

軸方向分散を抑えた陽イオン交換モジュールと イオンクロマトグラフィーへの応用

岡本 和将¹, 岡部 芹香¹, 田中 秀治^{1,2}, 竹内 政樹^{1,2,*}

¹ 徳島大学薬学部薬学科 : 770-8505 徳島県徳島市庄町 1-78-1

² 徳島大学大学院医歯薬学研究部薬学域 : 770-8505 徳島県徳島市庄町 1-78-1

Axial Dispersion-Reduced Cation Exchange Module and Its Application to Ion Chromatography

Kazumasa Okamoto¹, Serika Okabe¹, Hideji Tanaka^{1,2} and Masaki Takeuchi^{1,2,*}

¹ School of Pharmacy, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Tokushima University, 1-78-1 Shomachi, Tokushima 770-8505, Japan

² Division of Pharmaceutical Sciences, Graduate School of Biomedical Sciences, Tokushima University, 1-78-1 Shomachi, Tokushima 770-8505, Japan

The suppressor used in ion chromatography is a module placed between the separation column and conductivity detector. The axial dispersion of the sample solution in the suppressor causes a decline of detection sensitivity due to the broadening of the detection peaks. In this paper, we describe a monofilament inserted Nafion tube-type suppressor for anion analysis, which has an axial dispersion-reduced structure. A standard solution containing fluoride, formate, chloride, nitrite, nitrate, and sulfate was measured by means of an ion chromatograph with the fabricated suppressor. The number of theoretical plates and resolution were, respectively, 1.6 to 2.9 times and 1.3 to 1.8 times higher for the fabricated suppressor than a commercially available electrolytic suppressor. These results suggest that the fabricated suppressor has less axial dispersion of the sample than the electrolytic suppressor. In addition, the background level of the conductivity signal with the fabricated suppressor was suppressed to almost the same level as the electrolytic suppressor.

Keywords ion chromatography, anion, suppressor, Nafion tube, axial dispersion

1. 緒言

イオンクロマトグラフィーは、主にイオン交換を利用する液体クロマトグラフィーであり[1]、無機イオンなどの分離及び定量に頻用されている[2]。固定相にイオン交換樹脂、移動相（溶離液）に電解質溶液をそれぞれ用い、目的イオンと溶離液中イオンのイオン交換樹脂への親和性の違いにより目的イオンの分離を達成する。

イオンクロマトグラフィーで汎用される検出器の一つとして電気伝導度検出器が挙げられる[1]。近年では、この検出器の下流に質量分析計を配置したイオンクロマトグラフィー質量分析法も実用化されている[3]。しかし、溶離液に含まれる高濃度の強電解質は、電気伝導度検出における高いバックグラウンドレベルを生じさせ、質量分析計においては不揮発性塩生成に起因する汚損を引き起こす。これらの問題は溶離液中の電解質成分を弱電解質あるいは水へと置換するモジュール、すなわちサブレッサーを用いることで改善される。サブレッサーは分離カラムの下流に配置さ

れるため、サブレッサー内部における溶液の軸方向分散は目的ピークのブロード化による検出感度の低下を招く。これまでにイオン交換樹脂を充てんしたカラム型やイオン交換膜で流路を挟んだ膜型のサブレッサーが実用化されており、デッドボリュームを減らすなどの軸方向分散を抑える工夫がなされている[4]。Dasguptaらは、効率的なイオン交換が可能であり、かつ軸方向分散が起りにくいサブレッサーの構造として、フィラメントを挿入したイオン交換膜チューブ型を報告している[5-9]。イオン交換膜チューブの素材には、触媒[10]、燃料電池[11]、建材の表面処理[12]などの幅広い分野で応用されているNafionが採用されている。Nafionはポリテトラフルオロエチレン（PTFE）を基本骨格とし、側鎖の末端にスルホ基を有する構造を持つ。PTFEと同様に、熱的、機械的に優れた安定性を持ち、スルホ基による強い吸水性、強酸性も併せ持つ[13]。さらに膜状に成形することで陽イオン交換膜としても作用する。

著者らは、これまでにNafion膜の高い水透過性を利用したオンライン濃縮器について報告してきた[14-16]。一方、本研究では、Nafionの高い陽イオン交換能に注目し、Nafionチューブ型サブレッサーを製作した。大まかな構造は

* E-mail: masaki.takeuchi@tokushima-u.ac.jp

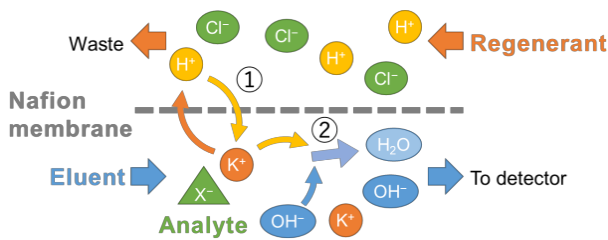


Fig. 1 Schematic of ion exchange process in membrane-based anion suppressor. K^+ ions from the eluent are replaced by H^+ ions from the regnerant (①), and these H^+ ions combine with OH^- ions from the eluent to form H_2O (②).

Dasgupta [5]と同様であるが、試料の軸方向分散を抑えるため、内径の小さな Nafion チューブや 3D プリントなどを用いて流路体積の低減に努めた。製作したサプレッサーをイオンクロマトグラフに組み込み、最適な動作条件の検討及びその性能を市販の電解サプレッサーと比較、評価したところ、本サプレッサーの有用性が確認されたので、その詳細について報告する。

2. 原理

本研究にて製作したサプレッサーは、陽イオン交換膜と酸溶液を利用する陰イオン分析用のケミカルサプレッサーである。その原理の模式図を Fig. 1 に示す。溶離液 (KOH) と再生液 (HCl) は陽イオン交換膜である Nafion 膜を隔てて、それぞれ逆向きに流れている。 H^+ と K^+ は Nafion 膜を透過可能であり、はじめにこれらのイオン交換が起こる。続いて溶離液側へ移動した H^+ は、速やかに OH^- と結合して水分子となる。これを繰り返すことにより、溶離液中の KOH は H_2O へと置換され、検出器におけるバックグラウンド電気伝導度の抑制が達成される。

また、サプレッサー内部における試料の軸方向分散は目的ピークのブロード化による検出感度の低下を招く。この軸方向分散はサプレッサー内の流路体積が小さいほど抑制される。

3. 実験

3.1. 試薬

超純水は Sartorius 製の Arium® 611DI を用いて製造した。標準試料用の試薬には、98%フッ化ナトリウム (1 級, キンダ化学), 98%ギ酸ナトリウム (特級, 関東化学), 99.5%塩化ナトリウム (特級, 関東化学), 98.5%亜硝酸ナトリウム (特級, ナカライテスク), 99.0%硝酸カリウム (特級, 関東化学), 99.0%無水硫酸ナトリウム (特級, 関東化学) を用いた。イオンクロマトグラフィー用の溶離液は 85%水酸化カ

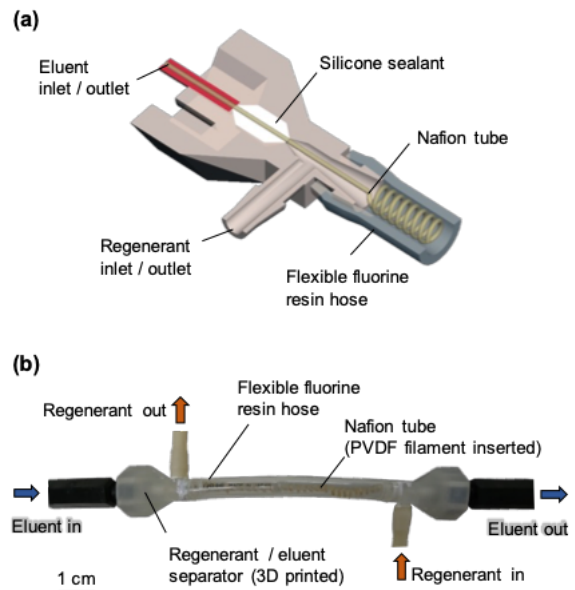


Fig. 2 Internal construction (a) and external view (b) of Nafion membrane tube based suppressor.

リウム (特級, 和光純薬工業), 再生液は 35%塩酸 (Ultra Fine, ナカライテスク) よりそれぞれ調製した。

3.2. サプレッサーの製作

Dasgupta [5]は、Nafion チューブ (625 μm i.d., 875 μm o.d.) にナイロン線 ($\phi 0.52$ mm, 0.56 mm あるいは 0.66 mm) を挿入することで試料の軸方向分散が起こりにくい構造のサプレッサーを報告している。本研究においても、試料の軸方向分散を抑制するため、同報告[5]を参考にして流路体積をできるだけ低減した Nafion チューブ型サプレッサーを製作した。Nafion チューブ (TT-020, 0.36 mm i.d., 0.53 mm o.d., Perma Pure) とポリフッ化ビニリデン (PVDF) フィラメント (Seaguar ace, $\phi 0.260$ mm, クレハ合繊) はそれぞれ 30 cm, 20 cm の長さに切り出して使用した。PVDF フィラメントを挿入した Nafion チューブを $\phi 0.8$ mm のステンレス棒に巻き付け、30 分間熱湯で煮沸することでらせん型に成形した。PVDF フィラメントは、Nafion チューブの単位容積あたりの表面積を増やす目的の他に、らせん型に成形するための芯の役割も担っている。Nafion チューブの両端の内側には PFA マイクロチューブ (0.3 mm i.d., 0.5 mm o.d., アズワン) を挿入することで流路の狭窄を防いだ。溶離液と再生液の分離部は 3D プリント (MiiCraft, System Create) を用いて専用の部品を製作した。モデルの製作には 3D モデリング用ソフトウェア (Metasequoia, Tetraface), 紫外線硬化樹脂には BV-001 (System Create) を用いた。

製作した分離部の断面図を Fig. 2a に示す。Nafion チュー

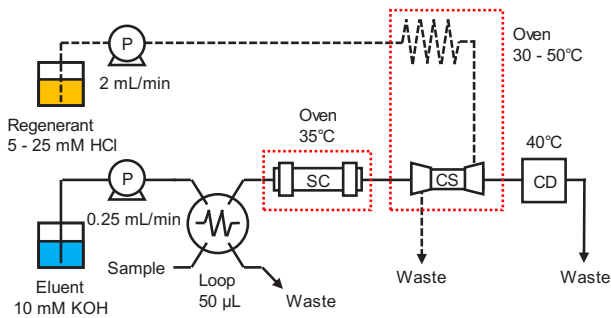


Fig. 3 Schematic of anion chromatograph used for the evaluation of fabricated suppressor. P, pump; SC, separation column; CS, chemical suppressor; CD, conductivity detector.

ブの固定と再生液の液漏れの防止のため、シリコーンシーラント（セメダイン 8090, セメダイン）を注入する空洞を設けている。また、1.58 mm o.d.の PEEK チューブを用いるイオンクロマトグラフに接続するため、径合わせのための FEP 製スリーブ（F-245X, 0.61 mm i.d., 1.58 mm o.d., IDEX Health & Science）と PEEK チューブ用フィッティング（10-32 型）を保持可能な構造も有している。完成したサブレッサーの外観写真を Fig. 2b に示す。溶離液は軸方向から流入し、Nafion チューブと PVDF フィラメントの間を流れていく。一方、再生液は分離部側面の入口から流入し、らせん状に成形されている Nafion チューブと柔軟フッ素ホース（E-PD-4×6, 4 mm i.d., 6 mm o.d., 八興）の間を溶離液とは逆向きに流れる仕組みとなっている。

3.3. サブレッサーの評価方法

製作したサブレッサーの性能評価は、市販のイオンクロマトグラフ（ICS-1500, Dionex）を用いて行った。サブレッサー部のみを製作したものに置き換えた流路図を Fig. 3 に示す。溶離液は 10 mM 水酸化カリウム溶液、再生液は塩酸溶液を用いた。分離カラムには陰イオン分析用の分離カラム（IonPac AS20 2 mm, Dionex）を 35°C のカラムオープンに設置して用いた。最適な動作条件を探索するために、再生液の塩酸濃度を 5 mM から 25 mM、サブレッサーの温度を 30°C から 50°C と変化させて、バックグラウンド電気伝導度の変動を観測した。なお、本研究で用いた分離カラムは長期間使用したものであり、その性能は購入時に比べてかなり低下している。

続いて、ICS-1500 イオンクロマトグラフの標準的なサブレッサーである電解サブレッサー（Dionex AERS500 2 mm, Thermo Fischer Scientific）を比較対象として取り上げ、分離パラメーター（理論段数、シンメトリー係数、分離度）を比較した。AERS500 はイオン交換樹脂が充填された溶離液流路をイオン交換膜で挟んだ構造になっている[17]。ここで、通常シンメトリー係数 S は、ピーク高さの 5% の高さ

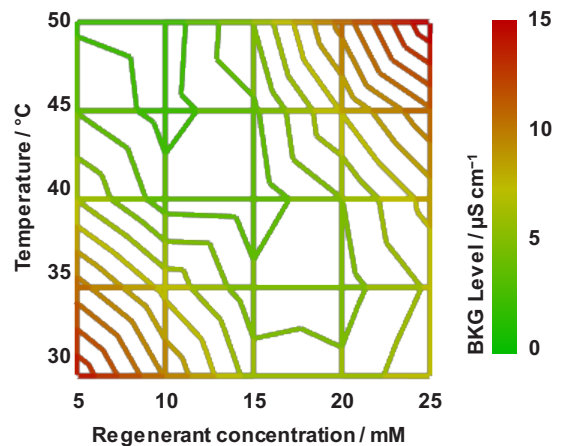


Fig. 4 Effects of temperature and regenerant concentration on background conductivity level. The ion chromatographic system was operated with 10 mM KOH eluent at 0.25 mL/min and HCl regenerant at 2.0 mL/min.

におけるピーク幅 $W_{0.05h}$ と、ピーク高さの 5% に達してからピークの頂点に至るまでの時間 f を用いて算出する[18]。しかし、本研究で得られたクロマトグラムは極めて分離不良であり、5% の高さでは $W_{0.05h}$ の算出が困難であった。そこで、ピーク高さの 10% の高さにおけるピーク幅 $W_{0.1h}$ と、ピーク高さの 10% に達してからピークの頂点に至るまでの時間 $f_{0.1h}$ を用いてシンメトリー係数を計算した。したがって、本研究で算出したシンメトリー係数 $S_{0.1h}$ は式 (1) で表せる。

$$S_{0.1h} = \frac{W_{0.1h}}{2f_{0.1h}} \quad (1)$$

ピークのテーリングが大きい場合、ピークの裾に近い方がよりピーク幅が大きくなるため、 $W_{0.05h}$, f で計算するよりも $W_{0.1h}$, $f_{0.1h}$ で計算する方がシンメトリー係数は小さく算出されることになる。

4. 結果と考察

4.1. サブレッサーの温度と再生液濃度の影響

製作したサブレッサーの温度、再生液濃度をそれぞれ変化させた際のバックグラウンドレベルの変動を Fig. 4 に示す。サブレッサー温度 30°C から 50°C、再生液濃度 5 mM から 25 mM の範囲では、高温かつ低濃度域で低いバックグラウンドレベルを達成できていることが分かる。一方、高温かつ高濃度域と低温かつ低濃度域のバックグラウンドレベルは高くなった。この原因として、前者では再生液中の塩酸の膜透過が温度上昇により亢進したこと[5]、後者は再生液中の H^+ と溶離液中の K^+ のイオン交換が不十分であったことが考えられる。

バックグラウンドレベルが最も低減された条件は、サブ

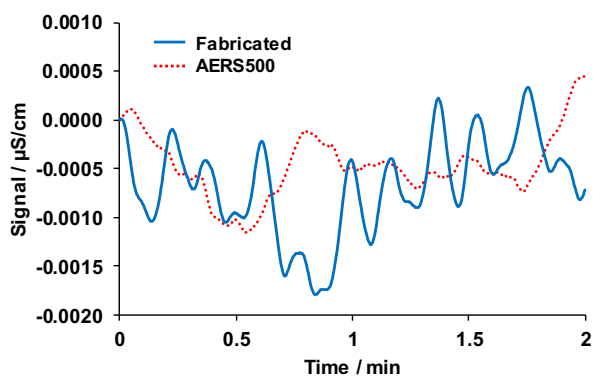


Fig. 5 Baselines obtained by using the fabricated suppressor and commercially available suppressor. The suppressors were operated with 10 mM HCl regenerant at 2.0 mL/min and 50°C for the fabricated suppressor, and recycle mode for AERS500.

レッサ温度 50°C, 再生液濃度 10 mM の場合であり, その際の電気伝導度は 3.39 $\mu\text{S}/\text{cm}$ であった。市販の電解サプレッサ AERS500 を用いた際のバックグラウンド電気伝導度は 3.32 $\mu\text{S}/\text{cm}$ であったことから, 本研究で製作したサプレッサは市販品と同程度までバックグラウンドレベルを低減させることに成功したと言える。Fig. 5 に, 両サプレッサのノイズレベルを比較した結果を示す。製作したサプレッサでは, 再生液の送液に用いたペリスタポンプに起因すると思われる周期的なベースライン変動がみられたが, 2 分間における電気伝導度の標準偏差は, 製作したサプレッサが 0.00048 $\mu\text{S}/\text{cm}$ ($n = 601$), AERS500 が 0.00033 $\mu\text{S}/\text{cm}$ ($n = 601$) となり, ノイズレベルにおいても両サプレッサに大きな違いはみられなかった。

しかし, 製作したサプレッサを 50°C で長時間運用すると, 3D プリントで製作した樹脂部品の劣化が著しく進み, 割れや液漏れが生じた。そのため, 以降の実験は長時間運用しても問題のない 40°C で行うこととした。40°C における最適な再生液濃度は 15 mM であり, この際のバックグラウンドレベルは 4.33 $\mu\text{S}/\text{cm}$ であった。

4.2. クロマトグラムと分離パラメーター

Fig. 6 に, 製作したサプレッサと電解サプレッサ AERS500 を用いて得られたクロマトグラムを示す。分析試料は 6 種混合標準液 (0.5 mg/L フッ化物イオン, 1 mg/L ギ酸イオン, 0.5 mg/L 塩化物イオン, 1 mg/L 亜硝酸イオン, 1 mg/L 硝酸イオン, 1 mg/L 硫酸イオン), 試料導入量は 50 μL である。両サプレッサの流路体積の違いを反映して, 各イオンの保持時間は製作したサプレッサの方が 15 秒ほど早くなり, 保持時間の差と溶離液流量の積から流路体積の差は約 63 μL と算出された。また, いずれのピークも製作したサプレッサの方が鋭い形状となり, ピーク間の

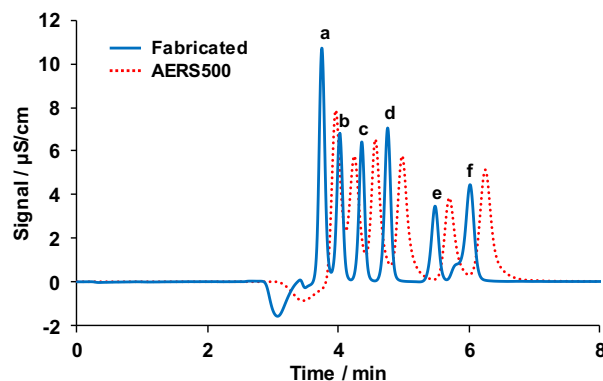


Fig. 6 Chromatograms obtained by using the fabricated suppressor and commercially available suppressor. a, 0.5 mg/L fluoride; b, 1 mg/L formate; c, 0.5 mg/L chloride; d, 1 mg/L nitrite; e, 1 mg/L nitrate; f, 1 mg/L sulfate. The suppressors were operated with 15 mM HCl regenerant at 2.0 mL/min and 40°C for the fabricated suppressor, and recycle mode for AERS500.

分離が改善した。これは, AERS500 よりも製作したサプレッサの方が, サプレッサ内部における試料の軸方向分散が少ないためと思われる。ピーク高さにおいては, 保持時間の早いフッ化物イオン, ギ酸イオンは, 製作したサプレッサの方が高くなったが, 保持時間の遅い硝酸イオン, 硫酸イオンでは, 逆の傾向がみられた。ピーク高さの決定因子として試料の分散度とバックグラウンドレベルが挙げられる。製作したサプレッサの方が試料の分散は抑制されていたが, バックグラウンドレベルが高かったため, 前述のような結果になったと思われる。本研究では再生液に塩酸を用いたが, 塩酸よりも膜透過が抑えられると思われる硫酸を使用することでさらなるバックグラウンドレベルの低減が期待できる。

分離パラメーター (理論段数, シンメトリー係数, 分離度) を比較すると, いずれのパラメーターでも製作したサプレッサの方が良くなった。理論段数は 1.6 倍から 2.9 倍の範囲で改善がみられた (Fig. 7a)。特にフッ化物イオン, ギ酸イオン, 塩化物イオン, 亜硝酸イオンは大幅な改善がみられるが, これは AERS500 ではピークの分離不良により, みかけ上の半値幅が大きくなったためと考えられる。

Fig. 7b に, シンメトリー係数を比較した結果を示す。分離不良のために, ピーク高さの 10% の高さにおけるピーク幅 $W_{0.1h}$ と, ピーク高さの 10% に達してからピークの頂点に至るまでの時間 $f_{0.1h}$ を用いて算出 (式 (1)) したが, それでもなお AERS500 に関してはフッ化物イオン, ギ酸イオン, 塩化物イオン, 亜硝酸イオンのシンメトリー係数が算出できなかった。しかし, 硝酸イオン及び硫酸イオンのシンメトリー係数やクロマトグラムの形状から, 算出できなかったピークのシンメトリー係数にも大きなテーリングがあると推測される。一方, 製作したサプレッサでは, 硫酸イ

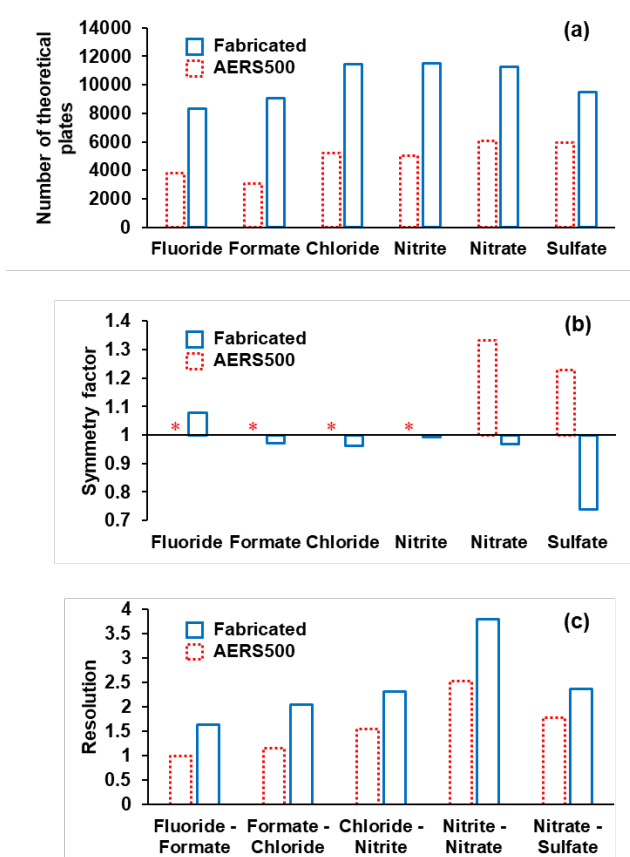


Fig. 7 Number of theoretical plates (a), symmetry factor calculated from eq.1 (b), and resolution (c) obtained by using the fabricated suppressor and commercially available suppressor. *, incalculable due to insufficient separation. The suppressors were operated with 15 mM HCl regenerant at 2.0 mL/min and 40°C for the fabricated suppressor, and recycle mode for AERS500.

オン以外のシンメトリー係数は 1.0 ± 0.1 の範囲に収まっており、これらは左右対称性の良好なピークと言える。ピークのテーリングを生じる原因として、デッドボリューム、試料の吸着、分離カラムの劣化、試料導入の不具合などが挙げられる[19]。今回の比較では分離カラムと試料導入に関する条件は同じであるため、AERS500におけるテーリングは、AERS500内のデッドボリュームや吸着に起因するものと考えられる。

Fig. 7bに示したように、製作したサプレッサーでは、硫酸イオンのピークのみにな大きなリーディングがみられた。この原因を検証するため、硫酸イオン付近のクロマトグラムとブランク試料を分析した際のクロマトグラムを Fig. 8に示す。製作したサプレッサーではブランク試料に炭酸イオンと思われるピークが現れており、そのピークが硫酸イオンのピークと重なっていることが分かる (Fig. 8a)。そこで、硫酸イオンピークに対する炭酸イオンピークの相対強度を小さくするため、試料に含まれる硫酸イオン濃度を 1 mg/L から 2 mg/L に変更して分析したところ、硫酸イオン

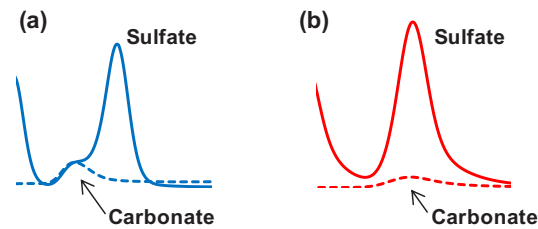


Fig. 8 Chromatograms around the sulfate peak obtained by using the fabricated suppressor (a) and commercially available suppressor (b). The solid and dashed lines show the chromatograms for the same sample as Fig. 6 and blank solution, respectively.

のシンメトリー係数は 0.95 まで改善した。従って、Fig. 7b でみられた製作したサプレッサーにおける硫酸イオンのリーディングは、炭酸イオンピークによるものであり、硫酸イオンのピーク自体は左右対称性の良いピークであると言える。興味深いことに、AERS500 では炭酸イオン由来のピークが極めてブロードであり、その保持時間はほとんど硫酸イオンと同じであった (Fig. 8b)。この原因として AERS500 内での吸着などが考えられるが、詳細については不明である。

Fig. 7c に分離度を比較した結果を示す。分離度は 1.3 倍から 1.8 倍の範囲で改善がみられた。AERS500 では、ギ酸イオンのピークとその前後のピークが極めて分離不良なため、これらのピーク間では完全分離の基準である分離度 1.5[18]に達していない。一方、製作したサプレッサーでは、いずれのピーク間においても分離度は 1.5 以上であり、それぞれのピークは完全に分離されていた。

5. 結言

3D プリンタ等を用いて流路体積を低減した Nafion チューブ型ケミカルサプレッサーを製作し、その性能評価を行った。市販のサプレッサー AERS500 と比較してクロマトグラム上のピークが鋭くなり、理論段数、シンメトリー係数、分離度とも大幅に改善した。これは、イオン交換膜で流路を挟んだ膜型のサプレッサーと、Nafion チューブにフィラメントを挿入したチューブ型サプレッサーとの流路体積・構造の違いを反映しているものと思われる。本チューブ型サプレッサーのような軸方向分散の少ないサプレッサーをイオンクロマトグラフに導入することで、分離パラメータの良いクロマトグラムが得られるだけでなく、寿命により目的物質の分離が困難となった分離カラムの使用期間を延長できる可能性が示唆された。しかしながら、3D プリンタで使用した樹脂は耐熱性に劣るため、製作したサプレッサーを長期間稼働させることは困難であった。耐熱性に優

れた樹脂を用いて流路を製作し、再生液に塩酸よりもバックグラウンドレベルの抑制が期待できる硫酸を用いることで、より実用性の高いサブレッサーが完成すると思われる。

謝 辞

本研究の一部は、JSPS 科研費（課題番号 17K00521, 17KK0011）及び徳島大学特別経費（多機能性人工エキソソーム（iTEX）医薬品化実践を通じた操薬人育成事業）の補助により行われました。

文 献

- [1] H. Small, T. S. Stevens, W. C. Bauman: *Anal. Chem.*, **47**, 1801 (1975).
- [2] C. Charcosset: *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, **71**, 95 (1998).
- [3] L. Charles, D. Pépin, B. Casetta: *Anal. Chem.*, **68**, 2554 (1996).
- [4] Thermo Fisher Scientific: “*Thermo Scientific Dionex Eluent Suppressors for Ion Chromatography*”, available from <<https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/CMD/Specification-Sheets/PS-70690-IC-Eluent-Suppressors-PS70690-EN.pdf>>, (accessed 2019-3-13).
- [5] P. K. Dasgupta: *Anal. Chem.*, **56**, 96 (1984).
- [6] P. K. Dasgupta: *Anal. Chem.*, **56**, 103 (1984).
- [7] P. K. Dasgupta, R. Q. Bligh: *Anal. Chem.*, **56**, 769 (1984).
- [8] P. K. Dasgupta: *Anal. Chem.*, **57**, 253 (1985).
- [9] P. K. Dasgupta, R. Q. Bligh, M. A. Mercurio: *Anal. Chem.*, **57**, 484 (1985).
- [10] R. Bringué, J. Tajero, M. I. Iborra, J. F. Izquierdo, C. Fité, F. Cunill: *Chem. Eng. J.*, **145**, 135 (2008).
- [11] F. A. Zakil, S. K. Kamarudin, S. Basri: *Renew. Sust. Energ. Rev.*, **65**, 841(2016).
- [12] H. Tamagawa, F. Nogata, T. Watanabe, A. Abe, K. Yagasaki, J. -Y. Jin: *J. Mater. Sci.*, **38**, 1039 (2003).
- [13] C. Heitner-Wirguin: *J. Membrane Sci.*, **120**, 1 (1996).
- [14] M. Takeuchi, P. K. Dasgupta, J. V. Dyke, K. Srinivasan: *Anal. Chem.*, **79**, 5690 (2007).
- [15] M. Takeuchi, K. Yoshioka, Y. Toyama, A. Kagami, H. Tanaka: *Talanta*, **97**, 527 (2012).
- [16] M. Takeuchi, N. Miki, K. Ishimine, H. Tanaka: *J. Flow Inject. Anal.*, **32**, 97 (2015).
- [17] Thermo Fisher Scientific: “*Thermo Scientific Dionex サブレッサー*”, available from <<http://tools.thermofisher.com/content/sfs/brochures/Dionex-suppressor.pdf>>, (accessed 2019-3-13).
- [18] 厚生労働省: 第十七改正日本薬局方 (2016).
- [19] CHROMacademy: “*HPLC Troubleshooting Guide - Peak Tailing*”, available from <<https://www.chromacademy.com/chromatography-HPLC-Troubleshooting-Peak-Tailing.html>>, (accessed 2019-3-13).

(Received December 6, 2019)
(Accepted January 13, 2020)