

## 5 高速液体クロマトグラフィーによる河川水及び底質中のLASの分析法について

An analytical method for LAS in river water and sediment by high-performance liquid chromatography.

吉川サナエ, 佐野 仁\*, 原田 忠彦\*

### 1 はじめに

合成洗剤の使用量増大とともにその汚濁は河川, 湖沼, 海域, さらには底質へと広がってきており, 水質保全対策上, 環境中の汚染実態を把握しておくことは大変重要である。現在市販の合成洗剤中には陰イオン, 陽イオン及び非イオン界面活性剂等各種の界面活性剤が使用されているが, その中でも陰イオン界面活性剤が最も多く使用されており, 環境における洗剤成分による汚濁実態の把握は主に陰イオン界面活性剤を分析することによって行われている。陰イオン界面活性剤の最も一般的な分析法はJIS等で用いられているメチレンブルー比色法<sup>1)</sup>(以下MB法と略す。)であるが, この方法は陰イオン界面活性剤の他にメチレンブルーと錯体を形成する物質, 例えば硫酸エステル類, ニトロフェノール類, クロロフェノール類, 動物排泄物(し尿, みみず排泄物)等も同時に定量されるので測定値に正の誤差を生じると報告されている。<sup>2)</sup>そこで近年, 環境水を対象とする陰イオン界面活性剤中の直鎖型アルキルベンゼンスルホン酸塩(以下LASと略す。)を選択的に定量する方法, 即ちガスクロマトグラフィーによる方法<sup>3) 4)</sup>, 高速液体クロマトグラフィーによる方法<sup>5) 6) 7)</sup>, MB法と赤外吸収スペクトル法の併用による方法<sup>8)</sup>など多く報告されている。しかしこれらの方法はいずれも操作が複雑で分析に多くの時間を要する等の欠点がある。また, 底質中のLASの分析法としては, MB法と赤外吸収スペクトル法の併用による方法<sup>9)</sup>, 高速液体クロマトグラフィーによる方法<sup>10)</sup>等が報告されているがその例は少ない。そこで今回, 高速液体クロマトグラフィー(以下HPLCと略す。)による河川水および底質中のLASの分析法として超音波抽出法を取り入れた分析方法について検討するとともに, さらにその分析法を用い, 実際の河川水および底質中のLASについて分析しMB法との比較検討を試みたところ良い結果が得られたのでそれらの結果について報告する。

## 2 実 験

### 2.1 試 薬

クロロホルム, 塩酸, メタノール, エタノール, 過塩素酸ナトリウムは試薬特級を用いた。LASの標準物質は, ①ドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム(C<sub>12</sub>-LAS): ドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム標準品(和光純薬製) ②デシルベンゼンスルホン酸ナトリウム(C<sub>10</sub>-LAS), ウンデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム(C<sub>11</sub>-LAS) およびトリデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム(C<sub>13</sub>-LAS): デシルベンゼン, ウンデシルベンゼンおよびトリデシルベンゼン(以上東京化成薬製)をスルホン化し精製<sup>5)</sup>し用いた。

\* 川崎市衛生研究所

## 2.2 装 置

HPLCは島津製LC-3Aに日本分光製紫外吸光検出器UVIDE C-100-IIIを取り付け使用した。超音波発生装置はヤマト科学製を用い、超音波出力100W、共振周波数45kHzで使用した。

## 2.3 HPCLの条件

固定相にナーゲル製ヌクレオジルC<sub>8</sub>(4.6φ×250mm)移動相に0.1M過塩素酸ナトリウムを含むメタノール+水(7+3)を用いた。流速は1.7ml/min、カラム温度は40°C、UV波長230nmで作動させた。

## 3 結果および考察

### 3.1 検量線の作成

0.2~10μg/mlのC<sub>10</sub>~C<sub>13</sub>LAS標準液50μlをHPCLに注入し検量線を作成したところいずれも原点を通る直線性の良い検量線が得られた。その検量線とクロマトグラムの一例を図1、図2に示す。

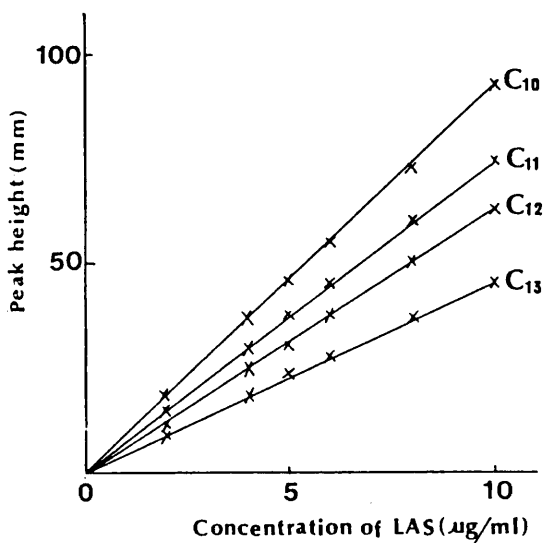


図1 検量線

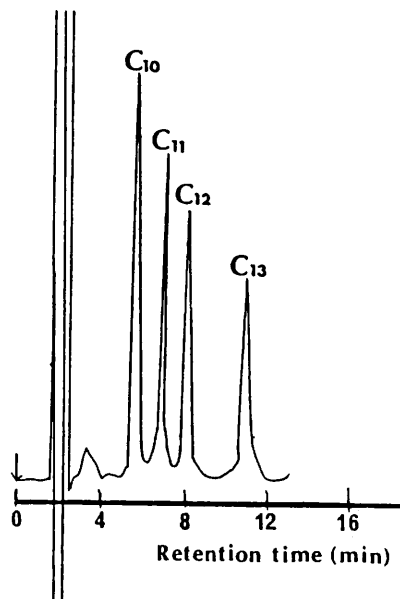


図2 LASのクロマトグラム

### 3.2 河川水中のLASの分析法の検討

河川水中のLASの分析法として超音波抽出を用いる方法について検討を行った。本法は

初めに河川水中のLASをクロロホルムで抽出した後、クロロホルム層を乾固する。次にメタノール+水(7+3)を加え超音波抽出した後、その液を直接HPLCに注入しLASを定量する方法である。本法の分析フローを図3に示す。本法については、(1)クロロホルム抽出時の酸濃度の影響、(2)標準添加回収実験、(3)MB法との比較実験を行い、分析法の検討を行った。

(1) クロロホルム抽出時の酸濃度の影響

クロロホルム抽出時の液性と抽出率について検討した。実験はまず200mlの分液漏斗6本(No.1~No.6)のそれぞれに蒸留水100mlとC<sub>10</sub>~C<sub>13</sub>LAS各10μgを加え、さらに濃塩酸をNo.1~No.6の順に2ml, 3ml, 4ml, 5ml, 6ml, 8ml, 10ml加えた後クロロホルム抽出を行った。次いでクロロホルム層を抜きとり、ロータリーエバポレーターで乾固後、メタノール+水(7+3)10mlで10分間超音波抽出した後メタノール液を直接HPLCに注入した。その時の塩酸添加量と回収率の関係を図4に示した。塩酸2mlで回収率がC<sub>10</sub>-LAS51%, C<sub>11</sub>-LAS51%, C<sub>12</sub>-LAS85%, C<sub>13</sub>-LAS71%であったものが、塩酸5mlでは、C<sub>10</sub>-

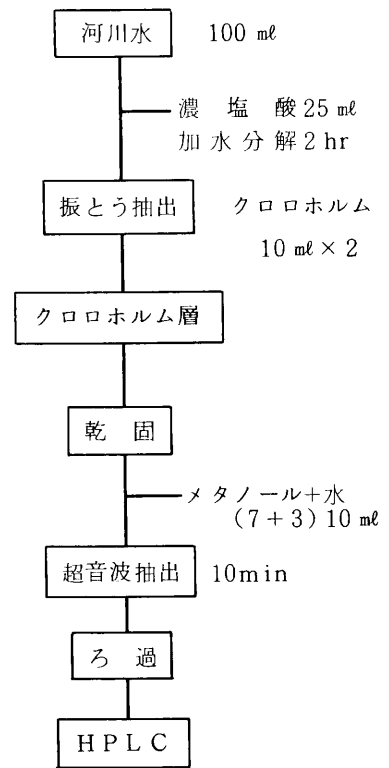


図3 河川水中のLASの分析法

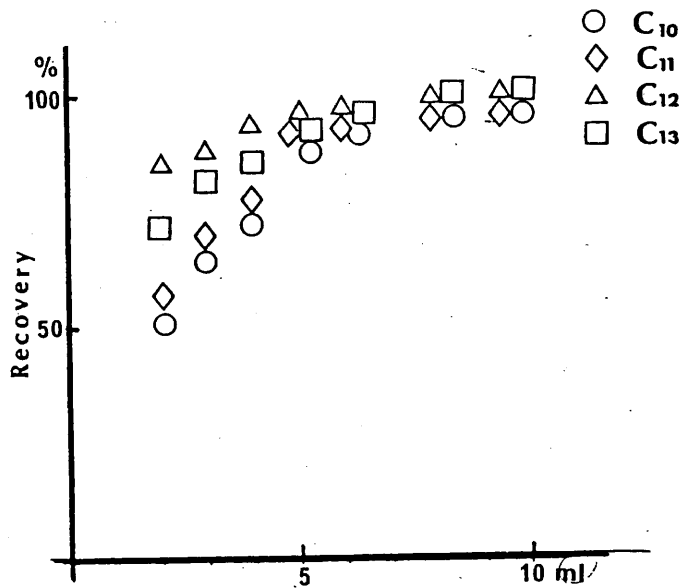


図4 塩酸添加量と回収率

LAS91%, C<sub>11</sub>-LAS93%, C<sub>12</sub>-LAS92%, C<sub>13</sub>-LAS94%となり回収率を高めることができた。しかし、塩酸5ml以上ではあまり変化がみられなかった。

次に河川水を用い上記(図3)と同様に添加回収実験を行ったところほとんど回収されなかった。これは、河川水中のタンパク質等の妨害が考えられ、このため加水分解の必要が生じた。加水分解に最適な塩酸濃度はJIS K 0102 30.1 備考3のスルホン酸型陰イオン界面活性剤の定量を参考に試験溶液中の酸濃度がほぼ6N, 4N, 及び2Nになるように塩酸を添加し比較検討した。すなわち200mlの平底フラスコ3個(No.1~No.3)のそれぞれに河川水100mlとC<sub>10</sub>~C<sub>13</sub>-LAS各10μgを加え、さらに濃塩酸をNo.1~No.3の順に100ml(試料中の酸濃度として約6N), 50ml(約4N), 25ml(約2N)を加え、加水分解を2時間行った後、クロロホルム抽出を行った。その結果、No.1~No.3の回収率は同程度であった。このことから酸濃度が2Nでも加水分解が可能であることが判明したので濃塩酸の添加量を25mlとすることにした。

## (2) 添加回収実験

添加回収実験は次のようにして行った。河川水100mlにC<sub>10</sub>~C<sub>13</sub>-LAS各10μgを添加し試料液とした。これに濃塩酸25mlを加え、水浴上で2時間加水分解を行い、冷却後、クロロホルム10mlで2回振とう抽出した。クロロホルム層をエバポレーターで乾固後、メタノール+水(7+3)10mlを加え超音波による再抽出を行い、その液を直接HPLCに注入し試料液中のLASを定量した。その結果C<sub>10</sub>~C<sub>13</sub>-LASの回収率は表1に示すように89~95%と良好な結果であった。

表1 河川水へのLASの添加回収率

LAS	n	はじめのLAS量(μg)	添加量(μg)	添加LAS量(μg)	回収率(%)	CV(%)
C <sub>10</sub>	5	5.5±0.05	10	14.7±0.07	95	0.5
C <sub>11</sub>	5	12.2±0.15	10	20.5±0.37	92	1.8
C <sub>12</sub>	5	4.7±0.18	10	13.7±0.47	93	3.4
C <sub>13</sub>	5	2.9±0.06	10	11.5±0.16	89	1.4

以上の結果より河川水中のLASの分析法は、試料100mlに濃塩酸25mlを加え水浴上で2時間加水分解を行い、冷却後、クロロホルム10mlで2回振とう抽出を行う。クロロホルム層をロータリーエバポレーターで乾固後、メタノール+水(7+3)10mlを加え、超音波による再抽出を行い、その液を直接HPLCに注入することとした。

## (3) 本法とMB法の比較

本法とMB法の比較を河川水10検体について行った。その結果を表2に示す。本法によるLAS濃度の分析値は0.01~0.22μg/mlの範囲にあり、MB法による陰イオン界面活性剤濃度の約30%であることがわかった。また、相関係数は0.96と高い相関が認められた。

表2 HPLC法とMB法による  
河川水のLASの濃度

試料番号	HPLC法( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	MB法( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )
1	0.02	0.09
2	0.01	0.07
3	0.03	0.11
4	0.03	0.07
5	0.03	0.12
6	0.06	0.11
7	0.04	0.12
8	0.04	0.12
9	0.07	0.29
10	0.22	0.52

### 3.3 底質中のLASの分析法の検討

底質の風乾試料を溶媒で抽出し、溶媒層を乾固後メタノール+水(7+3)を加え超音波抽出した後、その液を直接HPLCに注入する方法について検討した。その分析フローを図5に示す。

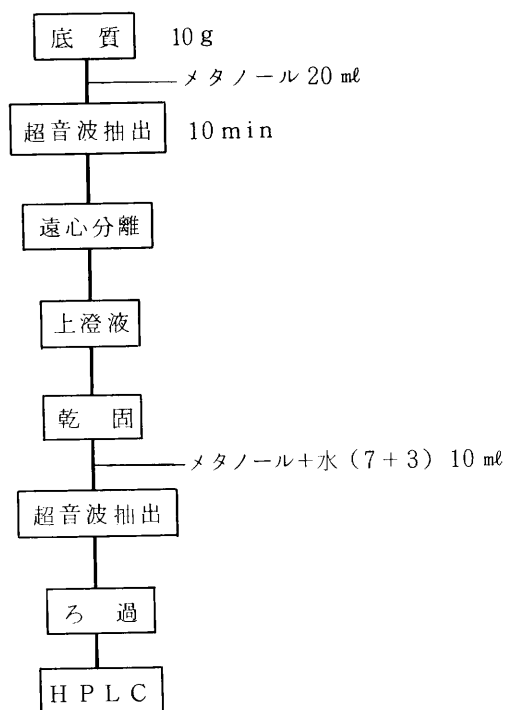


図5 底質中のLASの分析法

(1) 抽出溶媒の選択

抽出溶媒を選択するために、メタノールとエタノールについて比較を行った。まず100mlのビーカー10個に風乾試料を10gずつ採取し、各々のビーカーにC<sub>10</sub>~C<sub>13</sub>-LAS各100μgを加え、このうちの5個にメタノール20mlを、残りの5個にエタノール20mlを加え、以下図5に示した方法により分析を行い、メタノール抽出とエタノール抽出した場合の各々の回収率を求めた。その結果を表3に示す。回収率の平均値の差のT検定を行ったところ両者に危険率1%で有意な差は認められなかったので抽出溶媒は移動相に使用しているメタノールを用いることにした。

表3 メタノール抽出とエタノール抽出の比較

LAS	メタノールによる回収率(%)	エタノールによる回収率(%)
C <sub>10</sub>	93 ± 4	93 ± 3
C <sub>11</sub>	94 ± 4	96 ± 5
C <sub>12</sub>	92 ± 3	91 ± 2
C <sub>13</sub>	89 ± 4	89 ± 3

(2) 抽出時間の検討

抽出時間を10分間、20分間、30分間について図5に示したフローと同様に操作して回収率を求め、その結果を表4に示す。危険率1%で有意な差は認められなかったので抽出時間は10分間とした。

表4 抽出時間と底質中のLASの回収率

LAS	10分間(%)	20分間(%)	30分間(%)
C <sub>10</sub>	93 ± 3	92 ± 5	93 ± 4
C <sub>11</sub>	94 ± 4	93 ± 3	94 ± 3
C <sub>12</sub>	92 ± 5	93 ± 4	93 ± 3
C <sub>13</sub>	90 ± 3	89 ± 2	89 ± 4

(3) 添加回収実験

風乾試料10gにC<sub>10</sub>~C<sub>12</sub>LAS各20μg、C<sub>13</sub>-LAS200μgを添加して作製した試料について図5と同様に操作して各々のLASの回収率を求めたところ、表5に示すように88~103%と良好な結果が得られた。

表5 底質へのLASの添加回収率

LAS	n	はじめのLAS量(μg)	添加量(μg)	添加LAS(μg)	回収率(%)	CV(%)
C <sub>10</sub>	5	2.9 ± 0.19	20	22.6 ± 1.13	103	3.9
C <sub>11</sub>	5	9.5 ± 0.82	20	26.0 ± 0.87	88	2.5
C <sub>12</sub>	5	10.9 ± 0.43	20	31.0 ± 1.42	101	3.2
C <sub>13</sub>	5	351 ± 29	200	525 ± 27.3	95	3.7

以上の結果より底質中のLASの分析法は、風乾試料10gにメタノールを20ml加え、超音波抽出を行い、遠心分離後、上澄液をロータリーエバポレーターで乾固し、これにメタノール+水(7+3)10mlを加え超音波による再抽出を行い、その液を直接HPLCに注入することとした。

### 3.4 河川および底質中のLASの分析結果

例として実際の河川水および底質を用い、それぞれの総LAS(C<sub>10</sub>~C<sub>13</sub>-LAS)を本法により分析した結果を表6に示す。

表6 河川水および底質中の総LAS濃度

試料番号	河川水中のLAS濃度(μg/l)	底質中のLAS濃度(mg/kg)
1	206	33
2	560	30
3	364	45
4	429	33
5	800	33
6	683	26
7	344	17

### 3.5 市販合成洗剤と河川水および底質中のLASの組成割合の比較

各組成割合の結果を図6に示す。これより河川水の場合は市販合成洗剤に比べC<sub>10</sub>の割合が

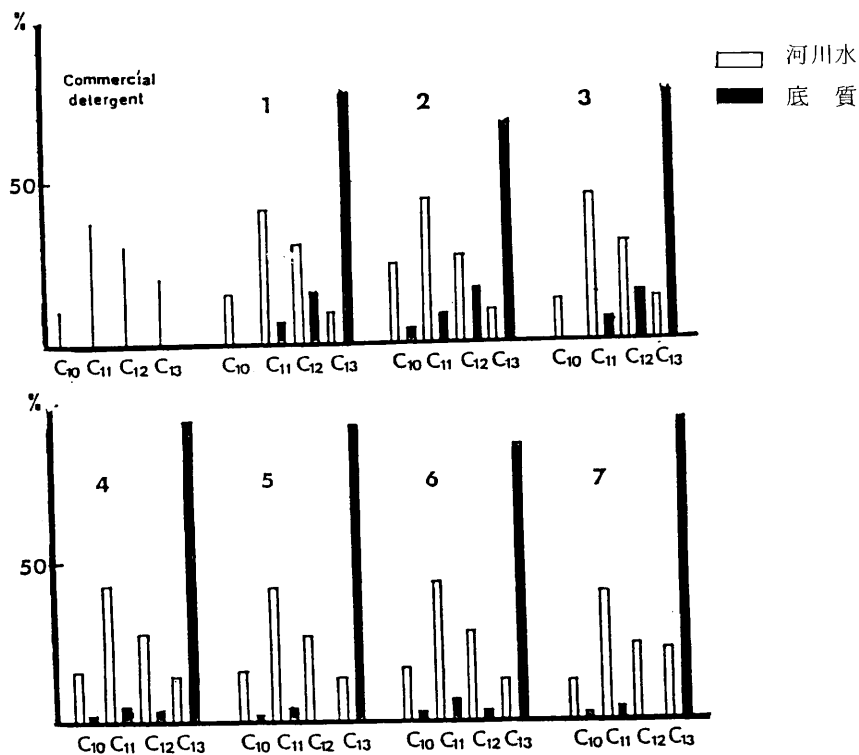


図6 LASの組成割合

高く、 $C_{13}$ が低い傾向にあった。底質では $C_{13}$ が80～96%と最も高く、アルキル鎖の長いLASほど底質に吸着される傾向を示していた。

#### 4 まとめ

河川水および底質中のLASの分析法の検討を試みた。その結果、河川水については、濃塩酸で加水分解後、クロロホルム抽出を行い、クロロホルム層を乾固後メタノール+水(7+3)による再抽出を行い、その液を直接HPLCに注入する方法が、また底質については、風乾試料をメタノール抽出、遠心分離後、メタノールを乾固させ、メタノール+水(7+3)による再抽出を行いその液を直接HPLCに注入する方法がそれぞれ良好な回収率を示し、河川水および底質中のLASの定量に利用できるものと思われる。

実際に河川水、底質を用いて分析した結果、河川水では平均484  $\mu\text{g}/\ell$ 、底質では31  $\text{mg}/\text{kg}$ であった。また、市販合成洗剤、河川水、底質中のLASの組成割合をみると、河川水は市販合成洗剤に比べ $C_{10}$ の割合が高く、 $C_{13}$ が低い傾向にあった。底質では $C_{13}$ が最も高く、アルキル鎖の長いLASの底質への吸着を示していた。

本研究は、川崎市衛生研究所理化学課水質検査係の協力を得て実施したものである。

#### 文 献

- 1) JIS K 0102 工場排水試験方法 1974年
- 2) 衛生試験法注解
- 3) 今井田雅示, 住本建夫, 矢田光子 アルキルベンゼンスルホン酸塩のガスクロマトグラフィーによる分析法について 食衛誌 16, 218 (1975)
- 4) 渡辺重信, 貴山道子, 高木芙美子 ガスクロマトグラフィーによる直鎖型アルキルベンゼンスルホン酸塩の定量法 食衛誌 16, 212 (1975)
- 5) 宇都宮暁子, 池田辰男, 高松和幸 環境試料中の直鎖型アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウムの定量 BUNSEKI KAGAKU 29, 837
- 6) 国弘和雄, 中栄篤男, 近藤義一 高速液体クロマトグラフィーによる微量アルキルベンゼンスルホン酸塩の定量 BUNSEKI KAGAKU 24, 188 (1975)
- 7) 橋本茂, 桜井建三, 永井敏雄 高速液体クロマトグラフィーによる河川水中の微量アルキルベンゼンスルホン酸の定量 BUNSEKI KAGAKU 25, 639 (1976)
- 8) 安部喜也, 半谷高久 メチレンブルー比色法と赤外吸収スペクトル法の併用による水中アルキルベンゼンスルホン酸塩の定量 BUNSEKI KAGAKU 21, 252 (1972)
- 9) 宇都宮暁子, 伊藤伸一, 節田節子, 内藤昭治, 下里武治 直鎖アルキルベンゼンスルホン酸ナトリウム(LAS)に関する研究(第1報)相模川河口流域底質中のLASについて 衛生化学, 26, 159 (1980)
- 10) 田中靖志, 中西弘 底質及び生物質中のドデシルベンゼンスルホン酸塩のセファデックスLH-20による分離精製と高速液体クロマトグラフィーによる定量 BUNSEKI KAGAKU 30, 569 (1981)