J. Soc. Cosmet. Chem. Jpn.
実験レポート
27 (1) 48 - 53 (1993)

乳 化 剤 の 分 析 法

—非イオン界面活性剤のエステル型2種についての系統的分析法—

高木英美子, 若林清子, 大谷秀昭, 加納満和

ハリウッド株式会社研究部†

Studies on Analysis of Emulsifiers

—Systematic Analysis of Two Ester Type of Nonionic Surfactants—

Emiko Takagi, Kiyoko Wakabayashi, Hideaki Ohtani

and Mitsukazu Kanou

Hollywood Co. Ltd, Development and Laboratories.†

A method for systematic analysis of esters of nonionic surfactants was carried out.

When the UV/RI ratio were plotted against the elution volume for Tween type and Span type surfactants, relationship between the UV/RI ratio and elution volume was displayed specific pattern to each surfactants.

When nonionic surfactants were analyzed with methanol-tetrahydrofuran (1:9) as a mobile phase on the Gel Permeation Chromatography, systematic analysis of two esters of nonionic surfactants were quantitatively enabled.

By the use of calibration curves of standard polystyrene were known to be measurable the molecular weight Tween type and Span type surfactants.

1. 緒 言

界面活性剤は、化粧品に欠くことの出来ない原料の一つであり、乳化、分散及び可溶化の目的で使用され、処方の中で重要な役割をはたしている。これら個々の活性剤の分析法については、多くの研究が報告されている^{1)~4)}。現在種々検討され、報告されている高速液体クロマトグラフィー (HPLC) の分析はカラムの分離度に基づく保持時間による分離分析が主である。界面活性剤は種々の構造を有していることを考えると一種類の検出器で全てを処理することは無理である。

このような考えに基づいて二種類以上の検出器を用いた HPLC による分析法が報告されている^{5)~8)}。今回、著者らはノニオン系エステル型界面活性剤 (ソルビタン脂肪酸エステル類) の紫外吸収の有無あるいは強弱を利用し、ノニオン系エステル型界面活性剤を識別できるのではないかと考え、HPLC の検出器に紫外吸光度計 (UV) と示差屈折計 (RI) を同時に用いて系統的分析法を検討したところ新しい知見を得たので報告する。

2. 実 験

2.1 試料

試料はすべて市販品をそのまま使用した。モノオレイン酸ポリオキシエチレン (20) ソルビタン (TO-10, TO-10M), モノオレイン酸ポリオキシ

† 〒182 東京都調布市調布ヶ丘 3-66-1 ; 3-66-1
Chofugaoka, Chofu-shi, Tokyo, 182 Japan

エチレン (6) ソルビタン (TO-106), トリオレイン酸ポリオキシエチレン(20)ソルビタン (TO-30), モノステアリン酸ポリオキシエチレン (20) ソルビタン (TS-10), トリステアリン酸ポリオキシエチレン (20) ソルビタン (TS-30), モノラウリン酸ポリオキシエチレン(20)ソルビタン (TL-10), モノパルミチン酸ポリオキシエチレン (20) ソルビタン (TP-10), モノオレイン酸ソルビタン (SO-10), セスキオレイン酸ソルビタン (SO-15 EX), トリオレイン酸ソルビタン (SO-30), モノステアリン酸ソルビタン (SS-10), セスキステアリン酸ソルビタン (SS-15), トリステアリン酸ソルビタン (SS-30) モノラウリン酸ソルビタン (SL-10) [日光ケミカルズ(株)製], モノステアリン酸ソルビタン (SPan-60), セスキオレイン酸ソルビタン (Arlacel-83) [花王(株)製] を用いた。

2.2 装置

ポンプは880-PUインテリジェントポンプ (日本分光(株)製) を用い, 検出器は紫外分光光度計 UVIDEC-100V (日本分光(株)製), 示差屈折計 SE-61 (昭和電工(株)製) を用いた。測定温度は40°, 流速は0.8ml/min 一定とした。分離カラムとして排除限界分子量が40,000 プルランの GS-310H (旭化成(株)製) を使用した。測定処理は SIC 7000A 及び 7000B (昭和電工(株)製) のインテグレーターで行なった。

2.3 分析条件 (HPLC)

2.1 で挙げた活性剤について, 最適 HPLC の条件を求めるために, まず移動相を検討した。有機溶媒系の gel permeation chromatography (GPC) のカラムを使用したためテトラヒドロフラン (THF) を用いることとした。しかし, 活性剤は THF 単独では溶解しにくいメタノール (MeOH) を加えて溶解した。この MeOH-THF 混合液について HPLC のピークの重なり度合いを調べた。移動相の MeOH 含量の割合が増加すると全般に保持時間は長くなる傾向にあった。MeOH-THF の割合について種々検討をした結果, 最適移動相は MeOH-THF (1:9) であることが判明した。この条件で各々の活性剤の吸光度を測定した結果, 220nm が最適波長であることが

わかった。

2.4 検量線の作成

高分子標準試料として分子量既知の分布の狭い Standard Polystyrene (昭和電工(株)製) を用いた。標準試料はすべて濃度 0.1% の MeOH-THF (1:9) 溶液とし, この試料を 2 μ l 注入した。なお, 溶出量は保持時間 $\times$ 流速 (0.8 ml/min) から求めた。

2.5 操作

試料はすべて濃度 2% の MeOH-THF (1:9) 溶液とし, 0.45 μ メンブランフィルターで加圧ろ過し, ろ液 2 μ l をマイクロシリンジで取り, HPLC 分析をした。検出器は UV と RI をカラムの後に直列につなぎ, データー処理機で同時に処理を行なった。

3. 結 果

3.1 Polystyrene の検量線

Table-1 に Polystyrene の分子量と UV 検出器及び RI 検出器の場合の溶出量を示した。

Table-1 Relationship between the Standard Polystyrene and elution volume

Std. Sample	M.M.	log M	Elution Volume (ml)	
			UV	RI
S-19	19000	4.2788	3.784	4.000
S-12	12000	4.0792	4.016	4.144
S-7.6	7600	3.8808	4.184	4.360
S-5.1	5100	3.7076	4.416	4.568
S-3.5	3550	3.5502	4.608	4.736
S-2.5	2550	3.4065	4.768	4.888
S-1.7	1770	3.2479	4.952	5.088
S-1.3	1350	3.1303	5.088	5.208
S-1.0	1050	3.0212	5.192	5.312
S-0.4	480	2.6812	5.536	5.656

$$\text{Elution volume} = \text{Retention time} \times \text{Flow rate}$$

さらに分子量の対数と UV 検出器及び RI 検出器の溶出量の関係について Fig.-1 にプロットした。

Fig.-1 に示したように既知の通り⁸⁾, いずれの

Fig.-1 Calibration curve of Standard Polystyrenes

検出器とも 480 から 12000 の分子量の対数と溶出量の間に良好な直線関係が成立つことがわかった。この直線より各々の検出器における検量線を求めたところ、以下のような結果が得られた。

UV 検出器は、

$$Y = -0.8938X + 7.658 \quad (\text{標準偏差: } -0.9927)$$

RI 検出器は、

$$Y = -0.9324X + 7.900 \quad (\text{標準偏差: } -0.9992)$$

以上のことから分子量 480 から 12000 を有するノニオン活性剤は、上記の検量線から分子量を求めることが出来る。

3.2 活性剤の HPLC

活性剤の代表例として、Tween 系のモノオレイン酸ポリオキシエチレン(6)ソルビタン (TO-106), Span 系のモノステアリン酸ソルビタン (SS-10) の HPLC のチャートを Fig.-2 及び Fig.-3 に示した。

上側が RI チャート、下側が UV チャートである。分離されたチャートは、先に UV 検出器を通った後、RI 検出器を通過するが、ピーク間の時間差は 0.3 秒以内であった。

Fig.-2 Chromatograms of TO-106 by HPLC

Fig.-3 Chromatograms of SS-10 by HPLC

3.3 活性剤の分子量

先の UV 検出法から求めた検量線

$$(Y = -0.8938X + 7.685)$$

を用い各々の活性剤の分子量を求めた。その結果を **Table-2** 及び **Table-3** に示した。

この結果からわかるように標準物質として

Table-2 Molecular weight of Span type surfactants by calibration curves for standard polystyrene (Span line)

Sample Name	M.W.	Sample Name	M.W.
SO-10	1054.0	SS-15	1179.5
	850.8		866.6
	242.4		164.5
	147.2	SS-30	1233.8
SO-15EX	1078.1		158.5
	866.6	SL-10	599.0
	260.9		141.9
	144.5		81.5
SO-30	1206.0	Arlacel-83	1479.0
	129.4		851.0
SS-10	1127.6		139.3
	899.2	Span-60	1479.0
	158.5		891.0
			152.8

Table-3 Molecular Weight of Tween type surfactants by calibration curves for standard polystyrene

Sample Name	M.W.	Sample Name	M.W.
TO-106	986.2	TL-10	752.3
	275.8		454.1
TO-10M	1007.7	TS-10	1054.1
	526.4		536.2
	107.6	TS-30	1690.2
TO-30	1652.6		942.0
	860.9		437.6
	399.0		
TP-10	963.4		
	488.9		

Polystyrene を用いて Tween 系及び Span 系活性剤の分子量の測定が可能であることが判明した。しかし、**Table-2** 及び **Table-3** に見られるように Tween 系及び Span 系活性剤ともに分子量の分布が広いことがわかった。この分子量分布が香粧品の乳化状態及び安定性に何等かの影響があると考えられるので配合に当たっては十分に留意する必要があると考えられる。

3.4 UV/RI ピーク比と分子量との関係

先に述べた Tween 系及び Span 系活性剤の分子量分布とその時の UV/RI のピークエリアの比を **Table-4** 及び **Table-5** に示した。

Tween 系及び Span 系活性剤ともに脂肪酸がオレイン酸 (TO-10, TO-106, TO-30) のものは、UV/RI ピーク比が大きく、ステアリン酸 (TS-10, TS-30) のものは、UV/RI 比が小さい傾向にあることがわかった。これはオレイン酸がステアリン酸に比較して紫外吸収が強いためこのような結果になったものと考えられる。また、**Fig.-4** 及び **Fig.-5** に代表的な Tween 系及び Span 系活性剤の UV/RI ピーク比と溶出量の関係をプロットした。

Tween 系の活性剤の中で脂肪酸がステアリン酸の活性剤 TS-10 及び TS-30 では分子量分布の溶出量と UV/RI ピーク比の関係は、ほとんど変化が認められていない。これに対して、脂肪酸がオレイン酸の活性剤 TO-10M, TO-106, TO-30 は溶出量が増加するに従って UV/RI ピーク比が減少する傾向にあるとともに溶出量と UV/RI ピーク比との間に僅かにバラツキが見られるが直線性を有することが判明した。

TO-10M :

$$Y = -0.1714X + 1.086 \quad (\text{標準偏差: } -0.9999)$$

TO-30 :

$$Y = -0.1776X + 1.187 \quad (\text{標準偏差: } -0.9577)$$

Span 系活性剤においては、脂肪酸がステアリン酸の活性剤 SS-10, SS-15 及び SS-30 は、Tween 系の脂肪酸が同じステアリン酸の活性剤

Table-4 Relationships among the molecular weight of Span type surfactants, UV/RI peak ratio and elution volume (Span line)

Sample Name	M.W.	UV/RI peak ratio	Elution Volume (ml)
SO-10	1054.0	0.1894	5.040
	850.8	0.1461	5.288
	242.4	0.1075	5.832
	147.2	0.1604	6.048
SO-15EX	1078.1	0.1899	5.032
	866.6	0.1391	5.280
	260.9	0.1417	5.800
	144.5	0.1386	6.056
SO-30	1206.0	0.1757	4.992
	129.4	0.2273	6.104
SS-10	1127.6	0.1268	5.016
	899.2	0.0387	5.264
	158.5	0.0285	6.016
SS-15	1179.5	0.0376	5.000
	866.6	0.0352	5.280
	164.5	0.0437	6.000
SS-30	1233.8	0.0359	4.984
	158.5	0.0163	6.016
SL-10	599.0	0.0581	5.440
	141.9	0.0619	6.064
	81.50	0.0531	6.304
Arlacel-83	1479.0	0.0917	5.032
	851.0	0.0765	5.296
	139.3	0.1039	6.072
Span-60	1479.0	0.0407	5.024
	891.0	0.0362	5.272
	152.8	0.0490	6.032

TS-10 及び TS-30 と類似の傾向が認められた。これに反して Span 系の脂肪酸がオレイン酸の活性剤 SO-10, SO-15EX 及び SO-30 は Tween 系に見られるような直線性はなく SO-Type 固有のパターンを持つことが確認された。本実験に使用した Tween 系及び Span 系活性剤の例数が少ないが, UV 検出器によるピーク値と RI 検出器によるピーク値との比 (UV/RI ピーク比) は,

Table-5 Relationships among the molecular weight of Tween type surfactants, UV/RI peak ratio and elution volume (Tween line)

Sample Name	M.W.	UV/RI peak ratio	Elution Volume (ml)
TO-106	986.2	0.1746	5.224
	275.8	0.1222	5.776
TO-10M	1007.7	0.2192	5.056
	526.4	0.1444	5.496
	107.6	0.0259	6.184
TO-30	1652.6	0.3052	4.880
	860.9	0.3022	5.112
	399.0	0.1829	5.616
TP-10	963.4	0.0313	5.072
	488.9	0.0164	5.528
TL-10	752.3	0.0778	5.160
	454.1	0.0517	5.560
TS-10	1054.1	0.0222	5.040
	536.2	0.0128	5.488
TS-30	1690.2	0.0248	4.872
	942.0	0.0244	5.080
	437.6	0.0183	5.576

各々の活性剤により固有の値をとることが見出された。また, この UV/RI ピーク比と保持時間及び溶出量を併用することにより, UV 検出器または RI 検出器単独で確認しにくい活性剤もこの方法により確認出来るようになると思われる。今後, 化粧品中の活性剤についても同様に UV 検出器及び RI 検出器を併用して, さらに検討を続ける考えである。

4. 総 括

これまでの検討結果をまとめると以下のようになった。

(1) 標準物質 Polystyrene の検量線から Tween 系及び Span 系活性剤の分子量の測定が可能であることがわかった。

(2) Tween 系及び Span 系活性剤では脂肪酸がオレイン酸の活性剤は UV/RI ピーク比は大き

Fig. 4 Relationship between the UV/RI peak ratio and Elution Volume (Span type surfactants)

Fig. 5 Relationship between the UV/RI peak ratio and Elution Volume (Tween type surfactants)

く、これに対して脂肪酸がステアリン酸の活性剤は逆にこの比は小さくなる傾向にあった。

(3) UV/RI ピーク比と保持時間または溶出量を併用することにより、UV 検出器及び RI 検出器単独で確認しにくい活性剤もこの方法により判断できる。

参 考 文 献

- 1) M.J. Rosen, "Systematic Analysis of Surface Active Agent," 2nd., Wiley-Interscience (1972)
- 2) D. Hummel "Identification and Analysis of Surface Active Agents by Infrared and Chemical Methods," Wiley-Interscience (1962)

- 3) 高橋, 上条, 山中, "界面活性剤の分析" 日刊工業 (1972)
- 4) M.J. Schick, "Nonionic Surfactants" p. 823, Marcel Dekken Inc., N.Y. (1967)
- 5) N. Parris, J. Liq. Chromatogr., **3**, 1743 (1980)
- 6) C. Meinard, P. Bruneau, J. Chromatog., **349**, 109 (1985)
- 7) Petr Vratny, Zdenek Mudrik, J. Chromatogr., **322**, 352 (1985)
- 8) 角野啓治, 北川嘉三, 河野隆行, 粧技誌, **21**, 5 (1987)
- 9) 日本分析化学会関東支部編, "高速液体クロマトグラフィーハンドブック" p. 289 (1985) 丸善 (1991年12月26日受理)