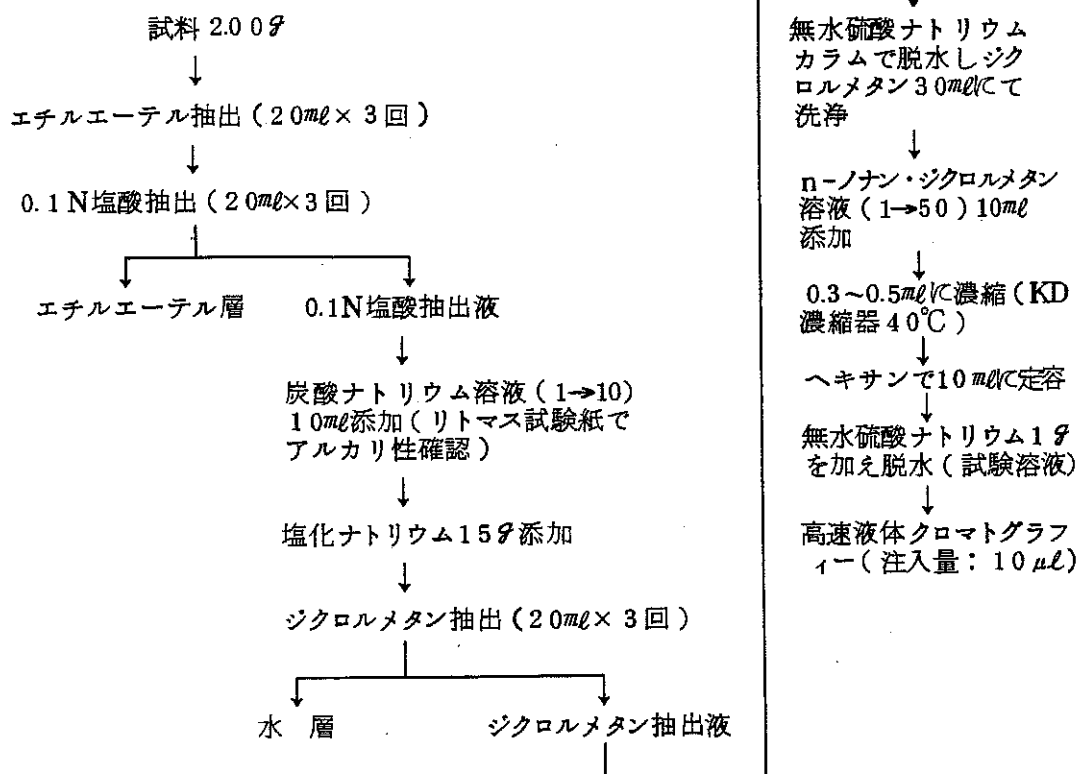


図-1  $\beta$ -NH<sub>2</sub> 試験法フローチャート

- 6) 無水硫酸ナトリウムを充てんし、あらかじめ30~50mlのジクロロメタンで洗浄したカラムに、ジクロロメタン抽出液を通過させ脱水を行い、さらに、30mlのジクロロメタンで洗浄する。  
これらを合せ、次の濃縮操作に供する。なお、ろ紙ろ過では $\beta$ -NH<sub>2</sub>がろ紙に吸着され回収率は30%以下となる。
- 7)  $\beta$ -NH<sub>2</sub>は昇華性があるためn-ノナンを添加し揮散を防いでいる。しかし、溶媒除去後は、n-ノナンも除々に揮散しn-ノナンが完全に無くなった時点から $\beta$ -NH<sub>2</sub>の揮散が急速に起こる。このため本法では0.3~0.5mlまで濃縮することにした。
- 8)  $\alpha$ -NH<sub>2</sub>の保持時間が約4分の条件が分析に最適であるが、カラムの充てん状態などにより保持時間が異なるため本法でのエタノール濃度は2, 3 および4%のいずれかを選び $\alpha$ -NH<sub>2</sub>が約4分に溶出するようにした。
- 9)  $\alpha$ ,  $\beta$ -NH<sub>2</sub>のエタノール、ヘキサン溶液(1→20)中での励起スペクトルおよび、けい光スペクトルを図-2に示したが、本法ではEx: 340nm, Em: 400nmで測定することにした。

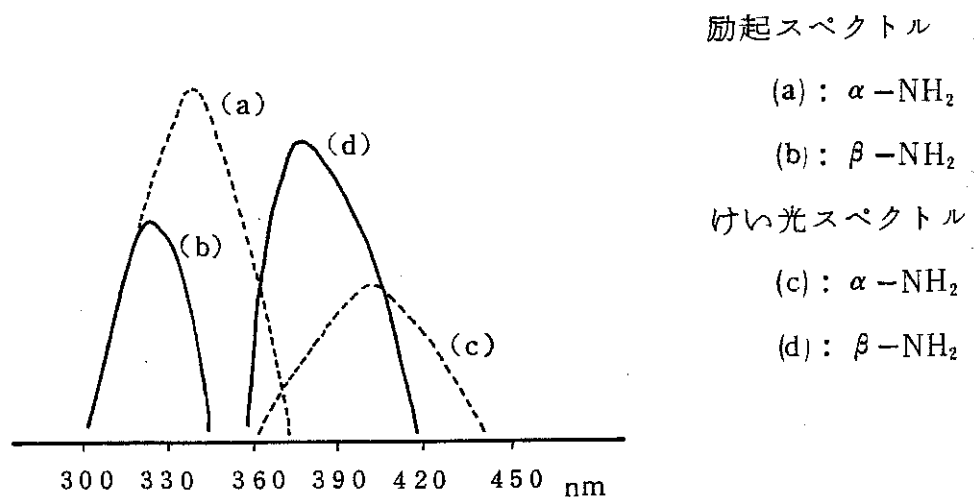


図-2 エタノール・ヘキサン溶液(1→20)での励起・けい光スペクトル



10) エチルベンゼン 0.5 ml にヘキサンを溶かし、100 ml とする。

11)  $\alpha$ -NH<sub>2</sub> 0.150 g を正確にとりエタノール 10 ml を加えて溶かしたのちヘキサンを加えて、100 ml とする。この液、1 ml をとりヘキサンを加えて、100 ml とする。さらに、この液 1 ml をとりヘキサンを加えて、100 ml とする。この液は 1 ml 中に  $\alpha$ -NH<sub>2</sub> を 150 ng 含む

12) エチルベンゼンを素通り物質とし、7) と同じ条件で分離係数 ( $\beta$ -NH<sub>2</sub> /  $\alpha$ -NH<sub>2</sub>) を求めたところ、本文、表-2 のようにエタノール濃度に応じて、値が異なるため、測定時の各エタノール濃度に応じて、表-2 の値をもとに定性することとした。

なお、分離係数は次式によって求めた。

$$\text{分離係数} = k'_2 / k'_1$$

$k'_1$  :  $\alpha$ -NH<sub>2</sub> のキャパシティー比

$k'_2$  :  $\beta$ -NH<sub>2</sub> のキャパシティー比

$$k' = (t_R - t_0) / t_0$$

$t_0$  : エチルベンゼンの保持時間

$t_R$  :  $\alpha$ -NH<sub>2</sub> ,  $\beta$ -NH<sub>2</sub> の保持時間

他の素通り物質としてアントラセン、ナフタレンについても検討したところ、アントラセンは Em: 400 nm で検出されるが、エタノール濃度の減少に伴って少しずつカラムに保持され正確な  $k'$  は求められず、また、ナフタレンも同様に、カラムに保持されるため、 $k'$  を求めるのに不適當であった。

13) 2, 3 および 4 % エタノール・ヘキサン溶液を移動相溶媒とし  $\alpha$ -NH<sub>2</sub> および  $\beta$ -NH<sub>2</sub> の、100, 250, 500 ppb ヘキサン溶液を用いて、それぞれの検量線を作成し、 $\alpha$ -NH<sub>2</sub> に対する  $\beta$ -NH<sub>2</sub> の検量線の傾き比を求め、その相対感度 ( $\beta$ -NH<sub>2</sub> /  $\alpha$ -NH<sub>2</sub>) を 0.75 とした。このことから 150 ppb,  $\alpha$ -NH<sub>2</sub> 標準液 10  $\mu$ l の示す  $\alpha$ -NH<sub>2</sub> のピーク面積は、1  $\mu$ m の  $\beta$ -NH<sub>2</sub> を含む色素を試料として、試験法にした

がって操作した場合に得られる試験溶液10 $\mu$ lの示す $\beta$ -NH<sub>2</sub>の  
ピーク面積に等しくなる。