

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 11 日現在

機関番号：12401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K14014

研究課題名(和文) 微小環境制御により創出される水構造の機能を用いるイオンスタッキング濃縮法の開発

研究課題名(英文) Development of an ion stacking method using a separation function of water in microenvironments

研究代表者

渋川 雅美 (SHIBUKAWA, Masami)

埼玉大学・理工学研究科・教授

研究者番号：60148088

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、親水性高分子からなる多孔質材料を充填したカラムを用いて、無機陰イオンの高効率な濃縮分離を可能にするシステムをイオン分配理論に基づいて設計し、構築するとともに、イオン分配とイオン排除効果により水のみを溶媒として用いる簡単な操作でイオンを数百倍濃縮することができるイオン濃縮法を開発した。さらに、この濃縮法とイオンクロマトグラフィーとを結合して、他のイオンが高濃度で共存する条件下でも目的イオンの定量を可能にする方法を開発した。この方法を、水道水中の硝酸イオンの定量、ついで無機塩の特級および一級試薬に含まれる微量不純物陰イオンの定量に適用し、精確に定量できることを示した。

研究成果の概要(英文)：We elucidated that the stacking of ionic solutes in a partition chromatographic column takes place due to the effect of the background co-ion in the eluent and/or sample solution on the distribution of the ions between the bulk water and the water incorporated in the porous packing materials, which acts as the stationary phase. Using ion exclusion effect of fixed anionic charges on a packing material as well as the ion stacking by partition, we developed a new analytical methodology for a simple and efficient on-line preconcentration of trace inorganic anions in water and salt samples prior to ion chromatographic determination. The developed method was validated by recovery experiments for the determination of nitrate in tap water in terms of both accuracy and precision, and the results showed the reliability of the method. The method proposed was also successfully applied to the determination of trace impurity nitrite and nitrate in reagent-grade salts of sodium sulfate.

研究分野：分析化学

キーワード：イオン濃縮 イオン分配 イオン排除 分離機能水

### 1. 研究開始当初の背景

液相水は固体あるいは他の液体との界面において、その置かれた空間のサイズや接する物質との相互作用によってバルク水とは異なる状態を取っており、各種の材料を分離媒体として用いる膜分離や液体クロマトグラフィーによる水溶液中の分子やイオンの分離に大きな影響を与えている。研究代表者は、これまで主に液体クロマトグラフィーにより、種々の分離材料が水溶液中で示す溶質の分離挙動の研究を行い、デキストランゲルのようなソフトな界面をもつ親水性高分子ゲルからアルキル結合型シリカのような水に対してハードな界面をもつ疎水性多孔質材料を用いた系のいずれにおいても、界面あるいは細孔空間において状態変化した水が、特にイオンや親水性化合物のように水と強く相互作用する溶質の分離に支配的に寄与していることを明らかにしてきた。一方、Davankovらは4 nmの細孔径を持つポリスチレン樹脂を合成し、これをカラム充填剤として用いた液体クロマトグラフィーにより無機イオンの分離だけでなく濃縮もできることを示した。彼らはこの現象を水和イオン半径の差によるサイズ排除効果に基づくものとして説明したが、研究代表者は、この興味深い現象はポリスチレン樹脂内部の疎水性ナノ空間に取り込まれた水がバルク水とは異なる構造を持つことに基因すること、すなわち疎水性ナノ空間水そのものが分離媒体として機能するためであることを、自身の構築したイオン分配理論に基づいて明らかにした。研究代表者はこれらの研究結果を総合的に考察し、界面水の分離機能を利用したイオンの高度な濃縮分離および精製システムを設計・開発することを着想した。

### 2. 研究の目的

本研究では、親水性高分子からなる多孔質材料を充填したカラムを用いて、無機および有機イオンの高効率な濃縮分離を可能にするシステムをイオン分配理論に基づいて設計し、構築するとともに、それにより水のみを溶媒として用いる簡単な操作でイオンを100倍以上濃縮することを目的とした。さらに、この濃縮法とイオンクロマトグラフィーを結合して、高濃度のイオンが共存する条件下での目的イオンの定量法を開発することを目指した。

### 3. 研究の方法

親水性多孔質充填剤としてポリメチルメタクリレートゲルを選択し、これを充填したカラムであるTSKgel G2500PW<sub>XL</sub>を用いて、固定相として機能する充填剤細孔内の分離機能水量を測定した。ついで、無機陰イオンの分配係数に及ぼす移動相中の対イオンおよび副イオンの種類および濃度の効果を調べ、イオン分配理論に基づいて保持機構の解析を行った。

TSKgel G2500PW<sub>XL</sub> カラムについて、陽イオン交換容量を測定し、陰イオンの保持体積の溶離電解質濃度依存性を調べた。次いで、移動相中の副イオンが目的陰イオンの保持体積およびピーク幅に及ぼす効果を検討し、期待される濃縮係数を算出した。

TSKgel G2500PW<sub>XL</sub> を陰イオン濃縮カラムとしてイオンクロマトグラフと10方バルブを用いて結合して、二次元ハートカットHPLCシステムを構成した。これを、水道水中の硝酸イオンおよび一級ならびに特級試薬として市販されているNaClとNa<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>中の微量不純物イオンの分析に応用した。

### 4. 研究成果

(1) ポリメチルメタクリレートゲル中の分離機能水量の測定

TSKgel G2500PW<sub>XL</sub> カラム中のバルク水量 $V_{BW}$ を、溶離電解質法を用いて以下の式により測定した。

$$V_{BW} = \frac{V_A^{YX} V_B^{WZ} - V_A^{WZ} V_B^{YX}}{V_A^{YX} + V_B^{WZ} - V_A^{WZ} - V_B^{YX}} \quad (1)$$

ここで、 $V_i^{jk}$ は電解質 $jk$ の水溶液を溶離液としたときのプローブイオン $i$ の保持体積を示す。ここでは0.1 mol/LのNaClおよびNaClO<sub>4</sub>水溶液を溶離液として、1価無機陰イオンの保持体積を測定して $V_{BW}$ を求めた。その結果、 $V_{BW}$ 値はカラム内全水相体積 $V_0$ より小さく、カラム内にはバルク水とはイオンに対する親和性の異なる分離機能水が存在することが明らかになった。分離機能水量差として与えられる( $V_s = V_0 - V_{BW}$ )  $V_0$ 、 $V_{BW}$ および $V_s$ 値の測定結果を、カラム内の充填剤粒子外部の液相体積 $V_{int}$ とともにTable 1に示す。TSKgel G2500PW<sub>XL</sub>カラムは固定相として働く分離機能水を多量に含んでおり(カラム内の水のうち約1/3)、分離及び濃縮に有効であることがわかった。

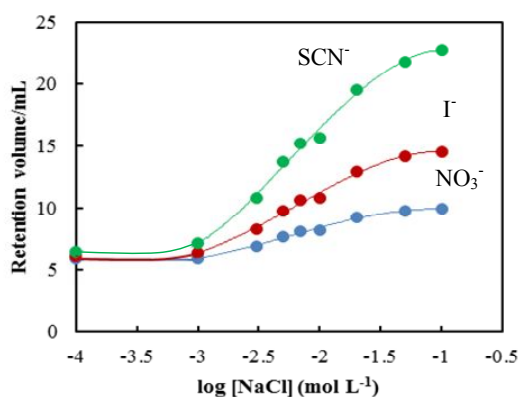
**Table 1** Void volume, bulk water volume, and stationary phase water volume (mL) determined for a TSKgel G2500PW<sub>XL</sub> column.

$V_0$	$V_{BW}$	$V_s$	$V_{int}$
10.22 ± 0.04	6.80 ± 0.18	3.42 ± 0.18	5.27 ± 0.05

(2) 分配 イオン排除スタッキング陰イオン濃縮システムの開発

有機高分子充填剤は、一般にその表面にカルボキシ基と推定される固定陰イオンが少量存在し、中性または塩基性条件下では陰イオンに対してイオン排除効果を示すことが知られている。その結果、陰イオンは溶離液のイオン強度が低い場合には充填剤細孔内部から排除されるのに対して、高イオン強度条件下ではバルク水と分離機能水間での分配により、陰イオンの分離が可能になる。Fig. 1は、溶離液としてNaCl水溶液を用いたときの、TSKgel G2500PW<sub>XL</sub>カラムにおけるNO<sub>3</sub><sup>-</sup>、

I<sup>-</sup>, および SCN<sup>-</sup>の保持体積の NaCl 濃度依存性を示したものである。NaCl 濃度が 1 mmol/L 以下ではいずれのイオンも  $V_{\text{int}}$  値に近い保持体積を示していることがわかる。一方, NaCl 濃度が大きくなるに伴って陰イオンの保持体積は増加してそれぞれ異なる値に漸近していき, 50 mmol/L 以上ではほぼ一定となっている。この結果は, NaCl 濃度が 1 mmol/L 以下ではイオン排除効果によりすべての陰イオンが充填剤粒子外部に排除されるのに対して, 50 mmol/L 以上ではイオン分配が支配的となることを示している。実際に, TSKgel G2500PW<sub>XL</sub> カラムの陽イオン交換容量を測定したところ, 3.4  $\mu\text{eq/mL}$  であった。



**Fig. 1** Dependence of the retention volumes of NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, I<sup>-</sup>, and SCN<sup>-</sup> on the eluent electrolyte concentration. Column: TSKgel G2500PW<sub>XL</sub>. Eluent electrolyte: NaCl.

0.1 mol/L の NaCl および Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 水溶液を溶離液とした系で測定した数種の無機陰イオンの分配係数を Table 2 に示す。ここで溶離電解質として YX を用いたときのイオン A の分配係数  $D_A^{YX}$  は, 以下の式(2)により求めた。

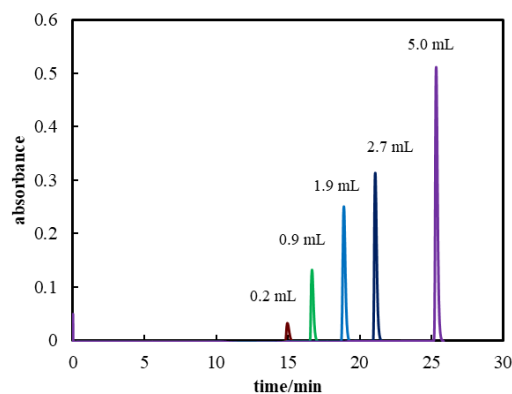
$$D_A^{YX} = \frac{V_A^{YX} - V_{\text{BW}}}{V_s} \quad (2)$$

**Table 2** Distribution coefficients of inorganic anions on a TSKgel G2500PW<sub>XL</sub> column with 0.1 mol/L NaCl and Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> solutions.

Anion	$D_A^{\text{NaCl}}$	$D_A^{\text{Na}_2\text{SO}_4}$
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	0.11	0.32
IO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	0.20	0.42
Cl <sup>-</sup>	0.36	0.60
Br <sup>-</sup>	0.71	1.42
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	0.93	1.80
I <sup>-</sup>	2.27	4.42
SCN <sup>-</sup>	4.66	8.99

分析目的イオン A を過剰量の電解質 YX とともに溶液としてカラムに注入し, 純水で溶離すると, 電解質 YX のゾーン内ではイオン A は分配係数  $D_A^{YX}$  でカラム内を移動する。一方, イオン X の分配係数は  $D_X^{YX}$  で与えられる。したがって,  $D_A^{YX}$  が  $D_X^{YX}$  より大きい

とき, イオン A は電解質 YX のゾーンの后端に濃縮されると予想される。これは, 電解質ゾーンからイオン A が分離すると, イオン排除効果を受けて移動速度が極めて大きくなることによる。1  $\mu\text{mol/L}$  の NaNO<sub>3</sub> と 0.1 mol/L の Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> を含む水溶液を TSKgel G2500PW<sub>XL</sub> カラムに注入したときに得られたクロマトグラムを Fig. 2 に示す。検出は紫外吸光検出器によって行われており, このクロマトグラムは NO<sub>3</sub><sup>-</sup> イオンの溶出曲線を表している。Fig. 2 から, 硝酸イオンは試料溶液の注入体積を 5 mL としても, ピーク幅が 170  $\mu\text{L}$  の非常に鋭いピークとしてカラムから溶出されていることがわかる。また, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> イオンの保持体積は試料注入体積が大きくなると, それに対応して大きくなっている。これは, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> イオンが Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> の溶出ゾーンの后端に濃縮されていることを示している。



**Fig. 2** Variation of the chromatogram of NO<sub>3</sub><sup>-</sup> obtained by injecting mixed electrolyte solutions of NaNO<sub>3</sub> + Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> with the sample volume injected. Column: TSKgel G2500PW<sub>XL</sub>. Concentration of electrolyte in the sample solution: NaNO<sub>3</sub> = 1  $\mu\text{mol/L}$ ; Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> = 0.1 mol/L. Flow rate: 0.5 mL/min.

### (3) 分配 - イオン排除スタッキング / イオンクロマトグラフィー分析法の開発

イオン分配モデルによれば, イオン A の溶出ゾーン前端的保持体積  $V_A^{YX}$  は次式で与えられる。

$$V_A^{YX} = V_{\text{BW}} + D_A^{YX} V_s \quad (3)$$

一方, 電解質 YX のゾーン后端の保持体積  $V_{\text{tr}(YX)}$  は次式で表される。

$$V_{\text{tr}(YX)} = V_{\text{BW}} + D_X^{YX} V_s + V_{\text{smp}} = V_X^{YX} + V_{\text{smp}} \quad (4)$$

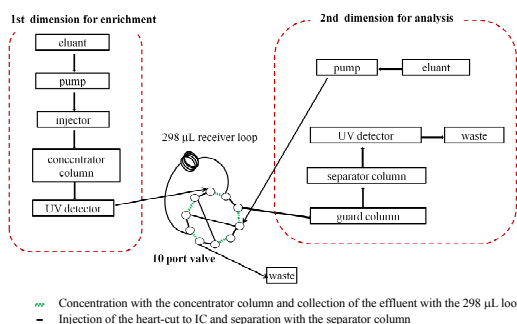
ここで  $V_{\text{smp}}$  は注入した試料溶液の体積を示す。式(3)と(4)から,  $V_{\text{smp}} \leq V_A^{YX} - V_X^{YX}$  であれば, 目的のイオン A を試料溶液の体積によらず, 鋭いピークとして濃縮してカラムから溶出させることができることがわかる。Table 1 と Table 2 に示した値から計算すると,  $V_{\text{NO}_3}^{\text{Na}_2\text{SO}_4} - V_{\text{SO}_4}^{\text{Na}_2\text{SO}_4}$  は 5.06 mL となるので, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> イオン溶液をこの量までは注入することができることになり, これは Fig. 2 に示した結果と一致する。

このときの NO<sub>3</sub><sup>-</sup> イオンの濃縮係数は, 注入

試料溶液の濃度とピーク頂点での濃度の比として計算して 60 であった。NO<sub>3</sub><sup>-</sup> イオンよりも分配係数の大きい I<sup>-</sup> と SCN<sup>-</sup> について計算すると、最大濃縮係数はそれぞれ 170 および 350 であり、このことはこの方法によって陰イオンを高い濃縮率で濃縮できることを示している。このイオン濃縮法は、イオンの分配に及ぼす共存イオンの効果とイオン排除効果を利用したものであることから、分配ノイオン排除クロマトグラフィーイオンスタッキング(PIEC スタッキング)法と名づけた。

### (3) PIEC スタッキング/イオンクロマトグラフィー分析法の開発

微量陰イオン、特に大過剰のイオンが共存する試料中の微量無機陰イオンを定量することを目的として、PIEC イオンスタッキングシステムをオンラインでイオンクロマトグラフと結合した分析システム(PIEC スタッキング-IC)を構築した。濃縮カラムには TSKgel G2500PW<sub>XL</sub> カラム (7.8 × 300 mm) を使い、このカラムから溶出するイオン濃縮ゾーンを 298 μL のループを取り付けた 10 方バルブで切り取り、イオンクロマトグラフシステムに注入して陰イオン分析を行うシステムとした。構築した分析システムを Fig. 3 に示す。

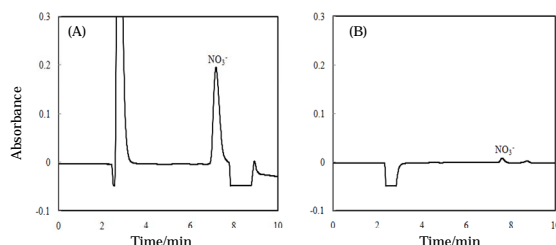


**Fig. 3** Instrumental set up of on-line PIEC ion stacking-IC.

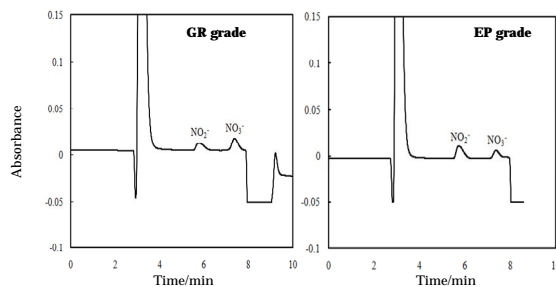
50 倍希釈した水道水に Suprapur 級 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> を 0.1 mol/L になるように添加して試料溶液とし、このシステムに 5.0 mL 注入して得られたクロマトグラムを Fig. 4(A) に示す。また、イオンクロマトグラフに 50 倍希釈した水道水を直接 298 μL 注入して得られたクロマトグラムを Fig. 4(B) に示す。いずれも NO<sub>3</sub><sup>-</sup> のピークが観測されているが、Fig. 4(A) では PIEC スタッキングにより濃縮されたことによって大きなピークが得られていることがわかる。

次に、一級ならびに特級試薬として市販されている NaCl と Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> を純水に溶解して 0.1 mol/L とし、これを直接 PIEC スタッキング-IC に注入して、含有される微量不純物陰イオンの分析を試みた。一級および特級 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> について得られたクロマトグラムを Fig. 5 に示す。いずれの試薬についても、微量の NO<sub>2</sub><sup>-</sup> と NO<sub>3</sub><sup>-</sup> が検出された。それぞれナトリウム塩として含有されていると仮定し

て計算して求めた含有率(質量%)を Table 3 に示す。ごく微量の不純物塩が精度良く定量されていることがわかる。PIEC スタッキングでは純水を用いるので、イオンクロマトグラフィー測定におけるバックグラウンドが非常に低い。このため、NO<sub>2</sub><sup>-</sup> と NO<sub>3</sub><sup>-</sup> の検出限界は、それぞれ 0.02 μg/L および 0.04 μg/L と、極めて小さい値であった。



**Fig. 4** Chromatograms obtained by injection of 50-fold diluted tap water with 0.100 M Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> into the on-line PIEC ion stacking-IC (A) and direct injection of 50-fold diluted tap water with water into IC (B). Eluant, 4.5 mM Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> + 1.4 mM NaHCO<sub>3</sub>; flow rate, 1.2 mL min<sup>-1</sup>; detection wavelength, 220 nm.



**Fig. 5** Chromatograms obtained for the injections of 0.100 M GR and EP grade Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> solutions by on-line PIEC ion stacking-IC. For other details see Fig. 4.

**Table 3** Quantification results of GR and EP grade sodium sulfate for impurity NaNO<sub>2</sub> and NaNO<sub>3</sub>.

Salt	GR grade (mg/kg)	EP Grade (mg/kg)
NaNO <sub>3</sub>	1.01 ± 0.01	0.66 ± 0.01
NaNO <sub>2</sub>	0.73 ± 0.01	1.39 ± 0.05

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 2 件)

Fouzia Akter, Shingo Saito, Yuiko Tasaki-Handa, Masami Shibukawa, Partition/Ion-Exclusion Chromatographic Ion Stacking for Analysis of Trace Anions in Water and Salt Samples by Ion Chromatography, *Anal. Sci.*, **34**(3), 369-373 (2018), 査読有。

Fouzia Akter, Yawara Ogiyama, Shingo Saito, Masami Shibukawa, Mechanism of ion stacking in aqueous partition chromatographic processes, *J. Sep. Sci.*, **40**(16), 3205-3213 (2017), 査読有。

[学会発表](計 4 件)

Fouzia Akter, Masami Shibukawa, Yuiko Handa, Shingo Saito, Development of a liquid chromatographic ion stacking method: Its application to determination of inorganic anions in environmental water samples and purification of electrolytes, 日本分析化学会第 66 年会, 2017 年 9 月 11 日, 東京理科大学葛飾キャンパス(東京都葛飾区). 荻山群, Fouzia Akter, 齋藤伸吾, 渋川雅美, 水系分配クロマトグラフィー過程におけるイオン濃縮現象 - メカニズムの解明と汎用的イオン濃縮法開発への展開 -, 第 77 回分析化学討論会, 2017 年 5 月 27 日, 龍谷大学深草学舎(京都府・京都市). Fouzia Akter, Shingo Saito, Masami Shibukawa, Ion partition stacking method: An approach for effective enrichment of inorganic ions, 13th Asian Conference on Analytical Sciences, 2016 年 12 月 10 日, Chiang Mai (Thailand). Fouzia Akter, 齋藤伸吾, 渋川雅美, Ion-partition/ion-exclusion stacking: A new chromatographic approach for enrichment of ions and purification of electrolytes, 2016 年 5 月 29 日, 岐阜大学(岐阜県・岐阜市).

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.apc.saitama-u.ac.jp/bunseki/index.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

渋川 雅美 (SHIBUKAWA, Masami)  
埼玉大学・大学院理工学研究科・教授  
研究者番号: 60148088