

報 文

キャピラリー電気泳動/質量分析法による界面活性剤の分析

田中 喜秀^{®*}, 岸本 康弘^{*}, 大塚 浩二^{**}, 寺部 茂^{**}

Analysis of surfactants by capillary electrophoresis/mass spectrometry

Yoshihide TANAKA, Yasuhiro KISHIMOTO^{*}, Koji OTSUKA and Shigeru TERABE^{**}

^{*} Department of Analytical Chemistry, Kawanishi Pharm Research Institute, Nippon Boehringer Ingelheim Co., Ltd., 3-10-1, Yato, Kawanishi-shi, Hyogo 666-0193

^{**} Department of Material Science, Faculty of Science, Himeji Institute of Technology, 1475-2, Kanaji, Kamigori, Ako-gun, Hyogo 678-1297

(Received 9 April 1998, Accepted 21 May 1998)

Capillary electrophoresis/mass spectrometry (CE/MS) was applied to an analysis of surfactants. The detection limit of sodium dodecyl sulfate (SDS) was determined. Compared to indirect UV detection, SDS was detected with higher sensitivity by MS detection. The detection limit at a signal-to-noise ratio of 2 was 0.05 µg/ml when an untreated fused-silica capillary was used. Sodium decyl sulfate and sodium tetradecyl sulfate were detected by CE/MS as impurities in SDS. CE/MS easily showed a difference in purities of commercial SDS among three different suppliers. Composition analyses of commercial surfactants (sodium polyoxyethylene(2) dodecyl ether sulfate and dodecyl dimethylaminoacetic acid betaine) were also performed by CE/MS. A number of components and impurities were identified according to each molecular mass. It has been shown that CE/MS is a promising analytical tool for the analysis of surfactants.

Keywords : capillary electrophoresis; mass spectrometry; electrospray ionization; surfactant; impurity.

1 緒 言

キャピラリー電気泳動/質量分析法 (CE/MS) は 1987 年 Olivares ら¹⁾により報告されて以来, インターフェースの改良を中心に研究が行われてきたが, 最近では生命科学, 環境科学など様々な分野の分析に適用されるようになった²⁾³⁾. CE では泳動時間の再現性が劣るために泳動時間のみでピークの同定を行うことは難しいが,

MS 検出を利用すると分析対象物の質量数を基に簡単かつ正確に同定することができる. 又, 分析対象物の紫外吸収の有無に関係なく高感度検出も可能となる. 今までに薬物代謝分析⁴⁾, 医薬品の純度試験⁵⁾⁶⁾, 界面活性剤やシクロデキストリン誘導体の成分分析⁵⁾⁷⁾など MS 検出の利点を生かした分析例が報告されている.

界面活性剤はアルキル鎖などが異なる数種類の成分から構成されていることが多い. 洗剤として用いる限りは混合物でも問題とならないが, 分析化学では HPLC や CE の分離媒体並びに溶媒抽出の試薬としても利用され, 界面活性剤の純度や組成が実験結果に影響することも考えられる. CE による界面活性剤の成分分析では,

^{*} 日本ベーリンガーインゲルハイム(株)川西医薬研究所
分析化学部: 666-0193 兵庫県川西市矢間 3-10-1

^{**} 姫路工業大学理学部物質科学科: 678-1297 兵庫県赤穂郡上郡町金出地 1475-2

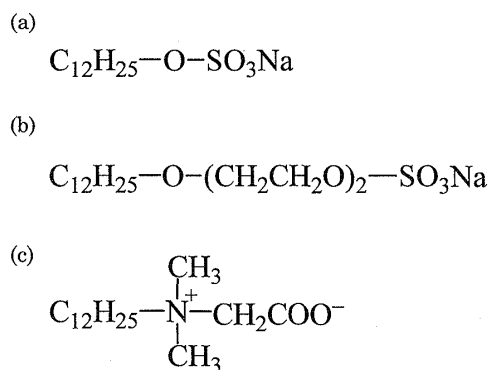


Fig. 1 Chemical structures of surfactants used in this study

(a): sodium dodecyl sulfate (SDS); (b): sodium polyoxyethylene(2) dodecyl ether sulfate (SBL-2N-27); (c): dodecyl dimethylaminoacetic acid betaine (AM-301)

アルキルベンゼンスルホン酸塩のように紫外吸収があるものは直接吸光検出法で測定できるが^{(8)~(10)}, 界面活性剤のなかには紫外吸収が非常に弱いものも多く, その場合は間接吸光検出法を用いる必要がある⁽¹¹⁾⁽¹²⁾. 間接吸光検出法は直接吸光検出法に比べるとベースラインの安定性が劣り, 高感度検出には不向きである. 又, 多成分からなる界面活性剤では吸光検出法のみでピークを同定することは困難である. そこで, 今回著者らは, CE/MS による界面活性剤の分析を試みた. 試料として硫酸ドデシルナトリウム (SDS) を用い, CE/MS と間接吸光検出法の検出限界を比較した. 更に, CE/MS による市販の界面活性剤の純度試験及び成分分析を試みた.

2 実験

2.1 試薬及び試料

SDS は和光純薬製生化学用, ナカライテスク製難溶性タンパク質研究用及び Aldrich 製 (純度 98%) を用いた. 硫酸ポリオキシエチレン(2)ドデシルエーテルナトリウム (SBL-2N-27) の 27% 水溶液及びドデシルジメチルアミノ酢酸ベタイン (AM-301) の 35% 水溶液は日光ケミカルズから購入した. Fig. 1 にこれらの界面活性剤の構造式を示す. 水及びメタノールは関東化学製の HPLC 用を用いた. その他の試薬は, 特級品又は精密分析用などの高純度試薬を用いた.

2.2 装置

CE 装置は Hewlett-Packard 製の HP^{3D} CE システム, MS 装置は Perkin-Elmer Sciex 製 API-300 トリプルステージ四重極質量分析計, CE と MS の接続は, Perkin-

Elmer Sciex 製の Normal Ionspray (ISP) インターフェースを用いた. キャピラリーはジーエルサイエンス製の内径 50 μm , 外径 150 μm の溶融シリカキャピラリーを用い, 中谷ら⁽¹³⁾の方法によりポリアクリルアミドで内壁処理し, 長さ 70~80 cm で使用した. 一部の実験は未処理のままで用いた. シース液の送液には, Harvard 製のシリンジポンプ M-11 型を用いた.

間接吸光検出法の実験は HP^{3D} CE システムで行い, キャピラリーはジーエルサイエンス製の内径 50 μm , 外径 375 μm の溶融シリカキャピラリーを全長 64 cm, 有効長 55.5 cm で用いた.

2.3 実験操作

2.3.1 CE/MS による SDS の分析 1 日の分析開始前及び分析終了時には, ポリアクリルアミドで内壁処理したキャピラリーはキャピラリー洗浄液 (Bio-Rad 製 Cat. No.148-5022), 水の順で加圧法 (94 kPa) により 10 分間ずつ洗浄した. 未処理の溶融シリカキャピラリーはキャピラリー洗浄液の代わりに 1 M 水酸化ナトリウム溶液を用いて同様に洗浄した. ポリアクリルアミドで内壁処理したキャピラリーを用いる分析では, 泳動液及びシース液として 40 mM ギ酸アンモニウム緩衝液 (pH 4.0)-メタノール混液 (1:1) を用いた. 未処理の溶融シリカキャピラリーを用いる分析では, 泳動液として 50 mM 炭酸アンモニウム緩衝液 (pH 8.5), シース液として 50 mM 炭酸アンモニウム緩衝液 (pH 8.5)-メタノール混液 (1:1) を用いた. キャピラリーは水, 泳動液の順で加圧法 (94 kPa) により 5 分間ずつ洗浄した後, 試料溶液を加圧法 (5 kPa) により 8 秒間注入した. 試料溶液はすべて水に溶解して調製した. キャピラリーの洗浄及び試料注入時は ISP インターフェースのニードルにエレクトロスプレー電圧を印加しなかった. CE 装置の入り口側のパイアルに -30 kV (試料成分が陽極側へ泳動するとき) 又は 25 kV (試料成分が陰極側へ泳動するとき) の電圧を印加し, 分析を開始した. 分析開始 1 分後, ISP インターフェースに -4.5 kV のエレクトロスプレー電圧を印加した. シースガスは空気を用い, 約 1.23 l/min の流量で流した. シース液は 5 $\mu\text{l}/\text{min}$ の流量で送液した. MS は選択的イオン検出 (SIM) により負イオンを検出した.

2.3.2 間接吸光検出法による SDS の分析 キャピラリーを 1 M 水酸化ナトリウム溶液, 水, 泳動液の順で加圧法 (94 kPa) により 5 分間ずつ洗浄した後, 試料溶液を加圧法 (5 kPa) により 4 秒間注入した. 泳動液は 50 mM 炭酸アンモニウム緩衝液 (pH 8.5) に 20 mM

μ -トルエンスルホン酸を溶解したものを用いた。印加電圧は 25 kV, キャピラリーの温度は 25°C, 検出は 225 nm で行った。

2・3・3 CE/MS による SBL-2N-27 の分析 全長 80 cm のポリアクリルアミドで内壁処理したキャピラリーを用いた。MS は SIM により分子陰イオン (SBL-2N-27 の陰イオン部) を検出した。その他はポリアクリルアミドで処理したキャピラリーを用いる SDS 分析のときと同様に操作した。

2・3・4 CE/MS による AM-301 の分析 全長 80 cm のポリアクリルアミドで内壁処理したキャピラリーを用いた。泳動液は 0.2% ギ酸水溶液-メタノール混液 (3:1) を用いた。シース液は 0.2% ギ酸水溶液-メタノール混液 (1:1) を用いた。CE 側の印加電圧は 30 kV, ISP インターフェースのエレクトロスプレー電圧は 5 kV とした。MS は全イオンモニター (測定質量範囲; m/z 180~700) で正イオン (プロトン化分子イオン) を検出した。その他はポリアクリルアミドで処理したキャピラリーを用いる SDS 分析のときと同様に操作した。

3 結果及び考察

3・1 SDS の分析条件検討

CE/MS による SDS の分析条件を検討した。MS 検出は分子陰イオン (SDS の陰イオン部, m/z 265.0) を測定した。負電荷を有する SDS は電気浸透流 (EOF) の大きさにより移動方向が反転する。EOF を抑制する方法では陽極側で SDS が検出され, EOF をある速度以上に発生させる方法では陰極側で検出される。CE/MS では泳動液に含まれる塩は揮発性であることが必要であり, 前者の方法ではギ酸アンモニウム緩衝液 (pH 4.0) を用い, キャピラリーにはポリアクリルアミドで内壁処理したものを使用した。しかし, 試料として 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の SDS 溶液を注入しても 30 分以内に SDS のピークを検出することはできなかった。CE による界面活性剤の分析ではキャピラリー内で試料がミセルを形成し, 良好な分離結果が得られないことがある。その場合, 泳動液もしくは試料溶液に有機溶媒を添加し, 試料のミセル形成を抑制して分析が行われる⁹⁾¹⁰⁾。しかし, 本法では試料溶液にメタノールを添加しても SDS のピークは得られなかった。又, 試料溶液を希釈 (0.25~1.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$) して注入しても同様に SDS のピークは得られなかった。一方, ギ酸アンモニウム緩衝液 (pH 4.0)-メタノール混液 (1:1) を泳動液として用いたところ, 約 20 分に SDS のピークが得られた。しかし, キャピラリー内壁への試料吸着のためピーク形状は悪く [Fig. 2(a)], 泳

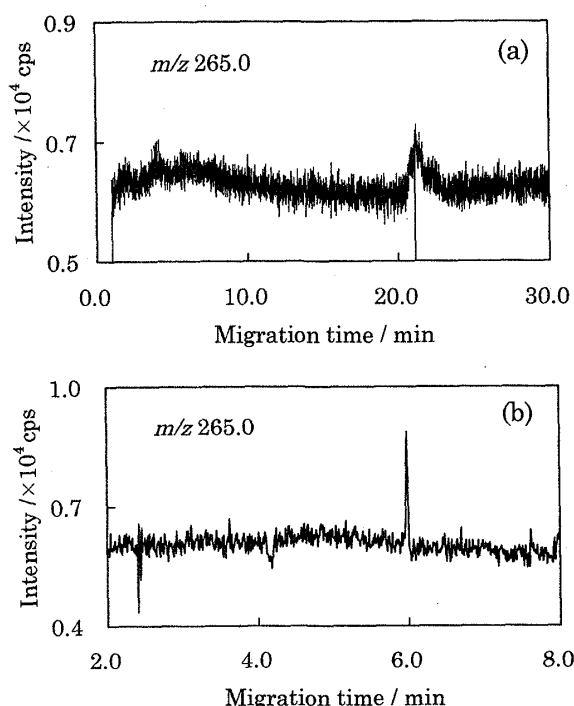


Fig. 2 Detection limit for the analysis of SDS by CE/MS

Sample: (a) 0.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ and (b) 0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ SDS in water (5 kPa $\times$ 8 s); Capillary: (a) polyacrylamide-coated and (b) untreated fused-silica capillary, 50 μm i.d. $\times$ 70 cm; Running solution: (a) a mixture of 40 mM ammonium formate buffer (pH 4.0) and methanol (1:1), (b) 50 mM ammonium carbonate buffer (pH 8.5); Sheath liquid: (a) same as the running solution, (b) a mixture of the running solution and methanol (1:1); Applied voltage: (a) CE - 30 kV, ISP interface - 4.5 kV, (b) CE 25 kV, ISP interface - 4.5 kV; MS detection: SIM at m/z 265.0

動液中のメタノール濃度を減少させると SDS の泳動時間は長くなり, ピーク形状も劣化した。以上の結果からポリアクリルアミドで内壁処理したキャピラリーを用いて SDS を分析するときは, SDS のミセル形成を抑制するためではなく, キャピラリーへの試料吸着を抑制するために泳動液にメタノールの添加を必要とすることが分かった。一方, 内面未処理の溶融シリカキャピラリーを用いる方法は, 泳動液として炭酸アンモニウム緩衝液 (pH 8.5) を用いた。この場合キャピラリー表面は負に帯電しており, SDS の吸着は認められない。従って Fig. 2(b) に示すように泳動液にメタノールを添加しなくても良好な分離結果が得られた。

Fig. 2(a) 及び (b) の検出限界 ($S/N=2$) はそれぞれ約 0.25 及び約 0.05 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であり, 未処理の溶融シリ

カキヤピラリーを用いるほうがキャピラリーへの試料吸着がなく検出感度は高い。しかし、この条件では中性及び正電荷を持つ妨害成分は SDS ピークよりも速く移動して検出され、試料検出の妨害となる可能性がある。中性試料（ニコチンアミド, m/z 121.0）を用いて測定したところ、4.2 分にピークが得られた。一方、Fig. 2(a) の EOF を抑制した条件では中性及び正電荷を持つ妨害成分は MS 装置へ導入されず、妨害ピークとして検出されることはない。このように分析試料のきょう雑物の有無によって分析条件を選ぶことが可能である。間接吸光検出法を用いて SDS を分析した結果を Fig. 3 に示す。試料に 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の SDS 溶液を用いて測定しても S/N は約 10 である。泳動液に添加する間接吸光試薬としては *p*-トルエンスルホン酸のほか、2,4ジヒドロ安息香酸及び安息香酸を検討したが、ほぼ同様の結果であった。分析条件を更に最適化することによりベースラインの安定性と検出感度の向上は多少期待できるが、CE/MS に比べると検出感度は著しく劣る。

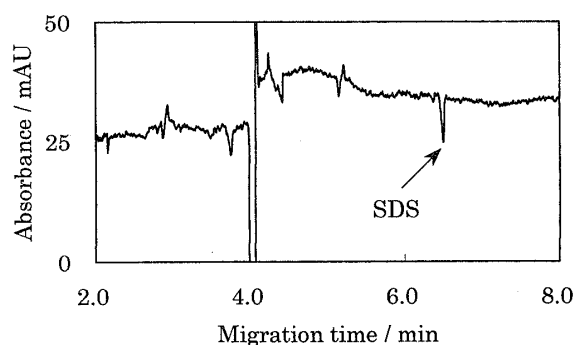


Fig. 3 Determination of SDS by CE using indirect UV detection

Sample: 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ SDS in water (5 kPa $\times$ 4 s); Capillary: 50 μm i.d. $\times$ 64 cm (effective length, 55.5 cm) untreated fused-silica capillary; Running solution: 20 mM *p*-toluenesulfonic acid in 50 mM ammonium carbonate buffer (pH 8.5); Applied voltage: 25 kV; Detection: 225 nm

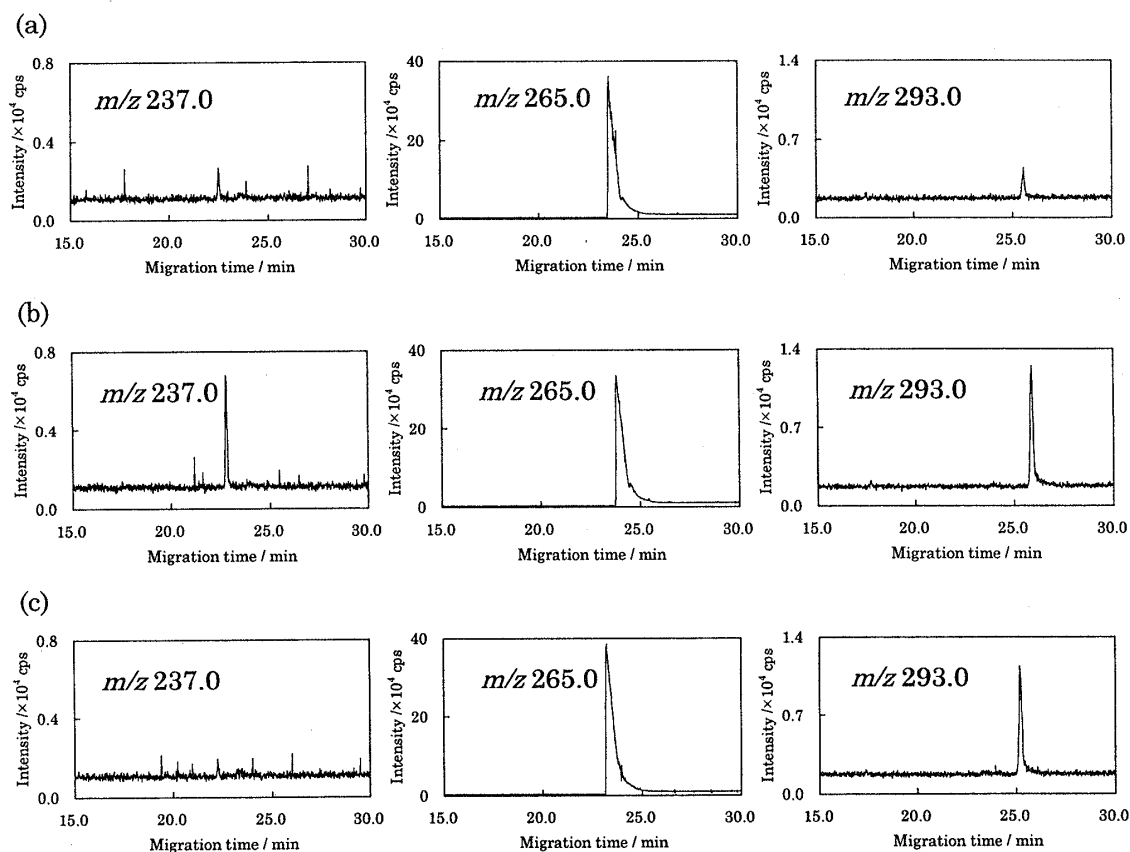


Fig. 4 Determination of impurities in commercial SDSs supplied by different manufactures

Sample: 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ SDS supplied by manufactures (a), (b), and (c) in water (5 kPa $\times$ 8 s); Capillary: 50 μm i.d. $\times$ 80 cm polyacrylamide-coated capillary; MS detection: m/z 237.0 (decyl sulfonate ion), 265.0 (dodecyl sulfonate ion), 293.0 (tetradecyl sulfonate ion). Other conditions are the same as in Fig. 2(a).

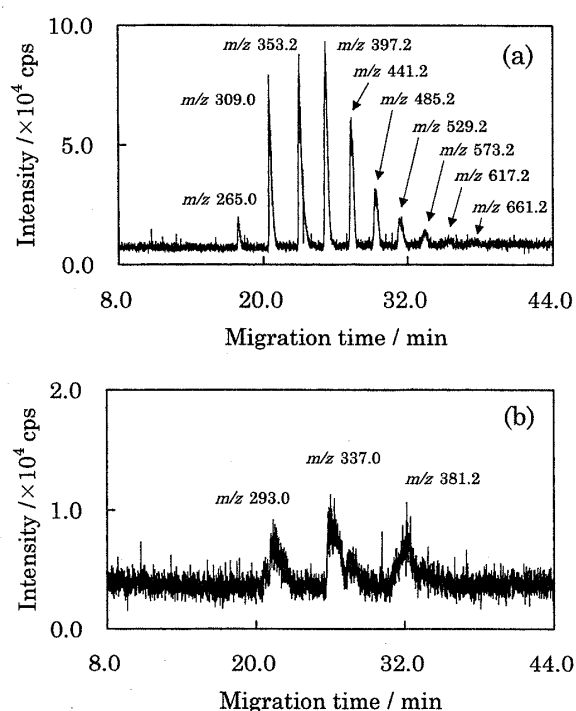


Fig. 5 Reconstructed ion electropherograms obtained by the analysis of SBL-2N-27 by CE/MS

Sample: 200 µg/ml SBL-2N-27 in water (5 kPa×8 s); MS detection: (a) m/z 265.0, 309.0, 353.2, 397.2, 441.2, 485.2, 529.2, 573.2, 617.2, 661.2; (b) m/z 293.0, 337.0, 381.2. The ion electropherograms were obtained by the sum of MS intensities of each relative molecular mass. Other conditions are the same as in Fig. 4.

3・2 SDS の純度試験

SDS にはアルキル鎖の異なる成分が不純物として含まれる。そこで、SDS の不純物測定に CE/MS を利用した。ポリアクリルアミドで内壁処理し、EOF を抑制した条件で分析した。その結果、硫酸デシルナトリウム (m/z 221.0) 及び硫酸テトラデシルナトリウム (m/z 309.0) が検出された (Fig. 4)。これらの不純物は微量であり、間接吸光検出法で検出することは困難である。3 種類の市販 SDS の不純物測定を行ったところ、製造会社による不純物含量の違いを検出することができた。

3・3 陰イオン界面活性剤の組成分析

SBL-2N-27 の構造は Fig. 1 に示したが、組成は単一ではなくアルキル鎖の異なる成分やポリオキシエチレン (POE) 鎖の数の異なる成分を含む混合物である。そこで、CE/MS により成分分析を試みた。Fig. 5(a) はアルキル鎖がドデシル基で POE 鎖の数が 0 から 9 までの

成分について再構築した電気泳動図である。Fig. 5(b) はアルキル鎖がテトラデシル基で一例として POE 鎖の数が 0 から 2 までの成分について再構築した電気泳動図である。なお、図には示していないが、SIM での検出限界に近いイオン強度ではあるが POE 鎖の数が 3 から 5 までの成分も検出できた。このように、CE/MS を用いると多成分の界面活性剤を高感度に分析できることが明らかとなった。

3・4 両性界面活性剤の組成分析

両性界面活性剤は酸性領域で正電荷を持ち、CE で分離検出できる。そこで泳動液として 0.2% ギ酸水溶液-メタノール混液 (3:1) を用いて分析した。試料は陰極側においてプロトン化分子イオンとして検出した。ドデシルジメチルアミノ酢酸ベタイン (AM-301) の分析結果を Fig. 6 に示す。アルキル鎖がオクチル基からテトラデシル基までの成分を検出できた。又、AM-301 は製造原料としてジメチルアルキルアミンを用いており、未反応の残留物を同時測定できた (Fig. 7)。このように CE/MS は界面活性剤の製造工程管理試験にも応用できることが明らかとなった。

本研究の一部は文部省科学研究費補助金 (No. 09304071) によって実施したものである。

(1997 年 10 月, 日本分析化学会第 46 年会
及び 1997 年 12 月, 第 17 回キャピラリー
電気泳動シンポジウムにおいて一部発表)

文 献

- 1) J. A. Olivares, N. T. Nguyen, C. R. Yonker, R. D. Smith: *Anal. Chem.*, **59**, 1230 (1987).
- 2) R. D. Smith, J. H. Wahl, D. R. Goodlett, S. A. Hofstadler: *Anal. Chem.*, **65**, 574A (1993).
- 3) J. Cai, J. Henion: *J. Chromatogr. A*, **703**, 667 (1995).
- 4) A. J. Tomlinson, L. M. Benson, K. L. Johnson, S. Naylor: *Electrophoresis*, **15**, 62 (1994).
- 5) M. W. F. Nielsen: *J. Chromatogr. A*, **712**, 269 (1995).
- 6) M. A. Hoitink, E. Hop, J. H. Beijnen, A. Bult, J. J. K. van den Bosch, W. J. M. Underberg: *J. Chromatogr. A*, **776**, 319 (1997).
- 7) Y. Tanaka, Y. Kishimoto, S. Terabe: *Anal. Sci.*, **14**, 383 (1998).
- 8) K. D. Altria, I. Gill, J. S. Howells, C. N. Luscombe, R. Z. Williams: *Chromatographia*, **40**, 527 (1995).
- 9) C. Lin, W. Chiou, W. Lin: *J. Chromatogr. A*, **723**, 189 (1996).
- 10) K. Heinig, C. Vogt, G. Werner: *Fresenius' J. Anal. Chem.*, **358**, 500 (1997).
- 11) L. K. Goebel, H. M. McNair, H. T. Rasmussen, B.

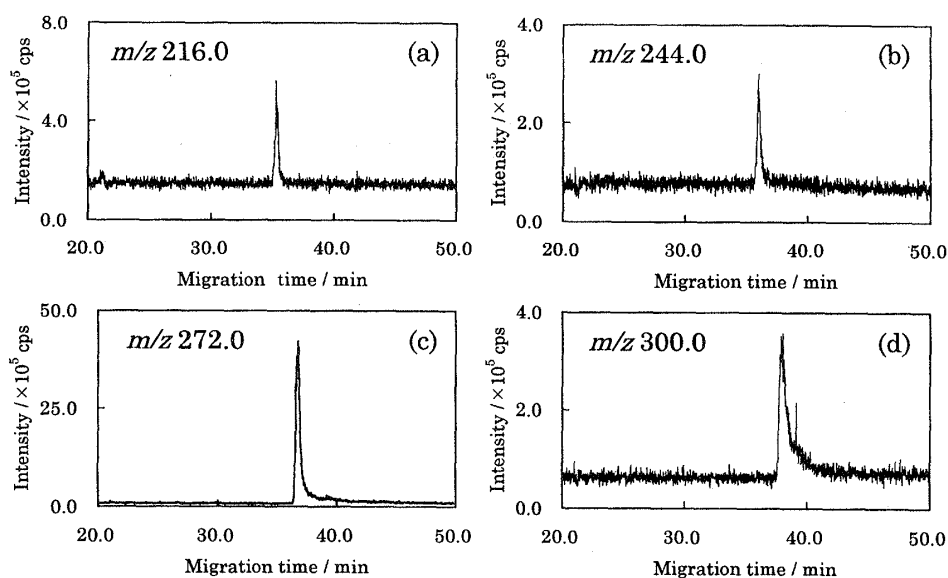


Fig. 6 Reconstructed ion electropherograms obtained by the analysis of AM-301 by CE/MS
 Sample: 200 $\mu\text{g/ml}$ AM-301 in water (5 kPa $\times$ 8 s); Running solution: a mixture of 0.2% formic acid in water and methanol (3 : 1); Sheath liquid: a mixture of 0.2% formic acid in water and methanol (1 : 1); Applied voltage: (a) CE 30 kV, ISP interface 5 kV; MS detection: scan range, m/z 180~700; (a) m/z 216, (b) m/z 244, (c) m/z 272, (d) m/z 300. Other conditions are the same as in Fig. 4.

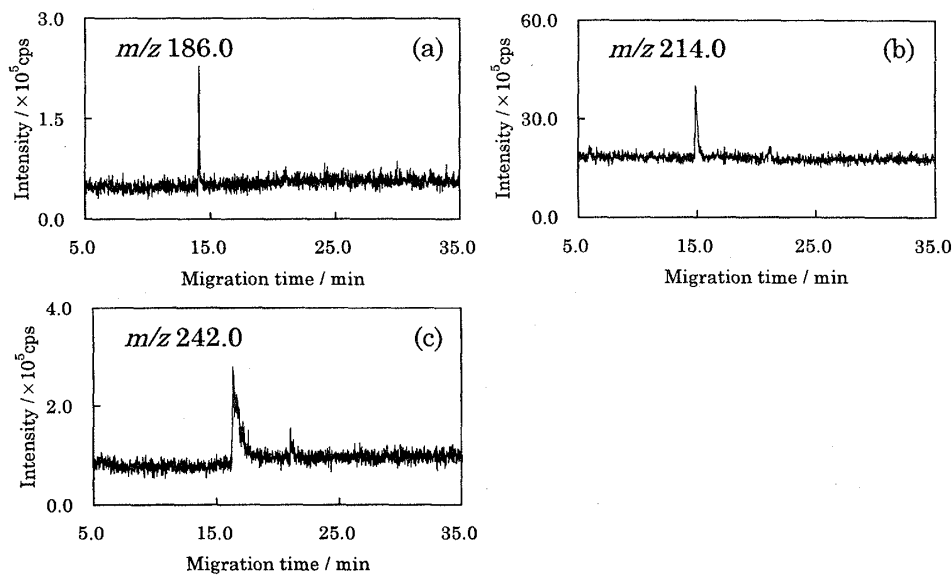


Fig. 7 Reconstructed ion electropherograms of AM-301 impurities obtained by the analysis of AM-301 by CE/MS
 MS detection: scan range, m/z 180~700; (a) m/z 186, (b) m/z 214, (c) m/z 242. Other conditions are the same as in Fig. 6.

- P. McPherson: *J. Microcol. Sep.*, **5**, 47 (1993).
12) J. M. Gibbons, S. H. Hoke: *J. High Resolut. Chromatogr.*, **17**, 665 (1994).
13) M. Nakatani, A. Shibukawa, T. Nakagawa: *Biol. Pharm. Bull.*, **16**, 1185 (1993).

要 旨

キャピラリー電気泳動/質量分析法 (CE/MS) を用いて界面活性剤の分析を行った。試料として硫酸ドデシルナトリウム (SDS) を用い、MS 検出法と間接吸光検出法の検出感度を比較した。未処理の溶融シリカキャピラリーを用いて CE/MS で分析したときの検出限界 ($S/N=2$) は約 $0.05 \mu\text{g/ml}$ であった。一方、間接吸光検出法による検出限界 ($S/N=2$) は約 $10 \mu\text{g/ml}$ であり、CE/MS は界面活性剤の高感度分析に利用できることが分かった。本法により市販の SDS の不純物測定を行ったところ、硫酸デシルナトリウムと硫酸テトラデシルナトリウムの混在が認められ、製造会社により不純物含量が異なることも確認できた。更に、CE/MS を硫酸ポリオキシエチレン(2)ドデシルエーテルナトリウム (SBL-2N-27) 及びドデシルジメチルアミノ酢酸ベタイン (AM-301) の分析に応用した。AM-301 の分析では未反応の原料であるアルキルジメチルアミンも同時検出でき、CE/MS は界面活性剤の組成分析及び製造工程管理などにも利用できることを示した。