ピンポイント濃縮 / 顕微 FTIR を HPLC の検出器とした 微量非イオン系界面活性剤の同定法

— POE アルキルエーテルと POE アルキルフェニルエーテルの高感度検出法 —

磯 節子, 中村 忠
オルガノ(株)総合研究所 分析センター
(〒335 戸田市川岸1丁目4-9)

内原 博, 池田 昌彦
(株)堀場製作所 分析センター
(〒101 千代田区岩本町2-12)

[平成5年2月1日受理]

Determination of Trace Amount of Non-ionic Surface Active Reagent by HPLC with Micro-FTIR using Pin-point Condensation Technique —High Sensitivity Detection and HPLC Separation Method for Polyethylene Glycol Alkyl Ether and Polyethylene Glycol Alkylphenyl Ether—

Setsuko ISO and Tadashi NAKAMURA
ORUGANO Central Research Laboratories
(1-4-9 Kawagishi, Toda 335)

Hiroshi UCHIHARA and Masahiko IKEDA
HORIBA Application Laboratory
(2-12-15 Iwamoto-cho, Chiyoda-ku 101)

[Received February, 1, 1993]

Summary

POE non-ionic surfactants were separated by normal (nonreversed)-phase high-performance liquid chromatography (HPLC) using ODS column and acetonitrile as the elutant. Polyethylene glycol alkyl ether (AE) and polyethylene glycol alkylphenyl ether (APE) were determined by HPLC with RI detector (below 100ppm) and UV detector (below 5ppm).

Pin-point condensation technique using perfluorated polymer film on SUS mirror was applied to solvents eluted from HPLC. Spectra of residues were measured by microscope / FTIR in the reflection mode. Impurities of acetonitrile were removed by ODS column which is located between pump and sample injection port. In this method, AE and APE in the concentrations below 1ppm could be measured.

Key words: HPLC, pin-point condensation, microscope-FTIR, polyethylene glycol alkyl ether, polyethylene glycol alkylphenyl ether

1. はじめに

近年、エレクトロニクス業界では洗浄手段として従来のフロン使用から、その代替洗浄方法としてポリオキシエチレングリコール (POE) エーテル型非イオン界面活性剤の使用が進んでいる。POE エーテル型非イオン界面活性剤には POE アルキルエーテル (以後 AE) と POE フェニルエーテル (以後 APE) がある。APE は、河川や湖沼などの水中においては通常の AE に比べ、微生物によって分解されにくい事が分かっている^{1), 2)}。こうした界面活性剤を使用後に排水として放流するには何らかの排水処理が必要である。そのための排水処理システムは対象物である界面活性剤の種類の同定つまり化学構造に対して最適な条件で処理が行われるように設計されなければならない。したがって界面活性剤が AE か APE かの判定とその定量分析が重要となる。しかしながら JIS K 0102 に採用されているテトラチオシアノコバルト (Ⅱ) 酸アンモニウムを用いる方法では、非イオン界面活性剤の分子中のオキシエチレン鎖 (モル付加数) の違い及び側鎖の種類により吸収感度が異なる³⁾ため未知物質の種類によっては正しい定量分析が不可能である。また高速液体クロマトグラフィー (HPLC) で非イオン系界面活性剤を分離し定量を行う場合、まづ官能基の確認のための定性分析を行い次に定量分析を行わなければならない。ppm レベルの微量の定性分析における標準物質の選択に一般的な方法はまだ確立されていない。構造が既知である POE 系非イオン界面活性剤の定量分析は、紫外線の吸収帯をもたない AE に対しては水酸基を誘導体化して逆相 HPLC で UV 検出器を用いて行う。また APE については順相 HPLC で UV 吸収と蛍光⁴⁾の検出器で 1ppm 迄の定量分析例が報告されている。今回筆者は POE 系非イオン界面活性剤 AE 及び APE の混合物を逆相 HPLC で分離し、その溶出液を Ikeda ら⁵⁾が開発したピンポイント濃縮法、つまり微量の液体試料をフッ素樹脂をコーティングした鏡面金属板に滴下し、溶媒の蒸発に伴い外径が小さくなり最終的には測定目的物質は通常の金属板に滴下した場合と比較してその残渣は局所に集中し、外径は 1/100 程度に濃縮され、この残渣を顕微 FTIR で赤外スペクトル測定する方法により AE と APE との差異の判定が可能となった。つまり 1ppm レベルの AE または APE を HPLC で定量分析に先立ち必要な標準物質の構造に関する情報を確実かつ迅速に得る方法を検討した結果について報告する。

2. 方法

2.1 試薬

モル負荷数と HPLC 溶出時間 (以後リテンションタイム) の関係には東京化成 (株) の特級試薬 POE ラウリ

ルエーテル (以後 C₁₂)、POE オレイルエーテル (以後 C₁₈)、POE オクチルフェニルエーテル (以後 C₈) 及び POE ノニルフェニルエーテル (以後 C₉) を使用した。また AE と APE のリテンションタイムの検討には同じく東京化成 (株) の特級試薬の POE オレイルエーテル (n = 10) と POE ノニルフェニルエーテル (n = 10) 0.1g を 500ml の精製水に溶解し 200ppm 溶液を調整しこれらを適宜希釈し使用した。溶離液は和光純薬の高速液体クロマトグラフィー用アセトニトリルを使用した。

2.2 装置

液体クロマトグラフィーは、東ソー製 HPLC CP-8000、検出器 UV-8000 及び RI-8000、カラムは Inertsil ODS-2 (4.6mm i.d. X 250mm, 5μm) を使用した。プレカラム TSK gel ODS-80TM (3.2mm i.d. X 15mm) 溶離液濃縮用サンプラーとしてマイクロニクス (株) のピーク自動検出機能付き X-Y ステージを使用した。(X-Y ステージ移動距離は X 軸 60mm Y 軸 60mm 停止精度 50μm, スプリット比連続可変機構及びサンプリングノズル下降機構付き) サンプリングプレートは 50×50×3mm のステンレス板を片面研磨し、その上にフッ素樹脂を 100nm の厚みにコーティングをしたものを使用した。

FTIR は (株) 堀場製作所の顕微専用 FTIR-530 でカセグレン対物鏡は X25 を使用した。

固相抽出は Waters 社の Sep-Pak tC₁₈ を用いて行った。

2.3 測定

液体クロマトグラフィーへは試料 100μl を注入、100% のアセトニトリルを溶離液として 1ml/min で分離した。UV 検出器の次に RI 検出器を取り付けてピークを検出した。UV 検出器の測定波長は APE の最大吸収波長である 280nm で行った。検出器からでてくる溶離液を 1/10 に分流し 30 秒間隔でサンプリングプレートに滴下した。30 秒毎に X-Y サンプラーを 6mm ずつ移動させた。サンプル注入後 15 分間に 30 回のサンプリングを行った。図 1 にサンプリングシステムのブロック図を示す。サンプリングしたプレートを FT-350 のステージに設置し反射モードでマスクサイズ 10×10μm で 100 回の積算を行い赤外スペクトルを測定した。

3. 結果及び考察

3.1 EO モル付加数と HPLC 溶出時間

親油基であるアルキル鎖と親水基であるエチレンオキシド (EO) を含む POE 系非イオン界面活性剤は図 2 に示すように、アルキル鎖と EO モル付加数の違いによって HPLC での保持時間が変化した。C₁₂, C₁₈ は共に AE

Fig. 1 Block diagram of HPLC / pin point sampling system

である。 C_{18} はEOモル付加数が大きくなるとEOモル付加数差が10につき約30秒の割合で溶出時間が早くなった。 C_{12} については C_{18} と同様のEOモル付加数の異なった試料の検討は出来なかったが、 C_{18} を基準とする場合アルキル基1つについて約1分間溶出時間は早くなり、EOモル付加数の増加に伴い C_{18} と同様に変化するものと推定される。また C_8 と C_9 はいずれもAPEであるが、 C_9 の保持時間はEOモル付加数の違いによる差異は少なく殆ど同一であるが、 C_8 に見られるようにAEと同様にアルキル基の数の変化に伴い変化した。実際に市販されている界面活性剤の親油基には分布があり、クロマトグラムの保持時間だけでPOE系界面活性剤の種類を決定する事が困難であることを示している。

3. 2 UV 及び RI を検出器としたクロマトグラム

図3に標準物質として C_{18} と C_9 の100ppmの混合物を

注入して得られるクロマトグラフを示す。UV検出器には注入後約5分後に C_9 のピークのみが現れている。一方RI検出器には注入後約5分後に C_9 と約11分後に C_{18} による小さなピークが検出されている。RI検出器での検出限界はベースラインのノイズや不純物の影響が現れて C_{18} 及び、 C_9 はそれぞれ20ppmと100ppm程度となる。UV検出器での検出限界は C_9 は約5ppmであった。

3. 3 溶離液のピンポイント濃縮 / FTIR による同定

POE系界面活性剤の赤外スペクトルは、図4に示すようにAPEはベンゼン核特有の1600, 1500 cm^{-1} 付近に2つの吸収帯がみられAEとの判別が容易に行われる。

C_{18} と C_9 それぞれ1ppmの混合物をHPLCに注入し、その溶離液をX-Yサンプラーでサンプリングを行いピンポイント濃縮後その残渣を顕微FTIRでスペクトルを測定した。注入後約5分後のフラクションと C_9 の単品

の赤外スペクトルを比較したものを図5に示す。約11分後のフラクションとC₁₈の単品のスペクトルの比較を図6に示す。これらのスペクトルが一致しているから5分後のフラクションはC₉と11分後のフラクションはC₁₈によるものであると判定出来る。

C₈ : Polyethylene glycol mono-p-octylphenyl ether

C₉ : Polyethylene glycol mono-p-nonylphenyl ether

C₁₂ : Polyethylene glycol mono-lauryl ether

C₁₈ : Polyethylene glycol mono-oleyl ether

Fig. 2 Relationship between elution time of several nonionic surfactant alkyl chain and average of ethoxy groups per molecule

1ppmのC₁₈とC₉をHPLCに注入し、そのピークトップの溶出液をピンポイント濃縮した場合一つの球状の残渣となり、その最終径は約20 μ mであり5回の再現精度はCVで約3%であった。またC₁₈のピンポイント濃縮残渣を10 $\times$ 10 μ mのマイクサイズでその中心部の赤外スペクトルを測定した場合1150cm⁻¹での吸収感度は吸光度で約0.8となった。しかしながら一つの溶出ピークを溶出開始から終了に至る間逐次サンプリングしピンポイント濃縮したものの赤外スペクトルを測定したときその吸光度のプロファイルはHPLCと比較し、なめらかでなく凸凹したものとなった。これらは測定対象試料が球状であり濃度によりその半径が異なる。従って顕微FTIRの光軸上における光学厚みが増加する。更にその光学系の中心位置に試料を設置する際の精度の保持が困難なためである。

3. 4 溶離液中の不純物の影響

溶離液であるアセトニトリルに含まれる不純物はPPMレベルの微量測定には大きな妨害となる。アセトニトリルを蒸発させた残渣つまり不純物はテトラヒドロフランに可溶性である為ODSのプレカラムをポンプの直後に取り付け不純物の除去を行った。1mmアセトニトリルを直接ピンポイント濃縮した場合と、ODSカラムで不純物を除去した後の残渣の赤外スペクトルを図7に示す。2800cm⁻¹のCHに由来する影響は約1/20に低減した。

A:RI Detector , B: UV Detector , ① APE , ② AE

Fig. 3 Typical chromatogram of mixture of polyethylene glycol alkyl ether (AE) 100ppm and p-polyethylene glycol alkylphenyl ether (APE) 100ppm

Fig. 4 Spectrum of AE and APE

Fig. 5 A: Infrared spectrum of 10 μg of APE after elution from HPLC collected on perfluorated polymer film on SUS mirror, B: Reference spectrum of 10 μg of APE condensed on SUS mirror

Fig. 6 A: Infrared spectrum of 10 μ g of AE after elution from HPLC collected on perfluorated polymer film on SUS mirror, B: Reference spectrum of 10 μ g of AE condensed on SUS mirror

Fig. 7 Spectrum of residual in acetonitrile A: Residuum of HPLC grade acetonitrile in 1ml, B: Residuum of acetonitrile in 1ml eluted from ODS pre-column

3.5 実際試料への応用

Sep-pak tC_{18} を固定充填剤とした吸着カラムをメタノール5mlと水10mlでコンディショニングを行った。このカラムに工場排水試料50mlを流し無機イオン等の不純物を除去したのち、100%のアセトニトリル2mlで固相から抽出した。この抽出液を100 μ l HPLC に注入したところ、UV 検出器には5.04分にRI 検出器には5.22分に大きなピークと7.67分に小さなピークから成り立つクロマトグラムが得られた。図3でのAEのリテンションタイムが11.5分程度あったが、実際試料のリテンションタイムは7.37分になった。これは図3では標準物質としてアルキル鎖が C_{18} 、モル負荷数(n)10のものをを用いた。一方、図2ではアルキル鎖が変化するとリテンションタイムが変化することを示している。従って実際試料のリテンションタイムが7.67分であることから実際試料は C_{18} 以下であることが推定できる。また5.22分後のピークは赤外スペクトルからAPE、7.67分後のピークは、AEと判定することができた。UV 検出器とRI 検出器のピーク出現時間に差異があるのはUV 検出器からRI 検出器に至る空間容量によるものと考えられる。

4. まとめ

FTIR と HPLC を組み合わせ HPLC の溶離液のスペクトルから物質の同定を行い HPLC の標準物質の選択のための新しい方法を検討した。本方法を工場排水中に含まれる POE 系非イオン界面活性剤を逆相-HPLC で分離しピンポイント濃縮し FTIR 分析に応用した。AE と APE の混合している試料に対して1ppm までの定性が可能であった。これは HPLC の UV 検出器による定量限界と同等であり、HPLC 分析における標準物質の選定に有効な方法である。従来から行われている HPLC の溶離液を FTIR を用いた拡散反射法⁶⁾で Stahl's 色素試験溶液の分析を行った場合と比較して30倍以上の定性能力が向上している。固相抽出による前処理を行えば、更に低濃度の

定性が可能となるが定量精度向上のためにはピンポイント濃縮の最終径の一定化を計ることや、HPLC で分離されている近接ピークを一つの液滴の中でピンポイント濃縮サンプリングした場合は分離されたものが再度混合されるので HPLC の分解能を損なうことになるため分解能維持も今後の課題である。

要 約

ODS を分離カラムとしアセトニトリルを溶離液として POE 系非イオン界面活性剤を分離した。POE アルキルエーテルは RI 検出器で100ppm、POE アルキルフェニルエーテルは UV 検出器で5ppm が限界であった。溶出液をフッ素樹脂コーティングした鏡面金属板に滴下すると、溶媒の蒸発に伴い約2分後には局所に集中しその液滴の外径は滴下直後と比較し1/100程度に集中濃縮される。この残渣を顕微 FTIR で反射測定すると赤外スペクトルが得られる。アセトニトリル中の不純物は HPLC ポンプの直後に ODS カラムを設置することで減少し、1ppm の POE アルキルエーテルと POE フェニルエーテルとの判定が可能となった。

文 献

- 1) 伊藤伸一, 内藤昭治, 畠本 力: 衛生化学, **33**, 415-422(1987)
- 2) 伊藤伸一, 内藤昭治, 畠本 力: 衛生化学, **34**, 414-420(1988)
- 3) 三浦恭之, 鈴木裕子, 長谷謂真人, 康 智三: 分析化学, **38**, T15(1989)
- 4) M. Kudo, H. Ozawa, S. Fudano and K. Tsuji: *J. Chromato.*, **287**, 337-344(1984)
- 5) M. Ikeda and H. Uchiyama: *Appl. Spectros.*, **46**, 1431-1434(1992)
- 6) D. Kuehl and P. Greffiths: *J. Chromato. Sci.*, **17**, 471-476(1979)