

3,5-ジニトロ安息香酸エステル誘導体とする アルキル硫酸エステルナトリウムの定量*

宇都宮暁子**[Ⓔ], 池田 辰男, 高松 和幸***, 内藤 昭治**

(1981年9月9日受理)

高級アルコール系合成洗剤に使用されているアルキル硫酸エステルナトリウム (AS) を加水分解し、生成する高級アルコールを 3,5-ジニトロ安息香酸エステル誘導体 (R-DNB) に変換した後、高速液体クロマトグラフィーで分離定量する方法を検討した。逆相分配系のカラム (シマズゲルパーマフェーズ ODS 及びシマズ PCH-05) で検討した結果、シマズ PCH-05 を固定相に、水-メタノール (18:82) を移動相に用いる分析条件で、アルキル基の炭素数が 10 から 18 までの R-DNB を分離定量した。又、これらの R-DNB は、異性体であるイソ体の影響を受けず、アルキル基の炭素数に依存して分離されることを確認した。R-DNB の定量限界は 5 μ l の注入量として 0.025 μ g, AS から R-DNB への収率は 92% であった。本法は河川水等の環境試料中の微量 AS の分析法として有用な方法と考える。

1 緒 言

近年、合成洗剤による河川、湖沼及び海洋などの環境汚染が憂慮されていることから、合成洗剤の主要成分である界面活性剤は、直鎖型アルキルベンゼンスルホン酸塩 (LAS) と比較して生分解性の良い高級アルコール系界面活性剤を使用する傾向がみられる。しかしながら、アルキル硫酸エステル塩 (AS) 及びポリオキシエチレンアルキルエーテル硫酸エステル塩 (AES) などの高級アルコール系陰イオン界面活性剤は、生分解速度が早い¹⁾²⁾ という理由で環境汚染実態調査はほとんど行われていない現状にある。又、陰イオン界面活性剤を総合的に定量するメチレンブルー比色法³⁾ は、真の陰イオン界面活性剤濃度より高く評価されるという報告⁴⁾⁵⁾ も多く、個々の界面活性剤の濃度で環境汚染の把握や評価を行う必要があると考える。

著者らは先に高速液体クロマトグラフィー (HPLC) による陰イオン界面活性剤の定量の一環として、環境試料中の LAS の定量について報告⁶⁾ したが、今回は AS を定量する方法について検討を行った。AS の分析法と

しては、AS を加水分解後、生成した高級アルコールをガスクロマトグラフィー⁷⁾⁸⁾ 及び HPLC⁹⁾ で分析する方法が報告されているが、環境試料に適用できる微量分析の検討はなされていない。環境試料中の微量の AS を HPLC で分析するためには、UV ラベル化又は蛍光ラベル化などの precolumn 誘導体化が必要である。本法では入手が容易であり、十分なモル吸光係数をもつ 3,5-ジニトロベンゾイルクロリドを UV ラベル化剤として使用し、AS を加水分解後生成する高級アルコールと反応させ、3,5-ジニトロ安息香酸エステル誘導体 (R-DNB) へ導き、逆相分配系のカラムで分離定量する方法について検討し、良好な結果が得られたので報告する。

2 実 験

2.1 試 薬

3,5-ジニトロベンゾイルクロリド：和光純薬，試薬特級品。

トリエチルアミン：東京化成規格特級品，モレキュラシーブス 5A1/16 (和光純薬) を添加して保存した。

メチレンブルー：和光純薬，試薬特級品。

陽イオン交換樹脂：室町化学工業，Dowex 50 W X8 { (50~100) メッシュ }。エタノールで膨潤後，エタノールで超音波洗浄を繰り返した樹脂を内径 15 mm \times 300 mm のガラスカラムに高さ 10 cm に充てんし，50% エタノール 200 ml で洗浄した。

カラム 充てん剤：シマズゲルパーマフェーズ-ODS (内径 4 mm \times 500 mm) 及びシマズ PCH-05 (内径 4 mm \times 250 mm) を使用した。

* 高速液体クロマトグラフィーによる陰イオン界面活性剤の定量 (第 2 報)。前報は宇都宮暁子，池田辰男，高松和幸，内藤昭治：分化，**29**，837 (1980)

** 神奈川県衛生研究所：神奈川県横浜市旭区中尾町 52

*** 神奈川県薬剤師会公害衛生試験所：神奈川県横浜市磯子区西町 14-11

高級アルコール：デシルアルコール，ドデシルアルコール，テトラデシルアルコール及びヘキサデシルアルコール以上東京化成規格特級品．ウンデシルアルコール，トリデシルアルコール及びペンタデシルアルコール以上の高級アルコールは，ライオン(株)及び花王石鹼(株)より提供された．

ドデシル硫酸エステルナトリウム：東京化成，標準アニオン界面活性剤．

他の試薬：試薬特級品を使用した．

2.2 装置

高速液体クロマトグラフ：島津 LC-2 型及び日立 638-50 型．

検出器：島津 SPD-1 型分光光度計及び応用分光 UVILOG-5 III 分光光度計．

2.3 分析操作

2.3.1 洗剤の前処理 市販の合成洗剤の水溶液に塩酸を加え，3時間還流後ベンゼンで抽出した¹⁰⁾．無水硫酸ナトリウムで脱水後，溶媒を減圧下留去し，少過剰の3,5-ジニトロベンゾイルクロリド無水ベンゼン溶液及びトリエチルアミン数滴を加えて密栓し，85°Cで60分間反応させた．反応後溶媒を減圧下留去し，無水ベンゼンを加えて溶解させ HPLC 用試料とした．

2.3.2 河川水等の前処理 河川水又は排水の適量 (AS 20 µg 以上を含む) に 1 N 硫酸及び 0.025 % (w/v) メチレンブルー溶液を加え，四塩化炭素で抽出後，メチレンブルー 活性物質 (MBAS) を 1,2-ジクロロエタンで抽出した⁶⁾．溶媒を減圧下濃縮後，陽イオン交換樹脂のカラムに吸着させ，50% エタノールで溶出し，メチレンブルーを除去した．溶媒を減圧下留去し，蒸留水と塩酸を加えて以下 2.3.1 に従って操作し，HPLC 用試料とした．

2.3.3 HPLC による定量 固定相にシマズゲルパーマフェーズ ODS 及びシマズ PCH-05 を用い，パーマフェーズ ODS では移動相に水-メタノール (20:80)，温度は室温，流速 1.0 ml/min，レンジ 8×10^{-2} AUFS，UV 235 nm で分析を行った．又，PCH-05 では移動相に水-メタノール (18:82)，温度は室温，流速 0.8 ml/min，レンジ 8×10^{-2} AUFS，UV 235 nm で分析した．2.3.1 及び 2.3.2 で調製した試料溶液 5 µl を高圧サンプリングバルブを用いてカラムに注入し，ピーク高さ法及びピーク面積法により定量を行った．Table 1 に示したように，3,5-ジニトロ安息香酸デシル (C₁₀-DNB)，3,5-ジニトロ安息香酸ドデシル (C₁₂-DNB)，3,5-ジニトロ安息香酸テトラデシル (C₁₄-DNB)，3,5-ジニトロ安息香酸ヘキサデシル (C₁₆-DNB) 及び 3,5-ジニトロ

安息香酸オクタデシル (C₁₈-DNB) の UV スペクトルにおける極大吸収波長は 209 nm であったが，溶媒吸収などの影響をより少なくするために 235 nm の肩の吸収を測定波長とした．又，これらの R-DNB の UV スペクトルから 209 nm 及び 235 nm におけるモル吸光係数を求めると，Table 1 に示したように同じ値が得られた．従って PCH-05 における定量では，あらかじめ作成した C₁₂-DNB の検量線を用い，分子量補正をした値を C₁₀-DNB，3,5-ジニトロ安息香酸ウンデシル (C₁₁-DNB)，C₁₂-DNB，3,5-ジニトロ安息香酸トリデシル (C₁₃-DNB)，C₁₄-DNB，3,5-ジニトロ安息香酸ペンタデシル (C₁₅-DNB) 及び C₁₆-DNB 量とした．又，デシル硫酸エステルナトリウム (C₁₀-AS)，ウンデシル硫酸エステルナトリウム (C₁₁-AS)，ドデシル硫酸エステルナトリウム (C₁₂-AS)，トリデシル硫酸エステルナトリウム (C₁₃-AS)，テトラデシル硫酸エステルナトリウム (C₁₄-AS)，ペンタデシル硫酸エステルナトリウム (C₁₅-AS) 及びヘキサデシル硫酸エステルナトリウム (C₁₆-AS) の濃度は次式より算出した．

$$C_n\text{-AS (mg/l)} \\ = a \times \frac{C_n\text{-DNB のピーク面積 (又は高さ)}}{C_{12}\text{-DNB のピーク面積 (又は高さ)}} \\ \times \frac{C_n\text{-DNB の分子量}}{C_{12}\text{-DNB の分子量}} \\ \times v \times \frac{C_n\text{-AS の分子量}}{C_n\text{-DNB の分子量}} \times \frac{1}{V}$$

n : アルキル基の炭素数

a : C₁₂-DNB の標準溶液濃度 (mg/l)

v : HPLC 用試験溶液全量 (ml)

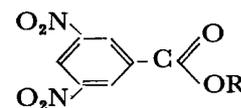
V : 試料採取量 (ml)

3 結果及び考察

3.1 標準物質の合成

原料アルコール及びその合成法により異なるが，合成洗剤に使用されている AS のアルキル基の炭素数は 10 から 16 まで分布し，更にノルマル体の外にイソ体などの異性体が存在する．標準物質として，デシルアルコールからオクタデシルアルコールまでの直鎖の偶数炭素を持つ高級アルコールの R-DNB を合成した¹¹⁾．合成した標準物質の名称，略名，融点，元素分析値，UV スペクトル測定値を Table 1 に示した．又，奇数炭素を持つウンデシルアルコール，トリデシルアルコール及びペンタデシルアルコールの混合物を同様に R-DNB とし，C₁₁-DNB，C₁₃-DNB 及び C₁₅-DNB の同定に用いた．

Table 1 Analysis of 3,5-dinitrobenzoate derivatives of alcohol



3,5-Dinitrobenzoate derivatives	Abbreviation	Constitutional formula	MP (°C)	Analysis: Calcd. (Found) (%)			UV ^{EtOH} _{max} nm (log ε)
				C	H	N	
Decyl 3,5-dinitrobenzoate	C ₁₀ -DNB	R = -C ₁₀ H ₂₁	56~56.5	57.94 (57.83)	6.87 (6.85)	7.95 (8.02)	209 (4.45) 235 _(s) (4.31)
Dodecyl 3,5-dinitrobenzoate	C ₁₂ -DNB	R = -C ₁₂ H ₂₅	61~62	59.98 (60.09)	7.42 (7.42)	7.36 (7.51)	209 (4.45) 235 _(s) (4.31)
Tetradecyl 3,5-dinitrobenzoate	C ₁₄ -DNB	R = -C ₁₄ H ₂₉	66~67	61.74 (61.60)	7.90 (7.86)	6.86 (6.94)	209 (4.45) 235 _(s) (4.31)
Hexadecyl 3,5-dinitrobenzoate	C ₁₆ -DNB	R = -C ₁₆ H ₃₃	72~72.5	63.28 (63.48)	8.31 (8.20)	6.42 (6.49)	209 (4.45) 235 _(s) (4.31)
Octadecyl 3,5-dinitrobenzoate	C ₁₈ -DNB	R = -C ₁₈ H ₃₇	77~78.5	64.63 (64.70)	8.68 (8.63)	6.03 (6.05)	209 (4.45) 235 _(s) (4.31)

(s) : shoulder

3.2 3,5-ジニトロ安息香酸エステル誘導体(R-DNB)の収率

河川水などの環境試料中の AS は, 生産量が LAS に比較して少ないこと, 又, 生分解速度が早いことより, LAS より微量の存在が予想される。そこで, 微量のドデシルアルコールから C₁₂-DNB への収率を検討した。

ドデシルアルコール無水ベンゼン溶液に 1.5 当量の 3,5-ジニトロベンゾイルクロリド無水ベンゼン溶液を加え, トリエチルアミン 1 滴を添加し, 以下 2・3・1 及び 2・3・3 に従い HPLC で定量した。ドデシルアルコール 100 µg 添加で C₁₂-DNB の収率は平均 97%, 20 µg 添加で平均 93% で, ほぼ定量的に R-DNB へ誘導されることを確認した。又, C₁₂-AS 100 µg/100 ml の水溶液から, 2・3・1 に従い加水分解を経て C₁₂-DNB への収率は平均 92% であった。

3.3 HPLC 分析条件の検討

3.3.1 パーマフェーズ ODS 及び PCH-05 による分離 C₁₀ から C₁₈ までのアルキル基を有する R-DNB の相互分離を目的に, パーマフェーズ ODS 及び PCH-05 の 2 種類の逆相分配系カラムを用い, 分析条件を検討した。移動相として水-メタノール系を用い, 水分含量とキャパシティー比 (*k'*) の関係を Table 2 及び Table 3 に示した。いずれの場合も水分含量が増大するにつれて *k'* は増大し, 長鎖の R-DNB ほど *k'* の増加率が大きい。R-DNB の相互分離及び分析時間を考慮し, 移動相中の水分含量をパーマフェーズ ODS では 20%, PCH-05 では 18% とした。2・3・3 に示した分析条件で C₁₂-DNB メタノール溶液の検量線を作成すると, パーマフェーズ ODS では (0.1~2) µg/5 µl (注入量) の範囲で, PCH-05 では (0.025~0.5) µg/5 µl (注入量) の範囲で原点を通る良好な直線性を示し, 定量限

Table 2 Capacity factors of 3,5-dinitrobenzoate derivatives on Permaphase-ODS column

3,5-Dinitrobenzoate derivatives	Capacity factor		
	Water-methanol (10 : 90)	Water-methanol (20 : 80)	Water-methanol (25 : 75)
C ₁₀ -DNB	0	0.53	1.19
C ₁₂ -DNB	0	1.19	2.91
C ₁₄ -DNB	0	2.64	7.11
C ₁₅ -DNB	0.15	4.00	11.19
C ₁₆ -DNB	0.35	6.00	17.40
C ₁₈ -DNB	0.77	13.57	43.11

k' (Capacity factor) = $T_R - T_0 / T_0$; T_R : Retention time of 3,5-dinitrobenzoate derivatives; T_0 : Retention time of isopropanol

Table 3 Capacity factors of 3,5-dinitrobenzoate derivatives on PCH-05 column

3,5-Dinitrobenzoate derivatives	Capacity factor			
	Water-methanol (12 : 88)	Water-methanol (16 : 84)	Water-methanol (18 : 82)	Water-methanol (20 : 80)
C ₁₀ -DNB	0.13	0.81	1.12	1.49
C ₁₂ -DNB	0.62	1.13	1.64	2.27
C ₁₄ -DNB	0.82	1.60	2.42	3.50
C ₁₅ -DNB	0.95	1.93	3.00	4.35
C ₁₆ -DNB	1.11	2.29	3.67	5.58
C ₁₈ -DNB	1.49	3.36	5.68	9.12

k' (Capacity factor) = $T_R - T_0 / T_0$; T_R : Retention time of 3,5-dinitrobenzoate derivatives; T_0 : Retention time of isopropanol

界はそれぞれ 0.1 µg/5 µl (注入量) 及び 0.025 µg/5 µl (注入量) であった。PCH-05 におけるピーク高さの再現性は, C₁₂-DNB 75 mg/l (メタノール) で変動係数 3.4% ($n=8$), 25 mg/l で 3.7% ($n=8$) であった。なお, R-DNB の標準クロマトグラムを Fig. 1 に示した。

3.3.2 パーマフェーズ ODS と PCH-05 の比較

AS のアルキル基はノルマル体の外に, 末端にメチル基を有するイソ体などの異性体が原料アルコールの合成法に

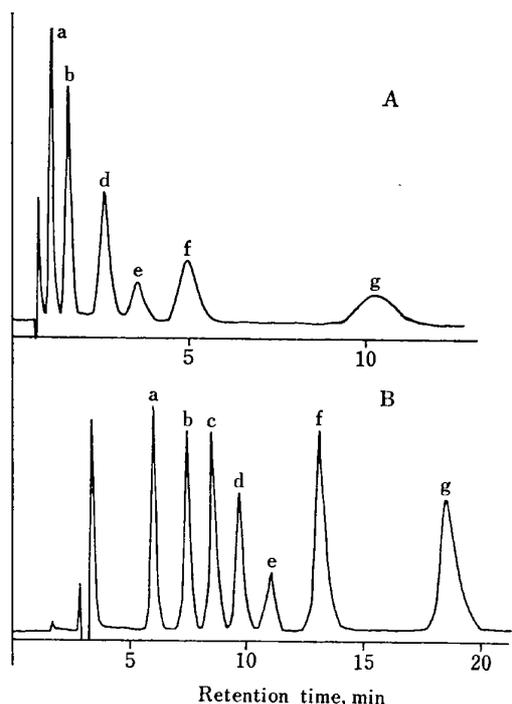


Fig. 1 Chromatograms of a standard mixture of 3,5-dinitrobenzoate derivatives

Conditions—A Column: Shimadzu gel Perma-phase-ODS (4 mm i.d.×500 mm); Mobile phase: Water-methanol (20:80); Flow rate: 1.0 ml/min; Temp.: Ambient; Detector: UV 235 nm, B Column: Shimadzu PCH-05 (4 mm i.d.×250 mm); Mobile phase: Water-methanol (18:82); Flow rate: 0.8 ml/min; Temp.: Ambient; Detector: UV 235 nm. Peaks—a: C₁₀-DNB; b: C₁₂-DNB; c: C₁₃-DNB; d: C₁₄-DNB; e: C₁₅-DNB; f: C₁₆-DNB; g: C₁₈-DNB

より 0~50% 程度存在する。環境試料中の微量の AS を感度良く定量するためには、イソ体などの異性体によって分離されずに、アルキル基の炭素数に従って分離されることが望ましい。そこでイソ体を含有する原料アルコールから R-DNB へ誘導し、同一試料について分離を比較した。Fig. 2 にパーマフェーズ ODS と PCH-05 における 2・3・3 に示した分析条件でのクロマトグラムを示した。パーマフェーズ ODS では、水-メタノール (20:80) を移動相とした場合、C₁₁-DNB は溶媒ピーク (ベンゼン) と重なり定量不能であった。C₁₃-及び C₁₅-DNB はイソ体と不十分ながら分離され、水分含量が増すにつれて分離は良くなるが、感度が著しく低下する傾向を示した。PCH-05 では、水-メタノール (18:82) を移動相とした場合、イソ体は分離されずアルキル基の炭素数に依存して分離された。水分含量が 20% を越えるとピークはブロードになり、イソ体は不十分ながら分離されてくるが、感度が低下し定量性は得られなかった。

以上の結果より PCH-05 は、パーマフェーズ ODS

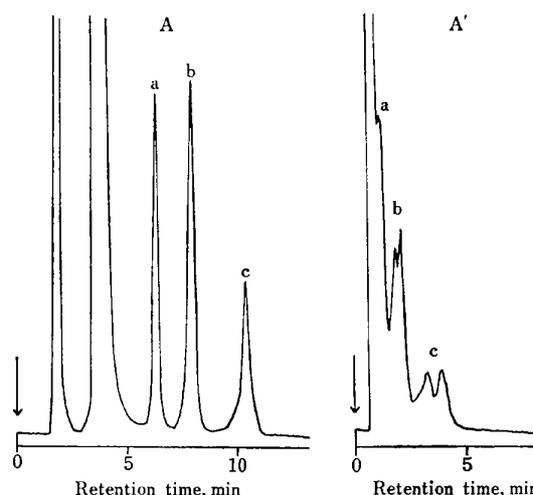


Fig. 2 Chromatograms of iso isomers of 3,5-dinitrobenzoate derivatives

A: Chromatograms on PCH-05 column. Conditions were the same as indicated in Fig. 1; A': Chromatograms on Perma-phase-ODS column. Conditions were the same as indicated in Fig. 1. Peaks—a: C₁₁-DNB containing iso isomer; b: C₁₃-DNB containing iso isomer; c: C₁₅-DNB containing iso isomer

に比べ定量限界が低く、イソ体などの異性体によって分離されずにアルキル基の炭素数に依存して R-DNB が溶出され、河川水や洗剤などの実試料においても溶媒ピークの妨害を受けずに R-DNB を分離定量できることより、環境試料の分析に適していると考えられる。

3.4 洗剤及び河川水中の AS の定量

以上検討した AS の分析法の応用として、市販の合成洗剤及び河川水について、PCH-05 を用いて分析を行い結果を Table 4 に示した。洗剤及び河川水中の R-DNB は、C₁₀-DNB を内部標準物質として添加し、Table 5 に示した C₁₀-DNB との保持時間の比で同定を行った。2・3・3 に示した PCH-05 を用いた分析条件で、C₁₀-DNB と C₁₂-DNB の保持時間比の変動係数は 0.34% (n=5) であった。

洗剤 A では C₁₂-、C₁₃-、C₁₄- 及び C₁₅-AS が全量 29.9 mg/g、洗剤 B では C₁₄- 及び C₁₅-AS が全量 5.29 mg/g 測定され、洗剤により AS の含量やアルキル基の分布に相異が認められた。又、河川水 C では C₁₂-AS が 0.039 mg/l、河川水 D では C₁₂- 及び C₁₅-AS が全量 0.058 mg/l 測定され、前報⁹⁾ で報告した河川水中の LAS 濃度に比較して、約 10 倍低いオーダーであった。

4 結 語

高級アルコール系合成洗剤に使用されている AS を加

Table 4 The contents of sodium alkylsulfate in detergents and river waters

Sample	AS					Total AS
	C ₁₂ -AS	C ₁₃ -AS	C ₁₄ -AS	C ₁₅ -AS	C ₁₆ -AS	
Detergent A (mg/g)	8.58	8.26	8.43	4.63	n. d.	29.9
Detergent B (mg/g)	n. d.	n. d.	2.81	2.48	n. d.	5.29
River water C (μg/ml)	0.039	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	0.039
River water D (μg/ml)	0.040	trace	trace	0.018	trace	0.058

AS: sodium alkylsulfate; n. d.: not detected.

Table 5 The ratios of retention time of decyl 3,5-dinitrobenzoate to 3,5-dinitrobenzoate derivatives

R-DNB	R-DNB R. T./ C ₁₀ -DNB R. T.	R-DNB	R-DNB R. T./ C ₁₀ -DNB R. T.
C ₁₀ -DNB	1.00	C ₁₄ -DNB	1.68
C ₁₁ -DNB	1.11	C ₁₅ -DNB	1.85
C ₁₂ -DNB	1.27	C ₁₆ -DNB	2.33
C ₁₃ -DNB	1.42	C ₁₈ -DNB	3.40

R-DNB: 3,5-dinitrobenzoate derivatives; R. T.: retention time

- p. 154 (1975), (幸書房).
11) S. R. Sandler, W. Karo: "Organic Functional Group Preparations", p. 251 (1968), (Academic Press, Inc., New York).

☆

Determination of sodium alkylsulfates as 3,5-dinitrobenzoate derivatives (Determination of anionic surfactants by high-performance liquid chromatography. II). Akiko UTSUNOMIYA*, Tatsuo IKEDA, Kazuyuki TAKAMATSU**, and Syoji NAITO* (*Kanagawa Prefectural Public Health Laboratories, 52, Nakaocho, Asahi-ku, Yokohama-shi, Kanagawa; **Environmental Analysis Institute of Kanagawa Pharmaceutical Association, 14-11, Nishi-machi, Isogo-ku, Yokohama-shi, Kanagawa)

Sodium alkylsulfates (AS) were hydrolyzed with hydrochloric acid, and the resulted alcohols were extracted into benzene, followed by conversion to 3,5-dinitrobenzoate derivatives (R-DNB). The derivatization to R-DNB was carried out as follows. A slightly excess of 3,5-dinitrobenzoyl chloride and a few drops of triethylamine were added to the benzene solution of the alcohols. The mixture was heated at 85°C for 1 h, and then the reactant was evaporated to dryness under reduced pressure and dissolved with (1~2) ml of anhydrous benzene as samples for high-performance liquid chromatography (HPLC). The yield of dodecyl 3,5-dinitrobenzoate derived from sodium dodecylsulfate was around 92%. The separation and determination of R-DNB were investigated by HPLC using two different types of reversed phase columns: Shimadzu gel Permaphase-ODS and Shimadzu PCH-05. It was found that PCH-05 has the following advantages over Permaphase-ODS. i) The calibration curve for dodecyl 3,5-dinitrobenzoate was linear within a range of (0.025~0.5) μg/5 μl (injection volume). ii) R-DNB having C₁₀-C₁₈ alkyl chains were separated to each other according to their alkyl chain lengths. iii) Their iso-isomers were not separated. iv) R-DNB having C₁₂-C₁₈ alkyl chains in samples of river water and detergent were separated and determined without interference of benzene. Recommended conditions for HPLC were as follows: column, Shimadzu PCH-05 (4 mm i. d. × 250 mm); mobile phase, water-methanol (18:82); flow rate, 0.8 ml/min; column temperature, ambient; detector, UV 235 nm.

(Received Sept. 9, 1981)

水分解し, 生成する高級アルコールを R-DNB へ誘導し, 逆相分配系のカラムで分離定量する方法を検討した. シマズ PCH-05 を固定相に, 水-メタノール (18:82) を移動相に選択した分析条件で, R-DNB はアルキル基のイソ体の影響を受けずに, アルキル基の炭素数に依存して分離された. 又, 洗剤及び河川水などの実試料においても, 溶媒ピークなどの妨害を受けずに高感度に定量でき, 環境試料中の微量の AS の分析法として有用な方法と考えられる.

本研究を行うに当たり, 各種高級アルコールを提供されたライオン(株)及び花王石鹼(株)に厚く感謝します.

(1981年4月, 日本薬学会第101年会において一部発表)

文 献

- H. Sekiguchi, K. Miura, K. Ōba, A. Mori: 油化学, **24**, 145 (1975).
- 伊藤伸一, 節田節子, 宇都宮暁子, 内藤昭治: 油化学, **28**, 199 (1979).
- D. C. Abott: *Analyst* (London), **87**, 286 (1962).
- 高野 敏, 高崎智恵子, 国弘和雄, 山中 実: 油化学, **25**, 31 (1976).
- 橋本 茂, 桜井健三, 永井敏雄: 分化, **25**, 639 (1976).
- 宇都宮暁子, 池田辰男, 高松和幸, 内藤昭治: 分化, **29**, 837 (1980).
- J. S. Fritz, G. H. Schenk: *Anal. Chem.*, **31**, 1808 (1959).
- R. Wood: *J. Gas Chromatogr.*, **6**, 94 (1968).
- K. Nakamura, Y. Morikawa, I. Matsumoto: *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **58**, 72 (1981).
- 界面活性剤分析研究会編: "界面活性剤分析法",

Keyword phrases

anionic surfactant; determination of sodium alkylsulfate as 3,5-dinitrobenzoate derivatives; separation by

high-performance liquid chromatography; sodium alkylsulfate in river water and detergent.

スクアレンの酸素吸収とその 20-メチルコラントレン及び 3,4-ベンゾピレンの変異原性に及ぼす効果

今枝 一男, 大沢 敬子, 横田 貴史*[Ⓐ]

(1981 年 8 月 5 日受理)

ステロイドの前駆物質であるスクアレンに発がん性物質としてよく知られた 20-メチルコラントレン (MC), あるいは 3,4-ベンゾピレン {B(a)P} を添加し経時的に紫外線照射下の酸素吸収量の測定を行った。又, 酸素吸収実験に供した試料を経時的にサンプリングし, 発がん性物質の第一次スクリーニング法としては用いられるエームスアッセイを行い両実験結果につきその相関関係を検討した。

その結果スクアレンに添加した MC, B(a)P の変異原性の消失はスクアレンと発がん性物質と酸素の共存下に起こり, 更に酸素吸収量が大きいものほど顕著であることが分かった。

1 緒 言

スクアレンは性ホルモン, コレステロールなどステロイドの前駆物質として周知の物質である。

Sobel らはスクアレンに 20-メチルコラントレン (MC) を添加しラットの背中に塗布して皮膚がんを発生させる実験において, 添加後短期間のもを塗布するとがんは生ずるが長期間大気中に放置したものの塗布では発がんさせないと報告している¹⁾。又, スクアレン中で 3,4-ベンゾピレン {B(a)P} の分解が速やかに起こり, その際トコフェロールの存在で分解が著しく遅延すると報告している²⁾。

著者らは物質の大気中における安定性などについて酸素吸収測定法を用いて報告を行ってきた^{3)~5)}。今回は発がん性消失の原因探究手段として酸素分析を結びつけ実験を行った。すなわち, スクアレンに MC, B(a)P を添加時の酸素吸収量の測定結果を発がん性と近似の変異原性の動向と対比し, 両者の相関について検討した。変異原性検出の手段としては発がん性物質の第一次スクリーニング法としては用いられているエームスアッセイを用いた^{6)~13)}。その結果二, 三の知見を得たので報告する。

2 試料, 試薬及び装置

2.1 試料及び試薬

試料はスクアレン (海洋牧場及び東京化成工業), スクアラン (半井化学薬品), 発がん性物質として MC (Sigma 社), B(a)P, 酸化防止剤として DL- α -トコフェロール (以上半井化学薬品), 酸化促進剤としてナフテン酸鉄 (III) 5% (日本化学産業) を用いた。試薬はジメチルスルホキシド (DMSO), リン酸二水素ナトリウム, リン酸水素二ナトリウム (以上和光純薬工業), β -ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸 (還元型, ナトリウム塩) (β -NADPH, オリエンタル社), D-グルコース-6-ホスフェート (Sigma 社), L-ヒスチジン塩酸塩 (日本理化学薬品), ポリ塩化ビフェニル (Cl 48%) (PCB, 東京化成工業), フェノバルビタールナトリウム塩 (PB-Na 塩, 三晃薬品), Bacto-Agar, Nutrient-Broth (以上 Difco Lab.) などを用いた。スクアレン, スクアラン, ナフテン酸鉄, Nutrient-Broth, PCB, β -NADPH 以外はいずれも特級品を用いた。

2.2 装 置

酸素直接定量装置は三田村理研製のものを用い, 試料 1 mg 前後で測定できる電量法によった。分析所要時間は 15 分であり, 精度は $\pm 0.30\%$ 以内である。

酸素吸収測定はワールブルグ検圧計を改良し製作した誘導期測定計⁵⁾を用いた。

* 星薬科大学: 東京都品川区荏原 2-4-41