

# 高速液体クロマトグラフィーによる環境試料中の ポリオキシエチレンアルキルフェニールエーテルの定量\*

小林 規矩夫\*\*・沼田 一\*\*

## 1. 緒 言

従来、乳化剤・分散剤あるいは配合油剤等として用いられてきた非イオン界面活性剤は、硬水・塩類等によって支配されず、また、合成繊維に対するすぐれた再汚染防止能等、イオン界面活性剤の有する欠点からの解放により、特に無リン洗剤の普及とともに、今後、広範な用途、使用量の増大が予想される<sup>1)</sup>。これに伴って非イオン界面剤による環境汚染が危ぐされることから、われわれはさきにこれに対する分析法としてチオシアン酸コバルト法について検討し、河川・下水等について汚染調査<sup>2)</sup>を行った。

非イオン界面活性剤は多種多様であるが、その代表的なものとして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フェニールエーテル・ポリオキシエチレン脂肪酸エステル等が知られ、中でもポリオキシエチレンアルキルフェニールエーテル（以下、PPEと略す）は魚毒性が高く、難分解性<sup>3,4,5)</sup>であるとの報告がみられるが、この成分に対する分析法は満足するまでには確立されていない。

最近、非イオン界面活性剤の分析法として高速液体クロマトグラフィーによる報告<sup>6-9)</sup>がなされているが、その多くは分離同定を目的としており、環境試料についての報告にはほとんど接しない。これらのことから、今回、環境水ならびに底質を中心とし、高速液体クロマトグラフィー（以下、HPLCと略す）を用いてPPEに対する定量方法について検討し、良好な結果を得たので報告<sup>1)</sup>する。

## 2. 実験方法

### 2・1 試薬ならびに試液

2・1・1 シリカゲル・イオン交換樹脂・ポリオキシエチレンノニルフェニールエーテル類  
前報<sup>2)</sup>に準拠したものを使用。

### 2・1・2 界面活性剤

ポリオキシエチレンオクチルフェニールエーテル（エマルゲン 810、エチレンオキッド平均付加モル数 EO：10.0）・ポリオキシエチレンラウリルエーテル（エマルゲン 109-P、EO：9.00）・ポリオキシエチレンラウリルフェニールエーテル硫酸塩（エマール NC、EO：3.00）・ポリオキシエチレンラウリルエーテル硫酸塩（エマール 20 C、EO：3.00）—花王石ケン株式会社の提供による—、直鎖型アルキルベンゼン（ソフト型 LAB）・分岐鎖型アルキルベンゼン（ハード型 BAB）—環境庁保健調査室から配布。

### 2・1・3 標準溶液

ポリオキシエチレンノニルフェニールエーテル（NPE 9）0.5 g を正確に秤取しメタノールに溶かし50 ml とする。この溶液 5 ml をとり、メタノールを加えて100 ml とする。このメタノール溶液 1 ml 中には標準品 500 μg を含有する。

## 2・2 装 置

### 2・2・1 泡沫濃縮装置

前報<sup>2)</sup>と同一装置を使用（多孔質フリットガラスは G 1 とする）。

### 2・2・2 高速液体クロマトグラフ

島津デュボン株式会社製 Shimadzu LC-2・紫外可視分光光度計検出器 SPD-1。

## 2・3 操 作

### 2・3・1 抽出法

（水 質）

前報<sup>2)</sup>に準拠し、試料水1,000 ml について泡沫濃縮装置を用い、酢酸エチル溶媒で抽出し溶媒を留去後、得た抽出残留物をクロロホルム 2 ml に溶解する。

（底 質）

\* Determination of Polyoxyethylene Alkylphenyl Ether in Ambient Samples by High-Performance Liquid Chromatography

\*\* Kikuo KOBAYASHI, Hajime NUMATA (山梨県立衛生公害研究所) Yamanashi Institute of Public Health

試料(湿泥) 10-50 g をナス型フラスコ(300ml)中に採取, メタノール100mlを加え, 水浴上で1時間還流する。メタノール抽出液をろ紙No. 5 A でろ過, 残分は再びメタノール100mlを加え同様に抽出操作をくり返す。メタノール抽出液を合わせ, ロータリーエバポレーターを用い減圧下溶媒を留去後, 得た残留物にメタノール45ml, 10N 水酸化カリウム溶液5mlを加え, 水浴上3時間還流する。冷後, 再び減圧下メタノール溶媒を留去し, 残留液は水50mlを用いて分液ロート中に移し入れる。これに, 塩化ナトリウム20g, ベンゼン20mlを加えて5分間振とう後, ベンゼン層を分取する。さらに, ベンゼン20mlを用い同様な抽出操作をくり返す。抽出ベンゼン層を合わせ, 無水硫酸ナトリウムで脱水後ろ過する。このろ液を減圧下濃縮し溶媒を留去後, 得た抽出残留物をクロロホルム2mlに溶解する。

### 2・3・2 試験溶液の調製

水質および底質に対し, 抽出操作を行って得たクロロホルム試料液は, 前報<sup>2)</sup>に準拠し, シリカゲルカラム(クロマト管: 内径1cm, 高さ30cm, 活性ワコーゲルS-15gを充てん)ならびに溶出剤としてメタノール・クロロホルム混液(1+25)を用いてクリーンアップ後, 溶媒を留去し, 残留物をメタノールに溶解する。続いて, 陽イオンおよび陰イオン交換樹脂カラムを通したのち, ロータリーエバポレーターを用い減圧下溶媒を留去する。次いでメタノール1mlを用い, 蒸留フラスコの壁を洗いながら残留物を溶解し, 検液を調製する。

### 2・4 HPLC による定量

前項の操作によって得た試料検液 10  $\mu$ l を, 装置に導入し, あらかじめ作成した検量線から, 試料中のポリオキシエチレンアルキルフェニルエーテル含有量を算出する。

(HPLC 測定条件)

カラム: シマズゲル PSG-100(内径4mm, 長さ50cm)

移動相: 15% *n*-ヘキサン含有メタノール

流速: 1.5ml/分(圧力: 55kg/cm<sup>2</sup>)

測定波長: 277nm

チャートスピード: 2.5mm/分

## 3. 実験結果ならびに考察

### 3・1 HPLC 測定条件の検討

#### 3・1・1 カラム

従来, 非イオン界面活性剤測定のためのHPLC使用カラムとして, Zorbax-SIL<sup>6)</sup>, Porasil A<sup>7)</sup>, Bondapak C-18/corasil<sup>9)</sup>等が報告されている。今回, 一般的に繁用されているシマズゲル HSG-15ならびに

PSG-100の両カラムについて検討の結果, 表1に示したように後者のカラムは, 特異的にPPEならびにポリオキシエチレンフェニル硫酸塩に対してのみ単一ピークを示し, ポリオキシエチレンアルキルエーテル類, ポリオキシエチレンアルキル硫酸塩, およびアルキルベンゼン類等についてのピークは認められなかった。また, PPE各成分の保持時間(*t<sub>R</sub>*)は, ほぼ一致していたが, その感度はポリオキシエチレンオキシド付加モル数(EO)ならびに側鎖炭素数によって相違がみられ, EOおよび炭素数の少ないほど, 高い感度を示した。

#### 3・1・2 移動相溶媒(溶離液)

シマズゲル PSG-100カラムに対する移動相として, つぎの各溶媒について検討を行った。

メタノール,

10%, 20%クロロホルム含有メタノール混合溶媒,

10%, 20%テトラヒドロフラン含有メタノール混合溶媒,

*n*-ヘキサン含有メタノール混合溶媒,

この結果, メタノール単一溶媒ではPPEのピークは得られず, また, クロロホルムまたはテトラヒドロフラン混合溶媒では多数のピークが出現, 定量法としてこれら溶媒の使用は不適であった。一方, *n*-ヘキサン含有メタノール混合溶媒の場合, 表2に示したように, *n*-ヘキサン含有量15%以上で一定したピークを出現, この結果, 15% *n*-ヘキサン含有メタノール混合溶媒を溶離液として用い, ポリオキシエチレンフェニルエーテル(EO: 9.00)標準液について検量線を作製した結果, 図1のごとく50-500  $\mu$ g/mlの範囲で明らかに直線性を示した。

#### 3・1・3 測定波長

PPE(NPE<sub>9</sub>)メタノール溶液に対する紫外吸収スペクトルは, 図2, のごとく波長220nmならびに275nm付近に最大吸収を有する2峰性のスペクトルを示し, 220nmにおける吸収値は275nmの吸収値の約4倍高い感度を示した。しかしながら, HPLCの測定に際し, 220nm付近の波長を環境試料に適用した場合, 妨害ピークが出現, このため検討の結果影響の少ない277nmを測定波長として採用した。

### 3・2 試験操作の検討

#### 3・2・1 抽出法ならびにクリーンアップ法

PPEの測定操作として, 泡沫抽出法, シリカゲルカラムならびにイオン交換樹脂カラムを用いるクリーンアップ法に関しては, さきに検討を行い良好な結果を得ることを報告<sup>2)</sup>した。今回, 妨害成分の多い底質に対しては, さらにアルカリケン化法<sup>10)</sup>を採用し, 河川水お

表1 Response of various surfactants by high-performance liquid chromatography

compound	ethylene oxide units per mol	ratio of height of peak	retention time (min)
nonionic surfactant			
polyoxyethylene nonylphenylether	3.29	1.46	3.2
polyoxyethylene nonylphenylether	7.29	1.06	3.4
polyoxyethylene nonylphenylether	9.00	1.00	3.4
polyoxyethylene nonylphenylether	13.74	0.70	3.3
polyoxyethylene octylphenylether	10.0	1.25	3.1
polyoxyethylene laurylether	9.00	0.00	—
polyoxyethylene sorbitan monostearate	—	0.00	—
polyoxyethylene sorbitan monolaurate	—	0.00	—
anionic surfactant			
polyoxyethylene laurylphenylether surfate	3.00	2.18	1.8
polyoxyethylene nonylether surfate	3.00	0.00	—
others			
liniar alkyl benzene	—	0.00	—
branched alkyl benzene	—	0.00	—
polyethylene glycol 4,000	—	0.00	—

Operating conditions: Content of compound, 1 mg/ml  
 Eluate, n-hexane: methanol (1 : 5)  
 Flow rate, 2.0 ml/min  
 AUFs, 0.08

表2 Response on high-performance liquid chromatography with n-hexane and methanol mixture for determination of polyoxyethylene alkylphenylether

mobile phase (%)	content of n-hexane added to methanol						
		15	15	15	20	20	30
flow rate (ml/min)		1.0	1.0	1.5	1.0	1.5	1.0
NPE <sub>9</sub> <sup>a)</sup> (μg/ml)							
100		—	12	14	14	—	13
200		9	25	28	28	29	29
300		—	37	44	43	—	45
400		19	49	59	58	58	58
500		—	61	74	72	—	73
retention time (min)		10	8	6	6	4	4

a) polyoxyethylene nonylphenylether (EO : 9.00)  
 value of determination : height of peak (mm)

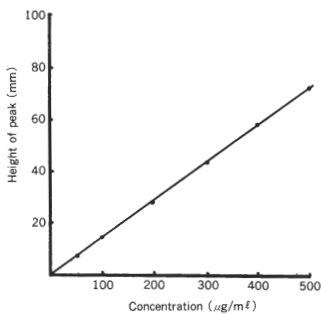
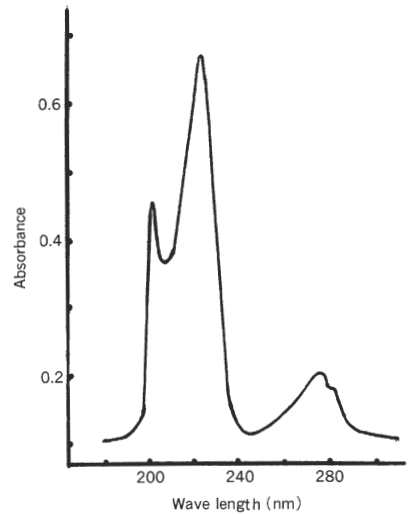
図1 Calibration curve of polyoxyethylene nonylphenylether (NPE<sub>9</sub>)

図2 Absorption spectrum of polyoxyethylene nonylphenyl ether

表3 Recovery of polyoxyethylene nonylphenylether added to ambient samples by the overall procedure using high-performance liquid chromatography

sample	added	n	recovery (%)	cv (%)
river water	0.5mg/l	5	95.6	2.59
	5.0mg/l	6	97.4	1.56
deposit mud	250. μg/50g	5	92.6	3.10
	1000. μg/50g	5	96.2	2.78

cv : coefficient of variation

表4 Content of polyoxyethylene alkylphenylether in ambient samples

sample	No.	A	B	A/B (%)
river water (mg/l)	1	0.08	0.87	9.2
	2	0.08	0.57	14.0
	3	0.07	0.34	20.0
	4	< 0.05	0.12	—
waste water from the sewage treatment plant (mg/l)	inflowed	0.20	0.80	25.0
	discharged	0.15	0.45	33.3
deposit mud ( $\mu\text{g/g}$ , drybase)	1	12.5	—	—
	2	8.0	—	—
	3	7.7	—	—
	4	7.0	—	—
	5	6.6	—	—
	6	5.8	—	—
	7	< 5.0	—	—
	8	< 5.0	—	—
	9	< 5.0	—	—

A : determination by high-performance liquid chromatography  
 B : determination by cobalthiocyanate method

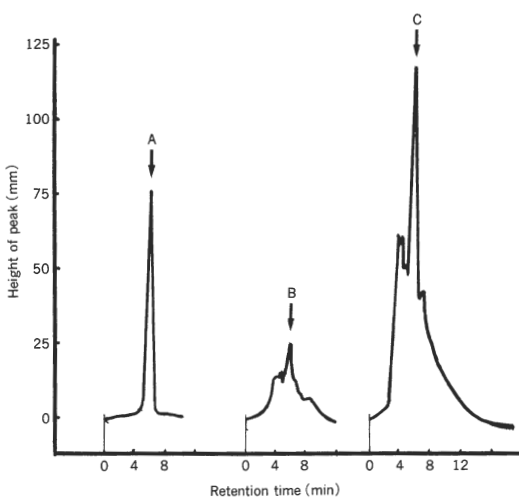


図3 Liquid chromatogram of polyoxyethylene alkylphenylether obtained from ambient samples

- 1) A. of a peak shows the liquid chromatogram of standard (NPE<sub>9</sub>) at the 500  $\mu\text{g/ml}$  level.
- 2) B. of a peak shows that obtained from a river water.
- 3) C. of a peak shows that obtained from a deposit mud.

および底質について回収試験を行った結果、表3に示したように河川水添加例で平均95.6%以上、底質添加例で平均92.6%以上の成績が得られた。

3・2・2 環境試料

山梨県内の河川水4件、下水処理場流入水および流出

水2件ならびに底質9件について、本法により測定した結果、河川水ではPPE濃度は<0.05-0.08mg/lを示し、チオシアン酸コバルト法<sup>2)</sup>による非イオン界面活性剤測定値の9.2-20.0%を占め、また、流入水0.20mg/lに対し流出水は0.15mg/l、チオシアン酸コバルト法測定値のそれぞれ25.0%、33.3%を占めていた。また、底質では9件中6件からPPEが検出され、その濃度は最高12.5  $\mu\text{g/g}$  乾であった。(表4、図3)

4. 結 論

環境試料中のポリオキシエチレンアルキルフェニルエーテルに対し、高速液体クロマトグラフィーによる分析方法について検討しつぎの結果を得た。

(1) 高速液体クロマトグラフィー測定条件として、シマズゲル PSG-100 カラムならびに15% n-ヘキサン含有メタノール混合溶媒を溶離液として用いることにより、特異的にポリオキシエチレンアルキルフェニル型界面活性剤が検出されることを認めた。

(2) 泡沫濃縮法(水質)、メタノール抽出ならびにアルカリケン化法(底質)で抽出後、シリカゲルカラムならびにイオン交換樹脂カラムでクリーンアップし、高速液体クロマトグラフィーで測定することにより良好な回収成績を示した。

(3) 環境試料中のポリオキシエチレンアルキルフェニルエーテル型非イオン界面活性剤濃度は、河川水で最高0.08mg/l、下水処理場排水0.15mg/lを示し、チオシアン酸コバルト法測定値の約10-33%を占めていた。底質からは最高12.5  $\mu\text{g/g}$  乾を検出した。

## —引用文献—

- 1) 堀口博：「合成界面活性剤」p. 320, 三共出版, 東京, 1965.
- 2) 小林規矩夫, 田中久, 沼田一：河川, 下水中の非イオン界面活性剤の定量, 衛生化学, Vol. 26, No. 2, pp. 92-98, 1977.
- 3) 井上善介, 福山丈二, 本多淳裕：界面活性剤の毒性と生分解性, 水処理技術, Vol. 18, No. 2, pp. 119-132, 1977.
- 4) Scharer D.H., Kraretz L., Carr J.B.: Biodegradation of Nonionic Surfactants, TAPPI Env. Conf. (Tech. Assoc. Pulp. Pap. Ind.), pp. 61-66, 1979.
- 5) 菊地幹夫, 若林明子, 露崎亀吉：非イオン界面活性剤の生分解性と魚毒性, 東京都公害研究所報告, Vol. 11, pp. 114-117, 1980.
- 6) 中村淳, 松本勲：ポリオキシエチレン系非イオン界面活性剤の高速液体クロマトグラフィー, 日本化学会誌, No. 8, pp. 1342-1347, 1975.
- 7) Allen C.F., Rice L.I.: Separation of Triton X-100 and similar Mixtures into Componentoligomers by High-pressure Liquid Chromatography, Journal of Chromatography, 110, pp. 151-155, 1975.
- 8) 液体クロマトグラフ研究会データ集積委員会：高速液体クロマトグラフィーデータ集7, pp. 355-1361, アイピーシー, 東京, 1978.
- 9) Otsuki A., Shiraishi H.: Determination of Poly (oxyethylene) alkylphenyl Ether Nonionic Surfactants in Water at Trace Levels by Reversed Phase Adsorption Liquid Chromatography and Field Desorption Mass Spectrometry, Anal. Chem., Vol. 51, No. 14, pp. 2329-2332, 1979.
- 10) 三浦平則, 小林裕, 三浦竹治郎：生体試料中の非イオン界面活性剤ポリオキシエチレンアルキルフェニルエーテルの分析法, 第7回 環境保全・公害防止研究発表会講演集, B-27, 東京, 1980.