

報 文

高速液体クロマトグラフィー/大気圧化学イオン化質量
分析法によるポリオキシエチレン系非イオン界面活性
剤の分析法の検討と河川水への応用山岸 知彦*, 橋本 伸哉[®]**, 金井みち子***, 大槻 晃**Identification and determination of polyoxyethylene nonionic surfactants
by HPLC/atmospheric pressure chemical ionization-MS,
and its application to river water samples

Tomohiko YAMAGISHI, Shinya HASHIMOTO*, Michiko KANAI** and Akira OTSUKI*

*Department of Ocean Sciences, Tokyo University of Fisheries, 4-5-7 Konan, Minato-ku, Tokyo 108

**Thermo Quest, Inc., 2-5-8 Hatsudai, Shibuya-ku, Tokyo 151

(Received 16 January 1997, Accepted 6 March 1997)

A method based on isocratic HPLC with UV detection at 280 nm and APCI-MS was developed for the routine determination and identification of dissolved polyoxyethylene alkylphenol ether (APE) nonionic surfactants in river water samples. Co-extracted anionic and cationic surfactants from Amberlite XAD-16 extract were removed by ion-exchange. HPLC confirmed the presence of octylphenol polyethoxylates (OPEOs) in the extract, and component oligomers having 9 to 14 ethoxylate groups were separated using a 10 cm×4.6 mm i.d. carbon column (TSKgel Carbon-500) with ethanol as a mobile phase. The detection limit at a signal-to-noise ratio of 3 was 1 µg/ml. Oligomers having 5 to 14 ethoxylate groups were identified by APCI-MS and MS/MS. When a solution containing AcONH₄ as a mobile phase was used, the positive-ion spectra obtained for OPEOs showed base peaks corresponding to ions from the addition of NH₄⁺. The APE concentrations of samples from Meguro river and treated wastewater obtained from a discharge canal were 64.3 and 10.5 µg/l, respectively.

Keywords : isocratic HPLC; carbon and/or graphitized carbon stationary phase; APCI-MS; CTAS; polyoxyethylene alkylphenol ether (APE); polyoxyethylene alcohol ether(AE).

1 緒 言

ポリオキシエチレン (POE) 系非イオン界面活性剤は、家庭用、工業用洗浄剤のほか、乳化剤、分散剤等の主成分でもあり、様々な種類のものが大量に使用されている。一般に、使用された界面活性剤は廃水処理システ

* 埼玉県環境検査研究協会: 331 埼玉県大宮市上小町 1450-11

** 東京水産大学海洋環境学科: 108 東京都港区港南 4-5-7

*** サーモクエスト(株): 151 東京都渋谷区初台 2-5-8 西新宿豊国ビル

ムを経由し、河川等に排出されているが、一部の生活雑排水は直接自然水域にたれ流される場合もあり、環境中でのその挙動や生態系への影響が注目されている^{1)~3)}。

POE 系非イオン界面活性剤の測定には JIS K 0102 に採用されている“チオシアン酸コバルト法”(CTAS 法)⁴⁾⁵⁾が一般に用いられている。しかし、この方法は POE 系アルキルフェニルエーテル (APE) と POE 系アルキルエーテル (AE) を区別して測定することができない。又、界面活性剤分子内のエチレンオキシド (EO) 付加モル数が 3 以上でなければ定量はできず、界面活性剤分子内の EO 付加モル数の分布を測定することもできない。POE 系非イオン界面活性剤内の EO 付加モル数は生物分解により減少し、その分布は経日変化することが報告^{6)~9)}されており、分子内にフェニル基を持つ APE は AE よりも生物分解されにくいことが確認されている。又、APE とその分解生成物による水生生物への毒性についても報告されている⁶⁾。従って、POE 系非イオン界面活性剤の分析には、APE と AE の分離、更に分子内の EO 付加モル数の情報も必要である。

近年高速液体クロマトグラフィー (HPLC)^{6)10)~15)}を用いた界面活性剤の分離が行われているが、その多くはオクタデシル基 (ODS, C₁₈)/シリカゲル等の逆相系カラムが主流であり、高純度炭素のみで形成された順相系カーボンカラムによる分離は報告されていない。又、非イオン界面活性剤の確認法として、GC/MS^{16)~20)}、電界脱離質量分析 (FD-MS)²¹⁾²²⁾、高速原子衝撃質量分析 (FAB-MS)^{23)~25)}、エレクトロスプレーイオン化質量分析 (ESI-MS)²⁶⁾、大気圧化学イオン化質量分析 (APCI-MS)²⁷⁾、MS/MS²⁵⁾、LC/MS³⁾、超臨界流出クロマトグラフィー/質量分析 (SFC/MS)²⁸⁾等の質量分析が多種報告されている。又、界面活性剤の分析方法については詳しい総説がある²⁹⁾。

非イオン界面活性剤の環境水からの抽出法として、高純度炭素のみで形成された順相系カーボンを用いた固相抽出法が使用されその選択性が高く評価されている²⁶⁾。

本研究では、UV 検出 HPLC 分析に非イオン界面活性剤に対する選択性が高いカーボンカラムを用いることで、容易に APE を EO 付加モル数の違いにより分離することを見いだした。又、UV 検出 HPLC 分析法と CTAS 法を併用することにより、環境水中の APE と AE を区別して測定することを検討した。更に APCI-MS、APCI-MS/MS により環境水中の非イオン界面活性剤を分析し、従来報告のなかった新しい非イオン界面活性剤を見いだした。

2 実 験

2.1 試 薬

合成吸着剤は Amberlite XAD-16 を前処理³³⁾したものを用いた。イオン交換樹脂は Dowex 50 W-X4-H 型 (50~100 メッシュ) 及び Dowex 1-X2-Cl 型 (50~100 メッシュ) をそれぞれ再生³¹⁾したものを用いた。非イオン界面活性剤標準試薬は東京化成製のポリエチレングリコールモノ-*p*-オクチルフェニルエーテル (酸化エチレン付加モル数: $n=10$, 10-OPE と略記)、ポリエチレングリコールモノドデシルエーテル (酸化エチレン付加モル数: $n=25$, 25-DE と略記) を用いた。チオシアン酸コバルトアンモニウム及び硝酸コバルトは試薬特級 (和光純薬製) を用いた。メタノール、エタノール、アセトニトリルは HPLC 用グレードを、ジエチルエーテル、ジクロロエタン、酢酸アンモニウム (AcONH₄) は試薬特級 (和光純薬製) を用いた。又、純水として Milli-Q 水 (Millipore 製) を用いた。

2.2 装 置

HPLC 装置は Waters 600E (Waters 製) を用いた。検出器は対象とする POE アルキルフェニル誘導体が紫外線を吸収するので Waters 486 MS (Waters) を用い、UV_{280nm} で測定した。固定相には高純度炭素のみで形成されたカーボンカラム (TSK gel Carbon-500, 10 cm×4.6 mm, 粒径 6 μm) を用い、試料注入量は 10~100 μl とした。分離にはイソクラティック溶離法と流量プログラミング法を用いた。APCI-MS、APCI-MS/MS 装置は、四重極質量分析計及び大気圧イオン化インターフェースを備えた TSQ-7000 (triple stage quadrupole, サーマコエスト製) を用いた。

2.3 非イオン界面活性剤標準試薬の EO 付加モル数分布の測定

非イオン界面活性剤標準試薬 (10-OPE) の EO 付加モル数分布を知るために、HPLC、APCI-MS を用いて検討を行った。HPLC 分析では、移動相の流量が異なると得られる標準試薬のピーク面積も異なるので、流量プログラミング法により分離した標準試薬の各ピーク面積からは、正確な EO 付加モル数分布を求めることはできない。そこで、イソクラティック溶離法を用いて標準試薬の EO 付加モル数分布を求めた。移動相にはメタノール、移動相の流量 1.0 ml/min、カラム温度は室温、UV 検出は 280 nm により行った。EO 付加モル数分布の測定は、得られた各ピークの面積を合計し、その

全ピーク面積を 100 として各ピークごとにその面積の割合を求めた。APCI-MS では、得られた各ピークの高さを合計し、その全ピーク高さを 100 として各ピークごとにその高さの割合を求めた。

2.4 UV 検出 HPLC と CTAS 法を併用した APE と AE の測定についての検討

CTAS 法では、POE 系非イオン界面活性剤内の EO 付加モル数が 3 以上のものが測定されるので、フェニル基を持った APE とフェニル基を持たない AE を区別して測定はできない。そこで、UV 検出 HPLC 分析法と併用することでそれぞれを同時に測定できないかを検討した。標準溶液は 10-POE と 25-DE をそれぞれメタノールに溶解し、10-POE と 25-DE の濃度比が 1:1, 2:1, 1:2 (20/20, 20/10, 10/20 $\mu\text{g}/\text{ml}$) になるように調整した 3 種類の混合溶液を用いた。HPLC 分析は、移動相にエタノールを用い、移動相の流量は流量プログラムにより、分析開始から 10 分までは 0.5 ml/min, 10~20 分の間は直線的に 2.0 ml/min まで流量を上げ、20~30 分までは 2.0 ml/min で分析した。濃度測定は HPLC により得られた全ピーク面積と下記で作成した検量線から求めた。分析に用いた CTAS 法は文献どおりであるが、安全性を考えてベンゼン抽出溶媒の代わりにジクロロエタンを用い、同様の標準試薬の濃度を検量線から求めた。

2.5 サンプルング

今回、測定した試料水は、都市排水の流入による影響が大きいと思われる目黒川の河口域及び高浜運河（東京都港区港南）に放出されている排水を、SPC ガラス瓶を用いて直接採水（1250 ml）した。採水後、GF/C（Whatman 製）で濾過し、直ちに Fig. 1 に示した前処理を行い、HPLC、APCI-MS、ESI-MS、及び CTAS 法により POE 系非イオン界面活性剤を測定した。

3 結果と考察

3.1 HPLC 測定条件の検討

3.1.1 溶離液の検討 TSK gel Carbon-500 を用いた UV 検出 HPLC による POE 系非イオン界面活性剤の分離に最適な溶離液の検討を行った。標準溶液は 10-OPE をメタノールに溶解し、400 $\mu\text{g}/\text{ml}$ に調整したものを用いた。溶離液には (A) メタノール, (B) アセトニトリル, (C) エタノールを選択し、イソクラティック溶離法を用い、移動相の流量 1.0 ml/min, カラムの温度は室温, UV 検出は波長 280 nm によりカラムの分離

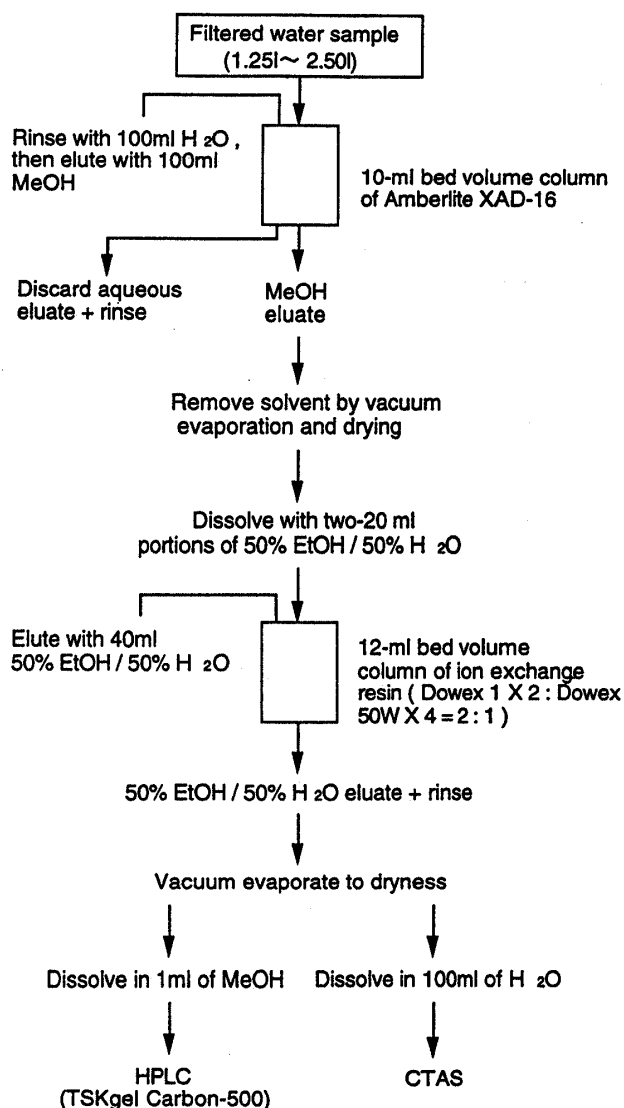


Fig. 1 Flow chart of analytical procedure

能を調べた。溶媒は $C < B < A$ の順に極性が高くなり、それに伴って EO 付加モル数の大きい OPE 分子の溶出が遅くなった。本研究では溶離液に、EO 付加モル数の異なるピークが十分に分離可能なエタノールを用いることとした。

3.1.2 移動相の流量の検討 良好な分離を示した溶離液としてエタノールを用いた場合の、POE 系非イオン界面活性剤の分離に最適な移動相の流量を検討した。3.1.1 と同様の標準溶液、分析条件下で、流量が (A) 0.5, (B) 1.0, (C) 2.0 ml/min の場合のカラムの分離能を調べた。流量 0.5 ml/min では、EO 付加モル数の違いによりピークがきれいに分離されたが、EO 付加モル数 15 のピークが検出されたのは試料注入から 50

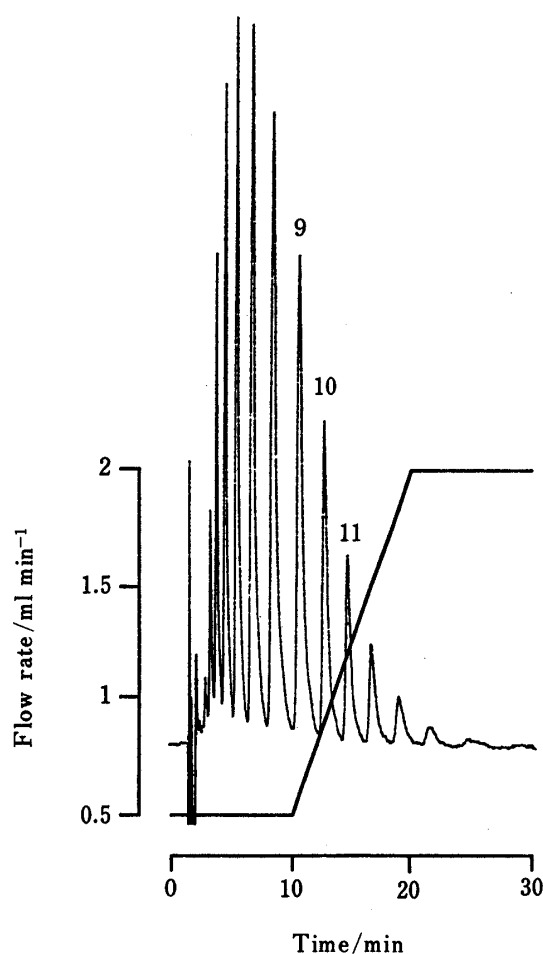


Fig. 2 Separation of polyethylene glycol mono-*p*-octylphenyl ether by HPLC on a carbon and/or graphitized carbon stationary phase

Sample: standard 10-OPE

分後だった。又、流量 2.0 ml/min では、試料注入から 20 分以内にすべてのピークが検出されたが、EO 付加モル数が 2 から 6 のピークの分離が不十分であった。従って、以降の HPLC 分析の流量は、分析開始から 10 分までは 0.5 ml/min、10～20 分の間は直線的に 2.0 ml/min まで流量を上げ、20～30 分までは 2.0 ml/min の流量プログラムによる流量プログラミング法を用いた。初めの流量を 0.5 ml/min にすることで、EO 付加モル数の小さいピークの分離を十分にし、終わりの流量を 2.0 ml/min にすることで 30 分以内にすべてのピークが検出されるようにした。この方法を用いることで Fig. 2 に示す良好な 10-OPE 標準溶液のクロマトグラムが得られた。

3・1・3 検量線の作成 10-OPE 標準溶液 (10～100 µg/ml) について、HPLC 分析を 3・1・2 の条件で行

い、全ピーク面積と濃度との関係を用いて検量線を作成した [全エリヤ = $2760 \times (\text{濃度: mg/ml}) + 10000$, 相関係数: 0.998]。なお、標準溶液の注入量は 20 µl で行った。同様の標準溶液 (5～40 µg/ml) について、CTAS 法により検量線を作成した。その結果、5～40 及び 10～100 µg/ml の範囲で十分な直線性を示した。なお、HPLC における定量下限は、1 µg/ml ($S/N=3$) であった。

3・2 試料前処理の検討

3・2・1 合成吸着剤 (XAD-16) 使用量の検討 環境水中の非イオン界面活性剤は一般的には 1 µg/ml 以下と濃度が低く、濃縮法の検討が必要である。そこで非イオン界面活性剤を吸着させるのに十分な XAD-16 の容量の検討を行った。XAD-16 をそれぞれ 4, 6, 8, 10 ml 詰めたガラスカラムに 100 µg/ml の 10-OPE 標準溶液 100 ml を、流量 2.0 ml/min で流し、OPE を吸着させた。そのカラムに超純水 50 ml を通してカラム内を洗浄した後、OPE を完全に溶出するために十分量のメタノール 200 ml を流量 2.0 ml/min で流し OPE を溶出した。溶出液を回転蒸発器を用いて乾固し、超純水 100 ml に置換した後、試料濃度を CTAS 法を用いて測定し、回収率を求めた。XAD-16 の容量と回収率の関係は、前者が 4, 6, 8, 10 ml のとき、後者はそれぞれ 70.8, 87.1, 92.7, 94.2% であった。この実験に使用した標準溶液の濃度は 100 µg/ml と高いので 94.2% でも十分な回収率であると考えた。本実験では XAD-16 の使用量を 10 ml に設定した。

3・2・2 溶出液 (メタノール) 使用量の検討

XAD-16 に吸着した化合物を溶出するのに適当なメタノールの使用量の検討を行った。XAD-16 を 10 ml 詰めたガラスカラムを用いて、3・2・1 と同様の処理を行い、試料濃度を CTAS 法を用いて測定し、回収率を求めた。メタノールの容量と回収率の関係は、前者が 20, 40, 60, 80, 100 ml のとき、後者はそれぞれ 29.4, 94.6, 98.9, 99.6, 99.6% であった。メタノールの容量が 80 と 100 ml の場合、回収率は変わらなかったが、使用量は念のため十分量の 100 ml にした。以上の結果から環境試料の前処理は Fig. 1 に示す工程で行った。なお、標準溶液 10-OPE を用い、CTAS 法で測定したこの前処理による超純水と河川水における添加回収実験の結果は、それぞれ 95.8% ($n=3$, $RSD=1.15\%$), 94.7% ($n=3$, $RSD=2.85\%$) で良好な値が得られた。同様に HPLC の分析による測定でも河川水における添加回収実験の結果は、84.7% ($n=3$, $RSD=3.7\%$) で

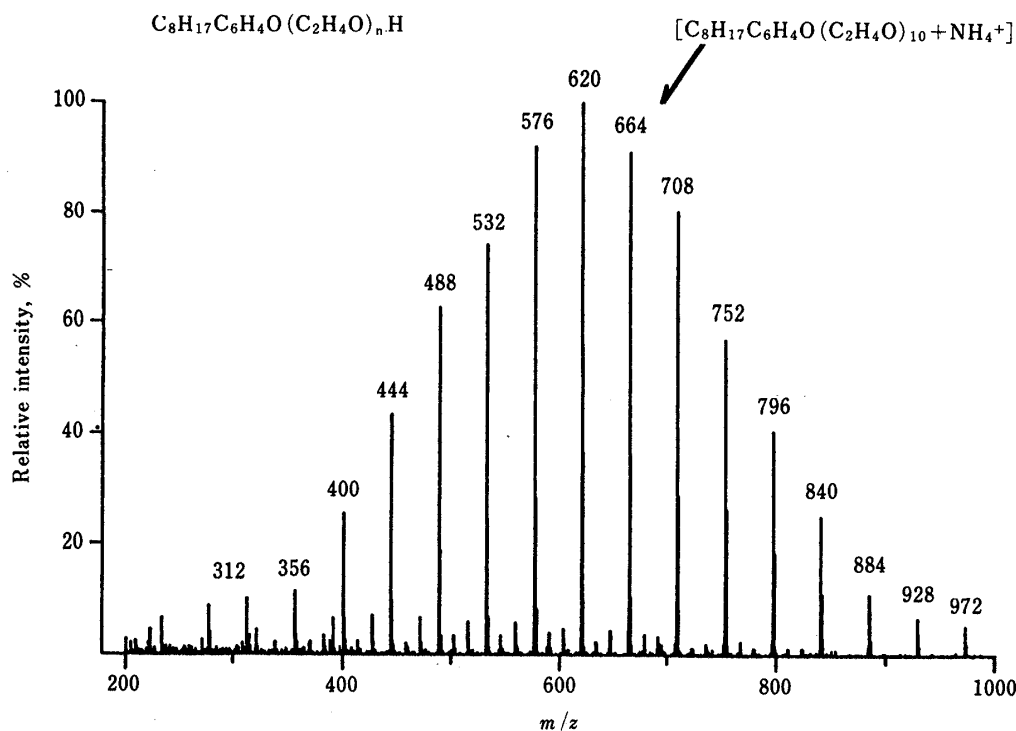


Fig. 3 APCI-MS spectrum of polyethylene glycol mono-*p*-octylphenyl ether
Capillary temperature: 150°C; Sheath gas: N₂; Sample: standard 10-OPE

良好な値が得られた。

3・3 APCI-MS, APCI-MS/MS による POE 系非イオン界面活性剤の分析条件と質量スペクトル

POE 系非イオン界面活性剤の標準溶液には 10-OPE を用いた。APCI-MS 分析の移動相には 10 mM 酢酸アンモニウムとメタノールが 1:1 の溶媒を用い、流量 200 μ l/min で送液した。移動相に酢酸アンモニウムを添加し、イオン化効率を上げることで APCI-MS/MS での分析が可能となった。分析条件は、APCI は、ネブライザー温度 450°C、シースガスとして N₂ (70 psi)、加熱キャピラリー温度 150°C で、MS/MS は、衝突ガスとして Ar (2 ml)、衝突エネルギーは -25 eV で行った。10-OPE の APCI-MS による質量スペクトルを Fig. 3 に示す。EO 付加モル数の違いにより $m/z=44$ ごとに質量分布している。Fig. 3 において $m/z=664$ は 10-OPE の NH₄ 付加イオンであり、 $m/z=620$, 708 はそれぞれ、9-OPE, 11-OPE の NH₄ 付加イオンである。 $m/z=664$ の APCI-MS/MS によるプロダクトイオン質量スペクトルを Fig. 4 に示す。検出された $m/z=89$, 133, 177, 221 は、ポリオキシエチレン基にプロトンが付加した [(C₂H₄O)_nH]⁺ の $n=2, 3, 4, 5$ である。

3・4 非イオン界面活性剤標準試薬の EO 付加モル数分布の測定

10-OPE の EO 付加モル数分布の測定結果を Table 1 に示す。HPLC と APCI-MS で得られた結果を比較すると、それぞれの EO 付加モル数の割合が非常によく一致しており、標準試薬である 10-OPE の EO 分布は EO 付加モル数 9 の割合が一番高いことが確認できた。それぞれの分析における EO 付加モル数 1 のピークと HPLC における EO 付加モル数 16, 17 のピークは検出されたが、定量限界以下であった。又、同様の標準試薬を用いた ESI-MS でも、同様の EO 付加モル数の分布が得られた。ESI-MS 分析の移動相には 10 mM 酢酸アンモニウムとメタノールが 1:1 の溶媒を用い、流量 1 μ l/min で送液した。分析条件は、ESI は加熱キャピラリー温度 250°C、ネブライザーガスとして N₂ (15 psi)、MS/MS は衝突ガスとして Ar (2 ml)、衝突エネルギーは -24 eV で行った。

3・5 UV 検出 HPLC 分析と CTAS 法を併用した APE と AE の測定についての検討

10-OPE と 25-DE の混合溶液を CTAS 法及び HPLC 分析を用いて測定したときの結果を Table 2 に示す。

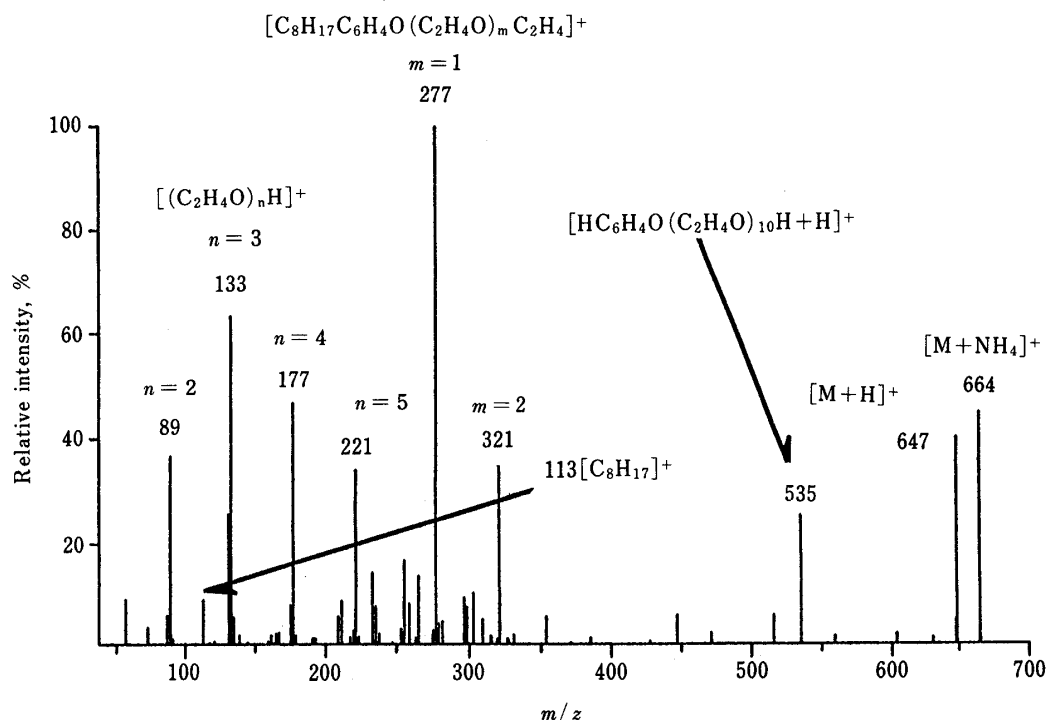


Fig. 4 APCI-MS/MS spectrum of $m/z = 664 [M+NH_4]^+$ from Fig. 3

Capillary temperature: 150°C; Sheath gas: N₂; Collision gas: Ar; Sample: standard 10-OPE

HPLC 分析により測定した混合溶液の濃度は分子内にフェニル基を持つ 10-OPE の濃度であり、その回収率は OPE/DE=1, 2, 1/2 のとき、それぞれ 99.5, 94, 101% で十分な回収率が得られた。一方、CTAS 法により測定された混合溶液の濃度は 10-OPE と 25-DE の全濃度である。そこで、CTAS 法で得られた全濃度 (10-OPE + 25-DE) から HPLC 分析により得られた 10-OPE の濃度を引いた値を 25-DE の濃度と見なし回収率を求めたところ、10-OPE と 25-DE の混合比が OPE/DE=1, 2, 1/2 のとき、それぞれ 140, 137, 137% であった。混合比による回収率の違いは見られなかったが、25-DE の回収率が大きく 100% を超えた。この理由は、CTAS 法において 10-OPE で作成した検量線を用いたためと考えられる。25-DE の平均 EO 付加モル数は 10-OPE の約 2.5 倍あるが、25-DE で作成した検量線の傾きは 10-OPE の約 1.32 倍であった。従って、25-DE の濃度を 10-OPE で作成した検量線で求めると実際の濃度よりも大きくなるはずである。しかし、環境中の非イオン界面活性剤は、生物分解を受けていると思われ、分子内の EO 付加モル数が 20 以上の活性剤は存在しにくいと考えられる。又、AE は APE よ

りも比較的生物分解されやすいことが報告⁷⁾⁸⁾されているので、環境中では残存しにくいと考えられる。更に、本研究で APCI-MS した環境試料からは EO 付加モル数が 15 以上のものは検出されなかった。以上のことから、10-OPE を標準試薬に用いた CTAS 法と UV 検出 HPLC 分析を併用することで、環境試料中の AE と APE をそれぞれ区別して定量できると考えた。

3・6 環境試料への応用

目黒川と高浜運河排水から採水した試料水 1250 ml を Fig. 1 に示す前処理により濃縮し、イオン性有機化合物の除去を行った後、CTAS 法による濃度測定及び HPLC による分離を行った。

はじめに、目黒川の試料水を HPLC 分析により分離した結果のクロマトグラムを Fig. 5(A) に示す。分析開始から 2 分 30 秒と 17 分 50 秒付近に大きなピークがそれぞれ検出された。そこで、マークを付けたピークが標準試薬のピークに一致するかどうかを確認するために同一の河川試料水 1250 ml に標準試薬 100 µg を添加し回収実験を行った。結果のクロマトグラムを Fig. 5(B) に示す。マークの付いたピークは標準試薬の EO

Table 1 Composition of polyethylene glycol mono-*p*-octylphenyl ether

Number of ethoxy units per molecule/ <i>n</i>	Relative composition(RC, %)	
	HPLC ^{a)}	APCI/MS ^{b)}
1	—	—
2	0.3	1.4
3	1.4	1.5
4	4.0	3.5
5	6.7	5.9
6	9.4	8.5
7	11.8	10.1
8	13.5	12.5
9	13.5	13.6
10	12.2	12.4
11	10.1	10.9
12	7.6	7.7
13	4.7	5.5
14	3.1	3.4
15	1.6	1.5
16	—	0.9
17	—	0.7

a) Calculated with the formula: $RC_n = 100 \times A_n / A_t$, where RC_n is the relative composition of the oligomer, A_n : peak area, A_t : total peak area from oligomer 2 to 15; b) Calculated with the formula: $RC_n = 100 \times H_n / H_t$, where RC_n is the relative composition of the oligomer, H_n : peak height, H_t : total peak height from oligomer 2 to 17.

Table 2 Concentration of standard 10-OPE and 25-DE measured by CTAS and HPLC

Compounds mixing ratio OPE+DE ^{a)}	Concentration			
	OPE+DE ^{b)}	OPE ^{c)}	DE ^{d)}	
	Mean(<i>n</i> =2)	Mean(<i>n</i> =3)	RSD	Mean(<i>n</i> =2)
1	48.1 µg/ml	20.5 µg/ml	1.23%	27.6 µg/ml
2	32.4	18.6	0.19	13.8
0.5	37.6	10.0	0.15	27.6

a) 20/20, 20/10, 10/20 µg/ml; b) measured by CTAS; c) measured by HPLC; d) concentration of DE obtained from b-c

付加モル数 12 にほぼ一致した。なお, 検出されたピークのうちに, 計算可能な EO 付加モル数 4 から 13 までのピークの全面積から計算したときの回収率は 137%であった。そこで, マークの付いたピークが POE 系非イオン界面活性剤であるかどうかを確認するために, このピークのフラクションを分画濃縮後, APCI-MS により測定した。得られた質量スペクトルを Fig. 6 に示す。

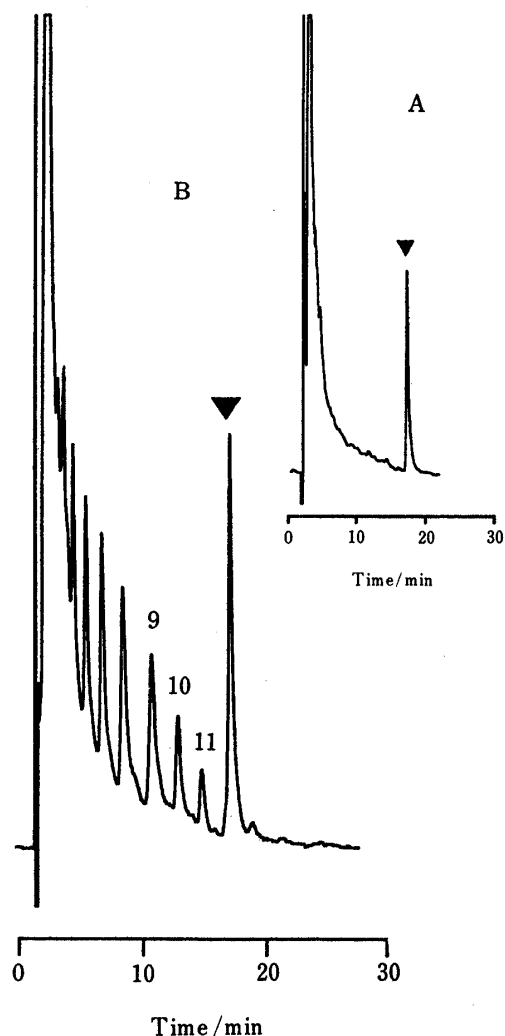


Fig. 5 HPLC chromatograms of river water sample

(A) HPLC chromatogram of nonionic compounds from river water. (B) River water containing standard of polyethylene glycol mono-*p*-octylphenyl ether.

試料中の主要な物質が (■) で示した $m/z=74$ ごとに質量分布している化合物であることが確認できた。この結果から, マークの付いたピークは標準試薬の EO 付加モル数 12 ではないことが分かった。このように, 環境試料において UV 検出 HPLC 分析法により検出されたピークは, MS による同定が必要である。なお, この化合物はグリシドール (M. W.=74) のポリマーであるポリグリシジルを持った非イオン界面活性剤であると思われる。

次に, 高浜運河排水の試料水を HPLC により分離した結果のクロマトグラムを Fig. 7(A) に示す。分析開

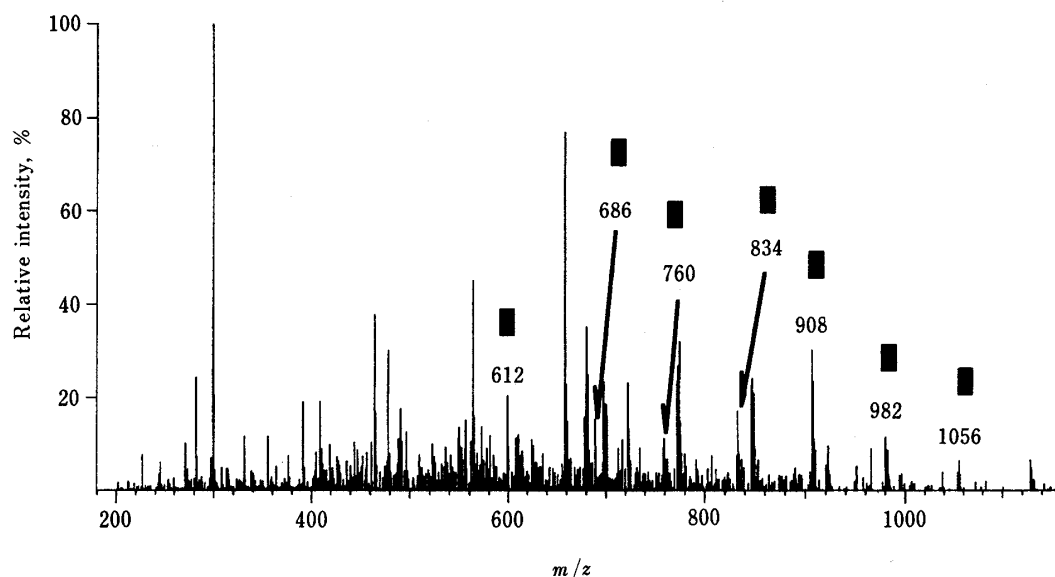


Fig. 6 APCI-MS spectrum of noninonic compounds from the Meguro River

Capillary temperature: 150°C; Ssheath gas: N₂; Sample: the river water collected at the Meguro River; Peaks identification: (■) polyglycidyl

始 2 分後から 10 分後の間に、分離が不十分である非常に大きなピークが検出された。又、10～30 分の間に幾つかのピークが検出された。そこで、これらのピークが 10-OPE 標準試薬のピークに一致するかどうかを確認するために、同一の試料水 1250 ml に標準試薬 20 µg を添加し HPLC 分析を行った。得られたクロマトグラムを Fig. 7(B) に示す。Fig. 7(A) と Fig. 7(B) で検出されているピークをそれぞれ比較すると、Fig. 7(B) において、標準試薬の EO 付加モル数 9, 10, 11, 12, 13, 14 に相当するピークが、Fig. 7(A) で検出されたピークと一致していることが確認できた。又、Fig. 7(B) で検出されたピークのうちに、計算可能な EO 付加モル数 6 から 14 までのピークの全面積から計算したときの回収率は 126% であった。そこで、マークの付いたピークが POE 系非イオン界面活性剤であるかどうかを確認するために、Fig. 7(A) のクロマトグラムを三つのフラクションに分け、それぞれのフラクション 1, 2, 3 を分画濃縮後、ESI-MS により同定分析した。結果の質量スペクトルを Fig. 8 に示す。Fig. 8(A), (B), (C) は、それぞれフラクション 1, 2, 3 の質量スペクトルである。Fig. 8(A) から、フラクション 1 の主な物質が $m/z=44$ ごとに質量分布している (▼) で示した OPE であることが分かった。 $m/z=444, 488, 532, 576$ は、それぞれ 5, 6, 7, 8-OPE の NH₄ 付加イオンに相当す

る。同様に Fig. 8(B) 及び (C) から、フラクション 2 には、質量数 $m/z=620, 664, 708$ である、9-OPE, 10-OPE, 11-OPE の NH₄ 付加イオンが存在し、フラクション 3 には、質量数 $m/z=752, 796, 840$ である、12-OPE, 13-OPE, 14-OPE の NH₄ 付加イオンが存在することが確認できた。更に、 $m/z=708$ が 11-OPE の NH₄ 付加イオンかどうかを確認するために $m/z=708$ の MS/MS の測定を行った結果、質量スペクトルには、 $m/z=89, 133, 177$ があり、パターンも標準溶液の 10-OPE の APCI-MS/MS の質量スペクトル (Fig. 4) と同様であることから 11-OPE であることが示唆された。又、フラクション 3 には (■) で示したポリグリシジル系界面活性剤³²⁾が存在することが分かった。このグリシジルは、目黒川で検出されているグリシジルの質量数と一致しており、更に HPLC 分析によるクロマトグラム (Figs. 6, 8) で検出されたピーク (▼) の保持時間もほぼ一致していた。なお、各フラクションの MS からは AE に相当するピークは同定できなかった。次に、目黒川及び高浜運河排水における CTAS 法及び HPLC 分析による濃度測定の結果を Table 3 に示す。なお、HPLC 分析による濃度測定は Fig. 5(A) 及び Fig. 7(A) に示したクロマトグラムにおいて、それぞれ検出された各ピーク面積の和より検量線を用いて濃度を計算した。

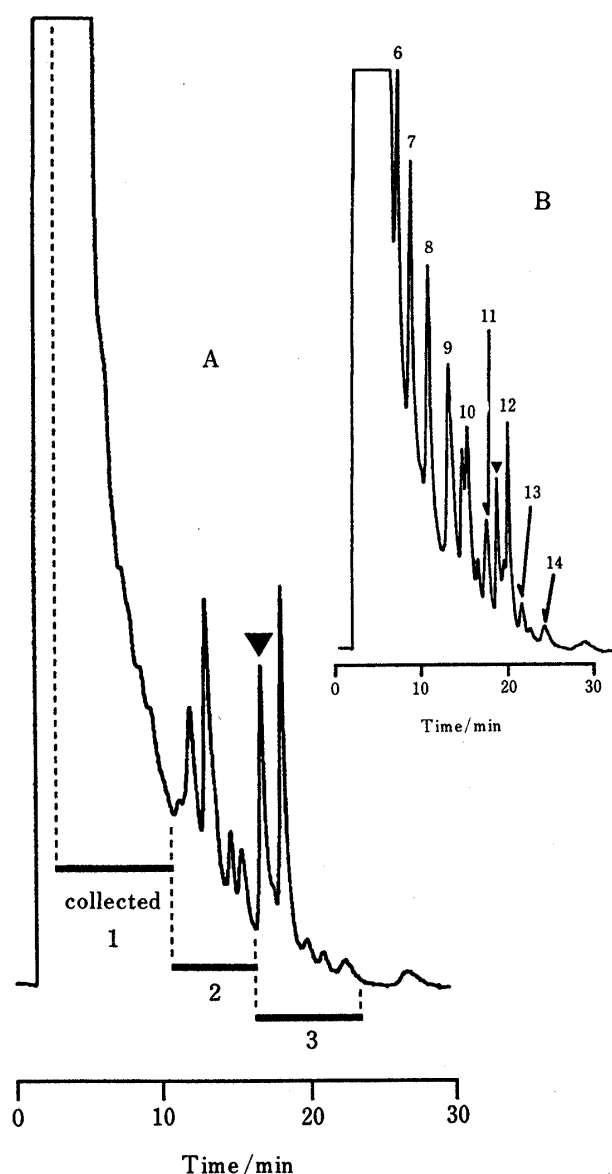


Fig. 7 HPLC chromatograms of effluent from secondary treatment plant

(A) HPLC chromatogram of nonionic compounds from effluent. (B) Effluent containing standard of polyethylene glycol mono-*p*-octylphenyl ether

以上のように, カーボンカラムを用いることで POE 系非イオン界面活性剤を容易に分離できることが分かった. 又, UV 検出 HPLC 分析と CTAS 法を併用することで毒性の異なる AE と APE をそれぞれ区別して濃度推定することができた. 更に, APCI-MS, APCI-MS/MS による非イオン界面活性剤の分析では, ESI-MS よりも高分子側に多くのピークが測定され, 環境分野における非イオン界面活性剤の検索・分析に有利であ

Table 3 Concentration of nonionic surfactant in the Meguro River water and effluent samples

Sampe	Concentration/ $\mu\text{g l}^{-1}$		
	APE+AE ^{a)}	APE ^{b)}	AE ^{c)}
Meguro river water	139	64.3	74.7
Effluent ^{d)}	115	10.5	105

a) measured by CTAS; b) measured by HPLC; c) concentration of AE obtained from a-b; d) effluent from secondary treatment plant.

ることが示された. 今回 HPLC により分離した環境試料のフラクションを APCI-MS で定性分析した結果, POE 系非イオン界面活性剤のほかにも $m/z=74$ の質量分布を持つ非イオン界面活性剤のピークが確認された.

近年, 新しい非イオン界面活性剤が環境中に排出されていると考えられるので, UV 検出 HPLC 法により検出されたピークに関しては必要に応じて MS による同定が必要であると思われる.

文 献

- 1) M. Ahel, W. Giger, M. Koch: *Water Res.*, **28**, 1131 (1994).
- 2) M. Ahel, W. Giger, C. Schaffner: *Water Res.*, **28**, 1143 (1994).
- 3) K. A. Evans, S. T. Dubey, L. Kravetz, I. Dzidic, J. Gumulka, R. Mueller, J. R. Stork: *Anal. Chem.*, **66**, 699 (1994).
- 4) 刈米孝夫: “新版界面活性剤分析法”, 界面活性剤分析法研究会編, p. 324 (1987), (幸書房).
- 5) 三浦恭之, 鈴木裕子, 長谷井真人, 康智三: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **38**, T15 (1989).
- 6) K. Yoshimura: *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **63**, 1590 (1986).
- 7) 伊藤伸一, 内藤昭治, 畝本 力: 衛生化学, **33**, 415 (1987).
- 8) 伊藤伸一, 内藤昭治, 畝本 力: 衛生化学, **34**, 414 (1988).
- 9) A. D. Corcia, R. Samperi, A. Marcomini: *Environ. Sci. Technol.*, **28**, 850 (1994).
- 10) 中村 淳, 松本 勲: 日本化学会誌, **1975**, 1342.
- 11) 小林規矩夫, 沼田 一: 全国公害研究誌, **6**, 58 (1980).
- 12) M. Ahel, W. Giger: *Anal. Chem.*, **57**, 1577 (1985).
- 13) M. Ahel, W. Giger: *Anal. Chem.*, **57**, 2584 (1985).
- 14) 磯 節子, 中村 忠, 内原 博, 池田昌彦: 環境化学, **3**, 231 (1993).
- 15) M. J. Scarlett, J. A. Fisher, H. Zhang, M. Ronan: *Water Res.*, **28**, 2109 (1994).
- 16) F. Kawai, T. Kimura, M. Fukaya, Y. Tani, K.

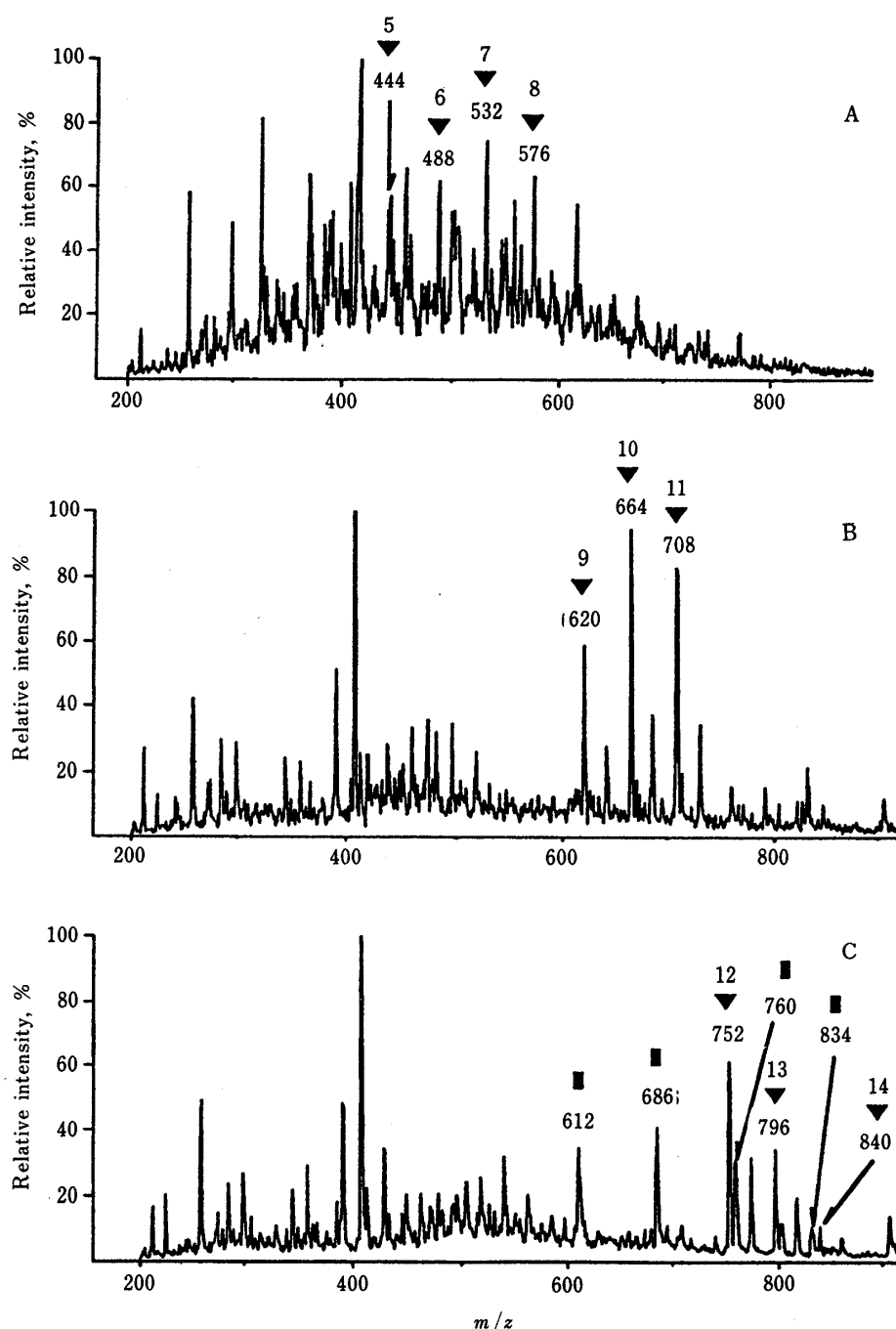


Fig. 8 ESI-MS spectra of nonionic compounds from effluent from secondary treatment plant: (A) fraction 1, (B) fraction 2, (C) fraction 3

Capillary temperature: 250°C; Nebulizer gas: N₂; Peaks identification: (▼) polyethylene glycol octylphenyl ether, (■) polyglycidyl

- Ogata, T. Ueno, H. Fukami: *Appl. Environ. Microbiol.*, **35**, 679 (1978).
- 17) L. S. Sheldon, R. A. Hites: *Environ. Sci. Technol.*, **12**, 1188 (1978).
- 18) W. Giger, E. Stephanou, C. Schaffner: *Chemosphere*, **10**, 1253 (1981).
- 19) M. Reinhard, N. Goodman, K. E. Mortelmans: *Environ. Sci. Technol.*, **16**, 351 (1982).
- 20) L. Kravetz, J. P. Salanitro, P. B. Dorn, K. F. Guin: *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **68**, 610 (1991).
- 21) A. Otsuki, H. Shiraishi: *Anal. Chem.*, **51**, 2329 (1979).

- 22) H. Shiraishi, A. Otsuki, K. Fuwa: *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **55**, 1410 (1982).
- 23) R. P. Lattimer: *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes*, **55**, 221 (1983/1984).
- 24) F. Ventura, J. Caixach, A. Figueras, I. Espadaler, D. Fraisse, J. Rivera: *Water Res.*, **23**, 1191 (1989).
- 25) F. Ventura, J. Caixach, J. Romero, I. Espadaler, J. Rivera: *Water Sci. Technol.*, **25**, 257 (1992).
- 26) C. Crescenzi, A. Di Corcia, R. Samperi, A. Marcomini: *Anal. Chem.*, **67**, 1797 (1995).
- 27) S. Pattanaargsorn, P. Sangvanich, A. Petsom, S. Roengsumran: *Analyst* (London), **120**, 1573 (1995).
- 28) R. D. Smith, H. R. Udseth: *Anal. Chem.*, **59**, 13 (1987).
- 29) A. Marcomini, M. Zanette: *J. Chromatogr. A*, **733**, 193 (1996).
- 30) D. R. Green, D. L. Pape: *Anal. Chem.*, **59**, 699 (1987).
- 31) 刈米孝夫: “新版界面活性剤分析法”, 界面活性剤分析法研究会編, p. 98 (1987), (幸書房).
- 32) T. Yamagishi, S. Hashimoto, A. Otsuki: *Environ. Toxicol. Chem.*, to be submitted.
- 33) 小林 勇: ぶんせき (*Bunseki*), **1995**, 123.

要 旨

環境水をガラス瓶で採水し, 試料水に含まれている界面活性剤を XAD-16 カラムに濃縮した. メタノール溶出後, 溶出液を 50% エタノールに置換し, 陰陽イオン交換樹脂カラムを用いて試料中のイオン性界面活性剤を除去した. 溶出液を超純水に置換した後, チオシアン酸コバルト法で非イオン界面活性剤の測定を行った. 更に, カーボンカラム TSK gel Carbon-500 (10 cm×4.6 mm, i.d.) と溶離液メタノールによる HPLC 分離後, 大気圧化学イオン化質量分析法 (APCI-MS), APCI-MS/MS による同定を行った. カーボンカラムを用いることで非イオン界面活性剤を, エチレンオキサイドの付加モル数の違いにより容易に分離できることを見いだした. 高浜運河排水試料中に含まれる主な非イオン界面活性剤は, ポリオキシエチレンオクチルフェニルエーテルであり, エチレンオキサイドの付加モル数が 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 であることが本法によって確認できた. 又, APCI-MS により, 従来報告のなかった新しい非イオン界面活性剤を環境水中から見いだした.