

令和6年度 厚生労働行政推進調査事業費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

室内空気汚染化学物質対策の推進に資する総合的研究

室内空気中化学物質の標準試験法の整備

室内環境中のベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤の試験法開発および実態調査

研究分担者 酒井 信夫 国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部 室長
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
西 以和貴 神奈川県衛生研究所 理化学部 主任研究員
仲野 富美 神奈川県衛生研究所 理化学部 主任研究員
上村 仁 神奈川県衛生研究所 理化学部 部長
田原麻衣子 国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部 主任研究官

ベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤(BUVSs)は熱や光に安定であることから、紫外線からの保護を目的として様々なポリマーに使用されてきた。他方、BUVSsの難分解性や高蓄積性が指摘されるようになり、それらの一部は国内外において規制対象となっている。環境中におけるBUVSsについては、河川水、大気、道路粉塵など既に報告があり、生物の体内から検出された事例もあることから、それらによる環境汚染が懸念されている。室内環境においては、ゴム・プラスチック製品、インク・塗料、接着剤等に使用されてきたことから、室内環境中のBUVSs存在量について諸外国において調査された。その結果、我が国において化学物質審査規制法 第一種特定化学物質に指定されている 2-Benzotriazol-2-yl-4,6-di-*tert*-butylphenyl (UV-320)を含め、数種類のBUVSsが室内空気やハウスダスト(HD)から高い検出率で確認された。HDには多くの化学物質が存在し、室内濃度指針値が策定されている可塑剤や殺虫剤などのSVOCsが検出される事例がこれまでに報告されているが、BUVSsに関する報告例は少なく、国内における調査研究は皆無である。本研究では、室内環境中のBUVSsについてLC-MS/MSによる測定法を構築し、国内の一般居住住宅における実態調査を行った。LC-MS/MSは、ダイナミックレンジの広さと回収率の安定性から大気圧化学イオン化法を選択した。HDの精製法としては、順相系の固相抽出カラム（塩基性アルミナ）がBUVSsを強力に保持し、溶出にバックフラッシュを用いることで定量的に溶出可能なことが示され、実態調査の結果から、我が国的一般居住住宅のHDにBUVSsが常在する可能性が示唆された。

A. 目的

紫外線吸収剤は1950年以前から合成され、プラスチック製品を紫外線から保護する目的で使用されている。一般に、プラスチックの劣化は紫外線により発生するアルキルラジカルにより起こり、紫外線吸収剤は紫外線のエネルギーを吸収することでラジカルの発生を抑える作用がある。中でも、ベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤(BUVSs)は熱や光に安定であることから、様々なポリマーに使用されてきた。しかし、難分解性や高蓄積性が指摘されるようになり、それらの一部が国内外で規制対象となっている¹⁾。環境中における BUVSs の存在については、河川水、大気、道路粉塵^{2),3)}など既にいくつかの報告があり、生物の体内からも検出された事例があることから、その汚染が懸念されている^{4),5)}。

BUVSs の毒性については、一部に生体毒性があることが知られており、BUVSs である UV-320 の雌ラットの NOAEL(無毒性量)は 2.5 mg/kg/day とされ、哺乳類の内分泌系の影響が指摘されている³⁾。構造多様性のある BUVSs では、その他の化合物も毒性の観点からも注視する必要がある。

室内環境では、フィリピンやノルウェーの一般居住住宅において、室内空気やハウスダスト(HD)中の存在量が調査された^{6),7)}。その結果、我が国で化学物質審査規制法 第一種特定化学物質に指定されている UV-320 を含め、数種類の BUVSs が高い検出率で確認された。HD は、これまで可塑剤や殺虫剤などが検出される事例が報告され^{8),9)}、多くの化学物質が存在していると考えられているが、BUVSs の報告例は少なく、HD に関する国内の調査研究は皆無である¹⁾。本研究では、室内環境中の HD における BUVSs について LC-MS/MS による測定法を構築し、国内の一般居住住宅における実態調査を行ったので報告する。

B. 方法

1. 一般試薬、分析装置

標準品は UV-P, -PS, -234, -326, -327, -328, -

329 (東京化成、純度 98% 以上), UV-320 (AccuStandard Inc, 純度 100%) を用いた。各種溶媒は残留農薬・PCB 試験、高速液体クロマトグラフ用 (富士フィルム和光純薬) を用いた。固相抽出カートリッジ(SPE)は、Oasis HLB Plus, Sep-Pak silica Plus, Sep-Pak florisil Plus, Sep-Pak alumina B Plus, Sep-Pak alumina N Plus (Waters), Bond Elut PRS (Agilent Technologies) を用いた。分析装置及び条件を Table 1 に示した。

2. SPE の溶出パターンの検証

各 SPE をアセトン 10 mL, ヘキサン 10 mL の順にコンディショニングした。アセトンで調製した BUVSs 混合標準液 1000 ng/mL を 0.5 mL 正確に試験管へ取り、窒素ガスで溶媒を乾固させた。これをヘキサンに再溶解して SPE に負荷し (on SPE 500 ng), 目盛り付きの濃縮管にヘキサン 10 mL を溶出させた。次に、アセトン:ヘキサン(9:1) 混液を 10 mL 目盛り付きの濃縮管へ溶出し、LC-MS/MS に供した。

3. 検出下限値(LOD), 定量下限値(LOQ)の算出

検出下限値(LOD)及び定量下限値(LOQ)は、 BUVSs 混合標準品 0.1 ng/mL と 0.5 ng/mL を 7 回繰り返し分析し、標準偏差の 3 倍(3σ)を LOD, 10 倍(10σ)を LOQ とした。

4. 洗浄 HD の作成

掃除機で収集した HD を電動ふるい MVS-1N(太洋株式会社)を用いて分級し、250 μm 以下の HD を調整した。この HD を 100 mg 量り取り、3 mL のアセトン:メタノール(1:1)混液を加え、15 分間超音波抽出後、遠心して上清を除いた。この操作を 3 回繰り返した。最後に、3 mL のメタノールで同様の操作を 1 回行い、75°C のオーブンで乾燥させたものを洗浄 HD とした。

5. 洗浄 HD を用いた添加回収試験

アセトンで調製した BUVSs 混合標準液 1000

ng/mL をマイクロシリングで 0.05 mL を取り、洗浄 HD に添加した。乾燥後、3 mL のアセトンで超音波抽出を 2 回行い、遠心後の上清を濃縮管に回収後、遠心エバポレーターで 1 mL まで濃縮した。これにヘキサンを 9 mL 加え、予めコンディショニングした Sep-Pak alumina B に負荷した。窒素ガスで SPE を乾燥させ、SPE を逆に接続したバックフラッシュにて 2-プロパノール:水混液(6:4)5 mL を溶出後、分析した。

6. 一般居住住宅における実態調査

HD の収集は各家庭の掃除機を使い、1 か月程度収集したものをお供与された。サンプリング期間は、2023 年 10-12 月と 2024 年 10-11 月に行った。実験方法の 4 に従い、250 μm 以下の HD を試料とした。分級した HD を 100 mg 量り取り、実験方法の 5 と同様に抽出、精製を行ったものを分析試料とした。実態調査では、1 軒の HD につき、n=3 で抽出精製操作を行い、分析に供した。

C. 結果および考察

1. LC-MS/MS による BUVSs 8 成分の分析条件の検討

はじめに、LC-MS/MS にて BUVSs 8 成分の分析条件の検討を行った。分離については、水とメタノールのシンプルなグラジエント条件で良好な分離を達成した(Fig. 1)。MS のイオン化法は、エレクトロスプレーイオン化法 (ESI) と大気圧化学イオン化法 (APCI) を検討した。その結果、検量線の下限は ESI で 0.01 ng/mL、APCI で 0.1 ng/mL 程度まで検出可能であった。しかし、ESI では多くの成分が 10 ng/mL 付近で飽和傾向にあり、100 ng/mL まで定量可能な APCI の方がダイナミックレンジは広いことを確認した。

2. SPE の溶出パターンの検証

次に、標準品を用いて各 SPE の溶出パターンを調査した。その結果、florisil と alumina B, alumina N 以外はヘキサンのみで溶出することが分かった

(Fig. 2)。alumina B と florisil の比較では、alumina B はアセトン:ヘキサン(9:1)混液を加えても溶出しなかったが、florisil は多くが 90% 近く溶出した。また、alumina には中性タイプの alumina N も存在するが、アセトン:ヘキサン(9:1)混液の溶出では、alumina B の方が保持力が強いことも確認した。以上の結果から、alumina B が BUVSs を特異的に保持できるものと判断した。

Alumina B は保持力が非常に強く、メタノールや水、酸を添加した混合溶媒でも多くが 60-70% 程度であり、他の BUVSs より疎水性の低い UV-P や UV-PS は数% しか回収されなかった。そこで、SPE を逆に接続したバックフラッシュにより、2-プロパノール/水混液で溶出すると、高収率で回収されることを見出した。溶媒量を検討した結果、2-プロパノール:水混液(6:4)5 mL の溶出が最適であった (Fig. 3)。Alumina は水分により段階的に活性度(保持力)を調整できることから、BUVSs との相互作用を適度に弱めたことが推定された。

3. 検出下限値(LOD)、定量下限値(LOQ)の算出と洗浄 HD を用いた添加回収試験

LOD と LOQ は BUVSs 混合標準品を繰り返し分析し、実態調査時の HD の秤量を想定した 0.1 g から ng/g に単位変換した (Table 2)。Kim らの報告によれば、HD 中の BUVSs 含量は幅があるものの、中央値で 3-84 ng/g であり⁶⁾、本研究で算出された LOQ で十分定量可能と考えられた。

次に、分析の妥当性を評価するために、洗浄 HD を用いた添加回収試験を試みた。本研究では、HD を溶媒で洗浄し、ブランクに相当する HD を作成することで、妥当性を評価することとした。HD からの有機物の除去を評価するため、GC-FID で分析を行ったところ、本研究の溶媒洗浄により、多くの有機物が除去されることを確認した。この洗浄 HD に標準品を添加し、抽出精製後、ESI と APCI それぞれで分析することで定量値の比較も行った。試験の結果、APCI では全 BUVSs が 83.9-105% の良好な回収率を示したのに対し、ESI では、回収率

が 22.8-77.1% であった。LC-MS/MS による定量分析において、ESI では分析対象によって、イオンサプレッションあるいはエンハンスが起こりやすいことが報告されており¹⁰⁾、本研究では、夾雜成分によるイオンサプレッションの影響が示唆された(Fig. 4)。以上の結果から、本研究の実態調査は、APCI にて行うこととした。

4. 一般居住住宅における実態調査

HD 中の BUVSs 8 成分を調査した結果、UV-PS と UV-320 を除く 6 成分がいずれも確認され、そのうち、最高濃度は UV-326 の 10,582 ng/g であった (Fig. 5, Table 3)。これは、UV-320 を除いて、Kim ら、Schlabach らの住宅における HD の結果と近い傾向にあった^{6), 7)}。UV-320 は、我が国では 2007 年に化審法の第一種特定化学物質に指定され、製造、使用及び輸入が原則禁止となった経緯があり、今回の調査でほとんど確認されなかつたことは妥当な結果と考えられた。

また、2023 年と 2024 年の比較では、最大と最小値は変動が大きいものの、中央値や検出率は概ね同様の傾向が見られた。今回、2024 年にサンプリングした HD は、11 軒中 10 軒が 2023 年と同じ住宅から得られたものであることから、BUVSs が日本の HD に常在する可能性が示唆された。今回分析した BUVSs の中で UV-328 は、ストックホルム条約の附属書 A に追加され、我が国でも第一種特定化学物質に追加指定された(令和 6 年 12 月 13 日閣議決定: 化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律施行令の一部を改正する政令)。第一種特定化学物質への指定の状況も踏まえつつ、今後も室内環境中の HD における BUVSs の実態を継続して把握していくことが重要と考えられた。

D. まとめ

BUVSs 8 成分の LC-MS/MS による分析法と HD からの精製法を検討した。LC-MS/MS 分析では、ダイナミックレンジの広さと、回収率の安定性から APCI を選択した。精製法では、Sep-pak

alumina B が BUVSs を強力に保持し、溶出にバックフラッシュを用いることで定量的に溶出可能なことが分かった。構築した条件を用いた HD の実態調査から、BUVSs は日本の一般居住住宅の HD に常在する可能性が示唆された。

【参考文献】

- 1) 独立行政法人製品評価技術基盤機構製品含有化学物質のリスク評価 UV-328 (2023).
- 2) Yoshiki et al, J. Environ. Chem., 31, 30-39 (2021).
- 3) Nakata et al., J. Environ. Chem., 23, 37-42 (2013).
- 4) Nakata et al., Environ. Sci. Technol., 43, 6920-6926 (2009).
- 5) Nakata et al., J. Environ. Monitor., 12, 2088-2092 (2010).
- 6) Kim et al., Sci. Total Environ., 424, 174-181 (2012).
- 7) Schlabach et al., NILU report, 20 (2019).
- 8) Takeuchi et al., BPB reports, 2, 91-98 (2019).
- 9) Saito et al., Ann. Rep. Tokyo Metr. Inst. PH., 54, 253-261 (2003).
- 10) Omnia A et al., J. Chromatogr. B., 875(2), 333-343 (2008).

E. 健康危機情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yoshitomi T, Nishi I, Uemura H, Tahara M, Sakai S: Simultaneous analysis of insecticides and phthalates in residential buildings based on Japan's indoor air quality guidelines. *BPB Reports*, 7, 85-89 (2024).

2. 学会発表

- 1) 吉富太一, 西以和貴, 田原麻衣子, 上村仁, 酒

井信夫：室内濃度指針値が策定された準揮発性有機化合物の一斉分析法の構築と住宅における実態調査, 第 32 回環境化学討論会, 広島, 2024 年 7 月

- 2) 吉富太一, 西以和貴, 田原麻衣子, 仲野富美, 上村仁, 酒井信夫: 室内環境中のハウスダストにおけるベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤の実態調査, 2024 年室内環境学会学術大会, 札幌, 2024 年 11 月

G. 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

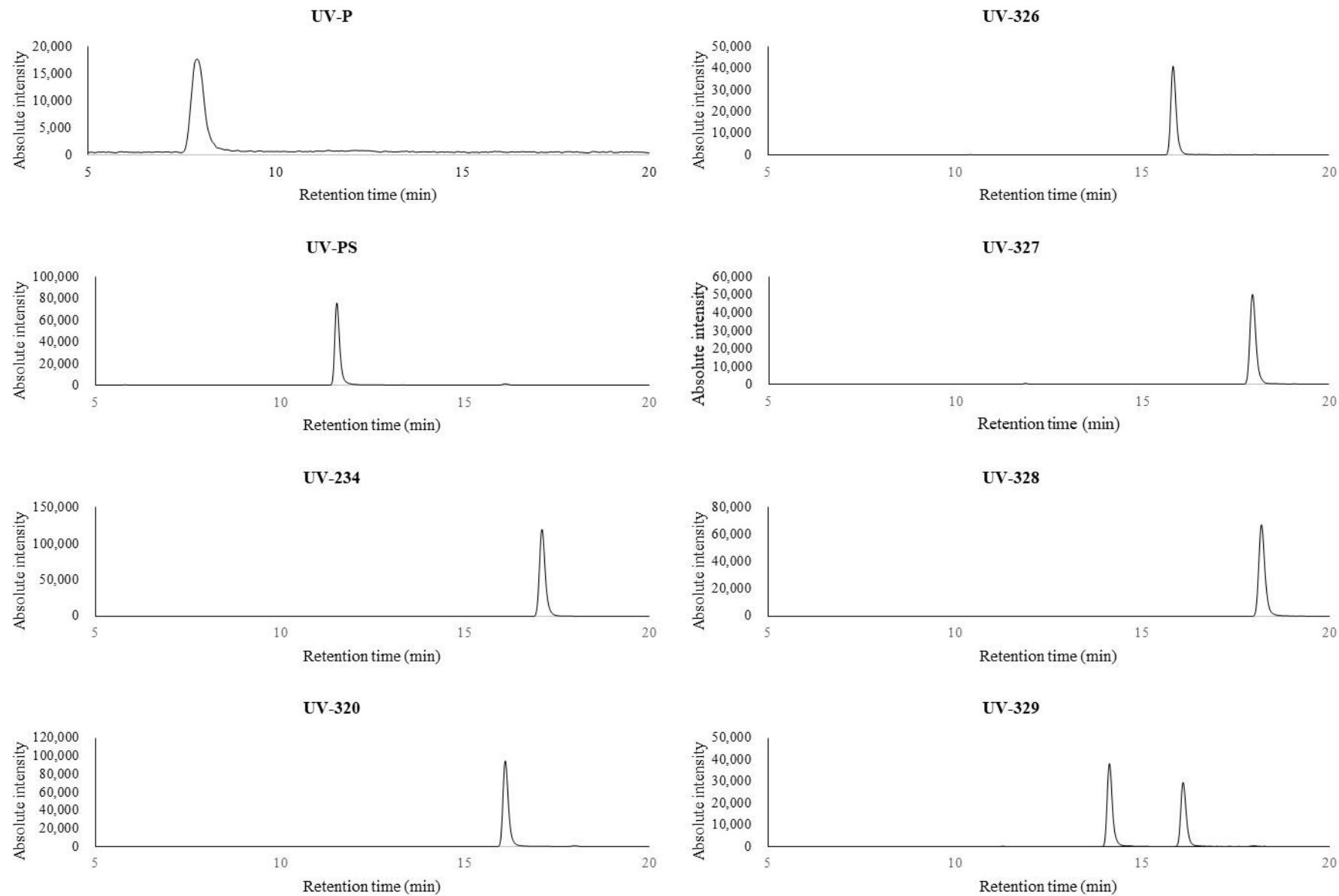


Fig. 1 Multiple Reaction Monitoring (MRM) chromatograms of BUVSs

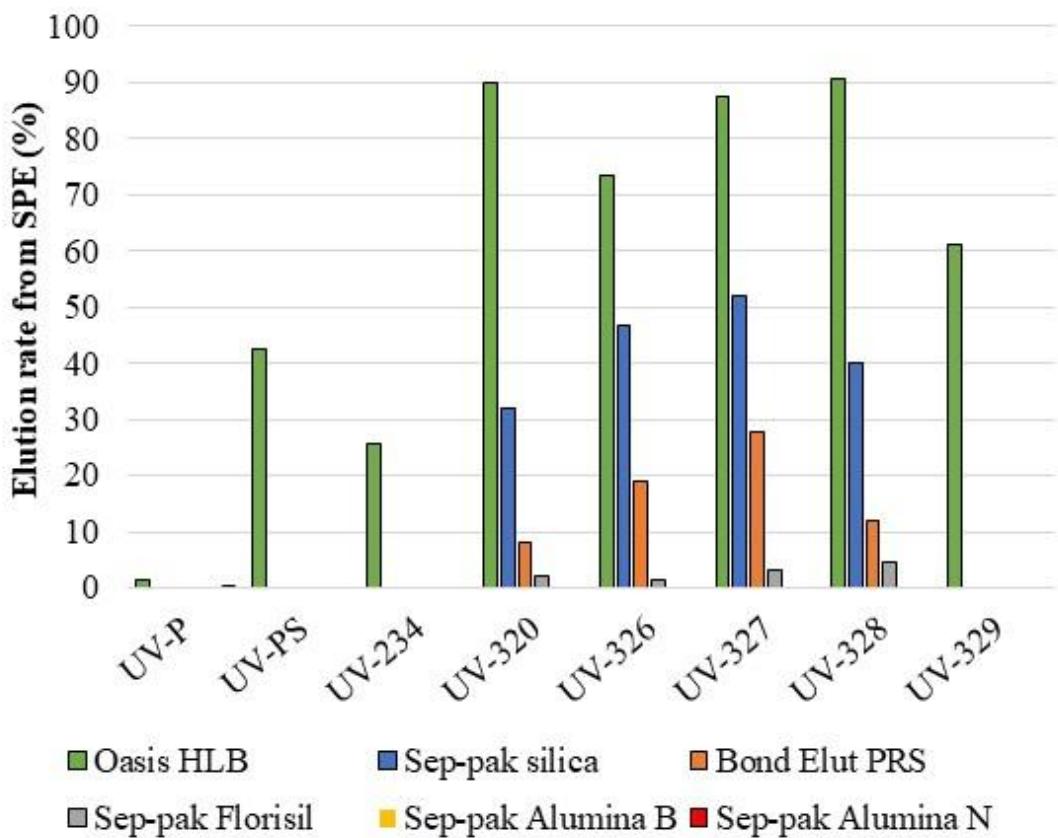


Fig. 2 Elution rate of each SPE with hexane

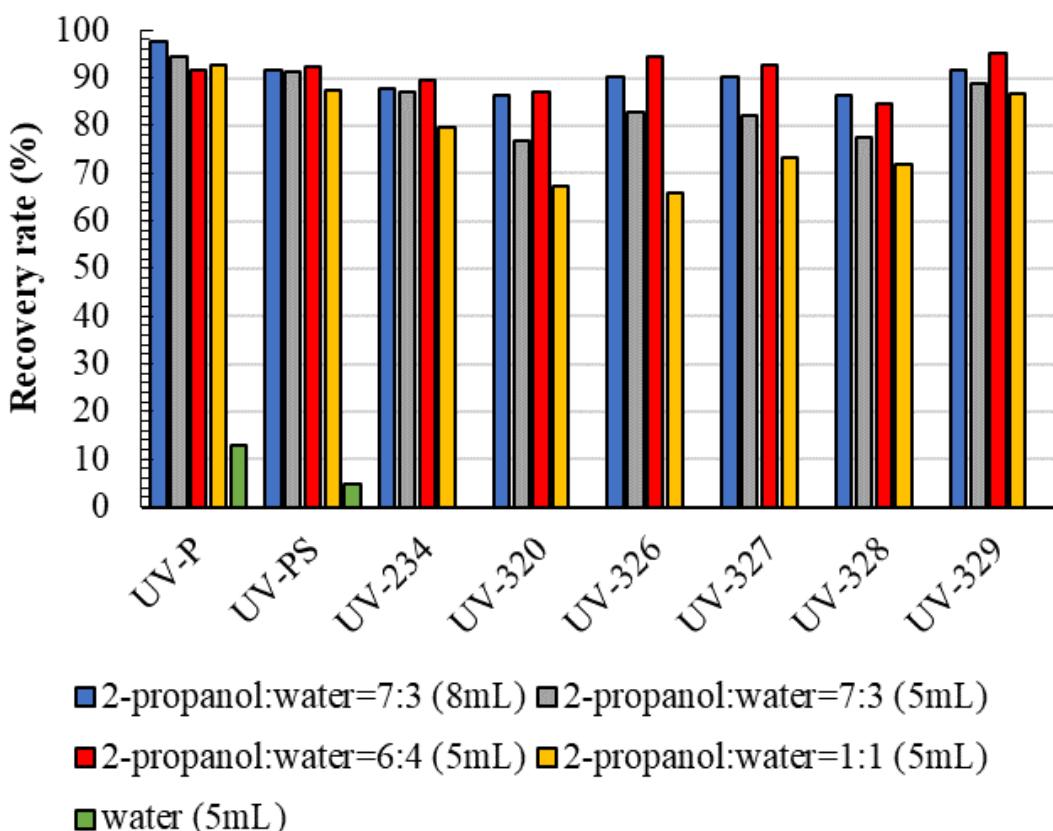


Fig. 3 Recovery of BUVSs by backflush using sep-pak Alumina B

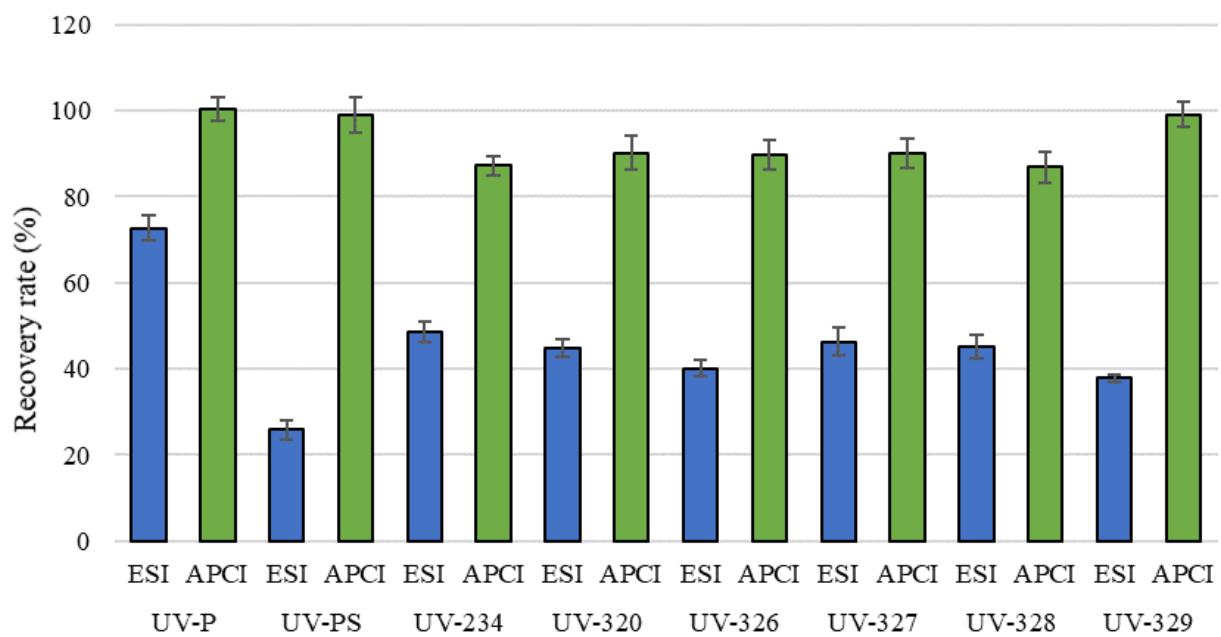


Fig. 4 Recovery test using washed HD (n=6), blue bar: ESI, green bar: APCI

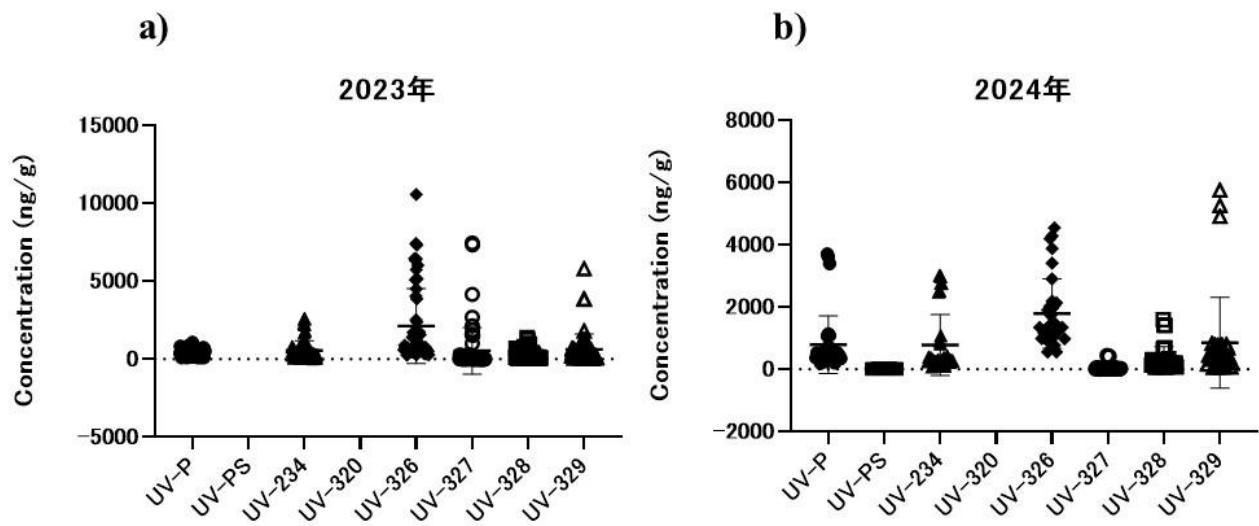


Fig. 5 Scatter plots of BUVSs detected in HD, a) 2023, b) 2024

Table 1 LC-MS/MS conditions for BUVSs

Liquid Chromatograph						
Instrument			Nexera LC-40D _{XR}			
Column			Inertcore plus C18 2.1 x 100 mm, 2.6 μ m			
Gradient program			70% B(6.5 min)-90% B(9.5 min)-93% B(14 min)-93% B(18 min)-100% B(18.01 min)-100% B(24 min)-70% B(24.01 min)-70% B(30 min)			
Mobile phase	A: water, B: methanol					
Flow rate	0.25 ml/min					
Injection volume	10 μ L					
Column oven	40°C					
Mass Spectrometry						
Monitor ion (m/z)						
Instrument	LCMS-8050					
Ionization	ESI (positive)					
Interface temperature	300°C					
Desolvation temperature	525°C					
DL temperature	250°C					
Heat block temperature	400°C					
Nebulizing gas	3 L/min					
Heating gas	10 L/min					
Drying gas	10 L/min					

Table 2 The limits of quantitation and detection for this study (n=7)

ng/g	UV-P	UV-PS	UV-234	UV-320	UV-326	UV-327	UV-328	UV-329
LOD	4.29	0.83	1.80	3.09	2.12	1.55	1.95	1.65
LOQ	14.32	5.23	5.98	10.31	7.05	5.18	6.52	5.50

Table 3 Concentrations of BUVSs in HD in September-December 2023 and September-October 2024

ng/g	UV-P		UV-PS		UV-234		UV-320	
	2023	2024	2023	2024	2023	2024	2023	2024
Max	1.08 x 10 ³	3.71 x 10 ³	Tr	31.3	2.59 x 10 ³	3.02 x 10 ³	Tr	Tr
Median	3.70 x 10 ²	4.50 x 10 ²	Tr	16.7	3.50 x 10 ²	3.07 x 10 ²	Tr	Tr
Min	85.8	1.95 x 10 ²	Tr	9.62	49.1	80.2	Tr	Tr
Detection frequency (%)	100	100	8.33	18.2	100	100	26.7	18.2
Ref 2 (Philippines, Survey year 2008: Min-Max (DF%))	-	-	-	-	ND-817 (94%)	-	ND-25 (82%)	-
Ref 3 (Norway, Survey year 2018: Min-Max (DF%))	-	-	-	-	-	-	<1-475 (96%)	-
ng/g	UV-326		UV-327		UV-328		UV-329	
	2023	2024	2023	2024	2023	2024	2023	2024
Max	1.06 x 10 ⁴	4.55 x 10 ³	7.55 x 10 ³	4.48 x 10 ²	1.38 x 10 ³	1.58 x 10 ³	5.81 x 10 ³	5.76 x 10 ³
Median	7.80 x 10 ²	1.35 x 10 ³	27.6	19.0	1.26 x 10 ²	1.64 x 10 ²	2.81 x 10 ²	3.99 x 10 ²
Min	2.50 x 10 ²	5.55 x 10 ²	5.74	8.30	28.9	59.3	40.8	58.9
Detection frequency (%)	100	100	100	100	100	100	100	100
Ref 2 (Philippines, Survey year 2008: Min-Max (DF%))	ND-275 (88%)	-	ND-73 (88%)	-	ND-304 (82%)	-	-	-
Ref 3 (Norway, Survey year 2018: Min-Max (DF%))	24-1600 (100%)	-	<1-800 (96%)	-	1-18000 (100%)	-	7.8-8250 (100%)	-