

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—

味村真弓*¹ 小泉義彦*¹ 吉田 仁*¹ 中島晴信*²

家庭用品規制法では、クレオソート油処理木材中のベンゾ [a] アントラセン (BaA)、ベンゾ [a] ピレン (BaP)、ジベンゾ [a,h] アントラセン (DBA) の 3 種の多環芳香族炭化水素 (PAH) が、それぞれ基準値 3 ppm 以下で規制されている。公定分析法に示されている GC/MS 条件 (SIM 測定) では、規制物質の定量イオンと同じ質量数のフラグメントイオンを有する規制対象外の PAH が、規制物質と同じ保持時間で検出される場合がある。それら物質が相互分離する分析条件を検索した。また、中古枕木を汚染している由来不明の油分などを除去する前処理法の検討を行い、良好な定量確認法を作成した。

平成 24 年度に試買及び収去したガーデニング用中古枕木 (合計 5 検体) を、確立した方法で検査したところ、全ての検体から 3 種の規制対象物質が基準値を超えて検出された。

キーワード : 多環芳香族炭化水素、クレオソート処理枕木、ベンゾ [a] ピレン、ベンゾ [a] アントラセン、ジベンゾ [a,h] アントラセン

Key words : Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, Creosote-Treated Railroad Ties, Benzo[a]pyrene, Benz[a]anthracene, Dibenz[a,h]anthracene

国際がん研究機関 (IARC) は、いくつかの多環芳香族炭化水素 (PAH) を発がん性がある、または疑われる物質として分類しており、ベンゾ [a] ピレン (BaP) はグループ 1 (ヒトに対して発がん性を示す)、クレオソート油 (コールタール由来)、ベンゾ [a] アントラセン (BaA) 及びジベンゾ [a,h] アントラセン (DBA) はグループ 2A (ヒトに対しておそらく発がん性を示す) に分類している¹⁾。クレオソート油は、過去に電柱や鉄道の枕木の処理に使用されていたが、廃枕木がガーデニング資材として再利用等され、そこに含有される PAH の発がん性が問題となり^{2,3)}、家庭用品に含有する有害物質規制法でクレオソート油及びクレオソート油処理木材中の BaA、BaP、DBA が規制された⁴⁾。

クレオソート油中ではそれぞれ 10 ppm、処理木材中ではそれぞれ 3 ppm 以下と基準値が定められている。

公定分析法に示されている質量分析器付ガスクロマトグラフ (GC/MS) 条件 (Selected Ion Monitoring (SIM) 測定) では、規制物質の定量イオンと同じ質量数のフラグメントイオンを有する規制対象外の PAH が、規制物質と同じ保持時間で検出される場合があり、正確な判定及び定量が困難である。そこで、それら物質が相互分離する分析条件を検索した。さらに、中古枕木を汚染している由来不明の油分などを除去するため前処理法の検討を行い、良好な定量確認法を作成した。また、クレオソート油や由来不明の油分等による GC/MS 検出器の汚染を軽減するため、水素炎イオン化検出器付ガスクロマトグラフ (GC/FID) を用いた予備分析法を検討した。作成した方法を用いて分析したところ、平成 24 年度に試買及び収去したガーデニング用中古枕木から BaA、BaP、DBA 全てが基準値を超えて検出された事例について報告する。

*1 大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部 生活環境課

*2 国立医薬品食品衛生研究所

Case Study of Law Violation: Detection of 3 Kinds of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Creosote-Treated Railroad Ties Reusing as Household Products in Japan.

By Mayumi MIMURA, Yoshihiko KOIZUMI, Jin YOSHIDA and Harunobu NAKASHIMA

実験方法

1. 試料

平成 24 年度に行政検査用として試買及び収去したガーデニング用中古枕木（明らかな汚染のない試料 3 検体と汚染がある試料 2 検体の合計 5 検体、全て中国製）を試料とした。

2. 試薬

ベンゾ [a] アントラセン、ベンゾ [a] ピレン、ジベンゾ [a,h] アントラセンの各標準品及び内部標準物質のアセナフテン-d₁₀ は和光純薬工業（株）製の環境分析用、多環芳香族炭化水素（PAHs）Mix（16 成分、各 2000 µg/mL ジクロロメタン：ベンゼン（50:50）溶液）は SUPELCO 製、ジクロロメタン、アセトンは和光純薬工業（株）製の残留農薬・PCB 試験用 5000、シリカゲルミニカートリッジカラムは Waters 製の Sep-Pack® plus Silica®（690 mg、55-105 µm Particle Size）を用いた。

3. 装置及び測定条件

3-1. GC/MS（Electron Ionization: EI 測定）:

GC/MS 装置は、Hewlett Packard 製 5890 Series II GC に MSD 検出器（HP-5971）を装着した装置を用い、自動注入装置は、Hewlett Packard 製 7673 型を用いた。キャピラリーカラムは、DB-5MS（0.25 mmφ×30 m、膜厚 0.25 µm、J&W Scientific 製）、DB-1（0.25 mmφ×60 m、膜厚 1 µm、J&W Scientific 製）、DB-1（0.25 mmφ×30 m、膜厚 0.1 µm、Agilent 製）を用いた。注入口温度（280 °C）、注入方法（スプリットレス）、注入量（1 µL）は公定法通りとした。カラム温度は、公定法に示された条件及び 100°C - 15°C/min - 265°C（6 min） - 25°C/min - 280°C（23 min） - 25°C/min - 300°C（55 min）にプログラミングし、インターフェイス温度は 250°C、イオン源温度は 160°C、キャリアーガス流量は He 1 mL/min に設定した。イオン化法は EI 法で、イオン化電圧は 70eV とした。スキャンモード（SCAN: $m/z=50\sim 550$ ）及び SIM モードで測定し、SIM モード測定時の定量イオン（ m/z ）は公定法通り（BaA : 228、BaP : 252、DBA : 278）とした。

3-2. GC/FID :

GC 装置は、Hewlett Packard 製 5890 Series II GC に FID 検出器を装着した装置を用いた。キャピラリーカラムは DB-1（0.25 mmφ×60 m、膜厚 1 µm、J&W Scientific 製）を用いた。キャリアーガス流量は He 1 mL/min に設定した。カラム温度は、100°C - 15°C/min - 265°C（6 min） - 25°C/min - 280°C（23 min） - 25°C/min - 300°C（55 min）にプログラミングし、注入口温度は 280°C、検出器温度は 250°C に設定した。注入方法はスプリットレス、注入量は 1 µL で Manual 注入とした。

4. 標準溶液及び内部標準液の調製と検量線の作成

BaA、BaP、DBA の各標準品 10 mg を正確に量り採り、それぞれジクロロメタン 100 mL で溶解し、標準原液（100 µg/mL）を調製した。その溶液をジクロロメタンで希釈し、1.0、2.0、5.0、10 µg/mL となるように検量線用 3 種混合標準溶液を調製した。別途、内部標準物質としてアセナフテン-d₁₀ 10 mg を正確に量り採り、ジクロロメタンを加えて正確に 100 mL とした。その溶液 5 mL を正確に採取し、ジクロロメタンで正確に 100 mL とし内部標準液（5 µg/mL）を調製した。各濃度の検量線用 3 種混合標準溶液 2 mL に対して内部標準液を 0.5 mL 加え、キャピラリーカラムを用いた GC/MS 測定による検量線を作成した。

5. 試験溶液の調製

5-1. 明らかな汚染のない試料 :

公定法に従い処理を行った。すなわち、試料表面から深さ 10 mm、幅 5 mm、長さ 20 mm の木片を採取し、細切後よく混ぜ約 1.0 g 量り採った。ジクロロメタン 20 mL を加えて 37°C で 24 時間静置抽出した。抽出液をろ紙でろ過した後、約 2 mL まで濃縮してシリカゲルミニカートリッジカラムに負荷し、ジクロロメタン 10 mL で溶出した。分析に適した濃度にジクロロメタンで希釈して、試料溶液 2 mL に内部標準液 0.5 mL 添加して GC/MS 測定用試料とした。

5-2. 汚染がある試料 :

公定法に従い木片を約 1.0 g 採取し、ジクロロメタン 20 mL を加えて 37°C で 24 時間静置抽出し、抽出液をろ紙でろ過後、2 mL に濃縮した。その液について浜田らの方法^{5,6)}を参考に以下の処理を行った。濃縮液を目盛付共栓試験管に移し、5% 含水アセトン及び 10% 塩化ナトリウム水溶液各 4 mL を加え、振とう静

置いて、ジクロロメタン・アセトン層の 1/2 量 (2.5 mL) を採取した。無水硫酸ナトリウムを添加して脱水、ろ過後、溶媒を留去し、ジクロロメタン 1 mL に溶解した。その液をシリカゲルミニカートリッジカラムに負荷し、ジクロロメタン 10 mL で溶出した。分析に適する濃度に調製し、試料溶液 2 mL に内部標準液 0.5 mL 添加して GC/MS 測定用試料とした。

結果及び考察

1. 前処理法の検討

使用済み枕木のような試料は、使用中あるいは保存中に由来及び成分不明の油分や泥などで汚染されることがあり、ジクロロメタン抽出液に混入してくる。これらの物質を除去する方法を検討した。

1-1. 液液分配による精製

浜田らの方法^{5,6)}を参考に、試料のジクロロメタン抽出・濃縮液 (2 mL) に以下の処理を加え、水層と有機溶媒層の分離状況について比較した。

- 1) ジクロロメタンを蒸発後ヘキサンと 10%塩化ナトリウム水溶液を等量加えた
 - 2) ジクロロメタン抽出・濃縮液にアセトンと 10%塩化ナトリウム水溶液を各 4 mL 加えた
 - 3) ジクロロメタン抽出・濃縮液に 5%含水アセトンと 10%塩化ナトリウム水溶液を各 4 mL 加えた
- 1) ~ 3) の条件で抽出・振とう後、一夜静置し、層の分離について観察した。その結果、1) ~ 3) 全てで上層と下層に分離したが、条件 3) では上層 (ジクロロメタン・アセトン層)、浮遊物 (油分等) 含有層、下層 (水層) の 3 層に完全に分離し、上層と下層の容量がほぼ等しくなった。そこで、この条件が油分等汚染物質を除去するのに最適と判断し、条件 3) を採用することとした。なお、液液分配前のジクロロメタン抽出液と液液分配後の上層について GC/FID で分析したところ、双方に含有される 3 種の規制 PAH 付近に検出されるピークは、数、強度ともにほぼ同等で、早い保持時間に検出される規制対象外 PAH のピークパターンも近似していた。従って、本精製による目的物質の損失はほとんどないと推定された。

1-2. 規制対象物質の上層移行率

検体中に含まれる濃度に近い、BaA 500 µg、BaP 200 µg、DBA 25 µg の標準物質を 2 mL のジクロロメタン

に溶解し、その液に 5%含水アセトンと 10%塩化ナトリウム水溶液各 4 mL 加え、振とう後静置し、上層の 1/2 量を正確に採取した。無水硫酸ナトリウムで脱水後、エバポレーターで留去し、ジクロロメタン 10 mL に溶解した。その後、物質毎に分析に適した濃度に希釈し GC/MS 測定して上層への移行率とした。結果は表 1 に示した通りで、BaA、BaP は 100%以上、DBA は約 90%が移行した。

1-1 及び 1-2 の結果から、条件 3) で液液分配後、得られた上層の 1/2 を正確に採取し、脱水濃縮した液について、公定法に従いシリカゲルミニカートリッジカラムによる精製を行うこととした。

表 1 BaA, BaP, DBA の移行率 (n=3)

化学物質	添加量 (µg)	移行率 (%)	CV (%)
BaA	500	115.1	1.68
BaP	200	111.8	4.17
DBA	25	88.5	4.04

2. GC/MS 分析条件と使用カラムの検討

2-1. カラムの検討

規制物質を含む 16 種の PAHs Mix 標準溶液を GC/MS (SCAN) で分析したところ、公定法に示されたカラムに相当する DB-5MS カラムでは、BaA の定量イオン ($m/z=228$) と同じ質量数のフラグメントイオンを持つクリセンが BaA とほぼ同じ保持時間に検出された。そこで、この 2 物質のピークが分離する分析条件を検討した。検討に使用したカラムと昇温条件及びその条件でのピーク分離状況は表 2 の通りで、DB-1 カラムを用い、カラム長さを 2 倍 (60 m)、膜厚を 4 倍 (1 µm) にし、昇温速度を遅くして、対象成分が検出されるタイミングに一定温度で保持させたところ (条件 3) 相互分離が可能となった。さらに、3 種の標準物質と内部標準物質の混合溶液を表 2 の条件 3 で GC/MS (SIM) 測定した際のクロマトグラムを図 1 に示した。

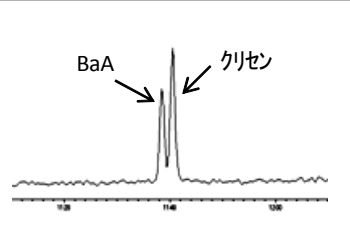
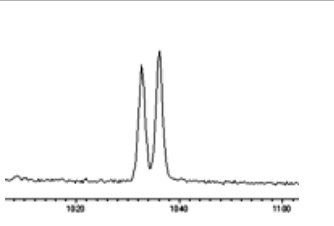
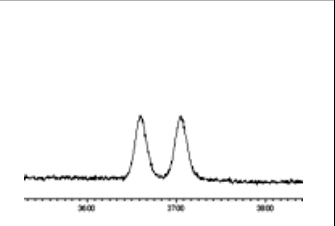
2-2. 検量線の作成

表 2 の条件 3 で GC/MS (SIM) 測定した検量線は、1.0-10 µg/mL の範囲で相関係数 0.998 以上の良好な直線性を示した。(図 2)。

3. 中古枕木試料の分析結果

今回試料とした中古枕木を公定法に従い GC/MS 分

表2 GC/MS 分析条件と使用カラムによる BaA とクリセンのピーク分離

条件	1 (公定法)	2	3
カラム名	DB-5MS	DB-1	DB-1
カラム仕様	0.25 mmφ × 30 m, 膜厚0.25 μm	0.25 mmφ × 30 m, 膜厚0.1 μm	0.25 mmφ × 60 m, 膜厚1 μm
昇温条件	60°C(2min)-25°C/min-300°C(6min)	100°C-15°C/min-240°C(2.5min) -25°C/min-270°C(3.5min)-25°C/min -300°C(5min)	100°C-15°C/min-265°C(6min) -25°C/min-280°C(23min)-25°C/min -300°C(55min)
クロマトグラム			

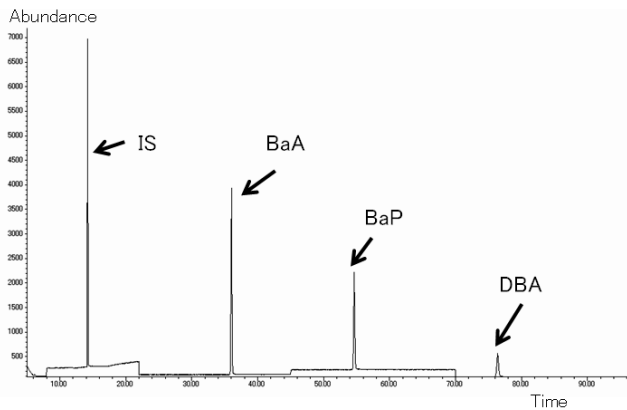


図1 DB-1 キャピラリーカラム (60 m) を用いた BaA, BaP, DBA の GC/MS (SIM) クロマトグラム

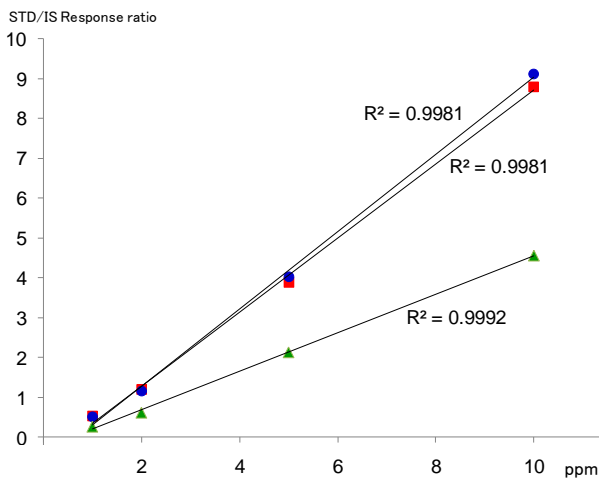


図2 BaA, BaP, DBA の GC/MS (SIM) 検量線
■ : BaA, ● : BaP, ▲ : DBA

析を行ったところ、規制対象物質である BaA、BaP、DBA 全てが検出され、BaA のピークと重なってクリセシと考えられるピークが検出された。そこで、DB-1 60m カラムを用い、表2の条件3で分析を行った。その結果、BaA とクリセシと考えられるピークが完全に分離し、正確に定量が可能となった。図3に実試料の GC/MS (SCAN) クロマトグラムと BaA 及びクリセシに相当するピークの MS スペクトルを示した。いずれのスペクトルもマスライブラリー (NIST98) から検索した BaA (CAS No. 56-55-3)、クリセシ (CAS No. 218-01-09) のマススペクトルと一致していた。また、GC/MS (SCAN) クロマトグラムは文献^{7,8)}で報告されているクロマトパターンと近似していた。

5 検体全てから3つの規制対象物質 BaA、BaP、DBA が基準値を大きく超えて検出され、含量比は BaA > BaP > DBA の傾向を示し、その比率は過去に報告された値と同じ傾向であった (表3)^{7,8)}。

表3 中古枕木中の BaA、BaP、DBA 濃度 (ppm)

	BaA	BaP	DBA
基準値	3ppm以下	3ppm以下	3ppm以下
試買検体	227	63	14
収去検体1	1830	819	156
収去検体2	2360	1100	222
収去検体3	621	166	25
収去検体4	834	314	92

4. GC/FID を用いた予備分析法の検討

クレオソート油そのものが GC/MS 検出器を汚染す

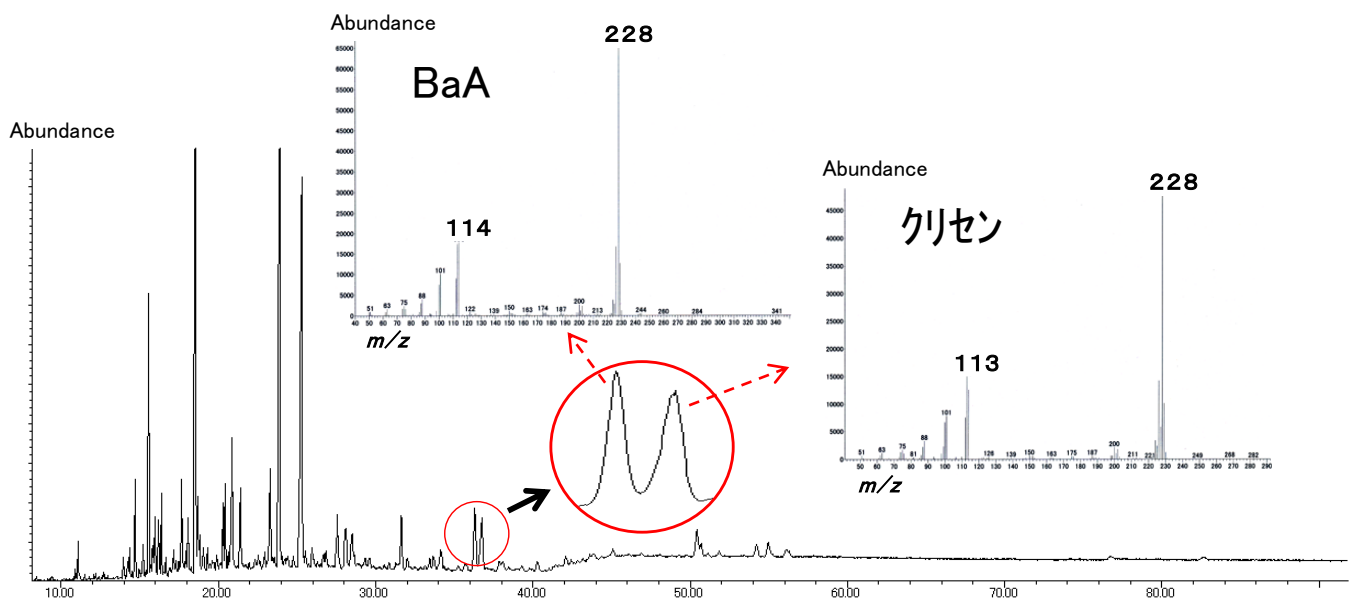


図3 DB-1 キャピラリーカラム (60 m) を用いた実試料の GC/MS (SCAN) クロマトグラムと BaA 及びクリセンの MS スペクトル

るが、使用済み枕木のような試料は、使用中の汚染物質も大量に存在するため、さらに深刻な汚染を起こす可能性が高い。そこで、GC/FID 分析で、規制対象物質含有の有無や含量推定が可能か検討した。

一定量の内部標準物質を含む 3 種混合標準溶液を、表 2 の条件 3 で GC/FID 分析を行って得られたクロマトグラムを図 4 に示した。GC/FID は GC/MS よりも感度が低く基準値 3 $\mu\text{g/mL}$ の検出は困難で、検出限界は $S/N=3$ として、BaA と BaP は 5 $\mu\text{g/mL}$ 、DBA は 10 $\mu\text{g/mL}$ であった。BaA と BaP は 20-200 $\mu\text{g/mL}$ の範囲で、DBA は 50-200 $\mu\text{g/mL}$ の範囲で検量線の直線性を認めた。

次に、16 種の PAHs Mix 標準溶液をジクロロメタンで希釈して GC/FID 分析し、ピークの分離状況を確認したところ、同じ条件で GC/MS 分析した際のクロマ

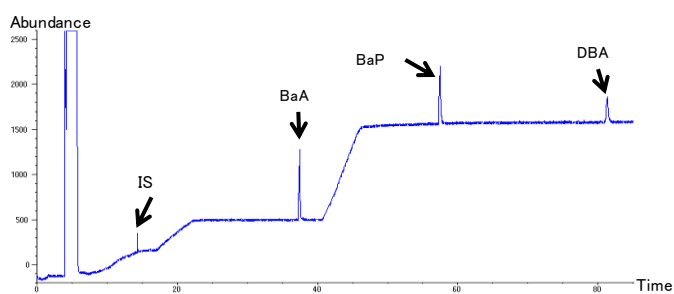


図4 BaA, BaP, DBA, 内部標準物質 (IS) の GC/FID ガスクロマトグラム

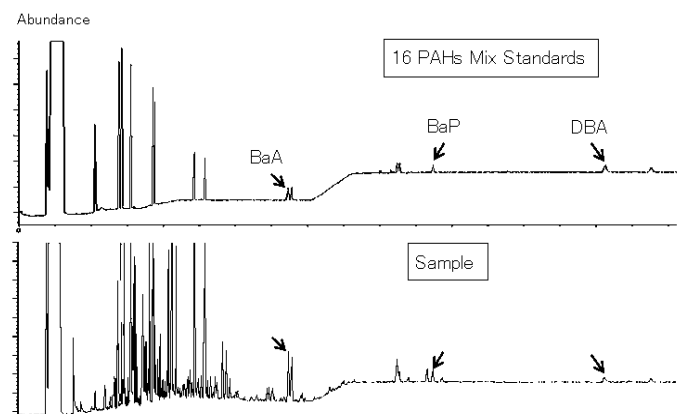


図5 DB-1 キャピラリーカラムを用いた 16 種の PAHs 混合標準と実試料の GC/FID クロマトグラム

トグラムと近似し、BaA とクリセンのピークは分離した。実試料の GC/FID クロマトグラムも同様であった (図 5)。このことから、高濃度の BaA や BaP を含有する検体では GC/FID で分析することにより含有の有無及び含有量の予測が可能であることが示唆された。一方、DBA は BaA や BaP よりも感度が低く、ほぼ同じ保持時間で検出される規制対象外の PAH (16 種の PAHs Mix に含まれる成分ではインデノ (1,2,3-c d) ピレン) のピークと分離が不十分であり、含有量の推定は困難と推察された。

まとめ

家庭用品規制法でクレオソート油に使用規制されている 3 種の PAH の公定分析法に示されている GC/MS 条件 (SIM 測定) では、規制物質 (BaA) の定量イオン ($m/z=228$) と同じ質量数のフラグメントイオンを有する規制対象外の PAH (クリセン) が、規制物質と同じ保持時間で検出される場合があり、正確な判定及び定量が困難である。そこで、それら物質が相互分離し、MS スペクトルでの確認も可能な GC カラム及び分析条件を検索し、より正確に分析する方法を確立した。さらに、中古枕木を汚染している由来不明の油分などを除去するため前処理法の検討を行い、良好な定量確認法を作成した。確立した方法で試買及び収去した市販中古枕木を分析したところ、規制対象の BaA と規制対象外のクリセンが分別定量できた。BaA、BaP、DBA 全ての規制対象物質が基準値を大幅に超えて検出された。

公定法に従い使用済み枕木の検査を実施したところ、GC/MS 検出器等への顕著な汚染が認められた。クレオソート油そのものも汚染原因であるが、中古枕木を汚染している由来不明の油分等により汚染が深刻化すると考えられた。そこで、GC/FID を用いた予備分析法を検討したところ、高濃度の BaA と BaP は含有の有無及び含有量について予測できることがわかった。GC/FID を用いて予備分析を実施し、その後、GC/MS 測定を行うことで GC/MS 検出器汚染の軽減が可能であることが示唆された。しかし、GC/MS 検出器ほど深刻な汚染ではないが、GC/FID への影響も認められたため、今後、ジクロロメタン中に抽出される規制対象外のクレオソート油由来 PAH 除去法について検討を行う必要があると考える。さらに、近年各社から数多く市販されている PAH 分析用カラムを用いて GC/MS 測定すると、DB-1 カラムよりもピーク形状がシャープになったり、ピーク分離がより良好になるものもあるので、使用カラムを比較検討することでより正確な定量が可能となると考えられる。

文 献

1) IARC: "Monographs on the Evaluation of

Carcinogenic Risks to Humans",

http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/latest_classif.php accessed 30 May 2016

- 2) 鹿庭正昭, 五十嵐良明:市販製品における製品表示及び化学物質等安全データシート (MSDS) の実態調査—木材防腐剤クレオソート及びクレオソート処理品, 第 40 回全国衛生化学技術協議会年会講演集, 210-211 (2003)
- 3) 鹿庭正昭, 五十嵐良明: 健康被害の発生実態と製品情報の理解度に関する消費者アンケート調査—木材防腐剤クレオソート及びクレオソート処理品, 第 40 回全国衛生化学技術協議会年会講演集, 214-215 (2003)
- 4) 有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律施行規則の一部を改正する省令の制定について (厚生労働省令 104 号), 平成 16 年 6 月 15 日
- 5) 浜田洋彦, 小坂妙子, 田中重雄: クレオソート油処理木材中の有害物質の分析について, 第 42 回全国衛生化学技術協議会年会講演集, 276-277 (2005)
- 6) 浜田洋彦, 小坂妙子, 田中重雄: クレオソート油処理木材中の有害物質の分析について, 宮崎県衛生環境研究所尾年報, **16**, 69-72 (2004)
- 7) Yoshiaki Ikarashi, Masa-aki Kaniwa and Toshie Tsuchiya: Determination of Benzo[a]pyrene, Benz[a]anthracene and Dibenz[a,h]anthracene in Creosotes and Creosote-Treated Woods, *J. of Health Science*, **51**(5), 597-606 (2005)
- 8) Yoshiaki Ikarashi, Masa-aki Kaniwa, Toshie Tsuchiya: Monitoring of polycyclic aromatic hydrocarbons and water-extractable phenols in creosotes and creosote-treated woods made and procurable in Japan, *Chemosphere*, **60**, 1279-1287 (2005)