

新製剤法及び新素材を用いた化粧品の品質確保に関する研究

国立衛生試験所

武 田 明 治

国立衛生試験所 東京都立衛生研究所 愛知県衛生研究所

神奈川県衛生研究所

埼玉県衛生研究所

木嶋敬二

鈴木助治

河村典久

堀田佳哉・岸美智子

石野正蔵

Functional cosmetics make the best use of recent technical advancement in such field as formulating technology, new materials and biotechnology.

We want establish routine analysis for quality and prossing control.

In this study, a method has been developed for the simple and rapid analysis of an-ionic preservatives such as p-hydroxybenzoic acid esters, sodium dehydroacetic acid and sodium sorbic acid in cosmetic products by high performance liquid chromatography (HPLC). These cosmetic products are foundation contain nylon fine powder, titanium dioxide fine power as a new materials, rinse in shampoo by new formulating technology and eye liner.

The present method consists of two steps ; firstly extraction and cleaning up and secondly, quantification by HPLC.

HPLC conditions ; Column, ODS silica gel column Mobile phase, ① 0.002 M cetyltrimethylammonium chloride/0.05 M $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{MeOH} \cdot \text{CH}_3\text{CN}$ (50 : 35 : 15) (pH 5.2 with H_3PO_4) ② $\text{MeOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (60 : 40)

The present method was applicable to the determination of anionic preservatives in commercial products without interference of other cosmetic ingredients.

1. 緒 言

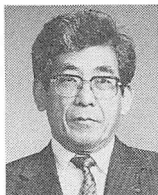
これまで化粧品は製品の安定性、使用性、製造技術および品質管理などが中心であった時代、低感作性原料など安全性が重要視された時代を経て現在は技術革新と平行して高令化社会を迎えるにあたり、老化制御に対する期待など化粧品の有用性の問題がクローズアップされてきた。

いわゆる機能性化粧品といわれるものは、生物学、物理学、薬学、心理学など多くの学問分野が関与したライフサイエンスを基盤としてバイオテ

クノロジーやファインケミストリーによる新素材の開発研究、更にこれらを取り入れた新製剤技術の開発によって行われているものである。これらの新素材を含有又は新製剤技術によって製造された化粧品中の添加成分の分析法および添加成分と基剤との相互作用を考慮した現象を追求し、目的に合った分析法を確立し、化粧品の品質確保に寄与することを目的として実験を行った。

本研究においてはこれら化粧品のうち、新原料として微粒子酸化チタン、微粒子ナイロンパウダー等、新製剤としてリンスインシャンプー、上記の新原料を含有するファンデーションそして安全性への配慮が必要な眉目化粧品類であるアイライナーを対象として製品中に含有されるアニオン型防腐剤の分析法の確立を高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いて行った。

Studies on quality control of cosmetics using new types of formulating technology and materials.



Akiharu Takeda

National Institute of Hygienic Sciences

2. 試薬、試料および装置

2.1 試薬、試料

ソルビン酸カリウム (SOA-K) は市販試薬一級、デヒドロ酢酸ナトリウム (DHA-Na) は市販試薬99%以上、塩化ステアリルトリメチルアンモニウムは「粧原基」品、ヤシ油脂脂肪酸メチルタウリンナトリウムは「粧外規」品を各々用いた。シリカゲルは Kieselgel-60 (メルク社製) を 105℃、2時間活性化し、シリカゲルデシケータ中に保存したものを用いた。その他の試薬は、すべて市販特級品を用いた。

実験に用いた試料は

(A) ファンデーション

微粒子ナイロンパウダー配合ファンデーション (A-1) および微粒子酸化チタン配合パウダーファンデーション (A-2) でいずれもメチルパラベンを0.3%含有するもの

(B) リンスインシャンプー

ヤシ油脂脂肪酸メチルタウリンナトリウム、塩化ステアリルトリメチルアンモニウムを主基剤としたもので安息香酸ナトリウム0.5%含有するもの

(C) アイライナー

ポリメタクリル酸配合乳化型液状アイライナー (C-1) 及びペンシル型固形アイライナー (C-2) で前者はメチルパラベン0.05%、後者はプロピルパラベンを0.1%含有するものを各々用いた。

2.2 装置

高速液体クロマトグラフは一般に市販されている装置を、検出器、データ処理装置も汎用されているものを使用した。また HPLC 用カラムは市販パックドカラムを用い、オクタデシル化した平均粒子径 $5\mu\text{m}$ 、内径 $4.0\sim 4.6\text{mm}$ 、長さ $125\sim 250\text{mm}$ のものを使用した。

3. 実験方法および結果

3.1 ファンデーション中のメチルパラベンの定量

3.1.1 メチルパラベン標準溶液

メチルパラベン 100.0mg を精秤し、メタノールにとかし 100.0ml とし、これをメタノールで希釈し、10、20、30、40ppm の溶液を調製した。なお抽出方法の検討には 50、100、200ppm の溶液を用いた。

3.1.2 抽出方法の検討

試料 A-1、A-2 を各々 0.5g を精秤し、これにアセトニトリル、エタノールまたはテトラヒドロフランを加えて 10.0ml とし超音波浴で5分間分散した後、遠心分離 (3500rpm、10分間) し上層をメンブランフィルター ($0.45\mu\text{m}$) で濾過し、HPLC に注入した。さらに上記の操作を2回繰り返し、同様に HPLC に注入した。抽出回数及び溶媒の違いによる抽出率を算出し、Table 1. に示した。

Table 1 より各溶媒による抽出率は良好でほぼ同じ傾向であった。しかしアセトニトリルに比べてエタノール、THF は遠心分離できれいな上澄液が得られず混濁が強く、アセトニトリルの場合はほとんど混濁せず優れていた。従って抽出にはアセトニトリルを用いた。更に超音波処理の時間、試料の加温時間等を検討したが処理時間を5分にすれば加温の必要がないことがわかった。

Table 1. 抽出溶媒の違いによる抽出率

試料	溶 媒	試料量(g)	抽出率 (%) ¹⁾			
			1	2	3	計
A-1	アセトニトリル	0.501	92.4	6.1	1.2	99.7
	エタノール	0.506	96.7	5.7	0.7	103.1
	THF	0.503	101.0	5.3	0.4	106.7
A-2	アセトニトリル	0.501	100.0	4.2	0.8	105.0
	エタノール	0.504	98.2	6.4	0.9	105.5
	THF	0.502	101.7	5.3	0.7	107.7

1) メチルパラベン配合量 (0.3%) に対する各画分より得た定量値の割合

3.1.3 試験溶液の調製

試料A-1、A-2各々0.5gを50mlの遠心管にとり、アセトニトリル10mlを加え、超音波浴中で5分間分散させる。これを遠心分離（3000rpm、10分間）後上澄液を50mlのメスフラスコにとりさらにこの操作を2回繰り返してアセトニトリル層をメスフラスコに分取し、アセトニトリルを加えて全量を50.0mlとしたメンブランフィルター（0.45 μ m）で濾過し、HPLCに注入した。

3.1.4 ファンデーション中のメチルパラベンのHPLCクロマトグラム

Fig.1に示すHPLCの条件で試料A-1、A-2中のメチルパラベンの分離を行った。各々のクロマトグラムを示した。

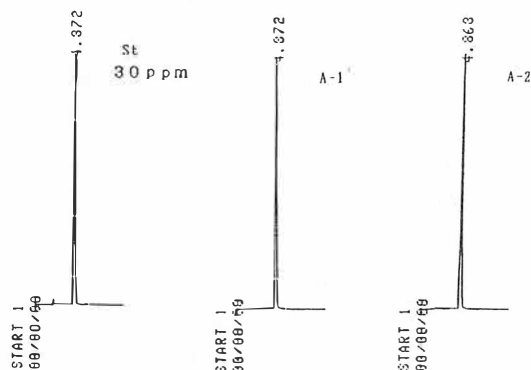


Fig.1 試料A-1、A-2および標準溶液中のメチルパラベンのHPLCクロマトグラム

HPLCの測定条件

カラム；TSK gel ODS 80T_M（4.6mm i.d. × 150mm）

移動相；0.002M 塩化セチルトリメチルアンモニウム / 0.05M NaH₂PO₄ · MeOH · CH₃CN（50:35:15）（pH5.2 リン酸）

カラム温度；40°

流速；1.0ml/min

UV検出器；254nm

注入量；10 μ l

3.1.5 検量線の作成

3.1.1で得られたメチルパラベン標準溶液（10、20、30、40 ppm）をFig.1の条件で操作し、得られたピーク面積とメチルパラベンの注入量から検量線を作成した。その結果をFig.2に示した。

ピーク面積（×1000）

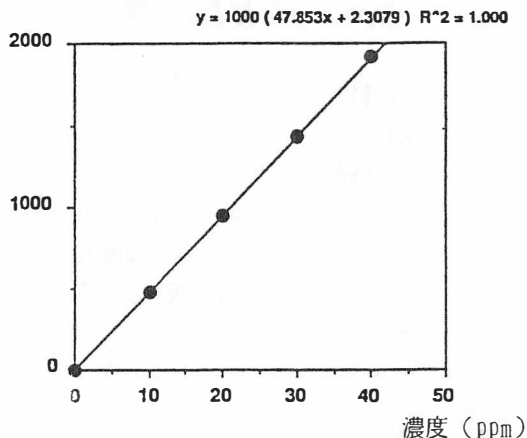


Fig.2 メチルパラベンの検量線

3.1.6 回収率の検討

2.1A-1、A-2の試料について3.1.3に従い試験溶液を調製し、HPLCにより定量した結果をTable 2に示した。n=5の平均回収率からC・V %も小さく良好な結果が得られた。

Table 2 試料A-1、A-2の回収率（n=5）

試料	試料量 (g)	回収率 (%)	平均回収率 (%)	C V (%)
A-1	0.500~0.509	95.3~96.3	95.5	0.5
A-2	0.503~0.504	95.7~96.7	96.1	0.4

3.2 リンスインシャンプー中のアニオン性防腐剤の定量

3.2.1 アニオン性防腐剤標準溶液

安息香酸ナトリウム（BA-Na）、SOA-K、DHA-Na、パラベン類（PHBAE）（メチル、エチル、プロピル、ブチルエステル）各100.0mgを各々メタノールに溶解し、これを更に適宜メタノールで希釈し標準溶液とする。

3.2.2 リンスインシャンプー中へのアニオン性防腐剤の添加

BA-Na、SOA-KおよびDHA-Naの50.0 mg/mlの水溶液を調製し、各々2.0mlをと、これにリンスインシャンプーを加えて、合計重量を20.0gとし、よくかき混ぜたものを試料BA-Na、

試料SOA-K、および試料DHA-Naとする。
またPHBAEは各エステルそれぞれ50.0mg/mlのメタノール溶液を調製し、0.1mlずつ同一容器にとり、メタノールを揮散させた後リンスインシャンプーを加え、合計重量10.0gとし、よくかき混ぜたものを試料（PHBAE-1）、各エステル溶液0.2mlずつ取り同様に調製した試料（PHBAE-2）および各エステル溶液0.5mlずつ取り同様に調製した試料（PHBAE-3）を調製した。

3.2.3 試験溶液の調製

3.2.3.1 メタノール抽出法

各試料約0.5gを精密にはかり、5mlのメタノール及び無水硫酸ナトリウム5gをかきまぜ、さらにメタノール20mlを加え、40℃で20分間加温する。これを氷冷した後、遠心分離（3000rpm、10分間）し、上澄み液をとる。残留物にメタノール20mlを加え同様の抽出を行う。上澄み液を合わせエバポレーター（40℃以下）で濃縮し、メタノールで正確に20mlとし試験溶液とする。

3.2.3.2 シリカゲルカラム法¹⁾

3.2.3.1と同様に操作し上澄み液を合わせ以下つぎのように操作する。エバポレーター（40℃以下）で濃縮し更にメタノールを完全に留去する。これを約3gのシリカゲルにまぶしてよく分散させる。別に予めシリカゲル3gをヘキサン・酢酸エチル（97:3）を用いて充填したカラムに、減圧しながら積層させた。さらにこの混液を用いてフラスコ中に残留したシリカゲルをカラム中に洗い込む。ついでカラムにヘキサン・酢酸エチル（97:3）を流し、はじめの溶出液60mlを除く、つぎにヘキサン・酢酸エチル（80:20）で溶出し、留出液60mlを分取し、これを溶出液Aとした。さらに、カラムにメタノールを流し、溶出液60mlを分取し、これを溶出液Bとする。A及びBの溶出液を各々エバポレーター（40℃以下）で約1mlまで濃縮し、メタノールで正確に20mlとし試験溶液A、Bとし、適宜希釈してその20μlをHPLCに注入した。

3.2.4 検量線の作成

3.2.1で得られた各アニオン性防腐剤標準溶液はSOA-K、DHA-Naの濃度20、50、100μg/ml、BA-Na、PHBAE、10、20、40μg/mlで得られたピーク面積とアニオン性界面活性剤の注入量から検量線を作成した。原点を通る直線関係が成立した。HPLCの測定条件はFig.1と同じであるがカラムにはSuperspher 100（RP-18（e））（4mm i.d.×125mm）を用いた。

3.2.5 回収率の測定

リンスインシャンプーにアニオン性防腐剤を添加した試料BA-Na、SOA-K及びDHA-Naを3.2.3.2シリカゲルカラム法で処理した。溶離液A中にはBA-Na、SOA-K、DHA-Naは検出されず、溶離液Bより各々BA-Na、SOA-K、DHA-Naを検出した。その時の回収率をTable 3に示した。試料PHBAE1～3からは溶離液A中にはPHBAEを検出したが、溶離液B中からはPHBAEは検出されなかった。これらの回収率をTable 4に示した。PHBAE-3は若

Table 3 試作リンスインシャンプーへのBA-Na、SOA-K、DHA-Naの添加回収結果

	添加量(%)	含量(%)	回収率(%)	変動係数
BA-Na	0.51	1.05	103.9	0.2
SOA-K	0.50	0.50	94.2	3.5
DHA-Na	0.52	0.52	91.4	4.0

Table 4 試作リンスインシャンプーへのPHBAE（メチル、エチル、プロピル及びブチルエステル）の添加回収結果

		添加量(%)	回収率(%)	変動係数
PHBAE-3	メチルエステル	0.25	85.8	1.5
	エチルエステル	0.25	85.9	1.8
	プロピルエステル	0.25	84.6	0.6
	ブチルエステル	0.24	86.1	2.5
	合計	0.99		
PHBAE-2	メチルエステル	0.10	92.0	1.9
	エチルエステル	0.10	101.3	0.6
	プロピルエステル	0.10	92.6	2.1
	ブチルエステル	0.09	91.0	0.4
	合計	0.39		
PHBAE-1	メチルエステル	0.05	94.6	1.8
	エチルエステル	0.05	108.6	4.4
	プロピルエステル	0.05	94.6	1.3
	ブチルエステル	0.05	91.9	1.1
	合計	0.20		

干低い値を示したが概ね良好な結果が得られた。溶離液 B 中の BA-Na、SOA-K、DHA-Na のクロマトグラムを Fig.3 に示した。

また、2.1 (B) 中の BA-Na の定量を行ったところ 0.54 % であり、その他のアニオン性防腐剤は検出されなかった。

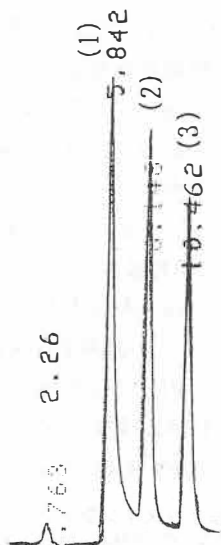


Fig.3 試作リンスインシャンプー中の BA-Na, SOA-K, DHA-Na の HPLC クロマトグラム
(1) DHA-Na (2) SOA-K (3) BA-Na
HPLC の測定条件
カラム: Superspher 100 (RP-18 (e))
(4mm i.d. × 125mm)
注入量: 20 μ l
その他は Fig.1 と同じ

3.2.6 市販リンスインシャンプーの分析

市販リンスインシャンプーのうち安息香酸塩含有の表示のある 2 品目 (製品 A、B) について 3.2.3.1 メタノール抽出法で処理し HPLC により分離し、235nm で検出を行い、BA-Na をピーク面積値による絶対検量線法によって定量を行ったところ BA-Na として 0.48 % 及び 0.53 % の安息香酸塩が検出された。この場合、製品 A にはパラベンの記載があり確認したところ、イソブチルパラベンであった。3.2.3.1 のメタノール抽出法は簡便で再現性のある方法であるがパラベン類

と酸類が同時に分析されるので以下の検討を行った。

3.2.7 安息香酸ナトリウムとパラベン共存製品における HPLC による分離

検出波長 254nm では BA-Na とプロピルパラベンなどは近い保持時間を示すが 235nm の検出では BA-Na の濃度 40 μ g/ml の時に各パラベン 4 μ g/ml 及び 8 μ g/ml の濃度で共存していてもほとんど検出されなかった。BA-Na とパラベンは HPLC では移動相の条件により分離が可能であり、試験溶液中の濃度を適当に選ぶことにより、シリカゲルカラムを用いる分離を行わず定量が可能であった。

3.3 アイライナー中のメチルパラベン及びプロピルパラベンの定量

3.3.1 標準溶液の調製

3.2.1 アニオン性防腐剤標準溶液に準じてパラベン類の標準溶液を調製した。

3.3.2 試験溶液の調製

固型アイライナーの場合は試料約 0.1g を精秤し、アセトンを加えて、20 分間超音波処理をする。更にアセトンを加えて 10ml とした後、上澄み液を 0.5 μ m のフィルターを用いて濾過し、試験溶液とした。

液状アイライナーの場合は試料約 0.2g を精秤し、メタノールを加えて、40° 水浴中で 10 分間加温した後、20 分間超音波処理をした。更にメタノールを加えて、10ml とした後、上澄み液を 0.5 μ m のフィルターを用いて濾過し、試験溶液とした。

3.3.3 検量線の作成

3.2.1 で調製した PHBAE 標準溶液 (0 ~ 40 ppm) を用いて検量線を作成した。6 種類の PHBAE は各々完全に分離した。この場合カラムに Wakosil ODS 5C18 (4.6mm id × 250mm)、移動相はメタノール・水 (60:40)、検出波長は 254nm を用いた。この条件により各々の検量線はいずれも原点を通る直線が得られた。

3.3.4 抽出方法の検討

3.3.4.1 固形アイライナー

固形アイライナー中のパラベン²⁾の分析については報告がみられない。そこでまず、試料から超音波を用いて分散させることにより、パラベンを最も効率よく抽出する溶媒について検討した。

試料C-2 0.1gを精秤し、水、50%エタノール、メタノール、アセトン、酢酸エチル、クロロホルム及びn-ヘキサンの各溶媒約8mlを加えて、20分間超音波処理することにより、それぞれ抽出し、その測定値を比較した結果をTable 5に示した。

Table 5 各種抽出溶媒による固形アイライナー中のn-プロピルパラベン^{a)}の分析

溶 媒	分析値(% ,w/w)	抽出率 ^{a)}
水	0.053	53
50%エタノール	0.092	92
メタノール	0.095	95
エタノール	0.093	93
アセトン	0.100	100
酢酸エチル	0.075	75
クロロホルム	0	0
n-ヘキサン	0	0

a) 抽出率は、溶媒としてアセトンを用いた際の分析値を100と換算した場合の数値

各々の抽出率は、アセトンを用いた際の分析値を100と換算した場合の数値で表した。極性の高い水及び50%エタノールでは、十分に分散がされにくく抽出率もそれぞれ53%及び92%であった。メタノール、エタノール及び酢酸エチルでは、試料の分散はされたが、抽出率はそれぞれ95%、93%及び75%であった。また酢酸エチルは、クロマトグラム上でn-プロピルパラベンとほぼ同一保持時間に溶媒ピークを認めるため、適当でなかった。更に極性の低い溶媒であるクロロホルム及びn-ヘキサンによりパラベンは抽出されなかった。しかし、アセトンでは試料はよく分散され、分析値が最も高い値を示した。

3.3.4.2 液状アイライナー

液状アイライナー中のパラベンの分析については齊藤ら²⁾の報告を参考にして行った。すなわち、試料C-1を0.2g精秤し、固形アイライナーと同様に、超音波処理によるパラベンの抽出溶媒

について検討し、その測定値を比較した結果をTable 6に示した。それぞれの抽出率は、メタノールを用いた際の分析値を100と換算した場合

Table 6 各種抽出溶媒による液状アイライナー中のメチルパラベンの分析

溶 媒	分析値(% ,w/w)	抽出率 ^{a)}
水	0.051	88
50%エタノール	0.058	100
メタノール	0.058	100
エタノール	0.057	98
アセトン	0.058	100
酢酸エチル	0.056	96
クロロホルム	0.056	96
n-ヘキサン	0	0

a) 抽出率は、溶媒としてメタノールを用いた際の分析値を100と換算した場合の数値

の数値で表した。試料は風乾しやすく、溶媒への溶解を容易にするため、まず40°の水浴中で10分間加温することとした。抽出溶媒に水を用いた場合には、88%と十分な抽出率が得られなかった。また、n-ヘキサンではパラベンは抽出されなかった。更に50%エタノール、メタノール、エタノール、アセトン、酢酸エチル及びクロロホルムでは、ほとんど同率で高率にパラベンが抽出された。そこでパラベン以外の成分が溶解しにくく、上澄み液を濾過する際容易なメタノールを抽出溶媒として用いた。

3.3.5 回収率の測定

試料C-1、C-2のアイライナーの分析結果をTable 7に示したが、固形アイライナーにはプロピルパラベンが0.100%、液状アイライナーには0.058%含有されていた。

Table 7 試料C-1, C-2パラベン含量

	n	パラベン含量(%)	変動係数(%)
C-2	3	0.100	0.44
C-1	3	0.058	1.84

3.3.6 市販アイライナーの分析

市販アイライナー(固形)を3.3.2試験溶液の調製に準じて処理し、分析した結果をTable 8に示した。各々n-プロピルパラベンが0.064%及び0.075%含有されており、他のパラベン類は含

まれていなかった。市販アイライナー（固形）A、B社のクロマトグラムをFig.4に示した。

Table 8 市販の固形アイライナー中のn-プロピルパラベン含量

	n	パラベン含量(%)	変動係数(%)
A社	3	0.064	0.91
B社	3	0.075	0.76

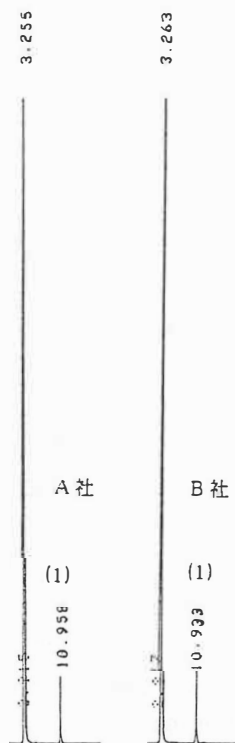


Fig.4 市販固形アイライナーのHPLCクロマトグラム
HPLCの測定条件は本文中に記載
(1) n-プロピルパラベン

4. 考察とまとめ

4.1 ファンデーション中のメチルパラベンの定量

THFを抽出溶媒に用いるとHPLCのピークは若干ブロード化してピーク高さが低くなる（エタノールの場合の20%減）のでこの場合標準溶液

もTHFを用いて調製する必要がある。

また、微粒子ナイロンパウダー3%含有の頬紅に0.3%の割合でメチルパラベンを含有したモデル試料を3.1.3試験溶液の調製法またはアセトニトリルの代わりにメタノールを用いる方法で試験溶液を調製し、Fig.1に準じて測定を行った。ただし移動相は0.002M臭化ヘキサデシルトリメチルアンモニウム/0.05M $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{MeOH} \cdot \text{CH}_3\text{CN}$ (50:35:15)（リン酸でpH5.2に調製）を用いた。その結果、回収率はアセトニトリル（83%）を用いるよりメタノール（94%）を用いる方が良い回収率が得られた。

これらのこと及び3.1の実験結果から、抽出溶媒にアセトニトリルまたはメタノールのいずれかが製品によって使い分け、超音波処理を行うことによって微粒子酸化チタンや微粒子ナイロンパウダーに配合されているパラベンの吸着現象は分析上特に考慮する必要はないことがわかった。

4.2 リンスインシャンプー中のアニオン性防腐剤の定量

リンスインシャンプーはシャンプー成分（アニオン、両性、非イオン界面活性剤など）とリンス成分（カチオン、非界面活性剤及びシリコン類など）の組合せでできている。安息香酸ナトリウムの定量においては単に無水硫酸ナトリウムを加えメタノール抽出によっても良好な結果が得られることがわかった。更にHPLCの測定条件に関しては移動相に0.002M臭化ヘキサデシルトリメチルアンモニウム/0.05M $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{MeOH} \cdot \text{CH}_3\text{CN}$ (50:35:15)、検出波長235nmでも測定が可能である。またサリチル酸ナトリウムに関しては移動相に0.002M臭化ヘキサデシルトリメチルアンモニウム/0.05M $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{MeOH} \cdot \text{CH}_3\text{CN}$ (20:35:15)（リン酸でpH5.2に調製）を用いると保持時間約7分で測定することができた。リンスインシャンプーの場合はシリカゲルカラム法で分析が可能であるが検出波長235nmを用いるとBA-NaとPHBAEが共存していても

試験溶液中の濃度を適当に選ぶことによりシリカゲルカラム法を用いずメタノール抽出法でよいことがわかった。

4.3 アイライナー中のメチルおよびプロピルパラベン

アイメイクアップの中でアイライナーは眼の粘膜の近くに使用するので安全性の点で注意が必要である。また顔料の使用を初め処方も複雑であるので分析上困難なタイプの一つでもある。3.3.2の試験溶液の調製で固形アイライナーはアセトンで、液状アイライナーはメタノールを抽出溶媒に用いる以外に試料に無水 Na_2SO_4 およびメタノールを加え、スパーテルでよくすりつぶし、振とう機で10分間振とうし、更に40°の水浴中で10分間加温する。ついで10分間超音波処理を行う。更に遠心分離（3000rpm、10分間）を行う。残渣をメタノールで上記と同様に再抽出し、メタノール層を合わせ40°以下で減圧濃縮し、メタ

ノールで一定量とする。これをHPLCに注入し試料C-1、C-2の回収率を測定したところC-1については100.0% C-2については90.4%の回収率が得られた。しかしながらアイライナーの製品は種類も多く、前述の様に製品中に含有する成分も多岐に渡っている。そのため妨害成分の検出などには十分注意し、分散、分離が困難な場合には分析を行うにあたって液を分配法^{2, 3)}、カラム抽出法^{2, 4)}などを応用した前処理操作などが必要と考えられる。

文 献

- 1) 日本薬学会編“衛生試験法注解” P.890、金原出版、東京、1990
- 2) 齊藤恵美子ら、衛生試験所報告、106、97（1988）
- 3) 鎌田国広ら、東京都衛研年報、32、99（1981）
- 4) 三上栄一ら、衛生化学、32、34（1986）