

乳幼児用繊維製品（衣服及び玩具）に使用されている

染料成分中の芳香族第一アミン類の分析調査

中島晴信*1 鹿庭正昭*2

We studied the final test analytical method using the GC/MS method for 9 kinds of aromatic primary amines regulated in the EN71 standard of dye components for toys in Europe. Twelve commercially available textile products (toys and infant-toddler clothing) (20 parts of the products) were analyzed by the method. As a result, the amines could not be detected in all the products. This method had sufficient sensitivity as a qualitative analysis method for confirmation. However, it had problems with reproducibility, *etc.* as a quantitative analysis method, and it was considered that the method needed to be improved for higher accuracy.

キーワード : 乳幼児用繊維製品、染料、芳香族第一アミン、欧州規格 EN71、GC/MS

Key words : textile products for infant and baby, dye, aromatic primary amines, European Norm EN71, Gas chromatography mass spectrometry

乳幼児は、化学物質に対する感受性が高く、化学物質暴露には特に留意しなければならない。現在、日本においては、玩具や乳幼児衣類などに使用されている繊維製品中の染料に関しては規制がない。ヨーロッパでは繊維製品の安全性自主基準としてOEKOTEX Standardが用いられ、染料の溶出量も規定している¹⁾。特に乳幼児用製品の基準は厳しく定められているが、分析方法などは非公開である。ドイツでは、ドイツ規格及びドイツ日用品規制令(LMBG)において、アゾ染料・顔料などが規制され、分析法など定められている。さらに中国でも、繊維製品に使用されるアゾ染料から生成する24種の芳香族アミンについて国家的に規制されている。欧州では、EN71「玩具の安全性規制」の中で繊維製玩具に使用する染料に対して、16種の着色剤と9種の芳香族第一アミンが規制されている^{2,3)}。この規格では初期試験方法から最終試験方法までの分

析法も公開されている^{2,3)}。我々は、初回試験に該当するJISの汗に対する染色堅牢度試験(JIS L 0801:2004)⁴⁻⁶⁾を既の実施した⁷⁾。EN規格では、初回試験で色落ちした製品(3級以下)には、最終試験分析法を実施する事になっている。そこで今回、発ガン性を有するために規制されている9種の芳香族第一アミン類のGC/MSによる最終試験分析法を検討し、市販乳幼児用繊維製品(衣服、玩具)について分析調査を行った。

実験方法

1. 試料

市販の乳幼児用衣服7製品(8部位)、繊維製玩具5製品(12部位)をGC/MS測定用の試料とした(表1)。

2. 試薬

規制されている9種の芳香族第一アミン類標準品及び1-ナフチルアミン標準品のCAS番号、製造社名及びIARC(International Agency for Research on Center)による発ガン分類基準を表2に示す。2-ナフチルアミンは、スペルコ社製の1000 µg/mlメタノール溶液を用いた。その他の標準品は、アセトニトリルに溶解して1000 µg/mlの標準原液を作製した。これを、*tert*-ブチルメチ

*1 大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部 生活環境課

*2 国立医薬品食品衛生研究所

ルエーテルで希釈して標準液系列を作成した。

アセトニトリル、*tert*-ブチルメチルエーテルは和光純薬製残留農薬試験用を用いた。純水はミリポア製超純水製造装置（逆浸透膜後、イオン交換処理）Milli RO 5plus, Milli Q plusを通過したミリQ水（超純水）を用いた。多孔質珪藻土カラムは、MACHEREY-NAGEL社製 CHROMABOND XTR (70 ml, 14.5 g)を用いた。

表1. 分析した市販製品

No.	製品	素材	色	製造元など	生産国
1	カバーオール	綿100%	赤	(株)ファミリア	日本製
2	ズボン	綿100%	茶	(株)ボフソン	中国製
3	セーター	綿70%、ナイロン15%、毛15%	赤	(株)ボフソン	中国製
4	カットソー	綿100%	黒	(株)ボンアミー	中国製
5	カットソー	綿100%	赤	イオン(株)	中国製
6	ズボン	綿100%、ナイロン90%、ポリウレタン10%	黒	(株)アイク	中国製
7	カバーオール	ポリエステル100%、綿95%、ポリウレタン5%	黄赤	タキヒヨー(株)	中国製
9			黄緑		
10	ぬいぐるみ	ポリエステル、アクリル、ポリスチレン	緑黄	輸入元: 日本トイザラス(株)	中国製
11			黄		
12			赤黒		
13	ぬいぐるみ	ポリエステル、アクリル、ポリスチレン	赤黒	輸入元: 日本トイザラス(株)	中国製
14			赤		
15	ぬいぐるみ	表示なし	黄茶	オーガニック(株)	中国製
16			茶		
17	ぬいぐるみ	ポリエステル	青赤	発売元: (株)タカラトミー	中国製
18			赤		
19	着せ替え人形用の服	ポリエステル 他	水色	発売元: (株)タカラトミー	中国製
20			青		

表2. 芳香族第一アミン類のCAS番号、製造会社及びIARC分類

	CAS No.	製造会社	*IARC分類
Aniline	62-53-3	フルカ	グループ3
<i>o</i> -toluidine	95-53-4	フルカ	グループ2A
2-methoxyaniline	90-04-0	アルドリッチ	グループ2B
4-chloroaniline	106-47-8	フルカ	グループ2B
2-naphthylamine	91-59-8	スベルコ	グループ1
Benzidine	92-87-5	片山化学	グループ1
3,3'-dimethylbenzidine	119-93-7	フルカ	グループ2B
3,3'-dichlorobenzidine	91-94-1	スベルコ	グループ2B
3,3'-dimethoxybenzidine	119-90-4	シグマアルドリッチ	グループ2B
1-naphthylamine	134-32-7	関東化学	グループ3

* 1: Carcinogenic to humans 2A: Probably carcinogenic to humans
2B: Possibly carcinogenic to humans 3: Not classifiable as to carcinogenicity to human
4: Probably not carcinogenic to humans

3. GC/MS装置及び分析条件

GC/MS装置は、Hewlett Packard社製5890 Series II Plus型GCに同社製MS検出器（MSD 5972）を装着したものをを用いた。GC用カラムは、GL Science 社製Inert CAP 5 MS/NP (0.25 mm φ × 30 m、膜厚 0.25 μm)を用いた。キャリアーガス流量はHe 0.8 ml/min、注入口温度は250℃、interface temperatureは280℃に設定した。カラム温度は、60℃(3 min) -7℃/min - 280℃(4 min) -10℃/min - 300℃(2.58 min)にプログラミングした。

4. 試験溶液の調製

試料（繊維製品）1 gを細切し、50 mlのポリプロピレン製試験管に量り採った。精製水を15 ml加え、ボルテックスミキサーで30秒間攪拌した。ガラスフィルターで濾過し、ろ液を多孔質珪藻土カラムに注ぎ入れ、20分間放置し液を吸着させた。カラムに*tert*-ブチルメチルエーテル80 ml (40 ml x 2)を加えて溶出させた。溶出液を100 mlの丸底フラスコに入れ、ロータリーエバポレーターを用いて50℃で約5 mlにまで濃縮した。エーテル溶液を10 ml試験管に移し、アルゴン気流下で1 mlに濃縮し、試験溶液とした。

結果及び考察

1. GC/MS測定法の検討

GC/MS条件は、EN71に記載された条件に準拠し、GL Science 社製Inert CAP 5 MS/NPを用いて、これら9種の芳香族第一アミン類の相互分離を検討した。その結果、相互分離が可能となった。図1にこれら9種のアミン類10 μg/ml濃度のトータルイオンクロマトグラム（TIC）を示す。また、図2に、これらアミン類10 μg/ml濃度のマスクロマトグラムを示す。各物質の定量イオン（ターゲットイオン）の m/zは図中に記載した。

なお、IARC分類ではグループ1（ヒトに対して発ガン性がある）に分類されているため規制対象となっている2-ナフチルアミンの類似物質として、IARC分類ではグループ3（ヒトに対して発ガン性があるとは分類できない）である1-ナフチルアミンが検出される可能性も考えられる。そこで、両物質をGC/MSで測定し、結果を比較した。これら2物質は少し保持時間が異なり、マスライブラリーからの判別も異なった。

先に保持時間がある5種のアミン類は、1-10 μg/mlの範囲で直線性を示したが、1-20 μg/mlの範囲では直線性を示さなかった。4種のベンチジン類は、1-20 μg/mlの範囲で直線性を示した。各アミン類の定量イオンによる直線性のある範囲の検量線（1-10 μg/ml、1-20 μg/ml）を図3に示す。いずれも $r^2=0.97$ 以上の直線性を示した。また、10 μg/mlの5回繰り返し注入ではCV=2.7-9.5%の再現性であった。各物質のピーク面積による変動係数を表3に示す。これらの物質は注入部位（ライナーなど）の汚れや不活性の低下に影響を受けやすく、注入回数が増えると再現性が悪くなる傾向を示した。また、検

出限界は各物質により異なっていた。どのアミン類も40 ng/mlレベルまでは検出できたが、10 ng/mlレベルでは4種のベンチジン類は検出できなかった。これらのアミン類、特にベンチジン類は、インサート部分やカラム中で熱分解し、感度、精度共に良くなかったものと考えられる。

しかし、欧州 (EN71) における各物質の規制限度値 (action limit)は、5 µg/g (mg/kg)である。今回の操作法に従って最終試験溶液を1 mlのtert-ブチルメチルエーテル溶液にした場合、5 µg/mlの濃度となる。各標準物質のGC/MS感度から考慮すれば、いずれも定性的には十分確認可能な感度である。

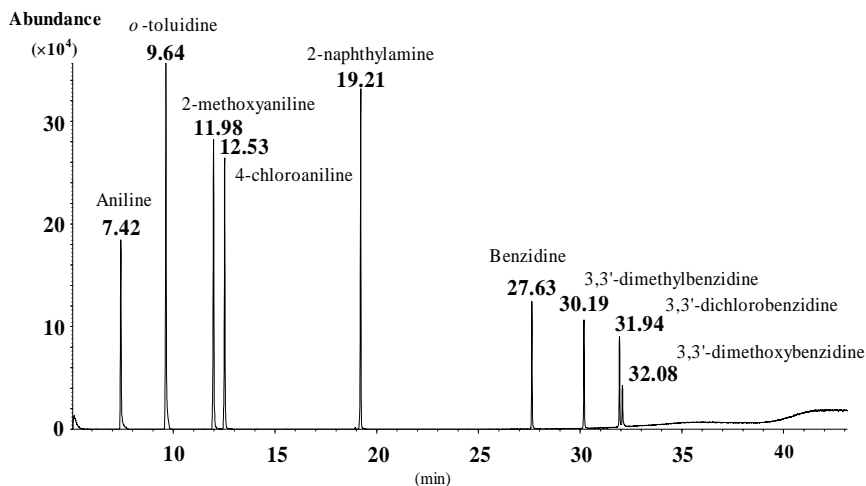


図 1. 9 種のアミン類のトータルイオンクロマトグラム (10 µg/ml)

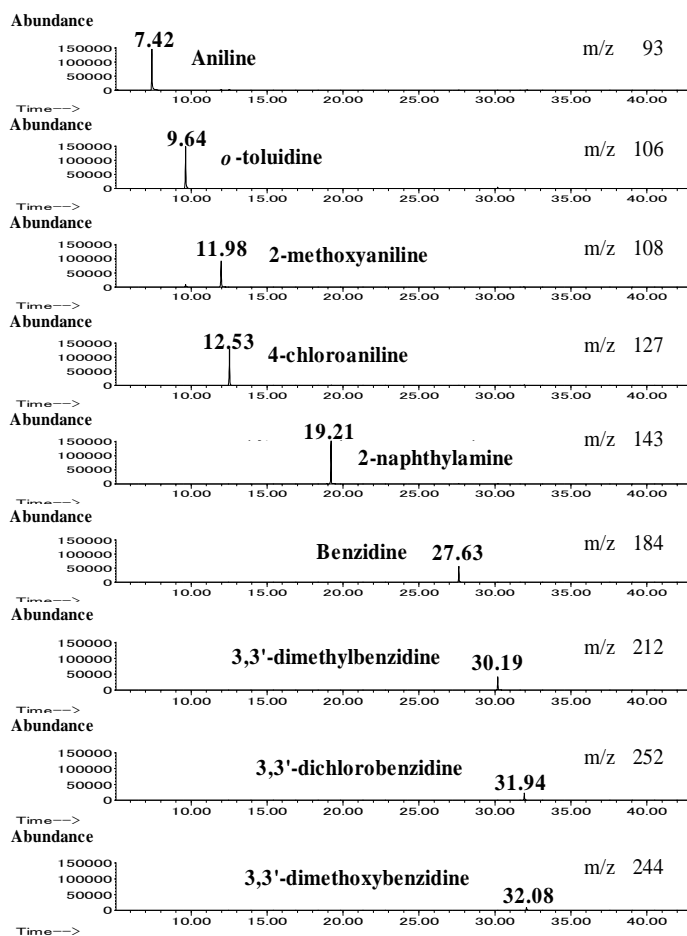


図 2. 9 種のアミン類のマスクロマトグラム (10 µg/ml)

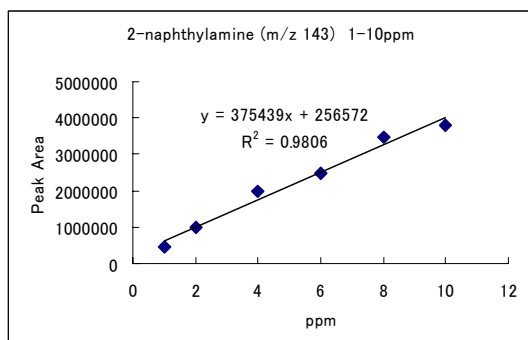
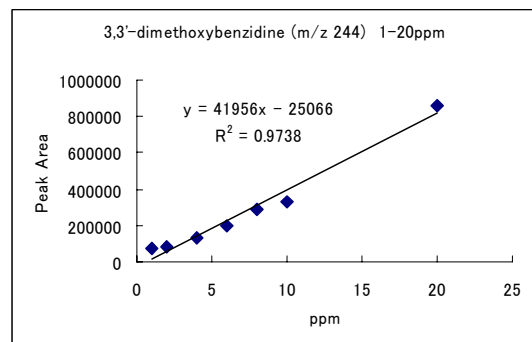
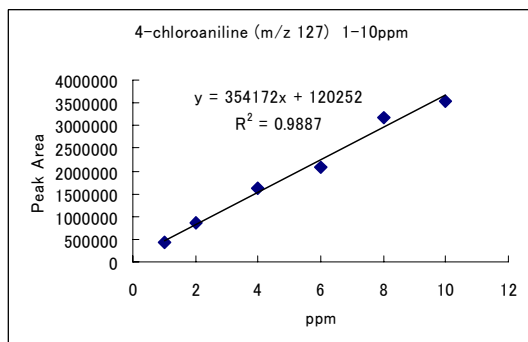
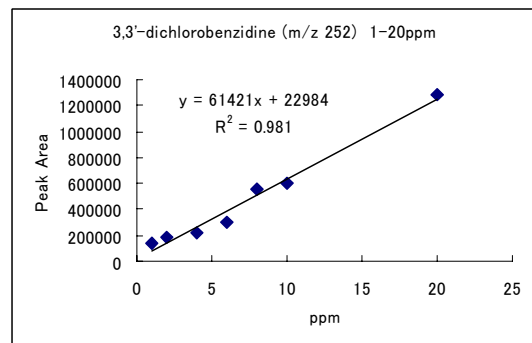
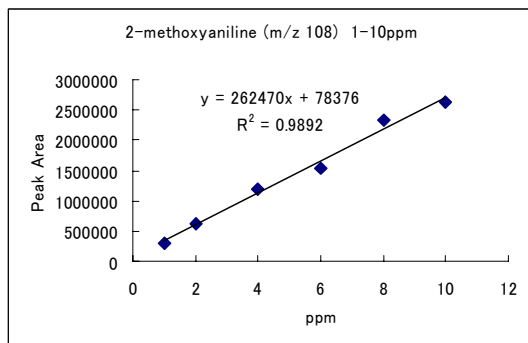
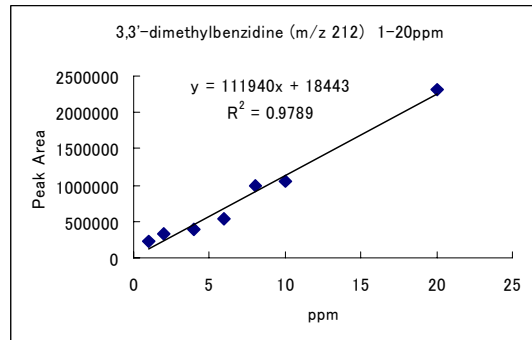
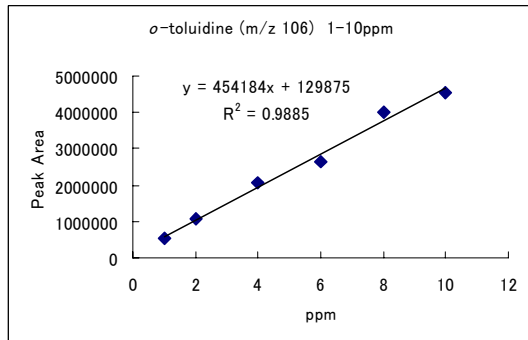
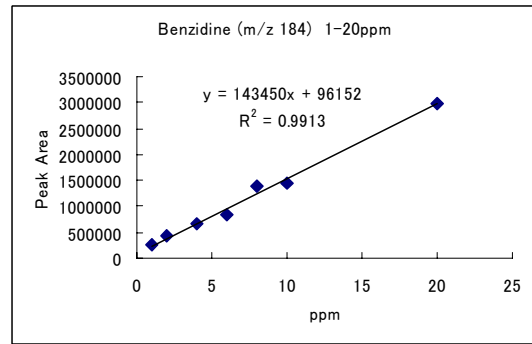
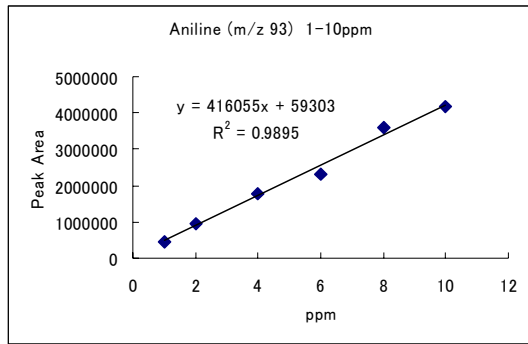


図3. 9種のアミン類の検量線

表3. 各物質のピーク面積による変動係数 (10 µg/ml)

	m/z	SD	CV(%)
Aniline	93	142067.0	4.5
<i>o</i> -toluidine	106	94340.2	2.7
2-methoxyaniline	108	121132.9	5.6
4-chloroaniline	127	158182.5	5.5
2-naphthylamine	143	300156.9	7.9
Benzidine	184	232614.4	8.9
3,3'-dimethylbenzidine	212	157474.7	7.7
3,3'-dichlorobenzidine	252	96202.7	8.6
3,3'-dimethoxybenzidine	244	71226.9	9.5

2. 試験溶液調製法の検討

試験溶液の調製方法はほぼEN71に準拠した。しかし、EN71では、水抽出液を「2000 gで15分間遠心分離する」と記載されているが、この方法では遠心後に布試料が再度含水するため、抽出水が十分に回収できなかった。そこで、ガラスフィルターでろ過して、抽出水を回収することとした。

調製した試料溶液をGC/MS測定したところ、どの試料からも多くの共雑物質が出現した。特にジ-*tert*-ブチルフェノールが高濃度で検出された。これは、ガラスフィルターで濾過した試料水溶液を多孔質珪藻土カラムに吸着させ、*tert*-ブチルメチルエーテルで溶出させる操作で汚染されることが分かった。つまりカラムから様々な物質が溶出することに起因する。しかし、その処理をした溶液中の物質には、各定量イオンへの妨害はなかった。各アミン類を10 µg添加し、多孔質珪藻土カラム処理をした場合の回収率を観察した (n=3)。各アミン類の回収率は、平均35.3~80.6%と物質によりばらつきがあった。各アミン類の回収率を表4に示す。ベンチジンが38.0%、3,3'-ジメトキシベンチジンは35.3%と良くなかった。カラムによっても溶出挙動の違いが見受けられた。

表4. 多孔質珪藻土カラム処理をした各アミン類の回収率 (10 µg添加)

	m/z	回収率
Aniline	93	80.57%
<i>o</i> -toluidine	106	73.27%
2-methoxyaniline	108	78.17%
4-chloroaniline	127	65.89%
2-naphthylamine	143	59.12%
Benzidine	184	37.92%
3,3'-dimethylbenzidine	212	51.94%
3,3'-dichlorobenzidine	252	60.58%
3,3'-dimethoxybenzidine	244	35.34%

3. 市販製品の分析

我々は既に市販の乳幼児用繊維製品41製品(62部位)と玩具8製品(15部位)に対し初期試験(染色堅牢度試験)に、人工唾液による溶出試験⁸⁾も加えて実施し、基準違反(3級以上)製品はなかったものの、乳幼児用衣服7製品(8部位)から色落ちしたことを報告した⁷⁾。そこで、それらの7製品(8部位)と、新たに購入した玩具5製品(12部位)に対して、今回の最終試験を行った。

その結果、分析した製品からは、どのアミン類も検出しなかった。初期試験で3-4級の色落ちがあった試料No.1のTICを図4に、各定量イオンのマスクロマトグラムを図5に示す。試料から検出された物質として、No.19とNo.20(着せ替え人形用の服)からUV吸収剤であるベンゾフェノンが検出された。

試料No.18に各アミン類10 µg/gを添加し、操作法に従って添加回収実験を行ったところ、回収率は28.7~68.9%(n=3)であった。やはり、各物質により回収率が異なった。ベンチジンの回収率は28.7%、3,3'-ジメトキシベンチジンは45.5%と良くなかった。

今回は、試料からアミン類が検出されなかったが、この方法では全てのアミン類が再現性よく正確に定量できない。規限度値付近でこれら物質が検出され、正確な定量を行う場合には、より精度の高い方法を検討する必要がある。例えば、内部標準物質を使った方法⁹⁾などを検討していく必要があると考えられる。

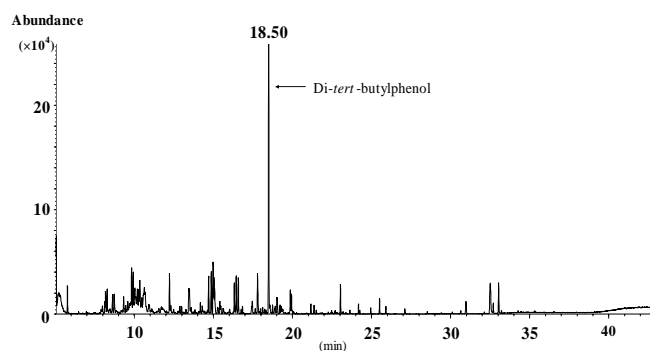


図4. 試料No.1のトータルイオンクロマトグラム

文 献

- 1) エコテックスについて、(財)日本染色検査協会
エコテックス事業所発行・編集、東京(2004)
- 2) 河村葉子, 高野忠夫, 津田 博:「乳幼児用玩具
の規格基準に関する研究」,平成 17 年度厚生労働
科学研究分担研究報告書(食品の安心・安全確保
推進研究事業)
- 3) 小瀬達夫, 岡田弘毅:平成 17 年度厚生労働科学
研究「乳幼児用玩具の規格基準に関する研究」付
属文書(欧州規格 EN 71-10 及び EN-11 最終原案),
p.160-208
- 4) (財)日本規格協会:染色堅ろう度試験方法通則
JIS L 0801:2004, 東京(2004)
- 5) (財)日本規格協会:汗に対する染色堅ろう度試験
法 JIS L 0848:2004, 東京(2004)
- 6) (財)日本規格協会:計器による変退色及び汚染の
判定方法 JIS L 0809:2001, 東京(2001)
- 7) 中島晴信, 高塚 正, 鹿庭正昭:人工汗・唾液に
よる乳幼児繊維製品(玩具及び衣類)からの染料
成分の溶出挙動、大阪府立公衆衛生研究所報告,
46, 97-102(2008)
- 8) (財)日本規格協会:歯科用金属材料の腐食試験方
法 JIS T 6002:2005, 東京(2005)
- 9) 中華人民共和国国家品質監督検査検疫総局 中
国国家標準化管理委員会:繊維製品 使用禁止ア
ゾ染料の測定, 中国標準出版社出版・発行, 北京
(2006)

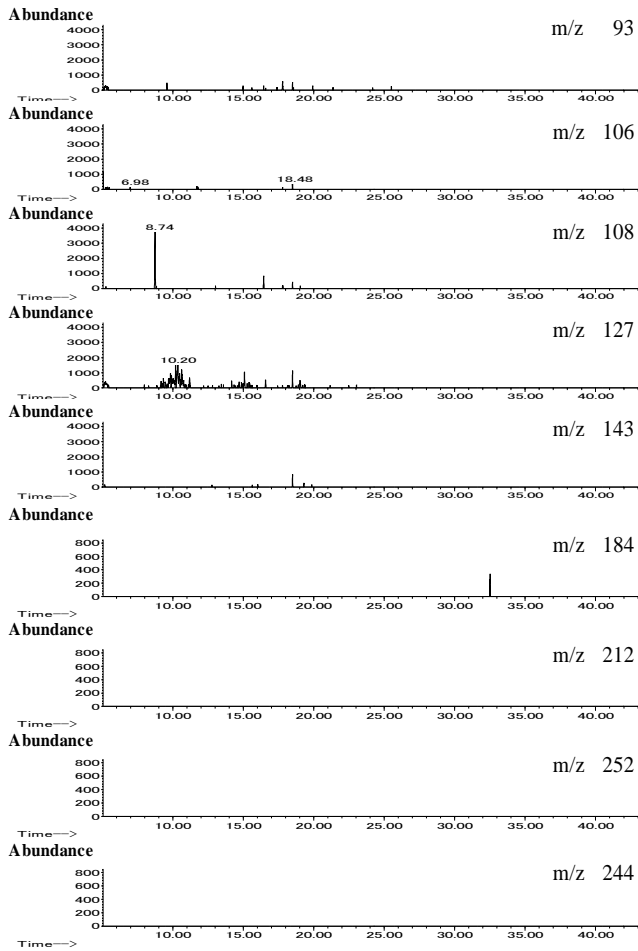


図 5. 試料 No.1 のマスククロマトグラム

結 論

欧州における玩具中染料の規制規格EN71の中で規制されている芳香族第一アミン類9種のGC/MS法による最終試験分析法を検討した。そして、その方法で、市販の繊維製品(乳幼児用衣服、玩具)12製品(20部位)の分析を行った。その結果、全ての製品からこれらアミン類は検出しなかった。この方法は、定性分析には十分であるが、定量分析法としては、さらに改良する必要があると考えられる。

謝 辞

2-ナフチルアミン標準品の分与及び中国での規制情報(分析法など)をご提供頂きました国立医薬品食品衛生研究所療品部伊佐間和郎室長と河上強志博士に深謝いたします。