講 座

高速液体クロマトグラフィー・界面活性剤 (2)

辻 和 郎・中 栄 篤 男

花王石鹸株式会社栃木研究所 (栃木県芳賀郡市貝町赤羽 2606 番地)

High Performance Liquid Chromatography/Surface-
Active Agents (2)

Kazurō TSUJI and Atsuo NAKAE

Tochigi Research Laboratories, Kao Soap Co., Ltd.
(2606 Akabane, Ichikai-machi, Tochigi)

3 非イオン界面活性剤

3.1 親油基の分析

非イオン界面活性剤は、一般に親油基と親水性部分との結合の仕方によってエーテル型とエステル型に大別され、その他に分子中に窒素を含む一群の界面活性剤がある。これらの界面活性剤の親油基分析には GC 法がしばしば適用されるが、そのほとんどはヨウ化水素酸分解、リン酸分解、熱分解、けん化分解などの前処理を必要とする。これに対して、最近、試料を直接 HPLC により分析する方法がいくつか開発された。

逆相分配クロマトグラフィー用 充てん剤 LiChrosorb RP-8 を固定相とし、pH 9.5 に調節したメタノール/水 (88/12) を移動相として用いることにより、アルキル=ポリオキシエチレン=エーテル (POE) の親油基の炭素鎖長による分離が可能である¹⁾。高級アルコール ($C_{10}\sim C_{18}$)

分析条件
カラム: LiChrosorb RP-8,
4.7mmφ×150mm
溶離液: メタノール/水 (88/12), pH9.5
検出器: RI

図-1 アルキルポリオキシエチレンエーテル (EO=11) のクロマトグラム

にエチレンオキシド (EO) が平均 11 mol 付加した POE についての分析例を 図-1 に示す。検出は RI 検出器を用いて行う。

スチレン-ジビニルベンゼン系 ポーラスポリマー (日立ゲル 3011) を充てん剤とし、メタノール/水 (97/3) を溶離液とする HPLC 法により、脂肪酸モノエタノールアミド (FME) 及び脂肪酸ジエタノールアミド (FDE) の親油基の分析を行うことができる²⁾。UV 検出器を用いる。FME 及び FDE のクロマトグラムを 図-2 に示す。各界面活性剤同族体のアルキル炭素数とキャパシ

分析条件
カラム: 日立ゲル 3011,
4 mmφ×500mm
溶離液: メタノール/水 (97/3)
流速: 1.1ml/min
カラム温度: 30°C
検出器: UV (215nm)

図-2 脂肪酸エタノールアミドのクロマトグラム

ティファクターの対数値の間には比例関係がある。また、カラム温度の逆数とキャパシティファクターの間にも直線の関係があることが、実験的に確認されている。FDE について得られた結果を、図-3 及び 図-4 に示す。

3.2 EO 分布の分析

高級アルコールやアルキルフェノールなどに EO が付加したタイプの非イオン界面活性剤は、一般に分子中に

図-3 キャパシティファクターと FDE のアルキル鎖長の関係

図-4 キャパシティファクターとカラム温度の関係

EO 分布を有している。この種の界面活性剤の分析方法としては GC 法が良く知られている。しかしながら、親油基にもアルキル鎖長の分布がある場合、クロマトグラムが複雑になりやすく、また、EO 付加モル数が多いものについては、アセチル化やトリメチルシリル化などの前処理を行っても溶出してこないなど、GC 法では限界がある。これに対して、HPLC 法では、検出器の制約などにより、主としてアルキル=フェニルポリオキシエチレン=エーテル (POEP) のように UV 吸収を有する試料に適用されているが、FID を POE の分析に用いている例もある。

シリカ (Spherosil) + ケイソウ土 (Super Cell) に液相としてポリエチレングリコール (PEG-400) をコーティングしたものを固定相に、2,2,4-トリメチルペンタン/四塩化炭素 (2/1) を移動相にそれぞれ用いた液-液分配クロマトグラフィーにより、POEP の EO 分布を測定することができる³⁾。UV 検出器 (277 nm) により検出を行う。

シリカ (Porasil A) を固定相に使い、酢酸/水/酢酸エチルの組み合わせによるグラジエント溶離法により、Triton X-100, -114 及び -165 (いずれもオクチルフェニル=ポリオキシエチレン=エーテル) の各 EO 分布の分析が可能である⁴⁾。この場合も、UV 検出器 (280 nm)

分析条件

カラム: Zorbax-SIL,

2.1mmφ×250mm

溶離液: アセトン/ヘキサン (25/75)

→アセトン, 5%アセトン/min

温度: 30°C

検出器: FID

(図中の数字は、EO付加モル数を示す)

図-5 ドデシルポリオキシエチレン=エーテル (EO=15) のクロマトグラム

分析条件

カラム: Zorbax-SIL,

2.1mmφ×250mm

溶離液: アセトン/ヘキサン (25/75)

→アセトン, 5%アセトン/min

温度: 30°C

検出器: FID

図-6 ノニルフェニル=ポリオキシエチレン=エーテル (EO=5) のクロマトグラム

を用いる。

多孔質球状シリカ (Zorbax-SIL) を充てん剤として用い、ヘキサン/アセトン系でのグラジエント溶離法により、POE 及び POEP の分離分析が可能である⁹⁾。この場合、検出器として FID を使用する。ドデシルアルコールに EO が平均 15 mol 付加した市販品をアセチル化した試料について分析した例を 図-5 に示す。市販品では、EO 付加モル数の分布のほか、親油基の炭素数分布も存在するのが普通であるが、本法では、親油基の炭素数が異なっても、EO 付加モル数が同じであれば、保持時間は一致することが確認されている。なお本法により、POE 以外に、POEP やエステル型の界面活性剤、ポリエチレングリコール (PEG) などについても、同様に分析を行うことができる。ノニルフェニル=ポリオキシエチレン=エーテル (EO 付加モル数=5) のクロマトグラムを 図-6 に示す。

3.3 組成分析

市販の脂肪酸モノグリセリドには、比較的多量のジグリセリドやトリグリセリドが含まれていると言われており、位置異性体も含めた組成分析が必要となる。

シリカ (Zorbax-SIL) を充てんしたカラムを用いて、

1: トリグリセリド, 2: 1,3-ジグリセリド,
3: 1,2-ジグリセリド, 4: モノグリセリド

分析条件

カラム: Zorbax-SIL,
2.1mmφ×250mm

溶離液: アセトン/ヘキサン(5/95)

→アセトン, 5%アセトン/min

温度: 45°C

検出器: FID

図-7 モノグリセリドのクロマトグラム

ヘキサン/アセトンを組み合わせた移動相でグラジエント溶離を行うことにより、モノグリセリド、1,2-ジグリセリド、1,3-ジグリセリド、トリグリセリドの分離及び定量が可能である⁹⁾。市販品の分析例を 図-7 に示す。

固定相として LiChrosorb DIOL を用い、2,2,4-トリメチルペンタン/イソプロピルアルコール (95/5) を移動相として使用することにより、モノ、ジ、トリグリセリドの分離、定量ができる⁷⁾。ここでは UV 検出器 (213 nm) を用いる。この方法は、プロピレングリコールの脂肪酸エステルなどの乳化剤の分析に広く適用できる。

また、ポリグリセリンやその脂肪酸エステルのような乳化剤の分析にも HPLC 法が適用できる。シリカ (LiChrosorb SI 60) を充てん剤に、アセトニトリル/水 (85/15) を溶離液にそれぞれ用いることにより、モノ～ヘキサグリセリンの分離定量が可能である⁸⁾。

3.4 副成物の分析

EO 付加型非イオン界面活性剤には、一般に副成物として PEG が含まれており、この分析法としては、向流分配抽出法、分配クロマトグラフィー、吸着クロマトグラフィーなどが知られているが、いずれも時間がかかり精度や正確さの点でもやや難があった。最近、HPLC を適用した例がいくつか示されているが、いずれも迅速かつ精度の良好な方法といえる。

固定相として逆相分配用充てん剤 Bondapak C₁₈/Corasil を用い、移動相としてアセトニトリル/水 (65/35) を用いることにより、POE あるいは POEP 中の PEG の分離定量が可能である⁹⁾。ドデシルアルコールに EO が 25 mol 付加した非イオン界面活性剤の分析例を 図-8

図-8 アルキル=ポリオキシエチレン=エーテル (EO=25) 中の PEG の分析

に示す。RI 検出器を使用する。本法の相対標準偏差は 4% 以下である。同じく、逆相分配クロマトグラフィーにより定量する方法としては、Separon 40-S を固定相に、メタノール/水 (95/5) を移動相に用いた例がある¹⁰⁾。本法は、エーテル型やエステル型の非イオン界面活性剤に適用できる。種々の市販品中の PEG の分析例

表-1 市販 EO 付加型界面活性剤中の PEG の量

型	商 品 名	PEG 量 (%)
アルコール EO 付加物	Eumulgin 05	4.2
アルキルフェノール EO 付加物	Tergitol NP 35	5.2
脂肪酸 EO 付加物	MYRJ 59	53.1
ソルビタン EO 付加物	Tween 20 SD	31.2
グリセリド EO 付加物	Tagat 0-2	22.4
アルカノールアミド EO 付加物	Ethylane CRS	17.3

を 表-1 に示す。

あらかじめ非イオン界面活性剤から PEG を分離したのち、HPLC により PEG の分子量分布を測定することができる¹¹⁾。すなわち、シリル化セライト 545 を固定相とし、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により副成 PEG を分離し、次にスチレン-ジビニルベンゼン共重合ゲルを充てん剤とし、移動相にクロロホルムを用いる HPLC により、PEG の分析を行う。この場合、保持容量と PEG の分子量の対数の間に 図-9 に示すような直線関係がえられる。これを検量線として用いることにより、PEG の分子量分布を測定す

図-9 PEG の分子量と保持容量の関係

表-2 非イオン界面活性剤中の PEG の平均分子量

試 料*	平均分子量	試 料	平均分子量
エーテル型		エステル型	
1205	1028	1205	450
1405	1399	1405	442
1605	1054	1605	483
1805	1073	1805	463
1210	848	1210	646
1410	979	1410	636
1610	1277	1610	616
1810	1645	1810	634
1215	1224	1215	882
1415	1339	1415	889
1815	1373	1615	936
Tween 型		1815	932
A	1139	1220	1165
B	1249	1420	1191
C	1125	1620	1252
		1820	1176

* ここでたとえば 1205 は、C₁₂-アルコール（または脂肪酸）に EO が 5 mol 付加していることを意味する。

る。市販非イオン界面活性剤試料について測定した結果を 表-2 に示す。エーテル型では付加モル数によらず副成 PEG の平均分子量は 1000~1300 程度であるのに対し、エステル型では、付加モル数の増加と共に平均分子量も規則的に増加することがわかる。

3.5 微量分析

非イオン界面活性剤の微量分析法としては、チオシアン酸コバルト法に代表される種々の比色法がよく用いられているが、これらはいずれもポリオキシエチレン基に対する反応を利用したものであるため、選択性に限界がある。また、これに代わる方法として GC 法が考えられるが、トリメチルシリル化やアセチル化などのように揮発性誘導体に変換する前処理操作を行っても、EO 付加モル数の大きい部分は溶出してこない欠点がある。

これに対して HPLC 法では、揮発性物質に変換する必要がなく、溶出ピーク数を減らして検出感度を上げることができるため、検出法を工夫すれば極めて有効な微量分析法となりうる可能性がある。

最近、Bondapak C₁₈/Corasil を固定相とし、水/メタノール系を用いるグラジエント溶離法により、アルキルフェノール型非イオン界面活性剤を HPLC 分析した例が報告された¹²⁾。UV 検出器を用いており、オクチルフェニル-、ノニルフェニル-、ドデシルフェニル=ポリオキシエチレン=エーテルがそれぞれ 1 ピークとして順次溶出してくる。標準混合物の分離例を 図-10 に示す。ここでは、水→水/メタノール (50/50)、水/メタノール (50/50)→メタノールの 2 段階溶出を行う。本法では、1 ppm レベルで 96%、50 ppb レベルで 71% の回収率を

分析条件

カラム: Bondapak C₁₈/Corasil,
2 mmφ×1200mm

溶離液: 水→水/メタノール (50/50)→メタノール

流 速: 1 ml/min

検出器: UV (280nm)

図-10 アルキルフェニル=ポリオキシエチレン=エーテルのクロマトグラム

分析条件

図-10に同じ

(ただし、試料溶液390mlについて、あらかじめ3 ml/minの流速で、130min吸着操作を行ったのち、溶出に切りかえる)

図-11 廃水試料のクロマトグラム

うる。さらに廃水中にこの方法を適用した例を図-11に示す。図中の×印をつけた2つのピークに相当するフラクションを集め、フィールドディソープション質量分析法(FDMS)により同定を行う。標準のFDMSスペクトルと照合することにより、このピークがノニルフェニル=ポリオキシエチレン=エーテルに起因するものであることがわかる。

4 両性界面活性剤

両性界面活性剤をHPLCにより分析した例は少なく、わずかに、ODSシリカを用いた逆相クロマトグラフィーにより、スルホベタインの分析を行っている程度である。

ODS-シリカ(μ -Bondapak- C_{18})を固定相に、また移動相としてメタノール/水(80/20)をそれぞれ用いることにより、以下に示すようなスルホベタイン型両性界面活性剤の定量及び親油基分析が可能である¹³⁾。

牛脂及びやし油からそれぞれ誘導されたスルホベタインのクロマトグラムを図-12に示す。RI検出器を用いる。

本法をセッケン中のスルホベタインの分析に適用することができる¹⁴⁾。すなわち、 μ -Bondapak- C_{18} を固定相に、0.2%の酢酸を含むメタノール/水(85/15)を移動

A: 牛脂誘導体, B: やし油誘導体

分析条件

カラム: μ -Bondapak- C_{18}

溶離液: メタノール/水(80/20)

流速: 1 ml/min

検出器: RI

図-12 スルホベタインのクロマトグラム

相に用いることにより、牛脂及びやし油を原料とするセッケン中のスルホベタインの定量が可能である。図-13にその一例を示す。図中×印がセッケン中のラウロイルアミドスルホベタインのピークである。

5 界面活性剤以外の関連化合物

5.1 低級アルキルベンゼンスルホン酸塩

粉末洗剤の固結防止剤、液体洗剤の可溶化剤などとして広く使用されているベンゼンスルホン酸塩(BS)、*p*-トルエンスルホン酸塩(PTS)、*m*-キシレンスルホン酸塩(MXS)などの低級アルキルベンゼンスルホン酸塩(低級ABS)は、いずれも紫外吸収を有しており、UV検出器を用いるHPLCにより分離定量を行うことができる¹⁵⁾。

すなわち、球状ポーラス型強塩基性イオン交換樹脂(TSKゲルLS-222)を固定相に、0.2M過塩素酸を含むメタノール/水(1/9)を溶離液にそれぞれ用い、検出

分析条件

カラム: μ -Bondapak- C_{18}

溶離液: 0.2% 酢酸含有メタノール/水 (85/15)

流速: 1 ml/min

検出器: RI

図-13 セッケン中のスルホベタインのクロマトグラム

1. BS, 2. PTS, 3. MXS

分析条件

カラム: TSKゲルLS-222,

5 mm ϕ ×50mm

溶離液: 0.2M過塩素酸含有メタノール/水 (1/9)

流速: 1.3 ml/min

温度: 40℃

検出器: UV (220nm)

図-14 低級アルキルベンゼンスルホン酸塩のクロマトグラム

波長を 220 nm に設定することにより、低級 ABS を分析する。BS, PTS, MXS の混合物の分離例を 図-14 に示す。この条件では、リン酸塩や硫酸塩などのビルダー類は 220 nm においてほとんど吸収を有せず、かつ BS よりも先に溶出し、また紫外部に吸収を有する LAS はイオン交換樹脂に強く吸着され溶出してこないため、測定妨害にならない。なお、PTS を製造する際に副成する *o*-トルエンスルホン酸塩は、本条件下では PTS の溶出ピークと重なるため、異性体比を知ることはできない。さらに、最近、本法によりクメンスルホン酸塩のようなタイプの低級 ABS の分析も可能であることが明らかになった¹⁶⁾。

5.2 縮合リン酸塩

洗剤に含まれる代表的なビルダーの 1 つである縮合リン酸塩としては、ピロリン酸塩やトリリン酸塩などがよく知られているが、これらは洗剤製造時に加水分解反応などにより組成が変わり、性能に影響を与えることがある。縮合リン酸塩の組成分析法としては、PC, TLC, イオン交換クロマトグラフィーなどの各種クロマトグラフィーがあるが、いずれも分離操作に時間を要する。

球状ポーラス型強塩基性イオン交換樹脂 (TSK ゲル LS-222) を固定相に、0.1% EDTA-2Na を含む pH 9.2 の 0.23 M 塩化カリウム溶液を移動相に用いる HP=LC により、オルト、ピロ、トリリン酸塩の迅速分離定量が可能である¹⁷⁾。カラム溶出液中のリン酸イオンの検出には、リン酸イオンとバナドモリブデン試薬が硝酸溶液中で反応して生成するモリブドバナドリ酸の吸光度を測定するポストカラム法を採用している。本分析の流路図を 図-15 に示す。縮合リン酸塩を加水分解し、モリブドバナドリ酸を生成させるために、テフロン製の反

1: 溶離液, 2: ポンプ, 3: 圧力計,
4: 試料注入器, 5: 分析用カラム, 6: 水浴,
7: 発色液, 8: ポンプ, 9: 抵抗カラム,
10: 三方ミキシングジョイント, 11: 反応コイル及び反応そう,
12: 検出器, 13: 記録計, 14: データ処理装置

図-15 縮合リン酸塩分析の流路図

応コイルを用いた反応そうを使用し、また検出器の測定波長を 400 nm に設定する。モリブドバナドリ酸法は、比較的選択性の高い比色分析法として以前からよく知られており、洗剤中の他成分による妨害はほとんど無い。市販洗剤中の縮合リン酸塩の分離例を 図-16 に示す。本法は、環状リン酸塩の分析法として用いることも可能である。

図-16 市販洗剤中の縮合リン酸塩のクロマトグラム

5.3 硫酸塩

粉末洗剤中には一般に無機ビルダーの一つとして硫酸塩が含まれており、この定量法として重量法やキレート滴定法などがよく用いられている。しかしながら、いずれも操作が煩雑であり、分析に長時間を要する欠点がある。これに対して、洗剤中の硫酸塩をなんの前処理をも施すことなく、迅速に定性・定量する方法としてHPLC法がある。

球状ポーラス型強塩基性イオン交換樹脂 (TSK ゲルLS-222) を固定相に、0.1 M 硝酸水溶液を移動相に用いる方法により、分析が可能である¹⁹⁾。カラム溶出液中の硫酸イオンの検出には、三価の鉄イオンと硫酸イオンが酸性溶液中で反応して生成する硫酸鉄 (Ⅲ) 錯体の紫外吸収を測定するポストカラム法を採用している。この方法では、リン酸塩などのビルダー類と硫酸塩を完全に分離することができ、また LAS などのアニオン界面活性剤はイオン交換樹脂に強く吸着されて溶出せず、いずれも測定の妨害にならない。

さらに、 5×10^{-3} M 硝酸鉄 (Ⅲ) を含む 0.1 M 硝酸水溶液を移動相に用いることにより、分析カラム内で錯形成反応とイオン交換反応を同時に行わせる改良法がある¹⁹⁾。この方法は、試料の分離及び検出を容易にするた

めの前処理法としてのプレカラム法、試料をカラムで分離したのち高感度で選択的に検出するための発色反応を利用するポストカラム法に比べ、オンカラム法とでもいうべき方法である。洗剤中の硫酸塩の分離例を図-17に示す。図中 A, B はそれぞれポストカラム法及び本法によって測定を行った結果である。ポストカラム法では、

図-17 洗剤中の硫酸塩のクロマトグラム

ピロ及びトリリン酸塩の溶出ピークがそれぞれ約 4 min 及び 16 min の位置に認められるのに対し、本法では、ピロ及びトリリン酸塩共に V_o の位置に溶出する。また、硫酸塩の溶出時間も、本法では約 4 min であり、極めて速い利点がある。

5.4 けい光増白剤

市販の衣料用洗剤には、特に繊維に対する増白効果をあげるのを目的として、けい光増白剤 (FWA) がしばしば配合されている。FWA の分析法としては、TLC、紫外スペクトル法、けい光スペクトル法などがあるが、FWA の種類が多く、また構造がよく類似しているため、いずれもあまり実用的な分析法とはいえない。HPLC法により FWA を直接、迅速分離定量することが可能である²⁰⁾。

すなわち、LiChrosorb RP-18 を固定相に、0.25% ベ

ンジルテトラデシルジメチルアンモニウム塩を含むメタノール/水(86/14)を溶離液に用いる逆相イオン対クロマトグラフィーにより、洗剤中のFWAの分離定量が可能である。FWA 9種の標準混合物のクロマトグラムを図-18に示す。本法ではけい光検出器を用いているが、LASなどの他の洗剤成分の影響を受けることなく、選

分析条件

カラム: LiChrosorb RP-18,
4 mmφ×150mm
溶離液: 0.25%硝酸ベンジルテトラデシル
ジメチルアンモニウム含有メタノール/水(86/14)
流速: 1.0ml/min
温度: 40℃
検出器: けい光(Ex: 300~400nm, Em: 450~800nm)

図-18 けい光増白剤混合物のクロマトグラム

択的にかつ高感度に分析することができる。

おわりに

界面活性剤はその構造が一般に非常に複雑であり、しかも揮発性に乏しいという理由で、HPLC法がしばしば用いられるようになってきた。

今後は、いかに分離を行わせるかという課題と共に、検出法が一層重要な課題となるであろう。すでに本稿で述べたように、けい光検出器を使用して高感度検出を行う方法、化学反応を利用して目的成分を検出しやすくするプレカラム法、ポストカラム法、オンカラム法などの適用、FDMS法との組み合わせなど、種々の工夫が行われつつある。

さらには、試料の前処理からデータ処理までの一貫した自動分析法も、この分野で今後一層推し進められることであろう。

(昭和55年6月2日受理)

文 献

- 1) D. Thomas, J.-L. Rocca, *Analisis*, **7**, 386 (1979)
- 2) A. Nakae, K. Kunihiro, *J. Chromatogr.*, **156**, 167 (1978)
- 3) J.F.K. Huber, F.F.M. Kolder, J.M. Miller, *Anal. Chem.*, **44**, 105 (1972)
- 4) C. Freeman Allen, L.I. Rice, *J. Chromatogr.*, **111**, 151 (1975)
- 5) 中村 淳, 松本 勲, 日化, **1975**, 1342
- 6) 中村 淳, 松本 勲, 日化, **1976**, 104
- 7) T. Riisom, L. Hoffmeyer, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **55**, 649 (1978)
- 8) K. Aitzetmüller, M. Böhrs, E. Arzberger, *Fette, Seifen, Anstrichm.*, **81**, 436 (1979)
- 9) L.P. Turner, D. McCullough, A. Jackewitz, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **53**, 691 (1976)
- 10) M. Coupkova, K. Janes, *J. Chromatogr.*, **160**, 73 (1978)
- 11) 中村 淳, 松本 勲, 油化学, **26**, 464 (1977)
- 12) A. Otsuki, H. Shiraishi, *Anal. Chem.*, **51**, 2329 (1979)
- 13) N. Parris, W.M. Linfield, R.A. Barford, *Anal. Chem.*, **49**, 2228 (1977)
- 14) N. Parris, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **55**, 675 (1978)
- 15) 中柴篤男, 降矢一美, 三方鶴雄, 山中 実, 日化, **1976**, 1426
- 16) 川瀬次朗, 中柴篤男, 未発表
- 17) 中柴篤男, 降矢一美, 山中 実, 日化, **1978**, 708
- 18) 中柴篤男, 降矢一美, 三方鶴雄, 山中 実, 日化, **1977**, 1655
- 19) 中柴篤男, 降矢一美, 山中 実, 日化, **1978**, 217
- 20) 中柴篤男, 森田まり子, 山中 実, 分析化学, **29**, 69 (1980)