

繊維および革製品中のアゾ染料由来の特定芳香族アミン類の高速液体クロマトグラフィーを用いた確認試験に関する検討

河上強志[#], 伊佐間和郎, 五十嵐良明

Examination of identification test of certain aromatic amines originating from azo colorants in textile and leather products using high performance liquid chromatography

Tsuyoshi Kawakami[#], Kazuo Isama, Yoshiaki Ikarashi

Azo colorants that generate primary aromatic amines (PAAs) have been recently deliberated as a controlled harmful substance by the “Act on the Control of Household Products Containing Harmful Substances” in Japan. Therefore, we examined an identification test for 22 kinds of PAAs originating from the azo colorants in commercial textile products and leather products using high performance liquid chromatography (HPLC). When a PAAs standard solution containing 2,4-xylylidine and 2,6-xylylidine was analyzed using the condition according to EN14362-1:2012 at 240 nm as a basic condition, we observed enough separation for all the PAAs to identify. However, in the some sample solutions, the peaks of several PAAs were overlapped with the interference peaks, and their identifications were difficult. In these cases, some PAAs were able to identify by alteration to suitable wavelength. Furthermore, the retention time of almost PAAs and interference peaks were changed by using acetonitrile as the organic solvent in eluent or phenyl type column. These modifications were helpful for identification of PAA which was overlapped to interference substances by the basic condition. Thus, we suggest the HPLC condition for an identification test is in accordance to that described in EN14362-1:2013. And we propose that the HPLC condition can be modified as necessary.

Keywords: primary aromatic amine, azo colorant, textile and leather product, HPLC, identification test

1. 背景および目的

一部のアゾ染料は皮膚表面や腸内の細菌, および肝臓などで還元的に分解され, 発がん性を有するもしくは疑われる芳香族第一級アミン類 (Primary Aromatic Amines: PAAs) を生成することが指摘されている¹⁻³⁾. European Union (EU) では, このようなPAAsのうち, アゾ染料に由来する22種類をcertain aromatic aminesと呼び区別している (Table 1). 2002年9月, EUはこの22種類のPAAsを生成する可能性のあるアゾ染料 (azo colorants) について, 皮膚に直接触れる可能性のある繊維製品およ

び革製品への使用を禁止した⁴⁾. なお, これらのアゾ染料は現在では化学物質管理に関する規則である Registration, Evaluation, Authorization and Restriction (REACH) により規制されている⁵⁾. アジア諸国においても, EUが示す22種類に2,4-xylylidineおよび2,6-xylylidineを追加した24種類を特定PAAsとし (Table 1), 同様の規制もしくは自主基準が運用されている⁶⁾. 我が国においても, 2012年3月に日本繊維産業連合会および日本皮革産業連合会がそれぞれ自主基準を策定し運用している^{7,8)}. また, 薬事・食品衛生審議会化学物質安全対策部会および家庭用品安全対策調査会では, 「有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律」(昭和48年10月12日法律第112号, 家庭用品規制法) に基づき, 特定PAAsを生成するアゾ染料の規制が審議されている.

EUでは, certain aromatic aminesである22種類のPAAsの分析方法として, 繊維製品ではEN14362, 革製品ではEN17234が用いられている. これらの方法では,

[#] To whom correspondence should be addressed:
Tsuyoshi Kawakami; Division of Environmental Chemistry, National Institute of Health Sciences, 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan
Tel: +81-3-3700-1141 ext.367; Fax: +81-3-3700-6950;
E-mail: tkawa@nihs.go.jp

対象製品中のアゾ染料を亜ジチオン酸ナトリウムで還元してアゾ基を開裂させ、生成したPAAsを測定する。しかし、*o*-aminoazotoluene (23) (括弧内はTable 1に示した番号、以下同じ) および5-nitro-*o*-toluidine (24) については、この還元操作によって測定できない⁹⁾。このうち、5-nitro-*o*-toluidine (24) はニトロ基がアミノ基に還元され分析対象の一つである2,4-diaminotoluene (2) となり、*o*-aminoazotoluene (23) はアゾ基が開裂し、分析対象の*o*-toluidine (6) と対象外の2,5-diaminotolueneに分解する。また、4-aminoazobenzene (21) も還元操作によりアゾ基が開裂し、分析対象外のanilineと1,4-phenylenediamineを生成する。そのため、当初はanilineまたは1,4-phenylenediamineの検出に加え、製造者への聞き取り調査などから違反かどうか判断していた⁹⁾。しかし、還元条件などが改定された別法^{10,11)} が作成され、現在は4-aminoazobenzene (21) として測定することができるようになった。そのため、我が国では24種類の特定期間PAAsから*o*-aminoazotoluene (23) と5-nitro-*o*-toluidine (24) を除いた22種類を分析対象としている (Table 1)。

我々はこれまでに、特定期間PAAsのガスクロマトクロマトグラフィー/質量分析法 (GC/MS) による分析に関して、様々な検討を行ってきており^{12,13)}、その結果は、現在検討されている特定期間PAAsを生成するアゾ染料の規制における特定期間PAAs分析法として反映されている。また、GC/MS測定により基準値 (30 $\mu\text{g/g}$) を超える特定期間PAAsが検出された場合には、確認試験としてGC/MSのマスマスペクトルを確認するとともに高速液体クロマトグラフィー (HPLC) による定性を行うことが提案されている¹⁴⁾。そのHPLC条件はEN14362-1:2012¹⁵⁾ に準じたものであるが、我が国の規制では2,4-xylylidineおよび2,6-xylylidineも対象に含まれる予定であり、これらに関しては十分な検討が行われていない。また、EN14362-1:2012のHPLC法では、4種類の測定波長が示されているが、それぞれのPAAsに対していずれの波長を用いるかは具体的に示されていない。そこで、本研究では家庭用品規制法で分析対象として検討されている22種類の特定期間PAAsについて、HPLCを用いた確認試験での分離を検証するとともに、各PAAに対する最適な測定波長を示した。また、種々の製品に本法を適用したところ、一部の製品では妨害ピークが検出された。提案されているHPLCによる確認試験では、原則として提示された条件での分析を基本としているが、妨害ピークにより定性が困難な場合には別条件の使用を認めている。そこで、その別条件についても検討した。

2. 方法

2.1 試薬および試液

本研究で用いたPAAsの名称、CAS番号、化学構造および販売元等をTable 1に示した。なお、benzidine (3)、2-naphtylamine (15) および4-aminobiphenyl (19) はメタノール、2,4,5-trimethylaniline (18) はアセトニトリルであらかじめ1000 $\mu\text{g/mL}$ に濃度調整されたものをそれぞれ購入した。クエン酸一水和物、亜ジチオン酸ナトリウム、水酸化ナトリウムおよびクロロベンゼンはSigma-Aldrich社製の特級試薬を用いた。標準溶液の調製および水酸化ナトリウム・メタノール溶液の調製にはSigma-Aldrich社製の残留農薬分析用を用いた。HPLCの溶離液に用いたメタノールおよびアセトニトリルはSigma-Aldrich社製のHPLC用、リン酸二水素カリウムは関東化学(株)の特級試薬をそれぞれ用いた。メチル-*tert*-ブチルエーテル (MTBE) および*n*-ヘキサンは関東化学(株)の残留農薬分析用を用いた。珪藻土カラムはAgilent Technologies社製のケムエルート (20 mL) を用いた。水は超純水製造装置Milli-Q Advantage A10 (日本ミリポア) により作製した超純水を用いた。

クエン酸緩衝液は、クエン酸一水和物12.526 gおよび水酸化ナトリウム6.320 gを水に溶かし、1 Lに定容したものをを用いた (クエン酸として0.06 mol/L, pH=6.0)。亜ジチオン酸ナトリウム水溶液は、亜ジチオン酸ナトリウム20 gを100 mLの水に溶解したものをを用時調製した。水酸化ナトリウム水溶液は水酸化ナトリウム10 gを90 mLの水に溶解させたものを、水酸化ナトリウム・メタノール溶液は、水酸化ナトリウム20 gをメタノール100 mLに溶解したものをを用いた。

あらかじめ濃度調整されたものを購入した4種類のPAAsについては、そこから1 mL採りメタノールでそれぞれ5 mLに定容した (200 $\mu\text{g/mL}$)。さらにそこからそれぞれ1 mL採り混合し、メタノールで10 mLに定容した (20 $\mu\text{g/mL}$)。その他のPAAsについては、PAA10 mgをそれぞれメタノールに溶解し10 mLに定容した (1000 $\mu\text{g/mL}$)。そこからそれぞれ0.2 mL採り混合し、メタノールで10 mLに定容した (20 $\mu\text{g/mL}$)。このように調整された2種類の20 $\mu\text{g/mL}$ 混合溶液からそれぞれ1.5 mLとりメタノールで10 mLに定容したものをPAAs標準溶液 (3 $\mu\text{g/mL}$) とした。

2.2 試料

試料は、これまでの我々の調査¹⁶⁾ において、高濃度の特定期間PAAsが確認された赤色の綿製マルチカバー (TE4, benzidine: 413 $\mu\text{g/g}$) および青紫色の革細工用端切れ (LC4, *o*-toluidine: 430 $\mu\text{g/g}$)、並びに特定期間PAAsが検出されなかった、綿製赤色バンドナ (TA4)¹⁶⁾、ポリエステル

Table 1. List of compound-specific parameters of PAAs included in these HPLC conditions investigated in this study

No.	Compound	CAS No.	Chemical structure	REACH Annex XVII ^{a)}	IARC Group ^{b)}	Supplier ^{c)}	HPLC ^{d)}	Wavelength (nm) ^{e)}	Retention time (min)		
									Basic condition ^{g)}	Alternative condition ① ^{f,g)}	Alternative condition ② ^{f,g)}
1	2,4-Diaminoanisole	615-05-4		○	2B	D	○	240	3.88	3.23	7.11*
2	2,4-Diaminotoluene	95-80-7		○	2B	C	○	240	4.71	3.78	7.08*
3	Benzidine	92-87-5		○	1	A	○	280	10.76	8.82*	16.96*
4	4,4'-Oxydianiline	101-80-4		○	2B	B	○	240	11.39	8.06*	16.86*
5	<i>o</i> -Anisidine	90-04-0		○	2B	D	○	240	12.80	9.69	14.94*
6	<i>o</i> -Toluidine	95-53-4		○	1	D	○	240	14.04	10.76	13.52*
7	4,4'-Methylenedianiline	101-77-9		○	2B	D	○	240	16.53	10.99	19.13*
8	4-Chloroaniline	106-47-8		○	2B	C	○	240	17.60	13.47*	16.00*
9	3,3'-Dimethoxybenzidine	119-90-4		○	2B	D	○	280	18.23	13.28*	24.86*
10	3,3'-Dimethylbenzidine	119-93-7		○	2B	C	○	280	18.55	13.77*	23.26*
11	<i>p</i> -Cresidine	120-71-8		○	2B	D	○	240	18.99	13.34*	18.85*
12	4,4'-Thiodianiline	139-65-1		○	2B	D	○	240	19.48	14.30*	22.60*
13	2,4-Xylydine	95-68-1		-	3	F	○	240	19.73	13.78*	17.65*
14	2,6-Xylydine	87-62-7		-	2B	F	○	240	20.10	14.82	17.56*
15	2-Naphthylamine	91-59-8		○	1	A	○	240	21.41	16.02	21.25*
16	4-Chloro- <i>o</i> -toluidine	95-69-2		○	2A	B	○	240	23.04	17.04*	20.26*
17	4,4'-Methylene-di- <i>o</i> -toluidine	838-88-0		○	2B	B	○	240	24.09	16.18*	25.08*
18	2,4,5-Trimethylaniline	137-17-7		○	3	C	○	240	24.43	16.72*	20.86*
19	4-Aminobiphenyl	92-67-1		○	1	A	○	280	26.58	19.90	25.77
20	3,3'-Dichlorobenzidine	91-94-1		○	2B	C	○	280	27.33	21.78	27.74
21	4-Aminoazobenzene (Solvent Yellow 1)	60-09-3		○	2B	E	○	380	27.80	22.58	27.75
22	4,4'-Methylene-bis-(2-chloro-aniline)	101-14-4		○	1	B	○	240	27.92	23.25	27.96
23	<i>o</i> -Aminoazotoluene (Solvent Yellow 3)	97-56-3		○	2B	-	-	-	-	-	-
24	5-Nitro- <i>o</i> -toluidine	99-55-8		○	3	-	-	-	-	-	-

^{a)} ○: Listed PAAs in the REACH Annex XVII³⁾

^{b)} IARC classification groups: 1 = Carcinogenic to humans, 2A = Probably carcinogenic to humans, 2B = Possibly carcinogenic to humans, 3 = Not classifiable as to carcinogenic to humans

^{c)} A: SUPELCO, B: Sigma-Aldrich, C: AccuStandard Inc., D: Wako Pure Chemical Industries, Ltd., E: Fulka, F: Tokyo Kasei Kogyo Co., Ltd.

^{d)} ○: Target compound of identification test by HPLC in this study.

^{e)} The most suitable wavelength selected from 240, 280, 305, and 380 nm.

^{f)} Basic condition: HPLC column (Zorbax Eclipse C18), organic solvent of eluent (methanol), Alternative condition ①: HPLC column (Zorbax Eclipse C18), organic solvent of eluent (acetonitrile), Alternative condition ②: HPLC column (InertSustain[®] Phenyl), organic solvent of eluent (methanol)

^{g)} Asterisk means the differences of elution order compared with basic condition.

製黒色トランク (FC3)¹³⁾ および青色革細工用端切れ (LC8)¹⁶⁾ を用いた。

2.3 試料溶液の調製

特定PAAs分析法¹⁴⁾に従って試料溶液を調製した。調製操作の概要を以下に示す。

2.3.1 繊維製品

「分散染料が使用されていない繊維製品」に該当する試料 (TA4およびTE4) は細切したのち、その1.0 gを試験に供試した。試料をねじ口試験管に入れ、メタノールおよび70℃のクエン酸緩衝液を加え保温した後、亜ジチオン酸ナトリウム水溶液を加えて還元した。室温まで冷却後、水酸化ナトリウム水溶液を加えた。この液を、珪藻土カラムに負荷し、MTBEで溶出した後、濃縮しMTBEで10 mLに定容した。

「分散染料が使用されている繊維製品」に該当する試料 (FC3) は細長い短冊状に調製したのち、その1.0 gを試験に供試した。試料を還流装置内に宙づりに設置し、クロロベンゼンを用いて抽出した。抽出液は少量の残渣まで濃縮後、メタノールを用いてねじ口試験管へと移し、70℃のクエン酸緩衝液を加えた。以下、「分散染料が使用されていない繊維製品」と同様に操作した。

2.3.2 革製品

試料 (LC4およびLC8) を1 mm²以下に細切し、1.0 gをねじ口試験管に入れ、*n*-ヘキサンにて脱脂した。その後、70℃のクエン酸緩衝液を加え、亜ジチオン酸ナトリウム水溶液を加えて還元した。この液および残渣を室温まで冷却後、珪藻土カラムに負荷し、MTBEで溶出した後、濃縮しMTBEで10 mLに定容した。

2.4 HPLC用試料溶液の調製

試料溶液1 mLを採り、窒素気流下で乾固させた後、1 mLのメタノールに溶解した。これをPTFEメンブレンフィルター (孔径: 0.20 μm, ADVANTEC社製) でろ過しHPLC用試料溶液とした。なお、試料TA4, FC3およびLC8については、乾固後の残渣を1 mLのPAAs標準溶液に溶解した添加試料溶液も調製した。

2.5 HPLC条件

HPLCシステムは、LC-30ADポンプ (2台), SIL-30ACオートサンプラ, SPD-M30Aフォトダイオードアレイ (PDA) 検出器およびCTO-30Aカラムオープンから構成される島津製作所社製NexeraX2システムを用いた。

基本条件

カラムはZorbax Eclipse XDB-C18 (内径: 4.6 mm, 長

さ: 150 mm, 粒子径: 3.5 μm, Agilent Technologies社製), カラムオープン温度は32℃, 注入量は5 μLとした。溶離液Aはリン酸二水素カリウム0.68 gを1 Lの水に溶解させた後にメタノール150 mLを加えたもの、溶離液Bはメタノールを用いた。そのグラジエント条件は10%B液→55%B液 (22.5分リニアグラジエント)→95%B液 (5分リニアグラジエント後, 1分保持)→10%B液 (0.5分リニアグラジエント後, 6分保持)とした。流速のグラジエント条件は、0.6 mL/分 (27.5分保持後)→2 mL/分 (1分リニアグラジエント)→0.6 mL/分 (2.5分リニアグラジエント, 4分保持)とした。測定波長は200~600 nmとし、主に240, 280, 305および380 nmをモニター波長とした。

代替条件

代替条件①は、溶離液のメタノールをアセトニトリルに替え、代替条件②はカラムとしてInertSustain[®] phenyl (内径: 4.6 mm, 長さ: 150 mm, 粒子径: 5 μm, ジーエルサイエンス(株)製)を用いた。それ以外は基本条件と同じとした。

3. 結果および考察

3.1 PAAsの分離状況

PAAs標準溶液の240 nmにおけるクロマトグラムをFig.1に、各PAAsの保持時間をTable 1に示した。我が国で分析対象として追加される2,4-xylydine (13) および2,6-xylydine (14) は、それぞれ19.73分および20.10分に検出された。2,4-xylydine (13) は4,4'-thiodianiline (12) と近接していたが、定性は可能であった。その他、2,4-diaminoanisole (1) は分解しやすいことからピーク形状が悪かったが、これ以外のPAAsは良好な形状のピークとして確認することができた。このことから、いずれのPAAについても240 nmで測定すれば確認法としての定性が可能であった。ただし、今回の測定では超高速分析対応型のHPLCシステムを用いており、汎用型のシステムと比べると配管容量等が小さい。また、カラムは同じ保持担体であってもメーカーが異なるとピークの分離挙動に差異が認められる場合がある。そのため、ピークが近接している3,3'-dimethoxybenzidine, 3,3'-dimethylbenzidine, *p*-cresidine, 4,4'-thiodianiline, 2,4-xylydine, 2,6-xylydine (9~14) は、用いる機器やカラムによって十分に分離しない可能性がある。

次に、各試料溶液について分析したところ、EUの基準値 (30 μg/g) を10倍以上超えるPAAsが検出された試料TE4ではbenzidine (3), 試料LC4では*o*-toluidine (6) がそれぞれ定性可能であった (Fig. 1)。また、特定PAAsが検出されなかった試料 (TA4, FC3およびLC8) の試料溶液と、その添加試料溶液を分析し、それらのクロマ

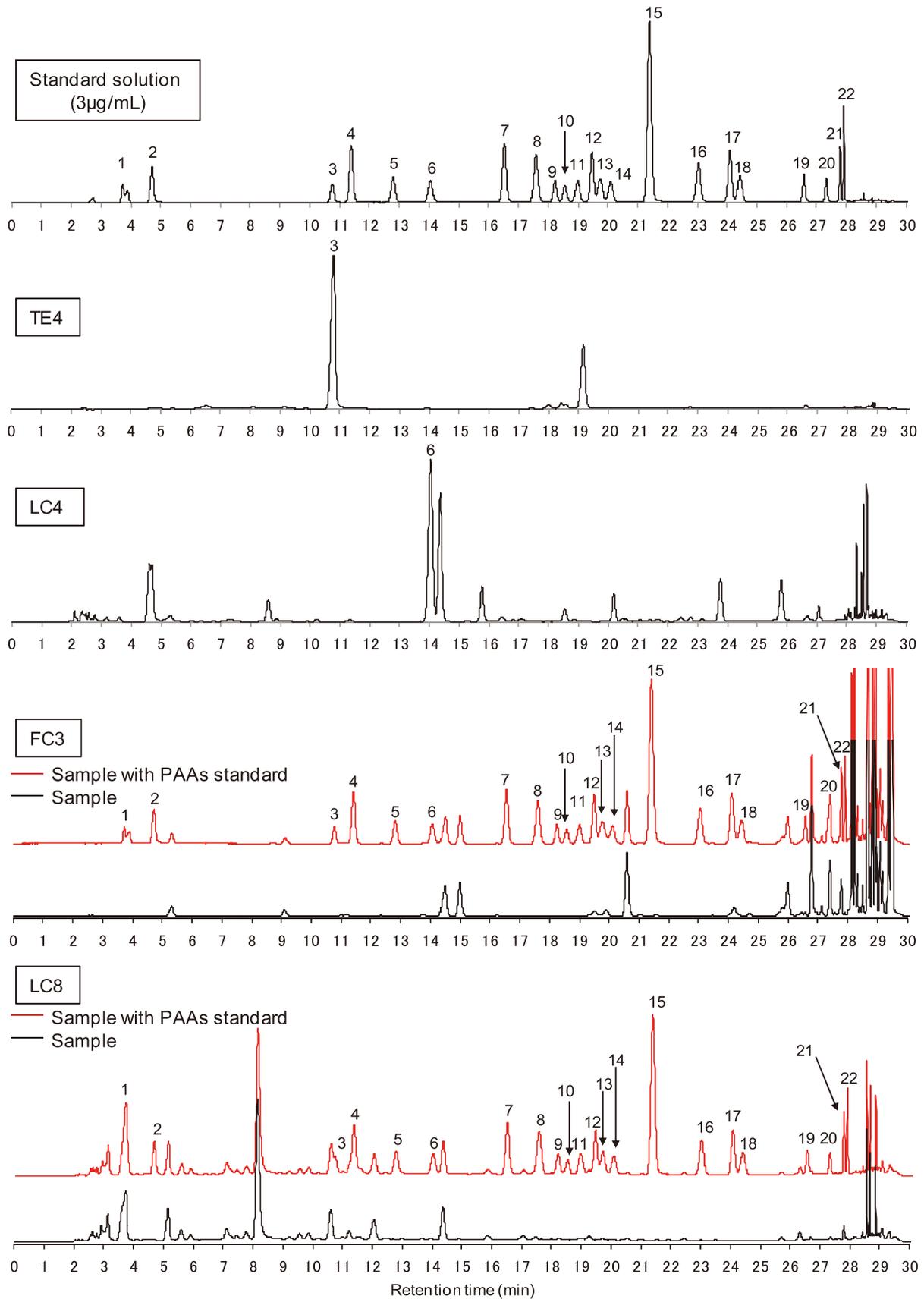


Fig. 1. Chromatograms of standard solution (3 µg/mL) , TE4, LC4, FC3, and LC8 observed under basic conditions at 240 nm
The peak numbers correspond to Table 1.

トグラムを比較したところ、綿製の試料TA4ではすべてのPAAsに対して妨害ピークは認められなかった。一方、ポリエステル製の試料FC3については、保持時間25分以降に多数のピークが認められた (Fig. 1)。これらは製品に使用された添加剤などに由来するものと考えられ、3,3'-dichlorobenzidine (20) および4-aminoazobenzene (21) については妨害ピークと重なり定性できなかった。そのため、ポリエステル製の試料では25分以降に溶出するPAAs (19~22) は妨害を受ける可能性が考えられた。一方、革製の試料LC8については、2,4-diaminoanisole (1) およびbenzidine (3) が妨害ピークと重なり定性できなかった (Fig. 1)。

3.2 測定波長の選択

測定波長として240 nmを用いた際に、試料によっては

一部のPAAsに対する妨害ピークが認められた。EN14362-1:2012では、240 nm以外に3種類の測定波長が示されていることからそれぞれのPAAsの紫外可視吸収スペクトルを確認した (Fig. 2)。ベンゼン環が一つの2,4-diaminoanisole等 (1, 2, 5, 6, 8, 11, 13, 14, 16, 18) やジフェニルメタン構造を有する4,4'-oxydianiline等 (4, 7, 12, 17, 22) は220~250 nmおよび270~300 nm付近に、ビフェニル骨格を有するbenzidine等 (3, 9, 10, 19, 20) は250~320 nm付近に吸収が認められた (Fig. 2)。一方、2-naphtylamine (15) および4-aminoazobenzene (21) は、前述の構造を有するPAAsとは異なる吸収スペクトルを示した (Fig. 2)。この結果から、各PAAsについてEN14362-1:2012に示されている4種類の測定波長のうち、最適と考えられる測定波長を選択し、その波長をTable 1に示

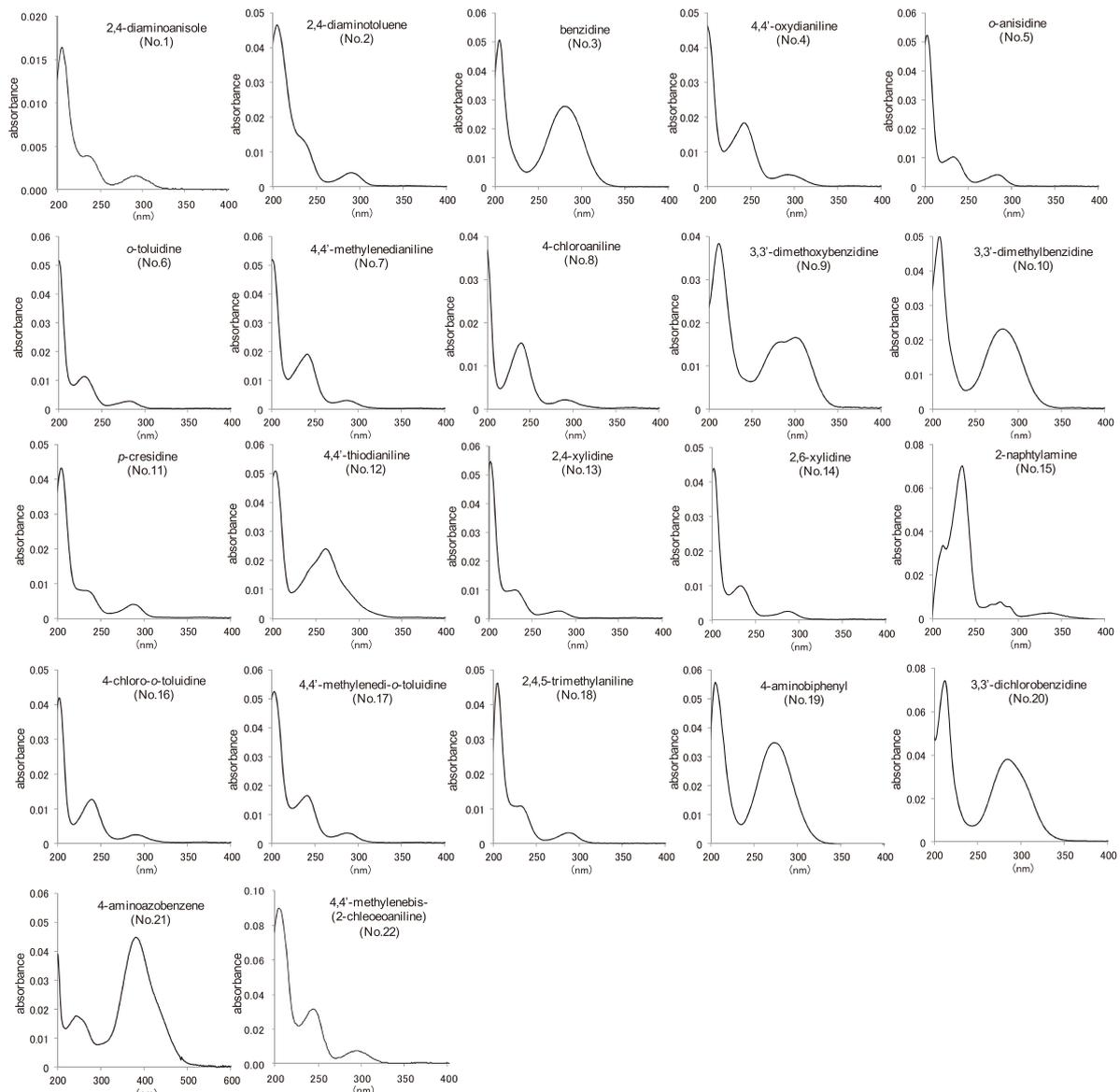


Fig. 2. UV-Vis spectra of each PAA peaks obtained under basic condition

した。

試料FC3の3,3'-dichlorobenzidine (20) および4-aminoazobenzene (21) は前述のように240 nmでは妨害ピークにより定性できなかったが, 3,3'-dichlorobenzidine (20) は280 nm, 4-aminoazobenzene (21) は380 nmで測定すると妨害ピークは認められず, 問題無く定性することができた (Fig. 3)。また, 試料LC8のbenzidine (3) については, 240 nmでは感度が低く妨害ピークとの区別が困難であったが, 280 nmでは感度が良くなり妨害ピークとの区別が可能であった。さらに305 nmにおいては感度が減少するが妨害ピークは認められず定性が可能であった (Fig. 3)。これらのことから, 確認試験では吸収スペクトルの測定とそれを用いた定性確認は求められていないが, 検出器にPDAを用いた場合には, ピークの吸収スペクトルを比較することも有効な手段と考えられた。一方, 2,4-diaminoanisole (1) はいずれの波長においても妨害ピークと重なっており, 定性を行うにはカラムや溶離液の変更が必要と考えられた。

3.3 代替条件の検討

3.3.1 代替条件①

基本条件の溶離液に用いたメタノールをアセトニトリルに変更した代替条件①によるPAAAs標準溶液, 試料FC3および試料LC8の試料溶液と添加試料溶液のクロマトグラムをFig. 4, 各PAAAsの保持時間をTable 1に示した。代替条件①では, PAAAsの保持時間は基本条件よりも全体的に早くなり, 一部のPAAAsは溶出順に違いが認められた。また, *o*-toluidine (6) と4,4'-methylenedianiline (7), 3,3'-dimethylbenzidine (9), *p*-cresidine (11) および4-chloroaniline (8), 3,3'-dimethylbenzidine (10) と2,4-xylydine (13), 2-naphtylamine (15) と4,4'-methylenedio-toluidine (17) のピークがそれぞれ重なった。

試料FC3で検出された妨害ピークと保持時間の遅いPAAAs (19~21) とを分離することができた (Fig. 4)。このことから, 代替条件①はポリエステル製の試料において妨害ピークが検出された場合の確認法として有効と考えられた。ただし, 最も保持時間の遅い4,4'-methylenedio-bis (2-chloroaniline) (22) については妨害ピークと分離

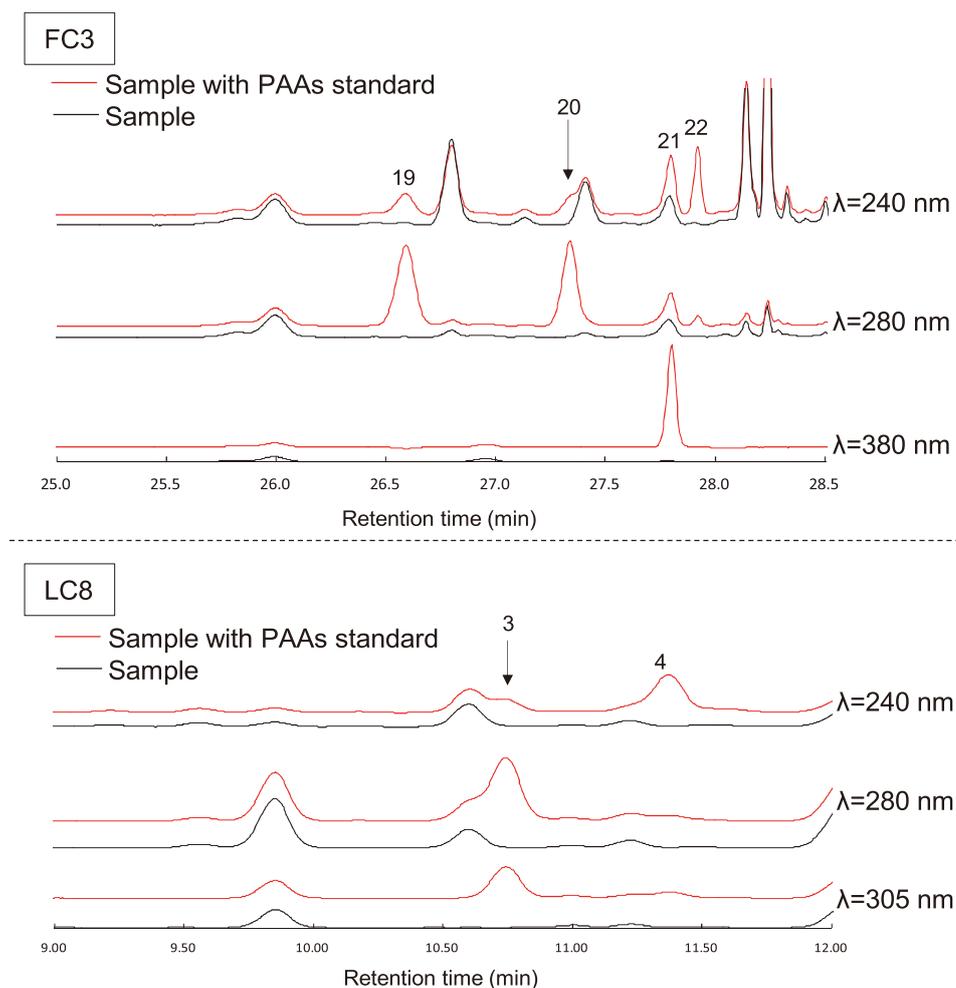


Fig. 3. Chromatograms of FC3 and LC8 observed under basic condition at 240, 280, 305, and 380 nm
The peak numbers correspond to Table 1.

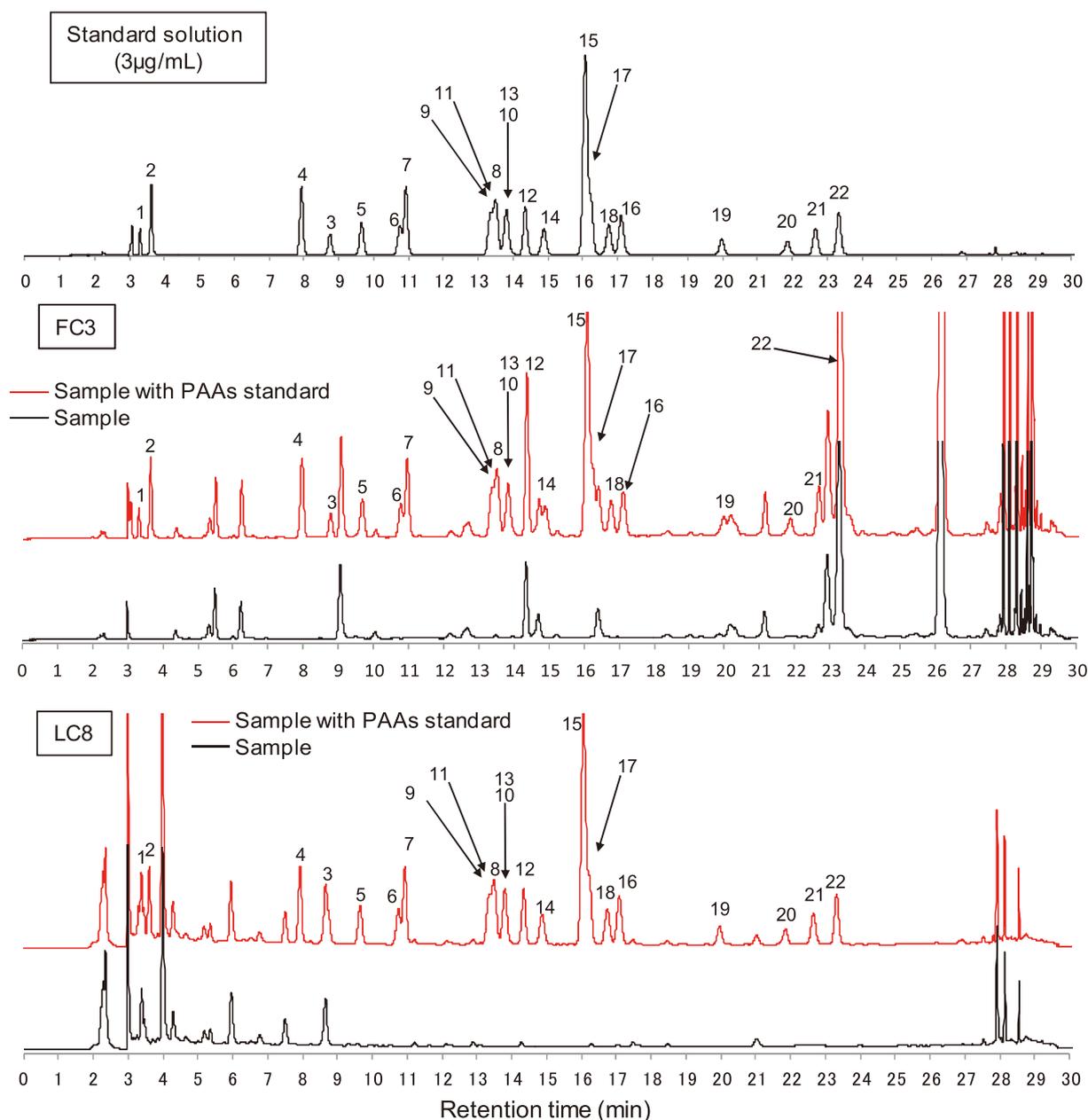


Fig. 4. Chromatograms of standard solution (3 µg/mL) , FC3, and LC8 observed under alternative condition
① at 240 nm

The peak numbers correspond to Table 1.

しなかったため、測定波長やカラム等の変更も検討する必要があった。一方、革製の試料LC8では基本条件と同様に2,4-diaminoanisole (1) が妨害ピークと重なりこの条件では定性できなかった。

3.3.2 代替条件②

球状シリカゲル表面にフェニル基を結合させたものを保持担体としたカラム (フェニルカラム) である InertSustain® phenylを用いた代替条件②によるPAAs標準溶液、試料FC3およびLC8の試料溶液と添加試料溶

液のクロマトグラムをFig.5, 各PAAsの保持時間をTable 1に示した。代替条件②では代替条件①と同様に、基本条件と比べPAAsの溶出順が大きく異なり、PAAs間でのピークの重なりが増加した。

前述のいずれの条件でも定性が妨害された試料LC8の2,4-diaminoanisole (1) については、2,4-diaminotoluene (2)との分離が不十分であるものの妨害ピークは認められなかった (Fig.5)。これらは類似の吸収スペクトルを呈するため測定波長を変えても区別できないが、基本条件では分離可能であり、その測定結果と組み合わせて判

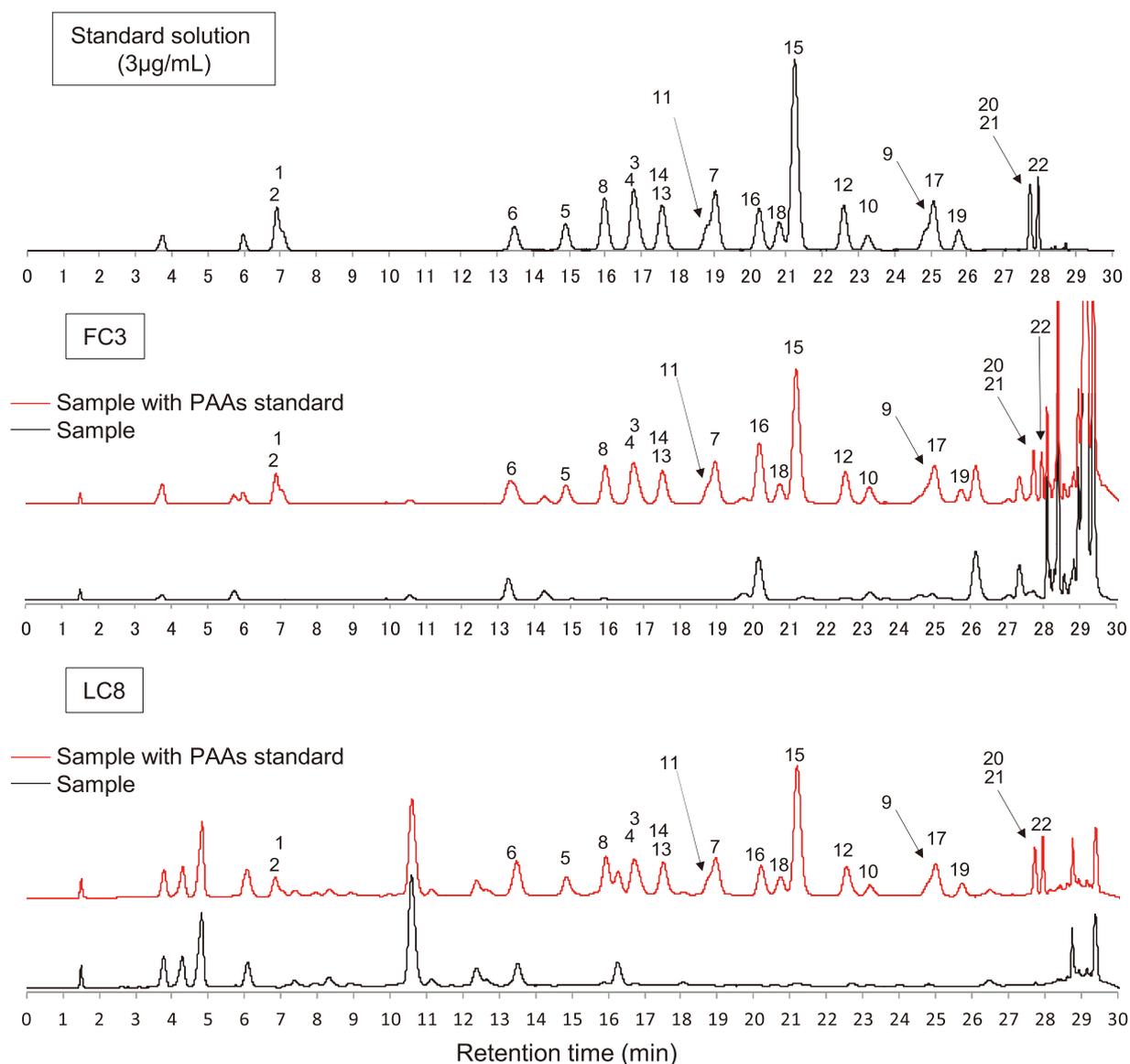


Fig. 5. Chromatograms of standard solution (3 µg/mL), FC3, and LC8 observed under alternative condition ② at 240 nm

The peak numbers correspond to Table 1.

断することで定性が可能であった。また、約半分のPAAsは基本条件と比べて保持時間が大きく異なったことから、その他のPAAの妨害ピークに対しても効果的である可能性が高いと考えられた。

4. まとめ

家庭用品規制法で分析対象とされるアゾ染料に由来する22種類の特PAAのHPLCによる確認試験法について、各PAAの分離を検証し、最適な測定波長を示した。EN14362-1:2012に準じた基本条件では、測定波長240 nmで2,4-xylydine (13) および2,6-xylydine (14) を含む大部分のPAAsが分離でき、定性が可能であった。ただし、試料によっては一部のPAAsが試料由来の妨害ピークと重

なり定性が困難であった。このような場合に、それぞれのPAAsに適した波長で測定することで、妨害ピークの影響なく定性できたり、溶離液の有機溶媒をアセトニトリルに、カラムをフェニルカラムに変更したりすることで、PAAsおよび妨害ピークの保持時間が変化し、定性が可能となったりした。以上から、家庭用品規制法での特定PAAsのHPLCによる確認試験では、EN14362-1:2012に準じた条件を基本条件とし、必要に応じ溶離液の有機溶媒組成や使用カラムを変更するなど、その条件を変更することが望ましい。

引用文献

- 1) Collier SW, Strom JE, Bronaugh RL: *Appl*

- Pharmacol.* 1993;118:73-9.
- 2) Hildenbrand S, Schmahl FW, Wodarz R, Kimmel R, Dartsch PC: *Int Arch Occup Environ Health.* 1999;72(Suppl 3):M52-6.
 - 3) Platzek T, Lang C, Grohmann G, Gi U-S, Baltes W: *Hum Exp Toxicol.* 1999;18: 552-9.
 - 4) European Union: Off J Eur Commun. 2002; L 243/15.
 - 5) European Union: Commission regulation (EC) No 552/2009 of 22 June 2009, amending regulation (EC) No 1907/2006 of the European parliament and of the council on the registration, evaluation, authorization and restriction of chemicals (REACH) as regards annex XVII
 - 6) 独立行政法人中小企業基盤整備機構: 平成21年度情報調査業務「繊維製品中の有害物質に関する調査事業」; http://www.smrj.go.jp/keiei/dbps_data/_material/_common/chushou/b_keiei/keiseiseni/pdf/53201-1.pdf
 - 7) 日本繊維産業連盟: 繊維製品に係る有害物質の不使用に関する自主基準; <http://www.jtf-net.com/news/120329VSNHS.htm>
 - 8) 日本皮革産業連合会: 皮革製品に係る有害物質の不使用に関する自主基準; http://www.jlia.or.jp/index.php?pg=news_release.detail&get=483
 - 9) EN14362-1:2003 “Textiles - Methods for the determination of certain aromatic amines derived from azo colorants- Part 1: Detection of the use of certain azo colorants accessible without extraction”
 - 10) EN17234-2:2011 “Leather - Chemical tests for the determination of certain azo colorants in dyed leathers, Part 2: Determination of 4-aminoazobenzene (ISO 17234-2: 2011)”
 - 11) EN14362-3:2012 “Textiles - Methods for the determination of certain aromatic amines derived from azo colorants- Part 3: Detection of the use of certain azo colorants, which may release 4-aminoazobenzene”
 - 12) 河上強志, 伊佐間和郎, 土屋利江, 松岡厚子: 平成20年度家庭用品検査報告書
 - 13) Kawakami T, Isama K, Nakashima H, Tsuchiya T, Matsuoka A: *J Environ Sci Health, Part A*, 2010;45: 1281-95.
 - 14) 平成25年度第1回薬事・衛生審議会薬事分科会化学物質安全対策部会家庭用品安全対策調査会, <http://www.mhlw.go.jp/file/05-Shingikai-11121000-Iyakushokuhinkyoku-Soumuka/img-121103929.pdf>
 - 15) EN14362-1:2012 “Textiles - Methods for determination of certain aromatic amines derived from azo colorants- Part 1: Detection of the use of certain azo colorants accessible with and without extracting the fibres”
 - 16) Kawakami T, Isama K, Nishimura T: *J Environ Chem*, 2012;22:197-204.