報 文

ドデシル=ポリ(オキシエチレン)=エーテルと 2-(ヒドロキシエチル)-ドデカンアミド類のアルミナカラムクロマトグラフィーによる分離

吉 村 晴 夫*・杉 山 豊 樹

ライオン株式会社 分析センター (〒132 東京都江戸川区平井 7-13-12)

Separation of Dodecyl=poly(oxyethylene)=ethers and 2-(Hydroxyethyl) Dodecaneamides by Alumina Column Chromatography

Haruo YOSHIMURA and Toyoki SUGIYAMA

Analytical Research Center, Lion Corporation

(13-12, 7-chome, Hirai, Edogawa-Ku, Tokyo, 〒132)

An analytical method was developed for *N, N*-bis(2-hydroxyethyl) dodecanamide and *N*-(2-hydroxyethyl) dodecanamide in mixtures with dodecyl poly(oxyethylene)ethers using alumina column chromatography.

HPLC data for the mobile phase systems of the ethyl acetate with water and with methanol were found to indicate linear relationships between $\log k'$ and $\log$ (concentration of water [or methanol]) except when dodecyl poly(oxyethylene) ethers were used for methanol. An abrupt change in retention time was noted for dodecyl poly(oxyethylene)ether at a methanol concentration of about 3% in ethyl acetate. They virtually ceased to be retained regardless of the added numbers of ethylene oxide.

This elution behavior should be applicable to the development of suitable methods for the objective analysis.

1 緒 言

家庭用洗剤あるいはシャンプー、リンスなどの香粧品は、イオン性界面活性剤や非イオン界面活性剤のそれぞれの特性を利用した、それらの複雑な組成物である。

これらの製品の組成分析では、イオン交換分離によりそのイオン性により、アニオン性物質、カチオン性物質及び非イオン性物質に分離した後、それぞれについて詳細な分析を行うことが一般的である¹⁾。このうち、非イオン性物質についてはシリカゲルカラムクロマトグラフィーで構成成分の極性に応じ分画し解析することがよく行われている^{2), 3)}。著者らもこのシリカゲルカラムクロマトグラフィーによる効率的で迅速な分離分析方法を報告している⁴⁾。この方法で、吸着性能の互いに異なるシリカゲルを充填した2つのカラムを用いることにより炭化水素のような非極性物質からポリエチレングリコールのような高極性の物質まで分画できることを示した。

しかし、シリカゲルを用いる方法では、家庭用洗剤あるいは香粧品等で最もよく用いられているエチレンオキ

シドの平均付加モル数が10程度のアシル=ポリ(オキシエチレン)=エーテルと *N, N*-ビスあるいは *N*-(2-ヒドロキシエチル)アルカンアミドの分離は困難であった。一方、Longmann はアルミナを吸着剤に用いるカラムクロマトグラフィーでこれらを分離する方法を報告している⁵⁾。著者らの経験では、この報告に示されるような分離は確認できず、分離を支配する要因の把握に不十分なところがあるのではないかと考えた。しかし、傾向として吸着剤にアルミナを用いるとこの報告で指摘するように、このようなヒドロキシエチルアルカンアミドがアルキル=ポリ(オキシエチレン)=エーテルよりも強く保持されるようであった。

そこで、分離性能がよい HPLC で分離を支配する要因とその影響を系統的に把握しアルキル=ポリ(オキシエチレン)=エーテルが共存する系での *N*-あるいは *N, N*-ビス(2-ヒドロキシエチル)アルカンアミドの分離分析法の開発を企画した。検討の結果、アルミナカラムを用いる HPLC において、非イオン界面活性剤の興味ある溶出挙動が把握でき、目的とするアルキル=ポリ

* 連絡者

(オキシエチレン)=エーテルと共存する *N*-あるいは *N,N*-ビス(2-ヒドロキシエチル)アルカンアミドの新しい分離分析法を開発したので報告する。

2 実 験

2.1 供試料及び試薬類

検討に用いた試料は次の通りである。*N,N*-ビス(2-ヒドロキシエチル)ドデカンアミド [川研ファインケミカル(株), アミゾール LDE : BHE と略記] 及び, *N*-(2-ヒドロキシエチル)ドデカンアミド [川研ファインケミカル(株), アミゾール LME : MHE と略記] は 60℃ の真空乾燥器で約 10 h 乾燥させたものを使用し, ドデシル=ペンタ(オキシエチレン)=エーテル [日光ケミカル(株) : D5E と略記], ドデシル=オクタ(オキシエチレン)=エーテル [日光ケミカル(株) : D8E と略記] 及び 1-ドデカノール(関東化学試薬 1 級)に水酸化ナトリウム触媒でエチレンオキシドをそれぞれ 10 mol, 20 mol 及び 40 mol 付加させて得たドデシル=ポリ(オキシエチレン)=エーテル(それぞれ D10E, D20E, D40E と略記)を用いた。また検討に用いた試薬は, 試薬特級をそのまま用いた。

2.2 器 具 類

検討に使用した HPLC カラムは, 市販の HPLC 用アルミナ充填剤, Lichrosorb Alox T (平均粒径 10 μ m, 塩基性アルミナ, Merck) 及び Spherisorb A 5 Y (平均粒径 5 μ m, Phase Separation Ltd.) を内径 4.0 mm, 長さ 150 mm のステンレスカラムにクロロホルムを用いスラリー充填して得た。また, HPLC 送液ポンプ(島津 LC-3A 型), 示差屈折率検出器(昭和電工 Shodex SE-11 型)及びルーブインジェクター(Rheodyne 7125 型)よりなる装置を検討に用いた。

容量係数(k')の算出は, 保持時間(t_r)と溶媒フロントの溶出時間(t_0) [ベンゼンの溶出時間(t_b)に等しいとみなした]より次式にて算出した。

$$k' = t_r/t_0 - 1 = t_r/t_b - 1$$

3 結果及び考察

3.1 HPLC による検討

アルミナはシリカゲルと並んで吸着クロマトグラフィーの分離担体として古くからよく用いられ界面活性剤への利用例もあるが⁵⁾, シリカゲルほど一般的ではない。その理由のひとつとして, 吸着-脱着の交換速度が遅いこと, またある種の化合物がテーリングしやすい等のため分離性能がシリカゲルより劣る問題点が指摘できる。また, 溶出に対して用いるアルミナの活性度, 溶離液の溶媒溶出強度の影響が一般的に充分把握されていず, 結果として溶離液の微妙な差異により溶出挙動が変化を受けやすく再現性のあるデータが得にくいという問

題点を挙げるができる。

そこで著者らは, アルミナを充填したカラムを用いる HPLC で, シリカゲルカラムクロマトグラフィーではその相互分離が困難であったドデシル=ポリ(オキシエチレン)=エーテル(DPE と略記する)と BHE あるいは MHE の溶出挙動を移動相の組成を変えて系統的に把握しその分離法を検討した。

吸着クロマトグラフィーの解析には, 式(1)で示す質量作用の法則が有効といわれている⁶⁾。

$$[S]_M + [nE-A]_S \rightleftharpoons [S-A]_S + n[E]_M \quad (1)$$

ここで, S は着目している試料溶質, A は固定相の吸着点, そして E は吸着に対し試料と競合する移動相中の吸着しやすい高極性成分を示す。また $[]_M$, $[]_S$ はそれぞれ移動相及び固定相に存在する分子数を示している。溶質 S が固定相に吸着する時, n 個の溶媒分子 E が脱着することを式(1)は示している。このような平衡がカラム内で起きていれば, その HPLC の容量係数(k')は式(2)のようになる。

$$\log k' = \text{定数} - n \log [E] \quad (2)$$

水を含む酢酸エチル溶液を移動相とし, この水が試料溶質と固定相に対して競合して吸着している成分とみなして, 移動相中の水分と溶質の k' の関係を調べたところ Fig.-1 に示す結果が得られた。

$\log k'$ と移動相の水分の対数の間には直線関係が BHE, MHE そして DPE いずれの試料でも確認できた。この時の BHE 及び D10E のそれぞれのクロマトグラムを Fig.-2 に示した。

エチレンオキシドの付加モル数分布のある DPE と

(1 BHE, 2 dodecyl pentadeca(oxyethylene)ether*, 3 MHE, 4 D8E)

*Estimated from the chromatogram for D10E as indicated with an arrow in Fig.-2(b)

Fig.-1 Effect of water content in mobile phase on capacity factor.

BHE の相互分離は、この様な移動相条件では、かなり制約された条件でしか達成できそうにない厳しいものであることが推定できた。

次に移動相の高極性成分としてメタノールを用い同様な検討を行い Fig.-3 に示した結果を得た。

BHE, MHE は水と同様に直線関係が成立している。この直線の傾きから式 (2) より n を求めると、BHE では水溶液で 1.67 に対しメタノール溶液では 1.60 となった。MHE では、水溶液で 1.23 に対しメタノール溶液で 1.30 となった。それぞれの溶質に対し水溶液、メタノール溶液でほぼ同じ値が得られた。異なるアルミナ充填剤である Spherisorb A 5 Y でも同様な結果が得られ、その値はメタノールの場合、BHE で 1.9, MHE で 1.5 と若干大きな値となったが、BHE>MHE という傾向は同じであった。このことは、吸着した時の溶質分子によるアルミナ表面の占有面積が BHE が MHE より大きいことを示唆しており、極性官能基であるヒドロキシエチル基を 2 個有する BHE と 1 個の MHE の構造的な差異から考えても合理的な結果であると解釈できる。一方、ドデシル=ポリ(オキシエチレン)=エーテルは、メタノール溶液と水溶液では明確にその挙動が異なっており、メタノールでは、ある濃度から急激にその k' が減少した。エチレンオキシド付加モル数のかなり大きい D 40 E のピークトップでの k' の変化を Fig.-3 に示したが、D 5 E, D 8 E の k' が急激に減少する近傍のメタノール濃度で同様に急激に減少した。このことから、DPE は、エチレンオキシドの付加モル数によらず、この濃度付近のメタノール溶液でアルミナにほとんど吸着

(保持) されなくなることがわかった。なお、この検討を通じて用いた酢酸エチルには 0.015% の水分が含まれており、厳密には、若干の水分の影響は考慮に入れねばならないが無視できる程度と判断した。

DPE は溶液組成によりそのコンホメーションを変化させるということで、逆相 HPLC の特異な溶出挙動の変化が解釈されているが⁷⁾、アルミナを固定相として、酢酸エチルに少量のメタノールを含む溶液を移動相とする HPLC でも同様な現象が起きていることが示唆される。

酢酸エチルを移動相のベースの溶媒とし、溶出を支配する高極性成分として水あるいはメタノールの特徴を活用することで、DPE とヒドロキシエチルアルカンアミドのアルミナカラムを用いる分離が可能になるのではないかと考え、ここにこのような条件での水とメタノールの分離に対する影響をまとめた。

(イ) k' をある程度確保するためには、おおむね水分は 1% 以下、メタノールは 5% 以下にすることが必要である。

(ロ) メタノールの増量は、DPE の溶出を速めることに効果的である。

(ハ) 水の添加は、ヒドロキシエチルドデカンアミド(特に BHE) のテーリングの抑制に効果的である。

以上の点を考慮に入れて BHE と D 40 E との相互分離をも可能とする移動相組成として酢酸エチル/メタノール/水=97/3/0.3 (vol/vol/vol) を設定した。そのときのクロマトグラムを Fig.-4 に示した。

注入した BHE は、少なくとも 170 μg までは、ピー

HPLC conditions
column: LiChrosorb Alox T ($\bar{d}=10\text{m}$), 4.0mmID $\times$ 150mmLength
mobile phase: ethyl acetate/methanol=99/1 (vol/vol)
flow rate: 1mL/min injection volume: 50 μL detector: RI
The peak marked with an arrow was supposed to be pentadeca(oxyethylene), for the peak with a circle indicated the same elution as the standard of dodecyl octa(oxyethylene) ether

Fig.-2 Chromatograms of *N, N*-bis(2-hydroxyethyl) dodecanamide and dodecyl poly(oxyethylene) ether ($\bar{p}=10$)

Fig.-3 Effect of methanol content in mobile phase on capacity factor.

ク面積と注入量との間に原点を通る良好な直線関係が確認できた。この条件で DPE に BHE を添加した試料中の BHE の回収実験を行い、Table-1 に示すような良好な結果を得た。

次に、MHE と DPE との相互分離条件を検討した。MHE では、その k' をある程度確保するため水を添加することはほとんどできず、結果として酢酸エチル/メタノール=94/6 (vol/vol) を最適なものとして選定した。この条件では、MHE は D 20 E とは完全に分離したが、D 40 E とは Fig.-5 (a) に示すように一部重なってしまった。

このような場合は、DPE はシリカゲルに強く吸着される性質を利用して、次のような前処理を行うことで対応できることがわかった。

MHE と DPE の混合物 300 mg 以下を少量の酢酸エチルに溶解し、約 5 g のシリカゲル (Wakogel Q-23 : 和光純薬) を詰めたガラスカラム (内径 15 mm) に流速 1~2 mL/min で、これを通じた。次いで 100 mL の酢酸エチルを通じ、通過液を集める。この液をそのまま、あるいは一部溶媒を留去後定容し HPLC に注入した。この時得られたクロマトグラムの一例が Fig.-5

(b) である。

この条件で少なくとも 220 μ g までの MHE は注入量とピーク面積の間に原点を通る直線関係を示した。この方法で DPE に MHE を添加した混合物から MHE の回収検討を行い Table-2 に示す結果を得た。

この結果では、シリカゲルカラムによる前処理の有無は特に回収率に影響していないようであるが、ピーク面積を求める際の変動要因を排除するためには前処理することが望ましいと考える。

3.2 分画用カラムクロマトグラフィーの検討

次に、アルミナを用いる分画分取を目的とするカラムクロマトグラフィーでの DPE と BHE との分離を検討した。高級アルコール、脂肪酸エステル、アルキルグリセリド等との混合物から、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより BHE がほぼ定量的に回収できる方法を我々は報告している⁴⁾。しかし、この方法では、比較的付加モル数の少ない DPE もこのフラクションに溶出してきてしまった。そこで、ここでは適用範囲の広いこのシリカゲルカラムクロマトグラフィーの使用を前提に、これを補完する BHE と DPE の分離について検討

Fig.-4 Separation of *N,N*-bis (2-hydroxyethyl) dodecanamide in mixture with dodecyl poly(oxyethylene) ethers ($\bar{p}$ =40)

Fig.-5 Separation of *N*-(2-hydroxyethyl)dodecanamide in a mixture with dodecyl poly(oxyethylene) ethers ($\bar{p}$ =40)

Table-1 Recoveries of *N,N*-bis (2-hydroxyethyl) dodecanamide in mixtures with dodecyl poly(oxyethylene) ethers.

Expt. no.	Type of DPE added (mg/mL)	BHE		Recovery (%)
		added (mg/mL)	found (mg/mL)	
1	D 10 E : 1.60	1.65	1.66	100.3
2	D 40 E : 4.80	1.65	1.60	96.7*

HPLC conditions : see Fig.-4

*CV.=0.7% ($n=5$)

Table-2 Recoveries of *N*-(2-hydroxyethyl)dodecanamide in mixtures with dodecyl poly(oxyethylene) ethers.

Expl. no.	Type of DPE added (mg/mL)	MHE		Recovery (%)
		added (mg/mL)	found (mg/mL)	
1	D 40 E : 7.20	1.83	1.80	98.4
2*	D 40 E : 7.20	1.83	1.86	101.6
3	D 20 E : 2.75	1.83	1.80	98.4
4	D 10 E : 2.61	1.83	1.89	103.1

* with pretreatment by silica gel column chromatography HPLC conditions : see Fig.-5

Table-3 Elution behaviors of *N*, *N*-bis (2-hydroxyethyl) dodecanamide and dodecyl poly(oxyethylene) ether by alumina column chromatography.

Fraction no.	Eluent	Elution (%)	
		DPE	BHE
1	ethyl acetate/methanol : 100 mL (98/2 : vol/vol)	91.7	0
2	ethyl acetate/methanol/water : 100 mL (96/2/2 : vol/vol/vol)	4.1	89.2
3	the same as Fr. 2 : 100 mL	0	3.9
Total		95.8	93.1

Samples : The 6 th fractions of DPE and BHE respectively, through the silica gel column chromatography described in the literature (4)

した。

このシリカゲルカラムクロマトグラフィーで酢酸エチル/アセトン=9/1の溶離液で溶出した D 10 E と BHE の分画分のそれぞれ各約 200 mg を少量の酢酸エチルに溶解し 13 g のアルミナ (Merck Art. 1078, 酸性アルミナ) を充填した内径 15 mm のガラスカラムに導入した。第一フラクションとして酢酸エチル/メタノール=98/2 (vol/vol) を 100 mL, 第 2 フラクションに酢酸エチル/メタノール/水=96/2/2 (同) を 100 mL, 第 3 フラクションに第 2 フラクションと同じ溶離液をさらに 100 mL 通じた。それぞれのフラクションの溶出量を **Table-3** に示した。

この結果はカラムクロマトグラフィーとして, かなり良好な分離性能を示していると判断した。また, 市販されているクロマトグラフィー用アルミナには塩基性及び酸性アルミナがあるが, HPLC の検討で用いた Lichrosorb Alox T が塩基性に対し, ここでは酸性タイプを用いた。以上の結果より, 塩基性と酸性の両アルミナ間には本検討で示した溶出挙動に対して基本的な差異はないのではないかと推定した。

4 総 括

代表的非イオン界面活性剤である, ドデシル=ポリ

(オキシエチレン)=エーテルとヒドロキシエチルドデカンアミドのアルミナカラムクロマトグラフィーを検討した。酢酸エチルを主成分とする溶離液に添加した水及びメタノールのこれら非イオン界面活性剤の溶出に対する影響を HPLC で調べた。その結果カラム内の質量作用の法則に従う平衡に基づく分離が一般的に確認されたが, ドデシル=ポリ(オキシエチレン)=

エーテルに対して, メタノール含有溶離液ではこの関係からはずれメタノール含量が約 3% を越えると, ほとんど保持されなくなることがわかった。このような現象を利用して, これら非イオン界面活性剤の相互分離に適した分離分析法を開発した。

最後に, 本研究の発表を許可されたライオン株式会社常務取締役・研究開発本部長 松崎 靖氏に深謝致します。

[平成 3 年 (1991 年) 5 月 16 日受理]

文 献

- 1) 永井敏雄, 油化学, 22, 556 (1973)
- 2) M.J. Rosen, *Anal. Chem.*, 35, 2074 (1963)
- 3) S.H. Newburger, J.H. Jones, C.M. Kotelmann, H.W. Stevenson, F.X. Demers, M.H. Chaption, H.M. Davis, "Proceeding of the Joint Conference and Cosmetic Science", (1968) p. 147
- 4) 吉村晴夫, 杉山豊樹, 永井敏雄, 油化学, 36, 496 (1987)
- 5) G.F. Longmann, "The Analysis of Detergents and Detergent Products", John Wiley & Sons, London (1975) p. 50
- 6) E. Soczewinski, *J. Chromatogr.*, 130, 23 (1977)
- 7) W.R. Melander, A. Nahum, C. Horvath, *J. Chromatogr.*, 185, 129 (1979)