院内使用乳幼児衣類中遊離ホルムアルデヒドの 薄層クロマトグラフィーによる分析

森田多賀史, 岡本光美, 二村昭辰, 後藤滋夫, 玉置誠吾,*¹ 大前直之*²

岐阜県立多治見病院薬剤部*¹

岐阜県立岐阜病院薬剤部*²

Determination of Free Formaldehyde in Children's Clothes in Hospital by Thin-layer Chromatographic Plates

TAKASHI MORITA, MITSUYOSHI OKAMOTO, AKIYOSHI FUTAMURA,
SHIGEO GOTO, SEIGO TAMAOKI,*¹ and NAOYUKI OHMAE*²

Department of Pharmacy, Gifu Prefectural Tajimi Hospital*¹

Department of Pharmacy, Gifu Prefectural Gifu Hospital*²

(Received January 6, 1987)

A thin-layer chromatographic method for the determination of an amount of free formaldehyde in children's clothing using the plates treated with 3-aminopropyltriethoxysilane is described. By elution with benzene-methanol (25:1 v/v) on a silica gel TLC plate treated with 3-aminopropyl groups, the formaldehyde and low-molecular weight aldehyde as their lutidine derivatives were separated. By this method, the amount of formaldehyde was determined within 4.76% error in the range of 0.02–1.0 μg and 0.05–6.0 μg in 1 ml of aqueous solution by using a fluorescence spectrophotometer and a visible spectrophotometer, respectively, and the limit of detection was 0.4 ng.

Keywords—formaldehyde; free formaldehyde in children's clothing; formaldehyde lutidine derivative; formaldehyde determination; 3-aminopropyltriethoxysilane treated thin-layer chromatographic plate; chemically bonded phase

緒 言

近年、製品の品質が向上した結果、家庭用品の性能もめざましく向上し、各種の化学物質が繊維製品等に使用され、防しわ性、防かび性、難燃性などの優れた性質が付与された。反面、化学物質による健康被害が社会問題となった。このような事態に対処し、保健衛生の面から安心して使用できることを目的として「有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律」が成立し、有害物質含有家庭用品規制行政が踏み出されている¹⁾。

その中で、衣類による湿疹、かぶれ、目に対する刺激などの主要な原因の一つに、衣類処理剤として用いられ

ているホルムアルデヒド (HCHO) があげられる。先に岡本は、衣類中の遊離 HCHO 測定に関し、Nash²⁾ および小嶋ら³⁾ の方法で HCHO をルチジン誘導体とし、アミノ処理充填剤である 3-aminopropyltriethoxysilane (3APTS) 処理シリカゲルカラムを用いる高速液体クロマトグラフィーによる衣類中の遊離 HCHO の微量分析方法を報告した⁴⁾。一方、多数の試料検体を同時分析するのに薄層クロマトグラフィー (TLC) は簡易な有効手段と考えられる。そこで著者らは、3APTS 処理高性能 (HP) TLC を用いて、当病院で使用されている繊維製品を対象に使用実態調査を行った。併せて簡易な精度を上げる試験方法の検討も行った。

実験方法

1. 試料

実験に供した試料は当院未熟児センターで使用してい

*¹ 岐阜県多治見市前畑町 5-161; 5-161, Maehata-cho, Tajimi-shi, Gifu, 507 Japan

*² 岐阜市野一色 4 丁目 6-1; 6-1, Noishiki 4-chome, Gifu-shi, 500 Japan

る, おしめ, おしめカバー, 座着, 一つ身きもの, おく
るみ, 下着, 寝衣等々を無作為に選んだ (Table 1).

2. 試薬及び試液

ホルマリン (約37%のHCHO含有), アセトアルデ
ヒド, プロピオンアルデヒド, n-ブチルアルデヒド, n-
パレルアルデヒド, n-カプロンアルデヒド, n-ヘプチル
アルデヒド, アセチルアセトン (AA), 及びクロロホル
ムは和光純薬 (試薬特級), また, ヘキサン及びエタノール
(99.5%) は和光純薬 (液体クロマトグラフ用) を使用
した. HCHO および低級脂肪族アルデヒドのそれぞ
れのルチジン誘導体については Table 2 に示したもの
を標品として使用した⁶⁾. 内部標準含有クロロホルム:
クロロホルム 1ml 中にプロピオンアルデヒド-ルチジン
誘導体の 30 μ g 含有するように調整した.

AA 試液: 省令¹⁾ に規定されたものを用いた. その他の
試薬及び試液は特級品をそのまま使用した.

3. 3APTS 処理 HPTLC プレートの作成

Silica gel 60 precoated plate (Merck, Art 5628,
10 $\times$ 10cm) の4枚を, 前報⁸⁻⁹⁾を準用して作成した.

4. HCHO 原液の標定

特級ホルマリン (約37%のHCHO含有) 約1gをあら
かじめ水を入れた秤量びん中に精秤し, 水で100mlに
希釈した後, ヨウ素法¹⁾により標定した.

5. 装置および器具

HPTLC 測定は島津 C-R1A クロマトパックを装備し
た島津 2 波長クロマトスキャナ CS-910 型を用いて行っ
た.

6. HPTLC 条件

ベンゼン-メタノール (25:1 v/v) で展開したプレ

ートは, 溶媒を十分に揮散させたのち, 励起波長 (λ_{EX})
410nm, 蛍光波長 (λ_{EM}) 486nm の条件で蛍光強度を,
また 406nm の条件で吸光度を測定した.

7. HCHO 抽出

省令¹⁾ に従って細切した試料 (衣類) 2.50g を 200ml
の共栓三角フラスコに精秤し, 水 100ml を正確に加え
て密栓し, 40 $^{\circ}$ C の水浴上で60分間, 時々振り混ぜなが
ら浸漬する. その後, ガラスフィルター (JIS G-2) で
温時ろ過して得たる液を試料溶液とする.

8. 定 量

試料溶液 5ml を 20ml の共栓試験管にとり AA 試液
5ml を加えて振り混ぜ 40 $^{\circ}$ C の水浴中で30分間加温し,
急冷操作まで省令¹⁾ に従って行った後, 内部標準含有ク
ロロホルム 5ml で抽出する. 必要ならば遠心分離した
後, 長い針を取り付けた注射器で下層を抜き取り, クロ
ロホルム層を無水硫酸ナトリウム少量を加えて脱水し,
その一定量 (10 $\sim$ 20 μ l) を HPTLC で測定する.

Table 1. Free Formaldehyde (HCHO)
Contents in Children's Clothes

Samples	HCHO found (ppm)	Material
A	0.08	Cotton
B	0.04	Cotton
C	0.01	Rayon
D	0.02	Rayon
E	0.04	Cotton
F	0.44	Paper
G	0.23	Paper

Table 2. Preparation of HCHO-AA and Other Lutidine Derivatives of Aldehydes

Parent Compound	m. p. ($^{\circ}$ C)	Formula	Analysis: Calc. (Found) (%)		
			C	H	N
HCHO	200—204	C ₁₁ H ₁₆ NO ₂ (HCHO-AA)	68.35 (68.02)	7.83 (7.85)	7.25 (6.97)
CH ₃ CHO	157—159	C ₁₂ H ₁₇ NO ₂	69.53 (69.47)	8.27 (8.51)	6.76 (6.73)
CH ₃ CH ₂ CHO	162—164	C ₁₃ H ₁₈ NO ₂	70.54 (70.42)	8.66 (8.82)	6.33 (6.37)
CH ₃ (CH ₂) ₂ CHO	130—132	C ₁₄ H ₂₁ NO ₂	71.44 (71.69)	9.00 (9.25)	5.96 (6.14)
CH ₃ (CH ₂) ₃ CHO	110—113	C ₁₅ H ₂₃ NO ₂	72.24 (72.12)	9.30 (9.25)	5.62 (5.40)
CH ₃ (CH ₂) ₄ CHO	120—122	C ₁₆ H ₂₅ NO ₂	72.95 (72.76)	9.57 (9.86)	5.32 (5.16)
CH ₃ (CH ₂) ₅ CHO	141—143.5	C ₁₇ H ₂₇ NO ₂	73.60 (73.80)	9.82 (10.01)	5.05 (5.01)

結果及び考察

1. 蛍光強度及び吸光度の測定

HCHO-AA 標品を実験方法6の条件下、展開後、励起、蛍光スペクトル及び可視部吸収スペクトルを測定した結果、最大励起波長 (EX $\lambda_{\max}$), 最大蛍光波長 (EM $\lambda_{\max}$) 及び最大吸収波長 ($\lambda_{\max}$) は、それぞれ 410nm, 486nm 及び 406nm であった。したがって、測定はこれらの波長を用いることにした。

2. HCHO-AA 抽出溶媒の検討

HCHO-AA はジクロロメタン、クロロホルム及び酢酸エチルなどの有機溶媒で容易に抽出可能であった。これらの有機溶媒のうち、水層との分離が良好なこと、有機溶媒層が下層にくることからクロロホルムを抽出溶媒として選んだ。Table 3 は HCHO 5 $\mu\text{g/ml}$ の抽出効果の結果である。

3. 展開溶媒の検討

HCHO-AA 及び低級脂肪族アルデヒドの、それぞれのルチジン誘導体のクロマト挙動を 3APTS 処理 HPTLC プレートを使用して、ヘキサン-メタノール系、ヘキサン-エタノール系、ベンゼン-メタノール系及びベンゼン-エタノール系で検討した⁵⁾。その結果、展開溶媒はベンゼン-メタノール系を使用することとした。この場合のベンゼン中メタノール含量と R_f 値の関係を Fig. 1 に示した。また、未処理 HPTLC プレート上の HCHO-AA 及び低級脂肪族アルデヒドのそれぞれのルチジン誘導体のクロマト挙動についても同様に検討し Fig. 2 に示した。Fig. 1 からみられるように、3APTS 処理 HPTLC プレートは、検討した各条件下で若干 R_f 値は変化するものの、ほぼ同一の分離能を示した。このことは 3APTS 処理 HPTLC プレートが溶離液条件、活性化条件にあまり左右されず、取扱いの容易さを示唆しているものと思われる。

Fig. 1. Relationship of R_f vs. Concentration of Methanol in Benzene on the 3APTS Treated Plate

1 : formaldehyde, 2 : acetaldehyde,
3 : propionaldehyde, 4 : n-butyraldehyde,
5 : n-valeraldehyde, 6 : n-capronaldehyde,
7 : n-heptylaldehyde

4. 検量線

HCHO-AA の検量線を定量条件下で作成した。その結果、蛍光検出器を用いた場合 0.02~1.0 $\mu\text{g/ml}$ の範囲で、また可視部吸収検出器を用いた場合 0.05~6.0 $\mu\text{g/ml}$

Table 3. Effect of Extracting Solvents on the HCHO-AA

Solvents	Absorbance at 410 nm	Recovery (%)
Chloroform	0.555	100.0
Carbon Tetrachloride	0.020	3.6
Dichloromethane	0.347	62.5
Ethyl Acetate	0.509	91.7
Hexane	0.000	0.0
Xylene	0.069	12.4
Benzene	0.169	30.5
Ethyl Ether	0.157	28.3

Fig. 2. Relationship of Rf vs. Concentration Methanol in Benzene on the Non Treated Plate
The numbers refer to the compounds in Fig.1.

の範囲で直線性が得られた。

5. 定量精度の検討

HCHO-AA 1.0 μ g/ml の定量精度について、3APTS 処理 HPTLC プレート及び未処理 HPTLC プレートを用い、それぞれ定量条件下で検討した。その結果、CV% 値 (n=9) は、前者が 4.76%、後者が 9.91% であった。後者の CV% 値が前者に比較して劣るのは大

森⁹⁾、原ら¹⁰⁾が報告している相対湿度の影響を強く受けたものと考えられた。一方、前者についてはプレート表面がアミノ基で処理してあるため、活性化等による相対湿度にそれほど影響されなかったであろうと考えられた。

6. 院内使用乳幼児衣類中遊離 HCHO の定量

院内使用乳幼児衣類について、本法の応用結果の一部を Table 1 に併記した。

以上のように、衣類中の遊離 HCHO を 3APTS 処理 HPTLC で定量するための分析方法を検討した。HCHO を水溶液中で AA と反応させ、HCHO-AA とし HPTLC で同定した。本法は多数の検体を同時分析できるので簡易で有効な手段と考えられた。また低級脂肪酸アルデヒドとの分離も容易なので、HCHO の確認、同定法としても利用できるものと思われた。

引 用 文 献

- 1) 厚生省第34号 (有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律施行規則), 昭和49年9月26日
- 2) T.Nash: Biochem. J., 55, 416 (1953).
- 3) 小嶋茂雄, 大場琢磨: 分析化学, 24, 294 (1975).
- 4) 岡本光美, 山田不二造: 薬学雑誌, 101, 378 (1981).
- 5) M.Okamoto: J.Chromatogr., 202, 55 (1980).
- 6) M.Okamoto, F.Yamada, and T.Omori: J.High Resolut. Chromatogr. Chromatogr. Commun., 5, 163 (1982).
- 7) M.Okamoto, F.Yamada, and T.Omori: "Advances in Chromatography, 1982", ed. by A.Zlatkis, Elsevier, Amsterdam, 1982, p.177.
- 8) M.Okamoto, F.Yamada, and T.Omori: Chromatographia, 16, 152 (1982).
- 9) 大森竹塩: 分析化学, 29, 189 (1980).
- 10) F.ガイス: "液体クロマトグラフィーの最適化 (原昭二, 大森竹塩, 成松一久訳)", 講談社, 1980.