

報 文

サプレッサー付電気伝導率検出方式陰イオンクロマトグラフィー
における直線検量線の妥当性四角目和広¹, 横山 幸男², 佐藤 寿邦³The validity of linearity of the calibration line in the determination of
anions by ion chromatography with suppressed conductivity detectionKazuhiro SHIKAKUME¹, Yukio YOKOYAMA² and Hisakuni SATO³¹ Chemical Standards Department, Tokyo Laboratory, Chemicals Evaluation and Research Institute, Japan, 1600 Shimo-Takano, Sugito-machi, Kitakatsushika-gun, Saitama 345-0043² Faculty of Environment and Information Sciences, Yokohama National University, Tokiwadai 79-7, Hodogaya-ku, Yokohama-shi, Kanagawa 240-8501³ Department of Analytical Chemistry, Faculty of Engineering, Yokohama National University, Tokiwadai 79-5, Hodogaya-ku, Yokohama-shi, Kanagawa 240-8501

(Received 14 November 2002, Accepted 20 February 2003)

The linearity of the regression line for the calibration in anion determination by ion chromatography with a suppressed conductivity detector was studied both theoretically and experimentally. The relationships between the peak area and the concentration of standard solutions were obtained by equilibrium calculations for fluoride, chloride, nitrate and sulphate ions. Theoretical calculations assuming that the non-linearity of the calibration line can be attributed to a shift of the acid-base equilibrium of the solute and eluent ions are consistent with experimental data. Generally, the calibration line is not linear for the anions of a weak acid, such as fluoride ion. Some eluents, such as carbonate salt, give a curved regression line for any solute ions. For a high-precision calibration, the linear regression should be limited to a narrow concentration range because of the non-homogeneous precision of the conductivity measurement. The high order of the regression formula, if necessary, should be adjusted to the data group of the homogeneous precision. Numerical examples of the linear calibration range are shown for fluoride, chloride, nitrate and sulfate ions.

Keywords : ion-chromatography; suppressed conductivity detection; linearity of calibration; homogeneous precision.

1 緒 言

多くの機器分析法では検量線を必要とし、ほとんどの場合、その直線性が成立する条件を利用する。イオンクロマトグラフィーにおいてサプレッサーを使用しないで電気伝

導率検出を行う場合の検量線(濃度 vs. ピーク面積)は、基本的には直線関係を示すことが知られている¹⁾。イオン濃度と電気伝導率は、厳密には比例しないことが知られているが、通常の定量分析の精度では事実上比例すると見なせる。一方、サプレッサーを用いた電気伝導率検出法では、検量線が必ずしも直線とはならないことが報告されている^{2)~5)}。Midgleyら⁴⁾らは、電気伝導率検出器での検出に関係するイオンの当量伝導率と酸の解離平衡定数、セル定数などから、陰イオンの検量線の非直線性について詳細に検討し、電気伝導率検出でサプレッサーを用いる炭酸塩

¹ 財団法人化学物質評価研究機構東京事業所: 345-0043 埼玉県北葛飾郡杉戸町下高野 1600² 横浜国立大学大学院環境情報研究院: 240-8501 神奈川県横浜市保土ヶ谷区常盤台 79-7³ 横浜国立大学大学院工学研究院: 240-8501 神奈川県横浜市保土ヶ谷区常盤台 79-5

系溶離液の場合、測定成分の溶出に伴い、溶離イオンの解離平衡が変化して、結果的にベースラインがより低くなるのが原因で検量線が直線にはならないとしている。また、ホウ酸塩系溶離液を用いる場合は、ほぼその影響は無視でき、強塩基性溶離液を用いれば理論的には直線となるものの、これらの溶離液の場合、溶離液の溶出力や溶離液の調製時の再現性等に問題があるとしている。更に10点の検量線から、直線近似する場合と2次曲線近似する場合の誤差の違いについて報告している。しかし、最適な検量線の次数については言及していない。

このような報告があるにもかかわらず、現実的にはサプレッサーを使う場合も直線関係が成立する、とこれまで一般に考えられてきた。例えば、ISO/TC147のイオンクロマトグラフィー（陰イオン）の規格⁶⁾では1次検量線を規定している。JISのイオンクロマトグラフ関連規格⁷⁾では、特に規定していないが、これはもともと1次以外の検量線を想定していないためと考えられる。これらのことから、検量線は必ずしも直線近似できないことが広く認識されているとは考えにくい。一方、標準液に関するJISが幾つか規定されており、硝酸イオン等の陰イオンの濃度を決定する際にイオンクロマトグラフを用いる場合⁸⁾⁹⁾がある。また、計量法で標準液の供給体系が整備され、その中で、陰イオン標準液の校正にはJISと同様の方法を用いている。これらの標準液の測定では、100~1000 mg l⁻¹程度の濃度を測定しており、検量線は、直線であることを想定した2点検量線法、0.5~0.3%程度の繰り返し精度としている。また、計量法上の実用標準液の濃度の決定に用いる1000 mg l⁻¹の2次標準液の拡張不確かさは、0.3% ($k=2$)であるため、非常に高い測定の正確さが求められており、検量線の直線性がよいかわるいかは非常に重要な問題となる。

今回、著者らは弱塩基溶離液（弱酸の共役塩基）を使う場合、また、試料成分が弱酸の共役塩基である場合には濃度範囲により直線では十分に近似できないことを改めて詳細に理論計算と実験結果から明らかにするとともに、検量線の次数について検討した。更に、普通利用される単純な最小二乗法で検量線を決定する場合には、横軸（濃度）に誤差がなく、縦軸（ピーク面積）は等精度である必要があるが、電気伝導率検出器で得られるピーク面積は、必ずしも等精度ではないことが示唆され、そのことを踏まえて検量線を求めるべきであることを明らかにした。

2 理論と計算

2.1 検量線が曲がる理由

Midgleyら⁴⁾と同様の理論に基づいて、酸解離平衡とイオンモル伝導率から濃度とピーク面積の関係を求めて、理論的な検量線を計算した。ここでは、Midgleyらが検討した

Cl⁻, NO₃⁻, SO₄²⁻以外に、F⁻のように試料成分が弱酸の共役塩基である場合についても理論的な計算を行った。

理論計算において、非直線性の理由は次の二つであると仮定した。

2.1.1 サプレッ後の試料イオン共役酸の解離平衡シフト F⁻イオンのようにサプレッサーを通った後共役酸を形成するイオンは、検出器のところで部分解離状態になるため、その濃度（全濃度）と電気伝導率は非直線関係になる。同じ事情は陽イオンクロマトグラフィーのNH₄⁺について知られていて、ISO/TC 147のイオンクロマトグラフィー（陽イオン）の規格¹⁰⁾では2次検量線に言及している。

2.1.2 サプレッ後の溶離イオン共役酸の解離平衡シフト 試料イオン溶出時に、共役酸の解離平衡がシフトする可能性がある。溶離イオンをB⁻とすると、サプレッ後のベースライン部分（試料イオンが溶出していない状態）では



の解離平衡にあり、一定のバックグラウンド伝導率を示す。試料イオン（例えばCl⁻）が溶出するとき、それはH⁺イオンを伴っている。一方、B⁻濃度は試料イオン濃度だけ減少している（イオン交換）。これらの結果、HBの解離平衡がシフトする。

2.2 溶出液中の化学平衡の移動とピーク面積算出法

x mMの試料イオンA⁻を v μl注入する場合、そのまま栓流（plug flow）で溶出すればその面積は $x \times v$ (n mol)になる。B⁻イオンを溶離イオンとする単純なイオン交換でA⁻イオンを分離・溶出させ、電気伝導率検出するなら、その検出感度は溶出時のA⁻の濃度を y ($=x$)とすれば、

$$(\lambda_A - \lambda_B) \times y \quad (2)$$

に比例する。ここで λ はイオンのモル伝導率を表す。比例係数を k として検出器出力は式(3)のようになる。

$$S = k(\lambda_A - \lambda_B)y \quad (3)$$

実際はplug状に注入された試料ゾーンはそのまま溶出されるわけではなく必ず広がる。また、クロマトグラフ過程が必ずしも理想的に進行するわけではないので、ピーク面積を考える必要がある。ピーク面積は式(4)のように表される。

$$A = \int k(\lambda_A - \lambda_B) y dv = k(\lambda_A - \lambda_B) \int y dv \\ = k(\lambda_A - \lambda_B) xv \quad (4)$$

計算を簡単にするため, ピーク形状を二等辺三角形で近似しても一般性は失われまいと考えられる. そうすると

$$\int y dv = \frac{1}{2} hw = xv \quad (5)$$

ここで, h は三角形の高さを, w は底辺の長さを表す.

いま, 具体的に計算を進めるために $v = 10 \mu\text{l}$, $w = 500 \mu\text{l}$ とすると,

$$\frac{10^{-3}}{2} \times \frac{h}{2} = 10x \\ \therefore h = 0.04x \quad (\text{mM}) \quad (6)$$

このようにすると, イオン交換クロマトグラフィーでの A^- の溶出時濃度は近似的に, 式(7)のように表される.

$$y = \pm 0.16x \left(V - v_R \mp \frac{1}{4} \right) \left(v_R - \frac{1}{4} < V < v_R + \frac{1}{4} \right) \quad (7)$$

ここで, V は移動相体積, v_R はピーク保持容量を表す. 電気伝導率検出信号の変化量 (ベースライン差し引き) は, 式(8)で, ピーク面積は, 式(9)で表される.

$$\Delta S = k(\lambda_A - \lambda_B) y \quad (8)$$

$$A = k(\lambda_A - \lambda_B) \times 10^{-3} xv = k(\lambda_A - \lambda_B) \times 10^{-2} x \quad (9)$$

ここで λ_A , λ_B はそれぞれ A^- と B^- のモル伝導率である.

このあとサプレッサーを通っても, y は変化せず, イオン A^- の対イオンが H^+ に, B^- の大部分は HB に変化すると仮定する. HB が事実上解離しないと考えるとよい場合 (例えば NaOH 溶離) は単純になるが, 部分的に解離する場合は複雑になる. 更に A^- が H^+ と結合すると, もう一段複雑になる. これらを分けて順に考察する.

2・2・1 HB の解離を無視できる場合 (強塩基溶離に相当, ベースラインはゼロと見なす) 検出器信号は, 式(10)で表せる.

$$S = k(\lambda_H + \lambda_A) [A^-] = k(\lambda_H + \lambda_A) y \quad (10)$$

2・2・2 HB が部分的に解離する場合 HB の解離度を α , 全濃度を C_e として, (α は変数で $[A^-]$ に依存, C_e は定数として与えられると考えるが, その中身は HB, B^- , A^- の濃度の合計である) ベースライン信号強度は, 式(11)で表せる.

$$S = k(\lambda_H + \lambda_B) \alpha C_e \quad (11)$$

A^- が溶出しているとき電荷中性則から,

$$[H^+] = [A^-] + [B^-] \quad (12)$$

であるが, HB の解離度 α は変化し, そのため $[A^-] + [B^-]$ は一定でなくなる. 検出器信号強度はバックグラウンドも含めて, 式(13)で表されるので, $[H^+]$, $[A^-]$, $[B^-]$ を計算で

$$S = k(\lambda_H [H^+] + \lambda_A [A^-] + \lambda_B [B^-]) \quad (13)$$

求めることより S を評価することができる. $[A^-]$ を決めると平衡計算により $[H^+]$ と $[B^-]$ が求められる. HB の解離平衡は $[A^-]$ に応じて移動すると考えられる. そうすると, S は $[A^-] \equiv y$ に linear でなくなる. したがって, $[A^-]$ の変化が三角形分布を示しても, S の変化はゆがんだ形になるため, $S = f([A^-])$ 曲線を積分してピーク面積を求めなければならない. ひとまず, $S = f([A^-])$ の関係を平衡計算により, $[A^-]$ の等間隔で離散的に求めておけば, それから台形法則 (微小な台形の面積を加え合わせる) を使ってピーク面積を求めることができる.

積分の範囲は, 分離カラムに注入する A^- の濃度 x から $v = 10 \mu\text{l}$, $w = 500 \mu\text{l}$ の仮定をしたとき $y_{\text{max}} = h = 0.04x$ の式から決まる. したがって, $y = 0 \sim 0.04x$ の積分値を 2 倍すればゆがんだ三角形ピークの面積が求められる. 但し, y の範囲はそのようであるが, 積分は x 軸の範囲 $0 \sim 250 \sim 500 \mu\text{l}$ について行う. したがって, 台形法則を適用する微小部分の横軸方向の幅は A^- の注入濃度により異なるので, 加えた台形の数で割り算して, ピーク高さによらない一定幅にそろえる.

これらの化学平衡の移動に基づく検出器の電気伝導率とピーク面積の計算は, MS Excel¹¹⁾ の VBA (Visual Basic for Applications) を利用した自作の計算プログラムを用いて行った.

3 実 験

3・1 試 薬

溶離液: 弱塩基性溶離液は, 炭酸ナトリウム (関東化学製) 及び炭酸水素ナトリウム (関東化学製) を超純水に溶かして調製した. 強塩基性溶離液は, 5 M の水酸化ナトリウム溶液 (和光純薬製) を使用時に水で希釈して密閉型容器に入れ, 容器内の空間部分をヘリウムで置換しながら用いた.

除去液: 硫酸 (関東化学製超高純度硫酸) を水で希釈して, 15 mM 又は 50 mM の除去液として用いた.

標準液の調製には, フッ化ナトリウム (橋本化成工業製, 容量分析用), 塩化ナトリウム (マナック製), 硝酸カリウ

Table 1 Operating conditions for ion chromatography

	Carbonate eluent	Sodium hydroxide eluent
Apparatus	IC7000(YOKOGAWA)	IC7000(YOKOGAWA)
Column	Excelpak ICS-A2G + ICS-A23 (YOKOGAWA)	Ion Pac AG15 + Ion Pac AS15 (DIONEX)
Eluent	3.5 mM Na ₂ CO ₃ + 1 mM NaHCO ₃	35 mM NaOH
Flow rate	1.0 ml/min	1.0 ml/min
Suppressor	HPS-SA1(YOKOGAWA)	HPS-SA1(YOKOGAWA)
Scavenger	15 mM sulfuric acid(1.0 ml/min)	50 mM sulfuric acid(1.0 ml/min)
Auto sampler	AS7000(YOKOGAWA)	AS7000(YOKOGAWA)
Injection volume	50 μl	50 μl
Temperature	40°C	40°C
Detection	Conductivity	Conductivity

ム (Merck 製), 硫酸ナトリウム (Merck 製) を用いた。

3.2 装置

実験には, ポンプ, サプレッサー: HPS-SA1, 電気伝導率検出器, オートサンプラー: AS7000, 恒温槽 (40°C) で構成された横河アナリティカルシステムズ製イオンクロマトグラフ IC7000 を用いた。カラムは, 横河アナリティカルシステムズ製 ICS-A2G + ICS-A23 (弱塩基性溶離液用) 及びダイオネックス製 AG15 + AS15 (強塩基性溶離液用) を用いた。イオンクロマトグラフの測定条件を Table 1 に示した。

標準液の調製には, メトラー・トレド製天びん PR5003 及び京都電子工業製密度計 DA310 を用いた。使用した超純水は, 日本ミリポア製の Milli-RX12PLUS + Milli-Q SPTOC により精製した比抵抗 18 MΩcm 以上のものを用いた。

3.3 標準液の調製方法

検量線用標準液は, 質量比法により調製した。標準液調製の試薬を超純水に溶解して F⁻, Cl⁻, NO₃⁻, SO₄²⁻ の各成分ごとに 10000 mg l⁻¹ の溶液を調製した。これら 4 種類の 10000 mg l⁻¹ を混合希釈して, 1000 mg l⁻¹ の混合標準液を調製した。この 1000 mg l⁻¹ の混合標準液をもとに適宜混合・希釈して 0.5~100 mg l⁻¹ の 20 種類の濃度の検量線用標準液を調製した。調製した標準液の密度を測定してそれぞれの成分の濃度 mg l⁻¹ を算出した。

3.4 測定操作

オートサンプラー用バイアルをそれぞれの標準液で 3 回共洗いして, 標準液を充填した。検量線は, これらの標準液をオートサンプラーで各 50 μl 注入し, IC7000 に内蔵された積分計でピーク面積を計算して作成した。0.5 mg l⁻¹, 1.0 mg l⁻¹ …… 100 mg l⁻¹ の順に繰り返し測定した。

3.5 検量線を表す次数の決定

濃度とピーク面積との関係について, 各成分ごとに回帰

Table 2 Estimation of the optimum order of the regression equation for anions with carbonate eluent

The order	F ₀			
	F ⁻	Cl ⁻	NO ₃ ⁻	SO ₄ ²⁻
1	452.41	13.89	176.61	56.67
2	22.80	2.75	16.98	5.92
3	1.62	0.80	2.57	0.64
4	1.34	0.15	0.28	0.08

Concentration range: 0.5~100 mg l⁻¹; $F(\phi_1, \phi_2, \alpha) = F(18, 40, 0.05) \approx 1.87$; F_0 : V_{of} (variance of lack of fit)/ V_w (variance of error); ϕ_1 : degree of freedom of V_{of} ; ϕ_2 : degree of freedom of V_w ; α : level of significance; F_0 value with the under line shows the optimum order. Optimum calibration equations—F⁻: $y = 0.0006x^3 - 0.1707x^2 + 49.0998x - 3.0750$, $R^2 = 0.99999$; Cl⁻: $y = -0.0005x^3 + 0.1040x^2 + 34.0453x - 14.9344$, $R^2 = 0.99997$; NO₃⁻: $y = 0.000005x^4 - 0.0013x^3 + 0.1431x^2 + 15.6723x - 1.1785$, $R^2 = 1.00000$; SO₄²⁻: $y = -0.0004x^3 + 0.1039x^2 + 21.2585x - 3.9920$, $R^2 = 0.99999$; The operating conditions are the same as in Table 1.

による分散分析¹²⁾を行い, 回帰による当てはめの不適合の分散 (V_{of}) と級内変動 (繰り返し測定のみばらつき) の分散 (V_w) との比 ($F_0 = V_{\text{of}}/V_w$) を求め, F 検定を行い, 検量線が最も適合する次数を判断した。すなわち, 回帰式の次数を 1 次から 5 次程度まで次数を変え, $F = V_{\text{of}}/V_w$ の値が危険率 5% で有意でなくなる次数を検量線の最適な次数と判断した。

4 結果及び考察

4.1 弱塩基性溶離液の場合

F⁻, Cl⁻, NO₃⁻, SO₄²⁻ のいずれも濃度範囲を 0.5~100 mg l⁻¹ とする場合には, 1 次で近似できる検量線とはならず, F⁻, Cl⁻ 及び SO₄²⁻ は 3 次, NO₃⁻ は 4 次の曲線となった。これらの結果を Table 2 に示した。ここで Table 2 の F_0 は, 回帰による当てはめの不適合の分散 (V_{of}) と級内変動の分散 (V_w) との比 ($F_0 = V_{\text{of}}/V_w$) を求めた値である。Table 2 では, 回帰式の次数を 1 次から順次変え, $F_0 < F(\phi_1, \phi_2, \alpha)$ となったときの F_0 値に下線を付し, そのときの最左欄の次数を回帰式の次数とした。

Table 3 Repeatability of peak area measurements for different concentrations of Cl^- with carbonate eluent

Concentration of $\text{Cl}^-/\text{mg l}^{-1}$	Average of peak area	Variance of peak area ($n = 3$)
0.5	14.903	0.04213
1	28.883	0.00603
2	59.760	0.06010
3	91.970	0.89310
4	124.920	0.49630
5	157.520	1.01710
6	193.027	2.44143
7	226.170	2.07840
8	263.983	1.91843
9	298.350	11.81560
10	333.440	7.00630
20	698.743	31.52813
30	1083.057	64.94243
40	1474.557	185.33143
50	1915.197	215.42623
60	2273.040	242.46670
70	2672.817	272.61453
80	3066.070	1296.55470
90	3489.537	590.57053
100	4062.707	689.03243

また、 Cl^- ($0.5 \sim 100 \text{ mg l}^{-1}$) の3回繰り返し測定値(ピーク面積)について濃度ごとの測定値の平均値とそのばらつき(分散)を求め、Table 3に示した。更に測定値について一元配置による分散分析を行い、その結果の要約をTable 4に分散分析表(analysis of variance, ANOVAと略記)として示した。Table 3の結果から、検量線濃度が高く(ピーク面積が大きくなる)なるに従い、そのばらつき(分散)も大きくなる傾向にあることが分かった。また、Table 4の結果は、検量線の濃度間のばらつき(分散)には大きな差があることを示している。本実験の濃度範囲($0.5 \sim 100 \text{ mg l}^{-1}$)では、濃度ごとの測定精度(ばらつき)が同一ではない、すなわち等精度ではないことを示している。 F^- 、 NO_3^- 、 SO_4^{2-} についても同様の傾向であった。本来、最小二乗法を適用する場合、異なる精度のデータを

Table 4 ANOVA(analysis of variance) table for Cl^- with carbonate eluent

Source	S	f	V
Between	98796722	19	5199827
Within	7232	40	181
Total	98803954	59	

S: sum of squares; f: degree of freedom; V: variance

同一の精度のデータとして扱うことには問題があるが、少なくとも測定結果として得られた検量線の次数が1次式で近似できないことは明らかであり、後述する理論計算値からも、そのことは明らかになった。また、理論上は広い濃度範囲を想定して、高次式を求めることはできても、現実的には測定の精度が広範囲の濃度では異なってくるため、高精度の定量分析を行うためには濃度範囲を限定して考える必要があることを示している。そこで、実用的な見地から1次式で近似してよい範囲を推定するため、繰り返し測定の精度が同程度のデータ群に限定し、1次式が当てはめられるかどうかを検討した。その結果をTable 5及びFig. 1に示した。Table 5に示すとおり、狭い濃度範囲であれば直線とすることも可能であった。ここで、Table 5の F_0 は、回帰による当てはめの不適合の分散(V_{of})と級内変動の分散(V_w)との比($F = V_{\text{of}}/V_w$)を求めた値である。 $F_0 < F(\phi_1, \phi_2, \alpha)$ であれば、回帰による当てはめの不適合の分散は、1次回帰のみであるということを示している。つまり、1次式で近似してよいということを示す。

4.2 強塩基性溶離液の場合

F^- は、1次で近似できる検量線とはならず、3次の曲線となった。 Cl^- 、 NO_3^- 、 SO_4^{2-} は、いずれも1次で近似できる検量線となった。得られた測定結果についてTable 2と同様の計算を行い、その結果をTable 6に示した。

Table 5 The possible concentration range of linear regression and the corresponding regression equation for F^- , Cl^- , NO_3^- , SO_4^{2-} with carbonate eluent

Anion	Concentration range/ mg l^{-1}	F_0	$F(\phi_1, \phi_2, \alpha)$	Regression equation	R^2
F^-	3~6	0.61	$<F(2, 8, 0.05) = 4.46$	$y = 48.9912x - 9.4220$	0.99998
F^-	60~100	2.35	$<F(3, 10, 0.05) = 3.71$	$y = 34.2081x + 417.6333$	0.99988
Cl^-	3~7	1.37	$<F(3, 10, 0.05) = 3.71$	$y = 33.1880x - 10.8627$	0.99983
Cl^-	20~100	0.94	$<F(7, 18, 0.05) = 2.58$	$y = 40.5962x - 127.5837$	0.99991
NO_3^-	3~7	0.34	$<F(3, 10, 0.05) = 3.71$	$y = 16.8419x - 3.7950$	0.99999
NO_3^-	30~80	1.82	$<F(4, 12, 0.05) = 3.26$	$y = 22.3929x - 110.8046$	0.99990
SO_4^{2-}	1~7	2.40	$<F(5, 14, 0.05) = 2.96$	$y = 21.2371x - 1.6939$	0.99975
SO_4^{2-}	30~100	1.90	$<F(6, 16, 0.05) = 2.74$	$y = 28.6403x - 159.1242$	0.99989

F_0 : V_{of} (variance of lack of fit) / V_w (variance of error); ϕ_1 : degree of freedom of V_{of} ; ϕ_2 : degree of freedom of V_w ; α : level of significance; R^2 : square of correlation coefficient

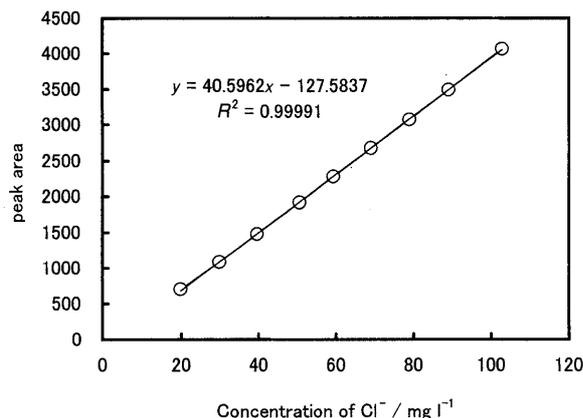


Fig. 1 Linear calibration line for Cl^- adjusted to the data group of the homogeneous precision

Operating conditions are the same as in Table 1.

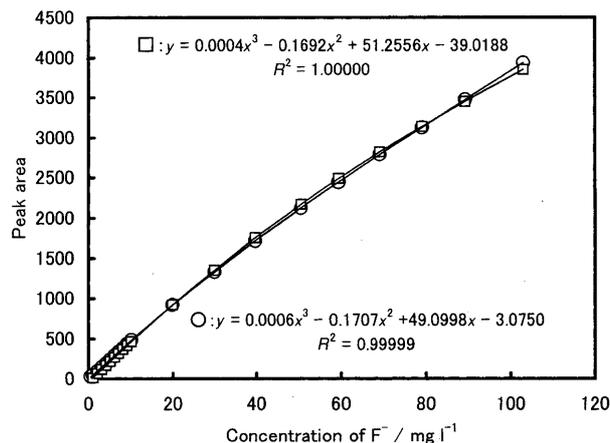


Fig. 2 Theoretical and experimental calibration curve for F^- with carbonate eluent

□: theoretical, ○: experimental; Theoretical data: $\lambda_{\text{H}^+} = 397$ (35°C), $\lambda_{\text{F}^-} = 66.9$ (estimated value at 35°C), $\lambda_{\text{HCO}_3^-} = 53.7$ (estimated value at 35°C); Experimental data: see Table 1.

Table 6 Estimation of the optimum order of the regression equation for anions with sodium hydroxide eluent

The order	F_0			
	F^-	Cl^-	NO_3^-	SO_4^{2-}
1	165.98	1.23	1.36	1.98
2	17.98	0.88	0.94	1.10
3	1.77	0.76	0.67	1.09
4	0.79	0.68	0.62	1.09

Concentration range: 0.5 ~ 100 mg l^{-1} ; $F(\phi_1, \phi_2, \alpha) = F(18, 20, 0.05) \approx 2.16$; F_0 : V_{lof} (variance of lack of fit) / V_w (variance of error); ϕ_1 : degree of freedom of V_{lof} ; ϕ_2 : degree of freedom of V_w ; α : level of significance; F_0 value with the underline shows the optimum order. Optimum calibration equations— F^- : $y = 0.0011x - 0.2416x^2 + 42.6444x + 14.5112$, $R^2 = 0.99994$; Cl^- : $y = 35.6340x - 1.4112$, $R^2 = 0.99998$; NO_3^- : $y = 19.9739x - 2.7701$, $R^2 = 0.99997$; SO_4^{2-} : $y = 25.7803x - 1.7669$, $R^2 = 0.99998$; The operating conditions are the same as in Table 1.

4.3 leave one out 法¹³⁾による比較

弱塩基性溶離液を用いた場合で Cl^- の測定結果の比較的精度と考えられる範囲 (0.5 ~ 30 mg l^{-1}) について leave one out 法¹³⁾で 1 次近似する場合と 3 次近似する場合の各標準液の測定濃度と調製濃度との偏差を比較した。1 次近似の場合、偏差の範囲が -125 ~ 4.27%, 中央値が 1.02%, 偏差の絶対値の平均が 16.8% となり、3 次近似の場合、偏差の範囲が -13.4 ~ 1.28%, 中央値が 0.11%, 偏差の絶対値の平均が 1.60% となった。本来は、3 次の検量線を利用すべき場合に、1 次とすることで精度が大きく低下することが分かる。標準液の濃度を決定する場合など、高精度が要求される測定の場合には、検量線の適正な次数が非常に重要となる。

5 理論計算と実験値との比較

平衡の計算はできるだけ厳密に行ったが、イオンのモル伝導率や酸解離定数が実験条件に適合した値として文献から得られないので、正確な検証は本来難しい。ここでは、 H^+ , Cl^- のモル伝導率は、35°C の無限希釈の値 { H^+ : 397 (35°C), Cl^- : 92.2 (35°C)}¹⁴⁾ を使用した。 F^- , HCO_3^- 及び OH^- のモル伝導率は、25°C の値 { F^- : 55.4 (25°C), HCO_3^- : 44.5 (25°C), OH^- : 198.3 (25°C)}¹⁴⁾ を基に Cl^- の温度変化 {76.35 (25°C) と 92.2 (35°C)} を参考に比例関係を仮定して概略推定 { F^- : 66.9 (35°C), HCO_3^- : 53.7 (35°C), OH^- : 239.5 (35°C)} した。また、 H_2CO_3 の酸解離定数は、 4.47×10^{-7} (25°C)¹⁵⁾ とした。

5.1 弱塩基性溶離液の場合

Table 1 に示した弱塩基性溶離液 (3.5 mM Na_2CO_3 + 1 mM NaHCO_3) を用いた実験データとそれを模した理論計算の結果を比較する。 F^- について電気伝導率検出器での電気伝導率が、 H^+ , HCO_3^- , F^- に起因するとして、ピーク面積を理論計算した結果及び実測の結果を Fig. 2 に示した。理論計算から求めたピーク面積と実測値のピーク面積との関係 (0.5 ~ 100 mg l^{-1}) は、 $y = 1.0065x - 16.2150$, $R^2 = 0.9994$ となり、良好な一致を示した。この結果から、検量線が 1 次近似できない理由としては、2 理論と計算で示した 2.1.1 及び 2.1.2 によるものと考えられる。 Cl^- , NO_3^- , SO_4^{2-} についても H^+ , HCO_3^- 及び測定イオンに起因するとして計算した理論的なピーク面積と実測の結果は、良好な一致を示した。この結果から、検量線が 1 次近似できない理由としては、前記 2.1.2 によるものと考

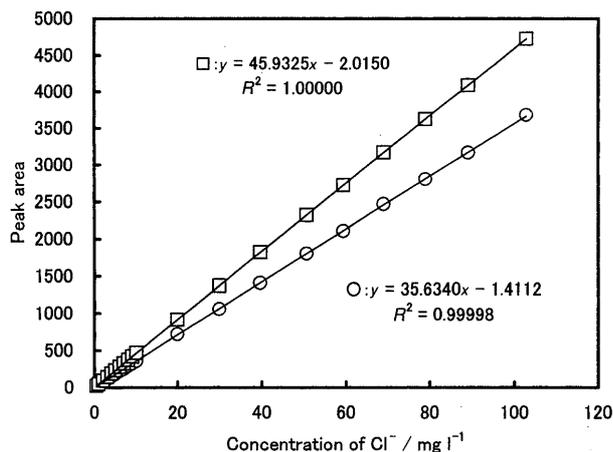


Fig. 3 Theoretical and experimental calibration curve for Cl^- with sodium hydroxide eluent

□: theoretical, ○: experimental; Theoretical data: $\lambda_{\text{H}} = 397$ (35°C), $\lambda_{\text{Cl}} = 92.2$ (35°C), $\lambda_{\text{OH}} = 239.5$ (estimated value at 35°C); Experimental data: see Table 1.

えられる。

5.2 強塩基性溶離液の場合

Table 1 に示した強塩基性溶離液 (35 mM NaOH) を用いた実験データとそれを模した理論計算の結果を比較する。強塩基性溶離液の場合には、適当な保持時間となるように溶離液濃度を 35 mM と高くしたため、サプレッサー液の硫酸濃度も 50 mM とする必要があった。

Cl^- , NO_3^- , SO_4^{2-} は 1 次近似できるが, F^- は直線とはならず, 3 次の近似式となった。理論計算から求めた検量線及び測定結果の一例を Fig. 3 に示した。 F^- が 1 次近似できない主な理由は, 前記 2.1.1 によるものと考えられる。 Cl^- , NO_3^- , SO_4^{2-} は, 1 次式の検量線となるものの, その傾きが理論計算値より小さくなった。そこで, 強塩基性溶離液をカラム, サプレッサー, 電気伝導率検出器と通過させた後に採取した溶出液中の Na^+ , SO_4^{2-} の濃度及び電気伝導率を測定した。その結果, Na^+ 0.38 mg l^{-1} , SO_4^{2-} 7.8 mg l^{-1} , 電気伝導率 $73 \mu\text{S/cm}$ であった。本来, 強塩基性溶離液の場合には, サプレッサー後の電気伝導率はより小さな値となっているはずであるが, 今回実験に用いたサプレッサーは, 強塩基性溶離液用ではないため, イオン交換能が十分ではなく, バックグラウンドが理論値どおりの電気伝導率を示さないことから, 理論計算どおりのピーク面積が得られなかった。このことが Cl^- , NO_3^- , SO_4^{2-} が理論計算どおりの検量線の傾きを示さない一つの理由と

考えられる。

6 結 言

サプレッサー付陰イオンクロマトグラフィーにおいて, これまで一般的に検量線は直線で表せる (1 次近似) と考えられてきた。しかし, 弱塩基性溶離液の場合には, F^- , Cl^- , NO_3^- , SO_4^{2-} いずれも 1 次近似できず, 3 次あるいは 4 次の検量線が適当であることを確認した。これらの検量線は, 理論計算の結果とよい一致を示した。強塩基性溶離液の場合には, Cl^- , NO_3^- , SO_4^{2-} は, 1 次近似できたが, F^- については, 3 次の検量線となった。一方, 理論の上では検量線について高次の検量線を想定できても実際の測定においては広い濃度範囲では, 測定精度が異なるため, 高精度定量分析のためには同一精度と見なせるデータ群として濃度範囲を限定し検量線の次数を検討すべきであることも明らかになった。これらのことから測定対象成分, 溶離液の種類, 求められるピーク面積精度, 検量線の濃度範囲を考慮して検量線の次数を議論する必要があると考えられる。

また, 本研究では特に検討はしなかったものの, 市販装置の種類によっては検出器自体の電気的特性による非直線的応答のため検量線が曲がる可能性がある。

(2002 年 2 月, 第 7 回 LC テクノプラザにおいて一部発表)

文 献

- 1) P. E. Jackson, J. P. Romano, B. J. Wildman: *J. Chromatogr. A*, **706**, 3 (1995).
- 2) M. J. Van Os, J. Slanina: *Anal. Chim. Acta*, **156**, 169 (1984).
- 3) M. Doury-Berthod, P. Giampaoli, H. Pitsch, C. Sella, C. Poitrenaud: *Anal. Chem.*, **57**, 2257 (1985).
- 4) D. Midgley R. L. Paker: *Talanta*, **36**, 1277 (1989).
- 5) J. C. Pessoa, A. Gameiro, M. C. Goncalves, A. S. Fermino: *Portugaliae Electrochimica Acta*, **10**, 49 (1992).
- 6) ISO/FDIS 103044 (1997).
- 7) JIS K 0127, イオンクロマトグラフ分析通則 (2001).
- 8) JIS K 0028, 硫酸イオン標準液 (1994).
- 9) JIS K 0031, 硝酸イオン標準液 (1995).
- 10) ISO/FDIS 14911 (1998).
- 11) Microsoft Excel 2000, Microsoft corporation.
- 12) 藤森利美: “分析技術者のための統計的方法”, 第 2 版, p. 303 (2000), (丸善).
- 13) 鳥脇純一郎: “認識工学”, p. 144 (1998), (コロナ社).
- 14) 電気化学協会編: “電気化学便覧”, 第 4 版, (1985), (丸善).
- 15) 日本化学会編: “化学便覧基礎編”, 改定 3 版, (1984), (丸善).

要 旨

サプレッサー付電気伝導率検出方式のイオンクロマトグラフで陰イオンを測定する場合の検量線の直線性について検討した。解離平衡に基づく計算シミュレーションで理論的な検量線を導出するとともに、弱塩基性及び強塩基性溶離液を用いて F^- , Cl^- , NO_3^- 及び SO_4^{2-} の検量線データを求めた。計算シミュレーションと実験結果を比較したところよい一致を示し、弱塩基性溶離液を使う場合、また、試料成分が弱酸の共役塩基である場合には、濃度範囲によって、また望む精度によって直線では十分近似できないことを明らかにした。また、理論上は検量線について高次の検量線を想定できても、広範囲の濃度では測定精度が異なるため、範囲を限定して1次で近似したほうがよいことを明らかにした。高精度測定のためには同一精度と見なすことのできるデータ群に限定して検量線の次数を検討する必要がある。