

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）

R4 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。欧州連合（EU）では消費者向け製品に対し、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 分析において妨害物質との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。

R2 年度の研究で、PAHs 分析用カラムである SLB-ILPAH が妨害物質との分離定量に有効であり、また、液相が公開されているという利点があることを見出した。しかし一方で、SLB-ILPAH は試料中夾雑物等の影響で保持時間がずれることがあるという課題も見つかった。本年度はベンゾ[a]アントラセン- d_{12} 及びクリセン- d_{12} の保持時間を基準として用い、この保持時間のずれを補正する方法を検討した結果、その有効性を確認できた。

また、これまでの研究で構築した試験法を用い、市場に流通するクレオソート油及びその処理木材の実態調査を行った。その結果、クレオソート油からは 6 検体中 2 検体から現行規制対象のベンゾ[a]アントラセンが検出された。また、木材製品からは分析した 5 検体すべてからベンゾ[a]アントラセンが検出され、その内 1 製品からは分析対象の 8 種 PAHs がすべて検出された。検出された濃度はすべて現行基準値を下回っていた。

A. 研究目的

わが国では、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。

これらの現行試験法ではジクロロメタンの使用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、有害性が高い溶媒である。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が、これでは精製が不十分であるとの指摘がある。クレオソート油は数千種もの化学物質が含有されており²⁾、さらに、クレオソート油処理された木材は油分等の汚染がある³⁾ため、単一の精製法のみでは夾雑物が十分に除去できない。したがって、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、わが国で規制対象となっている 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。⁴⁾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。

昨年度までの研究で、ジクロロメタンに代わる安全な溶媒及び効果的に夾雑物を除去する精製法の検討を完了し、改正試験法の案を作成した。

本年度は当該試験法で用いる汎用 GC カラム (DB-17MS) では分離できないクリセン及びトリフェニレンについて、SLB-ILPAH を用いた分離定量法を検討した。また、これまでの研究で構築した試験法を用いて市場に流通するクレオソート製品の実態調査を行った。

B. 研究方法

B1. 試料

クレオソート油 (X) 及び A~F をインターネット通販にて購入し、試料とした。

また、クレオソート油で処理された枕木 (Y, Z) 及び杭 (WA~WE) をインターネット通販にて購入し、試料とした。木材表面およそ 1 cm を削り取った後、細かく刻み、以降の検討に用いた。なお、枕木 Y は「業務用」として販売されていたものである。

B2. 試薬類

PAHs の標準溶液として、AccuStandard 社の PAH Standard (Quebec Ministry of Environ. PAH Mix) を用いた。内部標準物質は Benzo[a]anthracene-*d*₁₂、Chrysene-*d*₁₂ 及び Perylene-*d*₁₂ をトルエンで 10 mg/L に調製し、内部標準溶液及び保持指標の基準として用いた。直鎖炭化水素混合標準液は GL サイエンス社の炭化水素混合試料 ヘキサン溶液 (各 50 µg/mL、C10,20,30,40 は 100 µg/mL)

を用いた。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。

試料前処理カラムはウォーターズ社の Sep-pak Silica (1 g)、GL サイエンス社の Inert Sep SAX (500 mg) を用いた。

B3. SLB-ILPAH の保持時間のずれに関する検討

直鎖炭化水素混合標準液は 10 µg/mL (C10,20,30,40 は 20 µg/mL)になるように調製し、SLB-ILPAH を装着した GC-MS で分析した。

また、枕木 Y の抽出液をアセトンで 10 mL に定容後、100 倍に希釈した試験溶液を SLB-ILPAH を装着した GC-MS で分析した。さらに、PAHs の混合標準液 (30~1000 ng/mL) を同様に分析した。これらの分析に際しては、試験溶液 1 mL に対して内部標準溶液を 50 µL 加えた。

B4. SLB-ILPAH を用いた時のクリセンの添加回収試験と定量下限値の算出

クレオソート油 X 0.5 g を 15 mL PP 製遠沈管にとり、1 µg/g となるように PAHs 混合標準液を添加し、一晩放置した。これにヘキサン 3 mL を加え、3000 rpm で 5 分間遠心処理した。この上清を、予めアセトン 5 mL 及びヘキサン 10 mL でコンディショニングした Sep-Pak Silica に負荷し、溶出液を採取した。ジエチルエーテル/ヘキサン(1/9 v/v) 3 mL で遠沈管を洗いこんで Sep-Pak Silica に流し込み、さらにジエチルエーテル/ヘキサン(1/9 v/v) 3 mL で溶出した。溶出液を合わせ、ロータリーエバポレーターで 2 mL 以下まで濃縮した後、ヘキサンで 10 mL に定容

した。この溶液 1 mL を予めアセトン 5 mL 及びヘキサン 10 mL でコンディショニングした InertSep SAX に負荷した後、ジエチルエーテル/ヘキサン(1/9 v/v) 6 mL でカートリッジを洗浄した。続いてアセトン/ヘキサン(1/9 v/v) 6 mL で溶出し、この溶出液を窒素気流下で 1 mL 以下に濃縮後、ヘキサンで 1 mL とした。これに内部標準溶液を 50 µL 加え、SLB-ILPAH を装着した GC-MS で分析した。

クレオソート油処理木材に関しては、枕木 Z の試料 1 g に 0.3 µg/g となるように PAHs 混合標準液を添加し、一晩放置した。これにアセトン 20 mL を加え、37°C で 24 時間抽出した。抽出液をろ過後、1 mL 以下に濃縮し、以降クレオソート油と同様に操作して試験溶液を調製後、GC-MS で分析した。

定量下限値は添加回収試験の結果の 10 σ で算出した。

B5. 国内で流通するクレオソート製品の実態調査

クレオソート油 6 検体 (A~F) 及びクレオソート油で処理された木材 5 検体 (WA~WE) について、B4 と同様の操作で抽出・精製を行った。

得られた試験溶液はまず DB-17MS を装着した GC-MS で分析した。この分析でクリセセンが検出された試験溶液については、SLB-ILPAH を装着した GC-MS でさらに分析し、クリセセンを定量した。

B6. GC-MS 条件

装置はアジレント・テクノロジー社の 7890B GC/5977B MS を用いた。カラムは DB-17MS (アジレント・テクノロジー社、

Length 30 m, I.D. 0.25 mm, Film thickness 0.25 μm)または SLB-ILPAH (Merck 社, Length 20 m, I.D. 0.18 mm, Film thickness 0.05 μm) を用いた。キャリアガスはヘリウムを用い、流量は 1.0 mL/min とした。試験溶液は 1 μL をパルスドスプリットレスモード (25 psi, 1 分) で注入した。DB-17ms を用いた際のカラムオープンプログラムは 100°C(0.5 分) \rightarrow 30°C/min \rightarrow 230°C \rightarrow 2°C/min \rightarrow 310°C (5 分) に設定した。また、SLB-ILPAH を用いた際のカラムオープンプログラムは 100°C(5 分) \rightarrow 20°C/min \rightarrow 200°C (0 分) \rightarrow 4°C/min \rightarrow 300°C(5 分) に設定した。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。注入口温度及びイオン源温度は 300°C に設定した。定量イオン及び定性イオンは表 1 に示した。

C. 結果及び考察

C1. SLB-ILPAH の保持時間のずれに関する検討

令和 2 年度の研究でクリセンとトリフェニレンを GC-MS で分離定量する方法の検討を行った。この検討で、PAHs 分析用カラムである Rxi-PAH 及び SLB-ILPAH がそれらを良好に分できることを明らかにした。しかし、Rxi-PAH 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、SLB-ILPAH は液相が公開されている。ただし、SLB-ILPAH による分析では、試料中夾雑物の影響等により、保持時間のずれが起きることがあり、定性に支障をきたす欠点が認められた。そこで本年度は、この SLB-ILPAH の欠点を補うため、保持指標を用いた定性法

を検討した。

保持指標は通常、直鎖炭化水素の保持時間を基準として算出する。そこでまず、C9 から 40 の直鎖炭化水素混合標準液を用いる方法を検討した。その結果、最も沸点の高い C40 でもクリセンよりも保持時間が短かった (図 1)。保持指標を算出するためには、目的物質のピークが 2 つの基準物質のピークの間にある必要がある。したがって、C9~40 の直鎖炭化水素混合標準液では保持指標を算出することができないことが分かった。この要因として、SLB-ILPAH は PAHs 分析に特化したカラムのため、直鎖アルカンの保持が弱い可能性が考えられた。

次に、内部標準物質としても用いられるベンゾ[a]アントラセン- d_{12} 及びクリセン- d_{12} を基準として用いる方法を検討した。その結果、クリセンの保持時間はベンゾ[a]アントラセン- d_{12} 及びクリセン- d_{12} の間であることがわかった (図 2)。そこで、クリセンの濃度や夾雑物の有無等、条件を変えて分析したところ、クリセンの保持時間のずれが認められた一方で、必ずベンゾ[a]アントラセン- d_{12} 及びクリセン- d_{12} の間にクリセンのピークが検出された (表 2)。下記の数式で算出した保持指標 (RI) は 0.179~0.250 であり、同じオープンプログラムであれば RI は概ねこの範囲内の値になると考えられた。一方、この一連の分析で保持時間のずれは 0.07 分以上であった (表 2)。このようなずれはピークを誤認する原因となりうるため、SLB-ILPAH を用いたクリセンの分析では、保持時間ではなく RI を用いた定性が有効と考えられた。

$$RI = \frac{(RTc - RTbd)}{(RTcd - RTbd)}$$

RI: クリセンの保持指標
 RTc: クリセンの保持時間(min)
 RTbd: ベンゾ[a]アントラセン-d₁₂の保持時間(min)
 RTcd: クリセン-d₁₂の保持時間(min)

C2. SLB-ILPAH を用いた時のクリセンの添加回収試験

SLB-ILPAH を用いた場合のクリセンの定量性を確認するため、クレオソート油及び処理木材への添加回収試験を行った。その結果、クレオソート油で回収率 87.9% (相対標準偏差 1.5%)、処理木材で 88.4% (相対標準偏差 4.1%) であった。さらに、SLB-ILPAH を用いた場合のクリセンの定量下限値を求めたところ、クレオソート油で 0.10 µg/g、処理木材で 0.08 µg/g であり、現行のベンゾ[a]アントラセン等のクレオソート油の基準値 10 µg/g 及び処理木材の基準値 3 µg/g を大きく下回った。これらのことから、本研究で構築した試験法は、SLB-ILPAH を用いた場合でも良好なパフォーマンスを示すことがわかった。

C3. 国内で流通するクレオソート製品の実態調査

これまでの研究で確立した分析法を用い、市場に流通するクレオソート製品の実態調査を行った。

クレオソート油に関しては、6 検体中 2 検体から分析対象 PAHs が検出された (表 3)。その内、ベンゾ[a]アントラセン及びクリセンが比較的高濃度であった。検出濃度は 0.204~1.944 µg/g であり、現行基準値を超えるものはなかった。

クレオソート油で処理された木材については、分析した 5 検体すべてで分析対象 PAHs が検出された (表 4)。ベンゾ[a]アントラセンはすべての検体で検出されたが、その濃度は 0.023~0.338 µg/g であり、現行基準値を超えるものはなかった。また、ベンゾ[a]アントラセンの最大検出濃度である 0.338 µg/g を検出した検体からは分析対象とした 8 種の PAHs がすべて検出された。

クレオソート油は平成 16 年の家庭用品規制法による規制導入に際し、規制対象 PAHs を除去した製品が開発されている⁵⁾。今回の研究で調査したクレオソート油製品はいずれも規制対象 PAHs の検出濃度が低く、これらが除去されたクレオソート油及びそれを使用した木材と考えられた。

D. まとめ

分析対象とした 8 種類の PAHs のうち、クリセンは汎用カラムでは妨害物質との分離が困難である。PAHs 分析用カラムである SLB-ILPAH を用いることでこれらの分離は可能であるが、試料中夾雑物等の影響で保持時間がずれることがあり、定性が不十分になる欠点があった。本年度の検討で、ベンゾ[a]アントラセン-d₁₂及びクリセン-d₁₂を基準として用いる方法でこの欠点を解消できることを見出した。また、この方法でクリセンを分析したところ、十分な感度及び精度のある分析が可能なることを示した。

さらに、市場に流通するクレオソート油及びそれらで処理された木材の実態調査を行った。その結果、クレオソート油か

らは 6 検体中 2 検体から現行規制対象のベンゾ[a]アントラセンが検出された。また、木材製品からは分析した 5 検体すべてからベンゾ[a]アントラセンが検出され、その内 1 製品からは分析対象の 8 種 PAHs がすべて検出された。検出された濃度はすべて現行基準値を下回っていた。

E. 研究発表

E1. 論文発表

なし

E.2 学会発表

- 1) 西以和貴・吉富太一・田原麻衣子・河上強志 クレオソート油及びその処理木材中多環芳香族炭化水素類試験法の検討ー精製法及び改正試験法の添加回収試験ー, 第 59 回全国衛生化学技術協議会年会, (2022.10)

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/>> (2023/3/7 閲覧)
- 2) World Health Organization (WHO) (2004), Concise International Chemical Assessment Document 62 Coal Tar Creosote.
- 3) 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
- 4) ECHA, ANNEX XVII TO REACH – Conditions of restriction, Entry 50,
<<https://echa.europa.eu/documents/10162/4f099937-658f-8b86-2f62-5e767fab4d6e>> (2023.3.7 閲覧)
- 5) 佐伯義将. (2018). クレオソート油代替木材保存剤の耐久性. 木材保存, 44(3), 136-137.

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	Chrysene	CRY		✓	228	226
3	Benzo[b]fluoranthene	BbF		✓	252	250
4	Benzo[j]fluoranthene	BjF		✓	252	250
5	Benzo[k]fluoranthene	BkF		✓	252	250
6	Benzo[e]pyrene	BeP		✓	252	250
7	Benzo[a]pyrene	BaP	✓	✓	252	250
8	Dibenz[a,h]anthracene	DahA	✓	✓	278	279
IS1	Benz[a]anthracene - <i>d</i> ₁₂	BaA- <i>d</i> ₁₂			240	236
IS2	Chrysene- <i>d</i> ₁₂	CRY- <i>d</i> ₁₂			240	236
IS3	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 ベンゾ[a]アントラセン- d_{12} 、クリセン- d_{12} 及びクリセンの保持時間及び算出した保持指標 (RI)

Sample (CRY concentration)	Retention time			RI
	BaA- d_{12}	CRY- d_{12}	CRY	
Creosote-treated wood 1 Rail Sleeper Y	21.636	21.748	21.660	0.214
Creosote-treated wood 2 Rail Sleeper Y	21.628	21.740	21.652	0.214
Creosote-treated wood 3 Rail Sleeper Y	21.618	21.735	21.643	0.214
Creosote-treated wood 4 Rail Sleeper Y	21.597	21.714	21.626	0.248
Creosote-treated wood 5 Rail Sleeper Y	21.609	21.720	21.633	0.216
30 $\mu\text{g/mL}$ 1	21.589	21.705	21.613	0.207
30 $\mu\text{g/mL}$ 2	21.579	21.691	21.604	0.223
30 $\mu\text{g/mL}$ 3	21.565	21.682	21.589	0.205
100 $\mu\text{g/mL}$ 1	21.589	21.700	21.613	0.216
100 $\mu\text{g/mL}$ 2	21.573	21.689	21.602	0.250
100 $\mu\text{g/mL}$ 3	21.566	21.678	21.590	0.214
300 $\mu\text{g/mL}$ 1	21.589	21.701	21.609	0.179
300 $\mu\text{g/mL}$ 2	21.576	21.687	21.600	0.216
300 $\mu\text{g/mL}$ 3	21.560	21.677	21.584	0.205
1000 $\mu\text{g/mL}$ 1	21.580	21.696	21.604	0.207
1000 $\mu\text{g/mL}$ 2	21.574	21.686	21.599	0.223
1000 $\mu\text{g/mL}$ 3	21.560	21.677	21.585	0.214
Max	21.636	21.748	21.660	0.250
Min.	21.560	21.677	21.584	0.179
Max-Min.	0.076	0.071	0.076	

表 3 クレオソート油 6 製品の分析結果

Compound	A		B		C	
	Concentration ($\mu\text{g/g}$)	SD	Concentration ($\mu\text{g/g}$)	SD	Concentration ($\mu\text{g/g}$)	SD
BaA	0.206	0.006	1.944	0.070	<LOQ	-
CRY	0.204	0.003	1.514	0.046	<LOQ	-
BbF	<LOQ	-	0.401	0.023	<LOQ	-
BkF	<LOQ	-	0.267	0.008	<LOQ	-
BjF	<LOQ	-	<LOQ	-	<LOQ	-
BeP	<LOQ	-	0.257	0.045	<LOQ	-
BaP	<LOQ	-	0.223	0.022	<LOQ	-
DahA	<LOQ	-	<LOQ	-	<LOQ	-

Compound	D		E		F	
	Concentration ($\mu\text{g/g}$)	SD	Concentration ($\mu\text{g/g}$)	SD	Concentration ($\mu\text{g/g}$)	SD
BaA	<LOQ	-	<LOQ	-	<LOQ	-
CRY	<LOQ	-	<LOQ	-	<LOQ	-
BbF	<LOQ	-	<LOQ	-	<LOQ	-
BkF	<LOQ	-	<LOQ	-	<LOQ	-
BjF	<LOQ	-	<LOQ	-	<LOQ	-
BeP	<LOQ	-	<LOQ	-	<LOQ	-
BaP	<LOQ	-	<LOQ	-	<LOQ	-
DahA	<LOQ	-	<LOQ	-	<LOQ	-

Compound	LOQ
BaA	0.170
CRY	0.100
BbF	0.140
BkF	0.270
BjF	0.240
BeP	0.210
BaP	0.210
DahA	0.290

表4 クレオソート油処理木材5製品の分析結果

Compound	WA		WB		WC	
	Concentration (µg/g)	SD	Concentration (µg/g)	SD	Concentration (µg/g)	SD
BaA	0.029	0.004	0.043	0.005	0.023	0.003
CRY	<LOQ	-	<LOQ	-	<LOQ	-
BbF	<LOQ	-	<LOQ	-	<LOQ	-
BkF	<LOQ	-	<LOQ	-	<LOQ	-
BjF	<LOQ	-	<LOQ	-	<LOQ	-
BeP	<LOQ	-	<LOQ	-	<LOQ	-
BaP	<LOQ	-	<LOQ	-	<LOQ	-
DahA	<LOQ	-	<LOQ	-	<LOQ	-

Compound	WD		WE		LOQ
	Concentration (µg/g)	SD	Concentration (µg/g)	SD	
BaA	0.034	0.003	0.338	0.009	0.020
CRY	<LOQ	-	0.354	0.007	0.080
BbF	<LOQ	-	0.244	0.008	0.030
BkF	<LOQ	-	0.135	0.005	0.060
BjF	<LOQ	-	0.127	0.005	0.030
BeP	<LOQ	-	0.190	0.005	0.100
BaP	<LOQ	-	0.167	0.005	0.110
DahA	<LOQ	-	0.070	0.003	0.060

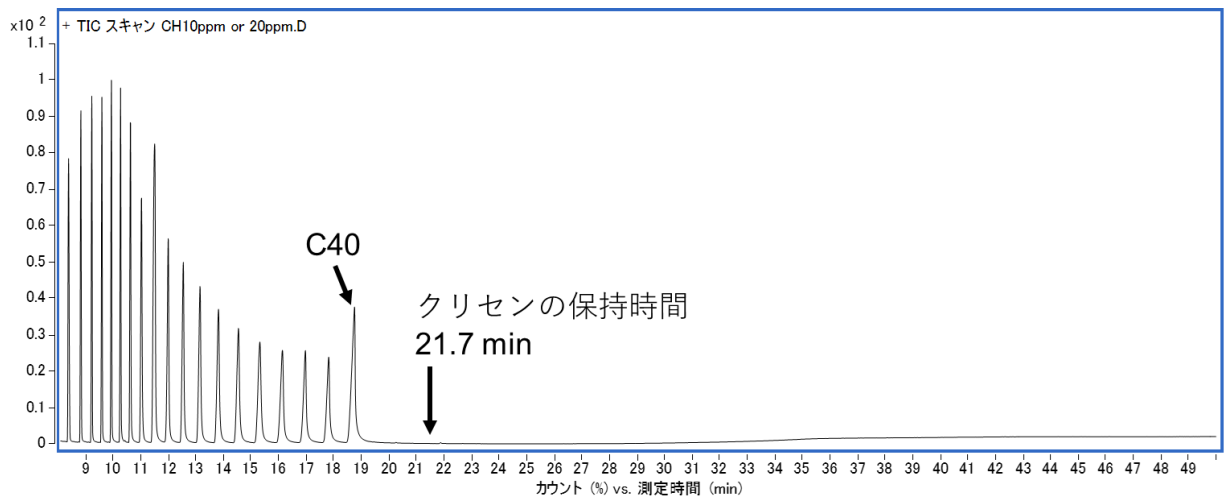


図 1 直鎖炭化水素混合標準液を SLB-ILPAH で分析した結果

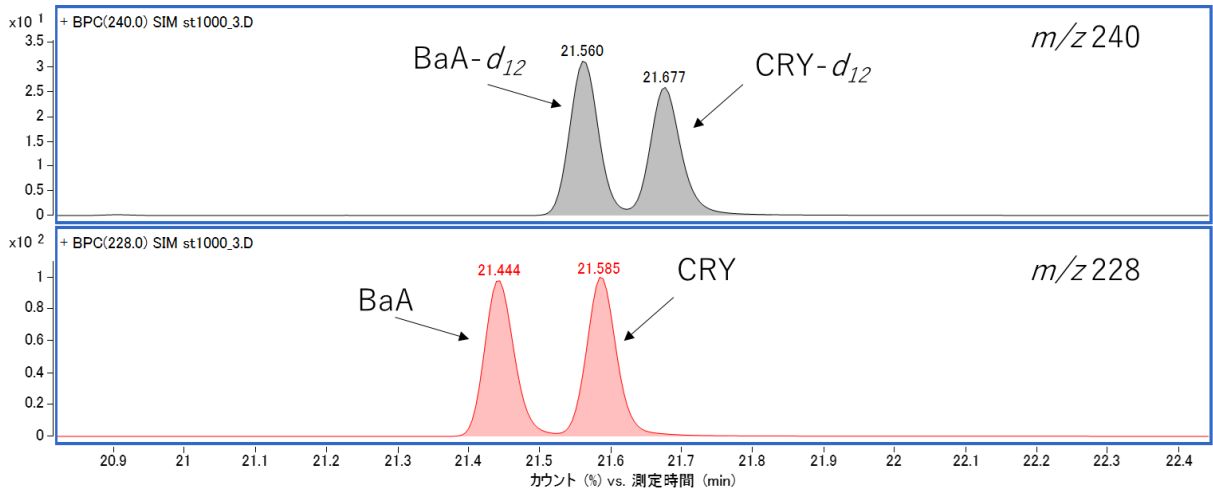


図 2 ベンゾ[a]アントラセン- d_{12} 、クリセン- d_{12} 及びクリセンを SLB-ILPAH で分析した結果