

ヨウ化物イオン, チオシアン酸イオン及びチオ硫酸イオンのイオン クロマトグラフィーにおける細い分離カラムの有用性

三浦恭之, 松下裕介, 深井直樹, 内藤和宏

東海大学理学部化学科

(2001年9月28日受理)

Utility of Small Bore Column on Ion Chromatography of Iodide, Thiocyanate and Thiosulfate Anions

by

Yasuyuki MIURA, Yusuke MATSUSHITA, Naoki FUKAI and Kazuhiro NAITO

Department of Chemistry, School of Science, Tokai University

(Received on Sept. 28, 2001)

Abstract

For an ion chromatography of iodide, thiocyanate and thiosulfate in their mixtures, a small bore-separating column (2.0 mm I. D.) of silica octadecylsilane (ODS) was used. At first, optimal conditions for their resolutions on the column were established by varying concentrations of tetra-n-butylammonium salt and acetonitrile in mobile phase and flow-rate of the mobile phase. Characteristic of the small bore column is discussed; compared with a conventional column (6.0 mm I. D.) used widely in ion chromatography, the small bore column has been found to give higher sensitivity for detections of the three analyte species, though it gave lower number of theoretical plates and longer retention times.

1. 緒 言

イオンクロマトグラフィー (IC) は相互に共存する多種類のイオンを迅速に分離して高感度に検出する有用な分析法の一つであり, 最近広く利用されてきている¹⁾。一般的なICではヨウ化物イオン, チオシアン酸イオンおよびチオ硫酸イオンといったイオンは分離カラムに強く保持されるために溶出が遅く, 幅広いクロマトグラムピークを示すために高感度検出が困難である。これらのイオンを早く溶出させて感度良く検出することを目的とし, 溶出力の強い溶離剤を使用するピークのシャープ化またポストカラム反応による検出感度の向上等の試みがこれまで検討されてきた。著者らは電気伝導度検出ICに使用する炭酸塩溶離液の溶出力を強くするために少量のベンゼントリカルボン酸塩を添加する方法^{2)~4)} やヨウ素とのポストカラム反応を利用する間接UV検出IC^{5)~7)} 等を報告してきた。他方, ICでの試料イオンの検出感度を低下させる原因の一つに, 試料イオンの分離カラム内での拡散によるクロマトグラムピーク幅の広がりと考えられる。もしこの拡散を抑えてピーク幅の広がりを減少させることができれば, シャープでピーク高さの高いクロマトグラムが得られ, 試料イオンを高感度に検出することが可能になると考えられる。

本研究では細い分離カラムを使用することによって試料成分の拡散を減少させ, 検出感度の向上を試みた。その結果, 太いカラムに比べて細い分離カラムがヨウ化物イオン, チオシアン酸イオンおよびチオ硫酸イオンの高感度検出を可能にすることが分かった。

2. 実 験

2.1 イオンクロマトグラフ装置

本実験で使用したイオンクロマトグラフ装置の略図をFig. 1に示す。本装置は島津製作所製のLC-10AD型ポンプ, 50 μ lのサンプルループを備えたReodyne社製の7125型試料溶液注入切り替えバルブ, 関東化学株式会社製の分離カラム (Mightysil RP-18 GP, 粒径5 μ m, 内径2 mm $\times$ 15 cm), 島津製作所社のSPD-10AV型紫外可視吸光光度検出器 (セル容量8 μ l) および島津製作所社製のU-135型レコーダから成り立っている。

2.2 試薬

本実験で用いた水は水道水を2回蒸留し, さらに日本ミリポア社製のMill-QII型純水製造装置によって脱イオンしてから使用した。

試薬はすべて試薬特級品で, 精製せずにそのまま使用した。

ヨウ化物標準溶液: ヨウ化カリウム (純度99.5%) を正確に秤量し, これを脱酸素水 (沸騰し

ヨウ化物イオン、チオシアン酸イオン及びチオ硫酸イオンのICにおける細い分離カラム

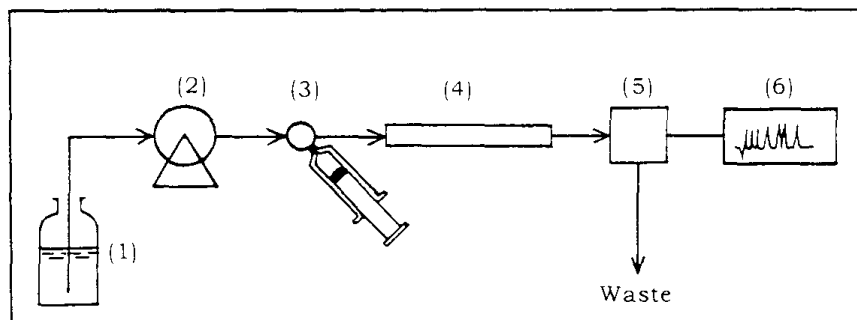


Fig.1. Schematic diagram of ion chromatographic system.

(1), mobile phase; (2), pump; (3), injection valve; (4), separation column; (5), UV/VIS detector; (6), recorder.

て溶存酸素を除去した水) に溶かしてから一定量に希釈し、ヨウ化物イオン標準溶液を調製した。実験にはこれを脱酸素水で適宜希釈して使用した。

チオシアン酸塩標準溶液：チオシアン酸カリウム 10 g を水に溶かし、1 l に希釈して約 0.1 M 溶液を調製した。この溶液は Volhard 法で標定したのち、水で適宜希釈して実験に使用した。

チオ硫酸塩標準溶液：チオ硫酸ナトリウム・五水和物を少量の炭酸ナトリウムを溶かした脱酸素水に溶かし、一定量に希釈することによって約 0.1 M 溶液 (0.01 % 炭酸ナトリウムを含む) を調製した。この溶液はヨウ素滴定法によって標定したのち、脱酸素水で適宜希釈して実験に使用した。

移動相：0.01 M 水酸化テトラ-*n*-ブチルアンモニウム (TBA) 溶液 25 ml をアセトニトリル 70 ml を含む水に加え、これに 0.02 M 酢酸 16 ml を加えてから水で全量を 500 ml に希釈し、0.5 mM TBA-35 % アセトニトリル溶液 (pH 5.0, 1.6 mM 酢酸を含む) を調製した。この混合液は孔径 0.2 μm のメンブランフィルターでろ過してから移動相として用いた。ここでの酢酸は移動相の pH を 5.0 に調節するために用いた。

2.3 操作

まず、TBA とアセトニトリルを含む移動相 (pH 5.0) を一定の流量で流し、検出器のベースライン応答を安定化させる。次にヨウ化物イオン、チオシアン酸イオンおよびチオ硫酸イオンを含む試料溶液 50 μl を注入し、各イオンをシリカ ODS (オクタデシルシラン) カラムによって分離する。カラム溶出液中の分離された各イオンは波長 230 nm の紫外可視吸光光度検出器でモニターしてレコーダに記録する。

3. 結果と考察

3.1 移動相中のTBAとアセトニトリルの濃度の効果

TBAの濃度の効果：イオンクロマトグラフィーによるイオン性成分の分離に対しては、一般に高価なイオン交換カラムが使用されているが、イオン対試薬を使用すればイオン交換基を持たない安価なシリカ ODS カラムを使用することが可能である。シリカ ODS カラムを使用した場合、種々の陰イオンは移動相中のイオン対試薬（第四級アンモニウム陽イオン）と反応してイオン対化学種を形成し、この化学種がカラム充填剤（シリカ ODS）へ分配・保持されて分離される。ここではヨウ化物イオン、チオシアン酸イオンおよびチオ硫酸イオンのイオン対試薬としてTBAを選び、各イオンを溶出分離するときの移動相中のTBA濃度の効果を検討した。種々の濃度のTBAを含む40%アセトニトリル-水溶液（pH 5.0）を毎分0.15 mlの流量で使用し、得られた結果をFig. 2に示す。TBAの濃度が0.2 mMのときはTBAの量がたりないため、各試料成分はイオン対化学種の形成が不十分でカラムに十分保持されないために早く溶出され、またヨウ化物イオ

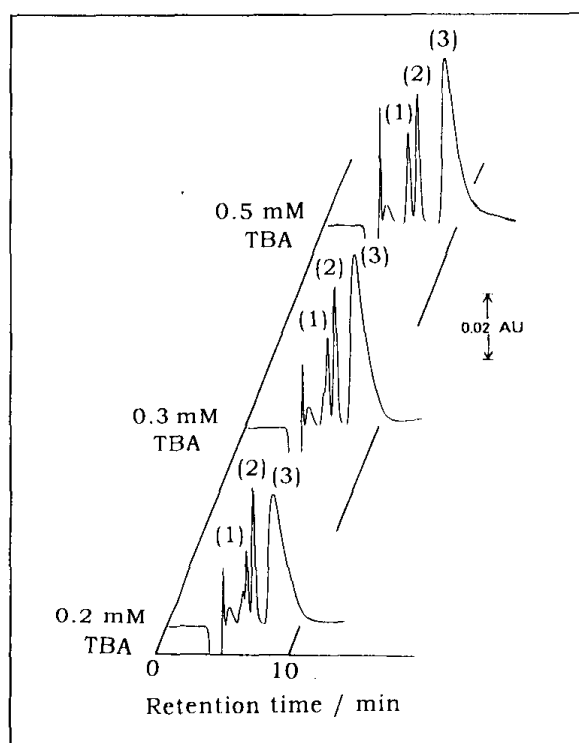


Fig. 2. Effect of concentration of TBA in mobile phase (pH 5.0) containing 40% acetonitrile. The mobile phase was used at a flow-rate of 0.15 ml min^{-1} .
Key: (1), $1 \mu\text{M I}^-$; (2), $10 \mu\text{M SCN}^-$; (3), $50 \mu\text{M S}_2\text{O}_3^{2-}$

ンとチオシアン酸イオンの分離も不完全であった。TBAの濃度を高くするとヨウ化物イオンとチオシアン酸イオンの分離が改善され、0.5 mMのTBAを使用したときの3種の各陰イオンは完全に分離されて良好なピークを示した。本実験ではTBAの濃度を0.5 mMに調節することにした。

アセトニトリルの濃度の効果：移動相中の有機溶媒はイオン対化学種のシリカ ODS 充填剤への分配を変化させるため、試料イオン（イオン対化学種）の溶出に影響を与える。Fig. 3は種々の濃度のアセトニトリルを含む0.5 mM TBA溶液（pH 5.0）を使用したときのヨウ化物イオン、チオシアン酸イオンおよびチオ硫酸イオンの保持時間を示す。アセトニトリルの濃度が35%及び40%の場合、3種のイオンは良好に分離された。しかし、45%よりも高い濃度ではヨウ化物イオンとチオシアン酸イオンが速く溶出され、互いに近い保持時間で溶出されるために両者を完全に分離することはできなかった。このことから、移動相中のアセトニトリルの濃度を35%に調節した。

以上のことから、本実験での移動相の組成としては0.5 mM TBAの35%アセトニトリル溶液（pH 5.0）が最適であることが分かった。

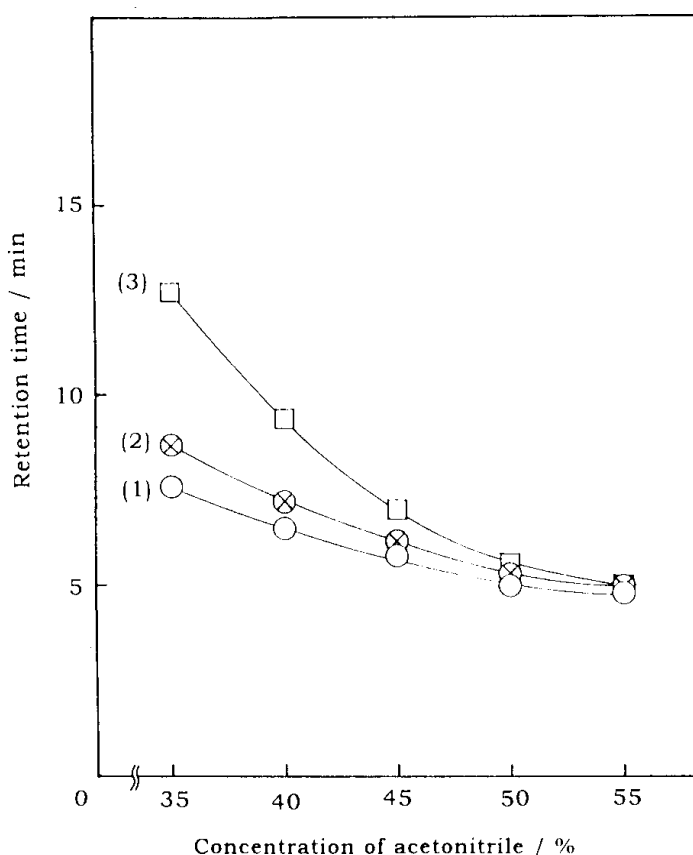


Fig. 3. Effect of concentration of acetonitrile in mobile phase (pH 5.0) containing 0.5 mM TBA. The mobile phase was used at a flow-rate of 0.15 ml min^{-1} .
Key: (1), $1 \mu\text{M I}^-$; (2), $10 \mu\text{M SCN}^-$; (3), $50 \mu\text{M S}_2\text{O}_3^{2-}$

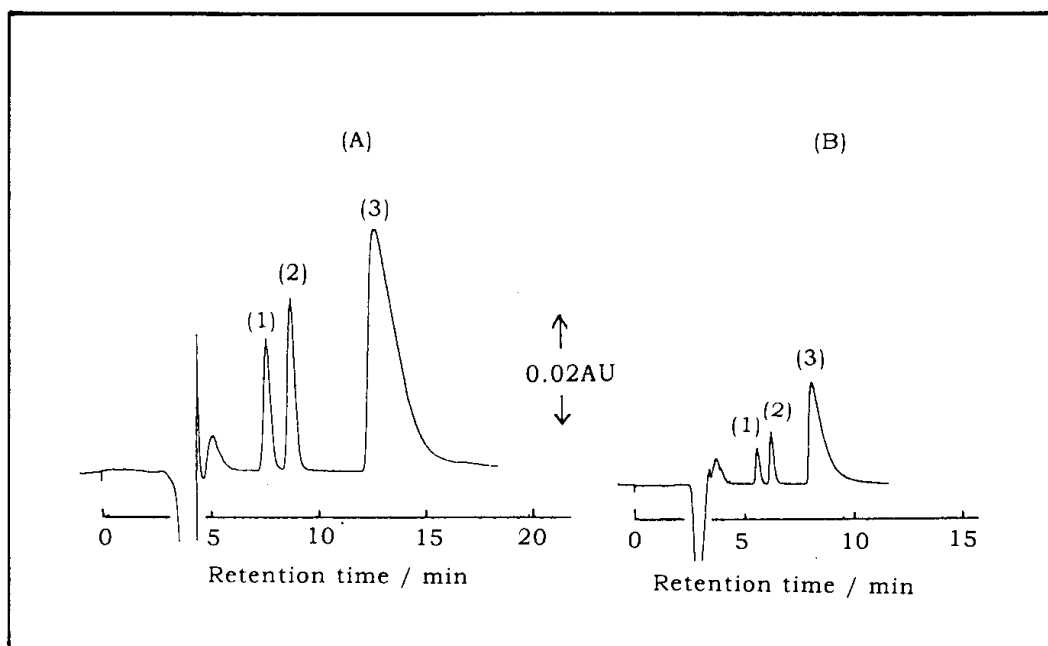


Fig. 4. Chromatograms of iodide, thiocyanate and thiosulfate in a mixture.

(A), Obtained by using a small bore column (2.0 mm I.D.) with a 0.5 mM TBA - 35% acetonitrile mobile phase (pH 5.0) at a flow rate of 0.15 ml min^{-1} .

(B), Obtained by using a column (6.0 mm I.D.) with a 0.5 mM TBA - 45% acetonitrile mobile phase (pH 5.0) at a flow rate of 1.0 ml min^{-1} .

Key: (1), $1 \mu\text{M I}^-$; (2), $10 \mu\text{M SCN}^-$; (3), $50 \mu\text{M S}_2\text{O}_3^{2-}$

3.2 移動相の流速の効果

移動相をイオンクロマトグラフシステムに送液する場合、分離カラムとして細いカラムを使用すると送液ポンプ圧が高くなる。たとえば、内径2.0 mmのカラム（長さ15 cm）の使用では移動相を 1.0 ml min^{-1} の流量で流すことができなかった。また、送液ポンプの圧力が高くなることは送液ポンプのプランジャーシールの劣化を促進することやカラムヘッドに隙間が生じやすくなることから好ましくない。細い分離カラム（内径2.0 mm）を使用する本実験では、送液ポンプや分離カラムに大きな負荷がかからない圧力（ $43 \sim 45 \text{ kg cm}^{-2}$ ）に調節するため、移動相（pH 5.0）を 0.15 ml min^{-1} の流速で送液することにした。

3.3 クロマトグラム

2.3の操作で0.5 mM TBA - 35%アセトニトリルの移動相（pH 5.0）を毎分0.15 mlの流量で流し、得られたヨウ化物イオン、チオシアン酸イオンおよびチオ硫酸イオンのクロマトグラムをFig. 4 (A) に示す。3種の試料陰イオンを15分間（保持容量2.2 ml）以内に良好に溶出分離することができた。他方、Fig. 4 (B) に内径6.0 mmの分離カラムを使用して得られた3種陰イオン

ヨウ化物イオン、チオシアン酸イオン及びチオ硫酸イオンのICにおける細い分離カラム

Table 1 Effect of columns^a of 2.0 mm and 6.0 mm inside diameter on resolution of iodide, thiocyanate and thiosulfate

Analyte	2.0 mm I.D. column					6.0 mm I.D. column				
	T ^b (min)	V ^c (ml)	W (ml)	N ^d	D.L.(nM) ^e	T ^b (min)	V ^c (ml)	W (ml)	N ^d	D.L.(nM) ^e
I ⁻	7.6	1.14	0.10	2747	9.2	5.6	5.6	0.20	12544	24.0
SCN ⁻	8.7	1.31	0.11	3600	8.3	6.2	6.2	0.35	5020	180.0
S ₂ O ₃ ²⁻	12.6	1.85	0.42	448	32.0	8.2	8.2	1.20	747	470.0

^a Columns of 150 mm long packed with ODS (5 µm particle size)

^b Retention time

^c Retention volume

^d Number of theoretical plates

^e Detection limit as signal to noise is 3

のクロマトグラムを示す。このクロマトグラムは内径2.0 mmのカラムと同一シリカ ODS 充填剤の分離カラム（内径6.0 mm）を用い、ヨウ化物イオン、チオシアン酸イオンおよびチオ硫酸イオンの最適な溶出分離条件（0.5 mM TBAの45%アセトニトリル移動相（pH 5.0），毎分1.0 ml min⁻¹の流速，53～54 kg cm⁻²の送液ポンプの圧力）で得られた。各試料イオンを約8分間（保持容量8 ml）以内に溶出分離することができた。

内径2.0 mmの細い分離カラムを使用したときの各イオンは，内径6.0 mmの分離カラムを使用した場合に比べて長い時間を必要としたが低いクロマトグラムピーク高さを示した。

3.4 理論段数，ピーク幅と検出限界

内径2.0 mmカラムと6.0 mmカラムを使用したときのヨウ化物イオン，チオシアン酸イオンおよびチオ硫酸イオンに対する理論段数，ピーク幅および検出限界をTable 1に示す。内径2.0 mmカラムは内径6.0 mmカラムに比較して低い理論段数を使用した，小さな保持容量幅でシャープなピークを示した。このことは細い内径（2.0 mm）のカラムが6.0 mmの太いカラムに比べてカラム内部での試料イオンの拡散が少ないためだと考えられる。また，細いカラムは各試料イオンに対して高いクロマトグラムピークを与えることから低い検出限界を示し，高感度検出に有用であることが分かった。

4. 結 言

太い分離カラム（内径6.0 mm）に比べて内径2.0 mmの細い分離カラムは次のような特徴を

三浦恭之, 松下裕介, 深井直樹, 内藤和宏

有していることがわかった。

- (1) 低い移動相の流速を必要とする。
- (2) 各イオンの保持容量が小さい。
- (3) 各イオンの溶出に対して移動相の使用量が少ない。
- (4) カラム内部での試料成分の拡散が少なく高感度分析に有用である。

文 献

- 1) J. S. Fritz, D. T. Gjerde: "Ion Chromatography", Third, completely revised and enlarged edition, Wiley-VCH, New York, 2000.
- 2) Y. Miura, T. Koh: Anal. Sci., 7 (suppliment), 167 (1991).
- 3) 三浦恭之, 康 智三: 分析化学, 41, 331 (1992).
- 4) Y. Miura, T. Koh: Anal. Sci., 9, 719 (1993).
- 5) Y. Miura, M. Tsubamoto, T. Koh: Anal. Sci., 10, 595 (1994).
- 6) Y. Miura, T. Maruyama, T. Koh: Anal. Sci., 11, 617 (1995).
- 7) Y. Miura, K. Fukasawa, T. Koh: J. Chromatogr. A, 804, 143 (1998).