

1. はじめに

現在「JIS K 5601-4-1:2003」に規定されているホルムアルデヒド放散量測定方法<sup>1)</sup>の一つに「デシケーター法」があり、その定量方法には、吸光光度法と HPLC 法の2方法が規定されている。当協会では、吸光光度法を採用して測定を行っているが、測定方法の選択幅を拡げるために今回は、HPLC 法での測定について検討を行った。

まず、HPLC 法の測定条件（溶離液）の最適化検討を行い、その後、F☆☆☆☆領域におけるホルムアルデヒド放散量（共存物質の影響を含む）の吸光光度法と HPLC 法の測定結果を比較検討したので報告する。

2. HPLC 法の検討

2.1 検討内容

「JIS K 5601-4-1:2003」に基づき、HPLC 法で使用する溶離液の種類、およびその混合比率等の検討を行い、HPLC 法による最適な定量条件を検討した。

2.1.1 試薬

「JIS K 5601-4-1:2003 3.4 試薬の調製」に記載されている試薬を使用。HPLC 法で使用する主な試薬は、以下のとおりである。

試薬特級または、HPLC 用試薬を使用。

- ① DNPH (2,4-ジニトロフェニルヒドラジン)
- ② 塩酸
- ③ クロロホルム
- ④ アセトニトリル

2.1.2 測定方法

「JIS K 5601-4-1:2003」に示すデシケーター法に従い、測定を行った。デシケーター内のサンプル水をクロロホルムで抽出し、定量試験に供した。抽出状況を写真1に示す。なお、HPLC の溶離液は、アセトニトリル/水混合液の使用を基本とし、混合比率は「JIS K 5601-4-1:2003 4. 小形チャンパー法」で以前より採用している 55 : 45 を基準として、条件の絞り込みを行った。

2.1.3 測定結果

2.1.2 の測定条件において測定したところ、ホルムアルデヒドの分離が不十分となり、定量困難な状態となった(図1)。

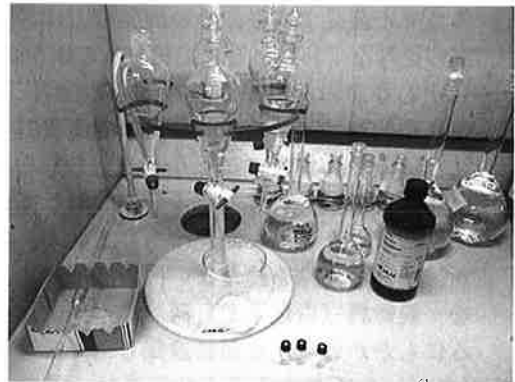


写真1 クロロホルム抽出状況

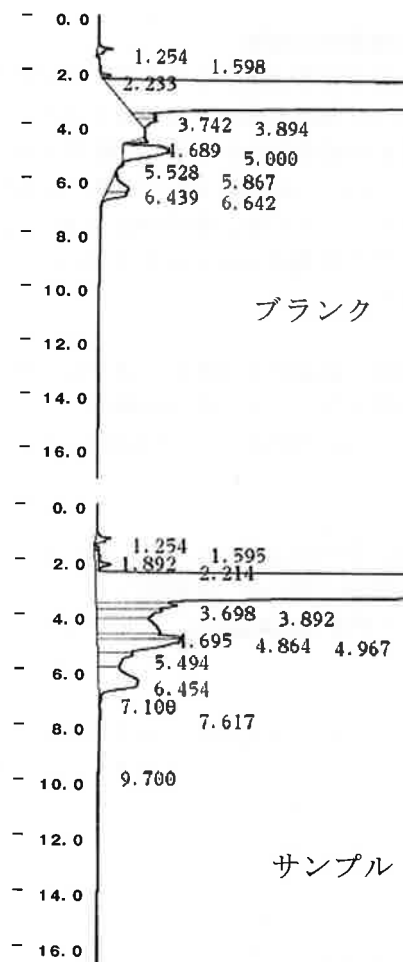


図1 クロロホルム抽出 [溶離液 (アセトニトリル : 水 = 55 : 45)] の HPLC チャート

定量困難な原因を探るため、抽出溶媒であるクロロホルムの保持時間の確認を行ったところ、ブロードなピークが検出された(図2)。図1との比較により、ホルムアルデヒドとクロロホルムの検出される保持時間は、3~6分の間で重なることがわかった。

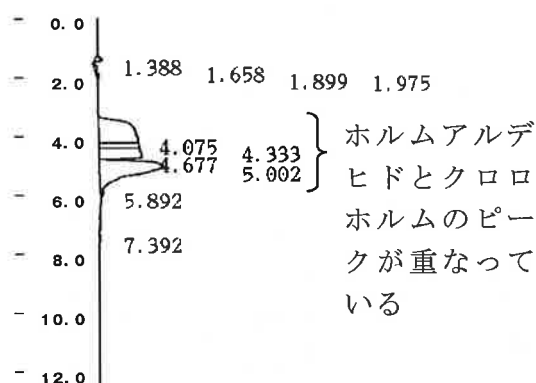


図2 クロロホルム測定 [溶離液 (アセトニトリル : 水 = 55 : 45)] の HPLC チャート

ホルムアルデヒドを定量するためには、クロロホルムと重なったピークを分離させる必要がある。そこで、HPLC 溶離液の混合比率を分離に最適な条件に変更することにした。検討の結果、アセトニトリル : 水 = 35 : 65 で行うと、ホルムアルデヒドとクロロホルムを分離することが可能となった。(図3)

## 2.2 ホルムアルデヒド放散量の測定

「JIS K 5601-4-1:2003」に基づき、吸光光度法と HPLC 法の検量線を作成し、塗膜からのホルムアルデヒド放散量をそれぞれの測定方法で定量する。

### 2.2.1 試薬

「JIS K 5601-4-1:2003 3.4 試薬の調製」に記載されている試薬を使用。

### 2.2.2 測定方法

「JIS K 5601-4-1:2003 3.8.7 定量方法 a) 吸光光度法、b) HPLC 法」に基づいて行った。検量線については、「3.8.8 検量線の作成」に従いそれぞれ作成した。

HPLC 法はクロロホルム抽出、溶離液の混合比率をアセトニトリル : 水 = 35 : 65 で実施。以降の検討についても、同様の測定方法で行った。

### 2.2.3 検量線の作成

吸光光度法と HPLC 法の検量線の作成例を図4及び図5に示す。また図6に、ホルムアルデヒド検量線用標準液の HPLC チャートを示す。

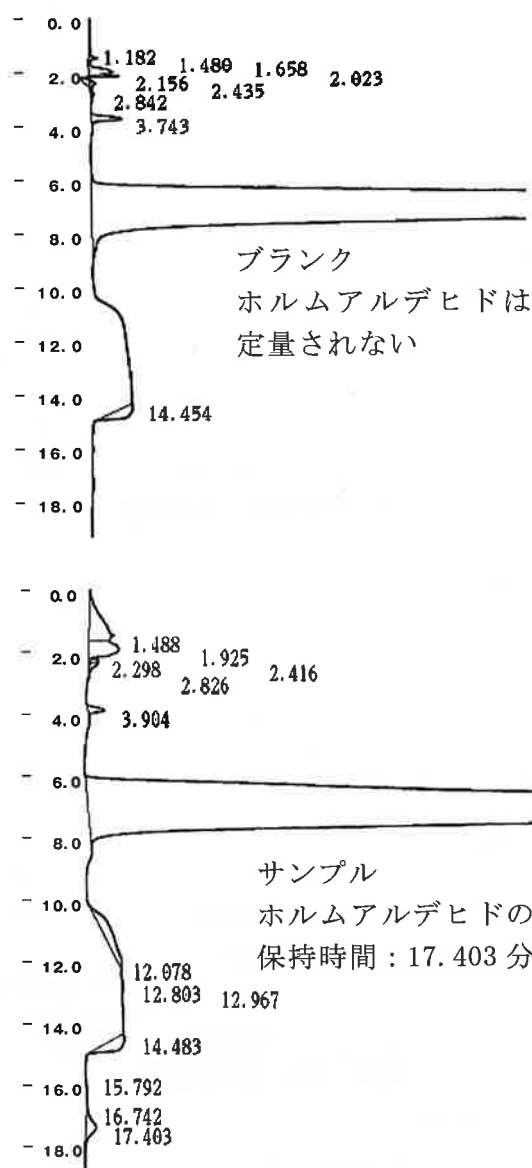
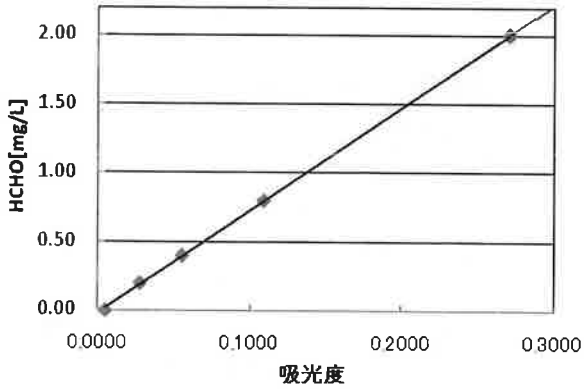
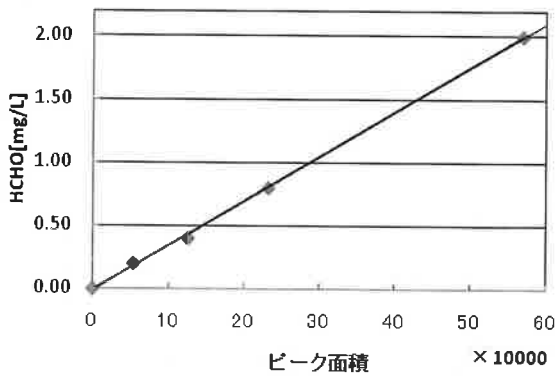


図3 クロロホルム抽出 [溶離液 (アセトニトリル : 水 = 35 : 65)] の HPLC チャート



1次回帰分析における検量線の式  $Y = F X + a$   
 $F = 7.5407$   
 $a = -0.0183$   
 相関係数  $r = 0.9999$

図4 吸光光度法の検量線



1次回帰分析における検量線の式  $Y = F X + a$   
 $F = 0.0000035588$   
 $a = -0.0118$   
 相関係数  $r = 0.9997$

図5 HPLC法の検量線

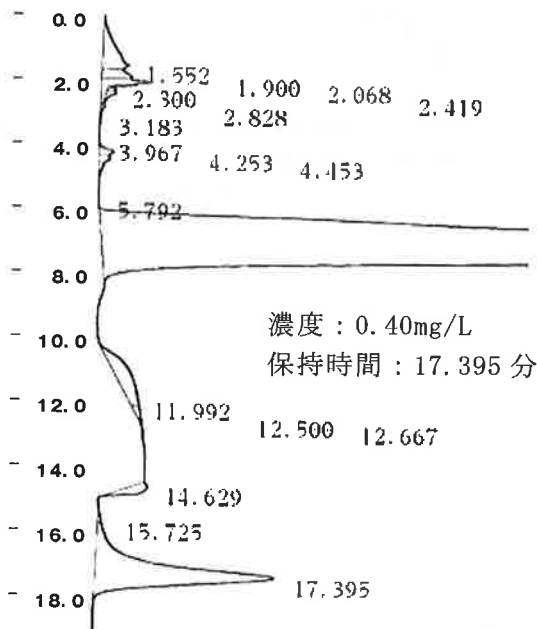


図6 ホルムアルデヒド検量線用標準液のHPLCチャート

#### 2.2.4 ホルムアルデヒド放散量の測定

試料は、「JIS K 5621:2008 2種」に規定されている「一般用さび止めペイント」を用いた。

表1に吸光光度法、表2にHPLC法の測定結果を示す。また図7に、塗膜からのホルムアルデヒド放散量のHPLCチャートを示す。

表1 吸光光度法の測定結果

試料名	吸光度	濃度G	G平均
		[mg/L]	[mg/L]
ブランク-1	0.0030	—	—
試料1-1	0.0058	0.084	0.09
	0.0059	0.087	
ブランク-2	0.0025	—	—
試料1-2	0.0060	0.103	0.10
	0.0061	0.106	

表2 HPLC法の測定結果

試料名	ピーク面積	濃度G	G平均
		[mg/L]	[mg/L]
ブランク-1	0	—	—
試料1-1	7520	0.107	0.12
	8746	0.124	
ブランク-2	0	—	—
試料1-2	5187	0.073	0.09
	7584	0.107	

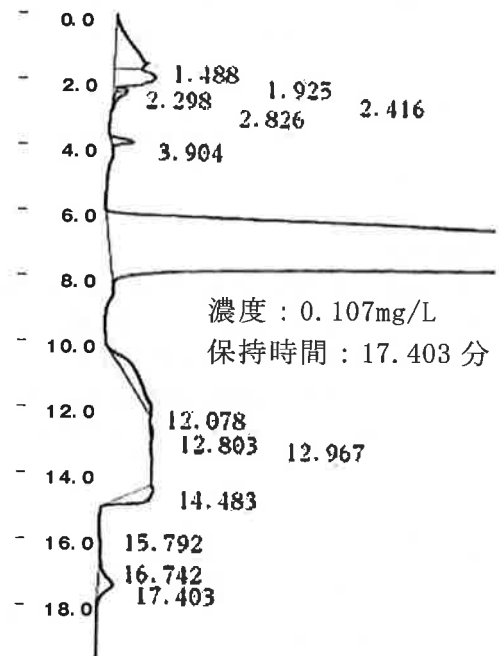


図7 塗膜からのホルムアルデヒド放散量

### 2.3 共存物質（アセトアルデヒド）の影響

ホルムアルデヒドを含有させた試料にアセトアルデヒドを添加し、吸光光度法での検討<sup>2)</sup>と同様に、HPLC法におけるアセトアルデヒド添加による影響を調査した。ホルムアルデヒド放散量の測定結果を表3に示す。また図8に、表3の「ホルムアルデヒド0.20mg/L+アセトアルデヒド7.0mg/L」のHPLCチャートを示す。

表3 ホルムアルデヒド放散量の測定結果

試料名	吸光光度	HPLC
	[mg/L]	[mg/L]
ホルムアルデヒド0.04mg/L	0.034	0.033
ホルムアルデヒド0.04mg/L+ アセトアルデヒド7.0mg/L	0.038	0.029
ホルムアルデヒド0.20mg/L	0.193	0.192
ホルムアルデヒド0.20mg/L+ アセトアルデヒド7.0mg/L	0.194	0.169

\*試料はホルムアルデヒド標準原液（特級：38%溶液）、アセトアルデヒド標準原液（特級：90%溶液）から作製。

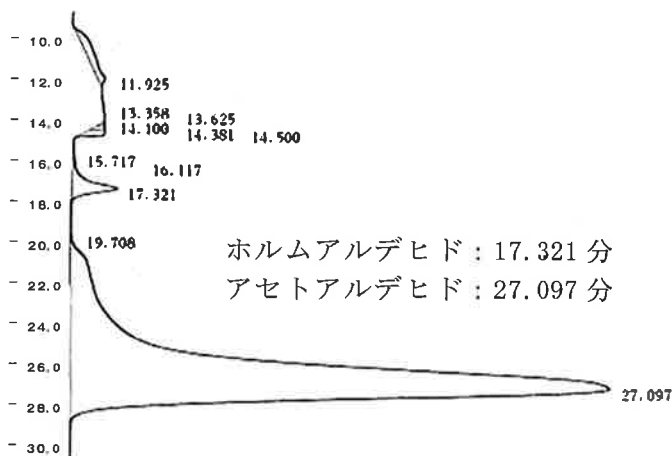


図8 ホルムアルデヒド0.20mg/L+アセトアルデヒド7.0mg/LのHPLCチャート

表3より、アセトアルデヒドはホルムアルデヒドの定量に対して、吸光光度法では正の誤差（共存物質により測定値が大きくなる）を与えるが、HPLC法では負（共存物質により測定値が小さくなる）の誤差を与えることがわかった。ホルムアルデヒドのみを含有させた試料とアセトアルデヒドを添加した試料では、クロロホルムによる前処理においてホルムアルデヒドの収率が異なることが予想され、前処理方法の具体的な手順を検討する必要があると考える。

### 2.4 定量方法による差

吸光光度法とHPLC法の放散量データ（表4）から、F☆☆☆☆（0.12mg/L以下）領域における測定方法の違いによる差の有無を、危険率5%で確認した。

表4 吸光光度法とHPLC法のホルムアルデヒド放散量の測定結果

測定回数	吸光光度	HPLC
	[mg/L]	[mg/L]
1	0.08	0.11
2	0.09	0.12
3	0.10	0.07
4	0.11	0.11

表4のデータを用い分散分析を行ったところ、観測された分散比は0.414、F境界値は5.987となった。今回測定したホルムアルデヒド放散量F☆☆☆☆領域において、HPLC法と吸光光度法に有意差（危険率5%）は認められなかった。

### 2.5 まとめ

- 今回、溶離液であるアセトニトリル/水の混合比率について検討を行い、溶離液アセトニトリル/水の混合比率を調整することで、ホルムアルデヒドとクロロホルムのピークが重なるために従来の方法では定量できなかったホルムアルデヒドの定量が可能となった。しかし、それによってホルムアルデヒドの保持時間が長く（17分）なり、クロマトグラフのピークはテーリングする傾向が現れ、そして、ブランクのホルムアルデヒドのピークが現れず定量ができなかった。現在、クロロホルムの影響を受けない溶離液の検討を行っており、その事例を紹介する。HPLC溶離液をアセトニトリル/水から、「JIS K 5601-4-1:2003」に記載されているもうひとつの溶離液であるメタノール/水（メタノール：水=50：50）に換えて測定を行った。その結果、ブランクおよびサンプルともにホルムアルデヒドのピークを確認することができ、保持時間も短くなった（図9）。
- 塗膜からのホルムアルデヒド放散量測定においては、吸光光度法およびHPLC法にて同一試料を測定したところ、有意差（危険率5%）は認められなかった。F☆☆☆☆領域における、測定方法の違いによる測定結果への影響は小さいと考えられる。
- HPLC法における共存物質（アセトアルデヒド）の影響については、共存物質の濃度が高い程、負の誤差が大きくなる可能性があるので注意する必要がある。

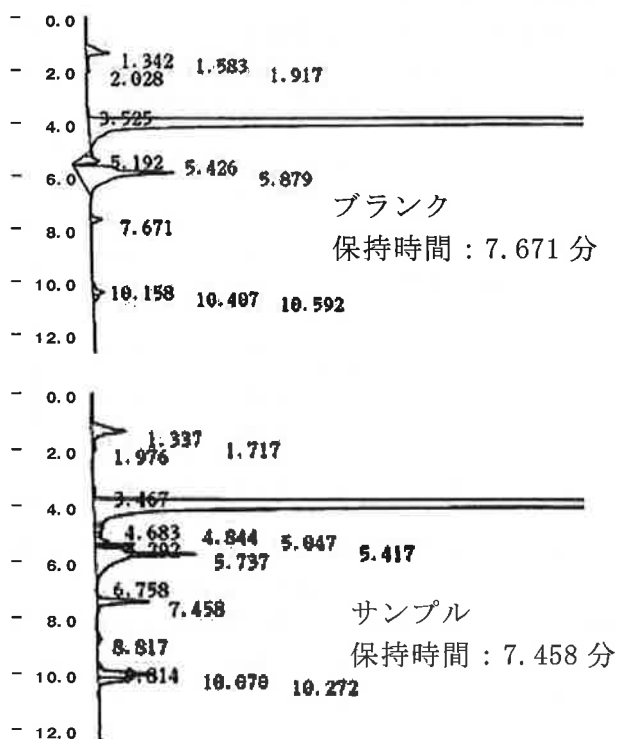


図9 クロロホルム抽出 [HPLC 溶離液 (メタノール：水 = 50 : 50)] の HPLC チャート

### 3. おわりに

以下に今後の課題を示す。

- (1) HPLC 法での操作について、溶離液であるメタノール / 水の検討を進め、グラジエント法の活用や新たなカラムを採用する等、更なるデータ収集を行い、測定精度の向上に努めたい。
- (2) 「JIS K 5601-4-1:2003」に記載されていない部分の手順、特にクロロホルムによる抽出の際の振とう速度や時間を十分に検証し、規定化する必要がある。
- (3) 塗膜からのホルムアルデヒド放散量測定において、今回は主として F☆☆☆☆ (0.12mg/L 以下) 領域の放散量における、HPLC 法と吸光度法の測定値を検討したが、F☆☆☆☆領域より高い濃度の放散量についても、共存物質の影響を踏まえた上で確認を行う。

### 参考文献

- 1) JIS K 5601-4-1:2003. 塗料成分試験方法—第4部：塗膜からの放散成分分析—第1節：ホルムアルデヒド.
- 2) 加藤礼士. デシケータ法によるホルムアルデヒド放散量測定における共存成分の影響について. 日塗検ニュース. 2009, vol. 124, p. 6-8.