[農化 第 50 巻, 第 8 号, p. 369~371, 1976]

ガスクロマトグラフィーによる
なめしコラーゲン中の
ホルムアルデヒドの分離定量

佐藤恭司, 奥村 章, 倉田彰夫, 中村 蔚
(大阪府立工業技術研究所皮革試験所)

昭和 50 年 12 月 4 日受理

Separation and Determination of Formaldehyde
in Tanned Collagen by
Gas-chromatography

By Kyoji SATO, Akira OKUMURA, Akio KURATA
and Masashi NAKAMURA
Leather Laboratory, Osaka Prefectural Industrial
Research Institute Naka 1-18-13,
Kishibe, Suita-shi, Osaka

The aldehydes are generally used for tanning agents. A modified method for assessing bound form aldehyde in tanned collagen by means of gas liquid chromatography (GLC) was described. The method consists of hydrolysis of collagen tanned with form aldehyde, conversion of the aldehyde into 2,4-dinitrophenyl hydrazine (DNPH) and direct determination of DNPH by GLC. By this method, about 98% of formaldehyde bound to collagen can be determined. (Received December 4, 1975)

なめし剤としてのホルムアルデヒドの利用は、最近特に活発であり、牛皮革や油なめし革の前なめし等に利用されている。なめし革中の結合ホルムアルデヒドの分離定量は、なめし効果の検討や品質管理上有効である。皮革結合アルデヒドの分離定量例は種々報告されている⁽¹⁻³⁾が、加水分解物中に共存する物質の影響が大きく、定量性に疑問がある。最近ガスクロマトグラフィー (GLC) によるアルデヒドの分離定量法が試みられてきたが⁽⁴⁻⁶⁾、皮革結合アルデヒドに応用された例はない。清水ら⁽⁷⁾は、アルデヒド DNPH を簡便かつ精度よく検出する方法を開発した。そこで著者らは、皮革結合ホルムアルデヒドの加水分解法について、Bloem⁽¹⁾の方法に検討を加え、他のなめし効果のあるアルデヒド⁽⁸⁾につい

ても同条件による加水分解を行ない、その定量性について検討した。

1. 試料

皮粉は市販の植物タンニン定量用皮粉を用いた。皮質分 82%, 水分 16% であった。アルデヒドは、市販の試薬に 5~6 倍量の水と希硫酸数滴を加えて蒸留したものを用いた。溶媒は 2,4-ジニトロフェニルヒドラジンを加えて 1 時間還流後、蒸留したものを用いた。標準のアルデヒド DNPH は、有賀ら⁽⁹⁾の方法に従って調製した。

2. アルデヒドなめし

標準皮粉 10 g を 300 ml 容の共栓つき三角フラスコに秤取後、アルデヒド 1~2% 緩衝溶液 (pH 7.5, 0.4 M KH_2PO_4) 100 ml を加えて密栓し、室温中で 24 時間放置した。なめし皮粉はグラスフィルター (17 G 2) で濾過後、遊離アルデヒドが検出されなくなるまで充分に水洗して減圧乾燥した。

3. 種々のアルデヒドの GLC

GLC の装置および分析条件は、Table I に示す。この条件では、プロピオンアルデヒドとアクロレインは分離できなかった。検量曲線は、各アルデヒド DNPH の 500 ppm 酢酸エチル溶液を調製して、 x 軸に DNPH 重量比、 y 軸に保持時間 $\times$ ピーク高さの比をとって作成した。その結果を Table II に示す。8 μg まで直線を示した。標準液は -20°C で、保管して少なくとも 1 カ月は

Table I. Gas-liquid Chromatographic Conditions

Instrument	Nihondenshi JGC-20 K
Column	1 m/3 mm I. D. glass column 3% OV-17 on Chromosorb WAW 60~80 mesh
Temperature	
Column oven	220°C
Injection port	250°C
Detector room	250°C
Nitrogen flow rate	12 ml/min
Sample	500 ppm, ethyl acetate soln. size 0.2~5.0 μl

Table II. Calibration Curve and Coefficient of Correlation

Formaldehyde	$Y=413.38 X+15.93$	$r=0.9968$
Acetaldehyde	$Y=836.66 X-23.02$	$r=0.9945$
Propionaldehyde	$Y=749.23 X-14.56$	$r=0.9986$
Butyraldehyde	$Y=900.92 X-35.12$	$r=0.9980$
Acrolein	$Y=729.23 X-39.29$	$r=0.9932$

安定であった。

4. 皮粉に結合したホルムアルデヒドの分離条件

重量法による定量は、船久保⁽¹⁰⁾の方法に従って行なった。溶液中のホルムアルデヒド濃度を重量法および GLC により測定した結果を Table III に示す。両者の間には、差異は認められなかった。

加水分解装置は Bloem の方法に準じて作製し、加水

Table III. Measurement of Weight Method and GLC

Exp. No.	Weight method (%)	GLC (%)
1	1.114	1.121
2	1.128	1.132
3	1.111	1.118
4	1.107	1.124
5	1.119	1.108
Average	1.116	1.121
C. V. (%)	0.65	0.70

1% formaldehyde soln. was used.

C. V.: coefficient of variation.

Fig. 1. Effect of Distillate Volume to Hydrolysis of Collagen Tanned with Formaldehyde.

Collagen was hydrolyzed with 500 ml of 1.5 M phosphoric acid.

Table IV. The Effect of Acid and Alkali on Hydrolysis of Bound Formaldehyde

Acids & alkali*	Determined** (mmole/100 g collagen)
H ₃ PO ₄	30.24
H ₂ SO ₄	12.16
HCl	24.80
H ₃ BO ₃	25.92
HNO ₃	4.80
NaOH	1.12

* Concentration of acids and alkali was 1.5 M.

** Moisture free basis.

The bound formaldehyde was 30.72 mmole/100 g collagen which calculated on a basis of original tanning liquor and spend liquor.

分解の条件にさらに検討を加えた。すなわち、ホルムアルデヒドでなめした皮粉 2 g を 1.5 M リン酸 500 ml で加水分解し、留出液を 25 ml ずつ分取後、重量法によりアルデヒド量の変化を測定した。Fig. 1 に示す結果から以後の実験では留出液 300 ml を定量に供した。同様にして、種々の酸とアルカリの効果を検討した。なお結合ホルムアルデヒド量に、なめし前後のなめし液中の濃度差から重量法によって求めた。Table IV に示すように、1.5 M リン酸を用いた方法が Bloem と同じく最適であった。

5. 種々の結合アルデヒドの定量

結合アルデヒド量を、なめし液の濃度差を重量法および GLC によって求め、さらにリン酸による加水分解液の蒸留液から重量法と GLC でアルデヒド量を求めた。Table V から、本実験条件ではホルムアルデヒド以外のアルデヒドの回収率は低かった。重量法では、留出液中の不純物のためにやや高い値が得られた。

6. 結合ホルムアルデヒドの定量

ホルムアルデヒド 1% 溶液で皮粉をなめした場合、Table VI に示すように、GLC による 5 回の平均値は皮質分 100 g あたり 21.27 mmole が結合し、変動系数は 0.67% であった。さらに GLC による分析法の利点は、

Table V. Measurement of Various Bound Aldehydes

Method	Tanning liquor (%)	Spend liquor (%)	Bound aldehyde	
			calculated** (mmole/100 g collagen)	measured***
Form.* {	GLC 1.20	0.51	28.58	28.18
weight {	1.18	0.68	28.40	27.41
Acet.* {	GLC 1.17	0.79	10.63	1.22
weight {	1.14	0.81	9.40	16.45
Prop.* {	GLC 0.90	0.63	5.80	trace
weight {	0.87	0.62	5.45	12.97
But.* {	GLC 0.81	0.53	4.72	trace
weight {	0.76	0.50	4.58	0.55
Acro.* {	GLC 1.23	0.69	12.02	trace
weight {	1.20	0.71	10.93	2.13

* Form.: formaldehyde, Acet.: acetaldehyde, Prop.: *n*-propionaldehyde, But.: *n*-butyraldehyde, Acro.: acrolein. ** Calculated on a basis of original tanning liquor and spend liquor. *** Determined by analysis of hydrolyzate.

Tanning method: Hide powder (4g) were weighed into 50 ml of buffered solution (pH 7.5) which contained a standardized aldehyde solution of known concentration and stored at room temperature for overnight.

Table VI. Determination Test for Bound Formaldehyde

Bound formaldehyde (mmole/100 g collagen)					Average	C. V. (%)
21.27	21.30	21.29	21.28	21.21	21.27	0.67

Tanned with 1% formaldehyde solution (pH 7.5). C. V.: coefficient of variation.

2 種以上のアルデヒドが存在する場合に, それぞれの影響をうけずに定量が可能であることである.

本研究を行なうに際し, ご助言を賜った宮崎大学日高講師に厚く感謝いたします. 本報告は, 昭和 47 年度皮革研究会において報告した.

- (1) E. Bloem : *J. Soc. Leather. Trade. Chemists.*, **52**, 204 (1968).

- (2) J. H. Bowes and R. G. Elliott : *J. Am. Leather. Chemists.' Assoc.*, **57** (8), 374 (1962).
 (3) G. Chirita and O. Chisalita : *ibid.*, **66**(8), 369 (1971).
 (4) 船阪 渡, 池川信夫 : 最新ガスクロマトグラフィー, 広川書店, 1965, p. 468.
 (5) V. Mahadevan : *Lipids.*, **5**, 563 (1970).
 (6) M. M. E. Metwally, C. H. A. Amundson and T. Richardson : *J. Amer. Oil. Chemists' Soc.*, **48**, 149 (1971).
 (7) 清水康夫, 松任茂樹, 伊藤保之, 岡田郁之助 : 農化, **43**, 211 (1969).
 (8) K. H. Gustavson : "The Chemistry of Tanning Process," Academic Press Inc., New York, N. Y., 1956, p. 246.
 (9) 有賀那賀夫, 津田光重, 香月裕彦 : 日化, **88** (3), 362 (1967).
 (10) 船久保英一 : 有機化合物の確認 (上), 養賢堂, 1953, p. 263.