

陽イオン交換カラムを用いた陰イオン，陽イオンの分離

徳 永 裕 司
 椎 木 浩 司
 岡 田 忠 司

Separation of Anions and Cations on the Cation Exchange Column

Yuji TOKUNAGA
 Kouji SHIIGI
 Tadashi OKADA

Simultaneous separation of strong acids, weak acids, alkali metal ions and ammonium ion has been achieved by using the cation exchange column without a gradient elution. The ratio of free proton concentrations between an exchanger phase and an outer solution phase was found to be one of the important separation factors, and skillful separation may be accomplished by the variations of this ratio. Double bonded organic acids such as crotonic acid, which can interact with an exchanger skeleton, are excellent eluents for the sensitive separation monitored by electric conductometer or UV spectrophotometer.

1. はじめに

電気伝導度または紫外吸収検出を用いたイオンクロマトグラフィーは，多くのイオン分離に利用されている装置である。その中でも，弱酸イオン分離はイオン排除クロマトグラフィーという分離モードで行われている。

イオン排除クロマトグラフィーとは，イオン交換カラム固定相と同電荷のイオン (co-ion) は固定基から静電的反発を受けて，交換体相 (固定相) から排除されることを利用した分離法である。つまり，イオン交換クロマトグラフィーとは逆に，陽イオン交換カラムで陰イオンを分離する方法である。1953年に Bauman と Wheaton によって塩酸と酢酸の分離がなされて以来，数多くの分離例が報告されている¹⁻⁹⁾。しかしながら，これらの報告は有機酸の分離が主で，溶液中での実際の電荷が 0 ～ -1 価程度の弱酸不完全解離状態における分離に過ぎな

い。また，分離の対象となる試料イオンの性質や構造とクロマトグラフィーにおける溶出挙動の定量的説明はなされていない。

本研究のイオン排除クロマトグラフィーでは，-1 価以下の高電荷イオン (弱酸イオン) の分離まで対象を拡張，これらの溶出挙動に定量的説明を与えることが一つの目的である。溶出挙動が明らかとなれば，イオン交換体の交換容量もしくは溶離液濃度を調節することにより，分離対象イオンに最適な溶離条件を見積ることができる。

このようにして，陽イオン交換カラムを用い，弱酸の分離にとどまらず，排除イオン (陰イオン) から吸着イオン (陽イオン) までの広い領域での分離を行い，その定量性及び検出限界について考察した。

2. 理 論

(1) 陽イオン交換カラムの構造とイオンの溶出挙動

イオン交換カラム内には通常、数〜数10ミクロン粒子径のポリマー充填剤が入っており、そのポリマー粒子間を溶媒とともに溶質が移動する間に、溶質は外液相（もしくは溶離液相、移動相ともいう）と交換体相（もしくは固定相）で分配を繰り返し、溶質同志が分離されていく。つまり、陽イオン交換カラム内体積は、分離機構から考えると、大きく3つの部分から成る。その1つは間隙体積（もしくは外液相体積、 V_0 ）で、均一粒子径球体の最小間隙率27.8%より一般に大きく、全カラム内体積の約35%程度を占める。2つめはイオン交換体内部でイオン交換基によりイオン交換あるいはイオン排除を行う交換体相が占める体積（ V_D ）で、全カラム体積の約55%程度ある。残りはイオン交換体内部でポリマー鎖の架橋部分など立体的に入り込んだ部分に相当するもので、この部分には溶離液ばかりでなく溶質も浸入することはできず、分配に対して全く相互作用不活性で利用できない部分が全カラム体積の約10%程度ある。これを骨格体積（ V_{sk} ）と呼ぶ。従って、全カラム体積（ V_t ）は次式で表わされる。

$$V_t = V_0 + V_D + V_{sk} \quad \dots\dots(1)$$

また、溶質である試料イオン（ X^{n-} ）のカラムからの溶出体積（ V_e ）は、外液相と効果体相への試料イオンの分配の割合によって決まり、次式のようになる。

$$K_D = \frac{\bar{a}_X - V_e - V_0}{a_X - V_D} \quad \dots\dots(2)$$

ただし、 K_D は試料イオンの分配係数、 \bar{a}_X および a_X はそれぞれ交換体相中および外液相中の活量を示す。

(2)式から、交換基から完全に排除されて交換体相に全く入れないイオンは、分配係数 $K_D=0$ 、つまり $V_e=V_0$ に溶出する (Fig. 1)。イオン排除もイオン交換も何ら相互作用を受けない無電荷種（水、エタノール等）は、外液相と交換体相の区別なく自由に入り込めるので、分配係数 $K_D=1$ 、つまり $V_e=V_0+V_D$ の位置に溶出する。結果的に、排除イオンは $0 \leq K_D \leq 1$ の間の分配係数をもち、カラム注入後、全カラム体積の35〜90%以内に溶出することになる。この領域をイオン排除領域という。これに対し、交換基と反対電荷をもつイオン（counter ion）は、イオン交換吸着して、分配係数 $K_D \geq 1$ となり、全カラム体積の90%以上の位置に溶出してくる。この領域をイオン交換吸着領域という。

(2) ドナン平衡

B^+ 型陽イオン交換カラムと1価−1価電解質 B^+A^- 溶離液中に $-x$ 価の試料イオン X^{x-} を注入した場合、

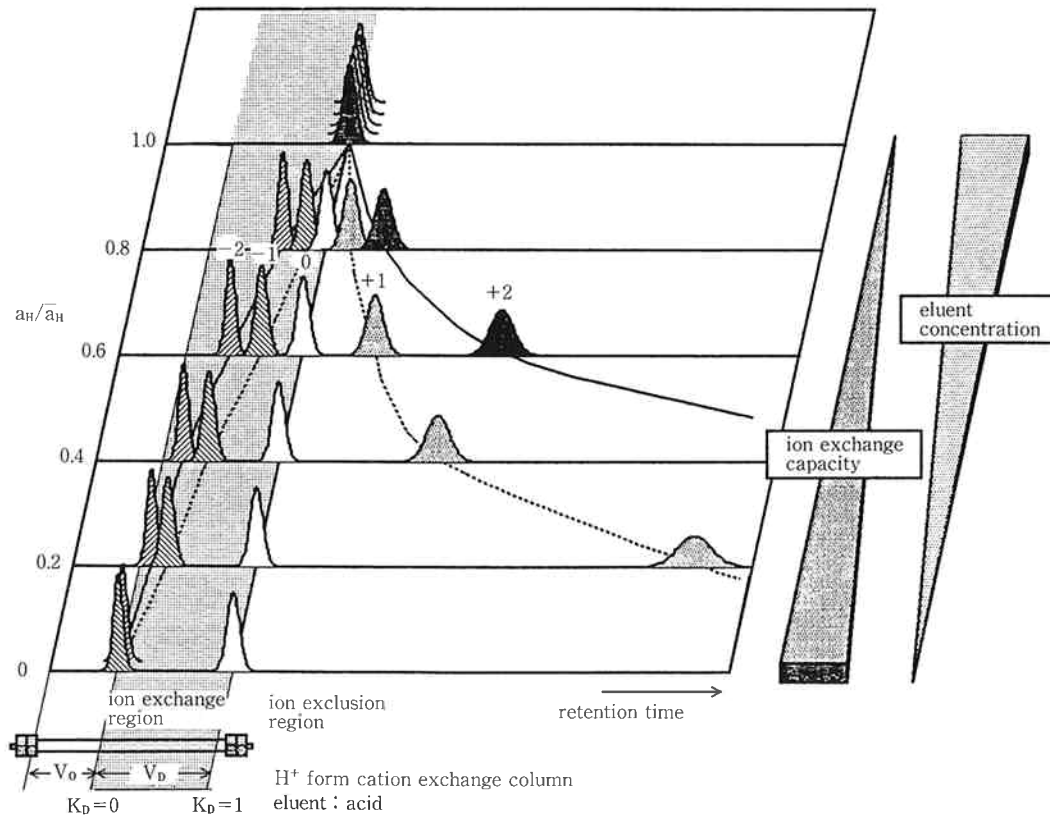


Fig. 1. The elution behavior of anions and cations on cation exchange column.

2相分配における平衡時の化学ポテンシャルから次式のドナン平衡式が導かれる。

$$a_B \cdot a_A = \bar{a}_B \cdot \bar{a}_A \quad \dots\dots(3)$$

$$a_B^x \cdot a_X = \bar{a}_B^x \cdot \bar{a}_X$$

(3)式を(2)式に代入して、

$$\log K_D = \log \left(\frac{\bar{a}_X}{a_X} \right) = x \cdot \log \left(\frac{\bar{a}_B}{a_B} \right) \quad \dots\dots(4)$$

となる。溶離液濃度一定のもとでは a_B/\bar{a}_B は一定であり、 $\log K_D$ はイオンの電荷のみに比例することになる。また、 a_B/\bar{a}_B は必ず1よりも小さいので、電荷が大きいイオンほど K_D は小さくなり、早く溶出することになる。

溶離液に酸を用いた場合、イオン排除クロマトグラフィーにおいては交換基の counter ion であるプロトンイオンの外液相中と交換体相中の濃度(活量)比が分離 factor となる。つまり、濃度比 a_H/\bar{a}_H を変化させることにより、いろんな分離が可能となる (Fig. 1)。

3. 実 験

(1) 試 薬

研究に用いた試薬はすべて市販特級品である。ただし、一3価標準試料のトリメタリン酸3ナトリウム塩は九大理学部分析研究室で合成・精製したものを使用した。

(2) 装 置

分離系を単純化するため、装置は最も基本的構造からなっている。溶離液をポンプ (CCPD, 東ソー) から 0.5~2.0 ml/min の流速で陽イオン交換カラム (TSKgel CM-5PW もしくは TSKgel SP-5PW, 7.5 mm I.D.×7.5 cm, 東ソー) に試料イオンを搬入し、カラム恒温槽 (CO-8000, 東ソー) 中で 35°C 一定に保ちながら分離後、電導度計 (CO-8000, 東ソー) と UV 検出器 (UV-8 Model II, 東ソー) にて試料イオンを検出した。試料イオン注入量は 100 μ l である。また、データ解析のためにデータプロセッサ (クロマトパック CR-2, 津島) を用いている。

4. 結果と考察

(1) 溶離液と陽イオン交換体

イオン排除クロマトグラフィーの分離 factor は、外液相中と交換体相中の counter ion 濃度比である。この濃度比は、溶離液濃度もしくは交換容量を調節することで変えられる。一般に、排除イオンの分離に対して、濃度比は大きい程有利である。この濃度比を大きくする方法として、1) 溶離液濃度を大きくする、もしくは2)

交換容量を小さくするのいずれかによって可能である。しかしながら、検出器に電導度計を用いている関係上、溶離液濃度を大きくするには限界がある。従って、溶離液に酸を、分離カラムに弱酸性陽イオン交換体を用い、交換基の一部をプロトン化させて、有効交換容量と低減する方法が有利である。

また溶離液には炭素二重結合をもつ有機酸(クロトン酸)を用い、溶離液ピークを遅延させることにより試料ピークとの重なりを回避した。つまり、クロトン酸は、溶離液濃度だけでなく交換容量を制御することができ、その溶離液ピークは試料イオンピークに影響を与えない優れた溶離液である。

(2) 弱酸の分離

弱酸同志の分離では、プロトン濃度比は小さくてもよく、溶離液濃度 0.1~2 mM クロトン酸の範囲で検討した。20種類程度の弱酸についてその溶出挙動を調べ、その結果、弱酸の分離に対しては 0.5~1 mM クロトン酸が最適であった。1 mM クロトン酸によるいくつかの弱酸の分離を Fig. 2 に示す。また、Table 1 に各々の弱酸の溶出位置から算出される分配係数と解離定数から算出される溶液中での実効電荷を示す。分配係数と実効電荷を比較すると、弱酸の実効電荷が小さくなるに従い、分配係数が大きくなり、カラムからの溶出が遅くなる傾向にある。つまり、これらのイオンはイオン排除的に溶

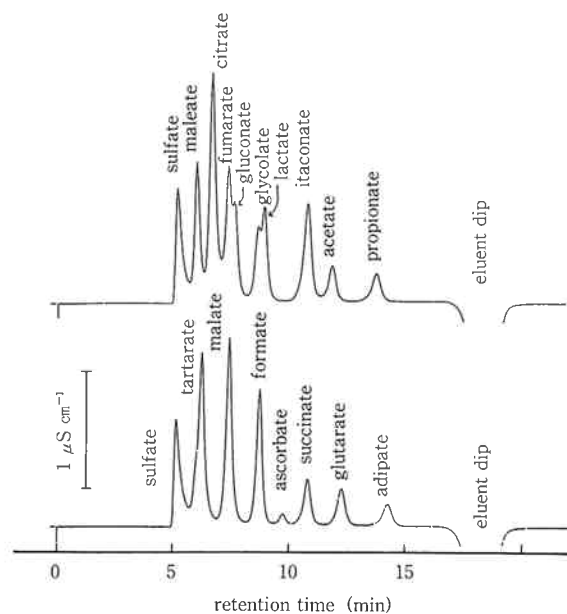


Fig. 2. The separation of weak acids.
column: TSKgel CM-5PW
(7.5 mm×7.5 cm×4)
eluent: 1 mM crotonic acid
flow rate: 1 ml/min
sample: each 10⁻⁵ M order; 100 μ l

Table 1 Relation Between Distribution Coefficient and Charge.

species	V_e	K_D	charge
sulfate	5.07	0.059	2.000
chloride	5.73	0.150	1.000
oxalate	5.73	0.150	1.257
maleate	5.88	0.170	0.983
tartarate	6.00	0.187	1.094
citrate	6.52	0.258	0.909
fumarate	7.14	0.343	1.009
malate	7.20	0.351	0.640
gluconate	7.51	0.394	0.483
glycolate	8.49	0.528	0.466
formate	8.54	0.535	0.523
lactate	8.74	0.562	0.460
ascorbate	9.58	0.678	0.121
itaconate	10.47	0.800	0.349
succinate	10.56	0.812	0.201
acetate	11.66	0.963	0.097
glutarate	12.07	1.019	0.161
propionate	13.59	1.228	0.077
adipate	14.06	1.292	0.500
butyrate	16.90	1.682	0.093

離していることになる。しかしながら、有機酸は、無機酸と異なり、立体構造的に電荷をもつ親水部分と炭化水素からなる疎水部分が存在し、点電荷というよりも電荷が局在化した電気モーメントをもつイオンであり、従って、電荷部分ではイオン排除効果が、疎水部分では他の効果（吸着など）が働き、分配係数に微妙な変化をもたらしていると考えられる。その中でも分配係数が1よりも大きい有機酸（グルタル酸、プロピオン酸、アジピン酸、酪酸）は交換体骨格との $\pi-\pi$ 相互作用で強い吸着現象を併って溶出している。

(3) 強酸・弱酸の分離

強酸を含む陰イオンの分離では、弱酸のみの分離よりもやや濃い溶離液を用いれば良く、1~10 mM クロトン酸溶離液で検討した。その結果、溶液中での実効電荷が-3価のトリメタリン酸、-2価の硫酸と-1価の塩酸である強酸イオンを、ギ酸、コハク酸と酢酸の弱酸イオンとともに、5 mM クロトン酸溶離液で分離した (Fig. 3)。この様に、強酸を含む全陰イオンの分離に関する液体クロマトグラフィー例は数少く、この分離により、優れた分離法の1つとしてイオン排除クロマトグラフィーは位置付けられたと考える。

(4) 陰イオンと陽イオンの一斉分離

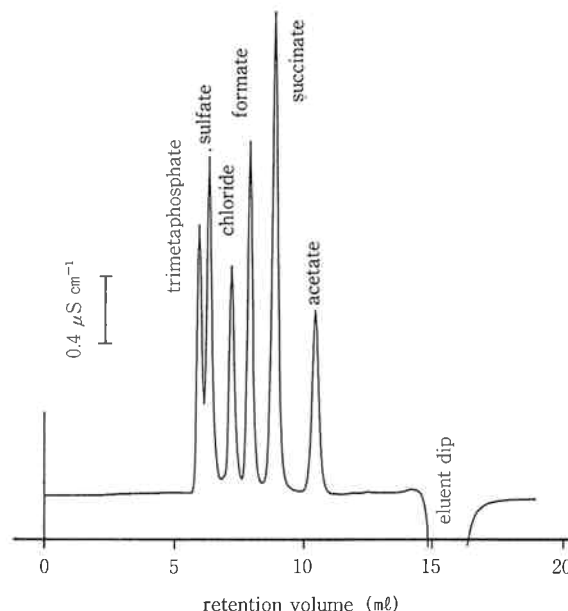


Fig. 3. The exclusive separation of strong acids and weak acids.

column: TSKgel CM-5PW
(7.5 mm × 7.5 cm × 4)

eluent: 5 mM crotonic acid

flow rate: 0.5 ml/min

sample: each 10^{-5} M order; 100 μ l

陽イオン交換カラムを用いている関係上、イオン排除的に陰イオンを分離するばかりでなく、当然陽イオン交換分離も可能である。しかし、陽イオンを分離する場合は、強酸イオン分離の場合よりさらに、遊離プロトン濃度比を大きくする必要がある。また TSKgel CM-5PW では1価陽イオンが分離できないので、この一斉分離には強酸性陽イオン交換カラム TSKgel SP-5PW を用いている。ただし、イオン交換基がスルホン基であり、プロトネーションだけでは交換容量を低減できない。そこで微量の陽イオン性キレート剤を溶離液に添加すれば、常時カラム内で均一に一定の割合で交換基がマスクされ、交換容量が低減される。トリエチレンテトラミンは多価キレートで交換基と強く結合し、溶離液中に微量添加すれば効果があるため、トリエチレンテトラミンの溶離液ピークは極端に小さく、全くクロマト上に現われない。

溶離液濃度・添加剤濃度を検討した結果、最適条件 2 mM クロトン酸と 10^{-7} M トリエチレンテトラミンの溶離液で-2価の硫酸、-1価の硝酸、弱酸であるギ酸と酢酸と、クロトン酸溶離液ピークを挟んで、+1価のリチウム、ナトリウム、アンモニウム、カリウムイオンまでを約20分以内に分離した (Fig. 4)。

以上のように、溶離液濃度もしくは交換容量を変化さ

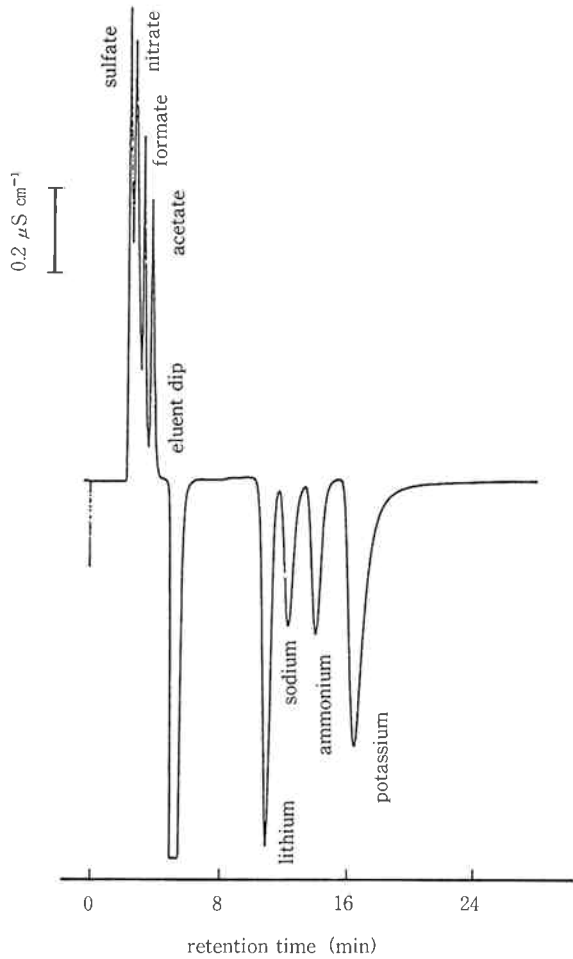


Fig. 4. The simultaneous separation of anions and cations.
 column: TSKgel SP-5PW
 (7.5 mm × 7.5 cm × 2)
 eluent: 2 mM crotonic acid
 2 × 10⁻⁷ M trien
 flow rate: 1.5 ml/min
 sample: each 10⁻⁵ M order; 100 μl

せるだけで、陽イオン分離であるイオン交換クロマトグラフィーを含めたイオン排除クロマトグラフィーで目的に応じたいろいろな分離が可能であることがわかった。

(5) 定量性と検出限界

検量線作成のため各濃度の試料イオンについて3~4回溶解し、クロマトパックデータ処理装置でそのピーク面積の平均を求め、最小二乗法で検量線を算出した (Fig. 5)。

硫酸イオンは 10⁻⁵~10⁻⁷ M の濃度範囲で測定し、各濃度で電導度計とクロマトパックの感度をスケールアウトしないように調節している。いくつかの検量線を Fig. 6 に示す。Fig. 6 中のそれぞれの検量線はきれいな直線性を示している。ただし、正確に原点を通らないのは塩素イオン混入のためである。

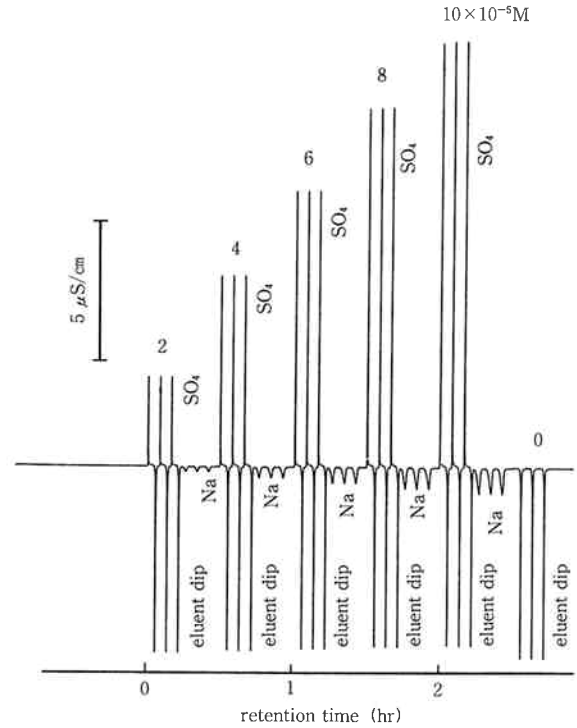


Fig. 5. The sodium sulfate chromatogram for the calibration.

column: TSKgel CM-5PW
 (7.5 mm × 7.5 cm)
 eluent: 2 mM crotonic acid
 flow rate: 1 ml/min

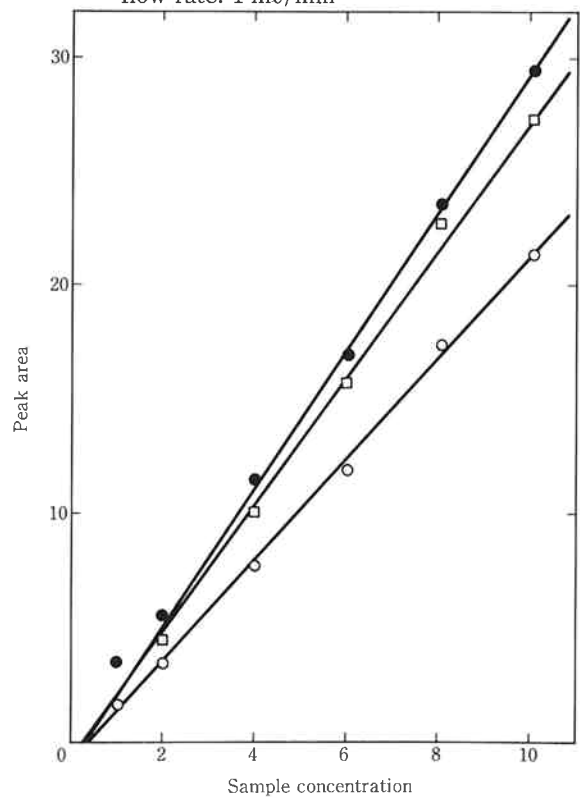


Fig. 6. The calibration curves for sulfate ion (10⁻⁵ to 10⁻⁷ M).
 ●; 10⁻⁵ M H₂SO₄ (ordinate scale × 10⁵),
 □; 10⁻⁶ M H₂SO₄ (× 10⁴), ○; 10⁻⁷ M H₂SO₄ (× 10³)

Table 2 Slope of Calibration Curves and Elution Conditions.

sample ion		eluent conc. (mM)	number of column	sensitivity		slope of calibration (Sa · 2 ^{ATTEN} · μS/C · cm)	
				μSFS	ATTEN	SO ₄ ²⁻	Na ⁺
10 ⁻⁵ M	H ₂ SO ₄	0.5	4	50	2	3.15 × 10 ¹¹	—
	"	2	2	5	1	3.05 × 10 ¹¹	—
"	Na ₂ SO ₄	2	1	50	3	3.13 × 10 ¹¹	0.71 × 10 ¹¹
	"	2	1	50	3	3.12 × 10 ¹¹	0.66 × 10 ¹¹
10 ⁻⁶ M	H ₂ SO ₄	0.5	4	5	1	2.79 × 10 ¹¹	—
	"	0.5	1	50	2	2.67 × 10 ¹¹	—
"	Na ₂ SO ₄	2	1	20	3	3.12 × 10 ¹¹	0.69 × 10 ¹¹
10 ⁻⁷ M	H ₂ SO ₄	0.5	4	0.1	7	2.79 × 10 ¹¹	—

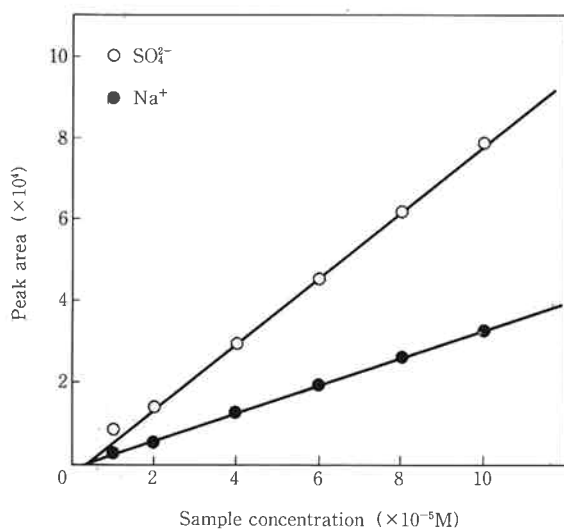


Fig. 7. The calibration curves for sulfate and sodium ions (10⁻⁵ M Na₂SO₄).
○; sulfate ion, ●; sodium ion

これらの検量線傾きは生データによるものであり、電導度計とデータ処理装置の感度で補正すれば、Table 2 に示すように、溶離液濃度と使用したカラム本数が異なっても、傾きはほぼ同じ値になり、測定濃度全範囲内において定量性があることがわかる。

試料が硫酸ナトリウムの場合、ナトリウムイオンも同時に定量することができる。Fig. 7 にその検量線を示す。ナトリウムイオンの当量モル電導度 (約 50 μS/cm·mol) は硫酸イオン (約 80 μS/cm·mol) と比べて小さく、また遅く溶出するためピーク形がブロードになり感度は低いが、Fig. 7 に示すように検量線はよい直線性を示す。また検出感度で補正した傾きを Table 2 に示す。

7種の弱酸 (酒石酸, リンゴ酸, ギ酸, コハク酸, グルタル酸とアジピン酸) についても 10⁻⁵~10⁻⁷ M オー

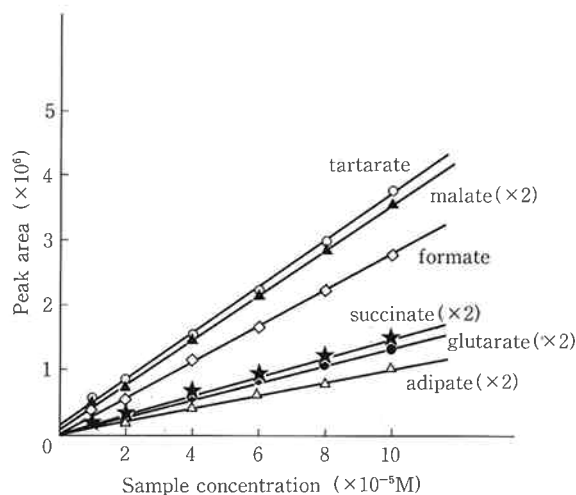


Fig. 8. The calibration curves for weak acids (10⁻⁵ M).
column: TSKgel CM-5PW
(7.5 mm × 7.5 cm × 2)
eluent: 0.5 mM crotonic acid
flow rate: 1 ml/min
sample: 100 μl
(×2) means twice concentration.

ダの試料イオン濃度で測定した結果、弱酸もきれいな直線性のある検量線を示しているが、微量領域 (10⁻⁷ M オーダ; 重量濃度で数 10 ppb オーダ) において、解離定数の小さな弱酸 (コハク酸, グルタル酸とアジピン酸) ほど下に凸な曲線となっている (Figs. 8~10)。従って 10⁻⁷ M オーダが弱酸の定量限界と考えられる。

(6) 検出限界

数 mM クロトン酸を溶離液に用いた場合でもクロマトベースラインの電導度は数 10 μS/cm と非常に低く、サプレッサカラムなどで溶離液イオンの制御する必要なしに、直接・高感度に試料イオンを測定できる。

しかしながら、試料イオン濃度が微量になるに従い、

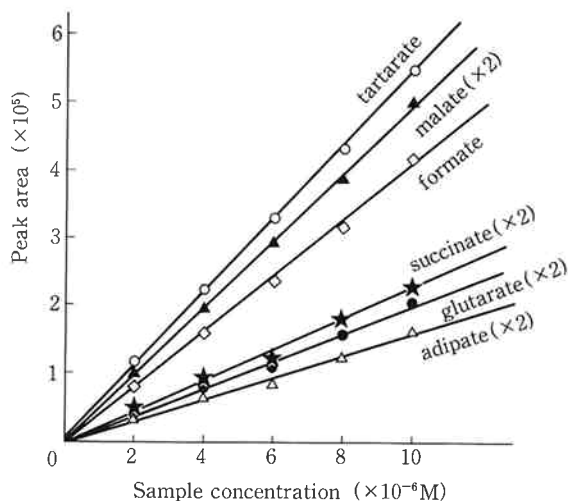


Fig. 9. The calibration curves for weak acids (10^{-6} M). ($\times 2$) means twice concentration.

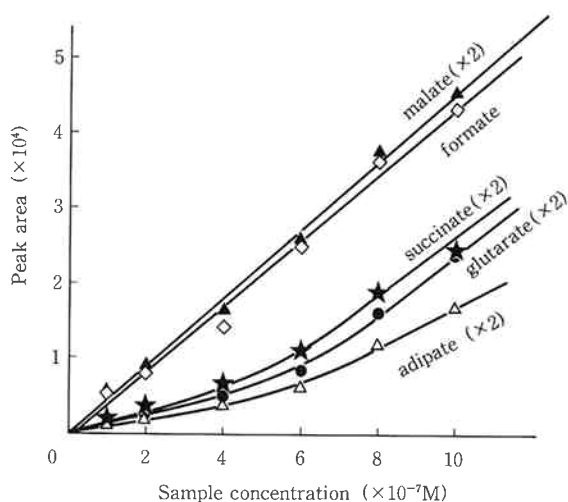


Fig. 10. The calibration curves for weak acids (10^{-7} M). ($\times 2$) means twice concentration.

溶離液に用いているクロトン酸中の不純物もしくは試料溶液中に混入した汚染物質が検出に影響を及ぼすようになる。Fig. 11 の下のクロマトが純水を試料として溶離させた図で、クロトン酸中に含まれていた不純物が負ピークの形で、純水中に混入した塩素イオンが正ピークの形で現われている。これらのピークが試料イオンピークと重なると、正確な分析ができなくなる。従って、Fig. 11 の上のクロマトの 10^{-7} M 試料イオン濃度、重量濃度にして数 10 ppb 程度が不純物の影響なく検出できる限界であると考えられる。

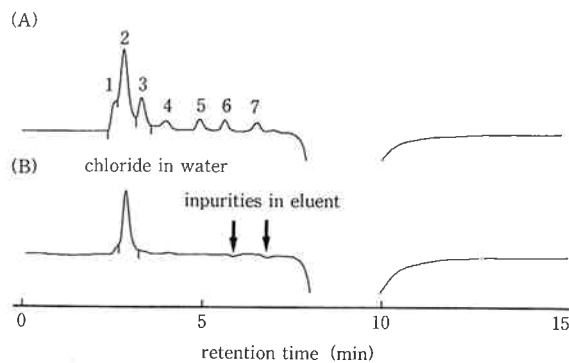


Fig. 11. The relation between the limit of detection and the impurities in eluent or sample solution.

(A) chromatogram of the sample includes 1; 1×10^{-7} M sulfate, 2; 1×10^{-7} M tartarate, 3; 2×10^{-7} M malate, 4; 1×10^{-7} M formate, 5; 2×10^{-7} M succinate, 6; 2×10^{-7} M glutarate, 7; 2×10^{-7} M adipate. (B) includes only water.

5. 結 論

分離 factor の1つとして交換基の counter ion 濃度が考えられ、例えば溶離液に酸を用いた場合、交換体相と外液相のプロトン濃度比を試料イオンの電荷によって、溶出挙動が定量的に説明された。このプロトン濃度比を溶離液濃度もしくは交換容量を調節することにより分離しようとするイオンに対する最適条件が得られ、弱酸を中心とした分離、強酸・弱酸の分離、陰イオンと陽イオンの一斉分離を行った。

また、溶離液に用いたクロトン酸の溶離液ピークは試料イオンピークと重なることなく、そのクロマトベースライン電導度も非常に低く、試料イオンを定量的かつ高感度に検出できる。

文 献

- 1) R. M. Wheaton and W. C. Bauman; *Ind. Eng. Chem.*, **45**, 228 (1953)
- 2) D. W. Simpson and W. C. Bauman; *Ind. Eng. Chem.*, **46**, 1958 (1954)
- 3) T. Yoshino, M. Matsushita and M. Sugihara; *Kagaku to Kogyo*, **34**, 164 (1960)
- 4) D. Saunders and R. L. Pecsok; *Anal. Chem.*, **40**, 44 (1968)
- 5) G. A. Harlow and D. H. Morman; *Anal. Chem.*, **36**, 2438 (1964)

- 6) J. Lehotay and M. Traiter; *J. Chromatogr.*, **91**,
261 (1974)
- 7) K. Tanaka and J. S. Fritz; *J. Chromatogr.*, **361**,
151 (1986)

- 8) K. Tanaka and J. S. Fritz; *J. Chromatogr.*, **409**,
271 (1987)
- 9) K. Fujimura and M. Tsuchiya; *Bunseki Kagaku*
(*Japan Analyst*), **37**, 549 (1988)



著 者
氏名 徳 永 裕 司
Yuji TOKUNAGA
入社 昭和59年4月2日
所属 研究本部
化学研究所
第五研究室
副主任研究員



著 者
氏名 椎 木 浩 司
Kouji SHIIGI
入社 昭和55年3月17日
所属 研究本部
化学研究所
第五研究室



著 者
氏名 岡 田 忠 司
Tadashi OKADA
入社 昭和46年4月6日
所属 研究本部
化学研究所
第五研究室
第五研究室長