

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 4 月 8 日現在

機関番号：84407

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22590624

研究課題名（和文）香粧品に配合する防腐剤から遊離するホルムアルデヒドの挙動と健康リスクに関する研究

研究課題名（英文）The release of formaldehyde upon decomposition of preservative substance in the cosmetics

研究代表者 梶村 計志 (KAJIMURA KEIJI)

大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部 課長

研究者番号：40250336

研究成果の概要（和文）：

イミダゾリジニルウレアの分解により遊離するホルムアルデヒド（FA）の挙動について調査を行った。イミダゾリジニルウレアの分解により遊離する FA 量は溶解液の温度および pH に大きく依存しており、溶解液の pH がアルカリ性になるほど遊離する FA 量は著しく増加した。ジアゾリジニルウレアは香粧品中では検出されず、通常は少なくとも 2 種類の分解物として存在していた。クオタニウム-15 が配合された化粧品は、本体に加え、分解により遊離した FA 及び FA 以外の分解物も殺菌作用に寄与しており、結果として防腐効果が長期間ほぼ一定に保たれていた。

研究成果の概要（英文）：

The release of formaldehyde (FA) due to imidazolidinyl urea decomposition was investigated. The release of FA was dependent on pH value and temperature. The release was markedly increased in a highly alkaline buffer compared with that in an acidic buffer. Diazolidinyl urea (DU) was decomposed to two compounds in most of the cosmetic samples tested. To test the contact sensitivity of the DU present in cosmetics, their concentrations should be evaluated. Quaternium-15 (QN) and its decomposition products, including FA, play a major role in the preservative effect of cosmetics containing QN, and this effect was maintained at a virtually constant level for a long period.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011 年度	800,000	240,000	1,040,000
2012 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：社会医学・公衆衛生学・健康科学

キーワード：香粧品、ホルムアルデヒド、防腐剤、分解挙動、抗菌活性

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

1. 研究開始当初の背景

化粧品に配合される防腐剤の中に、分解等によりホルムアルデヒド (FA) を遊離する化合物の存在が知られており、通称 FA ドナー型防腐剤と呼ばれている。FA は近年、社会的に大きな問題となっているシックハウス症候群を引き起こす原因物質のひとつとして注目をあつめており、一度感作すると低濃度の暴露により自律神経系を中心とした多彩な症状を呈することが報告されている。さらに、IARC（国際がん研究機関）による発がん性評価では、最もリスクが高く、「人に対する発がん性が認められる」とされる Group1 に分類されている。

現在、我が国におけるドナー型防腐剤の使用は、2 種類を除いて禁止されている。しかし欧米では、より多くのドナー型防腐剤が一般的に使用されており、化粧品に配合される防腐剤全体の中で占める割合も高い。近年、インターネット等の普及により欧米から個人輸入される化粧品の数が飛躍的に増加しているが、その中にはドナー型防腐剤が配合されたものが多数含まれている。さらに、年間 600 万人とも言われる邦人女性海外旅行者が、お土産品として海外で購入する化粧品にもドナー型防腐剤が配合された製品が多数存在する。化粧品は、毎日使用され且つ人体に直接接触することから、その安全性に関して多大なる配慮が必要である。

ドナー型防腐剤から遊離する FA の挙動に関する研究は、国内外でもほとんど行われておらず、これら化合物の速度論的な分解や分析法に関する報告が散見されるのみである。

2. 研究の目的

本研究では、ドナー型防腐剤のうち、我

国で使用が認められているイミダゾリジニルウレアおよび DMDM ヒダントイン、欧米での使用頻度が高い、ジアゾリジニルウレアおよびクオタニウム-15 を対象とし、日常生活で化粧品が使用される状況下において、遊離する FA の挙動を明らかにする。

また、大部分の化粧品は、特に使用期限が定められておらず、長期間にわたり保存される可能性があることから、長期間の保存により遊離する FA 量が経日的にどの様に変化するのかについても調査する。そして、得られた結果から、人体が接触又は吸入する可能性がある FA 量を推定し、有害性を及ぼすことが報告されている文献値と比較することにより人体に対するリスク評価を行う。

3. 研究の方法

(1) ドナー型防腐剤の分解により遊離する FA の挙動に関する検討

①FA の遊離およびドナー型防腐剤の分解に影響を及ぼす基礎的な要因の検討

ドナー型防腐剤から遊離する、FA 量に影響を及ぼす基礎的な要因 (pH、光、温度、塩濃度等) について検討した。遊離する FA 量と併せてドナー型防腐剤の減少量を HPLC により測定した。

②長期保存試験

ドナー型防腐剤を配合した化粧品のモデル処方 (ローション、コンディショナー、シャワージェルおよびリンス) を作製し、6 ヶ月間にわたり、経日的に遊離する FA 含量の測定を行った。なお、保存条件は、前記①における基礎的な要因の検討結果を踏まえ、最も FA の遊離が著しくかつ日常生活において保存される可能性が高い条件を選定した。

(2) ドナー型防腐剤の分解物の単離および構造決定

緩衝液、化粧品およびパッチテスト試料中に存在する分解物を単離精製し、LC-MS、FT-IR および ¹H-NMR により構造を決定した。

(3) ドナー型防腐剤およびその分解物の抗菌活性に関する検討

SCD 液体培地で前培養 (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* は 24 時間、*Bacillus subtilis* は 72 時間) した菌液を使用した。滅菌生理食塩水により $5 \times 10^6 \sim 5 \times 10^7$ cfu/mL に調製し、試料溶液に接種した試験液 ($1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^5$ cfu/mL) を 25°C の恒温庫で保存し、経時的に菌数の変化を測定した。

菌数の測定は、平板混釈法により行った。細菌を接種した試験溶液を経時的に採取し、滅菌生理食塩水により 10~2000 倍に段階希釈した。この液 1mL をプラスチックシャーレに分注した後、SCD 寒天培地 20mL を混和した。32°C で 3~5 日培養後、出現したコロニー数を計測した。なお、生菌数は、10~300 個の集落数を示す平板から得られた計測結果を用いて算出した。

4. 研究成果

(1) イミダゾリジニルウレアに関する検討

イミダゾリジニルウレア (IM) の分解により遊離するホルムアルデヒド (FA) の挙動について調査を行った。IM から遊離する FA は、溶解液の pH 及び温度に大きく依存していた。pH がアルカリ性になるほど遊離する FA 含量は顕著に増加した。

IM を添加したローション、ゲル、コンディショナーのモデル化粧品を作製し、25°C で 30 日間保存し、経日的に FA 含量の測定を行った。大部分のモデル化粧品では、FA 量の経日

的な増加が確認された。しかし、尿素が配合されている処方では 2 日目以降、FA 濃度の減少が認められた。尿素が配合されている市販化粧品に IM を添加した場合も同様の現象が認められた。さらに、FA と尿素を混合した水溶液を 25°C で 15 日間保存した場合、経日的な FA および尿素含量の減少が認められた。これらの処方では、FA と尿素が複合体を形成している可能性が示唆された。

(2) ジアゾリジニルウレアに関する検討

緩衝液、化粧品及びパッチテスト試料について、HPLC、LC-MS 及び ¹H-NMR による分析を行い、ジアゾリジニル尿素 (DU) の分解挙動を調査した。HPLC による分析では、多くの試料において 4 本のピークを与え、LC-MS による分析の結果、2 本のピークについては分子量が 218、その他の 2 本については分子量 188、248 の化合物であると考えられた。¹H-NMR による解析の結果、化粧品中で 90% 以上のピーク面積を占める 2 本については 4-hydroxymethyl-2,5-dioxoimidazolidine-4-yl)-urea (HU; MW 188) および (3,4-bis-hydroxymethyl-2,5-dioxoimidazolidine-4-yl)-urea (3,4-BHU; MW 218) であることが示された。一方、ワセリン基材のパッチテスト試料では、未同定であるが約 75% が分子量 248 の化合物であり、化粧品中とは異なる分解挙動が確認された。また水基材の試料では、パッチテスト中に分解が進むため、陽性反応の原因物質を特定できない可能性が考えられた。DU を用いた化粧品由来のアレルギー反応の評価には、HU や 3,4-BHU をワセリン基材に混和した試料を用いてパッチテストを行うことが望ましいことが示唆された。

(3) クオタニウム-15 に関する検討

クオタニウム-15 (QN) が配合された市販化粧品中の FA 及び QN 含量を測定したところ、

106~493ppmに相当するFAが検出された。各化粧品からQN-15は、検出されなかった。これら化粧品の好気性細菌に対する殺菌作用について調査したところ、いずれの試料にも殺菌効果が認められた。

QNの分解に伴うFAの遊離について検討した。0.3w/v%水溶液を調製し、25°Cの恒温庫で50日間保存したところ、FA含量は350ppmに達した。一方QN含量は経時的に減少し、保存50日後には、検出限界以下になった。HPLCによる分析の結果、FA以外のQN分解物が保存溶液中に存在し、その含量が経時的に増加することが確認された。そこで、QN-15分解物の殺菌作用を調査したところ、好気性菌に対して殺菌効果を有することが示された。さらにQN-15本体の殺菌作用についても検討し、同様の殺菌効果を示すことを明らかにした。

本研究によりQN-15が配合された化粧品は、QN-15本体に加え、分解により遊離したFA及びFA以外の分解物も殺菌作用に寄与しており、結果として防腐効果が長期間ほぼ一定に保たれていることが明らかとなった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計6件)

- ① A. Asada, T. Doi, A. Takeda, and K. Kajimura, Quantification of 1,3-dimethylol-5,5-dimethylhydantoin and its decomposition products in cosmetics by high-performance liquid chromatography, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 67-68, 163-168 (2012).
- ② T. Doi, A. Takeda, A. Asada, and K.

Kajimura, Characterization of decomposition compounds derived from imidazolidinylurea in the cosmetics and the patch test materials, *Contact Dermatitis*, 66, 112-115 (2012).

- ③ K. Kajimura, T. Doi, A. Asada, A. Takeda, and T. Tagami, Bactericidal Activity of Quaternium-15 and its Decomposition Products against Aerobic Bacteria, *Journal of Japanese Cosmetic Science Society*, 36, 1-6 (2012).
- ④ T. Doi, K. Kajimura and S. Taguchi, The different decomposition properties of diazolidinyl urea in cosmetics and patch test materials, *Contact Dermatitis*, 65, 81-91 (2011).
- ⑤ K. Kajimura, T. Doi, T. Tagami, and S. Taguchi, The Release of Formaldehyde upon Decomposition of Imidazolidinyl urea, *Journal of Japanese Cosmetic Science Society*, 34, 7-13 (2010).
- ⑥ T. Doi, K. Kajimura, and S. Taguchi, Survey of formaldehyde (FA) concentration in cosmetics containing FA-donor preservatives, *Journal of Health Science*, 56, 116-122 (2010).

[学会発表] (計5件)

- ① 浅田安紀子、土井崇広、青山愛倫、武田章弘、田上貴臣、梶村計志、化粧品中の1,3-ジメチロール-5,5-ジメチルヒダントインとその分解物の定量について、日本薬学会第133回年会、2013
- ② 浅田安紀子、土井崇広、青山愛倫、武田章弘、田上貴臣、梶村計志、化粧品中の1,3-ジメチロール-5,5-ジメチルヒダントインとその分解物の定量について、第49回全国衛生化学技術協議会年会、2012

- ③土井崇広、梶村計志、ホルムアルデヒド
(FA) 供与型防腐剤を含有する化粧品中の
FA 濃度に影響を与える要因について、第
48 回全国衛生化学技術協議会年会、2011
- ④土井崇広、梶村計志、田口修三、ホルムア
ルデヒド (FA) 供与型防腐剤を含有する化
粧品中の FA 濃度に影響を与える要因につ
いて、日本薬学会第 130 年会、2010
- ⑤土井崇広、梶村計志、田口修三、ホルムア
ルデヒドドナー型防腐剤ジアゾリジニル
尿素の化粧品中での分解について、第 47
回全国衛生化学技術協議会年会、2010

〔その他〕 メールマガジン（大阪府立公衆衛
生研究所のホームページに掲載）

かわら版@iph.106 号 2012 年 6 月 29 日発行、
化粧品中のホルムアルデヒド遊離型（ドナー
型）防腐剤とホルムアルデヒドによるアレル
ギー性接触皮膚炎について、土井崇広、
[http://www.iph.pref.osaka.jp/merumaga/b
ack/106-2.html](http://www.iph.pref.osaka.jp/merumaga/back/106-2.html)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

梶村 計志 (KAJIMURA KEIJI)
大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部
研究者番号：40250336

(2) 研究分担者

土井 崇広 (DOI TAKAHIRO)
大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部
研究者番号：90516767

研究分担者

田上 貴臣 (TAGAMI TAKAOMI)
大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部
研究者番号：00321943

研究分担者

浅田 安紀子 (ASADA AKIKO)
大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部