

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究年度終了報告書

家庭用品中の有害物質の規制基準に関する研究

家庭用品中の多環芳香族炭化水素類の試験法及びその実態に関する研究

研究分担者 西 以和貴 神奈川県衛生研究所 理化学部 主任研究員

研究協力者 吉富 太一 神奈川県衛生研究所 理化学部 主任研究員

要旨

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）ではクレオソート油及びその処理木材中の 3 種の多環芳香族炭化水素類（PAHs）を規制している。現試験法ではジクロロメタンを用いることが規定されているが、ジクロロメタンは特定化学物質予防規則対象の有害な試薬であることから、使用しないことが望ましい。また、欧州連合（EU）ではわが国の規制対象 3 種に 5 種を加えた 8 種の PAHs を制限対象としている。これら 8 種の PAHs の中には GC-MS 分析において分離定量が困難なものが含まれており、これらを正確に定量する方法を検討する必要がある。

今年度は、まず GC-MS の分析条件を検討した。4 種の汎用カラム及び 2 種の PAHs 分析用カラムについて検討を行ったところ、PAHs 分析用カラムである Rxi-PAH で最も良好な結果が得られた。しかし、Rxi-PAH の液相は情報が公開されておらず、公定法での指定は難しいと考えられた。4 種の汎用カラムはいずれも分離が不十分であったが、DB-17MS で最も良好な分離が得られることが分かった。また、PAHs 分析用カラムの SLB-ILPAH は十分な分離が得られるものの、夾雑物の多い試料溶液の分析時には保持時間のドリフトが生じ、ピークの誤認を招く恐れが考えられた。したがって、Rxi-PAH 以外を用いて分析する場合は、SLB-ILPAH で定量を行い、DB-17MS で確認分析を行う手順が望ましいと考えられた。

今年度の研究で GC-MS 測定条件及び抽出方法の検討が概ね終了した。次年度は精製方法の検討を行い、今年度の結果を踏まえて 1 つの試験法として開発する予定である。

A. 研究目的

わが国では、平成 16 年から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 102 号、以下「家庭用品規制法」）により、クレオソート油及びクレオソート油で処理された

木材に含まれる 3 種の多環芳香族炭化水素類 (PAHs; ジベンゾ[a,h]アントラセン、ベンゾ[a]アントラセン、ベンゾ[a]ピレン) を規制している。

これらの試験法は、ジクロロメタンを使用することが規定されているが、ジクロロメタンは国際がん研究機関 (IARC) の発がんリスク分類で 2A (ヒトに対しておそらく発がん性を示す) に分類されており、有害性が高い。¹⁾さらに、平成 26 年から特定化学物質予防規則 (昭和 47 年 9 月 30 日労働省令第 39 号) の対象物質に追加されたことから、同規則に則った健康障害防止対策をとることが義務付けられた。これらのことから、ジクロロメタンに代わる安全性の高い有機溶媒を用いた試験法への改正が望まれる。

また、現行試験法は試験溶液の精製をシリカゲルカートリッジで行うこととしている。しかし、「中古」木材のような試料は油分や泥などに汚染されていることがあり、シリカゲルカートリッジのみによる精製では不十分との指摘がある。²⁾このことから、より効果的な精製法の検討が必要である。

さらに、欧州連合 (EU) では REACH 規則にて皮膚などに直接接触する成形品中の PAHs 含量を規制しており、わが国で規制対象の 3 種に、5 種の PAHs (ベンゾ[e]ピレン、ベンゾ[b]フルオランテン、ベンゾ[k]フルオランテン、ベンゾ[j]フルオランテン、クリセン) を加えた合計 8 種を規制対象としている。³⁾これらの内、クリセンと規制対象外 PAHs のトリフェニレン、そしてベンゾ[b]フルオランテン、ベンゾ[k]フルオランテン、ベンゾ[j]フルオ

ランテンが GC-MS の分析において分離が困難であることが良く知られている。今後わが国で PAHs の規制対象の拡大を検討する上で、これらを分離定量できる方法を検討する必要がある。

今年度は REACH 規則 8 種を分離定量可能とすること、及びジクロロメタンを用いない試料前処理方法を見出すことを目的に、GC-MS 分析条件の検討及び各種溶媒による抽出条件の検討を行った。

B. 研究方法

B1. 試料

インターネット通販にて購入した、クレオソート油で処理された中古枕木 (「業務用」) 2 種 (A、B) を試料とした。これらの表面およそ 1 cm を削り取った後、細かく刻み、以降の検討に用いた。

B2. 試薬

PAHs の標準溶液として、AccuStandard 社の PAH Standard (Quebec Ministry of Environ. PAH Mix) と、トリフェニレン (東京化成工業製) をトルエンに溶解したものを用いた。内部標準物質は Chrysene-*d*₁₂ 及び Perylene-*d*₁₂ をトルエンで 10 mg/L に調製し、内部標準溶液として用いた。各種溶媒は富士フィルム和光純薬製の残留農薬・PCB 試験用のものを用いた。

B3. 抽出溶媒の検討

試料 A 1 g を 20 mL の①ジクロロメタン、②アセトン、③アセトン/ヘキサン (8/2 v/v)、④アセトン/ヘキサン (5/5 v/v)、⑤アセトン/ヘキサン (2/8 v/v)、⑥ヘキサンでそれぞれ 37°C・24 時間抽出した。抽出

液をろ過し、ロータリーエバポレーター及び窒素気流下で濃縮後、10 mL に定容した。さらに、この溶液を 100 倍に希釈したものを試験溶液とした。GC-MS 分析は、試験溶液 1 mL に対し内部標準溶液を 50 μ L 加えてから行った。

試料 B は、ジクロロメタン及びアセトンで試料 A と同様に前処理し、GC-MS で分析した。

B4. GC-MS 測定条件

装置は Agilent Technology 社の 7890B GC/5977B MS を用いた。カラムは DB-1MS UI、DB-5MS UI、DB-17MS UI (Agilent Technology 社, Length 30 m, I.D. 0.25 mm, Film thickness 0.25 μ m)、Rtx-200 (Restek 社, Length 30 m, I.D. 0.25 mm, Film thickness 0.25 μ m)、SLB-ILPAH (Merck 社, 20 m, 0.18mm, 0.05 μ m)、Rxi-PAH (Restek 社, 40 m, 0.18mm, 0.07 μ m) の 6 種を用いた。キャリアガスはヘリウムを用い、流量は Rxi-PAH のみ 1.2 mL/min、それ以外のカラムでは 1.0 mL/min とした。試験溶液は 1 μ L をスプリットレスモードで注入した。カラムオープンプログラムは DB-1MS UI、DB-5MS UI、DB-17MS UI、Rtx-200MS の 4 種については、100 $^{\circ}$ C (0.5 分) \rightarrow 30 $^{\circ}$ C/min \rightarrow 230 $^{\circ}$ C (2 分) \rightarrow 3 $^{\circ}$ C/min \rightarrow 310 $^{\circ}$ C (5 分) に設定した。また、SLB-ILPAH は 100 $^{\circ}$ C (5 分) \rightarrow 20 $^{\circ}$ C/min \rightarrow 200 $^{\circ}$ C (0 分) \rightarrow 4 $^{\circ}$ C/min \rightarrow 300 $^{\circ}$ C (5 分)、Rxi-PAH は 100 $^{\circ}$ C (1 分) \rightarrow 30 $^{\circ}$ C/min \rightarrow 210 $^{\circ}$ C (0 分) \rightarrow 2 $^{\circ}$ C/min \rightarrow 270 $^{\circ}$ C (0 分) \rightarrow 15 $^{\circ}$ C/min \rightarrow 320 $^{\circ}$ C (5 分) とした。トランスファーライン温度はカラムオープンプログラムの最終温度と同一にした。注入口温度、イオン源温度はいずれのカラムにおいても 300 $^{\circ}$ C に設定した。ま

た、定量イオン及び定性イオンは表 1 に示した。

B5. GC-MS の分析における試料夾雑物の影響の検討

試料 A 1 g をジクロロメタン 20 mL で 37 $^{\circ}$ C \cdot 24 時間抽出し、抽出液をろ過・濃縮後、10 mL に定容した。これを 100 倍希釈したものを各種カラムで分析した。

C. 結果及び考察

C1. GC-MS 分析条件の検討

分析対象 PAHs は、REACH 規則¹⁾の制限対象である 8 種[ベンゾ[a]ピレン(BaP)、ベンゾ[a]アントラセン(BaA)、クリセン(CRY)、ベンゾ[b]フルオランテン(BbF)、ベンゾ[k]フルオランテン(BkF)、ジベンゾ[a,h]アントラセン(DahA)、ベンゾ[j]フルオランテン(BjF)、ベンゾ[e]ピレン(BeP)]とし、さらに妨害となり得る 3 種の PAHs も併せて分析した(表 1)。GC-MS 分析における課題として、CRY がトリフェニレン(TRP)と分離が困難であり、さらに BbF \cdot BkF \cdot BjF においても互いの分離が困難であることがよく知られている。そこで、保持特性の異なる 6 種のカラムを用いて、分析対象 PAHs の分離を調べた。

汎用カラムで液相情報が公開されている 4 種のカラム (DB-1MS、DB-5MS、DB-17MS、及び Rtx-200) の検討結果は図 1~4 に示した。DB-1MS、DB-5MS 及び Rtx-200 では CRY と TRP、そして BbF \cdot BkF \cdot BjF の分離が困難であることが分かった。一方、DB-17MS は、BbF \cdot BkF \cdot BjF の分離が可能であり、汎用カラムの中では最も良好な結果が得られた。しかし、CRY と TRP の

完全な分離は困難であった。

続いて、PAHs の分離に特化した SLB-ILPAH 及び Rxi-PAH を検討した (図 5~6)。SLB-ILPAH は、測定した全 PAHs の分離が実現できたものの、実際の試料 (試料 A) の分析で保持時間がわずかにドリフトした (図 7)。SLB-ILPAH では TRP と CRY、BeP と BaP がそれぞれ近接した保持時間に溶出されることから、このようなドリフトにより、ピークを誤認するおそれがある。このドリフトは他の 5 種のカラムでは認められなかった (図 7)。SLB-ILPAH は膜厚が 0.05 μm と非常に薄いため、カラムが保持することのできる物質量が少ない可能性がある。このドリフトは、試験溶液中の夾雑物がカラム保持容量を超えて含まれていたためと考えられた。

一方、Rxi-PAH は、対象とした全 PAHs の分離が実現できた (図 6)。さらに、Rxi-PAH は SLB-ILPAH と同様に膜厚が非常に薄い (0.07 μm) もの、SLB-ILPAH で認められたドリフトは起きなかった (図 7)。このカラムは Restek 社独自の液相を使用しており、それが SLB-ILPAH のようなドリフトを防いでいると考えられた。

なお、図 8 に示したとおり、クレオソート油木材から CRY の分析を妨害する TRP が検出された。また、図 6 に示した様に、標準溶液では DB-5MS 及び DB-17MS で TRP と CRY のピークトップの分離ができたが、実際の試料 (クレオソート油処理木材の抽出液) の分析ではピークトップの分離ができず、TRP の存在の有無が判別できなかった。これは、CRY の濃度に対して、TRP の濃度が低いため、CRY のピークの下部と TRP のピークトップが重なってしまった

めと考えられた (図 8)。このようなケースでは、CRY の正確な定量は非常に困難と考えられた。一方、SLB-ILPAH や Rxi-PAH ではこれらが十分に分離でき、抽出液中に TRP が存在していることが判別できた (図 8)。このことから、これら 2 種のカラムを用いれば、CRY の定量が正確に行えると考えられた。

以上のことから、本研究の分析対象物質の分析において、Rxi-PAH が最も良好な結果を与えることが分かった。しかし、このカラムは組成非公開の独自液相を使用したカラムであることから、公定法でその使用を規定できない可能性がある。一方で、その他 5 種のカラムは液相が公表されているため、公定法での規定に問題はないが、分析においてはそれぞれに欠点がある (表 2)。今回の検討結果から、Rxi-PAH を用いることができない場合は、まず定量を分離が良好な SLB-ILPAH で行い、確認試験を比較的分離が良好かつ保持時間のドリフトが無い DB-17MS で行う手順が有効であると考えられた。

C2. 抽出方法の検討

現試験法では、クレオソート油処理木材からの抽出溶媒はジクロロメタンが規定されている。上述のとおり、ジクロロメタンは有害性が高く、他の有機溶媒よりも厳密な健康障害防止対策をとることが法令で義務付けられている。したがって、今年度の研究では、ジクロロメタンより安全な溶媒での抽出法を検討した。

固体試料からの PAHs 抽出溶媒としては、欧米等の公定法等では、シクロヘキサン、ジメチルスルホキシド、n-ペンタン、

トルエン、アセトン/ヘキサン混合溶媒、トルエン/メタノール混合溶媒⁴⁾、食品分析ではトルエン、*n*-ヘキサン、シクロヘキサン/酢酸エチル混合溶媒等⁵⁾が用いられている。近年、わが国では、ジクロロメタン使用における義務付けの強化に伴い、水道水中の農薬類の分析法で使用されるジクロロメタンを、アセトン/ヘキサンで代替する検討がなされている。⁶⁾そこで今年度の検討では、ジクロロメタンよりも毒性が低く、ジクロロメタンの代替溶媒として検討された実績のあるアセトン、ヘキサン及びその混合溶媒にて実際の試料（試料A）を抽出し、その効率を現行法と比較した。その結果、ヘキサンでは明らかに現行法より抽出効率が低かったが、アセトン及びアセトン/ヘキサン混合溶媒では良好な抽出効率を得られることが分かった（図9）。アセトン及びアセトン/ヘキサン混合溶媒の間では抽出効率に大きな差は認められなかったため、作業効率の観点からアセトンがジクロロメタンを代替する抽出溶媒として適していると考えられた。

さらに確認のため、別の試料（試料B）でもアセトンとジクロロメタンにおける抽出効率の差を確認したところ、溶媒間で抽出効率に差は認められなかった（図10）。以上の検討結果から、アセトンがジクロロメタンの代替溶媒として利用可能であることがわかった。

D. まとめ

わが国の家庭用品規制法ではクレオソート油及びその処理木材中の3種のPAHsを規制している。一方、EUでは、皮膚に接触する成形品を対象に8種のPAHs（う

ち3種はわが国の家庭用品規制法の規制対象）を規制している。この8種のPAHsは、GC-MSの分析において分離が困難であり、正確な定量が難しい。そこで、今年度はEUのREACH規則で規制される8種のPAHsの分析を可能とするGC-MS条件の検討を行った。

4種の汎用カラムと2種のPAHs分析用カラムを用いて検討を行った結果、PAHs分析用カラムでは、目的の8種のPAHsが良く分離できた。この2種のうち、SLB-ILPAHは液相の情報が公開されていることから、公定法での指定が可能であると考えられた。しかし、膜厚が薄いことによる低保持容量のため、夾雑物の多い試料ではピークのドリフトが認められた。このドリフトにより、ピークを誤認するおそれがあることがわかった。

一方、4種の汎用カラムの中では、DB-17MSで最も良好な分離が得られたが、TRPとCRYの十分な分離はできなかった。以上の結果から、定量をSLB-ILPAHで行い、確認試験をDB-17MSで行う手順が望ましいと考えられた。

さらに、現試験法ではジクロロメタンを抽出操作等に用いることが規定されているが、ジクロロメタンは有害性が高く、使用上の健康障害予防対策も他の溶媒より義務付けが多い。このことから、他の溶媒への変更が望ましい。したがって、ジクロロメタンに代わる代替溶媒の検討を行った。

ジクロロメタン、アセトン、ヘキサン、そしてアセトン/ヘキサン混合溶媒(8/2, 5/5, 2/8 v/v)でそれぞれ検討したところ、アセトン及びアセトン/ヘキサン混合溶媒が

ジクロロメタンと同等の抽出効率を与えることが分かった。作業効率の観点から、アセトンが代替溶媒として適切と考えられた。

また、現試験法においては、油分や泥に汚染された中古木材等の分析時に精製が不十分になるケースが報告されている。次年度は、アセトン抽出後の試料抽出液を想定した新たな精製法を検討する予定である。

E. 研究発表

E1. 論文発表

- 1) 西 以和貴, 佐藤 学, 仲野 富美, 辻 清美, 上村 仁, 河上 強志, 繊維製品中のディルドリン及び DTTB 分析法の開発, 薬学雑誌 140(6) 809-818 (2020).
- 2) 西 以和貴, 上村 仁, 河上 強志, ヘリウムガス不足に対応した繊維製品中防虫加工剤の分析法, 神奈川県衛生研究所報告 50 15-20 (2020).

E2. 学会発表

- 1) 西以和貴、上村仁、大嶋智子、菅谷なえ子、印南佳織、田畑佳世、河上強志：家庭用品試験法における防虫剤改正試験法の妥当性評価, 第 57 回全国衛生化学技術協議会年会 (2020.11)

F. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし

3. その他
なし

G. 引用文献

- 1) IARC, list of classifications
<<https://monographs.iarc.who.int/list-of-classifications/>> (2021/3/19 閲覧)
- 2) 味村ら, クレオソート油を使用した市販中古枕木の違反事例-法規制されている 3 種の多環芳香族炭化水素の検出-, 第 51 回全国衛生化学技術協議会年会 (大分県), 平成 26 年 11 月 20~21 日
- 3) ECHA, ANNEX XVII TO REACH – Conditions of restriction, Entry 50,
<<https://echa.europa.eu/documents/10162/176064a8-0896-4124-87e1-75cdf2008d59>> (2021.3.19 閲覧)
- 4) イー・アール・エム日本株式会社：化学物質安全対策「諸外国における多環芳香族炭化水素規制に関する動向調査」報告書 (平成 26 年度経済産業省委託事業), 2015.
- 5) Zelinkova, Z., & Wenzl, T. (2015). The Occurrence of 16 EPA PAHs in Food - A Review. Polycyclic aromatic compounds, 35(2-4), 248–284.
- 6) 森口泰男, 平林達也 (2021). ヘキサン-アセトン混合溶媒を用いた固相抽出-GC-MS 法による農薬類の一斉分析. 水道協会雑誌, 90(2), 3-12.

表 1 本研究で検討を行った PAHs 及び GC-MS 分析における定量イオン及び定性イオン

No.	Compound	Abbreviation	Restricted in Japan ^a	REACH ^b	Quantifying ion (m/z)	Qualifying ion (m/z)
1	Benz[a]anthracene	BaA	✓	✓	228	226
2	Triphenylene	TRP			228	226
3	Chrysene	CRY		✓	228	226
4	Benzo[b]fluoranthene	BbF		✓	252	250
5	Benzo[j]fluoranthene	BjF		✓	252	250
6	Benzo[k]fluoranthene	BkF		✓	252	250
7	Benzo[e]pyrene	BeP		✓	252	250
8	Benzo[a]pyrene	BaP	✓	✓	252	250
9	Indeno[1,2,3- cd]pyrene	INP			276	274
10	Dibenz[a,h]anthracene	DahA	✓	✓	278	279
11	Benzo[ghi]perylene	BghiP			276	274
IS1	Chrysene- <i>d</i> ₁₂				240	236
IS2	Perylene- <i>d</i> ₁₂				264	260

^a Regulated by Act on the Control of Household Products Containing Harmful Substances

^b Restricted in entry 50 of Annex XVII to REACH

表 2 本研究で用いた GC カラムの検討結果

Name	Separation ^a	Retention time drift ^b	Phase
DB-1MS	×	○	100% dimethylpolysiloxane
DB-5MS	×	○	(5%-phenyl)-methylpolysiloxane
DB-17MS	×	○	(50%-phenyl)-methylpolysiloxane
Rtx-200	×	○	trifluoropropylmethyl polysiloxane
SLB-ILPAH	○	×	1,12-Di(tripropylphosphonium)dodecane bis(trifluoromethanesulfonyl)imide
Rxi-PAH	○	○	proprietary

^a "○" means 11 PAHs can be separated.

^b "○" means no drift in the retention time was observed.

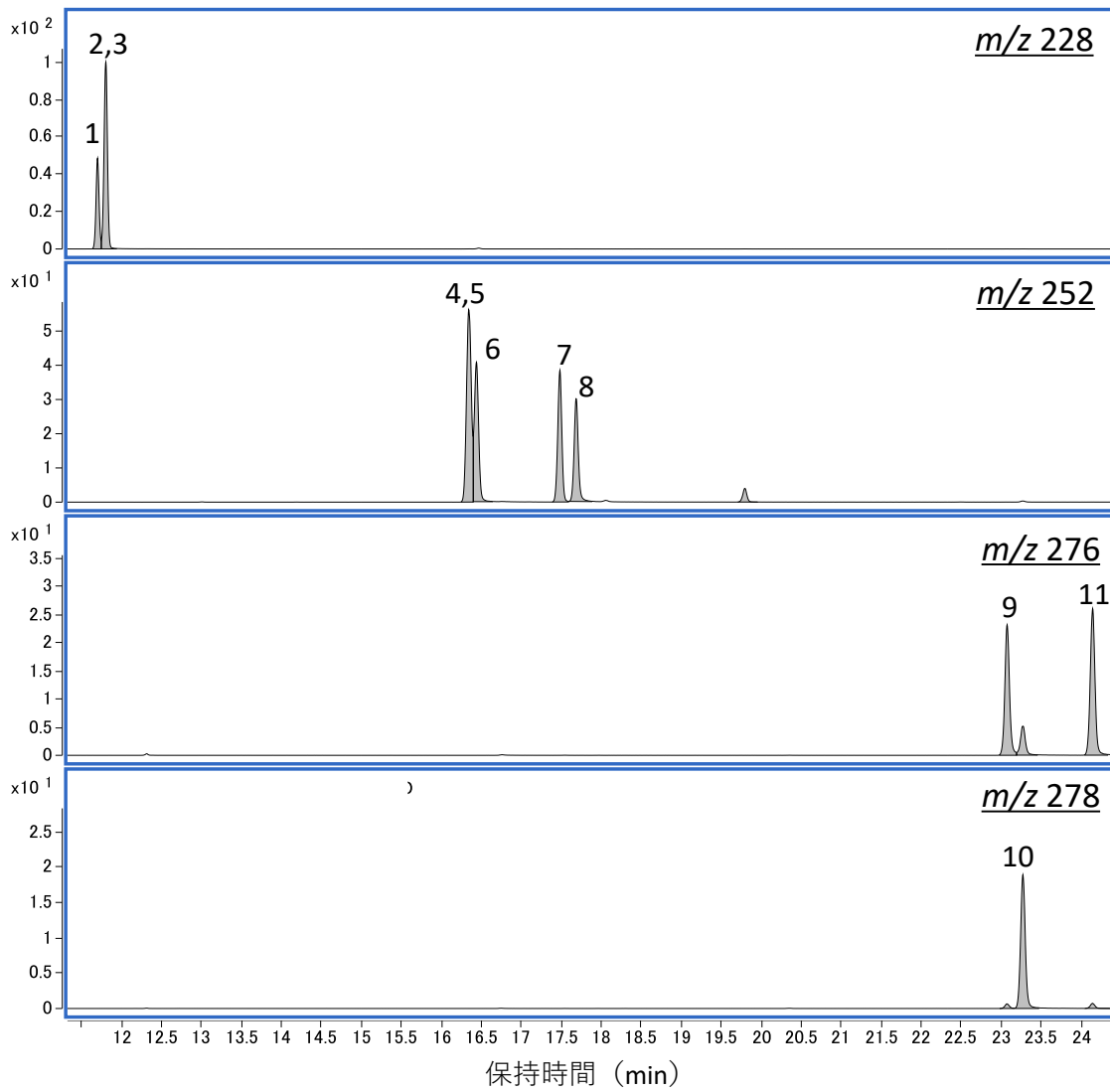


図1 PAHs 11種のクロマトグラム (DB-1MS, 番号は表1に対応)

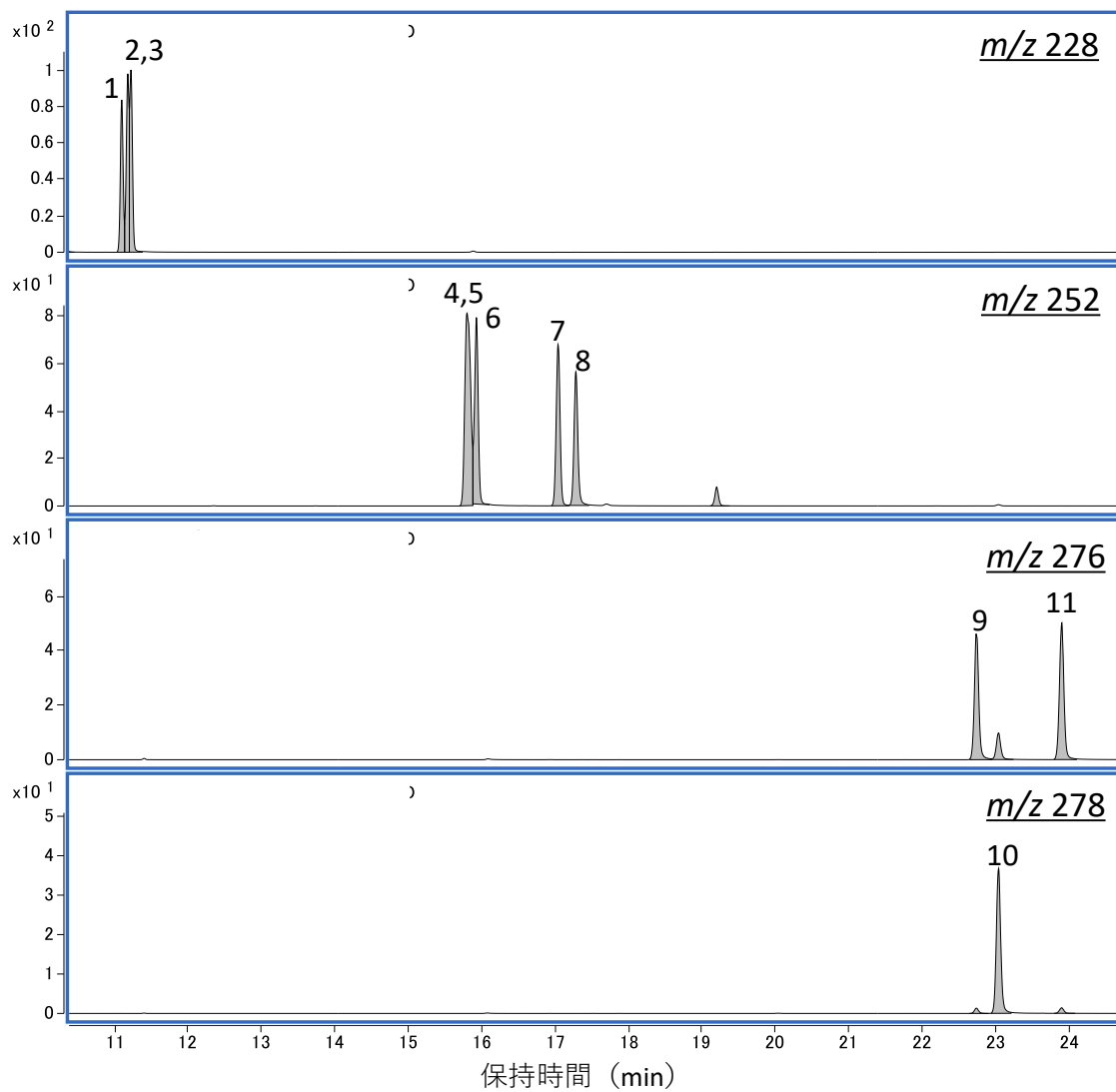


図2 PAHs 11種のクロマトグラム (DB-5MS, 番号は表1に対応)

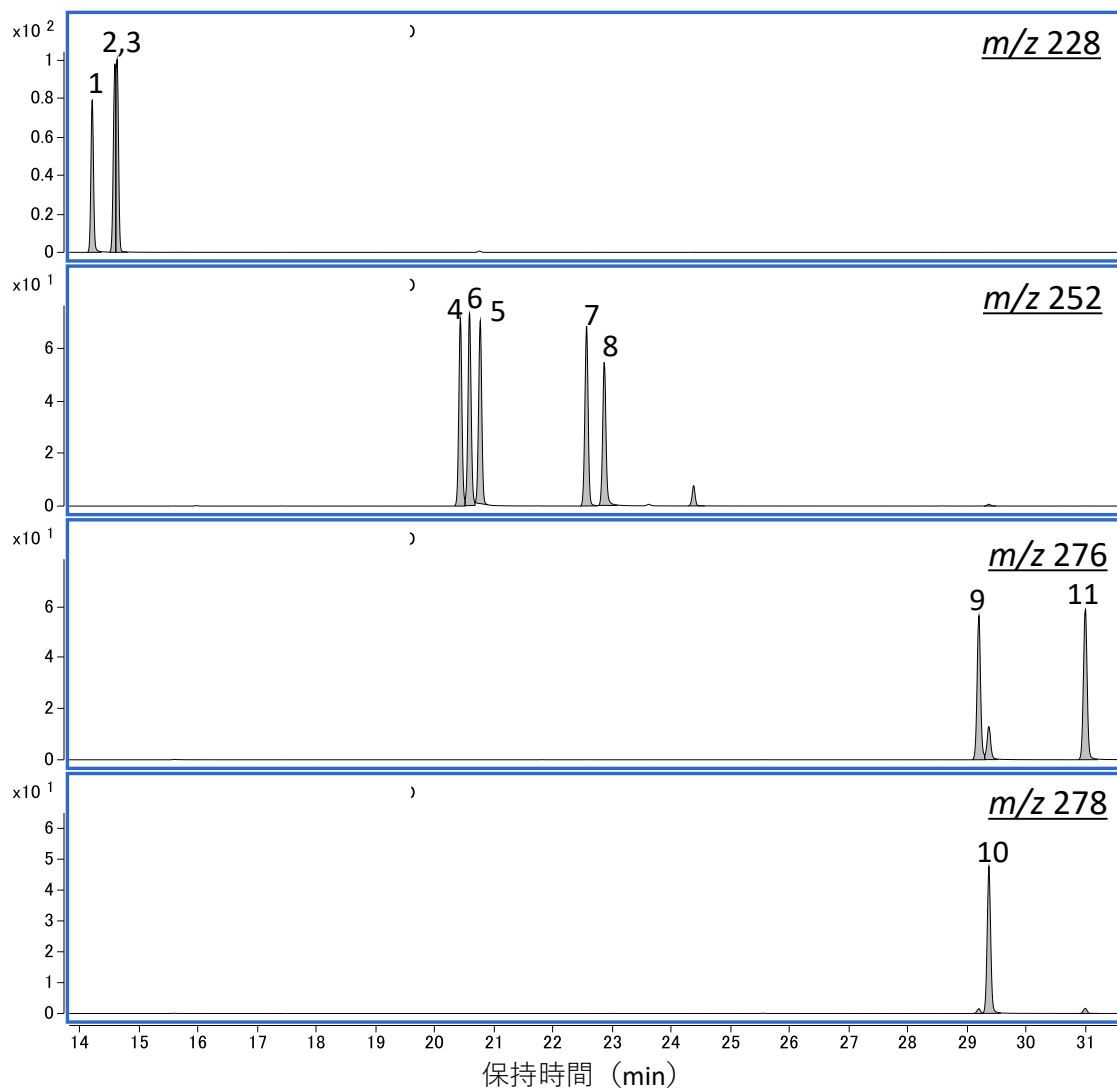


図3 PAHs 11種のクロマトグラム (DB-17MS, 番号は表1に対応)

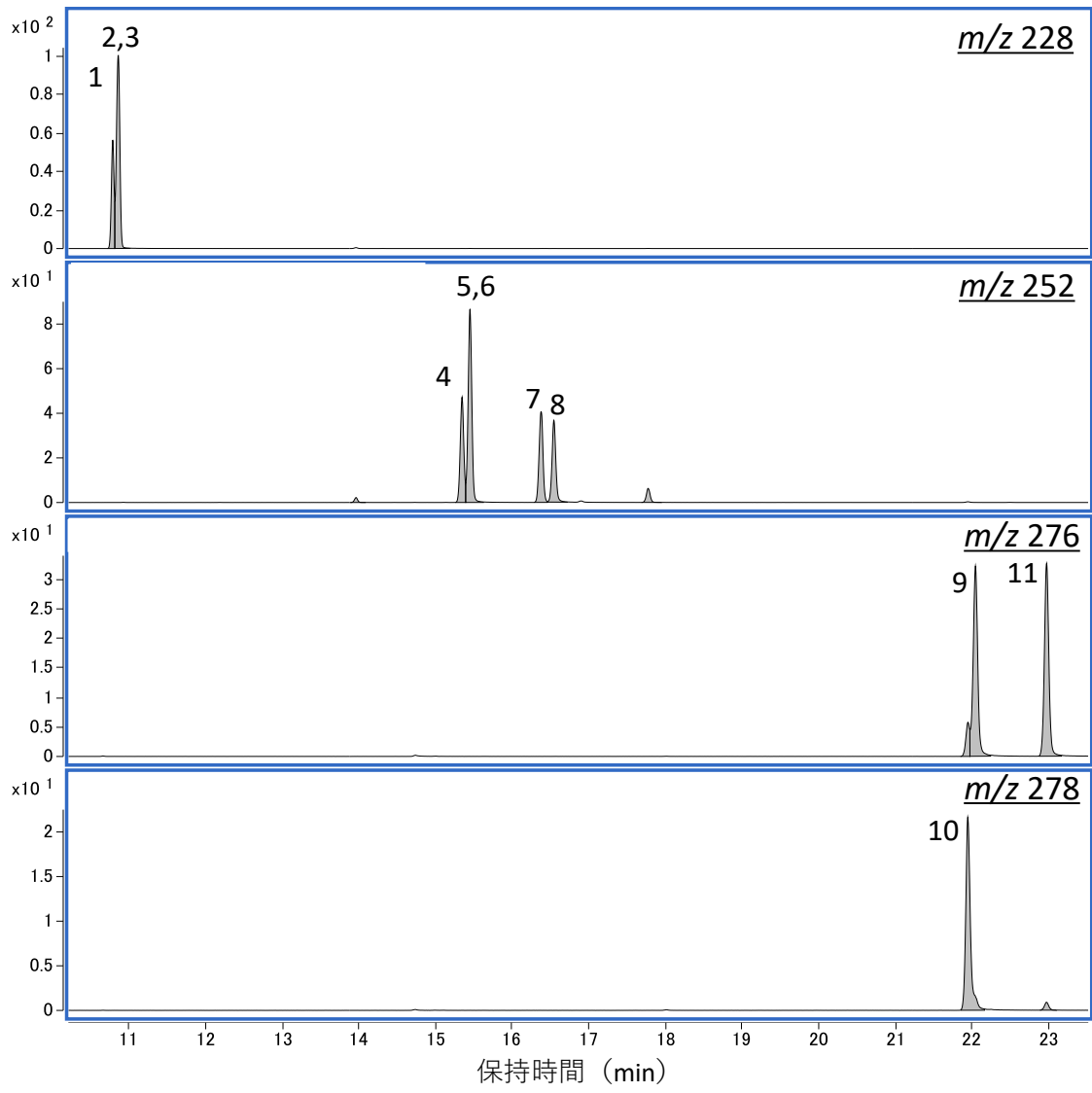


図4 PAHs 11種のクロマトグラム (Rtx-200, 番号は表1に対応)

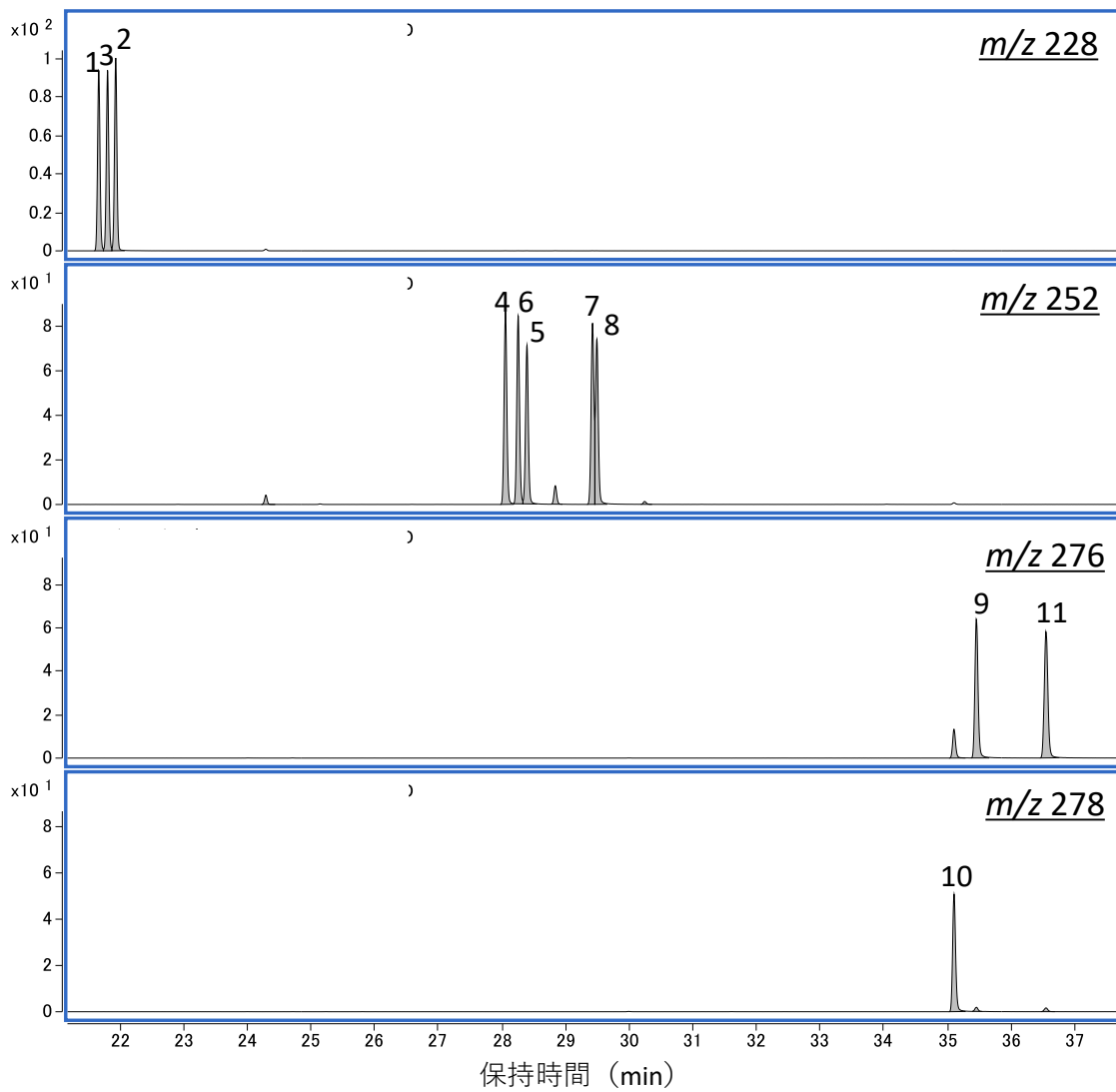


図5 PAHs 11種のクロマトグラム (SLB-ILPAH, 番号は表1に対応)

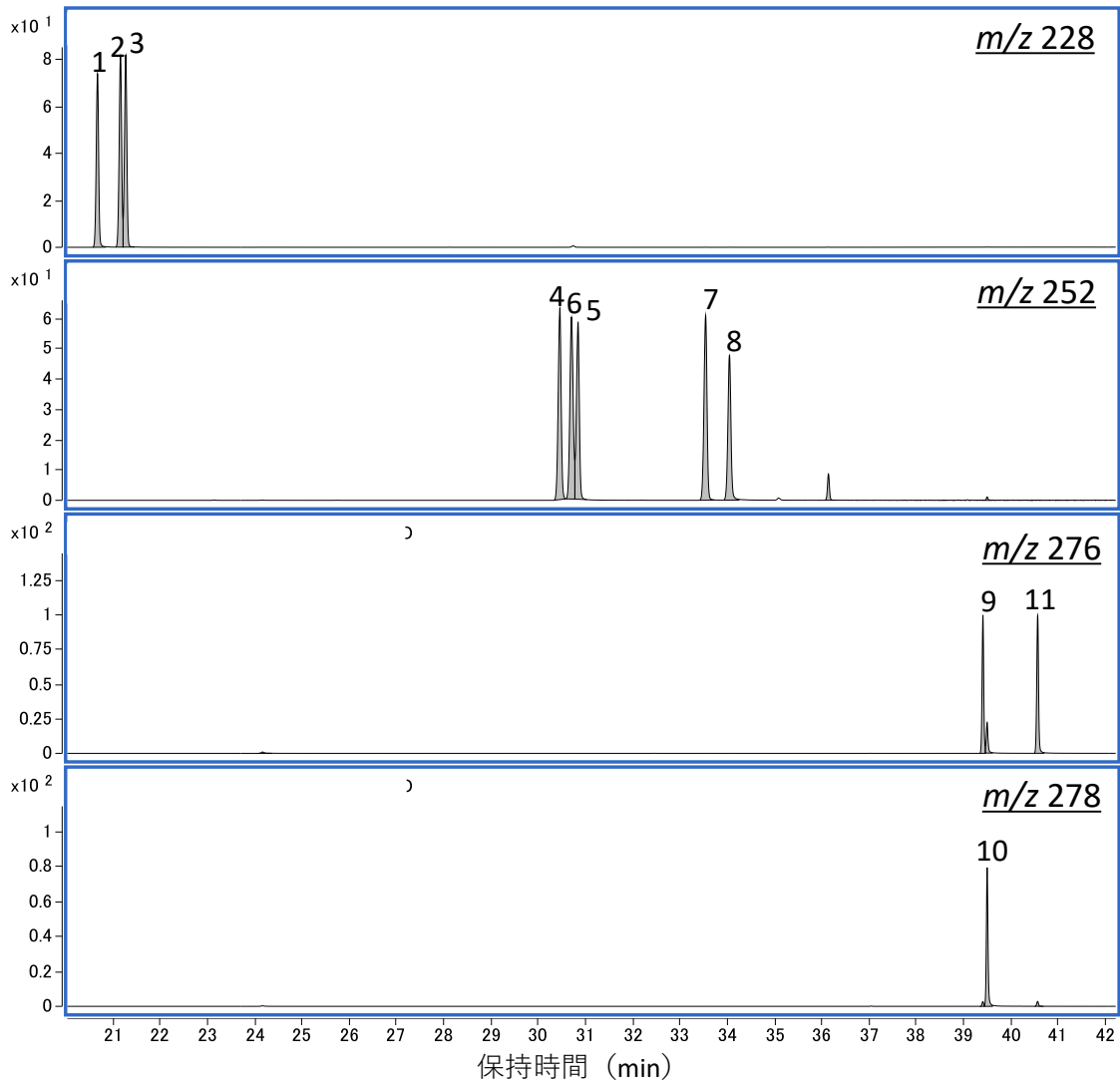


図6 PAHs 11種のクロマトグラム (Rxi-PAH, 番号は表1に対応)

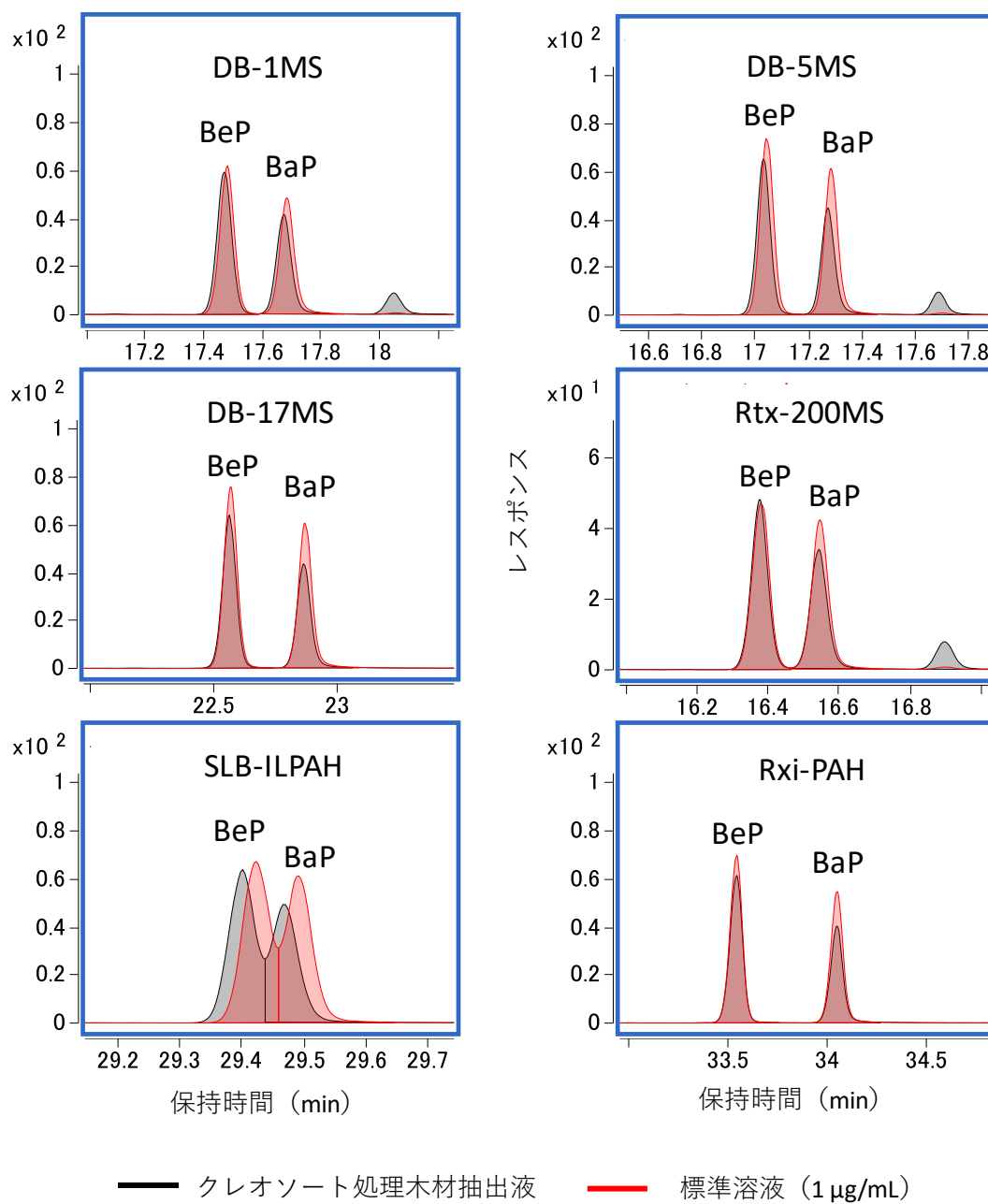


図7 各種カラムでクレオソート油処理木材抽出液及び標準液を分析した際の保持時間の比較 (例として BeP 及び BaP のクロマトグラムを示した)

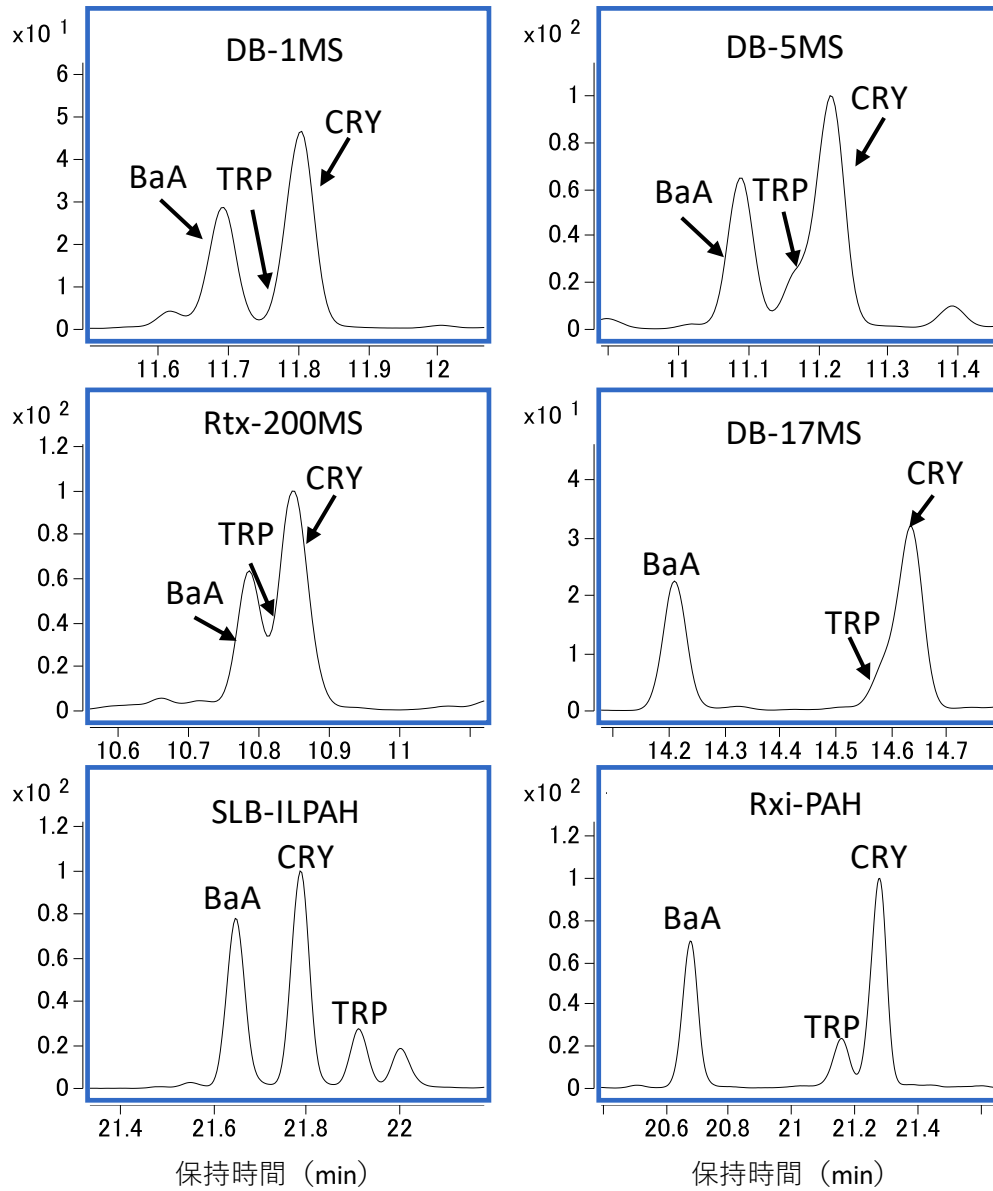


図8 各種カラムでのTRP（規制対象外）及びCRY（REACH規制対象）の分析（試料：クレオソート油処理木材抽出液）

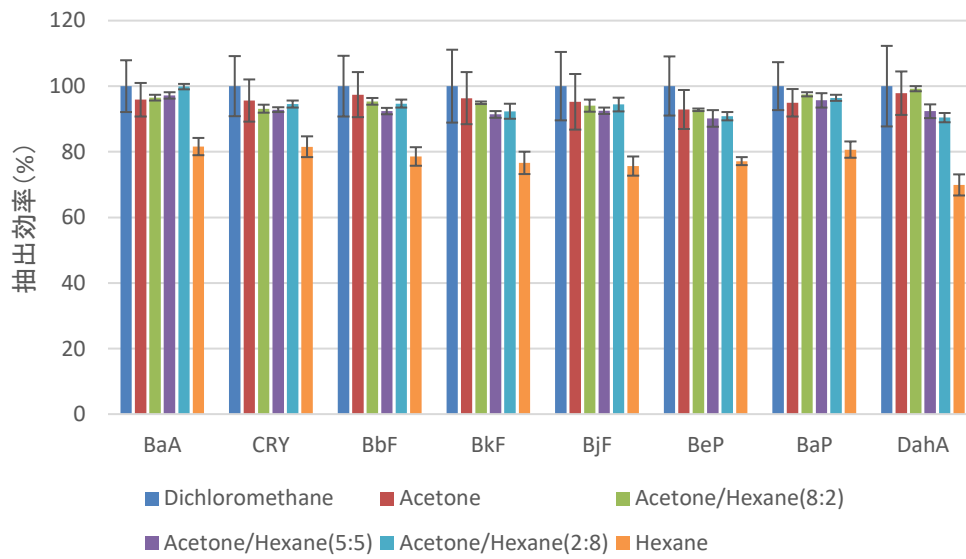


図9 各種溶媒によるクレオソート油処理木材（試料A）からのPAHs抽出効率（ジクロロメタンで抽出した場合を100%とした）

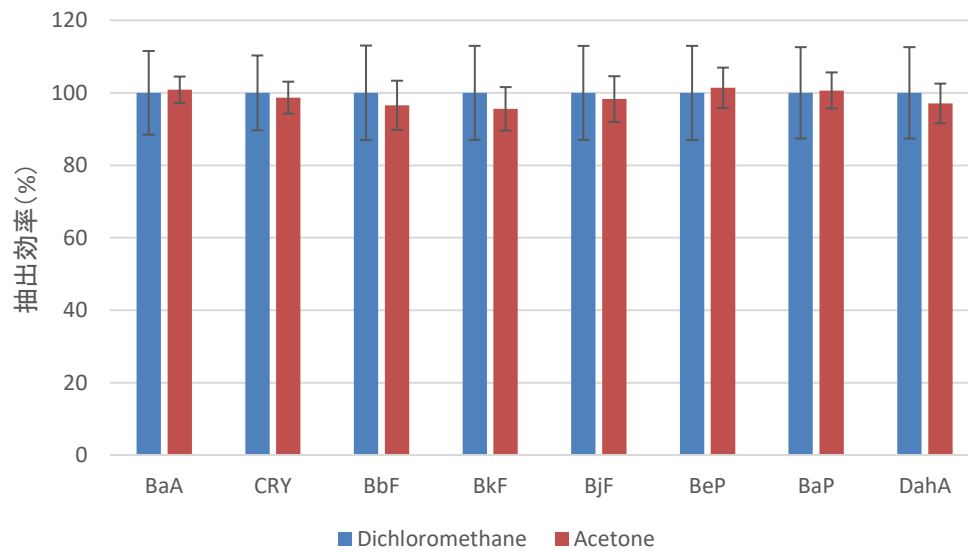


図 10 ジクロロメタンとアセトンによるクレオソート油処理木材 (試料 B) からの PAHs 抽出効率の比較 (ジクロロメタンで抽出した場合を 100%とした)