〔衛 生 化 学〕
EISEI KAGAKU
31 (4) 245-250 (1985)

家庭用品に使用されている化学物質に関する研究 (第1報)

繊維製品中の抗菌防臭加工剤の分析

兼俊明夫, 小川 廣, 姉帯正樹

桂 英二, 金島弘恭

北海道立衛生研究所

Studies on the Chemicals Used in Household Necessities. I.
Analysis of Antimicrobial Agents in Fabrics

AKIO KANETOSHI, HIROSHI OGAWA, MASAKI ANETAI,

EIJI KATSURA and HIROYASU KANESHIMA

*Hokkaido Institute of Public Health, West 12,**North 19, Kitaku, Sapporo 060, Japan*

(Received December 13, 1984)

Methods for the qualitative analysis and determination of antimicrobial agents in fabrics are described. At present, antimicrobial agents mainly used are 2,4,4'-trichloro-2'-hydroxydiphenyl ether (Irgasan DP300), 3-(trimethoxysilyl)propyldimethyloctadecyl ammonium chloride (DC5700) and thia-bendazole (TBZ).

The procedure of qualitative analysis is as follows: (1) DC-5700 in fabrics is checked by the adsorption of bromophenol blue (BPB) on the strips packed in column. (2) Irgasan DP300 eluted with ether from fabrics is detected by Gibbs reagent on silica gel thin layer chromatography (TLC). (3) TBZ is eluted with methanol from the fabrics after the ether-elution and detected by UV 254 nm after spraying sulfuric acid on silica gel TLC.

DC-5700 is determined from the amount of 1-octadecene, formed in Hofmann degradation, measured by gas-liquid chromatography (GLC). The determination of Irgasan DP300 in fabrics is carried out by high performance liquid chromatography (HPLC) on the acidic fraction of extract with methanol: acetic acid (9:1) under reflux and TBZ is determined by GLC on the alkaline fraction of the above-mentioned extract.

By using the qualitative and quantitative system, Irgasan DP300, DC-5700 and TBZ were detected in 12, 4 and 2 samples, respectively, of 23 commercial fabrics treated with antimicrobial agents.

Keywords—antimicrobial agents; fabrics; Irgasan DP300; DC-5700; thiabendazole; qualitative analysis; determination; bromophenol blue; Hofmann degradation

緒 言

人体の皮膚表面や肌着、靴下などにおける微生物の繁殖は腐敗・醗酵現象となって悪臭を発生する原因となっている。¹⁾ 繊維製品の抗菌防臭加工はこれらの微生物による障害から人体や繊維自体を守るためのもので衛生加工、抗菌加工、防カビ加工などとも呼ばれている。²⁾ 過去、この目的で使用されていた有機水銀は毒性が強く、

我が国では昭和49年に「有害化学物質を含有する家庭用品の規則に関する法律」³⁾により禁止され、続いてトリフェニルスズとトリブチルスズ化合物がその皮膚刺激性、経皮吸収及び生殖機能障害など^{4,5)}から同様に家庭用品への使用が規制された。これらの規制に伴い、現在では抗菌防臭加工剤として3-(トリメトキシシリル)プロピルジメチルオクタデシルアンモニウムクロライド

(DC-5700), 2,4,4'-トリクロロ-2'-ヒドロキシジフェニルエーテル (イルガサン DP 300), サイアベンダゾール (TBZ), ドデシルグアニジン塩酸塩, 銅イオン, α -シナムアルデヒドなどが使用されている。⁶⁾ しかし, これらの分析に関する報告はほとんどなく,⁷⁾ 多種類の薬剤が使用されているため, 使用実態の把握は困難であった。著者らは使用頻度が高いと考えられる^{2,6)} DC-5700, イルガサン DP 300 及び TBZ の定性試験法を検討した。次いでこれらの定性試験で陽性であった試料についてそれぞれの薬剤の定量法を検討したので報告する。

実験方法

1. 試料 分析に供した繊維製品はいずれも「抗菌, 防臭加工」, 「衛生加工」等の表示のあるものを, 1983年7月から1984年4月に北海道内の衣料品店で購入した。実験に際しては, 1 cm² 以下に細切して, 試料とした。

2. 試薬 イルガサン DP300: チバガイギー社製 (高速液体クロマトグラフィーで単一ピークを示すことを確認した。), サイアベンダゾール: 和光純薬製 (特級), 1-オクタデセン: 和光純薬製 (特級), シリカゲルプレート: Kieselgel 60 F₂₅₄ (アルミシート, 0.2 mm 厚さ) メルク社製, 他の試薬はすべて特級を用いた。

3. 装置 ガスクロマトグラフ: 日立 GC-073 型, 水素炎イオン化検出器 (FID) 付き, 高速液体クロマトグラフ: 島津 LC-3A 型, 紫外吸収検出器 (SPD-2A) 付き, データー処理機: 島津クロマトパック C-R1B 型。

4. 測定条件 ガスクロマトグラフィー (GLC): 2% OV-1 (クロモソルブ W AW-DMCS 処理, 60-80メッシュ), 3 mm ϕ $\times$ 2 m ガラス製カラム, 試料注入口及び検出器温度 250°C, カラム恒温槽 210°C, キャリアガス 35 ml/分 (窒素ガス)。

高速液体クロマトグラフィー (HPLC): スクレオニル₅C₁₈, 4 mm ϕ $\times$ 25 cm ステンレスカラム, 移動相及び流速; アセトニトリル-テトラヒドロフラン-水 (45:15:40) 1.5 ml/分, 波長 240 nm, 温度 37°C。

5. 定性試験法 Chart 1 には, DC-5700, イルガサン DP300, TBZ の構造式を, Chart 2 には定性試験法のフローチャートを示す。すなわち, 細切した繊維 1 g をガラスカラムに充てんする。このカラムに 50 ppm のブロムフェノールブルー (BPB) 水溶液 (0.1 M NaOH を数滴加えアルカリ性とする。) 1 ml を加え, 蒸留水 5 ml で溶出する。この溶出液を数回カラムに通し完全に脱色した時, DC-5700 陽性とする。次に, 細切した繊維 1 g を 50 ml の共栓付遠心管にとり, エチルエーテル 10 ml を加え, 1 分間振とうする。エーテル層をピペットで分取し, 再度エーテル 5 ml を加えて同様に操作する。エーテル溶出液を合し, 窒素ガス気流下で約 0.1 ml に濃縮する。TLC プレートに 10 μ l をスポットし, 展開溶媒としてジクロルメタンを用いて 10 cm の高さまで展開する。TLC プレートは風乾後, 0.2% ジクロルキノнокロロイミドのエタノール溶液及び 2% Na₂B₄O₇ 水溶液 (Gibbs 試薬⁸⁾) を噴霧し, 室温下 20 分間放置してイルガサン DP300 と同じ R_f 値に青色のスポットが認められた時, イルガサン DP300 陽性とする。また, エチルエーテル溶出後の細切繊維は更にメタノールで溶出 (10 及び 5 ml) し, 同様に操作してジクロルメタン-メタノール (11:1) を展開溶媒として TLC を行う。TLC プートを風乾後, 硫酸を噴霧し,⁹⁾ 254 nm の紫外線を照射した時に TBZ と同じ R_f 値に青色の蛍光スポットが認められた場合を TBZ 陽性とする。

6. 定量試験法

DC-5700——(a) ホフマン分解¹⁰⁾法: 鈴木ら⁷⁾の方法

Chart 1. Structures of DC-5700, Irgasan DP300 and Thiabendazole (TBZ)

I) DC-5700

sample
 ↓
 packed into column
 (2φ×5 cm)
 50 ppm BPB alkaline
 solution 1 ml
 H₂O 5 ml
 ↓
 eluate is applied
 repeatedly
 ↓
 decolorization
 ↓
 positive

II) Irgasan DP300 and Thiabendazole

sample
 ↓
 eluted with ether 10 and 5 ml
 (50 ml capped tube)
 ↓
 ether layer residue
 ↓
 concentrated eluted with MeOH
 ↓
 TLC (silica gel 60) 10 and 5 ml
 developed with CH₂Cl₂ concentrated
 ↓
 Gibbs reagent ↓
 blue spot TLC (silica gel 60)
 (positive) developed with
 CH₂Cl₂-CH₃OH (11:1)
 ↓
 spraying H₂SO₄
 blue fluorescence
 (positive)

Chart 2. Procedure of Qualitative Analysis

に準じて行なう。すなわち、細切した試料 1.0 g を精秤し、100 ml のナスフラスコに入れ、ベンゼン-ジメチルスルホキシド (1:1) 混液 50 ml、カリウム-*tert*-ブトキシド 1.0 g を加え、冷却器をつけ砂浴上 30 分間加熱還流する。グラスフィルター 3G2 で温時濾過し、冷却器、フラスコ及びフィルターを 50 ml の同混液で洗う。濾液と洗液は 300 ml の分液ロートに移し、150 ml の蒸留水を加え、5 分間振とうする。有機層を分取し、水層をベンゼン 20 ml で 2 回抽出する。抽出液を合し、更に 100 ml の蒸留水で水洗後、無水硫酸ナトリウムで脱水する。グラスフィルターで濾過し、ロータリーエバポレーターで溶媒を留去する。残留物をヘキサンで溶解して 5 ml とし、その 1—5 μ l を GLC に注入する。DC-5700 の定量は上記 ホフマン分解で得られた 1-オクタデセン量を DC-5700 に換算して行なう。なお、1-オクタデセン 1 μ g は DC-5700 1.97 μ g に相当する。

(b) BPB 吸着法：細切した試料 1.0 g を精秤し、200 ml の共栓付三角フラスコに入れ、0.1% の BPB エタノール溶液 1 ml、pH 10.5 の 0.05 M リン酸緩衝液 100 ml を加え、30°C の水浴上で 120 分間振とうし、595 nm における吸光度の減少から BPB 吸着量を算出した。BPB 1 μ g は DC-5700 0.74 μ g に相当する。

イルガサン DP300 及び TBZ——細切した繊維 1.0 g を精秤し、50 ml のナスフラスコに入れ、メタノール-酢酸 (9:1) 混液 20 ml を加え、冷却器をつけて水浴上 30 分間加熱還流する。グラスフィルター 3G2 で濾過し、冷却器、フラスコ及びグラスフィルターを 50 ml のメタノールで洗い、洗液と濾液はロータリーエバポレーターで約 5 ml に濃縮する。濃縮液を 50 ml の共栓付遠心管に移し、0.1 M HCl 10 ml を加え、エチルエーテル 10 ml で 3 回抽出する。エーテル層は無水硫酸ナトリウムで脱

水後、濾過し、ロータリーエバポレーターで乾固すんぜんまで濃縮する。残留物をメタノールに溶解し、2 ml としてその 10—20 μ l を HPLC に注入し、イルガサン DP300 の定量を行う。TBZ の定量は前述したエーテル抽出後の水層を 1 N NaOH でアルカリ性とし (pH 10 以上)、同様にエチルエーテル 10 ml で 3 回抽出する。溶媒を減圧下留去後、残渣をメタノールで 0.5 ml にメスアップし、その 1—5 μ l を GLC に注入して TBZ の定量を行う。

実験結果及び考察

1. DC-5700 の分析法

定性試験で用いた BPB 50 ppm 溶液 1 ml は DC-5700 の 34 μ g に相当する。本報で試料に供した 23 の市販品中 DC-5700 加工品は 4 件あり、いずれも定性試験において陽性を示したことから、BPB 水溶液の脱色により DC-5700 の有無を判定する本法は簡便な定性試験法として有用であろうと考えられる。BPB を吸着する可能性のある他の抗菌防臭加工剤としてはドデシルグアニジン塩酸塩 (DG) が考えられるが、DG と BPB の錯体は若干溶出するため、完全な脱色は起こらない。更に DG と BPB の錯体はクロロホルム層に転溶することから、DG と DC-5700 の判別は可能と思われる。

DC-5700 の定量は鈴木ら⁷⁾によるホフマン分解法の他に定性試験で用いた BPB の吸着を利用した BPB 吸着法でも行った。Table I にはホフマン分解法と BPB 吸着法から換算された DC-5700 量を示す。鈴木ら⁷⁾によれば DC-5700 から 1-オクタデセンへの変換率と回収率は両者の総計で 86—91% と報告されている。本報では DC-5700 標品が入手出来なかったので未補正值を示した。ホフマン分解法では BPB 吸着法に比べて 3—15 倍の含有量を示している。この結果から、有機溶媒を用い

て比較的激しい条件で行うホフマン分解法は繊維全体に含有される DC-5700 量を, 一方, BPB 吸着法は水と接触しうる繊維表面における DC-5700 量を示すものと思われる。

2. イルガサン DP 300 の分析法

Gibbs 試薬を用いた定性試験の検出限界は $0.5 \mu\text{g}$ で

TABLE I. Comparison of DC-5700^{a)} Contents Determined by the Method of Hofmann Degradation with That by BPB^{b)} Adsorption Method

Sample No.	DC-5700 Content (ppm)	
	Hofmann degradation	BPB adsorption ^{c)}
1	4640 (2360)	540
2	1130 (576)	300
3	1100 (560)	347
4	3140 (1600)	214

All samples are men's socks. (): Amount of 1-octadecene.

a) 3-(Trimethoxysilyl) propyldimethyloctadecyl ammonium chloride, b) bromophenol blue. c) The residue of BPB was measured after 120 min incubation at 30°C .

あり, Table II に示すように 2 回のエーテル溶出で 15–400 μg のイルガサン DP300 の溶出が認められていることから, 溶出量の 10 分の 1 程度をスポットすることで十分に検出が可能であった。次に定量試験における試料からの抽出条件について検討した。抽出溶媒としてはメタノール, メタノール–1 M HCl (9 : 1), メタノール–酢酸

TABLE II. Elution of Irgasan DP300 from Fabrics with Ethylether by Qualitative and Quantitative Analysis

Sample No.	Irgasan DP300 detected	Amount ^{a)} (μg)
5	+++	237
6	+	15
7	+	42
8	+++	398
9	++	121
10	+	51
11	+++	288

a) Values obtained by HPLC of the eluates.

TABLE III. Extraction Efficiencies of Irgasan DP300 under Various Conditions in Determination Procedure

Solvent	Condition	Amount of Irgasan DP 300 extracted (μg)	Relative percent
Methanol	Reflux 30 min	669 ± 70	63
Methanol–1 M HCl (9 : 1)	Reflux 30 min	813 ± 85	77
Methanol–acetic acid (9 : 1)	Reflux 30 min	1055 ± 44	100
Methanol–5 % NaOH (9 : 1)	Reflux 30 min	885 ± 43	83
Methanol	Room temp. 22 h	768 ± 108	72
Methanol–1 M HCl (9 : 1)	Room temp. 22 h	706 ± 79	66
Methanol–acetic acid (9 : 1)	Room temp. 22 h	702 ± 95	66
Methanol–5 % NaOH (9 : 1)	Room temp. 22 h	580 ± 100	55

Sample is men's socks (No. 5). Values are means $\pm$ S.E. of three examinations.

TABLE IV. Extraction Efficiencies of Irgasan DP300 and TBZ with Methanol–Acetic acid (9 : 1) under Reflux 30 min

Compound	Sample No.	Extraction (μg)			Percentage of 1st ext. of total
		1 st	2 nd	3 rd	
Irgasan DP300	7	418	11	n.d.	97
	8	747	7	n.d.	99
	9	162	7	n.d.	96
	11	619	21	n.d.	97
	16	903	20	n.d.	98
TBZ	17	290	4	n.d.	99
	18	32	n.d.	n.d.	100

n. d. $< 2 \mu\text{g}$.

(9:1) 及びメタノール-5% NaOH (9:1) の4種について検討し、加熱還流30分間及び室温放置22時間の2つの条件で行った。その結果は Table III に示すようにメタノール-酢酸 (9:1) で30分間加熱還流した時が最も抽出効率が高く、この条件下での抽出率を100とすると他の条件では55-83であった。また、メタノール-酢酸 (9:1) での加熱還流が繊維中のイルガサン DP 300 をどの程度抽出しているかを検討するために、この条件下で繰り返し抽出を行った。その結果を Table IV に示す。1回目での抽出率が1-3回目の合計の96-99%を示しており、1回の抽出操作ではほぼ定量的に抽出されているものと考えられる。

3. TBZ の分析法

定性試験における TBZ の硫酸噴霧-紫外線照射による検出限界は約 $0.2 \mu\text{g}$ であり、弓削らの文献など^{1,2,6)}により TBZ 加工品と推測された2件の繊維製品ではいずれも TBZ の検出及び確認が十分に可能であった。また、エーテルによる TBZ の繊維からの溶出はほとんど認められないか、若しくは、少量であったことから、定性試験ではイルガサン DP 300 確認のためのエーテル溶出に引き続いて TBZ のメタノール溶出を行うこととした。一方、定量試験のための抽出法としては、イルガサン DP 300 と同様に、メタノール-酢酸 (9:1) を用い加熱還流を30分間行なった。この条件下における3回の繰り返し抽出の結果は Table IV に示すように、1回目での抽出量が全体の99-100%であったことから、イルガサン DP 300 と同様にほぼ定量的に抽出されているものと考えられる。

Fig. 1. Silica Gel Thin Layer Chromatograms of Irgasan DP300 and TBZ Eluted from Fabrics

Plate: silica gel 60F₂₅₄ (Merck), solvent: a) dichloromethane, b) dichloromethane-methanol (11:1), Irgasan DP300: blue spot (Gibbs reagent), TBZ: blue spot (sulfuric acid, UV 254 nm).

4. 市販繊維製品中の抗菌防臭加工剤

Fig. 1 には市販品から定性試験によって検出されたイルガサン DP 300 及び TBZ のシリカゲル薄層クロマトグラムを、また、Fig. 2, 3 及び 4 には市販品中の DC-5700 からホフマン分解によって得られた 1-オクタデセンのガスクロマトグラムと市販品から検出されたイルガサン DP 300 の高速液体クロマトグラム及び TBZ のガスクロマトグラムを示す。また、Table V には今回分析に供した23の試料のうち、イルガサン DP 300 及び TBZ 陽性試料の定量値を、Table VI には全試料における DC-5700, イルガサン DP 300 及び TBZ の使用頻度を

Fig. 2. Gas-Liquid Chromatogram of 1-Octadecene Formed by Hofmann Degradation of DC-5700 in Fabrics

GLC conditions: 2% OV-1 on Chromosorb W (AW-DMCS, 60-80 mesh) in a 3 mm i.d. $\times$ 2 m glass column, column temperature: 210°C , injector and detector temperature: 250°C , carrier gas: N_2 35 ml/min.

Fig. 3. High Performance Liquid Chromatogram of Irgasan DP300 Extracted from Fabrics

HPLC conditions: Nucleosil C_{18} in a 4 mm i.d. $\times$ 25 cm stainless column, mobile phase: acetonitrile-tetrahydrofuran-water (45:15:40), flow rate: 1.5 ml/min.

Fig. 4. Gas-Liquid Chromatogram of TBZ
Extracted from Fabrics

GLC conditions: see Fig. 2.

示した。その結果、イルガサン DP 300 の使用頻度が最も高く、その定量値は 251—5890 ppm を示した。TBZ は 2 例にのみ認められ、その定量値は 290 及び 32 ppm であった。また、DC-5700 は先に Table I に示したように 4 例に認められ、ホフマン分解法では 1100—4640 ppm 検出された。

現在、多種類の薬剤が繊維製品の抗菌防臭加工の目的で使用されているが、本報で取り上げた 3 種の薬剤 (DC-5700, イルガサン DP 300 及び TBZ) は今回実験に供した 23 の試料中合計 78% の使用頻度を示したことから、この 3 種の薬剤が市場における抗菌防臭加工製品に使用されている薬剤のかかなりの部分を占めるものと考えられる。また、小若ら²⁾ の総説などにより、メーカー名から使用されている薬剤を推定することもある程度は可能であるが、1 社で数種の薬剤を製品の素材により使い分けしている例も見受けられることから、簡便な定性試験の確立は必要と考えられる。この様に、多種の薬剤が使用量の規制もないままに使用されている現状は安全性の面から考えると大きな問題と言えるであろう。今後はこれら

TABLE V. Determination of Irgasan DP300 and Thiabendazole (TBZ) in Fabrics

Sample No.	List of articles	Content (ppm)	
		Irgasan DP-300 ^{a)}	TBZ ^{b)}
5	Men's socks	1010	n.d.
6	Men's socks	1367	n.d.
7	Men's socks	447	n.d.
8	Men's undershirt	747	n.d.
9	Men's underpants	251	n.d.
10	Slip	463	n.d.
11	Wash mat (yarn)	330	n.d.
	Wash mat (base)	830	n.d.
12	Men's undershirt	550	n.d.
13	Men's socks	5050	n.d.
14	Men's socks	5890	n.d.
15	Men's socks	610	n.d.
16	Men's socks	890	n.d.
17	Men's socks	n.d.	290
18	Men's socks	n.d.	32

a) n.d. < 5 ppm, b) n.d. < 2 ppm.

TABLE VI. Frequency of DC-5700, Irgasan DP300 and TBZ Detected in Fabrics

Compounds	Frequency (percent)	
DC-5700	4/23	(17)
Irgasan DP300	12/23	(52)
TBZ	2/23	(9)
Others	5/23	(22)

抗菌防臭加工剤の安定性及び安全性についても検討を加えたい。

謝辞 本研究にあたり御助力頂いた国立衛生試験所療品部長中村晃忠博士に深謝致します。

文 献

- 弓削 治, 染色工業, **30**, 478 (1982).
- 小若順一, 技術と人間, **12**, 96 (1983).
- 厚生省 環境衛生局 企画課 家庭用品 安全対策室編, “家庭用品規制関係実務便覧,” 第一法規出版, 東京 (1975).
- 永松国助, 日本薬学会第97年々会, 東京, 1977年 4 月.
- B.D. Pate, R.L. Hays, *J. Econ. Entomol.*, **61**, 32 (1968).
- 弓削 治, 繊維科学, 8 月号, 18 (1983).
- 鈴木助治, 森 謙一郎, 雨宮 敬, 水石和子, 菅原武敏, 日本薬学会第104年々会, 仙台, 1984年 3 月.
- J. Sherma, G. Zweig, “Paper Chromatography and Electrophoresis,” Vol. II, Academic Press, 1971, p. 312.
- 外海泰秀, 佐野裕子, 伊藤誉志男, 慶田雅洋, 食衛誌, **16**, 397 (1975).
- A.C. Cope, E.R. Trumbull, *Org. React.*, **11**, 317 (1960).