

イオンクロマトグラフの開発とその応用

馬 場 信 行
宝 迫 敬 一
松 下 駿
多 田 芳 光

Development of Ion Chromatograph and Its Applications

Nobuyuki BABA
Keiichi HOSAKO
Susumu MATSUSHITA
Yoshimitsu TADA

Ion Chromatography is a relatively new technique which is sensitive and simple analytical method for inorganic and organic ions with a low capacity ion exchange column and conductivity detector.

The HLC-601 is equipped with a high performance column, a high sensitivity detector and data processing unit.

Through the suppressor column or tube is not employed, sensitivity is made very high by means of the new pump system, column oven and specially developed conductivity detector.

In the present paper, we describe the details of this system and its application to the analysis of some ions.

1. はじめに

有機化合物を対象とした高速液体クロマトグラフ(HPLC)の進歩は著しいものがあるが、無機イオンの分離分析は高感度で汎用性のある検出系が確立されておらず装置化が遅れている。分析イオン種別に検出器を考えてみると、アルカリ金属イオン、アルカリ土類金属イオン、遷移金属イオンについては、原子吸光分析計が汎用分析機器として定着し微量分析に役立っている。

一方、陰イオン分析では、いわゆる滴定、比色及び比濁など手分析が主流であり操作に熟練を必要とするため精度が悪くデータの信頼性は低い。過去にも、機器化への試みが色々となってきたが今日イオン交換クロマトグラフィを利用した分析機器が汎用機種として定着しようとしている。

無機イオンのイオン交換クロマトグラフィは古くから行われていたが^{1,2)}高速化に成功したのは高田³⁾らであった。その特徴はクロメトリック検出器の採用にあった

が、検出器の寿命が短く再現性に乏しいなどの欠点を有していた。Small⁴⁾らが開発した“イオンクロマトグラフ”は商品化するに当り、伝導度検出器を採用したが、その際の根本的なアイデアは溶離液中の電解質イオンを除く除去カラムの装備であった。

その後 Gjerde^{5,6)}らによって除去カラムを使用しない方法が発表されたが、Small らの1/10以下の感度しか得られず学究的な段階に止まっていた。

今回我々が開発したイオンクロマトグラフ HLC-601 は除去カラムを使用しない方法であるが Small らと同程度の感度を得るに至った。その理由は、高性能イオン交換ゲルとそれを充てんしたミニカラムの採用、そして無脈動定流量ポンプ、高感度伝導度検出器、カラム恒温槽の設置など、最近の HPLC 技術を駆使した結果によるものである。

イオンクロマトグラフィは、今まで各イオン別に測定されていた、フッ素、塩素、臭素、ヨウ素、亜硝酸、硝酸、硫酸、リン酸及び有機酸などのイオン種が $\mu\text{g}/\text{ml}$,

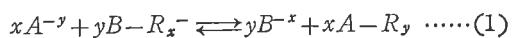
Table 1 Common ions and its application

Application	F ⁻	PO ₄ ³⁻	Cl ⁻	NO ₂ ⁻	Br ⁻	Ions					
						NO ₃ ⁻	SO ₄ ²⁻	I ⁻	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺
Atmospheric aerosol	●		●	●		●	●	●	●	●	●
Atmospheric gases	●		●	●	●	●	●	●		●	
Combustion products	●		●	●	●	●	●	●		●	
Volcanic gases	●		●	●		●	●				
Rain water			●	●		●	●			●	
River water		●	●			●	●		●	●	●
Pond water		●	●			●	●		●	●	●
Ocean water		●								●	
Ground water	●		●			●	●	●	●	●	●
Waste effluents	●	●		●		●	●			●	
Plating bath	●	●	●			●	●				
Boiler condensates		●	●							●	
Nuclear fuel water	●	●	●				●				
Paper mill effluents	●		●				●				
Petrochemical effluents		●				●	●			●	
Electronic device water	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
Pharmaceuticals	●	●	●		●	●	●	●	●	●	●
Soil extracts		●	●			●	●			●	
Fertilizer		●				●	●			●	●
Blood		●	●				●		●	●	●
Urine		●	●				●		●	●	●
Drinking water	●	●	●			●	●			●	
Liquor	●	●	●			●	●		●	●	●
Soft drinks		●	●			●	●		●	●	●
Food		●	●			●	●	●	●	●	●
Food additives		●	●		●	●	●	●	●	●	●

あるいは $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ レベルで迅速に同時分析できる手法といえよう。また、試料量が $0.5\sim1.0 \text{ ml}$ で前処理操作をほとんど必要とせず、6~8種のイオン種を15~20分程度で同時に分析できることから、Table 1 に示すように、上下水、河川、湖沼水、温泉水、雨水、工業用水、工場排水、大気汚染物質、土壤などの環境分析試料、食品分析、尿や血液などの生体試料分析、あるいは工場における製品管理分析などに応用が開かれんとしている。

2. イオンクロマトグラフィの原理と最適化

イオンクロマトグラフィはイオン交換反応を利用する方法であり



ここで R はイオン交換体、 A と B は競争陰イオン、 x と y は係数を示す。

B の A に対する選択係数 K_B^A は

$$K_B^A = \frac{[A - R_y]^x [B]^y}{[A]^x [B - R_x]^y} \dots\dots(2)$$

ここで $B - R_x$ はイオン交換体の交換容量に等しく、 B は溶離液の陰イオン濃度であり、キャパシティファクタ k' を導入すると

$$K_B^A = k'^x \frac{[\text{Eluent}]^y}{[\text{Capacity}]^y} \dots\dots(3)$$

$$\text{但し } k'^x = \frac{\text{固定相中の } A \text{ イオンの量}}{\text{移動相中の } A \text{ イオンの量}} = \frac{[A - R_y]^x}{[A]^x} \dots\dots(4)$$

また k' は A イオンの保持時間 t_R とカラム内の移動相が溶出する時間 t_0 と

$$k' = \frac{t_R - t_0}{t_0} \dots\dots(5)$$

の関係にあり、 t_0 はカラム半径 $r(\text{cm})$ 、カラムの長さ $L(\text{cm})$ 、移動相の流速 $V(\text{cm}^3/\text{sec})$ より

$$t_0 = \frac{\pi r^2 L}{V} \dots\dots(6)$$

となる。

よって(5)式は、

$$k' = \frac{V(t_R - t_0)}{\pi r^2 L} = \frac{A \text{ イオンの真の溶出容積(cm}^3\text{)}}{\text{イオン交換体の量(cm}^3\text{)}} \dots\dots(7)$$

一定流速 (1 ml/min) では $V(t_R - t_0) = t_R - t_0 = t$ とする
と(3)式は $\pi r^2 L = w$ とすると

$$K_B A = \frac{t^x}{w^x} \cdot \frac{[\text{Eluent}]^y}{[\text{Capacity}]^y} \dots\dots(8)$$

式(8)はイオン交換体の交換容量とカラムサイズが小さければ、溶離液の濃度を下げても分離時間が短縮出来ることを意味している。

溶離液の濃度を下げるとは、後述するように電気伝導度検出器を用いる場合は必須である。

式(8)の両辺を log でとると

$$\log K_B A w^x = x \log t' + y \log [\text{Eluent}] - y \log [\text{Capacity}] \dots\dots(9)$$

となり、イオン交換体とカラムサイズが固定されると

$$\log t' = \frac{-y}{x} \log [\text{Eluent}] - \text{Const} \dots\dots(10)$$

式(10)で、 y はサンプルイオンの価数、 x は溶離液イオンの価数なので、価数の異なる陰イオンは濃度による影響が大きいことを示している。

[1] イオン交換体とカラムサイズ

イオン交換体とカラムサイズの設計は式(8)より計算される。通常イオンクロマトグラフィでは、電気伝導度検出器を使用することから、溶離液濃度は mM オーダーが好ましく、イオン交換体の交換容量は $\mu\text{eq/g}$ オーダーの表層型イオン交換体が採用されていた。

一方、イオン種 A, B の分離を支配するのは、

$$R_s = \frac{1}{4} \left(\frac{\alpha-1}{\alpha} \right) \left(\frac{k_B'}{1+k_B'} \right) \sqrt{N} \dots\dots(11)$$

で示され、分離能 R_s を支配するのは、保持比 $\alpha =$

$\frac{k_B'}{k_A'}$ と、キャパシティ比 k_B' 理論段数 N である。

理論段数 N を向上させるパラメータとして、イオン交換体の粒径があり、交換容量が同じならば粒径の小さい全多孔性イオン交換体が有効である。

HLC-601 に装着されるイオン交換体およびカラムササイズは式(8)と(11)を配慮し設計されたもので Table 2 に示すように高理論段数が得られている。

[2] 検出に影響する因子

本法すなわち、ノンサプレッサー方式では、イオン交換クロマトグラフィで分離されたイオンは、溶離液との伝導度差で検出される。

水溶液中に存在するイオン（電解質）によって 2 個の電極の面積 ($A \text{ cm}^2$)、その間の距離 ($l \text{ cm}$) に溶液抵抗 (R_x) が生じる。

$$R_x = \frac{1}{k} \cdot \frac{l}{A} = \frac{K}{k} \dots\dots(12)$$

ここで k は、溶液の伝導度 (S/cm)、 K はセル定数であり R_x より溶液特有の k が求まる。本装置に使用した電気伝導度検出器については後で詳細に述べるが、液クロ用の検出器で測定される $k(S/\text{cm})$ は、

$$k = \frac{(A_s^+ + A_s^-)C_s + (A_e^+ + A_e^-)C_e}{1000} \dots\dots(13)$$

ここで A ($\text{S}\cdot\text{cm}^2/\text{equiv}$) はイオン当量伝導度、 C_s と C_e は、溶質と溶離液イオンの濃度 (equiv/ℓ)、 $+$ と $-$ はイオンの電荷を表す。

溶質が検出器を通る時、溶離液の陰イオンが置きかえられて生じる k の変化はあるが、全陰イオン濃度は一定である。

$$C_s + C_e = C_{tot} \dots\dots(14)$$

バックグラウンドの陰イオンの伝導度 k' （但し、 $C_s=0$ ）は、

$$k' = \frac{A_e C_{tot}}{1000} \dots\dots(15)$$

Table 2 Materials commonly used in IC or anion chroamtography

Material	Particle Shape	Capacity meq/g	Typical size range	Plates/meter for SO_4^{2-}	Availability
Pellicular silica	Spherical	0.09?	20 μm	7200	Separations group Vydac 302
Macroporous	Irregular	0.007-0.07	44-57 μm	800	Not commercial available
Latex agglomerated	Spherical	0.02-0.05	20-30 μm	6000	Dionex Corp. Anion separator
Porous silica	Spherical	0.2-0.5	5±1 μm	25000	TSK-GEL IC-520SA
Porous polymer	Spherical	0.03-0.1	9±1 μm	15000	TSK-GEL IC-620SA

溶質の陰イオンが溶出してくると、その伝導度 k'' は

$$k'' = \frac{A_e C_{tot}}{1000} + \frac{(A_s - A_e)C_s}{1000} \dots\dots(16)$$

伝導度の差 Δk は、

$$\Delta k = k'' - k' = \frac{(A_s - A_e)C_s}{1000} \dots\dots(17)$$

となり、結局、目的のイオン種を高感度に検出しようと思えばイオン当量伝導度に大きな差を生じる塩組成を選んで溶離液にすればよい。好ましい条件をまとめると

- (1) 高感度検出できる化合物を溶離液に選ぶ。
- (2) 溶離液の塩濃度はできるだけ低い方が良い。
- (3) 温度補償回路をもった検出器を使用する。
- (4) 外乱（ポンプ脈動、ノイズなど）に影響されにくい検出器を使用する。
- (5) セル定数の小さい検出器を使用する。

[3] 溶離液組成の最適化

溶離液組成の最適化は、目的イオン種の高感度かつ迅速な分離定量にある。

高感度化を達成するには式(17)より $(A_s - A_e)$ を大きくする溶離組成にし、S/N 比の向上から出来る限り低濃度で使用することが好ましい。

一方、迅速化を達成するには、式(10)より溶離濃度を上げなくてはならず、高感度化との妥協が必要である。この相反する条件を満足できるものとして、有機多塩基酸が挙げられる。有機多塩基酸は pH に依存して価数が変化するため、希薄溶液で溶出力を高めることや、緩衝効果を生じるため有効である。

更に、溶離液を作成するにあたり使用する“水”は必ず蒸溜水を用い、ゴミや微生物の極力少ないものを使用するなどの配慮も必要である。

Table 3 に溶離液組成によるイオン種の溶出位置の関係を示す。

[4] サプレッサシステムとノンサプレッサシステム

現在商品化されているイオンクロマトグラフには、サプレッサシステムとノンサプレッサシステムがある。前者は Dionex 製と横河電機製、後者は Wescan 製と東洋曹達工業製である。両者の比較については、Dionex 社の Paul¹¹ らが、サプレッサシステムの種々の利点を解説したが、後に Gjerde⁸ らや佐藤^{9,10}によって反論されている。

サプレッサシステムとは、陰イオン分析において陰イオン交換カラムの直後に設置された陽イオン除去システムのことである。炭酸ナトリウム緩衝液を使用するイオンクロマトグラフィで最も効果を生じ、感度の向上がみられるが、それ以外の溶離液では威力を発揮していない。

また除去システムは別のポンプを必要とするためシステムが複雑かつ大型となるなど装置構成上の欠点と、特

Table 3 Elution of anions on TSK-GEL IC-620SA with different eluents^{a)}

Ion	Elution time, min		
	Phthalate 1 mM pH 4.5	Phthalate 1 mM pH 6.5	Phthalate 0.6 mM pH 9.0
	F ⁻	2.0	1.4
PO ₄ ³⁻	2.0		7.0 ^{b)}
CO ₃ ²⁻	15.5		1.6 ^{b)}
IO ₃ ⁻	1.9		
BrO ₃ ⁻	2.8		
Cl ⁻	3.0	2.2	1.8
NO ₂ ⁻	3.9	2.8	2.8
Br ⁻	4.8	3.6	3.6
NO ₃ ⁻	6.1	4.2	4.6
SO ₄ ²⁻	29.0	6.8	8.8
I ⁻		11.0	13.0
S ₂ O ₈ ²⁻		12.0	18.0
CrO ₄ ²⁻		11.6	18.0
SCN ⁻		18.0	28.4
SeO ₄ ²⁻		7.4	10.6
BF ₄ ⁻		8.0	9.4
MoO ₄ ²⁻		13.7	16.6
WO ₄ ²⁻		12.8	16.2
ClO ₃ ⁻		4.0	4.4
ClO ₄ ⁻		28.0	30.0
CNO ⁻		3.4	3.6
SO ₃ ²⁻			7.2
N ₃ ⁻		4.6	

a) Separating column: 4 mm × 50 mm "TSK-GEL IC-620SA" Flow rate: 1.0 mL/min

b) Negative peak

定イオン種の消失や全イオン種の漏洩問題などがあり、再現性のうえからも問題が指摘されている。

3. HLC-601装置の構成と動作原理の概要

2-[4]でも述べたようにイオンクロマトグラフの装置構成は大きく2つに別けられる。1つは Fig. 1-a に示すように、分離カラムの後に溶液液中の電解質イオンを除くバックグラウンド除去部（サプレッサ）をおいて、酸又は塩基性の溶離液を水又は低伝導度のものに交換する方式であり、他の1つは Fig. 1-b に示す様にサプレッサーを用いない通常の HPLC と同様な構成のものである。

サプレッサを用いる方法の最大の利点は、バックグラウンドが低く、目的イオンを高感度に検出できることにあるが、反面カラムや膜の再生に手間がかかる、NO₂⁻の消失原因となる、除去カラムでは経時変化と共に F⁻, Cl⁻,

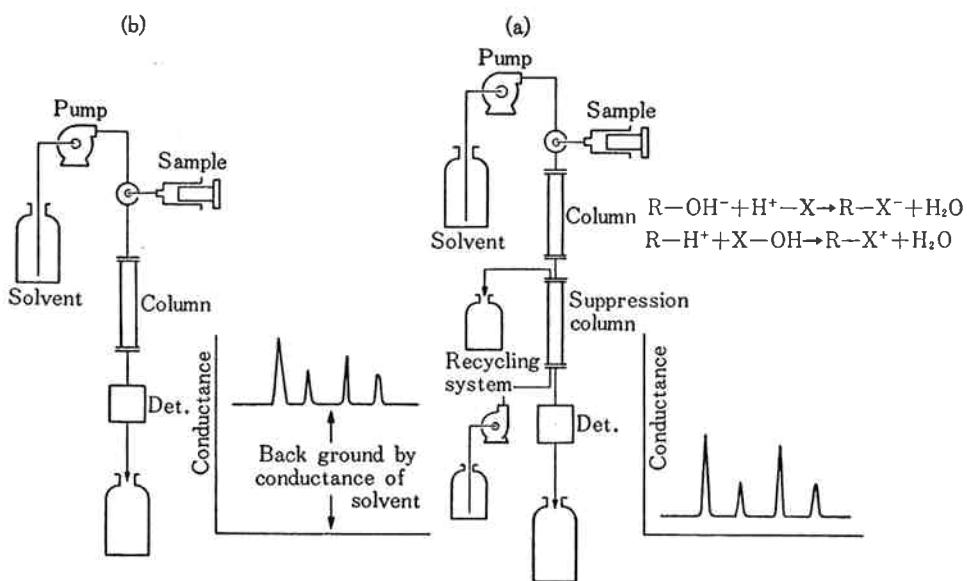


Fig. 1 Ion chromatograph by electric conductivity meter

NO_2^- , Br^- などのピーク高さが変動する、膜については、全イオン種の漏失が認められる、あるいは脱イオン器具を用いても溶離液に使用している炭酸ディップの影響は避けられない、など不利な点も多い。

今回我々が開発したシステムは、サプレッサを用いない方式であるが、信号/雑音 (S/N) 比を改善するための手段として、マイコンによって制御される無脈動定流量ポンプ、5極法による高感度電気伝導度検出器、高精度なカラム恒温槽の設置を行い、サプレス方式と同程度の感度を得るに至った。

HLC-601 装置の主要部分は、定流量ポンプ、ラインフィルタ、アキュムレータ、試料注入部からなる送液系、分析カラムや前処理用カラムを収納し、かつ検出器のプロセラ部を内蔵したオープン槽、カラムによって分離されたイオン種を検出する電気伝導度検出器、得られたクロマトグラムからイオン種の同定と定量を行うデータ処理部などである。

Fig. 2 に装置の外観を、Fig. 3 に流路系統図を示す。
〔1〕 溶離液イオンによるバックグラウンド中のサンプルのイオン測定について

ノンサプレス方式の基本となるバックグラウンド中でのサンプルイオンの測定は下記の様に考えることが出来る。

イオン交換基に対して溶離液のみが存在している場合の溶離液のイオン解離量を (E) とし、サンプルが混在した場合のそれを (E') とすると、

$$E = C_e \cdot I_e \quad \dots\dots(18)$$

$$E' = (C_e - C_s \cdot I_s) I_e + C_s \cdot I_s \quad \dots\dots(19)$$

ここで C_e , C_s は溶離液およびサンプルの濃度であり



Fig. 2 Appearance of HLC-601 ionchromatograph

I_e , I_s は、それぞれの解離係数である。

上式に、それぞれのイオン当量伝導度を代入し伝導度を求めると、

$$G_B = (\lambda_e^+ + \lambda_e^-) C_e \cdot I_e \quad \dots\dots(20)$$

$$G = (\lambda_e^+ + \lambda_e^-) C_e \cdot I_e - (\lambda_e^+ + \lambda_e^-) C_e \cdot I_s \cdot I_e + (\lambda_e^+ + \lambda_s^-) C_s \cdot I_s \quad \dots\dots(21)$$

ここで G_B は溶離液の伝導度、 G は混在物の伝導度であり、 λ_e^+ , λ_e^- , λ_s^- はそれぞれ溶離液及びサンプルの陽、陰イオンの当量伝導度である。サンプルのみの伝導度を G_s とすれば、

$$G_s = G - G_B \quad \dots\dots(22)$$

$$G_s = C_s \cdot I_s \{(\lambda_e^+ + \lambda_s^-) - (\lambda_e^+ + \lambda_e^-) I_e\} \quad \dots\dots(23)$$

ここで λ は定数であり、解離係数も pH が一定であ

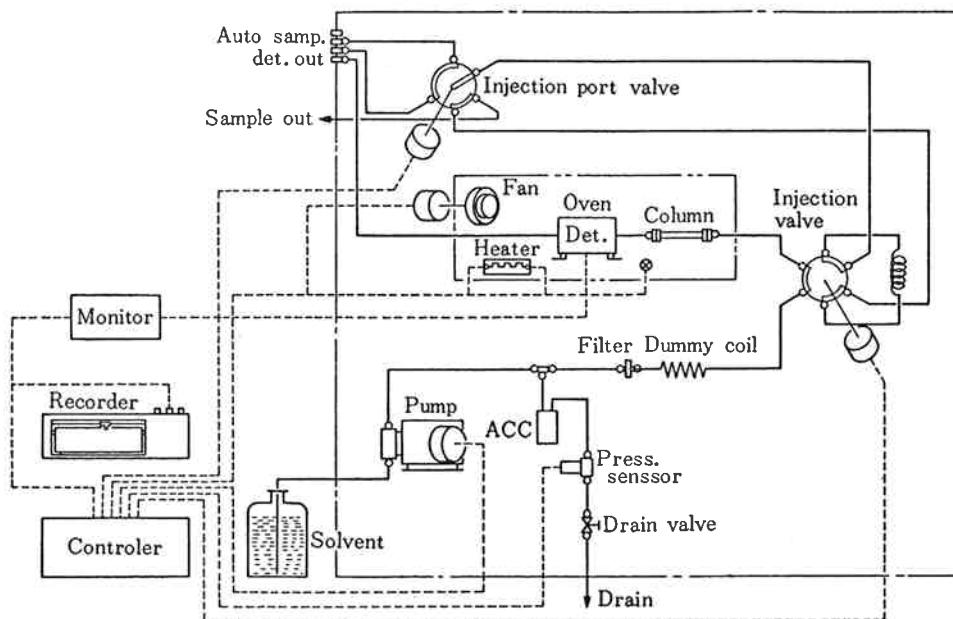


Fig. 3 Flow diagram of HLC-601

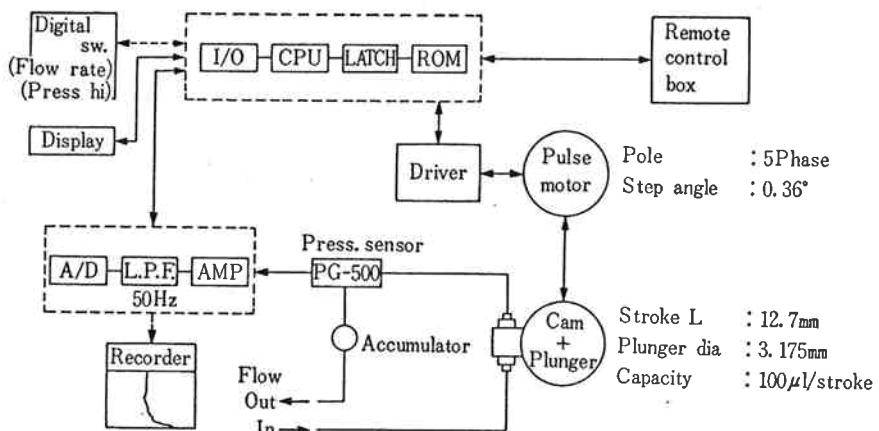


Fig. 4 Block diagram of computer controlled Pump

れば定数となり得る。従ってこれらを定数 $A\lambda$ 及び I と置けば

$$G_s = C_s \cdot I \cdot A\lambda = K \cdot C_s \quad \dots \dots (24)$$

となり得られたサンプルの伝導度、すなわちピーク高さはサンプルの濃度に比例する。又、そのピーク高さの見かけ上の感度は選択係数及び理論段数を考慮しない場合、溶離液とサンプルの当量伝導度の差 ($A\lambda$) や解離係数 (I) にも依存する。但し実際の感度は S/N で決定されるべき性格なので、その場合のノイズの増減により、必ずしも理論値と一致するものではない。ノンサプレッサ方式で通常用いられる溶離液のバックグラウンド伝導度は Gjerde³⁾ らにより詳細に報告されており、ノンサプレッサ方式でも、溶離液を選択し、更にシステム全体の S/N を改善すれば、サプレッサ方式と同程度の感度を得ることは可能となる。

[2] 送液系

送液系を設計するにあたり留意した点は、検出器のフローセルが脈動の影響でノイズを増加することのない様ポンプには脈動の極めて小さいものを開発する、ピークの保持時間を基準にした同定プログラムのため、定流量性の良いものを開発する、接液部の材質は耐蝕性に優れ、メタルフリーの系とするため可能な限り樹脂化する、などであった。

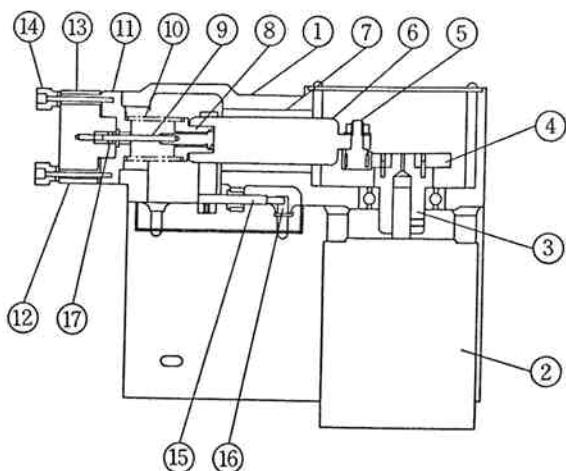
以上送液系の主要構成部品について述べる。

(1) 送液ポンプ

送液ポンプには、マイクロコンピュータにより制御される無脈動定流量ポンプ (Computer Controlled Pump = CCP) を新たに開発した。CCP は単なるクイックリターン方式のレシプロポンプではなく、吸引、吐出各工程におけるプランジャーの動きをマイコンで制御する方

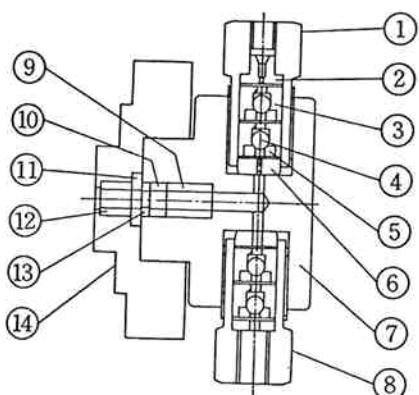
式のため、脈動が極めて小さい、圧縮率補正により実流量と設定流量の誤差が少ない、パルスモータとフィードフォワード制御により定流量性に優れている、などの特長を有している。Fig. 4 にポンプの構成を Fig. 5 に構造を Fig. 6 にリキッドエンドの断面図を示す。

CCP の動作は、シングルプランジャ往復動ポンプと



- | | |
|--------------------|------------------|
| 1. Pump frame | 10. Spring |
| 2. Motor | 11. Sealed cap |
| 3. Coupling | 12. Liquid end |
| 4. Cam | 13. Bolt |
| 5. Cam follower | 14. Nut |
| 6. Cross head | 15. Guide |
| 7. Bearing | 16. Photo sensor |
| 8. Plunger support | 17. Plunger seal |
| 9. Plunger | |

Fig. 5 Structure of computer controlled pump



- | | |
|--------------------------------------|--------------------------------------|
| 1. Check ball cartridge
(exhaust) | 8. Check ball cartridge
(suction) |
| 2. Guide B | 9. Plunger bushing A |
| 3. Ball stopper | 10. Plunger seal |
| 4. Ball | 11. Backup plate |
| 5. Valve seat | 12. Plunger bushing B |
| 6. Spacer | 13. Backup ring |
| 7. Liquid end | 14. Sealed cap |

Fig. 6 Sectional diagram of liquid end

基本的には同じであるが、送液ポンプとしての性能を向上させるための手段として、プランジャーは常にフルストローク駆動し、流量設定はモーターの回転数を制御する方式としたことである。すなわち吐出工程(270°分)中は平坦な吐出圧力を得、吸引工程(90°)中はモーターの回転を早め、約0.1秒という短時間に吸引を行わせる様にしたものである。この様に吸引時間を極限まで小さくすることにより、脈動は大幅に低減し、かつ吸引、吐出工程の切替わり時に発生する圧力変動は非常に高い周波数成分からなるため簡単で小容量のアクチュエータにより効果的に除去することが可能である。CCPの動作プログラムを Fig. 7 に、実動作を Fig. 8 に示す。Fig. 8において(A)は等速度回転を行い吸引最適位置を見つける領域でこれによって機械的な調整を不要にしている。(B)は圧縮率補正を行う領域で、圧力モニタからの信号により、パルスモータの回転数を制御する領域、(C)は、高速吸引動作において、吸引から吐出工程へ移行する際のポンプチェック弁などによる動作遅れを補償すると共に、圧力モニタからのフィードバック制御により脈動が最も小さくなる様自動的に補正する領域、(B)が補正終了後の定常運転領域を示した。

この様に CCP は自己学習機能による無脈動最適化をマイコンで行うため、シングルプランジャーでありながら市販の2/3連ポンプに比敵する無脈動送液が可能である。

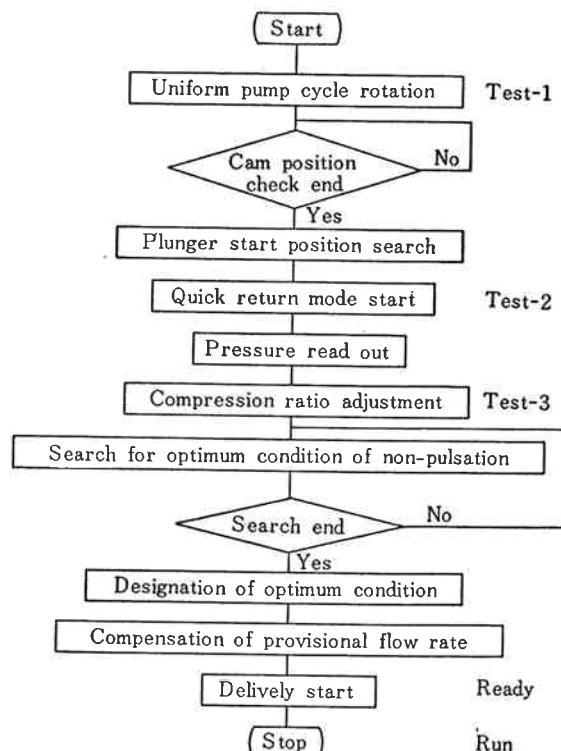


Fig. 7 Flow control diagram of Computer Controlled pump

以下 CCP によって得られた性能の一部を紹介する。

1) 脈動除去

キャリヤ液にメタノール、クロロホルム、THF、

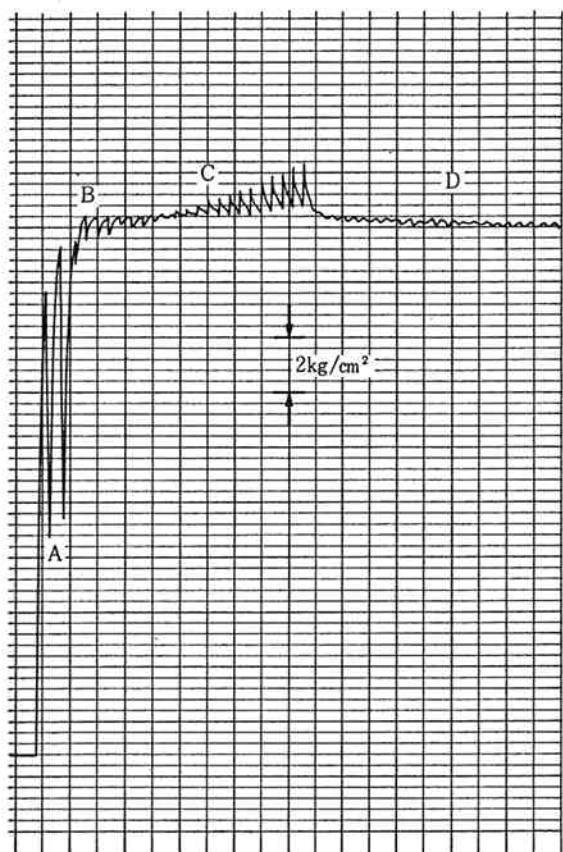


Fig. 8 Pressure movements of CCP

$\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}=50/50$ の 4 種類の異なった液を用い、流量、圧力がそれぞ、異なる状況で使用した。この結果、いずれの場合も、 $\text{Pressure}/\text{Flow} > 30$ の領域において脈動率 2 % 以下と極めて良好な結果を示した。Fig. 9 に得られた結果を示す。

2) 圧縮率補正

キャリヤ液としてメタノール、水を用い設定流量毎に圧力を変化させた時の吐出流量をメスシリンダを用いて測定した。Fig. 10 は、それぞれ 5 回の測定平均値をプロットしたものである。圧縮率補正のない場合は、高圧領域での吐出量低下が顕著であるが、圧縮率補正プログラム実施後は、5 ml/min 以下の領域では 2 % 以内と良

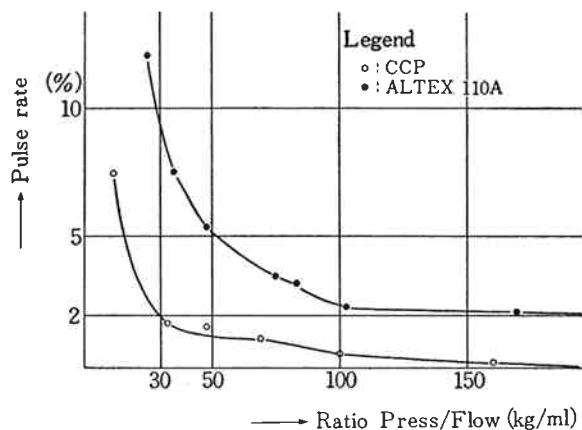


Fig. 9 Compared data of pulsation of CCP with ALTEX 110A pump

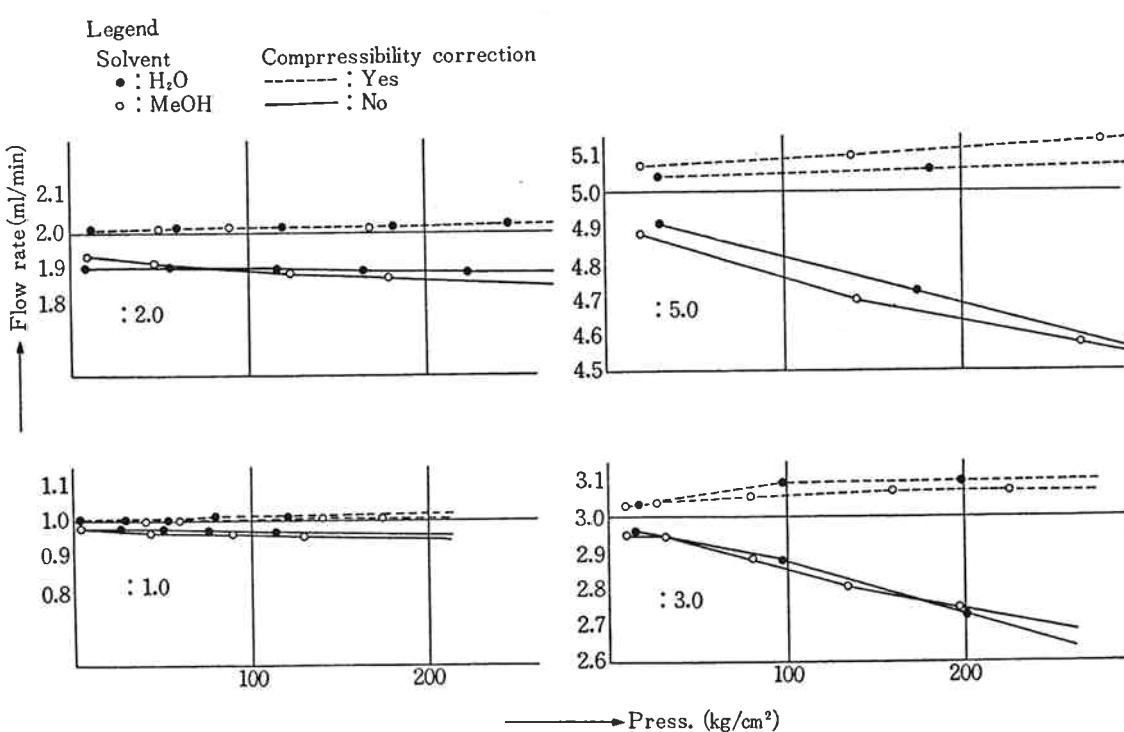


Fig. 10 Effect of compressibility correction

好な結果を示している。

3) 流量安定性

キャリヤ液に THF を用い、アセトン 1% 溶液の保持時間を測定することによって安定性を調べた。測定に用いたカラムは TSK-GEL G2000 H8, 7.5 mmid × 60 cm × 2 本であり、ピークの検出は TSK 示差屈折計 RI-8 を用いた。試料は 1 時間毎に注入し、15 回の測定結果より標準偏差と変動係数を求めた。この結果、標準偏差は 0.288、変動係数 0.16% と極めて良好な結果を得た。この値は現在市販されているどの種のポンプよりも優れており、ピークの保持時間による同定作業が正確に行い得ることを実証している。

4) 接液材質

とくにカチオン分析時に問題となる F^{n+} の影響を排除し、耐蝕性を向上させる目的から、ポンプヘッドには Kel-F、チェック弁にルビー、ポリイミド、プランジャーにはサファイヤ、シール材には PTFE を用いた。

また送液系の配管材はすべて PTFE チューブを用いた。送液ポンプの耐圧は、配管材との関係で 70 kg/cm^2 で上限リミッタが動作する様設計した。

(2) 試料注入バルブ

HPLC で通常用いられていて 6 方電動バルブを用いた。メタルフリーの系とするため、ステンレス製のバルブガイドに PTFE 材を嵌合したのち必要部分を加工した。

試料ループは容量 $100 \mu\ell$ のものを標準で取付けているが、必要に応じ $20 \mu\ell \sim 1 \text{ ml}$ までのループが PTFE チューブで容易に製作、交換出来る形とした。

(3) インジェクションポートバルブ

HLC-601 はルーチン分析に最適なシステムで、通常はオートサンプラが接続される。しかしオートサンプラを用いず手動注入も可能な様に切替えバルブを新たに設けたのが、このポートバルブである。

手動注入時はバルブセントタよりルアーアダプタを経て注射器により前述のサンプルバルブのループ中へ試料をチャージすることが出来る。このバルブの材質と構造はサンプルバルブと同じく PTFE を嵌合後加工したメタルフリーとなっている。

(4) 圧力検出器

ストレングージタイプの圧力検出器を用いた。圧力検出端の材質はステンレス製であるため、キャリヤ液が常時通過しない様流路系を工夫し使用した。

(5) アキュムレータ

CCP ポンプは無脈動化がマイコンによって制御されるため脈動は大幅に改善されているが、高い周波数の圧力変動を除去するため小容量のヘリカル型アキュムレー

タを作成し使用した。当初樹脂製のものを検討したが耐久性に乏しく止むを得ずステンレス製とし、圧力検出器と同じくキャリヤ液が常時通過しない様にして使用した。

(6) ラインフィルタ

溶離液中のゴミ、微生物の除去、あるいはポンププロンジャーシール材からのカスなどによる配管のつまりやカラムの劣化を防止する目的で用いた。フィルタはテフロン製のサポートスクリーンに孔径 $0.45 \sim 1.5 \mu$ のフロロポアーフィルタが取付けられる構造とし、交換が容易に行える様なフィルタホルダを作成した。

(7) カラム

実験当初は、通常の HPLC 用カラムと同じ構造の、内径 $4.6 \text{ mm}\phi$ 、長さ 10 cm のものを用いたが、装置全体のメタルフリー化にともないカラムも樹脂化した。

樹脂製カラムにおいて配慮した点はカラム充てんの際の圧力に充分耐える高耐圧製で、かつ内面の加工精度を向上し高理論段数が得られる様配慮した。現在使用中のカラムは材質 PTFE で内径 4.0 及び $4.6 \text{ mm}\phi$ 、長さ 50 mm、カラムエンドフィルタはテフロン製、孔径 5μ で接続はフレアフィットアダプタによって行うものである。

充てん剤は Table 2 に示したごとく porous silica 系の充てん剤 (510, 520) と porous polymer 系の充てん剤 (610, 620) で、いずれの場合も湿式加圧充てん法によって充てんした。

[3] カラム恒温槽

電気伝導度は温度によって変化し、その割合は $\pm 2\% / \text{C}^\circ$ である。従って周囲温度が変化すると検出器の応答も変化しベースラインがドリフトすることになる。また一方では分析に用いるイオン交換カラムも温度変化により、その保持容量が微妙に変化するため再現性の良いクロマトグラムを得るために恒温槽に設置することが望ましい。

この様な理由から HLC-601 では、カラムと検出器のフローセル部を収容できる熱風循環方式のカラム恒温槽を採用した。カラム恒温槽の温度設定及び運転は制御部内のマイクロコンピュータにより、最少時間 50 msec の時分割比例制御方式で制御され、周期 $1 \sim 10 \text{ sec}$ 、比例帶 $1 \sim 10^\circ\text{C}$ を可変出来る様、マイクロコンピュータに DATA 2, DATA 1 として登録した。Fig. 11 に温調プログラムのフローチャートを示す。オープン槽内に設置された半導体温度センサーの出力は 12 bit の A/D コンバータで CPU に取り込まれ、1 digit の変化が 0.025°C の変化として制御信号に用いられている。

本恒温槽の温調精度を測定したところ $\pm 0.1^\circ\text{C}$ 以内

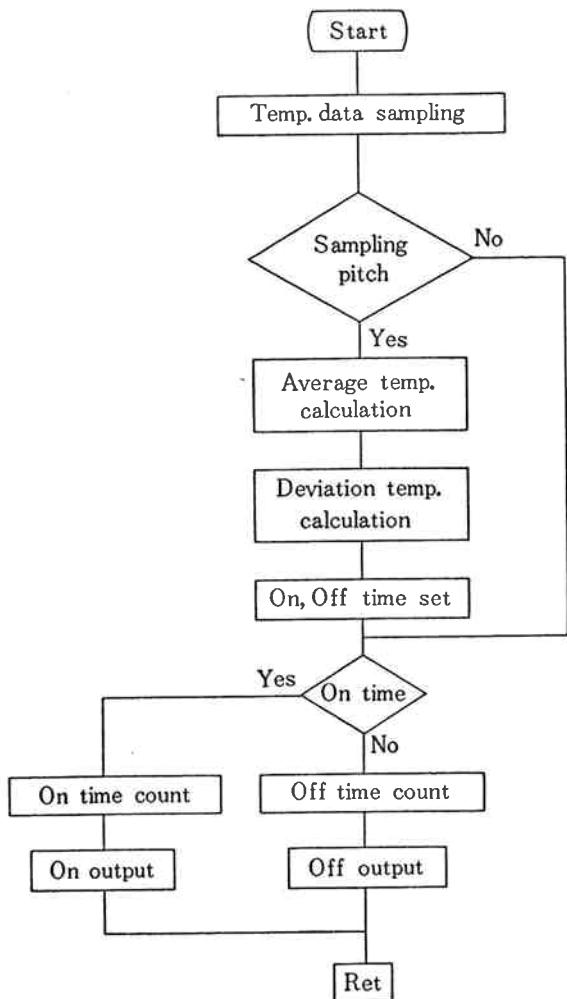


Fig. 11 Temperature control diagram

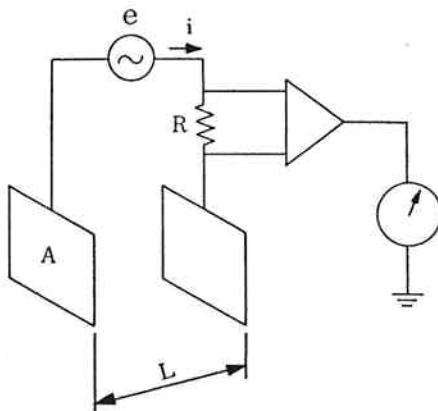
で十分実用に供せられることが判明した。

[4] 検出器

無機イオンの検出器を分析イオン種別に考えてみるとアルカリ金属イオン、アルカリ土類金属イオン、遷移金属イオンについては、原子吸光、炎光光度計が、有機陰イオンについてはUV(210 nm)検出器にて感度良く測定が可能である。またFlow Injection Analysis (FIA)の手法を用いる場合は可視の分光光度計が、発色試薬と組み合せて用いられている。

しかし無機陰イオンについては、イオン電極を用いる方法¹¹⁾、クーロメトリ検出器を用いる方法、UV検出器を用いる方法¹²⁾などが検討されているが、高感度で汎用性のあるものとは言えない。また最近では界面動電現象を利用した流動電流検出器¹³⁾なども開発されているが感度的には不十分である。

汎用性ある検出器としては電気伝導度検出器があるがイオンクロマトグラフの検出器としては、サプレス方式に適合する様、低伝導度領域の測定に威力を發揮するものであったり、対温度効果への配慮が不足するなどノン



$$R = 1/K \cdot L/A$$

R : Resistance

K : Conductance

L/A : Constant of cell

Fig. 12 Measurement theory

サプレス方式で高いバックグラウンドをもつシステムにおいて高感度で S/N の良いものは市販されていない。

そこで HLC-601 を製作するに当っては、新たに交流 5 極法による電気伝導度検出器を開発した¹⁴⁾。

(1) 測定原理

電気伝導度検出器を用いた場合のイオンの測定については、前述の式(24)より濃度に比例した応答を示すことは立証されている。ここでは検出器の構成と原理を述べる。

溶液中に断面積 1 cm^2 、長さ 1 cm の液柱を考え、その液柱が 25°C でもつ電気抵抗を比抵抗 ($\Omega \cdot \text{cm}$) といい、この逆数を比導電率と呼び S/cm で表す。そこで溶液中に面積 $A(\text{cm}^2)$ の電極 2 枚を Fig. 12 に示すように $L(\text{cm})$ 隔てて平行に設置し、ある周波数の交流電圧 e を加えて両極間における被測定物の導電率の変化によって回路中を流れる電流 i が変化するのを電気信号として取り出せば良い。数式で表すと

$$R = 1/K \cdot L/A \quad \dots\dots (25)$$

ここで R は被測定物の電気抵抗、 K は導電率、 L/A はセル定数と呼ばれるものである。

導電率を測定するための検出部はセルと呼ばれ、通常は内部に 2 枚の電極板を対向し固定したものが用いられている。これに対し今回新たに開発した検出部は、分極効果を減少させると共に、脈流によって生じるノイズを低減し、かつセル内でのピークの不要な広がりを防止し高感度、高分離能を得る方式として、リング状の電極を 4 個使用した 4 極法とし、更に外部ノイズを低減させるために別にカーボ電極を設けた 5 極法とした。

Fig. 13 はセルを含む測定回路の等価回路で測定電極

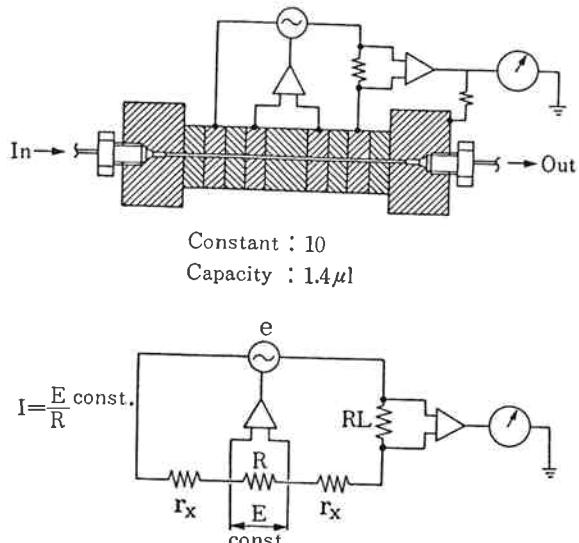


Fig. 13 Cell structure and equivalence circuit

間にある被測定物の抵抗にかかる電圧 E が常に一定となる様に印加電極にかかる電圧 e を制御しているために、この回路を流れを電流 I は、回路中の不定抵抗 r_x や、負荷抵抗 R_L などの変化に影響されず、測定電極間の被測定物の抵抗 R の変化によって変化する回路構成となっている。

(2) 電気回路

この装置の電気回路は 1 KHz の正弦波発振回路、差動電圧增幅回路、可変電流回路、温度補償回路、ゼロサプレッション回路と電源回路とで構成した。

電気回路を設計するに当り、測定に使用する溶離液の絶対値がメータで読み取れる、検出器の出力がすべて 25°C の値となる、ダイナミックレンジを広くとる、最少検出感度を高くするなどの配慮を行った。

(3) 検出器の性能

1) ノイズ：通常測定に用いられるフタル酸緩衝液(PHK) 1 mM 溶液を、流速 1.2 ml/min の流速でフローさせた時に発生するノイズは 0.01 μ S 以下であり、初期の性能を十分に満足した。

2) ドリフト：カラム恒温槽の温度は 10 min 以内で設定値に安定するが、検出器のフローセルは、熱容量の大きなアルミブロック内に格納されているため、安定までに 30 min を要した。しかし立上後のドリフトは 0.05 μ S/hr 以下で良好な結果を示した。

3) 直線性：試料に NO_3^- と SO_4^{2-} を用い 10 ppm 以下の低濃度領域と 100 ppm までの高濃度領域について直線性を調べたが、いずれの場合も良い直線性を示した。結果を Fig. 14 に示す。

4) 絶対値読み取り精度：あらかじめ JIS で規定された絶対値の判っている KC1 溶液を用い絶対値の測定精度を見た。この結果、ゼロサプレッションの動作可能範囲内における精度は ± 5 % 内であり、モニタとして十分な機能を果すことが判った。

[5] HLC-601におけるマイコンの応用

(1) 制御系への応用

1) 送液ポンプにおける無脈動化、圧縮率補正などにワンチップ cpu(8748) と ROM 1K, RAM 64 バイトを用いた。

2) カラム切替えバルブとプレカラム間の流路を切替える目的で使用される。このバルブはコントローラ内のワンポート cpu によりタイムシーケンシャルに制御される。

3) カラム恒温槽の温度コントロールは白金感熱体の出力をプリアンプにて 0 ~ 10V の信号に増幅したのち、

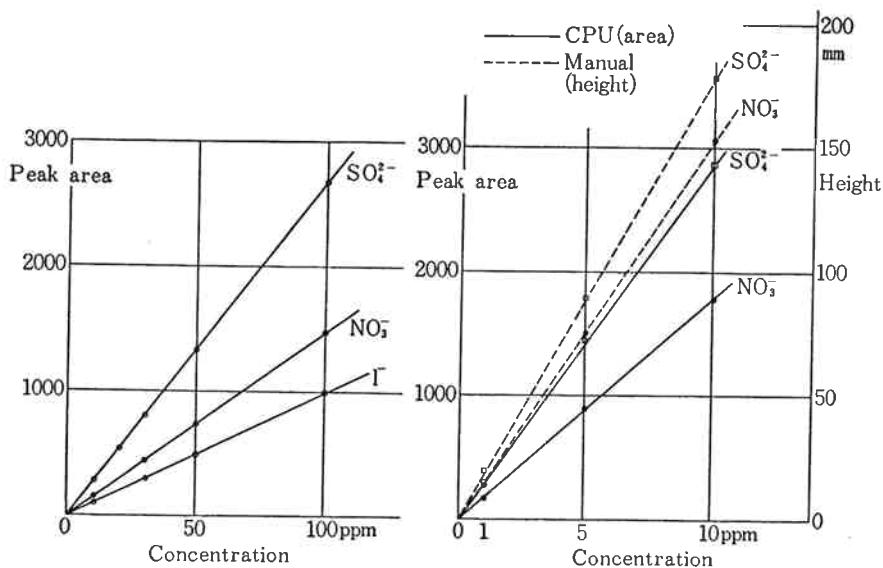


Fig. 14 Linearity of conductivity detector

コントローラ内のワンボードcpuに取り込まれ、時分割比例制御方式による温度調整が行われる。

4) オートサンプラーの動作すなわち、試料の注入、ループの洗浄、注入間隔、試料番号の指定などの動作を行うため、あらかじめオートサンプラー内にcpu(8085)とROM 1K, RAM 512 バイトを設け、コントローラ内のメインcpuからの指令により制御が行える様にした。

(2) データ処理への応用

コントローラ内のワンボードcpu(インテル80/10B)によりデータの処理を行った。メモリ容量はROM 16K RAM 4K バイトを使用した。データ処理は1試料につき15種のイオンのピーク処理が可能で、標準試料を使用し、そのリテンションタイムから同定を、ピーク面積比より定量を行えることとした。

また2種類の面積処理(BASE SELECT)とルーチン分析用に4種類の分析条件パラメータ(IDT FILE)及び同定用パラメータ(IDT FILE)を内蔵すると共に50種類のイオン名を登録し、広い分野に亘る分析を可能とした。

Fig. 15 にデータ処理結果の一例を示し、印字例によって内容を説明する。

1) DATE 及び TIME

運転日時の表示/印字を可能とした。

2) IDT FILE NO.

IDT FILEは同定用のパラメータを記憶させるファイルで、No. 1 から 4までの選択を可能とし、サンプル、カラム、溶離条件などが異なる場合、それぞれの条件を登録するだけで測定が容易に行える様配慮した。以下項目について述べる。

- No. ; ピークの順番を表し、15まで準備される。

- NAME ; 標準試料のピーク No. に対応するイオン種名を登録する。

- RTIME ; リテンションタイムで単位は分(MIN)とした。標準試料を打込むと自動的に登録されこの時間で実試料との同定を行う。

- TRANGE ; 同定を行う際のリテンションタイムの許容誤差でこの範囲内にピークがあれば同定したイオン種名が印字される。

- AFACT ; ピーク面積計算の結果、その値を濃度に換算するための係数。

3) LDA FILE NO.

LDA FILEはピーク処理用のパラメータを記憶させるファイルであり、No. 1 から 4までの選択を可能とし、クロマトグラムのベースラインの安定度、ピーク高さ、ピーク形状などの違いにより最適なピーク検出と面積計算が行える様配慮した。

- START SENS ; ピーク検出感度で、ピーク立上り時のサンプリングピッチ(100 msec)間のアナログ信号変化の一次微分値とした。

- START COUNT ; ピーク検出感度が START COUNT で指定した回数続けて変化すればピークスタートと判定する。

- END SENS ; ピークエンドの検出感度で、START SENS と同様。

- END COUNT ; START COUNT と同様ピークエンドの判定用いるパラメータ。

- T. LEVEL ; スレッショルドレベルでピークエンドの補助パラメータとして使用。

- SAMPLE PITCH ; データ収集区間で、単位は、100 msec、ピーク形状によってデータ収集ピッチを

PRINT OUT			
PROCESSING REPORT			
MODEL HLC-601			
DATE	04:22	TIME	10:35
IDT FILE NO.	1	LDA FILE NO.	1
START SENS	200	START COUNT	4
END SENS	200	END COUNT	4
T. LEVEL	500	SAMPLE PITCH	6
BASE SELECT	1	OFFSET TIME	1.80
STOP TIME	9.00		

IDT FILE			
NO.	NAME	RTIME	TBAND AFACT
1	CL	2.30	0.20 4.00
2	NO ₂	3.58	0.20 8.00
3	BR	4.93	0.20 8.00
.	.	.	.
.	.	.	.
.	.	.	.
15	.	.	.

LDA FILE			
START SENS	200	START COUNT	4
.	.	.	.
.	.	.	.
BASE SELECT	1		

RUN CONDITION			
FLOW	1.2	PRESS	30
TEMP	35		
NO.	NAME	TIME	AREA CONC
01	CL	2.30	986 10.223
02	NO ₂	3.58	150 4.874
03	BR	4.93	335 5.260
04	.	.	.
05	.	.	.

Fig. 15 Processing result print-out

可変出来る様にした。

- BASE SELECT；最終計算時のベースラインの選択を指定するもので SELECT 1 はタテ切り，2 はスタート，エンド間の面積を計算する。
- OFF SET TIME 及び STOP TIME；試料を注入してからデータ処理を開始するまでの時間と，データ処理の終了時間の指定で不要なピークの計算排除を可能とした。

4) 表示および操作

40×2 文字の液晶表示器により種々の内容データ及び状態を表示可能とした。また各種のデータ打込みは 16 ヶの DATA キーによって行い、実運転は OPERATION キーの操作により行うものとした。

本システムでは、標準的なソフトウェア（実験条件）で測定を行う場合は、すべての運転、ピーク検出、データ処理に必要なパラメータが電源スイッチ投入と同時に

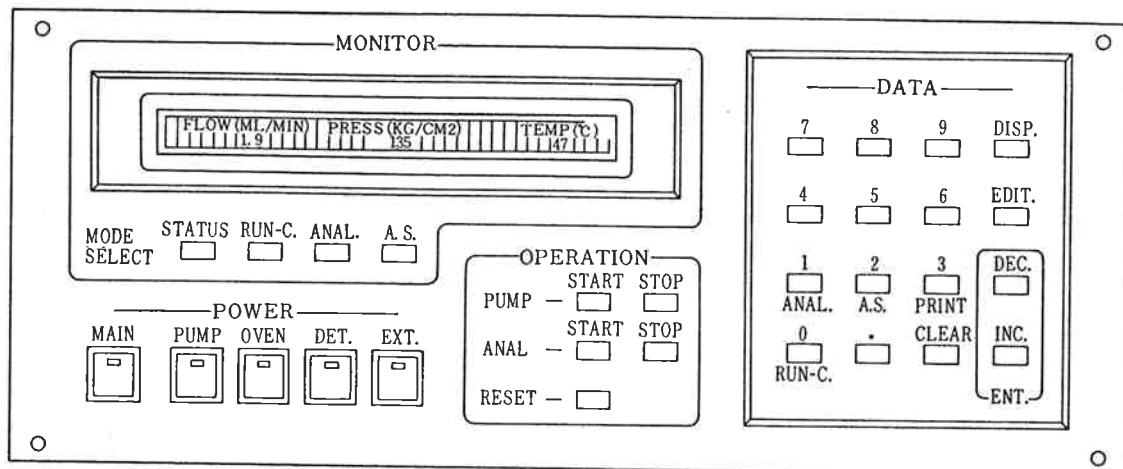


Fig. 16 Front view of control unit

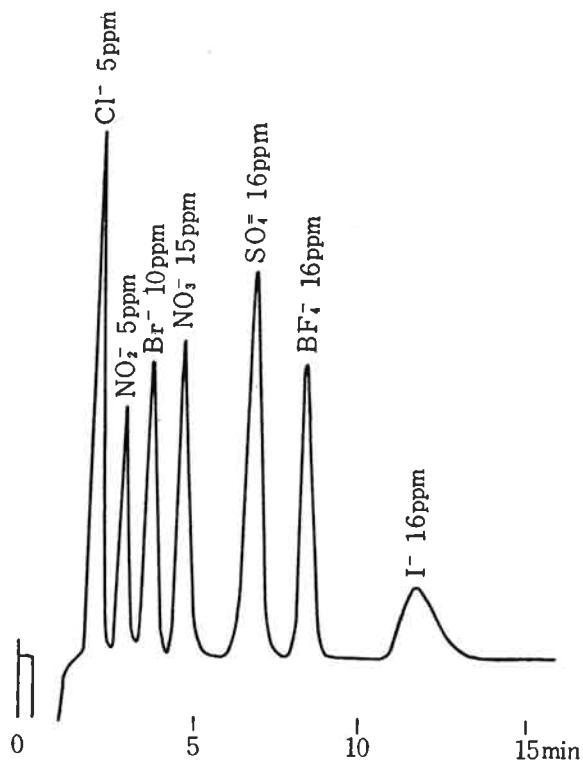


Fig. 17 Analysis of common anions
Eluent: 1 mM Phthalate, pH 6.5
Column: TSK-GEL IC-620SA
Detector: 200 μS/cm, 50 G

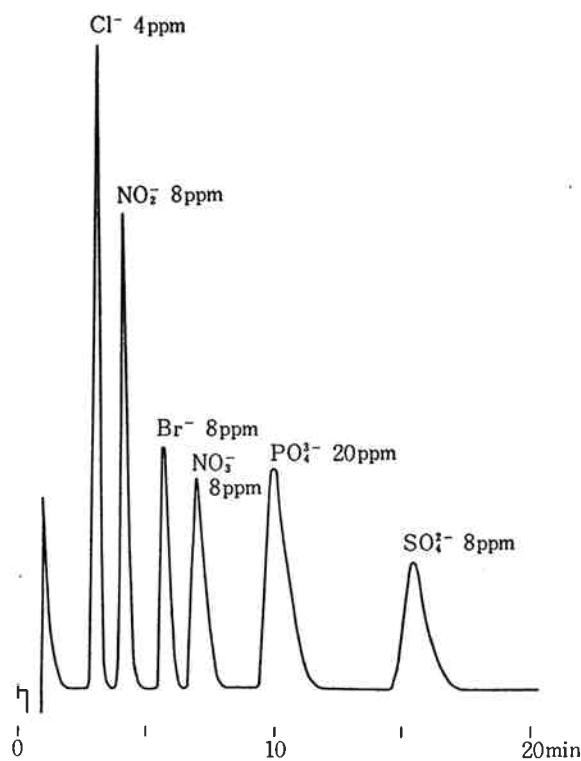


Fig. 18 Analysis of common anions
Eluent: 2 mM Na₂B₄O₇, 20 μM Citric acid
Column: TSK-GEL IC-620SA
Detector: 500 μS/cm, 100 G

イニシャライズされる方式としたため、運転操作は極めて単純化されている。Fig. 16 にコントロールパネルの外観を示す。

- 以下に各表示モード別に簡単に記述する。
- STATUS モード ; SYSTEM, PUMP, OVEN, DETECTOR AUTO SAMPLER の運転状態を表示する。
 - RUN CONDITION モード ; FLOW RATE, PRESSURE, TEMPERATURE が表示される。
 - ANAL モード ; 検出器からの信号を LEVEL [mV], SLOPE [mV/m], TIME [MIN], ピーク NO, ベースライン状態すなわち, BASE, START, TOP, END の各項目について表示する。
 - AUTO SAMPLER モード ; SAMPLE NO, INTERVAL [min], STATUS [WAIT, READY, INJECT] を表示する。

4. 応用例

イオンクロマトグラフィにおける、代表的なイオン種と適用分野の関係は前述した通りである。(Table 1 参

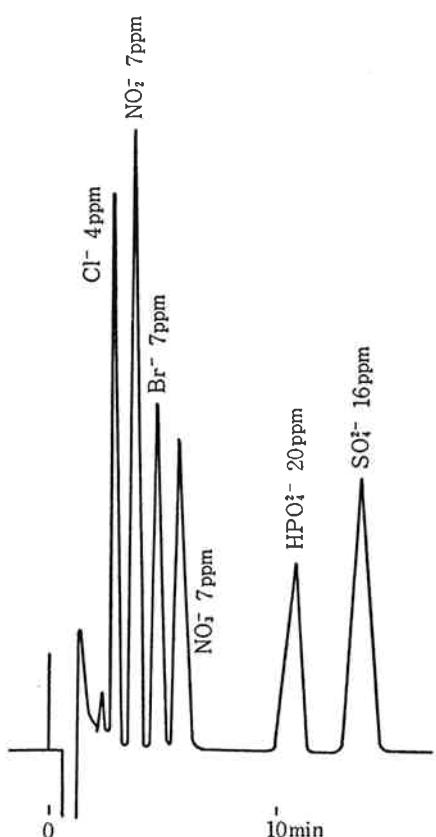


Fig. 19 Analysis of standard anions

Eluent: 1 mM Na₂B₄O₇, 1 mM Gluconic acid
Column: TSK-GEL IC-620SA
Detector: 200 μS/cm, 50 G

照)

これらのイオン種が同時に存在する試料は見当らないが、ありふれたイオン種 (common anion) は PO₄³⁻, Cl⁻, NO₂⁻, NO₃⁻, SO₄²⁻ であり、従来個別に比色、滴定あるいは比濁法で測定されていたものが、イオンクロマトにより高感度かつ迅速分離定量が可能となった。紙面の都合上、充てん剤の個々の特性については別の機会にゆずるが、ここでは代表的な測定例について報告する。

[1] IC-620充てん剤の応用

Common Anion についての測定例を異なった溶離液を用いて行った場合のクロマトグラムを Fig. 17, 18 に示す。また溶離液を塩基性にした場合の例を Fig. 19 に示す。

Fig. 20 は、フッ素と塩素における検出限界を見たもので 1 ppm 以下の微量イオン種が精度良く分析されている。

Fig. 21 は、試料に工場廃水を用い、前処理前のクロマトグラムと前処理後のクロマトグラムを比較したものである。

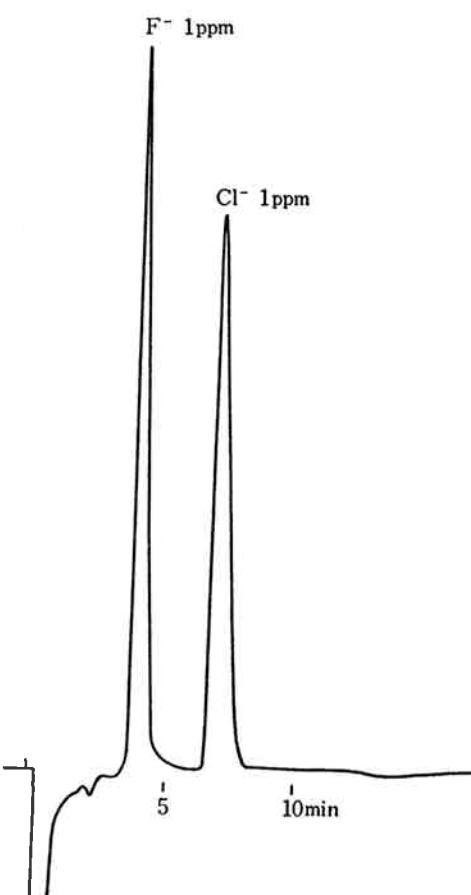


Fig. 20 Analysis of fluoride and chloride anions.

Eluent: 2 mM Benzoic acid, pH 5.5
Column: TSK-GEL IC-620SA
Detector: 200 μS/cm, 50 G

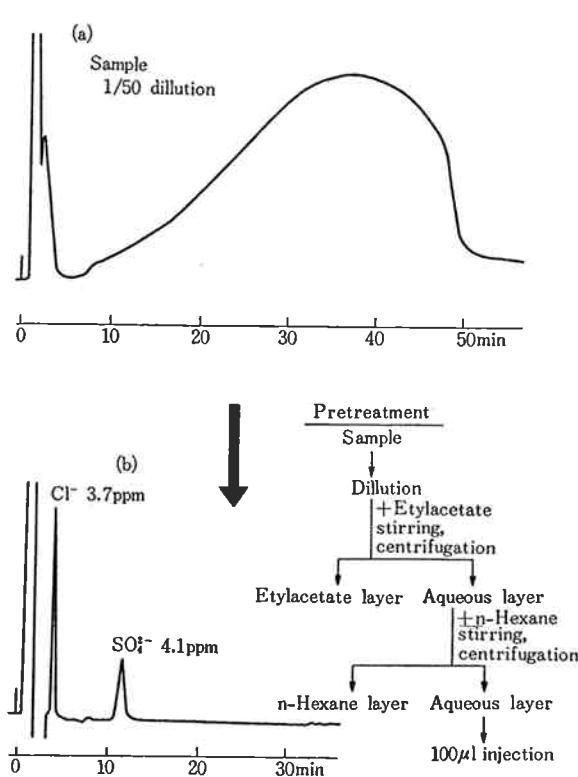


Fig. 21 Application to plant wastewater
Eluent: 1 mM Phthalate, pH 6.5
Column: TSK-GEL IC-620SA
Detector: 200 μ S/cm, 50 G

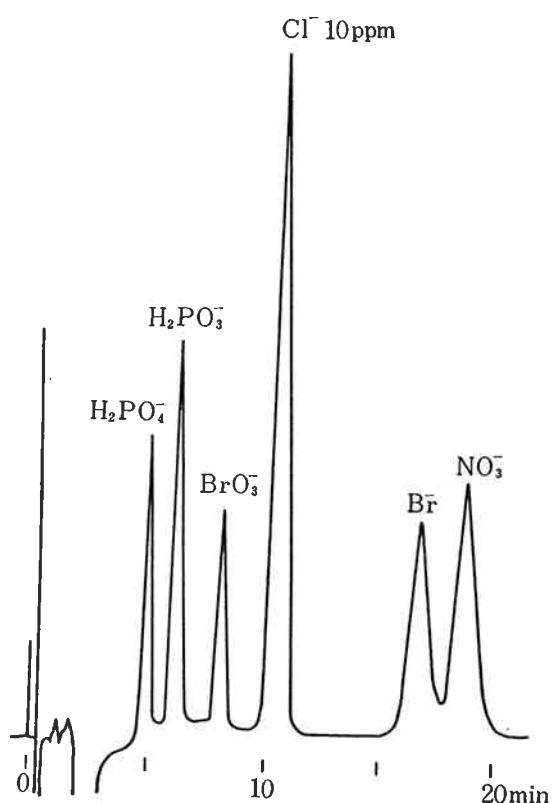


Fig. 22 Analysis of weak anions
Eluent: 1 mM Tartaric acid, pH 3.2
Column: TSK-GEL IC-520SA
Detector: 200 μ S/cm, 50 G

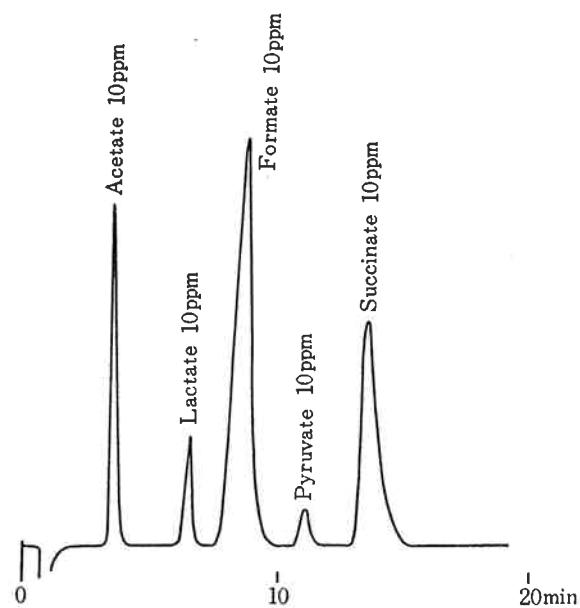


Fig. 23 Analysis of organic acids
Eluent: 1 mM Phthalate, pH 4.5
Column: TSK-GEL IC-520SA
Detector: 200 μ S/cm, 50 G

〔2〕 IC-520充てん剤の応用

Fig. 17 および **18** での溶離液条件とカラムでは、Cl⁻より選択係数の小さいイオンは負のディップに妨害されて検出されないが **Fig. 22** の条件にすると測定できる様になる。また **Fig. 22** は近年、食品添加剤で社会問題となっている臭素酸 (BrO₃⁻) が測定できる例である。

Fig. 23 は、無機陰イオン以外の分離例として有機酸を測定したものである。

〔3〕 IC-210充てん剤の応用

Fig. 24 にアルカリ金属イオンの分離例を示す。

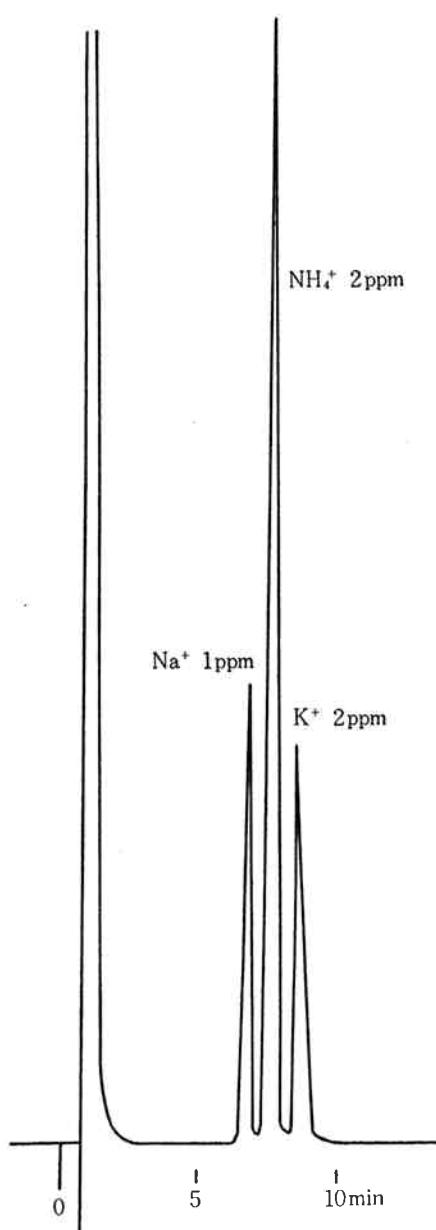


Fig. 24 Analysis of sodium, ammonium and potassium ions

Eluent: 2 mM HNO₃
Column: TSK-GEL IC-210SC
Detector: 200 μ S/cm, 10 G

5. まとめ

水溶液中に存在する種々のイオン種の同時分析を目的としたイオンクロマトグラフ HLC-601 を開発し、種々の有用な知見を得た。

現在イオンクロマトグラフは色々な応用分野で使われ始めようとしているが、従来のサプレッサ方式はイオン交換体と溶離条件が固定化されており、未知試料のイオン種を同定する武器（道具）としては致命的な欠陥を保有している。

我々は、これまで蓄えられてきた高速液体クロマトグラフ技術の延長線上に HLC-601 を位置づけ、ノンサプレッサ方式のイオンクロマトグラフを選んだ。

この理由は、未知試料のイオン種を同定する際、種々のイオン交換カラムと種々の溶離液組成を選択できるボテンシャルが高く、将来新たな検出手法が開発できた時にも即応できるシステムを目指したからである。

HLC-601 の開発を計画した 2 年前と比較し、イオンクロマトは装置面でもマイクロボア化が指向され、応用面でも、前処理方法の検討を含む実試料の測定報告が増加しつつある。この様な中にあって、我々開発に携わったものとしては、更に HLC-601 をより高感度で、広い分野への応用を進めて行きたいと考えている。

最後に HLC-601 の開発にあたり、多大な御協力をいただいた方々に感謝します。

文 献

- 1) R. Wickbold; *Z. Anal. Chem.*, 132, 401 (1951).
- 2) 滝野 潔, 滝野吉雄; “分析化学”, 10, 483 (1961).
- 3) Y. Takata, G. Muto; *Anal. Chem.*, 45, 1864 (1973).
- 4) H. Small, T. S. Stevens, W. C. Bauman; *ibid*, 47, 1801 (1975).
- 5) D. T. Gjerde, J. S. Fritz; *J. Chromatogr.*, 176, 199 (1979).
- 6) D. T. Gjerde, J. S. Fritz; *ibid*, 186, 509 (1979).
- 7) C. A. Paul, E. L. Johnson; *J. Chromatogr. Sci.*, 18, 442 (1980).
- 8) D. T. Gjerde, J. S. Fritz; *J. Chromatogr.*, 53, 2324 (1981).
- 9) 佐藤寿邦; “分析化学”, 31, 97 (1982).
- 10) 佐藤寿邦; *ibid*, 31, T23 (1982).
- 11) 石橋信彦; “旭硝子工業技術奨励会報告”, 33, 47 (1978).
- 12) 田辺信三, 戸井田敏彦, 緒方惟治, 田口清水, 今井 登志男; “分析化学”, 30, 30 (1981).
- 13) 寺部 茂, 山本 潔, 安藤貞一; “旭硝子工業技術奨励会報告”, 39, 131 (1981).
- 14) 特許出願, S. 56. 5. 16, 東洋曹達工業(株).