

ノ ー ト

両性イオン界面活性剤を修飾したシリカ-C₁₈ カラムと水溶離液を用いる陰イオンと陽イオンの導電率検出静電型イオンクロマトグラフィー

増田和香子¹, 小崎 大輔¹, 中谷 暢丈¹, 後藤 良三¹,
森 勝 伸², 古月 文志³, 田中 一彦^{®1}

1 緒 言

産業排水や環境水の水質管理を目的に開発されたイオンクロマトグラフィー (ion chromatography, IC) は, イオン性物質の同時モニタリングを可能にする水質モニタリング法として, 国内外の様々な公定法に採用され, その有用性が広く公認されている¹⁾.

著者らは, 開発途上国における産業の発展や人口増加による水質汚濁問題の顕在化に対処するために, 開発途上国の国情に合わせた簡便で低コストかつ無(低)公害な IC を利用した水質モニタリング法の開発に関する研究に取り組んでいる. その中で, 上記の目的に合致する水質モニタリング法として, 水溶離液のみで様々な水質汚濁成分が同時計測できる方法について検討しており, 本研究では, Hu ら^{2)~6)}によって報告されている静電型イオンクロマトグラフィー (electrostatic ion chromatography, EIC) に着目した.

すなわち, 本研究の目的は, 高速液体クロマトグラフィー (HPLC) の分野で汎用されている低コストなシリカ系逆相型充填剤の表面を両性イオン化合物により物理修飾し, 水溶離液を用いて無機陰イオン及び陽イオンを各々のイオン対効果に基づいて静電的に分離するシステムを開発し, 種々な実試料への適応の可能性を見いだすことにある. 具体的には, 静電作用を用いて無機イオン種の分離を可能にするために, 両性イオン界面活性剤として, 3-((3-cholamidopropyl)-dimethylammonio) propanesulfonate (CHAPS) を用い, これをシリカ系の分離カラムであるシリカ-C₁₈ 及びシリカ-C₃₀ の固定相表面に物理修飾したものと, シリカ-HILIC⁷⁾のように両性イオン化合物が化学結合により修飾したものを各々用いて, 無機イオンに対する分離性能を評価するとともに, 一般的な陰イオンと陽イ

オンの溶出挙動について比較検討した. その結果, CHAPS を修飾したシリカ-C₁₈ カラムと水溶離液を用いる導電率検出型 EIC を組み合わせることにより, 陰イオンの高分離能かつ高感度検出と, 陽イオンの価数分離が達成され, 実際の河川水試料 (中小都市の河川水) への適応を可能にしたので報告する.

2 実 験

2.1 装置及び分離カラム

用いたイオンクロマトグラフは, 送液ポンプ, オートサンプラー (試料注入量: 30 µL), 導電率検出器及びデータ処理と制御のためのワークステーションを備えた東ソー製 IC-2001 型である.

CHAPS を物理修飾するために用いたシリカ系分離カラムは, 化学物質評価研究機構製 L-columnTM ODS (4.6 mm i.d. × 15 cm; シリカ-C₁₈) 及び野村化学製 Develosil RP-AQUEOUS-AR-5 (6.0 mm i.d. × 15 cm; シリカ-C₃₀) である. これら分離カラムの表面修飾は, 30 mM CHAPS 水溶液 100 mL を 0.6 mL/min で分離カラムに流して行った. 両性イオン交換基が化学結合されたシリカ系分離カラムは, SeQuant 製 ZIC[®]-HILIC (4.6 mm i.d. × 15 cm; シリカ-HILIC) である. なお, これらの両性イオン固定化カラムは, いずれも 4 級アンモニウム基とスルホン基を有しているものである.

2.2 試薬及び実際水試料の前処理

本研究で用いた試薬は, 同仁化学製特級品の CHAPS を除き, すべて和光純薬製特級品である.

用いた陰及び陽イオンの標準溶液 (各々 1 mM) は, (1) H₂SO₄, HCl, HNO₃, HI 及び HClO₄ の混合水溶液, (2) Li₂SO₄, LiCl, LiNO₃, LiI 及び LiClO₄ の混合水溶液, (3) Na₂SO₄, NaCl, NaNO₃, NaI 及び NaClO₄ の混合水溶液, (4) K₂SO₄, KCl, KNO₃ 及び KI の混合水溶液, (5) LiCl, NaCl, NH₄Cl, KCl, MgCl₂ 及び CaCl₂ の混合水溶液である.

実試料は, 広島大学東広島キャンパスに隣接する黒瀬川 (広島県 2 級河川, pH = 8.1) から採水したものを, 細孔径

¹ 広島大学大学院国際協力研究科開発科学専攻: 739-8529 広島県東広島市鏡山 1-5-1

² 群馬大学大学院工学研究科応用化学・生物化学専攻: 376-8515 群馬県桐生市天神町 1-5-1

³ 北海道大学大学院地球環境科学研究院環境物質科学専攻: 060-0810 北海道札幌市北区北 10 条西 5 丁目

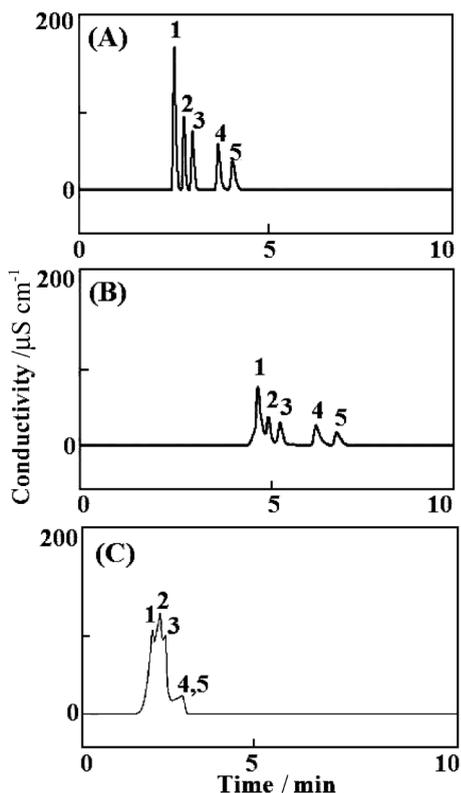


Fig. 1 Comparison of anion separations on EIC using different separation columns

Separation column : (A) = CHAPS-modified silica C₁₈, (B) = CHAPS-modified silica C₃₀, (C) = silica-HILIC ; eluent : water ; flow rate : 0.6 mL min⁻¹ ; Standard sample concentration : 1 mM ; and peaks : 1 = Na₂SO₄, 2 = NaCl, 3 = NaNO₃, 4 = NaI and 5 = NaClO₄

0.45 μm のメンブランフィルターにより汙過した後、そのままオートサンプラーを用いて分離カラム中に注入した。

3 結果及び考察

3.1 分離カラムの選択

両性イオン化合物を物理修飾したシリカ-C₁₈及びシリカ-C₃₀カラム及び化学結合型シリカ-HILICカラムを各々使い、水溶液による各種陰イオン (SO₄²⁻, Cl⁻, NO₃⁻, I⁻, ClO₄⁻ の Na⁺塩) のイオン対としての静電分離について、保持時間と各陰イオン間の分離能の点から比較検討した。

その結果、Fig. 1 に示すように、各シリカ系分離カラムにおける各陰イオンの保持は、シリカ-C₃₀カラム > シリカ-C₁₈カラム > シリカ-HILICカラムの順であり、これら分離カラムの担体の疎水性の順と同じであった。また、各陰イオン間の分離能は、シリカ-C₁₈カラム > シリカ-C₃₀カラム > シリカ-HILICカラムの順で良好であることが分かった。これより、分離カラムの担体の疎水性が両性化合物の吸着量 (イオン交換容量) に影響し、その結果、陰イオンの分離能にも影響したものと考えられる。

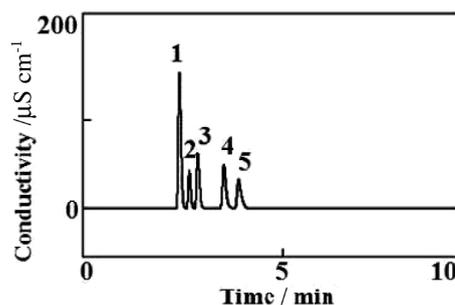


Fig. 2 EIC separation of common anions on a silica-C₁₈ column by elution with water

Ion-pairing form : Li⁺-anion ; and peaks : 1 = SO₄²⁻, 2 = Cl⁻, 3 = NO₃⁻, 4 = I⁻ and 5 = ClO₄⁻. The other chromatographic conditions are the same as in Fig. 1.

以上の結果から、CHAPS を物理修飾したシリカ-C₁₈カラムが最適な分離カラムであると判断した。また、このカラムは少なくとも2か月間、CHAPSによる再修飾を行うことなく、安定な分離性能を示した。

3.2 陰イオンの EIC 分離

CHAPS を物理修飾したシリカ-C₁₈カラムと水溶液を用い、種々な陰イオンの保持挙動について検討した。検討した陰イオンの対イオンは、H⁺, Li⁺, Na⁺及びK⁺型である。ただし、K⁺型はSO₄²⁻, Cl⁻, NO₃⁻及びI⁻の4種類の混合水溶液である。

その結果、Fig. 2 に示すように、陰イオンの対イオンがLi⁺型の陰イオンの溶出順序は、SO₄²⁻ < Cl⁻ < NO₃⁻ < I⁻ < ClO₄⁻であり、対イオンがNa⁺型及びK⁺型においても同様の溶出挙動を示した。これは、Hu ら^{2)~4)}によるシリカ-C₁₈カラムにCHAPSのようなスルホベタイン型両性イオン界面活性剤を固定化したカラムを用いたときの溶出順と一致しており、この固定相が、イオンサイズが大きく水和の弱い陰イオン、すなわち、疎水性の強い陰イオンに対して高い選択性を有することを示した。また、2価の陰イオンであるSO₄²⁻は、水和が強く固定相の正電荷との相互作用が弱くなった結果、1価陰イオンよりも早く溶出したものと予想される。

一方、陰イオンの対イオンがH⁺型であったとき、すべての陰イオンは60分以内までに溶出されなかった。これは、Hu ら¹⁾²⁾⁵⁾の報告に述べられているように、スルホベタイン型両性イオン界面活性剤であるCHAPSのスルホン基にH⁺が強く吸着されると同時に、対を成す陰イオンがCHAPS中の4級アンモニウム基に強く吸着した結果、H⁺型の陰イオンの溶出時間が長期化したものと考えられる。

以上、溶出時間を考慮すると、種々な陰イオンを静電作用に基づいて分離するためには、陰イオンをLi⁺, Na⁺及びK⁺のような1価陽イオンのイオン対として分離するシ

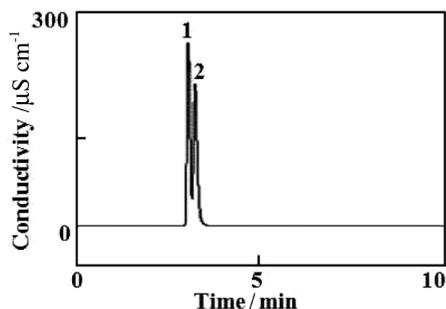


Fig. 3 EIC separation of common cations on a silica-C₁₈ column by elution with water

Standard sample concentration : 1 mM (Cation-Cl⁻); and peaks : 1 = monovalent cations (Li⁺, Na⁺, K⁺ and NH₄⁺) and 2 = divalent cations (Mg²⁺ and Ca²⁺)

ステムが最適であることが分かった。

3.3 陽イオンの EIC 分離

前述のように, EIC における分離の選択性は, イオン対の形態に依存することから, 陰イオンの形態を同じにしたとき, 各陽イオンが選択的に分離できることが期待される。

そこで, シリカ-C₁₈ カラムと水溶液を用い, 種々な陽イオン (1 価及び 2 価) の Cl⁻ 型のイオン対の保持挙動について検討した。その結果, Fig. 3 に示すように, 1 価の陽イオン (Li⁺, Na⁺, NH₄⁺, K⁺) はほぼ同じ保持を, 一方, 1 価陽イオンよりも遅れて溶出する 2 価陽イオン (Mg²⁺, Ca²⁺) は, それらの間でほぼ同じ保持を示した。また, H⁺ は, 前述の陰イオンの EIC で述べたように, CHAPS 中のスルホン基に対する強い親和性のために溶出しなかった。

これらの結果を総合すると, EIC における 1 価陽イオン間及び 2 価陽イオン間での分離の選択性は低いことが分かった。陽イオンの EIC 分離の選択性が陰イオンのそれに比べて低い傾向は, スルホベタイン型の両性イオン化合物の特性といえるものである³⁾。すなわち, 陽イオンは陰イオンよりも水和が強いため, 水素イオンを除き CHAPS の両性イオン交換基との疎水性相互作用による分離は得られないものの, 固定相の負電荷 (スルホン基) への静電引力によって価数に依存した分離が得られたものと考えられる。

ただし, 2 価陽イオン類, 特に Mg²⁺ と Ca²⁺ が 1 つのピークとして分離されるので, これを利用することにより, 硬度 (Mg²⁺ と Ca²⁺ の含量) の簡易測定には有効な方法になり得ることが示唆される。

3.4 陰イオン・陽イオンの EIC の実際水試料への応用

3.4.1 変換カラムの導入 前述したように, EIC の陰イオンの分離計測への適応に当たっては, 陰イオンの対

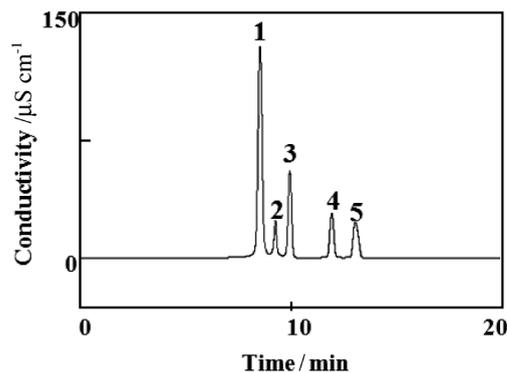


Fig. 4 EIC separation of common anions using a CHAPS modified silica-C₁₈ column with pre-column

Pre-column : TSKgel SP-5PW (Li⁺-form : 2.0 mm i.d. × 7.5 cm); Eluent : Water (0.2 mL min⁻¹); Standard sample concentration : 1 mM as H⁺-anions; and peaks : 1 = SO₄²⁻, 2 = Cl⁻, 3 = NO₃⁻, 4 = I⁻ and 5 = ClO₄⁻

イオンである陽イオンを統一する必要がある。そこで, シリカ-C₁₈ 分離カラムと水溶液を用い, 分離カラムの直前に変換カラム (強酸性陽イオン交換樹脂カラム) を配置する方法について検討した。Umamura ら⁸⁾⁹⁾ は, 変換カラムとして Na⁺ 型や Mg²⁺ の陽イオン交換樹脂カラムを用いる方法について検討しているが, 本研究では, 高効率なイオン対変換を図るため, Li⁺ 型の強酸性陽イオン交換樹脂を変換カラムとして用いた。

その結果, Fig. 4 に示すように, 内径 2.0 mm, 長さ 7.5 cm の変換カラムを分離カラムの前に配置し, 各種陰イオン (H⁺ 型のイオン対) を 0.2 mL/min の分離液流量下において注入したとき, ほぼ完全に Li⁺ 型のイオン対に変換され, 約 15 分で各種の陰イオンが静電分離できることが分かった。

また, この手法は, 陽イオンの EIC に対しても適応可能である。すなわち, 後述するように, シリカ-C₁₈ 分離カラムと水溶液を用い, 分離カラムの直前に変換カラム (強塩基性陰イオン交換樹脂カラム TSKgel SAX : Cl⁻ 型) を配置することにより達成できる。

以上の結果から, Li⁺ 型陽イオン交換樹脂プレカラムと CHAPS を修飾したシリカ-C₁₈ 分離カラム及び水溶液との組み合わせを, 本研究での陰イオン分離に対する最適分離条件とした。

3.4.2 陰イオンの検量線, 検出限界及び再現性 以上述べた最適分離条件下において, 各陰イオン (Li⁺ 型のイオン対) の濃度と導電率検出器応答の関係 (検量線) について検討したところ, Table 1 に示すように, すべての陰イオンについて少なくとも 0.1 ~ 1.0 mM の範囲で良好な直線性を示した。また, 検出限界 (S/N = 3) は, 各種陰イオンに関して 0.17 ~ 1.05 μM であり, 一方, ピーク

Table 1 Analytical performance for common anions of EIC with CHAPS-modified silica C₁₈ column, in range of 0.1 ~ 1.0 mM under optimized chromatographic conditions

Anions	Linearity (r^2)	Detection limit ^{a)} /μM (S/N = 3)	RSD of peak areas ^{a)} , % (n = 10)
SO ₄ ²⁻	0.9960	0.17	0.20
Cl ⁻	0.9901	0.68	0.27
NO ₃ ⁻	0.9928	0.45	0.46
I ⁻	0.9934	0.60	1.38
ClO ₄ ⁻	0.9879	1.05	2.45

Pre-column : a strongly cation-exchange resin in the Li⁺-form. The other experimental conditions are the same as in Fig. 1. a) Detection limits and relative standard deviations (RSD) of peak area for anions were obtained by injecting 0.5 mM for each sample.

の面積の相対標準偏差 (RSD) は, $n = 10$ において 0.20 ~ 2.45% であったことから, この方法が種々な陰イオンの分離計測法として有用なことを示した.

3・4・3 水実試料への応用 中小都市河川水の水質管理における IC の有用性は, 様々な分野への適応を通じて実証されている^{9)~11)}. そこで, 本法を中小都市河川水中の各種陰イオンの分離計測に適用した.

得られた分離結果は, Fig. 5 に示すように, 中小都市河川水中には SO₄²⁻, Cl⁻, NO₃⁻ 及び HCO₃⁻/CO₃²⁻ が存在することを示した. このとき, SO₄²⁻, Cl⁻ 及び NO₃⁻ はそれぞれ高分離能なピークを示したが, HCO₃⁻/CO₃²⁻ のピークは低分離能で低感度なものであった. これは, Li⁺型変換カラムによって水への溶解度が低い Li₂CO₃ に変換されたために, 固定相に強く吸着されたものと予想される. ただし, HCO₃⁻/CO₃²⁻ は環境水の有する緩衝能の指標として重要であること, また, 生物学的反応過程における重要な無機炭素の供給源であることなどから, 今後の検討課題であると思われる.

一方, 陽イオンの EIC を水実試料へ適用するために, 陰イオンの EIC と同様にシリカ-C₁₈ 分離カラムと水溶液を用い, 分離カラムの直前に変換カラム (強塩基性陰イオン交換樹脂カラム: Cl⁻型) を配置する方法について検討した. その結果, Fig. 5 に示すように, 良好な 1 価及び 2 価陽イオン類の価数分離が得られ, これにより, 2 価陽イオンのピークから重要な水質パラメーターである硬度 (Mg²⁺ と Ca²⁺ の含量) が簡便に計測できることが分かる.

4 結 語

以上のように, CHAPS を物理修飾したシリカ-C₁₈ カラムと水溶液を用いる導電率検出 EIC は, 種々なイオン性物質, 特に陰イオンの同時分離計測を可能にし, 河川水や温泉の水質モニタリングに有用なことが明らかとなった.

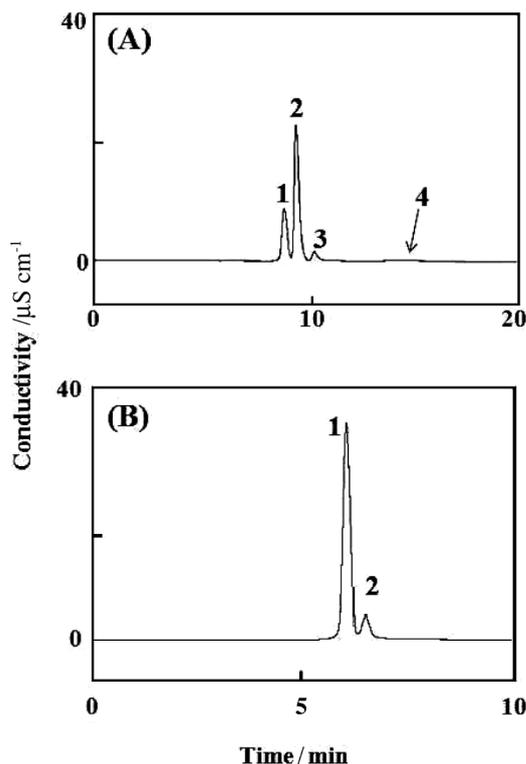


Fig. 5 EIC determination of common anions (A) and cations (B) in practical samples under the optimized chromatographic conditions

Pre-column : (A) strongly acidic cation-exchange resin in the Li⁺-form (TSKgel SP-5PW, 50 mm × 4.6 mm i.d.); and (B) strongly basic anion-exchange resin in the Cl⁻-form (TSKgel SAX, 50 mm × 4.6 mm i.d.). Injected sample : Kurose river water at pH 8.1 ; Peaks : (A) 1 = SO₄²⁻ (0.01 mM), 2 = Cl⁻ (0.84 mM), 3 = NO₃⁻ (0.02 mM) and 4 = HCO₃⁻/CO₃²⁻ (0.34 mM); and (B): 1 = monovalent cations, 2 = divalent cations ; The other chromatographic conditions are the same as in Fig. 4.

また, 陽イオンの EIC はその価数による分離に有効であった.

今後は, 政治的・社会的基盤が不十分なために, 公的セクターによる河川水や地下水及び各種の産業排水・農業排水・下水等の水質モニタリングが確実に実行できない開発途上国における適用拡大を図るために¹²⁾, 本法の特色 (簡便な分離計測システム, 一般的な HPLC 用分離カラム及び水溶液の使用等) を生かした水質モニタリングシステム構築を目指す EIC の基礎研究を更に進めたいと考えている.

文 献

- 1) JIS K 0102, 工業排水試験方法 (2008).
- 2) W. Hu, T. Takeuchi, H. Haraguchi : *Anal. Chem.*, **65**, 2204 (1993).
- 3) W. Hu, H. Tao, H. Haraguchi : *Anal. Chem.*, **66**, 2514 (1994).

- 4) W. Hu, P. R. Haddad, K. Hasebe, K. Tanaka : *Anal. Commun.*, **36**, 309 (1999).
- 5) P. N. Nesterenko, P. R. Haddad : *Anal. Sci.*, **16**, 565 (2000).
- 6) W. Hu, K. Hasebe, K. Tanaka, J. S. Fritz : *J. Chromatogr. A*, **956**, 139 (2002).
- 7) Z. G. Hao, B. M. Xiao, N. D. Weng : *J. Sep. Sci.*, **31**, 1449 (2008).
- 8) T. Umemura, R. Kitaguchi, H. Haraguchi : *Anal. Chem.*, **70**, 936 (1998).
- 9) 増田和香子, 田中一彦, 後藤良三, 長谷部 清, 菊池亜希良, 中越信和 : *工業用水*, **585**, 80 (2007).
- 10) N. Nakatani, D. Kozaki, W. Masuda, N. Nakagoshi, K. Hasebe, M. Mori, K. Tanaka : *Anal. Chim. Acta*, **619**, 110 (2008).
- 11) 小崎大輔, 後藤良三, 増田和香子, 齋藤大輔, 中谷暢丈, 中越信和, 森 勝伸, 田中一彦 : *分析化学 (Bunseki Kagaku)*, **57**, 651 (2008).
- 12) 後藤良三, 小崎大輔, 増田和香子, 中越信和, 田中一彦 : *工業用水*, **591**, 82 (2008).

Electrostatic Ion Chromatography of Common Anions and Cations with a Zwitterionic Surfactant-Modified Silica-C₁₈ Column Using Water Eluent

Wakako MASUDA¹, Daisuke KOZAKI¹, Nobutake NAKATANI¹, Ryozo GOTO¹,
Masanobu MORI², Bunshi FUGETSU³ and Kazuhiko TANAKA¹

¹ Graduate School for International Development and Cooperation, Hiroshima University, 1-5-1, Kagamiyama, Higashi-hiroshima-shi, Hiroshima 739-8529

² Graduate School of Engineering, Gunma University, 1-5-1, Tenjin, Kiryu-shi, Gunma 376-8515

³ Graduate School of Environmental Earth Science, Hokkaido University, N10W5, Kita-ku, Sapporo-shi, Hokkaido 060-0810

(Received 12 November 2008, Accepted 28 January 2009)

Electrostatic ion chromatography (EIC) of anions and cations with water eluent has been investigated for the development of water-monitoring systems in developing countries, which have the nature of simple, lower running cost, and non-chemical waste. For selecting the separation column, sulfobetaine-type zwitterionic surfactant (CHAPS)-modified silica C₁₈ and silica C₃₀ columns, and a zwitterionic stationary phased column HILIC were compared for anion separations. The retention order of the analyte anions was SO₄²⁻ < Cl⁻ < NO₃⁻ < I⁻ < ClO₄⁻ without regard to the types of the columns, depending on the nature of EIC separation. However, the resolutions were different, because the anion separations by EIC were strongly affected by the hydrophobicity of the stationary phase. As a result, the CHAPS-modified silica C₁₈ column was the most suitable as a separation column in EIC in terms of the peak resolution and the retention time. In contrast, cation separations using the CHAPS-modified silica C₁₈ column with a water eluent were in the order of monovalent cations (Li⁺, Na⁺, K⁺ and NH₄⁺) < divalent cations (Mg²⁺ and Ca²⁺). This fact means that the sulfobetaine-type zwitterionic stationary phase has much higher selectivity for anions than for cations. Moreover, a pre-column (cation-exchange resin in the Li⁺-form for anion separations, and anion-exchange resin in the Cl⁻-form for cation separations) was connected in tandem before the separation column, in order to make uniform the counter ion for analyte ions and to apply this method to real water samples. Under the optimized conditions, the linearity of the calibration graph, the detection limit, and the reproducibility for the common anions were tested, and satisfactory results were obtained for all common anions. The potentiality of EIC was demonstrated in practical applications to the determination of common anions (SO₄²⁻, Cl⁻, NO₃⁻ and HCO₃⁻) and hardness in river water.

Keywords : electrostatic ion chromatography ; ion-pairing ; CHAPS ; water eluent ; river water.