

吸光度検出イオンクロマトグラフィー

早川和一, 宮崎元一
金沢大学薬学部

Photometric Ion Chromatography

KAZUICHI HAYAKAWA and MOTOICHI MIYAZAKI
*Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kanazawa University,
13-1 Takara-machi, Kanazawa 920, Japan*

Ion chromatography (IC) with conductivity detection, which was introduced in 1975, has become widely used for the simultaneous determination of inorganic and organic ions. On the other hand, photometric ion chromatography (PIC) based on the difference of absorbances of sample and eluent (mobile phase) species has attracted much attention in the recent field of IC, since this technique has potential advantages over IC methods with conductivity detection. This technique which allows IC on a conventional single column HPLC system with an absorbance detector gives compatible sensitivity to conductivity detection.

This paper deals mainly with indirect PIC methods performed by both ion exchange and reversed-phase modes, where non-UV-absorbing ions are detected as positive and negative peaks by using UV-absorbing ions in the eluent (mobile phase). The features of PIC have been reasonably well known, but it is necessary to understand principles and conditions of PIC for the effective use of this technique. This paper reviews a number of significant reports which deal with the optimisations of separating column, eluent (mobile phase), detection wavelength, sensitivity and restrictions of PIC with its applications. It is also the purpose of this paper to discuss alternative methods and innovations of PIC.

Keywords—ion chromatography; indirect photometric detection; ion exchange; reversed-phase; UV-absorbing ion; non-UV-absorbing ion; eluent ion; ion pair reagent

1. 序 論

衛生化学の領域では、水や大気の実分析あるいは食品の実分析など、無機イオンや有機酸の実分析を必要とすることが多い。このような目的に、従来は分析項目ごとに比色法や滴定法を変えなくてはならず、項目が増えれば増えるほど操作は極めて複雑になった。1975年に Small らが発表したイオンクロマトグラフィー (ion chromatography, 以下 IC と略す)¹⁾ は、高速液体クロマトグラフィーの分野で有効な検出手段がないと考えられていた無機イオンの一斉分析に新たな道をひらいた。その後、除去カラムを用いないノンサプレッサー (non-suppressed) 方式が報告されるなど、いくつかの改良がなされて、今日、IC は衛生化学領域をはじめとして、無機イオン分析を必要とする多くの領域で広く用いられるようになったことは周知の通りである。電気伝導度検出を主

体とする従来の IC の原理と応用に関しては、成書²⁻⁴⁾ 並びに解説、総説⁵⁻¹⁵⁾ が多くあるので参考にされたい。

一方、HPLC 用吸光度検出器は、できるだけ光吸収の小さな移動相を用いて、光吸収の大きな試料成分を検出するために利用されており、通常は光吸収のない成分をそのまま検出することはできないと考えられていた。しかし、以前から、薬物-蛋白結合の解析法の1つとして、光吸収の大きな薬物を含む溶液を移動相とする蛋白ゲル濾過クロマトグラフィーが行われており^{16,17)} またイオン交換カラムの溶離液に使用した紫外吸収の大きなイオン成分の濃度変化に由来する吸光度変化を検出して、分析対象物質の溶出を確認する方法 (vacant chromatography) が報告されていた¹⁸⁾ やがて、同様の考え方は、HPLC に展開されるに至り、そのいくつかは ion interaction chromatography¹⁹⁾ indirect pho-

tometric chromatography,²⁰⁾あるいは吸光度検出イオンクロマトグラフィー (photometric ion chromatography)²¹⁾等の名で、いわゆる IC の領域に急速に適用されるようになってきた。

これらの方法は、HPLC における吸光度検出の概念を広げ、①試料成分が分離カラムから溶出されるのに伴って移動相に含まれる光吸収のある特定成分の濃度が変化するならば、吸光度の増加(正ピーク)と減少(負ピーク)のいずれも定性・定量分析に利用できる、②電気伝導度検出器やサプレッサーを備えた特殊な装置を用いなくとも、吸光度検出器を備えた普及型の HPLC 装置で、光吸収のない無機あるいは有機イオン性物質の分離分析ができることを意味している。この吸光度検出法を用いる IC システムが既に国内の二、三のメーカーから発売されているが、本法の基本的な原理と実用性に関する成書²²⁾と二、三の紹介や解説²³⁻²⁵⁾があるので参考になるであろう。ここでは、衛生化学領域でも有用性が高いと考えられるこの吸光度検出 IC を大きくイオン交換モードと逆相モードの2つの方法に分けて、最近報告された文献を中心に、その基本原理並びに実用性を著者らの考えを含めて紹介する。

2. イオン交換吸光度検出 IC

2-1. 基本原理 ここに述べる基本原理(示差吸光度検出法)は、Small らの indirect photometric chromatography²⁰⁾に著者らの考えを加えて拡大したものである。陰イオン分析の場合を例に要約しよう。簡単のために、試料イオンを S^- 、溶離液イオンを E^- とし、それぞれの単位当量濃度溶液の光吸収スペクトルが Fig. 1 のようであるとする。イオン交換クロマトグラフィーの平衡状態で、分離カラム溶出液中の S^- と E^- の濃度をそ

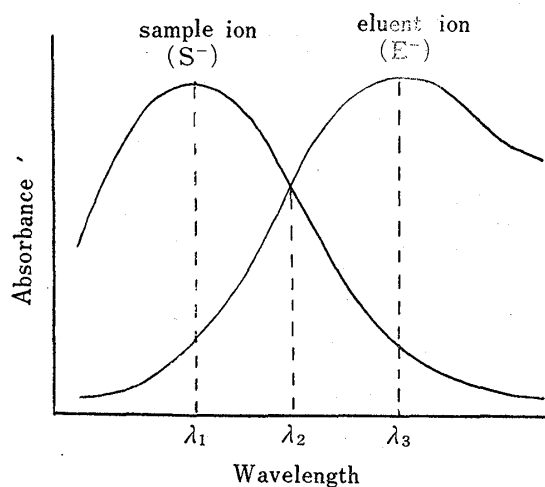


Fig. 1. Absorption Spectra of Sample and Eluent Ions (Model)

れぞれ C_S , C_E とおくと、 $C_S + C_E$ の値は常に一定である。したがって、検出波長における S^- と E^- の単位当量濃度溶液の吸光度をそれぞれ A_S , A_E とすると、 S^- の溶出によって生じるカラム溶出液の吸光度変化 (A_{S-E}) は、

$$A_{S-E} = C_S A_S + (C_E - C_S) A_E - C_E A_E \\ = C_S (A_S - A_E) \quad \dots\dots(1)$$

で表わされる。このカラム溶出液を Fig. 1 に示す λ_1 , λ_2 , λ_3 の波長で検出する場合、クロマトグラムに現われるピークの方向と大きさは A_S と A_E の差に依存し、 $A_S > A_E$ (検出波長 λ_1) ならば $A_{S-E} > 0$ (正ピーク)、 $A_S = A_E$ (検出波長 λ_2) ならば $A_{S-E} = 0$ (シグナルは現われない)、 $A_S < A_E$ (検出波長 λ_3) ならば $A_{S-E} < 0$ (負ピーク) となり、それぞれ Fig. 2 の (i), (ii), (iii) に示すクロマトグラムパターンを生ずる。

これまでの HPLC 分析では、一般に光吸収のある試料イオンを高感度に安定して検出するために、溶離液の光吸収はできるだけ小さくするのが良いとされ、 $A_S \gg A_E \approx 0$ の条件で専ら使用されてきた。このとき(1)式は、 $A_{S-E} \approx C_S A_S$ となり、シグナルは試料イオンの溶出液中濃度と単位濃度あたりの吸光度に比例する。このように、従来の HPLC における吸光度検出は Fig. 2 のパターン(i)に含まれる。次に吸収の大きいイオン溶液を溶離液として、光吸収のほとんどない試料イオンの溶出を検出する場合、 $A_E \gg A_S \approx 0$ であり、(1)式は $A_{S-E} \approx -C_S A_E$ となる。すなわちシグナルは試料イオンの溶出液中濃度と溶離液イオンの単位濃度あたりの吸光度に比例する。このように前述の indirect photometric chromatography²⁰⁾ は Fig. 2 のパターン(iii)に含まれる。

試料注入後、カラム溶出液が a ml から b ml 流れる間に S^- のすべてが検出器を通過するとすれば、 S^- の絶対注入量 (Q_S) は、

$$Q_S = \int_a^b C_S dv$$

であり、 S^- の溶出に伴う吸光度の総変化量 (T) は、

$$T = \int_a^b A_{S-E} dv \\ = \int_a^b C_S (A_S - A_E) dv \\ = (A_S - A_E) Q_S \quad \dots\dots(2)$$

と表わすことができる。式(2)は、クロマトグラムに現われるピーク面積(正ピークなら T , 負ピークなら $-T$ となる)が、ピークの方向にかかわらず S^- の絶対注入量に比例することを示している。したがって、ピーク幅が一定ならば、ピーク高さ(深さ)も S^- の注入量に比例する。この原理からもわかるように、価数の等しいイオ

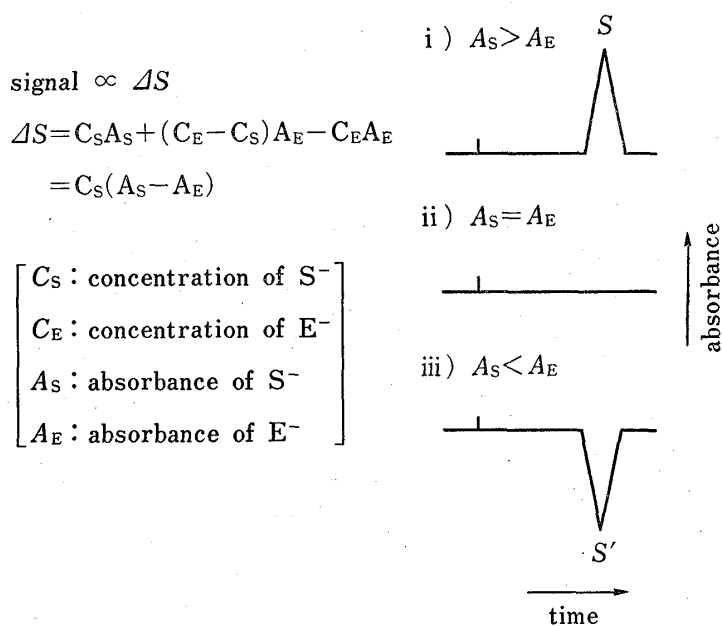


Fig. 2. Photometric Detection Patterns in Ion Exchange Chromatography

ン種ならば、ピーク面積 ($|T|$) の大きさは、試料イオンの種類によらず注入量にのみ比例する。したがって既知量の標準イオンのピークとの面積比から未知試料イオンの量を知ることができる。²⁶⁾

次に光吸収の大きな溶離液を用いた系で吸光度検出器を安定に使用できるとき、クロマトグラムに現われるノイズレベルは溶離液の吸光度に比例する。そこで、

$$\text{Noise} = K C_E A_E \quad \dots\dots(3)$$

(ただし、 K は装置に係わる定数)

と表わすと、検出感度の指標となるシグナル/ノイズ値は、

$$\frac{\text{Signal}}{\text{Noise}} = \frac{C_S |A_S - A_E|}{K C_E A_E} \quad \dots\dots(4)$$

と表わされる。式(4)から、ある検出波長でシグナル/ノイズ値を一定 (通常 2—3) とおくと、 $|A_S - A_E|$ が大きいほど、また C_E が小さいほど C_S の値が小さくなる。すなわち、試料イオンと溶離液イオンの吸光度差が大きいほど、また溶離液濃度を下げるほど感度が向上する。^{20,22,25)}

2-2 分離カラムと溶離液イオン種 本法の検出感度は式(4)に示した通り溶離液イオン種が同じならば、その濃度が低いほど向上する。しかし、分離カラムを変えずに溶離液イオン濃度を下げると、試料イオンの溶出は遅れてピーク幅が広がり、ピーク高さ (深さ) は低下し (浅くなり)、検出感度の向上にはつながらない。そこで、試料イオンの溶出を遅らせずに他成分と分離された

鋭いピークを得るには、理論段数が高く、イオン交換容量の小さい分離カラムが必要である。通常の吸光度検出 IC には、0.01—0.1 meq/g 程度のイオン交換容量をもつ充填剤が適当であると考えられ、最近これに適する分離カラムや充填剤が市販されるようになってきている。また、従来の電気伝導度検出 IC 用の分離カラムの多くもこの条件を満たし、吸光度検出 IC に十分活用できること、更に、通常の HPLC 用カラム充填剤として市販されている製品のなかにも吸光度検出 IC に活用できるものがあることを付け加えておく。

本法の溶離液イオン種には、イオン交換溶出力が強くと、紫外又は可視吸収の大きなものが用いられる。これまで汎用されている溶離液種は、陰イオン分析ではフタル酸溶液、陽イオン分析では銅(II)溶液である。²⁰⁾ フタル酸二ナトリウム溶液を溶離液としたときの無機陰イオンと有機酸の標準クロマトグラム、並びに硫酸銅(II)溶液を溶離液としたときの無機陽イオンの標準クロマトグラムをそれぞれ Fig. 3,³⁸⁾ Fig. 4³⁹⁾ に示した。いずれも検出器の出力極性を逆転させて吸光度の減少を上向きにピークとして記録している。

陰イオン分析用の溶離液には、上述のフタル酸の他に、ベンゼンスルホン酸、^{20,27)} トルエンスルホン酸、²⁰⁾ イソフタル酸、²⁸⁾ 更に溶出力が強いスルホ安息香酸、²⁰⁾ トリメシン酸²⁰⁾ などが報告されている。また、環境試料中の無機陰イオン分析には、上述の化合物より長波長側まで吸収があり、妨害成分の影響を受けにくいと考え

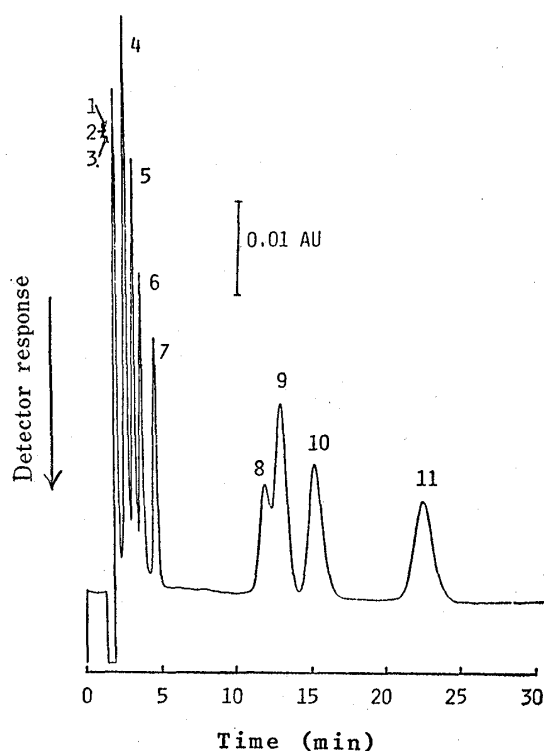


Fig. 3. Chromatogram of Carboxylic and Inorganic Acids³⁸⁾

1, acetate (1×10^{-4} M); 2, lactate (1×10^{-4} M); 3, formate (1×10^{-4} M); 4, levulinate (1.5×10^{-4} M); 5, chloride (2×10^{-4} M); 6, nitrite (2×10^{-4} M); 7, phosphate (2×10^{-4} M); 8, succinate (2×10^{-4} M); 9, *l*-malate (3×10^{-4} M); 10, tartrate (2×10^{-4} M); 11, sulfate (2×10^{-4} M); column, MCI SCA-01 (250 mm \times 4.6 mm i.d.); eluent, 5×10^{-4} M disodium phthalate; sample volume, 80 μ l.

られるニトロフタル酸,²²⁾ トリメリット酸,²⁹⁾ あるいはナフタレンジスルホン酸³⁰⁾ が有用であると報告されている。一方、陽イオン分析用の溶離液としては、上述の銅(II)の他に、吸光度検出と蛍光検出の両方が可能なセリウム(III),³¹⁾ 溶出力が強く吸光度が大きいビスエチレンジアミン銅錯体³²⁾ やトリエチレンテトラミン銅錯体³³⁾ も報告されている。また、アミン類の分析に、ベンジルアミン,³⁴⁾ ベンジルトリメチルアンモニウム,³⁴⁻³⁶⁾ ベンジルトリエチルアンモニウム³⁵⁾ などを用いた報告がある。Table I には、これまでの報告からイオン交換モードの吸光度検出 IC の分析対象イオン種、溶離液イオン種 (又は塩)、カラム、充填剤、及び検出波長をまとめた。

2-3 溶離液組成及び検出波長 本法の至適 HPLC 条件を定めるには、上述の分離カラムと溶離液イオン種の組み合わせ以外に以下の点を考慮しなければならない。まず、各試料イオンの保持時間は、溶離液濃度、溶離液 pH、カラム温度などにより変化する。特に pK_a の大きな弱酸を溶離液として用いる場合や、分析対象と

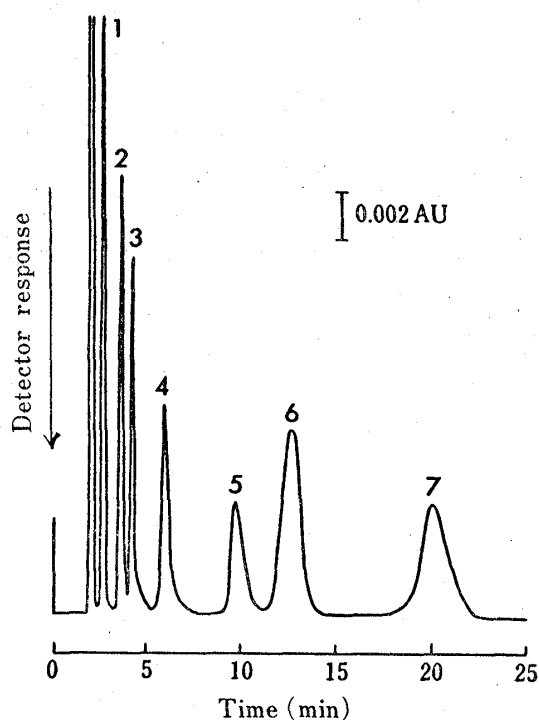


Fig. 4. Chromatogram of Seven Inorganic Cations³⁹⁾

1, sodium (9.2 ppm); 2, ammonium (7.2 ppm); 3, potassium (16 ppm); 4, rubidium (34 ppm); 5, cesium (53 ppm); 6, magnesium (9.6 ppm); 7, calcium (16 ppm); column, Zipax SCX (250 mm \times 4.6 mm i.d.); eluent, 2.5×10^{-3} M copper sulfate; flow rate, 1 ml min^{-1} ; detection, 220 nm; sample volume, 100 μ l.

する場合には弱酸性領域で存在種 (解離の程度) が変化しやすく、保持時間と検出感度が著しい影響を受けるので、溶離液 pH の調整に注意する必要がある。³⁸⁾ また、溶離液イオン種として弱酸を用いる場合、pH 5 以下の溶離液では一般の無機陰イオンの溶出中あるいは溶出後に“システムピーク”と呼ばれるピークが出現し、時として分析の妨げとなることがある。このシステムピークは、電気伝導度検出でも観察され、その生成機構に関していくつかの説が提唱されている。¹⁰⁹⁻¹¹¹⁾ フタル酸溶離液の場合、有力な説として非解離型フタル酸の充填剤に対する吸着反応が考えられており、⁶¹⁾ 溶離液 pH を高めていくとシステムピークは消滅する。³⁷⁾ したがって、システムピークが妨害となるような場合には、フタル酸溶離液の pH を中性 (6-7) に保つのが良いであろう。³⁷⁾ これらの至適条件の一般的な求め方は従来の HPLC と同様であり、ここでは省略するが、溶離液の至適条件の検討に、溶離液の活量と相対保持容量の関係を用いると有効であると報告されている。⁶²⁾

この他に注意すべき項目は検出波長である。すなわち、吸光度検出 IC では、溶離液の最大吸収波長でいつ

TABLE I. Experimental Conditions of Non-suppressed Ion Chromatography with Absorbance Detection (Ion Exchange Mode)

Analyte	Eluent	Column	Detection nm	Ref. No.
N ₃ ⁻ , BrO ₃ ⁻ , Br ⁻ , CO ₃ ²⁻ , ClO ₃ ⁻ , CN ⁻ , F ⁻ , IO ₃ ⁻ , NO ₃ ⁻ , NO ₂ ⁻ , SO ₃ ²⁻ , SO ₄ ²⁻ , PO ₄ ³⁻ , acetate, monochloroacetate, dichloroacetate, trichloroacetate, citrate, glycolate, maleate, malonate, propionate, succinate, pyrophosphate, tripolyphosphate	Sodium phthalate, sodium sulfobenzoate, sodium trimesate, iodide	Styrene-divinylbenzene based ion exchangers	(-)241-296	20
	Na ⁺ , NH ₄ ⁺ , K ⁺ , Mg ²⁺ , Ca ²⁺			
Na ⁺ , Rb ⁺ , Mn ²⁺ , F ⁻ , Cl ⁻	Copper nitrate	Zipax SAX (DuPont)	(-)240	21
F ⁻ , Cl ⁻ , Br ⁻	Sodium benzoate			
Li ⁺ , Na ⁺ , K ⁺	Copper sulfate			
Serum extract (3-hydroxybutyrate, lactate, pyruvate, acetoacetate, Cl ⁻ , NO ₃ ⁻)	Potassium hydrogen phthalate	Partisil 10SAX (Whatman)	(-)296	24
Cl ⁻ , NO ₂ ⁻ , NO ₃ ⁻	Sodium benzenesulfonate	TSK gel IC-Anion-PW (Toyo Soda)	(-, +) 239-255	27
H ₂ PO ₄ ⁻ , Cl ⁻ , NO ₂ ⁻ , Br ⁻ , NO ₃ ⁻ , SO ₄ ²⁻	Orthophthalate (pH 3.9-5.1)	Nucleosil 10-SB (Macherey Nagel)	(-)251-298	28
	Isophthalate (pH 4.0-4.9)	Vydac 302 IC		
River water (Cl ⁻ , SO ₄ ²⁻ , NO ₃ ⁻)	1,2,4-Benzenetricarboxylic acid (pH 7.5)	TSK gel IC-Anion-PW (Toyo Soda)	(-)258	29
F ⁻ , Cl ⁻ , NO ₂ ⁻ , Br ⁻ , NO ₃ ⁻	1,5-Naphthalene disulfonic acid	TSK gel IC-Anion-PW (Toyo Soda)	(-)287	30
Na ⁺ , NH ₄ ⁺ , K ⁺ , Rb ⁺ , Cs ⁺ , Mg ²⁺ , Ca ²⁺ , Fe ³⁺	Cs ₂ (SO ₄) ₃	ION-210 (Interaction Chemicals)	(-)254	31
Inorganic anions, polyvalent metal ions	Na ₂ [Cu(edta)]-Na ₂ H ₂ edta	MCI SCA-01 (Mitsubishi Chemicals)	(-, +)290	32, 33
		MCI CPK-08 (Mitsubishi Chemicals)	(-)295, 550	
Li ⁺ , Na ⁺ , NH ₄ ⁺ , K ⁺ , Rb ⁺ , Cs ⁺ , Mg ²⁺	[Cu(en) ₂]SO ₄ , [Cu(trien)]SO ₄	MCI CK-10S (Mitsubishi Chemicals)		
Monoisopropanolamine, diethanolamine, triethanolamine, dimethyldiallylammonium	Benzyltrimethylammonium chloride in acetonitrile-water	Partisil SCX (Whatman)	(-)268, 270	34
		Lysine, arginine	Benzylamine in acetonitrile-water	
Diocetyl sulfosuccinate	Potassium biphthalate in acetonitrile-water	Partisil SCX (Whatman)	(-)293	
Quaternary alkylammonium salts (tetrabutyl-, tetra- <i>n</i> -propyl-, (2-chloroethyl)-trimethyl-, tetraethyl-, tetramethyl-)	Benzyltriethylammonium chloride in acetonitrile-water, benzyltrimethylammonium chloride in acetonitrile-water	Partisil SCX (Whatman)	(-)270	35
Li ⁺ , Na ⁺ , NH ₄ ⁺ , K ⁺ , methylamine, dimethylamine, trimethylamine, diethanolamine	Benzyltrimethylammonium chloride	Dionex HPIC-CS2	(-)275	36
Rain water, river water, tap water, mineral water, vegetables	Disodium phthalate	Zipax SAX (DuPont)	(-)240	37, 44, 45,
		Copper sulfate	Zipax SCX (DuPont)	

TABLE I. (continued)

Analyte	Eluent	Column	Detection (nm)	Ref. No.
White wine, beer, sake (19 carboxylates and 5 inorganic anions)	Disodium phthalate	{ASA-4000 (Oyobunko) MCI SCA-01 (Mitsubishi Chemicals)	(-)240	38
Na ⁺ , NH ₄ ⁺ , K ⁺ , Rb ⁺ , Cs ⁺ , Mg ²⁺ , Ca ²⁺ , tap water (Na ⁺ , K ⁺ , Mg ²⁺ , Ca ²⁺)	Copper sulfate	Zipax SCX (DuPont)	(-)220	39
Cl ⁻ , NO ₃ ⁻ , SO ₄ ²⁻	Potassium hydrogen phthalate	Vydac 302	(-)308	40
H ₂ PO ₄ ⁻ , Cl ⁻ , NO ₂ ⁻ , Br ⁻ , NO ₃ ⁻ , SO ₄ ²⁻ , carboxylates	Potassium hydrogen phthalate	Vydac 302	(-)250	41
Inorganic anions	Sodium hydrogen phthalate	Shim-pack IC-A1 (Shimadzu)	(-)245	42
Li ⁺ , Na ⁺ , NH ₄ ⁺ , K ⁺	Benzylamine	Waters IC-Pak C	(-)257	43
River water (HCO ₃ ⁻ , Cl ⁻ , SO ₄ ²⁻ , NO ₃ ⁻)	1,2,4-Benzenetricarboxylic acid (pH 7.0)	TSK gel IC-Anion-PW (Toyo Soda)	(-)270	46
Kamaboko (BrO ₃ ⁻)	Potassium hydrogen phthalate	Zipax SAX (DuPont)	(-)230	48
Candied foods (ClO ₃ ⁻)	Disodium phthalate	ASA-4000 (Oyobunko)	(-)250	49
H ₂ PO ₄ ⁻ , Cl ⁻ , lactate, acetate, SO ₃ ²⁻ , SO ₄ ²⁻	Potassium hydrogen phthalate	Dionex AS-1, Wescan Model 269-001, Vydac # 3021C	(-)233-250	50
Aqueous infusions				
{Cl ⁻ , HPO ₄ ²⁻ , SO ₄ ²⁻ Na ⁺ , K ⁺ , Mg ²⁺ , Ca ²⁺	Copper sulfate	ASC-4000 (Oyobunko)	(-)220	} 51
	Disodium phthalate	ASA-4000 (Oyobunko)	(-)260	
Human serum (HCO ₃ ⁻)	Potassium hydrogen phthalate	TSK gel IC-Anion-PW (Toyo Soda)	(-)254	52
Soil extracts (alkylamines)	Copper sulfate	Aminex A-8, A-9 (Bio-Rad)	(-)240	53
Cephalothin	Potassium hydrogen phthalate	Dionex AS-1	(-)250	54
Li ⁺ , Na ⁺ , NH ₄ ⁺ , K ⁺ , Rb ⁺ , Cs ⁺ , Mg ²⁺ , Ca ²⁺ , river water (Na ⁺ , NH ₄ ⁺ , K ⁺ , Mg ²⁺ , Ca ²⁺)	Copper sulfate	TSK gel IC-Cation (Toyo Soda)+Zipax SCX (DuPont)	(-)225	} 56, 55
Inorganic anions, carboxylates	Disodium phthalate	MCI SCA-02+SCA-03 (Mitsubishi Chemicals)	(-)260	
Soft drinks (lactate, ascorbate, Cl ⁻ , malate, tartrate, citrate)	Citraconic acid → <i>m</i> -sulfobenzoic acid	MCI SCA-01 (Mitsubishi Chemicals)	(-)254	57
Inorganic anions	Citric acid+cetrimide	Silica based SAX	(-, +) 210-230	58
Inorganic anions, polyvalent metal ions	EDTA	TSK gel IC-Anion-SW (Toyo Soda)	(-, +)210	59
Na ⁺ , NH ₄ ⁺ , K ⁺ , Cl ⁻ , NO ₂ ⁻ , Br ⁻ , NO ₃ ⁻ , SO ₄ ²⁻	Copper <i>o</i> -sulfobenzoate	Zipax SAX+SCX (DuPont)	(-)240, 270	60
F ⁻ , Cl ⁻ , NO ₂ ⁻ , Br ⁻ , NO ₃ ⁻ , SO ₄ ²⁻	<i>p</i> -Toluenesulfonic acid, 2-naphthylamine-1-sulfonic acid	Waters IC PAK A+IC concentrator	(-)300	75

(+), positive peak; (-), negative peak.

も検出できるわけではない。一般の吸光度計では、吸光度0.434付近で誤差が最小となることが知られており、吸光度が高すぎる(1より大)と、機器に由来する誤差を含めて測定誤差が大きくなる。同様なことは HPLC 用吸光度検出器にもあてはまり、溶離液の吸光度が高く

なりすぎるとベースラインのノイズレベルも大きくなり、感度の指標となるシグナル/ノイズ比は低下する(式(4))。そこで溶離液濃度を変えずに吸光度を下げるには検出波長を移動させねばならない。著者らの経験では、吸光度が1以下となるように検出波長を長(又は

短) 波長側に移動させれば安定なベースラインが得られるが、検出器の機種によりベースラインの安定性(ノイズレベル)はかなりの違いがあるようである。

2-4 検出感度 著者らの結果では、これまで汎用されてきたフタル酸溶液を溶離液としたとき、一般的な無機陰イオンと有機酸の検出下限は数〜数 10 pmol であり、^{37,38)} 銅(II)溶液を用いたときの一般的な無機陽イオンの検出下限は数10〜数100 pmol であった。³⁹⁾

この吸光度検出の感度を電気伝導度検出と比較した報告がある。Cochrane ら⁴⁰⁾ や Haddad ら⁴¹⁾ は両検出法に共通した溶離液としてフタル酸水素カリウムを選び、いくつかの陰イオンの検出感度を比較し、いずれも吸光度検出の感度がまさっていることを報告した。また、Foley らは、陽イオン分析において電気伝導度検出と吸光度検出の理論式を誘導し、ベンジルアミン溶液(pH 7.5)を共通溶離液としてアルカリ金属イオンとアンモニウムイオンについて感度を比較し、吸光度による検出下限はいずれも数 pmol で電気伝導度検出と同等か4倍であることを報告した。⁴²⁾ これらの吸光度検出法の感度は式(4)からもわかるように、溶出力がより強く、吸光度がより大きな溶離液イオン種を用いれば更に向上が期待される。最近では両検出法を相補的に用いる IC の有用性を唱える報告¹⁰⁸⁾ も見られるが、解離によって導電率が変化する電気伝導度検出と解離によって吸光度がそれほど変化しない吸光度検出では、分析対象によって至適条件が異なる場合があること⁴³⁾ を忘れてはならない。

2-5 実際分析への適用 吸光度検出 IC は普及型の HPLC 装置で行うことができ、感度も良いことから、近年その応用も盛んになってきた。まず、環境試料への応用例を挙げる。Neish は、本法を環境汚染物質の分析に適用し、空気捕集フィルターに吸収させた試料から、塩化物イオン、硝酸イオン及び硫酸イオンを検出した。²⁸⁾ 著者らは、雨水に含まれる塩化物イオン、硝酸イオン及び硫酸イオンが前処理なしに定量できることを明らかにし、³⁷⁾ 更に降下煤塵可溶性画分の分析に適用した。⁴⁴⁾ また、水道水、ミネラルウォーターに含まれる上述の無機陰イオンに加えて重炭酸イオンを定量した。⁴⁵⁾ 本水らは、河川水に含まれる塩化物イオン、硫酸イオン及び硝酸イオンを約4分で分析し、³⁹⁾ また妨害成分のカルシウム、マグネシウムを陽イオン交換型試料前処理カラムで除去して重炭酸イオンを分析した。⁴⁶⁾ 一方、著者らは、水道水中のアルカリ金属(ナトリウム、カリウム)イオンとアルカリ土類金属(マグネシウム、カルシウム)イオンを前処理なしに25分以内に同時分析した。³⁹⁾

次に食品の分析に適用した報告を紹介する。著者らは Sep-pak C₁₈ カートリッジで前処理を施して、ハクサイ、トマト、ダイコン、カブなど野菜抽出液に含まれる塩化物イオン、硝酸イオン、硫酸イオン並びにナトリウムイオン、アンモニウムイオン、カリウムイオン、マグネシウムイオン、カルシウムイオンを分析した。⁴⁷⁾ 山本らは、妨害成分である蛋白をアセトンで沈殿除去した後、塩化物イオンとソルビン酸とを銀コーティング Dowex 樹脂カラムで除去することによって食パン及びかまぼこに添加された臭素酸塩を分析した。⁴⁸⁾ また著者らは、有機酸と無機陰イオンの同時分析の条件を確立して、ワイン、ビール、日本酒に含まれる酢酸、乳酸、ギ酸、レブリン酸、コハク酸、リンゴ酸と塩化物イオン、硝酸イオン、硫酸イオンを同時分析した。³⁸⁾ 山本らは、陰イオン交換カラムによる前処理を施して妨害となる糖や有機酸を除去し、砂糖漬け食品に漂白剤として含まれる亜塩素酸イオンを分析した。⁴⁹⁾

Jenke らは、吸光度検出 IC が医薬品の成分分析に有効であることを述べているが、⁵⁰⁾ 次のような医薬品分析への応用例が報告されている。石川らは、輸液の無機イオン分析に本法を適用し、ナトリウムイオン、カリウムイオン、マグネシウムイオン、カルシウムイオン、塩化物イオン、リン酸イオン、硫酸イオンを定量した。⁵¹⁾ また、生体試料の分析にもいくつかの応用例が報告されており、Gaffney らは、銀コーティング陰イオン交換カラム処理で塩化物イオンを除去した血清抽出液から、酢酸、3-ヒドロキシ酪酸、乳酸、ピルビン酸、アセト酢酸、塩化物イオン及び硝酸イオンを検出した。²⁴⁾ 三枝らは、希釈血清中の炭酸イオンを分析した。⁵²⁾

その他の応用例として、Stihole らは、土壌試料を蒸留して妨害成分となる無機陽イオンを除去したのち、メチルアミン、ジメチルアミン、トリメチルアミン、エチルアミン、ジエチルアミン、トリエチルアミンなどを検出した。⁵³⁾ また、Jenke は、過酸化水素に既知量の亜硫酸ナトリウムを加えて残存する亜硫酸イオンあるいは酸化生成体として生成する硫酸イオンを定量することにより試料中の過酸化水素を間接的に定量する方法を報告した。⁵⁴⁾

2-6 高性能化への試みと展望 吸光度検出 IC の実際分析への適用と同時に、より有効なシステムや条件の開発が続けられている。まず、システムの工夫について紹介しよう。Small らは、現状では濃度グラジエント法を用いることがむずかしい吸光度検出 IC の領域にイオン交換容量の異なる2本の陽イオン交換カラムを導入し、保持の弱いナトリウムイオン、カリウムイオンは2

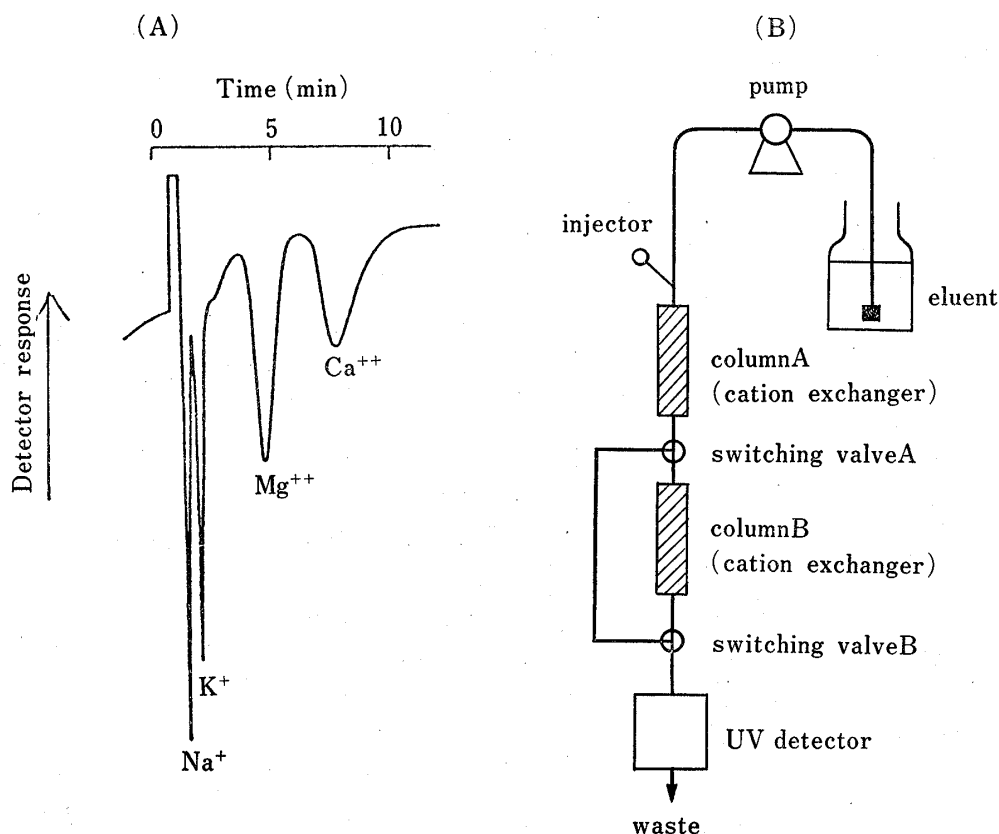


Fig. 5. Separation of Mono- and Divalent Cations by a Split Column Technique (A) and Its System (B)²⁰⁾

本のカラムを通すが、保持の強いマグネシウムイオン、カルシウムイオンは初めのカラムのみで分離させて、これらを1つの検出器で検出するスプリットカラム法を考案した²⁰⁾ (Fig. 5). 著者らは、保持容量の異なる2本のカラムを用いたカラムスイッチング法が、保持の著しく異なる無機陽イオンの一斉分析の他、分離不十分な成分同士の選択的分離分析や迅速分析の妨げとなるシステムピークの除去にも有効であることを報告し、⁵⁵⁾ 河川水の陽イオンの迅速一斉分析に適用した。⁵⁶⁾ Neish は、カラムスイッチング法を試料の濃縮分析に適用した。²⁸⁾ また、Haddad らは、分離カラムの前に濃縮用のカラムを用いる方法によって試料 10 ml 中の 0.03—0.1 ppb のフッ化物イオン、塩化物イオン、亜硝酸イオン、硝酸イオン及び硫酸イオンが検出できることを示した。⁷⁵⁾ 山本らは、カラム保持の著しく異なる有機酸を一斉分析するために、検出波長と吸光度を変化させずに溶出力が弱い溶離液から強い溶離液に切り換える方法を用い、清涼飲料水に含まれる乳酸、アスコルビン酸、塩化物イオン、リンゴ酸、クエン酸を一斉分析した。⁵⁷⁾

一方、Okada ら²⁷⁾ や著者ら²²⁾ は、妨害成分イオンと溶離液イオンとの吸光度が等しくなる波長を検出波長に定めることにより、妨害成分イオンのピークを消去で

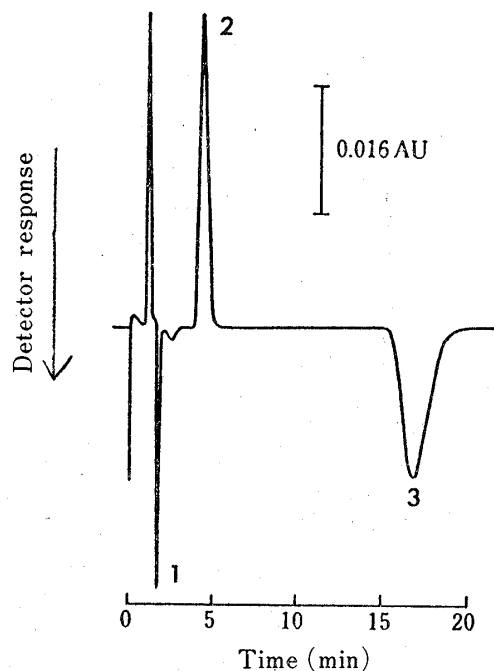


Fig. 6. Chromatogram of Acetate, Sorbate and Succinate²²⁾

1, acetate (0.3 mM); 2, sorbate (0.04 mM); 3, succinate (1 mM); column, DuPont Zipax SAX (250 mm×4.6 mm i.d.); eluent, 5×10^{-4} M disodium phthalate; detection, 250 nm.

きること (Fig. 2 のパターン(2)参照), また, Wheals⁵⁸⁾ や著者ら²²⁾ は, 溶離液イオンの吸光度が試料中の紫外吸収の大きなイオンと小さなイオンの中間になるように検出波長を選ぶと, 溶離液イオンより吸収の大きいイオンと小さいイオンとが正, 負のピークとして同時検出できることを明らかにした (Fig. 6).

通常の IC 条件では, 陽イオンあるいは陰イオンのいずれか一方のみが分析され, 他方のイオン種の分析にはカラムや溶離液などの条件を変更することが必要であった. ところが, この不便さを改善し, より迅速簡便な方法の確立を目的に, 陽イオンと陰イオンの同時分析の試みが報告されている. まず, Small らは, 陽イオン交換カラムと陰イオン交換カラムとを直列に接続して, 陽イオン成分と陰イオン成分のいずれもが紫外吸収を有する硝酸銅(II)溶液を溶離液とし, 陽イオン (ナトリウムイオン, ルビジウムイオン, マンガンイオン) は銅(II)イオンの示す吸光度変化で, 陰イオン (フッ化物イオン, 塩化物イオン) は硝酸イオンの示す吸光度変化で, それぞれ同時分析するジョイント分析法を報告した.²⁰⁾ また, Iskandarani らは, 陰イオン交換カラムと陽イオン交換カラムを直列に連結し, 陽イオン成分と陰イオン成分の両方に紫外吸収がある *O*-スルホ安息香酸銅(II)を溶離液として, 異なる2波長 (240 nm と 270 nm) を検出波長とするデュアル検出方式により, 陽イオン (アンモニウムイオン, カリウムイオン) と陰イオン (塩化物イオン, 硫酸イオン) とを同時分析する方法を報告した.⁶⁰⁾ 一方, Matsushita は, エチレンジアミン四酢酸

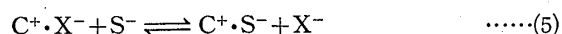
(EDTA) を溶離液とした電気伝導度検出 IC に関する研究の一環で, 2価金属イオンが注入直後分離カラム内で陰イオン性の EDTA-金属錯体を生成するため, 紫外部短波長領域を検出波長とすれば, 無機陰イオンと金属イオンが同時分析できることを報告した.⁵⁹⁾ この方法は, EDTA の吸光度が小さいために感度が劣っていたが, その後, 著者らは, 吸光度の大きい EDTA-銅(II) と EDTA の混合溶液を溶離液とする陰イオンと金属イオンの高感度な同時分析法を報告した (Fig. 7).³²⁾

Table I には, これまでに報告されたイオン交換吸光度検出 IC に関する研究の分析対象イオン種, 溶離液, カラム充填剤及び検出波長をまとめた. 新しい試みを含めたこれらの研究成果とともに, イオン交換吸光度検出 IC の性能は向上し, その利用も更に拡がると予想される.

3. 逆相吸光度検出 IC

3-1 基本原理 順相, あるいは逆相モードにおいても, 光吸収のない, あるいは小さな化合物を吸光度検出する試みが以前から報告されており^{63-68,81)}, その歴史はイオン交換モードより古い. しかも逆相吸光度検出 IC の基本をなす“光吸収の大きなイオン性化合物 (イオン対試薬) を用いる”という考え方は, イオン対クロマトグラフィーの機序解明の研究と深いつながりがある. しかし, ここではそれらは省略し, 逆相モードの IC に焦点を絞って紹介しよう. 簡単のために, 光吸収のない試料イオンを S^- , イオン対試薬を $C^+ \cdot X^-$ とする. C^+ と X^- のいずれが光吸収を有するかによって, その検出原理を, 2つの様式に分けて考えることができる.

試料イオン S^- に対して, X^- が光吸収を有する場合—あらかじめ, カラムを移動相 $C^+ \cdot X^-$ (C^+ は疎水性の高い陽イオン成分とする) で平衡化することにより, カラム固定相表面は保持の強い C^+ で覆われ, その各々に X^- がイオン結合的に結合している状態となる. したがってこのカラムは見かけ上, 陽イオン交換機能を持つと言える. このとき, S^- がカラムに注入されると, 固定相表面で,



という X^- と S^- のイオン交換 (置換) 反応が起こる. したがって式(5)が成立する平衡状態では, カラムから S^- が溶出されるときに, X^- が S^- で置換された濃度だけ移動相成分 X^- が示すベースライン吸光度が減少し, 負ピークを生ずる. このとき, S^- の C^+ に対するイオン親和性の違いにより保持時間が異なる. 以上の機序は, イオン交換吸光度検出 IC の原理 (2-1) と類似

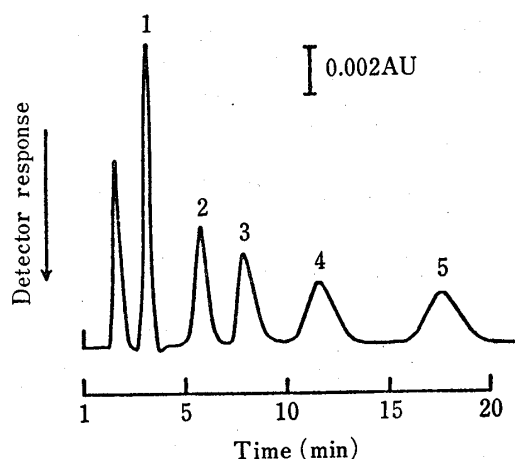


Fig. 7. Chromatogram of Three Anions and Two Metal Ions³²⁾

1, Cl^- (280 ng); 2, Ca^{2+} (160 ng); 3, NO_3^- (500 ng); 4, Mg^{2+} (97 ng); 5, SO_4^{2-} (380 ng); column, MCI SCA-01 (150 mm \times 4.6 mm i.d.); eluent, 5×10^{-4} M $NO_2[Cu(edta)] - 5 \times 10^{-5}$ M Na_2H_2edta .

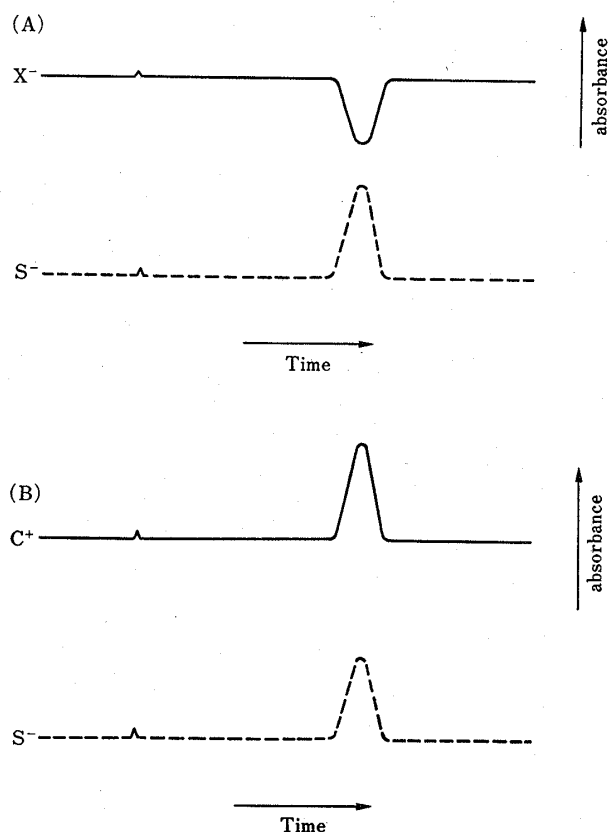
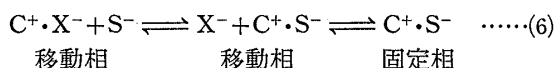


Fig. 8. Photometric Detection Patterns in Reversed-Phase Chromatography

していることがわかる (Fig. 8-A).

試料イオン S^- に対して, C^+ が光吸収を有する場合——やはり, あらかじめカラムは移動相 $C^+ \cdot X^-$ で平衡化されているとする. ここで $C^+ \cdot S^-$ のイオン対生成能が大ききとき, 試料イオン S^- の注入後, カラム内で次のような反応が起こる.



この後, $C^+ \cdot S^-$ の移動相と固定相間の分配が繰り返されると考えることができる. したがって, 式(6)が成立する平衡状態では, カラムから S^- が溶出されるときには C^+ を伴っており, S^- の濃度に依存して移動相成分 C^+ のベースライン吸光度が増加する. このとき, S^- と C^+ のイオン対生成の強さの違いにより, S^- に伴う C^+ の濃度増加の大きさ (ピーク面積) は変化する (Fig. 8-B).

基本的には逆相吸光度検出 IC の原理を以上のように理解できよう. しかし, 条件によってはこの2つの様式が混在する場合もあり, 正, 負のピークの混在や, 電荷の異なる (異符号) イオン同士の同時分析も報告されている.^{69,70} 次に, 実際の報告例を2つの様式順に紹介しよう.

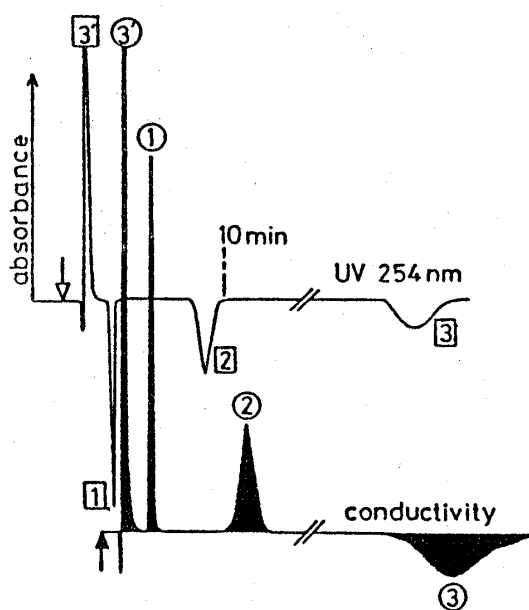


Fig. 9. Chromatograms of Sulfate and Chloride Ions⁷¹⁾

1, Cl^- (10^{-3} M); 2, SO_4^{2-} (10^{-3} M); 3, system peak; column, DuPont Zorbax C_8 ($7 \mu m$, 200 mm); eluent, 10^{-3} M $C_8H_{17}(CH_3)NH_2^+SO_3^-$ ($-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_3$); flow rate, 1.6 ml min^{-1} ; sample volume, $20 \mu l$; detection, conductivity followed by indirect photometry at 254 nm.

まずイオン対試薬のうち試料イオンと同符号のイオン成分が光吸収を有する例として次のような報告がある.

Dreux らは, トルエンスルホン酸・オクチルメチルアンモニウムを添加した移動相を用いると塩化物イオンと硫酸イオンが分離検出されること (Fig. 9), また移動相に添加する陰イオン成分としてニトロベンゼンスルホン酸やニトロ安息香酸も有効であることを見出した.⁷¹⁾ Andrasko は, *p*-トルエンスルホン酸・セチルトリメチルアンモニウム及び *p*-トルエンスルホン酸を添加したアセトニトリル-水を移動相として, ヨウ素酸イオン, 塩化物イオン, 亜硫酸イオン, 臭化物イオン, 硝酸イオン, 塩素酸イオン, ヨウ化物イオン及びチオンアンイオンが正, 負のピークとして検出できることを報告した.⁷²⁾ 続いて Perrone らは, フタル酸・テトラブチルアンモニウム溶液を移動相として, フッ化物イオン, 塩化物イオン, 亜硝酸イオン, 臭化物イオン, リン酸イオン, 硝酸イオン, 亜リン酸イオン, 塩素酸イオン, 硫酸イオン, チオ硫酸イオン, ヨウ化物イオンが分離検出できることを報告した⁷³⁾ (Fig. 10). 同様の考え方で, Fröhlich¹¹²⁾ は, セチルトリメチルアンモニウム処理したカラムにニトロフタル酸溶液を流し, 無機陰イオンと酢酸を, また Bidlingmeyer ら⁷⁴⁾ は, サリチル酸・テトラブチルアンモニウム溶液を移動相として, 無機陰イ

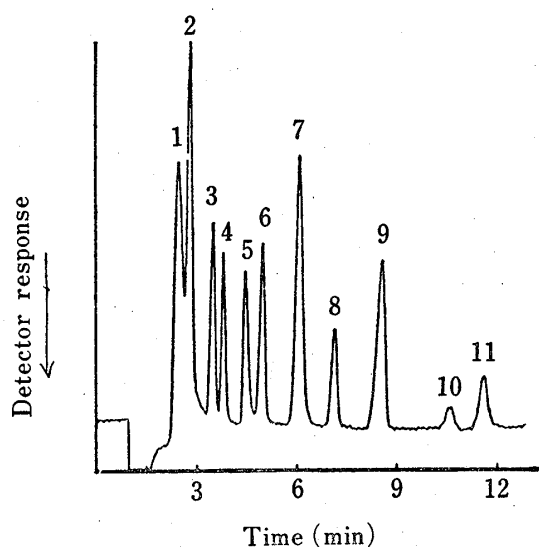


Fig. 10. Separation of Eleven Inorganic Anions⁷³⁾

1, F⁻; 2, Cl⁻; 3, NO₂⁻; 4, Br⁻; 5, PO₄³⁻; 6, NO₃⁻; 7, PO₃³⁻; 8, ClO₃⁻; 9, SO₄²⁻; 10, S₂O₃²⁻; 11, I⁻; column, analytical column (5 μm, C₁₈) + guard column (C₁₈); mobile phase, 1 mM tetrabutylammonium hydroxide adjusted to pH 6.56 with a saturated phthalic acid solution; flow rate, 1.3 ml min⁻¹.

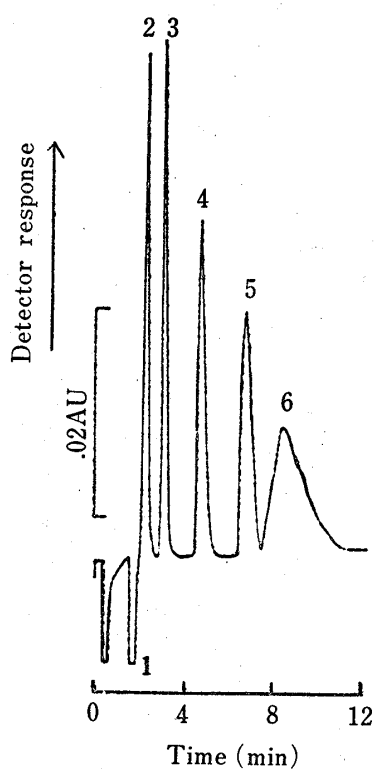


Fig. 11. Separation of Five Inorganic Anions⁷⁶⁾

1, system peak; 2, Cl⁻; 3, NO₂⁻; 4, Br⁻; 5, NO₃⁻; 6, SO₄²⁻; sample size, 50 μl of 1 mM each anion; column, Supelco LC18DB; mobile phase, 0.25 mM hexanesulfonate-4 mM α-naphthylmethyltributylammonium-10 mM acetic acid sodium acetate in water (pH 4.75); flow rate, 1 ml min⁻¹; detection wavelength, 316 nm.

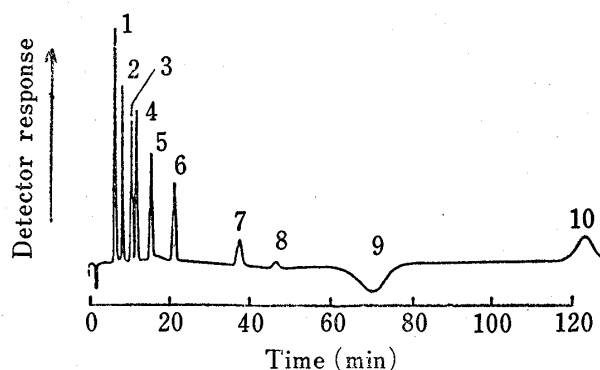


Fig. 12. Separation of a Multicomponent Mixture of Inorganic Monovalent Anions⁷⁹⁾

1, F⁻; 2, Cl⁻; 3, Br⁻; 4, NO₂⁻; 5, NO₃⁻; 6, ClO₃⁻; 7, I⁻; 8, BF₄⁻; 9, system peak; 10, SCN⁻; column, Hamilton PRP-1 (150 mm × 4.1 mm i.d.); mobile phase, 10⁻⁴ M Fe(phen)₃(ClO₄)₂-10⁻⁴ M succinate (pH 6.1); flow rate, 1 ml min⁻¹; detection, 510 nm.

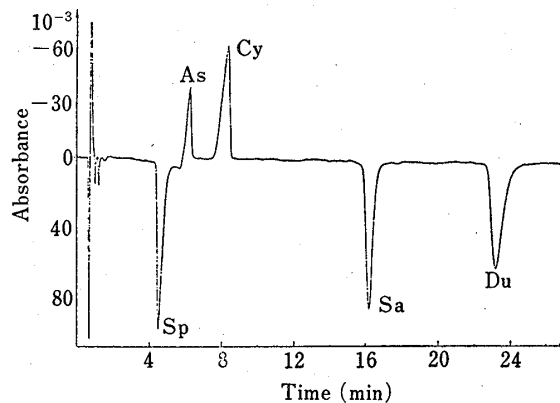


Fig. 13. Chromatogram of Aspartam (As), Cyclamate (Cy), Saccharin (Sa), Dulcin (Du) and System Peak (Sp)⁸⁴⁾

Sample, 30 μl of 1000 ppm each of aspartam and cyclamate and 300 ppm each of saccharin and dulcin; column, Merk Hypersil MOS (3 μm, 100 mm × 4 mm i.d.); eluent, 5 mM TBA *p*-toluenesulphonate with 8% methanol; flow rate, 1.5 ml min⁻¹.

をいずれも負ピークとして分離検出する方法を報告した。

一方、イオン対試薬のうち試料イオンと異符号のイオン成分が光吸収を有する例として次のような報告がある。Carr らは、α-ナフチルメチルトリブチルアンモニウムを添加した移動相を用いて、塩化物イオン、亜硝酸イオン、臭化物イオン、硝酸イオン、硫酸イオンなどの無機陰イオンが分離定量されること⁷⁶⁾ (Fig. 11)、及びこれらに及ぼすイオン対試薬濃度、種類、有機溶媒、共存イオン、緩衝液の影響⁷⁷⁾ を明らかにしている。更に彼らは、この系でシステムピークより前に溶出される試料イオンは負ピーク、後に溶出される試料イオンは正ピ

TABLE II. Experimental Conditions of Non-suppressed Ion Chromatography with Absorbance Detection (Reversed-Phase Mode)

Analyte	Eluent	Column	Detection nm	Ref. No.
Pentanesulfonate, hexanesulfonate, heptanesulfonate, octanesulfonate	Cetylpyridinium chloride, phenethylamine <i>p</i> -ethylbenzenesulfonate in methanol-water	μ Bondapak C ₁₈ (Waters)	(-) 254	65-67
Carboxylic acids, alkylamines, alkylsulfates, amino acids, peptides, Br ⁻	1-Phenethyl-2-picolinium bromide, sodium naphthalene-2-sulfonate, sodium 6-hydroxynaphthalene-2-sulfonate, <i>N,N</i> -dimethylpropriptyline bromide	μ Bondapak Phenyl (Waters), Nucleosil CN (Macherey Nagel), PRP-1 (Hamilton)	(+, -) 254	69
Cl ⁻ , SO ₄ ²⁻ , I ⁻	Octylmethylammonium- <i>p</i> -toluenesulfate, nitrosulfonate, nitrobenzoate	Zorbax C ₈ (DuPont)	(-) 254	71
Cl ⁻ , ClO ₃ ⁻ , NO ₂ ⁻ , NO ₃ ⁻ , Br ⁻ , I ⁻ , IO ₃ ⁻ , SCN ⁻ , SO ₄ ²⁻ , H ₂ PO ₄ ⁻	Cetyltrimethylammonium <i>p</i> -toluenesulfonate in acetonitrile-water	Nucleosil C ₁₈ (Macherey Nagel)	(+, -) 236-270	72
F ⁻ , Cl ⁻ , NO ₂ ⁻ , Br ⁻ , HPO ₄ ²⁻ , NO ₃ ⁻ , ClO ₃ ⁻ , SO ₄ ²⁻ , S ₂ O ₃ ²⁻ , I ⁻	Tetrabutylammonium phthalate	C ₁₈	(-) 220-230	73
H ₂ PO ₄ ⁻ , Cl ⁻ , NO ₂ ⁻ , Br ⁻ , NO ₃ ⁻ , I ⁻ , SO ₄ ²⁻ , S ₂ O ₃ ²⁻	Tetrabutylammonium salicylate	C ₁₈ Radial-PAK (Waters)	(-) 288	74
Cl ⁻ , NO ₂ ⁻ , Br ⁻ , NO ₃ ⁻ , SO ₄ ²⁻ , and other inorganic anions, alkylsulfonates	α -Naphthylmethyltributylammonium + hexanesulfonate + acetate	Supelco LC18D8	(+) 316	76-78
F ⁻ , IO ₃ ⁻ , Cl ⁻ , NO ₂ ⁻ , BrO ₃ ⁻ , NO ₃ ⁻ , ClO ₃ ⁻ , SO ₄ ²⁻ , I ⁻ , BF ₄ ⁻ , SCN ⁻ , ClO ₂ ⁻ , ClO ₄ ⁻ , carboxylates	Iron(II)1,10-phenanthroline salts	Zorbax C ₁₈ (DuPont), PRP-1 (Hamilton)	(+) 510	79,80
Surfactant and its degraded products (amines)	Sodium decylbenzenesulfonate	μ Bondapak C ₁₈ (Waters), LiChrosorb RP-18 (Merck)	(+) 254	83
Sweeteners (cyclamate, saccharin, dulcin, aspartam)	Tetrabutylammonium <i>p</i> -toluenesulfonate in methanol-water	LiChrosorb RP-18 (Merck), Hypersil MOS (Shandon)	(+, -) 267	84
Acetylcholine, choline	<i>p</i> -Toluenesulfonic acid in acetonitrile-water	PRP-1 (Hamilton)	(+, -) 254	85
Acetylcholine, butyrylcholine, choline, propionylcholine	1-Phenethyl-2-picolinium bromide in butanol-methanol-acetic acid-water	μ Bondapak C ₁₈ (Waters)	(-) 254	86
Ganglion-blocking agent (hexamethonium bromide)	<i>p</i> -Toluenesulfonic acid in methanol-water	μ Bondapak C ₁₈ (Waters)	(+) 210	87
Inorganic anions, acetate	Cetyltrimethylammonium bromide \rightarrow 3-nitrophthalate	Hypersil-5-ODS (Shandon)	(-) 325	112

(+), positive peak; (-), negative peak.

一クとなることを明らかにした。⁷⁶⁾ 次に Pietrzyk らは、可視吸収が大きな鉄(II)-1.10-フェナントロリン錯体を用いて無機陰イオン⁷⁹⁾ (Fig. 12), 並びに有機酸⁸⁰⁾ の可視吸光度検出による分析法を報告した。

イオン対クロマトグラフィーの機序はまだ完全には解明されていない部分もあり、逆相吸光度検出 IC の機序についても 3-1 基本原理のみの理解では、必ずしも十分とは言えない。しかもこれらの系で必ず出現し、時に

分析の妨げとなる“システムピーク”の生成機序⁸²⁾ は、現在もなお、未解決の問題として残されていることを付け加えておかねばならない。

3-2 実際分析への適用 逆相吸光度検出 IC の応用は、イオン交換吸光度検出 IC に比べて少ない。ここでは広く無機イオン性化合物だけでなく有機イオン性化合物の場合も含めて実際分析へ適用した例を紹介する。Parris は、界面活性剤及びその分解物の分析を行い、示

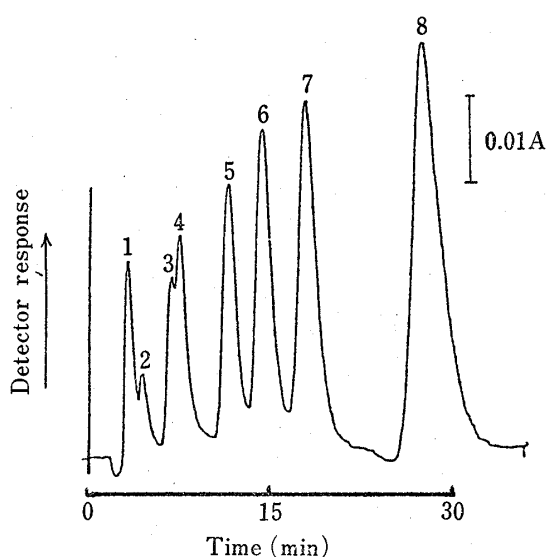


Fig. 14. Separation of Aliphatic Alcohols⁹¹⁾

1, methanol; 2, ethanol; 3, 2-propanol; 4, 1-propanol; 5, 2-methyl-2-propanol; 6, 2-butanol; 7, 1-butanol; 8, 1,1-dimethylpropanol; sample size, 10 μ l containing 80 μ g of each alcohol; column, Whatman Partisil-5-ODS (250 mm \times 6.26 mm i.d.); mobile phase, 10^{-4} M methylene blue in methanol-H₂O (5:95); flow rate, 1 ml min⁻¹; detection wavelength, 651 nm.

差屈折率検出法より感度が100倍良いと報告した。⁸³⁾ Herrman らは、シクラミン酸、サッカリン、ズルチン、アスパルテーム、グリシンなどの甘味料を分析した (Fig. 13).⁸⁴⁾ Raghuveeran は、アセチルコリン及びコリンの分析を行い、⁸⁵⁾ Jones らは、植物抽出試料中のアセチルコリン及びコリンの分析を報告した。⁸⁶⁾ Collins は、降圧薬の臭化ヘキサメトニウムを分析した。⁸⁷⁾ また Petterson らは、(+/-)-10-カンファースルホン酸などの光学異性体の分離分析を行った。⁸⁸⁾

Table II には逆相吸光度検出イオンクロマトグラフィーの分析対象化合物、移動相成分、カラム及び検出波長をまとめた。

4. 終わりに

本法が、汎用型の吸光度検出器を備えた HPLC 装置で行うことができる利点は、しだいに各領域で認識され

るようになってきた。しかも、移動相に添加した光吸収のある化合物のカラム溶出液中の濃度変化は、イオン性物質だけでなく中性物質でも起こり、この現象を用いれば、糖やケトン、アルコールなども吸光度検出できることが報告され (Fig. 14),⁸⁹⁻⁹⁵⁾ 理論的裏付けも試みられるようになってきた。⁹⁶⁻¹⁰¹⁾ 一方、吸光度検出だけでなく、電気伝導度、蛍光あるいは屈折率などの他の検出法に同様な原理を導入することも検討されるようになった。¹⁰²⁻¹⁰⁷⁾ このように、試料イオンが溶出されるときに生ずる移動相の光吸収成分の正、負の濃度変化を検出する方法は、イオン性物質から非イオン性物質へ、また吸光度検出からその他の検出法へと広がりつつあり、その影響は極めて大きいと言えよう。

今回は、分析対象イオンを誘導化することなしに、単に移動相に加えた光吸収化合物の溶出濃度変化として検出できる“間接”吸光度検出方式に主眼を置いた。例えば、それ自体が紫外吸収を有するイオンの分析法、カラム分離の前又は後に、紫外、可視吸収を有する化合物に誘導化する無機陰イオンや金属イオンの分析法などは省いた。これらの誘導体による分析は、従来の HPLC や IC についての成書並びに総説に少なからず扱われており、興味のある方はそれらを参照することをお勧めする次第である。

最後に、今や各種公定分析法として、IC の採用の検討が進んでいることを付け加えておかねばならない。例えば、米国の ASTM の Annual Book において、水質分析の提案法として既に IC が見出されるだけでなく、我国でも、日本水道協会水試験法における参考法、環境庁大気汚染物質測定法指針、並びに日本薬学会衛生試験法における水質試験法及び空気試験法などにおいて IC の公定法化への動きは鮮明になっている。更に、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、ハード及びソフト両面の目覚ましい技術開発と相まって、益々その重要性を高めていくことであろう。

引用文献

- 1) H. Small, T.S. Stevens, W.C. Bauman, *Anal. Chem.*, **47**, 1801 (1975).
- 2) J.S. Fritz, D.T. Gjerde, C. Pohlandt, "Ion Chromatography," Hüthig, New York, 1982.
- 3) 武藤義一, 及川紀久雄編, "イオンクロマトグラフィー," 講談社, 東京, 1983.
- 4) J. Tarter, "Ion Chromatography," John Wiley, New York, 1987.
- 5) 樋谷祐一, *ぶんせき*, **1979**, 603.
- 6) C.A. Pohl, E.L. Johnson, *J. Chromatogr. Sci.*, **18**, 442 (1980).
- 7) 及川紀久雄, *ぶんせき*, **1980**, 531.
- 8) 及川紀久雄, 斎藤浩子, *ぶんせき*, **1982**, 94.

- 9) 六鹿宗治, 化学, **37**, 70 (1982).
- 10) 岡田哲男, 桑本 融, 化学, **39**, 70 (1984).
- 11) 坂本和彦, 村野健太郎, 公害と対策, **20**, 69 (1984).
- 12) 村野健太郎, ぶんせき, **1983**, 919.
- 13) P.R. Haddad, A.L. Heckenberg, *J. Chromatogr.*, **300**, 357 (1984).
- 14) G. Schmucklen, *J. Chromatogr.*, **313**, 47 (1984).
- 15) T.H. Jupille, D.T. Gjerde, *J. Chromatogr. Sci.*, **24**, 427 (1986).
- 16) J.P. Hummel, W.J. Dreyer, *Biochem. Biophys. Acta*, **63**, 530 (1962).
- 17) L.L. Kastenschmidt, J. Kastenschmidt, E. Helmreich, *Biochemistry*, **7**, 3590 (1968).
- 18) R.P.W. Scott, C.G. Scott, P. Kucera, *Anal. Chem.*, **44**, 100 (1972).
- 19) B.A. Bidlingmeyer, S.N. Deming, W.P. Price Jr., B. Sachok, M. Petrussek, *J. Chromatogr.*, **186**, 419 (1979).
- 20) H. Small, T.E. Miller, *Anal. Chem.*, **54**, 462 (1982).
- 21) 早川和一, 平木博美, 宮崎元一, 分析化学, **32**, 504 (1983).
- 22) 宮崎元一, 早川和一 “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, 1986.
- 23) 本水昌二, ぶんせき, **1983**, 101.
- 24) M.H. Gaffney, M. Cooke, *Anal. Proceed.*, **22**, 25 (1985).
- 25) 宮崎元一, 早川和一, *Jasco LC Family*, **21**, (1) 1 (1986).
- 26) D.R. Jenke, *Anal. Chem.*, **56**, 2468 (1984).
- 27) T. Okada, T. Kuwamoto, *J. Chromatogr.*, **325**, 327 (1985).
- 28) P.J. Naish, *Analyst* (London), **109**, 809 (1984).
- 29) 本水昌二, 沢谷郁夫, 弘中孝志, 大島光子, 桐柴恭二, 分析化学, **36**, 77 (1987).
- 30) 本水昌二, 弘中孝志, 第42回分析化学討論会要旨集, p.193 (1987).
- 31) J.H. Sherman, N.D. Danielson, *Anal. Chem.*, **59**, 490 (1987).
- 32) K. Hayakawa, T. Sawada, K. Shimbo, M. Miyazaki, *Anal. Chem.*, **59**, 2241 (1987).
- 33) 沢田岳彦, 河崎文祥, 早川和一, 宮崎元一, 日本分析化学会第36年々会要旨集, 熊本, 1987年10月, p.408.
- 34) J.R. Larson, C.D. Pfeiffer, *J. Chromatogr.*, **259**, 519 (1983).
- 35) J.R. Larson, C.D. Pfeiffer, *Anal. Chem.*, **55**, 393 (1983).
- 36) D.L. McAleese, *Anal. Chem.*, **59**, 541 (1987).
- 37) 早川和一, 平木博美, 宮崎元一, 分析化学, **34**, T77 (1985).
- 38) 吉田育世, 早川和一, 宮崎元一, 衛生化学, **31**, 317 (1985).
- 39) M. Miyazaki, K. Hayakawa, Seung-gi Choi, *J. Chromatogr.*, **323**, 443 (1985).
- 40) R.A. Cochrane, D.E. Hillman, *J. Chromatogr.*, **241**, 392 (1982).
- 41) P.R. Haddad, A.L. Heckenberg, *J. Chromatogr.*, **252**, 177 (1982).
- 42) R.C. Foley, P.R. Haddad, *J. Chromatogr.*, **366**, 13 (1986).
- 43) 中村誠治, 早川和一, 宮崎元一, 日本薬学会北陸支部第73回例会, 富山, 1987年11月.
- 44) 宮崎元一, 大久保登, 早川和一, 日本薬学会第104年々会, 仙台, 1984年3月.
- 45) 早川和一, 吉岡知恵子, 宮崎元一, 北陸公衆衛生学会誌, **12**, 14 (1985).
- 46) 弘中孝志, 大島光子, 本水昌二, 分析化学, **36**, 503 (1987).
- 47) 早川和一, 蛭名令子, 松本美枝子, 宮崎元一, 分析化学, **33**, 390 (1984).
- 48) 山本 敦, 松永明信, 関口久義, 早川和一, 宮崎元一, 衛生化学, **31**, 47 (1985).
- 49) 山本 敦, 松永明信, 牧野正雄, 衛生化学, **31**, 421 (1985).
- 50) D.R. Jenke, N. Raghavan, *J. Chromatogr. Sci.*, **23**, 75 (1985).
- 51) 石川雅章, 山本政利, 増井俊夫, 早川和一, 宮崎元一, 中澤裕之, 藤田昌彦, 分析化学, **35**, 309 (1986).
- 52) 三枝好孝, 道上義正, 山本善一, 上田一正, 第48回分析化学討論会要旨集, 1987, p.247.
- 53) B.B. Sithole, R.D. Guy, *Analyst* (London), **111**, 395 (1986).
- 54) D.R. Jenke, *J. Chromatogr. Sci.*, **24**, 352 (1986).
- 55) 吉田育世, 早川和一, 宮崎元一, 日化誌, **1986**, 1046.
- 56) 宮下直志, 吉田育世, 早川和一, 宮崎元一, 第3回イオンクロマトグラフィー討論会講演要旨集, 1986, p.6.
- 57) 山本 敦, 松永明信, 牧野正雄, 早川和一, 宮崎元一, 衛生化学, **32**, 174 (1987).
- 58) B.B. Wheals, *J. Chromatogr.*, **262**, 61 (1983).
- 59) S. Matsushita, *J. Chromatogr.*, **312**, 327 (1984).
- 60) Z. Iskandarani, T.E. Miller, Jr., *Anal. Chem.*, **57**, 1591 (1985).
- 61) J.S. Fritz, D.L. DuVal, R.E. Barron, *Anal. Chem.*, **56**, 1177 (1984).

- 62) D.R. Jenke, *Anal. Chem.*, **56**, 2674 (1984).
- 63) J. Crommen, B. Fransson, G. Schill, *J. Chromatogr.*, **142**, 283 (1977).
- 64) B.A. Bidlingmeyer, S.N. Deming, W.P. Price, Jr., B. Sachock, M. Ptusek, *J. Chromatogr.*, **186**, 419 (1979).
- 65) B.A. Bidlingmeyer, *J. Chromatogr. Sci.*, **18**, 525 (1980).
- 66) B.A. Bidlingmeyer, F.V. Warren, Jr., *Anal. Chem.*, **54**, 351 (1982).
- 67) B. Sachok, S.N. Deming, B.A. Bidlingmeyer, *J. Liquid Chromatogr.*, **5**, 389 (1982).
- 68) F.V. Warnen, Jr., B.A. Bidlingmeyer, *Anal. Chem.*, **56**, 487 (1984).
- 69) M. Denkert, L. Hackzell, G. Schill, E. Sjögren, *J. Chromatogr.*, **218**, 31 (1981).
- 70) L. Hackzell, T. Rydberg, G. Schill, *J. Chromatogr.*, **282**, 179 (1983).
- 71) M. Dreux, M. Lafosse, M. Pequignot, *Chromatographia*, **15**, 653 (1982).
- 72) J. Andrasko, *J. Chromatogr.*, **314**, 429 (1984).
- 73) P.A. Perrone and J.R. Gant, Abstracts of Paperc, 35 th Pittsburgh Conference, Atlantic City, U.S.A, 1984, p. 787.
- 74) B.A. Bidlingmeyer, C.T. Santasania, F.V. Warren, Jr., *Anal. Chem.*, **59**, 1843 (1987).
- 75) P.E. Jackson, P.R. Haddad, *J. Chromatogr.*, **355**, 87 (1986).
- 76) W.E. Barber, P.W. Carr, *J. Chromatogr.*, **260**, 89 (1983).
- 77) W.E. Barber, P.W. Carr, *J. Chromatogr.*, **301**, 25 (1984).
- 78) W.E. Barber, P.W. Carr, *J. Chromatogr.*, **316**, 211 (1984).
- 79) P.G. Rigas, D.J. Pietrzyk, *Anal. Chem.*, **58**, 2226 (1986).
- 80) P.G. Rigas, D.J. Pietrzyk, *Anal. Chem.*, **59**, 1388 (1987).
- 81) J.J. Stranhan, S.N. Deming, *Anal. Chem.*, **54**, 1540 (1982).
- 82) S. Leuin, E. Grushka, *Anal. Chem.*, **59**, 1157 (1987).
- 83) N. Parris, *J. Liquid Chromatogr.*, **3**, 1743 (1980).
- 84) A. Herrmann, E. Damawandi, M. Wagmann, *J. Chromatogr.*, **280**, 85 (1983).
- 85) C.D. Raghuvieran, *J. Liquid Chromatogr.*, **8**, 537 (1985).
- 86) R.S. Jones, C.A. Stutte, *J. Chromatogr.*, **319**, 454 (1985).
- 87) A.J. Collins, *J. Chromatogr.*, **354**, 459 (1986).
- 88) C. Petterson, G. Schill, *J. Liquid Chromatogr.*, **9**, 269 (1986).
- 89) T. Gnanasambandan, H. Freiser, *Anal. Chem.*, **53**, 909 (1981).
- 90) T. Gnanasambandan, H. Freiser, *Anal. Chem.*, **54**, 2380 (1982).
- 91) T. Gnanasambandan, H. Freiser, *Anal. Chem.*, **54**, 1282 (1982).
- 92) J.E. Perkin, *J. Chromatogr.*, **303**, 436 (1984).
- 93) J.E. Perkin, H.T. Lau, *J. Chromatogr.*, **314**, 488 (1984).
- 94) J.E. Perkin, *J. Chromatogr.*, **287**, 457 (1984).
- 95) L. Hackzell, G. Schill, *Chromatographia*, **15**, 437 (1982).
- 96) G. Vigh, A. Leitold, *J. Chromatogr.*, **312**, 345 (1984).
- 97) S. Banerjee, *Anal. Chem.*, **57**, 2590 (1985).
- 98) J.E. Parkin, *J. Chromatogr.*, **351**, 532 (1986).
- 99) P.K. Gupta, J.G. Nikelly, *J. High Resolut. Chromatogr. Chromatogr. Commun.*, **9**, 572 (1986).
- 100) T. Takeuchi, D. Ishii, *J. Chromatogr.*, **393**, 419 (1987).
- 101) S. Banerjee, M.A. Castrogivanni, *J. Chromatogr.*, **396**, 169 (1987).
- 102) S.Y. Su, A. Jurgensen, *Anal. Lett.*, **14**, 1 (1986).
- 103) P.R. Haddad, P.W. Alexander, M. Trojanowicz, *J. Chromatogr.*, **321**, 363 (1985).
- 104) S. Mho, E.S. Yeung, *Anal. Chem.*, **57**, 2253 (1985).
- 105) S. Maketon, E.S. Otterson, J.G. Tarter, *J. Chromatogr.*, **368**, 395 (1986).
- 106) J.H. Sherman, N.D. Danielson, *Anal. Chem.*, **59**, 1483 (1987).
- 107) H. Hojabni, A.G. Lauin, G.G. Wallance, J.M. Riuiello, *Anal. Chem.*, **59**, 54 (1987).
- 108) 西村雅之, 今道仙也, 三上 博, 第4回イオンクロマトグラフィー討論会講演要旨集, 1987, p.32.
- 109) G. Brandt, A. Kettrup, *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **320**, 485 (1985).
- 110) G. Brandt, A. Kettrup, *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **321**, 653 (1985).
- 111) G. Brandt, P. Vögler, A. Kettrup, *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **325**, 252 (1986).
- 112) D.H. Fröhlich, *J. High Resolut. Chromatogr. Chromatogr. Commun.*, **10**, 12 (1987).