

東京都における家庭用品の特定芳香族アミン試験検査結果について (2016年度～2019年度)

稲葉 涼太^a, 塩田 寛子^a, 鈴木 郁雄^b, 小峯 宏之^a, 佐藤 美紀^a, 吉田 正雄^a,
鈴木 仁^c, 鈴木 俊也^a, 猪又 明子^d, 守安 貴子^d

繊維製品や革製品などの染色には、アゾ結合を有するアゾ染料が広く使用されている。アゾ染料は、人の腸内細菌や肝臓等によりアゾ結合が還元されることで、芳香族アミンを生成する。その中には、発がん性を有する又は発がんの可能性が指摘されているものがある。我が国では、2016年から24種の芳香族アミンを「有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律」により特定芳香族アミンとして指定し、特定芳香族アミンを生成するアゾ染料の使用を規制している。本報告では、2016年度から2019年度までの4年間における特定芳香族アミンの試験検査結果を報告する。東京都内に流通している繊維製品23製品及び革製品6製品について、「有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律」に基づき試験検査を行ったところ、革製品1製品からbenzidineが154 µg/g検出され、全国で初めてとなる違反事例となった。今後も違反となる製品が流通するおそれがあることから、継続して調査していく必要がある。

キーワード：家庭用品、アゾ染料、特定芳香族アミン、革製品、繊維製品、発がん性、GC/MS、HPLC/PDA

はじめに

アゾ染料は、繊維製品や革製品の染色に使用される合成染料の一つであり、世界で3,000種類以上の化合物が使用されている¹⁾。アゾ染料は、その化学構造中にアゾ結合を有しており、腸内細菌、肝臓等で還元的に分解され、芳香族アミンに変換される。この芳香族アミンのうち、発がん性を有する又は発がんの可能性が指摘されているものは、特定芳香族アミン (Primary Aromatic Amines) (以下、PAAsと略す) と呼ばれ、1994年に初めてドイツで規制された。現在は、REACH (Registration, Evaluation, Authorization and Restriction of Chemicals) などでも規制がされて、皮膚表面でもアゾ染料からPAAsが生じることから、繊維製品など長期間、直接皮膚に接触する製品への使用が世界中で禁止されている。

日本では、平成28年4月1日付で「有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律」²⁾ (以下、家庭用品規制法と略す) の施行規則が一部改正³⁾され、PAAsを生成するアゾ染料の使用が規制された。規制対象となっている製品は、繊維製品 (おしめ、おしめカバー、下着、寝衣、手袋、くつした、中衣、外衣、帽子、寝具、床敷物、テーブル掛け、えり飾り、ハンカチーフ並びにタオル、バスマット及び関連製品) と革製品 (下着、手袋、中衣、外衣、帽子及び床敷物) である³⁾。さらに、試料採取時の注意点として、通常の使用形態で直接肌に接触する部分のみが規制を受けて

いるため、コートの場合、襟元と袖口のみが規制される。また、和服や観賞用等に使用する製品、紡績されていない素材を使用した製品については、規制対象外である⁴⁾。

家庭用品規制法の省令³⁾に規定された試験法は、これらアゾ染料を直接測定するのではなく、還元処理を行い、24種のPAAsを測定するものであり、基準値はいずれも30 µg/g以下である。ただし、この試験法では、2-methyl-4-(2-triazo)aniline及び2-methyl-5-nitroanilineは、分解されるため測定対象から除かれているほか、4-aminoazobenzeneは、還元処理で生成するanilineと1,4-phenylenediamineを測定対象としており、規制対象と測定対象としている物質が一部異なっている。

本報告では、東京都内で流通している繊維製品及び革製品中に含有するPAAsの実態を把握するため、2016年度から2019年度に実施した市販の繊維製品及び革製品の調査結果を報告する。

実験方法

1. 試料

都内で流通していた家庭用品規制法²⁾の対象となる繊維製品 23 製品及び革製品 6 製品の計 29 製品から試料を採取した。また、皮手袋の裏地が繊維製など素材が複数ある場合は、材料ごとに分別を行った。最終的に 33 試料を採取し試験を実施した。

^a 東京都健康安全研究センター薬事環境科学部医薬品研究科
169-0073 東京都新宿区百人町3-24-1

^b 東京都福祉保健局健康安全部薬務課
163-8001 東京都新宿区西新宿2-8-1

^c 東京都健康安全研究センター薬事環境科学部生体影響研究科

^d 東京都健康安全研究センター薬事環境科学部

2. 標準品

標準品は、特定芳香族アミン類分析用混合標準液1,000 ppm, 2,4-diaminoanisole 1,000 ppm及び1,4-phenylenediamine 1,000 ppm (SPEX製), benzidine 100 ppm (AccuStandard製), *p*-aminodiphenylamine (東京化成工業製) を用い、内部標準物質としてanthracene-*d*₁₀ (関東化学製) を用いた。

3. 試験溶液の調製

測定対象物質及びそのGC/MSによる定量イオンを表1に示す。試験溶液は、省令³⁾の方法に従い調製した。*p*-phenylazoanilineを除くPAAs 21種及び*p*-phenylazoanilineの分解物であるaniline並びに1,4-phenylenediamineを含んだ23種を測定する手順を以下、方法Aという。*p*-phenylazoanilineを測定する手順を以下、方法Bという。また、方法A及び方法Bのフローチャートを図1に示す。*p*-phenylazoanilineは、方法Aにおいてaniline又は1,4-phenylenediamineを5 µg/g以上検出した場合に方法Bにより定量した。

試料を還元する前に、以下の操作を行った。分散染料が使用されていない天然繊維製品は、抽出操作を行わず細切した試料1 gをメタノールに浸漬した。分散染料が使用されている化学繊維製品は、還流冷却器内に試料1 gを宙ぶりに設置し、クロロベンゼン25 mLを加えて30分間還流を行った後、還流抽出液のクロロベンゼンを除去し、残渣をメタノールで溶解させた。革製品は、細切した試料1 gにヘキサン20 mLを加え、40°Cで20分間超音波処理した後、ヘキサンを除去する操作を2回行い、乾燥させることにより脱脂を行った。

以後の操作は、方法Aと方法Bで異なる。方法Aでは、以下のとおりである。繊維製品の還元操作は、0.06 mol/L クエン酸緩衝液 (pH 6) 15 mLを加え70°Cで30分間加温し、200 mg/mL亜ジチオン酸ナトリウム水溶液3 mLを加えて、70°Cで30分間加温した。革製品の還元操作は、0.06 mol/L クエン酸緩衝液 (pH 6) 17 mLを加え、70°Cで25分間加温した後、200 mg/mL亜ジチオン酸ナトリウム水溶液1.5 mLを加え、70°Cで10分間加温後、更に亜ジチオン酸ナトリウム水溶液を1.5 mL加え、70°Cで10分間加温した。分離抽出操作は、繊維製品と革製品いずれも、珪藻土カラムを用いた。アルカリによりPAAsのアミノ基の解離を抑え、分子型にするため、繊維製品では10%水酸化ナトリウム水溶液0.2 mLを加えカラムに負荷し、革製品では、カラム負荷後、20%水酸化ナトリウム/メタノール溶液1 mLを加えた。どちらも、メチル-*tert*-ブチルエーテル80 mLで溶出し、濃縮したものを試験溶液とした。

方法Bでは、還元操作は、繊維製品及び革製品いずれも2%水酸化ナトリウム水溶液9 mL及び200 mg/mL 亜ジチオン酸ナトリウム水溶液1 mLを加え、40°Cで30分間加温した。分離抽出操作は、還元操作で加えた水酸化ナトリウム水溶液及び亜ジチオン酸ナトリウム水溶液の約10 mLの混合液に、メチル-*tert*-ブチルエーテル5 mL、塩化ナトリ

表1. 測定対象物質一覧

No.	化合物名	方法 (A/B)	定量イオン (<i>m/z</i>)
1	2-Methyl-4-(2-triazo)aniline ^{*1}	A	-
2	<i>o</i> -Toluidine ^{*1}	A	106
3	2,4-Dimethylaniline	A	121
4	2,6-Dimethylaniline	A	121
5	<i>o</i> -Anisidine	A	123
6	<i>p</i> -Chloroaniline	A	127
7	2-Methoxy-5-methylaniline	A	122
8	2,4,5-Trimethylaniline	A	120
9	<i>p</i> -Phenylazoaniline ^{*2}	B	197
(9)	(1,4-phenylenediamine) ^{*2}	A	108
(9)	(Aniline) ^{*2}	A	93
10	4-Chloro-2-methylaniline	A	141
11	2-Methyl-5-nitroaniline ^{*3}	A	-
12	2,4-Diaminotoluene ^{*3}	A	121
13	2,4-Diaminoanisole	A	123
14	2-Naphthylamine	A	115
15	4-Aminodiphenyl	A	169
16	4,4-Diaminodiphenylether	A	200
17	4,4-Methylenedianiline	A	198
18	Benzidine	A	184
19	4,4-Diamino-3,3-dimethyldiphenylmethane	A	226
20	3,3-Dimethylbenzidine	A	212
21	4,4-Diaminodiphenylsulphyde	A	216
22	3,3-Dichloro-4,4-dimethyldiphenylmethane	A	266
23	3,3-Dichlorobenzidine	A	252
24	3,3-Dimethoxybenzidine	A	244

*1: 2-methyl-4-(2-triazo)aniline は前処理で分解するため規制対象の *o*-toluidine (分解物) を測定する。

*2: *p*-phenylazoaniline は前処理で分解するため、規制対象外である 1,4-phenylenediamine と aniline (分解物) を測定する。

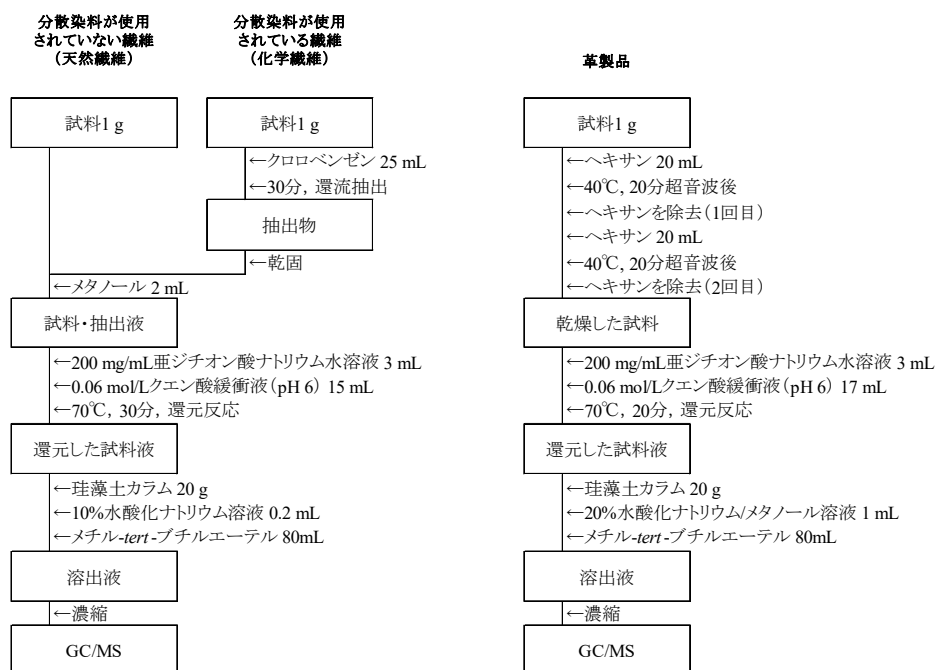
*3: 2-methyl-5-nitroaniline は前処理で分解するため規制対象の 2,4-diaminotoluene (分解物) を測定する。

ウム7 gを加え、45分間振とう後、メチル-*tert*-ブチルエーテル層を分取し、試験溶液とした。

4. 測定条件

GC-MSは、7890B GC / 5977A MSD (Agilent製) を用いた。装置の分析条件は、省令³⁾の条件のとおり、カラムは、DB-35MS (0.25 mm i.d., ×30 m, 膜厚0.25 µm, Agilent製) を用い、注入口温度は250°C、昇温プログラムは、55°C (5 min) - 15°C/min - 230°C - 5°C/min - 290°C - 20°C/min - 310°C (5 min), キャリアガス及び流速は、ヘリウムを1

方法A



方法B

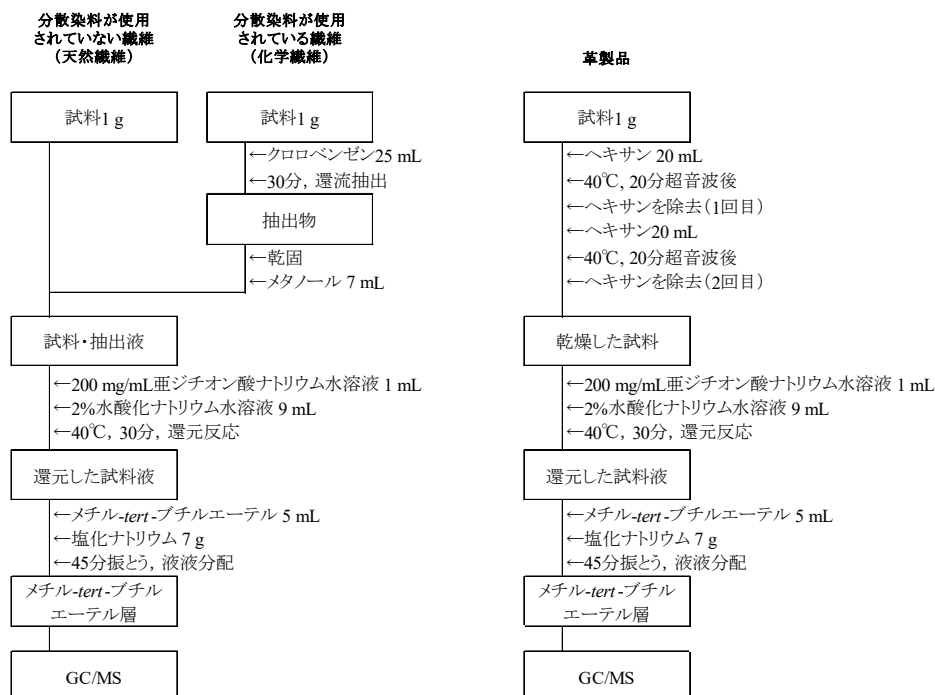


図 1. 家庭用品規制法における PAAs の分析フロー

方法 A: 23 物質 (*p*-phenylazoaniline 以外) の分析手順, 方法 B: *p*-phenylazoaniline の分析手順

mL/min とした。

HPLC-PDAは, ACQUITY UPLC H-Class (Waters製) を用いた。分析条件は, 省令³⁾及び河上らの方法⁵⁾に従い, カラムはZORBAX Eclipse XDB-C18 (4.6 mm i.d., ×150 mm, 粒子径3.5 μm, Agilent製), カラムオープン温度は, 32°C,

移動相Aは, リン酸二水素カリウム 0.68 gを1 Lの水に溶解させた後にメタノール150 mLを加えたもの, 移動相Bはメタノールを用いた。グラジエント条件は, B 10% - 2%/min - B 55% - 8 %/min - B 95% (1min) とした。流速は0.6 mL/min, 測定波長は200 nm~600 nmとした。

結果及び考察

1. 検出状況

2016年度から2019年度に搬入された29製品について、検査実施件数と違反件数の内訳を製品の形態別で表2に示す。また、これら製品から採取した材料ごとの検査件数及び違反件数を表3に示す。2018年度に実施した革製品1製品が違反となった。また、全国でも同様の検査が777件実施されていたが、全国初となる違反事例となった。

2. 革製品違反事例

2018年度に検査した婦人用革手袋（図2）の革部分（革：薄紫色）と裏地（化学繊維：黒色）を分けて測定したところ、革部分から154 µg/gの benzidine（基準値30 µg/g）が検出された。なお、裏地からは検出されなかった。benzidineは人に対する発がん性が認められており、IARC（International Agency for Research on Cancer）で、「benzidine」とアゾ染料である「benzidine, dyes metabolized to」のいずれもがGroup 1に分類されている。benzidineを含めPAAsの有害性については、家庭用品規制法のみならず、本年新たに制定されたJIS T9001（医療用及び一般用マスクの性能要件及び試験方法）等においても、マスクに対する基準が示されるなど、社会的な注目が集まっている⁹⁾。アゾ染料の規制は、今後も違反となる製品が流通するおそれがあることから、継続して調査していく必要がある。

1) GC/MSによる分析

違反となった製品の試験溶液の分析結果を図3に示す。保持時間24.6分のピークは、標準品のbenzidineと保持時間及びマススペクトルが一致した。また、確認のため、得られたマススペクトルをNISTライブラリで検索したところ規制対象外の構造異性体である*p*-aminodiphenylamineのマ

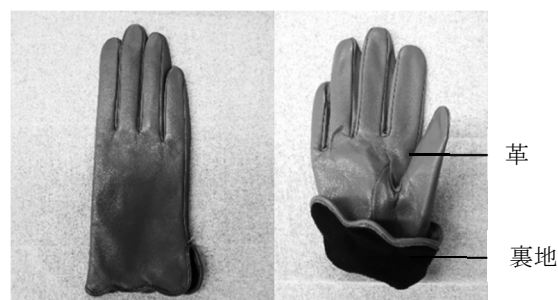


図2. 違反となった製品

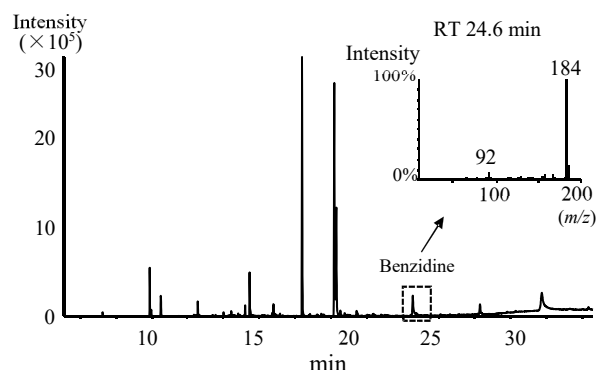


図3. 違反となった製品のトータルイオンクロマトグラム及びマススペクトル

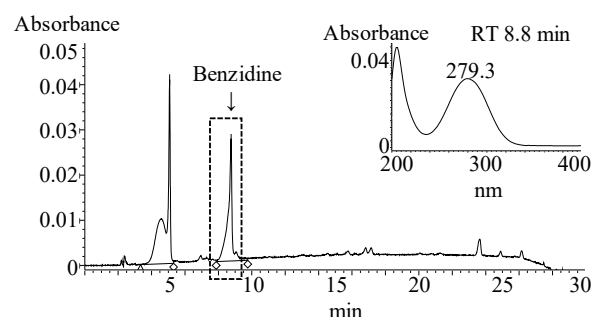


図4. 違反となった製品のLC/PDAクロマトグラム及びPDAスペクトル

ススペクトルとも一致していたことから、判別を行った。*p*-aminodiphenylamine標準品を分析したところ、保持時間は21.7分であり、benzidineと明らかに異なっていた。

2) LC/PDAによる分析

違反となった製品の試験溶液の分析結果を図4に示す。保持時間 8.8 分のピークは、benzidine の標準品と保持時間及び PDA スペクトルが一致し、279.3 nm に極大吸収を示した。また、GC/MS でスペクトルが類似していた *p*-aminodiphenylamine は、保持時間が 15.9 分、極大吸収は 282.9 nm であり、benzidine と明らかに異なっていた。

3) 定量値

上記の結果から、製品から検出された化合物は benzidine であると判定した。その製品から試料を採取（n=4）し、GC/MS で定量を行った結果、benzidine の濃度

表2. 製品の形態別、検査実施件数と違反件数

製品	検査実施件数 (件数比率)	違反件数
えり飾り	8 (28%)	0
タオル	7 (24%)	0
手袋	8 (28%)	1
中衣	4 (14%)	0
外衣	1 (3%)	0
寝具	1 (3%)	0

表3. 製品の材料別、PAAsの違反件数と検査件数

材料	検査結果（違反件数 / 検査件数）				
	2016	2017	2018	2019	計
天然繊維	0 / 7	0 / 6	0 / 5	0 / 6	0/24
化学繊維	0 / 0	0 / 0	0 / 2	0 / 1	0/3
革	0 / 0	0 / 2	1 / 2	0 / 2	1/6
計	0/7	0/8	1/9	0/9	1/33

表 4. 分析法の違いによる benzidine 定量値

分析法	平均値 ($\mu\text{g/g}$)	標準偏差 ($\mu\text{g/g}$)	変動係数 (%)
GC/MS	154	14	9
LC/PDA	160	12	7

は 154 $\mu\text{g/g}$ であり、基準値の 5 倍以上の値であった (表 4)。また、省令³⁾に記載されている確認試験法の LC/PDA による定量値と比較したところ、複雑なマトリクスであり、測定原理が異なるにもかかわらず、定量値はほとんど同じであった。

GC/MS による定量の結果は、製品の染色の不均一さに加え、アゾ染料から PAAs に還元する反応の収率の違いなどにより、ばらつきが生じたと考える。変動係数は 9% であったが、現在、家庭用品規制法の法改正に向けた検討がされている他規制物質の評価においては、10%未満であることを目標に管理していることから⁹⁾、今回の分析結果は、妥当であると考えられる。

4) 方法 A と方法 B における benzidine の生成量

p-phenylazoaniline はアゾ基を有しており、方法 A では aniline 及び 1,4-phenylenediamine へと分解する。このため省令³⁾は、方法 A によってこれらの分解物のどちらかが一定量検出された場合には、より還元条件が緩和である方法 B によって、*p*-phenylazoaniline を分析することを規定している。

PAAs の検査においては、日本産業規格 JIS L 1940^{7,8)}で、回収実験の手順が規定されている。しかし、標準となるアゾ染料を用いる回収手順ではなく、PAAs を添加する手順で標準化されている。このため、方法 A と方法 B との間で、アゾ染料の還元効率の違いがあることは想定されるが、PAAs の測定値に及ぼす影響については、情報が十分でない。そこで、方法 A における benzidine の定量値と方法 B における benzidine の定量値を比較した。その結果、方法 B における定量値は、107 $\mu\text{g/g}$ ($n=2$) で、方法 A の定量値 154 $\mu\text{g/g}$ に対し、7割程度であった。benzidine を測定する場合には、還元効率が高い方法 A が適切であることが確認された。

ま と め

家庭用品規制法に基づきアゾ染料の試験検査を 2016 年から 2019 年まで期間に 29 製品実施し、革製品 1 製品から benzidine が検出され違反となった。

今回の GC/MS による benzidine の分析において、構造異性体で規制対象外である *p*-aminodiphenylamine のマススペクトルが酷似していたことから定性を行ったが、PAAs の分析においては、GC や LC による保持時間やスペクトルを利用し、慎重に構造異性体の識別を行うことが必要と考える。

アゾ染料の規制は、今後も違反となる製品が流通するおそれがあることから、継続して調査していく必要がある。

文 献

- 1) Ahlström, L. H., Eskilsson, C. S., Björklund, E.: *TrAC*, **24**, 49-56, 2005.
- 2) 有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律，昭和 48 年 10 月 12 日，法律第 112 号。
- 3) 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一部を改正する省令，平成 27 年 7 月 9 日，厚生労働省令第 124 号。
- 4) 厚生労働省医薬・生活衛生局審査管理課化学物質安全対策室長：薬生化発 0620 第 10 号，化学的变化により容易に特定芳香族アミンを生成するアゾ化合物を含有する家庭用繊維製品等について（通知），平成 28 年 6 月 20 日改正。
- 5) 河上強志，伊佐間和郎，五十嵐良明：国立医薬品食品衛生研究所報告，**132**, 57-66, 2014.
- 6) 大嶋智子，西以和貴，田原麻衣子，他：厚生労働科学研究「家庭用品中有害物質の試験法及び基準に関する研究する研究」，2019.
- 7) 日本産業標準調査会：繊維製品—アゾ色素由来の特定芳香族アミンの定量方法—第 3 部：4-アミノアゾベンゼンを放出するアゾ色素の使用の検出，JIS L1940-3，日本規格協会，東京。
- 8) 日本産業標準調査会：繊維製品—アゾ色素由来の特定芳香族アミンの定量方法—第 1 部：繊維の抽出及び非抽出による特定アゾ色素の使用の検出 JIS L1940-1，日本規格協会，東京。
- 9) 日本産業標準調査会：医療用及び一般用マスクの性能要件及び試験方法繊維製品，JIS T9001，日本規格協会，東京。

**Inspection Results of Regulated Primary Aromatic Amines in Household Products in Tokyo
(April 2016–March 2020)**

Ryota INABA^a, Hiroko SHIODA^a, Ikuo SUZUKI^b, Hiroyuki KOMINE^a, Miki SATOH^a, Masao YOSHIDA^a, Jin SUZUKI^a,
Toshinari SUZUKI^a, Akiko INOMATA^a and Takako MORIYASU^a

Azo colorants with azo bonds are widely used for dyeing textiles and leather products. Azo colorants undergo reduction catalyzed by intestinal bacteria and hepatic microsome enzymes. Some aromatic amines are carcinogenic or possibly carcinogenic. In Japan, since 2016, 24 aromatic amines have been designated as primary aromatic amines under the Law Concerning the Control of Household Products Containing Harmful Substances, and the use of azo colorants that produce primary aromatic amines is regulated. From April 2016 to March 2020, 23 textile and 6 leather products commercially available in Tokyo were inspected under this law. As a result, one leather product was found to contain 154 µg/g benzidine; this was the first finding of an illegal product in Japan. Continued inspections are necessary to prevent the distribution of illegal products in the future.

Keywords: household products, Azo colorants, leather products, textile products, carcinogenic substances, GC/MS, HPLC/PDA

^a Tokyo Metropolitan Institute of Public Health,
3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073, Japan

^b Tokyo Metropolitan Government Building,
2-8-1, Nishi-shinjuku, Shinjuku-ku, Tokyo 163-8001, Japan