

# ●高性能陰イオン分析カラム TSKgel SuperIC-Anion HR の特性とその応用

バイオサイエンス事業部 開発部 セパレーショングループ

佐藤 真治  
多田 芳光  
酒匂 幸茂  
中谷 茂

## 1. はじめに

イオンクロマトグラフィー (IC) は、環境分析等の各種公定法に採用されている溶液試料中のイオン成分分析法であり、当社においてもハイスループット分析を特長とする高速イオンクロマトグラフィーシステム IC-2010 を販売している。今回、本システムに使用する分析カラムの製品拡充を目的に、分離性能に優れた陰イオン分析カラム TSKgel SuperIC-Anion HR を開発した。その主な仕様と基本性能および応用例について報告する。

## 2. 設計コンセプト

本製品の開発にあたり、下記の特性に重点をおいた。

- ①従来の高速分離用カラムに対し、より高い分離性能を有するカラムであること
- ②ギ酸イオン、酢酸イオンなどの有機酸イオン、臭素酸イオン、亜塩素酸イオン、塩素酸イオンなどのハ

- ロゲンオキソ酸イオンの分離に優れ、その他の標準的な陰イオン類と合わせて分離、分析できること
- ③公定法に規定された分析方法に対応していること

## 3. カラムの仕様及び特長

以下に先述のコンセプトに基づいて開発したカラム設計のポイントについて記載する。

### [1] カラムの仕様

カラムの仕様を表 1 に示す。

表 1 カラムの仕様

Part No.	0022894
Column size	4.6mm I.D.×15cm (PEEK*)
Material	Hydrophilic polymer
Particle size	3.5 μm
Functional group	Quaternary ammonium
Capacity	ca. 60meq/L
Counter ion	Carbonate ion
Shipping solvent	3.8 mmol/L NaHCO <sub>3</sub>

\* Polyetheretherketone

### [Conditions]

Column : TSKgel SuperIC-Anion HR  
(4.6mm I.D. × 15cm)  
Guardcolumn : TSKgel guardcolumn SuperIC-A HS  
(4.6mm I.D. × 1cm)  
Eluent : 2.2 mmol/L NaHCO<sub>3</sub> + 2.7 mmol/L Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>  
Flow rate : 1.0 mL/min  
Suppressor gel : TSKgel suppress IC-A  
Detection : Suppressed conductivity  
Temperature : 40°C  
Injection volume : 30 μL  
Sample : Standard ion solution  
Instrument : TOSOH IC-2010  
Peaks : 1. F<sup>-</sup> (1mg/L)  
2. CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub><sup>-</sup> (10)  
3. HCO<sub>2</sub><sup>-</sup> (3)  
4. ClO<sub>2</sub><sup>-</sup> (3)  
5. BrO<sub>3</sub><sup>-</sup> (4)  
6. Cl<sup>-</sup> (1)  
7. NO<sub>2</sub><sup>-</sup> (5)  
8. Br<sup>-</sup> (5)  
9. ClO<sub>3</sub><sup>-</sup> (2)  
10. NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (5)  
11. HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup> (10)  
12. SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> (5)  
13. (CO<sub>2</sub>)<sub>2</sub><sup>2-</sup> (5)

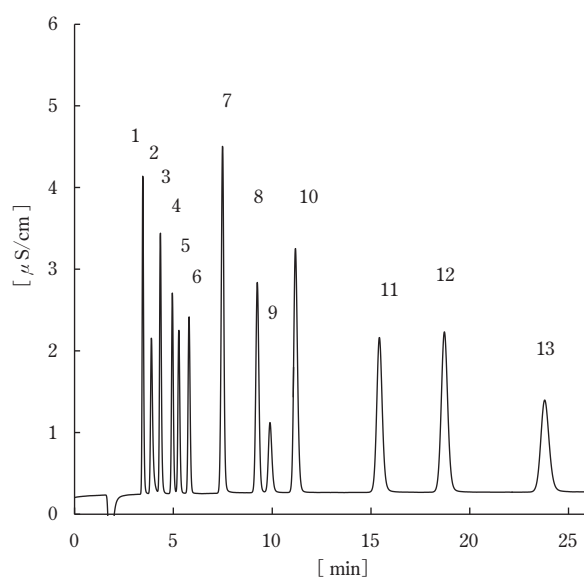


図 1 標準陰イオン13種の測定例

## [2] 標準試料の分離例

本分析カラム使用し、標準測定条件（サプレッサー法電気伝導度検出）により測定した標準陰イオン13種の測定例を示す。

## [3] 分離の特長

炭酸系溶離液を使用することで、酢酸、ギ酸、ハロゲンオキソ酸イオンを含む標準的な陰イオン12種（図1の硫酸イオンまで）を約20minで分析することが可能である。特に臭素酸イオン/塩化物イオン、臭化物イオン/塩素酸イオンの分離が優れており、国内外の水道水の規制項目であるこれらハロゲンオキソ酸イオンの分析に有効な分離特性を有している。

通常、陰イオン分析において、炭酸イオンに由来したシステムピークが妨害ピークとして現れるが、本カラムの標準測定条件の場合、塩化物イオンと亜硝酸イオンの間に溶出する。40℃での分離であれば、ほぼその中間位置に溶出するので、高濃度の炭酸イオンを含む試料でなければ、分析対象の陰イオンの分析への妨害を最小限に抑えることが可能である。また、本カラムは従来のICカラムに比べ、イオン交換容量を高く設定しているため、イオン濃度の高い試料の分離にも適している。

## 4. 分離に関する基本特性

### [1] 測定流速、測定温度の影響

図2には各種陰イオンの理論段高さ（HETP）への測定流速の影響を示す。イオン種により極小値を示す流速が若干異なるが、高い分離性能を得るには、0.8mL

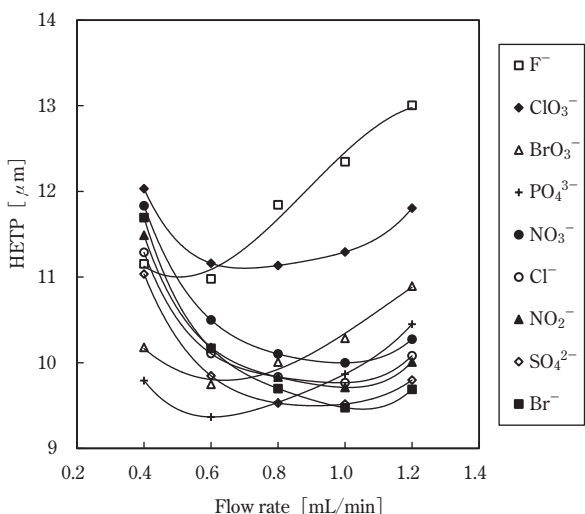


図2 測定流速の影響（理論段高さ）

/min 付近の流速での測定が適している。使用可能な流速の上限は、1.2mL/min であるが、この流速においても、数 mg/L レベルの濃度であれば、標準陰イオン12種は完全分離（ $R_s = 1.5$  以上）され、分析時間の短縮化（硫酸イオンまで約18min）を図ることが可能である。

図3にはカラム温度と保持時間の関係を示す。このカラムの使用可能な温度範囲は25～40℃である。一般的な陰イオン分析カラムと同様に温度が低くなると1価陰イオンの溶出が遅れ、多価陰イオンの溶出が早くなるので、温度を下げると硝酸イオンとリン酸イオンの分離能が低下する。また、炭酸イオンのシステムピークは温度を下げると塩化物イオンに近づき、分析の妨害となりやすいので、測定温度設定の際には注意が必要である。

### [2] 試料注入量の影響

図4には、試料注入量の分離への影響を示す。フッ化物イオンの前の負ピークは試料中の水に由来したウォーターディップ、ピーク3と4の間の負ピークは、試料中の溶存炭酸に由来するシステムピークである。

各イオンの負荷量（絶対量）をほぼ一定にし、注入量を30、100、500 μLと変化した場合、注入量が多くなると最初に溶出するウォーターディップおよびシステムピークの影響が大きくなるので、フッ化物イオンなどの溶出の早いイオン種の定量性が低下する。従って、試料注入量を低く抑えることで、試料マトリッ

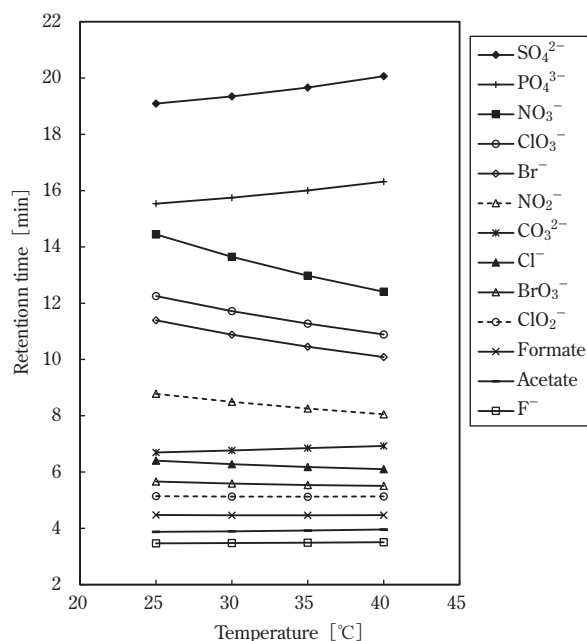
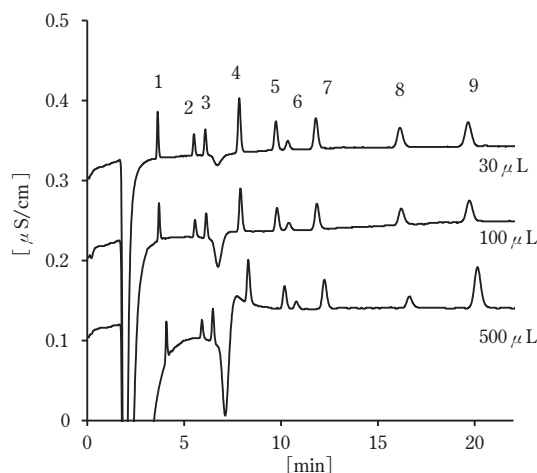


図3 測定温度の影響（保持時間）



Peak No.	Ions	Concentration [ $\mu\text{g/L}$ ]		
		30 $\mu\text{L}$	100 $\mu\text{L}$	500 $\mu\text{L}$
1	F <sup>-</sup>	20	5	1
2	BrO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	80	20	4
3	Cl <sup>-</sup>	20	5	1
4	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	100	25	5
5	Br <sup>-</sup>	100	25	5
6	ClO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	40	10	2
7	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	100	25	5
8	HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	200	50	10
9	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	100	25	5

Chromatographic conditions except for injection volume as in Fig.1.

図4 試料注入量の影響

クスの影響が少なく、定量性の良いクロマトグラムが得られる。

[3] 定量性 (検量線, 検出限界, 定量限界)

図1のサプレッサー法電気伝導度検出条件における、検出限界値、定量限界値及び各イオンのピーク面積に基づく検量線の回帰分析結果を示す。

検量線については、各イオンとも1000倍の濃度範囲において良好な直線関係が得られることを確認した(表2)。表3には、検出ノイズ及び各イオンのピーク高さに基づく検量線より算出した検出限界値(LOD)及び定量限界値(LOQ)を示す。標準的な注入量は30  $\mu\text{L}$ であるが、500  $\mu\text{L}$ まで増加させることにより、検出限界値・定量限界値を向上させ、 $\mu\text{g/L}$ 濃度以下のイオン成分の検出が可能である。

5. 臭素酸イオンの定量性について

ハロゲンオキシ酸である臭素酸イオンは水道水などの殺菌剤に含まれていたり、オゾン処理等の殺菌過程

に副生したりするものであり、その強い毒性のため、国内外において、厳しい基準値を設けて規制されている。イオンクロマトグラフ法においても $\mu\text{g/L}$ レベルの分析精度が求められており、本カラムを使用した臭素酸イオンの分析例を以下に示す。

[1] 微量濃度での測定再現性, 定量性

標準臭素酸イオン5  $\mu\text{g/L}$ , 40  $\mu\text{g/L}$ , 80  $\mu\text{g/L}$ の測定再現性(ピーク面積, 500  $\mu\text{L}$ 注入, n=6)を表4に示す。中国国家標準(GB/T 5750.10-2006, 生活飲用水標準検査方法)では、電気伝導度検出法における検出下限値が5  $\mu\text{g/L}$ と規定されている(日本国内はポストカラム反応による吸光光度検出法にて、検出下限値が1  $\mu\text{g/L}$ に規定されている)。電気伝導度検出法における5  $\mu\text{g/L}$ 測定時のクロマトグラムを図5に示すが、5  $\mu\text{g/L}$ の微量濃度においてもCV(%)は10%以下であり、良好な測定再現性が得られた。

表2 各陰イオンの検量線の評価結果

Ions	Range [mg/L]	Correlation coefficient
F <sup>-</sup>	0.2-200	0.9994
BrO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	1.0-1000	0.9998
Cl <sup>-</sup>	0.2-200	0.9997
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	1.0-1000	1.0000
Br <sup>-</sup>	1.0-1000	0.9996
ClO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	1.0-1000	0.9997
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	1.0-1000	0.9994
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	1.0-1000	0.9991
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	1.0-1000	0.9997

表3 検出限界値および定量限界値

Ions	30 $\mu\text{L}$		500 $\mu\text{L}$	
	LOD *S/N=3	LOQ S/N=10	LOD S/N=3	LOQ S/N=10
F <sup>-</sup>	0.91	3.02	0.06	0.20
BrO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	7.76	25.85	0.50	1.65
Cl <sup>-</sup>	2.08	6.92	0.13	0.44
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	3.83	12.76	0.27	0.91
Br <sup>-</sup>	7.61	25.37	0.54	1.79
ClO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	9.56	31.85	0.65	2.15
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	7.31	24.37	0.51	1.70
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	19.24	64.13	1.32	4.38
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	9.03	30.09	0.6	1.99

\*S/N : signal to noise ratio

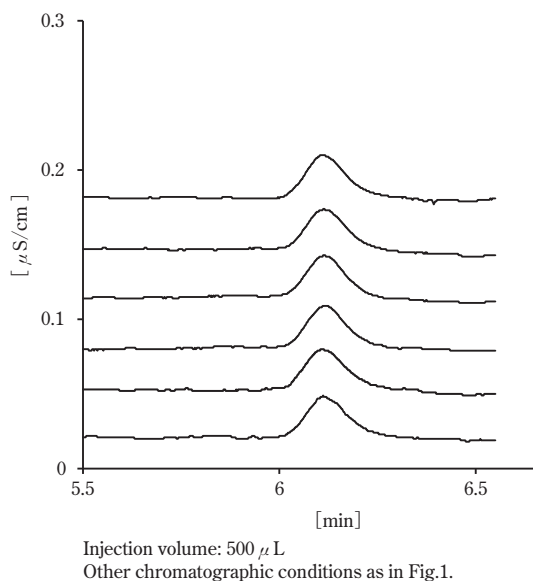


図5 臭素酸イオンの測定再現性 (5 µg/Lのクロマトグラム)

表4 臭素酸イオンの測定再現性

Injection No.	Concentration [µg/L]		
	5	40	80
1	0.209	1.674	3.338
2	0.211	1.676	3.357
3	0.206	1.691	3.371
4	0.208	1.697	3.354
5	0.210	1.687	3.368
6	0.217	1.675	3.356
Average	0.210	1.683	3.357
$\sigma$	0.004	0.010	0.012
CV (%)	1.8	0.6	0.3

## [2] 実試料への添加回収率の測定

実試料として、水道水、市販ミネラルウォーターを用い、これに臭素酸イオン (5 µg/L, 40 µg/L, 80 µg/L) をそれぞれ添加した際の添加回収実験を行った。その結果を表5に示し、添加時のクロマトグラムを図6, 図7に示す。

実試料では、mg/Lレベルの濃度で共存する塩化物イオンに隣接して、臭素酸イオンが溶出するため、高い定量精度を得るためには、塩化物イオンとの高い分離性能が求められる。クロマトグラムからわかるように、本カラムでは、各実試料における臭素酸イオンと塩化物イオンの分離は良好であり、添加回収率も97%以上の良好な測定結果が得られた。

表5 臭素酸イオンの添加回収率

	Amount added [µg/L]		
	5	40	80
Tap water			
run-1	99.7	98.0	98.7
run-2	100.7	97.1	98.8
run-3	100.2	98.0	99.0
Average	100.2	97.7	98.9
Mineral water			
run-1	101.5	99.1	97.4
run-2	100.0	98.3	96.9
run-3	101.0	99.7	96.7
Average	100.8	99.0	97.0

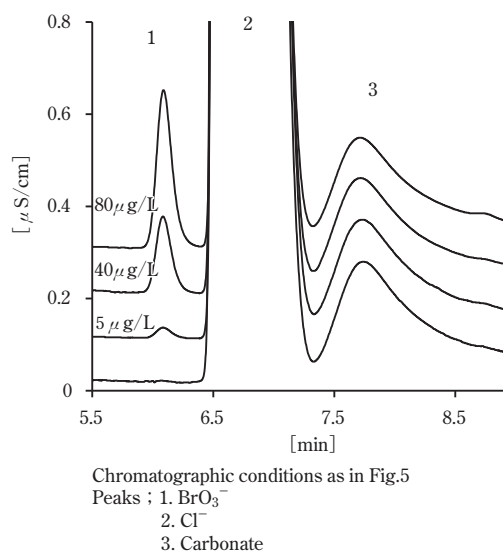


図6 臭素酸イオン添加水道水のクロマトグラム

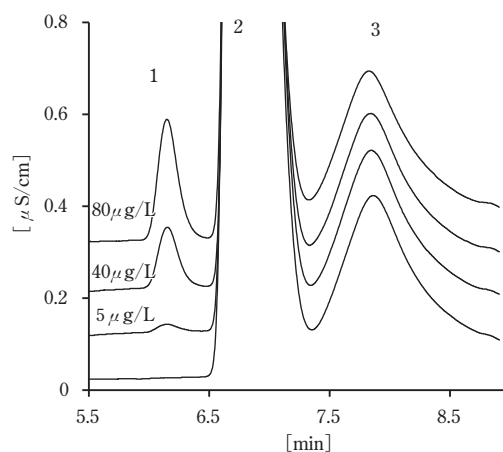


図7 臭素酸イオン添加ミネラルウォーターのクロマトグラム

## 6. 一般試料分析例

本カラムを用いた環境試料分析への適用例を以下に示す。

図8には、水道水の分析例を示した。標準測定条件において、フッ化物、塩化物、塩素酸、硝酸、硫酸イオンを良好に分離・定量することが可能であった。図9・図10では、海水の分析例を示した。高いイオン交換容量を有する本カラムにより、高濃度に含まれる塩化物、硫酸イオンと比較的濃度の低いその他の陰イオンは希釈倍率を適切に変更するだけで、それぞれ良好な分離にて分析が可能であった。図11・図12では、湧水の分析例を示した。この場合も標準測定条件(図11)により、各イオンの分析が可能であるが、試料中に比較的高い濃度で含まれる炭酸イオンの溶出に

より、亜硝酸イオン(ピーク No.4)の定量性に影響を与える(図11下段クロマトグラム)。このような場合、溶離液組成を変更することで、炭酸イオンの溶出を選択的に遅らせ、定量精度を向上させることが可能である(図12)。

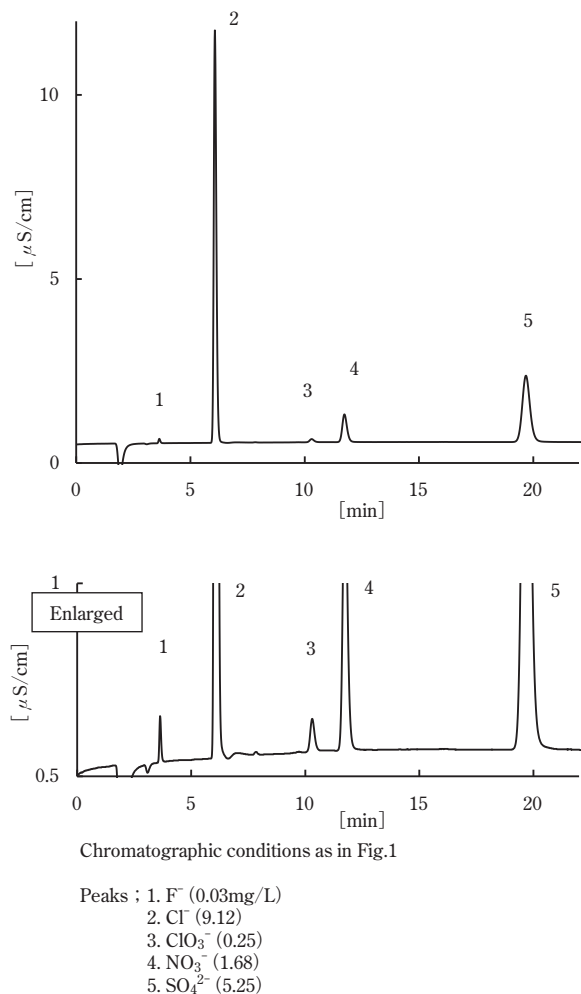


図8 水道水の分析例

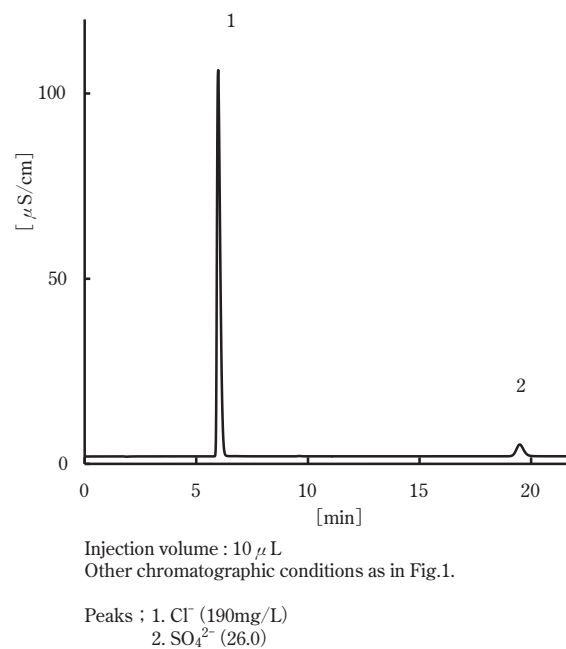


図9 海水の分析例 (100倍稀釈)

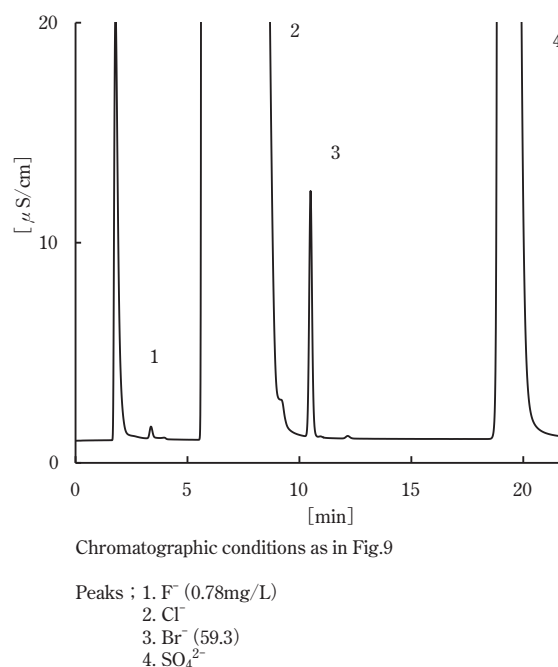
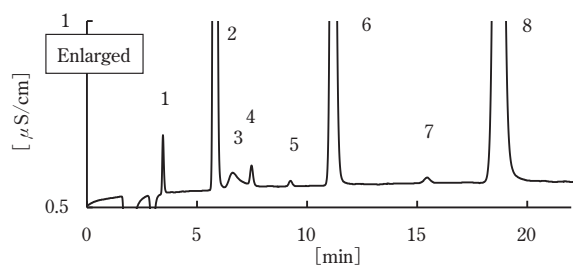
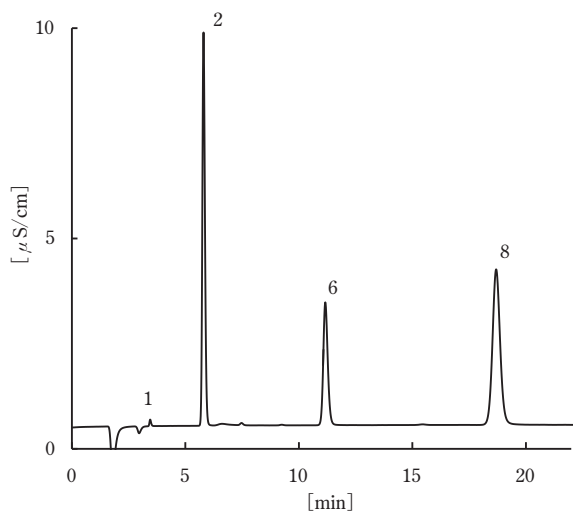


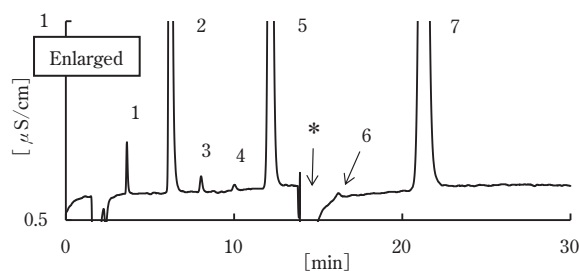
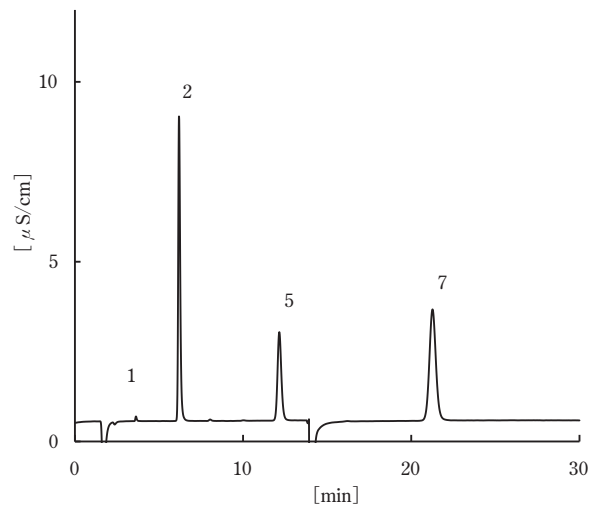
図10 海水の分析例 (原液)



Chromatographic conditions as in Fig.1.

Peaks : 1. F<sup>-</sup> (0.04mg/L)  
 2. Cl<sup>-</sup> (4.72)  
 3. Carbonate  
 4. NO<sub>2</sub><sup>-</sup> (0.06)  
 5. Br<sup>-</sup> (0.03)  
 6. NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (4.93)  
 7. HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup> (0.08)  
 8. SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> (9.45)

図11 湧水の分析例-1



Eluent : 10.0 mmol/L NaHCO<sub>3</sub>+ 1.5 mmol/L Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>

Other chromatographic conditions as in Fig.1.

\*Suppressor valve switching

Peaks : 1. F<sup>-</sup> (0.04mg/L)  
 2. Cl<sup>-</sup> (4.72)  
 3. NO<sub>2</sub><sup>-</sup> (0.06)  
 4. Br<sup>-</sup> (0.03)  
 5. NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (4.93)  
 6. HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup> (0.08)  
 7. SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> (9.45)

図12 湧水の分析例-2

## 7. まとめ

今回、サプレッサー方式イオンクロマトグラフィーシステム IC-2010 に対応した高分離能陰イオン分析カラム TSKgel SuperIC-Anion HR を開発した。本カラムは従来カラムに比べ、高い分離性能を有し、特に環境水分析において求められるハロゲンオキソ酸類の分析に有効であり、臭素酸イオン分析では  $\mu\text{g/L}$  レベルの微量分析にも適用できることが確認できた。また、本カラムは従来カラムに比べ高いイオン交換容量を有していることから海水のような高塩濃度試料においても良好な分離に基づくイオン分析が可能であった。

本分析カラムは各種実試料のイオン分析に適用できることが想定され、幅広いユーザー層への当社イオンクロマトグラフィーシステムのさらなる浸透が期待される。