

陰・陽イオン同時分析カラムTSKgel SuperIC -A/Cの開発

科学計測事業部 開発部 技術開発G
科学計測事業部 ゲル製造部 セパレーションセンター

小倉 豊
佐藤 真治
三苫 惠民

1. はじめに

イオンクロマトグラフィー（IC）は、1975年に Smallらにより発表されて以来、サプレッサーをはじめとする測定技術の向上および高性能な分離カラムの開発により今日まで急速に発展してきた。現在では、水質分析・大気分析などの環境化学、食品・医薬・化学・電気・電子・電力などの各種製造業、さらには生体試料分析に至る様々な分野で使用されている¹⁾。その結果、ICは汎用イオン分析法として広く認知され、国内では、JIS（日本工業規格）、水道法、上水試験法、衛生試験法等に公定分析法として採用されている²⁾。

通常のICでは、陰イオンは陰イオン交換カラムで、陽イオンは陽イオン交換カラムで分離される。1回の試料注入で陰・陽イオンを同時に分析する方法はこれまで検討されているがその例は少ない。その中で具体的に用いられている方法としては、陰・陽両イオン交換樹脂を混合した分離カラムを使用する方法^{3) 4)}、

陰イオン分析用カラムと陽イオン分析用カラムを直列に接続し測定する方法⁵⁻⁷⁾、EDTAのようなキレート剤含有溶離液により陽イオンを陰イオンに変換後分離する方法^{8) 9)}、陰イオン性多糖類を修飾した陰イオン交換カラムを使用する方法¹⁰⁾などが報告されている。

このような状況において、最近、田中らより弱酸型陽イオン交換カラムを使用した新しい同時分析法が報告され¹¹⁾⁻¹⁵⁾、注目されている。この方法では同一カラム、同一酸性溶離液にて、陰イオンはイオン排除分離モードにより、陽イオンはイオン交換分離モードにより分離が行われる。

当社ではこの弱酸型陽イオン交換カラムとして TSKgel OApak-A (7.8mmID x 30cm) を提案してきた¹⁶⁾。一方、当社では近年サプレッサー方式対応イオンクロマトグラフIC-2001を製品化した¹⁷⁾が、このIC-2001は一体型・省スペース設計となっているため TSKgel OApak-Aを使用することができないという問題点があった。今回紹介する TSKgel SuperIC-A/Cは TSKgel

OApakをダウンサイズ化しIC-2001に対応できること、ダウンサイズ化するとともに分離性能を損なうことなく分析時間を高速化することを目的として開発された。

2. 分析カラムの開発

2-1) ベースゲルの最適化

ダウンサイズ化したカラムに TSKgel OApak と同一のゲル基材を使用したのでは分離性能が低下してしまうため、分離性能を維持するためにはゲル基材の微粒子化が必要となった。しかしながら OApak に使用しているゲル基材では機械的強度の限界があり、微粒子化して使用するには適していなかった。そこで微粒子化が可能であり機械的強度を有するゲル基材の開発が必要となった。また、ICで使用される溶離液は水溶液であるため、充填剤内部まで充分試料を拡散させるには親水性の高いベースゲル基材が必要であった。

本分析カラムに使用するゲル基材については、親水化処理をしたポリスチレンジビニルベンゼンゲルおよびポリアクリレートゲルの検討を行った。架橋度・ポアサイズの検討の結果、各基材とも平均粒子径4~5 μm で6.0mmID x 15cmカラムに充填可能な機械的強度を有するベースゲルを得ることができた。

次にこれらのベースゲルをNaOH中でモノクロロ酢酸ナトリウムと反応させることによりカルボキシル基の導入を行った。標準イオンのクロマトグラムの測定によりその分離特性を評価したところ、ポリスチレンジビニルベンゼンゲルでは、1価陽イオン (Na⁺、NH₄⁺、K⁺) の分離が不十分であったため、ゲル基材はポリアクリレートゲルを採用することとした。なお、ベースゲルのポアサイズも各イオンの分離選択性に大きく寄与するが、OApakに準ずるものとした。

2-2) イオン交換容量の最適化

カルボキシル基導入量に関しては、陰イオン・陽イオンともその分離に大きく影響を与えるが、溶離条件との組合せによっても分離の調整が可能である。しか

しながら、溶離液の酸濃度を上げるとバックグラウンド伝導度（溶離液自体が有する電気伝導度）が上がってしまい、検出感度が低下することから溶離液濃度にも制限がある。本開発品のイオン交換容量は特に陽イオンの分離を考慮して最適化を行った結果、0.2eq/L-gelとした。開発品における標準分析条件での陰イオン3種、陽イオン5種の分析時間は約20minとなり、従来品（分析時間は約30min）と比較し約10min短縮することができた。

3. 分析カラムの基本特性

3-1) 分析カラムの諸物性

以上の検討の結果、開発されたTSKgel SuperIC-A/Cカラムの基本特性をTable 1に示した。

Table 1 Characteristics of TSKgel SuperIC-A/C

Analytical column	
Name(Parts No.)	: TSKgel SuperIC-A/C (19843)
Base gel material	: Polyacrylate
Particle size	: ca. 4 μm
Ion exchange capacity	: 0.2eq/L-gel
Functional group	: Carboxylic acid
Column size	: 6.0mmI.D.x15cm (SUS316)
Guard column	
Name(Parts No.)	: TSKguardcolumn SuperIC-A/C(19844)
Column size	: 4.6mmI.D.x2cm (SUS316)
Other characteristics are the same as analytical column.	

3-2) 標準イオンのクロマトグラム

このカラムをIC-2001にて測定する際の標準分析条件はTable 2に示したとおりであり、この標準条件にて測定したクロマトグラムをFig. 1に示した。

標準イオン8種の分析時間は約20minであり、理論段数は陰イオン（Cl⁻）で7,000段以上、陽イオン（Na⁺）で15,000段以上示しており、従来のOApakに対して、ダウンサイジングにおいても分離性能を損なうことなく高速分析が可能であることを確認した。

3-3) 各イオン種の溶出位置

この分析カラムでは陰イオン・陽イオンが同一溶離条件にて溶出するが、イオン種の電荷により分離モードが異なっているのは先の述べたとおりである。陽イオンは分析カラムではイオン交換モードにより分離されるため充分カラム内に保持された後、陰イオンの後に溶出する。陰イオンと陽イオンの間に溶出するピークはシステムピークとよばれ、溶離液中の試薬（酒石酸、スルホサリチル酸、18-crown-6エーテル、アセトニトリル）に由来するものである。

前記のクロマトグラムに示した標準イオン以外のイオン種についてはおよそ以下のような位置に溶出するので多成分を含む実試料の測定の際には参考にしていただきたい。

- ・無機陰イオンおよび酸性度の強い有機酸：システムピークより前
- ・有機酸、アミノ酸、有機溶媒、水：システムピークに重なる
- ・無機陽イオン、酸性度の低い有機酸、塩基性アミノ酸：システムピークの後

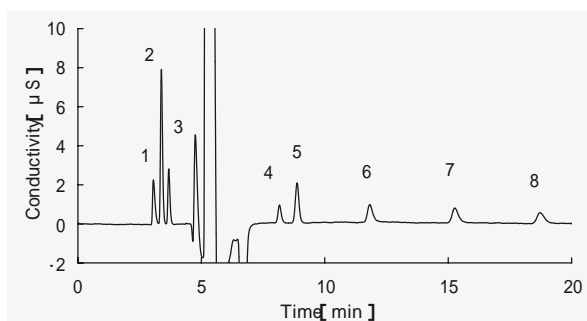


Fig. 1 Chromatogram of standard ions. Operating conditions as in Table 2
 Analytes : 1 = SO₄²⁻ (1.60); 2 = Cl⁻ (2.95); 3 = NO₃⁻ (2.07)
 ; 4 = Na⁺ (0.38); 5 = NH₄⁺ (0.90); 6 = K⁺ (1.30); 7 = Mg²⁺ (0.41)
 ; 8 = Ca²⁺ (0.67mg/L)

Table 2 Standard analytical conditions

Eluent	: 6.0mmol/L 18-crown-6 + 0.45mmol/L sulfosalicylic acid + 5.0mmol/L tartaric acid + 5% acetonitrile
Flow rate	: 0.6mL/min
Column temperature	: 40
Injection volume	: 30 μL
Detection	: Conductivity in IC-2001
IC system	: TOSOH Ion chromatograph IC-2001
Data processor	: TOSOH Workstation IC-WS

*The parts (IC-2001) and programs (IC-WS) of exclusive use were used for simultaneous analysis.

3 - 4) 検出感度

IC-2001を用いた標準分析条件でのS/N比を測定し、標準イオン8種の検出限界値を算出し、Table 3に示した。検出限界値はJIS K0124の方法に従いS/N=3にて算出した。同時分析を行うためサプレッサーを使用することはできないが、 $\mu\text{g/L}$ レベルの濃度の測定が可能である。

Table 3 The limits of detection (S/N=3)

Analyte	LOD[$\mu\text{g/L}$]
SO_4^{2-}	26
Cl^-	18
NO_3^-	38
Na^+	19
NH_4^+	19
K^+	72
Mg^{2+}	22
Ca^{2+}	66

3 - 5) 検量線評価

標準イオン8種に関する検量線をFig.2に示した。1次関数近似を行い実測値とのその相関係数を算出したところ各イオン種とも0.999以上であり、 $\mu\text{g/L}$ から mg/L の広い濃度範囲において良好な直線性を示した。

3 - 6) 溶離条件の影響

標準溶離液は酒石酸、スルホサリチル酸、18-crown-6エーテル、アセトニトリルからなるものを使用している。標準イオンの分離に与える影響としてスルホサリチル酸およびクラウンエーテルの濃度に関する検討を行った。

・スルホサリチル酸の影響 : Fig.3参照。

陽イオン分離についてはイオン交換モードであるため酸濃度の増加に従い、各イオンとも保持時間は早くなる。しかしながら陰イオンについては、酸濃度が増

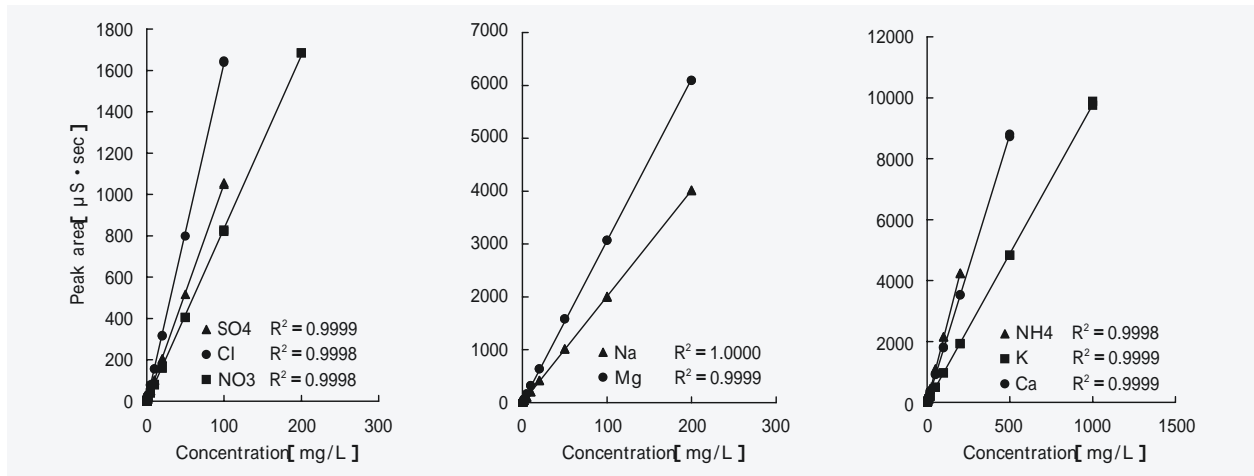


Fig. 2 Calibration curves of analytes. Operating conditions as in Table 2

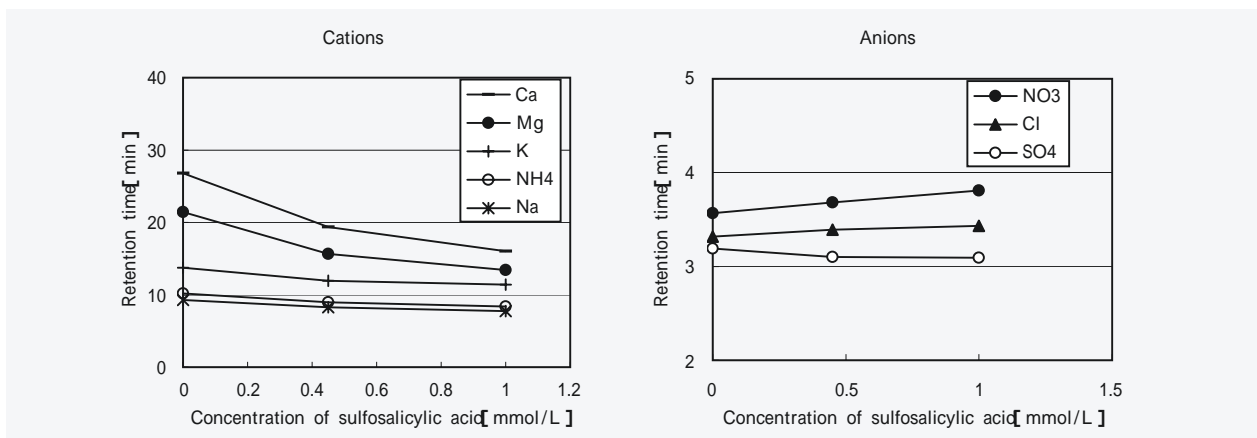


Fig. 3 Effect of sulfosalicylic acid in the eluent. Eluent : x mmol/L sulfosalicylic acid + 6.0mmol/L 18-crown-6 + 5mmol/L Tartaric acid + 5% Acetonitrile Other operating conditions as in Table 2.

加すると排除効果が低減し、ゲル内部まで浸透しやすくなることから各イオンの分離能は向上する。

酒石酸についても同様な効果がみられるが、添加濃度に対する陽イオン・陰イオン分離調整への寄与の程度が異なることから両酸の混合系を標準条件とした。

・クラウンエーテル濃度の影響：Fig.4参照。

18-crown-6を使用した場合は、主にKイオンへのキレート効果が大きく現れることからその濃度の増加に伴いK⁺の保持時間が顕著に遅れる。またこのクラウンエーテルはNH₄⁺の分離向上にもわずかながら寄与している。本開発品では、1価陽イオン(Na⁺、NH₄⁺、K⁺)の分離不良が問題となっていたがクラウンエーテル添加溶離液を採用することによりその分離を大きく改善することができた。

4. 各種イオン分析への適用

4-1) 酸性雨モニタリングへの適用

環境分析において雨水成分のモニタリングが広く実施され、酸性雨の調査が行われているが通常pHによる管理が一般的である¹⁸⁾。この分析カラムを雨水分析に適用した場合、水素イオン、炭酸イオン以外の全イオン種を1回の測定にて測定することができるため、酸性雨成分の解析、原因調査に極めて有効な分析手法となる。

実際の測定例として雨水を測定したクロマトグラムおよびイオンバランスの算出結果をFig.5、Table 4に示した。

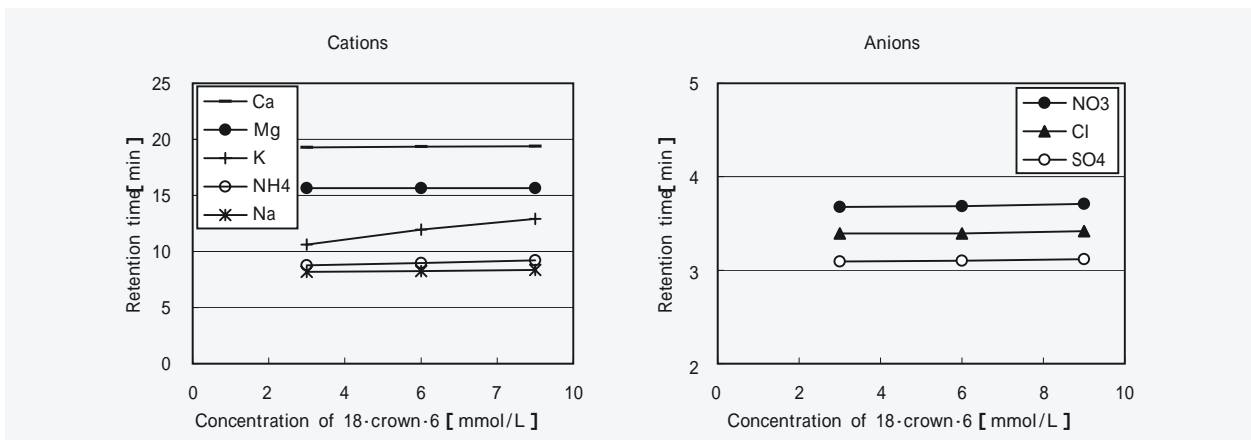


Fig. 4 Effect of 18-crown-6 in the eluent. Eluent: x mmol/L 18-crown-6 + 0.45mmol/L Sulfosalicylic acid + 5mmol/L Tartaric acid + 5% Acetonitrile Other operating conditions as in Table 2.

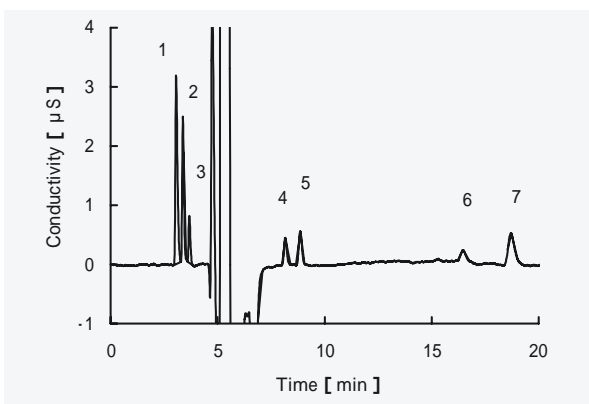


Fig. 5 Chromatogram of rain water sample
Analytes: 1 = SO₄²⁻; 2 = Cl⁻; 3 = NO₃⁻; 4 = Na⁺; 5 = NH₄⁺; 6 = unknown; 7 = Ca²⁺
Operating conditions as in Table 2.

Table 4 Analysis of ion balance in rain water

Analyte	Conc. [μ eq/L]
SO ₄ ²⁻	44.6
Cl ⁻	24.5
NO ₃ ⁻	9.19
Na ⁺	9.13
NH ₄ ⁺	22.2
Ca ²⁺	32.4
H ⁺	(pH 4.85)
<hr/>	
Total anions	78.3
Total cations	77.9
<hr/>	
Ion balance	1.01

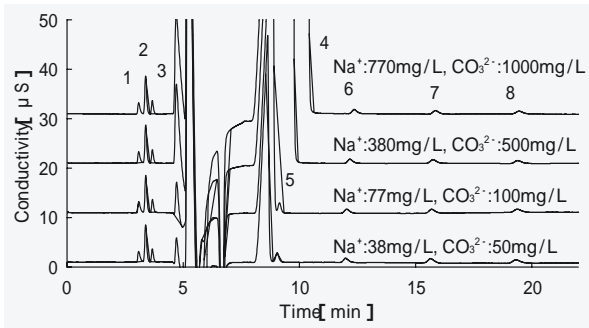


Fig. 6 Effect of sodium carbonate in samples
 Analytes : 1 = SO_4^{2-} (1.60) 2 = Cl^- (2.95)
 3 = NO_3^- (2.07) 4 = Na^+ ; 5 = NH_4^+ (0.90)
 6 = K^+ (1.30) ; 7 = Mg^{2+} (0.41) 8 = Ca^{2+} (0.67mg/L)
 Operating conditions as in Table 2.

4 - 2) 炭酸を多く含む試料への適用

炭酸飲料、温泉水など炭酸を多量に含む試料のイオン分析を行う場合、特に陰イオン分析においては共存する炭酸イオンの溶出による妨害を受けることから、直接注入による測定は困難であり、大量の希釈等の前処理が必要である。

この分析カラムの特性として弱酸である炭酸イオンはシステムピークと同一位置に溶出することから、共存する炭酸イオンの影響を受けることなく陰イオン類、陽イオン類の測定が可能である。

Fig.6は各濃度の炭酸ナトリウムが共存した際の標準イオン分析への影響を調べたものであるが炭酸イオン

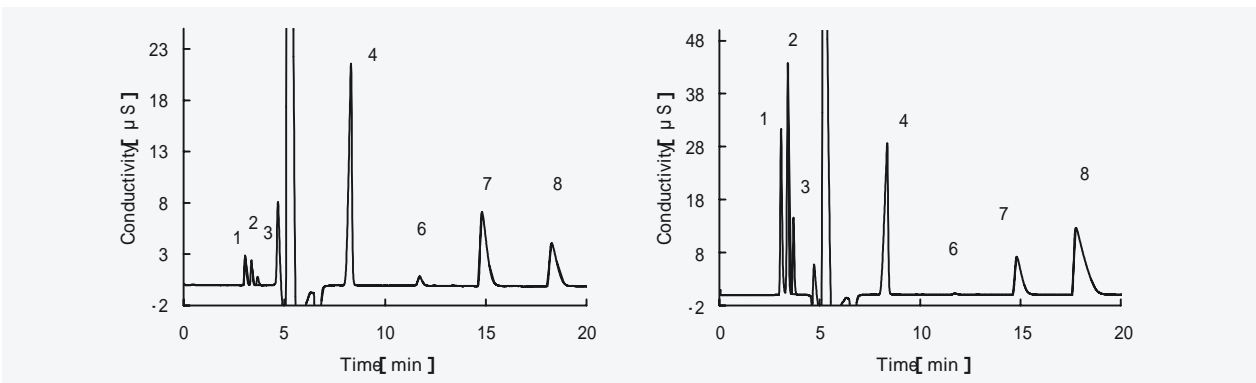


Fig. 7 Chromatograms of mineral water samples (commercial products for drink)
 Left trace : company A, Right trace : company B
 Operating conditions as in Table 2.

Analysis results of mineral water (mg/L)

	SO4	Cl	NO3	Na	K	Mg	Ca
Company A	1.9	0.84	0.67	11.1	1.3	5.1	5.9
(labeled)	-	-	-	11.3	1.8	5.4	6.4
Company B	19.3	14.6	9.2	16.7	0.32	5.1	25.4
(labeled)	-	-	-	16.9	0.40	5.2	25.1

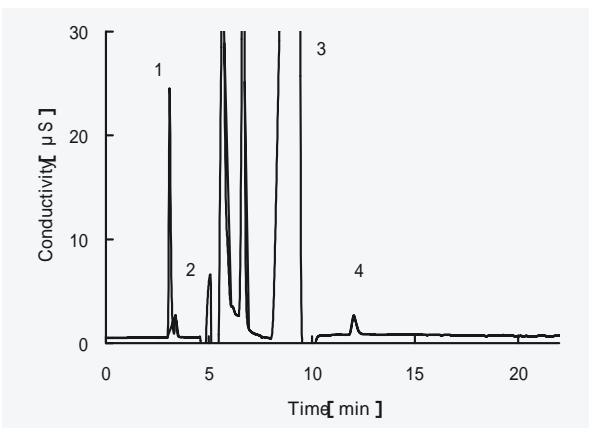


Fig. 8 Chromatogram of bath agent solution sample
 Analytes : 1 = SO_4^{2-} (10.5) 2 = Cl^- (0.75) 3 = Na^+ ;
 4 = K^+ (2.65mg/L)
 Sample preparation : 0.1% solution was treated with cartridge column (TOYOPAK ODS)
 Operating conditions as in Table 2.

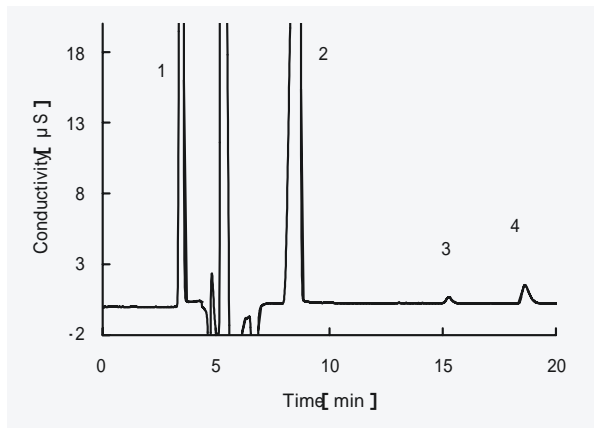


Fig. 9 Chromatogram of diluted (50-fold) fluid infusion sample
 Analytes : 1 = Cl^- (74.6) 2 = Na^+ (60.9)
 3 = Mg^{2+} (0.24) 4 = Ca^{2+} (1.58mg/L)
 Operating conditions as in Table 2.

ン1000mg/L程度の濃度まで陰イオン分析に影響を与えないが、共存するNa⁺が高濃度になると近接するNH₄⁺の測定の妨害となるので注意が必要である。

4 - 3) 各種試料への適用

ミネラルウォーター、入浴剤、輸液の測定例を示した。(Fig.7~9参照。)ミネラルウォーターの陽イオンについては商品ラベルに表示された濃度と良好な一致が得られた。

5 . おわりに

陰・陽イオンを同時に測定可能な分析カラム TSKgel SuperIC-A/Cは当社独自の特性を有するイオン分析カラムである。IC-2001との組合せにより以前にもまして簡便なイオン分析が可能となった。今後各種試料への適用例を増やしていくことでより広い分野への適用が期待される。

最後に本製品は独立行政法人 産業技術総合研究所 中部センターとの共同出願による特許2055752号に基づき製品化されたことを付け加えさせていただきます。

6 . 参考文献

- 1) J. Weiss, *Ion Chromatography*, 2nd ed., 1 (1995)
- 2) 野々村誠ら、*ぶんせき*, 11 (1998)
- 3) D.J. Pietrzyk et al, *J. Chromatogr.*, 546, 101 (1991)
- 4) D.M. Brown et al. *J. Chromatogr.*, 466, 291 (1989)
- 5) H. Small et al, *Anal. Chem.* 54, 462 (1982)
- 6) J.G.Tarter, *J. Chromatogr.*, 367, 191 (1986)
- 7) K. J. B. A. Karim et al, *J. Chromatogr. A* , 995, 153 (2003)
- 8) S.Matsushita, *J. Chromatogr.*, 312, 327 (1984)
- 9) Legras C A A, *Analyst*, 118, 1035 (1993)
- 10) T. Takeuchi et al, *LCGC* , 18, 418 (2000)
- 11) K. Tanaka et al, *J. Chromatogr. A*, 850, 311 (1999)
- 12) K. Tanaka et al, *J. Chromatogr. A*, 671, 239 (1994)
- 13) K. Tanaka et al, *J. Chromatogr. A*, 884, 167 (2000)
- 14) K. Tanaka et al, *J. Chromatogr. A*, 920, 239 (2001)
- 15) M. Mori et al, *J. Chromatogr. A*, 997, 219 (2003)
- 16) 特許2055752号
- 17) S. Sato et al, *J. Chromatogr. A*, 956, 53 (2002)
- 18) 環境省地球環境局環境保存対策課、*湿性沈着モニタリング手引書 (第2版)* 1 (2001)