

つけまつげ用接着剤を対象としたホルムアルデヒドの簡易分析

西條雅明、長谷川貴志、高橋市長、吹譯友秀、元木裕二

A Simple and Rapid Analysis of Formaldehyde for the False Eyelash Glue Regulated by Ordinance for Enforcement of the Act on Control of Household Products Containing Harmful Substances

Masaaki SAIJO, Takashi HASEGAWA, Kazunaga TAKAHASHI, Tomohide FUKIWAKE and Yuji MOTOKI

Summary

A simple and rapid analysis of formaldehyde for the false eyelash glue has been developed.

0.2 g of sample was transferred into a 10-mL test tube, 5 mL of water and 0.3 mL of 20% phosphoric acid solution were added to it. The mixture was extracted at 90°C for 30 min. After cooling to room temperature, 2.0 g of ammonium sulfate was added to the extract in 3 parts. The solution was centrifuged at 1880×*g* for 10min and the supernatant obtained was transferred to a 20-mL volumetric flask. The precipitate was washed with water, and centrifuged under same condition. The collected supernatant were mixed up and the volume was adjusted with water. This solution was reacted with acetylacetone reagent, and measured by ultraviolet and visible spectrophotometer.

The caribration curve was liner over the range of 0.020 to 4.0 µg/mL. The limits of determination for formaldehyde was 0.59 µg/g. In this method, the recoveries in the overall procedure of formaldehyde were 94.6- 95.5%. The established method was successfully applied to other commercial products.

キーワード:ホルムアルデヒド、硫酸アンモニウム、塩析、つけまつげ用接着剤、家庭用品、紫外可視分光光度計

Keywords: formaldehyde, ammonium sulfate, salting-out, false eyelash glue, household product, ultraviolet and visible spectrophotometer

はじめに

国内のメイクアップ市場は、2001 年以降は毎年、約 5000 億円前後で推移している¹⁾。この内、アイラッシュ（つけまつげ）の市場は、2001 年時点で 24 億円規模、2006 年頃から毎年徐々に拡大し、2010 年には 65 億円規模となり、高い成長率を示している¹⁾。

これらアイラッシュの商品形態には、つけまつげ本体のみ、つけまつげ用接着剤のみ、あるいはその両方がセットになったものがある。このうち「有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律」(以下、法という)において規制されているものは、つけまつげ用接着剤である。

つけまつげ用接着剤は、直接皮膚に接着剤が触れるため、ホルムアルデヒド（以下、HCHO という）が法に基づく有害規制物質として規制されている。HCHO は、身体に接触した場合、皮膚に対して刺激を与え炎症を起こすほか化学物質の中でも特に強い抗原性を持っているため、アレルギーを惹起することが知られている²⁾。なお、つけまつげ用接着剤の HCHO 溶出量の基準は、省令により 75µg/g 以下であること³⁾とされている。

千葉県では、毎年度 10 検体前後のつけまつげ用

接着剤の HCHO 分析を行っている。これら製品の表示からは、内容量、ロット情報を得ることができないものが多数見受けられた (Table 1)。つけまつげ用接着剤のみで販売されていた製品では、比較的内容量が大きく、アルミニウム製チューブやプラスチックボトルに入ったものが多い。しかし、一部のつけまつげと接着剤がセットになった製品では、接着剤がより小さなアルミニウム製チューブに入っており、その内容量が公定法の採取量である 2g より少ないもの（最少量：0.70g/本）も多く確認された。

このようなことから、内容量の少ない検体でも複数回分析可能な方法が必要であると思われた。

公定法におけるつけまつげ用接着剤の HCHO 分析は、試料 2g を採取し、試験溶液の調製（以下、抽出法という）を水蒸気蒸留法、定量分析をアセチルアセトン法で行うこととなっている。しかし、多くの検体を処理する場合には、水蒸気蒸留法は操作に手間がかかり多くの時間を必要とする。

また、公定法の抽出法に水蒸気蒸留法が採用された理由は、つけまつげなどに用いられる接着剤には、乳化剤入りのものも多く、衣類の HCHO 分析に用いた方法ではろ液の白濁が著しく、測定が不能となる²⁾ためである。以上のことから、試験に時間を要する

水蒸気蒸留法に代えて、この濁りと接着剤成分を除去し、簡易に試験溶液を得る方法を検討することとした。

過去に公定法に従い試験したところ、つけまつげ用接着剤は、精製水とリン酸溶液存在下では接着剤成分と乳化剤によるものと思われる濁りが生じ、加熱により凝集することが多かった。このため、精製水にリン酸を添加し加熱する抽出法を検討した。また、つけまつげ用接着剤には、高分子である天然ゴムラテックスが使用されているものが比較的多くラテックス等の高分子が、加熱だけでは凝集しないことも想定し、高分子であるタンパク質を凝集・沈殿させるために広く生化学分野で使用されている硫酸アンモニウム（以下、硫安という）による塩析も検討した。

一方、空気環境の分野において、硫安水溶液は空気中の HCHO の吸着剤として、その効果が確認できた⁴⁾と報告されている。従って、硫安と HCHO の反応性が否定できないため、硫安による HCHO 定量性への影響を検討することとした。

以上のことから、つけまつげ用接着剤の HCHO 分析法として、抽出法に焦点をあてた簡易な操作法（以下、簡易法という）について報告する。

また、併せて他の市販製品についても簡易法を適用したので報告する。

実験方法

1. 試薬

千葉県内の小売店で市販されていた 11 検体 [2009 年購入: 10 検体 (試料 No.01-10)、2010 年購入: 1 検体 (試料 No.11)] を用いた (Table 1)。このうち主に、基準値以下であったものの HCHO が検出された検体として試料 No.01 を、HCHO 陰性検体として試料 No.11 を用いた。

2. 試薬

HCHO 標準原液は関東化学製の水質試験用を、その他の試薬はすべて和光純薬工業製の特級品を用いた。精製水は日本ミリポア製 MILLI-Q Labo 超純水製造装置により精製した超純水を用いた。

1) HCHO 標準液

HCHO 標準原液 1000mg/L を精製水で希釈して、80μg/mL の溶液を調製した。これをさらに希釈して各種濃度の HCHO 標準液 (0.020、0.20、0.40、1.0、4.0μg/mL) を調製した。

2) 硫安およびリン酸を含有した HCHO 標準液

80μg/mL HCHO の溶液を用いて、1) と同様に希釈して、最終容量 20mL に対してリン酸溶液 0.3mL、硫安 2.0g を含んだ HCHO 標準液を調製した。

3) アセチルアセトン試液

酢酸アンモニウム 150g を精製水に溶かし、氷酢酸 3mL 及びアセチルアセトン 2mL を加えた後、精製水で 1000mL とした (用時調製)。

4) リン酸溶液

リン酸 5g を精製水に溶かし 25mL とした。

5) ブランク溶液

リン酸溶液 1.5mL、硫安 10g を精製水に溶かし 100mL とした。

3. 装置

紫外可視分光光度計: 島津製作所製 UV-1800 を用いた。

4. 試験溶液の調製 (抽出法)

1) 公定法²⁾

試料約 2g を水蒸気蒸留装置の 1000mL 丸底フラスコに精密に量り取り、精製水 50mL およびリン酸溶液 3mL を添加した後、水蒸気蒸留を行い留液が 190mL になるまで蒸留し、精製水で 200mL とし試験溶液とした。

2) 簡易法

試料約 0.2g を 10mL の共栓付き試験管に量り取り、精製水 5mL 及びリン酸溶液 0.3mL (いずれも公定法の 1/10 量) を加え密栓し、水浴で 90°C、30 分加温抽出後、室温になるまで放置した。その後、硫安 2.0g を 3 回に分けて添加・溶解したのち、遠心分離 (1880g、10 分) を行った。清澄液を回収し、残査を精製水で洗い込み合わせて 20mL とし試験溶液とした。

5. HCHO の定量²⁾ (アセチルアセトン法)

1) 吸光度 A 及び HCHO 標準液の吸光度 As 測定

各試験溶液 (ブランク溶液を含む) 及び HCHO 標準液を正確にそれぞれ 5mL 採り、それぞれにアセチルアセトン試液 5mL を加えて振り混ぜた後、40°C、30 分間加温し、30 分間放置した。また、精製水 5mL にアセチルアセトン試液 5mL を加えて同様に操作したものを対照として、HCHO 標準液の極大吸収波長 413nm で吸光度 A 及び As 測定した。

2) 吸光度 A₀ 測定

各試験溶液 (ブランク溶液を含む) 5mL 採り、アセチルアセトン試液の代わりに精製水 5mL を加え、1) と同様に操作した。また、精製水を対照として、413nm における吸光度 A₀ を測定した。

3) HCHO の定量計算式

HCHO 溶出量は、次式により計算した。

HCHO 溶出量 (μg/g)

$$= K \times (A - A_0) / A_s \times V \times 1 / \text{試料採取量 (g)}$$

K: HCHO 標準液の濃度 [4.0 (μg/mL)]

V: 試験溶液の調製量

[公定法: 200 (mL)、簡易法: 20 (mL)]

Table 1. Products labeling information and form of commercially-supplied false eyelash glue.

Sample	Content note			Container	Accessory
	Ingredient	Volume	Lot No.		
No.01	—	—	—	Aluminum tube	False eyelash
No.02	—	—	—	Aluminum tube	False eyelash
No.03	—	1 mL	—	Aluminum tube	False eyelash
No.04	Latex	2 mL	—	Aluminum tube	False eyelash
No.05	Latex	—	—	Aluminum tube	False eyelash
No.06	Latex	—	—	Aluminum tube	False eyelash
No.07	Latex	—	Entered	Aluminum tube	None
No.08	Latex	—	Entered	Aluminum tube	None
No.09	—	—	—	Plastic Bottle	None
No.10	—	—	—	Plastic Bottle	None
No.11	—	20 mL	Entered	Aluminum tube	None

— : Unprinted

結果および考察

1. HCHO 標準液の定量性と硫酸による影響

HCHO 標準液 (0.020、0.20、0.40、1.0、4.0 μ g/mL)、硫酸およびリン酸を含有した HCHO 標準液 (0.020、0.20、0.40、1.0、4.0 μ g/mL) 及びブランク溶液について HCHO の定量分析を行った。

その結果、2つの検量線は 0.020-4.0 μ g/mL の範囲において、それぞれ傾きは 0.13490、0.13421、切片は 0.00005、0.00355、相関係数は両方とも 1.0000 であった (Fig.1)。HCHO 標準液の検量線は、硫酸の有無にかかわらず、直線性及び相関性が良好であった。なお、検量線の結果から定量限界は 0.59 μ g/g であった。

一方、ブランク溶液 (硫酸およびリン酸を含有) の吸光度 A を測定したところ 0.003 であった。この値は、両検量線における切片の差 (0.00350) とほぼ同じ値であった。従って、硫酸およびリン酸を含有した試験溶液の HCHO 定量分析では、同時にブランク溶液を測定し補正することで、HCHO 標準液を用いることが可能であると判断した。

なお、ブランク溶液の吸光度 A_0 を測定したところ 0.001 未満であった。このため、硫酸およびリン酸を含有した試験溶液の吸光度 A_0 測定でも精製水を対照とした。

つけまつげ用接着剤の HCHO 溶出量の基準は、75 μ g/g 以下であり、吸光度 ($A-A_0$) にしておよそ 0.100 に相当する。

2. 抽出法の検討

公定法により HCHO の含有が明らかな試料 No.01 を用いた。試料 No.01 は、ロット・内容量の表記はなく、その内容量を測定したところ 1 本あたりの平均内容量および標準偏差は $0.764\text{g} \pm 0.0278\text{g}$ ($n=18$ 、最小 0.697g—最大 0.817g) であった。試験溶液の調製にあたっては、選択試料由来による検討条件間での差が生じないように、試料 1 本から 3 条件について、検討が可能なように 0.20g (公定法の 1/10 量) ずつ量り取り試験した。これを 3 試行実施し抽出条件を決定した。

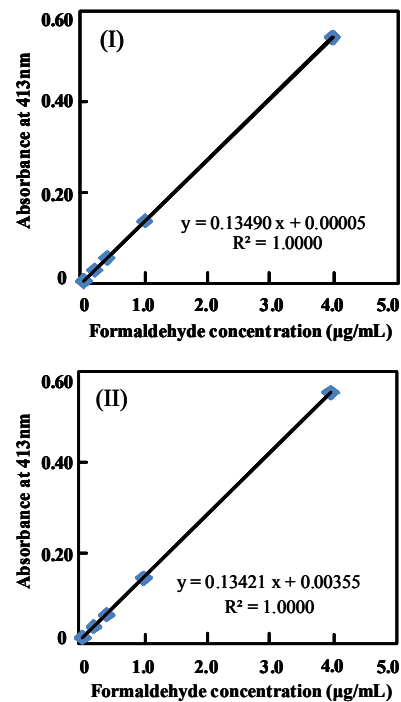


Fig. 1. Comparison of the analytical curve by two kinds of formaldehyde standard solution

(I) Other reagents were not included. (II) Ammonium sulfate 2.0 g and phosphoric acid 60 mg were contained in 20 mL.

1) 温度

抽出時間を 30 分、抽出後の硫酸添加量を 2.0g とし、抽出温度について 40、60、90 $^{\circ}$ C の条件で検討した結果、抽出温度が高くなるに従って、HCHO 溶出量が増加した (Fig.2)。このため、抽出温度を 90 $^{\circ}$ C とした。

2) 加温時間

抽出温度を 90 $^{\circ}$ C、抽出後の硫酸添加量を 2.0g とし、抽出時間について 10、30、60 分の条件で検討した結果、HCHO 溶出量は、抽出時間 10 分では 30、60 分に比べわずかに低く、30、60 分ではほぼ一定であった (Fig.3)。このため、抽出時間を 30 分とした。

3) 塩析

抽出温度を 90 $^{\circ}$ C、抽出時間を 30 分とした条件で抽出した抽出液は、室温になるまで放置した。その後、抽出液に硫酸 1.0、2.0、3.0g を 3 回に分けて添加・溶解後、遠心分離した結果、1.0-3.0g の間では、HCHO 溶出量に大きな差はなかった (Fig.4)。硫酸添加量が 3.0g の場合、溶解させるのに時間を要した。このため、抽出後の硫酸添加量は、硫酸の添加量が多く、塩析効果が十分期待できる 2.0g とした。

以上の結果から至適抽出条件は、90 $^{\circ}$ C、30 分の加温、次いで抽出液に硫酸 2.0g 添加による塩析を行うこととした。

HCHO は沸点が -21 $^{\circ}$ C であり、一般的には揮発性であると考えられがちである。しかし、HCHO 水溶液は、100 $^{\circ}$ C で 10 分間加熱しても揮散せずに安定で

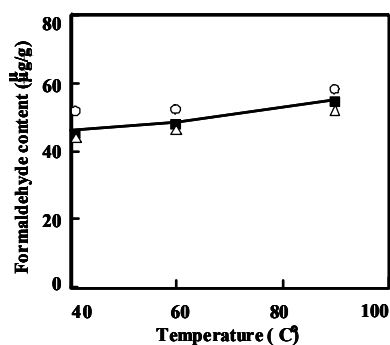


Fig. 2. Effect of temperature on formaldehyde extraction in sample No.01.

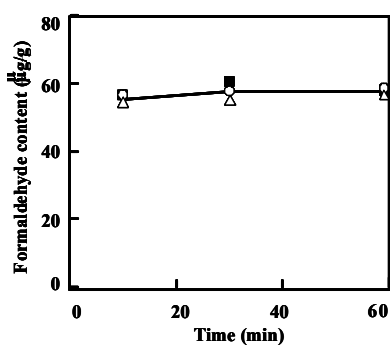


Fig. 3. Effect of time on formaldehyde extraction in sample No.01.

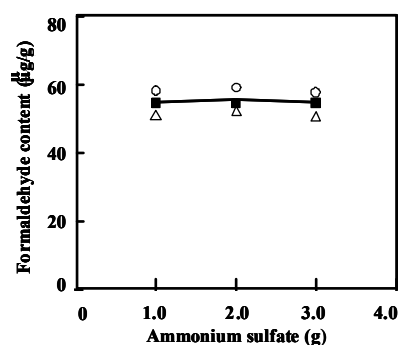


Fig. 4. Salting-out effect of ammonium sulfate on formaldehyde extraction in sample No.01.

あり、曝気によっても揮散しない⁵⁾。このため、試料 No.01 を用いた簡易法において、高い温度でも良好な抽出が行えたものと考えられた。

3. 簡易法による添加回収試験

内容量が多く、公定法および簡易法により HCHO を含有していないことを確認した試料 No.11 (20mL/本) を用いた。簡易法の妥当性評価については、食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインについて⁶⁾により、添加回収試験を行い評価した。

試料 No.11 を 10mL の共栓付き試験管に 0.20g ずつ量り採り HCHO をそれぞれ 4.0、20µg 添加し攪拌し、簡易法に従い試験溶液を調製し、定量分析を行った。再現性については、1 日 2 回、5 日間分析を行った。その結果、添加回収率及び標準偏差はそれぞれ 94.6±3.74%、95.5±0.74%、併行精度 (RSD%) は 2.50、0.56、室内再現精度 (RSD%) は 4.68、0.95 (Table 2) と良好であり、簡易法は妥当な方法であると評価した。

4. 公定法と簡易法の定量試験

公定法では、1 試行につき試料 No.01 を 3 本用いて試験溶液を調製し、これを 3 試行実施した。

簡易法では、試料 No.01 を 3 本 (No.01-1、No.01-2、No.01-3) 用いて試験溶液を調製し、1 本あたり各 3 試行実施した。

その結果、公定法の定量値及び標準偏差は、51.6±0.71µg/g (n=3) であった。簡易法の定量値及び標準偏差は、試料 (No.01-1、No.01-2、No.01-3) ごとにそれぞれ、58.4±0.42µg/g、51.6±0.89µg/g、54.8±0.20µg/g (n=3) であり (Table 3)、この結果から、試料 No.01 は、試料間の定量値の差が大きいことが推定された。また、結果的に公定法の方が低い定量値を示したもう一つの原因は、公定法では 1 試行につき試料 No.01 を 3 本用いることに伴い、試料間の差が平均化されたためと思われる。

他の検体 (No. 02-10) については、簡易法を適用したところ、いずれも基準値の 30% 以下と低く、公定法による定量結果とほぼ一致していた (Table 4)。

Table 2. Recoveries of formaldehyde spiked in sample No.11 by the simple and rapid analysis

Sample	Added (µg/g)	Recovery ^{*1} (%)	Repeatability (RSD%)	Intermediate precision (RSD%)
No.11	20	94.6 ± 3.74	2.50	4.68
	100	95.5 ± 0.74	0.56	0.95

^{*1} Values are means ± standard deviation (n=10)

Table 3. Quantitative values of formaldehyde in sample No.01 by two analysis methods.

Analysis method	Sample	Formaldehyde content ^{*1} (µg/g)
Japanese official	No.01	51.6 ± 0.71
Simple and rapid	No.01-1	58.4 ± 0.42
Simple and rapid	No.01-2	51.6 ± 0.89
Simple and rapid	No.01-3	54.8 ± 0.20

^{*1} Values are means ± standard deviation (n=3)

Table 4. Contents of formaldehyde in other products by two analysis methods.

Sample	Formaldehyde content ^{*1} (µg/g)	
	Japanese official	Simple and rapid
No.02	0.8	6.0
No.03	6.2	0.0
No.04	3.8	11.3
No.05	0.0	2.3
No.06	3.0	1.5
No.07	0.0	0.0
No.08	0.8	0.0
No.09	15.0	21.0
No.10	4.6	9.0

^{*1} Number of sample (n=1)

まとめ

簡易な操作法による HCHO の分析法を開発した。検体 0.2g に精製水 5mL 及びリン酸溶液 0.3mL (いずれも公定法の 1/10 量) を加え密栓し、水浴で 90°C、30 分加温抽出後、室温になるまで放置した。その後、硫酸 2.0g を 3 回に分けて添加・溶解したのち、遠心分離 (1880g、10 分) を行った。清澄液を回収し、残査を精製水で洗い込み合わせて 20mL とし試験溶液とした。アセチルアセトン試薬により発色させ、紫外可視分光光度計で測定した。本法の

定量限界は 0.59 μ g/g であった。添加回収試験の結果回収率は 94.6- 95.5%と良好であった。本法を市販検体に適用したところ、公定法による定量結果とほぼ一致した。

文献

- 1) 株式会社富士経済：メイクアップ市場におけるアイラッシュ(つけまつげ)市場の動向, 富士経済マーケティングレポート化粧品トイレタリーシリーズ, 236,1-14(2009)
- 2) 家庭用品安全対策研究会：保健衛生安全基準家庭用品規制関係実務便覧, 2046-2048(1975)
- 3) 有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律施行規則, 厚生労働省令第 34 号, 昭和 49 年 9 月 26 日
- 4) 佐々木 葉吏子, 大黒谷 亜希, 糠塚 いそし, 大関 邦夫：フローインジェクション分析法によるアンモニアとホルムアルデヒドの定量, 分析化学, 12, 1155-1160(2005)
- 5) 日本水道協会：上水試験方法解説編 2001 年版, 687(2001)
- 6) 食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインについて, 食安発第 1115001 号, 平成 19 年 11 月 15 日