技術論文

C30 固定相を用いるイオン対クロマトグラフィーによる 有機化合物中のヨウ素の定量

平 木 登^①, 磯崎 昭徳^②, 長 嶋 潜^③

Determination of Iodine in Organic Compounds by Ion-Pair Chromatography with C30 as a Stationary Phase

Noboru HIRAKI¹, Akinori ISOZAKI² and Hisomu NAGASHIMA³

¹ Tokyo Kaseigakuin high school, 22, Sanbanchou, Chiyoda-ku, Tokyo 102-8341

² Department of Materials and Applied Chemistry, College of Science and Technology, Nihon University, 1-8-14, Kanda-Surugadai, Chiyoda-ku, Tokyo 101-8308

³ NAC Techno Service Co., Ltd., 5-21-39, Kamisaginomiya, Nakano-ku, Tokyo 165-0031

(Received 30 July 2004, Accepted 27 September 2004)

A method for the determination of iodine in organic compounds has been developed for ion-pair chromatography (IP-HPLC) with a new C30 column, coupled with a UV detector at 230 nm. A phosphate buffer (pH 6.0) containing 2 mM tetrabutylammonium (TBA-HSO₄) in 15(v/v)% acetonitrile was used as an optimal mobile phase for iodide ion. Especially the calibration curve was linear with excellent correlation coefficients of more than 0.9995; further, the relative standard deviations at 20 and 2 µg/ml were less than 0.27 and 0.45% based on 10 repeated measurements. This method was applied to the determination of iodine in organic compounds with an oxygen-flask-combustion method. Several mg of a sample was burned in an oxygen flask filled with 20 ml of 2 mM NaHCO₃ and 100 ppm NH₂NH₂ as an absorbent; water was added to make 50 ml. A 20 µg liquid sample solution was injected into a column. The content of iodine by this method was in good agreement with that calculated based on the molecular weight.

Keywords : ion-pair chromatography; iodine in organic compounds; UV detector; C30-silica column.

1 緒 言

通常のポリスチレンを基材とするラテックス型のカラムを用いるイオンクロマトグラフィー (IC) では、親和性が強いヨウ化物イオンでは溶出時間が遅く、かつブロードなピークになる場合がある。これに対して著者らは、既に ODS (octadecyl silica) カラム^①あるいはカーボンカラム^{②③})を用いて、有機ヨウ素の定量法を報告した。一方、一般的に用いられる ODS カラムは、水の濃度が 100% に

近い移動相を使用すると時間の経過とともに保持の減少・再現性の低下等の難点がある。これに対して、C30 固定相はトリアコンチル基を主成分とするアルキル基を有する新しい固定相であり、炭素鎖が長い ODS とは大きく性質が異なり、水 100% 移動相においても高い再現性を示すことが報告されている^④。著者らもイオン対高速液体クロマトグラフィー (IP-HPLC) により紫外 (UV) 吸収を有する無機陰イオンの分離定量法を検討し、亜硝酸と硝酸^⑤、チオシアン酸^⑥の定量法を報告した。また、ヨウ化物イオンについては、ODS 又は C30 カラムを用いて、特に海水を中心に検討が行われている^{⑦-⑨}。本報告では、この C30 カラムを用いて、有機ヨウ素化合物の前処理に酸素フラスコ燃焼法を使用し、IP-HPLC と組み合わせて有

^① 東京家政学院高等学校: 102-8341 東京都千代田区三番町 22

^② 日本大学理工学部物質応用化学科: 101-8308 東京都千代田区神田駿河台 1-8-14

^③ 株式会社ナックテクノサービス: 165-0031 東京都中野区上鷺宮 5-21-39

Table 1 Operating conditions of RP-HPLC

Column	: Wakopak Navi C30-5 (4.6 mm i.d. × 250 mm)
Eluent	: 2 mM TBA-HSO ₄ - 20 mM phosphate buffer (pH 6.0) - 15 (v/v)% CH ₃ CN
Flow rate	: 0.8 ml/min
Injection volume	: 20 μl
Detection	: UV (230 nm)
Column temperature	: 40°C

TBA-HSO₄: tetrabutylammonium hydrogensulfate

Table 2 Relative peak-area sensitivity of anions for several wavelengths

Ions	UV wavelengths/nm			
	210	220	230	240
NO ₂ ⁻	1.00	0.69	0.28	0.06
Br ⁻	1.00	0.07	0	0
NO ₃ ⁻	1.00	0.43	0.10	0.01
I ⁻	1.00	2.27	2.07	0.63
SCN ⁻	1.00	0.83	0.39	0.08

*) Peak-area of a chromatogram measured at 210 nm: 1.00

機ヨウ素の定量を行った。テトラブチルアンモニウム塩及びアセトニトリルを含むリン酸緩衝溶液 (pH 6.0) を移動相に、UV 吸光検出器を用いて、ヨウ化物イオンの溶出挙動を検討した。ヨウ化物イオンは、230 nm 付近に強い UV 吸収を有するので、UV 吸光検出器を用い、高感度に測定することができた。更に、2 種の有機ヨウ素化合物について、組成の異なる 4 種吸収液を用いて、吸収液中のヨウ化物イオンの定量を行った。その結果、ヒドラジンを含む吸収液を用いることにより、短時間に精度よく、有機化合物のヨウ素の微量定量を行うことができたので報告する。

2 実験方法

2.1 IC の構成

装置は、ポンプに島津製 HPLC LC-6A シリーズ (送液ポンプ, UV 吸光検出器, オートインジェクター, カラム恒温槽) を、分離カラムは和光純薬製の Wakopak Navi C30-5 (4.6 mm i.d. × 250 mm) (以下 C30 カラム) を用いた。データ処理装置には島津製クロマトパック C-R6A を組み合わせて構成した。

2.2 試薬

リン酸緩衝溶液 (リン酸二水素ナトリウム, リン酸水素二ナトリウム) はいずれも和光純薬製特級試薬を用いて 100 mM (pH 6.0) 溶液を調製し、適宜超純水で希釈して用いた。標準溶液 (I⁻) は同社製特級品のナトリウム塩より調製した。また、アセトニトリルは同社製 HPLC 用を、

硫酸水素テトラブチルアンモニウム (TBA-HSO₄) は同社製特級品を用いた。水はすべて日本ミリポア製 Millipore-Direct-Q により精製したものを使用した。

2.3 測定条件

IC 測定条件を Table 1 に示す。移動相には、2 mM 硫酸水素テトラブチルアンモニウム (TBA-HSO₄, 以下 TBA 塩と略す), 20 mM リン酸緩衝溶液 (pH 6.0), 15 (v/v) % アセトニトリル混合溶液を用いて毎分 0.8 ml の流量で流し、ベースラインを安定化させた後試料溶液を注入する。ベースラインの定常化には約 40 分を要する。また、ヨウ化物イオンは 220 ~ 230 nm 付近に強い UV 吸収を有するので、測定波長は 230 nm を使用した。本法では検量線の作成及び試料の測定にピーク面積法を用いた。

3 結果及び考察

3.1 検出波長の選定

既報の亜硝酸及び硝酸の定量⁵⁾には測定波長 210 nm を、またチオシオン酸の定量⁶⁾には 220 nm を用いた。今回、ヨウ化物イオンを含めて 5 種無機陰イオン (NO₂⁻, Br⁻, NO₃⁻, I⁻, SCN⁻) について測定波長を 210 nm から 240 nm まで変化させ、波長と検出感度との関係を調べた。結果を Table 2 に、またクロマトグラムの一部を Fig. 1 に示す。ヨウ化物イオンの感度は 220 nm が最大であったが、230 nm にすると他のイオンの選択性が向上することから、230 nm の波長を用いることとした。なお、230 nm 付近では、F⁻, Cl⁻, Br⁻, HPO₄²⁻ 及び SO₄²⁻ イオン並びに TBA 塩及びアセトニトリルはバックグラウンドの吸収に影響を与えない。

3.2 溶離条件の検討

3.2.1 移動相中の溶離液組成について 分離条件として、移動相中のリン酸緩衝溶液、アセトニトリル及び TBA 塩濃度の影響を挙げるができる。移動相中のリン酸緩衝溶液濃度については、前報⁵⁾⁶⁾の至適濃度 20 mM とした。したがって、検討を要するのはアセトニトリル及び TBA 塩濃度の影響である。アセトニトリルは、C30 固定相表面の TBA 塩に保持された陰イオンを速やかに溶出

Fig. 1 Chromatogram of standard solution

Chromatogram at 230 nm; Ions(mg/ml): ① NO_2^- (5); ② NO_3^- (10); ③ I^- (10); ④ SCN^- (20); Eluent: 2 mM TBA- HSO_4 , 20 mM phosphate-buffer (pH 6.0), 15% CH_3CN

Fig. 2 Effect of acetonitrile concentration on retention time of iodide ion

Eluent: 2 mM TBA- HSO_4 , 20 mM phosphate-buffer (pH 6.0), CH_3CN ; I^- : 10 $\mu\text{g/ml}$

させるものである。他の条件を一定にし、アセトニトリル濃度の影響を調べ Fig. 2 に示す。アセトニトリル濃度を大きくするとヨウ化物イオンの保持時間は急激に減少し、20% 以上では分離が不十分となった。また、アセトニトリル濃度を小さくすると各イオンの溶出が遅くなる。各イオンの分離度及び分析時間を考慮して、アセトニトリルの最適濃度を 15% に定めた。また、前報では、カウンター

Table 3 Effect of TBA concentration on theoretical plate number and retention time of iodide ion

TBA concentration/ mM	Retention time/ min	Theoretical plate/ N
1.0	6.96	8890
1.5	7.53	9120
2.0	8.56	9160
2.5	8.83	8900
3.0	9.74	8730

イオンの TBA 塩として塩酸塩を使用した。これに対して TBA 硫酸塩の場合、より安価に求められることから、コストを考慮して硫酸塩を使用した。TBA 塩濃度を 1.0～3.0 mM と変化させたときの保持時間及び理論段数への影響について調べた結果を Table 3 に示す。TBA 塩濃度の上昇とともに保持時間が増加し、至適濃度 2 mM では 8.6 分を示し、他のイオンと良好に分離した。以上の点を考慮し、TBA 塩濃度を 2 mM とした。なお、TBA 塩溶液は硫酸塩の結晶を適宜溶解して用いた。理論段数については、TBA 塩濃度の上昇により若干低下するものの、この範囲ではミセル形成は認められない。TBA はカラム表面に吸着してイオン交換として作用すると推察される。

3・2・2 カラム温度の影響 カラム温度の上昇に伴い、疎水性のヨウ化物イオンにおいて、特に保持時間の減少が見られた。カラムへの負担を考慮し、カラム温度を 40℃ に設定した。

3・3 ヨウ化物イオンの分析精度

ヨウ化物イオンについて濃度を 2 段階に分け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。ヨウ化物イオンの標準溶液 20 μl をオートサンプラーにより注入し、ピーク面積法により得られた結果を Table 4 に示す。ヨウ化物イオンの濃度 2.0～20.0 $\mu\text{g/ml}$ 及び 0.2～2.0 $\mu\text{g/ml}$ の範囲で各 5 点注入したときの検量線の相関係数 (r) は 0.9995 以上の良好な直線性を示した。ヨウ化物イオン濃度 20 $\mu\text{g/ml}$ 及び 2.0 $\mu\text{g/ml}$ について連続して 10 回測定を行い相対標準偏差 (RSD%) を求めたところ、0.27% 及び 0.45% であった。また、ヨウ化物イオンの検出限界 ($S/N=3$) は 5 ng/ml であった。

3・4 C30 カラムの耐久性

実験に用いた C30 カラムは、先のチオシアン酸イオンに引き続き継続使用中のものである。ヨウ化物イオンに対する理論段数は、当初 10100 段を示し、その後約 1 年半経過した現在でも Table 3 に示すように 9100 段以上を示している。また、経過しても保持の再現性、分離能の低下

Table 4 Analytical precision of iodide ion based on peak area measurements

Linearity		Reproducibility		Limits of detection
Range/ $\mu\text{g ml}^{-1}$	r ($n = 5$)	$\mu\text{g ml}^{-1}$	RSD, % ($n = 10$)	ng ml^{-1} ($S/N = 3$)
2.00 ~ 20.0	1.000	20	0.27	5
0.20 ~ 2.00	0.9995	2	0.45	

RSD: Relative standard deviation

Table 5 Analytical results of iodine in organic compounds

Absorbent	Sample/mg	Calcd., %	Found, %	$\bar{X}$, %	Deviation, %
Compound 1					
(1) 2 mM NaHCO ₃	4.751	51.17	38.37	37.47	− 13.70
	2.811		36.61	(73.23)	
	3.289		37.43		
(2) 2 mM NaHCO ₃ + 100 ppm NH ₂ NH ₂	2.722	51.17	51.67	51.24	+ 0.07
	2.711		51.38	(100.14)	
	3.354		50.66		
(3) 2 mM NaHCO ₃ + 120 ppm H ₂ O ₂	3.354	51.17	48.55	48.81	− 2.36
	3.775		48.85	(95.39)	
	2.395		49.02		
(4) 2 mM NaHCO ₃ + 100 ppm NH ₂ NH ₂ + 120 ppm H ₂ O ₂	3.557	51.17	50.94	50.85	− 0.32
	3.527		51.09	(99.37)	
	2.229		50.52		
Compound 2					
(1) 2 mM NaHCO ₃	4.805	27.83	27.35	27.11	− 0.72
	4.310		26.96	(97.41)	
	3.995		27.01		
(2) 2 mM NaHCO ₃ + 100 ppm NH ₂ NH ₂	4.783	27.83	28.20	27.88	+ 0.05
	4.311		28.10	(100.18)	
	3.971		27.35		
(3) 2 mM NaHCO ₃ + 120 ppm H ₂ O ₂	4.614	27.83	22.15	22.92	− 4.91
	4.162		22.37	(82.36)	
	4.365		24.24		
(4) 2 mM NaHCO ₃ + 100 ppm NH ₂ NH ₂ + 120 ppm H ₂ O ₂	5.341	27.83	27.86	27.81	− 0.02
	4.546		27.97	(99.93)	
	3.057		27.61		

Compound 1: 2-Iodobenzoic acid (C₇H₅O₂I: 248.02); Compound 2: *N*-(4'-Iodobenzene sulfonyl)-2-bromo-4-fluoroaniline (C₁₂H₈O₂NFBrIS: 456.06)

は認められない。したがって、C30 カラムは従来の ODS カラムに比べて耐久性に優れていることが分かる。

4 有機化合物中のヨウ素の定量

4.1 酸素フラスコ燃焼法による前処理

有機試料の前処理には、日本薬局方（第 14 改正）の酸素フラスコ燃焼法に準拠した。試料 2 ~ 5 mg を濾紙片に精密に量り取り、吸収液 20 ml 及び酸素を満たした 500 ml 酸素燃焼フラスコ中で燃焼した後、よく振り混ぜ、20 分間放置して吸収した。次に、水を加えて 50 ml にメスアップした後、その 20 μl を HPLC に注入し、先のヨウ化物イオン標準液の検量線よりヨウ素含量を求めた。

4.2 有機ヨウ素化合物の分析

測定試料として、有機元素分析用標準試料の 2-ヨード

安息香酸及び山本、長嶋らにより開発された多元素含有標準試料¹⁰⁾¹¹⁾ (F, Br, I, S) NAC-st2 を用いた。また、吸収液として Table 5 に示す 4 種吸収液、すなわち (a): 薄い炭酸水素ナトリウム溶液、(b): (a) の溶液に少量の抱水ヒドラジン添加、(c): (a) の溶液に少量の過酸化水素水添加、(d): (a) の溶液に少量の抱水ヒドラジン及び過酸化水素水添加について比較検討した。有機ヨウ素化合物の定量結果を Table 5 に示す。また、一部クロマトグラムを Fig. 3 に示す。2 種の有機ヨウ素化合物において、炭酸水素ナトリウム溶液のみの吸収液及び過酸化水素水添加の吸収液では十分な結果が得られないが、吸収液に抱水ヒドラジン添加及び抱水ヒドラジン/過酸化水素水添加では満足した分析値を得た。2-ヨード安息香酸の分析では抱水ヒドラジンを加えた場合と何も加えない場合で回収率に大きな差が見られた。次に、NAC-st2 では還元剤無添加におい

Fig. 3 Chromatograms of a sample solution obtained from an oxygen flask-combustion of organic iodine

a): 2-Idobenzooic acid, Sample taken: 2.229 mg; b): NAC-st2, Sample taken: 3.057 mg

文 献

- 1) H. Nagashima, K. Nakamura: *J. Chromatogr.*, **324**, 498 (1985).
- 2) 長嶋 潜, 岡本利光: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **44**, 105 (1995).
- 3) H. Nagashima, T. Okamoto: *J. Chromatogr. A*, **855**, 261 (1999).
- 4) 榎並敏行, 長江徳和: *Chromatography*, **22**, 33 (2001).
- 5) 平木 登, 磯崎昭徳, 長嶋 潜: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **51**, 877 (2002).
- 6) 平木 登, 磯崎昭徳, 長嶋 潜: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **52**, 1019 (2003).
- 7) K. Ito: *Anal. Chem.*, **69**, 3628 (1997).
- 8) K. Ito: *J. Chromatogr. A*, **830**, 211 (1999).
- 9) L. Rong, T. Takeuchi: *J. Chromatogr. A*, **1042**, 131 (2004).
- 10) 長嶋 潜, 金子真理奈, 山本 真, 出羽 好, 服部隆俊: 第70回有機微量分析研究懇談会シンポジウム要旨集, p. 40 (2003).
- 11) 山本 真, 金子真理奈, 上野博志, 石田直洋, 長嶋 潜: 東京都立産業技術研究所報告, No. 6 (2003).

でも 97% 以上と比較的良好な結果を示している。これは、次式によるものと推察される。

(2003 年 5 月, 日本分析化学会
有機微量分析懇談会第 50 周年
記念大会において一部発表)

要 旨

C30 カラムは, トリアコンチル基 (C30) を主成分とするアルキル基をシリカに化学結合させた固定相である。このカラムを用いて, 有機ヨウ素化合物の前処理に酸素フラスコ燃焼法を使用し, IP-HPLC を組み合わせて, 有機ヨウ素の定量を行った。テトラブチルアンモニウム塩及びアセトニトリルを含むリン酸緩衝溶液 (pH 6.0) を移動相に, 紫外 (UV) 吸光検出器を用いてヨウ化物イオンの溶出挙動を検討した。ヨウ化物イオンは 230 nm 付近に強い UV 吸収を有するので, UV 吸光検出器を用い高感度に測定することができた。ヨウ化物イオンの定量範囲は 0.20~20.0 µg/ml であり, 検出限界は 5 ng/ml ($S/N=3$) であった。また, 検量線の相関係数は 0.9995 以上を示し, 繰り返し測定による相対標準偏差は 20 µg/ml と 2.0 µg/ml について各々 0.27 及び 0.45% ($n=10$) と良い再現性を示した。2 種の有機ヨウ素化合物について, 組成の異なる 4 種吸収液を用いてヨウ化物イオンを定量する方法を検討した。その結果, ヒドラジンを含む吸収液を用いることにより遊離ヨウ素をヨウ化物イオンに変換させることにより, 有機化合物中のヨウ素を短時間に精度よく定量することができた。