

# 蛍光検出器付 HPLC による家庭用クレオソート油含有木材防腐剤及びクレオソート油で処理された防腐木材中の有害物質の分析について

和田好生<sup>1</sup>, 筒井達也<sup>1</sup>, 塩見哲生<sup>1</sup>, 井本幸子<sup>1</sup>,  
出口夫美子<sup>1</sup>, 伴創一郎<sup>1</sup>, 伴埜行則<sup>1</sup>, 稲田眞之助<sup>1</sup>, 川勝剛志<sup>1</sup>

## Analysis of harmful substances in the creosote oil and creosote processed woods using HPLC with fluorescence detector

Yoshio WADA, Tatsuya TSUTSUI, Tetsuo SHIOMI, Sachiko IMOTO,  
Fumiko DEGUCHI, Souichirou BAN, Yukinori BANNO, Shinnosuke INADA, Tsuyoshi KAWAKATSU

**Abstract :** Benz[a]anthracene (BaA), Benzo[a]pyrene (BaP) and Dibenz[a,h]anthracene (DBA) are expected to be present in the creosote oil-containing preservatives and creosote processed woods. These chemicals were specified as the harmful substances on the Law for the Control of Household Products Containing Harmful Substances in June 2004. At first, we tried GC/MS, which was not sensitive enough to detect these substances. Since then, we noted that HPLC with fluorescence detector is used for detection of BaP in foods, as described in the Methods of Analysis in Health Science. So we applied this procedure successfully to determine BaA, BaP and DBA in the samples (creosote oil-containing preservatives for woods and creosote processed woods). We found that contents of the chemicals in these samples were within regulation limit values.

**Key Words :** クレオソート油 creosote oil, ベンゾ[a]アントラセン benz[a]anthracene, ベンゾ[a]ピレン benzo[a]pyrene, ジベンゾ[a, h]アントラセン dibenz[a, h]anthracene, 蛍光検出器 fluorescence detector, 高速液体クロマトグラフ high performance liquid chromatography (HPLC)

## I はじめに

クレオソート油には、ベンゾ[a]ピレンをはじめとする多種類の化学物質が含まれ、これらの発ガン性が問題となっている。クレオソート油は、古くから電柱や鉄道の枕木の防腐剤として使われていたが、最近のガーデニングブームにともない、これらで防腐防虫処理された木材が園芸や造園の資材として、一般消費者にもリサイクル利用されるようになってきた。

こうした経緯から、クレオソート油による一般消費者への健康被害が危惧されるため、厚生労働省は「有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律」（以下、家庭用品規制法と示す）に基づき、クレオソート油を含有する家庭用の木材防腐防虫剤（以下、木材防腐剤と示す）と、クレオソート油及びその混合物で処理された家庭用防腐防虫木材（以下、防腐木材と示す）に含まれるベンゾ[a]アントラセン（以下、BaA と示す）、ベンゾ[a]ピレン（以下、BaP と示す）、ジベンゾ[a, h]アントラセン（以下、DBA と示す）を有害物質に指定し、平成16年6月から施行した。

家庭用品規制法に示されている検査法（以下、公定法と示す）では、試料中の規制物質をジクロロメタンで抽出し、GC/MS を用いて測定を行うことになっている。しかしながら GC/MS については、規制物質を高感度に測定することが難しいという問題点がある。

衛生試験法・注解では食品中の BaP 等を測定する方法として、蛍光検出器付 HPLC が用いられている<sup>1)</sup>ことに着目し、今回、家庭用品規制法の対象品についても同様の方法で測定できるか検討したので、その結果について報告する。

## II 方法

### 1. 試験品 京都市内で試買した検体

（木材防腐剤：1件、防腐木材：4件）

### 2. 試薬

#### 1) 標準品

BaA, BaP, DBA

和光純薬工業（株）製、試薬特級

#### 2) 試薬等

・ジクロロメタン

和光純薬工業（株）製、試薬特級

<sup>1</sup> 京都市衛生公害研究所 生活衛生部門

- ・アセトニトリル  
ナカライテスク（株）製、  
残留農薬試験用及び HPLC 用
- ・ベンゼン  
和光純薬工業（株）製、  
残留農薬試験用
- ・シリカゲルカラムカートリッジ  
(Discovery SPE-Si) スペルコ社製

### 3. 前処理方法

前処理方法は公定法に準じて実施した。木材防腐剤と防腐木材の前処理方法を、それぞれ図1、図2に示す。なお木材防腐剤について、公定法では試料をシリカゲルカラムに全量負荷することになっているが、図1に示すように試料の精製効果を上げるために、カラムへの負荷量を1/10とした。また木材防腐剤と防腐木材の両者について、公定法ではジクロロメタン溶液にして測定を行うことになっているが、図1、2に示すように HPLC で測定を行うので、最終的にアセトニトリル/ベンゼン（3：1）溶液とした。

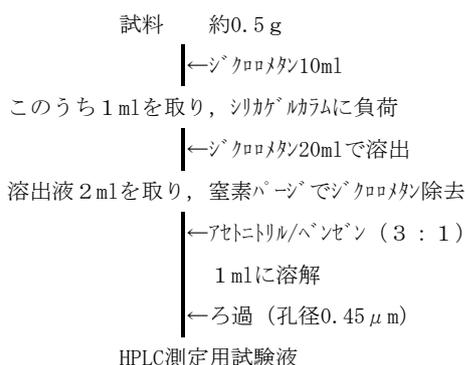


図1 木材防腐剤の前処理方法

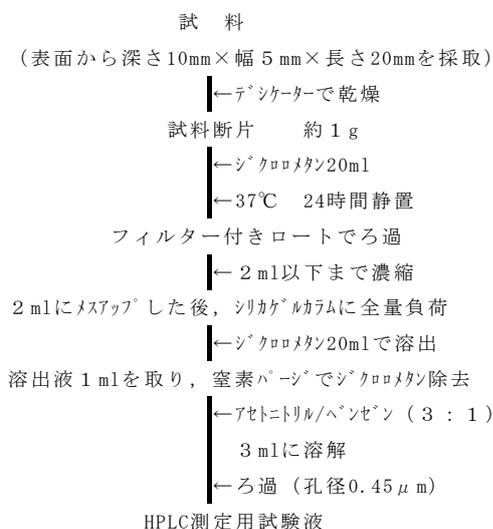


図2 防腐木材の前処理方法

### 4. 測定条件

衛生試験法・注解の食品汚染物試験法の項で、BaP について HPLC による定量方法が示されており<sup>1)</sup>、同法を参考にして測定を行った。HPLC の測定条件を表1に、各規制物質の励起波長（以下、EX と示す）と蛍光波長（以下、EM と示す）の組み合わせを表2に示す。なお、励起波長と蛍光波長の切り替えは表3に示すタイムプログラムを用いた。

表1 HPLCの測定条件

測定機器	Shimadzu LC - 10AT
カラム	ODS (Mightysil, 4.6mm × 150mm × 5 μm, 関東化学)
検出器	蛍光検出器
カラム温度	40℃
流速	1.5ml/min
移動相	アセトニトリル/水 (70 : 30)
注入量	10 μl

表2 各規制物質の励起波長と蛍光波長

規制物質	EX (nm)	EM (nm)
BaA	287	387
BaP	296	406
DBA	300	396

表3 蛍光検出器の波長タイムプログラム

(初期条件) EX : 287, EM : 387, 時定数 (sec) : 1.5,  
RANGE : × 1, 感度 : LOW

Time (min)	FUNC
9.00	EX : 296, EM : 406
9.01	AUTO ZERO
12.00	EX : 300, EM : 396
12.01	AUTO ZERO
16.00	EX : 287, EM : 387
17.00	END

### III 結果と考察

図3に標準溶液, 試験品のクロマトグラムの一例を示す。

標準溶液のクロマトグラムに示すように, 規制物質 BaA, BaP, DBA の各ピークは保持時間7~13分の間に見られ, 分離して検出することができた。

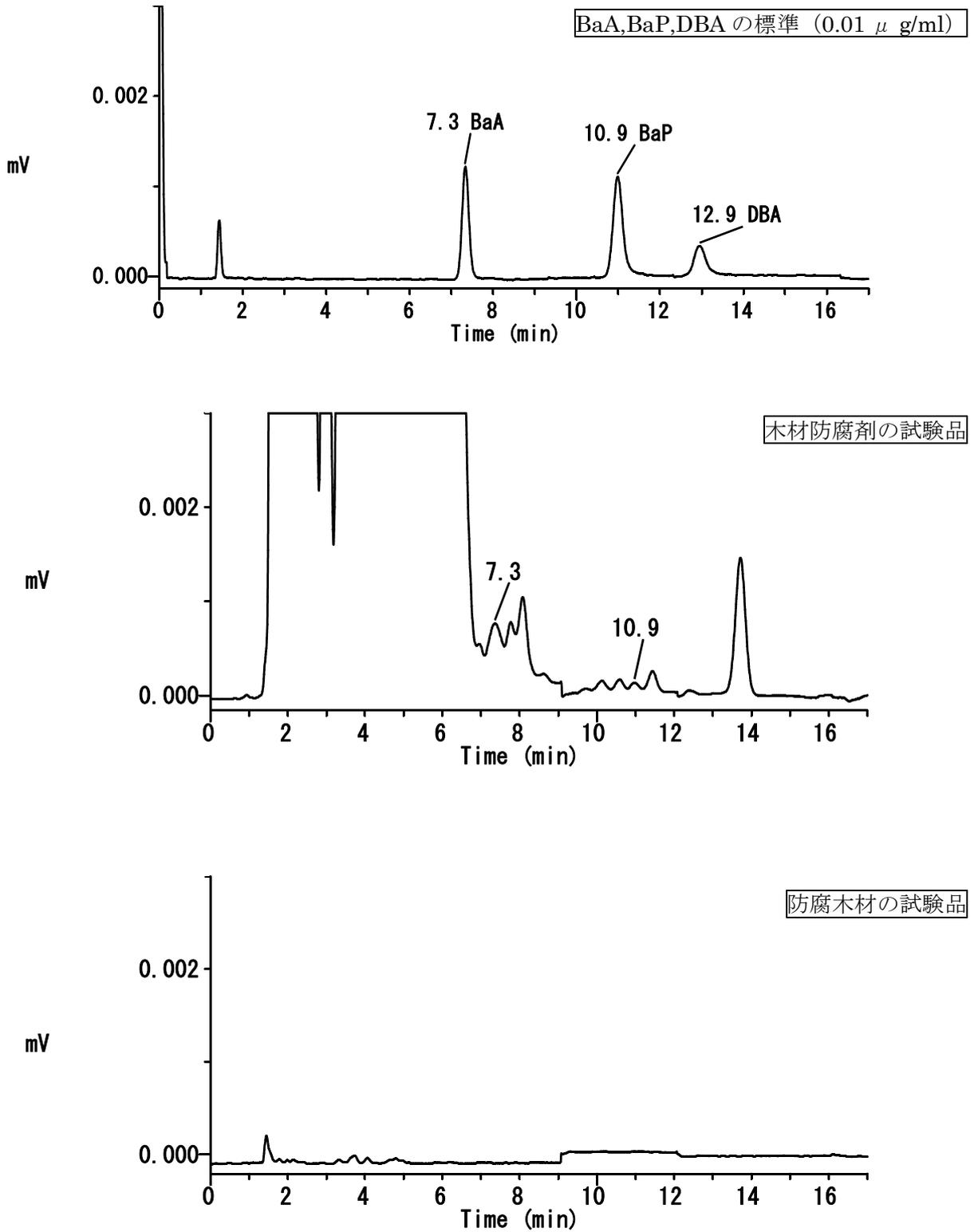


図3 標準溶液, 試験品のクロマトグラムの一例

## 1. 検量線

BaA, BaP, DBA それぞれ0.005~0.1  $\mu\text{g/ml}$  の範囲で標準溶液を調製し、HPLCにより測定した。得られたクロマトグラムよりピーク面積を求め、絶対検量線法により検量線を作成した。各規制物質の検量線を図4に示す。その結果、BaA, BaP, DBA は0.005~0.1  $\mu\text{g/ml}$  の範囲で、良好な直線性を示した ( $r > 0.999$ )。

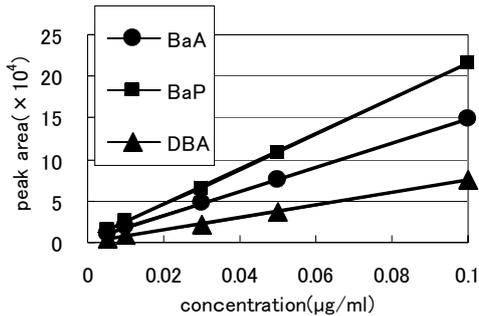


図4 各規制物質の検量線

## 2. 検出・定量限界

BaA, BaP, DBA の検出・定量限界を表4に示す。求め方については、3物質の定量限界値付近の標準溶液 (0.005  $\mu\text{g/ml}$ ) を5回測定し、その測定データの標準偏差  $\sigma$  を求め、 $3\sigma$  を検出限界値とし、 $10\sigma$  を定量限界値とした<sup>2)</sup>。

その結果、標準溶液の規制物質の定量限界濃度は0.002~0.004  $\mu\text{g/ml}$  程度であった。この標準溶液中の濃度を、木材防腐剤0.5gを採取して調製した場合で製品中の規制物質質量に換算すると0.4~0.8  $\mu\text{g/g}$ 、防腐木材1gについて調製した場合は0.1~0.2  $\mu\text{g/g}$  となった。これらは、基準値 (BaA, BaP, DBA それぞれが木材防腐剤中では10  $\mu\text{g/g}$  以下、防腐木材中では3  $\mu\text{g/g}$  以下であること) の1/10を下回り、試験で得られる値は信頼性を有したものと見える<sup>3)</sup>。また3つの規制物質を高感度に検出できることから、クレオソート油由来の夾雑物の妨害を軽減することを目的として、試料を希釈して測定することが可能になった。

表4 検出限界・定量限界

規制物質	平均 ( $\mu\text{g/ml}$ )	標準偏差 $\sigma$	CV (%)	検出・定量限界	
				検出限界濃度 $3\sigma$	定量限界濃度 $10\sigma$
BaA	0.0051	0.00035	7.0	0.00105 <sup>(*1)</sup>	0.00349 <sup>(*1)</sup>
				0.21 <sup>(*2)</sup>	0.70 <sup>(*2)</sup>
				0.06 <sup>(*3)</sup>	0.21 <sup>(*3)</sup>
BaP	0.0054	0.00024	4.4	0.00071 <sup>(*1)</sup>	0.00237 <sup>(*1)</sup>
				0.14 <sup>(*2)</sup>	0.47 <sup>(*2)</sup>
				0.04 <sup>(*3)</sup>	0.14 <sup>(*3)</sup>
DBA	0.0055	0.00043	7.7	0.00127 <sup>(*1)</sup>	0.00425 <sup>(*1)</sup>
				0.25 <sup>(*2)</sup>	0.85 <sup>(*2)</sup>
				0.08 <sup>(*3)</sup>	0.25 <sup>(*3)</sup>

(\*1) 標準溶液中の規制物質濃度 ( $\mu\text{g/ml}$ )

(\*2) 木材防腐剤0.5gを採取して調製した場合で、(\*1)を製品中の規制物質質量に換算した濃度 ( $\mu\text{g/g}$ )

(\*3) 防腐木材1gを採取して調製した場合で、(\*1)を製品中の規制物質質量に換算した濃度 ( $\mu\text{g/g}$ )

### 3. 添加回収試験

木材防腐剤と防腐木材についての添加回収試験を行った。両試料ともに、規制物質の標準品の添加については、試料中濃度が基準値になるようにした。市販の木材防腐剤 0.5 g (n=3) に対して BaA, BaP, DBA の各標準品を 5 µg 添加した (10 µg/g)。また市販の防腐木材 1 g (n=3) に対して BaA, BaP, DBA の各標準品を 3 µg 添加した (3 µg/g)。なお、木材防腐剤及び防腐木材の HPLC 測定試験液 1 ml には、3 物質が全量回収された場合にそれぞれ 0.05 µg 含まれる。回収率の結果は表 5 に示すように、木材防腐剤では BaA 77.6%, BaP 85.8%, DBA 87.6% と良好であり、防腐木材では、BaA 70.6%, BaP 69.5%, DBA 77.3% で、70%前後の結果を得た。

図 5 に添加回収試験のクロマトグラムの一例を示す。木

材防腐剤の添加については、保持時間 0～7 分の間にクレオソート油由来の夾雑物と思われるピークが、多く検出された。しかしながら、3 つの規制物質の各ピークは保持時間 7～13 分の間に見られ、夾雑物の影響を受けることなく、分離して検出することができた。

### 4. 試験品の検査結果

木材防腐剤の試験品 (1 検体) については、図 3 のクロマトグラムに示すように、BaA と BaP のピークが検出された。BaA と BaP の含有量はともに、基準値の 1/10 を下回る結果であった。また防腐木材 (4 検体) については、いずれの試験品からも規制物質のピークは検出されなかった。以上のことから、試験品はすべて基準以内であることが確認された。

表 5 添加回収試験 (n=3)

試料	規制物質	平均 (%) ± SD	CV%
木材防腐剤	BaA	77.6 ± 2.9	3.7
	BaP	85.8 ± 8.5	9.9
	DBA	87.6 ± 2.0	2.3
防腐木材	BaA	70.6 ± 3.8	5.4
	BaP	69.5 ± 4.1	5.9
	DBA	77.3 ± 4.0	5.2

## IV まとめ

蛍光検出器付 HPLC によって、木材防腐剤及び防腐木材に含まれる規制物質 (BaA, BaP, DBA) の測定を検討した。

1. 蛍光検出器付 HPLC を用いて測定する際に、各規制物質について励起波長と蛍光波長を設定することで、各々のピークを選択的に検出することができた。
2. 各規制物質の定量限界濃度が 0.002～0.004 µg/ml 程度であることから、高感度分析が可能であることを確認できたため、クレオソート油由来の夾雑物の妨害を軽減することを目的として、試料を希釈して測定することが可能になった。
3. 試買した試験品については、木材防腐剤、防腐木材ともに基準以内であることが確認できた。

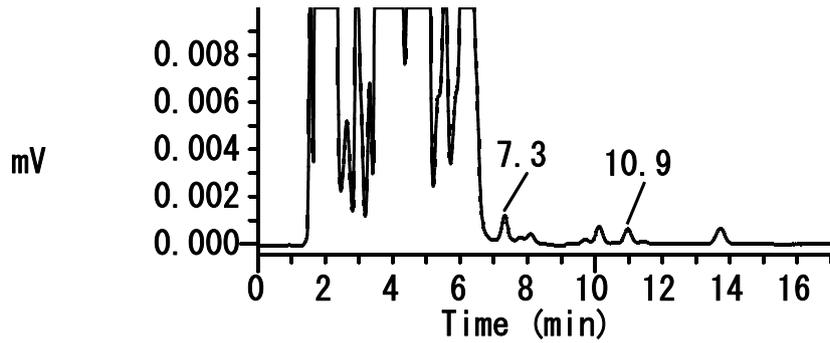
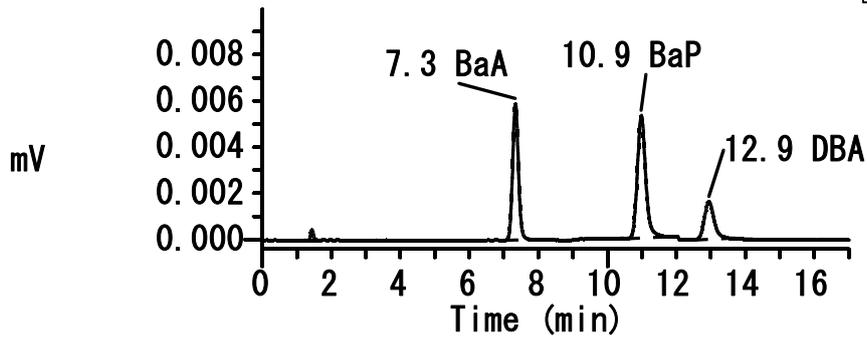
以上のことから、蛍光検出器付 HPLC による試験法は

有用であると考えられる。なお木材防腐剤については、HPLC で測定する際に試料由来の夾雑物をできるだけ除き、規制物質の検出精度をさらに向上させる必要があり、今後も前処理方法や測定条件等の検討を行いたい。

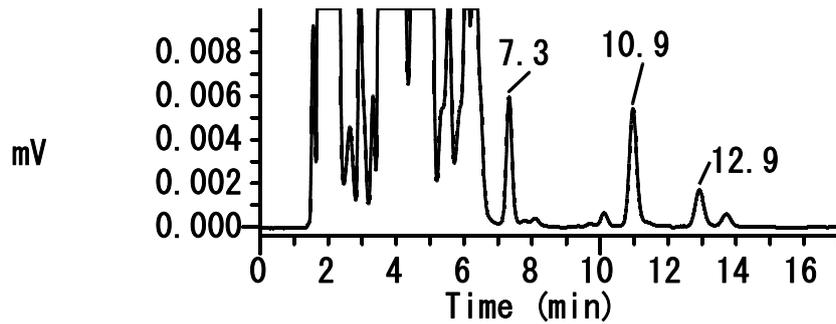
## V 参考文献

- 1) 日本薬学会編：衛生試験法・注解，509-510，金原出版 (2005)
- 2) 高尾仁士 他：イミノクタジン酢酸塩のポストカラム反応蛍光検出器付き高速液体クロマトグラフによる分析法の検討，香川県環境保健研究センター所報 No. 3，141-144 (2004)
- 3) 五十嵐良明 他：クレオソート油およびクレオソート油処理木材の試験法について，全国衛生化学協議会年会講演集 No. 41，208-209 (2004)

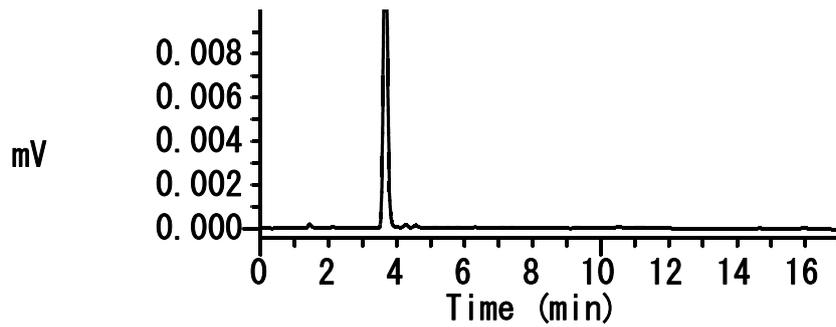
BaA, BaP, DBA の標準 (0.05  $\mu$ g/ml)



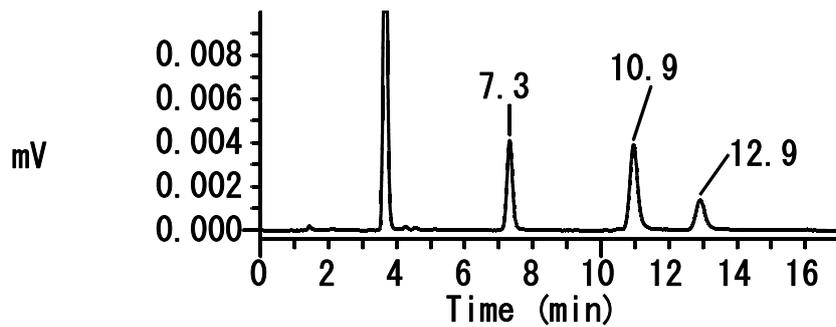
木材防腐剤



木材防腐剤の添加



防腐木材



防腐木材の添加

図5 添加回収試験のクロマトグラムの一例