

## 陰イオン分析カラムTSKgel SuperIC-AZの開発

科学計測事業部 ゲル製造部 セパレーションセンター 多田 芳光  
津田 輝彦  
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らによって発表された<sup>1)</sup>。このICは、サブレッサー型であり、高電気伝導度の電解質溶離液を低電気伝導度に変換することが特徴であった。その後、Gjerdeらによって、サブレッサーを使用しないノンサブレッサー型のICが発表された<sup>2)</sup>。これらICは、イオン交換クロマトグラフィーをベースとしたもので、1950年から1960年に多くの応用例がみられるが、脚光をあびるようになったのは、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）の技術を取り入れた結果である。その後、ICは多くの陰イオン、陽イオンを高い精度と感度で迅速に同時測定できることから、飛躍的に発展してきた。現在では、大気や水などの環境分析をはじめ、医薬、食品、工業化学などの様々な分野で用いられている重要な分離分析法である。国内においては、各種公定法として数多く導入され、JIS（日本工業規格）、衛生試験法、水質汚濁防止法、上水試験方法などに採用されている。

当社においても、1981年にHPLC開発の技術力を結集し、高性能イオン交換ゲルを充填したミニカラム、高性能ポンプ、高感度電気伝導度検出器などを搭載したノンサブレッサー型ICシステムHLC-601を上市した<sup>3)4)</sup>。その後、約20年の歳月を経て、2000年には、デガッサ、送液ポンプ、カラムオープン、ゲル交換型サブレッサー、電気伝導度検出器、オートサンプラー内蔵一体型のサブレッサー方式のICシステムIC-2001を製品化した<sup>5)</sup>。

IC-2001専用の分析カラムとしては、陰イオン分析用にTSKgel SuperIC-Anion<sup>6)</sup>、TSKgel SuperIC-AP、陽イオン分析用にTSKgel SuperIC-Cationを上市している。また、当社独自のユニークな分析カラムとして、TSKgel SuperIC-A/C<sup>7)</sup>を販売している。このカラムは、同一の酸性溶離液にて、陰イオンはイオン排除分離、陽イオンはイオン交換分離により、一回の測定で、陰・陽イオンを同時に分離分析するものである。

今回我々が開発したカラムTSKgel SuperIC-AZは、

陰イオン分析用である。本報告では、新規陰イオン分析カラムTSKgel SuperIC-AZの基本特性、応用測定例について紹介する。

### 2. 分析カラムの開発

TSKgel SuperIC-AZのベースゲルには、親水性多孔質ポリマー微粒子を用いている。ベースゲルの粒子径については、従来品のTSKgel SuperIC-APは6  $\mu\text{m}$ 、TSKgel SuperIC-Anionは5  $\mu\text{m}$ である。本カラム開発にあたっては、高分離能を達成するために設計段階から、従来品より小さな微粒子を想定していた。この微粒子を4.6mm I.D.  $\times$  15cmカラムに充填するためには、機械的強度が重要であった。また、従来品では、疎水性イオンの分離調節や洗浄に使用される有機溶媒の濃度範囲が制限されており、この点も向上させる必要があった。本開発品においては、これらの観点から、ベースゲルのスクリーニングを行い、その結果、イオン分析に最適なポアサイズを有し、且つ膨潤収縮性が小さく、機械的強度に優れた4  $\mu\text{m}$ の当社製のベースゲルを選択した。

次に、イオン交換基としては、第4級アンモニウム基とし、交換容量の最適化を行った。ICで使用するカラムのイオン交換容量と溶離液には密接な関係がある。すなわち、高交換容量カラムには、分析時間を調節するために高濃度の溶離液が必要となる。サブレッサー型ICで陰イオンを分析する場合の溶離液としては、炭酸ナトリウム、炭酸水素ナトリウム、四ホウ酸ナトリウム、水酸化ナトリウムなどが用いられている。これらの溶離液は、サブレッサーや分析カラムの特性、分析の目的及び対象成分などの違いにより使い分けられている。その中で、特に炭酸系溶離液（炭酸水素ナトリウムと炭酸ナトリウムの混合溶液）は、その混合比率や濃度を変化させることにより、分析対象成分の溶出位置を容易にコントロールすることが可能であるため、広く用いられている。本開発品においても、炭酸系溶離液を主として用いることを前提に、その組成や濃度と分析時間を考慮に入れ、交換容量の最適化を行った。特に、本開発品はゲル交換方式のサブレッサ

一型ICシステムIC-2001専用使用する製品である。したがって、IC-2001の特長であるゲル交換方式を最大限に活用するためにも、交換容量の最適化は重要であった。

### 3. 分析カラムの基本特性

#### 〔1〕

ベースゲル及び交換容量の最適化を行い開発した陰イオン分析カラムTSKgel SuperIC-AZの基本特性をTable 1に示した。

Table 1 Characteristics of TSKgel SuperIC-AZ

Analytical column	
Name(Parts No.)	: TSKgel SuperIC-AZ(21444)
Base gel material	: Hydrophilic porous polymer
Particle size	: 4 μm
Ion exchange capacity	: 30meq/L-gel
Functional group	: Quarternary ammonium
Column size	: 4.6mm I.D. × 15cm (PEEK)
Guard column	
Name(Parts No.)	: TSKguardcolumn SuperIC-AZ(21445)
Column size	: 4.6mm I.D. × 1cm (PEEK)
Other Characteristics are the same as analytical column.	

#### 〔2〕標準陰イオンのクロマトグラム

本開発品の標準測定条件とその条件下で測定したクロマトグラムをTable 2とFig.1に示した。標準陰イオン7種がバランス良く、約15分で分離された。このクロマトグラム上のSO<sub>4</sub><sup>2-</sup>の理論段数は10,000段以上であり、設計目標であった高分離能が達成されたことが確認できた。

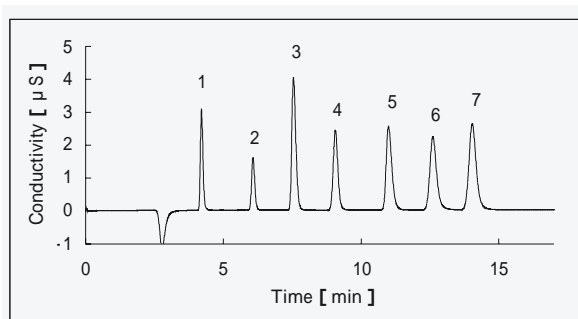


Fig. 1 Typical chromatogram of standard inorganic anions.

Chromatographic conditions were the same as those in Table 2.  
Peaks 1: F<sup>-</sup> (1), 2: Cl<sup>-</sup> (1), 3: NO<sub>2</sub><sup>-</sup> (5), 4: Br<sup>-</sup> (5), 5: NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (5),  
6: PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> (10), 7: SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> (5mg/L)

Table 2 Standard analytical conditions

Eluent	: 1.9mmol/L NaHCO <sub>3</sub> + 3.2mmol/L Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>
Flow rate	: 0.8mL/min
Column temperature	: 40
Detection	: Conductivity in IC-2001
IC system	: TOSOH Ion chromatograph IC-2001
Data processor	: TOSOH Workstation IC-WS

#### 〔3〕検出感度

IC-2001を用いた標準測定条件下でS/N比を測定し、標準陰イオン7種の検出限界値を算出した。その値をTable 3に示した。検出限界値はJIS K0124の方法によりS/N = 3で算出した。これらの値を従来品のTSKgel SuperIC-APと比較すると、各イオンで1.5倍以上の値を示した。Fig.2には、数十μg/L程度の微量陰イオン7種を測定したクロマトグラムを示したが、良好に分離検出された。以上の結果から、本開発品が高感度であり、微量成分も良好に分析できることが確認できた。

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

Analyte	LOD [ μg/L ]
F <sup>-</sup>	0.9
Cl <sup>-</sup>	1.8
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	3.3
Br <sup>-</sup>	5.9
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	5.6
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	14
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	5.8

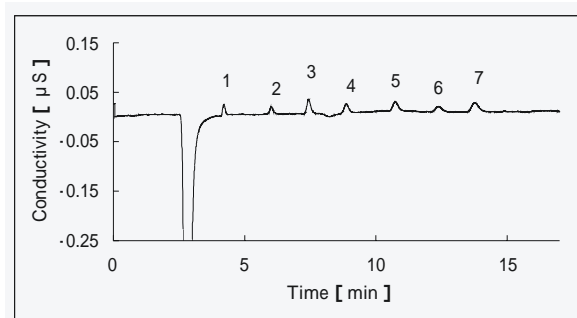


Fig. 2 Chromatogram of trace inorganic anions.

Chromatographic conditions were the same as those in Table 2.  
Peaks 1: F<sup>-</sup> (8), 2: Cl<sup>-</sup> (8), 3: NO<sub>2</sub><sup>-</sup> (40), 4: Br<sup>-</sup> (40), 5: NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (40),  
6: PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> (80), 7: SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> (40 μg/L)

#### 〔4〕検量線評価

標準測定条件下で測定した標準陰イオン7種の検量線をFig.3に示した。2次関数近似を行い、相関係数を

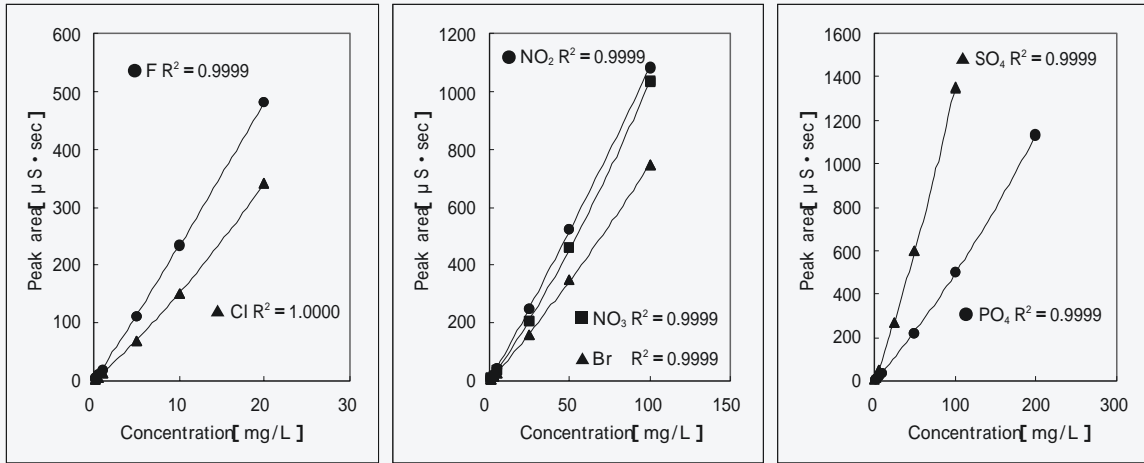


Fig. 3 Calibration curves of standard inorganic anions.

Chromatographic conditions were the same as those in Table 2.

算出した。その結果、各陰イオンの値は0.9999以上であり、良好な直線性を示した。

〔5〕有機溶媒交換性

本開発品の有機溶媒交換性を確認するために、以下の試験を行った。炭酸系溶離液で理論段数を測定したカラムについて、純水に置換後、100%有機溶媒へ置換し送液、再び純水に置換後、炭酸系溶離液で理論段

数を測定した。有機溶媒としては、アセトニトリル、メタノール、エタノールを用い、流速0.5～0.8mL/min、室温、送液時間12時間とし、連続して試験を行った。その結果をFig.4に示したが、理論段数の変化は少なく、有機溶媒に対して、使用範囲が広いことが確認できた。この特性は、有機溶媒添加溶離液を利用した各種アプリケーションへの対応、カラム汚染時の有機溶媒洗浄に極めて有効である。

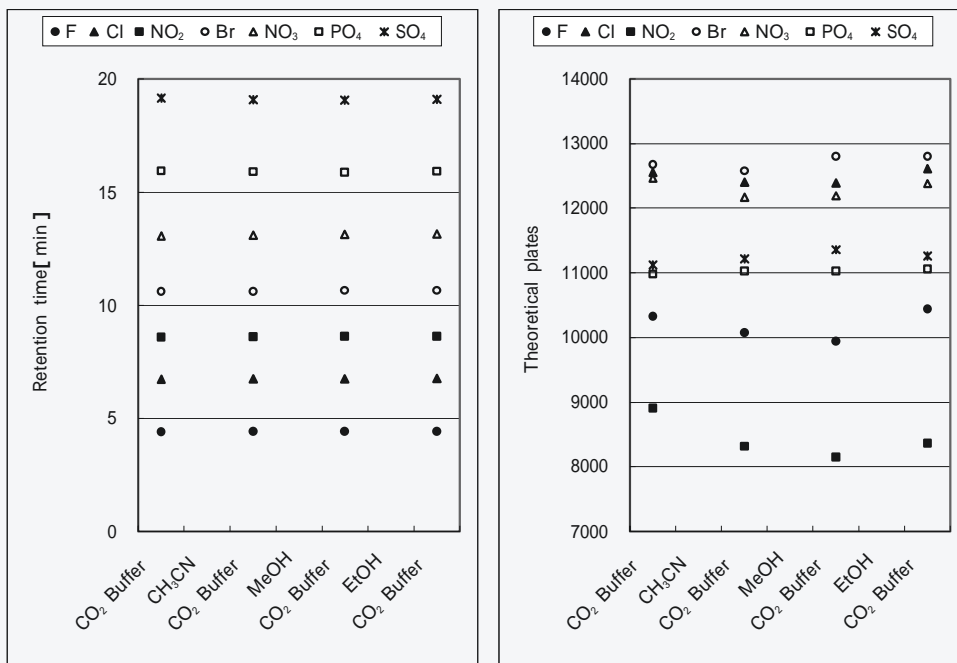


Fig. 4 Eluent compatibility (Carbonate buffer vs. Organic solvent)

Substitution order :  
 Eluent : 6.3 mmol/L NaHCO<sub>3</sub> + 1.7 mmol/L Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>  
 Other chromatographic conditions were the same as those in Table 2.

## 〔6〕有機酸・酸化ハロゲン酸のクロマトグラム

標準陰イオン7種に、有機酸として酢酸、ギ酸、酸化ハロゲン酸として $\text{ClO}_2^-$ 、 $\text{BrO}_3^-$ 、 $\text{ClO}_3^-$ を加えた12種陰イオンのクロマトグラムをFig.5に示した。測定条件は標準測定条件である。標準陰イオン7種と同時に、有機酸及び酸化ハロゲン酸も良好に分離できることが確認できた。

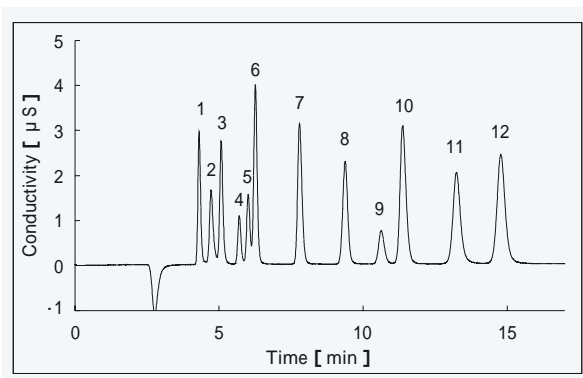


Fig. 5 Typical chromatogram of standard inorganic and organic anions.

Chromatographic conditions were the same as those in Table 2.

Peaks 1:  $\text{F}^-$  (1), 2: Acetic acid (10), 3: Formic acid (3), 4:  $\text{ClO}_2^-$  (3), 5:  $\text{BrO}_3^-$  (4), 6:  $\text{Cl}^-$  (1), 7:  $\text{NO}_2^-$  (5), 8:  $\text{Br}^-$  (5), 9:  $\text{ClO}_3^-$  (2), 10:  $\text{NO}_3^-$  (5), 11:  $\text{PO}_4^{3-}$  (10), 12:  $\text{SO}_4^{2-}$  (5mg/L)

## 〔7〕疎水性イオンのクロマトグラム

標準測定条件の溶離液に23%のアセトニトリルを添加し、流速0.6mL/minで測定した疎水性イオンのクロマトグラムをFig.6に示した。疎水性イオンとして $\text{I}^-$ 、

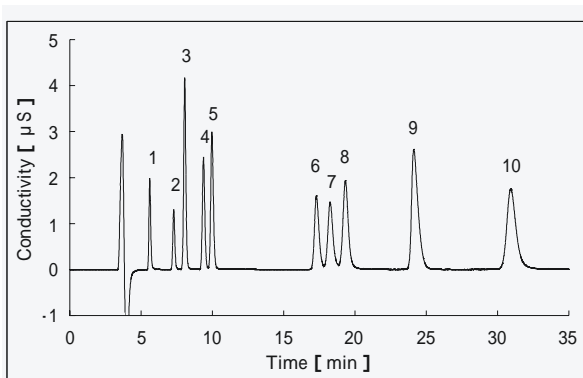


Fig. 6 Typical chromatogram of standard inorganic anions (containing polarizable anions)

Eluent: 1.9mmol/L  $\text{NaHCO}_3$  + 3.2mmol/L  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  + 23%  $\text{CH}_3\text{CN}$   
Other chromatographic conditions were the same as those in Table 2.

Peaks 1:  $\text{F}^-$  (1), 2:  $\text{Cl}^-$  (1), 3:  $\text{NO}_2^-$  (5), 4:  $\text{Br}^-$  (5), 5:  $\text{NO}_3^-$  (5), 6:  $\text{I}^-$  (10), 7:  $\text{PO}_4^{3-}$  (10), 8:  $\text{SO}_4^{2-}$  (5), 9:  $\text{SCN}^-$  (10), 10:  $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$  (10mg/L)

$\text{SCN}^-$ 、 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ を加えた10種陰イオンの測定結果であるが、疎水性イオンも7種陰イオンと同時に良好な分離が得られた。

## 4. 応用測定例

## 〔1〕水道水の分析

標準測定条件下で測定した水道水のクロマトグラムをFig.7に示した。従来から、IC用陰イオン分析カラムの性能の一尺度として、 $\text{F}^-$ とウォーターディップの分離が問われてきた。本クロマトグラムにおいては、 $\text{F}^-$ とウォーターディップの間に負のピークが出現した。このピークについては、分取後にプラズマ発光分析(ICP-AES)測定を実施した結果、シリカが検出され、 $\text{HSiO}_3^-$ と推定された。本開発品においては、 $\text{F}^-$ とウォーターディップの分離はもちろんのこと、 $\text{HSiO}_3^-$ とも良好に分離することが可能であった。Table 4には、連続15回測定による水道水の分析結果を示したが、低濃度の $\text{F}^-$ をはじめ、各陰イオンの測定再現性は良好であった。

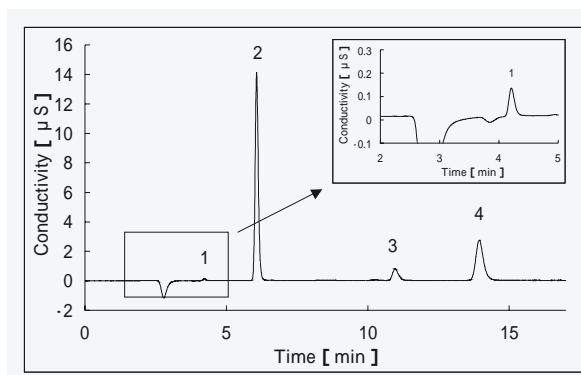


Fig. 7 Chromatogram of tap water.

Chromatographic conditions were the same as those in Table 2.

Peaks 1:  $\text{F}^-$  (0.044), 2:  $\text{Cl}^-$  (7.58), 3:  $\text{NO}_3^-$  (1.66), 4:  $\text{SO}_4^{2-}$  (5.78mg/L)

Table 4 Reproducibility for determination of tap water

Tap water (n = 15)	$\text{F}^-$	$\text{Cl}^-$	$\text{NO}_3^-$	$\text{SO}_4^{2-}$
Concentration (mg/L)	0.044	7.58	1.66	5.78
Retention time RSD(%)	0.13	0.14	0.20	0.09
Peak area RSD(%)	1.53	0.16	0.19	0.17

〔2〕高濃度 $\text{Cl}^-$ 中の微量 $\text{NO}_2^-$ -Nの分離

Fig.8に標準陰イオンとして、 $\text{F}^-$  (0.1mg/L)、 $\text{Cl}^-$  (30mg/L)、 $\text{NO}_2^-$ -N (0.005mg/L)の混合標準陰イオンを標準測定条件下で測定したクロマトグラムを示したが、低濃度の $\text{NO}_2^-$ -Nは $\text{Cl}^-$ と完全に分離した。ま

た、このときの $\text{NO}_2^-$ -Nのピーク面積再現性は相対標準偏差で4.7% (N=6)であった。さらに、 $\text{NO}_2^-$ -N (0.0025~0.025mg/L)を同様に添加した試料を測定し、検量線を作成した結果、相関係数は0.998であった。以上の結果から、水道水に関する暫定水質管理指針値である $\text{NO}_2^-$ -N (0.05mg/L)の測定も充分可能であることが確認できた。

### 〔3〕雨水のクロマトグラム

標準測定条件下で測定した雨水のクロマトグラムをFig.9に示した。低濃度の $\text{F}^-$ 、酢酸、ギ酸も良好に分離検出されており、本開発品の高分離能、高感度が確認できた。

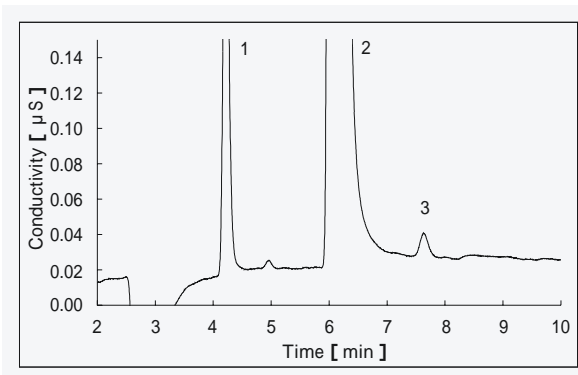


Fig. 8 Chromatogram of trace  $\text{NO}_2^-$ -N in high concentration of  $\text{Cl}^-$ .

Chromatographic conditions were the same as those in Table 2.

Peaks 1 :  $\text{F}^-$  (0.1), 2 :  $\text{Cl}^-$  (30), 3 :  $\text{NO}_2^-$ -N (0.005mg/L)

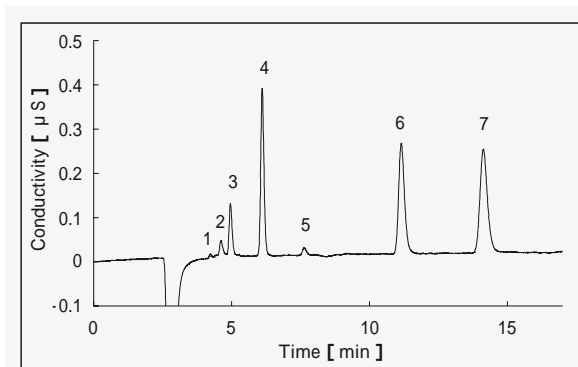


Fig. 9 Chromatogram of rain water.

Chromatographic conditions were the same as those in Table 2.

Peaks 1 :  $\text{F}^-$  (0.002), 2 : Acetic acid (0.16), 3 : Formic acid (0.12), 4 :  $\text{Cl}^-$  (0.25), 5 :  $\text{NO}_2^-$  (0.02), 6 :  $\text{NO}_3^-$  (0.51), 7 :  $\text{SO}_4^{2-}$  (0.46mg/L)

## 5. おわりに

ゲル交換方式のサプレッサー型ICシステムIC-2001専用として、新規に開発した陰イオン分析カラムTSKgel SuperIC-AZは、優れた特長を有している。その特長は、標準陰イオン7種の溶出バランスが良好、高分離能で高感度、有機酸・酸化ハロゲン酸の分離が良好、疎水性イオンの測定に対応可能、有機溶媒の使用範囲が広い、水道水分析にも最適などである。今後、各種実際試料への応用測定例を増やすことで、幅広い分野への適用が期待される。

## 6. 参考文献

- 1) H. Small, T. S. Stevens, W. C. Bauman, *Anal. Chem.*, 47, 1801 (1975).
- 2) D. T. Gjerde, J. S. Fritz, G. Schmuckler, *J. Chromatogr.*, 186, 509 (1979).
- 3) 馬場信行、宝迫敬一、松下駿、多田芳光、東洋曹達研究報告、27(1)、21(1983).
- 4) 松下駿、多田芳光、小宮克夫、小野秋夫、分析化学、32、562(1983).
- 5) 宮永明義、杉本忠則、東ソー研究・技術報告、45、45(2001).
- 6) S. Sato, Y. Ogura, A. Miyanaga, T. Sugimoto, K. Tanaka, H. Moriyama, *J. Chromatogr. A.*, 956, 53(2002).
- 7) 小倉豊、佐藤真治、三苦恵民、東ソー研究・技術報告、47、65(2003).