非イオン性界面活性剤のコシュランド試薬を用いる誘導体化反応とその液クロ分析への応用

宮崎大学教育文化学部紀要　自然科学　第２号（2000）25－29頁

非イオン性界面活性剤のコシュランド試薬を用いる誘導体化反応とその液クロ分析への応用

境　幸夫　杉　敏彦[1]

Derivative Reactions of Nonionic Surfactants with Koshland Reagent and its Application to HPLC Analysis of Nonionic Surfactants

Yukio SAKAI and Toshihiko SUGI

要旨

２－ヒドロキシ－５－ニトロベンジルブロミド（コシュランド試薬）を用いる非イオン性界面活性剤の誘導体化反応を応用して、いくつかの界面活性剤についてポリオキシエチレン鎖長ごとの定量を行った。即ち、誘導体化した界面活性剤を、ＧＰＣカラムであるアサヒパックＧＳ－３１０Ｈカラムを取り付けた高速液体クロマトグラフィーの試料として注入し、アセトニトリル／水（５０：５０）を溶離液として０.５ｍｌ／分で流し、３１５ｎｍにおける吸光度を測定した。誘導体化した結果、各ピークの分離は向上した。また、脂肪酸から作られたエステル型の界面活性剤は親水基の分離が悪く、エーテル型と大きく異なることが分かった。

Nonionic surfactants having poly(oxyethylene) chain were converted into their corresponding p-nitrophenol derivatives in benzene by the reaction with 2-hydroxy-5-nitrobenzyl bromide(known as Koshland reagent) in the presence of KI and NaH. Resultant compounds were purified by the extraction procedures with chloroform and dissolved in 50:50 acetonitrile／aqueous mixture. The sample was applied to high performance liquid chromatography equipped with gel permeation column (Asahipak Shodex GS-310H). An 50:50 acetonitrile／water mixture was used as the mobile phase at a flow rate of 0.5ml／min and the absorbance at 315nm was monitored. The derivation of nonionic surfactant results in the improvement of resolution of peaks by HPLC. The retention time depends on only the length of oxyethylene chain and not on the kind of hydrophobic group of surfactant. The nonionic surfactant synthesized from fatty acid gives different chromatographic behavior from ether type surfactant.

[1] 本学大学院教育学研究科教科教育学専攻理科教育専修（平成７年度修了）

緒言

２－ヒドロキシ－５－ニトロベンジルブロミド（コシュランド試薬）を誘導体化試薬として用いる非イオン性界面活性剤の吸光光度定量について、先に報告した[1]。この方法は従来のイオン対抽出を用いる定量法に比べ、陰イオン性界面活性剤の妨害が少なく、オキシエチレン単位数が2や3の界面活性剤も、低感度ながら定量できる特徴を持つ。この方法は、吸光光度定量に利用できるだけでなく、誘導体化した界面活性剤を高速液体クロマトグラフィの試料として用い、ＶＩＳ－ＵＶ検出器を用いれば、オキシエチレン鎖長ごとの定量ができる可能性がある。

オキシエチレン鎖長ごとの分析は、界面活性剤の物性を知る上で重要であるばかりでなく、環境水に対する汚染物質としての界面活性剤の毒性を評価する[3]うえで必要になるものと思われる。ここでは、ゲル濾過法あるいはゲル浸透法と称される原理に基づく分離カラムを用いる非イオン性界面活性剤のオキシエチレン鎖長ごとの分析法の開発を目的として検討した。

実験

試薬

単分散のオキシエチレン鎖を持つ界面活性剤として、和光純薬製のオキシエチレン単位数が３から８のドデシルエーテルを購入し、そのまま使用した。以後、オキシエチレン単位数を頭に付してｎＰＥＤと略記する。

２－ヒドロキシ－５－ニトロベンジルブロミド（コシュランド試薬）は、東京化成製の試薬を購入し、そのまま使用した。

３，５－ジニトロベンゾイルクロライド（以後ＤＮＢＣと略記）は、東京化成製の試薬を購入し、そのまま使用した。

非イオン性界面活性剤としては、オキシエチレン単位の平均重合度が９のポリ（オキシエチレン）ドデシルエーテル（以後ＢＬ９ＥＸと略記する）は、日本サーファクタント工業より恵与されたものを使用した。また、ポリ（オキシエチレン）モノラウレト（オキシエチレン単位平均重合度は１０、以後ＰＯＬと略記する）は東京化成より、購入し、そのまま用いた。これらの界面活性剤の構造式を図１に示す。

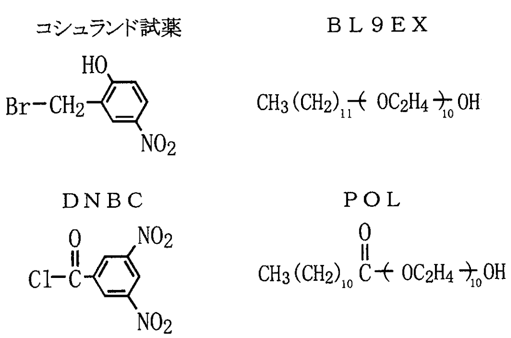

Fig.1　Structures of reagents used

水素化ナトリウム、ヨウ化カリウム、ベンゼン、クロロホルムは、和光純薬製品であり、特級試薬を用いた。また、アセトニトリルは、和光純薬製液クロ用試薬を用いた。

装置

液体クロマトグラフィー：Waters M-600型マルチソルベントシステム液体クロマトグラフィー
検出器：Waters 490E型マルチウェーブレングス検出器
インテグレーター：Waters データモジュール
カラムヒーター：スガイColumn Heater U-620型カラムヒーター
カラム：Asahipak Shodex GS-310H

実験操作

５０ｍｌ容積の遠心分離管に10^{-3}M（M≡mol・dm^{-3}）の界面活性剤を含むベンゼン溶液を５ｍｌ取り、8×10^{-3}Mのコシュランド試薬を溶かしたベンゼン溶液を５ｍｌ加える。その後水素化ナトリウムを０.０６ｇ添加し反応を開始させる。直ちにこの反応容器を４０℃の恒温槽に入れ、マグネチックスタラーを用いて溶液を攪拌する。５分後に触媒として０.０１Mヨウ化カリウムエタノール溶液を２５μｌ添加する。反応開始後、一定時間ごとに反応液を０.５ｍｌ採取し、ベンゼンを室温で蒸発させる。

蒸発残さに、クロロホルムを５.０ｍｌ加える。これに２M水酸化カリウム水溶液を５.０ｍｌ加えて激しく攪拌する。静置して２相が分離した後、水相を取り除き、再び２M水酸化カリウム水溶液を同量加えて抽出を行う。遠心分離機を用いて、水相とクロロホルム相を分離する。最後に１Mの塩酸溶液と振り混ぜた後、クロロホルム相を３.０ｍｌ分取する。

クロロホルムを蒸発させた後、残さを５０％のアセトニトリル水溶液１ｍｌに溶かし、液体クロマトグラフィー用分析試料とした。溶離液として、５０％アセトニトリル水溶液を用い、流速毎分０.５ｍｌで流した。また、カラムは５０℃の恒温槽にセットした。分析は、ＵＶ検出器を用いて３１５ｎｍにおける吸光度を測定した。

結果および考察

界面活性剤分析カラムとして、Asahipak Shodex GS-310Hを選定した。このカラムの充填剤は、ポリビニルアルコールを素材とするものであり、分子ふるい効果によって、分子量の大きな順に溶質が溶出してくるという特徴を持つ[2]。このような原理に基づく溶質の分離法をゲルろ過あるいはゲル浸透クロマトグラフィーという。このカラムを用いての、温度条件、溶媒の種類と組成、流速などの基礎条件について、最適化を行った結果、カラム温度は５０℃、溶離液は、５０：５０アセトニトリル／水の組成とし、流速毎分０.５ｍｌで流すことにした。

誘導体化法は、紫外部に吸収を持たない、言い換えればベンゼン環を持たない界面活性剤に対して応用価値があるため、ここではＢＬ９ＥＸを用い、先に述べた実験操作に従って分析を行った。得られたクロマトグラフを図２に示す。各ピーク上の数値はオキシエチレン単位数を示している。ピークの帰属は、別に合成し精製した３ＰＥＤ，６ＰＥＤ、９ＰＥＤの混合物を試料とし、同じ分析条件下で得られたクロマトグラフを参考に行った。得られたクロマトグラフは、オキシエチレン単位数が多いものから溶出し、単位数９で最もピーク高さが大きくなる

結果が得られた。

本法と比較するために、すでに報告されている[4]３，５－ジニトロベンゾイルクロライド（ＤＮＢＣ）を用いてＢＬ９ＥＸの液クロ分析を行った。即ち、ＢＬ９ＥＸをフラスコにとり、ピリジンを加えて溶かした後ＤＮＢＣを加え、６０℃で３０分加熱し誘導体化を行い、液クロ用試料とした。この時の検出器の波長は２６０ｎｍである。得られたクロマトグラフを図３に示したが、本法の図２の結果と保持時間に関しては良く一致している。即ち、親水基末端に結合させた誘導体の違いによる保持時間の差は認められない。

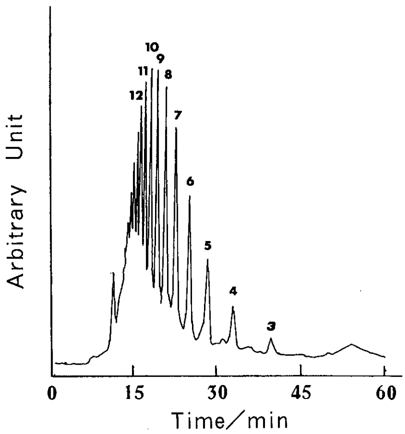

Fig.2　Chromatogram of Koshland derivative of BL9EX

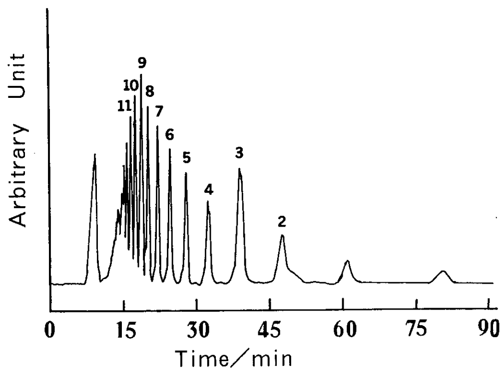

Fig.3　Chromatogram of DNBC derivative of BL9EX

しかしながら、相対的な存在度に関しては、３８分に見られるオキシエチレン数が３のピーク以後に溶出する各ピーク幅が、それ以前のピークに比べて幅が大きくなる傾向が認められる。一方、コシュランド法では、各ピークの分離も良く、オキシエチレン数が１４より短いオキシエチレン鎖ごとの存在比が測定されている。　しかしながら、本法に置いても、３ＰＥＤ、２ＰＥＤの誘導体化の反応率が低いという難点が残されているが、ＢＬ９ＥＸに関する限り大きな誤差には繋がらないと考えられる。

非イオン性界面活性剤には、ｎＰＥＤのようなエーテル型のものと、脂肪酸を出発原料とするエステル型のものがある。オキシエチレン鎖をもつ点で共通しているため、エステル型の界面活性剤にも本法を応用して分析できるのではないかと考えた。液体クロマトグラフの結果を図４に示した。これと図２の結果を比較して分かるように、かなりエーテル型のものとは異なるクロマトグラムが得られた。検出器の測定波長は、ｐ－ニトロフェノールの３１５ｎｍであり、ピーク間の分離は悪

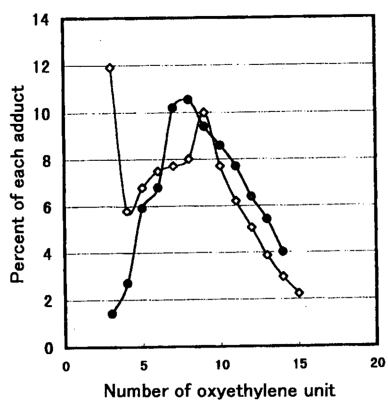

Fig.4　Analysis of BL9EX
● Koshland method,
◇ DNBC method

いものの、保持時間１０分から３０分にオキシエチレン鎖長の違いによると思われるピークが現れているため、誘導体化反応は確かに進行していると思われる。従って、このようなピーク間の分離が悪いクロマトグラムになる原因としては、エステル結合のオキシカルボニル基とＧＰＣカラム充填剤であるポリビニルアルコール間の水素結合などの形成による吸着効果の現れ[6]と考えられる。

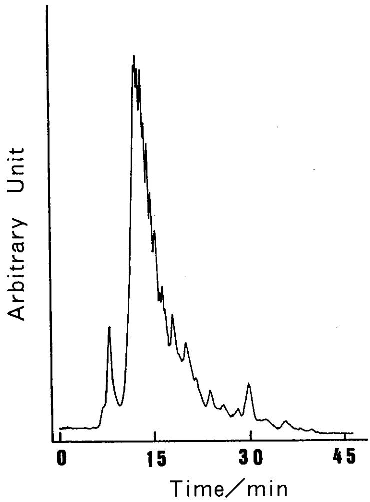

Fig.5　Chromatogram of Koshland derivative of POL

結語

非イオン性界面活性剤の親水基末端に、ｐ－ニトロフェノール基を導入したのち、ＧＰＣカラムをもちいて親水基長別に液クロ分析する方法について検討した。この方法により、ポリ（オキシエチレン）ドデシルエーテルの分析を行えることを示した。さらに、ポリ（オキシエチレン）ドデシルエステルの分析を行ったところ、エーテル型のものに比べて、オキシエチレン鎖長ごとのピークの分離が悪い知見を得た。エーテル型とエステル型のピークには明らかに差が認められるため、これら２つのタイプの界面活性剤を分離定量する手がかりとなる可能性がある。

本法で使用したＢＬ９ＥＸは、日本サーファクタント工業株式会社より恵与されたものである。記して謝意を表します。

参考文献

1．境幸夫、杉敏彦、宮崎大学教育文化学部紀要、vol. 2 pp （1999).
2．T.M.Schmitt, “Analysis of Surfactants,” in “Nonionic Surfactants,” in “Surfactants Science Series,” Marcel Dekker, Inc., New York , Vol 40, pp181(1992).
3．小林勇；ぶんせき、pp.123(1995).
4．A. Nozawa and T.Ohnuma,J.Chromatogr.,187,pp.261(1980)
5．M.C.Allen and D.E.Linder,J.Am.Oil Chem.Soc.,58,pp.950(1981)
6．S.Mori, J.Chromatogr.,452,pp.137(1988)

（1999年9月27日受理）