

イオンクロマトグラフィー*

早川 和 一 今 泉 範 子

1. はじめに

1975年に発表されたイオンクロマトグラフィー(IC)は、無機陰イオン、有機酸、アルカリ金属イオン、アルカリ土類金属イオンなどの多成分を分析でき、河水や大気などの環境試料、食品、医薬品、生体試料の分析など様々な領域で利用されている。初期のICは、分離カラムの他に除去カラムを必要とするサブレッサー型電気伝導度検出方式であったが、除去膜チューブを用いるシステムが発明され、より簡便なノンサブレッサー型方式が汎用されるようになった。

一方、光吸収のないことを利用したイオン性物質の分析法として間接吸光度検出クロマトグラフィーが報告されて以来、この方法は吸光度検出器を備えた普及型高速液体クロマトグラフ(HPLC)を用いて行うことができる実用的なICとして次第に普及し始めている。

これらの検出法他、ICには電気化学検出や誘導化反応を伴う吸光度検出も利用されている。ここでは、汎用ICの見地から、ノンサブレッサー型の電気伝導度検出ICと吸光度検出ICを中心に、両者を有効に活用するために知っておくべき特徴、一般分析における留意点、試料の前処理などについて述べることにする。



Kazuichi Hayakawa
昭和52年 東京大学薬学系大学院博士
課程一年修了退学
同年 金沢大学薬学部助手
55年 同講師
60年 同助教授
薬学博士
〔趣味〕 テニス スキー



Noriko Imaizumi
昭和57年 金沢大学大学院修士課程修了
同年 金沢医科大学助手
60年 応用分光機器科
62年 金沢大学大学院博士課程自
然科学研究科入学
〔趣味〕 読書

* Ion Chromatography, 昭和62年12月11日受理

ICについては、すでに成書^{1)~4)}や解説、総説^{5)~7)}があるので、それらも参照されることをお薦めする。

2. 電気伝導度検出ICと吸光度検出ICの特徴と比較

(1) 検出器：電気伝導度検出ICも吸光度検出ICもHPLC装置を用いるが、前者は電気伝導度検出器を、後者は吸光度検出器(通常は波長可変紫外吸光度検出器)を必要とする。吸光度検出器に比較して電気伝導度検出器は、温度の影響を強く受けるので、電気伝導度検出セルは必ず恒温槽に入れておかねばならない。

(2) 分析カラム：IC用の市販カラム充填剤は、ポリスチレン、ポリアクリレートあるいはシリカ系の基材に、四級アンモニウム基やスルホン基を導入したイオン交換体で、イオン交換容量は0.005~0.3meq/gで通常のHPLC用の1/10~1/100と極めて小さい。これらの充填剤およびそのカラムのほとんどは、溶離液の組成を変えるだけで電気伝導度検出ICと吸光度検出ICのいずれにも用いることができる(表1)。

(3) 陰イオン分析：電気伝導度検出ICでは、電気伝導度ができるだけ小さい溶離液として、pH 5以下のフタル酸溶液が用いられることが多い。検出原理から、溶離液pHの低い方がノイズが小さくなるので強酸性陰イオンの感度は高い。しかし、この条件ではpKaの大きな有機酸は感度の悪いものが多く、また、一般のイオン種が溶出した後に現れる“システムピーク”が迅速分析を妨げる。吸光度検出ICでは、光吸収が大きい溶離液としてpH 6~7のフタル酸溶液が用いられることが多く、この条件ではシステムピークは出現しない。この方法では試料成分の解離のみが感度に影響するので、強酸性陰イオンの感度は溶離液pHが4~7の範囲ではほとんど変化せず、pKaの大きな有機酸はpHの高い方が感度が向上する。

(4) 陽イオン分析：電気伝導度検出IC用として、主に硝酸溶液がアルカリ金属イオン、アンモニウムイオン、あるいはアルキルアミン類の分析に、エチレンジアミン溶液がアルカリ土類金属イオンの分析に用いられる。一方、吸光度検出IC用としては、主に硫酸銅(II)溶液や硫酸セリウム(III)溶液が用いられる。

電気伝導度検出ICと吸光度検出ICをそれぞれの至適条件で用いたとき、一般の無機陰イオンや陽イオ

表1 ノンサブレッサー型 IC 用イオン交換カラム

カラムタイプ	商品名(製造元)	カラムサイズ	粒径(μ)	基材・構造	交換容量(meq/g)
陰イオン交換	TSKgel IC-AnionPW(東ソー)	4.6mmID×5cm	10	ポリアクリレート・全多孔性	0.1
	TSKgel IC-AnionSW(東ソー)	4.6mmID×5cm	6	シリカ・全多孔性	0.3
	IC-PAK™ Anion(Waters)	4.6mmID×5cm	10	ポリアクリレート・全多孔性	
	Shim-Pack IC-AI(島津)	4.6mmID×10cm	12.5	ポリアクリレート・全多孔性	
	#2710(日立)	4.6mmID×5cm	10	ポリスチレン・表層被覆型	
	モデル269-001(Wescsan)	0.26inchID ×30cm	10	ポリスチレン・表層被覆型	
	Zipax SAX(DuPont)	2.1mmID×50cm	30	シリカ・表層被覆型	0.01
	PCI-201(東亜電波)	6mmID×5cm	5	ポリアクリレート・全多孔性	
	Finepak GEL IC-AX(日本分光)	4.6mmID×15cm	10	ポリアクリレート・全多孔性	0.01
302 IC 4.6(Vydac)	4.6mmID×25cm	12	シリカ・全多孔性	0.1	
陽イオン交換	TSKgel IC-Cation(東ソー)	4.6mmID×5cm	10	ポリスチレン・表層被覆型	0.03
	Shim-Pack IC-C1(島津)	5mmID×10cm	10	ポリスチレン・表層被覆型	
	Zipax SCX(DuPont)	4.6mmID×25cm	30	シリカ・全多孔性	0.005
	MCI-SCK-01(三菱化成)	3mmID×15cm	10	ポリスチレン・表層被覆型	
	Wescan Cation(Wescan)	4.6mmID×30cm	15	ポリスチレン・表層被覆型	0.02

表2 ノンサブレッサー型電気伝導度検出 IC の主な溶離液と分析イオン種

溶離液	分析イオン種	参考文献
フタル酸系 (pH 4~7) 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	1), 2)
グルコン酸系 (pH 8.5) 酒石酸, クエン酸		
水酸化カリウム		
	HS ⁻ , CN ⁻ , F ⁻ , CO ₃ ²⁻ , silicate, arsenite	8)
硝酸	アルカリ金属イオン, NH ₄ ⁺ , アルキルアミン	1), 2)
エチレンジアミン(pH 6.1)	アルカリ土類金属イオン	1), 2)
エチレンジアミン四酢酸	無機陰イオン+多価金属イオン	9)
フタル酸一水素カリウム	無機陰イオン+無機陽イオン	10)

表3 吸光度検出 IC の主な溶離液と分析イオン種

溶離液	分析イオン種	参考文献
ベンゼンカルボン酸系(pH 5~8) 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	3), 11), 12)
ベンゼンスルホン酸系 (pH 6~7) 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	3), 11), 13)
硫酸エチレンジアミン銅(II)	アルカリ土類金属イオン	3), 14)
硫酸トリエチレンテトラミン銅(II)		
エチレンジアミンテトラ酢酸銅(II)― 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	3), 14)
o-スルホ安息香酸銅(II)	無機陰イオン+無機陽イオン	15)

ンの検出下限は、試料の注入量を $100\mu\text{l}$ とすると、いずれも $0.01\sim 0.1\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ 以下に達する。また、両法で分析される対象イオンの種類もほぼ等しい。電気伝導度検出ICと吸光度検出ICの主な溶離液種と分析対象イオン種を表2および表3にまとめたので、実用条件を決める上で参考になろう。

3. 装置の運転および維持管理のための注意

1) ICには有機化合物はもちろんのことイオン性物質をも含まない高純度の水が必要で、イオン交換蒸留水(電気伝導度が $1\mu\text{S}$ 以下)を用いなくてはならない。

2) 溶離液や試料溶液に含まれる不溶性の物質は配管やフィルターの目づまりの原因となるので、必ずメンブレンフィルター($0.2\sim 0.5\mu\text{m}$)で処理して用いるのがよい。また、溶離液のなかには微生物の発生しやすい組成のものもあり、用時調製が望ましい。

3) 空気中から溶解する二酸化炭素は溶離液のpHを下げ、酸素は還元性物質を酸化してしまう。このような二酸化炭素や酸素を含む空気の影響を除去する方法には、a)減圧脱気、b)水酸化カリウムによる二酸化炭素トラップ、c)陰イオン交換カラムによる炭酸除去、d)窒素ガスなどの通気、などがあるが、(中性pH以下の)溶離液や水から連続的に脱炭酸および脱酸素にするには、d)が最も有効と考えられる。また、流路中で生ずる気泡が分析の障害となる場合には、オンライン脱気装置が効果的である。

4) 特に金属イオンを分析対象とする場合、わずかではあるがステンレス製の装置から金属(クロム、鉄、銅など)の溶出があり微量分析の妨げになることがある。このような見地から、流路に金属を使用しない装置やチタン合金製の装置も市販されている。

5) 分析カラムは、使用前に溶離液を数時間以上流してコンディショニングするのがよい。また初めて使用する場合には、通常より10倍以上高い濃度の溶離液を数時間から一晩流した後、使用濃度の溶離液に変えて同様にコンディショニングするのがよい。

6) 使用後のカラムおよび装置は水に置換し、長期間使用しないときは、カラムを 0.1% アジ化ナトリウムで満たして保存するのがよい。

7) 試料溶液に疎水性の高い有機物が含まれると、分析カラム性能の劣化を早める原因となるので、実際試料の分析では、分析カラムの前に必ずガードカラムをセットするのがよい。ガードカラム(分析カラムの $1/10\sim 1/5$ のサイズ)は、分析カラムと同一のイオン交換体を充填したものでよく、時々汚染した上部または全部を交換する必要がある。

8) IC用の分析カラムはイオン交換容量が小さく、

理論段数も小さいので、試料の注入イオン当量が多すぎるとピーク溶出時間の短縮とリーディングが起こり、注入容量が大きすぎるとピークがブロードになる。従って高い分離性能を必要とする場合には、試料溶液のイオン当量濃度の和が溶離液のそれを越えない範囲で、注入容量(通常は $20\sim 100\mu\text{l}$)は小さい方がよい。

9) 一般に検量線の直線範囲はピーク高さ法より面積法の方が広いが、直線性のある範囲ではいずれを用いてもよい。また、多くのデータ処理器では、負ピークの場合、入力信号の正負を逆に接続して正ピークとして処理しなくてはならないが、最近、負ピークのままで処理できる機種も市販されており便利である。

4. 実際試料分析のための前処理法

ICでは検出法に関わらず、分析装置の維持管理の点から、また良好な分離分析を行うために、個々の試料に応じて最も適した前処理法を選択する必要がある。前処理が必要な場合とその方法を以下に記したが、これらは一部の例にすぎないことをお断りしておく。

1) 飲用に適した水道水、天然水および汚染の少ない河川水や廃液処理水中の塩化物イオン、硝酸イオン、硫酸イオン、アルカリ金属イオン、アンモニウムイオンおよびアルカリ土類金属イオンなどは、メンブレンフィルターを用いて不溶性成分を除去するだけでICに注入できるものが多い。

2) 分析対象イオンの濃度によっては希釈、濃縮を行う必要がある。希釈にはイオン交換蒸留水もしくは溶離液を用いるが、希釈によって成分が変化する可能性のある試料(例:水酸化物をつくりやすい金属イオンの溶液)については注意する必要がある。濃縮には対象イオンを保持するイオン交換カラムを使用することが多く、濃縮した試料をICに注入する方法と、濃縮カラムをICの流路内に組み込む方法^{16)~18)}あるいは分析カラムの上端(下端)に濃縮する方法¹⁹⁾がある。

3) 試料中にカラムを劣化させたり、分析対象イオンの測定を妨害する成分が共存する場合には、これらの成分と対象イオンとを分別するための前処理操作が不可欠である。前処理には対象イオンのみを抽出する方法と妨害成分を除去する方法とがある。

a)抽出には、対象イオンを保持するイオン交換カラムを用い、他成分はカラムを素通りさせることによって分別を行う方法と、イオン対の形成、化学形の変換によって液一液、もしくは液一固抽出して他成分と分離した後、イオン形に戻してICに注入する方法とがある。例えば、海水中の臭化物イオンを酸化して臭素に変え、有機溶媒に抽出、還元して塩化物イオンの影響を除いて定量する方法が報告されている²⁰⁾。

b) 試料中の有機物の除去には、ポリスチレン系あるいは ODS 樹脂を充填した前処理カラムを通すことが有効であるが、極性の大きい有機物の除去にイオン交換カラムが使用されることもある。また、これらの樹脂をガードカラムに充填し、IC の流路内に組み込んで使用することもできる。湖沼水や生活排水の流入する河川水、有機物の含有が疑われる事業所排水の分析には、これらの樹脂による前処理が不可欠である。

c) 試料の pH と溶離液の pH が大きく異なる場合は、pH を調整する必要がある。中和によって対象イオンの分析に支障を来す場合(例: pH の高い試料中の陰イオン分析)は、原因となるイオン種(例: ナトリウムイオン)をイオン交換カラム(例: プロトン型)を通して除去するなどの工夫が必要である。

d) 対象イオンと同符号をもつイオン種が大過剰に存在する試料で、注入量が規制され、十分な測定感度が得られない場合や大きなピークによって微量成分の分析が妨げられる場合は、これを除去する必要がある。多くの試料で過剰成分となる塩化物イオンは、銀イオンを保持させた陽イオン交換カラムによる前処理で、塩化銀として試料から選択的に除去することができる。

一方、前処理を行わなくとも IC の分離カラムを 2 本使用した流路切り換えシステムを利用すれば、妨害イオン種を分析カラムを通さずに系外へ排出して微量成分を妨害のない状態で分析することができ、アルカリ金属イオン大過剰共存下のアルカリ土類金属イオンの分析など²¹⁾に應用されている。このようなシステムは、濃縮、溶出時間の短縮、システムピークの除去、と應用範囲が広いので常備してあれば便利である。

e) 試料中に溶離液と反応する成分が含まれている場合(例: 硫酸銅溶離液とバリウムイオン、フタル酸溶離液と錯形成する金属イオン²²⁾)、流路内で沈殿を生じて目づまりを起こしたり、反応生成物がカラムを劣化させたりすることがある。金属イオンを除去するためにキレート樹脂を前処理カラムに用い、河川水および事業所廃液中の全窒素および全リンを硝酸、リン酸として IC により定量した例が報告されている²³⁾。

このような試料の分析では、前処理を工夫することはもちろんであるが、分離に影響のない範囲で、充填剤の種類、交換容量、溶離液の種類、濃度、pH、有機溶媒の添加などを検討することが必要な場合もある。

4) 試料を迂回するためのデッドボリュームの少ないメンブレンフィルターや前処理用の短いカラムは、自作することもできるが、様々な材質のフィルターや、各種の樹脂を充填したカラムが市販され、豊富な應用例が報告されている。これらを使用すれば、簡便で再現性のよい処理を行うことができる。

5. おわりに

本稿を結ぶにあたって、IC について、今や各種公定分析法としての可否の検討が進んでいることをつけ加えておかねばならない。すでに IC が米国の ASTM の Annual Book において、水質分析の提案法として見出されるだけでなく、わが国でも日本水道協会水試験方法における参考法、環境庁大気汚染物質測定法指針、ならびに日本薬学会衛生試験法における水質試験法および空気試験法などにおいて IC の公定法化への動きは一段と鮮明になっている。あえて大胆な推論を試みるならば、日本工業規格(JIS)との関連も将来の課題として全く無縁とは言い難いであろう。このような趨勢にある IC はハードおよびソフト両面の技術開発と相まってますますその重要性を高めていくであろう。

謝辞 本稿を御校閲いただきました金沢大学薬学部・宮崎元一教授に深謝いたします。

文 献

- 1) J. S. Fritz, D. T. Gjerde, C. Pohlandt (1982) *Ion Chromatography*, Hüthling, New York.
- 2) 武藤義一, 及川紀久雄 (1983) *イオンクロマトグラフィー*, 講談社, 東京.
- 3) 宮崎元一, 早川和一 (1986) 新しいイオンクロマトグラフィーの手ほどき—吸光度検出法の活用, 南江堂, 東京.
- 4) 日本分析化学会関東支部編 (1985) *高速液体クロマトグラフィーハンドブック*, 丸善, 東京.
- 5) 及川紀久雄 (1980) *ぶんせき*, 531.
- 6) 坂本和彦, 村野健太郎 (1984) *公害と対策*, 20, 69.
- 7) 宮崎元一, 早川和一 (1986) *Jasco LC family*, 21, 1.
- 8) T. Okada, T. Kuwamoto (1985) *Anal. Chem.*, 57, 829.
- 9) M. Yamamoto, H. Yamamoto, Y. Yamamoto, S. Matsu-shita, N. Baba, T. Ikushige (1984) *Anal. Chem.*, 56, 832.
- 10) J. G. Tarter (1986) *J. Chromatogr.*, 367, 191.
- 11) H. Small, T. E. Miller (1982) *Anal. Chem.*, 54, 462.
- 12) 弘中孝志, 大島光子, 本水昌二 (1987) *分析化学*, 36, 503.
- 13) J. H. Sherman, N. D. Danielson (1987) *Anal. Chem.*, 59, 490.
- 14) K. Hayakawa, T. Sawada, K. Shimbo, M. Miyazaki (1987) *Anal. Chem.*, 59, 2241.
- 15) Z. Iskandarani, T. E. Miller (1985) *Anal. Chem.*, 57, 1591.
- 16) R. A. Wetzel, C. L. Anderson, H. Schleicher, G. D. Crook (1979) *Anal. Chem.*, 51, 1532.
- 17) K. M. Robert, D. T. Gjerde, J. S. Fritz (1981) *Anal. Chem.*, 53, 1691.
- 18) P. R. Haddad, L. Heckenberg (1985) *J. Chromatogr.*, 318, 279.
- 19) T. Okada, T. Kuwamoto (1985) *J. Chromatogr.*, 350, 317.
- 20) 加藤皓一 (1983) *分析化学*, 32, 567.
- 21) D. Jenke (1987) *Anal. Chem.*, 59, 624.
- 22) A. Siriraks, J. E. Girard, P. E. Buel (1987) *Anal. Chem.*, 59, 2665.
- 23) 高見勝重, 大川和伸, 久下芳生, 中本雅雄 (1982) *分析化学*, 31, 362.