薄層および溶出クロマトグラフィーによる ノニルフェノール異性体の分析

小西 一生， 狩野 喜治*

工業用ノニルフェノールの *o*-および *p*-異性体を分別定量するため，薄層および溶出クロマトグラフィーを試みた。その結果，薄層クロマトグラフィーにより二つの *o*-異性体と一つの *p*-異性体を迅速に分離検出できることを明らかにした。

薄層クロマトグラフィーから得られた条件で溶出クロマトグラフィーを行ない，二つの *o*-異性体と一つの *p*-異性体を分別定量した。さらに分別した *o*-異性体部分をふたたび溶出クロマトグラフィーすることにより，オレフィン高重合物，モノアルキルベンゼンおよび二つの *o*-異性体を分別した。二つの *o*-異性体の相違は，分子量測定および赤外線吸収スペクトルの OH 吸収帯の位置から，アルキル基の分枝度の違いにあると思われる。

1 緒 言

工業用ノニルフェノールの *o*-， *p*-異性体の分析は，すでに赤外線吸収スペクトル法¹⁾とガスクロマトグラフィー²⁾によって行なわれているが，赤外線吸収スペクトル法による定量分析は，*o*-異性体のアルキル基が分枝している場合，*o*-異性体の吸収帯が *p*-異性体の特性吸収帯に重なり，*p*-異性体の定量精度を低下させる欠点を有している。一方，ガスクロマトグラフィーでは標準物質として，定量すべき各異性体を必要とするがその入手は困難である。

本研究で取り扱うノニルフェノールのアルキル基は，プロピレンの三量体であるから当然種々な分枝鎖を有している。したがって，精度がよく，同時に標準物質を必要としない分析法の確立が望まれるしだいである。こうした見地から，本研究ではノニルフェノール異性体の分別定量法を確立するため，ノニルフェノールの薄層および溶出クロマトグラフィーを試みた。

2 装置および試薬

2.1 装 置

薄層クロマトグラフ装置は Desaga 社製のものを使用した。ガラス板は縦 20 cm，横 5 cm，厚さ 3 mm のものを使い，展開容器として内径 7 cm，高さ 25 cm の標本びんを使用した。

赤外線分光光度計は島津製作所製 AR-275 II S 型と日本分光工業社製 IR-S 型を使用した。

分子量測定には Mechrolab Inc. 製モデル 301 A Vapor Pressure Osmometer を使用した。

ガラス製カラムは内径 3.0 cm，長さ 100 cm のものと，内径 1.5 cm，長さ 45 cm のものを使用した。溶出液の分取には径 3 cm，深さ 1.5 cm の結晶ざらを使い，溶出液を蒸発乾固するためにヘードライヤーを使用した。

2.2 試 薬

薄層クロマトグラフ用として，和光ゲル B-5，ジクロルメタン，スルファニル酸，亜硝酸ナトリウム，アンモニア水の各特級品を使用した。そのほか，溶出クロマトグラフ用としてクロマト用シリカゲル (Mallinckrodt Chemical Works 製) を使用した。

試料はノニルフェノール および ドデシル フェノール (内外国計 6 社の工業用製品) を用いた。

3 薄層クロマトグラフィーによる定性分析

非イオン界面活性剤の原料であるノニルフェノールの *o*- および *p*-異性体は，ガスクロマトグラフィー²⁾によっても分離できるが，迅速に能率よく分離検出できるという点では，薄層クロマトグラフィーはガスクロマトグラフィーに匹敵する。また，薄層クロマトグラフィーで得られた分離の条件は，ほとんどそのまま溶出クロマトグラフィーの条件として採用できる利点³⁾⁻⁵⁾がある。そこでその適用を試みた。

3.1 薄層の作り方

和光ゲル B-5，30 g を乾燥乳ばちに入れ，乳棒でゆっくりかきまぜながら蒸留水 40 ml を加える。さらにかきまぜながら蒸留水 10 ml を加え，均一なペーストとす

* 花王石鹼株式会社産業科学研究所：和歌山市湊薬種畑

る。このペーストをスプレッターに入れ、ガラス板上に厚さ 0.25 mm の薄層を作る。ついでこれを 150°C で 2 時間加熱し、シリカゲル乾燥容器中に保存する。

3.2 操作

薄層の下端 3 cm の所へ試料の 10% ジクロルメタン溶液約 2~3 μ l をスポットする。ついでジクロルメタンを用いて上昇法で展開し、溶媒先端が原点より 10 cm に達したとき引き上げる。展開所要時間は約 15 分である。展開後ただちに顕色液の Pauly 試薬（スルファニル酸のジアゾ化試薬）を噴霧し、室温で自然乾燥する。薄層をアンモニア蒸気に接触させると黄色のスポットが現われる。

3.3 検出限界

溶出クロマトグラフィー（後述）で分取した *o*- および *p*-異性体を用いて、薄層クロマトグラフィーにおける検出限界を調べた。*o*- および *p*-異性体の一定量を 10 ml のジクロルメタンに溶かし、約 1, 2, 3 μ l を薄層につけて展開し、各スポットの顕色を調べた。結果を Table I に示す。Table I から、両異性体とも検出限界は約 5 μ g である。

Table I Limit of detection of *o*- and *p*-nonylphenol

Content of <i>o</i> -isomer (wt/vol %)	Volume of solution			Content of <i>p</i> -isomer (wt/vol %)	Volume of solution		
	1 μ l	2 μ l	3 μ l		1 μ l	2 μ l	3 μ l
0.5	+	+	+	0.5	+	+	+
0.3	-	+	+	0.3	±	+	+
0.1	-	-	+	0.1	-	-	-
0.05	-	-	-	0.05	-	-	-

+ : Detected

3.4 結果

工業用ノニルフェノールの *o*- および *p*-異性体の存在比は大体 10 : 90 である²⁾ から、*o*-異性体を検出するには試料濃度を 2% にすればよい。各試料の薄層クロマトグラムを Fig. 1 に示す。Fig. 1 から、*o*- および *p*-異性体の分離は完全であり、二つの *o*-異性体と一つの *p*-異性体に分離する。*o*-異性体の二つのスポットが完全に分離しているものとそうではないものがあるが、これは各試料の *o*-異性体量の存在量が異なるためである。

4 溶出クロマトグラフィーによる定量分析

薄層クロマトグラフィーの結果から、同じような条件

Fig. 1 Thin-layer chromatograms of nonylphenols (A~E) and dodecylphenol (F)

で溶出クロマトグラフィーを行なうことにより、*o*- および *p*-異性体の分別定量の可能性が予想される。そこで吸着剤にシリカゲルを、展開溶媒としてジクロルメタンを用いて、ノニルフェノールの溶出クロマトグラフィーを試みた。

4.1 操作

(1) シリカゲル 250 g をジクロルメタンを用いてガラス製カラム（内径 3.0 cm, 長さ 100 cm）に詰め、精ひょうした試料約 8 g をシリカゲルの上端に吸着させる。ついでジクロルメタンで展開し、溶出液の最初の 280 ml を除いたのち、溶出液の 5 ml ずつをあらかじめ精ひょうした結晶ぎらに分取する。溶出液の流量は 0.5 ml/min とした。溶出液はヘヤードライヤーを用いて蒸発乾固し、残留物の重量を測定する。

(2) シリカゲル 20 g をガラス製カラム（内径 1.5 cm, 長さ 45 cm）に詰め、シリカゲルの上端に精ひょうした試料約 0.45 g を少量のジクロルメタンを用いて吸着させる。ついでジクロルメタンで展開し、溶出液の最初の 10 ml を除いたのち、溶出液の 3 ml ずつをあらかじめ精ひょうした結晶ぎらに分取する。溶出液の流量は 0.33 ml/min とした。溶出液はヘヤードライヤーを用いて蒸発乾固し、残留物の重量を測定する。

4.2 結果

4.1(1) によるクロマトグラムを Fig. 2 に示す。異性体の確認は分別物の赤外線吸収スペクトルから行なっ

た. Fig. 2 から, *o*-および *p*-異性体の分別定量が可能である. *o*-異性体は薄層クロマトグラムと同じように二つに分離した.

4・1(2) によるクロマトグラフィーでは, *o*- および *p*-異性体は十分に分離することができるが, *o*-異性体を二成分に分けることはできない. しかし, 試料中の全 *o*-異性体量のみを知るには, 4・1(1) に比べて短時間ですみ都合がよい. 4・1(2) による定量結果を Table II に示す.

Fig. 2 Chromatogram of nonylphenol by procedure 4・1 (1)

Table II Analysis of *o*- and *p*-isomer by procedure 4・1 (2)

Sample		<i>o</i> -Isomer (%)	<i>p</i> -Isomer (%)
Nonylphenol	A	5.9	94.1
"	B	8.9	91.1
"	C	5.9	94.1
"	D	11.0	89.0
"	E	9.1	90.9
Dodecylphenol	F	8.3	91.7

4・1(1) で分取した *o*-異性体部分を集め, それをふたたび 4・1(1) で溶出クロマトグラフィーを行なった. その結果, Fig. 3 に示すように四成分に分別することができた. Fig. 3 における最初の二つの成分 (F_1 と F_2) は, その量が少ないために, 原試料をそのまま溶出クロマトグラフィーしても検出されなかったものと思われる.

これら四成分の赤外線吸収スペクトルを Fig. 4 に示す. F_1 および F_2 成分に対するスペクトルの特徴は, OH基による吸収帯がないこと, モノアルキルベンゼン

Fig. 3 Chromatogram of *o*-nonylphenol portion (Sample A)

Fig. 4 IR spectra of elution-chromatographed components

に基づく吸収帯が認められ, それが特に F_2 成分に著しいことである. F_3 と F_4 成分は, 赤外線吸収スペクトルから *o*-異性体に帰属される. この二成分の OH 伸縮振動の吸収帯は, 別にフッ化リチウムのプリズムを用いて測定した. その結果, OH吸収帯の吸収波長は F_3, F_4 および *p*-異性体の順に低波長側へ 0.07μ と 0.10μ シフトすることを認めた.

分別した各成分の分子量を vapor pressure osmometer を用いて測定した. 結果を Table III に示す. F_3, F_4 および *p*-異性体の分子量はほぼ等しく, ノニルフェノールの理論分子量に一致する.

Table III Molecular weight and the position of OH band of chromatographed component

Component	Content† (%)	MW	Position of OH band	
			Wavelength (μ)	Wave number (cm^{-1})
F ₁	0.4 ₄	298.3	—	—
F ₂	0.2 ₁	264.2	—	—
<i>o</i> -Isomer F ₃	1.5 ₉	225.7	2.83	3,533.5
<i>o</i> -Isomer F ₄	3.6 ₆	220.4	2.90	3,448.2
<i>p</i> -Isomer	94.1 ₀	222.1	3.00	3,333.3

† Average of 5 determinations

5 考 察

工業用ノニルフェノールの *o*- および *p*-異性体の分析は、先に述べたように赤外線吸収スペクトル法とガスクロマトグラフィーによって行なわれたが、3・4 および 4・2 に示したように、両法とも試料中のオレフィン高重合物とアルキルベンゼンの定量、ならびに 2 種類の *o*-異性体の定量に関して不十分であることが明らかになった。

オレフィン高重合物の出所は、工業用ノニルフェノールがフェノールとプロピレン三量体 (ノネン) から合成されていることから、ノネンの重合物と考えられ、また、モノ置換アルキルベンゼンは原料フェノール中に少量含まれているベンゼンとノネンの反応により副生したものと考えられる。

アルキルフェノールの赤外線吸収スペクトルによる OH 吸収帯に関する研究^{9)・12)}によれば、*o*-アルキルフェノールの OH 吸収帯は、アルキル基がメチル基より大きい場合、アルキルフェノール分子間の水素結合がアルキル基の立体障害を受け、そのために低波長側へシフトする。また、サトラー赤外線標準スペクトルから *o*-アルキルフェノールのスペクトルを選び、アルキル基の分枝の程度と OH 吸収帯の位置の関係を調べた結果、OH 吸収帯は Table IV に示すようにアルキル基の分枝度が大きいほど低波長側へシフトする。

こうした知見から、F₃ および F₄ 成分の OH 吸収帯の位置とその差の原因を考えることにより、2 種類の *o*-異性体の相違を知ることができる。すなわち、F₃ および F₄ 成分の分子量が等しいこと、薄層クロマトグラフ

ィーでは、2 成分の分離が分子量の相違よりもむしろ分子の極性の違いにより生じる¹³⁾ということ、および OH 吸収帯の位置から、分子間水素結合に及ぼすアルキル基の立体障害の程度に差が認められることなどの点を総合すると、F₃ 成分は F₄ 成分よりアルキル基の分枝が大きい、フェノールと結合しているアルキル基の α 炭素は *tert*-ブチル型の結合をしており、F₄ 成分のアルキル基の α 炭素は *iso*-プロピル型の結合をしているものと推定される。薄層および溶出クロマトグラフィーによる一次過程の分別で 2 種類の *o*-異性体を分離できるのは、両 *o*-異性体の性質が相当異なっていることを意味しており、上の推定を裏書するものと考えられる。

もとより、ノニルフェノールのアルキル基の種類は、その合成過程から考えて相当の数が予想され、アルキル基の異なる異性体をすべて分別するのはほとんど不可能である。したがって、2 種類の *o*-異性体の構造に関する推定は、ごくおおざっぱな確率的なものである。

分別定量法に関しては、オレフィン高重合物、モノ置換アルキルベンゼン、2 種類の *o*-異性体および *p*-異性体の定量が従来法ではできなかったところであり、その点は本法の特徴といえることができる。

終りに、本研究を行なうにあたり種々ご指導をいただいた宮川善一研究企画部長、ならびに喜多久博研究所長に深く感謝する。

文 献

- 1) 田中誠之：本誌，6，168 (1957)。
- 2) 富永幸之：ガスクロマトグラフィー，化学の領域増刊 53 号，16 (1962)。
- 3) G. R. Duncan : *J. Chromatog.*, 9, 376 (1962)。
- 4) J. M. Miller, J. G. Kirchner : *Anal. Chem.*, 24, 1480 (1952)。
- 5) R. Subbarao, M. W. Roomi, M. R. Subbaram, K. T. Achaya : *J. Chromatog.*, 9, 295 (1962)。
- 6) R. E. Richards, H. W. Thompson : *J. Chem. Soc.*, 47, 1260 (1947)。
- 7) N. D. Coggeshall : *J. Am. Chem. Soc.*, 69, 1620 (1947)。
- 8) W. C. Sears, L. J. Kitchen : *ibid.*, 71, 4110 (1949)。
- 9) N. D. Coggeshall : *ibid.*, 72, 2836 (1950)。
- 10) R. A. Friedel : *ibid.*, 73, 2881 (1951)。
- 11) N. D. Coggeshall, E. L. Saier : *ibid.*, 73, 5414 (1951)。
- 12) R. S. Bowman, D. R. Stevens, W. E. Baldwin : *ibid.*, 79, 87 (1957)。
- 13) H. K. Mangold, R. Kammereck : *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 39, 201 (1962)。

Qualitative and quantitative analysis of nonylphenol isomers by thin layer and elution

Table IV Alkyl species of phenol and the position of OH band

Alkyl species of phenol	$n\text{-C}_4\text{H}_9\text{-}$	$\text{-CH(CH}_3)_2\text{-}$	$\text{-(CH}_3)_2\text{C}_2\text{H}_5\text{-}$	$\text{-C(CH}_3)_3$
OH band position				
$\left\{ \begin{array}{l} (\mu) \\ (\text{cm}^{-1}) \end{array} \right.$	2.95 3,389.8	2.87 3,484.3	2.84 3,521.1	2.78 3,597.1

chromatography. Kazuo KONISHI and Yoshiji KANŌ (Kao Soap Co., Ltd., Central Research Laboratories, Wakayama)

Qualitative and quantitative analytical methods are presented for the analysis of ortho- and para- nonylphenol isomers. Thin layer chromatography (TLC) using silica-gel can be applied successfully for separations of two-ortho isomers and para-isomer.

Under the conditions used to give good separa-

tions on TLC, two ortho-isomers and para-isomer were fractionated quantitatively by elution chromatography. Succeedingly, the fractionated portion of ortho-isomers was further separated into olefine polymers, monoalkylbenzenes and two ortho-isomers by elution chromatography. The authors consider that the differences in the two ortho-isomers are caused by differing character of alkyl groups on the molecules.

(Received July 7, 1964)

工場排水中の塩素定量法に関する実験

長沢 佳熊，木島 敬二*

工場排水中の塩素の定量法を検討した結果，酸性で通気し，塩素を揮散させる方法で良好な結果を得た。定量操作法は試料溶液(50 ml 中約 2 mg の塩素を含む)を硫酸で pH 1.0 にして通気しながら 40 分間 40°C の水浴中で塩素を揮散させ，これを 0.00564N チオ硫酸ナトリウム液に吸収させる。これをヨウ素滴定法によって定量すると，97%の定量値を得た。本操作法によって，有色物質，混濁物質や鉄，マンガン，銅イオンなどの金属イオンおよび有機窒素化合物などの妨害物質に影響されず塩素を定量することができる。

なお直接ヨウ素滴定法は，試料がほとんど澄明で，妨害物質があまり含まれていないときに用いる方法であるが，銅イオンは特にその定量に影響を与えるので，この場合には陽イオン交換樹脂，または cyclohexanediamine tetraacetic acid を用いて銅イオンの妨害を除くことができた。

1 ま え が き

工場排水中の塩素の定量法については，その排水中に混在する塩素以外の物質の種類や量がある程度以下のときには，水道水，下水，飲料水，工業用水などに用いられるヨウ素滴定法^{1)~3)5)}，オルトトリジン法¹⁾²⁾⁴⁾，オルトトリジン亜ヒ酸法¹⁾²⁾，電流滴定法¹⁾などを適用できるが，それらがある程度以上になるとその影響を受けて，必ずしも正確な定量値が得られない。この場合著者らの考案した通気法および直接ヨウ素滴定法において，定量を妨害する物質（特に銅）の影響およびその除去について報告する。妨害物質の影響と定量法との関係を表示すると Table I になる。これによって通気法の優秀性が認められる。

なお，この通気法は JIS 工場排水試験法の一部に提案し，採用された⁶⁾。

2 試 薬

(1) でん粉指示薬：でん粉 1g を冷水 10 ml とよく

* 国立衛生試験所：東京都世田谷区玉川用賀町 2 丁目

Table I 妨害物質の影響と分析方法との関係

妨害物質	測 定 方 法				
	通気法 ^{a)}	直接ヨウ素滴定法 ^{b)}			オルトトリジン亜ヒ酸法
		そのまゝ	IR 120 を用いる方法 ^{c)}	CyDTA を用いる方法 ^{d)}	
有色物質	◎	×	×	×	×
混濁物質	◎	×	×	×	×
Fe ³⁺	◎	○	◎	◎	○ ^(0.3ppm以下) ◎ ^{e)}
Mn ²⁺	◎	○	◎	◎	○ ^(0.01ppm以下) ◎ ^{f)}
Cu ²⁺	◎	○	◎	◎	○
NO ₂ ⁻	○	○	○	○	○ ^(0.1ppm以下) ◎ ^{g)}
有機N化合物	◎	×	×	×	○

◎ 妨害物質があっても測定可能なもの。

○ 妨害物質の濃度が非常に低いか，またはマスキング剤を加えることにより測定可能なもの。

×

妨害物質がある程度以上あるとほとんど測定不可能なもの。

a) 本報告 4-1 の方法。 b) 本報告 4-2 の方法。

c) 本報告 6-2-1 の方法。 d) 本報告 6-2-2 の方法。

EDTA はこの条件では塩素と反応して正確な値が得られない。

e) 0.3 ppm 以上でも大量でないかぎり妨害されない。

f) 0.01 ppm 以上でも大量でないかぎり妨害されない。

g) 0.1 ppm 以上でも大量でないかぎり妨害されない。

すり混ぜ，これを熱湯 200 ml 中にたえずかきまぜながら徐々に注ぎこみ，液が半澄明になるまで煮沸し，溶液