

# HPLC を中心とした 界面活性剤の分析技術

(株)資生堂 安全性・分析センター 中村 淳

界面活性剤はそのイオン性によって、非イオン、陽イオン、陰イオン及び両性界面活性剤に分類されるが、その分析目的はおおむね次の通りである。親油基組成分析、POE の分布分析、多価アルコール脂肪酸エステルなどでのエステル紙成分析、POE 系界面活性剤中の遊離 PEG - などの副生成物の分析、界面活性剤混合系での相互分離、環境汚染に関連した微量定量法の開発及び界面活性剤の添加物の分析などである。

TLC、イオン交換、吸着及び分配などの種々のカラム液体クロマトグラフィーが界面活性剤の分解手段として古くから用いられて来ているが、これらの方法は簡便さや費用の点での長所はあるが、分離操作が煩雑で長時間を必要とすること、完全な分離が達成されにくく定量手段としては問題があることなどの欠点があった。また、1950 年代に石油化学工業の進歩とともに発達した GC もよく用いられてきたが、揮発性の誘導体を調製する必要があること、適用試料の分子量に制限があったことなどから、上記界面活性剤の分析目的を完全に解決するまでには至らなかった。一方、1970 年代になると、従来のカラムクロマトグラフィーを自動化した HPLC が出現してきた。HPLC での分離カラム内での高速分配平衡についての詳細な研究が行われ、分析時間の短縮及び注入試料量の微量化（いわゆる高感度化）が可能となって来た<sup>1,2)</sup>。界面活性剤分析の分野でも前記問題点を解決する手段として一躍注目を浴び、従来は得られなかった分離を迅速に達成し、更には高感度分析を可能とするような試みが数多く行われ、報告されるようになった。最近の総説<sup>3~6)</sup>でも HPLC による報告が大半を占めている。また、界面活性剤分析に関する成書<sup>7~8)</sup>でも HPLC 分析法が数多く紹介されている。

本講演では、演者が主として行ってきたイオン性界面活性剤の親油基分離と相互分離を中心として、HPLC での界面活性剤分析の考え方などを紹介したい。

## 1. 界面活性剤分析目的と充填剤

HPLC はその分離機構から、分配、吸着、イオン交換及びゲル浸透 (GPC) クロマトグラフィーなどに分類される。分配及び吸着クロマトグラフィーは区別がつけにくい場合も多いため、溶離液が充填剤より極性が高い場合を逆相クロマトグラフィー、低い場合を順相クロマトグラフィーと分類することが多い。各クロマトグラフィーとも、それぞれ特徴を有しており、上記のような分析目的に応じ

て、適した充填剤を選定し、適切な分離を設計する必要がある。以下、界面活性剤の分析目的ごとの充填剤選定の考え方について、検出器の選定方法とともに概略を示す。

### 1.1. 親油基の分離

親油基（同族体）分離には、試料の疎水性部と固定相 ODS 基間の疎水性相互作用が分離の基本パラメーターとなる逆相クロマトグラフィーを用いる。各親油基ごとにメチレン基鎖に比例する疎水性面積が異なっているので、親油基ごとに分離が達成できる。図 - 1 のように、横軸に親油基炭素数を等間隔に（このことは、メチレン基鎖による一定の疎水性面積の増加を意味している）、縦軸に溶出位置（キャパシティー・ファクター $k'$ ）の対数値をプロットすると直線関係が得られる<sup>9)</sup>。このような関係は、親水基部が一定の構造をもつほとんどすべての界面活性剤で成立する。

一方、親油基の疎水性が一定で、POE の重合度数の増加に従って親水位が増す POE 系界面溝佐剤を逆相クロマトグラフィーに適用すると、1.2 に示すような複雑な挙動を示すことが知られているが、最近になって特殊な溶離液を用いれば、POE ごとく分離が達成されずに親油基分離ができることも報告されている<sup>10 ~ 11)</sup>

### 1.2. POE の分布分析

水・THF 系逆相クロマトグラフィーで、POE 系界面活性剤の EO 付加モル数と溶出位置の関係を調べてみると、付加モル数によって挙動が違っており、モル数が小さいほど THF 比率に対する溶出位置の変化は少ない<sup>12)</sup>。その結果、THF 濃度の高い溶離液系では付加モル数の大きいほうから溶出し、逆に低い溶離液系では付加モル数の小さいほうから溶出することになる。このような複雑な溶離挙動の一因は、POE 部に ZIGZAG 構造と MEANDER 構造が存在し、その平衡関係が溶離組成などに依存しているためである。このように、逆相クロマトグラフィーを用いると、POE の溶離挙動が複雑になるほかに、市販の界面活性剤には親油基分布があるため、その分離が実際クロマトグラム上にあらわれ、非常に複雑なクロマトグラムとなりやすい。このような背景より、POE の分布分析を行う場合には、水素結合力が基本的な分離パラメーターとなる順相クロマトグラフィーがよく用いられる。付加モル数が増すに従って水素結合力も増すため、溶出は付加モル数ごとに規則的となる。また、順相クロマトグラフィーでは、親油基分布の影響もあらわれない。

POE系界面活性剤は極性が広範囲にわたるので、グラジエント溶離法を用いることが多い。したがって、RI検出器が用いられないなど検出器の制約を受ける。ワイヤー式などのFID検出器を用いた例も報告されている<sup>13~14)</sup>が、最近では種々のUV吸収誘導体としてUV検出器を用いる例が多く報告されている<sup>15~17)</sup>

### 1.3. 多価アルコール脂肪酸エステルなどでのエステル組成分析

脂肪酸モノグリセリドに代表される多価アルコール脂肪酸エステルは、モノ、ジ及びトリエステルなどの混合物である場合が多い。親油基組成の他にエステルごとの分離も必要とする場合がある。その際には、親油基の影響が出現しにくく、極性官能基（主として水酸基）数が分離の基本となる順相クロマトグラフィーが適しており、位置異性体の分離も達成できる長所もある<sup>18~19)</sup>ただし、極性にかなりの差があるため、短時間に分離を達成するためには、グラジエント溶離法を用いる必要があり、1.2.と同様に検出器上の制約を受ける。

モノジ、ジートリエステル間では分子量が200~300ずつ違うので、分子サイズ（分子量）差を分離の基本とするGPCでもエステル組成を知ることができる<sup>20)</sup>

その概略を示すと以下のようなものである。

カラム：JAIGEL - 3H + JAIGEL - 2H

溶搬液：クロロホルム、約3ml/min。

試料溶液及び注入量：5%クロロホルム溶液を1.5ml注入する。注入時のルー  
ブインジェクター 容量は、あらかじめ正確に求めておく

操作：装置にはリサイクル機能を具備したものを用いる。試料注入後の操作の概略を、市販モノグリセリドの場合について図-2に示した。モノグリセリドは1回目、ジ及びトリグリセリドは3回目で十分に分離し、分取できる。分取液の溶媒を常温減圧下で留去し、得られたエステルの重量よりエステル組成を算出する。本法による市販モノグリセリド及びソルピタンエステルの分析結果を表-1に示した。

### 1.4. POE系界面活性剤中の遊離PEGなどの副生成物の分析

界面活性剤は種々の副生成物を含んでいる場合が多い。代表的なものに、POE系界面活性剤中の遊離PEGがある。PEGは、逆相クロマトグラフィーにおいては保持されにくく、逆にPOE系界面活性剤縮合体は親油基をもつため保持されやすい。したがって、両者は比較的容易に分離することができ、ODS化学結合型シリ

カゲルと RI 検出器を組合せて直接定量する方法も報告されている<sup>21~22)</sup>。しかし、屈折率が PEG の重合度によって異なるため、その補正が必要となる。分取後に重量法で定量する方法もある<sup>23)</sup>。PEG の分子量を知るためには TLC が簡便である。しかし、重量及び数平均分子量を同時に求めたり、その分布度を知るためには GPC が便利である。GPC においては、分子量  $M$  と溶出体積  $V$  との間に、

$$V = -B \log M + C \quad (B, C \text{ は定数})$$

の関係が成立する。したがって、標準試料の溶出体積 (ml 又はカウント数) を横軸に、分子量の対数を縦軸にとることによって検量線が得られ、この関係をもとに実際試料の分子量を算出することができる。ただし、この関係は分子構造が異なると成立せず、一般的には 1 オングストローム当たりの分子量 ( $Q$  ファクター) が用いられる<sup>33)</sup>。各種界面活性剤中の副生 PEG の平均分子量解析結果を表-2 に示した。エーテル型では、EO 付加モル数によらずに PEGN の平均分子量はほぼ一定であったが、エステル型では、付加モル数が増加すると、数及び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値と付加モル数との間には直線関係が成立する。一方、ツイーン型では、親油基によらずに平均分子量はエステル型の  $n = 20$  の場合にほぼ対応する。また、分布係数  $q$  はエステル型、ツイーン型、エーテル型の順に大きくなる。このようにツイーン型より単離した PEG がエーテル型とエステル型の間期的性質を示すのは、分子内にヒドロキシル基とエステル基を有するためと考えられる。

### 1.5. 微量定量法

HPLC 用検出器には、UV 検出器、RI 検出器、FID 検出器、けい光検出器及び可視吸収検出器などがある。これらのうち、最も安定に用いることのできるのは UV 検出器である。UV 検出器に適用できる界面活性剤はアルキルベンゼンスルホン酸塩、アルキルベンジルジメチルアンモニウムハライド、アルキルピリジニウムハライド及び酸アミド結合を分子内にもつものなどに限られる。酸アミド結合を分子内にもつもの場合には、比較的低波長での検出となるため、溶媒の使用などの点で注意を払う必要がある。一方、アルキルベンゼンスルホン酸塩のようにけい光特色を示すものについては、けい光検出器を用いて高感度で測定することもできる<sup>24)</sup>。

しかし、界面活性剤のほとんどは UV 吸収がなく、RI 検出器に頼らざるをえず、高感度分析やグラジエント分離ができないなど問題点があった。最近では、種々の UV 吸収のある誘導体<sup>25・26)</sup> や発けい光誘導体<sup>27)</sup> としたのちに分離する方法や、イオン性界面活性剤が反対電荷の色素と疎水性の複合体を形成することを利用して、安定でしかも高感度に検出する方法が報告されている<sup>28~30)</sup>。

これら微量定量法は、環境汚染などに関連した生分解試験などで極めて重要であり、今後も検討が続けられてゆくものと思われる。

## 1 6 相互分離

演者らの研究結果によれば、塩化ナトリウム<sup>31)</sup>あるいは過塩素酸ナトリウム<sup>9, 32)</sup>を溶離液に加えて pH を調整した逆相分配クロマトグラフィーで、種々のイオン性界面活性剤の親油基分離が同一溶離液条件で達成できるとともに相互分離も可能である。

代表的な分析条件を示すと以下の通りである。

カラム 200mm x 6 mm TSK - GEL LS410 (5 μm)

溶離液 メタノールと水の混液 (85 : 15) の混液に 1M の過塩素酸ナトリウムを溶かし、リン酸で pH2.5 に調整した液

流量 : 15 ml/min

検出器 RI

注入量 : 界面活性剤の 0.5 ~ 1.0% メタノール溶液 10 ~ 20 μl

アルキル硫酸エステル塩の分離例を図 - 3 に、代表的な陰イオン性界面活性剤混合物の分離例を図 - 4 に示した。添加する塩化ナトリウムや過塩素酸ナトリウムの濃度や水の量を調整することで分離を種々改善することができる。

研究で主として対象とした界面活性剤は以下のものである。

非イオン界面活性剤 脂肪酸アルカノールアミド

陰イオン界面活性剤 アルキル硫酸エステル塩、N - アシルサルコシン塩  
N - アシル-L - グルタミン酸塩、

陽イオン界面活性剤 アルキルピリジニウム塩、アルキルトリメチルアンモニウム塩、アルキルジメチルベンジルアンモニウム塩

両性界面活性剤 アルキルアミノ酢酸ベタイン、アルキルアミノプロピオン酸塩

本法による親油基分布分析結果を表 - 3 に示した。GC 法の結果とよく対応する結果が得られている。

図 - 5 は各種界面活性剤のヘキサデシル誘導体の溶離挙動である。陰イオン及び非イオン界面活性剤は塩濃度の増加とともに溶離が遅くなり分離が改善される。陽イオン界面活性剤は塩を添加しないと充填剤に強く吸着され溶離しないが、塩を添加しはじめると徐々に溶離してくるようになる。塩化ナトリウムの場合は 0.05M まではこのような挙動が続き、0.05M 以上では他の界面活性剤と同様な挙

動を示すようになる。また、1 理論段数当たりの高さ (HETP) は塩濃度の増加により著しく減少する。このような陽イオン界面活性剤の挙動は、充剤表面に未反応シラノール基が現存するためと考えられた。

図-6 は過塩素酸ナトリウム濃度と種々の pH での種々の界面活性剤のヘキサデシル誘導体の溶離挙動である。両性界面活性剤は過塩素酸ナトリウム感度が低い場合には等電点付近で著しく挙動が変化する。このような性質を利用すると、図-7 の様な分離の達成を計ることができる。

このように塩濃度及び溶離液 pH の調整で種々の分離系が設定でき、界面活性剤の親油基分離と相互分離を達成することができる。

最後に、シャンプー などによく配合される各種界面活性剤のドデシル誘導体の相互分離クロマトグラム例を図-8 に示した。

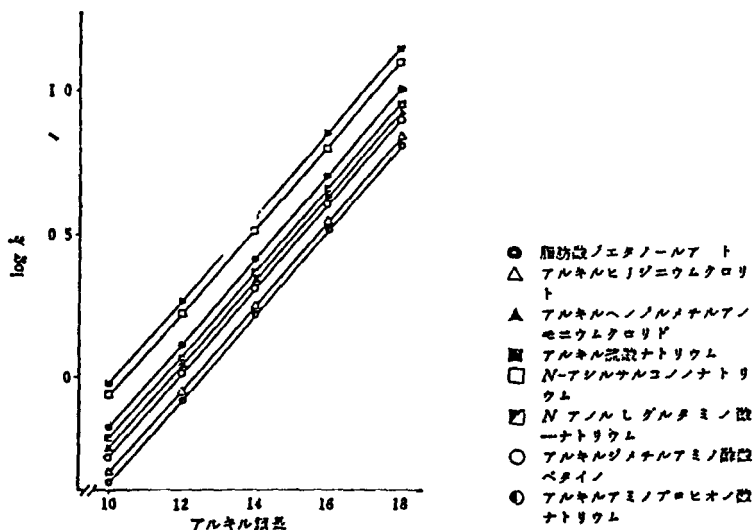


図-1 逆相クロマトグラフィーでの親油基鎖長と logk' の関係

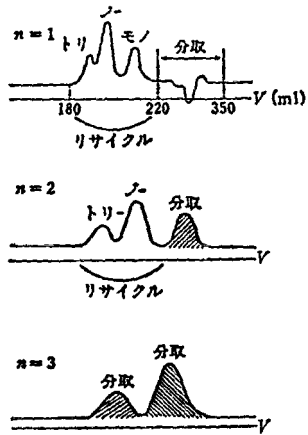


図-2 モノグリセリトの  
循環分取GPC

表-1 市販多価アルコール脂肪酸エステルの分析結果

試料	アトラ	トリ	ノ	モノ	ポリオールなど	回収率
<b>脂肪酸モノグリセリド</b>						
A	—	5.1%	38.3	43.1	2.1%	93.6
B	—	6.5	36.8	50.1	0.4	98.7
C	—	9.4	40.9	39.0	5.5	94.8
D	—	—	4.0	91.9	3.7	99.6
E	—	—	6.3	91.6	2.9	100.7
ノルピタノモノパルミテート	—	15.3	31.6	40.0	7.0	93.8
ノルピタノモノステアレート	—	16.1	32.3	41.4	4.5	94.3
ノルピタノモノステアレート	—	22.4	30.1	33.4	2.7	93.6
ノルピタノモノオレエート	—	22.0	36.7	32.3	3.0	94.1
ノルピタノモノオレエート	—	26.5	30.9	30.7	3.6	96.8
ノルピタノセスキオレエート	—	33.9	5.5	27.8	1.8	99.0
ヘンタエリスリトール ノイノステアレート	10.6%	28.9	30.8	19.6	3.6	98.0
グリセリノイノステアレート	8.8	31.2	36.4	19.1	1.9	97.4

表-2 副生PEGの解析結果

試 料	$\bar{M}$	$\bar{M}$	$\bar{M} / \bar{M}$
POE 高級アルコール			
1205	1028	1473	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
トウイーン型			
A	1139	1419	1.24
B	1249	1553	1.24
C	1125	1387	1.23
POE 高級脂肪酸			
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

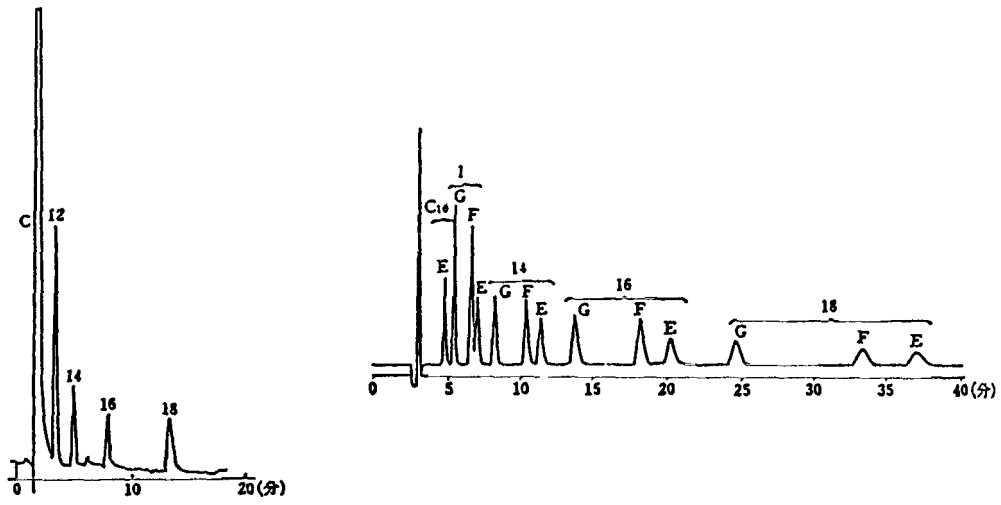
1205 ラウリルアルコール(酸)5モル付加



表-2 副生PEGの解析結果

試料	$\bar{M}$	$\bar{M}$	$\bar{M}/\bar{M}$
POE高級アルコール			
1205	1028	1473	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
トウイーン型			
A	1139	1419	1.24
B	1249	1553	1.24
C	1125	1387	1.23
POE高級脂肪酸			
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 ラウリルアルコール(酸)5モル付加



( 図-4 )

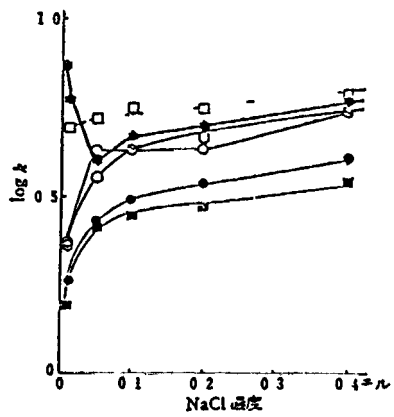
( 図-3 )

図-3 アルキル硫酸エステル塩の親油基分離

図-4 アルキル硫酸エステル塩(E) N-アノルサルコノン塩(F) N-アノルクルタ、ノ酸塩(G) 同族体混合物の親油基分離と相互分離クロマトグラム

表-3 市販界面活性剤の親油基分析結果

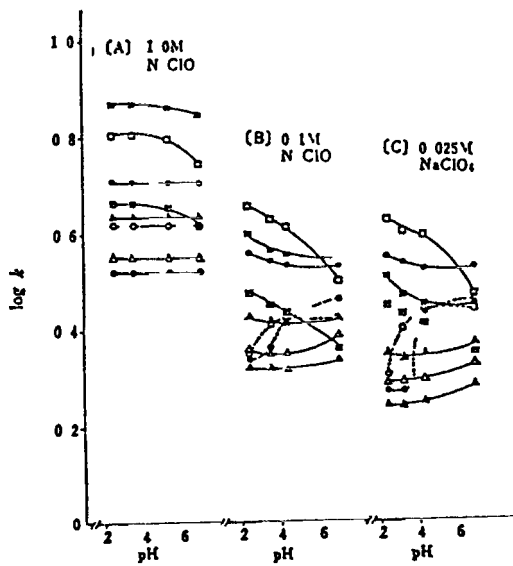
試 料	方 法	親 油 基 (%)			
		C	C <sub>1</sub>	C <sub>11</sub>	C <sub>18</sub>
ラウリル硫酸ナトリウム	HPLC	62.1	26.6	11.3	
	GC	60.7	27.7	11.8	
ステアロイルモノエタノールアミド	HPLC	1.2	2.6	27.9	68.3
	GC	0.7	2.2	27.4	69.1
ラウロイルモノエタノールアミド	HPLC	60.5	24.4	11.9	3.2
	GC	60.4	23.9	12.1	3.7
N-ラウロイル-L-グルタミン酸ナトリウム	HPLC	3.4	3.0	30.4	63.4
	GC	2.8	3.4	30.4	63.4
ラウリルヘンノルジメチルアノモニウムクロリド	HPLC	59.3	34.8	5.9	
	GC	60.1	33.1	6.9	

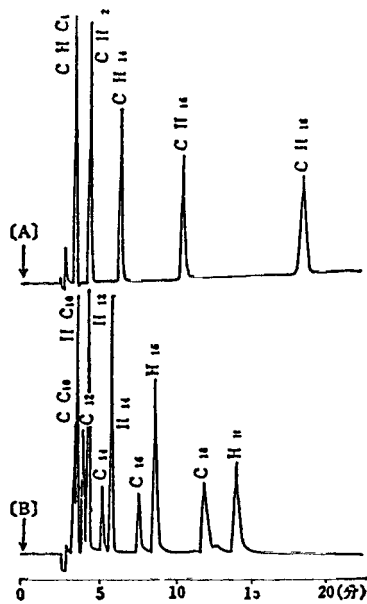


- パル トイルモノイノプロパノールアミト
- パルミチルヘノノルノメチルアノセウムクロリト
- *N*-パルミチルサルコノノ生パルミチル硫酸生
- *N*-パルミチル-*N*-メチルチウノ生
- *N*-パルミチル-*L*-グルタミノ酸ナトリウム

図-5 塩化ナトリウム添加濃度と溶出位置の関係

図-6 各種過塩素酸濃度での pH と溶出位置の関係 (記号は図-1と同様)

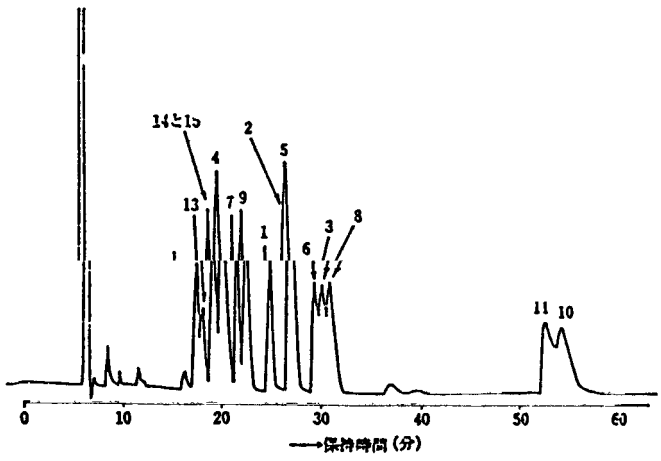




(A) 1.0 M NaClO pH=2.5  
メタノール 水=80:10

(B) 0.1 M NaClO pH=3.5  
メタノール 水=80:10

図-7 アルキルトリメチルアノモニウム塩(C) とアルキルア、ノ酢酸ヘタイノ(H) 同族体の分離



- 1 フクロイムノエタノールアミト
- 2 フクロイムノエタノールアミト
- 3 フクロイムノイソプロパノールアミト
- 4 N-Nジメチルフラクリルアミノキノド
- 5 フクリルスルホノ酸ナトリウム
- 6 フクリル硫酸ナトリウム
- 7 N-フクロイム-N-メチルフラクリルナトリウム
- 8 N-フクロイムサルコノナトリウム
- 9 N-フクロイム-L-グルタミノ酸ナトリウム
- 10 フクリル酸ナトリウム
- 11 N-2-エチルヘキシルスルホノ酸ナトリウム
- 12 N-Nジメチルフラクリルアミノ酢酸ヘタイン
- 13 2-ウンデシル-1-ヒドロキソエチルイミダゾリウムヘタイン
- 14 トデノルアミノプロピオノ酸ナトリウム
- 15 フクロイムアミトプロピル-N,N-ジメチルアミノ酢酸ヘタイン

図-8 15種のとデノル誘導体のクロマトグラム

## 参考文献

- 1) J J Kirkland 「Modern Practice of Liquid Chromatography」  
Wiley-Interscience New York(1970)
- 2) Z Deyl K Macek J Janak 「Liquid Column Chromatography A Survey  
of Modern Techniques」 Elsevier Amsterdam(1975)
- 3) 永井敏雄、杉山豊樹、ふんせき、1980 25
- 4) 辻 和郎、ふんせき、1982、374
- 5) 辻 和郎、ふんせき、1985、178
- 6) R A Lienado T A Neubecker Anal Chem 55 93R(1983)
- 7) 界面活性剤分析研究会編、「新版 界面活性剤分析法」、幸 書房、  
東京(1987)
- 8) 北原文雄、早野茂夫、原 一郎編、「界面活性剤の分析と試験法」、  
講談社、東京(1982)
- 9) K Nakamura Y Morikawa J Ame Oil Chem Soc 59 64(1982)
- 10) M Kudoh J Chromatogr 291 327(1984)
- 11) D Thomas J -L Rocca Analisis 7 386(1979)
- 12) W R Melander A Nahum C Horvath J Chromatogr 185 129(1979)
- 13) 中村 淳、松本 勲 日化誌、1975、1342
- 14) J D McClure J Amer Oil Chem Soc 61 805(1984)
- 15) A Nozawa T Ohnuma J Chromatogr 187 261(1980)
- 16) M Kudoh H Ozawa S Fudano K Tsuji ibid 287 337(1984)
- 17) M C Allen D E Linder J Amer Oil Chem Soc 58 950(1981)
- 18) 中村 淳、松本 勲 日化誌、1976、104。
- 19) K Aitzelmuller J Chromatogr 139 61(1977)
- 20) 中村 淳、松本 勲、日本化学会第35回秋季年会、1976年、札幌
- 21) L P Turner D McCullough A Jackewits J Amer Oil Chem Soc  
53 691(1976)
- 22) M Coupkova K Janes J Sanittrak J Coupek, J Chromatogr  
160 73(1978)
- 23) M Kudoh S Fudano S Yamaguchi ibid 205 473(1981)
- 24) A Nakae K Tsuji M Yamanaka Anal Chem 52 2275(1980)
- 25) 宇都宮暁子、池田辰男、高松和幸、内藤昭治 分析化学、31、115(1982)
- 26) M Kudoh K Tsuji J Chromatogr 294 456(1984)

- Survey
- 2 7 ) K. Hayashi, J. Kawase, K. Yoshimura, K. Ara, K. Tsuji. Anal. Biochem.,  
136, 314 (1984)
- 2 8 ) F. Smedes, C. Kraak, C. F. Werkhoven-Goewie, U. A. Th. Brinkman, R. W. Frei.  
J. Chromatogr., 247, 123 (1982)
- 2 9 ) A. Nakae, K. Tsuji, Comun. Jorn. Com. Esp. Deterg., 14th., p133 (1983)
- 3 0 ) M. Kanesato, K. Nakamura, O. Nakata, Y. Morikawa, J. Amer. Oil Chem. Soc.,  
64, 434 (1987)
- 3 1 ) K. Nakamura, Y. Morikawa, I. Matsumoto, ibid., 58, 72 (1981)
- 3 2 ) K. Nakamura, Y. Morikawa, ibid., 61, 1130 (1984)
- 3 3 ) 中村 淳、松本 勲、油化学、26、464 (1977)

以 上

(1982)