

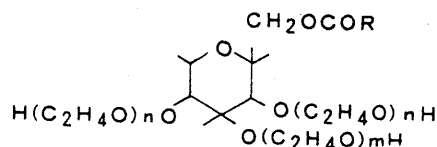
非イオン系界面活性剤

(ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル、ポリオキシエチレンアルキルエーテル、ポリオキシエチレンアルキルアミド、ポリオキシエチレンアルキルアミン、ポリオキシエチレンアルキルフェニルエーテル)

岡山県環境保健センター

【対象物質及び構造式】

① ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル



市販品：ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレート	R : C ₁₂	n : 1~25	微黄色，液体
ポリオキシエチレンソルビタンモノパルミテート	R : C ₁₆	n : 1~25	微黄色， $\wedge^\circ$ -スト
ポリオキシエチレンソルビタンモノステアレート	R : C ₁₈	n : 1~25	微黄色， $\wedge^\circ$ -スト
ポリオキシエチレンソルビタンモノオレレート	R : C _{18:1}	n : 1~25	微黄色，液体
ポリオキシエチレンソルビタントリオレレート	R : C _{18:1}	n : 1~25	微黄色，液体

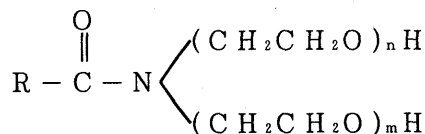
② ポリオキシエチレンアルキルエーテル RO(C₂H₄O)_nH

市販品： $\wedge^\circ$ タエチレングリコールモノドデシルエーテル	R : C ₁₂	n : 7	白色， $\wedge^\circ$ -スト
イソルゲン108	R : C _{8~18}	n : 3~15	透明，液体

③ ポリオキシエチレンアルキルアミド

市販品：TAMDS-4，ポリオキシエチレンステアリン酸アミド

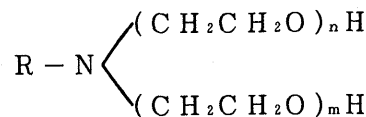
R : C₁₈, n+m : 4, M.W. : 472
微黄色，固体



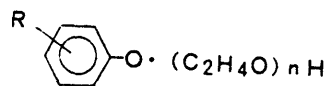
④ ポリオキシエチレンアルキルアミン

市販品：TAMNS-10，ポリオキシエチレンステアリアルアミン

R : C₁₈, n+m : 10, M.W. : 709
赤褐色，ペースト



⑤ ポリオキシエチレンアルキルフェニルエーテル



市販品：ポリオキシエチレンオクチルフェニルエーテル	R : C ₈	n : 平均9.4	透明，液体
ポリエチレングリコールモノ-p-ノニルフェニルエーテル	R : C ₉	n : -	透明，液体

§ 1 分 析 法

水質試料は酢酸エチル抽出を行い、脱水後、濃縮乾固し、水／メタノール（１：１）に溶解してSep Pak陽イオン、陰イオン交換樹脂、C₁₈で精製し、臭化水素酸を反応させ生成した臭化エチレンをGC又はGC／MSで定量し、標準物質のヘプタオキシエチレンドデシルエーテルとして表示する。底質及び生物試料は、メタノール抽出し、n-ヘキサン洗浄、水を添加した後ガラス繊維ろ紙でろ過し、ろ液を水質試料と同様な操作で精製し定量する。この分析法では、非イオン系表面活性剤のうちポリオキシエチレン型の非イオン界面活性剤が測定できる。

試 験 法

【試料の採取及び保存】 環境庁「化学物質環境調査における試料採取にあたっての留意事項」に従う。前処理操作は試料採取後、速やかに行なう。

【試料の前処理】

〔水質〕

試料1ℓを2ℓの分液ロートに採取し、塩化ナトリウム100g（注１）を加えて十分混合・溶解した後、酢酸エチル120mlを加えて約10分間振とう抽出し、十分静置して酢酸エチル相を採取する。水相は酢酸エチル100mlを用いて振とう抽出操作を更に１回繰り返す、得られた酢酸エチル抽出液は300mlのビーカーに合わせ、無水硫酸ナトリウムを用いて脱水した後、300mlのナス型フラスコに移して、ロータリーエバポレータを用いて30℃で減圧濃縮乾固し、水／メタノール（１：１）10mlに溶解する。

〔底質・生物〕

試料20g（注２）を100mlの遠沈管に採取し、メタノール40mlを加えた後、振とう機で約10分間振とう抽出し、3000rpmで約5分間遠心分離し、メタノール相を200mlの分液ロートに移し替える。メタノール40mlで振とう抽出操作を更に１回繰り返す、遠心分離後メタノール相を分液ロートに合わせる。分液ロートにヘキサン30mlを加えて、振とうし、ヘキサン相は捨てる。この操作を更に１回繰り返す（注３）。メタノール相に精製水約70ml加えて、振とうし、ガラス繊維ろ紙GF／Fでろ過をする（注４）。ろ紙を水／メタノール（１：１）5mlで２回洗浄する。

【試料液の調製】

〔水質・底質・生物〕

予めメタノール20mlで洗浄した（注５）陽イオン交換樹脂・陰イオン交換樹脂・C₁₈カートリッジカラム（３個連結）に試料液を負荷し、少量の水／メタノール（１：１）で数回濃縮容器を洗いながらカートリッジカラムに負荷する。C₁₈カートリッジカラムだけを取り外し、硬質アンプルをセットした後、メタノール4mlを用いて目的物質を溶出する。溶出液は窒素ガスを吹き付けて濃縮・乾固する。臭化水素酸／酢酸（１：１）0.5ml（注６）添加し、アンプルをガスバーナーで熔閉し（注７）、乾燥機中で150℃、２時間反応させる。冷却後、アンプル管内の試料液を20ml共栓試験管に少量の水で洗いながら移し替え、5mlに定溶する。ヘキサン1mlと内部標準溶液10μg/mlを20μl加えて振とう抽出し、十分静置してヘキサン相をパスツールピペットで採取する。

【空試料液の調製】

試料と同量の精製水を用いて【試験の前処理】及び【試料液の調製】の項に従った操作をして得た試料液を空試料液とする（注８）。

【標準液の調製】

ヘプタオキシエチレンドデシルエーテル10mgを正確に秤取り、メタノールを加えて正確に100mlとし、100μg/mlの標準原液とする。内部標準物質（p-キシレン-d₁₀）10mgを正確に秤取り、ヘキサンを加えて正確に100mlとし、

100 μ g/mlの標準原液とし、更にヘキサンで10倍希釈して10 μ g/mlの標準溶液とする。

GC検量線用溶液（5-25 μ g/ml）、GC/MS検量線用溶液（0.05-5.0 μ g/ml）は、メタノールを用いて希釈する。

【標準液の臭化水素酸反応液の調製】

検量線溶液も【試料液の調製】の項の臭化水素酸での反応以降の操作を同様に行い、検量線溶液とする。

【測定】

(1) GC条件

カラム : キャピラリーカラム VOCOL, 膜厚: 1.5 μ m
長さ, 内径 : 60m $\times$ 0.75mm
カラム温度 : 40 $^{\circ}$ C (2分) - 10 $^{\circ}$ C/分 - 160 $^{\circ}$ C
キャリアーガス : ヘッド圧 0.5 Kg/cm² (定圧モード)
使用機種 : 島津製GC-14A型
検出器 : FID, 温度: 200 $^{\circ}$ C
注入法 : スプリットレス法
注入口操作条件: 温度: 150 $^{\circ}$ C, パージ開始時間: 1.5分

(2) GC/MS条件

カラム : キャピラリーカラム VOCOL, 膜厚: 3.0 μ m
長さ, 内径 : 60m $\times$ 0.32mm
カラム温度 : 50 $^{\circ}$ C (2分) - 10 $^{\circ}$ C/分 - 200 $^{\circ}$ C
キャリアーガス : 2ml/min (定流量モード)
使用機種 : Automass 50 (GC: HP5890)
注入法 : スプリットレス法
注入口操作条件: 温度: 150 $^{\circ}$ C, パージ開始時間: 1.5分
インタフェース: 温度: 200 $^{\circ}$ C
イオン化条件 : EI法 イオン源温度: 210 $^{\circ}$ C
イオン化電圧 : 70eV (EI)
モニターイオン: 臭化エチレン M/Z 107, 109
p-キシレン-d₁₀ (内標準) M/Z 116

〔検量線〕

標準液1 μ lをGC又はGC/MSに注入し、臭化エチレンの示すピーク面積又は臭化エチレンの示すピーク面積と内部標準物質のピーク面積値の比を用いて検量線を作成する。

〔定量〕

試料液を1 μ lをGC又はGC/MSに注入し、得られた臭化エチレンの示すピーク面積又は臭化エチレンの示すピーク面積と内部標準物質のピーク面積値の比から検量線によりp-キシレン-d₁₀の濃度に換算し、定量する。

〔計算〕

以下の式により計算を行う。

$$\text{計算値}(\mu\text{g/ml または } \mu\text{g/g}) = \text{検出量}(\text{ng}) \times \frac{\text{最終液量}(\text{ml})}{\text{注入量}(\mu\text{l})} \times \frac{1}{\text{試料量}(\text{ml または g})}$$

〔検出限界〕 本分析法の検出限界を下記に示す（注9）。

試料	試料量	検出限界	定量限界
水質	1 ℓ	2.5 $\mu\text{g}/\ell$	8.2 $\mu\text{g}/\ell$
底質	20 g	38 $\mu\text{g}/\text{Kg}$	

試薬・器具

【試薬】

ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレート、ポリオキシエチレンソルビタンモノパルミテート、ポリオキシエチレンソルビタンモノステアレート、ポリオキシエチレンソルビタンモノオレート、ポリオキシエチレンソルビタトリオレート、ポリオキシエチレンオキサルフェエーテル、ポリエチレングリコールモノ-p-ノニルフェエーテル：ナカライテスク(株) 1級試薬

ヘptaエチレングリコールモノデシルエーテル：和光純薬工業(株)特級

エマルゲン108：花王(株)

TAMDS-4、ポリオキシエチレンステアリル酸アミド、TAMNS-10、ポリオキシエチレンステアリルアミン：日光ケミカルズ(株)

p-キシレン-d₁₀：CAMBRIDGE ISOTOPE LABORATORIES社（C I L）製

メタノール、酢酸エチル、無水硫酸ナトリウム、塩化ナトリウム、ヘキサン：残留農薬分析用

臭化水素酸、酢酸：試薬特級

精製水：Milli-Q SP.TOC.超純水製造装置（ミリポア社製）による精製水。妨害が生じる場合には、ヘキサンで2回洗浄して用いる。

陽イオン交換樹脂カートリッジカラム：Sep-Pak Plus Accell CM Cartridges(360mg)(Waters社製)

陰イオン交換樹脂カートリッジカラム：Sep-Pak Plus Accell QMA Cartridges(360mg)(Waters社製)

C₁₈カートリッジカラム：Sep-Pak Plus C₁₈ Cartridges(360mg)(Waters社製)

ガラス繊維ろ紙：GF/F（Whatman社製）

【器具】

ロータリエバポレータ（恒温槽付き）：抽出液の濃縮に用いる。

振とう器：液々抽出に用いる。

マイクロシリンジ：内部標準液の添加及びGC/MSの注入に用いる。

注射筒：固相カートリッジカラムを用いたクリーンアップに用いる。

分液ロート（2ℓ, 200ml）、ピーカー（300ml）、ナス型フラスコ（300ml）、スピッツ型共栓付き試験管（10ml）、共栓付き試験管（20ml）、遠沈管（100ml）、アンプル管（5ml）、パスツールピペット：アセトンで洗浄し、乾燥して用いる。

減圧ろ過装置：底質・生物試料の水/メタノール（1：1）溶液のろ過に用いる。

簡易型アンプル熔閉器：アンプルの溶接に用いる。

乾燥機：臭化水素酸反応に使用する。

注 解

注1) 海水試料の場合加えない。

注2) 遠心分離により間隙水を必ず除去する。

注3) メタノール相をヘキサンで洗浄し、中性成分を除去する。なお、メタノール相に精製水を添加した後、ヘキサン洗浄すると回収率が若干低下する。

- 注 4) 精製水70mlを添加すると、水に不溶性の成分が生成するためろ過をおこなう。
- 注 5) ブランク値が高くなるためメタノールで洗浄する。
- 注 6) 酢酸由来のブランクがあるため開封後時間の経過した試薬は注意が必要である。
- 注 7) 密封できたか十分確認する必要がある。密封が不十分だと乾燥機中で揮散してしまう恐れがある。
- 注 8) 試薬由来のブランクが非イオン界面活性剤として約0.002mg程度検出されることがある。
- 注 9) 検出限界及び定量限界は「検出限界等の定め方について」(S63年5月27日)により次のとおり算出した。

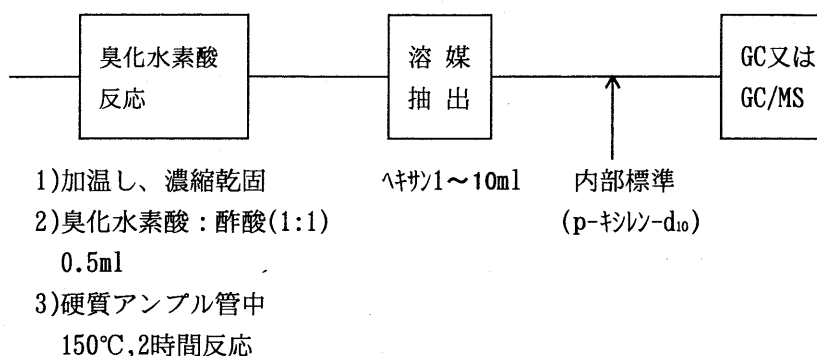
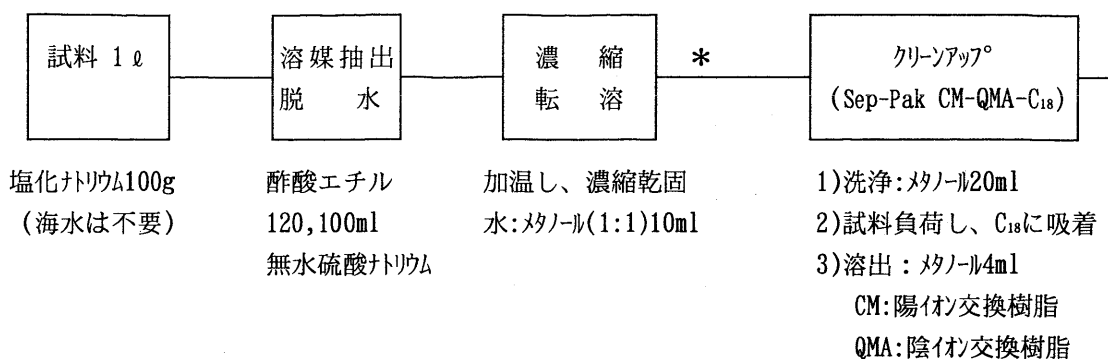
	水 質			底 質	
試料濃度($\mu\text{g}/\ell$)	10	20	30	検出限界推定値($\mu\text{g}/\text{Kg}$)	122.9
応 答 値(X)	8.6	16.3	24.4	試料濃度($\mu\text{g}/\text{Kg}$)	500
標準偏差(σR)	0.2160	0.3559	0.6976	分 析 値(X)	405
検 出 力(Dn)	0.3996	0.6947	1.3646	標準偏差(Sc)	12.0
検出限界(Dx3)		2.459		検出限界(DL)	37.8
定量限界(Dx10)		8.196		95%信頼区間	24.2-83.3
普遍分散(Fd)		11.65			

§ 2 解 説

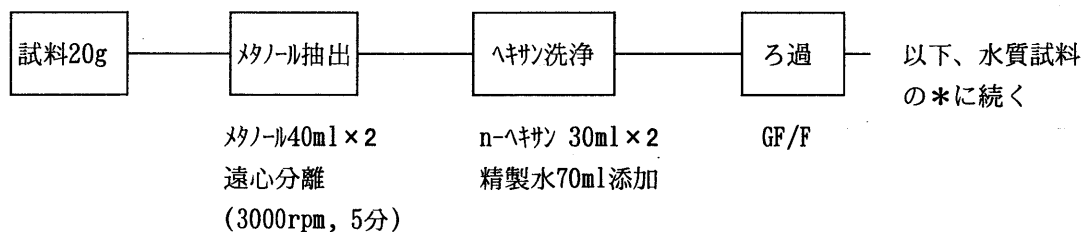
【分析法】

〔分析法フローチャート〕

水質



底質



〔分析法の検討〕

1. 前処理の検討

(1) 固相抽出の検討

試料水を直接陽イオン交換樹脂・陰イオン交換樹脂・C₁₈カートリッジカラム(3個連結)に負荷して回収率を試験したところ、河川水で35~40%、海水で20~25%と低かった。予め溶媒抽出をおこなった後、カートリッジカラムに負荷した場合は80%以上の回収率が得られた。

(2) アルカリ分解

底質20gを1N KOH/メタノール溶液50mlでアルカリ分解したときの回収率を検討したところ、①ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステルは分解してほとんど回収できなかった。その他の②③④⑤の非イオン界面活性剤は、90%以上の回収率があった。

(3) チオシアン酸コバルト法

①ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステルのチオシアン酸コバルト錯体はベンゼンに抽出されず、

1,2-ジカクタ等の有機塩素系溶剤には抽出されるものの、その他の②③④⑤の非イオン界面活性剤に比べて感度が低かった。

2. 低濃度添加回収実験結果

試料	試料量	添加量(μg)	測定回数(回)	回収率(%)	変動係数(%)
蒸留水	1ℓ	10	4	86.0	2.2
河川水	1ℓ	10	5	83.4	2.9
海水	1ℓ	10	5	84.0	2.4
底質	20g	10	5	80.2	2.8
生物	20g	10	3	33.0	13.5

注：5種類のポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステルをそれぞれ2μg添加して試験した。

3. 分解性スクリーニング試験結果

ポリオキシエチレンソルビタンモノパルミート

pH	1時間後	5日後	
		暗所	光照射
5	97	81	
7	94	88	63
9	94	85	

注：初期濃度1μg/mlでの残存率(%)

ポリオキシエチレンソルビタントリオレート

pH	1時間後	5日後	
		暗所	光照射
5	81	78	
7	98	79	81
9	89	87	

注：初期濃度1μg/mlでの残存率(%)

4. マススペクトル

BP=107.00[452216] TIC=1147223 RT=00:14:05.80

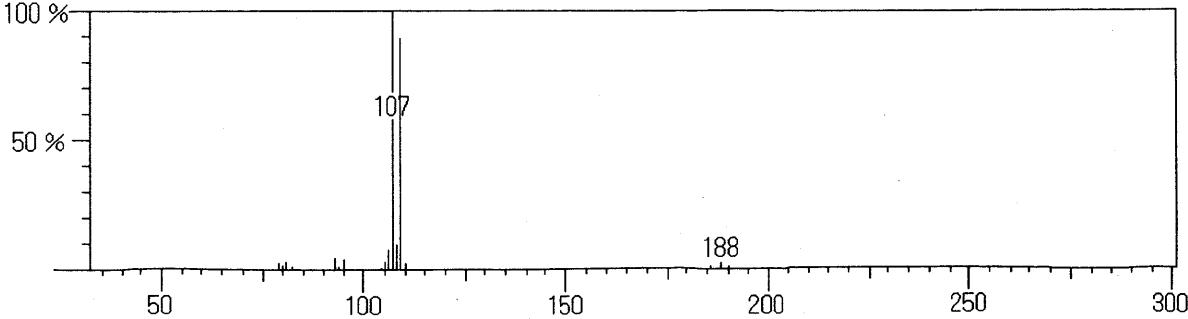


Fig. 1 臭化エチレンのマススペクトル

BP= 98.00[294016] TIC=771769 RT=00:14:33.53

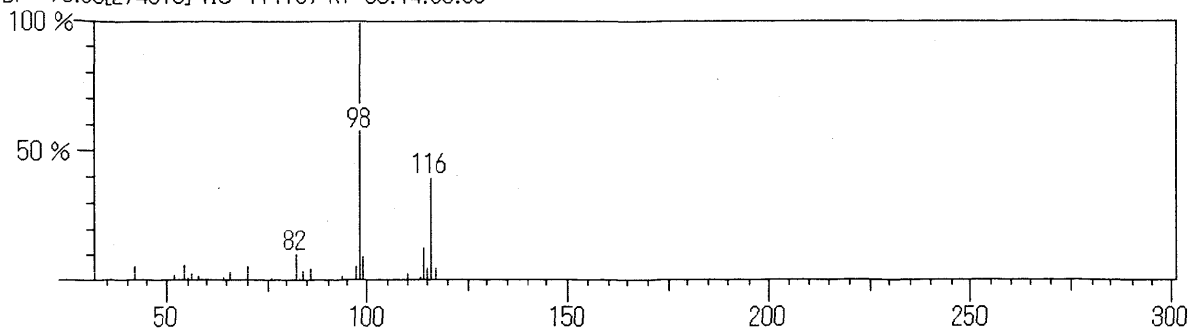


Fig. 2 p-キシレン-d₁₀のマススペクトル

5. マスクロマトグラム

\$0.3ppm G*0.55 Vocol 50(2)-10-200 2ml/m

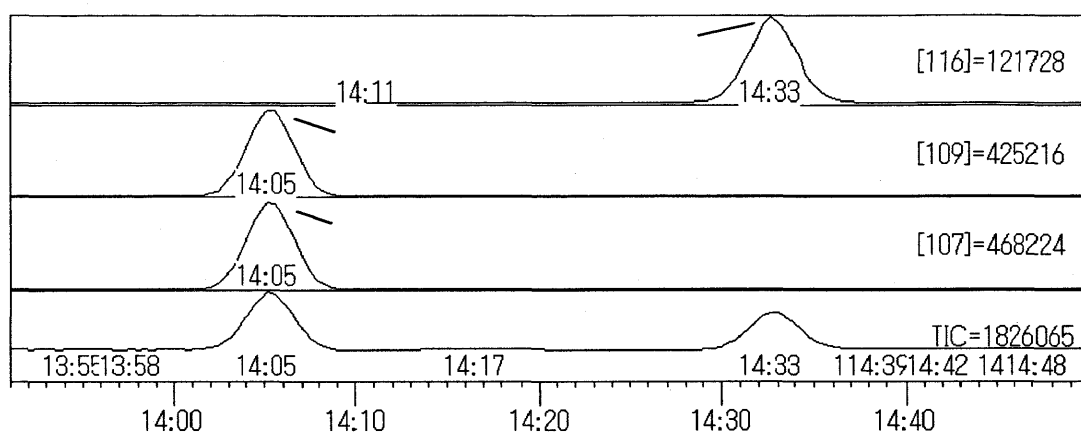


Fig. 3 臭化エチレンのマスクロマトグラム

std2 0.05ng G*0.6 Vocol 50(2)-10-200 2ml

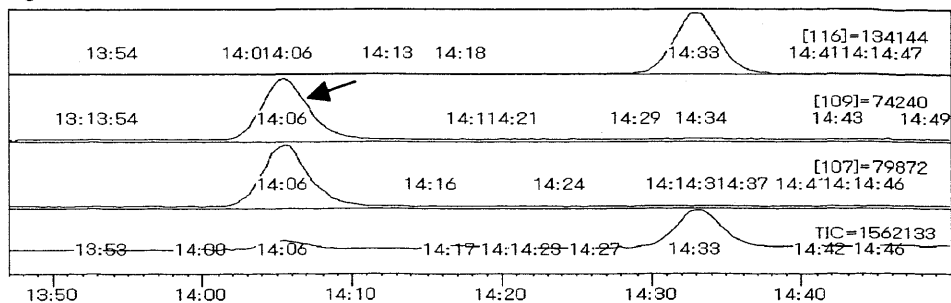


Fig. 4 ヘプタエチレングリコールモノブチルエーテルのマスクロマトグラム

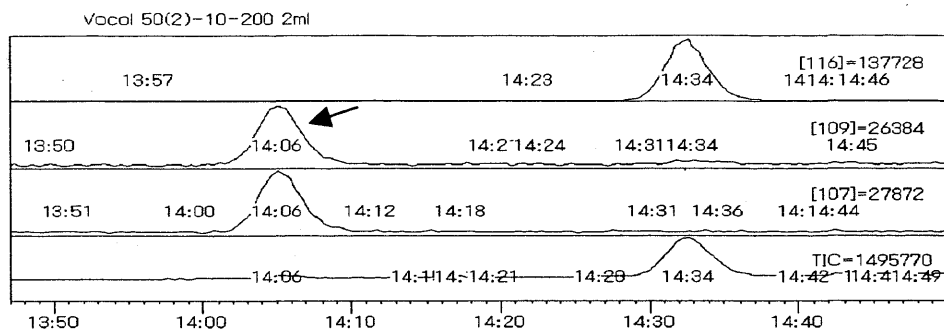


Fig. 5 空試料液のマスクロマトグラム

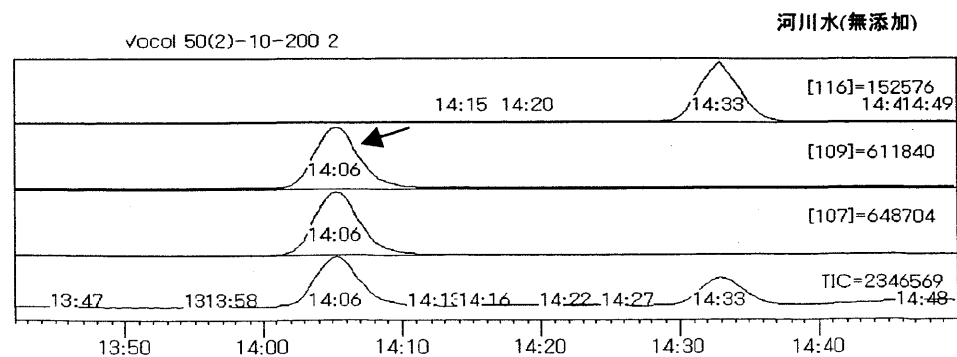
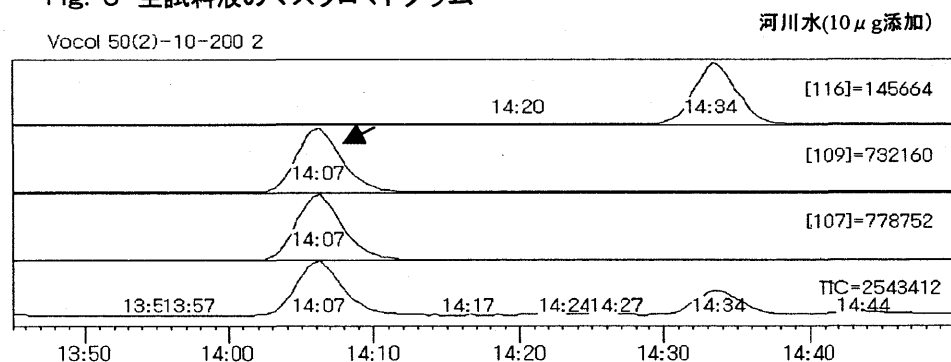
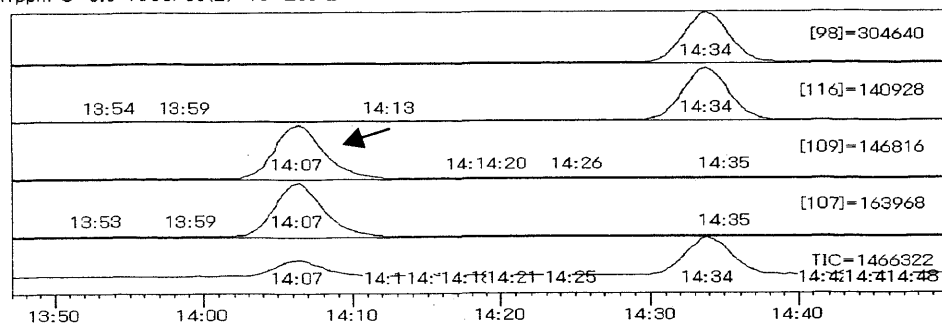


Fig. 6 河川水のマスクロマトグラム

sw+5mix1ppm G*0.6 Vocol 50(2)-10-200 2

海水(10 μ g添加)



sw-bl G*0.6 Vocol 50(2)-10-200 2

海水(無添加)

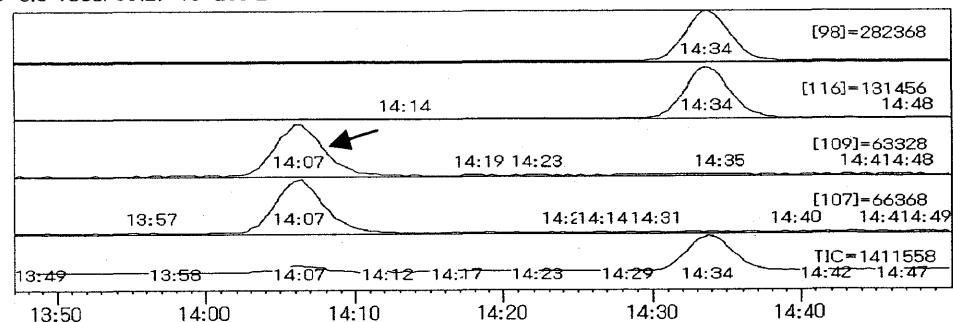
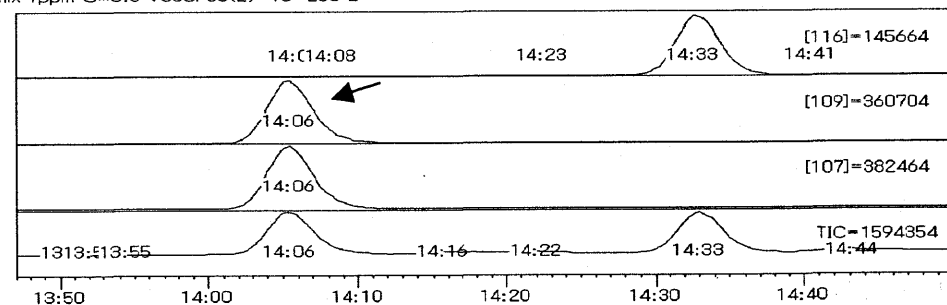


Fig. 7 海水のマスキロマトグラム

sed+5mix 1ppm G*0.6 Vocol 50(2)-10-200 2

底質(10 μ g添加)



sed blank G*0.6 Vocol 50(2)-10-200 2ml

底質(無添加)

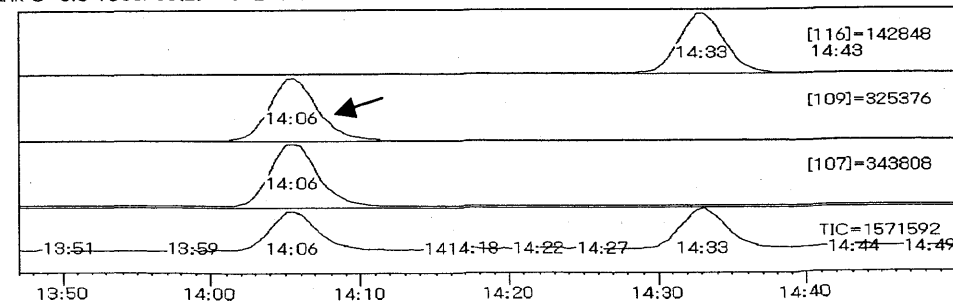


Fig. 8 底質のマスキロマトグラム

6. 検量線

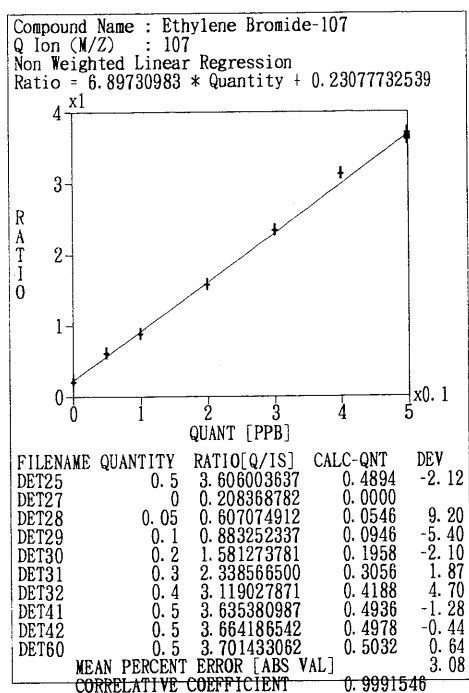


Fig. 9 ヘプタエチレングリコールモノブテシエーテルの検量線

7. 標準物質からの臭化エチレン生成率

	臭化エチレン 生成倍率
POEソルビタンモノラウレート	2.68
POEソルビタンモノパルミテート	2.50
POEソルビタンモノステアレート	2.92
POEソルビタンモノオレエート	2.45
POEソルビタントリオレエート	1.60
ヘプタエチレングリコールモノブテシエーテル	2.32
エマルゲン108	2.32
TAMDS-4	1.27
TAMNS-10	1.61
ポリオキシエチレンオクチルフェニルエーテル	2.66
ポリエチレングリコールモノ-p-ノニルフェニルエーテル	2.69

【分析法の問題点】

この分析法は、非イオン界面活性剤のうちポリオキシエチレン型の非イオン界面活性剤を臭化水素酸分解して、生成した臭化エチレンを測定し、標準物質のヘプタエチレングリコールモノブテシエーテルに換算する方法である。また、非イオン界面活性剤として約0.002mgに相当する試薬ブランクを示すことがある。したがって、臭化エチレンが検出されていても、必ずしも非イオン界面活性剤に由来しているとはいえず、他の臭化物(2-ブテチフェニルエーテル, 1-ブテデカン, 4-ブテフェノール, 2-ブテトキシベンゼン等)の同定・定量、または、LC/MSによる非イオン界面活性剤そのものの測定が必要と考えられる。

【評 価】

本法により水質試料中でppbレベル（水質： $2.5\mu\text{g}/\ell$ ）、底質試料で数十ppbレベル（底質： $38\mu\text{g}/\text{kg}$ ）のポリリン型非イオン界面活性剤を測定することが可能である。しかし、生物試料については回収率が悪く、変動係数も高いため分析法のさらなる検討が必要である。

参考文献

- 1) 環境庁編，化学物質環境調査分析方法報告書，昭和57年度
- 2) 日本規格協会編，工場排水試験方法，J I S K 0 1 0 2 (1993)
- 3) 日本薬学会編，衛生試験法(1990)

担 当：岡山県環境保健センター

住 所：〒701-0298 岡山市内尾739-1

電 話：086-298-2681

FAX：086-298-2088

担当者：吉岡敏行、荻野泰夫、剣持堅志

分析用試料送付方法

【水質、底質、生物共通】

- 1) 分析機関が試料到着後、迅速に分析が開始できるように、予め試料の採取日と送付日を調整する。
- 2) 試料は採取後直ちに、送付する。

【水質】

試料は1ℓ褐色耐熱ねじ口瓶（ねじ規格45程度、PTFE張りパッキンつき）に、試料水で2、3回共洗いした後、ヘッドスペースの残らないよう試料瓶の口いっぱいに取り、梱包して送付する。

【底質】

均一化した試料を100ml褐色耐熱ねじ口瓶（ねじ規格45程度、PTFE張りパッキンつき）に取り、ドライアイスで冷却した状態で梱包して送付する。

使用するガラス瓶は、洗剤を十分すすいだ後、精製水ですすぎ、乾燥させ、少量のアルコールで洗浄したものを使用する。

物質名	分析法フローチャート	備考
非イオン系界面活性剤	水質 <pre> graph LR A[試料 1ℓ] --> B[溶媒抽出 脱水] B --> C[濃縮 転溶] C --> D[クリアップ° (Sep-Pak CM-QMA-C18)] D --> E[臭化水素酸 反応] E --> F[溶媒抽出] F --> G[GC/MS] H[内部標準 (p-キシリン-d10)] --> G </pre> 塩化ナトリウム100g 酢酸エチル 水:メタノール(1:1) (海水は不要) 120,100ml 10ml 無水硫酸ナトリウム 1)洗浄:メタノール20ml 1)濃縮乾固 2)試料負荷し、C₁₈に吸着 2)臭化水素酸:酢酸(1:1) 3)溶出:メタノール4ml 0.5ml 3)硬質アンブル管中 150°C,2時間反応 メキシ 1~10ml 底質 <pre> graph LR I[試料20g] --> J[メタノール抽出] J --> K[n-ヘキサン 洗浄] K --> L[ろ過] L --> M[以下、水質試料の*に続く] </pre> メタノール40ml×2 n-ヘキサン 遠心分離 30ml×2 (3000rpm, 5min) 精製水70ml添加 ろ過 GF/F	GC/MS カラム: VOCOL 0.75mm×60m 膜厚1.5μm 検出限界 水質 2.5μg/ℓ 底質 38μg/kg

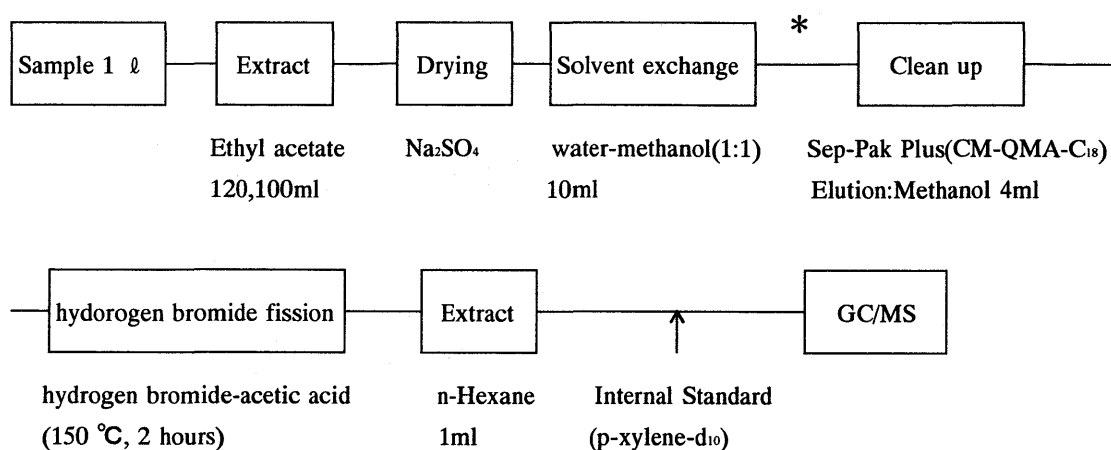
nonionic surfactant

Abstract

A water sample was extracted with ethyl acetate and the extract was dehydrated with anhydrous sodium sulfate. The extract was concentrated and exchanged solvent to water-methanol(1:1) solution. The solution was purified by use of an anionic and cationic exchange resin cartridge column and C₁₈ cartridge column(Waters Sep-Pak Plus). After the effluent was transferred into a 5ml glass ampoule and dried, the residue was reacted with hydrogen bromide-acetic acid reagent for 2 hours at 150 °C. The reacted solution was extracted with n-hexane. The hexane phase was concentrated to 1ml after having been added p-xylene-d₁₀ as the internal standard and determined by GC/MS.

A sediment sample was extracted with methanol. The methanol phase was washed by n-hexane and added 70ml water and filtrated. The following procedure was the same as water sample.

Water



Sediment

