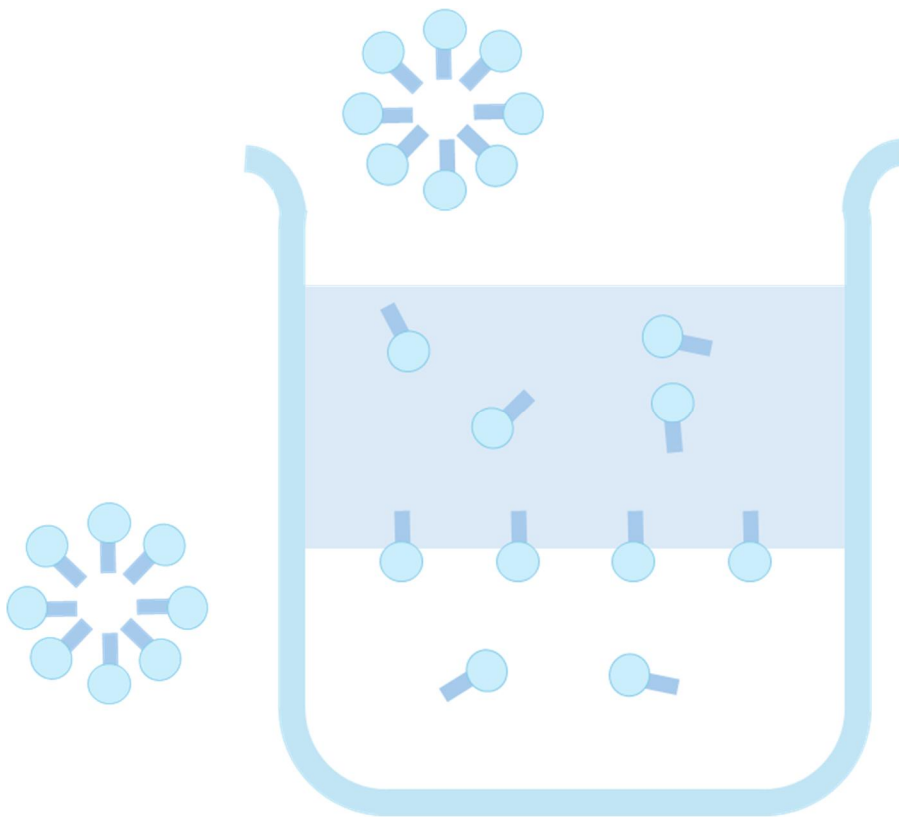


NITE 調査研究

「低速かくはん法による界面活性剤の 1-オクタノール/水分配係数測定」報告書

測定ガイダンス

「低速かくはん法による界面活性剤の 1-オクタノール/水分配係数」



令和 8 年 10 月版

独立行政法人 製品評価技術基盤機構(NITE)

化学物質管理センター

背景

界面活性作用を有する化学物質（以下、界面活性剤という。）は、洗浄剤などとして広く用いられており、その大部分が水環境へ排出される可能性があることから水生及び底生生物への影響が懸念される。このような水圏生態系に対する影響の評価には、有害性の情報とともに水中及び底質中における界面活性剤の暴露に関する情報が必須である。

1-オクタノール/水分配係数（以下、 P_{OW} という。）は、有機炭素補正土壌吸着係数や生物濃縮係数等の環境暴露の評価に必要なパラメータ値や有害性評価に必要な生態毒性値の推計において重要な物理化学的性状の 1 つと認識されている。しかしながら、界面活性剤は、両親媒性物質であることからミセルやエマルション形成、液/液界面や固/液界面での吸着などの性質があるため、 P_{OW} の測定が困難である。そのため、界面活性剤に対しては、溶解度比法や定量的構造物性相関モデルによる P_{OW} 推計が行われている。しかしながら、溶解度比法は被験物質の 1-オクタノール溶解度と水溶解度との比を P_{OW} と仮定しており、分配平衡が考慮されていないこと、加えて臨界ミセル濃度を水溶解度として代用していることから、値の不確実性が大きいと考えられている。また、現行の定量的構造物性相関モデルでは、トレーニングデータセットに界面活性剤のデータがほとんど含まれていないために信頼性が十分に評価できず、不確実性が大きい。

以上の状況を改善するため、独立行政法人製品評価技術基盤機構化学物質管理センターでは、低速かくはん法に着目して界面活性剤の信頼性の高い P_{OW} 測定手法を提案し、測定手法についてのガイダンスをまとめた。本ガイダンスは、低速かくはん法による界面活性剤の P_{OW} 測定手法を解説し、推奨される測定手順を記述した文書である。記載内容の信頼性確保のため、検討過程で得られた結果については学術誌などで公表するとともに、本ガイダンス作成に際しては、外部の専門家によるレビューも実施した。

本ガイダンスは現時点での知見・検証結果をもとに作成したものであり、今後新たな知見や他機関での検証結果等を踏まえて、適宜改訂を行う予定である。

学術誌での発表	
1.	小黒, 篠崎, 近藤, 藤原, 櫻谷 (2025) . 低速攪拌法を用いる界面活性剤の 1-オクタノール/水分配係数測定. 日本分析化学会誌, Vol.74, No.10-11, p.687-694 界面活性剤の P_{OW} 測定に対して低速かくはん法を適用した結果、臨界ミセル濃度を踏まえて試験濃度を設定すればよいこと、被験物質を添加する相互飽和溶媒（1-オクタノール飽和水又は水飽和 1-オクタノール）を変えても分配係数に影響を及ぼさないこと、利用目的に応じた緩衝液濃度の設定が重要であること、などが明らかとなった。
学会等での発表	
1.	Oguro, Odake, Shinozaki, Higuchi, Fujiwara (2022) . Evaluation of slow-stirring method for determining log Kow (n-octanol/water partition coefficient) of surfactants. ICCA-LRI and NITE Workshop 低速かくはん法を用いて、3 種類の界面活性剤（6 物質）の $\log P_{OW}$ を測定した結果、試験濃度範囲で一定の値が得られることが明らかとなった。これにより、低速かくはん法によって界面活性剤の $\log P_{OW}$ を適切に測定できることが示唆された。
2.	小黒, 近藤, 篠崎, 藤原 (2023) . 低速攪拌法を用いた界面活性剤の 1-オクタノール/水分配係数の測定. 日本分析化学会第 72 年会, 要旨集 p.163 低速かくはん法を用いて、4 種類の界面活性剤（6 物質）の $\log P_{OW}$ を測定した結果、試験濃度範囲で一定の値が得られること、被験物質を添加する相互飽和溶媒（1-オクタノール飽和水又は水飽和 1-オクタノール）変えても概ね同等の値が得られ、二相間の分配平衡が達成されていたことが明らかとなった。
3.	小黒, 近藤, 篠崎 (2024) . 界面活性剤の 1-オクタノール/水分配係数測定に及ぼすエマルション形成の影響. 第 62 回日本油化学会年会, 要旨集 p.115 低速かくはん法を用いた界面活性剤の $\log P_{OW}$ を測定した結果、一部の界面活性剤において濃度が高くなると $\log P_{OW}$ が低下する傾向が認められた。この原因について検討した結果、エマルションの形成が $\log P_{OW}$ の低下に寄与していることが明らかとなった。
4.	小黒, 篠崎, 近藤, 櫻谷 (2025) . 低速攪拌法による $\log D$ を用いたイオン性界面活性剤の生物濃縮係数の推定. 第 59 回日本水環境学会年会, 要旨集 p.523 低速かくはん法を用いたイオン性界面活性剤の $\log D$ 測定値と、既報の生物濃縮係数を比較した結果、アニオン界面活性剤では線形の関係が確認され、一方、カチオン界面活性剤は分子のサイズに関するパラメータを含めた重回帰モデルが適合することが明らかになった。
5.	Kondo, Oguro, Shinozaki, Yoshida, and Sakuratani (2026) . Optimization of the Slow-Stirring Method for Measuring 1-Octanol/Water Partition Coefficients of Surfactants and Application to Bioaccumulation Assessment. SETAC Europe 36th Annual Meeting 低速かくはん法を用いて測定した 4 種類の界面活性剤（30 物質）の $\log P_{OW}/D_{OW}$ は、変動が小さく高い信頼性を示した。アニオン界面活性剤では、既報の生物濃縮係数との相関が確認され、カチオン界面活性剤では $\log P_{OW}/D_{OW}$ に加えて分子量を考慮することで、生物蓄積性評価の有用性が示された。さらに、$\log P_{OW}/D_{OW}$ は生体膜への分配を反映する $\log K_{MW}/D_{MW}$ と一部の物質を除き強く相関し、生体膜との相互作用を反映する生物蓄積性評価指標としての有用性が示された。

6.	小黒, 篠崎, 近藤, 櫻谷 (2026) . 低速攪拌法により測定した $\log D_{OW}$ に基づく 界面活性剤の疎水性と構造との関係. 第 64 回日本油化学会年会, 要旨集 p.222
	4 種類の界面活性剤 (31 物質) を対象に低速かくはん法により $\log D_{OW}$ を測定し、疎水性と構造との関係を解析した結果、アルキル鎖長の $\log D_{OW}$ への寄与は概ね一定であることが明らかとなり、界面活性剤の $\log D_{OW}$ を予測するための経験パラメータが得られた。

目次

1.	はじめに	1
2.	意義と適用範囲	2
2.1.	意義	2
2.2.	適用範囲	2
2.3.	ガイダンスの構成	2
2.4.	定義	3
3.	方法の原理	3
3.1.	原理	3
3.2.	方法の適用範囲	3
4.	被験物質に関する情報	3
5.	試験方法	4
5.1.	装置及び器具	4
5.1.1.	低速かくはん法 P_{OW} 測定用平衡化容器の一例	5
5.1.2.	かくはん速度の設定	5
5.2.	試験溶液の調製	6
5.2.1.	溶媒	6
5.2.2.	溶媒の相互飽和	6
5.2.3.	被験物質添加液の調製及び初期濃度の設定	7
5.3.	平衡化時間の設定	8
5.3.1.	経時変化による設定【平衡化時間検討試験 (A)】	8
5.3.2.	両相添加による設定【平衡化時間検討試験 (B)、(C)】	9
5.4.	試験の実施	10
5.4.1.	二相の体積比	10
5.4.2.	試験条件	10
5.4.3.	試験の開始	10
5.4.4.	試料採取	11
5.4.5.	試験日程例	11
5.5.	試料調製と分析	12
6.	データ及び報告書	13
6.1.	$\log P_{OW}$ の計算方法	13
6.2.	試験の有効性	13
6.3.	試験報告書	14
7.	参考文献	14
8.	参考	16
8.1.	報告書例	16
8.2.	界面活性剤への適用例	17
8.2.1.	アニオン界面活性剤：ドデシル硫酸ナトリウム（略称：C12SO4）	17

8.2.2.	カチオン界面活性剤：n-ドデシルトリメチルアンモニウム クロリド（略称：C12TMAC）	19
8.2.3.	両性界面活性剤：2-(N-ドデシル-N,N-ジメチルアンモニオ)アセタート （略称：C12ADbetaine）	21
8.2.4.	非イオン界面活性剤：テトラエチレングリコールモノオクチルエーテル（略称：C8EO4）	23
8.3.	測定法の妥当性検証	25
8.4.	他機関の測定データとの比較	25
8.5.	JIS Z 7260-117 に基づく HPLC 法（保持係数 k）との比較	27
8.6.	溶解度比法との比較	28

別添 測定マニュアル「低速かくはん法による界面活性剤の 1-オクタノール/水分配係数」

1. はじめに

本ガイダンスは、1-オクタノール／水分配係数 (P_{OW}) の測定方法の 1 つである Organisation for Economic Co-operation and Development Test Guideline (OECD TG) 123 : Partition Coefficient (1-Octanol/Water): Slow-Stirring Method (低速かくはん法) をベースとして提案した界面活性作用を有する化学物質 (以下、界面活性剤という。) の P_{OW} 測定手法を解説し、推奨される測定手順や測定条件を記述した文書である。

P_{OW} の測定方法としては、フラスコ振とう法 (JIS Z 7260-107、OECD TG107) 及び高速液体クロマトグラフィー (以下、HPLC という。) 法 (JIS Z 7260-117、OECD TG117) がよく知られている。前者の方法は、振とうによって 1-オクタノールが水相へ移動するため、水相中に 1-オクタノールの液滴が形成し易く、水相にこれらの液滴が存在すると、特に高疎水性物質では、水中の被験物質の濃度が過大に評価され、 $\log P_{OW}$ 値が過小に評価される可能性がある。さらに、界面活性剤では、振とうによりエマルションが形成されやすく、これにより水相と 1-オクタノール相の相分離が阻害されるため、 $\log P_{OW}$ 値の正確な測定は一層困難となる。このように、フラスコ振とう法には適用範囲に一定の限界がある。一方、後者の方法は、HPLC の保持挙動と $\log P_{OW}$ の測定値との関係を校正するために、類似物質についての信頼性の高い $\log P_{OW}$ 実測データが必要であり、適用範囲は入手可能なデータの信頼性や数に依存する。したがって、信頼性の高い $\log P_{OW}$ 実測データが少ない、界面活性剤等の物質に対してこの方法を適用することは困難である。他の測定方法として、低速かくはん法 (OECD TG123) がある。この方法は、フラスコ振とう法よりも穏やかな混合により、水相中の 1-オクタノール液滴の形成を防ぎ、水相中被験物質の濃度の過大評価を低減することができる。このことから、フラスコ振とう法では適用困難とされた高疎水性物質 ($\log P_{OW} > 4$) の P_{OW} の測定が可能だとされている。一方で、低速かくはん法は、先行研究などで界面活性剤への適用も期待されているものの、最適な測定条件は明確になっていない。

いずれの測定方法も、界面活性剤への適用は推奨されていない又は測定条件が明確でないことから、界面活性剤の $\log P_{OW}$ 値については、定量的構造物性相関モデルや溶解度比法などによる推定が行われている。しかしながら、現行の定量的構造物性相関モデルの界面活性剤に対する信頼性はモデルのトレーニングデータセットに界面活性剤のデータがほとんど含まれていないために十分に評価できず、不確実性が大きいこと、また、溶解度比法は被験物質の 1-オクタノール溶解度と水溶解度との比を P_{OW} と仮定するものであること、加えて界面活性剤では水溶解度が明らかでなく臨界ミセル濃度 (以下、CMC という。) が水溶解度として代用されることが多いことから、 $\log P_{OW}$ 値としては不確実性が大きいと考えられている。

本ガイダンスは、これまでに実施した界面活性剤の $\log P_{OW}$ 値の不確実性の低減について検討したデータ等を基に提案した低速かくはん法による界面活性剤の P_{OW} 測定手法を解説し、推奨される手順を記述した文書である。なお、本ガイダンスは、本文及び別添の測定マニュアルの 2 つからなり、OECD TG123 及び JIS Z 7260-107 等を参考として作成した。

2. 意義と適用範囲

2.1. 意義

P_{OW} は、他の物理化学的性状及び環境毒性指標などとの間にさまざまな関係が確立されており、化学物質の環境リスクの評価及び環境中の化学物質の動態予測における重要なパラメータとして用いられる。図 1 に示すように、化学物質のリスク評価において P_{OW} は、水に対する溶解度、生物濃縮係数、有機炭素補正土壌吸着係数、植物（農作物）への濃縮係数や畜産物への移行係数などの各種推計に用いられる。

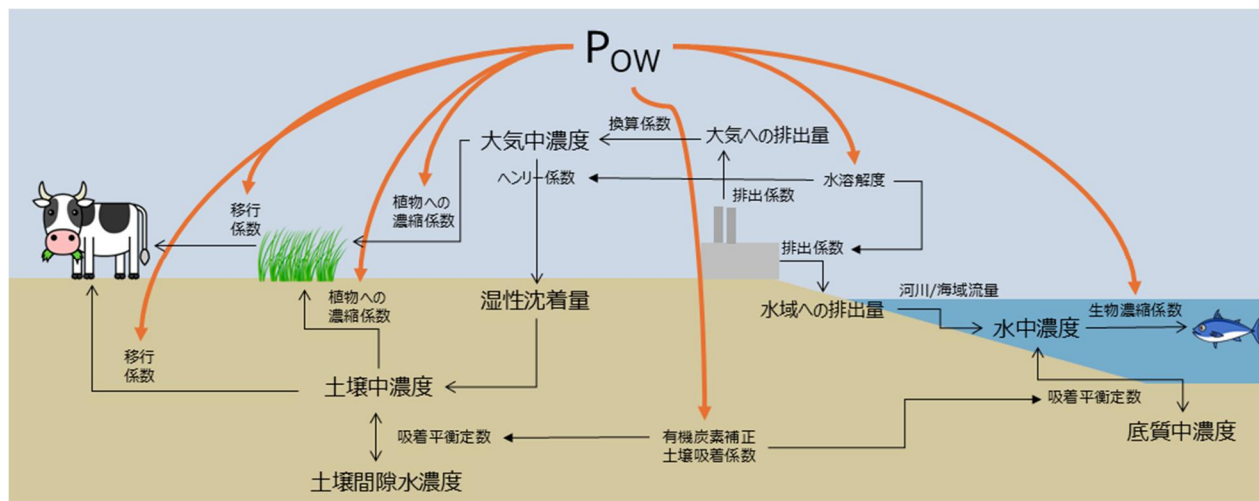


図 1 P_{OW}と暴露評価の各種パラメータとの関係

2.2. 適用範圍

本ガイダンスは、低速かくはん法による界面活性剤の P_{OW} の測定方法について示す。本測定方法は、低速でかくはんすることによる水相中の 1-オクタノール液滴形成の抑制効果を、界面活性剤によるエマルション形成能の低減に利用することで、界面活性剤の P_{OW} 測定を可能とする。

2.3. ガイダンスの構成

本ガイダンスは、はじめに (1.)、意義と適用範囲 (2.)、方法の原理 (3.)、被験物質に関する情報 (4.)、試験方法 (5.)、データ及び報告書 (6.) からなる。試験の流れは、図 2 に示した通りである。



図 2 試験の流れ

2.4. 定義

混ざり合わない溶媒間の被験物質の分配係数は、各溶媒に溶解した化学物質の分配平衡を特徴づけるものであり、 P_{OW} は、水で飽和した 1-オクタノール相中の被験物質濃度 (C_O) と 1-オクタノールで飽和した水相中の被験物質濃度 (C_W) の平衡濃度の比として定義される。

$$P_{OW} = C_O / C_W$$

P_{OW} は上述のとおり各相中の濃度の比であることから無次元であり、多くの場合、常用対数 ($\log P_{OW}$) で表される。

なお、 P_{OW} は非解離分子に対する定数であるが、非解離分子及び解離分子の両方の両相への分配を考慮した分配係数として D_{OW} (常用対数の場合は $\log D_{OW}$ あるいは $\log D$) が用いられることもある。本ガイドンスでは、 D_{OW} も含めて、 P_{OW} と称する。

3. 方法の原理

3.1. 原理

界面活性剤を対象としてフラスコ振とう法を用いた場合に起こる水中でのエマルションの形成は、低速かくはん法を用いることで抑制が可能である。1-オクタノールと水の間の平衡化はかくはんによって促進されるが、一般的なかくはんよりも低速であることでかくはんによる乱流が制限されるため、エマルション形成が抑制される。結果として水相に分散した 1-オクタノール液滴に含まれる被験物質分子が水相の分析の際に検出されることによる水中濃度の過大評価を防ぐ。平衡化後、二相中の被験物質の濃度を測定し、 $\log P_{OW}$ 値を決定する。

3.2. 方法の適用範囲

本法は、アニオン、カチオン、両性、非イオンの界面活性剤の P_{OW} 測定 ($\log P_{OW}$ の値が 0~4.5 の範囲) へ適用できる。被験物質以外の物質の存在は、分散平衡化に影響を及ぼす可能性があることから、分析グレード又は高純度 (>99%) な試薬の使用を推奨する。また、 P_{OW} の測定には、試験において pH と電解質組成を制御することが必要であり、解離物質では、イオン化の状態ごとに P_{OW} が測定できるように、試験目的に応じて適切な pH を試験条件として設定する必要がある。

低 CMC、難水溶性又は高 P_{OW} の物質は、水相中濃度が極めて低くなることから、精度の高い分析が困難になる可能性や試験実施の障害となる可能性がある。

4. 被験物質に関する情報

試験実施に先立ち、被験物質に関する情報 (例えば、構造式、純度 (不純物の情報を含む)、試験温度での CMC (試験温度がクラフト点以下の場合、試験温度での水溶解度)、クラフト点、1-オクタノール溶解度、pKa、被験物質に対して選択性の高い分析方法、 $\log P_{OW}$ 推定値、加水分解性等) の取得が有用である。CMC は試験時の被験物質濃度の設定に重要な役割を示すことから、試験時と同一の緩衝液における値の取得を推奨する。なお、CMC の測定法としては、濃度と表面張力曲線の関係から CMC を算出する表面張力法が一般的に用いられている。

また、 P_{OW} の推定には、定量的構造物性相関モデルや溶解度比法を利用することができる。表 1 に非イオン界面活性剤を対象とした定量的構造物性相関モデルによる $\log P_{OW}$ 推定例を示す。加えて、参考として、低速かくはん法による $\log P_{OW}$ 測定値及び溶解度比法による $\log P_{OW}$ 推定値も示す。

表 1 定量的構造物性相関モデルによる $\log P_{OW}$ 推定結果の比較

推定方法	F	F	A	A	A	A	T	T	F&T	参考値		
	KOWWIN	MiLogP	AlogP	WlogP	XlogP2	XlogP3	AlogPs	MlogP	Silicos-IT logP	低速	法	法
ソフトウェア	E	M	V	S	As	S	As	V	S	-	-	-
物質												
C8EO4	1.71	2.42	2.27	2.41	2.37	2.49	2.45	2.11	4.02	2.67 [†]	—	—
C12EO8	2.57	3.62	3.57	4.03	3.88	4.06	3.41	1.71	7.57	4.30 [†]	3.2 [‡]	3.2 [‡]

C8EO4：テトラエチレングリコールモノオクチルエーテル、C12EO8：オクタエチレングリコールモノドデシルエーテル

F：フラグメント法、A：原子寄与法、T：トポロジー法等

E：EPI Suite v4.11、M：Molinspiration Cheminformatics、V：VEGA-QSAR v1.2.4、

S：SwissADME、As：Virtual Computational Chemistry Laboratory

†：NITE による測定データ、‡：G. Hodges *et al.* (2019)

定量的構造物性相関モデルとしては、EPI Suite(KOWWIN)、VEGA-QSAR(AlogP)などの $\log P_{OW}$ の推定機能を含むソフトウェアプログラムが数多く開発され、また、SwissADME のような各種アルゴリズムを用いて推定を行う Web サービスも存在している。しかしながら、界面活性剤ではモデルの適用が適切ではない場合がある。表 1 に示した推定方法による C8EO4 の $\log P_{OW}$ 値は 1.71～4.02 であり、C12EO8 では 1.71～7.57 と大きなばらつきが生じている。このため、モデルの適用範囲や類似物質への予測精度を確認することが望ましい。なお、将来的には、実測値による検証や、精度の高い実測値を学習データとして用いることにより、これらのモデルの予測精度が向上することが期待される。一方で、溶解度比法は両相への溶解度の比を使用するため、不確実性が大きいことに留意する必要がある。

5. 試験方法

5.1. 装置及び器具

標準的な装置や器具に加え、特に以下のものが必要である。

- ・ 相互飽和用容器：材質が適切で試験に必要な溶媒量に見合う容量を有するもの
- ・ マグネティックスターラー：低速時に安定なかくはんが可能な性能を持つもの
- ・ スターラーバー：テフロン等でコーティングされ、かくはん時に泡が生じない形状のもの
- ・ 恒温槽又は恒温室：スターラーを使用できる環境が整っているもの

- ・ 平衡化容器：ふた付きで、コックが底にあるかくはん容器。表面材質が不活性であることが望ましい。容器は透明で、かくはんにより生じる渦の形状を外部から確認できること、また容器底部においてスターラーバーが長時間安定して回転できる形状であるもの。
- ・ pH 計：試験目的に応じて適切な測定精度を有するもの

5.1.1. 低速かくはん法 P_{OW} 測定用平衡化容器の一例

図 3 に平衡化容器例（250 mL ガラス製ねじ口びん（内容積 300 mL））を示す。

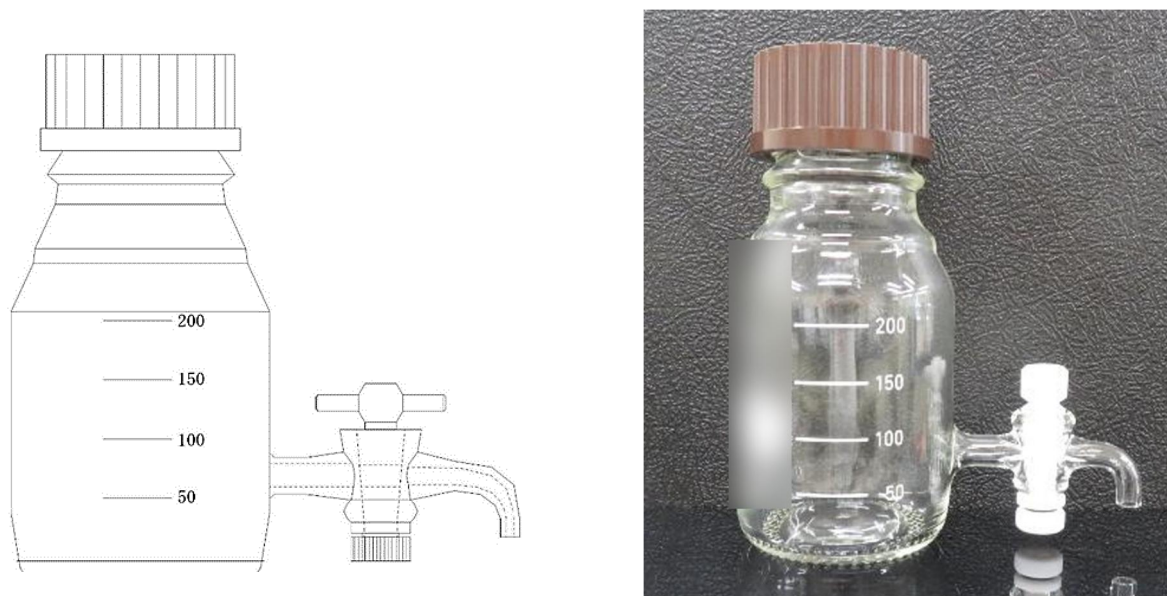
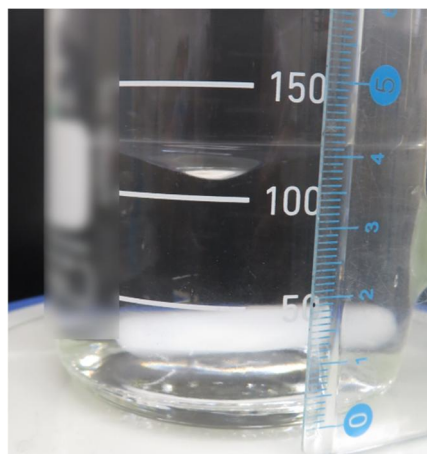


図 3 低速かくはん法 P_{OW} 測定用平衡化容器（左：模式図、右：写真）

5.1.2. かくはん速度の設定

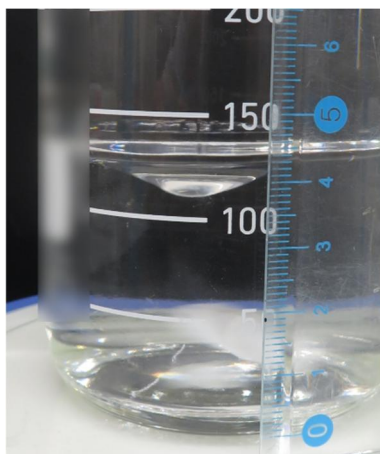
エマルション形成を抑制するため、1-オクタノールと水の界面に 0.5～1.5 cm の深さの渦ができるスターラーバーの種類及びかくはん速度について、試験前に検討することを推奨する。高疎水性物質を対象とした OECD TG123 の場合、リングテスト検証試験の結果に基づいて、推奨される最大かくはん速度は渦の深さ 2.5 cm とされている。界面活性剤を対象とする場合、エマルション形成を抑制するため、上記の値より渦抑制が確実な 0.5～1.5 cm の深さの渦ができるように調整する。このため、平衡化時間が延びる可能性があり、5.3 項「平衡化時間の設定」の平衡化時間検討試験等によって分配平衡が達成されたことを確認しておくことも重要である。

図 4、図 5 に界面に発生する渦の深さによるかくはん速度の検討例（シリンダー型スターラーバー：直径 0.8 cm×長さ 4 cm）を示す。検討には、5.1.1 項の平衡化容器を使用し、水及び 1-オクタノールの体積比を 1:1(150 mL/150 mL)とした。図 4 の右図は、かくはん速度が過大であるために 1-オクタノール相と水相の二相が分離せず、混合してしまっている例である。



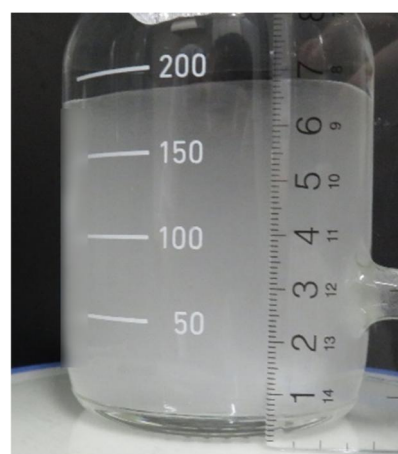
渦の深さ：0.4 cm

かくはん速度：100 rpm



渦の深さ：0.7 cm

かくはん速度：120 rpm



渦の深さ：不明（混合）

かくはん速度：350 rpm

図 4 かくはん速度の検討例（シリンダー型スターラーバー：直径 0.8 cm×長さ 4 cm）

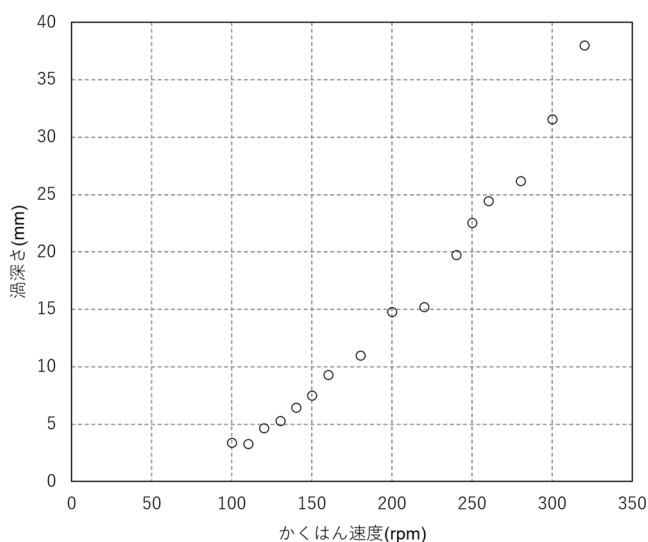


図 5 かくはん速度と渦の深さの関係の例

5.2. 試験溶液の調製

5.2.1. 溶媒

使用する水は、HPLC 用と同等以上のグレードのものを推奨する。また、1-オクタノールは、分配係数測定用あるいは分析用グレード以上の試薬の使用を推奨する。

解離物質を対象とした測定では、試験目的に応じて適切な pH を試験条件として設定する必要がある。pH 7.0 での試験の場合、リン酸緩衝液などの使用を推奨する。

5.2.2. 溶媒の相互飽和

水と 1-オクタノールは、両溶媒相を試験温度で平衡化させ、相互に飽和させる必要がある。容器を 2 つ用意し、一方には 1-オクタノールと飽和に十分な量の水を入れ、もう一方には水と飽和に十分な量

の 1-オクタノールを入れ、穏やかに 24 時間以上の振とう又はかくはんを実施する。振とう又はかくはん後、それぞれの容器の二相が分離するまで試験温度で静置する。分相後は、比重差により上相となる 1-オクタノール相を別の容器に採取する。次に、下相の水相を別の容器に採取する。その際、相境界付近は混合が生じやすいため、採取を避ける。なお、試験において緩衝液を用いない場合は、水相の pH を測定し、試験前の pH として記録する。

5.2.3. 被験物質添加液の調製及び初期濃度の設定

被験物質を添加する相互飽和溶媒（以下、添加相という。）は水相、1-オクタノール相のどちらでも良い。被験物質添加液は添加相と同じ溶媒（1-オクタノール飽和水又は水飽和 1-オクタノール）で調製する必要がある。被験物質添加液を添加した直後の、完全混合を仮定した添加相全体における理論的濃度（以下、初期濃度という。）は、被験物質添加液の濃度、添加量および添加相量から算出する。また、添加相が水相の場合は CMC（試験温度がクラフト点以下の場合、試験温度での水溶解度）、1-オクタノール相の場合は 1-オクタノール溶解度を超えない範囲で、完全に溶解するように調製する必要がある。

初期濃度は CMC、 $\log P_{OW}$ 推定値及び被験物質の分析感度を考慮して設定する。また、 $\log P_{OW}$ の算出に当たっては希薄溶液で測定する必要がある、被験物質の濃度がいずれの相でも 0.1 M 以下であることが望ましい。加えて、初期濃度が高い場合、界面活性剤によるエマルションが形成され、これが $\log P_{OW}$ 値に影響を及ぼすことがある。一方、初期濃度を過度に低く設定した場合には、分析感度の問題が生じる可能性がある。エマルション形成を抑制できる条件として、初期濃度/CMC（以下、CMC 比という。）が 1 以下である必要があり、CMC 比 0.1~0.3 以下を推奨する。

図 6 に CMC 比と $\log P_{OW}$ の関係についての検討例を示す。測定は、別添の測定マニュアルに示した手順で実施した。被験物質は 4 種類の界面活性剤で、初期濃度は CMC 比 0.1、0.3、0.5、0.7、0.9（各 $n = 1$ ）とした。

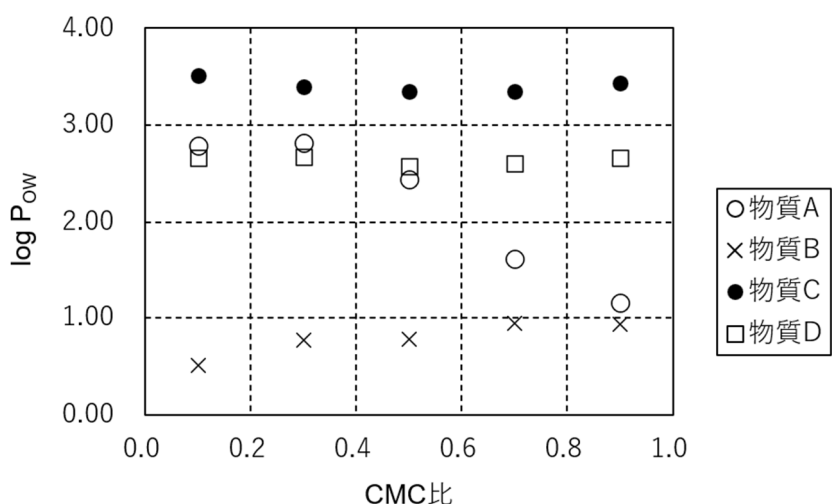


図 6 CMC 比と $\log P_{OW}$ の関係（小黑ら 2025 の図を改変）

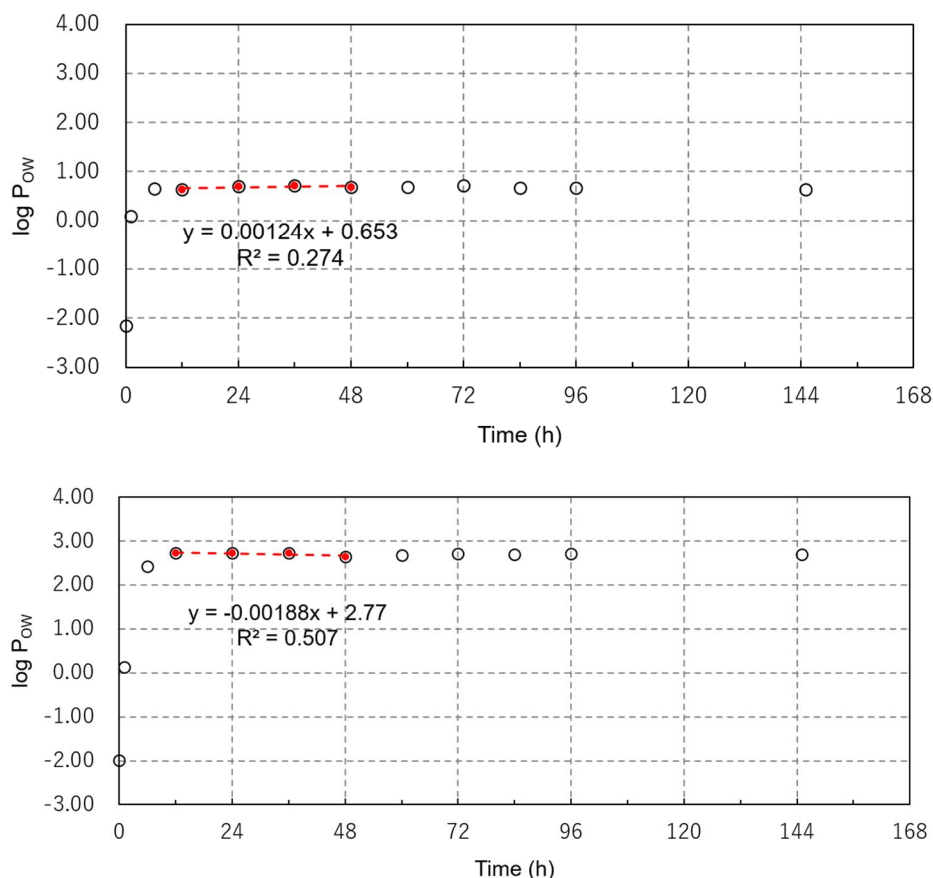
JIS Z 7260-107 の試験の有効性基準（6 個の $\log P_{OW}$ 値が ± 0.3 の範囲内に入ること）を参考に、変動幅の許容基準を平均値 ± 0.3 とした場合、 $\log P_{OW}$ の変動幅は両性界面活性剤（物質 C）では最小値 3.34、最大値 3.51、非イオン界面活性剤（物質 D）では最小値 2.58、最大値 2.67 で、いずれも平均値 ± 0.3 以内であり、変動幅の許容基準を十分満たした。また、カチオン界面活性剤（物質 B）の $\log P_{OW}$ は最小値 0.505、最大値 0.940 を示し、増加傾向であるものの、その変動幅は平均値 ± 0.3 以内であった。一方で、アニオン界面活性剤（物質 A）の $\log P_{OW}$ は CMC 比 0.1、0.3 においてそれぞれ 2.79、2.82 を示し、概ね一定の値であったが、CMC 比 0.5 以上では著しく減少した。以上のように濃度依存性が一部で認められたことから、初期濃度の設定は重要であり、試験前に CMC 比と $\log P_{OW}$ の関係について検討することを推奨する。

5.3. 平衡化時間の設定

5.3.1. 経時変化による設定【平衡化時間検討試験（A）】

1-オクタノール相と水相を定期的に試料採取する試験（A）を実施する。経時的に 4 回以上連続で測定した $\log P_{OW}$ の回帰直線の傾きが有意水準を 0.05 としてゼロと有意な差が認められないとき分配平衡が達成されたと判定する。

図 7 は検討結果の一例である。検討対象は 2 種類（カチオン（物質 E）、非イオン（物質 F））の界面活性剤で、初期濃度は CMC 比 0.1（ $n = 1$ ）とした。測定は、経時変化を確認するため、かくはん開始時点を時間 0 とし、1、6、12、24、36、48、60、72、84、96、145 時間後に、同一容器から各相 100 μL ずつ採取した。試料採取後は再度かくはんを開始した。なお、かくはん停止後の静置時間は 5 分とし、この静置時間はかくはん時間に含めた。その他の操作は、別添の測定マニュアルに示す手順に準拠した。

図 7 $\log P_{ow}$ とかくはん時間の関係 (上: 物質 E、下: 物質 F)

その結果、カチオン界面活性剤 (物質 E) の場合、かくはん開始から 12 時間以降の 4 回以上連続した測定値 (図中の赤い丸) の回帰直線の傾きがゼロと有意な差 ($p > 0.05$) がなかったことから、12 時間以上のかくはんで分配平衡に達したものと考えられた。また、非イオン界面活性剤 (物質 F) の場合、かくはん開始から 12 時間以降の 4 回以上連続した測定値 (図中の赤い丸) の回帰直線の傾きがゼロと有意な差 ($p > 0.05$) がなかったことから、12 時間以上のかくはんで分配平衡に達したものと考えられた。なお、被験物質によって平衡化時間は異なるものと推測されるので、注意が必要である。

5.3.2. 両相添加による設定【平衡化時間検討試験 (B)、(C)】

1-オクタノール相に被験物質を添加する試験 (B) 及び水相に被験物質を添加する試験 (C) から得た同一かくはん時間における $\log P_{ow}$ に有意水準 0.05 で有意な差が認められないとき、分配平衡が達成されたと判定する。なお、この条件を満たす場合には、平衡化時間検討はかくはん時間を 1 条件とした測定でも十分であるものとするが、再現性を確保するため、各条件において繰り返し測定 ($n = 3$ 以上) を行うこと。

図 8 は検討結果の一例である。検討対象は 2 種類 (アニオン (物質 G)、両性 (物質 H)) の界面活性剤で、初期濃度は CMC 比 0.1 ($n = 3$) とした。測定方法は、1 時間から 72 時間までの同一のかくはん時間における両相添加による $\log P_{ow}$ の差を確認するため、かくはん開始時点を時間 0 とし、1、2、4、24、48、72 時間後に、同一容器から各相 100 μL ずつ採取した。試料採取後は再度かくはんを開始

した。なお、かくはん停止後の静置時間は 5 分とし、この静置時間はかくはん時間に含めた。その他の操作は、別添の測定マニュアルに示す手順に準拠した。

その結果、アニオン界面活性剤（物質 G）では 24 時間以降、両性界面活性剤（物質 H）では 48 時間以降の試験（B）及び（C）の測定値に有意な差がなかった。以上のことから、物質 G では 24 時間、物質 H では 48 時間以上のかくはんで分配平衡に達したものと考えられた。

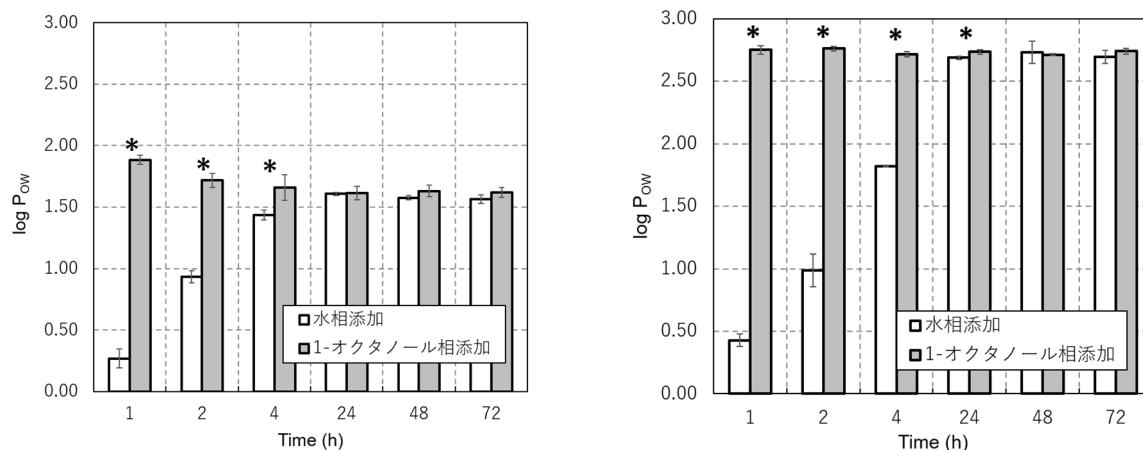


図 8 被験物質を 1-オクタノール相又は水相へ添加した場合の log P_{OW} とかくはん時間の関係
(左：物質 G、右：物質 H) * p<0.05

5.4. 試験の実施

5.4.1. 二相の体積比

1-オクタノール飽和水と水飽和 1-オクタノールの体積比は 1:1 を推奨する。5.1.1 項の平衡化容器例の場合、それぞれ 150 mL が適切である。

5.4.2. 試験条件

かくはん速度は 5.1.2 項「かくはん速度の設定」、平衡化時間は 5.3 項「平衡化時間の設定」で設定した値とする。静置時間（かくはん停止から試料採取までの時間）は 1 時間を目安とする。また、本ガイドンスでは、物性値の取得を目的に、試験温度の基準条件を 25±1℃とする。ただし、試験目的に応じて適切な温度で試験することも可能である。pH については、試験目的に応じて適切な条件を設定する。

なお、同一条件で 3 試料以上の試験を行う。

5.4.3. 試験の開始

平衡化容器に設定した容量の 1-オクタノール飽和水を入れ、水相に被験物質を添加する場合は、所定量の被験物質（1-オクタノール飽和水に溶解したもの）を泡立たないように添加する。次に、水相との混合を避けるため、水飽和 1-オクタノールを壁面に沿って、極めてゆっくり添加する。1-オクタノール相に被験物質を添加する場合は、所定量の被験物質（水飽和 1-オクタノールに溶解したもの）を注意深く壁面に沿って、極めてゆっくり添加する。次に、平衡化容器を揺らさないようフタを閉め、スターラーの上にゆっくりと置き、エマルション形成を抑制するため、スターラーのかくはん速度を徐々に上げ、設定速度に調整して試験を開始する。

5.3 項「平衡化時間の設定」試験で設定した平衡化時間が経過したら、スターラーの回転を止め、かくはんを停止する。水相又は 1-オクタノール相、あるいは両相がエマルジョン形成等により白濁した場合、白濁が $\log P_{OW}$ 値に影響しないことを確認する必要がある。白濁は、CMC 比を下げる、あるいは平衡化時間を延長すると改善する場合がある。



図 9 試験風景

5.4.4. 試料採取

かくはん停止から 1 時間後に、1-オクタノール相の中央部から適切な量の試料を採取する。次に、平衡化容器にあるコックから水相の試料採取を行う。コック内にある水はかくはんされていないため平衡状態にないことから、デッドボリューム（5.1.1 項の平衡化容器例の場合、10 mL）として 1-オクタノールと水の界面がかく乱されないようにゆっくりと排出し、廃棄する。続いて水相を静かに採取する。なお、緩衝液を用いない場合は、水相の pH を測定し、試験後の pH として記録する。

採取した 1-オクタノール相及び水相試料はそのまま、あるいは希釈、濃縮などの前処理を行い、被験物質に対して選択的な方法で分析を実施する。なお、物質収支計算では、廃棄した水に含まれる被験物質質量も考慮すること。

5.4.5. 試験日程例

表 2 に試験日程例を示す。なお、この日程には分析の日程は含まれていない。

表 2 試験日程例

手順	項目		開始日（終了日）	備考
1	溶媒の相互飽和	調製・かくはん	1 日目（2 日目）	かくはん 1 日の場合
		静置	2 日目（7 日目）	静置 5 日の場合
2	被験物質の調製	—	7 日目	—
3	試験開始	—	7 日目（9 日目）	平衡化時間 2 日の場合
4	試験の終了	試料採取	9 日目	—

5.5. 試料調製と分析

log P_{OW} 値の算出には、水で飽和した 1-オクタノール相中の被験物質濃度と 1-オクタノールで飽和した水相中の被験物質濃度を検証された分析方法を使用して測定することが必要である。1-オクタノール相及び水相の被験物質濃度が定量下限を超えている必要があることから、分析感度を考慮して濃縮が必要となる場合がある。一方で、必要に応じて適当な溶媒で希釈して分析することも可能である。試料採取や濃縮、希釈の操作において、吸着性の高い界面活性剤の場合には、十分に共洗いを行うなどして、吸着による損失に注意する。なお、界面活性剤の分析では、装置等からのコンタミネーションの影響を受けやすい。そのため、コンタミネーションの影響を受けない、あるいは影響が少ない手順で分析を実施する必要がある。界面活性剤分析でよく用いられる液体クロマトグラフィー質量分析法（以下、LC/MS という。）であれば、ディレイカラム（リテンションギャップ）法等の利用が可能である（図 10）。ディレイカラム法は、試料と装置由来の界面活性剤を分けることでコンタミネーションを防ぐ手法である。原理は、移動相の有機溶媒率が低いとき、移動相や流路にあった界面活性剤（▲）がディレイカラムで保持され、その状況下で下流の注入口から界面活性剤（●）を含む試料を導入すると、試料由来の界面活性剤（●）は分離分析カラムで保持される（①）。移動相の有機溶媒率を徐々に高めると、ディレイカラムや分離分析カラムに保持された界面活性剤が移動を開始し（②）、試料に由来する分離分析カラムで保持されていた界面活性剤（●）が先に検出器に導入され、ピークとして検出される（③）。続いて移動相や流路にあった界面活性剤（▲）が検出器に導入され、ピークとして検出される（④）。

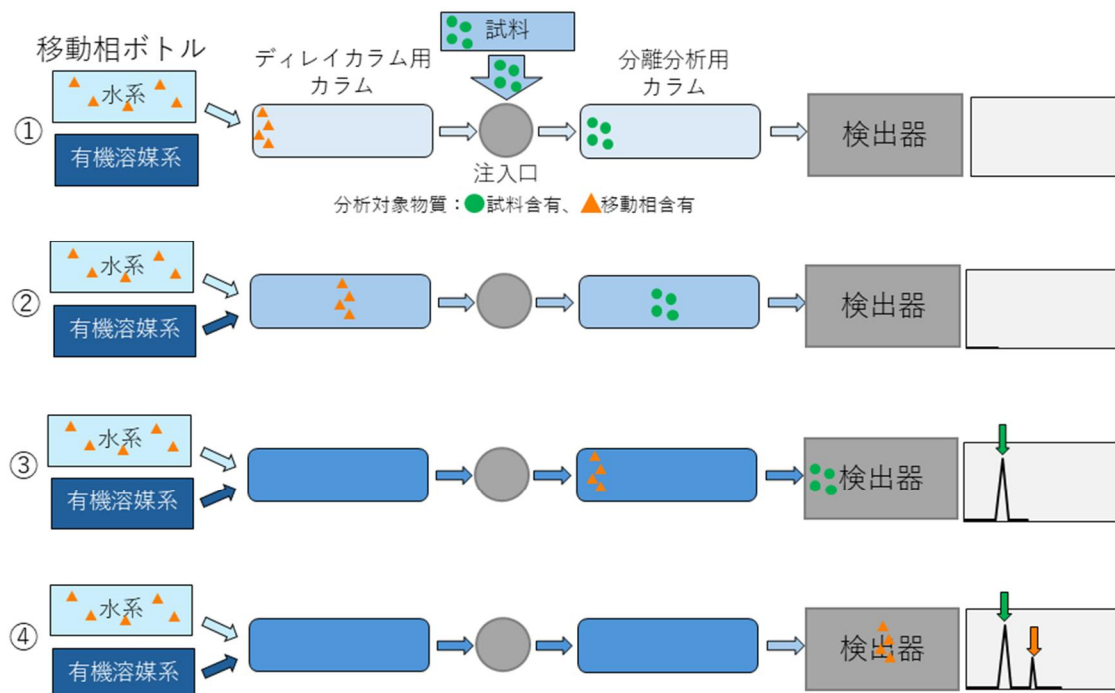


図 10 ディレイカラム（リテンションギャップ）法の原理

検量線の作成は JIS K 0050「化学分析方法通則」、JIS K 0124「高速液体クロマトグラフィー通則」、JIS K 0136「高速液体クロマトグラフィー質量分析通則」等を参考に、適切に実施する。また、検出下限値は、JIS K 0124「高速液体クロマトグラフィー通則」、JIS K 0136「高速液体クロマトグラフィー質量分析通則」等を参考に決定する。

6. データ及び報告書

log P_{OW} 値は、同一条件の試験を 3 回以上実施することで決定する。

6.1. log P_{OW} の計算方法

log P_{OW} の値は以下の式によって求める。ここで、C_O は 1-オクタノール相中の被験物質濃度と C_W は水相中の被験物質濃度とする。

$$\log P_{OW} = \log_{10} (C_O / C_W)$$

log P_{OW} の平均値、標準偏差及び相対標準偏差（変動係数）を求め、また、試験開始時に添加した被験物質の量と試験後のそれぞれの相の被験物質の合計量を比較し、物質収支の確認を行う。物質収支は、原則として 70-120%程度を目安とする。

6.2. 試験の有効性

同一条件の低速かくはん法を 3 回以上実施する。得られた値が平均値±0.3 以内であることが望ましい。

6.3. 試験報告書

試験報告書には、次の情報を含める必要がある。

- ・ 被験物質
 - ✓ 同定情報（例えば、物質名、CAS 登録番号、構造式等）
 - ✓ 物理化学的情報（例えば、CMC、水溶解度、1-オクタノール溶解度等）
 - ✓ 純度（不純物の情報を含む）
 - ✓ $\log P_{OW}$ 推定値
- ・ 試験条件
 - ✓ 試験実施日
 - ✓ 試験温度
 - ✓ 平衡化容器、スターラーバーの形状・仕様
 - ✓ 被験物質の添加量及び添加相
 - ✓ 試験開始時の水及び 1-オクタノールの量
 - ✓ 試験 pH（試験前後）
 - ✓ 緩衝液の組成、濃度
 - ✓ 試験数
 - ✓ かくはん条件（スターラー回転速度、渦の深さ、かくはん時間）
 - ✓ 静置時間（かくはん停止から試料採取までの時間）
- ・ 試験結果
 - ✓ 分析方法
 - ✓ 検量線、定量下限値
 - ✓ 平衡化時間検討試験結果
 - ✓ 試験液の白濁の有無
 - ✓ $\log P_{OW}$ 平均値、標準偏差及び相対標準偏差
 - ✓ 物質収支の確認結果

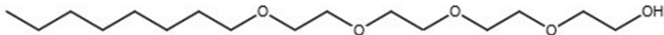
7. 参考文献

- D. J. Miller, P. McWilliams, (2010). Octanol-Water Partition Coefficients of Surfactants: Slow Stirring/Surface Tension Method, Tenside Surfactants Detergents, 47, 28-33
- D. J. Miller, P. McWilliams, (2012). Nonionic Surfactants: Octanol-Water Partition Coefficients with the Slow Stirring/Surface Tension Method, Tenside Surfactants Detergents, 49, 124-128
- ECHA: Guidance on Information Requirements and Chemical Safety Assessment, Chapter R.7a, Endpoint specific guidance (最終アクセス 2026/03/11)
- ECHA: Information on Chemicals – Registered substances
- G. Hodges, C. Eadsforth, B. Bossuyt, A. Bouvy, M.-H. Enrici, M. Geurts, M. Kotthoff, E. Michie, D. Miller, J. Müller, G. Oetter, J. Roberts, D. Schowanek, P. Sun and J. Venzmer, (2019). A comparison of $\log K_{ow}$ (n-octanol–water partition coefficient) values for non-ionic, anionic, cationic and amphoteric surfactants determined using predictions and experimental methods, Environ. Sci. Eur., 31, 1

- J. Short, J. Roberts, D. W. Roberts, G. Hodges, S. Gutsell, R. S. Ward, (2010). Practical methods for the measurement of log *P* for surfactants, *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 73, 1484-1489
- JIS K 0050 : 2019. 化学分析方法通則.
- JIS K 0124 : 2011. 高速液体クロマトグラフィー通則.
- JIS K 0136 : 2015. 高速液体クロマトグラフィー質量分析通則.
- JIS Z 7260-107 : 2000. 分配係数 (1-オクタノール/水) の測定－フラスコ振とう法－
- JIS Z 7260-117 : 2006. 分配係数 (1-オクタノール/水) の測定－高速液体クロマトグラフィー－
- Molinspiration Cheminformatics free web services, <https://www.molinspiration.com/> (最終アクセス 2025/12/3)
- OECD (1995). Test No. 107: Partition Coefficient (n-octanol/water): Shake Flask Method. OECD Guideline for the Testing of Chemicals, Section 1.
- OECD (2022). Test No. 117: Partition Coefficient (n-octanol/water), HPLC Method. OECD Guideline for the Testing of Chemicals, Section 1.
- OECD (2022). Test No. 123: Partition Coefficient (1-Octanol/Water): Slow-Stirring Method. OECD Guideline for the Testing of Chemicals, Section 1.
- K. Oguro, H. Otake, H. Shinozaki, M. Higuchi and A. Fujiwara (2022) . Evaluation of slow-stirring method for determining log Kow (n-octanol/water partition coefficient) of surfactants, ICCA-LRI and NITE Workshop
- SwissADME Web page, <https://www.swissadme.ch/> (最終アクセス 2025/12/3)
- US EPA. (2012). Estimation Programs Interface Suite™ for Microsoft® Windows, v 4.11. United States Environmental Protection Agency, Washington, DC, USA.
- VEGA QSAR v1.2.4, <https://www.vegahub.eu/portfolio-item/vega-qsar/> (最終アクセス 2025/12/3)
- Virtual Computational Chemistry Laboratory, ALOGPS 2.1 Web page, <https://vcclab.org/lab/alogps/> (最終アクセス 2025/12/3)
- 小黒, 近藤, 篠崎, 藤原 (2023) . 低速撹拌法を用いた界面活性剤の 1-オクタノール/水分配係数の測定. 日本分析化学会第 72 年会, 要旨集 p.163
- 小黒, 近藤, 篠崎 (2024) . 界面活性剤の 1-オクタノール/水分配係数測定に及ぼすエマルション形成の影響. 第 62 回日本油化学会年会, 要旨集 p.115
- 小黒, 篠崎, 近藤, 櫻谷 (2025) . 低速撹拌法による logD を用いたイオン性界面活性剤の生物濃縮係数の推定. 第 59 回日本水環境学会年会, 要旨集 p.523
- 小黒, 篠崎, 近藤, 藤原, 櫻谷 (2025) . 低速撹拌法を用いる界面活性剤の 1-オクタノール/水分配係数測定. 日本分析化学会誌, Vol.74, No.10-11, p.687-694

8. 参考

8.1. 報告書例

区分	項目	内容
被験物質	物質名	テトラエチレングリコールモノオクチルエーテル
	CAS 登録番号	19327-39-0
	構造式	
	物理化学的情報	CMC : 10 mM、1-オクタノール溶解度 : 混和
	純度	99%
	log P _{OW} 推定値	1.71~4.02
試験条件	試験実施日	2025/01/20
	試験温度	25℃
	平衡化容器	コックが底にあるかくはん容器 : 容器実容量 300 mL
	スターラーバー	シリンダー型スターラーバー : 直径 0.8 cm × 長さ 4 cm
	被験物質の添加量及び添加相	48 mg を水相へ添加 (CMC 比 0.10)
	試験開始時の水及び 1-オクタノールの量	水 150 mL、1-オクタノール 150 mL
	試験 pH (前後)	pH 7.0
	緩衝液の組成、濃度	10 mM リン酸緩衝液 (pH 7.0)
	試験数 (反復数)	3
	かくはん条件	回転速度 : 120 rpm、渦の深さ : 1.5 cm、かくはん時間 : 48 h
	静置時間	1 h
	分析方法	LC-MS 分析 (別添資料参照)
	検量線	別添資料参照
試験結果	定量下限値	別添資料参照
	平衡化時間	かくはん時間 12、16、24、48 時間で測定した log P _{OW} の回帰直線の傾きは、ゼロと有意な差が認められなかった。
	試験液の白濁の有無	無し
	log P _{OW} (反復 1)	2.75

	log P _{OW} (反復 2)	2.71
	log P _{OW} (反復 3)	2.71
	平均値	2.72
	標準偏差 (SD)	0.024
	相対標準偏差 (RSD)	0.88%
	物質収支	111 ± 5.3%

8.2. 界面活性剤への適用例

8.2.1. アニオン界面活性剤：ドデシル硫酸ナトリウム（略称：C12SO4）

- ・ 試験条件
 - ✓ 被験物質 CAS 登録番号：151-21-3、初期濃度：CMC 比 0.14、添加相：水
 - ✓ 緩衝液：10 mM リン酸緩衝液 (pH 7.0)
 - ✓ かくはん：48 時間、静置：1 時間、温度：25°C
- ・ 分析条件
 - ✓ 分析カラム：C18、ディレイカラム：C18
 - ✓ 移動相：10%メタノール-100%メタノール (2 mM 酢酸アンモニウム)、グラジエント
 - ✓ イオン源：ESI ネガティブイオンモード

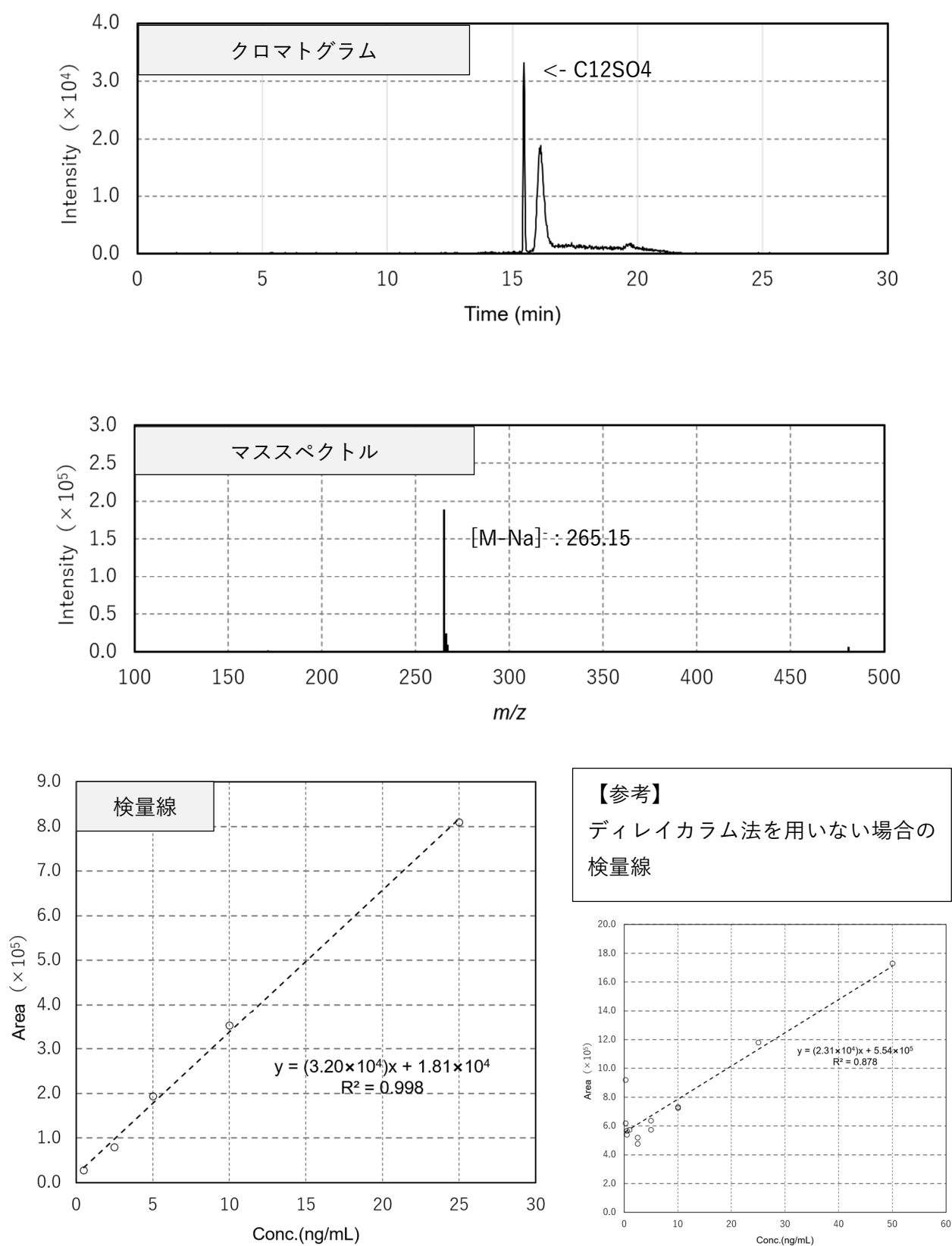


図 11 測定例：C12SO4 のクロマトグラム及び検量線

表 3 測定例：C12SO4 の log P_{ow}

物質名	log Pow (反復 1)	log Pow (反復 2)	log Pow (反復 3)	平均値	標準偏差 (SD)	相対標準 偏差 (RSD)	物質収支
C12SO4	1.60	1.58	1.64	1.61	0.030	1.9%	114±4.9%

8.2.2. カチオン界面活性剤：n-ドデシルトリメチルアンモニウム クロリド（略称：C12TMAC）

- ・ 試験条件
 - ✓ 被験物質 CAS 登録番号：112-00-5、初期濃度：CMC 比 0.08、添加相：水
 - ✓ 緩衝液：10 mM リン酸緩衝液（pH 7.0）
 - ✓ かくはん：48 時間、静置：1 時間、温度：25°C
- ・ 分析条件
 - ✓ 分析カラム：C18、ディレイカラム：C18
 - ✓ 移動相：10%メタノール-100%メタノール（0.1%ギ酸）、グラジエント
 - ✓ イオン源：ESI ポジティブイオンモード

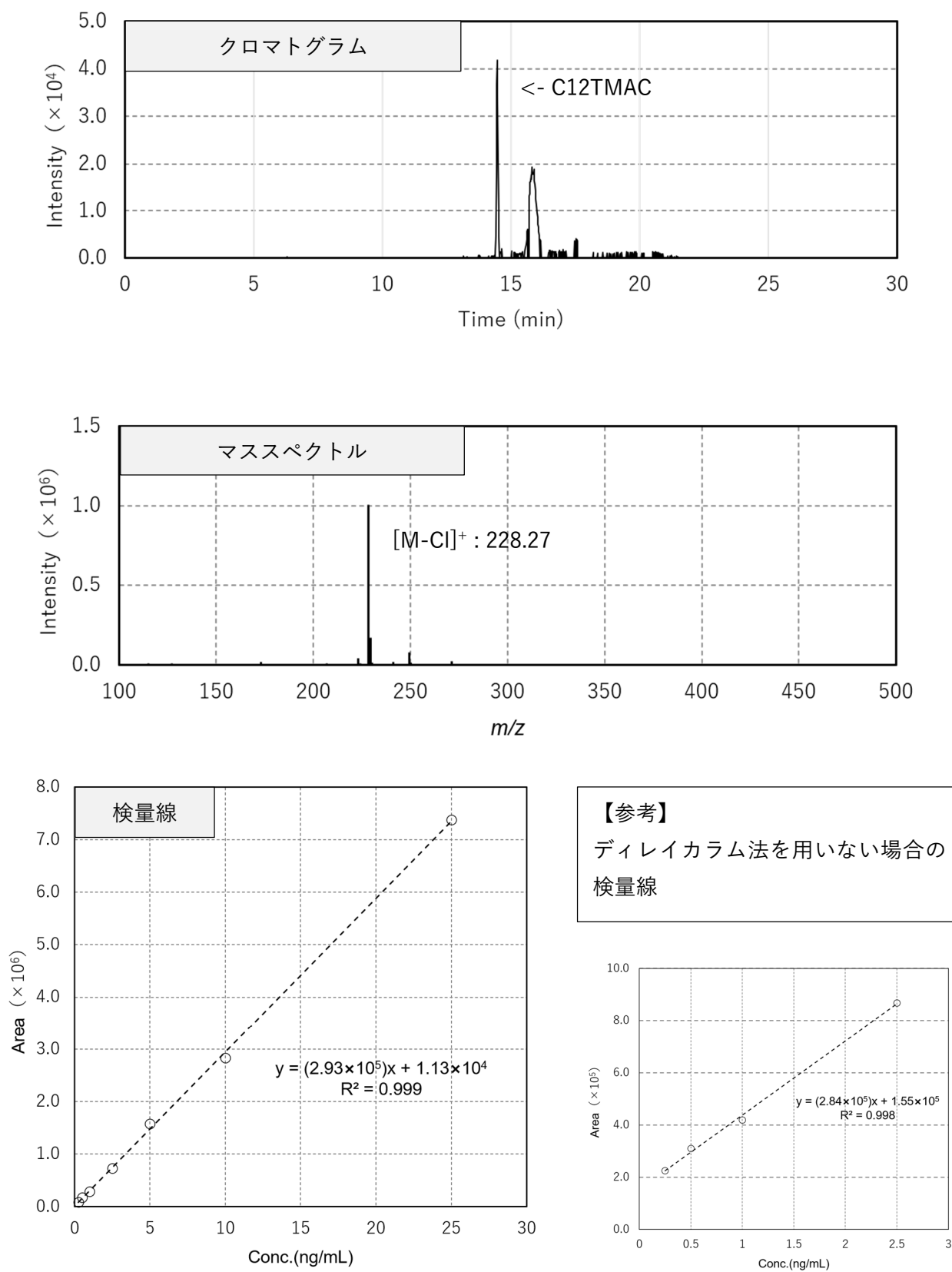


図 12 測定例：C12TMAC のクロマトグラム及び検量線

表 4 測定例：C12TMAC の log P_{OW}

物質名	log P _{OW} (反復 1)	log P _{OW} (反復 2)	log P _{OW} (反復 3)	平均値	標準偏差 (SD)	相対標準 偏差 (RSD)	物質収支
C12TMAC	0.655	0.671	0.634	0.647	0.019	2.9%	112 ± 3.0%

8.2.3. 両性界面活性剤：2-(N-ドデシル-N,N-ジメチルアンモニオ) アセタート（略称：C12ADbetaine）

- ・ 試験条件
 - ✓ 被験物質 CAS 登録番号：683-10-3、初期濃度：CMC 比 0.13、添加相：水
 - ✓ 緩衝液：10 mM リン酸緩衝液（pH 7.0）
 - ✓ かくはん：48 時間、静置：1 時間、温度：25°C
- ・ 分析条件
 - ✓ 分析カラム：C18、ディレイカラム：C18
 - ✓ 移動相：10%メタノール-100%メタノール（0.1%ギ酸）、グラジエント
 - ✓ イオン源：ESI ポジティブイオンモード

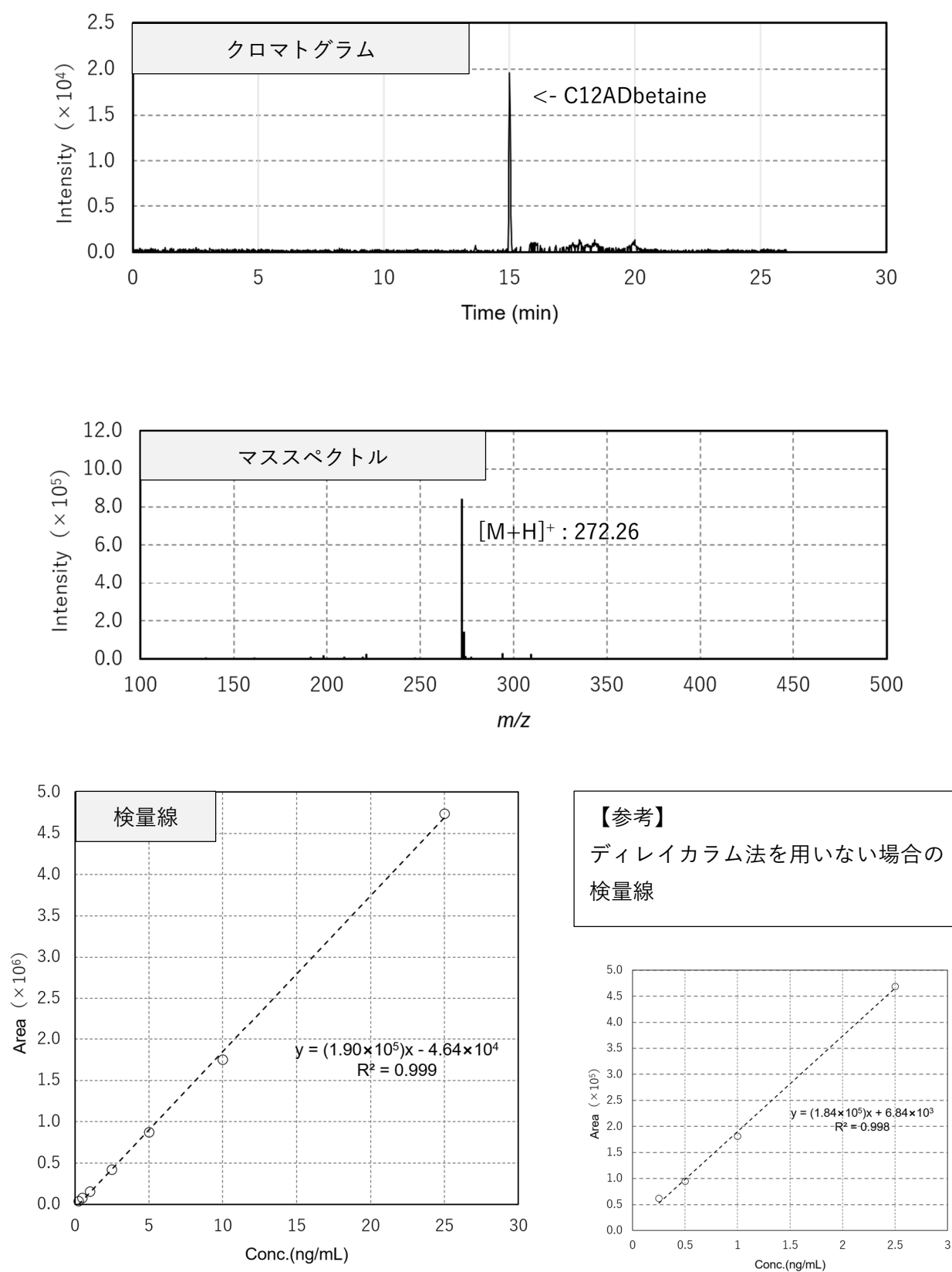


図 13 測定例：C12ADbetaine のクロマトグラム及び検量線

表 5 測定例：C12ADbetaine の log P_{OW}

物質名	log P _{OW} (反復 1)	log P _{OW} (反復 2)	log P _{OW} (反復 3)	平均値	標準偏差 (SD)	相対標準 偏差 (RSD)	物質収支
C12AD betaine	2.51	2.61	2.61	2.58	0.056	2.2%	70±3.7%

8.2.4. 非イオン界面活性剤：テトラエチレングリコールモノオクチルエーテル（略称：C8EO4）

- ・ 試験条件
 - ✓ 被験物質 CAS 登録番号：19327-39-0、初期濃度：CMC 比 0.10、添加相：水
 - ✓ 緩衝液：10 mM リン酸緩衝液（pH 7.0）
 - ✓ かくはん：48 時間、静置：1 時間、温度：25℃
- ・ 分析条件
 - ✓ 分析カラム：C18、ディレイカラム：C18
 - ✓ 移動相：10%メタノール-100%メタノール（0.1%ギ酸）、グラジエント
 - ✓ イオン源：ESI ポジティブイオンモード

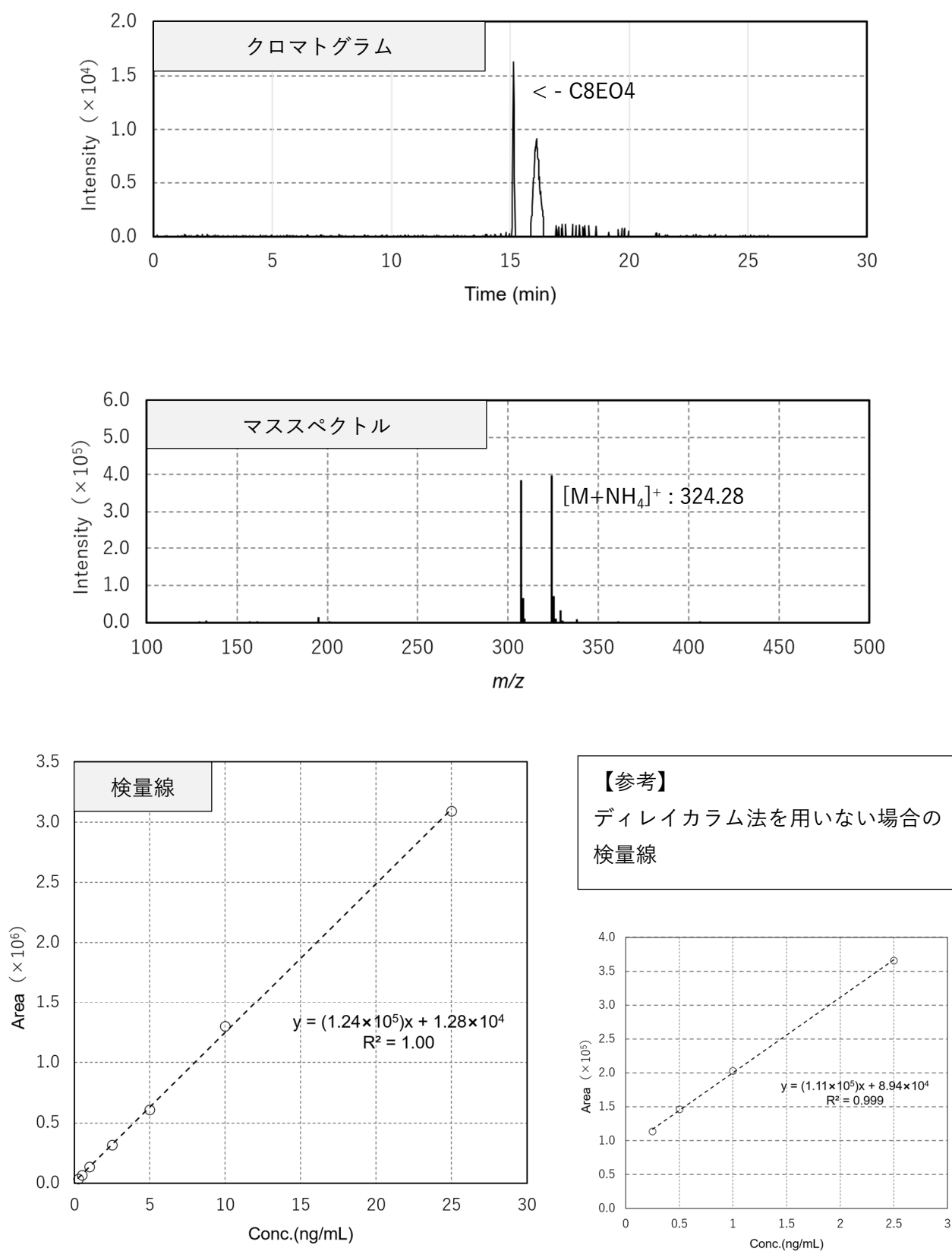


図 14 測定例：C8EO4 のクロマトグラム及び検量線

表 6 測定例：C8EO4 の log P_{OW}

物質名	log P _{OW} (反復 1)	log P _{OW} (反復 2)	log P _{OW} (反復 3)	平均値	標準偏差 (SD)	相対標準 偏差 (RSD)	物質収支
C8EO4	2.75	2.71	2.71	2.72	0.024	0.88%	111 ± 5.3%

8.3. 測定法の妥当性検証

- ・ 試験条件
 - ✓ 被験物質：C8EO4、C12TMAC、初期濃度 CMC 比 0.1、添加相：水
 - ✓ 緩衝液：10 mM リン酸緩衝液 (pH 7.0)
 - ✓ かくはん：48 時間、静置：1 時間、試験温度：25℃
 - ✓ 試験数：3 試験 (3 試料/試験、各試験は別日実施)

表 7 試験の妥当性検証の結果

試験 (試験番号-試料番号)	log P _{OW}	
	C12TMAC	C8EO4
1-1	0.655	2.75
1-2	0.671	2.71
1-3	0.634	2.71
2-1	0.665	2.66
2-2	0.643	2.63
2-3	0.636	2.61
3-1	0.634	2.68
3-2	0.646	2.66
3-3	0.618	2.63
平均値	0.645	2.67
標準偏差	0.017	0.046
相対標準偏差	2.6%	1.7%

- ・ 相対標準偏差は両物質とも 5%未満で、測定方法の精度は問題ないと考えられた。

8.4. 他機関の測定データとの比較

- ・ 試験条件
 - ✓ 被験物質：C12SO4、C8EO4、初期濃度：CMC 比 0.1、添加相：水
 - ✓ 緩衝液：10 mM リン酸緩衝液 (pH 7.0)

✓ かくはん：48 時間、静置：1 時間、試験温度：25℃

表 8 測定機関の比較

種類	他機関	NITE	備考
C12SO4	$1.47 \pm 0.019 (n = 3)$	$1.54 \pm 0.056 (n = 9)$	有意差なし ($p > 0.05$)
C8EO4	$2.63 \pm 0.012 (n = 3)$	$2.67 \pm 0.067 (n = 9)$	有意差なし ($p > 0.05$)

- ・ 外部機関及び NITE による測定結果の 2 群の差を検定した結果、有意な差 ($p > 0.05$) は無かったことから、測定機関間での再現性は良好であった。

8.5. JIS Z 7260-117 に基づく HPLC 法（保持係数 k）との比較

分析条件

- ✓ 分析カラム：C18
- ✓ 移動相：68.5%メタノール（0.2%ギ酸、2 mM 酢酸アンモニウム）
- ✓ イオン源：ESI ネガティブイオンモード（アニオン）、ESI ポジティブイオンモード（アニオン以外）

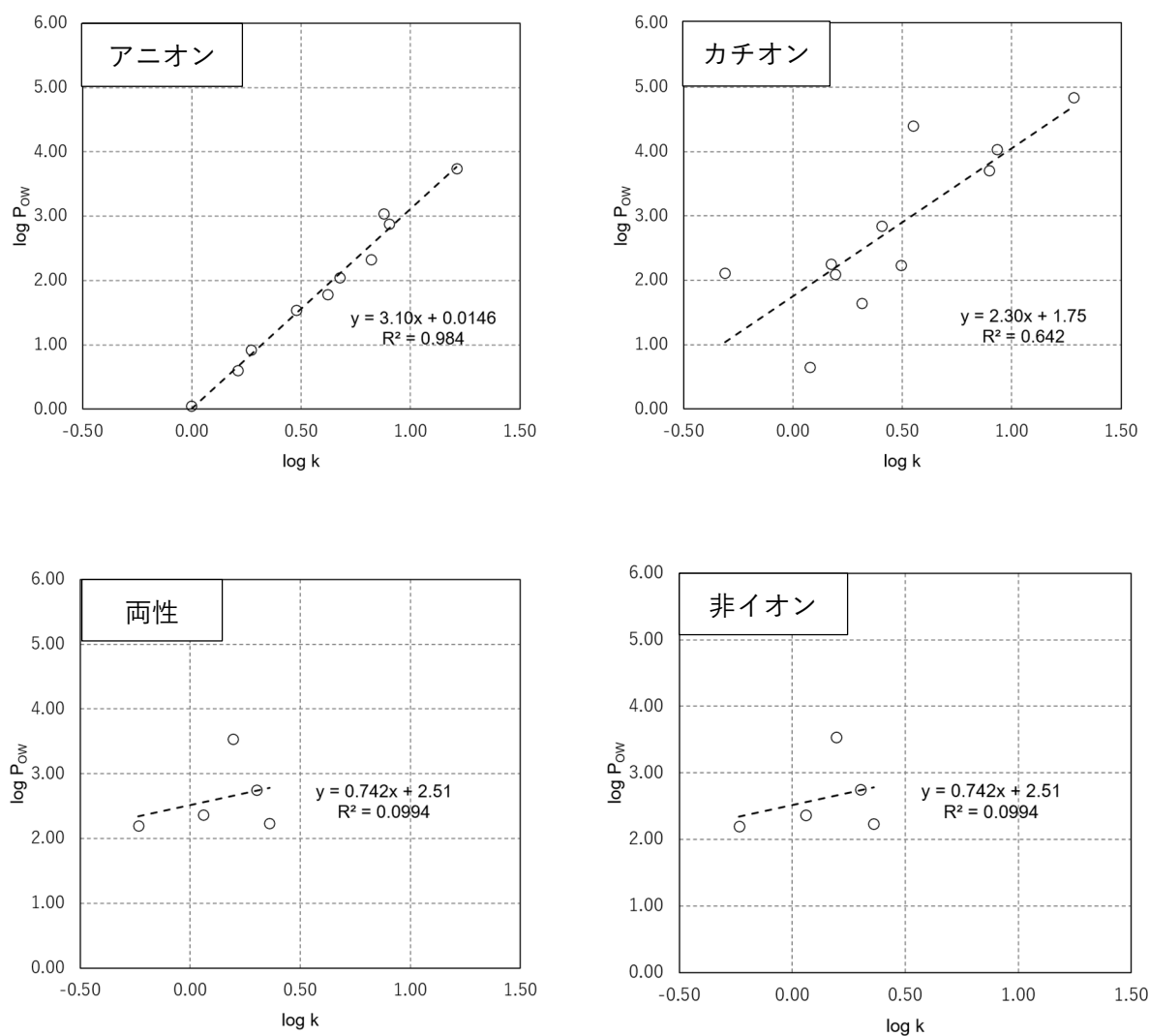


図 15 低速かくはん法と HPLC 法（保持係数 k）による $\log P_{ow}$ の比較

8.6. 溶解度比法との比較

試験条件

- ✓ 被験物質：アニオン 2 物質・カチオン 9 物質・両性 4 物質・非イオン 2 物質、初期濃度：CMC 比 0.9 以下、添加相：水又は 1-オクタノール
- ✓ 緩衝液：10 mM リン酸緩衝液 (pH 7.0)
- ✓ かくはん：48 時間、静置：1 時間、試験温度：25℃

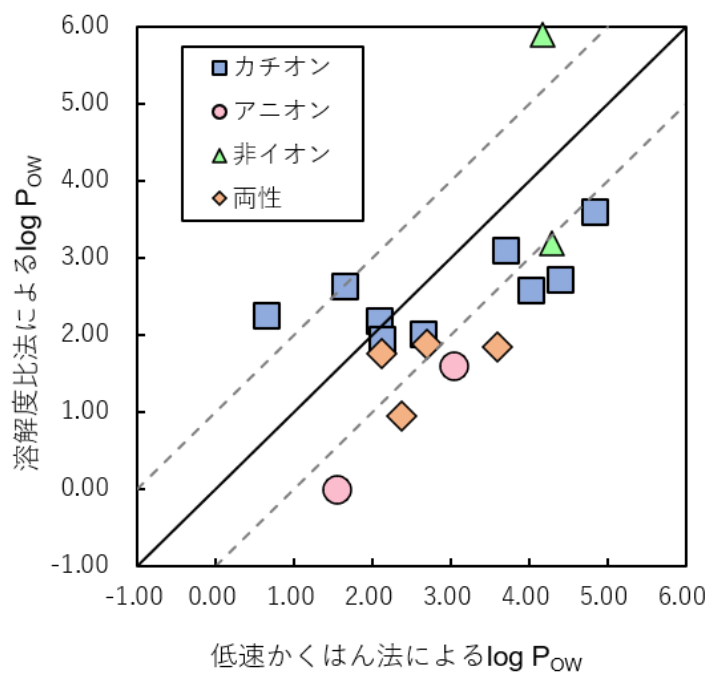


図 16 低速かくはん法と溶解度比法による $\log P_{ow}$ の比較

作成

独立行政法人製品評価技術基盤機構 化学物質管理センター リスク評価課

外部レビュアー（五十音順）

小山 一祐 一般財団法人化学物質評価研究機構 久留米事業所 主査
木島 雄平 日本石鹼洗剤工業会 環境・安全専門委員会 委員長
窪田 和代 富士フイルム株式会社 ESG 推進部 環境・品質マネジメント部 安全性評価センター
小林 剛 横浜国立大学大学院 環境情報研究院 自然環境と情報部門 教授
酒井 秀樹 東京理科大学 創域理工学部 先端化学科 教授
宮地 繁樹 株式会社ハトケミジャパン 代表取締役

<別添> 「測定マニュアル：低速かくはん法による界面活性剤の 1-オクタノール/水分配係数」

NITE 調査研究

「低速かくはん法による界面活性剤の 1-オクタノール/水分配係数測定」報告書別添

測定マニュアル

「低速かくはん法による界面活性剤の 1-オクタノール/水分配係数」

令和 8 年 10 月版

独立行政法人 製品評価技術基盤機構(NITE)

化学物質管理センター

1. はじめに

このマニュアルは、1-オクタノール／水分配係数（ P_{OW} ）の測定方法の 1 つである Organisation for Economic Co-operation and Development Test Guideline（OECD TG）123：Partition Coefficient（1-Octanol/Water）: Slow-Stirring Method（低速かくはん法）をベースに、界面活性作用を有する化学物質（以下、界面活性剤という。）の P_{OW} 測定を行うにあたり推奨される手順を記述した文書である。

2. 構成と定義

2.1. マニュアルの構成

マニュアルは、はじめに（1.）、構成と定義（2.）、方法の原理と適用範囲（3.）、被験物質に関する情報（4.）、試験方法（5.）、データ及び報告書（6.）からなる。試験の流れは、図 1 に示した通りである。



図 1 試験の流れ

2.2. 定義

混ざり合わない溶媒間の被験物質の分配係数は、各溶媒に溶解した物質の分配平衡を特徴づけるものであり、 P_{OW} は、水で飽和した 1-オクタノール相中の被験物質濃度（ C_O ）と 1-オクタノールで飽和した水相中の被験物質濃度（ C_W ）の平衡濃度の比として定義される。

$$P_{OW} = C_O / C_W$$

P_{OW} は上述のとおり各相中の濃度の比であることから無次元であり、多くの場合、常用対数（ $\log P_{OW}$ ）で表される。

なお、 P_{OW} は非解離分子に対する定数であるが、非解離分子及び解離分子の両方の両相への分配を考慮した分配係数として D_{OW} （常用対数の場合は $\log D_{OW}$ あるいは $\log D$ ）が用いられることもある。本書では、 D_{OW} も含めて、 P_{OW} と称する。

3. 方法の原理と適用範囲

3.1. 原理

界面活性剤を対象としてフラスコ振とう法を用いた場合に起こる水中でのエマルションの形成は、低速かくはん法を用いることで抑制が可能である。低速かくはん法は、水相中の 1-オクタノール液

滴の形成を減少させると考えられ、結果として水相に分散した 1-オクタノール液滴に含まれる被験物質分子が水相の分析の際に検出されることによる水中濃度の過大評価を防ぐと考えられている。低速かくはん法では、水、1-オクタノール及び被験物質を一定温度条件下で平衡化する。1-オクタノールと水の間の平衡化はかくはんによって促進されるが、一般的なかくはんよりも低速であることでかくはんによる乱流が制限されるため、エマルション形成が抑制される。平衡化後、二相中の被験物質の濃度を測定し、 $\log P_{OW}$ 値を決定する。

3.2. 適用範囲

アニオン、カチオン、両性、非イオンの界面活性剤の P_{OW} 測定へ適用できる。

$\log P_{OW}$ の値が 0～4.5 の範囲は、本法で測定することができる。

被験物質以外の物質の存在は、分散平衡化に影響を及ぼす可能性があることから、高純度な試薬の使用を推奨する。

被験物質の試薬に他の物質が不純物として含まれる場合、測定された $\log P_{OW}$ 値は、混合物の組成と試験で使用する水相中の電解質の組成に影響を受ける可能性があることに注意が必要である。 P_{OW} の測定には、試験において pH と電解質組成を制御することが必要である。解離物質では、イオン化の状態ごとに P_{OW} が測定できるように、試験目的に応じて適切な pH を試験条件として設定する必要がある。

解離物質の環境動態と生物学的利用能についての情報を得る場合、pH 7（及び pH 5～9 の間）の試験を推奨する。

イオン強度は、バックグラウンド電解質を使用することなどによって、全ての試験で同条件となるように設定する必要がある。

臨界ミセル濃度（以下、CMC という。）が低い、難水溶性又は高 P_{OW} の物質は、水相中濃度が極めて低くなることから、精度の高い分析が困難になる可能性や試験実施の障害となる可能性がある。

4. 被験物質に関する情報

試薬は分析グレード又は高純度（>99%）の使用を推奨する。

試験実施に先立ち、被験物質に関する以下の情報が有用である。

- ・ 構造式
- ・ 純度（不純物の情報を含む）
- ・ 試験温度での CMC（試験温度がクラフト点以下の場合、試験温度での水溶解度）
- ・ クラフト点
- ・ 1-オクタノール溶解度
- ・ 加水分解性
- ・ pKa
- ・ 被験物質に対して選択性の高い分析方法
- ・ $\log P_{OW}$ 推定値

CMC は試験時の被験物質濃度の設定に重要な役割を示すことから、試験時と同一の緩衝液における値の取得を推奨する。

log P_{OW} の推定には、両相への溶解度の比を使用することもできるが、不確実性が大きいことに留意する必要がある。

5. 試験方法

5.1. 装置及び器具

標準的な装置や器具に加え、特に以下のものが必要である。

- ・ 相互飽和用容器：材質が適切で試験に必要な溶媒量に見合う容量を有するもの
- ・ マグネティックスターラー：低速時に安定なかくはんが可能な性能を持つもの
- ・ スターラーバー：テフロン等でコーティングされ、かくはん時に泡が生じない形状のもの
- ・ 恒温槽又は恒温室：スターラーを使用できる環境が整っているもの
- ・ 平衡化容器：ふた付きで、コックが底にあるかくはん容器。表面材質が不活性であることが望ましい。容器は透明で、かくはんにより生じる渦の形状を外部から確認できること、また容器底部においてスターラーバーが長時間安定して回転できる形状であるもの。
- ・ pH 計：試験目的に応じて適切な測定精度を有するもの

5.2. 試験溶液の調製

5.2.1. 溶媒

水は、蒸留水、再蒸留水、純水製造システムから入手した純水、HPLC 用グレード以上の試薬の使用を推奨する。

1-オクタノールは、分配係数測定用あるいは分析用グレード以上の試薬の使用を推奨する。

解離物質を対象とした測定では、試験目的に応じて適切な pH を試験条件として設定する必要がある。

pH 7.0 での試験の場合、リン酸緩衝液などの使用を推奨する。

- ・ リン酸緩衝液の組成例 : 5 mM Na_2HPO_4 、5 mM NaH_2PO_4 、1 mM NaN_3

5.2.2. 溶媒の相互飽和

水と 1-オクタノールは、測定前に両溶媒相を試験温度で平衡化させ、相互に飽和させる必要がある。

十分に大きな容器を 2 つ用意し、一方には 1-オクタノールと飽和に十分な量、例えば 1-オクタノールの 1/10 倍量の水を入れ、もう一方には水と飽和に十分な量、例えば水の 1/10 倍量の 1-オクタノールを入れ、穏やかに 24 時間以上の振とう又はかくはんを実施する。

振とう又はかくはん後、それぞれの容器の二相が分離するまで試験温度で静置する（数日）。分相後は、比重差により上相となる 1-オクタノール相を別の容器に採取する。次に、下相の水相を別の容器に採取する。なお、相境界付近は混合が生じやすいため、採取を避ける。なお、試験において緩衝液を用いない場合は、水相の pH を測定し、試験前の pH として記録する。

5.2.3. 被験物質添加液の調製及び初期濃度の設定

被験物質を添加する相互飽和溶媒（以下、添加相という。）は水相、1-オクタノール相のどちらでも良い。

被験物質添加液は添加相と同じ飽和溶媒（1-オクタノール飽和水又は水飽和 1-オクタノール）で調製する。

被験物質添加液を添加した直後の、完全混合を仮定した添加相全体における理論的濃度（以下、初期濃度という。）は、被験物質添加液の濃度、添加量および添加相量から算出する。また、添加相が水相の場合は CMC（試験温度がクラフト点以下の場合、試験温度での水溶解度）、1-オクタノール相の場合は 1-オクタノール溶解度を超えない範囲で、完全に溶解するように調製する必要がある。

初期濃度は CMC、 $\log P_{OW}$ 推定値及び被験物質の分析感度を考慮して設定する。

$\log P_{OW}$ の算出に当たっては希薄溶液で測定する必要がある、被験物質の濃度がいずれの相でも 0.1 M 以下であることが望ましい。

初期濃度は、 $\log P_{OW}$ 値に影響を及ぼすことがあることから、少なくとも CMC よりも低い、すなわち、初期濃度/CMC（以下、CMC 比という。）が 1 以下である必要がある、CMC 比 0.1~0.3 以下を推奨する。

5.3. 予備検討

5.3.1. かくはん速度の設定

エマルション形成を抑制するため、試験前に 1-オクタノールと水の界面に 0.5~1.5 cm の深さの渦ができるスターラーバーの種類及びかくはん速度について、試験前に検討することを推奨する。

5.3.2. 平衡化時間の設定

5.4 項に示した試験手順を用いて、1-オクタノール相と水相を定期的に試料採取する平衡化時間検討試験（A）を実施する。経時的に 4 回以上測定した $\log P_{OW}$ の回帰直線の傾きが有意水準を 0.05 としてゼロと有意な差が認められないとき分配平衡が達成されたと判定する。

又は 1-オクタノール相に被験物質を添加する平衡化時間検討試験（B）及び水相に被験物質を添加する平衡化時間検討試験（C）から得た同一かくはん時間における $\log P_{OW}$ に有意水準 0.05 で有意な差が認められないとき、分配平衡が達成されたと判定する。なお、この条件を満たす場合には、平衡化時間検討はかくはん時間を 1 条件とした測定でも十分であるものとするが、再現性を確保するため、各条件において繰り返し測定（ $n=3$ 以上）を行うこと。

5.4. 試験の実施

5.4.1. 二相の体積比

1-オクタノール飽和水と水飽和 1-オクタノールの体積比は 1:1 を推奨する。

5.4.2. 試験条件

本マニュアルでは、試験温度の基準条件を $25 \pm 1^\circ\text{C}$ とする。ただし、試験目的に応じて適切な温度で試験することも可能である。

かくはん速度は 5.3.1.項で設定した 1-オクタノールと水の界面に 0.5～1.5 cm の深さの渦ができる値に調整する。

平衡化時間は 5.3.2.項で設定した時間とする。

静置時間（かくはん停止から試料採取までの時間）は 1 時間を目安とする。

被験物質の特性を考慮して、必要に応じて、平衡化容器をアルミホイルで遮光するなど暗所で実施する。

同一条件で 3 試料以上の試験を行う。

5.4.3. 試験の開始

平衡化容器に設定した容量の 1-オクタノール飽和水を入れる。

水相に被験物質を添加する場合は、ここで所定量の被験物質（1-オクタノール飽和水に溶解したもの）を泡立たないように添加する。

水相との混合を避けるため、水飽和 1-オクタノールを壁面に沿って、極めてゆっくり添加する。水飽和 1-オクタノールの滴が直接水相に落ちることがあってはならない。

1-オクタノール相に被験物質を添加する場合は、所定量の被験物質（水飽和 1-オクタノールに溶解したもの）を注意深く壁面に沿って、極めてゆっくり添加する。

揺らさないよう平衡化容器のフタを閉め、平衡化容器をスターラーの上にゆっくりと置く。

スターラーのかくはん速度を徐々に上げ、5.3.1.項で設定した 1-オクタノールと水の界面に 0.5～1.5 cm の深さの渦ができる値に調整する。エマルション形成を抑制するため、渦の深さの制御は重要である。

5.3.2.項で設定した平衡化時間が経過したら、スターラーの回転を止め、かくはんを停止する。

水相又は 1-オクタノール相、あるいは両相が白濁した場合、白濁が $\log P_{OW}$ 値に影響しないことを確認する必要がある。白濁は、CMC 比を下げる、あるいは平衡化時間を延長すると改善する場合がある。

白濁の有無は、動的光散乱法等によって確認することができる。

5.4.4. 試料採取

かくはん停止から 1 時間後に、1-オクタノール相の中央部に例えばピペットの先端を挿入し、適切な量の 1-オクタノールを採取する。

平衡化容器にあるコックから水相の試料採取を行う。コック内にある水はかくはんされていないため平衡状態にないことから、デッドボリュームとして 1-オクタノールと水の界面がかく乱されないようにゆっくりと排出し、廃棄する。続いて水相を静かに採取する。なお、緩衝液を用いない場合は、水相の pH を測定し、試験後の pH として記録する。

上記で採取した 1-オクタノール相及び水相試料はそのまま、あるいは希釈、濃縮などの前処理を行って分析する。分析は被験物質に対して選択的な方法が望ましい。なお、物質収支計算では、廃棄した水に含まれる被験物質質量も考慮すること。

5.5. 試料調製と分析

log P_{OW} 値の算出には、水で飽和した 1-オクタノール相中の被験物質濃度 (C_O) と 1-オクタノールで飽和した水相中の被験物質濃度 (C_W) を、検証された分析方法を用いて測定することが必要である。

1-オクタノール相及び水相の被験物質濃度が定量下限を超えている必要がある。

試料の濃度や分析感度によっては試料の濃縮が必要な場合がある。1-オクタノール相及び水相からの被験物質の添加回収試験を行い、回収率等を明らかにするなど、試験前に濃縮・抽出手法を確立する必要がある。添加回収試験で回収率の大きな変動が見られた場合、サロゲート物質の使用を推奨する。

必要に応じて適当な溶媒で希釈して分析することも可能である。試料採取や濃縮、希釈の操作において、吸着性の高い界面活性剤の場合には、十分に共洗いを行うなどして、吸着による損失に注意する。

界面活性剤の分析では、装置等からのコンタミネーションの影響を受けやすい。そのため、コンタミネーションの影響を受けない手順で分析を実施する必要がある。界面活性剤分析でよく用いられる液体クロマトグラフィー質量分析法（以下、LC/MS という。）であれば、ディレイカラム（リテンションギャップ）法等の利用が可能である。

検量線の作成は JIS K 0050「化学分析方法通則」、JIS K 0124「高速液体クロマトグラフィー通則」、JIS K 0136「高速液体クロマトグラフィー質量分析通則」等を参考に、適切に実施する。

検出下限値は、JIS K 0124「高速液体クロマトグラフィー通則」、JIS K 0136「高速液体クロマトグラフィー質量分析通則」等を参考に決定する。

6. データ及び報告書

log P_{OW} 値は、同一条件の試験を 3 回以上実施することで決定する。

6.1. log P_{OW} の計算方法

log P_{OW} の値は以下の式によって求める。ここで、C_O は 1-オクタノール相中の被験物質濃度と C_W は水相中の被験物質濃度とする。

$$\log P_{OW} = \log_{10} (C_O / C_W)$$

log P_{OW} の平均値、標準偏差及び相対標準偏差（変動係数）を求める。

試験開始時に添加した被験物質の量と試験後のそれぞれの相の被験物質の合計量を比較し、物質収支の確認を行う。物質収支は、原則として 70-120%程度を目安とする。

6.2. 試験の有効性

同一条件の低速かくはん法を 3 回以上実施する。得られた値が平均値±0.3 以内であることが望ましい。

6.3. 試験報告書

試験報告書には、次の情報を含める必要がある。

- ・ 被験物質

＜別添＞ 「測定マニュアル：低速かくはん法による界面活性剤の 1-オクタノール/水分配係数」

- ✓ 同定情報（例えば、物質名、CAS 登録番号、構造式等）
- ✓ 物理化学的情報（例えば、CMC、水溶解度、1-オクタノール溶解度等）
- ✓ 純度（不純物の情報を含む）
- ✓ log P_{OW} 推定値
- ・ 試験条件
 - ✓ 試験実施日
 - ✓ 試験温度
 - ✓ 平衡化容器、スターラーバーの形状・仕様
 - ✓ 被験物質の添加量及び添加相
 - ✓ 試験開始時の水及び 1-オクタノールの量
 - ✓ 試験 pH（試験前後）
 - ✓ 緩衝液の組成、濃度
 - ✓ 試験数
 - ✓ かくはん条件（スターラー回転速度、渦の深さ、かくはん時間）
 - ✓ 静置時間（かくはん停止から試料採取までの時間）
- ・ 試験結果
 - ✓ 分析方法
 - ✓ 検量線、定量下限値
 - ✓ 平衡化時間検討試験結果
 - ✓ 試験液の白濁の有無
 - ✓ log P_{OW} 平均値、標準偏差及び相対標準偏差
 - ✓ 物質収支の確認結果

7. 参考文献

JIS K 0050 : 2019. 化学分析方法通則.

JIS K 0124 : 2011. 高速液体クロマトグラフィー通則.

JIS K 0136 : 2015. 高速液体クロマトグラフィー質量分析通則.

JIS Z 7260-107 : 2000. 分配係数（1-オクタノール／水）の測定－フラスコ振とう法－

JIS Z 7260-117 : 2006. 分配係数（1-オクタノール／水）の測定－高速液体クロマトグラフィー－

OECD (1995). Test No. 107: Partition Coefficient (n-octanol/water): Shake Flask Method. OECD Guideline for the Testing of Chemicals, Section 1.

OECD (2022). Test No. 117: Partition Coefficient (n-octanol/water), HPLC Method. OECD Guideline for the Testing of Chemicals, Section 1.

OECD (2022). Test No. 123: Partition Coefficient (1-Octanol/Water): Slow-Stirring Method. OECD Guideline for the Testing of Chemicals, Section 1.