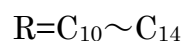
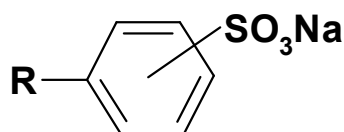


直鎖アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム (LAS)

Sodium *linear*-Alkylbenzensulfonate

【構造式】



上市製品は、直鎖のアルキル基の炭素数が 10~14 (C₁₀LAS~C₁₄LAS) の 5 種類の同族体を含んでおり、それぞれの同族体は、フェニルスルホン酸基がアルキル基の 2 位またはそれよりも内側に結合するフェニル位置異性体の混合物である。

【物理化学的性状および用途】

	分子量	融点 °C	Log Pow	水溶解度 mg/L	LD ₅₀ mg/kg
直鎖アルキルベンゼン スルホン酸ナトリウム	C ₁₀ LAS: 320.4	300°C <	0.45	2.0×10 ⁵	1,260
	C ₁₁ LAS: 334.4	(C ₁₂ LAS)	(C ₁₂ LAS)	(C ₁₂ LAS)	(ラット, 経口)
	C ₁₂ LAS: 348.5				(C ₁₂ LAS)
CH ₃ (CH ₂) _n C ₆ H ₄ SO ₃ Na	C ₁₃ LAS: 362.5				
上市製品: n=9~13	C ₁₄ LAS: 376.5				

	CAS-No	用途	その他
直鎖アルキルベンゼン スルホン酸ナトリウム	2211-98-5 (C ₁₂ LAS)	家庭用合成洗剤, 工業用洗浄剤, 乳化剤等の主成分	PRTR法第一種指定化学物質 政令番号1-024
CH ₃ (CH ₂) _n C ₆ H ₄ SO ₃ Na			
上市製品: n=9~13			

§1 分析法

(1) 分析法の概要

水質試料に対してカートリッジカラムで固相抽出を行い、メタノールで溶出して LC/MS/MS-SIM 負イオンモードで定量する。MS/MS 分析の高同定能を生

かして、試料量 100mL でサブ ppb レベルの LAS を定量する。

(2) 試薬・器具

〔試薬〕

- ・直鎖ドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム：和光純薬製 ABS 測定用
- ・ドデシルベンゼンスルホン酸（ソフト型）：東京化成製
- ・メタノール：和光純薬製 残留農薬・PCB 試験用
- ・ギ酸ナトリウム：和光純薬製 特級
- ・濃塩酸：和光純薬製 特級
- ・水酸化ナトリウム：和光純薬製 特級
- ・Sep-Pak Plus tC18：Waters 製 固相カートリッジカラム

〔器具〕

- ・Concentrator：カートリッジカラムによる固相抽出に用いる。
- ・超音波洗浄器：超音波抽出やメタノール再溶解時に用いる。

(3) 分析法

【試料の採取および採取試料の保存】

水質試料を精製水で洗浄したガラス瓶に採取する。分析は試料採取後速やかに実施することとするが、やむをえない場合は冷蔵保存する。その際、試料 1L に対し濃塩酸 1mL の割合で添加して酸性状態にし、LAS の生分解に対する抑制効果を高める。

【試料の前処理および試料液の調整】

酸性状態で保存した場合には水酸化ナトリウム水溶液で中和（注 1）した後、孔径 1 μ m のガラス繊維ろ紙で吸引ろ過（注 2）し、その 100mL（含有量が極微量の場合は 1L）を ODS などのカートリッジカラム（注 3）で固相抽出（通水速度：15mL/min）する。精製水 10mL で洗浄後、注射筒を用いて空気で間隙水を除去しメタノール 8mL で溶出する。窒素ガスにより蒸発乾固（注 4）させた後、超音波洗浄器を用いてメタノール 1mL に再溶解・定容し、試料液とする。この試料液を LC/MS/MS-SIM 負イオンモードで定量する。

【空試験液の調整】

精製水 10mL を【試料の前処理および試料液の調整】に従って処理し、空試験液とする（注 5）。

【標準液の調整】

標準には試薬直鎖ドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム (DBS : C₁₂LAS と同一) を用いる (注 6)。DBS 100mg を正確に秤量し、メタノール 100mL に溶解して 1,000mg/L の標準原液を作成する。標準原液をメタノールで順次希釈し、適当な濃度範囲の標準溶液を作成する。

【標準液および試料液の保存・安定性】

〔標準液の保存〕

密封して冷蔵保存すれば長期間安定である。

〔試料液の保存〕

塩酸酸性にして密封冷蔵保存すれば、1 ヶ月程度は安定である。

【測定】

〔LC/MS/MS 分析条件〕

HPLC 分析条件

- ・カラム : Cadenza CD-C18 (インタクト社), 3 μ m, 4.6 \times 250mm, 理論段数 50,000
- ・移動相 : 0.1mM ギ酸ナトリウム/メタノール (20 : 80) (注 7)
- ・流量 : 0.5mL/min
- ・カラム温度 : 40°C
- ・注入量 : 20 μ L

MS/MS 分析条件

- ・機種 : Thermoquest 社製 LCQ (イオントラップ型 MS)
- ・イオン源 : 最適化
(スプレー電圧 : 4.0kV, キャピラリー電圧 : 4.0V, キャピラリー温度 : 260°C)
- ・窒素流量 : 100mL/min
- ・モード : エレクトロスプレーイオン化法 (ESI) - 選択イオン検出法 (SIM), 負イオン測定
- ・測定イオン (m/z) : [M-Na]⁻ (Parent Mass) をプレカーサーイオンとし, モニターイオンとして m/z 184 を用いる (注 8)。
各同族体の Parent Mass は以下の通り ;
C₁₀LAS : 297, C₁₁LAS : 311, C₁₂LAS : 325, C₁₃LAS : 339, C₁₄LAS : 353

〔検量線および定量〕

標準溶液 20 μL を LC/MS/MS に注入し，注入量 (ng) とピーク面積とを用いて検量線を作成する。同様に，試料液 20 μL を LC/MS/MS に注入し，得られたピーク面積から検量線を用いて定量する。C₁₀LAS から C₁₄LAS までの全ての同族体を，標準とした DBS の検量線で定量し，その合計値を DBS 換算 LAS 濃度とする (注 6)。

各同族体の同定は，C₁₂LAS については標準の DBS を用い，それ以外の同族体については，各同族体混合物 (市販試薬名ドデシルベンゼンスルホン酸 (ソフト型) ; 東京化成製) のメタノール溶液を用いる。家庭用 LAS 系合成洗剤のメタノール抽出液を用いることも可能である。

低濃度域での検量線を図 1 に示す。

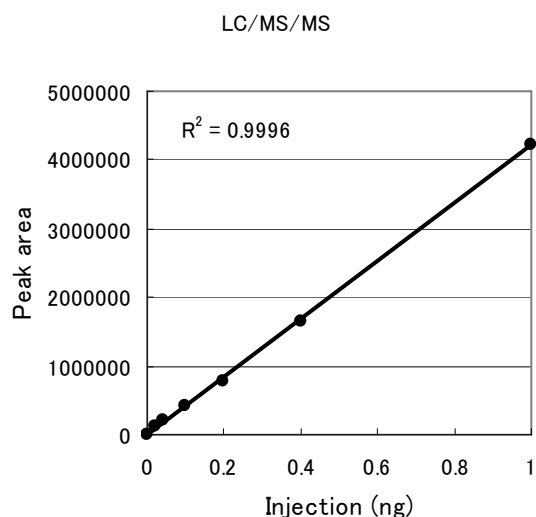


図 1 MS/MS 分析による低濃度域での検量線

〔装置検出下限〕

装置検出下限 (IDL) を以下に示す (注 9)。

試料量	最終液量	装置検出下限 (IDL)	試料換算濃度
100mL	1mL	0.77pg/μL	0.0077μg/L

〔検出下限および定量下限〕

水質試料に関する検出下限および定量下限を以下に示す (注 10)。

試料量	最終液量	検出下限	定量下限
100mL	1mL	0.049μg/L	0.15μg/L

(4) 注 解

- 1) 中和の必要性については「§2 解説」で示した。
- 2) SS成分の少ない試料の場合はろ紙をメタノール 5mL で吸引洗浄し、ろ液に合わせて固相抽出を行う。多い試料の場合はメタノール 10mL で超音波抽出し、抽出液をろ液に合わせる。
- 3) 事前にアセトン 10mL, メタノール 10mL, 精製水 10mL でコンディショニングを行う。メタノール洗浄の必要性については「§2 解説」で示した。
- 4) 窒素ガスの吹き付けを特に強くしない限り、通常では気散ロスはない。
- 5) 空試験で LAS が検出される主な要因は固相カートリッジカラムからの溶出であるが、精製水からも微量の LAS が検出されるので、空試験で用いる精製水量を少量とした。
- 6) 標準に関する検討については「§2 解説」で示した。
- 7) 0.1mM ギ酸ナトリウムはクロマトピーク形状の改善のために用いた。ピーク形状が良好の場合は水（精製水）でも良い。
- 8) MS/MS 分析のマスマスペクトルについては「§2 解説」で示した。
- 9) IDL は、環境庁資料「環境調査における検出下限値の算出について」（1999）に従って、以下の通りに算出した。測定時の代表的なクロマトグラムをあわせて示す。

表 1 標準 DBS による装置検出下限 (IDL)

	LC/MS/MS
試料量 (mL)	100
最終液量 (mL)	1
注入液濃度 (pg/μL)	4
注入液量 (μL)	20
注入量 (pg)	80
結果 (1回)	66
結果 (2回)	88
結果 (3回)	84
結果 (4回)	72
結果 (5回)	86
結果 (6回)	80
結果 (7回)	82
平均 (pg)	79.7
標準偏差 (pg)	7.952
CV%	10.0
IDL (pg/μL) *1	0.77
試料換算濃度 (μg/L)	0.0077
S/N	7
S/N適否	○

*1 IDL=t(n-1, 0.05)×標準偏差

LC/MS/MS (DBS 4 μg/L)

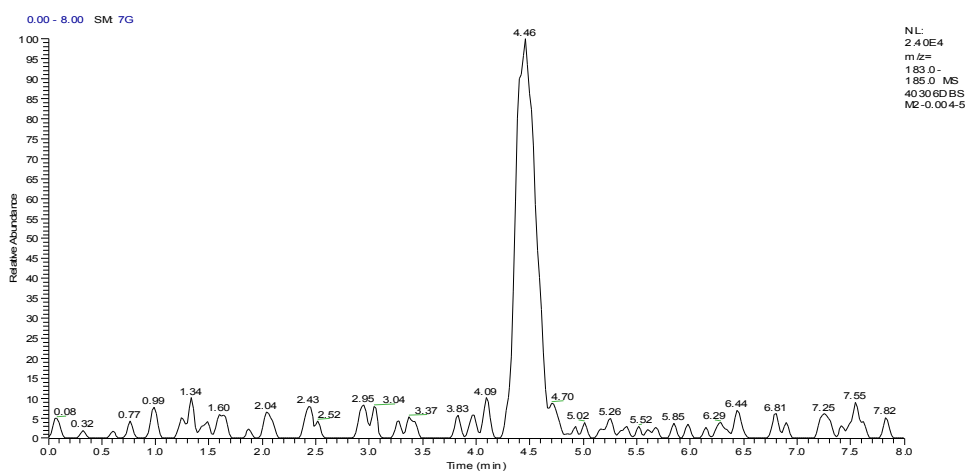


図2 IDL測定時の代表的なクロマトグラム

10) 検出下限および定量下限は、IDL の場合と同じ環境庁資料に従って精製水への標準添加実験を行い、以下の通りに算出した。

表2 標準DBSによる検出下限および定量下限

	LC/MS/MS
試料量 (mL)	100
最終液量 (mL)	1
添加濃度 (μg/L)	0.05
注入液量 (μL)	20
結果 (1回)	0.048
結果 (2回)	0.036
結果 (3回)	0.051
結果 (4回)	0.032
結果 (5回)	0.040
結果 (6回)	0.044
結果 (7回)	0.035
平均 (μg/L)	0.0409
標準偏差 (μg/L)	0.00708
CV%	17.3
ブランク平均 (μg/L)	0.036
検出下限 (μg/L) *1	0.049
定量下限 (μg/L) *2	0.15

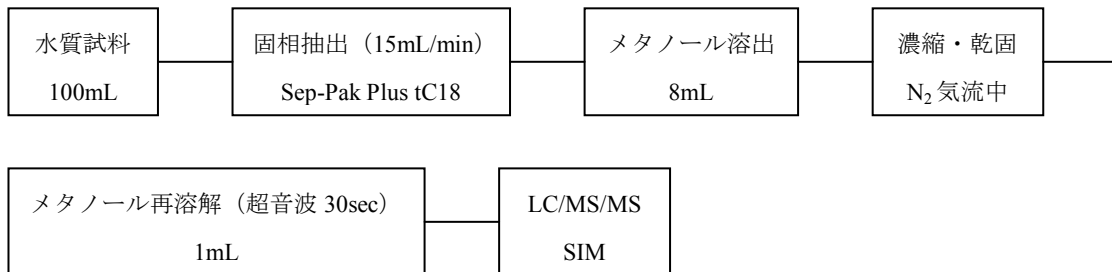
*1 検出下限=ブランク平均+t(n-1, 0.05)×標準偏差

*2 定量下限=3×検出下限

§ 2 解 説

【分析法】

〔フローチャート〕



〔分析法の検討〕

(1) 固相抽出時の液性

水質試料保存のために濃塩酸 1mL で酸性 (pH 約 3) にした状態で固相抽出 (試験液: DBS 10 μ g/L 1L) した場合には, 図 3 に示すように, 異なる種類のカートリッジカラムを使用した場合を含め回収率が低下した。そこで, 中和操作を行ったところ, 良好な回収率を得ることができた。しかし, 中和操作を行った場合でも, ビスフェノール A などとの同時分析を考慮し酢酸エチルを抽出に用いた場合には, 回収率が低下した。したがって, 酸性状態で保存した場合には中和操作を行い, 抽出溶媒にはメタノールを用いることとした。

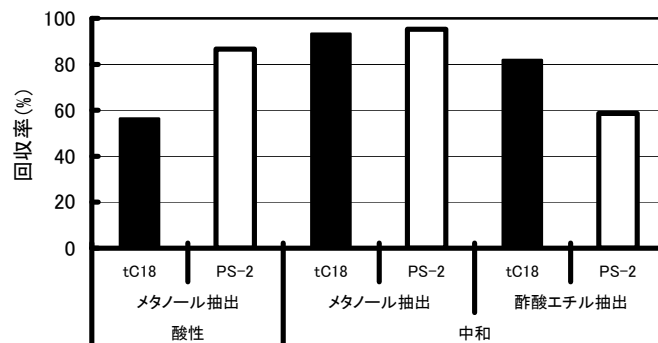


図 3 各抽出条件における回収率の比較

(2) 固相カートリッジカラムのコンディショニング

通常のコンディショニングではアセトン・精製水のみでの使用でよい。しかし, コンディショニング前の固相カートリッジカラムをメタノール抽出したところ, 微量の LAS (C₁₀~C₁₄LAS) が検出され, これがブランク値を増加させる大きな要因になっていることがわかった。この溶出量はカラムの種類によって異なる

り、Sep-Pak Plus tC18 と PS-2 とを比較した場合、後者は前者の 50 倍以上多かった。また、カートリッジ中の LAS はアセトンによるコンディショニングでは十分除去されなかった。そこで、メタノールもコンディショニングに用いることとした。

(3) 標準の選択

5 種類の同族体の中で、C₁₂LAS については純物質の DBS が和光純薬より市販されており、標準として用いることができる。その他の同族体 (C₁₀, C₁₁, C₁₃, C₁₄LAS) については、HPLC 分析の場合には、東京化成製 LAS 同族体混合物 (試薬名ドデシルベンゼンスルホン酸 (ソフト型)) を用いる方法が「要調査項目等調査マニュアル (水質, 底質, 水生生物)」(平成 12 年 12 月 環境庁水質保全局水質管理課) に示されている。すなわち、各同族体のアルキル基の長さや結合位に違いがあっても、ベンゼン環への電子供与効果が等しくモル蛍光係数は等しいと仮定し、HPLC-蛍光検出器による測定で求められた LAS 同族体混合物中の各同族体のピーク面積と、既知濃度の DBS (C₁₂LAS) 標準溶液のピーク面積より、分子量比を用いて同族体混合物中の各同族体の濃度を求め (分子量比法)、それにより各同族体の検量線を作成するとされている。

この方法を MS 分析や MS/MS 分析に適用するためには、各同族体のイオン化効率が等しいことを仮定する必要がある。しかし、この仮定が成立しないことが MS/MS 分析結果より明らかになった。MS/MS 分析では、後述するように、いずれの同族体からも、最も相対強度の強いフラグメントイオンとして m/z 184 のイオンが得られた。したがって、このイオンを測定イオンとすることで、各同族体に共通の検量線を作成できる (単一検量線法) ことが期待された。しかし、図 4 のように、同族体混合溶液中の、各同族体の MS ピーク面積と MS/MS (MS²) ピーク面積との比は各同族体で一定ではなく、C₁₁LAS を頂点に山形のパターンを示した。これは、イオン化効率が各同族体で異なり、MS/MS 分析ではその違いが相乗的に表れるためと推察された。

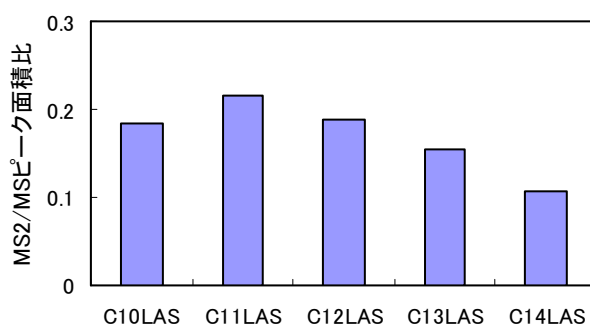


図 4 各同族体の MS²/MS ピーク面積比

実際、同じ同族体混合溶液を用いた場合でも、MS ピーク面積を用いた分子量比法と、MS/MS ピーク面積を用いた単一検量線法とでは、得られた各同族体の濃度が一致しなかった。

一方、和光純薬からは、LAS Standard Solution (以下、試薬 LAS Sol.と略す) という試薬名で、5 種類の同族体の濃度既知メタノール混合液 (各 100mg/L) が販売されている。この中の C₁₂LAS について、マススペクトルおよびマスキロマトグラムを同じ和光純薬製 DBS のそれと比較したところ、試薬 DBS では最も相対強度の強いフラグメントイオンは m/z 184 であったが、試薬 LAS Sol. の場合には m/z 171 が得られ、ピークのリテンションタイムも多少長くなった。

そこで、市販の LAS 系合成洗剤中の C₁₂LAS を m/z 184 および 171 でそれぞれ MS/MS 分析したところ、m/z 184 に比べて m/z 171 の場合のピーク面積は非常に小さかった。これは、試薬 LAS Sol.中の C₁₂LAS と試薬 DBS とでは、同じ同族体でも異性体の含有割合が異なり、市販合成洗剤中の C₁₂LAS の異性体含有割合が試薬 DBS に類似することを示唆している。したがって、合成洗剤由来の LAS が多く含まれる環境試料の測定には、試薬 LAS Sol.よりも試薬 DBS を標準とした方が妥当であると判断された。

以上の点から、試薬 DBS を標準として用い、各同族体の濃度を DBS 換算で求めることとした (DBS 換算法)。ちなみに、上記同族体混合溶液の各同族体濃度を、DBS 換算法と分子量比法とで比較したところ、C₁₂LAS に対する各同族体の分子量の違いが最大でも 10%程度であることを反映して、大きな相違は生じなかった。

(4) マススペクトル

各同族体の MS スペクトルを図 5 に示す。

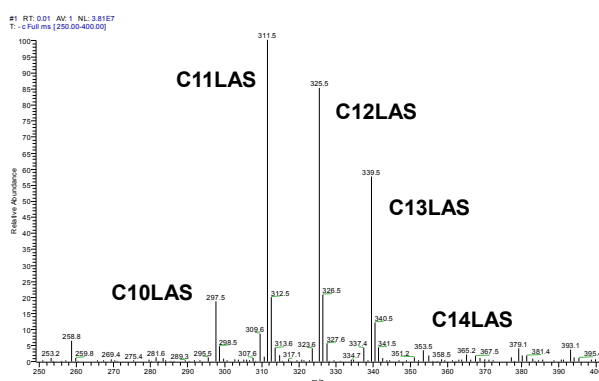


図 5 C₁₀~C₁₄LAS 同族体の MS スペクトル

C₁₂LAS (DBS) を例とした MS/MS スペクトルを図 6 に示す。プレカーサーイオンは m/z325 (Parent Mass) である。

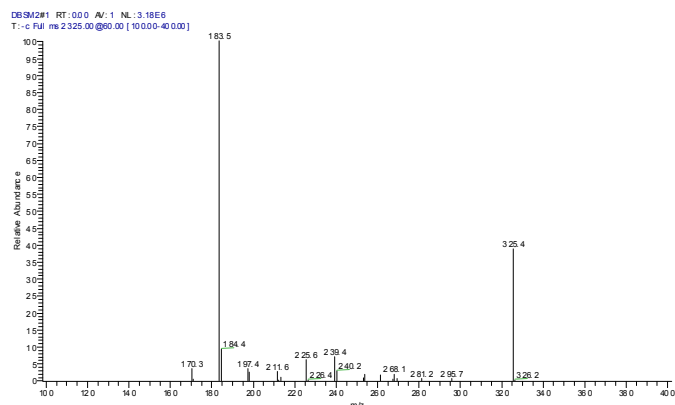


図 6 C₁₂LAS の MS/MS スペクトル

最も相対強度の強いフラグメントイオンとして m/z184 (Product Mass) が得られたことから、図 7 に示されるように、CH₃(CH₂)₉ のアルキル鎖脱離によるフラグメンテーションが推察された。このフラグメントイオンは他の同族体でも共通に認められた。また、このフラグメントイオンをプレカーサーとして MS/MS/MS 分析を行ったところ、m/z 119 がフラグメントイオンとして認められ、ベンゼン環開裂のフラグメンテーションが推定された (図 7)。これらの結果から、MS/MS 分析の測定イオンには m/z 184 を用いることとした。

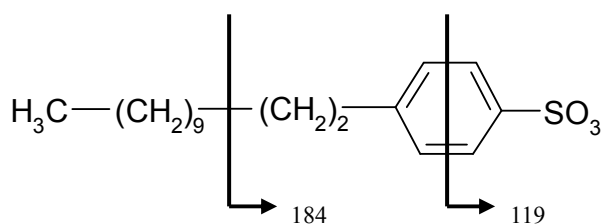


図 7 C₁₂LAS のフラグメンテーション

MS/MS 分析における最適コリジョンエネルギーについては、以下の通りである。イオントラップ型質量分析計では、トラップ室の中へ低圧のヘリウムガスが導入され、ヘリウムガス分子の衝突によって対象分子イオンの衝突解離 (CID : Collision-Induced Dissociation) が生じるが、この時の解離エネルギーは、%を単位とする相対衝突エネルギー (RCE : Relative Collision Energy)

で表わされる。RCE の値は、eV を単位とする解離エネルギーに概ね対応するとされている。C₁₂LAS についての RCE と感度との関係 (図 8) より、RCE50% にピークが認められたことから、最適コリジョンエネルギーとして 50% を用いた。他の同族体でも同様の結果が得られた。

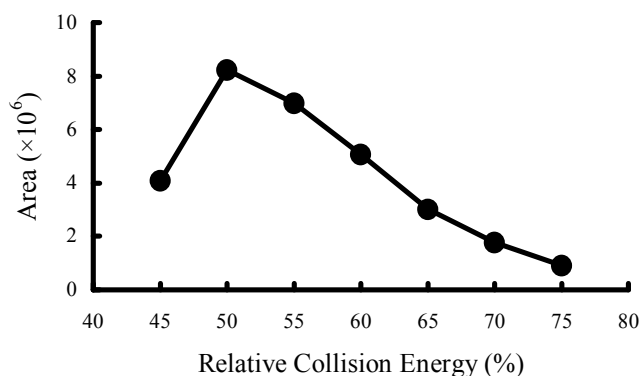


図 8 C₁₂LAS の MS/MS 分析における相対衝突エネルギーと感度との関係

(5) マスクロマトグラム

東京化成製同族体混合物のメタノール溶液から得られた、5 種類の同族体の MS/MS クロマトグラムを図 9 に示す。

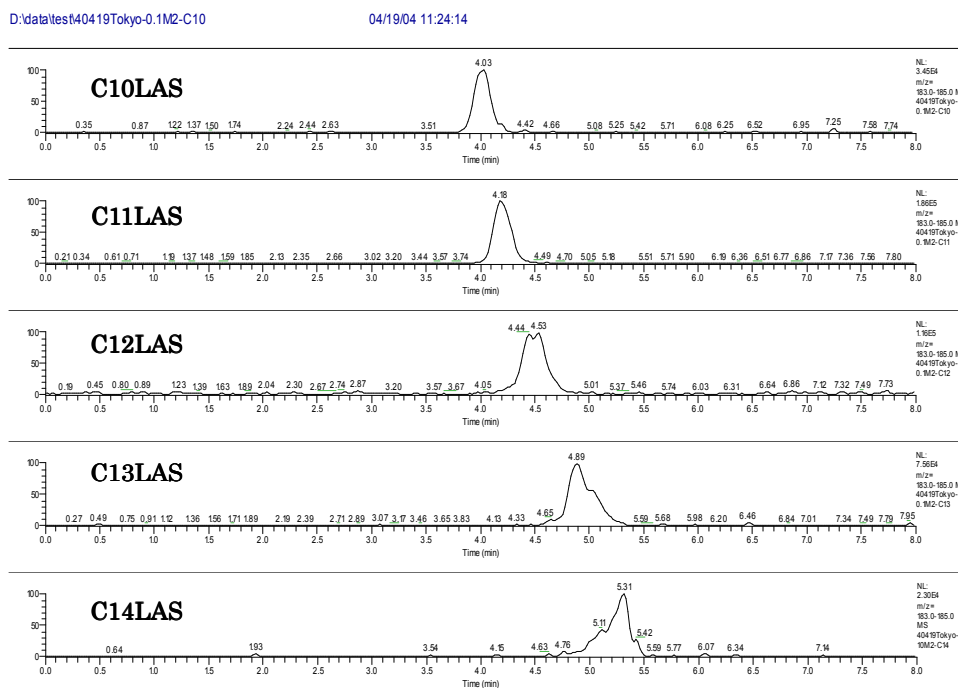


図 9 LAS 各同族体の MS/MS クロマトグラム

(6) 低濃度添加回収実験

添加後の濃度として $2\mu\text{g/L}$ になるように標準 DBS を河川水および海水に添加（試料水 100mL に対し $0.2\mu\text{g}$ ）し、低濃度添加回収実験を行った。結果を表 3 および図 10 に示す。表に示されるように 80%以上の回収率が得られた。

表 3 添加回収試験結果

試料	濃度 $\mu\text{g/L}$	回収率 %
河川水	0.64	
添加河川水 1	2.08	103.8
添加河川水 2	1.74	87.1
海水	0.14	
添加海水 1	1.71	85.6
添加海水 2	1.97	98.4

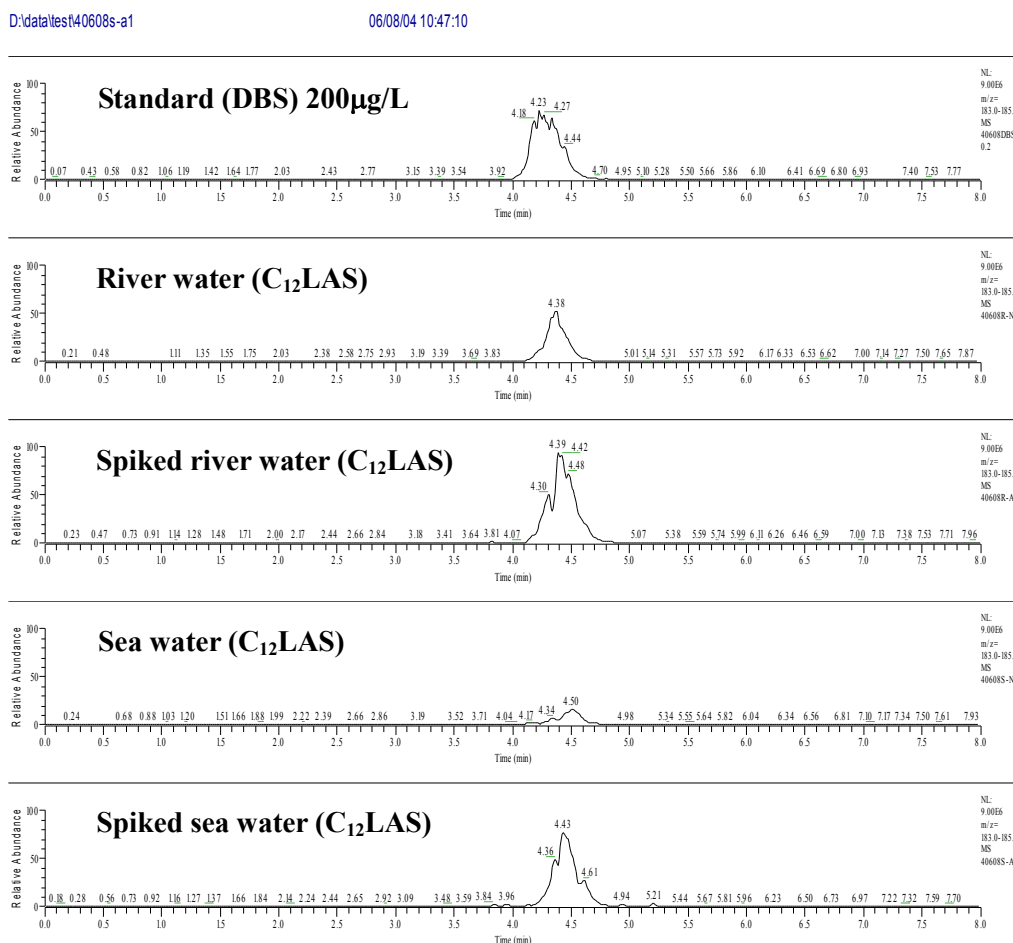


図 10 低濃度添加回収実験の MS/MS クロマトグラム事例
(縦軸は同一スケール)

【評価】

本法では、高感度で高同定能を有する MS/MS 分析法を導入することにより、試料量の低減が実現できた。そのために、マトリックスの妨害を減少させることができ、複雑な前処理なしに環境水中のサブ ppb レベルの LAS を分析することが可能となった。

担当者氏名・連絡先

古武家善成

兵庫県立健康環境科学研究所

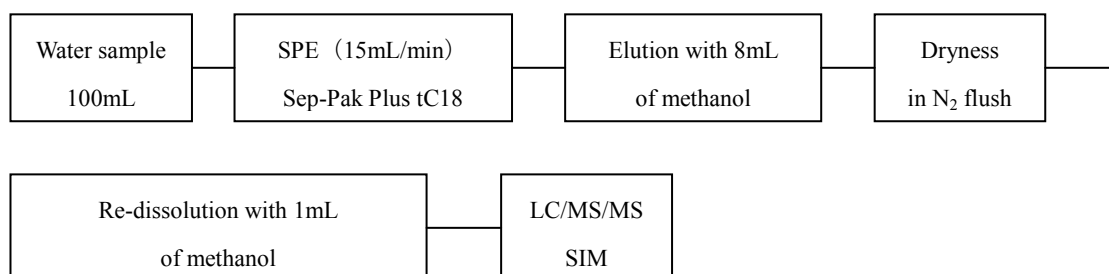
〒654-0037 神戸市須磨区行平町 3-1-27

TEL : 078-735-6911 FAX : 078-735-7817

E-mail : yoshinari_kobuke@pref.hyogo.jp

Sodium *linear*-Alkylbenzenesulfonate

Flow Chart



Summary

A high-sensitive analysis for sodium linear-alkylbenzenesulfonates (LAS) in aquatic environment was developed by using a simple pretreatment and LC/MS/MS method.

A 100mL of sample water was filtered through glass fiber filter of 1 μ m pore size, followed by the solid phase extraction (SPE) using ODS type cartridge column. Trapped LAS were selectively eluted from the cartridge with 8mL of methanol and dried. Sample extract re-dissolved in 1mL of methanol was subjected to LC/MS/MS-SIM analysis with ESI probe in the negative ion mode.

Precursor ions [M-Na]⁻ for five kinds of LAS homologues (C₁₀-C₁₄LAS) and monitor ion *m/z* 184 common to the homologues were used. Linear-dodecylbenzenesulfonate (DBS, C₁₂LAS) was used as standard and the concentration of detected LAS was expressed in DBS base. In the case of 100mL sample, minimum limits of detection and determination were 0.049 μ g/L and 0.15 μ g/L, respectively.