

令和 5 年 5 月 31 日現在

機関番号：83201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K06348

研究課題名(和文) 逆相カラムでできる無機陰イオン分析 - 分離機構の解明と水環境分析への応用 -

研究課題名(英文) Determination of inorganic anions by HPLC with reversed phase C18 columns and UV detection

研究代表者

健名 智子 (KEMMEI, Tomoko)

富山県衛生研究所・化学部・上席専門員

研究者番号：60416089

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究課題は、近年分析ニーズが増加している無機陰イオンの、汎用的な逆相カラム分離-UV検出による簡便かつ精度の高い新規な分析法を確立することを目的として開始した。研究開始当初目指した、無機陰イオンのオンカラムでの金属イオンと錯形成による逆相カラムでの分離法の開発はできなかったが、イオン分離特性を持つ逆相カラムにより、無機陰イオンをイオン交換カラムとは異なる機構で分離することができた。また移動相に添加したモリブデン酸イオンを指示薬として、吸収を持たない無機陰イオンをUV検出することができるを見出し、汎用的なHPLC-UV法による無機陰イオン分析法を確立し、環境水分析に適用した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現在、無機イオンは主としてイオンクロマトグラフィー(IC)により分析されている。しかしICでは、高価なイオン交換カラム、サプレッサや電気伝導度検出器が必要となる。これに対して、本研究で確立した逆相カラム分離-UV検出での無機陰イオン分析法は、汎用的なHPLC-UV分析装置を用いた簡便な分離分析手法であり、環境水・水道水中の無機陰イオン分析をより容易に行うことができる。更にこの方法は、測定したい陰イオンの特性を利用することで、一陰イオンに特化したによる分析法にも応用できた(ナトリウム-塩化物強塩泉中のヨウ化物イオン分析)。

研究成果の概要(英文)：In this study, we developed a simple and readily inorganic anion analysis using certain reversed phase C18 columns. Using dilute phosphoric acid mobile phase added with disodium molybdate, inorganic anions were well separated by reversed phase HPLC and detected by photometric determination at 220 nm. The proposed method was successfully applied to determine inorganic anions in water samples.

研究分野：分析化学

キーワード：無機陰イオン 逆相カラム HPLC-UV法

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

高速液体クロマトグラフィー(HPLC)は液体の移動相を用い、分析対象をカラム固定相と移動相の相互作用の差を利用して分離・検出する方法である。このうち、イオン交換作用を利用してイオン種成分を測定する方法はイオンクロマトグラフィー(IC)と呼ばれ、イオン交換体を固定相として試料溶液中のイオン成分を分離し電気伝導度検出器を用いて定量する。ICは元々環境水中の無機イオン測定のために開発され、環境水や排水等の水質管理に用いられてきた。近年はこのほか、大気環境測定や工業原料・材料、食品分野などでの品質管理にと、無機イオンの分析ニーズは増加している。

一方、HPLC分析の主流は、シリカゲル表面に炭化水素系官能基を固定相として結合させた逆相カラムを用い、紫外外部吸光光度(UV)検出器により定量する逆相 HPLC-UV 法である。HPLC-UV装置は汎用的に用いられる分析機器で、これまでもイオンペア試薬を用いる逆相イオン対クロマトグラフィーによる陰イオン分析法は用いられてきた。しかし、紫外吸収の乏しいイオン種の分析への適用は難しいという課題があった。イオン交換カラムに比べ安価な逆相カラムであるが、近年は水 100%の移動相条件下で高親水性化合物を分析することができるカラムも開発されている。このようなカラムを用いることにより、これまで IC で分析されてきたイオン種を、逆相カラムを用い HPLC-UV 法で分析することでできれば、イオン分析をより容易に行うことができるのではないかと考えた。

2. 研究の目的

本研究課題では、汎用的な逆相カラムを用いた無機陰イオンの簡便かつ精度の高い HPLC-UV 検出法による新規な分析法を確立することを目的とした。主としてイオンクロマトグラフィーにより行われている無機陰イオンの分析を、逆相カラム分離-UV 検出で行うことができれば、汎用的な分析装置を用いたより容易な無機陰イオン種の分離分析手法として期待できる。

3. 研究の方法

それまでに申請者らは、オンラインで金属イオンと配位させることにより親水性の高い化合物を HPLC-UV 法により選択的かつ高感度に分析する方法を開発してきた。これらの研究経験を基に、研究開始当初は、無機陰イオンのオンカラムでの金属イオンと錯形成による逆相カラムでの分離法の開発を目指した。

しかしながら官能基及びその導入方法の異なる各種逆相カラムを用いて、無機陰イオンの逆相カラムでの保持挙動を調べたところ、逆相カラムでの無機陰イオンの分離は、無機陰イオン自身の逆相カラムへの保持によることがわかった。また、移動相にモリブデン酸ナトリウムをくわえることにより、モリブデン酸イオンを指示薬として吸収を持たない無機陰イオンの UV 検出が可能になることもわかった(～研究二年度)。

研究三年度は、研究一・二年度で行った分離・検出挙動の解析を基に、種々の逆相カラムについてイオン交換容量等、イオン分析に関する特性を調べ、逆相カラムによる無機陰イオンの分離がイオン交換カラムとは異なる機構によるものと推定した。無機陰イオン分析に適したカラムについて、逆相HPLC-UV分析による最適な分離条件を検討した。

研究四年度は、環境水試料にこの分析法を適用するとともに、ヨウ化物イオンが強いUV吸収を持つことを利用し、塩化物イオンを多く含む水試料中のヨウ化物イオン分析に特化した逆相 HPLC-UV分析法を開発し、ナトリウム-塩化物強塩泉中のヨウ化物イオン分析に応用した。

4. 研究成果

(1) 「各種逆相カラムを対象とした無機陰イオンの保持挙動と、各カラム充填剤の特性比較」

申請者らは、モリブデン酸ナトリウム添加リン酸移動相を用いた糖アルコール類の逆相 HPLC-UV 分析系において、塩化物イオンがシャープなピークを示すという知見を得たことから、本申請課題に着手した。この逆相分析系における無機陰イオンピークの保持・分離機構を解明し、より高選択的な分離条件を開発するため、官能基及びその導入方法の異なる各種の逆相カラムを用いて無機陰イオン種の保持挙動を調べたところ、無機陰イオンを保持・分離するカラムと、ほとんど保持しないカラムに分かれた。これらカラム充填剤について、元素分析、拡散赤外吸収スペクトル分析を行い、またゼータ電位を測定した。その結果、陰イオンをよく保持・分離するカラムの充填剤は、リン酸酸性水溶液中でプラスの電位を持つことが分かった。(日本分析化学会第 68 年会(令和元.9)発表)

(2) 「電気伝導度検出器および PDA 検出器を用いた無機陰イオンの保持・検出挙動の解析」

無機陰イオンをよく保持・分離する逆相カラムについて、モリブデン酸ナトリウムの添加の有無、加える酸の種類、酸に変えて塩を添加と移動相の組成を変えて、電気伝導度検出器を用いてピークの保持挙動を調べた。その結果、モリブデン酸ナトリウムの添加の有無でピークの

保持時間は変わらなかったことから、逆相カラムでの無機陰イオンの分離は、無機陰イオンの逆相カラムへの保持によることがわかった。また、PDA 検出器を用いてその検出挙動を調べたところ、モリブデン酸ナトリウムの添加の有無にかかわらず UV 吸収を持つ陰イオンのピークはそれぞれの吸収波長に吸収極大があること、モリブデン酸ナトリウム含有する酸移動相 (pH 2.8) を用いた場合 UV 吸収を持たない陰イオンは 217 nm に吸収極大をもつことが分かった。モリブデン酸ナトリウムは pH によりその存在形態が変わり異なる吸収を持つことから、移動相にモリブデン酸ナトリウムをくわえることにより吸収を持たない無機陰イオンの UV 検出が可能になることがわかった。

(日本薬学会第 140 年会 (令和 2.3), 第 80 回分析化学討論会 (令和 2.5),
日本分析化学会第 69 年会 (令和 2.9), 第 81 回分析化学討論会 (令和 3.5) 発表)

(3) 「逆相カラムのイオン交換容量測定とリンモリブデン酸溶液の pH による吸収変化」

逆相 HPLC-UV 分析による無機陰イオン分析の最適なカラム選択のため、各種の逆相カラムの酸性条件下および中性条件下でのイオン交換容量の測定を行い、イオン交換分離に適した逆相カラムを選択し、選択したカラムについて、最適分離条件の検討を行った (図 1)。また、リンモリブデン酸溶液の pH による吸収変化を精査し、モリブデン酸ナトリウム添加リン酸移動相を用いた場合の吸収を持たない陰イオンの UV 測定の根拠について考察した。

(日本分析化学会第 71 年会 (令和 4.9) 発表)

(4) 「無機陰イオンの逆相 HPLC-UV 分析による一斉分析法の妥当性評価と

特異なサンプル中の一陰イオンに特化した逆相 HPLC-UV 法による分析法の開発」

確立した無機陰イオンの逆相 HPLC-UV 分析による一斉分析法について妥当性評価を行い、環境水試料に適用した

また、強い UV 吸収を持つヨウ化物イオンに特化した逆相 HPLC-UV 分析法を開発し、ナトリウム-塩化物強塩泉中のヨウ化物イオン分析に応用した (図 2)。

(日本薬学会第 143 年会 (令和 5.3) 発表)

本研究課題で得られた、汎用的な HPLC-UV 法による無機陰イオン分析法については、今後論文投稿により、成果を発信する (執筆中)。

また、ナトリウム-塩化物強塩泉中のヨウ化物イオン分析法については、当所で行っている温泉中分析において活用するとともに、論文投稿も行う予定である。

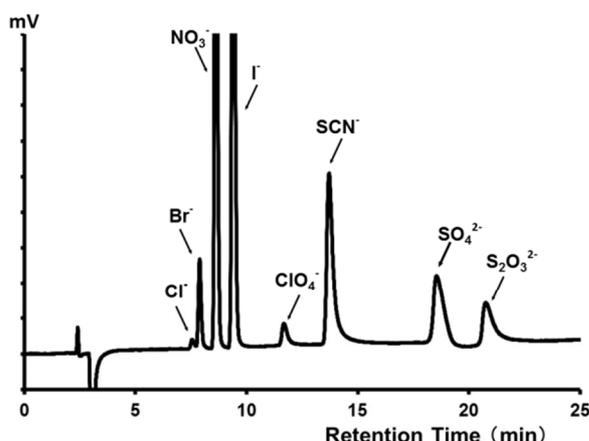


図1. モリブデン酸ナトリウム添加リン酸移動相を用いた 8 種 0.1 mM 陰イオン混合標準液の 逆相HPLC-UV (220 nm) 法によるクロマトグラム

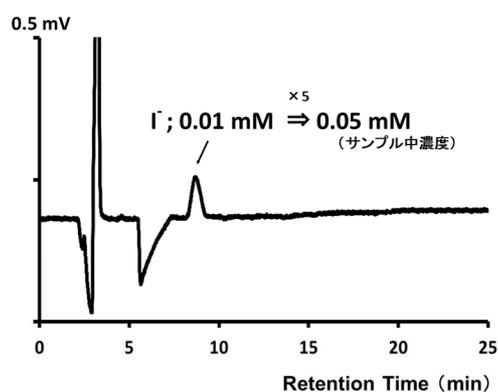


図2. リン酸移動相を用いたナトリウム-塩化物強塩泉 (塩化物イオン濃度: 18,000 mg/L (510 mM)) 5倍希釈溶液の 逆相HPLC-UV (250 nm) 法によるクロマトグラム

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 健名 智子, 小玉 修嗣	4. 巻 68
2. 論文標題 金属イオンとのオンカラム錯形成反応を利用する親水性化合物のHPLC-紫外吸収検出法の開発	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 分析化学	6. 最初と最後の頁 581 ~ 599
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2116/bunseki.kagaku.68.581	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 健名智子, 遊道 梓, 山下智富, 小玉修嗣, 山本 敦, 井上嘉則, 早川和一
2. 発表標題 逆相カラムを用いるナトリウム-塩化物強塩泉中のヨウ化物イオン分析
3. 学会等名 日本薬学会第143年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 健名智子, 小玉修嗣, 山本 敦, 井上嘉則, 早川和一
2. 発表標題 モリブデン酸添加移動相を用いる逆相HPLC-UV法による無機陰イオン分析
3. 学会等名 日本分析化学会第71年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 健名智子, 小玉修嗣, 山本 敦, 井上嘉則, 早川和一
2. 発表標題 無機陰イオンのモリブデン酸添加移動相を用いた逆相 HPLC 分離における検出挙動
3. 学会等名 第81回分析化学討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 健名智子, 小玉修嗣, 山本 敦, 井上嘉則, 早川和一
2. 発表標題 逆相HPLC法による無機陰イオン分析
3. 学会等名 日本分析化学会第69年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 健名智子, 小玉修嗣, 山本 敦, 井上嘉則, 早川和一
2. 発表標題 逆相HPLC-電気伝導度検出法による無機陰イオン分析
3. 学会等名 第80回分析化学討論会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 健名智子, 小玉修嗣, 山本 敦, 井上嘉則, 早川和一
2. 発表標題 モリブデン酸ナトリウム含有リン酸移動相を用いる無機陰イオン分析
3. 学会等名 日本薬学会140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 健名智子, 小玉修嗣, 山本 敦, 井上嘉則, 早川和一
2. 発表標題 逆相カラムによる無機陰イオン分離
3. 学会等名 日本分析化学会68年会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	小玉 修嗣 (KODAMA Shuji) (70360807)	東海大学・理学部・教授 (32644)	
研究 分担者	山本 敦 (YAMAMOTO Atsushi) (60360806)	中部大学・応用生物学部・教授 (33910)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------