

## 報 文

カーボン充てんカラムを用いたイオンクロマトグラフィー  
による無機陰イオンの定量長 島 潜<sup>®\*</sup>, 岡本 利光<sup>\*\*</sup>

(1994年9月1日受付)

(1994年10月17日審査終了)

高温焼成によって調製された新規カラム充てん剤であるセラミックカーボンに着目し、無機陰イオンのイオンクロマトグラフィー (IC) に適用した。水酸化テトラブチルアンモニウム及びアセトニトリルを含む炭酸ナトリウム系移動相を用い、サプレッサー及び電気伝導度検出器を組み合わせた IC により、標準的 8 種陰イオン ( $F^-$ ,  $Cl^-$ ,  $NO_2^-$ ,  $Br^-$ ,  $NO_3^-$ ,  $SO_4^{2-}$ ,  $HPO_4^{2-}$  及び  $I^-$ ) の溶離挙動を調べた。移動相の組成及びカラム温度の検討により、8 種イオンを 14 分以内に良好に分離定量することができた。各イオンの検量線は相関係数 0.999 以上を示し、又繰り返し測定による相対標準偏差は 0.2~0.9% ( $n=10$ ) と、良い再現性を示した。又、一部のパラメーターを変えることにより疎水性イオン ( $I^-$ ,  $S_2O_3^{2-}$  及び  $SCN^-$ ) の分離にもそのまま適用できた。

## 1 緒 言

イオンクロマトグラフィー (以下 IC と略記) では低濃度の溶離液を用いるため、固定相には低い交換容量のイオン交換体を用いられている。無機陰イオンの場合、スチレン-ジビニルベンゼン共重合体を基材とする表面機能型、あるいは親水性ポリメタクリレート及びポリビニルアルコールを基材とする全多孔性機能型のイオン交換体充てんカラムが一般に使用されている<sup>1)</sup>。著者らもこれまでに、同カラムにより日常的なイオン種の分析を行ってきたが<sup>2)~5)</sup>、分析目的に適合した交換容量、疎水性の性質を持ったイオンを含む多種イオンの一斉分析、耐久性及び耐有機溶媒性等の点で、幾つかの問題点を指摘することができる<sup>1)3)5)</sup>。最近、高温焼成によって調製された新規カラム充てん剤であるセラミックカーボンは、pH 1~14 という広い範囲で、かつ各種有機溶媒の使用が可能であり、物理的な強度にも優れていることから高速液体クロマトグラフィー (HPLC) の分野で期待されている<sup>6)~8)</sup>。

今回、カーボン充てんカラムに着目し、第四級アンモニウムイオンを含む炭酸ナトリウム系移動相を用い、感度の優れたサプレッサー型 IC に適用するため、標準

的 8 種無機陰イオンの溶離挙動を調べた。移動相中の対イオン及びアセトニトリル濃度、カラム温度等の検討より、それらの 8 種陰イオンを精度よく迅速に分離定量することができた。又、一部のパラメーターを変えることにより、疎水性の性質を持ったヨウ化物イオン、チオ硫酸イオン及びチオシアン酸イオンの分離にも適用できることが分かったので、併せて報告する。

## 2 実 験

## 2.1 装 置

Dionex 製 4500i 型イオンクロマトグラフにバイオテックリサーチ製のカーボン IC BI-02 カラム (4.6 mm i.d.×50 mm, 粒子径平均 3  $\mu$ m, 炭素含量 99.5% 以上) を取り付け、カラムは東亜電波工業製 ICA-3052 型恒温槽に内蔵した。又、サプレッサーには含有機溶媒の使用可能な Dionex 製陰イオンマイクロメンブランサプレッサー (AMMS-MPIC) を用い、データ処理には日立製作所製 D-2500 型インテグレーターを用いて構成した。

## 2.2 試 薬

移動相に用いる炭酸ナトリウム溶液は、和光純薬工業製特級品より 1 M 溶液を調製し、適当な濃度に希釈して使用した。又、アセトニトリルは同社製 HPLC 用試薬を用いた。水は再蒸留水を更に日本ミリポア製の

\* 三共(株)分析代謝研究所: 140 東京都品川区広町 1-2-58

\*\* 三共(株)品川工場: 140 東京都品川区広町 1-2-58

MilliQ-II で処理して使用した。

標準試料溶液 ( $F^-$ ,  $Cl^-$ ,  $NO_2^-$ ,  $Br^-$ ,  $NO_3^-$ ,  $SO_4^{2-}$ ,  $I^-$ ,  $S_2O_3^{2-}$  及び  $SCN^-$ ) はいずれも和光純薬工業製特級品のナトリウム又はカリウム塩を用いて調製した。

対イオンとして用いる水酸化テトラブチルアンモニウム (以下 TBA と略記) は Dionex 製 0.1 M 溶液をその都度希釈して使用した。なお、一般に市販されている TBA 試薬中には臭化物イオンを含む場合があるので注意を要する。通常のバックグラウンド電気伝導度は  $9\sim 12\ \mu S/cm$  であったのに対し、臭化物イオンを含む TBA 試薬では  $40\sim 50\ \mu S/cm$  となり、ベースラインの安定性並びに分離能は著しく低下した。

### 2.3 測定条件

IC の測定条件を Table 1 に示す。標準的 8 種陰イオンの移動相組成及びカラム温度を同表中の Eluent-1 に、又疎水性イオンの分離条件を Eluent-2 にそれぞれ示す。移動相及び再生液 (12.5 mM 硫酸) のいずれも毎分 1.0 ml の流量で流し、ベースラインを安定化させたのち試料溶液を注入する。ベースラインの定常化には約 30 分を要する。最適条件 (Table 1) における 8 種イオンのイオンクロマトグラムを Fig. 1 に示す。

## 3 結果及び考察

### 3.1 移動相中の炭酸ナトリウム・炭酸水素ナトリウム濃度の影響

サプレッサー型 IC には、一般に炭酸ナトリウム-炭酸水素ナトリウム系の溶離液が用いられている。そこで、移動相中の TBA 濃度を 1 mM に、アセトニトリル濃度を 5% と一定にし、両炭酸塩の濃度比による各陰イオンの溶離挙動を調べた。結果を Fig. 2 に示す。

一価陰イオンでは保持時間に関して大きな変動は見られなかったが、二価陰イオンでは炭酸ナトリウムの濃度比の増加に伴いリン酸イオンの解離が三価に移行するため、硫酸イオン、リン酸水素ナトリウムの順序で溶出した。両イオンの分離能を考慮し、炭酸ナトリウム単一液からなる移動相を用いることとした。

### 3.2 移動相中のカウンターイオン濃度の影響

本法のカーボン充てん剤による保持は疎水性相互作用並びに  $\pi$ - $\pi$  相互作用に基づくものであるため、そのままではイオン交換能を持たない。従って、移動相中に第四級アンモニウム塩を添加し、その濃度を調整することにより充てん剤表面のイオン交換容量を制御すること

Table 1 Operating conditions for ion chromatography

Column: Carbon BI-02 (4.6 mm i.d. $\times$ 50 mm, Bio Tech Research)
Eluent-1: 2 mM $Na_2CO_3$ -1 mM TBA-5% $CH_3CN$
Column temperature: 30°C
Eluent-2: 2 mM $Na_2CO_3$ -1 mM TBA-10% $CH_3CN$
Column temperature: 38°C
Flow rate: 1.0 ml/min
Injection volume: 50 $\mu$ l
Suppressor: AMMS-MPIC (Dionex)
Scavenger: 12.5 mM $H_2SO_4$ , 1.0 ml/min
Detection: conductivity

TBA: tetrabutylammonium hydroxide  
Eluent-1 was used for the simultaneous determination of  $F^-$ ,  $Cl^-$ ,  $NO_2^-$ ,  $Br^-$ ,  $NO_3^-$ ,  $SO_4^{2-}$ ,  $HPO_4^{2-}$  and  $I^-$ . Eluent-2 was used for the simultaneous determination of  $I^-$ ,  $S_2O_3^{2-}$  and  $SCN^-$ .

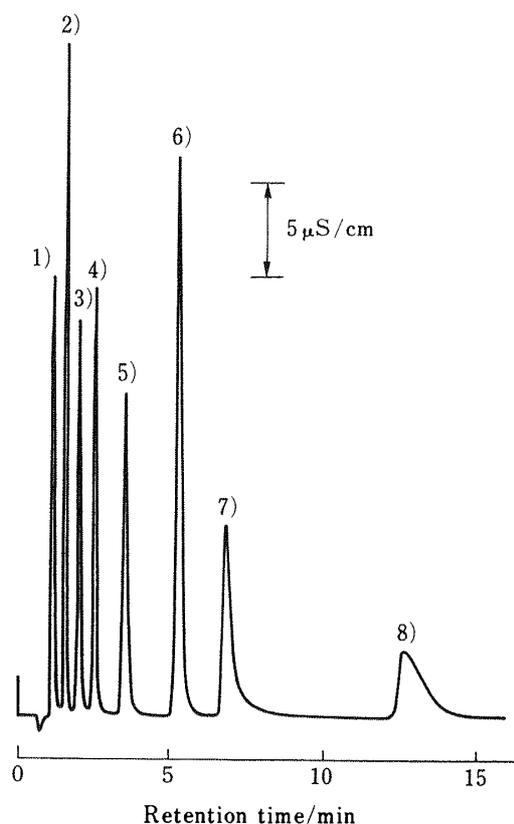
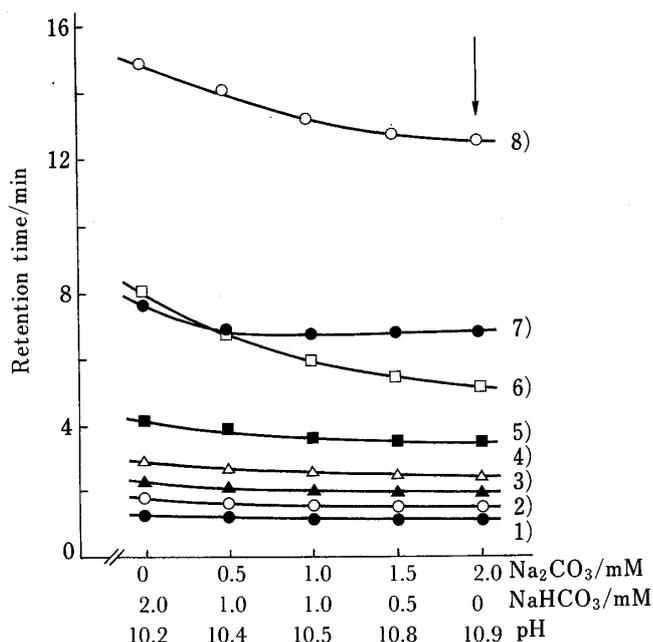


Fig. 1 Ion chromatogram of standard mixture  
Chromatographic conditions as in Table 1 (Eluent-1); Ions ( $\mu g/ml$ ): 1)  $F^-$  (2.5), 2)  $Cl^-$  (5), 3)  $NO_2^-$  (7.5), 4)  $Br^-$  (10), 5)  $NO_3^-$  (10), 6)  $SO_4^{2-}$  (15), 7)  $HPO_4^{2-}$  (25), 8)  $I^-$  (25)



**Fig. 2** Effect of sodium carbonate-sodium bicarbonate mixture on retention time

Chromatographic conditions as in Table 1 (Eluent-1); Ions: 1)  $F^-$ , 2)  $Cl^-$ , 3)  $NO_2^-$ , 4)  $Br^-$ , 5)  $NO_3^-$ , 6)  $SO_4^{2-}$ , 7)  $HPO_4^{2-}$ , 8)  $I^-$

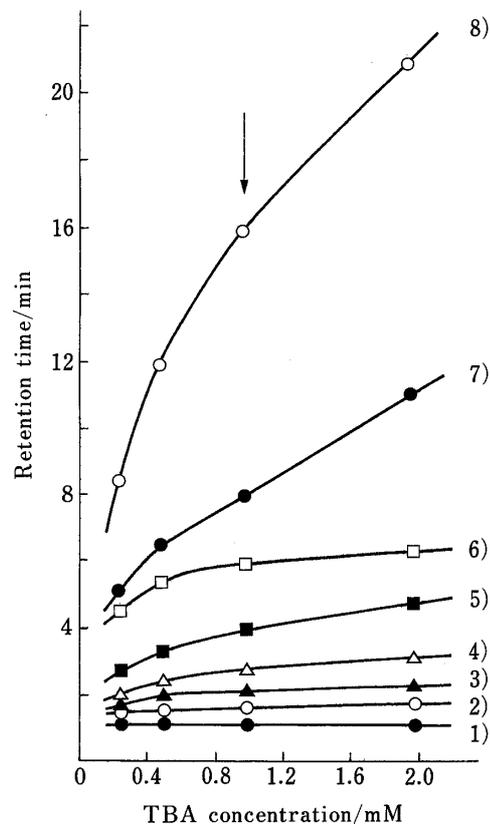
した。移動相に 2 mM 炭酸ナトリウム-5% アセトニトリル混液を用い、TBA 濃度と保持時間の関係を調べた。結果を Fig. 3 に示す。TBA の濃度を増すといずれの陰イオンも保持時間は遅くなり、特に疎水性のヨウ化物イオンでは大きく変化した。通常の測定には、1 mM の TBA 含有移動相を用いることとした。

### 3.3 移動相中のアセトニトリル濃度

移動相中のアセトニトリル濃度を 0~10% 変化させたときの保持時間の変化を調べ、結果を Fig. 4 に示す。アセトニトリル無添加の場合、硝酸イオンはカラムに吸着して硫酸イオンの後に溶出し、又ヨウ化物イオンは溶出に 1 時間以上を要することが分かった。いずれの陰イオンもアセトニトリル濃度を増すと速やかに溶出されることから、標準的 8 種イオンの分析には 5% アセトニトリル含有移動相を用いることとした。なお、アセトニトリル及び対イオン添加においても検出感度に及ぼす影響は特に見られなかった。

### 3.4 疎水性陰イオンの分離に及ぼすカラム温度の効果

分離パラメーターとして、前述の TBA 及びアセトニ

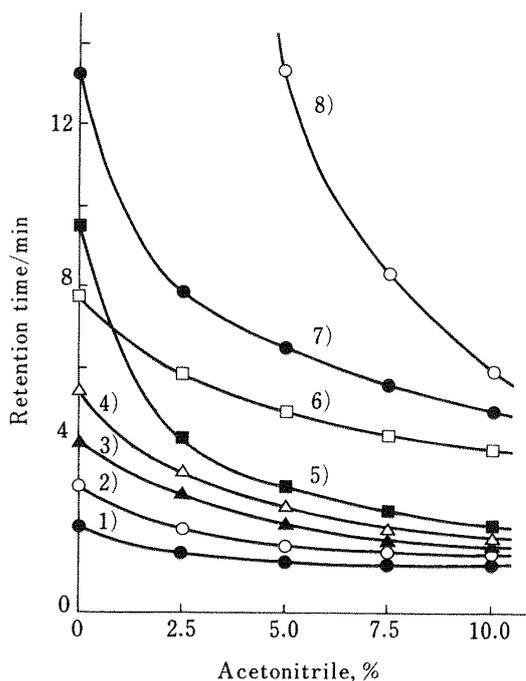


**Fig. 3** Effect of TBA concentration on retention time

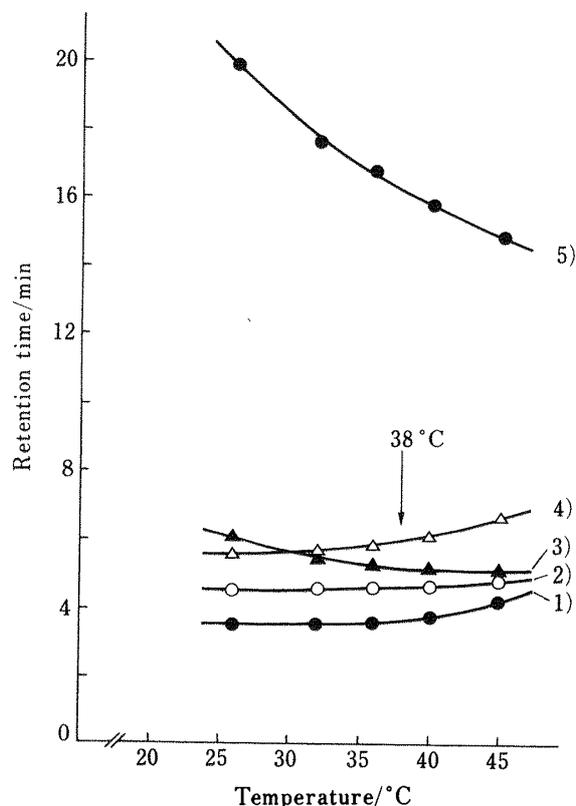
Chromatographic conditions as in Table 1 (Eluent-1); Ions: 1)  $F^-$ , 2)  $Cl^-$ , 3)  $NO_2^-$ , 4)  $Br^-$ , 5)  $NO_3^-$ , 6)  $SO_4^{2-}$ , 7)  $HPO_4^{2-}$ , 8)  $I^-$

トリル濃度のほかにカラム温度が挙げられる。本カラムの場合、カラム温度の上昇により一価陰イオンでは保持時間の減少が見られたが、硫酸イオン及びリン酸水素イオンの二価陰イオンでは逆に遅くなり、両者間に著しい差が認められた。このことは、カラム温度を微妙に調整することにより近接する一価、二価陰イオンの分離が可能になるという点で大きな意味を持っている。標準的なイオンに疎水性のヨウ化物、チオ硫酸及びチオシアン酸イオンの 3 種を加え、アセトニトリル濃度を 10% と定め (Table 1, Eluent-2)、カラム温度の影響を調べた結果を Fig. 5 に、カラム温度を 38°C に設定したときに得られたクロマトグラムを Fig. 6 に示す。

ヨウ化物、チオ硫酸及びリン酸水素イオンの分離が、カラム温度の調整によってできるようになった。又、通常のイオン交換樹脂カラムでは特殊な分離条件を必要とするチオシアン酸イオンについても、同一系内で良好に分離溶出した。

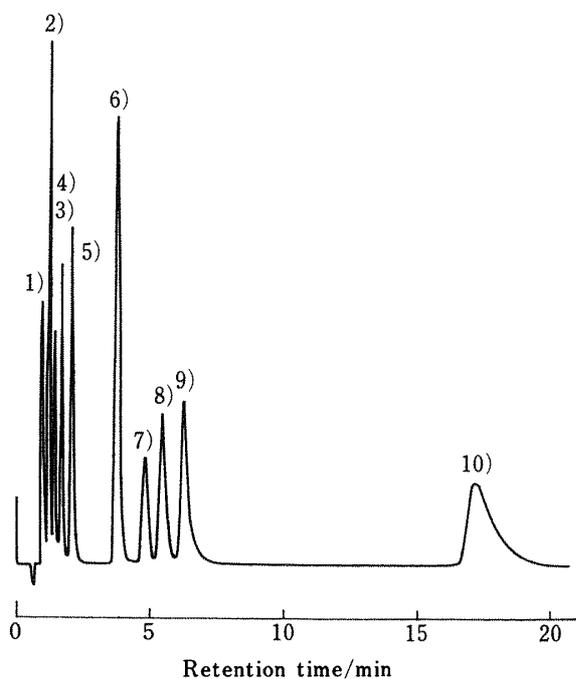


**Fig. 4** Effect of acetonitrile concentration in eluent  
Chromatographic conditions as in Table 1 (Eluent-1);  
Ions: 1)  $F^-$ , 2)  $Cl^-$ , 3)  $NO_2^-$ , 4)  $Br^-$ , 5)  $NO_3^-$ ,  
6)  $SO_4^{2-}$ , 7)  $HPO_4^{2-}$ , 8)  $I^-$



**Fig. 5** Effect of column temperature on retention  
time

Chromatographic conditions as in Table 1 (Eluent-2);  
Ions: 1)  $SO_4^{2-}$ , 2)  $HPO_4^{2-}$ , 3)  $I^-$ , 4)  $S_2O_3^{2-}$ ,  
5)  $SCN^-$



**Fig. 6** Ion chromatogram of standard mixture  
Chromatographic conditions as in Table 1 (Eluent-2);  
Ions ( $\mu g/ml$ ): 1)  $F^-$  (1), 2)  $Cl^-$  (2), 3)  $NO_2^-$   
(3), 4)  $Br^-$  (4), 5)  $NO_3^-$  (4), 6)  $SO_4^{2-}$  (6), 7)  
 $HPO_4^{2-}$  (6), 8)  $I^-$  (10), 9)  $S_2O_3^{2-}$  (6), 10)  $SCN^-$   
(10)

### 3.5 各種陰イオンの分析精度

標準的な 8 種陰イオンについて検量線の直線性並びに繰り返し注入による再現性を調べた。各陰イオンを含む標準試料溶液 50  $\mu l$  をループインジェクターにより直接注入し、ピーク面積法より得られた結果を Table 2 に示す。イオン種によってかなり感度は異なるが、検量線の相関係数 ( $r$ ) はいずれも 0.999 以上を示し、8 種陰イオンの繰り返し注入による相対標準偏差 (RSD, %) も 0.2~0.9% ( $n=10$ ) と、実用分析に十分使用できることが分かった。

### 3.6 カーボン充てんカラムの分離機構

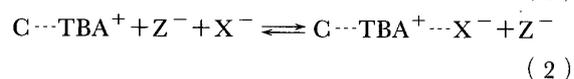
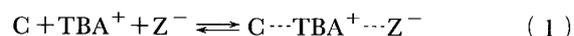
カーボン充てんカラムの IC への適用は新しい試みであり、分離機構は明らかではないが、逆相型 ODS 充てんカラムを用いるイオン対クロマトグラフィーによる無機イオン分析と同一原理<sup>9)10)</sup>に基づくものと考えている。すなわち、次の式(1), (2)で表されるものと仮定

Table 2 Precision of ion chromatography based on peak area measurements

Anion	Linearity		Reproducibility		
	Range/ $\mu\text{g ml}^{-1}$	$r (n=5)$	$\mu\text{g ml}^{-1}$	Peak area	RSD, %
$\text{F}^-$	0.5~ 2.5	0.9998	2.5	1311	0.32
$\text{Cl}^-$	1.0~ 5.0	0.9997	5.0	1843	0.28
$\text{NO}_2^-$	1.5~ 7.5	0.9995	7.5	1657	0.42
$\text{Br}^-$	2.0~10.0	0.9997	10.0	1676	0.41
$\text{NO}_3^{2-}$	2.0~10.0	0.9995	10.0	1959	0.38
$\text{SO}_4^{2-}$	3.0~15.0	0.9999	15.0	3944	0.23
$\text{HPO}_4^{2-}$	5.0~25.0	0.9989	25.0	2488	0.78
$\text{I}^-$	5.0~25.0	0.9997	25.0	2092	0.91

Peak area: mean of integrator counts; RSD: relative standard deviation ( $n=10$ )

している。



ここで, C は固定相表面の吸着部位であり,  $\text{Z}^-$  は移動相中の対陰イオン,  $\text{X}^-$  は測定対象の無機陰イオンを示す。

カーボンの基材表面を第四級アンモニウム塩により被覆し, その後に移動相中の陰イオンを基材表面においてイオン結合的に平衡状態に導き, 主にイオン価及び水合イオン半径に依存して順次溶出される。従って, 移動相中の TBA 濃度を増すと基材表面のイオン交換容量が増すため, 各イオンの保持時間は遅くなり, アセトニトリル濃度を増すと基材表面の TBA は溶出されるため, 逆に溶出は早まることとなる。

一方, 本条件 (Table 1) 下で, 移動相中の炭酸ナトリウム濃度 ( $E$ ) と保持容量 ( $k'$ ) の対数をプロットすると直線性が得られる。一価イオンではイオン間でほぼ平行移動しているのに対し, 二価イオンではその約 2 倍の傾きを示した。このことから, イオン交換様式と同様に,

$$\log k' = -y/x \log [E] + \text{const} \quad (3)$$

の関係式が本システムにおいても成立するものと考えられる。これらの関係は, 陰イオンの存在状態や至適溶離条件の推定に役立っている。

なお,  $x$  は溶離剤イオンの,  $y$  は試料イオンの価数をそれぞれ示す。

### 3.7 従来のイオン交換充てんカラムとの比較

本法によるカラム当たりの理論段数 ( $N$ ) は, 硫酸イオンより 4000~4500 段と従来のポリマー及びシリカ系イオン交換充てんカラムに比較し, 高い値を示した。しかし, 疎水性イオンではややテリングするイオンもあるので, 保持の強いイオンについては更に検討したい。なお, カラムの耐久性では, 約 2 年間にわたり日常的に使用したところ, 若干の理論段数の低下は認められるものの十分に使用することができた。又, 本カラムの洗浄には酸及びアルカリ性溶液のほかにメタノール, アセトニトリル及びアセトンなど純溶媒が使用できるので, 充てん剤の表面に吸着した有機及び無機汚染物質の洗浄, 除去には極めて有利である。

以上の検討から, カーボン充てんカラムは従来のイオン交換充てんカラムでは困難とされてきた溶離条件最適化のためのイオン交換容量, 各種陰イオンの分離の調節, 耐久性及び耐有機溶媒性等の問題をいずれも解決できたものと考えている。実試料への応用に関しては, 目下検討中であり, 順次報告したい。

(1992 年 6 月, 第 53 回分析化学)  
討論会において一部発表

### 文 献

- 1) 及川紀久雄, 鈴木義仁, 砂原広志, 田中一彦, 二木安之, 本間春雄, 松下 駿, 武藤義一, 村野健太郎: “イオンクロマトグラフィー”, 日本分析化学会編, p. 91 (1988), (共立出版).
- 2) 長島 潜, 窪山和男, 小野菊繁: 分析化学, **34**, 381 (1985).
- 3) 長島 潜, 折田昭三, 窪山和男: 分析化学, **38**, 378 (1989).
- 4) 長島 潜, 大塚剛史, 磯崎昭徳: 分析化学, **41**, T91 (1992).

- 5) 長島 潜, 大塚剛史, 磯崎昭徳: 分析化学, **42**, 505 (1993).
- 6) E. Forgács, T. Cserhádi: *J. Pharm. Bio. Anal.*, **10**, 861 (1992).
- 7) 大林 隆, 川瀬太一郎, 石川利弘, 高橋信弘: 第9回液体クロマトグラフィー春季討論会要旨集, p. 13 (1992).
- 8) N. Tanaka, T. Tanigawa, K. Kimata, K. Hosoya, T. Araki: *J. Chromatogr.*, **549**, 29 (1991).
- 9) H. Nagashima, K. Nakamura: *J. Chromatogr.*, **324**, 498 (1985).
- 10) L. G. Daignault, D. P. Rillema: *J. Chromatogr.*, **602**, 3 (1992).



**Simultaneous determination of several inorganic anions by ion chromatography using a ceramic carbon column.** Hisomu NAGASHIMA\* and Toshimitsu OKAMOTO\*\* (\*Analytical and Metabolic Research Laboratories, \*\*Shinagawa Plant, Sankyo Co. Ltd., 1-2-58, Hiro-machi, Shinagawa-ku, Tokyo 140)

A new method for simultaneous determination of several inorganic anions on a ceramic carbon column with a suppressed ion chromatograph equipped with a conductometric detector was tested. Carbon IC BI-02 column (4.6 mm i.d. × 50 mm, Bio Tech Research) was installed in an ion chromatograph (Dionex 4500i) equipped with an anion micro-membrane suppressor (AMMS-MPIC). Two mM sodium carbonate containing 1 mM tetrabutylammonium hydroxide (TBA) in 5% acetonitrile was the optimal mobile phase for simultaneous determination of a mixture of 8 anions ( $F^-$ ,  $Cl^-$ ,  $NO_2^-$ ,  $Br^-$ ,  $NO_3^-$ ,  $SO_4^{2-}$ ,  $HPO_4^{2-}$  and  $I^-$ ) under the following conditions: flow rate, 1.0 ml/min; scavenger, 12.5 mM sulfuric acid; column temperature, 30°C. Calibration curves obtained from the peak areas of the 8 anions were linear with high correlation coefficients of more than 0.999 and a good relative standard deviation (RSD) of 0.2~0.9% ( $n=10$ ). Hydrophobic anions such as  $I^-$ ,  $S_2O_3^{2-}$  and  $SCN^-$  were separated by using 2 mM sodium carbonate containing 1 mM TBA in 10% acetonitrile as the mobile phase at a temperature of 38°C.

(Received September 1, 1994)

(Accepted October 17, 1994)

**Keyword phrases**

determination of inorganic anions; ceramic carbon column for ion chromatography; conductometric detector; sodium carbonate solution containing tetrabutylammonium ion as mobile phase.