

## Twin Line MSシステムによる 化粧品中の香料アレルゲン57成分の定量分析

中筋 悠斗、平松 崇英

### ユーザーベネフィット

- ◆ Twin Line MSシステムによって化粧品中の香料アレルゲンの分析を効率的に行うことが可能です。
- ◆ 2種類のカラムを使用することでシングル四重極型のGCMSでも夾雑成分を効果的に分離することが可能です。
- ◆ 2種類のカラムを同時に装置に接続できるため、ダウンタイムが大幅に削減できます。

### ■ はじめに

欧州の化粧品指令（EC 1223/2009）<sup>1)</sup>では、化粧品に使用される香料のうち24成分が香料アレルゲンとして規制の対象となっています。リープオン製品で0.001 %、リンスオフ製品では0.01 %以上含有する場合には製品への表示が義務化されています。しかし、最近ではEU消費者安全委員会の意見を受け、規制対象の成分が80以上に拡大される予定です。このため、化粧品を製造するメーカーは完成品または原料中に含まれる香料成分について正確に把握する必要があります。

本稿ではIFRAが報告している香料アレルゲン57成分の分析メソッド<sup>2)</sup>を参考にして、Twin Line MSシステムを用いて市販のヘアオイル中に含まれる香料アレルゲン57成分の分析を行った例について紹介します。



図1 AOC-30i + GCMS-QP™2020 NX

### ■ 香料アレルゲン

香料は香水だけでなく、洗剤、柔軟剤、その他の家庭用品にも使用されますが、皮膚が香料に暴露される際にはアレルギーを引き起こす可能性があります。

欧州の消費者安全科学委員会（SCCS）は、“化粧品に含まれる香料アレルゲンに関する意見（SCCS/1459/11）<sup>3)</sup>”の中で、香料に対する接触アレルギーは比較的良好とみられると記載しています。アレルギー性接触皮膚炎は重度で広範囲に及ぶことがあり、生活の質が著しく損なわれ仕事への適応度に影響を及ぼす可能性があるため、公衆衛生リスク管理対策のために香料アレルゲンは適切な量での使用が求められます。

SCCSは上記文書の中で、一般的なレベルでの最大0.8 µg/cm<sup>2</sup>（化粧品では0.01%）の暴露は、香料アレルゲンに対する接触アレルギーを持つ消費者を含め、ほとんどの消費者が許容できるとしています。SCCSからの提言を受け、EU委員会はEU化粧品指令の修正草案（G/TBT/N/EU/924）<sup>4)</sup>を2022年9月に発行しました。この草案は2023年上半期に採択される予定です。

香料アレルゲンに関する規制は欧州だけではなく、米国では2022年12月に化粧品近代化規制法（MoCRA）<sup>5)</sup>が採択され、今後香料アレルゲンの表示が義務付けられます。消費者が化粧品に対して安心や安全性を求める傾向は高まっており、香料アレルゲンの定量分析はますます重要になっています。

表1 装置構成および分析条件

System	
GCMS Model	: GCMS-QP2020 NX
Autoinjector	: AOC-30i
Column1	: SH-I-17 (30 m × 0.25 mm I.D. 0.25 µm)
Column2	: SH-1 (30 m × 0.25 mm I.D. 0.25 µm)
GC conditions	
Injection Mode	: Split
Injection volume	: 1 µL
Injertor temp.	: 280 °C
Split Ratio	: 10
Carrier Gas	: He
Carrier Gas Control	: Linear velocity (40 cm/s)
Column1 (SH-I-17) Temp. program	: 80 °C(1 min)_10 °C/min_135 °C(2 min)_3 °C/min_170 °C(1 min)_10 °C/min_280 °C(2 min)
Column2 (SH-1) Temp. program	: 80 °C(4 min)_15 °C/min_105 °C(2 min)_4 °C/min_150 °C_10 °C/min_280 °C(2 min)
MS conditions	
Ion Source Temp.	: 200 °C
Interface Temp.	: 280 °C
Emission Current	: 20 µA
Data Acquisition Mode	: SIM
Event Time	: 0.3 sec

## ■ 装置および分析条件

分析にはシングル四重極型のGCMS-QP2020 NXのTwin Line MSシステムおよびオートインジェクタのAOC-30iを使用しました。

標準試料には香料アレルゲン57成分をMtBEで0.5~50 mg/kgに調製した溶液を使用しました。また、内部標準物質として1,4-Dibromobenzeneおよび4,4'-Dibromobiphenylを使用し、それぞれ50 mg/kgとなるように調整しました。実試料には市販のヘアオイルを使用し、マトリックスを揃えるためヘアオイル1 gにMtBEを加えて10 mLにメスアップしました。ここで、本稿では各成分の溶出を確認するため、この際にターゲット成分の濃度が1 mg/kgとなるように標準試料を添加した試料を分析しました。分析条件は表1に示す通りです。

## ■ Twin Line MSシステムによる分析

本稿で使用したTwin Line MSシステムは2本の異なるカラムを同時にMSに接続した状態で分析を行うシステムです。2本のカラムを同時にMSに接続して使用するため、MSを停止することなく2本のカラムを切り替えて異なるカラムでの分析を行うことが可能です。

化粧品のように複雑なマトリックスの試料を分析するような場合には、極性の異なる2本のカラムを使用することが有効です。一方のカラムで夾雑成分を分離できない場合に、極性の異なるもう一方のカラムを使用することによってターゲット成分を有効に分離できる可能性が高まります。本稿では中極性カラムのSH-I-17と無極性カラムのSH-1を用いて分析を行いました。

## ■ Scan分析による分離の確認

図2に2本のカラムによる香料57成分混合標準試料のTICクロマトグラムを示します。SH-I-17は中極性カラムで、SH-1は無極性カラムのため2本のカラムで分離パターンが大きく異なることが確認できます。SH-I-17カラムでは異性体も含めたすべての対象成分が分離でき、SH-1ではGalaxolideの2つの異性体のピークのみが重なって検出されました。

## ■ 検量線の直線性

Scan測定に続いてSIM測定によって、0.5~50 mg/kgにおける検量線を作成しました。測定したSIMイオンは表2に示す通りで、各濃度で3回繰り返して測定しました。

各化合物の検量線のR<sup>2</sup>値を表2に示しました。57成分中54成分のR<sup>2</sup>値は0.999以上であり、非常に良好な直線性が得られました。他3成分も0.997以上と定量を行う上で十分な直線性が得られました。これら3成分（Farnesol、Benzyl salicylate、Sclareol）と平均的なR<sup>2</sup>を示す例として、 $\alpha$ -Pinene、DMBC acetate、Benzyl cinnamateの検量線を図3に示します。

## ■ 再現性

検量線の最小濃度（0.5 mg/kg）において6回連続分析した際の面積再現性を確認しました。各成分の面積%RSDは表2に示す通りです。

SH-I-17カラムでは97 %の成分について面積再現性は5%以下と良好であり、SH-1カラムでも88 %のピークにおいて面積再現性が5%以下でした。どちらのカラムにおいてもすべての成分について面積%RSDは10 %以下であり、良好な結果が得られました。

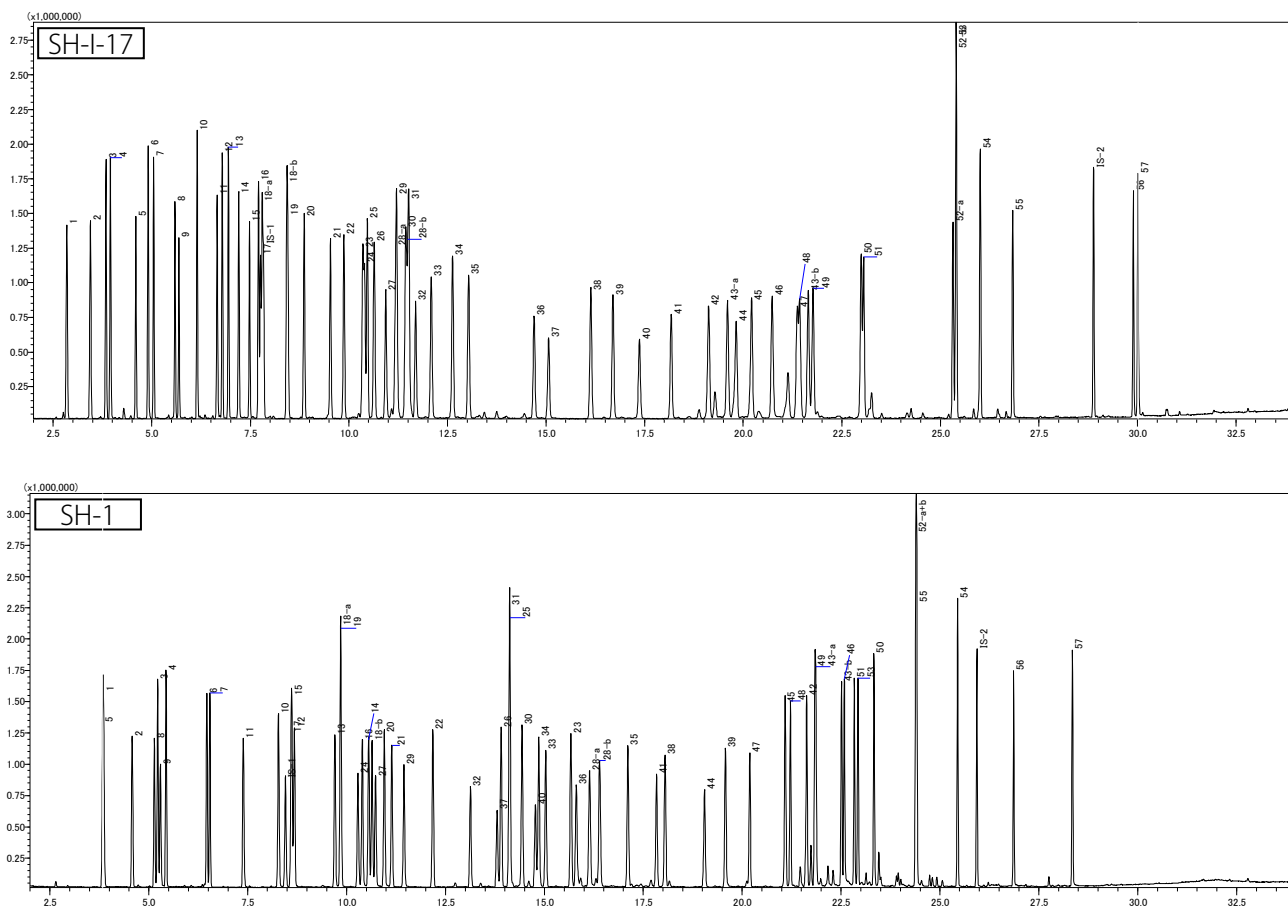


図2 香料アレルゲン57成分の標準試料（50 mg/kg）のTICクロマトグラム

表2 化合物毎のSIMイオンおよび検量線の直線性および再現性の一覧

ID	化合物名	SIM ions			R <sup>2</sup>		%RSD	
		1	2	3	SH-I-17	SH-1	SH-I-17	SH-1
1	$\alpha$ -Pinene	93.1	121.1	136.1	0.99995	0.99998	0.9	3.1
2	$\beta$ -Pinene	121.1	93.1	91.1	0.99997	0.99997	2.2	3.5
3	$\alpha$ -Terpinene	121.1	136.1	93.1	0.99995	0.99993	1.3	3.9
4	Limonene	68.0	67.0	94.1	0.99999	0.99998	1.2	3.1
5	Benzaldehyde	106.0	77.0	105.1	0.99996	0.99998	1.1	3.5
6	Terpinolene	93.1	136.1	121.1	0.99999	0.99998	1.3	3.4
7	Linalool	93.1	71.1	121.1	1.00000	0.99990	1.3	3.7
8	Benzyl alcohol	108.1	79.1	107.1	0.99996	0.99972	1.0	4.6
9	Salicylaldehyde	122.0	121.0	93.0	0.99957	0.99955	1.0	3.7
10	Menthol	95.1	123.1	138.1	0.99999	0.99996	2.4	3.4
11	Camphor	108.1	95.1	152.1	1.00000	0.99995	1.3	3.2
12	$\alpha$ -Terpineol	136.1	121.1	59.0	1.00000	0.99995	0.9	3.8
13	Citronellol	82.1	81.1	95.1	0.99990	0.99907	1.8	3.6
14	Linalyl acetate	121.1	93.1	80.1	0.99996	0.99993	1.0	3.4
15	Methyl 2-octynoate	123.1	95.1	67.0	0.99992	0.99987	1.6	4.9
16	Geraniol	69.1	123.1	41.0	0.99972	0.99909	1.4	5.0
17	Methyl salicylate	120.0	152.0	65.0	0.99990	0.99983	1.3	4.1
18-a	Neral	69.0	109.1	94.1	0.99997	0.99983	1.5	4.3
18-b	Geranial	69.1	84.1	137.1	0.99991	0.99978	1.8	3.1
19	Carvone	108.1	82.1	93.1	0.99998	0.99994	2.1	4.6
20	Hydroxycitronellal	96.1	81.1	95.1	0.99998	0.99992	3.0	7.2
21	trans-Anethole	148.1	121.1	133.1	0.99999	0.99999	1.3	3.2
22	Dimethylbenzylcarbonyl acetate	132.1	117.1	91.1	0.99995	0.99998	1.0	3.2
23	$\beta$ -Caryophyllene	189.2	161.1	147.1	0.99999	0.99995	2.5	4.0
24	Cinnamaldehyde	131.1	132.1	103.1	0.99997	0.99968	1.4	3.6
25	Geranyl acetate	80.1	84.1	136.1	0.99999	0.99958	2.8	4.2
26	$\delta$ -Damascone	69.0	123.1	192.1	0.99996	0.99969	1.6	3.6
27	Anise alcohol	138.1	137.1	109.1	0.99995	0.99957	1.2	5.0
28-a	Ebanol 1	149.1	164.2	83.1	0.99996	0.99971	2.6	5.0
28-b	Ebanol 2	149.1	164.2	83.1	0.99998	0.99982	2.5	5.4
29	Cinnamyl alcohol	92.1	134.1	115.1	0.99972	0.99962	6.4	4.6
30	$\alpha$ -Damascone	192.1	123.1	177.1	0.99999	0.99988	2.1	4.1
31	$\beta$ -Damasconone	190.1	175.1	105.1	0.99997	0.99985	2.5	5.3
32	Eugenol	164.1	149.0	131.1	0.99997	0.99949	1.6	4.0
33	$\beta$ -Damascone (E)	177.1	192.1	135.1	0.99999	0.99990	1.6	3.8
34	Trimethyl-benzenepropanol	106.1	91.0	105.1	0.99999	0.99975	1.3	4.1
35	$\alpha$ -Isomethylionone	150.1	135.1	107.1	0.99999	0.99981	1.0	3.8
36	Isoeugenol	164.1	149.1	133.1	0.99987	0.99965	1.2	3.6
37	Vanillin	151.0	152.0	109.0	0.99930	0.99917	1.0	3.5
38	Butylphenyl methylpropional	204.1	189.1	147.1	0.99970	0.99982	1.5	2.9
39	Amyl salicylate	120.0	138.0	208.1	0.99934	0.99944	0.9	4.0
40	Coumarin	146.0	118.0	90.0	0.99994	0.99997	1.2	3.3
41	Eugenyl acetate	164.1	149.0	206.1	0.99961	0.99975	0.9	3.4
42	$\beta$ -Tetramethylacetyloctahydronaphthalene	191.1	121.0	109.1	0.99982	0.99998	1.3	2.4
43-a	$\alpha$ -Santalol	94.1	93.1	122.1	0.99911	0.99973	1.6	5.0
43-b	$\beta$ -Santalol	94.1	93.1	122.1	0.99980	0.99906	1.7	3.6
44	3-Propylidene phthalide	159.1	174.1	104.0	0.99990	0.99980	1.4	2.9
45	$\alpha$ -Amyl cinnamaldehyde	202.1	201.1	173.1	0.99939	0.99925	2.3	3.6
46	trans,trans-Farnesol	109.1	81.1	69.1	0.99621	0.99719	8.1	4.4
47	Isoeugenyl acetate	164.1	149.1	131.1	0.99989	0.99981	1.1	3.1
48	Hydroxyisohexyl 3-cyclohexene carboxaldehyde (major)	136.1	108.1	192.0	0.99972	0.99959	2.2	4.9
49	$\alpha$ -Amylcinnamyl alcohol	148.1	133.1	115.0	0.99957	0.99905	1.8	4.6
50	$\alpha$ -Acetyl cedrene	246.2	161.1	231.2	0.99975	0.99991	0.9	3.6
51	$\alpha$ -Hexylcinnamaldehyde	216.1	129.1	145.1	0.99952	0.99965	2.0	4.5
52-a	Galaxolide 1	213.2	258.2	244.2	0.99976		1.3	
52-b	Galaxolide 2	213.2	258.2	244.2	0.99995	0.99995	1.0	2.8
53	Benzyl benzoate	212.1	105.0	194.0	0.99995	0.99997	1.6	3.5
54	Hexadecanolactone	83.1	97.1	111.1	0.99992	0.99992	0.4	2.7
55	Benzyl salicylate	228.1	92.0	65.0	0.99899	0.99959	1.1	3.0
56	Benzyl cinnamate	192.1	193.1	238.1	0.99933	0.99916	1.1	2.9
57	Sclareol	109.1	177.1	257.2	0.99736	0.99669	1.9	5.2

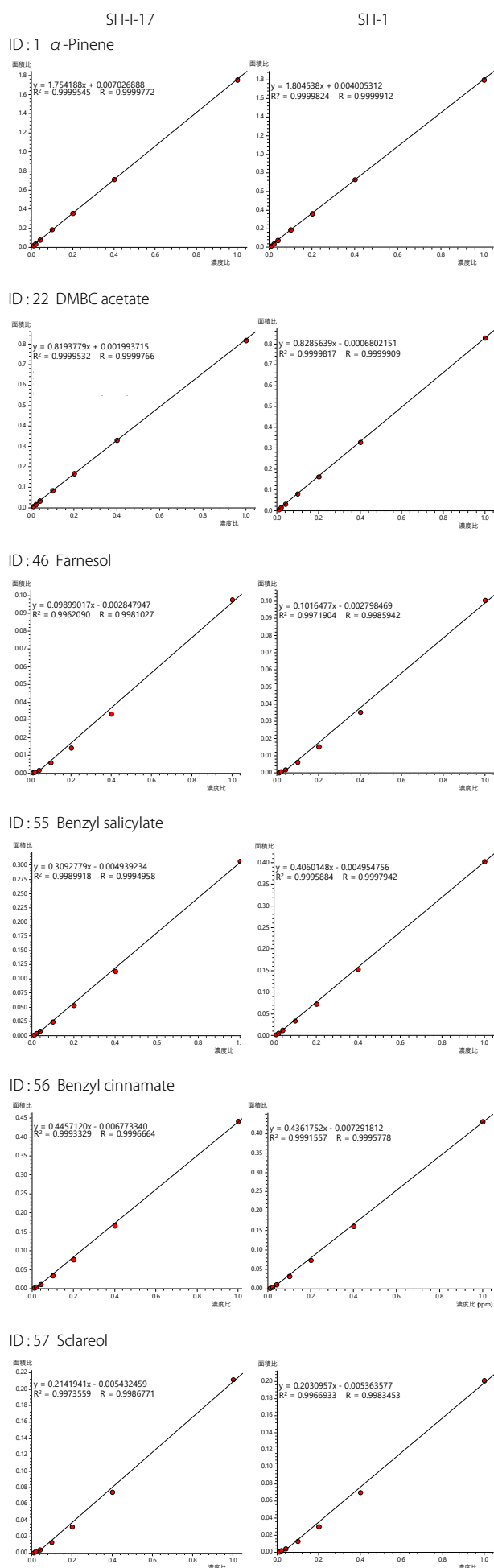


図3 0.5~50 mg/kgにおける検量線 (N=3)

## ■ヘアオイルの定量分析

実試料としてヘアオイルの分析を行いました。ヘアオイルのようなマトリックスの複雑な試料においては、1本のカラムで選択性高く、正確に定量することは困難な場合があります。このような場合には、極性の異なる2本のカラムで定量分析を行うことによってより正確に定量することが可能です。

図4には各カラムにおけるヘアオイルおよび標準試料のマスクロマトグラムの一例を示します。図4を見ると2種類の極性の異なるカラムを使用することによって、対象成分と実試料中の夾雑成分の分離が異なります。例として示した、Amyl salicylateおよびMethyl 2-octynoateは一方のカラムでは大量の夾雑成分に妨害され、正確なピーク検出は困難でしたが、もう一方のカラムではターゲット成分のピークが正確に検出されていることが確認できます。一方で、NeralやCitronellolは一見両方のカラムにおいて正確にピーク検出されていますが、双方の定量結果を比較すると濃度が異なって算出されていることがわかります。これは定量値が大きく算出されたカラムでは夾雑成分のピークがターゲット成分のピークに重なっているためと思われる。このような場合には定量値が小さい方の結果がより正確な定量結果であると考えられます。

このようにTwin Line MSシステムを使用することによって、十分な感度で効率的に化粧品中の香料アレルゲンの分析を行うことが可能です。

## ■まとめ

本稿ではGCMS-QP2020 NXを使用して、香料アレルゲン57成分の定量分析を行いました。SH-I-17およびSH-1の2種類のカラムを同時に接続したTwin Line MSシステムによって分析を行った結果、9割以上の化合物が0.5~50 mg/kgの広い範囲においてR<sup>2</sup>値0.999以上と高い直線性を示すことが確認できました。また、再現性はすべての成分についてRSD10%以下と良好な結果が得られました。

実試料としてヘアオイルの分析を行った結果、異なる極性の2本のカラムで分析することによって夾雑成分を有効に分離してより正確に定量できることが確認できました。

Twin Line MSシステムを使用すると、2本のカラムを同時にMSへ接続することが可能なため、MSを停止することなくカラムを切り替えて分析することができます。Twin Line MSシステムによって、化粧品中の香料成分の分析を効率よく正確に行うことが可能です。

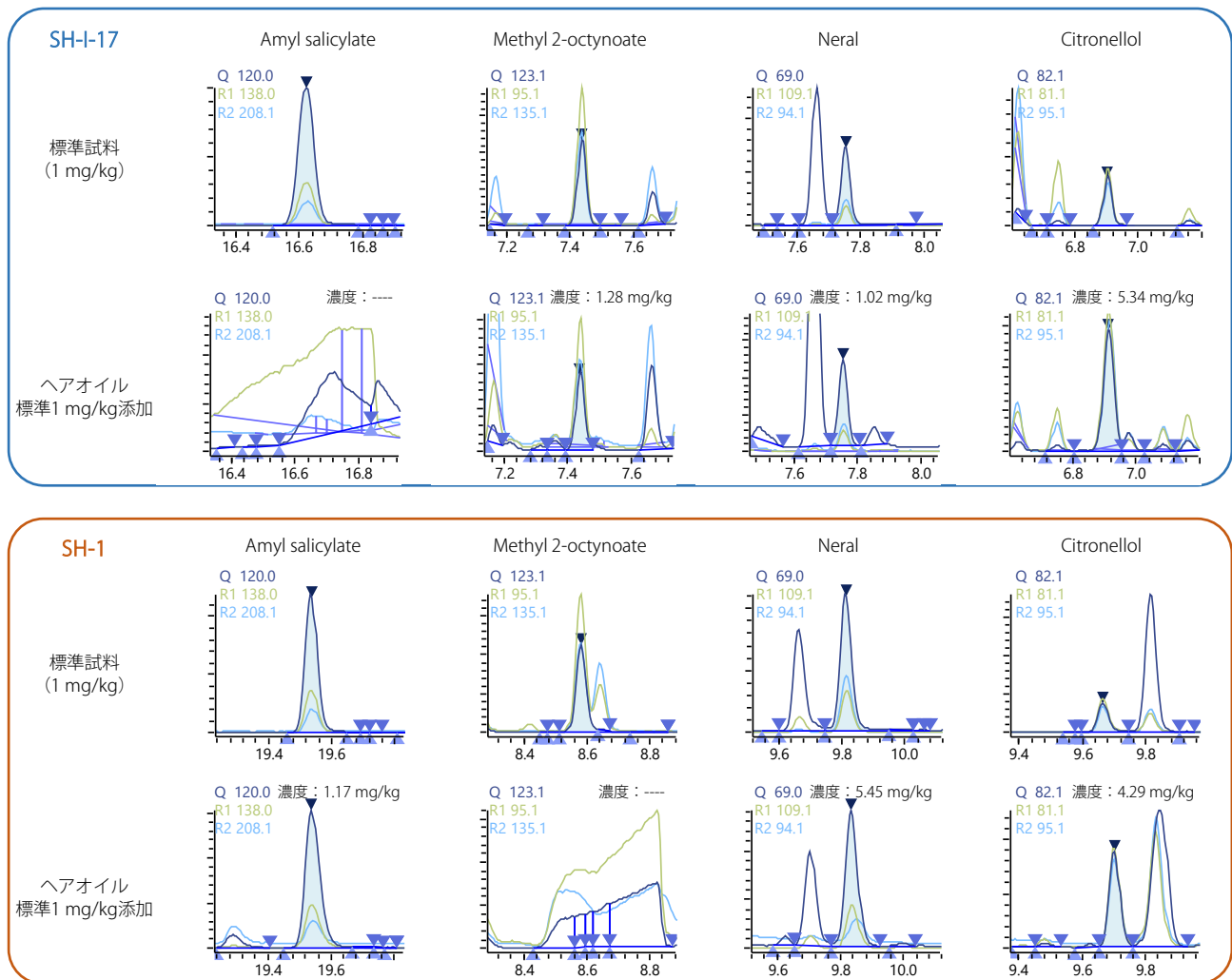


図4 ヘアオイル中の香料アレルゲンのマスククロマトグラム

<参考文献>

1) Regulation (EC) No 1223/2009 of the European Parliament and of the Council of 30 November 2009 on cosmetic products

<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/HTML/?uri=CELEX:32009R1223&from=EN>  
(参照2023-02-14)

2) Analytical method to quantify 57 suspected allergens (and isomers) in ready to inject fragrance materials by gas chromatography and mass spectrometry, the international fragrance association analytical working group, 2016

[https://ifrafragrance.org/docs/default-source/guidelines/23754\\_gd\\_2017\\_04\\_11\\_ifra\\_analytical\\_method\\_to\\_quantify\\_57\\_suspected\\_allergens\\_\(and\\_isomers\)\\_in\\_ready\\_to\\_inject\\_fragrance\\_materials\\_by\\_gc-ms-\(3\).pdf?sfvrsn=ad55ac1\\_6](https://ifrafragrance.org/docs/default-source/guidelines/23754_gd_2017_04_11_ifra_analytical_method_to_quantify_57_suspected_allergens_(and_isomers)_in_ready_to_inject_fragrance_materials_by_gc-ms-(3).pdf?sfvrsn=ad55ac1_6)  
(参照2023-02-14)

3) OPINION on fragrance allergens in cosmetic products

[https://ec.europa.eu/health/scientific\\_committees/consumer\\_safety/doc/sccs\\_o\\_102.pdf](https://ec.europa.eu/health/scientific_committees/consumer_safety/doc/sccs_o_102.pdf)  
(参照2023-02-14)

4) Draft Commission Regulation (EU) amending Regulation (EC) No 1223/2009 of the European Parliament and of the Council as regards labelling of fragrance allergens in cosmetic products.

[https://docs.wto.org/dol2fe/Pages/FE\\_Search/FE\\_S\\_S009-DP.aspx?language=E&CatalogueIdList=287757&CurrentCatalogueIdIndex=0&FullTextHash=586948964&HasEnglishRecord=True&HasFrenchRecord=False&HasSpanishRecord=True](https://docs.wto.org/dol2fe/Pages/FE_Search/FE_S_S009-DP.aspx?language=E&CatalogueIdList=287757&CurrentCatalogueIdIndex=0&FullTextHash=586948964&HasEnglishRecord=True&HasFrenchRecord=False&HasSpanishRecord=True)  
(参照2023-02-14)

5) H.R.2617 - Consolidated Appropriations Act, 2023

<https://www.congress.gov/bill/117th-congress/house-bill/2617>  
(参照2023-02-14)

GCMS-QPは、株式会社島津製作所またはその関係会社の日本およびその他の国における商標です。

**株式会社 島津製作所** 分析計測事業部  
<https://www.an.shimadzu.co.jp/>

01-00526-JP 初版発行：2023年3月

島津コールセンター ☎ 0120-131691

本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。  
本文中に記載されている会社名および製品名は、各社の商標および登録商標です。  
本文中では「TM」、「®」を明記していない場合があります。

＞ アンケート

**関連製品** 一部の製品は新しいモデルにアップデートされている場合があります。



＞ GCMS-QP™2020  
NX  
ガスクロマトグラフ質量分析計

## 関連分野

＞ 核酸・mRNA医薬品

＞ 低分子医薬品

＞ バイオ医薬品

＞ 価格お問い合わせ

＞ 製品お問い合わせ

＞ 技術お問い合わせ

＞ その他お問い合わせ