

平成4年5月

総説

イオンクロマトグラフィー

—吸光度検出法の活用—

その1 概論

金沢大学薬学部衛生化学教室

宮崎 元一

Ion Chromatography

—Application of Photometric Detection—

Part 1 Introduction

Motoichi MIYAZAKI

Laboratory of Hygienic Chemistry, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kanazawa University

1975年Smallらが発表したイオンクロマトグラフィー(Ion Chromatography, IC)は、当初無機陰イオンの分離分析に向けられたが、やがて多くの研究者・技術者の関心を集めその対象も無機陰イオンだけでなく、有機酸、アルカリ及びアルカリ土類金属イオンなどの分析へと広がった。最近では基礎と応用の様々な領域で有力な研究方法になり、目覚ましく発展している。またこの方法はすでに国の内外で多くの公定分析法に採用されており、今後さらにその傾向は強まるものと予想される。一方、本法は確立したイオン分析法として総説、解説や成書なども数多く見られるようになっている。

本稿でははじめに従来から使用されている電気伝導度検出のICについて簡潔に述べ、さらに本稿の主眼である吸光度検出によるICの概略を紹介する。

ICはイオン交換体を分離カラムに用いた高速液体クロマトグラフィー(HPLC)の一種と見なして、HPLCと関連させて考察するとICの理解が容易である。ICの基本的な装置は一般にFig.1に示す構成で、この構成は通常のHPLC装置と共通な部分が多い。

1. 電気伝導度検出 IC

Fig.1の構成では溶離液を入れる溶離液槽，送液ポンプ，試料注入器，分離カラム(分析カラム)のつぎに溶離液イオンを除去するためのサブレッサー(除去カラム)を接続するサブレッサー型，あるいは除去カラムのないノンサブレッサー型とがあり，さらに溶離してくる試料イオンの検出に，電気伝導度検出器と記録計又はデータ処理装置を接続している。

電気伝導度検出 IC の原理について簡単に述べると，イオン交換型充填剤を用いた分離カラムによる試料イオンの分離は，基本的にはイオン交換反応に基づくが，つぎに具体的に述べよう。Na⁺，K⁺，NH₄⁺などの陽イオンの分離には溶離液に低濃度の酸(HCl やHNO₃)を用い，分離カラムには低交換容量のH⁺形に置換した陽イオン交換体を，又除去カラムにはOH⁻形の強塩基型の陰イオン交換体を用いる。分離カラムでは試料の陽イオンがクロマトグラフ的に分離され，溶離液のイオンと共に除去カラムに入ってくる。除去カラムでは，試料イオンに比べて大量に共存する溶離液イオンはOH⁻型のイオン交換体とのイオン交換で除去されて，究極的にはバックグラウンドは水になり，検出部での電気伝導度検出による試料イオンの検出を妨害しない。一方，F⁻，Cl⁻，Br⁻，I⁻のハロゲンイオン類やNO₃⁻，NO₂⁻，SO₄²⁻などの陰イオンでは，溶離液に低濃度のアルカリ溶液(NaOH，Na₂CO₃+NaHCO₃)を用い，分離カラムに陽イオンと同様に低交換容量のOH⁻形のイオン交換体を，又除去カラムにはH⁺形の強酸性陽イオン交換体を用いる。分離カラムでは，試料の陰イオンがクロマトグラフ的に分離され，溶離液イオンと共に陽イオンの場合と同様に，除去カラムに導かれる。除去カラムでは溶離液イオンは，H⁺形のイオン交換体とのイオン交換で除去され，究極的には水もしくは電気伝導度の低い物質(H₂CO₃)に転換されて，検出部での試料イオンの検出には影響しない。除去カラムにおける溶離液イオンの挙動をFig.2に示す。

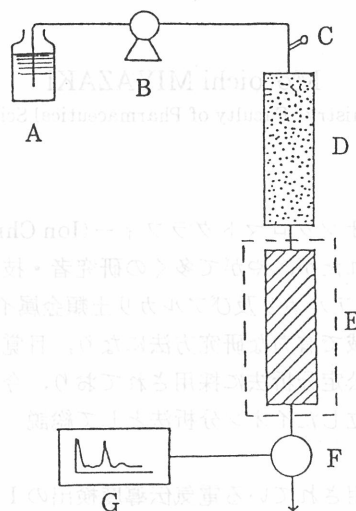


Fig.1 イオンクロマトグラフの構成

A : 溶離液槽， B : 送液ポンプ， C : 試料注入器

D : 分離カラム(分析カラム)

E : サブレッサーカラム(除去カラム)

の存在によりサブレッサー型，又はノンサブレッサー型の電気伝導度検出 IC になる。

F : 検出器(電気伝導度検出器，又は吸光度検出器)

G : 記録計又はデータ処理装置

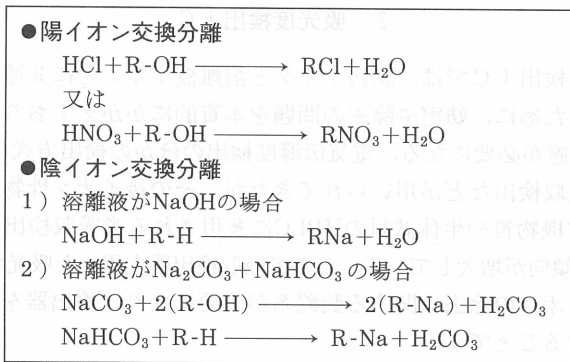


Fig. 2 除去カラムにおける溶離液イオンの挙動

以上はサブレッサー型の電気伝導度検出のICを例に基本的に説明したが、この方式では使用中に時々分離カラム及び除去カラムの再生を行う必要がある。とくに大量の溶離液イオンの除去を受けもつ除去カラムの再生は頻繁に行う必要があり、装置の保持、操作が繁雑になる傾向がある。そこで除去カラム再生の不便さをなくす方法として、連続的に溶離液イオンの除去を行うイオン交換膜チューブのサブレッサーが開発された。イオン交換膜サブレッサーの原理をFig. 3に示す。

又除去カラムや膜チューブのサブレッサーを必要としない低い電気伝導度を持つ物質の溶離液を用いたノンサブレッサー型の電気伝導度検出ICが研究され、サブレッサー型と同様に実用に供されている。これらの電気伝導度検出ICの状況をFig. 1に示した。

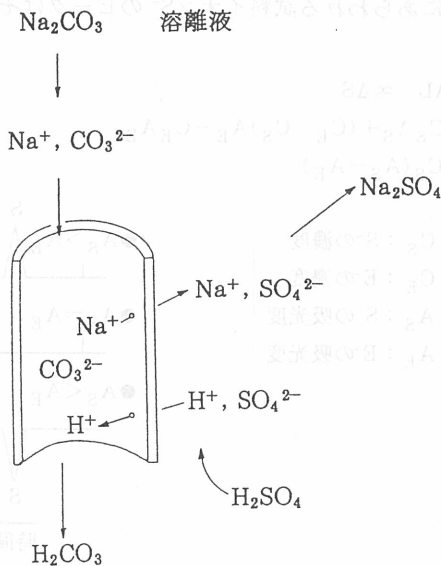


Fig. 3 イオン交換膜サブレッサーの原理 (模式図)

2. 吸光度検出 I C

前述した電気伝導度検出 I C では、試料イオンと溶離液イオンとに共通な属性である電気伝導度を検出の手段とするために、妨害や除去の問題を本質的にかかえており、正確で精度のよい分析を行うには十分な配慮が必要になる。電気伝導度検出のほかの検出方式には、電気化学的検出、示差屈折検出及び光吸収検出などが用いられてきたが、その後イオン性物質の検出法や検出系に関する研究が進み、有機物質や生体試料の HPLC に多用される光吸収検出器を、イオン性物質の分離分析にも適用する傾向が増大している。この光吸収検出器を用いた吸光度検出の方式は、Fig.1 に示す構成で溶離液イオンの除去に関する装置系が不要になり、検出器を電気伝導度検出器から光吸収検出器に変更することでよい。

この方式は装置の汎用性や保持、操作の容易さなどの点で特色があり、しかもイオン性物質の分離分析を行うときに入手の容易な市販の充填剤や HPLC 装置を使うことができる (Fig.1 を参照)。

吸光度検出 I C の説明に入る前にまず陰イオン分析を例に、イオン交換モードと吸光度検出の関係を考えてみよう。分離カラムが平衡状態にあるとしてイオン交換基上で試料イオン (S^-) と溶離液イオン (E^-) (いずれも一価イオンとする) は、化学量論的に 1:1 の交換反応を繰返しながらカラム内を移動する。試料の S^- イオンが溶出するとき、カラム溶出液中の S^- と E^- の両イオンの濃度の和 ($C_S + C_E$) は一定であり、このときの S^- イオンと E^- イオンの単位濃度あたりの吸光度をそれぞれ A_S , A_E とすると、 S^- イオンが溶出されるときのカラム溶出液の吸光度変化量 ΔS は Fig.4 に示す $\Delta S = C_S(A_S - A_E)$ となり、試料イオンの濃度と試料イオン及び溶離液イオンのそれぞれ単位濃度あたりの吸光度の差の積であらわされる。ここで見るとおり、吸光度の差が吸光度変化量、ひいてはシグナルの大きさに大きく寄与することがわかる。この A_S と A_E の相互関係に従ってクロマトグラムにあらわれる試料イオン S^- のピークはそれぞれ Fig.4 に示す形状になる。

$$\text{SIGNAL} \propto \Delta S$$

$$\begin{aligned} \Delta S &= C_S A_S + (C_E - C_S) A_E - C_E A_E \\ &= C_S (A_S - A_E) \end{aligned}$$

$$\left\{ \begin{array}{l} C_S : S^- \text{の濃度} \\ C_E : E^- \text{の濃度} \\ A_S : S^- \text{の吸光度} \\ A_E : E^- \text{の吸光度} \end{array} \right.$$

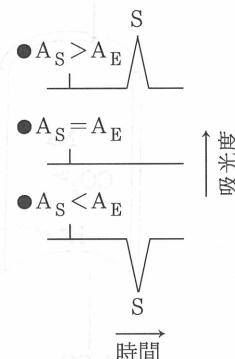


Fig.4 イオン交換モードと吸光度検出の様相 (模式図)

上記の関係を基に吸光度検出 I C の概略について簡単に述べてみよう。すなわち I C に用いられる吸光度検出には、大別してつぎの 2 通りあることになる。

2.1 直接吸光度検出 (Fig.4 の $A_S > A_E$)

紫外及び可視部領域に特性吸収のある試料イオンについて行われるが、通常は光吸収のない、

あるいはほとんどない溶離液が使われる。試料イオンの吸光度を直接検出する方式である。この直接吸光度検出方式の拡張として特性吸収のない試料イオンに、化学的に適当な試薬を反応させて吸収のある化合物に誘導してやり、その化合物の吸光度を検出することも可能である(錯体、付加体、置換体、イオン対などの形式による方法)。

2.2 間接吸光度検出 (Fig. 4の $A_S < A_E$)

紫外及び可視部領域に特性吸収のない試料イオンは、そのままでは一般に2.1の方式では分析が困難であり、種々の対策が検討されてきた。そして前述の化学的誘導によらないで光吸収のない試料イオンを吸光度検出する方法が考えだされた。この方法は、溶離液に吸収のある物質の溶液を用いて試料イオンとの吸光度の差として検出する方式に入るSmallらのIndirect Photometric Chromatography (IPC)や、著者らの吸光度検出イオンクロマトグラフィー(Photometric Ion Chromatography, PIC)があり、間接吸光度検出 I Cとして利用されている。

この間接吸光度検出 I Cについてももう少し具体的に解説してみよう。陰イオン分析の場合を例にとると、陰イオン交換型の分離カラムに、あらかじめ吸収の大きい溶離液イオン(E^-)を送液し、分離カラムを E^- 形にする。これに吸収の小さい試料イオン(S^- , S_A^- , S_B^-)を含む溶液を注入すると、試料イオン(S^-)はカラム上端でイオン交換体の E^- と置換し、試料の総陰イオン量に相当する E^- が溶出され、正のピーク(試料の総陰イオン量が少ないときは負のピークになる場合もある)を生ずる。さらに溶離液を流すと、試料イオン(S_A^- , S_B^-)はイオン交換体の E^- との置換を繰返しながら移動し、その親和性の差により分離カラムから順次溶出される。このときイオン交換モードの平衡状態ではFig. 4に示した $A_S < A_E$ の関係が成立し、試料イオン S_A^- , S_B^- が溶出されるとき、それらの濃度に相当するだけ溶離液イオン E^- の濃度は減少し、クロマトグラムの上で負のピークとして検出される。これが間接吸光度検出の原理で、実際分析における間接吸光度検出 I Cのクロマトグラムを模式的にFig. 5に示した。

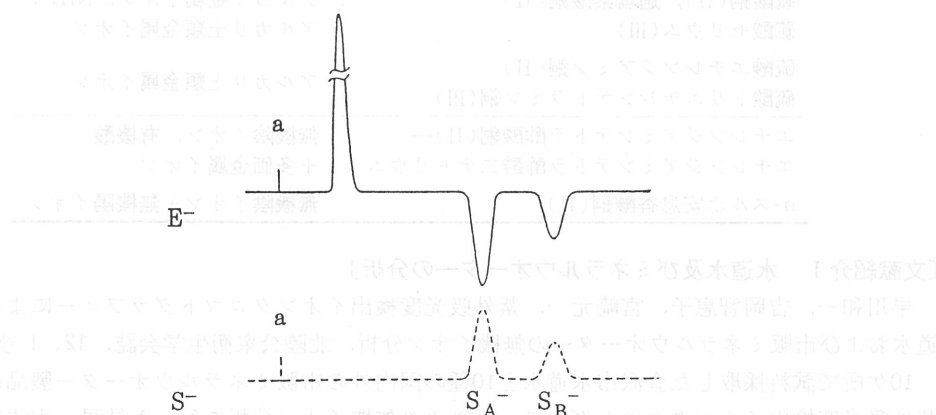


Fig. 5 間接吸光度検出 I Cのクロマトグラム(模式図)(陰イオンの例)

E^- : 溶離液イオン S^- : 試料イオン a: 注入

以上述べてきたように、イオン性物質の分離分析における I Cの有用性の認識は益々深まり、その応用分野は近年発展の一途を辿っている。 I Cを実施するさいの参考までに、ノンサプレッサー型電気伝導度検出 I Cの主な溶離液と分析イオン種と、吸光度検出 I Cの主な溶離液と分析イオン種とをそれぞれTable 1 及びTable 2 に示した。又 I C一般に関して若干の文献を本稿の末尾に掲げてあるので、参考にして頂ければ幸いである。

Table 1 ノンサプレッサー型電気伝導度検出 I C の主な溶離液と分析イオン種

溶 離 液	分 析 イ オン 種
フタル酸系 (pH4~7) フタル酸, フタル酸一水素ナトリウム, フタル酸一水素カリウム, フタル酸二ナトリウム	無機陰イオン一般 有機酸一般
グルコン酸系 (pH 8.5) 酒石酸, クエン酸	
水酸化カリウム	
硝酸	アルカリ金属イオン, NH_4^+ アルキルアミン
エチレンジアミン (pH6.1)	アルカリ土類金属イオン
エチレンジアミン四酢酸	無機陰イオン+多価金属イオン
フタル酸一水素カリウム	無機陰イオン+無機陽イオン

Table 2 吸光度検出 I C の主な溶離液と分析イオン種

溶 離 液	分 析 イ オン 種
ベンゼンカルボン酸系 (PH5~8) フタル酸, 安息香酸, トリメシン酸, トリメリット酸	無機陰イオン一般 有機酸一般
ベンゼンスルホン酸系 (PH6~7) ベンゼンスルホン酸, ナフタレンスルホン酸, ベンゼンジスルホン酸	
硫酸銅(II), 過塩素酸銅(II) 硫酸セリウム(III)	アルカリ金属イオン, NH_4^+ , アルカリ土類金属イオン
硫酸エチレンジアミン銅(II) 硫酸トリエチレンテトラミン銅(III)	
エチレンジアミンテトラ酢酸銅(II)一 エチレンジアミンテトラ酢酸二ナトリウム	無機陰イオン, 有機酸 +多価金属イオン
o-スルホ安息香酸銅(II)	無機陰イオン+無機陽イオン

〔文献紹介 I 水道水及びミネラルウォーターの分析〕

早川和一, 吉岡智恵子, 宮崎元一, 紫外吸光度検出イオンクロマトグラフィーによる金沢市水道水および市販ミネラルウォーターの無機イオン分析, 北陸公衆衛生学会誌, 12, 1号, 14(1985)

10ヶ所で試料採取した金沢市水道水と10種の国内外の市販ミネラルウォーター製品について, 紫外吸光度検出イオンクロマトグラフィーにより無機イオン分析を行った結果, 本法を用いると水道水やミネラルウォーター中の主要な無機イオン, Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , HCO_3^- , Cl^- , NO_3^- , SO_4^{2-} が一斉に分析でき, 水質分析の有力な方法となることがわかった. 又含まれる無機イオンの組成の特徴から, 金沢市水道水の水源による違いが明らかとなった. 一方試買したミネラルウォーター製品の無機イオン濃度は銘柄によって著しく異なっており, 国産品よりも輸入品の方が高い結果が得られた.

