高速液体クロマトグラフィーの化粧品分析 への応用 (第3報)^{注1)}

非イオン界面活性剤中の副成ポリエチレン グリコールの分析

中 村 淳・松 本 勲

資生堂研究所 (横浜市港北区新羽町 1050)

A Study on High Speed Liquid Chromatography in the Cosmetic Analysis. III.

Analysis of Polyethylene Glycol in Ethylene Oxide Adduct Nonionic Surfactants

Kiyoshi NAKAMURA and Isao MATSUMOTO

Shiseido Laboratories (1050, Nippa-cho, Kohoku-ku, Yokohama)

Average molecular weights and molecular distributions of polyethylene glycol (PEG) as a byproduct in ethylene oxide adduct nonionic surfactants (EO-SAA) were studied by gel permeation chromatography (GPC).

Every PEG were perfectly separated from various EO-SAA through the reversed-phase column chromatography.

Standard PEG ($n=5, 6, 7, 8, 9$, and 10) were isolated from the commercial PEG 300 by recycle GPC and the purities of them were identified by GC. Average molecular weights per $1 \text{ \AA}$ of them were found to be calculated as 24 by making that of polystyrene as 41 .

By using this value, the chromatograms of each PEG, the calibration curve of standard polystyrene and a curve-reader CPU system, the average molecular weights of PEG in EO-SAA could be easily determined.

The average molecular weights of isolated PEG in EO-SAA of ether type were shown to be almost constant values, while those in ester type were dependent on the EO molecular numbers of the original EO-SAA. The values of those in Tween type EO-SAA coincided with those of the average 20 molecular numbers of EO-SAA of ester type.

Further, the molecular distributions of various commercial PEG were also presented in this paper.

1 緒 言

著者らは高速液体クロマトグラフィーの油脂工業製品への適用を企図し、エチレンオキシド (EO) 付加型非イオン界面活性剤 (EO-SAA) の EO 付加モル数ごとの分離¹⁾ およびグリセリドの分析^{1), 2)} について報告したが、本報では EO-SAA 中に副成するポリエチレングリコール (PEG) の性状について迅速分析法を確立することができたので報告する。

一般に、EO-SAA には副成 PEG が共存し、界面活性剤縮合物との分離定量には向流分配抽出法³⁾、逆相分配クロマト法⁴⁾ および分配クロマト法⁵⁾ などが知られている。これらは副成 PEG の定量を目的とした方法で、セミクロアセチル化法によるヒドロキシル価測定法^{6), 7)} と併用しても数平均分子量が求まるのみで、重量平均分子量や分子量分布に関する知見は得られない。さらに、ヒドロキシル価測定は操作がはん雑で、試料量も最低 100 mg は必要であることから、微量の試料量で迅速に数平均、重量平均分子量が求まり、さらに分子量分布に

注 1) 前報: 日化, 1976, 104

関する知見も得られるゲルパーミエーションクロマトグラフィー (GPC) を検討したところ, 約 3 mg の試料量で迅速に数, 重量平均分子量および分子量分布を求めることができた。さらに, 各種 EO-SAA 中の副成 PEG および市販 PEG の平均分子量, 分子量分布について興味ある結果を得た。

2 実 験

2.1 試料および試薬

本研究で試料とした EO-SAA は, ラウリルアルコール, ミリスチルアルコール, パルミチルアルコールおよびステアリルアルコールの EO-SAA (エーテル型) 12 種 (平均 EO 付加モル数 ($\bar{n}$)=5, 10, 15), ラウリン酸, ミリスチン酸, パルミチン酸およびステアリン酸の EO-SAA (エステル型) 16 種 ($\bar{n}$ =5, 10, 15, 20), ソルビタンモノエステルの EO-SAA (Tween 型) 3 種, ($\bar{n}$ =20; ラウリン酸, パルミチン酸およびステアリン酸のモノエステル) の計 31 種である。エーテル型はアルカリ触媒下, 120°C で 1 h, エステル型はアルカリ触媒下, 140°C で 1~2 h EO 付加したものをそれぞれ試料とした。Tween 型は市販品をそのまま用いた。なお, エーテル型およびエステル型の出発原料である高級アルコールおよび高級脂肪酸には, GC 分析により相当する親油基純度が 95% 以上のものを用いた。

標準ポリスチレンには Pressure Chemical 社製の数平均分子量 ($\bar{M}_n$) 600, 2100, 4000 および 20400 のものを用いた。重量平均分子量 ($\bar{M}_w$) との比 ($\bar{M}_w/\bar{M}_n$) はいずれも 1.10 以下であった。その他用いた試薬はすべて特級品である。

2.2 前処理操作

固定担体にシリル化セライト 545 (60~80 mesh), 固定相に水飽和 1-ブタノールを用いる逆相分配クロマトグラフィーで副成 PEG と界面活性剤縮合物とを分離した。カラム調製法や試料の導入法などは Newburger⁹⁾ の示した方法にしたがった。本研究での負荷試料量は約 1 g とした。

2.3 装置

液体クロマトグラフには日本分析工業社製の LC-08 型を使用した。分子量分布測定のカラム構成は, スチレンとジビニルベンゼンの共重合ゲルの市販充填カラム (日本分析工業社製, 8 mm i.d.×600 mm) で平均ゲル孔径が 10^4 Å の充填カラムを 1 本, 10^3 Å の充填カラムを 2 本とした。移動相溶媒にはクロロホルムを, 検出器には示差屈折計を用い, 流速は 1.0 ml/min とした。試料注入には 1.5 ml のサンプリングコイルを用いた。

クロマトグラムの解析には日本システム工業社製のカーブリーダ解析装置を使用した。本装置はチャート紙上のアナログデータを透過光線方式で読みとり, あらかじめ求められた検量線と測定されたベースライン上からのピーク高さに基づいて平均分子量を計算するミニコンピュータシステムである。読みとり点数については, 4 点/5 ml 以上で一定な解析結果を得たが安全をみこして, 8 点/5 ml とした。なお, 本システムでは溶出容量と分子量 (または分子鎖長) の対数の関係は入力された値にもとづいて三次式で近似される。また, 本装置での繰り返し ($n=10$) 精度は変動係数で 0.5% 以下であった。

3 結果および考察

3.1 副成 PEG の分離

界面活性剤縮合物と副成 PEG を分離する条件について検討した。市販 PEG と単一鎖長 EO 縮合物を試料としたときの積分溶出曲線を Fig-1 に示した。市販 PEG 4000 の場合でも 1-ブタノール飽和水量 75 ml で界面活性剤縮合物との分離が可能で, 回収率もそれぞれ 100% に近い値を得た。そこで, 1-ブタノール飽和水 75 ml で副成 PEG を, つぎにエタノール 150 ml で界面活性剤縮合物をそれぞれ溶離し, 溶離液を留去したのちに重量法でそれぞれの回収率を求めることにした。標準試料での回収率結果は Table-1 に示すように満足する結果を得た。また, 分離された副成 PEG の画分に界面活性剤縮合物が共存しないことは, IR および NMR

Table-1 Recovery rates of std. samples in the reversed-phase column chromatography.

Samle	Added (mg)		Found (mg)		Recovery rate (%)	
	SAA-condensate	PEG	SAA-condensate	PEG	SAA-condensate	PEG
(1) PEG 300	—	113.1	—	114.2	—	101.0
(2) PEG 400	—	100.5	—	101.6	—	101.1
(3) LA-12EO*	507.0	—	510.2	—	100.6	—
(4) NP-8EO**	506.0	—	502.4	—	99.3	—
(5) PEG 300, LA-10EO	101.4	110.4	106.4	110.5	104.9	100.1
(6) PEG 1500, LA-11EO	184.9	64.1	178.7	62.2	96.6	97.0

* Lauryl alcohol 12 EO condensate, ** Nonylphenol 8 EO condensate

Sample (1)~(4) are SAA-condensate or PEG only, sample (5) and (6) are mixture of SAA-condensate and PEG

Fig.-1 Integral elution curves of PEG and SAA condensates.

Table-2 Analytical results of PEG as a byproduct in commercial EO-SAA.

Sample	C ₁₂ * (%)	C ₁₄ * (%)	C ₁₆ * (%)	C ₁₈ * (%)	Average (%)
Ether type					
<i>n</i> =5	2.7	2.7	1.5	3.4	2.6
<i>n</i> =10	3.0	6.5	2.2	3.4	3.8
<i>n</i> =15	3.7	4.0	6.6	5.4	4.9
Ester type					
<i>n</i> =5	16.7	15.1	14.3	13.2	14.8
<i>n</i> =10	20.9	19.3	19.2	17.8	19.3
<i>n</i> =15	21.0	22.2	19.9	20.1	20.8
<i>n</i> =20	25.2	21.7	21.9	18.3	21.8
Tween type	27.7		28.6	19.5	25.3

* Lypophilic group of samples : i.e., C₁₂=Lauryl alcohol or Lauric acid

分析で親油基に帰因する連続したメチレン鎖の吸収(720 cm⁻¹) およびシグナル ($\delta=1.3$ ppm) を認めないことで確認した。

Table-2 に試料の分析結果をまとめた。すでに報告されている^{6),7)} ように $\bar{n}$ が増加すると副成 PEG 量も増加する傾向にあることのほかに、出発原料が異なると副成 PEG 量が異なり、エステル基が存在する Tween 型やエステル型では副成 PEG 量が約 20% にも達していることなどがわかった。これは、エステル交換反応^{6),7)} で付加重合が進行しているためと予想される。

3.2 GPC 分析条件

一定なクロマトグラムを得るための分析条件について検討した。クロマトグラムに対する影響因子には溶媒、温度、試料濃度、注入時間、流速およびカラム構成がある¹⁰⁾。本研究では、実験室の安全性や試料の性状から移動相溶媒にはクロロホルムを用い、温度は室温とした。流速は最も誤差が少ないといわれている¹¹⁾ 1.0 ml/min とし、カラム構成は 2.3 で示したものに固定した。Fig. -2 に試料濃度の検討結果を示した。0.3% 以上の濃度

Fig.-2 Effect of concentration on elution volume (Sample: PEG 6000)

になると濃度効果が認められたので、クロマトグラムが一定となる領域の 0.2% の試料濃度を用いることにした。注入時間については、本研究で用いている装置のサンプリングコイル容量が 1.5 ml、流速が 1.0 ml/min であることから 1.5 min で充分であるが安全をみこして 3~5 min とした。以上の分析条件での必要最低試料量は 3 mg で従来の方法の 3% ですみ、分析時間も 1 試料当たり 30~40 min で、さらに操作も試料注入だけというように簡略化された。

3.3 検量線

平均分子量を求めるために必要な検量線に関する検討を行った。まず最初に PEG の分布のない単分散試料は Fig.-3 に示す循環、分取ゲルクロマトグラフィーで入手した。その際のカラム構成は、多量の負荷試料量の場合にも分離がそこなわれないといわれているスチレンとジビニルベンゼンの共重合ゲルの充てんカラムで、平均ゲル孔径が 10³ Å のカラム (JAIGEL-3 H, 日本分析工業社製) を 1 本 (20 mm i.d.×600 mm), 10² Å のカラム (JAIGEL-2 H) 1 本ずつとした。流速は約 3 ml/min

(Sample size; 24.5%×1.5 ml)

* *n* Values were determined by GC analysis

Fig.-3 Recycle gelchromatograms of PEG 300.

(Samples are substances isolated in Fig.-3)

Fig.-4 Calibration curve of PEG.

であり、Fig.-3 にも示したように 10 回の循環で 5～10 量体までの単分散 PEG を 10～15 mg ずつ分取することができた。そこで、3・2 に示した分析条件でクロマトグラムを測定し、それらの溶出容量と分子量の対数との関係を求めると Fig.-4 に示す直線関係が得られた。このような被測定試料の単分散試料による直線関係に基づいて平均分子量を計算するのが理想的であるが、単離された単分散 PEG は数回の測定にしか使えないために、かなりひん繁に循環・分取クロマトグラフィーを行う必要があり、多くの時間を費やす必要があると思われた。そこで、本研究では市販標準試料として入手が容易なポリスチレンで作成した検量線で PEG の平均分子量を計算することを考えた。この方法によれば、1 Å 当たりの分子量を Q とするとき

$$\log A = aVe + b \dots\dots\dots (1)$$

A ; 分子鎖長 ($=M/Q$)

M ; 分子量

Ve ; 極大溶出容量 (ml)

a, b ; 定数

の関係が、ポリスチレンと PEG に共通に適用できるといわれており¹²⁾、さらにポリスチレンの Q 値は 41 であると報告されている¹³⁾。したがって、PEG の Q 値をあらかじめ求めておけば、ポリスチレンでの検量線式 (1) で得られる平均分子鎖長に Q 値を乗じて平均分子量が計算できる。そこで、PEG の Q 値を求めることにした。まず、市販標準単分散ポリスチレンを用いて極大溶出容量を測定し、式 (1) で示される一次関係式を求めた。ついで、得られた回帰式に Fig.-4 の単分散 PEG の測定結果を代入して PEG の Q 値を算出した。つぎに、カーブリーダ解析装置を利用して Q 値を求めた。すなわち、標準ポリスチレンの検量線式を式 (1) に代わる三次式で近似する方法である。以上の 2 法で算出された PEG の Q 値の結果をまとめると Table-3 のようであり、両法の結果はよく一致した。一方、 Q 値については整数値が用いられることが多いことから、本研究で

Table-3 Molecular weight per 1 Å (Q factor) of PEG.

PEG	Q factor	
	Method-A*	Method-B**
$n=5$	24.51	23.76
$n=6$	24.91	24.49
$n=7$	23.81	24.14
$n=8$	24.44	24.50
$n=9$	24.56	23.00
$n=10$	23.79	23.25
Average	24.34	23.86

* Method-A; a linear equation

** Method-B; a cubic equation.

は Table-3 の結果より PEG の Q 値を 24 とした。

3・4 副成 PEG の解析結果

単離した副成 PEG のそれぞれについて 3・2 の条件で測定したのち、標準ポリスチレンであらかじめ求められた分子鎖長の対数と溶出容量間の三次関係式を利用して、数および重量平均分子鎖長を計算し、それらに 24 を

Table-4 Analytical results of PEG as a byproduct by the present method.

Sample	$\overline{Mn}$	$\overline{Mw}$	$\overline{Mw}/\overline{Mn}$
Ether type			
1205*	1028	1423	1.38
1405	1399	1853	1.32
1605	1054	1303	1.23
1805	1073	1335	1.24
1210	848	1324	1.56
1410	979	1449	1.48
1610	1277	1836	1.43
1810	1645	2008	1.21
1215	1224	2223	1.81
1415	1339	2169	1.61
1815	1373	2151	1.56
Tween type			
A**	1139	1419	1.24
B	1249	1553	1.24
C	1125	1387	1.23
Ester type			
1205*	450	477	1.05
1405	442	466	1.05
1605	483	594	1.22
1805	463	489	1.05
1210	646	704	1.08
1410	636	687	1.07
1610	616	685	1.11
1810	634	690	1.08
1215	882	975	1.10
1415	889	983	1.10
1615	936	1035	1.10
1815	932	1067	1.14
1220	1165	1355	1.16
1420	1191	1351	1.13
1620	1252	1364	1.08
1820	1176	1350	1.14

* 1205; Lauryl alcohol or Lauric acid 5 EO-SAA

** A; Monolaurate, B; Monopalmitate, C; Monostearate

Fig.-5 Relationship between average EO mole numbers and average number molecular weight by GPC.

Fig.-6 Molecular weight distributions of byproduced PEG in Laurate EO-SAA.

乗じてそれぞれの平均分子量を得た。さらに、この三次関係式を利用して、カーブリーダーでの各読みとり点（溶出容量）での分子量の対数に対して、各点でのベースラインからのピーク高さの百分率をプロットして分子量分布図を作成した。

市販 EO-SAA 試料中に共存した副成 PEG の解析結果を Table-4 に示した。エーテル型の場合には、付加モル数によらずに副成 PEG の数平均分子量は 1000～1300、重量平均分子量は 1400～2000 のほぼ一定な範囲にあることがわかった。一方、エステル型の場合には、付加モル数が増加すると数、重量平均分子量とも規則的に増加し、親油基の種類によらずに平均分子量の対数と付加モル数との間に Fig.-5 に示すような直線関係が成立していることがわかった。

ラウリン酸エステル型の $\bar{n}=5, 10, 15$ および 20 より単離した副成 PEG の分子量分布図を Fig.-6 に示し

たが、付加モル数の差による副成 PEG の分子量分布の移行を明らかにすることはあきることができた。

一方、Tween 型でもエステル型と同様に親油基による平均分子量の差は認められず、いずれの試料もエステル型の $\bar{n}=20$ の場合にほぼ対応することがわかった。また、分布のめやすとなる分布係数 $q(\bar{M}_w/\bar{M}_n)$ に注目すると、エステル型 < Tween 型 < エーテル型の順に増加していることがわかった。Tween 型より単離された副成 PEG がこのような解析結果を与える原因の 1 つとして、ヒドロキシル基とエステル基が共存するためにエーテル型とエステル型の中間の性状をもつことが考えられる。

3.5 市販 PEG の解析結果

つぎに、市販 PEG の解析を同様にして行った。得られた結果を Table-5 に、分布図を Fig.-7 にまとめた。これらは市販 PEG の数平均分子量についての報告¹⁴⁾とほぼ対応し、Fig.-7 からはそれらの分布の状態はあきることができた。とくに、PEG 1500 はペトロ

Table-5 Analytical results of commercial PEG by the present method.

Sample	$\bar{M}_n$	$\bar{M}_w$	$\bar{M}_w/\bar{M}_n$	$\bar{M}(\text{OHV})^*$
PEG 600	560	670	1.19	
PEG 1000	841	1148	1.36	
PEG 1500-(1)	653	1334	2.04	538
-(2)	649	1298	1.99	530
-(3)	665	1345	2.02	520
PEG 1540	1144	1729	1.51	
PEG 2000	1804	2882	1.59	
PEG 4000	2948	3859	1.31	2915
PEG 6000	8786	11472	1.30	8502
PEG 20000	22783	25752	1.13	19348

* $\bar{M}(\text{OHV})$; Average molecular weight by OH value method

Fig.-7 Molecular weight distributions of commercial PEG.

Table-6 Analytical results of commercial PEG 1500.

Sample No.	Added (mg)	Found (mg)		Recovery rate(%)	Ratio (A)/(B)
		(A)*	(B)*		
1	86.3	44.0	45.0	103.1	0.98
2	86.3	49.3	45.1	109.3	1.09
3	106.7	52.4	55.7	101.4	0.94
4	106.7	53.9	51.6	98.8	1.05

*; (A)=PEG 1540, (B)=PEG 300

リウムゼリーのような外観を呈し、しかも水に完全に透明に溶けることから化粧品原料としてよく使用され、PEG 1540 と PEG 300 の等量混合物といわれている¹⁴⁾が、**Fig.-7** から両成分の混合物であると予想された。そこで、循環、分取ゲルクロマトグラフィーを行い両成分の重量比を求めたところ、**Table-6** の結果が得られ、PEG 1500 は両成分の等量混合物であることが確認できた。このように、等量混合物であるにもかかわらず **Fig.-7** では、PEG 300 の応答強度は PEG 1540 の約 50% 程度であることと **Table-5** に示すように本法での解析値がヒドロキシル価より求めた数平均分子量よりもやや大きくなっていることなどから、屈折率の分子量依存性を考慮して補正する必要があると思われる。今後は、合成条件による副成 PEG の平均分子量や分子量分布の変動などについての検討とあわせてこれらの問題を解決したいと考えている。

終わりに、試料の合成に協力をいただき、また有益な助言をいただいた(株)日光ケミカルズ、大庭範秋開発部長に感謝致します。

1976 年 10 月, 第 15 回油化学討論会講演。

(昭和 52 年 3 月 24 日受理)

文 献

- 1) 中村 淳, 松本 勲, 日化, **1975**, 1342
- 2) 中村 淳, 松本 勲, 日本化学会第 35 回秋季年会, 予稿集 I p. 83 (1976)
- 3) 長瀬邦彦, 坂口嘉平, 工化, **64**, 635 (1961)
- 4) K. Konishi, S. Yamaguchi, *Anal. Chem.*, **40**, 1720 (1968)
- 5) R. Wickbold, *Fette, Seifen, Anstrichm.*, **74**, 578 (1972)
- 6) 長瀬邦彦, 坂口嘉平, 工化, **64**, 1035 (1961)
- 7) 長瀬邦彦, 坂口嘉平, 工化, **64**, 1199 (1961)
- 8) S.H. Newburger, "A Manual of Cosmetic Analysis", A.O.A.C., Washington (1962) p. 28
- 9) 植原計一, 桂 博二, 日本油化学協会創立 20 年記念研究発表討論会講演予稿集, p. 59 (1972)
- 10) 山田三郎衛, 今井成夫, 北原清一郎, 高分子化学, **23**, 400 (1966)
- 11) K.A. Boni, F.A. Slimers, P.B. Stickney, *J. Polymer Sci.*, A 2, **6**, 1567 (1968)
- 12) L.E. Maly, *J. Polymer Sci.*, C, **8**, 253 (1965)
- 13) 武内次夫, 森 定雄, "ゲルクロマトグラフィー" (基礎編), 講談社, (1972) p. 119
- 14) 飯野重礼, 山口昌夫, 田川清行, 大庭範秋, 堤 武男; "化粧品・製剤原料ハンドブック", 日光商会, (1966) p. 66
- 15) M.D. Baijal, L.P. Blanchard, *J. Appl. Polymer Sci.*, **12**, 169 (1968)