〔衛 生 化 学〕
EISEI KAGAKU
34 (3) 225-230 (1988)

ガスクロマトグラフィーによる繊維製品中の衛生加工剤・塩酸 *n*-ドデシルグアニジンの定量

鈴木助治, 酒井正美, 森 謙一郎, 中村義昭, 渡辺四男也

東京都立衛生研究所

Gas Chromatographic Analysis of *n*-Dodecylguanidin Hydrochloride Used as Sanitary Finishing Agent in Fabrics

SUKEJI SUZUKI, MASAMI SAKAI, KEN'ICHIRO MORI,

YOSHIAKI NAKAMURA and YOHYA WATANABE

Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health, 24-1,

Hyakunincho 3-chome, Shinjuku-ku, Tokyo 160, Japan

(Received November 24, 1987)

A gas chromatographic method was developed for the determination of *n*-dodecylguanidine hydrochloride used as a sanitary finishing agent in fabrics.

The analytical procedure is as follows: the fabrics were refluxed in 80% methanol solution containing 0.5% of sodium hydroxide for 1 h. The mixture was filtered and the filtrate was made up to 50 ml with methanol. The *n*-dodecylguanidine was obtained from an aliquot of the sample solution by extraction with chloroform under alkaline conditions and then derivatized to 2-*n*-dodecylamino-4,6-dimethylpyrimidine by refluxing with acetylacetone for 1 h in toluene. The reaction mixture was evaporated to dryness under reduced pressure. The residue was dissolved in ethanol. The pyrimidine derivative was measured by gas chromatography with a column of 5% diethyleneglycol succinate on Chromosorb W AW.

This method was applied to the determination of *n*-dodecylguanidine hydrochloride in commercial men's socks and other textile products.

Keywords—dodecylguanidine hydrochloride; sanitary finishing agent; antimicrobial agent; fabrics; GC; acetylacetone

緒 言

最近, くつ下, タオル, 肌着, 下着等の繊維製品に抗菌防臭を目的にして衛生加工処理を施したものが多く市販されている.¹⁾ 従来, このような衛生加工剤としては, 有機水銀化合物, トリフェニルスズ化合物, トリブチルスズ化合物が使用されていたが, それらの毒性は強く, 人体への影響が懸念されることから昭和49年以降「有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律」によりいずれも使用が禁止された.²⁾ 現在では, その代替品として有機シリコン系第四アンモニウム塩, イルガサンDP-300, チアベンダゾール, 塩酸 *n*-ドデシルグアニジン,³⁾ α -ブロムシンナムアルデヒド等多くの抗菌防臭剤が使われており, これらは前述の有機金属化合物に比較して安全性の高いものとされている.⁴⁾ しかし, 東京都

生活文化局の衣料用処理剤の皮膚障害に関する調査において, 中山らは塩酸 *n*-ドデシルグアニジン (DDG) を主成分とする衣料用処理剤, バイオチェック 60 がパッチテストの結果, 接触アレルギー様の皮膚障害を起こすことを報告している.⁵⁾ その原因はグアニジノ基を有する化学物質の感作によるとしており, 特にバイオチェック 60 に含有される DDG を可能性の高い原因物質の1つとして挙げている. 一方, 市販繊維製品中の有機シリコン系第四アンモニウム塩, イルガサン DP-300 やチアベンダゾールについては, すでに著者ら⁶⁻⁸⁾ 及び兼俊ら⁹⁾ によって使用の実態調査が行われているが, DDG に関しては, 市販繊維製品における使用実態は全く不明である. また, DDG の分析法については, 果樹の病害用殺菌剤として使われている酢酸 *n*-ドデシルグアニジ

ン (dodine) に関して比色分析法,^{10,11)} ガスクロマトグラフィー法^{12,13)} が報告されているが、繊維製品中の DDG の分析法については報告が見当たらない。そこで、著者らは DDG をアセチルアセトンと反応させ、水素炎イオン化検出器付ガスクロマトグラフィーで測定する定量法を検討した。また、繊維製品からの DDG の抽出条件を検討し、併せて若干の市販繊維製品中の DDG 含有量を測定したので報告する。

実験方法

1. 試料 1986年7月から1987年5月までの間に東京都内の衣料品店より「抗菌防臭加工」,「衛生加工」等の表示のあるくつ下10検体及びそのような表示のないくつ下, 足袋, 下着, 肌着等 40 検体を購入して試料とした。

2. 試薬 アセチルアセトン: 和光純薬製 (特級), 薄層板: Kieselgel 60 F₂₅₄ プレート (厚さ, 0.25 mm), メルク社製; Aluminium oxide 60 F₂₅₄ プレート (Type E, 厚さ, 0.25 mm), メルク社製, シリカゲル: Kieselgel 60 (70—230メッシュ), メルク社製, アルミナ: Alumina Woelm B (活性度 I), ウェルム社製。

塩酸 *n*-ドデシルグアニジン——無水エタノール中 1-アミノドデカンと硫酸 *s*-メチルイソチオ尿素を反応させ硫酸 *n*-ドデシルグアニジンを合成した。¹⁴⁾ これをクロロホルムに溶解し, 2%水酸化ナトリウム溶液を加えて振り混ぜ, クロロホルム層を分取, 濃縮乾固して遊離の *n*-ドデシルグアニジンを得, 更に, これを塩酸で処理して塩酸塩としたのち, シリカゲルカラムクロマトグラフィーに付して *n*-プロパノールで溶出し, メタノール-ジエチルエーテルより再結晶して mp 55—57°C の DDG を得た (収率 67%)。本合成品は北興化学工業製の標品と混融の結果, 融点の降下は見られず, 薄層クロマトグラフィー (TLC) 及び核磁気共鳴スペクトル (NMR) のデータ¹⁵⁾ についても一致することが確認されたので, 以下本実験の標準品として用いた。

その他の試薬は市販の特級品を用いた。

3. 装置 水素炎イオン化検出器付ガスクロマトグラフ (FID-GC): 島津製作所製 GC-4CM 型, ガスクロマトグラフ-質量分析計 (GC-MS): HEWLETT PACKARD 5710 A 型-日本電子社製 JMS-D 300 型, 核磁気共鳴装置: 日本電子社製 JEOLFX-270 型, ¹H 269.65 MHz (¹H-NMR), ¹³C 67.8 MHz (¹³C-NMR)。

4. 測定条件 FID-GC——カラム: 5% diethyleneglycol succinate (クロモソルブ W AW, 60—80メッシュ), 3 mm i.d.×1 m ガラス製, カラム温度: 180°C, 試料注入口及び検出器温度: 250°C, キャリヤー

ガス: N₂ 40 ml/min.

GC-MS——カラム: 2% OV-17 (クロモソルブ W AW DMCS, 80—100メッシュ), 2 mm i.d.×0.5 m ガラス製, カラム温度: 150—250°C (8°C/min), 注入口温度: 250°C, キャリヤーガス: He 20 ml/min, イオン化電圧: 70 eV, イオン化電流: 300 μA, イオン加速電圧: 3.0 kV, イオン源及びセパレーター温度: 250°C。

NMR——試料を重クロロホルム (CDCl₃) 及び重メタノール (CD₃OD) に溶解し, 綿栓ろ過後, テトラメチルシランを内部標準物質として測定し, 化学シフト (δ) を求めた。

5. 定量法 試料を細切し, その約 1 g を正確に量り採って 100 ml のナス型フラスコに入れる。これに 0.5%の水酸化ナトリウムを含有する 80% メタノール溶液 30 ml を加え, 還流冷却器を付け, 水浴上 1 時間加熱還流して DDG の抽出を行う。ガラスろ過器を用いて抽出液を温めろ過し, ろ液にメタノールを加えて全量 50 ml とする。

この一定量 (5—10 ml) を 50 ml の共栓付遠沈管にとり, クロロホルム 20 ml, 2%水酸化ナトリウム溶液 10 ml を加えて 5 分間振とう後, 10 分間遠心分離 (3000 rpm) を行って上層を除去する。更に 2%水酸化ナトリウム溶液 10 ml, 水 10 ml で順次同様に処理して上層を除去後, クロロホルム層はロータリーエバポレーターを用いて濃縮乾固, 遊離のドデシルグアニジンを得る。これにトルエン 20 ml, アセチルアセトン 50 μl を加え, 還流冷却管を付けて砂浴上で 1 時間加熱還流する。反応後, ロータリーエバポレーターで溶媒を留去し, 残留物をエタノールに溶かして 5 ml とする。その 5 μl を GC に注入する。ガスクロマトグラム上の 2-*n*-ドデシルアミノ-4,6-ジメチルピリミジンのピーク高を測定し, あらかじめ標準液を用いて作成した検量線より試料中の DDG の含有量を求める。

結果及び考察

1. 繊維製品中の DDG の確認

n-ドデシルグアニジンは塩酸塩, 硫酸塩, 酢酸塩, リン酸塩など各種の塩が抗菌剤^{16,17)} として用いられている。そこで, 市販の繊維製品に含有されている *n*-ドデシルグアニジンの塩類の確認を行った。試料 (男性用くつ下) をメタノールで加熱抽出し, 抽出物をアルミナカラムクロマトグラフィーに付し, クロロホルム-メタノール (10:1) で洗浄して夾雑物を除去後, メタノールで溶出した。メタノール画分は坂口反応¹⁸⁾ で赤色を呈し, グアニジノ化合物による陽性反応を示したので, この画分について Fig. 1 に示す条件で TLC を行った。

Fig. 1. Thin-Layer Chromatograms of *n*-Dodecylguanidine Hydrochloride Extracted from Fabrics

Plate: a) Kiesel-gel 60 F₂₅₄ precoated plate (Merck); b) Aluminium oxide 60 F₂₅₄ precoated plate, developing solvent: a) *n*-propanol; b) methanol, detection: (●), Dragendorff's reagent; (○), UV 254 nm, sample: A, extract from men's socks (material: cotton 75%, nylon, polyurethane); B, *n*-dodecylguanidine hydrochloride; C, *n*-dodecylguanidine acetate; D, *n*-dodecylguanidine sulfate.

その結果、シリカゲルプレート（展開溶媒：*n*-プロパノール）では R_f 0.69, また、アルミナプレート（展開溶媒：メタノール）では R_f 0.51 に橙色のスポットが認められ、いずれも塩酸塩の R_f 値と一致した。したがって、市販のくつ下には *n*-ドデシルグアニジンの塩酸塩が使用されていることが確認された。したがって、*n*-ドデシルグアニジンは繊維製品中では、その大部分が DDG の形で存在していることが考えられる。

2. DDG の抽出条件

DDG はジエチルエーテル、クロロホルム、酢酸エチル、アセトン等の有機溶媒に難溶である。エタノールにはやや溶けにくい、メタノールや水にはよく溶解する。そのため、抽出溶媒として水-メタノールの混合溶媒を用いてくつ下からの DDG の抽出条件を検討した。Fig. 2 に示すように、中性条件としてメタノール、80% メタノール溶液、酸性条件として 0.5% の塩酸を含有する 80% メタノール溶液、塩基性条件として 0.5% の水酸化ナトリウムを含有する 80% メタノール溶液を用いて加熱抽出を行ったところ、中性条件（A, B）は繊維からの抽出率がわるく、酸性及び塩基性条件（C, D）では中性条件より抽出率が約 3 倍よいことがわかった。酸性及び塩基性条件では、抽出率に差は認められなかったが、誘導化反応において、水酸化ナトリウムで DDG を遊離化する必要から塩基性条件による抽出を検討した。

そこで、Fig. 3 に示すように、抽出に及ぼす水酸化ナトリウムの濃度の影響を調べたところ、0.4% 以上の濃度で抽出率が一定となったので、繊維製品からの DDG の抽出条件を 0.5% の水酸化ナトリウムを含有する 80% メタノール溶液で行うことにした。この条件下でくつ下に対して 3 回繰り返し抽出を行ったが、2 回目以降は DDG が検出されず、1 回の抽出で十分であった。

3. 反応生成物の確認

DDG を水酸化ナトリウムで遊離化し、トルエン中アセチルアセトンと反応させ、生成物を単離したのち、GC-MS 及び NMR を測定した。Fig. 4 に示すように、MS は m/z 291 に分子イオンピークが観測され、 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) [δ : 0.88 (3H, t, $J=6.4$ Hz), 1.2–1.6 (20H), 2.27 (6H, s), 3.39 (2H, td, $J=5.7$ Hz), 4.96 (1H, br), 6.27 (1H, s)] 及び $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) [δ : 14.1 (q), 22.7 (t), 23.9 (q) $\times 2$, 27.0 (t), 29.4 (t) $\times 3$, 29.6 (t) $\times 3$, 29.8 (t), 31.9 (t), 41.3 (t), 109.4 (d), 162.5 (s), 167.3 (s) $\times 2$] のデータから、DDG は dodine¹²⁾ の場合と同様にグアニジノ基とアセチルアセトンが反応してピリミジン環を形成し、2-*n*-ドデシルアミノ-4,6-ジメチルピリミジンを生成することが確認された。

4. 反応条件の検討

本反応において、ピリミジン誘導体の生成に及ぼす反応温度、アセチルアセトンの添加量及び反応時間の影響

Fig. 2. Extraction Efficiency of *n*-Dodecylguanidine Hydrochloride with Various Solvent Systems from Fabrics

Sample: men's socks (material: cotton 75%, nylon, polyurethane), solvents: A, CH₃OH; B, 80% CH₃OH; C, 0.5% HCl in 80% CH₃OH; D, 0.5% NaOH in 80% CH₃OH. Procedure: sample (1g) was extracted with 30 ml of each solvent of A–D under reflux for 1 h. About 10 ml of 2% NaOH was added to the extract. *n*-Dodecylguanidine was obtained by extraction with chloroform and derivatized to 2-*n*-dodecylamino-4,6-dimethylpyrimidine by refluxing with 50 μ l of acetylacetone for 1 h in toluene. The pyrimidine derivative was measured by gas chromatography. The detection limit was about 0.1 mg/g.

について検討した。その結果は Fig. 5 の(A), (B)及び(C)に示す通りである。したがって、反応はアセチルアセトン 50 μ l を加え、砂浴 (約120°C) 上、60分間加熱還流して行うことにした。

Fig. 3. Effect of NaOH Concentrations on Extraction of *n*-Dodecylguanidine Hydrochloride from Fabrics

Sample: men's socks (material: cotton 75%, nylon, polyurethane), detection: the procedure was the same as those in Fig. 3.

5. 検量線と添加回収

DDG を水酸化ナトリウムで遊離化したのち、定量法にしたがって操作し GC で測定したところ、ガスクロマトグラム上にピリミジン誘導体のピークを与え、ピーク高比法によって作成した検量線は、DDG が 0.04–0.4 mg/ml の範囲において良好な直線性を示した。DDG の検出限界は約 0.1 mg/g であった。

木綿布 (サラシ布) に DDG のメタノール溶液を加え

Fig. 4. Mass Spectrum of 2-*n*-Dodecylamino-4,6-dimethylpyrimidine from *n*-Dodecylguanidine Hydrochloride

Operating conditions—column: 2% OV-17 (Chromosorb W AW DMCS, 80–100 mesh); 2 mm i.d. $\times$ 0.5 m, column temperature: 150–250°C, carrier gas: He 20 ml/min, ionization voltage: 70 eV, ionization current: 300 μ A, acceleration voltage: 3.0 kV, ion source and separation temperature: 250°C.

Fig. 5. Effect of Reaction Temperature(A), Amount of Acetylacetone(B) and Reaction Time(C) on the Formation of 2-*n*-Dodecylamino-4,6-dimethylpyrimidine

Sample: *n*-dodecylguanidine hydrochloride (2 mg), reaction conditions: (A) reaction time, 60 min; acetylacetone, 50 μl, (B) reaction time, 60 min; reaction temperature, 120°C, (C) reaction temperature, 120°C; acetylacetone, 50 μl.

TABLE I. Recoveries of *n*-Dodecylguanidine Hydrochloride from Cotton Fabrics

Sample	Added (mg)	Ave. recoveries ²⁾ (%)	C.V. (%)
Cotton fabrics ¹⁾	3.0	97.9	4.2
	5.0	98.6	3.7
	7.0	91.6	3.9

1) Diaper: 1 g. 2) Average of 5 experiments.

て含浸させ、12時間以上風乾したものをを用いて添加回収実験を行った。Table I に示すように、回収率は添加量が 3 mg で 97.9%, 5 mg で 98.6%, 7 mg で 91.6% であり、木綿布からは定量的に回収できることがわかった。また、ナイロン、ポリエステル、アクリル、ポリウレタンを材質とする繊維製品についても、同様に添加回収実験を行ったところ、DDG はいずれもほぼ定量的に回収された。

6. 市販衣料品の分析結果

「抗菌防臭加工」, 「衛生加工」の表示のある市販の男性用くつ下10検体について、本法を適用した。その結果、2検体より DDG が検出された。それらは同一メーカーの製品であり、DDG の含有量は1.2%及び1.4%

であった。くつ下の足底部や甲の部分など各部位の含有量を測定したが、大きな差はなく、ほぼ均一に含有していた。なお、DDG はくつ下以外にタオルや下着にその使用が考えられるが、「抗菌防臭加工」等の表示のない下着類を含めて、40検体の衣料品について分析を行ったところ、いずれも検出されなかった。また、これらの分析においてガスクロマトグラム上 DDG のピリミジン誘導体のピークに対する妨害は認められなかった。

以上の検討結果から、本法は繊維製品に抗菌防臭加工された DDG の定量法として適用できることがわかった。また、有機シリコン系第四アンモニウム塩、イルガサン DP-300 やチアペンダゾールの分析値^{8,9)}と比較すると、繊維製品中の DDG は高濃度に使用されており、接触アレルギーの原因物質として考えたとき、感作を起こしうる十分な濃度を含有していることがわかった。

謝辞 塩酸 *n*-ドデシルグアニジンの標品を供与して頂きました北海道立衛生研究所兼俊明夫氏に深謝致します。

引用文献

- 1) 小若順一, 技術と人間, 12, 96 (1983).
- 2) 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.
- 3) “Jpn. Kokai Tokkyo Koho,” JP 81148969 [Chem. Abstr., 96, 70395 p (1982)].
- 4) 日本防菌防黴学会編, “防菌防黴ハンドブック,” 技報堂出版, 東京, 1986.
- 5) 東京都生活文化局消費部編, “日用品成分による皮膚障害の研究,” 東京, 1985.
- 6) 雨宮 敬, 酒井正美, 森謙一郎, 鈴木助治, 風間成孔, 東京衛研年報, 35, 133 (1984).
- 7) 雨宮 敬, 酒井正美, 池田一夫, 森謙一郎, 鈴木助治, 渡辺四男也, 東京衛研年報, 36, 123 (1985).
- 8) S. Suzuki, K. Mori, T. Amemiya, Y. Watanabe, J. Chromatogr., 387, 379 (1987).
- 9) 兼俊明夫, 小川 廣, 姉帯正樹, 桂 英二, 金島弘恭, 衛生化学, 31, 245 (1985).
- 10) W.A. Steller, K. Klostas, E.J. Kuchar, M.V. Norris, J. Agric. Food Chem., 8, 460 (1960).

- 11) *Chem. Abstr.*, **96**, 160934 (1982).
- 12) W.H. Newsome, *J. Agric. Food Chem.*, **24**, 997 (1976).
- 13) J. Hajslova, Z. Rathouska, J. Davidek, *J. Chromatogr.*, **384**, 437 (1985).
- 14) *Chem., Abstr.*, **49**, 8019 e (1955).
- 15) ^1H -NMR (CD_3OD) δ : 0.89 (3 H, t, $J=6.8$ Hz), 1.1—1.6 (20 H), 3.14 (2 H, t, $J=7.8$ Hz), ^{13}C -NMR (CD_3OD) δ : 14.4(q), 23.7(t), 27.7(t), 29.9(t), 30.3(t), 30.4(t), 30.6(t), 30.7(t), 33.0(t), 42.5(t), 158.6(s).
- 16) R.J.W. Byrde, D.R. Clifford, D. Woodcock, *Ann. Appl. Biol.*, **50**, 291 (1962).
- 17) *Chem. Abstr.*, **54**, 25540 e (1960).
- 18) 日本薬学会編, “衛生試験法・注解,” 金原出版, 東京, 1980, p.159.