

平成 26 年 6 月 25 日

特定芳香族アミンを生ずるおそれのあるアゾ染料 を含有する家庭用品の規制基準について

1. 規制基準制定の考え方

- アゾ染料は、世界中で広く用いられている染料の一つであり、繊維製品、革製品等の染色に用いられている。近年、アゾ染料の一部は、皮膚表面、腸内の細菌、肝臓等で還元的に分解され、発がん性又はそのおそれが指摘されている特定芳香族アミンを生ずるとの報告があり、現在、EU等においては、特定芳香族アミンを生ずるおそれのあるアゾ染料の使用が禁止されている。
- このような状況を受け、日本に流通する家庭用品（繊維製品及び革製品）について実態調査を行った。具体的には、国立医薬品食品衛生研究所が、家庭用品を試買して、EUの試験法に準じた方法で検査を行った。その結果、平成 20 年度の調査において、繊維製品 86 製品のうち、ランチョンマット 7 製品から、EUの基準値(30 μ g/g)を超えてベンジジン等 3 種類の特定芳香族アミンが検出された。また、平成 23 年度の調査において、繊維製品 31 製品のうち、ショール 1 製品、マルチカバー 3 製品及びシート 3 製品から、EUの基準値(30 μ g/g)を超えてベンジジンが検出された。また、革製品 23 製品のうち、革細工用の端切れ 3 製品から、ベンジジン等 3 種類の特定芳香族アミンが検出された。
- このような実態が判明したことから、我が国においても、特定芳香族アミンを生ずるおそれのあるアゾ染料については、EU等と同様の規制が必要であり、「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、規制基準の制定が必要と考えられる。なお、規制対象とする家庭用品（繊維製品及び革製品（毛皮製品を含む。））については、我が国に流通する当該家庭用品の実態、諸外国の規制状況等を踏まえ、①特に皮膚に長期間接触すると考えられる製品、②上記の実態調査において 30 μ g/g（EUの基準値）を超えて特定芳香族アミンが検出された製品及び③子どもが口に含む等の可能性が高い製品とすることとした。

2. 規制対象物質（有害物質）（案）

以下のいずれかの物質（特定芳香族アミン 24 物質）を生ずるおそれのあるアゾ染料

- 1 4-アミノアゾベンゼン
- 2 2-アミノ-4-ニトロトルエン

- 3 4-アミノビフェニル
- 4 4,4'-オキシジアニリン
- 5 オルト-アニシジン
- 6 オルト-アミノアゾトルエン
- 7 オルト-トルイジン
- 8 2,4-キシリジン
- 9 2,6-キシリジン
- 10 4-クロロ-オルト-トルイジン
- 11 2,4-ジアミノアニソール
- 12 4,4'-ジアミノジフェニルメタン
- 13 3,3'-ジクロロベンジジン
- 14 3,3'-ジメチル-4,4'-ジアミノジフェニルメタン
- 15 3,3'-ジメチルベンジジン
- 16 3,3'-ジメトキシベンジジン
- 17 4,4'-チオジアニリン
- 18 2,4,5-トリメチルアニリン
- 19 2,4-トルイレンジアミン
- 20 2-ナフチルアミン
- 21 パラ-クレシジン
- 22 パラ-クロロアニリン
- 23 ベンジジン
- 24 4,4'-メチレン-ビス- (2-クロロアニリン)

3. 規制対象とする家庭用品 (案)

- (1) 繊維製品のうち、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
- (2) 革製品（毛皮製品を含む。）のうち、下着、手袋、中衣、外衣、帽子及び床敷物

4. 基準 (案)

(1) 繊維製品

左（上記3.（1））に掲げる家庭用品（繊維製品に限る。）は、次の

①及び②の試験に適合しなければならない。

※これらの試験による基準値は、 $30\mu\text{g/g}$ である。

① 4-アミノアゾベンゼンを生ずるおそれのあるアゾ染料に係る試験

1 試料の調製

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。

(1) 分散染料が使用されていない繊維製品

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から構成される繊維製品は、試料を細切し試験に供する。

(2) 分散染料が使用されている繊維製品

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、細長い短冊状の試料を調製する。

2 試験溶液の調製

(1) 分散染料が使用されていない繊維製品

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、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±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したものを試験溶液とする。

(2) 分散染料が使用されている繊維製品

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。還流後、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°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±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 で反応容器を洗いし、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。これをメスフラスコに移しメチル-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験溶液とする。

3 試験

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 μ l を加え混ぜ合わせた後、それぞれの試験管から 1~2 μ 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 (R_t) を求める。同時に、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、アニリン又は 1,4-フェニレンジアミンの量が 5 μ g 以上の場合には、次の「4 追加試験」を行う。

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)
= $K \times (R_t/R_s) \times \text{試験溶液の液量 (ml)} \times (1/\text{試料採取量 (g)})$
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-フェニレンジアミンの濃度 ($\mu\text{g/ml}$)

操作条件

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、クロマトグラム上で確認試験の対象となつた物質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 μm 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。

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。

試験溶液注入口温度 250°C

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 9~10 分及び約 13~14 分で流出する流速に調整する。

注入方法 スプリットレス又はスプリット

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、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。

4 追加試験

(1) 分散染料が使用されていない繊維製品

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 ml 及び垂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、40±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 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 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。この際、必要に応じて遠心分離操作を行つてよい。

(2) 分散染料が使用されている繊維製品

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て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 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、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、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水溶液 1 ml を加え密栓し、激しく振とうした後、40±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 1 分以内に 20~25℃まで冷却する。次に、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。この液について、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、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-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操作を行つてよい。

(3) 試験

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液をそれぞれ 1 ml 試験管に採り、内部標準液 50 μ l を加え混ぜ合わせた後、それぞれの試験管から 1~2 μ 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 (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-アミノアゾベンゼンの量は 30 μ g 以下でなければならない。

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

ただし K : 4-アミノアゾベンゼン標準液の濃度 (μ g/ml)

操作条件

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、クロマトグラム上で試験の対象となつた物質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 μ m の 35%フェニルメチルポリシロキサンを液相とするキヤピラリーカラムを用いる。

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分間保持する。

試験溶液注入口温度 250°C

キヤリアーガス 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分で流出する流速に調整する。

注入方法 スプリットレス又はスプリット

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、イオン強度が高いフラグメントイオンを適切に選択する。

5 確認試験

「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 μ gを超え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-アミノアゾベンゼンによるものであることを確認しなければならない。

(1) ガスクロマトグラフ質量分析法

ガスクロマトグラフ質量分析法において、試料溶液をスキヤンモード（範囲 $[m/z]=60\sim 300$ ）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。

(2) 高速液体クロマトグラフ法

「4 追加試験」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一定量採り、不活性ガス気流下でメチル-tert-ブチルエーテルを除去後、一定量のメタノールに溶解させる。このメタノール溶液から5～20 μ l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らない。

操作条件

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、クロマトグラム上で確認試験の対象となつた物質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択することが望ましい。

カラム管 内径 4.6 μ m、長さ 150 mm のステンレス管を用いる。
カラム充填剤 粒径 3~5 μ m のオクタデシルシリル化シリカゲルを用いる。
カラム温度 30~40°C
検出器 紫外可視検出器
検出波長 240、280、305、380 nm 等
移動相 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 とした後に、メタノール 150 ml を加えたもの
溶離液②：メタノール
グラジエント条件：溶離液②10%の状態から 22.5 分間かけて直線的
に溶離液②55%とし、その後、5 分間かけて直線的
に溶離液②95%とした後、溶離液②95%で 1 分間
保持する。次いで、0.5 分かけて直線的に溶離液
②10%とし、溶離液②10%で 6 分間保持する。
流速 毎分 0.6 ml で 27.5 分間保持した後、1 分間かけて直線的に毎分 2 ml
とする。その後、2.5 分間かけて直線的に毎分 0.6 ml とし、毎分 0.6 ml
で 4 分間保持する。

6 試薬、標準液等

- (1) メチル-tert-ブチルエーテル
日本工業規格試薬特級を用いる。
- (2) クロロベンゼン
日本工業規格試薬特級を用いる。
- (3) メタノール
日本工業規格試薬特級を用いる。
- (4) n-ペンタン
日本工業規格試薬特級を用いる。
- (5) 10%水酸化ナトリウム水溶液
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 に溶解させたものを用いる。
- (6) 2%水酸化ナトリウム水溶液
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用いる。
- (7) 精製水
日本薬局方精製水を用いる。
- (8) 塩化ナトリウム
日本工業規格特級を用いる。
- (9) クエン酸緩衝液

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酸として 0.06 mol/l、pH=6.0 である。

(10) 亜ジチオン酸ナトリウム水溶液

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 としたものをを用いる。用時調製する。

(11) ケイソウ土カラム

内径 25~30 mm、長さ 130~150 mm で先端にガラスフィルター等が装着されたガラ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。自ら充填するか、同等の充填済み製品を使用する。

(12) 4-アミノアゾベンゼン標準液

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 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 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-アミノアゾベンゼン標準液とする。

(13) 内部標準液

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。ナフタレン-d₈、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 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-ブチルエーテルで正確に 10 ml としたものを、内部標準液とする。

(14) アニリン・1,4-フェニレンジアミン混合標準液

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 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 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「2(1)分散染料が使用されていない繊維製品」又は「2(2)分散染料が使用されている繊維製品」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。

(15) 高純度ヘリウム

純度 99.999%以上のものをを用いる。

- ② 2-アミノ-4-ニトロトルエン、4-アミノビフェニル、4,4'-オキシジアニリン、オルト-アニジジン、オルト-アミノアゾトルエン、オルト-トルイジン、2,4-キシリジン、2,6-キシリジン、4-クロロ-オルト-トルイジン、2,4-ジアミノアニソール、4,4'-ジアミノジフェニルメタン、3,3'-ジクロロベンジジン、3,3'-ジメチル-4,4'-ジアミノジフェニルメタン、3,3'-ジメチルベンジジン、3,3'-ジメトキシベンジジン、4,4'-チオジアニリン、2,4,5-トリメチルアニリン、2,4-トルイレンジアミン、2-ナフチルアミン、パラ-クレシジン、パラ-クロロアニリン、ベンジジン又は4,4'-メチレン-ビス-(2-クロロアニリン) (以下「2-アミノ-4-ニトロトルエン等」という。)を生ずるおそれのあるアゾ染料に係る試験

1 試料の調製

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。繊維製品に用いられている染料の種類によつて、以下のとおり試料を調製する。

(1) 分散染料が使用されていない繊維製品

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から構成される繊維製品は、細かく切つたものを試料とする。

(2) 分散染料が使用されている繊維製品

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と分離できない繊維製品については、細長く短冊状に切つたものを試料とする。

2 試験溶液の調製

(1) 分散染料が使用されていない繊維製品

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°C に加温しておいたクエン酸緩衝液 (pH 6.0) 15 ml を反応容器に入れ密栓し、70±2°C で 30 分間加温する。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、70±2°C で 30 分間加温する。次に試料の入つた反応容器を 2 分以内に 20~25°C まで冷却する。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°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したものを試験溶液とする。

(2) 分散染料が使用されている繊維製品

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。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-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。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 の範囲で一定量に正確に定容したものを試験溶液とする。

3 試験

ガスクロマトグラフ質量分析計を用いる。標準液及び試験溶液をそれぞれ正確に 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 1~2 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 4-アミノピフェニル、4,4'-オキシジアニリン、オルト-アニシジン、オルト-トルイジン、2,4-キシリジン、2,6-キシリジン、4-クロロ-オルト-トルイジン、

2,4-ジアミノアニソール、4,4'-ジアミノジフェニルメタン、3,3'-ジクロロベンジジン、3,3'-ジメチル-4,4'-ジアミノジフェニルメタン、3,3'-ジメチルベンジジン、3,3'-ジメトキシベンジジン、4,4'-チオジアニリン、2,4,5-トリメチルアニリン、2,4-トルイレンジアミン、2-ナフチルアミン、パラ-クレシジン、パラ-クロロアニリン、ベンジジン又は4,4'-メチレン-ビス-(2-クロロアニリン) (以下「4-アミノビフェニル等」という。)のそれぞれ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、4-アミノビフェニル等のそれぞれ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、標準液において得られたクロマトグラム上での4-アミノビフェニル等のそれぞれのピ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、次式により計算する試料1gについての4-アミノビフェニル等のそれぞれの量は、30 µg以下でなければならない。

$$\begin{aligned} & \text{試料 1 g についての 4-アミノビフェニル等のそれぞれの含有量 (}\mu\text{g)} = K \\ & \times (\text{Rt/Rs}) \times \text{試験溶液の液量 (ml)} \times (1/\text{試料採取量 (g)}) \\ & \text{ただし K: 4-アミノビフェニル等のそれぞれの標準液中の濃度 (}\mu\text{g/ml)} \end{aligned}$$

操作条件

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、クロマトグラム上で確認試験の対象となつた物質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 µm の 35%フェニルメチルポリシロキサンを液相とするキヤピラリーカラムを用いる。

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。

試験溶液注入口温度 250°C

キャリアーガス 高純度ヘリウムを用いる。オルト-トルイジンが約10~11分、2,4-キシリジン及び2,6-キシリジンが約11~12分、オルト-アニジジンが約11.5~12.5分、パラ-クロロアニリンが約12~13分、パラ-クレシジン及び2,4,5-トリメチルアニリンが約12.5~13.5分、4-クロロ-オルト-トルイジンが約13~14分、2,4-トルイレンジアミンが約14~15分、2,4-ジアミノアニソールが約15~16分、2-ナフチルアミンが約15.5~16.5分、4-アミノビフェニルが約17~18分、4,4'-オキシジアニリン、4,4'-ジアミノジフェニルメタン及びベンジジンが約22~23分、3,3'-ジメチル-4,4'-ジアミノジフェニルメタンが約24~25分、3,3'-ジメチルベンジジンが約24.5~25.5分、4,4'-チオジアニリンが約26~27分並びに4,4'-メチレン-ビス-(2-クロロアニリン)、3,3'-ジクロロベンジジン及び3,3'-ジメ

トキシベンジジンが約 26.5~27.5 分（以下「オルト-トルイジン等の保持時間」という。）で流出する流速に調整する。

注入方法 スプリットレス又はスプリット

モニターイオン 原則としてオルト-トルイジンは 106、2,4-キシリジンは 121、2,6-キシリジンは 121、オルト-アニシジンは 123、パラ-クロロアニリンは 127、パラ-クレシジンは 137、2,4,5-トリメチルアニリンは 120、4-クロロ-オルト-トルイジンは 141、2,4-トルイレンジアミンは 121、2,4-ジアミノアニソールは 123、2-ナフチルアミンは 115、4-アミノビフェニルは 169、4,4'-オキシジアニリンは 200、4,4'-ジアミノジフェニルメタンは 198、ベンジジン は 184、3,3'-ジメチル-4,4'-ジアミノジフェニルメタンは 226、3,3'-ジメチルベンジジンは 212、4,4'-チオジアニリンは 216、4,4'-メチレン-ビス-(2-クロロアニリン)は 266、3,3'-ジクロロベンジジンは 252 及び 3,3'-ジメトキシベンジジンは 244（以下「オルト-トルイジン等のモニターイオン」という。）を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。

4 確認試験

「3 試験」において試料 1 g についての 4-アミノビフェニル等のそれぞれの量が一成分でも 30 μ g を超え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-アミノビフェニル等のそれぞれによるものであることを確認しなければならない。

(1) ガスクロマトグラフ質量分析法

ガスクロマトグラフ質量分析法において、試料溶液をスキヤンモード（範囲 $[m/z]=60\sim 300$ ）で測定し得られた 4-アミノビフェニル等のそれぞれのマススペクトルと、標準液を同様にし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。

(2) 高速液体クロマトグラフ法

「3 試験」によつて得られた試験溶液及び標準液をそれぞれ一定量採り、不活性ガス気流下でメチル-tert-ブチルエーテルを除去後、一定量のメタノールに溶解させる。このメタノール溶液から 5~20 μ l 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、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らない。

操作条件

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、クロマトグラム上で 4-アミノビフェニル等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択することが望ましい。

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

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。
カラム温度 30~40°C
検出器 紫外可視検出器
検出波長 240、280、305、380 nm 等
移動相 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 とした後に、メタノール 150 ml を加えたもの
溶離液②：メタノール
グラジエント条件：溶離液②10%の状態から 22.5 分間かけて直線的
に溶離液②55%とし、その後、5 分間かけて直線的
に溶離液②95%とした後、溶離液②95%で 1 分間
保持する。次いで、0.5 分かけて直線的に溶離液
②10%とし、溶離液②10%で 6 分間保持する。
流速 毎分 0.6 ml で 27.5 分間保持した後、1 分間かけて直線的に毎分 2 ml
とする。その後、2.5 分間かけて直線的に毎分 0.6 ml とし、毎分 0.6 ml
で 4 分間保持する。

5 試薬、標準液等

- (1) メチル-tert-ブチルエーテル
日本工業規格試薬特級を用いる。
- (2) クロロベンゼン
日本工業規格試薬特級を用いる。
- (3) メタノール
日本工業規格試薬特級を用いる。
- (4) n-ペンタン
日本工業規格試薬特級を用いる。
- (5) 水酸化ナトリウム水溶液
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
せたものを用いる。
- (6) 精製水
日本薬局方精製水を用いる。
- (7) クエン酸緩衝液
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
の緩衝液はクエン酸として 0.06 mol/l、pH=6.0 である。
- (8) 亜ジチオン酸ナトリウム水溶液
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 としたものを用いる。用時調製する。
- (9) ケイソウ土カラム

内径 25～30 mm、長さ 130～150 mm で先端にガラスフィルター等が装着されたガラス又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。自ら充填するか、同等の充填済み製品を使用する。

(10) 標準液

4-アミノビフェニル等のそれぞれを 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 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 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ていない繊維製品」又は「2(2)分散染料が使用されている繊維製品」の試験操作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標準液とする。ただし、同等の調製済み製品および調整済み混合製品を使用してもよい。

(11) 内部標準液

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。ナフタレン-d₈、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 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-ブチルエーテルで正確に 10 ml とする。さらに、その 1～5 ml を採り、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。

(12) 高純度ヘリウム

純度 99.999%以上のものを用いる。

(2) 革製品（毛皮製品を含む。）

左（上記3.（2））に掲げる家庭用品（革製品（毛皮製品を含む。）に限る。）は、次の①及び②の試験に適合しなければならない。

※これらの試験による基準値は、 $30\mu\text{g/g}$ である。

① 4-アミノアゾベンゼンを生ずるおそれのあるアゾ染料に係る試験

1 試験溶液の調製

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、試料を約1mm平方以下に細切する。この試料1.0gを正確に量り採り、反応容器に入れる。次に、n-ヘキサン20mlを加え、40°Cで20分間超音波処理する。その後、n-ヘキサンを除去し、もう一度n-ヘキサン20mlを加えて同様の操作を行う。次に、反応容器の口を開け、局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、あらかじめ70°Cに加温しておいたクエン酸緩衝液17mlを反応容器に入れ密栓し、手で振とうした後、70±2°C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1.5mlを加えた後に、70±2°C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1.5mlを加えた後に、70±2°C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20~25°C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、メチル-tert-ブチルエーテル5ml及び水酸化ナトリウム・メタノール溶液1ml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、メチル-tert-ブチルエーテル15mlを反応容器に入れ反応容器と残留物を洗い、洗液を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-ブチルエーテル20ml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、メチル-tert-ブチルエーテル40ml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ーターを用いて50°C以下で乾固しないように約1ml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2~10ml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。

2 試験

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準液及び試験溶液をそれぞれ1ml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「3 追加試験」を行う。

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 × (Rt/Rs) × 試験溶液の液量 (ml) × (1/試料採取量 (g))

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-フェニレンジアミンの濃度 (µg/ml)

操作条件

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、クロマトグラム上で試験の対象となつた物質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 µm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。

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分間保持する。

試験溶液注入口温度 250°C

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9~10分及び約13~14分で流出する流速に調整する。

注入方法 スプリットレス又はスプリット

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、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。

3 追加試験

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 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。この操作を更に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晚放置し残留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±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まで冷却する。次に、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。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。なお、冷却後から振とうまでの時間は 5 分を超えないようにする。その後、メチル-tert-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つてよい。

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試験溶液をそれぞれ 1 ml 試験管に採り、内部標準液 50 μ l を加え混ぜ合わせた後、それぞれの試験管から 1~2 μ 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-アミノアゾベンゼンの量は 30 μ g 以下でなければならない。

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

ただし K : 4-アミノアゾベンゼン標準液の濃度 (μ g/ml)

4 確認試験

「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 μ g を超え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-アミノアゾベンゼンによるものであることを確認しなければならない。

(1) ガスクロマトグラフ質量分析法

ガスクロマトグラフ質量分析法において、試料溶液をスキヤンモード (範囲 $[m/z]=60\sim 300$) 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。

(2) 高速液体クロマトグラフ法

「3 追加試験」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一定量採り、不活性ガス気流下でメチル-tert-ブチルエーテルを除去後、一定量のメタノールに溶解させる。このメタノール溶液から 5~20 μ l 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らない。

操作条件

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、クロマトグラム上で確認試験の対象となつた物質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択することが望ましい。

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

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

カラム温度 30~40°C

検出器 紫外可視検出器

検出波長 240、280、305、380 nm 等

移動相 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 とした後に、メタノール 150 ml を加えたもの

溶離液②：メタノール

グラジエント条件：溶離液②10%の状態から 22.5 分間かけて直線的に溶離液②55%とし、その後、5 分間かけて直線的に溶離液②95%とした後、溶離液②95%で 1 分間保持する。次いで、0.5 分かけて直線的に溶離液②10%とし、溶離液②10%で 6 分間保持する。

流速 毎分 0.6 ml で 27.5 分間保持した後、1 分間かけて直線的に毎分 2 ml とする。その後、2.5 分間かけて直線的に毎分 0.6 ml とし、毎分 0.6 ml で 4 分間保持する。

5 試薬、標準液等

(1) メチル-tert-ブチルエーテル

日本工業規格試薬特級を用いる。

(2) メタノール

日本工業規格試薬特級を用いる。

(3) n-ヘキサン

日本工業規格試薬特級を用いる。

(4) 水酸化ナトリウム・メタノール溶液

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 に溶解させたものを用いる。

(5) 水酸化ナトリウム水溶液

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用いる。

(6) 精製水

日本薬局方精製水を用いる。

(7) クエン酸緩衝液

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酸として 0.06 mol/l、pH=6.0 である。

(8) 亜ジチオン酸ナトリウム水溶液

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 としたものをを用いる。用時調製する。

(9) ケイソウ土カラム

内径 25~30 mm、長さ 130~150 mm で先端にガラスフィルター等が装着されたガラス又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。自ら充填するか、同等の充填済み製品を使用する。

(10) 4-アミノアゾベンゼン標準液

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 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 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-アミノアゾベンゼン標準液とする。

(11) 内部標準液

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。ナフタレン-d₈、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 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-ブチルエーテルで正確に 10 ml としたものを内部標準液とする。

(12) アニリン・1,4-フェニレンジアミン混合標準液

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 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 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 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ン及び1,4-フェニレンジアミン混合標準液とする。

(13) 高純度ヘリウム

純度 99.999%以上のものをを用いる。

② 2-アミノ-4-ニトロトルエン等を生ずるおそれのあるアゾ染料に係る試験

1 試験溶液の調製

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、試料を約 1 mm 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-ヘキサンを除去し、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、あらかじめ 70°C 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、70±2°C 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、70±2°C 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 を加えて 70±2°C 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 20~25°C 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 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、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、ロータリーエバポレーターを用いて 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したものを試験溶液とする。

2 試験

ガスクロマトグラフ質量分析計を用いる。標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 μ l を加え混ぜ合わせた後、それぞれの試験管から 1~2 μ l 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 4-アミノビフェニル等それぞれ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、4-アミノビフェニル等それぞれ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、標準液において得られたクロマトグラム上での 4-アミノビフェニル等それぞれのピ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、次式により計算する試料 1 g についての 4-アミノビフェニル等のそれぞれの量は 30 μ g 以下でなければならない。

試料 1 g についての 4-アミノビフェニル等それぞれの含有量 (μg) = $K \times (R_t/R_s) \times \text{試験溶液の液量 (ml)} \times (1/\text{試料採取量 (g)})$

ただし K : 標準液の 4-アミノビフェニル等それぞれの濃度 ($\mu\text{g/ml}$)

操作条件

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、クロマトグラム上で確認試験の対象となつた物質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 μm 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。

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 分間保持する。

試験溶液注入口温度 250°C

キャリアーガス 高純度ヘリウムを用いる。オルト-トルイジン等の保持時間で流出する流速に調整する。

注入方法 スプリットレス又はスプリット

モニターイオン 原則としてオルト-トルイジン等のモニターイオンを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。

3 確認試験

「2 試験」において試料 1 g について 4-アミノビフェニル等それぞれの量が一成分でも 30 μg を超え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-アミノビフェニル等それぞれによるものであることを確認しなければならない。

(1) ガスクロマトグラフ質量分析法

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 $[m/z]=60\sim 300$) で測定し得られた 4-アミノビフェニル等それぞれのマススペクトルと、標準液を同様にし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。

(2) 高速液体クロマトグラフ法

「2 試験」によつて得られた試験溶液及び標準液をそれぞれ一定量採り、不活性ガス気流下でメチル-tert-ブチルエーテルを除去後、一定量のメタノールに溶解させる。このメタノール溶液から 5~20 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、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らない。

操作条件

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、クロマトグラム上で確認試験の対象となつた物質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択することが望ましい。

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。

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

カラム温度 $30\sim 40^\circ\text{C}$

検出器 紫外可視検出器

検出波長 240、280、305、380 nm 等

移動相 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 とした後に、メタノール 150 ml を加えたもの

溶離液②：メタノール

グラジエント条件：溶離液②10%の状態から 22.5 分間かけて直線的に溶離液②55%とし、その後、5 分間かけて直線的に溶離液②95%とした後、溶離液②95%で 1 分間保持する。次いで、0.5 分かけて直線的に溶離液②10%とし、溶離液②10%で 6 分間保持する。

流速 毎分 0.6 ml で 27.5 分間保持した後、1 分間かけて直線的に毎分 2 ml とする。その後、2.5 分間かけて直線的に毎分 0.6 ml とし、毎分 0.6 ml で 4 分間保持する。

4 試薬、標準液等

(1) メチル-tert-ブチルエーテル

日本工業規格試薬特級を用いる。

(2) メタノール

日本工業規格試薬特級を用いる。

(3) n-ヘキサン

日本工業規格試薬特級を用いる。

(4) 水酸化ナトリウム・メタノール溶液

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（日本工業規格試薬特級）100 ml に溶解したものをを用いる。

(5) 精製水

日本薬局方精製水を用いる。

(6) クエン酸緩衝液

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酸として $0.06\ \text{mol/l}$ 、 $\text{pH}=6.0$ である。

(7) 亜ジチオン酸ナトリウム水溶液

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 としたものをを用いる。用時調製する。

(8) ケイソウ土カラム

内径 25～30 mm、長さ 130～150 mm で先端にガラスフィルター等が装着されたガラス又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。自ら充填するか、同等の充填済み製品を使用する。

(9) 標準液

4-アミノビフェニル等それぞれを 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 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 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」において調製した試験溶液液量と同じ容量に定容したものを標準液とする。ただし、同等の調製済み製品及び調整済み混合製品を使用してもよい。

(10) 内部標準液

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。ナフタレン-d₈、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 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-ブチルエーテルで正確に 10 ml 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 としたものを内部標準液とする。

(11) 高純度ヘリウム

純度 99.999%以上のものをを用いる。