環境水中の微量オクチルフェノールエトキシレート一斉分析

田原るり子

地方独立行政法人北海道立総合研究機構 環境・地質研究本部 環境科学研究センター
(〒060-0819 北海道札幌市北区北19条西12丁目)

[平成26年9月16日受付, 平成27年1月27日受理]

Determination of Traces of Poly(oxyethylene)octylphenyl ether in Environmental Water

Ruriko TAHARA

Hokkaido Research Organization, Environmental and Geological Research Department,
Institute of Environmental Sciences
(Kita 19, Nishi 12, Kita, Sapporo, Hokkaido 060-0819)

[Received September 16, 2014; Accepted January 27, 2015]

Summary

A highly sensitive method for the quantification of poly(oxyethylene)octylphenyl ether homologues (OPEs, where OPE n is an OPE homologue with n ethoxy units), which are nonionic surfactants, in environmental water has been developed using solid phase extraction (SPE) and liquid chromatography tandem-mass spectrometry (LC/MS/MS).

Methanol was added to environmental water samples as a preservative in 10% v/v concentration. The water samples were passed through a preconditioned SPE cartridge (EDS-1) to collect the OPEs, which were then eluted from the cartridge using a mixed solvent of methanol and ethyl acetate (1:1, v/v). The eluate was concentrated and dissolved in a mixed solvent of methanol and deionized water (Milli-Q) (1:1, v/v). The OPEs in the prepared solutions were then analyzed by LS/MS/MS.

The method detection limits (MDLs) for the detection of OPEs range from 0.17 ng/L for OPE5, to 2.0 ng/L for OPE1. The MDL of total OPEs is 6.1 ng/L, which was obtained by adding all the individual MDL values. The method quantification limits (MQLs) for quantification of OPEs range from 0.42 ng/L for OPE5, to 5.2 ng/L for OPE1. The MQL of total OPEs is 17 ng/L. The average recovery of OPEs in water samples ranged from 78% to 100% (c.v. 1.2-10%). The MQL of total OPEs was below the predicted “no effect” concentration used by the Ministry of the Environment, Government of Japan, for the initial assessment of ecological risk. In samples from Hokkaido, the OPEs in seawater were below the MQL and those in river water below the MDL when using this method.

Key words: Poly(oxyethylene)octylphenyl ether, LC/MS/MS, solid phase extraction

1. はじめに

オクチルフェノールエトキシレート (OPEs, エチレンオキシドの付加モル数が n のものは OPE n と表記) はポリ (オキシエチレン) = オクチルフェニルエーテルの別名で, 界面活性剤として様々な用途に使用されている。一般的な製品におけるエチレンオキシドの付加モル数は9から10で¹⁾, 2012年度におけるこの物質の製造・輸入量は, ポリオキシアリキレン (C = 2 ~ 4, 8) モノ [アルキル又はアルケニル (C = 1 ~ 18) フェニル] エーテル (n = 1 ~ 150) として, 1000 ~ 2000 t 未満である²⁾。2012年度における環境への排出量は約510 t と推定されており³⁾, 洗浄剤・化粧品等に使用されたものが約360 t 排出され, この用途の中では肥料に使用されたものが最も多かった。また, 農薬としても約150 t 排出されており, これは畑作に使用されたものが最も多かった³⁾。なお, PRTR 制度

では肥料は洗浄剤・化粧品等として扱われている。独立行政法人製品評価技術基盤機構及び財団法人 化学物質評価研究機構の行った初期リスク評価では, OPEs は経口経路の暴露に対してはヒト健康に悪影響を及ぼすことはないと判断されたが, 環境中の水生生物に悪影響を及ぼす可能性があるため詳細な調査・解析, 評価が必要とされている¹⁾。OPEs はエチレンオキシドの付加モル数によって毒性や環境中での挙動が異なることが予想され, 今後 OPEs の環境へのリスクを評価するために, OPEs をエチレンオキシドの付加モル数ごとに高感度で分析する方法の確立が望まれている。

OPEs が含まれる非イオン系界面活性剤の分析法としては, 非イオン界面活性剤としてテトラチオシアナトコバルト (II) 酸吸光度法⁴⁾, 固相抽出-吸光度法及び固相抽出-高速液体クロマトグラフ法 (HPLC)⁵⁾, ポリオキシエチレン型非イオン界面活性剤として臭化水素酸と反応させ生じた臭化エチレンを GC/MS で測定する方

法⁶⁾等があるが、いずれも非イオン界面活性剤の総量として定量するものであり、OPEsの定量値を得ることができない。そこで、環境水中のOPEsのうちOPE1～OPE10を固相抽出法で捕集・濃縮し、LC/MS/MS-ESI-positiveで高感度に分析する方法を開発した。

2. 実験

2. 1 試薬

OPEsの標準としてOPE MIX-X (OPE1～OPE10各100 µg/mLのメタノール溶液)を、内標準として4-*tert*-Octylphenol-diethoxylate-¹³C₆標準品 (10 µg/mL アセトン溶液) (いずれも林純薬工業、大阪)をそれぞれメタノールで希釈したものを使用した。

メタノール、超純水はLC/MS用、酢酸エチルはPCB分析用5000倍濃縮、1 mol/L 酢酸アンモニウム溶液はHPLC用 (いずれも和光純薬工業、大阪)を使用した。精製水はMilli-Q gradient A10 (Merck Millipore, Darmstadt, Germany)で精製したものを用了。

2. 2 器具及び測定装置

使用する器具は主にガラス製のものを、理化学用洗剤で洗浄、濃硝酸を水道水で2倍希釈したものに一晩浸し、水道水及び蒸留水で順次すすぎ、使用前にメタノールで洗浄したものを使用した。水質試料の固相抽出にはAutoprep EDS-1 (充填材量250 mg, 以下“EDS-1”と表記、昭和電工、東京)を使用し、固相カートリッジへの通水はVisiprep (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO)を用い吸引通水で対象物質を捕集した。溶出溶液の濃縮は窒素吹付装置を用い、窒素気流下で行った。測定には1200/6410 Triple Quad (Agilent Technologies, Santa Clara, CA)を使用した。分析カラムにはInertsil Ph-3 HP (長さ15 cm, 内径2.1 mm, 粒径3 mm) (ジエールサイエンス、東京)を用い、定量は全てESI-Positive-Selected reaction monitoring (SRM) モードで行った。測定条件をTable 1及びTable 2に示す。各OPE同族体のアンモニウムイオン付加体([M+NH₄]⁺)をSRM分析のプレカーサーイオンとし、Table 2に示すモニターイオンのうち、最も高感度であった最上段のもので定量

し、その他のものを確認イオンに用いた。

2. 3 分析方法

メタノール20 mLを含む試料220 mLを、それぞれ10 mLずつの酢酸エチル：メタノール (1 : 1) 混合溶媒、メタノール、超純水の順でコンディショニングした固相カートリッジに通水した。通水終了後、試料容器内壁を超純水5 mLで洗浄し、この洗液をカートリッジに通した。この洗浄操作は3回繰り返した。その後、試料容器内壁をメタノール：精製水 (1 : 1, v/v) 5 mLで洗浄し、この洗液でカートリッジを洗浄した。遠心分離 (3000 rpm, 5分間)で脱水後、メタノール：酢酸エチル (1 : 1, v/v) 10 mLで溶出し、溶出液は40℃以下で窒素気流により0.5 mL未満まで濃縮後、メタノール：精製水 (1 : 1, v/v) で1 mLに定容した。この溶液に内標準液 (500 ng/mL) をマイクロシリンジで4.00 µL添加し測定用試料液とした。

3. 結果及び考察

3. 1 分析法の定量性とその評価

3. 1. 1 検量線及び装置検出下限、分析法の検出下限、定量下限

検量線作成用に、各OPE同族体の濃度が0.1, 0.2, 0.5, 1, 2, 5, 10, 20及び50 ng/mLになるように混合標準溶液を調製した。各物質の濃度が1 ng/mLである標準溶液のクロマトグラムをFig. 1-1及びFig. 1-2に示す。検量線は後述する各OPE同族体の装置検出下限 (IDL) を超える最低濃度を検量線の最低濃度とし、各OPE同族体と内標物質のピーク面積値の比から作成した。その検量線は、OPE1は0.2～50 ng/mL、その他は0.1～50 ng/mLにおいて、決定係数 r^2 が0.9983～0.9998の良好な直線性を示した。また、「化学物質環境実態調査の手引き」⁷⁾に記載される方法に基づき、IDLは上述の検量線作成用標準混合溶液のうち、各OPE同族体についてS/N比10に最も近いピークを得られる濃度の標準溶液を7回繰り返し測定し、その標準偏差にStudentのt分布における片側危険率5%の値を乗じ、その値を2倍することで算出した。各OPE同族体のIDLをTable 3に示す。

各OPE同族体のIDLの値はそれぞれ異なっており、エチレンオキシドの付加モル数との間に特徴的な傾向はみられなかった。この要因として①プレカーサーイオンである[M+NH₄]⁺の生成効率の違いと②プロダクトイオンの化学種、その生成効率及びその感度の違いがあると考えられる。①について、OPE2とOPE7を例にして考察する。Fig. 2-1及びFig. 2-2の上段にOPE2及びOPE7のマスペクトルをそれぞれ示す。それぞれのマスペクトルから、最初のMSにおいてOPE2では[M+NH₄]⁺のほかに[C₆H₅(OCH₂CH₂)₂OH+H]⁺と考えられる m/z 183.1のフラグメントイオンが生成しており、その強度は[M+NH₄]⁺の約1/5である。一方OPE7では、[M+NH₄]⁺のほかに多くのフラグメントイオンが生成し、[M+NH₄]⁺の次に大きい強度を示す[C₈H₁₇C₆H₄(OCH₂CH₂)₂OCH=CH₂+H]⁺由来と報告されている m/z 337.0のイオンは[M+NH₄]⁺の約2/5の強度を示す⁸⁾。このようにプレカーサーイオンにしたイオンが生成する効率が同族体によって異なっていると考えられる。②についてはOPE1ではオクチル基に由来するプロダクトイオン、OPE2, OPE3, OPE4, OPE5ではプレカーサーイオンからアンモニアとオクチル基が脱離した[C₆H₅(OCH₂CH₂)_nOH+H]⁺のほか、[C₆H₅OCH=CH₂+H]⁺由来と報告されている m/z 121.1及び[C₆H₅OCH₂CH₂OCH=CH₂+H]⁺に由来すると報告されている m/z 165.1のプロダクトイオンが生成する⁸⁾。OPE6では[M+H]⁺、[C₆H₅(OCH₂CH₂)₆OH+H]⁺のほか、エチレ

Table 1 Operating conditions of LC/MS/MS

LC conditions (Agilent 1200)	
Column temperature : 40 °C	
Mobile phase and flow rate :	
A) 10 mM aqueous ammonium acetate,	
B) methanol	
0 → 20 min	B : 65→85% (0.2 mL/min)
20 →20.1 min	B : 85→100% (0.2→0.5 mL/min)
20.1→31.4 min	B : 100% (0.5 mL/min)
31.4→31.5 min	B : 100→65% (0.5→0.35 mL/min)
31.5→46.4 min	B : 65% (0.35 mL/min)
Injection volume : 10 µL	
MS conditions (Agilent 6410 Triple Quad)	
Ionization mode : ESI-Positive	
Capillary voltage : 4000 V	
Gas temperature : 350 °C	
Gas flow : 10 L/min	
Nebulizer : 50 psi	
Selected reaction monitoring (SRM) ion transition:	
listed in Table 2	

ンオキシドの三量体に由来するプロダクトイオンが生成する⁸⁾。OPE 7よりも分子量が大きいもののプロダクトイオンはエチレンオキシドの二量体又はエチレンオキシドの三量体に由来したものと考えられるもののほか⁸⁾, $[\text{C}_8\text{H}_{17}\text{C}_6\text{H}_4(\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}=\text{CH}_2)+\text{H}]^+$ に由来すると報告されている m/z 277のものがある⁸⁾。また, OPE 8では *tert*-ブチルカチオンに由来するプロダクトイオンが生成している。なお, m/z 121及び165のイオンについては $[\text{C}_3\text{H}_7\text{C}_6\text{H}_5+\text{H}]^+$ 及び $[\text{C}_3\text{H}_7\text{C}_6\text{H}_4\text{OCH}_2\text{CH}_3+\text{H}]^+$ に由来するもの, m/z 277のイオンについては $[\text{C}_8\text{H}_{17}\text{C}_6\text{H}_4(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_2]^+$ に由来するという報告もある⁹⁾。Fig. 2-1及び Fig. 2-2の下段に示す OPE 2 及び OPE 7 のタンデムマスペクトルから, OPE 2 及び OPE 7 のプレカーサーイオンから生成するプロダクトイオンの数は異なっていることがわかる。各プレカーサーイオンから生成するプロダクトイオンの数は同族体によって異なり, さらにこれらのプロダクトイオンの生成効率及びその感度はそれぞれのプロダクトイオンで異なっていると考えられる。各 OPE 同族体の IDL の違いの要因とその寄与の大きさを全て明らかにすることは困難であるが, ①及び②はその要因であると考え

えられる。

分析法検出下限 (MDL) 及び分析法定量下限 (MQL) は, 石狩川で採取し OPEs が検出されなかった河川水に各 OPE 同族体の濃度が0.650, 2.25及び6.50 ng/L になるように混合標準溶液を添加したものを2.3の方法で前処理し ($n = 7$), 試料水中の濃度が IDL の5倍に最も近い試料の測定値の標準偏差を用いて算出した。MDL は IDL と同様に算出し, MQL は測定値の標準偏差を10倍することで算出した。なお, MDL については, 測定値の標準偏差に t 分布における片側危険率1%の値を乗じて算出する方法がアメリカ合衆国環境保護庁により示されている¹⁰⁾。繰り返し回数が7の場合に測定値の標準偏差に乘じる値は, 「化学物質環境実態調査の手引き」⁷⁾では3.886であり, アメリカ合衆国環境保護庁により示された方法では3.143である。各 OPE 同族体の MDL 及び MQL を Table 4 に示す。各 OPE 同族体の MDL は0.17 ~ 2.0 ng/L, 総 OPEs の MDL は6.1 ng/L, 各 OPE 同族体の MQL は0.42 ~ 5.2 ng/L, 総 OPEs の MQL は17 ng/Lであった。環境省による初期リスク評価では, OPEs の水生生物に対する予測無影響濃度として, 藻類の急性毒性

Table 2 Selected reaction monitoring (SRM) ion transitions and MS conditions for OPE determination

Compound ^a	Ion sets in SRM determination confirmation (m/z)	Fragmentor (V)	Collision energy (V)
OPE1	268.2 > 113.1	85	0
	268.2 > 57.1		8
OPE2	312.2 > 183.1	105	3
	312.2 > 121.1		6
OPE3	356.3 > 227.1	105	8
	356.3 > 165.1		15
	356.3 > 121.1		24
OPE4	400.3 > 271.2	110	10
	400.3 > 121.1		25
	400.3 > 165.1		20
OPE5	444.3 > 315.2	120	12
	444.3 > 121.1		28
OPE6	488.4 > 471.3	130	10
	488.4 > 359.2		15
	488.4 > 133.1		20
OPE7	532.4 > 89.0	145	28
	532.4 > 277.0		24
	532.4 > 133.1		21
OPE8	576.4 > 57.1	150	8
	576.4 > 277.0		24
	576.4 > 133.1		24
OPE9	620.4 > 89.1	150	32
	620.4 > 133.1		24
	620.4 > 277.2		24
OPE10	664.5 > 89.1	160	36
	664.5 > 133.1		24
	664.5 > 277.2		27
OPE2- ¹³ C ₆	318.0 > 189.0	95	4
(Syringe spike)	318.0 > 127.0		6

^a OPE_{*n*} is a poly(oxyethylene)octylphenyl ether homologue with *n* ethoxy units.

Fig. 1-1 Selected reaction monitoring chromatograms of 1 ng/mL standard solution (OPE1 ~ OPE5)

Fig. 1-2 Selected reaction monitoring chromatograms of 1 ng/mL standard solution (OPE6 ~ OPE10)

Table 3 Determination of the instrumental detection limits of OPEs

Compound ^a	Concentration of standard sample (ng/mL)	Average of quantified values ^b (ng/mL)	Standard deviation (ng/mL)	IDL ^c (pg)
OPE1	1.00	0.9888	0.0657	2.6
OPE2	0.100	0.1000	0.00729	0.28
OPE3	0.100	0.09034	0.00378	0.15
OPE4	0.500	0.5272	0.0334	1.3
OPE5	0.100	0.08442	0.00375	0.15
OPE6	0.200	0.1595	0.0130	0.51
OPE7	0.500	0.4849	0.0223	0.87
OPE8	0.150	0.1471	0.0158	0.61
OPE9	0.400	0.4514	0.0333	1.3
OPE10	0.400	0.4161	0.0161	0.63

Injection volume: 10 μ L

^a OPE n is a poly(oxyethylene)octylphenyl ether homologue with n ethoxy units.

^b The average quantified concentration of the standard samples ($n = 7$).

^c Instrumental detection limit (IDL) = 1.943 (t -test value; $t(n-1, 0.05)$) $\times$ standard deviation of the quantified value $\times 2$

Fig. 2-1 Mass spectrum and tandem mass spectrum of OPE2
Top: mass spectrum; bottom: tandem mass spectrum

Fig. 2-2 Mass spectrum and tandem mass spectrum of OPE7
Top: mass spectrum; bottom: tandem mass spectrum

Table 4 Method detection limits and method quantification limits of OPEs

Compound ^a	Spiked amount (ng)	Concentration in prepared river water (ng/L)	Average of quantified values ^b (ng/L)	Standard deviation (ng/L)	MDL ^c (ng/L)	MQL ^d (ng/L)
OPE1	1.30	6.50	5.432	0.524	2.0	5.2
OPE2	0.130	0.650	0.5501	0.0458	0.18	0.46
OPE3	0.130	0.650	0.6885	0.0557	0.22	0.56
OPE4	0.450	2.25	2.333	0.124	0.49	1.2
OPE5	0.130	0.650	0.5702	0.0424	0.17	0.42
OPE6	0.450	2.25	2.392	0.145	0.57	1.5
OPE7	0.450	2.25	2.490	0.184	0.72	1.8
OPE8	0.450	2.25	2.615	0.122	0.47	1.2
OPE9	0.450	2.25	2.596	0.200	0.78	2.0
OPE10	0.450	2.25	2.574	0.127	0.49	1.3

All the OPEs were below the method detection limit.

Volume of sample: 200 mL without methanol; Volume of prepared sample: 1 mL; Injection volume: 10 μ L

^a OPE n is a poly(oxyethylene)octylphenyl ether homologue with n ethoxy units.

^b The average quantified concentration of the spiked samples ($n = 7$).

^c Method detection limit (MDL) = 1.943 (t-test value; $t(n-1, 0.05)$) $\times$ standard deviation of quantified value $\times 2$

^d Method quantification limit (MQL) = 10 $\times$ standard deviation of quantified value

値から算出された2.1 μ g/L (アセスメント係数100)¹¹⁾及び魚類の急性毒性値算出された54 μ g/L (アセスメント係数100)¹²⁾が用いられており、本法のMQLはこれらの値よりも十分低い値である。

3. 1. 2 添加回収

「化学物質環境実態調査の手引き」⁷⁾に記載される方法に基づき、環境水に対しOPEsの混合標準溶液を、3段階の濃度で添加したものを調製し2.3の方法で前処理したもの ($n = 5$) のち、試料水中の濃度が各OPE同族体のMDLの30倍に最も近い濃度の試料の測定値から添加回収率を求めた。環境水には、石狩川で採取した河川水と室蘭港で採取した海水を用いた。この時、石狩川河川水からはOPEsは検出されなかったが、海水からはOPE 2, OPE 8, OPE 9及びOPE10が定量下限値未満で検出された。各OPE同族体の回収率をTable 5に示す。河川水に対する添加回収率は86から100% (c.v. 1.2 ~ 4.0%), 海水に対する添加回収率は78から100% (c.v. 2.6 ~ 10%) であり、同族体による違いがみられたものの良好な回収率が得られた。

3. 1. 3 水質試料中のOPEsの保存性

OPEsは環境水中で微生物に分解されることが予想されたため、本法では微生物分解を抑制するために採水時に試料の体積の10%程度のメタノールを添加した。この試料水に含まれるOPEsの保存性を検討するために、「化学物質環境実態調査の手引き」⁷⁾に記載される方法に従い、環境水に各OPE同族体のMDLの10倍程度の対象物質を含む試料を用いてその保存性を確認した。ここでは石狩川で採取した河川水と室蘭港で採取した環境水に各OPE同族体が150 ng/Lと10 ng/Lになるように、採取した当日あるいはその翌日にOPEsの標準溶液を添加し、試料体積の10%程度のメタノールを添加したものを7日間冷蔵保存したものの残存率を求めた。残存率は添加直後と冷蔵保存後の各OPE同族体の測定値から求めた。7日間冷蔵保存した後の各OPE同族体の残存率をTable 6-1に示す。Table 6-1に示すとおり、メタノールを添加した試料水に含まれるOPEsは94 ~ 100%残っており、良好な保存性を示した。な

お、OPE 1についてはMQLがほかの同族体と比べて高かったため、150 ng/Lの試料のみで評価した。また、各OPE濃度が150 ng/Lになるように調製された海水試料については、15日後及び1か月後の残存率を求め、1か月後も分解しないことを確認した。海水にメタノールを添加した際に試料に白濁がみられた。この白濁は試料を攪拌することで消失したが、海水へのメタノール添加が回収率に影響しないことを確認するために、海水試料200 mLにOPE各2 ngを添加し、添加回収試験 ($n = 3$) を行った。その結果、回収率が80%と最も低かったOPE 1以外は90%以上の回収率を示し、変動係数も全て1%未満の良好な結果を示した。

水質試料に何も添加しなかった場合の各OPE同族体の残存率を、3段階に濃度調製した環境水を用いて求めたものをTable 6-2に示す。環境水中における残存率は23 ~ 120%であった。OPEsなどのアルキルフェノールエトキシレートは好氣的分解によりエチレンオキシド部位の末端が分解され、アルキルフェノール骨格はそのままエチレンオキシドの付加モル数が少ない物質に変化する¹³⁾。使用した環境水は表層水であり、好氣的分解に必要な酸素が十分に溶存しているため、OPEsは好氣的に分解される。一部のOPE同族体の残存率が高かったのは、エチレンオキシドの付加モル数がより多いものの分解により生成したものが多かったためと考えられる。

水質試料中のOPEsの微生物分解を抑制するために、本法では採水時にメタノールを添加したが、このほかに試料水に塩酸を添加しpH 4に調製して保存する方法と、アンモニア水を添加しpH 9に調製して保存する方法についても、上記と同様に残存率を求めた。pH調整後に7日間冷蔵保存した後の残存率をTable 6-3に示す。いずれの場合も90%以上の良好な残存率を示し、メタノール添加と同様に試料中のOPEsの分解が抑制されたことを確認したが、OPEsが試料容器に付着することを避けるため、また、採水時の作業の簡便性と安全性を考慮し採水時に試料体積の10%のメタノールを添加することにした。

Table 5 Recovery of OPEs in river water and seawater

Compound ^a	Spiked amount (ng)	Average of quantified value ^b (ng/mL)	Recovery (%)	Coefficient of variation (%)
River water				
OPE1	13	56	86	3.2
OPE2	1.3	6.0	94	4.0
OPE3	1.3	6.0	93	2.8
OPE4	3.0	1.5	100	2.0
OPE5	1.3	5.9	93	1.2
OPE6	3.0	14	97	2.4
OPE7	3.0	15	100	2.6
OPE8	3.0	15	100	3.5
OPE9	3.0	15	100	3.5
OPE10	3.0	15	100	2.3
Sea water				
OPE1	10	39	78	7.2
OPE2	1.5	7.0	94	5.2
OPE3	1.5	7.5	100	8.7
OPE4	4.5	21	92	5.0
OPE5	1.5	7.5	100	10
OPE6	4.5	21	94	4.0
OPE7	4.5	23	100	2.6
OPE8	4.5	23	100	4.1
OPE9	4.5	23	100	2.9
OPE10	4.5	23	100	6.2

OPEs were below the MDL in the river water, but some OPEs were found below the MQL in seawater.

Volume of sample: 200 mL without methanol; Volume of prepared sample: 1 mL

^a OPE n is a poly(oxyethylene)octylphenyl ether homologue with n ethoxy units.

^b The average quantified concentration of the spiked samples ($n = 5$).

3. 2 前処理の検討

3. 2. 1 固相抽出剤を用いた濃縮法

固相抽出に用いるカートリッジとその溶出溶媒を検討するために、各 OPEs 同族体について固相カートリッジからの溶出試験を行った。検討した固相カートリッジは親水基が導入されたポリマー系カートリッジである EDS-1 と Inertsil RP-1 mini (充填材量 230 mg, 以下“RP-1”と表記, ジーエルサイエンス, 東京) の 2 種類で、コンディショニングしたカートリッジに各 OPE 同族体の濃度が 1 $\mu\text{g/mL}$ である混合標準液 (メタノール溶液) 20 μL を負荷し遠心分離で脱水 (3000 rpm, 5 分間) し、メタノール 10 mL, 次いでメタノール: 酢酸エチル (1 : 1) 混合溶媒 10 mL で溶出し各物質の回収率を求めた。それぞれの固相カートリッジからの回収率を Fig. 3 に示す。OPE 1 及び OPE 2 で EDS-1 からのものが RP-1 のものに比べて良好であったが、OPE 3 ~ OPE10 については差が見られなかった。回収溶媒については、エチレンオキシドの付加モル数

が大きい同族体については、どちらのカートリッジを用いてもメタノールで十分に溶出されたが、エチレンオキシドの付加モル数が少ない同族体ではメタノールだけでは溶出できず、酢酸エチルとの混合溶媒で回収率を改善することができた。

次に河川水 (石狩川石狩大橋) 200 mL に各 OPE 同族体を 2 ng ずつ添加した試料から OPEs を EDS-1 及び RP-1 を用いて捕集し、メタノール 2 mL, 次いでメタノール: 酢酸エチル (1 : 1) 混合溶媒 10 mL で溶出した各 OPE 同族体の回収率とそのばらつきを求めた。結果を Fig. 4 に示す。EDS-1 は RP-1 よりも回収率が低かったが回収率のばらつきが小さかったため、使用する固相カートリッジに EDS-1 を選んだ。RP-1 を使用した際の回収率のばらつきが大きかったのは、RP-1 は EDS-1 に比べ保持が弱いことと、使用した通水装置では全てのカートリッジに対する通水速度を一定にすることが難しく、保持が弱い RP-1 では通水速度のばらつき影響をより強く受けたためと考えられる。

Table 6-1 Storage stability of OPEs in water samples with methanol

Compound ^a	Percentage of OPEs residues in 7-day storage			
	River water		Seawater	
	10 ng/L ^b	150 ng/L ^b	10 ng/L ^b	150 ng/L ^b
OPE1	-	100	-	100
OPE2	100	100	100	110
OPE3	110	100	110	110
OPE4	110	110	110	100
OPE5	100	110	110	97
OPE6	100	100	110	95
OPE7	100	100	110	100
OPE8	100	100	110	100
OPE9	100	100	110	96
OPE10	100	100	110	94

The water sample contained 10% v/v methanol.

^a OPE n is a poly(oxyethylene)octylphenyl ether homologue with n ethoxy units.

^b Concentration of the spiked sample

Table 6-2 Storage stability of OPEs in water samples without additive

Compound ^a	Percentage of OPE residues in 7-day storage					
	River water sample			Sea water sample		
	1 ng/L ^b	10 ng/L ^b	30 ng/L ^b	1 ng/L ^b	10 ng/L ^b	30 ng/L ^b
OPE1	-	59	98	97	93	110
OPE2	53	40	73	27	19	29
OPE3	56	40	72	69	69	77
OPE4	59	40	72	77	100	85
OPE5	81	48	79	76	93	85
OPE6	61	43	77	95	110	100
OPE7	74	43	73	83	94	120
OPE8	57	38	63	100	100	120
OPE9	68	37	60	63	74	120
OPE10	62	38	60	23	42	83

^a OPE n is a poly(oxyethylene)octylphenyl ether homologue with n ethoxy units.

^b Concentration of the spiked sample

3. 2. 2 浮遊物質濃度が高い試料の取扱い

浮遊物質 (SS) 濃度が高い試料をそのまま通水した場合、固相カートリッジが詰まり分析に支障きたす場合がある。このような試料を分析する際には、ろ過作業で SS を分別してから固相抽出を行う。この時に分別された SS の取り扱い方法を、SS 濃度が高い環境試料を用いて検討した。

ガラス繊維ろ紙は、超音波照射に対して十分に強度を保つ Whatman GF/C (保持粒径 1.2 mm, GE Healthcare, Little Chalfont, Buckinghamshire, England) を選び、メタノールで超音波洗浄してから使用した。SS 濃度が高い環境試料には透視度数 cm, SS 濃度が 25 mg/L の河川水を用いた。この試料水をろ過した場合、ガラス繊維ろ紙 1 枚で試料水 100 mL 程度をろ過することができた。この試料水に各対象物質を 1 L あたり 10 ng となるように添加し 1 時間静置したのち、試料の体積の 10% のメタノールを添加しガラス繊維ろ紙でろ過した。このときろ過に要したガラス繊維ろ紙は、1 試料あたり 2 ~ 3 枚であった。ろ液はそのまま固相抽出し、SS はメタノール 10 mL に浸し、10 分間超音波抽出を行った。このメタノール溶液を遠心分離 (3000 rpm, 5 分間) し、上澄みを分取した。超音波抽出は 3 回繰り返し、各メタノール溶液とろ液に含まれる対

象物質の濃度を測定した。この試験の繰り返し回数は 3 であった。Table 7 に SS に分配された各 OPE 同族体の濃度を示す。

Table 7 に示すとおり、SS に最も分配されたものは OPE10 の 10%, 次いで OPE 9 の 9% であり、OPE 全体でも SS への分配が低いので、ガラス繊維ろ紙からのコンタミネーションや、SS から抽出される夾雑物の影響を考慮し、本報告ではろ液だけを分析に供した。

3. 3 河川水及び海水に含まれる OPEs の分析

石狩川河口橋及び室蘭港内で採取した水質試料を本法で分析した。このうち河川水の SS 濃度は 2.4 mg/L, 海水の SS 濃度は 1.2 mg/L で十分に低く、SS をろ別せずに固相抽出を行った。このうち河川水試料のクロマトグラムでは一部の OPE 同族体のピークが認められたものの検出下限値未満であった。北海道内では、流量に対する畑作面積が大きい河川から水から OPEs の類縁物質であるノニルフェノールエトキシレートが水生生物に対する PNEC を超える濃度で検出されているが、OPEs は微量でしか検出されておらず¹⁴⁾、本調査においても石狩川では OPEs は検出されなかった。一方、海水試料からは OPE 2, OPE 8, OPE 9 及び OPE10 につ

Table 6-3 Storage stability of OPEs in water samples at different pH values

Compound ^a	Percentage of OPE residues in 7-day storage			
	pH 4		pH 9	
	10 ng/L ^b	150 ng/L ^b	10 ng/L ^b	150 ng/L ^b
River water				
OPE1	-	99	-	100
OPE2	96	100	91	100
OPE3	100	100	100	100
OPE4	110	100	100	100
OPE5	110	96	100	100
OPE6	110	97	100	100
OPE7	110	95	97	96
OPE8	110	97	94	96
OPE9	110	97	98	95
OPE10	100	100	96	93
Sea water				
OPE1	-	99	-	110
OPE2	110	100	110	110
OPE3	100	110	110	110
OPE4	110	110	110	100
OPE5	110	110	110	100
OPE6	110	110	110	97
OPE7	110	110	110	100
OPE8	110	110	110	97
OPE9	110	110	110	97
OPE10	110	110	110	96

The pH was set using hydrochloric acid or aqueous ammonia.

^a OPE n is a poly(oxyethylene)octylphenyl ether homologue with n ethoxy units.

^b Concentration of the spiked sample

Fig. 3 Recoveries of OPEs eluted from the EDS-1 and RP-1 cartridges with 10 mL of methanol (■) and subsequently 10 mL of methanol/ethyl acetate (1:1) (□)

Fig. 4 Recoveries of OPEs in river water using EDS-1 (□) and RP-1 (■) cartridges. Bars show relative errors

いては定量下限値未満 (OPE 2: 0.27 ng/L, OPE 8: 0.90 ng/L, OPE 9: 1.0 ng/L, OPE10: 1.2 ng/L) の濃度で検出された。試料採取地点は港内であるが、周辺事業所からは十分に離れていること、河川水試料については橋の上から採取したのに対し海水試料は船上から採取したことから、検出された OPEs は船に付着していたものである可能性があるが、その排出源については不明である。

4. まとめ

環境水中の OPEs (エチレンオキシドの付加モル数 1 ~ 10: OPE 1 ~ OPE10) を高感度かつ選択的に分析するために、固相抽出法による前処理後に LC/MS/MS で分析定量する方法を開発した。この方法では総 OPEs の MQL は 17 ng/L であり、従来法に比

Table 7 Distribution ratio of OPEs between filtrate and suspended solid

Compound ^a	Concentration in water sample (ng/L)	Concentration in filtrate (ng/L)	Concentration in SS ^b (ng/L)				Distribution ratio (Filtrate / SS ^b)
			Extraction				
			1st	2nd	3 rd	Total	
OPE1	tr(3) ^c	11	ND ^d	ND ^d	ND ^d	ND ^d	100 / 0
OPE2	0.65	9.9	ND ^d	ND ^d	ND ^d	ND ^d	100 / 0
OPE3	tr(0.3) ^c	10	ND ^d	ND ^d	ND ^d	ND ^d	100 / 0
OPE4	tr(0.5) ^c	10	ND ^d	ND ^d	ND ^d	ND ^d	100 / 0
OPE5	0.89	11	tr(0.3) ^c	tr(0.2) ^c	ND ^d	tr(0.5) ^c	95 / < 5
OPE6	tr(0.3) ^c	11	ND ^d	ND ^d	ND ^d	ND ^d	100 / 0
OPE7	2.0	12	ND ^d	ND ^d	ND ^d	ND ^d	100 / 0
OPE8	2.4	13	ND ^d	ND ^d	ND ^d	tr(0.8) ^c	94 / < 6
OPE9	2.9	12	1.0	tr(0.3) ^c	ND ^d	1.0	91 / 9
OPE10	2.9	12	1.4	ND ^d	ND ^d	1.4	90 / 10

Spiked amount: 10 ng/L of water sample

^a OPE n is a poly(oxyethylene)octylphenyl ether homologue with n ethoxy units.^b SS: suspended solid.^c tr(value): the MDL or above, and below the MQL, the numbers in the brackets are the concentration in the samples.^d ND: not below the MDL.

べごく微量の OPEs を分析することができる。また、OPEs をエチレンオキシドの付加モル数ごとに分析するため、環境中の OPEs の挙動の把握や詳細なリスク評価に適用することができる。なお、採取時の試料水へのメタノール添加により、OPEs の分解が抑制され 7 日間の冷蔵保存が可能になったため、本法は分析拠点から離れた地域における環境調査にも適用できる。

本研究の一部は「化学物質分析法開発事業」(平成23年環境省委託)によるものである。

要 約

液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析法 (LC/MS/MS) を用いて環境水中の非イオン系界面活性剤であるオクチルフェノールエトキシレート (OPEs) の高感度の一斉分析法を開発した。本法では、OPEs のうち、エチレンオキシドの付加モル数が 1 ~ 10 のものを対象とし、付加モル数ごとに定量を行った。対象物質の濃縮には窒素含有-ジビニルベンゼン-メタクリレート共重合体を用いた固相抽出法を適用した。LC/MS/MS での測定では、イオン化法にエレクトロスプレーイオン化 (ESI) 法を用い、極性は Positive モード、定量は SRM 法で行った。分析法検出下限値 (MDL) 及び分析法定量下限値 (MQL) は各 OPE 同族体で異なっており、各 OPE 同族体の MDL は 0.17 ~ 2.0 ng/L、総 OPEs の MDL は 6.1 ng/L、各 OPE 同族体の MQL は 0.42 ~ 5.2 ng/L、総 OPEs の MQL は 17 ng/L であった。河川水及び海水を用いた添加回収試験における各 OPE 同族体の回収率は 78 ~ 100% であった。本法により環境試料を分析したところ、河川水から検出されなかったが、海水からは定量下限値未満で検出された。

文 献

- 1) 独立行政法人 製品評価技術基盤機構, 財団法人 化学物質評価研究機構: 化学物質の初期リスク評価書 Ver.1 No. 105 ポリ(オキシエチレン) オクチルフェニルエーテル, p. 1 (2007) (委託元 独立行政法人新エネルギー・産業技術開発機構)
- 2) 独立行政法人 製品評価技術基盤機構 化審法データベース http://www.safe.nite.go.jp/jcheck/DetailAction?cno=0-0-0&mno=7-0172&request_locale=ja (accessed 2014-6-5)
- 3) 平成23年度届出外排出量の推計結果 II. 推計結果 (省令に基づく集計表以外の集計表等) 2 届出外の事業者等からの排出源別・対象化学物質別届出外排出量推計結果総括表 <http://www.env.go.jp/chemi/prtr/result/todokedegaiH24/suikai/soukatsuhyou.pdf> (accessed 2014-6-5)
- 4) JIS K 0102 30.2.1, 非イオン界面活性剤
- 5) 平成15年7月22日 厚生労働省告示第261号「水質基準に関する省令の規定に基づき厚生労働大臣が定める方法 (最終改正 平成24年3月30日厚生労働省告示第290号)
- 6) 環境庁水質保全局水質管理課: “要調査項目等調査マニュアル (水質, 底質, 水生生物)” (2000)
- 7) 環境省総合環境政策局環境保健部環境安全課: “化学物質環境実態調査実施の手引き”, 平成20年度版 (2009)
- 8) Norton, D.S.: Capillary-electrochromatography-mass spectrometry (CEC-MS) of surfactants. Dissertation, Georgia State University (2007). http://scholarworks.gsu.edu/chemistry_diss/13 (accessed 2014-11-29)
- 9) Schröder, H.F. and Ventura, F.: Applications of liquid chromatography-mass spectrometry in environmental chemistry; characterization and determination of surfactants and their metabolites in water samples by modern mass spectrometric techniques. pp

- 828-933, "Sample handling and trace analysis of pollutants techniques, applications and quality assurance" Edited by Barceló, D., Elsevier, Amsterdam (2000)
- 10) U.S.EPA: Title 40: Protection of environment; part 136- Guidelines establishing test procedures for the analysis of pollutants; Appendix B to Part 136- Definition and procedure for the determination of the method detection limit- Revision 1.11.
- 11) 環境省環境保健部環境リスク評価室：“化学物質の環境リスク評価 第2巻”，平成15年3月（2003） <http://www.env.go.jp/chemi/report/h15-01/pdf/chap01/02-3/62.pdf>（accessed 2014-10-21）
- 12) 環境省環境保健部環境リスク評価室：“化学物質の環境リスク評価 第6巻”，平成20年5月（2008）<http://www.env.go.jp/chemi/report/h19-03/pdf/chpt1/1-2-3-09.pdf>（accessed 2014-10-21）
- 13) 環境省総合環境政策局環境保健部環境安全課：“内分泌攪乱化学物質の環境挙動に関する詳細メカニズム調査について”，平成15年11月（2003） http://www.env.go.jp/chemi/end/speed98/commi_98/kento1502/mat02_4.pdf（accessed 2014-10-18）
- 14) 田原るり子：北海道内河川水中の界面活性剤の濃度分布，地方独立行政法人北海道立総合研究機構環境・地質研究本部環境科学研究センター所報，**1**（通巻第37号），39-46（2011）