吸光度検出イオンクロマトグラフィーへの カラムスイッチング法の導入

(1985年10月29日受理)

吉田育世*・早川和一・宮崎元一

1 緒 言

著者らはすでに、試料イオンと溶離液イオンの吸光度差を検出する原理(示差吸光度検出法)をイオン交換カラムを用いた HPLC に応用し、無機イオンやカルボン酸などを分析できる吸光度検出イオンクロマトグラフィー(Photometric Ion Chromatography; PIC)を報告した^{1)~4)}。この方法は、普及型 HPLC 装置と入手容易な分離カラムを用いて行なうことができる。光吸収のあるイオンも、光吸収のないイオンも同時定量分析でき、必要に応じて特定成分ピークの消去ができる、などの利点を有する⁵⁾。しかし、本法はイオン交換カラムに光吸収のある溶離液を流し、カラム溶出液の吸光度変化を検出するので、吸光度が大きく変化する濃度グラジエント溶出法の使用や、特定試料イオンの溶出位置を選択的に変化させることがむずかしい、などの制限がある。したがって、1本の分離カラムのみでは(1)多成分を分離するのに分析時間がかかる、(2)分離不十分な成分がある、(3)溶離液条件によって試料イオンの溶出とは異なる位置に“システムピーク”⁶⁾と呼ばれるピークが出現する、(4)妨害成分の影響が除去できない、などの問題点がある。著者らはこれらの点を解決する一つの方法として試料イオンの保持が異なるイオン交換体を充填した2本のカラムを用いるカラムスイッチング法の導入を考えた。イオンクロマトグラフィーへのカラムスイッチング法の導入は Small⁷⁾ らや Naish⁸⁾ によって(1)と(4)の一部について試みられているが、その他の有効性を含めた詳細な検討は報告されていない。著者らは PIC へのカラムスイッチング法の導入による上に述べた有効性のうち、(1)~(3)について検討し、その有効性を明らかにしたので報告する。

2 実 験

2.1 装 置

本研究に用いたシステム構成を図1に示した。二つの送液ポンプ(P₁, P₂)はそれぞれ日本分光 BIP-1, 島津 LC-6 A, 二つの検出器(D₁, D₂)はそれぞれ日本分光 UVIDEK-100 V, 島津 SPD-6 AV, 試料注入器(I)および流路切り換えバルブ(V)は、それぞれ日本分光 Model VL-614, レオダイン Model 7125, また、二ペン記録計は日本分光 RC-225 である。なお、吸光度の減少を上向きのピークとして記録するために記録計の入力極性を反転させた。2本の分離カラム(C₁, C₂)は2.3に記載した。ここで、C₁とC₂とが直列の流路の状態をON, 並列の状態をOFFとした。

2.2 試 薬

溶離液および陽、陰イオンの各標準液の調製に用いた試薬はいずれも市販の特級品である。また、溶離液は調製後、メンブランフィルター(0.40 μm)で濾過してから用いた。

2.3 HPLC 条件

陽イオン分析には、分離カラム、東洋曹達 TSK gel IC-Cation (4.6 mm i. d. × 5 cm) および Du Pont Zipax SCX (4.6 mm i. d. × 25 cm); 溶離液、硫酸銅溶液を用いた。一方、陰イオン分析には、分離カラム、三菱化成 MCI SCA-02(4.6 mm i. d. × 5 cm) および三菱化成 MCI SCA-03(4.6 mm i. d. × 5 cm); 溶離液、フ

Fig. 1 Basic flow diagram of HPLC system

P : Pump, I : Injector, C : Column, V : Column switching valve, D : Detector, R : Recorder.
Flow system : ON P₁-C₁-C₂-D₂, OFF P₁-C₁-D₁ and P₂-C₂-D₂

金沢大学薬学部, 920 金沢市宝町

- 1) 早川和一, 平木博美, 宮崎元一, 分析化学, 32, 504(1983).
- 2) M. Miyazaki, K. Hayakawa, S. Choi, *J. Chromatogr.*, 323, 443(1985).
- 3) 早川和一, 平木博美, 宮崎元一, 分析化学, 34, T 71(1985).
- 4) 吉田育世, 早川和一, 宮崎元一, 衛生化学, 31, 317(1985).
- 5) 早川和一, 宮崎元一, 日本分析化学会第33年会発表(1984).
- 6) J. S. Fritz, D. L. Du Val, R. E. Barron, *Anal. Chem.*, 56, 1177(1984).
- 7) H. Small, T. E. Miller, Jr., *ibid.*, 54, 462(1982).
- 8) P. J. Naish, *Analyst*, 109, 809(1984).

Fig. 2 Capacity ratios of various cations

(A): Toyo Soda TSK gel IC-Cation

(B): Du Pont Zipax SCX

Fig. 3 Simultaneous determination of Na^+ , NH_4^+ , K^+ , Rb^+ , Cs^+ , Mg^{2+} and Ca^{2+}

Column: C_1 =Toyo Soda TSK gel IC-Cation (4.6 mm i.d. $\times$ 5 cm), C_2 =Du Pont Zipax SCX (4.6 mm i.d. $\times$ 25 cm); Eluent: 10^{-3} mol/l CuSO_4 ; Flow rate: 1 ml/min ($P_1=P_2$); Detecting wavelength: 225 nm ($D_1=D_2$); Injection volume: 100 μl
 Time program: (A) 0~60 min ON, (B) 0~20 min OFF, (C) 0~2.5 min ON, 2.5~20 min OFF.

Peaks: I= Na^+ , II= NH_4^+ , III= K^+ , IV= Rb^+ , V= Cs^+ , VI= Mg^{2+} , VII= Ca^{2+} (each 2×10^{-4} mol/l).

タル酸ナトリウム溶液を用いた。試料注入量はいずれも 100 μl 以下で、その他の条件は本文および図中に記載した。

3 結果および考察

3.1 保持のいちじるしく異なる多成分の迅速一斉分析

2本の陽イオン分離カラムの溶離液濃度と保持容量 (k') との

関係を図2に示した。TSK gel IC-Cation は Zipax SCX にくらべ保持が弱く、とくに一価陽イオンでその傾向がいちじるしい。図2に示した陽イオンのうち、 Li^+ を除く7種を同時に含む試料を TSK gel IC-Cation で一斉分析しようとする溶離液濃度 10^{-4} mol/l で1時間以上、Zipax SCX では 10^{-3} mol/l で40分以上を要する。そこで、これらの迅速一斉分析を行なうため、一価

Fig. 4 Capacity ratios of various anions

(A): MCI SCA-02, (B): MCI SCA-03

Fig. 5 Simultaneous determination of Cl^- , SO_4^{2-} and I^-

Column: C_1 =MCI SCA-02 (4.6 mm i.d. $\times$ 5 cm), C_2 =MCI SCA-03 (4.6 mm i.d. $\times$ 5 cm); Eluent: 1.5×10^{-3} mol/l Disodium phthalate; Flow rate: 1 ml/min ($\text{P}_1=\text{P}_2$); Detecting wavelength: 260 nm ($\text{D}_1=\text{D}_2$); Injection volume: 100 μl

Time program: (A) 0~15 min OFF,

(B) 0~5.5 min ON, 5.5~15 min OFF.

Peaks: I= Cl^- , II= SO_4^{2-} , III= I^- (each 10^{-3} mol/l).

陽イオンの保持が弱い TSK gel IC-Cation を C_1 に、保持が強く、 k' の差も大きい Zipax SCX を C_2 とするカラムスイッチングシステムを構成した。ON の状態で 10^{-3} mol/l 硫酸銅溶液を流すと一価陽イオンの溶出に 15 分、さらに二価陽イオンの溶出に約 50 分を要した (図 3-A)。そこで Cs^+ が C_1 から完全に溶出する 2.5 分 (図 3-B) で ON から OFF へカラムスイッチングを行なうと、 Na^+ から Cs^+ までが D_2 で、 Mg^{2+} , Ca^{2+} が D_1 でいずれも 15 分以内に分析された (図 3-C)。このように PIC にカラムスイッチング法を導入することによって保持のいちじるしく異なる成分が短時間で分析できるうえ、保持の強い成分のピーク高さを増加させ、検出感度も向上した。

3.2 分離不十分な成分の選択的分離分析

2本の陰イオン分離カラムの溶離液濃度と保持容量 (k') との関係を図 4 に示した。保持容量の小さい MCI SCA-02 (0.01 mequiv/g) に溶離液濃度 1.5×10^{-3} mol/l を用いると、 Cl^- と

SO_4^{2-} の k' はほぼ等しく (図中で交点)、分離不十分となることが予測される。一方、保持容量の大きい MCI SCA-03 (0.03 mequiv/g) では Cl^- , SO_4^{2-} は k' が異なり分離ができるが I^- の溶出に時間がかかると予測される。いま、 Cl^- , SO_4^{2-} , I^- を同時に含む試料の迅速分析を目的として C_1 に MCI SCA-02 を C_2 に MCI SCA-03 を用いるカラムスイッチングシステムを構成した。OFF の状態で溶離液濃度 1.5×10^{-3} mol/l を流すと C_1 では Cl^- と SO_4^{2-} は分離不十分である (図 5-A) が、両者が C_1 から完全に溶出される 0 分から 5.5 分までを ON, 5.5 分から 15 分までを OFF とするカラムスイッチングを行なうと I^- の分析時間に影響を与えずに Cl^- と SO_4^{2-} の選択的分離分析が可能になった (図 5-B)。

3.3 システムピークの除去

PIC による陰イオン分析においてフタル酸溶離液 pH を中性から 5 以下にすると溶出の速い試料イオンの保持を増加させるこ

Fig. 6 Elimination of system peak

Column: C_1 =MCI SCA-02 (4.6 mm i. d. $\times$ 5 cm), C_2 =MCI SCA-03 (4.6 mm i. d. $\times$ 5 cm); Eluent: 2×10^{-3} mol/l Sodium hydrogen phthalate; Flow rate: 2 ml/min ($P_1=P_2$); Detecting wavelength: 297 nm; Injection volume: 10 μ l

Time program: (A) 0~25 min ON, (B) 0~0.8 min OFF, 0.8~2 min ON, 2~25 min OFF.

Peaks: I=Malate (5×10^{-3} mol/l), II=Succinate (5×10^{-3} mol/l), III=System peak.

とができるが、試料の溶出にともなうピークとは異なるピーク(システムピーク)が出現する。この溶出はきわめて遅く、迅速な分析の妨げとなる。そこで、 C_1 に MCI SCA-02, C_2 に MCI SCA-03 を用いるカラムスイッチングシステムを用いてシステムピークの除去による迅速化を考えた。 C_1 のみ(OFF 状態)に 2×10^{-3} mol/l フタル酸水素ナトリウム溶液(pH 4.3)を流すと、システムピークは 10 分以内に溶出されるがリンゴ酸とコハク酸の分離は不十分である。しかし、 C_1+C_2 (ON 状態)では両者の分離は十分であるがシステムピークの溶出に 20 分以上を要する(図 6-A)。そこで、リンゴ酸とコハク酸が C_1 から完全に溶出される 0.8 分から 2 分までのみ ON にするカラムスイッチングを行なうと、両者の分離に影響を与えずにシステムピークのみを C_1 から 10 分以内に除去することができ(図 6-B), 10 分ごとの注入分析が可能になった。このさい、条件設定後の D_1 は不要となる。

以上のように PIC に保持の異なるイオン交換カラムを用い、カラムスイッチングを行なうと、(1) 保持のいちじるしく異なる多成分の迅速一斉分析ができる、(2) 分離不十分な成分の選択的分離分析ができる、(3) システムピークを除去し、迅速な分析が可能となることが明らかとなった。

最後にカラム充填剤について御協力頂いた三菱化成工業株式会社に深謝致します。

(1985 年 10 月, 日本分析化学会第 34 年会(一部)発表)

Special Articles on Modern Chemical Separation—Note—

Use of Column-Switching Technique in Photometric Ion Chromatography

Ikuyo YOSHIDA*, Kazuichi HAYAKAWA and Motoichi MIYAZAKI

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kanazawa University;
Takara-machi, Kanazawa-shi 920 Japan

The effectiveness of column-switching technique in photometric ion chromatography was investigated by use of two columns, into which resins with different specific ion-exchange capacity were packed. A system is consisted of two pumps, a sample injector, two columns, a switching valve, two UV detectors and a dual-pen recorder. As a result, it was found that the column-switching technique possessed the following advantages: (1) rapid and simultaneous determination of various ions with noticeably different capacity ratios; (2) excellent separation of the peak which can not be resolved by use of a single column; (3) elimination of system peak.