

1 特定芳香族アミンの試験方法について  
2  
3

- 4 ① 繊維製品 4-アミノアゾベンゼン以外の特定芳香族アミン（例：2-アミノ-1-メチルベ
- 
- 5 ンゼン（別名：o-トルイジン））
- 
- 6

7 左に掲げる家庭用品は、次の試験法による試験に適合しなければならない。  
8

## 9 1 試料の調製

10 身体と接触する繊維の部分を試料とする。なお、白色の繊維は除外する。繊維製品に  
11 用いられている染料の種類によって、以下のとおり試料を調製する。

## 12 (1) 分散染料が使用されていない繊維製品

13 天然繊維からのみ構成されている繊維製品又は分散染料が使用されていない化学繊  
14 維から構成される繊維製品は、細かく切ったものを試料とする。

## 15 (2) 分散染料が使用されている繊維製品

16 分散染料が使用されている若しくはその可能性がある化学繊維から構成される繊維  
17 製品又はそのような化学繊維から構成される部分が天然繊維から構成されている部分  
18 と分離できない繊維製品については、細長く短冊状に切ったものを試料とする。  
19

## 20 2 試験溶液の調製

## 21 (1) 分散染料が使用されていない繊維製品

22 1(1)の試料 1.0 g をガラス製で密栓できる容器（以下「反応容器」という。）に正確  
23 に量り採り、メタノール 2 ml を加える。その後、あらかじめ 70℃ に加温しておいたク  
24 エン酸緩衝液（pH 6.0）15 ml を反応容器に入れ密栓し、70±2℃ で 30 分間加温する。  
25 次に、亜ジチオン酸ナトリウム水溶液 3 ml を加えて密栓し激しく振り混ぜた後、  
26 70±2℃ で 30 分間加温する。次に試料の入った反応容器を 2 分以内に 20～25℃ まで冷  
27 却する。次に、この液に水酸化ナトリウム水溶液 0.2 ml を加えて、激しく振り混ぜた  
28 後、ケイソウ土カラムに流し込み、15 分間放置する。次にメチル-tert-ブチルエーテ  
29 ル 10 ml を反応容器に入れ、激しく振り混ぜ、そのメチル-tert-ブチルエーテルを残  
30 留物とともに、ケイソウ土カラムに流し込み、溶出液をナス型フラスコ等に採る。さ  
31 らに、メチル-tert-ブチルエーテル 10 ml で反応容器を洗い、その洗液をケイソウ土  
32 カラムに流し込む。次に、メチル-tert-ブチルエーテル 60 ml をケイソウ土カラムに  
33 流し込む。その液について、ロータリーエバポレーターを用いて 50℃ 以下で乾固しな  
34 いように約 1 ml まで濃縮する。これをメスフラスコに移しメチル-tert-ブチルエーテ  
35 ルを加えて 2～10 mL の範囲で一定量に正確に定容したものを試験溶液とする。  
36

## 37 (2) 分散染料が使用されている繊維製品

38 1(2)の試料 1.0 g を正確に量り採り、還流冷却器内に、沸騰した抽出液に直接触れ

39 ないよう、かつ、冷却凝縮した抽出液が十分に試料に浸潤するように、試料を宙づり  
40 に設置する。ナス型フラスコ等にクロロベンゼンを 25 ml 以上加えて加温し、クロロ  
41 ベンゼンが沸騰、凝縮し、抽出が開始してから 30 分間還流を行う。還流後、この抽出  
42 液を 20~25℃まで冷却したのち、ロータリーエバポレーターを用いて少量の残さにな  
43 るまで濃縮する。その後、メタノール 1 ml ずつ 2 回に分けてこれを反応容器に移す。  
44 その際、1 回ごとに超音波浴を用いて色素を分散させる。さらに、試料を還流冷却器内  
45 から取り出し、試料が完全に脱色されている場合には試料を破棄する。また、試料が  
46 脱色されていない場合には、n-ペンタン又はメチル-tert-ブチルエーテルを用いて試  
47 料に残留するクロロベンゼンを洗い、除去して乾燥させた後、細かく切り、前述のメ  
48 タノール溶液の入っている反応容器に加える。次に、あらかじめ 70℃に加温したクエ  
49 ン酸緩衝液 15 ml を反応容器に入れ密栓し、70±2℃で 30 分間加温する。次に、亜ジ  
50 チオン酸ナトリウム水溶液 3 ml を加えて、密栓して激しく振り混ぜ、70±2℃で 30 分  
51 間加温した後、試料の入った反応容器を 2 分以内に 20~25℃まで冷却する。次に、こ  
52 の液に水酸化ナトリウム水溶液 0.2 ml を加えて、激しく振り混ぜた後、ケイソウ土カ  
53 ラムに流し込み、15 分間放置する。次に、メチル-tert-ブチルエーテル 10 ml を反応  
54 容器に入れ激しく振り混ぜ、そのメチル-tert-ブチルエーテルを残留物とともに、ケ  
55 イソウ土カラムに流し込み、溶出液をナス型フラスコ等に採る。さらに、メチル-tert-  
56 ブチルエーテル 10 ml で反応容器を洗い、その洗液をケイソウ土カラムに流し込む。  
57 次に、メチル-tert-ブチルエーテル 60 ml を珪藻土カラムに流し込み、その液につい  
58 て、ロータリーエバポレーターを用いて 50℃以下で乾固しないように約 1 ml まで濃縮  
59 する。これをメスフラスコに移しメチル-tert-ブチルエーテルを加えて 2~10 ml の範  
60 囲で一定量に正確に定容したものを試験溶液とする。

### 61 62 3 試験

63 ガスクロマトグラフ質量分析計を用いる。o-トルイジン標準液及び試験溶液をそれ  
64 ぞれ正確に 1 ml 試験管に採り、内部標準液 50 μl を加え、それぞれの試験管から 1  
65 ~2 μl を採り、次の操作条件で試験を行う。このとき、標準液の採取量と試料溶液の  
66 採取量は同量とする。試験溶液を測定し、得られたクロマトグラム上で、標準液の o-  
67 トルイジンのモニターイオンのピークと保持時間が一致するピークが存在する場合には、  
68 o-トルイジンに相当するピーク面積の内部標準物質のピーク面積に対する比 (Rt)  
69 を求める。同時に、標準液において得られたクロマトグラム上での o-トルイジンのピ  
70 ーク面積の内部標準物質のピーク面積に対する比 (Rs) を求める。このとき、次式に  
71 より計算する試料 1 g についての o-トルイジンの量は、30 μg 以下でなければならない。  
72 い。

73  
74 試料 1 g についての o-トルイジン含有量 (μg) = K × (Rt/Rs) × 試験溶液の液量 (ml)  
75 × (1/試料採取量 (g))  
76 ただし K: o-トルイジン標準液の濃度 (μg/ml)

77 操作条件

78 原則として、次の条件で操作すべきであるが、使用する装置、カラム等により、クロマ  
79 トグラム上で確認試験の対象となった物質とそれ以外の物質のピークが重複しないような  
80 条件を適切に選択することが望ましい。

81 カラム管 内径 0.25 mm、長さ 30 m、膜厚 0.25  $\mu\text{m}$  の 35%フェニルメチルポリシロキサン  
82 を液相とするキャピラリーカラムを用いる。

83 カラム温度 55°Cで5分間保持し、その後毎分 15°Cで 230°Cまで昇温した後、290°Cまで  
84 毎分 5°Cで昇温し、さらに 310°Cまで毎分 20°Cで昇温させ、310°Cに到達後、5分間保  
85 持する。

86 試験溶液注入口温度 250°C

87 キャリアーガス 高純度ヘリウムを用いる。o-トルイジンが約 10~11 分で流出する流速  
88 に調整する。

89 注入方法 スプリットレス又はスプリット

90 モニターイオン 原則として「o-トルイジン 106」を選択すべきであるが、使用する装置  
91 カラム等により、対象とする物質に特異性が高く、かつ、イオン強度が高いフラグメ  
92 ントイオンを適切に選択する。

93

94 4 確認試験

95 「3 試験」において試料 1 g についての o-トルイジンの量が 30  $\mu\text{g}$  を超えて検出された  
96 場合には、次の (1) 及び (2) の試験により、これが o-トルイジンによるものであること  
97 を確認しなければならない。

98 (1) ガスクロマトグラフ質量分析法

99 ガスクロマトグラフ質量分析法において、試料溶液をスキャンモード (範囲  $[m/z]=60$   
100 ~300) で測定し得られた o-トルイジンのマススペクトルと、標準液を同様にして測定し  
101 た際のマススペクトルが一致することを確認しなければならない。

102 (2) 高速液体クロマトグラフ法

103 2 試験によって得られた試験溶液及び o-トルイジン標準液をそれぞれ 5~20  $\mu\text{l}$  採り、  
104 次の操作条件で試験を行う。試験溶液のクロマトグラム上に、o-トルイジン標準液のピー  
105 クと保持時間が一致する保持時間を持つピークが存在しなくてはならない。

106 操作条件

107 原則として、次の条件で操作すべきであるが、使用する装置、カラム等により、クロマ  
108 トグラム上で o-トルイジンとそれ以外の物質のピークが重複しないような条件を適切に選  
109 択することが望ましい。

110 カラム管 内径 4.6  $\mu\text{m}$ 、長さ 150 mm のステンレス管を用いる。

111 カラム充填剤 粒径 3~5  $\mu\text{m}$  のオクタデシルシリル化シリカゲルを用いる。

112 カラム温度 30~40°C

113 検出器 紫外可視検出器

114 検出波長 240、280、305、380 nm 等

- 115 移動相 溶離液①：溶離液②=90：10～5：95  
116 (溶離液①：リン酸二水素カリウム 0.68 gを精製水に溶解し全量を 1000 ml とした後  
117 に、メタノール 150 mL を加えたもの、溶離液②：メタノール)  
118 流速 毎分 0.6～2.0 ml  
119
- 120 5 試薬、標準液等
- 121 (1) メチル-tert-ブチルエーテル  
122 日本工業規格試薬特級を用いる。
- 123 (2) クロロベンゼン  
124 日本工業規格試薬特級を用いる。
- 125 (3) メタノール  
126 日本工業規格試薬特級を用いる。
- 127 (4) n-ペンタン  
128 日本工業規格試薬特級を用いる。
- 129 (5) 水酸化ナトリウム水溶液  
130 水酸化ナトリウム (日本工業規格試薬特級) 10 g を精製水 90 ml に溶解させたも  
131 のを用いる。
- 132 (6) 精製水  
133 日本薬局方精製水を用いる。
- 134 (7) クエン酸緩衝液  
135 クエン酸一水和物 (日本工業規格試薬特級) 12.526 g 及び水酸化ナトリウム (日  
136 本工業規格試薬特級) 6.320 g を精製水に溶かし、1000 ml とする。この緩衝液はク  
137 エン酸として 0.06 mol/l、pH=6.0 である。
- 138 (8) 亜ジチオン酸ナトリウム水溶液  
139 亜ジチオン酸ナトリウム (日本工業規格試薬特級) 20 g を精製水に溶かし、100 ml  
140 としたものをを用いる。用時調製する。
- 141 (9) ケイソウ土カラム  
142 内径 25～30 mm、長さ 130～150 mm で先端にガラスフィルターが装着されたガラ  
143 スまたはポリプロピレン製カラムにケイソウ土 20 g を詰めたものをを用いる。自ら充  
144 填するか、同等の充填済み製品を使用する。
- 145 (10) o-トルイジン標準液  
146 o-トルイジンを 10 mg を正確に量り採り、メタノールを加えて溶解し正確に 10 ml  
147 とする。ここから 1 ml を採り、メタノールで正確に 10 ml とする。その 3 ml を正  
148 確に採り、メチル-tert-ブチルエーテルで正確に 10 ml とする。さらに、ここから  
149 1 ml を正確に採りメチル-tert-ブチルエーテルで正確に「2(1)分散染料が使用され  
150 ていない繊維製品」または「2(2)分散染料が使用されている繊維製品」の試験操作  
151 において調製した試験溶液の液量と同じ容量に定容したものを o-トルイジン標準  
152 液とする。

153 (11) 内部標準液

154 内部標準物質として、そのモニターイオンが対象物質に含有される他の芳香族ア  
155 ミン等のフラグメントイオンとクロマトグラム上で重複しないようなものを選択す  
156 る。ナフタレン-d<sub>8</sub>、ベンジジン-d<sub>8</sub>、アントラセン-d<sub>10</sub>等が使用できる。その内部標  
157 準物質を正確に 10 mg 採り、メタノールで正確に 10 ml とする。その 2 ml を採り、  
158 メチル-tert-ブチルエーテルで正確に 10 ml とする。さらに、その 1~5 ml を採り、  
159 メチル-tert-ブチルエーテルで正確に 10 ml としたものを内部標準液とする。

160 (12) 高純度ヘリウム

161 純度 99.999%以上のものを用いる。

162

163 ② 繊維製品 4-アミノアゾベンゼン

164

165 左に掲げる家庭用品は、次の試験に適合しなければならない。

166

167 1 試料の調製

168 身体と接触する繊維の部分を試料とする。なお、白色の繊維は除外する。繊維製品に  
169 用いられている染料の種類によって、以下のとおり試料を調製する。

170 (1) 分散染料が使用されていない繊維製品

171 天然繊維からのみ構成されている繊維製品又は分散染料が使用されていない化学繊維  
172 から構成される繊維製品は、試料を細切し試験に供する。

173 (2) 分散染料が使用されている繊維製品

174 分散染料が使用されている若しくはその疑いのある化学繊維から構成されている繊維  
175 製品又はそのような化学繊維から構成される部分が天然繊維から構成されている部  
176 分と分離できない繊維製品については、2(2)における抽出法に供するため、細長い短  
177 冊状の試料を調製する。

178

179 2 試験溶液の調製

180 (1) 分散染料が使用されていない繊維製品

181 1(1)の試料 1.0 g を反応容器に正確に量り採り、メタノール 2 ml を加える。その後、  
182 あらかじめ 70°C に加温しておいたクエン酸緩衝液 15 ml を反応容器に入れ密栓し、70  
183 ±2°C で 30 分間加温する。30 分経過後、亜ジチオン酸ナトリウム水溶液 3 ml を加え密  
184 栓し強く振とうした後、70±2°C で 30 分間加温する。30 分経過後、試料の入った反応  
185 容器を 2 分以内に 20~25°C まで冷却する。次に、この液に 10%水酸化ナトリウム水溶  
186 液 0.2 ml を加え、激しく振とうした後、ケイソウ土カラムに流し込み、15 分間放置す  
187 る。次に、メチル-tert-ブチルエーテル 10 ml を反応容器に入れ激しく振とうし、そ  
188 のメチル-tert-ブチルエーテルを残留物とともに、ケイソウ土カラムに流し込み、溶  
189 出液をナス型フラスコ等に採る。さらに、メチル-tert-ブチルエーテル 10 ml で反応  
190 容器を洗い、その洗液をケイソウ土カラムに流し込む。次に、メチル-tert-ブチルエ  
191 ーテル 60 ml をケイソウ土カラムに流し込む。その液について、ロータリーエバポレ  
192 ーターを用いて 50°C 以下で乾固しないように約 1 ml まで濃縮する。これをメスフラス  
193 コに移しメチル-tert-ブチルエーテルを加えて 2~10 mL の範囲で一定量に正確に定容  
194 したものを試験溶液とする。

195

196 (2) 分散染料が使用されている繊維製品

197 1(2)の試料 1.0 g を正確に量り採り、還流冷却器内に、沸騰した抽出液に直接触れ  
198 ないよう、かつ、冷却凝縮した抽出液が十分に試料に浸潤するように、試料を宙づり  
199 に設置する。ナス型フラスコ等に抽出溶媒としてクロロベンゼンを 25 ml 以上加えて  
200 加温し、クロロベンゼンが沸騰し、凝縮し、抽出が開始してから 30 分間還流を行う。

201 還流後、この抽出液を 20~25℃まで冷却したのち、ロータリーエバポレーターを用い  
202 て少量の残さになるまで濃縮する。その後、メタノール 1 ml ずつ 2 回に分けてこれを  
203 反応容器に移す。その際、1 回ごとに超音波浴を用いて色素を分散させる。さらに、試  
204 料を還流冷却器内から取り出し、試料が完全に脱色されている場合には試料を破棄す  
205 る。また、試料が脱色されていない場合には、n-ペンタン又はメチル-tert-ブチルエ  
206 ーテルを用いて試料に残留するクロロベンゼンを洗い、除去して乾燥させた後、細か  
207 く切り、前述のメタノール溶液の入っている反応容器に加える。次に、あらかじめ 70℃  
208 に加温しておいたクエン酸緩衝液 15 ml を反応容器に入れ密栓し、70±2℃で 30 分間  
209 加温する。30 分経過後、亜ジチオン酸ナトリウム水溶液 3 ml を加え密栓し強く振とう  
210 した後、70±2℃で 30 分間加温する。30 分経過後、試料の入った反応容器を 2 分以内  
211 に 20~25℃まで冷却する。次に、この液に 10%水酸化ナトリウム水溶液 0.2 ml を加え、  
212 激しく振とうした後、ケイソウ土カラムに流し込み、15 分間放置する。次に、メチル  
213 -tert-ブチルエーテル 10 ml を反応容器に入れ激しく振とうし、そのメチル-tert-ブ  
214 チルエーテルを残留物とともに、ケイソウ土カラムに流し込み、溶出液をナス型フラ  
215 スコ等に採る。さらに、メチル-tert-ブチルエーテル 10ml で反応容器を洗いし、その  
216 洗液をケイソウ土カラムに流し込む。次に、メチル-tert-ブチルエーテル 60 ml をケ  
217 イソウ土カラムに流し込む。その液について、ロータリーエバポレーターを用いて 50℃  
218 以下で乾固しないように約 1 ml まで濃縮する。これをメスフラスコに移しメチル  
219 -tert-ブチルエーテルを用いて 2~10 ml の範囲で、一定量に正確に定容したものを試  
220 験溶液とする。

221

### 222 3 試験

223 ガスクロマトグラフ質量分析計を用いる。アニリン・1,4-フェニレンジアミン混合標  
224 準液及び試験溶液をそれぞれ 1 ml 試験管に採り、内部標準液 50 μl を加え混ぜ合わせ  
225 た後、それぞれの試験管から 1~2 μl を採り、試験を行う。このとき、標準液の採取量  
226 と試料溶液の採取量は同じでなければならない。試験溶液を測定し、得られたクロマト  
227 グラム上で、標準液のアニリン又は 1,4-フェニレンジアミンのモニターイオンのピーク  
228 と保持時間が一致するピークが存在する場合には、アニリン又は 1,4-フェニレンジアミ  
229 ンに相当するピーク面積の内部標準物質のピーク面積に対する比 (Rt) を求める。同時  
230 に、アニリン・1,4-フェニレンジアミン混合標準液において得られたクロマトグラム上  
231 でのアニリン又は 1,4-フェニレンジアミンピーク面積の内部標準物質のピーク面積に対  
232 する比 (Rs) を求める。このとき、次式により計算する試料 1 g についての、アニリン  
233 又は 1,4-フェニレンジアミンの量が 5 μg 以上の場合には、次の 4 追加試験を行う。

234 試料 1 g についてのアニリン又は 1,4-フェニレンジアミン含有量 (μg) =  $K \times (Rt/Rs)$   
235  $\times$  試験溶液の液量 (ml)  $\times$  (1/試料採取量 (g))

236 ただし K: アニリン・1,4-フェニレンジアミン混合標準液におけるアニリン又は 1,4-  
237 フェニレンジアミンの濃度 (μg/ml)

238 操作条件

239 原則として、次の条件で操作すべきであるが、使用する装置、カラム等により、クロマ  
240 トグラム上で確認試験の対象となった物質とそれ以外の物質のピークが重複しないよう  
241 な条件を適切に選択することが望ましい。カラム管 内径 0.25 mm、長さ 30 m、膜厚 0.25  
242  $\mu\text{m}$  の 35%フェニルメチルポリシロキサンを液相とするキャピラリーカラムを用いる。  
243 カラム温度 55°Cで 5 分間保持し、その後毎分 15°Cで 230°Cまで昇温した後、290°Cまで毎  
244 分 5°Cで昇温し、さらに 310°Cまで毎分 20°Cで昇温させ、310°Cに到達後 5 分間保持する。  
245 試験溶液注入口温度 250°C  
246 キャリアーガス 高純度ヘリウムを用いる。アニリン及び 1,4-フェニレンジアミンが約 9~  
247 10 分及び約 13~14 分で流出する流速に調整する。  
248 注入方法 スプリットレス又はスプリット  
249 モニターイオン 原則として「アニリン 93」及び「1,4-フェニレンジアミン 108」を選択す  
250 べきであるが、使用する装置カラム等により、対象とする物質に特異性が高く、かつ、  
251 イオン強度が高いフラグメントイオンを適切に選択する。

252

#### 253 4 追加試験

##### 254 (1) 分散染料が使用されていない繊維製品

255 1(1)の試料 1.0 g を反応容器に正確に量り採る。次に、2%水酸化ナトリウム水溶液 9  
256 ml 及び亜ジチオン酸ナトリウム水溶液 1 ml を加え、激しく振とうした後、密栓し、  
257 40 $\pm$ 2°Cで 30 分間加温する。30 分経過後、試料の入った反応容器を 1 分以内に 20~25°C  
258 まで冷却する。次に、反応容器にメチル-tert-ブチルエーテル 5 ml を正確に加え、塩  
259 化ナトリウム 7 g も加える。この液について、振とう機で 1 秒間に約 5 回の速度で 45  
260 分間水平振とうを行う。なお、冷却後から振とう開始までの時間は 5 分を超えないよ  
261 うにする。その後、メチル-tert-ブチルエーテル層を分取し、試験溶液とする。この  
262 際、必要に応じて遠心分離操作を行ってよい。

263

##### 264 (2) 分散染料が使用されている繊維製品

265 1(2)の試料 1.0 g を正確に量り採り、還流冷却器内に、沸騰した抽出液に直接触れ  
266 ないよう、かつ、冷却凝縮した抽出液が十分に試料に浸潤するように、試料を宙づり  
267 に設置する。ナス型フラスコ等に抽出溶媒としてクロロベンゼンを 25 ml 以上加えて  
268 加温し、クロロベンゼンが沸騰、凝縮し、抽出が開始してから 30 分間還流を行う。還  
269 流後、この抽出液を 20~25°Cまで冷却したのち、ロータリーエバポレーターを用いて  
270 少量の残さになるまで濃縮する。その後、メタノール 4 ml を加え、超音波浴を用いて  
271 色素を分散させてから反応容器に移す。さらにメタノール 1 ml でナス型フラスコ等を  
272 3 回洗い、洗液を反応容器に移す。この際、必要に応じて超音波浴を使用する。さらに、  
273 試料を還流冷却器内から取り出し、試料が完全に脱色されている場合には試料を破棄  
274 する。また、試料が脱色されていない場合には、n-ペンタン又はメチル-tert-ブチル  
275 エーテルを用いて試料に残留するクロロベンゼンを洗い、除去し、乾燥させた後に、  
276 1(1)の試料と同様に細かく切り、前述のメタノール溶液の入っている反応容器に加え



277 る。次に、試料溶液に 2%水酸化ナトリウム水溶液 9 ml 及び亜ジチオン酸ナトリウム  
278 水溶液 1 ml を加え密栓し、激しく振とうした後、 $40 \pm 2^\circ\text{C}$ で 30 分間加温する。30 分経  
279 過後、試料の入った反応容器を 1 分以内に  $20 \sim 25^\circ\text{C}$ まで冷却する。次に、これにメチ  
280 ル-tert-ブチルエーテル 5 ml を正確に加え、塩化ナトリウム 7 g も加える。この液に  
281 ついて、振とう機を用いて 1 秒間に約 5 回の速度で 45 分間水平振とうを行う。なお、  
282 冷却後から振とう開始までの時間は 5 分を超えないようにする。その後、メチル  
283 -tert-ブチルエーテル層を分取し、試験溶液とする。この際、必要に応じて遠心分離  
284 操作を行ってよい。

285

### 286 (3) 試験

287 ガスクロマトグラフ質量分析計を用いる。4-アミノアゾベンゼン標準液及び試験溶  
288 液をそれぞれ 1 ml 試験管に採り、内部標準液  $50 \mu\text{l}$  を加え混ぜ合わせた後、それぞ  
289 れの試験管から  $1 \sim 2 \mu\text{l}$  を採り、試験を行う。このとき、標準液の採取量と試料溶液  
290 の採取量は同じでなければならない。試験溶液を測定し、得られたクロマトグラム上  
291 で、標準液の 4-アミノアゾベンゼンのモニターイオンのピークと保持時間が一致する  
292 ピークが存在する場合には、4-アミノアゾベンゼンに相当するピーク面積の内部標準  
293 物質のピーク面積に対する比 ( $R_t$ ) を求める。同時に、標準液において得られたクロ  
294 マトグラム上での 4-アミノアゾベンゼンのピーク面積の内部標準物質のピーク面積に  
295 対する比 ( $R_s$ ) を求める。このとき、次式により計算する試料 1 g についての 4-アミ  
296 ノアゾベンゼンの量は  $30 \mu\text{g}$  以下でなければならない。

297 試料 1 g についての 4-アミノアゾベンゼン含有量 ( $\mu\text{g}$ )  $= K \times (R_t/R_s) \times 5 \times (1/$   
298 試料採取量 (g))

299 ただし K: 4-アミノアゾベンゼン標準液の濃度 ( $\mu\text{g/ml}$ )

### 300 操作条件

301 原則として、次の条件で操作すべきであるが、使用する装置、カラム等により、クロ  
302 マトグラム上で試験の対象となった物質とそれ以外の物質のピークが重複しないよ  
303 うな条件を適切に選択することが望ましい。カラム管 内径 0.25 mm、長さ 30 m、膜  
304 厚  $0.25 \mu\text{m}$  の 35%フェニルメチルポリシロキサンを液相とするキャピラリーカラム  
305 を用いる。

306 カラム温度  $55^\circ\text{C}$ で 5 分間保持し、その後毎分  $15^\circ\text{C}$ で  $230^\circ\text{C}$ まで昇温した後、 $290^\circ\text{C}$ ま  
307 で毎分  $5^\circ\text{C}$ で昇温し、更に  $310^\circ\text{C}$ まで毎分  $20^\circ\text{C}$ で昇温させ、 $310^\circ\text{C}$ に到達後 5 分間保  
308 持する。

309 試験溶液注入口温度  $250^\circ\text{C}$

310 キャリアーガス 高純度ヘリウムを用いる。4-アミノアゾベンゼンが約 21~22 分で流  
311 出する流速に調整する。

312 注入方法 スプリットレス又はスプリット

313 モニターイオン 原則として「4-アミノアゾベンゼン 197」を選択すべきであるが、使  
314 用する装置カラム等により、対象とする物質に特異性が高く、かつ、イオン強度が

315 高いフラグメントイオンを適切に選択する。

316

317 5 確認試験

318 (4 追加試験)において試料1gについての4-アミノアゾベンゼンの量が30 μgを超え  
319 て検出された場合には、次の(1)及び(2)の試験により、これが4-アミノアゾベンゼ  
320 ンによるものであることを確認しなければならない。

321 (1) ガスクロマトグラフ質量分析法

322 ガスクロマトグラフ質量分析法において、試料溶液をスキャンモード(範囲[m/z]=60  
323 ~300)で測定し得られた4-アミノアゾベンゼンのマススペクトルと、標準液を同様にし  
324 て測定した際のマススペクトルが一致することを確認しなければならない。

325 (2) 高速液体クロマトグラフ法

326 2 試験によつて得られた試験溶液及び4-アミノアゾベンゼン標準液をそれぞれ5~20  
327 μl採り、次の操作条件で試験を行う。試験溶液のクロマトグラム上に、4-アミノアゾベ  
328 ンゼン標準液のピークと保持時間が一致する保持時間を持つピークが存在しなくてはな  
329 らない。

330 操作条件

331 原則として、次の条件で操作すべきであるが、使用する装置、カラム等により、クロマ  
332 トグラム上で確認試験の対象となった物質とそれ以外の物質のピークが重複しないような  
333 条件を適切に選択することが望ましい。

334 カラム管 内径 4.6 μm、長さ 150 mm のステンレス管を用いる。

335 カラム充填剤 粒径 3~5 μm のオクタデシルシリル化シリカゲルを用いる。

336 カラム温度 30~40℃

337 検出器 紫外可視検出器

338 検出波長 240、280、305、380 nm 等

339 移動相 溶離液①：溶離液②=90：10~5：95

340 (溶離液①：リン酸二水素カリウム 0.68 g を精製水に溶解し全量を 1000 ml とした後  
341 に、メタノール 150 mL を加えたもの、溶離液②：メタノール)

342 流速 毎分 0.6~2.0 ml

343

344 6 試薬、標準液等

345 (1) メチル-tert-ブチルエーテル

346 日本工業規格試薬特級を用いる。

347 (2) クロロベンゼン

348 日本工業規格試薬特級を用いる。

349 (3) メタノール

350 日本工業規格試薬特級を用いる。

351 (4) n-ペンタン

352 日本工業規格試薬特級を用いる。

- 353 (5) 10%水酸化ナトリウム水溶液  
354 水酸化ナトリウム（日本工業規格試薬特級）10 g を精製水 90 ml に溶解させたもの  
355 を用いる。
- 356 (6) 2%水酸化ナトリウム水溶液  
357 水酸化ナトリウム（日本工業規格試薬特級）2g を精製水 98 ml に溶解させたものを  
358 用いる。
- 359 (7) 精製水  
360 日本薬局方精製水を用いる。
- 361 (8) 塩化ナトリウム  
362 日本工業規格特級を用いる。
- 363 (9) クエン酸緩衝液  
364 クエン酸一水和物（日本工業規格試薬特級）12.526 g 及び水酸化ナトリウム（日本  
365 工業規格試薬特級）6.320 g を精製水に溶かし、1000 ml とする。この緩衝液はクエン  
366 酸として 0.06 mol/l、pH=6.0 である。
- 367 (10) 亜ジチオン酸ナトリウム水溶液  
368 亜ジチオン酸ナトリウム（日本工業規格試薬特級）20 g を精製水に溶かし、100 ml  
369 としたものをを用いる。用時調製する。
- 370 (11) ケイソウ土カラム  
371 内径 25~30 mm、長さ 130~150 mm で先端にガラスフィルターが装着されたガラスま  
372 たはポリプロピレン製カラムにケイソウ土 20 g を詰めたものをを用いる。自ら充填する  
373 か、同等の充填済み製品を使用する。
- 374 (12) 4-アミノアゾベンゼン標準液  
375 4-アミノアゾベンゼン 10 mg を正確に量り採り、メタノールを加えて溶解し正確に  
376 10 ml とする。ここから 1 ml を採り、メタノールで正確に 10 ml とする。その 1 ml を  
377 正確に採り、メチル-tert-ブチルエーテルで正確に 10 ml とする。さらに、ここから 3  
378 ml を正確に採りメチル-tert-ブチルエーテルで正確に 5 ml としたものを 4-アミノア  
379 ズベンゼン標準液とする。
- 380 (13) 内部標準液  
381 内部標準物質として、そのモニターイオンが対象物質に含有される他の芳香族アミ  
382 ン等のフラグメントイオンとクロマトグラム上で重複しないようなものを選択する。  
383 ベンジジン-d8、アントラセン-d10 等が使用できる。その内部標準物質を正確に 10 mg  
384 採り、メタノールで正確に 10 ml とする。その 2 ml を採り、メチル-tert-ブチルエー  
385 テルで正確に 10 ml とする。この溶液を 1~5 ml 採り、メチル-tert-ブチルエーテル  
386 で正確に 10 ml としたものを、内部標準液とする。
- 387 (14) アニリン・1,4-フェニレンジアミン混合標準液  
388 アニリン及び 1,4-フェニレンジアミンをそれぞれ 10 mg を正確に量り採り、メタノ  
389 ールを加えて溶解し正確に 10 ml とする。ここから 1 ml を採り、メタノールで正確に  
390 10 ml とする。その 0.5 ml を正確に採り、メチル-tert-ブチルエーテルで正確に 10 ml

391 とする。さらに、ここから 1 ml を正確に採りメチル-tert-ブチルエーテルで正確に  
392 「2(1)分散染料が使用されていない繊維製品」または「2(2)分散染料が使用されてい  
393 る繊維製品」の試験操作において調製した試験溶液液量と同じ容量に定容したものを  
394 アニリン及び 1,4-フェニレンジアミン混合標準液とする。

395 (15) 高純度ベリウム

396 純度 99.999%以上のものを用いる。

397

398 ③ 革製品 4-アミノアゾベンゼン以外の特定芳香族アミン (例: 2-アミノ-1-メチルベン  
399 ゼン (別名: o-トルイジン))

400

401 左に掲げる家庭用品は、次の試験に適合しなければならない。

402

#### 403 1 試験溶液の調製

404 革試料に接着剤等が使用されている場合には機械的に取り除く。その後、試料を 1 mm  
405 平方以下に細切する。この試料 1.0 g を正確に量り採り、反応容器に入れる。次に、n-  
406 ヘキサン 20 ml を加え、40℃で 20 分間超音波処理する。その後、n-ヘキサンを除去し、  
407 もう一度 n-ヘキサン 20 ml を加えて同様の操作を行う。次に、反応容器の口を開け、局  
408 所排気装置内で一晚放置し、残留 n-ヘキサンを完全に除去する。この反応容器に、あら  
409 かはじめ 70℃に加温しておいたクエン酸緩衝液 17 ml を入れ密栓し、手で振とうした後、  
410 70±2℃で 25 分間加温する。25 分経過後、亜ジチオン酸ナトリウム水溶液 1.5 ml を加え、  
411 70±2℃で 10 分間加温する。10 分経過後、更に亜ジチオン酸ナトリウム水溶液 1.5 ml を  
412 加えた、70±2℃で 10 分間加温する。その後、試料の入った反応容器を 2 分以内に 20~  
413 25℃まで冷却する。この液をケイソウ土カラムに流し込み、15 分間放置する。また、メ  
414 チル-tert-ブチルエーテル 5 ml 及び水酸化ナトリウム・メタノール溶液 1 ml を反応容  
415 器に入れ激しく振とうした後、ケイソウ土カラムに流し込む。更に、メチル-tert-ブチ  
416 ルエーテル 15 ml を反応容器に加え、反応容器と残留物を洗い、洗液をケイソウ土カラ  
417 ムに流し込み、溶出液をナス型フラスコ等に採る。更に、メチル-tert-ブチルエーテル  
418 20 ml を反応容器に入れ同様に洗った後、その洗液をケイソウ土カラムに流し込む。次に、  
419 メチル-tert-ブチルエーテル 40 ml をケイソウ土カラムに流し込む。その液について、  
420 ロータリーエバポレーターを用いて 50℃以下で乾固しないように約 1 ml まで濃縮する。  
421 これをメスフラスコに移しメチル-tert-ブチルエーテルを加えて 2~10 mL の範囲で一定  
422 量に正確に定容したものを試験溶液とする。

423

#### 424 2 試験

425 ガスクロマトグラフ質量分析計を用いる。o-トルイジン標準液及び試験溶液をそれぞ  
426 れ 1 ml 試験管に採り、内部標準液 50 μl を加え混ぜ合わせた後、それぞれの試験管か  
427 ら 1~2 μl を採り、試験を行う。この時、標準液の採取量と試料溶液の採取量は同じで  
428 なければならない。試験溶液を測定し、得られたクロマトグラム上で、標準液の o-トル  
429 イジンのモニターイオンのピークと保持時間が一致するピークが存在する場合には、o-  
430 トルイジンに相当するピーク面積の内部標準物質のピーク面積に対する比 (Rt) を求め  
431 る。同時に、標準液において得られたクロマトグラム上での o-トルイジンのピーク面積  
432 の内部標準物質のピーク面積に対する比 (Rs) を求める。このとき、次式により計算す  
433 る試料 1 g についての o-トルイジンの量は 30 μg 以下でなければならない。

434 試料 1 g についての o-トルイジン含有量 (μg) =  $K \times (R_t/R_s) \times$  試験溶液の液量 (ml)  
435  $\times (1/\text{試料採取量 (g)})$

436  ただしK: o-トルイジン標準液の濃度 ( $\mu\text{g/ml}$ )  
437  操作条件  
438  原則として、次の条件で操作すべきであるが、使用する装置、カラム等により、ク  
439  ロマトグラム上で確認試験の対象となった物質とそれ以外の物質のピークが重複  
440  しないような条件を適切に選択することが望ましい。  
441  カラム管 内径0.25 mm、長さ30 m、膜厚0.25  $\mu\text{m}$ の35%フェニルメチルポリシロキサ  
442  ンを液相とするキャピラリーカラムを用いる。  
443  カラム温度 55°Cで5分間保持し、その後毎分15°Cで230°Cまで昇温した後、290°Cま  
444  で毎分5°Cで昇温し、更に310°Cまで毎分20°Cで昇温させ、310°Cに到達後5分間保  
445  持する。  
446  試験溶液注入口温度 250°C  
447  キャリアーガス 高純度ヘリウムを用いる。o-トルイジンが約10~11分で流出する流  
448  速に調整する。  
449  注入方法 スプリットレス又はスプリット  
450  モニターイオン 原則として「o-トルイジン106」を選択すべきであるが、使用する  
451  装置カラム等により、対象とする物質に特異性が高く、かつ、イオン強度が高い  
452  フラグメントイオンを適切に選択する。  
453  
454  3 確認試験  
455  「2 試験」において試料1 gについてのo-トルイジンの量が30  $\mu\text{g}$ を超えて検出された  
456  場合には、次の(1)及び(2)の試験により、これがo-トルイジンによるものであるこ  
457  とを確認しなければならない。  
458  (1) ガスクロマトグラフ質量分析法  
459  ガスクロマトグラフ質量分析法において、試料溶液をスキャンモード(範囲[m/z]=60  
460  ~300)で測定し得られたo-トルイジンのマススペクトルと、標準液を同様にして測定し  
461  た際のマススペクトルが一致することを確認しなければならない。  
462  (2) 高速液体クロマトグラフ法  
463  2 試験によって得られた試験溶液及びo-トルイジン標準液をそれぞれ5~20  $\mu\text{l}$ 採り、  
464  次の操作条件で試験を行う。試験溶液のクロマトグラム上に、o-トルイジン標準液のピー  
465  クと保持時間が一致する保持時間を持つピークが存在しなくてはならない。  
466  操作条件  
467  原則として、次の条件で操作すべきであるが、使用する装置、カラム等により、クロマ  
468  トグラム上で確認試験の対象となった物質とそれ以外の物質のピークが重複しないような  
469  条件を適切に選択することが望ましい。  
470  カラム管 内径4.6  $\mu\text{m}$ 、長さ150 mmのステンレス管を用いる。  
471  カラム充填剤 粒径3~5  $\mu\text{m}$ のオクタデシルシリル化シリカゲルを用いる。  
472  カラム温度 30~40°C  
473  検出器 紫外可視検出器

- 474 検出波長 240、280、305、380 nm 等  
475 移動相 溶離液①：溶離液②=90：10～5：95  
476 (溶離液①：リン酸二水素カリウム 0.68 g を精製水に溶解し全量を 1000 ml とした後  
477 に、メタノール 150 ml を加えたもの、溶離液②：メタノール)  
478 流速 毎分 0.6～2.0 ml  
479  
480 4 試薬、標準液等  
481 (1) メチル-tert-ブチルエーテル  
482 日本工業規格試薬特級を用いる。  
483 (2) メタノール  
484 日本工業規格試薬特級を用いる。  
485 (3) n-ヘキサン  
486 日本工業規格試薬特級を用いる。  
487 (4) 水酸化ナトリウム・メタノール溶液  
488 水酸化ナトリウム (日本工業規格試薬特級) 20 g をメタノール (日本工業規格試薬  
489 特級) 100 ml に溶解したものを用いる。  
490 (5) 精製水  
491 日本薬局方精製水を用いる。  
492 (6) クエン酸緩衝液  
493 クエン酸一水和物 (日本工業規格試薬特級) 12.526 g 及び水酸化ナトリウム (日本  
494 工業規格試薬特級) 6.320 g を精製水に溶かし、1000 ml とする。この緩衝液はクエン  
495 酸として 0.06 mol/l、pH=6.0 である。  
496 (7) 亜ジチオン酸ナトリウム水溶液  
497 亜ジチオン酸ナトリウム (日本工業規格試薬特級) 20 g を精製水に溶かし、100 ml  
498 としたものを用いる。用時調製する。  
499 (8) ケイソウ土カラム  
500 内径 25～30 mm、長さ 130～150 mm で先端にガラスフィルターが装着されたガラスま  
501 たはポリプロピレン製カラムにケイソウ土 20 g を詰めたものを用いる。自ら充填する  
502 か、同等の充填済み製品を使用する。  
503 (9) o-トルイジン標準液  
504 o-トルイジンを 10 mg を正確に量り採り、メタノールを加えて溶解し正確に 10 ml  
505 とする。ここから 1 ml を採り、メタノールで正確に 10 ml とする。その 3 ml を正確  
506 に採り、メチル-tert-ブチルエーテルで正確に 10 ml とする。さらに、ここから 1 ml  
507 を正確に採り、メチル-tert-ブチルエーテルで正確に「1 試験溶液の調製」において調  
508 製した試験溶液液量と同じ容量に定容したものを o-トルイジン標準液とする。  
509 (10) 内部標準液  
510 内部標準物質として、そのモニターイオンが対象物質に含有される他の芳香族アミ  
511 ン等のフラグメントイオンとクロマトグラム上で重複しないようなものを選択する。

512 ナフタレン-d8 等が使用できる。その内部標準物質を正確に 10 mg 採り、メタノールで  
513 正確に 10 ml とする。その 2 ml を採り、メチル-tert-ブチルエーテルで正確に 10 ml  
514 とする。さらに、その 1~5ml を採り、メチル-tert-ブチルエーテルで正確に 10 ml と  
515 したものを内部標準液とする。

516 (11) 高純度ヘリウム

517 純度 99.999%以上のものを用いる。

518



519 ④ 革製品 4-アミノアゾベンゼン

520

521 左に掲げる家庭用品は、次の試験に適合しなければならない。

522

523 1 試験溶液の調製

524 革試料に接着剤等が使用されている場合には機械的に取り除く。その後、試料を 1 mm  
525 平方以下に細切する。この試料 1.0 g を正確に量り採り、反応容器に入れる。次に、n-  
526 ヘキサン 20 ml を加え、40℃で 20 分間超音波処理する。その後、n-ヘキサンを除去し、  
527 もう一度 n-ヘキサン 20 ml を加えて同様の操作を行う。次に、反応容器の口を開け、局  
528 所排気装置内で一晩放置し残留 n-ヘキサンを完全に除去する。この反応容器に、あらか  
529 じめ 70℃に加温しておいたクエン酸緩衝液 17 ml を反応容器に入れ密栓し、手で振とう  
530 した後、70±2℃で 25 分間加温する。25 分経過後、亜ジチオン酸ナトリウム水溶液 1.5 ml  
531 を加えた後に、70±2℃で 10 分間加温する。10 分経過後、更に亜ジチオン酸ナトリウム  
532 水溶液 1.5 ml を加えた後に、70±2℃で 10 分間加温する。その後、試料の入った反応容  
533 器を 2 分以内に 20~25℃まで冷却する。この液をケイソウ土カラムに流し込み、15 分間  
534 放置する。また、メチル-tert-ブチルエーテル 5 ml 及び水酸化ナトリウム・メタノール  
535 溶液 1 ml を反応容器に入れ激しく振とうした後、ケイソウ土カラムに流し込む。更に、  
536 メチル-tert-ブチルエーテル 15 ml を反応容器に入れ反応容器と残留物を洗い、洗液を  
537 ケイソウ土カラムに流し込み、溶出液をナス型フラスコ等に採る。更に、メチル-tert-  
538 ブチルエーテル 20 ml を反応容器に入れ同様に洗った後、その洗液をケイソウ土カラム  
539 に流し込む。次に、メチル-tert-ブチルエーテル 40 ml をケイソウ土カラムに流し込む。  
540 その液について、ロータリーエバポレーターを用いて 50℃以下で乾固しないように約 1  
541 ml まで濃縮する。これをメスフラスコに移しメチル-tert-ブチルエーテルを加えて 2~  
542 10 mL の範囲で一定量に正確に定容したものを試験溶液とする。

543

544 2 試験

545 ガスクロマトグラフ質量分析計を用いる。アニリン・1,4-フェニレンジアミン混合標  
546 準液及び試験溶液をそれぞれ 1 ml 試験管に採り、内部標準液 50 μl を加え混ぜ合わせ  
547 た後、それぞれの試験管から 1~2 μl を採り、試験を行う。この時、標準液の採取量と  
548 試料溶液の採取量は同じでなくてはならない。試験溶液を測定し、得られたクロマトグ  
549 ラム上で、標準液のアニリン又は 1,4-フェニレンジアミンのモニターイオンのピークと  
550 保持時間が一致するピークが存在する場合にはアニリンまたは 1,4-フェニレンジアミン  
551 に相当するピーク面積の内部標準物質のピーク面積に対する比 (Rt) を求める。同時に、  
552 アニリン・1,4-フェニレンジアミン混合標準液において得られたクロマトグラム上での  
553 アニリンまたは 1,4-フェニレンジアミンピーク面積の内部標準物質のピーク面積に対す  
554 る比 (Rs) を求める。このとき、次式により計算する試料 1 g についての、アニリンま  
555 たは 1,4-フェニレンジアミンの量が 5 μg 以上の場合には、次の 3 追加試験を行う。

556 試料 1 g についてのアニリンまたは 1,4-フェニレンジアミン含有量 (μg) =K×

557  $(Rt/Rs) \times \text{試験溶液の液量液量 (ml)} \times (1/\text{試料採取量 (g)})$   
558 ただし K: アニリン・1,4-フェニレンジアミン混合標準液におけるアニリンまたは1,4-  
559 フェニレンジアミンの濃度 ( $\mu\text{g/ml}$ )  
560 操作条件  
561 原則として、次の条件で操作すべきであるが、使用する装置、カラム等により、ク  
562 ロマトグラム上で試験の対象となった物質とそれ以外の物質のピークが重複しな  
563 いような条件を適切に選択することが望ましい。カラム管 内径0.25 mm、長さ30 m、  
564 膜厚0.25  $\mu\text{m}$ の35%フェニルメチルポリシロキサンを液相とするキャピラリーカ  
565 ラムを用いる。  
566 カラム温度 55°Cで5分間保持し、その後毎分15°Cで230°Cまで昇温した後、290°Cま  
567 で毎分5°Cで昇温し、更に310°Cまで毎分20°Cで昇温させ、310°Cに到達後5分間保  
568 持する。  
569 試験溶液注入口温度 250°C  
570 キャリアーガス 高純度ヘリウムを用いる。アニリン及び1,4-フェニレンジアミンが  
571 約9~10分及び約13~14分で流出する流速に調整する。  
572 注入方法 スプリットレス又はスプリット  
573 モニターイオン 原則として「アニリン 93」及び「1,4-フェニレンジアミン 108」を  
574 選択すべきであるが、使用する装置カラム等により、対象とする物質に特異性が高  
575 く、かつ、イオン強度が高いフラグメントイオンを適切に選択する。  
576  
577 3 追加試験  
578 革試料に接着剤等が使用されている場合には機械的に取り除く。その後、試料を 1 mm  
579 平方以下に細切するこの試料 1.0 g を正確に量り採り、反応容器に入れる。次に、n-ヘ  
580 キサン 20 ml を加え、40°Cで 20 分間超音波処理する。その後、n-ヘキサンを除去する。  
581 このの操作を更に 1 回繰り返す。次に、反応容器の口を開け、局所排気装置内で一晩放  
582 置し残留 n-ヘキサンを完全に除去する。2%水酸化ナトリウム水溶液 9 ml 及び亜ジチオ  
583 ン酸ナトリウム水溶液 1 ml を加え密栓し、激しく振とうした後、 $40 \pm 2^\circ\text{C}$ で 30 分間加温  
584 する。30 分経過後、試料の入った反応容器を 1 分以内に  $20 \sim 25^\circ\text{C}$ まで冷却する。次に、  
585 これにメチル-tert-ブチルエーテル 5 ml を正確に加え、塩化ナトリウム 7 g も加える。  
586 この液について、振とう機を用いて 1 秒間に 5 回の速度で 45 分間水平振とうを行う。な  
587 お、冷却後から振とうまでの時間は 5 分を超えてないようにする。その後、メチル-tert-  
588 ブチルエーテル層を採り試験溶液とする。この際、必要に応じて遠心分離操作を行って  
589 よい。  
590 分析にはガスクロマトグラフ質量分析計を用いる。4-アミノアゾベンゼン標準液及び  
591 試験溶液をそれぞれ 1 ml 試験管に採り、内部標準液 50  $\mu\text{l}$  を加え混ぜ合わせた後、そ  
592 れぞれの試験管から 1 ~ 2  $\mu\text{l}$  を採り、試験を行う。このとき、標準液の採取量と試料溶  
593 液の採取量は同じでなくてはならない。試験溶液を測定し、得られたクロマトグラム上  
594 で、標準液の 4-アミノアゾベンゼンのモニターイオンのピークと保持時間が一致するピ

595 ークが存在する場合には、4-アミノアゾベンゼンに相当するピーク面積の内部標準物質  
596 のピーク面積に対する比 (Rt) を求める。同時に、標準液において得られたクロマトグ  
597 ラム上での 4-アミノアゾベンゼンのピーク面積の内部標準物質のピーク面積に対する比  
598 (Rs) を求める。このとき、次式により計算する試料 1 g についての 4-アミノアゾベン  
599 ゼンの量は 30 μg 以下でなければならない。

600 試料 1 g についての 4-アミノアゾベンゼン含有量 (μg) = K × (Rt/Rs) × 5 × (1/試料  
601 採取量 (g))

602 ただし K : 4-アミノアゾベンゼン標準液の濃度 (μg/ml)

603

#### 604 4 確認試験

605 3 追加試験において試料 1 g についての 4-アミノアゾベンゼンの量が 30 μg を超えて  
606 検出された場合には、次の (1) 及び (2) の試験により、これが 4-アミノアゾベンゼン  
607 によるものであることを確認しなければならない。

608 (1) ガスクロマトグラフ質量分析法

609 ガスクロマトグラフ質量分析法において、試料溶液をスキャンモード (範囲 [m/z]=60  
610 ~300) で測定し得られた 4-アミノアゾベンゼンのマススペクトルと、標準液を同様にし  
611 て測定した際のマススペクトルが一致することを確認しなければならない。

612 (2) 高速液体クロマトグラフ法

613 2 試験によって得られた試験溶液及び 4-アミノアゾベンゼン標準液をそれぞれ 5~20  
614 μl 採り、次の操作条件で試験を行う。試験溶液のクロマトグラム上に、4-アミノアゾベ  
615 ンゼン標準液のピークと保持時間が一致する保持時間を持つピークが存在しなくてはな  
616 らない。

617 操作条件

618 原則として、次の条件で操作すべきであるが、使用する装置、カラム等により、クロマ  
619 トグラム上で確認試験の対象となった物質とそれ以外の物質のピークが重複しないような  
620 条件を適切に選択することが望ましい。

621 カラム管 内径 4.6 μm、長さ 150 mm のステンレス管を用いる。

622 カラム充填剤 粒径 3~5 μm のオクタデシルシリル化シリカゲルを用いる。

623 カラム温度 30~40℃

624 検出器 紫外可視検出器

625 検出波長 240、280、305、380 nm 等

626 移動相 溶離液① : 溶離液② = 90 : 10 ~ 5 : 95

627 (溶離液① : リン酸二水素カリウム 0.68 g を精製水に溶解し全量を 1000 ml とした後  
628 に、メタノール 150 mL を加えたもの、溶離液② : メタノール)

629 流速 毎分 0.6~2.0 ml

630

#### 631 5 試薬、標準液等

632 (1) メチル-tert-ブチルエーテル

- 633 日本工業規格試薬特級を用いる。
- 634 (2)メタノール
- 635 日本工業規格試薬特級を用いる。
- 636 (3) n-ヘキサン
- 637 日本工業規格試薬特級を用いる。
- 638 (4) 水酸化ナトリウム・メタノール溶液
- 639 水酸化ナトリウム（日本工業規格試薬特級）20 g をメタノール 100 ml に溶解させた
- 640 ものを用いる。
- 641 (5)水酸化ナトリウム水溶液
- 642 水酸化ナトリウム（日本工業規格試薬特級）2g を精製水 98 ml に溶解させたものを
- 643 用いる。
- 644 (6) 精製水
- 645 日本薬局方精製水を用いる。
- 646 (7)クエン酸緩衝液
- 647 クエン酸一水和物（日本工業規格試薬特級）12.526 g 及び水酸化ナトリウム（日本
- 648 工業規格試薬特級）6.320 g を精製水に溶かし、1000 ml とする。この緩衝液はクエン
- 649 酸として 0.06 mol/l、pH=6.0 である。
- 650 (8) 亜ジチオン酸ナトリウム水溶液
- 651 亜ジチオン酸ナトリウム（日本工業規格試薬特級）20 g を精製水に溶かし、100 ml
- 652 としたものを調製する。用時調製する。
- 653 (9)ケイソウ土カラム
- 654 内径 25~30 mm、長さ 130~150 mm で先端にガラスフィルターが装着されたガラスま
- 655 たはポリプロピレン製カラムにケイソウ土 20 g を詰めたものを用いる。自ら充填する
- 656 か、同等の充填済み製品を使用する。
- 657 (10)4-アミノアゾベンゼン標準液
- 658 4-アミノアゾベンゼン 10 mg を正確に量り採り、メタノールを加えて溶解し正確に
- 659 10 ml とする。ここから 1 ml を採り、メタノールで正確に 10 ml とする。その 1 ml を
- 660 正確に採り、メチル-tert-ブチルエーテルで正確に 10 ml とする。さらに、ここから 3
- 661 ml を正確に採りメチル-tert-ブチルエーテルで正確に 5 ml としたものを 4-アミノア
- 662 ズベンゼン標準液とする。
- 663 (11)内部標準液
- 664 内部標準物質として、そのモニターイオンが対象物質に含有される他の芳香族アミ
- 665 ン等のフラグメントイオンとクロマトグラム上で重複しないようなものを選択する。
- 666 ベンジジン-d8、アントラセン-d10 等が使用できる。その内部標準物質を正確に 10 mg
- 667 採り、メタノールで正確に 10 ml とする。その 2 ml を採り、メチル-tert-ブチルエー
- 668 テルで正確に 10 ml とする。更に、この溶液を 1~5 ml 採り、メチル-tert-ブチルエー
- 669 テルで正確に 10 ml としたものを内部標準液とする。
- 670 (12) アニリン・1,4-フェニレンジアミン混合標準液

671            アニリン及び 1,4-フェニレンジアミンをそれぞれ 10 mg を正確に量り採り、メタノ  
672            ールを加えて溶解し正確に 10 ml とする。ここから 1 ml を採り、メタノールで正確に  
673            10 ml とする。その 0.5 ml を正確に採り、メチル-tert-ブチルエーテルで正確に 10 ml  
674            とする。さらに、ここから 1 ml を正確に採りメチル-tert-ブチルエーテルで正確に「1  
675            試験溶液の調製」において調製した試験溶液液量と同じ容量に定容したものをアニリ  
676            ン及び 1,4-フェニレンジアミン混合標準液とする。

677            (13) 高純度ヘリウム

678            純度 99.999%以上のものを用いる。

679

