

資料

アセチルアセトン法によるホルムアルデヒド測定における留意点について —アセチルアセトン誘導体の吸光度および HPLC 測定値の経時変化—

神山恵理奈, 梶川正勝, 南谷臣昭, 吉田 勲*, 羽賀新世**, 出屋敷喜宏***, 多田裕之, 河村 博

要 旨

家庭用品のホルムアルデヒド測定において、アセチルアセトンとの反応生成物の吸光度が、時間の経過とともに減少する傾向が認められた。出生後 24 ヶ月以内の乳幼児用繊維製品のホルムアルデヒド含有量の規制値は、アセチルアセトンとの反応液の吸光度差が 0.05 以下と定められているが、所定反応終了後の経過時間が 1 時間以内であれば吸光度の減少率は 1%程度であるため、結果の判定に大きな影響はないと考えられた。24 時間経過後の吸光度の減少率は、標準液で 10~15%、試験溶液で 5~10%であった。この差は、試験溶液では時間の経過とともに初期縮合物が分解し、ホルムアルデヒドが生成するためと推察された。また、確認試験とする高速液体クロマトグラフによる測定においても、時間の経過とともに測定値が小さくなる傾向がみられた。

キーワード：ホルムアルデヒド, アセチルアセトン, 吸光度, HPLC, 経時変化

1 はじめに

ホルムアルデヒドは防しわ・防縮加工剤あるいは接着剤として衣類や壁紙など様々な製品に使用されており、日常生活において接触する機会が多い化学物質である。ホルムアルデヒドは皮膚に接触すると、かゆみや発疹などの症状を伴うアレルギー性皮膚炎を引き起こす恐れがある。とくに乳幼児では低濃度でも発症する可能性があるため、「有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律」（家庭用品規制法）では、出生後 24 ヶ月以内の乳幼児用繊維製品のホルムアルデヒド含有量の規制値を吸光度差 0.05 以下または繊維 1 g あたり 16 µg 以下と定めている^{1), 2)}。家庭用品規制法では、衣類に含まれるホルムアルデヒドの試験法として、操作が簡便で、感度や再現性も良好なアセチルアセトン法を採用している。この方法では、遊離ホルムアルデヒドをアセチルアセトンと反応させ、この反応生成物（アセチルアセトン誘導体）の吸光度を測定することにより、ホルムアルデヒドを定量する（図 1）。また、吸光度

の測定で規制値を超えた場合には、ジメドン法あるいは高速液体クロマトグラフ（HPLC）で確認することとされている²⁾。この現行のホルムアルデヒド試験方法に基づいた試買家庭用品の試験検査において、アセチルアセトン添加後に生成されるアセチルアセトン誘導体の吸光度および HPLC 測定値の経時変化を観察したので、その解析結果に基づいて試験検査時の留意点について考察した。

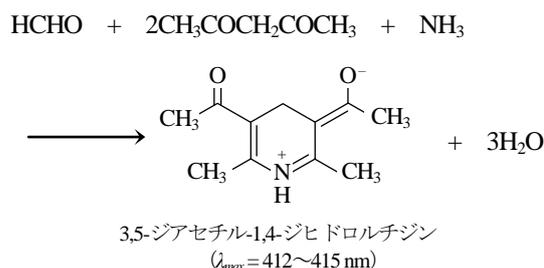


図 1 ホルムアルデヒドとアセチルアセトンの反応

2 実験方法

岐阜県保健環境研究所：504-0838 岐阜県各務原市那加不動丘 1-1

* 現 岐阜県東部広域水道事務所 山之上浄水場：505-0003 岐阜県美濃加茂市山之上町 2500

** 現 岐阜薬科大学：501-1196 岐阜県岐阜市大学西 1 丁目 25 番地 4

*** 現 鈴鹿医療科学大学薬学部薬学科：513-8670 三重県鈴鹿市南玉垣町 3500-3

ホルムアルデヒドの測定は「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」の別表に定める方法に基づいて行った。

2.1 試薬および標準液の調製

ホルムアルデヒド標準液:ホルムアルデヒド液(純正化学, 特級)を精製水で希釈して0.4, 0.8, 1.6, 3.2 $\mu\text{g/mL}$ ホルムアルデヒド水溶液(Std-0.4, Std-0.8, Std-1.6, Std-3.2)を調製した。なお,ホルムアルデヒド液中のホルムアルデヒド含有量は,ホルムアルデヒド液を0.05 mol/Lヨウ素溶液(和光純薬工業,容量分析用)と反応させた後,過剰のヨウ素を0.1 mol/Lチオ硫酸ナトリウム(和光純薬工業,容量分析用)で滴定することにより求めた。

アセチルアセトン試液:酢酸アンモニウム(ナカライテスク, 特級)15 g, 酢酸(和光純薬工業,精密分析用)0.3 mL, アセチルアセトン(和光純薬工業, 特級)0.2 mLを精製水に溶解して100 mLとした。

2.2 試料および試験溶液の調製

適量のホルムアルデヒドを含有する乳幼児用肌着を検体として用いた。同一検体の異なる部位3カ所を採取して,それぞれを細かく切ったものを試料A, BおよびCとした。各試料2.5 gに精製水100 mLを加えて密栓し,40°Cの水浴中で時々振り混ぜながら1時間抽出した。この液を0.45 μm 孔径のフィルターでろ過して試験溶液とした。

2.3 アセチルアセトン法(吸光度法)

試験溶液あるいはホルムアルデヒド標準液5 mLにアセチルアセトン試液5 mLを加え,40°Cの水浴中で30分間加温し,さらに室温で30分間放置した。この時点から0~24時間経過後に,精製水5 mLにアセチルアセトン試液5 mLを加えて同様に操作したものを対照として,413 nmにおける吸光度(A)を測定した。また,試験溶液5.0 mLに,アセチルアセトン試液の代わりに精製水5.0 mLを加えて同様に操作したものについて,精製水を対照として吸光度(A_0)を測定した。

2.4 HPLCによる確認試験

試験溶液あるいはホルムアルデヒド標準液とアセチルアセトン試液との反応液10 μL を高速液体クロマトグラフ(ヒューレットパッカー, HP1100 シリーズシステム)に供し,紫外可視検出器で検出し

た。

HPLC 条件

カラム: Mightysil RP-18 GP (関東化学, 4.6 mm ϕ \times 150 mm, 粒子径 5 μm)

カラム温度: 35°C

移動相: アセトニトリル・水 (15 : 85)

流速: 1.0 mL/min

検出波長: 413 nm

3 結果および考察

3.1 アセチルアセトン法における吸光度の経時変化

ホルムアルデヒド標準液あるいは試験溶液にアセチルアセトン試液を添加し,40°Cで30分間加温し,30分間放置した後,0~24時間経過後に吸光度を測定した。この結果,標準液の吸光度は時間の経過とともに減少した(表1)。24時間後の減少率は,Std-0.4が15%,Std-0.8が14%,Std-1.6が12%,Std-3.2が10%であり,いずれの標準液も10%以上の減少を示した。また,標準液のホルムアルデヒド濃度が低いほど減少率が大きかった。

一方,試験溶液の吸光度も,時間が経つにつれて減少した(表2)。試験溶液の吸光度の24時間後の減少率は,試料Aが6.0%,試料Bが9.6%,試料Cが7.9%であり,いずれも10%以下であった。この結果から,標準液と比較して試験溶液の吸光度減少率は小さいことが明らかとなった。この差は,法律施行規則等にも記載されているように^{2),3),4)}試験溶液に含まれる樹脂の初期縮合物が分解し,ホルムアルデヒドが遊離してくるにより,減少率が抑えられたためと推察される。多検体の試験を一度に行う場合,検体毎に吸光度測定までの経過時間に差が生じるが,実際には数十検体の吸光度は30分間以内に測定することが可能である。経過時間1時間後の吸光度の減少率は,標準液で0.65~1.1%,試験溶液で0.0~1.6%であったが,乳幼児用繊維製品の判定基準である吸光度差(A-A₀)0.05を評価するとき,その1.0%値は0.0005である。分光光度計の測定精度から見ても,この0.0005という値は正確に測定できる値ではなく,この減少率の大きさおよび試験溶液と標準液との間の減少率の差は試験結果の判定にほとんど影響を与えないものと考えられる。

表1 アセチルアセトン法による標準液の吸光度の経時変化

経過時間 (時間)	吸光度			
	Std-0.4	Std-0.8	Std-1.6	Std-3.2
0	0.0535	0.1077	0.2170	0.4336
1	0.0529	0.1069	0.2156	0.4305
2	0.0522	0.1061	0.2128	0.4263
3	0.0518	0.1051	0.2111	0.4235
4	0.0510	0.1038	0.2084	0.4189
6	0.0494	0.1005	0.2043	0.4119
24	0.0455	0.0925	0.1911	0.3893
1時間後 減少率 (%)	1.1	0.74	0.65	0.71
24時間後 減少率 (%)	15	14	12	10

表2 アセチルアセトン法による試験溶液の吸光度の経時変化

経過時間 (時間)	吸光度		
	試料 A	試料 B	試料 C
0	0.0655	0.0626	0.0655
1	0.0655	0.0616	0.0649
2	0.0651	0.0616	0.0649
4	0.0636	nt	0.0648
6	nt ^{a)}	nt	0.0640
24	0.0616	0.0566	0.0603
1時間後 減少率 (%)	0.0	1.6	0.92
24時間後 減少率 (%)	6.0	9.6	7.9

^{a)} Not tested. (測定せず)

3.2 HPLC による確認試験における測定値の経時変化

ホルムアルデヒド標準液にアセチルアセトン試液を添加し、40°Cで30分間加温し、続いて室温で30分間放置した後、0~24時間経過後にHPLC分析を行った。HPLC法による標準液のホルムアルデヒド濃度測定値は、時間の経過とともに減少し、24時間経過後の減少率は、Std-0.4が15.1%、Std-0.8が12.7%、Std-1.6が10.4%と、10%を上回り、吸光度測定の場合と同様に、標準液のホルムアルデヒド濃度が低いほど減少率は大きくなる傾向を示した(表3)。HPLC法では1検体の分析に20分程度要するため、多検体を分析する場合には分析開始までの経過時間に大きな差が生じてしまう結果、規制値付近

の測定値を示す検体では、時間の経過により規制値をクリアするケースが生じる恐れがある。したがって、HPLC法は、定性的な確認のために用いるのが適当であると考えられ、定量的な分析を行う場合には、試験溶液測定時に適時標準液の測定を組み込むなど、反応終了後の経過時間による測定への影響を考慮する必要がある。

表3 HPLC による確認試験における標準液測定値の経時変化

経過時間 (時間)	ホルムアルデヒド (µg/mL)		
	Std-0.4	Std-0.8	Std-1.6
0	0.3892	0.7844	1.5960
24	0.3304	0.6847	1.4294
減少率 (%)	15.1	12.7	10.4

ここで、法律施行規則の中に、「初期縮合物の分解により、抽出液の呈色液の吸光度は放置中も漸増する。」との記載がある²⁾。しかしながら、我々の試験結果では、アセチルアセトン試液を添加し、30分間加温、30分間放置した後の時間の経過により、吸光度は漸減し、前述の記載と矛盾が生じた。このことについては別途検討を要するが、本研究で示したアセチルアセトン法では、反応終了後の時間経過とともに測定値が変化することに留意して、検体ごとの測定までの経過時間の差が大きくなるように、速やかに測定することが重要である。

4 まとめ

アセチルアセトン法によるホルムアルデヒド測定における吸光度の経時変化について検討したところ、アセチルアセトンとの反応終了後、時間の経過とともに吸光度が減少することが明らかになった。反応終了後24時間経過時点の減少率は、0.4~3.2 µg/mLホルムアルデヒド標準液の場合は10~15%、適量のホルムアルデヒドを含む繊維製品の試験溶液の場合は5~10%であり、同程度の濃度のホルムアルデヒドを含む標準液と試験溶液を比較した場合、試験溶液の方が減少率は小さかった。実際の吸光度の測定に要する時間は短時間であることから、この経時的な吸光度の減少および標準液と試験溶液の減少率の差は試験結果の判定にほとんど影響を与えない程度であると見なせる。確認試験に用いるHPLCによる測定においても、同様に測定値の経時的減少が認められた。HPLC分析では1検体の分析に時間がかか

るため、多検体を分析し、その結果を定量に用いる場合には、反応終了後の時間経過により測定値が減少する点について十分注意する必要がある。

文 献

- 1) 有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律. 法律112号, 1973.
- 2) 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. 厚生省令第34号, 1974.
- 3) 小嶋茂雄, 大場琢磨: 衣類中の遊離ホルムアルデヒドの定量. 分析化学, 24, 294-298, 1975.
- 4) 五十嵐良明, 鹿庭正昭, 土屋利江: 有害物質含有家庭用品規制法のホルムアルデヒド試験方法の改定にかかわる検討. 国立医薬品食品衛生研究所報告, 121, 016-024, 2003.

Consideration in the Determination of Formaldehyde by Acetylacetone Method — Time-Dependent Change of Absorbance and High-Performance Liquid Chromatographic analytical Values for Acetylacetone Derivative —

Erina KOHYAMA, Masakatsu KAJIKAWA, Tomiaki MINATANI, Isao YOSHIDA*, Arayo HAGA**,
Yoshihiro DEYASHIKI***, Hiroyuki TADA, Hiroshi KAWAMURA

Gifu Prefectural Research Institute for Health and Environmental Sciences:

1-1 Naka-fudogaoka, Kakamigahara, Gifu 504-0838, Japan

**Eastern Regional Waterworks Office: 2500 Yamanoue, Minokamo, Gifu 505-0003, Japan*

***Gifu Pharmaceutical University: 1-25-4 Daigakunishi, Gifu 501-1196, Japan*

****Suzuka University of Medical Science: 3500-3 Minamitamagaki, Suzuka, Mie 513-8670, Japan*