薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
104(4) 398-401 (1984)

ルモガリオンとのイオン会合を利用した陽イオン界面活性剤のけい光定量

佐野敏幸,* 庄山正敏

愛知県警察本部科学捜査研究所

Fluorometric Determination of Cationic Surfactants by Use of Ion Association with Lumogallion

TOSHIYUKI SANO* and MASATOSHI SYOYAMA

Criminal Science Laboratory, Aichi Prefectural Police H.Q., 2-1-1,
Sanno-maru, Naka-ku, Nagoya-shi, 460, Japan

(Received August 30, 1983)

Cationic surfactants such as cetyltrimethylammonium chloride and benzalkonium chloride were proved to be quantitatively analyzed by extracting as their ion-paired complexes of lumogallion, which is used as a reagent for the fluorescent determination of some metal ions. Thus, these complexes were most conveniently extracted with dichloromethane, and quantitatively analyzed by fluorometry upon addition of Al^{3+} . Lumogallion was invariably extracted with these quarternary ammonium surfactants at pH range from 7.5 to 3.0, whereas it was negligibly extracted above neutral pH region in the presence of some diverse materials such as primary, secondary, and tertiary amines. Therefore, 7.3 was chosen as an optical pH in the extraction procedure for the quantitative analysis. The present analysis was not diversified in the presence of some metals. The calibration curves showed a good linearity over the range of 0.25–2.5 $\mu\text{g}/\text{sample}$ (ca. 0.01–0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$). The coefficients of variation for the present method were 3.3 to 5.7%.

Keywords—fluorometry; cationic surfactant; ion-pair extraction; lumogallion

緒 言

酸性または塩基性色素を用い、陽イオンまたは陰イオン界面活性剤をイオン対として抽出、比色定量する方法はすでに多くの方法があり、¹⁾ 陽イオン界面活性剤についてはブロモフェノールブルー、²⁾ プロモチモールブルー、³⁾ 等が使用され、酒井らはプロモクレゾールグリーン等による高感度の定量法を報告している。⁴⁾

一方、アミン類についても古くはアルカロイドの試験法として成書にも記載され、⁵⁾ 最近では覚せい剤、⁶⁾ 麻薬、⁷⁾ 農薬、⁸⁾ についても報告があるが、これらの方法の最大の欠点は選択性に乏しい点にあり、立沢ら、⁹⁾ 酒井ら、⁴⁾ は抽出時の pH や三元錯体を利用して、この点の改良を図っている。

陽イオン界面活性剤は一般に逆性石けん液として消毒用に用いられ、その誤飲による事故も発生しており、河瀬ら、¹⁰⁾ の裁判化学的な立場からの報告がある。著者らはさらに低濃度域での定量法として、先に前田ら、¹¹⁾ が報告したけい光性を有するアルミニウム錯体法による方法を検討し、陽イオン界面活性剤のけい光定量法を確立するとともに、他の塩基性化合物の影響を受けない抽出 pH 域について検討を加えたので報告する。

実 験 の 部

試薬の調製 ルモガリオン (同仁化学研究所) 溶液は、ルモガリオン 0.15 g を純水 100 ml に溶解後、ジクロロメタン約 30 ml を加えて振とう後、水層を分取し、これを遠心分離 (約 2000 rpm) し、混在するジクロロメタンを除去した。この操作を 3 回繰り返す、水層を 0.15% ルモガリオン溶液として使用した。

塩化セチルトリメチルアンモニウム (CTMAC)、塩化ベンザルコニウム (BKC)、塩化トリオクチルアンモニウム (TOMAC) は東京化成の一級または特殊用を、塩化ベンゼトニウム (BTC)、塩化セチルピリジニウム (CPC) は和光純薬一級または化学用を用いた。

緩衝液は Britton-Robinson の広域緩衝液を使用した。

測定装置 けい光分光光度計は日立 650-10S 型 (sens. range 0.1, スリット 10 nm) を使用し、試料のけい光

強度を $0.2 \mu\text{g/ml}$ のローダミン B (和光純薬, 特級) 水溶液に対する相対けい光強度として測定した ($0.2 \mu\text{g/ml} = 100$).

pH メーターは日立-堀場 F-7 を用いた.

分析方法 陽イオン界面活性剤として $0.25\text{--}2.5 \mu\text{g}$ を含む試料溶液 0.5 ml に pH 7.3 の緩衝液 1 ml , 0.15% ルモガリオン溶液 0.5 ml およびジクロロメタン 4 ml を加え, 振とう機にて 1 分間振とう後, 約 2000 rpm で遠心分離し, 水層を除去した. この抽出液 2 ml を試験管にとり, メタノール 10 ml および 2% 硝酸アルミニウム溶液 1 ml を加えて攪拌後, ラップで栓をして 60°C の恒温槽にその試験管の下部を浸し, 10 分間加温後冷却し, $\text{Ex}=488 \text{ nm}$, $\text{Em}=564 \text{ nm}$ でそのけい光強度を測定した. 別に純水 0.5 ml を用いて同様に操作した抽出液のけい光強度を測定しその平均値 (3 回) を空試験値とし, 各試料測定値から差し引き, これを試料測定値としてあらかじめ作成した検量線より定量した.

結果および考察

けい光スペクトル CTMAC $2.5 \mu\text{g}$ を用い, 分析方法に従ってけい光スペクトルを測定したところ, $\text{Ex}=488 \text{ nm}$, $\text{Em}=564 \text{ nm}$ に極大値を認めた (Fig. 1). ルモガリオンのジクロロメタン抽出液はこの波長域に影響を与えないが, ルモガリオンのアルミニウム錯体のけい光スペクトルは同じ Ex , Em を与えるため, 抽出時に混入する恐れのある未反応ルモガリオンは約 2000 rpm で遠心分離することにより除去した.

イオン対抽出に及ぼす条件の検討 色素としてルモガリオンおよび同じアルミニウムのけい光試薬であるカルコンを用い, CTMAC とのイオン対抽出率を測定したところ, カルコンでは試料量 $0.25\text{--}2.5 \mu\text{g}$ の範囲ではほとんど抽出されないため (けい光強度比は約 10%), ルモガリオンを用いることとした.

抽出溶媒はエチルエーテル, 酢酸エチルでは空試験値が高く, ベンゼン, トルエンでは全く抽出されなかった. またクロロホルムはジクロロメタンに比べ約 25% (けい光強度比) しか抽出されなかったため, ジクロロメタンを用いることとした.

一方, 抽出時 pH の影響について Britton-Robinson 広域緩衝液を用いて検討したところ, 酸性から中性域にかけてほぼ一定の抽出率を示したが, 試料に混在することにより最も大きな影響が予想される塩基性化合物はほとんど酸性域において抽出され, ^{4,12,18)} 最も抽出されやすいアミンの 1 種であるトリブチルアミンで代表した場合, pH 7.0 を境にアルカリ域においてはほとんど抽出されなくなる (Fig. 2). したがって塩基性化合物の影響を受けず, かつ試料の抽出率が良いのは両者の至適 pH 曲線の差が最大の付近であることから pH 7.3 を選択した.

ルモガリオン濃度が抽出に及ぼす影響については 0.075% 以上でけい光強度はほぼ一定となり 0.15% で最高

Fig. 1. Excitation (Ex) and Emission (Em) Spectra of the Extract

1. Ex spectrum (sample),
2. Em spectrum (sample),
3. Ex spectrum (blank),
4. Em spectrum (blank).

Fig. 2. Effect of pH on Extraction of Ion-Paired Complexes

- : CTMAC; $7.8 \times 10^{-9} \text{ mol/sample}$ (0.5 ml),
—●—: tri-*n*-butylamine; $7.5 \times 10^{-9} \text{ mol/sample}$ (0.5 ml).

値を示したが、室温においてはルモガリオンの飽和濃度は約 0.15% であったので、0.15% 溶液を用いることとした。

振とう抽出時間は1分間で充分であった。

発けい光化に及ぼす条件の検討 抽出液に加えるアルミニウム溶液の濃度は硝酸アルミニウムとして 0.5% (w/v) 以上で一定のけい光強度を示した。またこの錯形成は酸性下に行われ、酸濃度として 1 N 硫酸 0.5% (v/v) 以上で一定値を示した。この結果から 2% 硝酸アルミニウム溶液 (1 N 硫酸 1% 含有) を用いることとした。

反応時間は 60°C の温湯中で 10 分間放置すれば充分であった。

抽出種および発けい光体の組成 CTMAC についてルモガリオンとの抽出種、およびこのイオン対とアルミニウムとのけい光錯体の組成を連続変化法で検討した結果、CTMAC-ルモガリオンは 1:1 の組成を持つものと考えられた (Fig. 3)。しかしイオン対とアルミニウムイオンの組成については明瞭な結果は得られなかった。一方この Ex, Em はルモガリオン-アルミニウム錯体のそれと同じであり、他の陽イオン界面活性剤でも、またアミン類でも差はみられないことから、抽出されたイオン対が解離し、ルモガリオン-アルミニウム錯体となっている可能性も考えられる。

無機イオンの影響 共存物質として無機イオンについて検討した結果を Table I に示す。Zn²⁺ の存在は大きな影響を与え、Al³⁺, Sn²⁺, Pb²⁺ についても若干回収率の低下がみられたが、他の無機イオンはほとんど影響を与えなかった。

アミン類の影響 アミン類は、一級および二級アミンはアルキル基が大きくなっても当モル濃度以下であれば影響を与えないが、三級アミンではアルキル基が大きくなると影響を与えた。しかし裁判化学上問題の多い医薬品に限定した場合、大きなトリアルキル基で囲まれた三級アミンを持つ化合物は見当らず、¹⁴⁾ 抽出されやすいと考えられる数種の化合物でもその影響はみられず、自殺または誤飲等の事故における試料では多量に共存しないかぎり陽イオン界面活性剤に特異性を持つ値として測定できるも

Fig. 3. Continuous Variation Plot for CTMAC-Lumogallion Ion Pair

TABLE I. Effect of Diverse Ions

Ions ($\times 100$ molar equivalent)	Recovery (%)
Mg ²⁺	103
Ca ²⁺	99
Al ³⁺	92
Ba ²⁺	100
Fe ²⁺	97
Fe ³⁺	94
Mn ²⁺	105
Ni ²⁺	107
Sn ²⁺	91
Pb ²⁺	93
Cu ²⁺	100
Zn ²⁺	70

TABLE II. Effect of Several Amines for Determination of Cationic Surfactant

Amines	mol ratio	Intensity
CTMAC		100
Methylamine	1	0.0
	5	0.0
Dimethylamine	1	0.0
	5	0.0
Trimethylamine	1	0.0
<i>n</i> -Butylamine	1	0.0
	5	0.0
Di- <i>n</i> -butylamine	1	2.6
	5	3.4
Tri- <i>n</i> -butylamine	1	20.8
<i>n</i> -Octylamine	1	0.2
	5	0.9
Di- <i>n</i> -cotylamine	1	6.5
	5	22.2
Tri- <i>n</i> -octylamine	1	19.6
Procaine HCl	1	0.0
Lidocaine	1	0.0
Chlorpromazine HCl	1	0.0
Dibucaine HCl	1	0.0
Benactyzine HCl	1	0.0

のと考えられた (Table II).

分析精度および BTB 法との比較 条件検討から得られた結果に基づいて作成した分析方法に従って 5 種類の試料の検量線を作成した結果, CPC については低濃度域での抽出率が若干低下したが, 他の 4 種類 (CTMAC, BKC, TOMAC, BTC) については 0.25—2.5 μg /試料 (けい光測定溶液濃度として約 0.01—0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$) の範囲で良好な直線関係を示した. ただ試料の代りに純水を用いて同様に操作した空試験値もわずかにけい光性を示した. これは未反応のルモガリオンがジクロロメタンにわずかに溶解するためと考えられ, そのけい光強度は CTMAC の定量下限である 0.25 μg の強度に対し約 25% の値を示すため, 空試験値を正確に知る必要を生じた. 繰り返し実験の結果, その値は C.V. 値 6.2% で R は 0.1 (けい光強度) と小さかったので, 3 回測定の平均値を空試験値とし, 試料けい光強度から差し引くことにした. 各試料のけい光強度分析精度を Table III に示す.

TABLE III. Relative Fluorescence Intensity and Coefficient of Variation of Cationic Surfactants

Cationic surfactants	Intensity (7.8×10^{-9} mol)	C.V. (%), (n)
CTMAC	100	3.66 (15)
TOMAC	185	3.83 (14)
BKC	109	5.73 (12)
BTC	129	3.29 (10)
CPC	125	6.23 (10)

作成した検量線を用い, 未知濃度の塩化ベンザルコニウム水溶液 2 種類 (S_1 , S_2) を定量し BTB 法²⁾ と比較したところ, 本法では S_1 が 14.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$, S_2 が 7.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$, BTB 法では S_1 が 14.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$, S_2 が 7.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ となり, ほぼ一致する値を与えた (本法は S_1 , S_2 を 5 倍希釈して測定した).

一方, 市販ドリンク剤に一定量の塩化ベンザルコニウムを加え本法により回収率を測定したところ, オロナミン C® を用いた場合 102% となり満足できる結果となったが, 他のドリンク剤では高い値を示したものもあり, すべてのドリンク剤についての利用はできなかった. 尿に添加した場合は 84.3% の回収率を得た. その他, 池の水や魚水槽の水についても測定したが, いずれも 95—101% と満足のゆく結果が得られた.

結 語

陽イオン界面活性剤 5 種類についてルモガリオンとのイオン対抽出-発けい光化の条件を検討した. 0.15% ルモガリオン溶液を用い, pH 7.3 においてジクロロメタンで抽出し, 2% 硝酸アルミニウム溶液を加えれば, CPC を除きいずれも 0.25—2.5 μg /試料 (けい光測定溶液濃度, 約 0.01—0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$) で定量が可能となった.

最も影響の大きな物質であるアミン類についても, 一級, 二級アミンは影響なく, 三級アミンでも医薬品ではほぼ影響なく定量できるものと考えられた. 分析精度は 3.8—5.2% (C.V.) であった.

抽出種は陽イオン界面活性剤: ルモガリオン=1:1 の組成を持つものと推定されたが, けい光錯体はこの抽出種との三元錯体か, ルモガリオン-アルミニウム錯体が不明であった.

引 用 文 献

- 1) 本水昌二, 岩知道正, 桐栄恭二, ぶんせき, **1980**, 234 (1980).
- 2) "Methods of Analysis of the A.O.A.C.," 12th Ed., 1975, p. 362.
- 3) M. E. Auerbach, *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.*, **15**, 492 (1943).
- 4) 酒井忠雄, 大野典子, 分析化学, **32**, 302 (1982).
- 5) 坂口武一編, "薬品分析化学," 第 5 版, 南江堂, 東京, 1973, p. 484.
- 6) 松岡俊恵, 三井利幸, 衛生化学, **28**, 26 (1982).
- 7) 佐野敏幸, 庄山正敏, 科学警察研究所報告, **35**, 204 (1982).
- 8) 佐野敏幸, 庄山正敏, 薬誌, **103**, 650 (1983).
- 9) 立沢政義, 中山修二, 大河原 晃, 分析化学, **19**, 761 (1970).
- 10) 河瀬章司, 鵜飼茂夫, 衛生化学, **27**, 296 (1981).
- 11) 前田昌子, 松岡 薫, 辻 章夫, 分析化学, **24**, 681 (1975).
- 12) 庄山正敏, 佐野敏幸, 薬誌, **104**, 351 (1984).
- 13) 三井利幸, 科学警察研究所報告, **36**, 78 (1983).
- 14) "化学便覧, 応用編," 第 2 版, 日本化学会編, 丸善, 東京, 1973, p. 1272.