衛生化学
EISEI KAGAKU
25 (1) 39-43 (1979)

ガスクロマトグラフィーによる衣類中の遊離ホルムアルデヒドの分析

城戸浩三, 作間忠道
北九州市環境衛生研究所¹⁾

Gas Chromatographic Analysis of Free Formaldehyde in Commercial Clothing

KOZŌ KIDO and TADAMICHI SAKUMA

The Kitakyushu Municipal Institute of Environmental Health Sciences¹⁾

(Received September 21, 1978)

A gas chromatographic method for the determination of trace amounts of formaldehyde in commercial clothing as its 2,4-dinitrophenylhydrazone is described.

For the quantitative formation of formaldehyde 2,4-dinitrophenylhydrazone, concentrations of hydrochloric acid and 2,4-dinitrophenylhydrazine were examined, and dichloromethane was chosen as the best extracting solvent. The recovery of the overall performance of this method was more than 95%, and the detection limit was 1 ppm. The present method was successfully applied to the analysis of a trace amount of formaldehyde in commercial clothing, not detected by conventional methods such as the acetylacetone method.

Keywords—formaldehyde; free formaldehyde in commercial clothing; formaldehyde-2,4-dinitrophenylhydrazone; formaldehyde determination; FID gas chromatography

緒 言

衣類中の遊離ホルムアルデヒドの定量法については、JIS²⁾にフロログルシン法とヨウ素法が、衛生試験法³⁾にクロモトロブ酸法とアセチルアセトン法が規定されている。この内、フロログルシン法、クロモトロブ酸法およびヨウ素法は感度の点などで問題がある。アセチルアセトン法^{4,5)}は感度や再現性の点から、もっともすぐれており、衣類中の遊離ホルムアルデヒド分析法の公定法⁶⁾となっている。しかし、この公定法では検出限度は10 ppm ($A-A_0=0.01$ 以下) 前後であり、また低濃度のホルムアルデヒド (20 ppm 前後, $A-A_0=0.02$ 以下)

を検出した場合でも、ジメドンによるホルムアルデヒドの同定⁶⁾はほとんどできない。また衣類から溶出した色素がジメドンによるホルムアルデヒドの同定を妨害することがあり、低濃度の遊離ホルムアルデヒドを同定、定量する分析法が望まれる。

食品、タバコ、大気中などのカルボニル化合物の分析については、ガスクロマトグラフ (GC) を用いる方法が多く報告されている。カルボニル化合物をそのまま GC で分析する方法は感度が悪いので、2,4-ジニトロフェニルヒドラゾン誘導体⁷⁻¹¹⁾やペンタフルオロフェニルヒドラゾン誘導体^{12,13)}にして GC で分析する方法が多く用い

- 1) Location: Shinike 1-2-1, Tobataku, Kitakyushu (北九州市戸畑区新池1-2-1).
- 2) JIS L 1041 (1960).
- 3) 日本薬学会協定衛生試験法注解, 金原出版, 東京, 1973, p. 559.
- 4) T. Nash, *Biochem. J.*, **55**, 416 (1953).
- 5) 小嶋茂雄, 大塚琢磨, *分析化学*, **24**, 294 (1975).
- 6) 厚生省令第34号 (1974).
- 7) E. Fedeli, M. Cirimele, *J. Chromatogr.*, **15**, 435 (1964).
- 8) R. J. Sonkup, R. J. Scarpellino, E. Danielszik, *Anal. Chem.*, **36**, 2255 (1964).
- 9) M. Deki, Y. Yoshimura, *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, **22**, 1754 (1974).
- 10) 柴崎一雄, 岩淵せつ子, *食品工誌*, **17**, 193 (1975).
- 11) L. J. Papa, L. P. Turner, *J. Chromatogr. Sci.*, **10**, 744 (1972).
- 12) J. Attal, S. M. Hendeles, K. B. Eik-Nes, *Anal. Biochem.*, **20**, 394 (1967).
- 13) Y. Hoshika, G. Muto, *J. Chromatogr.*, **152**, 224 (1978).

られている。この方法を用いた報告の多くは定性であり、カルボニル化合物を定量的に分析した例は少ない。^{13,14)}

本報では、衣類中の遊離ホルムアルデヒドをホルムアルデヒド-2,4-ジニトロフェニルヒドラゾンとして同定し、かつ定量する方法について検討した。

実験方法

1. 試薬および試料 (1) 試薬——ホルマリン、塩酸および2,4-ジニトロフェニルヒドラジンは市販特級品を用いた。2,4-ジニトロフェニルヒドラジン溶液は2,4-ジニトロフェニルヒドラジン 1 g を 250 ml の 2N 塩酸に溶解し、ガラスフィルター (G・2) でろ過して調製した。エチルアルコールは残留農薬用を用い、ベンゼン、イソオクタン、塩化メチレン、四塩化炭素および n-ヘキサンは市販特級品を蒸留して用いた。

(2) 試料——分析に供した衣類は1977, 1978年に市販品を購入した。

2. 装置および器具 (1) 微量融点測定——装置は京都計測製作所製を用いた。

(2) ガスクロマトグラフ——島津製作所製 GC-5A 型を用いて次の条件で行った。

検出器, FID; カラム, ガラスカラム (内径 3 mm, 長さ 2 m); 充てん剤, 担体-ユニポート HPS (80—100 メッシュ), 固定相液体-4% シリコン OV-17; 注入口温度, 210°; カラム温度, 180°; キャリアーガス, N₂ 25 ml/min.

(3) GC-質量分析計——コンピュータ (GC-MS-COM) は日本電子製の JGC 20 KP-JMS 01 SG 2-JEOL 980 A 型を用いて次の条件で行った。

検出器, Total Ion Monitor; イオン源, Electron Impact; カラム, ガラスカラム (内径 2 mm, 長さ 1 m); 充てん剤, FID-GC で使用したものと同一; 注入口温度, 220°; カラム温度, 200°; キャリアーガス, He 40 ml/min; イオン源温度, 210°; 印加電圧, 3.5 kV; イオン化電圧, 75 eV.

(4) クデルナ・ダニッシュ濃縮管 (KD 濃縮管)——100 ml の濃縮管を用い、アダプターをつけないで、そのまま KD 濃縮管に連結した。

3. ホルムアルデヒド原液の標定 市販の特級ホルマリン (約37%のホルムアルデヒドを含む) 約 1 g を、あらかじめ水を入れた秤量びん中に精密に量り、水で 100 ml に希釈した後、ヨウ素法⁶⁾により標定した。

4. ホルムアルデヒド-2,4-ジニトロフェニルヒドラゾンの調製¹⁵⁾

2,4-ジニトロフェニルヒドラジン 1 g を濃硫酸 2 ml およびエチルアルコール 15 ml に溶解した溶液にホルマリンをホルムアルデヒド-2,4-ジニトロフェニルヒドラゾンの沈殿が生じなくなるまで滴下する。析出した沈殿を吸引ろ過し、蒸留水、次いで冷エチルアルコールでよく洗浄し、減圧乾燥後、シリカゲルデシケータ中に保存する。mp 163—165° (文献値¹⁶⁾: 163°)。この標準品 51.6 mg を塩化メチレン 50 ml に溶解し、標準溶液の原液とする。これを、塩化メチレンで適当に希釈し、内部標準として終濃度 20 ppm になるようにデイルドリンを加え、ホルムアルデヒド換算で 1—5 μg/ml 濃度の標準溶液を調製した。

5. アセチルアセトン法 公定法⁶⁾を用いた。

6. ホルムアルデヒド-2,4-ジニトロフェニルヒドラゾンの安定性

10 ml のメスフラスコ中で 5 ppm のホルムアルデヒド-2,4-ジニトロフェニルヒドラゾンの塩化メチレン溶液 (内部標準として 20 ppm のデイルドリンを含む) を室内光のもとで、室温 (25—30°) に一定時間放置した後、4° の冷蔵庫中に保存した。それを一定の容量にして、GC で分析した。

7. 抽出法⁶⁾ 細かく切断した試料 1 g を 200 ml の共栓三角フラスコに精密に量り、水 100 ml を正確に加えて密栓し、40° の水浴上で 1 時間、時々振り混ぜながら浸漬する。ガラスフィルター (G・2) で温めろ過して得たる液を試験溶液とする。

8. 定量法 試験溶液 50 ml に濃塩酸 2 ml, 2,4-ジニトロフェニルヒドラジン溶液 3 ml を加える。それに塩化メチレン 10 ml を加え 5 分間振とうした後、塩化メチレン層を分離する。さらに塩化メチレン 10 ml で抽出をくり返し、塩化メチレン層を合わせる。芒硝で脱水し、KD 濃縮器で 5 ml に濃縮した後、その 2 ml を GC に注入する。対照として試験溶液の代わりに水 50 ml を用いて、同様な操作を行い、GC に注入して妨害ピークのないことを確認する。

なお、至適の塩酸濃度および2,4-ジニトロフェニルヒドラジン濃度の検討を行った実験では、試験溶液の代わりに 0.5 ppm ホルムアルデヒド溶液 50 ml を用いた。また抽出溶媒の検討を行った実験では、上記の塩化メチレンによる抽出操作と同様に各溶媒 10 ml で 2 回抽出した。

14) M. F. Fraccio, F. J. Schuette, P. K. Mueller, *Environ. Sci. Technol.*, **1**, 915 (1967).

15) R. L. Schriener, R. C. Fuson, D. Y. Curtin, "The Systematic Identification of Organic Compounds," 4th ed., Wiley and Sons, New York, 1956, p. 219.

16) L. A. Jones, J. C. Holms, R. B. Seliman, *Anal. Chem.*, **28**, 191 (1956).

結果および考察

1. 定量法の検討

1.1 検量線 実験方法4で調整した各濃度のホルムアルデヒド-2,4-ジニトロフェニルヒドラゾン標準溶液 2 μ l を GC に注入し、得られたクロマトグラムについて定量性を調べた。Fig. 1 に示すように検量線は原点を通る直線性を示した。定量は (試料のピーク高)/(内部標準のピーク高) が 0 から 2.0 の範囲で行った。

1.2 ホルムアルデヒド-2,4-ジニトロフェニルヒドラゾンの安定性 実験方法6により塩化メチレン溶液中でのホルムアルデヒド-2,4-ジニトロフェニルヒドラゾンの安定性について検討した。Fig. 2 に示すようにホルムアルデヒド-2,4-ジニトロフェニルヒドラゾンは室内

Fig. 1. Calibration Curve of Formaldehyde-2,4-dinitrophenylhydrazone

Fig. 2. Stability of Formaldehyde-2,4-dinitrophenylhydrazone Exposed on the Light at 25-30°

光のもとでも、室温で6日間は安定であることがわかった。

1.3 塩酸濃度の検討 ホルムアルデヒドと2,4-ジニトロフェニルヒドラジンとの反応は酸触媒反応である。そこで塩酸の濃度とホルムアルデヒド-2,4-ジニトロフェニルヒドラゾンの生成量との関係を検討した。Fig. 3 に示すように塩酸濃度は 0.5-2.3 N の範囲が適当であることが判ったので、以後の実験には塩酸に対するホルムアルデヒド-2,4-ジニトロフェニルヒドラゾンの溶解性も考慮して、2.0 N の塩酸を用いることとした。

1.4 2,4-ジニトロフェニルヒドラジン溶液の濃度の検討 2.0 N 塩酸に溶解した2,4-ジニトロフェニルヒドラジン溶液の量を変えて生成するホルムアルデヒド-2,4-ジニトロフェニルヒドラゾンの量を測定した。16 mg/50 ml 以上の試験溶液中2,4-ジニトロフェニルヒド

Fig. 3. Effect of HCl Concentration on the Formation of Formaldehyde-2,4-dinitrophenylhydrazone

Fig. 4. Effect of 2,4-Dinitrophenylhydrazine Concentration on the Formation of Formaldehyde-2,4-dinitrophenylhydrazone

ラジン濃度では濃縮操作中に沈殿を生じ、また2,4-ジニトロベンゼン ($m/e: 168(M^+)$), GC-MS-COMで確認)が多く生成して、GCによる分析を妨害する。そこでFig. 4の結果から、ホルムアルデヒド-2,4-ジニトロフェニルヒドラゾンの生成が高く、かつ2,4-ジニトロベンゼンの生成率が少なくGCの妨害物質とならない濃度として、2,4-ジニトロフェニルヒドラジン濃度を12 mg/50 ml 試験溶液とした。

1.5 抽出溶媒の検討 GCの検出器としてFIDを用いるので、炭素数が少ない溶媒が望ましく、かつ取り扱いやすくホルムアルデヒド-2,4-ジニトロフェニルヒドラゾンの抽出効率のよい溶媒が望ましい。種々の溶媒を用いて抽出効率を検討した結果は、次の如くであった。塩化メチレン 100 (± 7.7)%, n-ヘキサン 64.5 (± 1.9)%, 四塩化炭素 95.1 (± 0.3)%, イソオクタン 91.2 (± 15.5)% およびベンゼン 99.5 (± 7.7)% であった。従って炭素数が最小で最も抽出効率が良い塩化メチレンを抽出溶媒として選択した。

1.6 添加回収実験 スリッパおよびくつ下のそれぞれ1gを細切りにし、それに0.05および0.5 ppmのホルムアルデヒド溶液100 mlを加え抽出操作を行った。ガラスフィルターで過後、そのろ液50 mlを用い、実験方法8により添加回収実験を行った。スリッパおよびくつ下の各試料中に含まれている遊離ホルムアルデヒドはアセチルアセトン法では検出限度(8 ppm)以下であったが、本法では検出されたので、各試料自体に由来するピーク高を差し引いて回収率を求めた。0.05 および0.5 ppmホルムアルデヒド溶液100 mlは1g試料中の濃度に換算すればそれぞれ5および50 ppmに相当する。Table Iに示すように、いずれの試料においても良い回収率をえた。

TABLE I. Recovery of Formaldehyde from Clothing Samples

A) Fortification level, 5 ppm; in triplicate

Sample	Recovery $\bar{X} \pm S. D. (\%)$
Slip	100 $\pm$ 6
Stocking	95 $\pm$ 8

B) Fortification level, 50 ppm; in triplicate

Sample	Recovery $\bar{X} \pm S. D. (\%)$
Slip	99 $\pm$ 3
Stocking	98 $\pm$ 3

2. GC-MS-COMによるホルムアルデヒド-2,4-ジニトロフェニルヒドラゾンの確認

試料から抽出され、GCで保持時間7.1分に出現するピークがホルムアルデヒド-2,4-ジニトロフェニルヒドラゾンであることを確認するために、GC-MS-COMを用いて分析を行った。Fig. 5に示すように、親イオン $m/e: 210$ および2,4-ジニトロフェニルヒドラゾンの特徴的な解裂イオンである $m/e: 180, 122$ はホルムアルデヒド-2,4-ジニトロフェニルヒドラゾン標準品のそれらと一致した。

3. 衣類中の遊離ホルムアルデヒドの定量

アセチルアセトン法では検出限度以下かあるいはわずかに検出されてもジメドンによるホルムアルデヒドの確認が不可能な下着を主とする衣類中の遊離ホルムアルデヒドについて、本法で分析を行った。標準液と試料の抽出液について得られたGCパターンをFig. 6に示す。分析操作中に2,4-ジニトロベンゼンが生成するが、妨害ピークにはなっていない。

また衣類中の遊離ホルムアルデヒドの分析結果をTable IIに示す。本分析方法の検出限度は1 ppmであり、アセチルアセトン法などの比色法と異なりGCでピークとして同定することができるので、低濃度のホルムアルデヒドの同定および定量に適している。

Fig. 5. Gas Chromatograms of Formaldehyde-2,4-dinitrophenylhydrazone

Apparatus: Shimadzu 5 AFFp type; detector, FID; column, packed with 4% silicone OV-17 on uniport HPS (80-100 mesh), glass column (1 m $\times$ 3 mm, id). Operating conditions: column temp. 180°, injection temp. 210°; carrier gas, N₂ (25 ml/min).

1. formaldehyde-2,4-dinitrophenylhydrazone,
2. internal standard (dieldrin),
3. 2,4-dinitrobenzene.

Fig. 6. GC-MS Spectra of Formaldehyde-2,4-dinitrophenylhydrazone

Apparatus: JGC 20 KP-JMS 01 SG 2-JEOL 980 A GC-MS-COM System; detector, total ion monitor; ion source, electro impact; column, packed with 4% silicone OV-17 on uniport HPS (80-100 mesh), glass column (1 m×2 mm, id). Operating conditions: column temp. 200°, injection temp. 220°, enricher temp. 270°, ion source temp. 210°; ionizing energy, 75 eV; accelerating voltage, 10 KV; carrier gas, He (40 ml/min).

TABLE II. Free Formaldehyde in Commercial Clothing

Sample	Formaldehyde found (ppm)
Brassiere A	7.5
B	10.0
Shirt	8.5
Glove	5.5
Pants A	7.5
B	8.5
C	11.0
D	17.0
Briefs	7.0

結 論

衣類中の微量の遊離ホルムアルデヒドをガスクロマトグラフィーで定量するための分析方法を検討した。

1. ホルムアルデヒドを塩酸溶液中、2,4-ジニトロフェニルヒドラジンと反応させ、ホルムアルデヒド-2,4-ジニトロフェニルヒドラゾンとし、GCで同定した。

2. ホルムアルデヒド-2,4-ジニトロフェニルヒドラゾンが定量的に生成するための条件を検討した結果、反応溶液中の塩酸濃度は 2.0 N、2,4-ジニトロフェニルヒドラジン溶液濃度は 12 mg/50 ml 試験溶液が最適であることが判った。また抽出溶媒として塩化メチレンを選択した。

3. 以上に検討された定量方法により添加回収実験を行った結果、5 ppm ではスリップで 100%、ストッキングで 95% であった。また 50 ppm ではスリップで 99%、ストッキングで 98% であった。

4. 本法により衣類中の遊離ホルムアルデヒドを定量した結果、アセチルアセトン法では検出されなかったレベルの微量のホルムアルデヒドを同定し、定量することができた。

謝辞 本研究に当たり、御助言御援助をいただいた北九州市環境衛生研究所長・秋山 高博士をはじめ職員各位に深謝いたします。