

水素型陽イオン交換樹脂を用いるリン酸イオンの イオン排除クロマトグラフィー*

田中 一彦, 中嶋 邦雄, 砂原 広志**

(1976年8月13日受理)

強酸性陰イオンとリン酸イオンのイオン排除クロマトグラフィーに関して、陰イオンのキャパシティー比 (k') と対応する酸の第一次解離定数 (pK_1) との間には直線関係であるが、近接した k' であるため、両陰イオンを分離するために、カラム温度、水-有機溶媒系溶離液組成、及び流量などを検討した。

強酸性陰イオン (塩化物イオン) とリン酸イオンの混合試料において、リン酸イオンの k' はカラム温度の上昇、水溶離液へのアセトン添加濃度の増大とともにリン酸の pK_1 が増大するので直線的に増大し、塩化物イオンとの間の分離度 (R_s) も直線的に増大したことから、リン酸イオンのイオン排除的分離は溶離液の誘電率に依存することが分かった。

カラム温度 50°C 、溶離液 20% (v/v) アセトン水溶液、溶離液流量 1 ml/min、試料導入容量 0.5 ml (50 μg の両陰イオンを含む) の溶離条件下において、リン酸イオンの k' は 0.145、HETP は 0.48 mm、電解効率は 98%、両陰イオン間の R_s は 1.20 が得られ、良好な溶離条件であることを認めた。

1 緒 言

著者¹⁾らは先に電量検出型液体クロマトグラフィーによってリン酸イオンが間接定量できることを報告した。この方法は陽イオンを水素型強酸性陽イオン交換樹脂を用いてイオン交換し、陰イオンに対応する酸としてイオン排除的に分離溶出させ、その解離水素イオンを二次電量検出法で検出することにより、間接的に陰イオンを定量できるものである。溶離液として水を用いた場合、種の陰イオンの保持容量 (V_R) は対応する酸の第一次解離定数 (pK_1) に依存し、種々の弱酸性陰イオンの V_R と pK_1 との間には直線関係が認められた。強酸性陰イオン (塩化物イオン、硝酸イオン、硫酸イオン) などは一様な V_R を示し、リン酸イオンよりも早く溶出し、それらの V_R は互いに接近した値を示した。そこで、塩化物イオンのような強酸性陰イオンと共存するリン酸イオンを分離するため、カラム温度、溶離液流量及びその組成 (水と有機溶媒の混合系)、試料導入容量の変化などについて分離条件を検討した。両陰イオンのキャパシティー比 (k')、HETP、分離度 (R_s) 及び電解効率などの結果

から良好な分離条件を見いだしたので報告する。

2 実 験

2.1 試 薬

既報¹⁾と同様に日立 2613 型強酸性陽イオン交換樹脂を水素型として用い、545×9 mm (内径) のジャケット付きガラスカラムに充てんした。

陰イオンは塩化物、リン酸の各イオンで、酸及びカリウム、ナトリウム塩水溶液である。それらの試薬は市販特級品で、各々の陰イオンの濃度として 10000 ppm の水溶液を調製し、適宜希釈使用した。水と有機溶媒の混合溶離液に用いた各種有機溶媒及びその他に用いた試薬などは市販特級品である。

2.2 装 置

液体クロマトグラフ、電量検出器、記録計、デジタルインテグレーターは既報¹⁾と同様なものを用い、得られたクロマトグラムから k' 、HETP、 R_s 及び電解効率を求めた。

3 結果及び考察

3.1 各種陰イオンのキャパシティー比 (k') と pK の関係

一般に、イオン排除クロマトグラフィーにおいては、 V_R は Simpson ら^{2)~4)}により式 (1) で表される。

$$V_R = V_s + K_d \cdot V_r \dots\dots\dots (1)$$

* 電量検出型液体クロマトグラフィーに関する研究 (第3報)。前報は田中一彦、石原 豊、砂原広志：本誌, 24, 235 (1975)

** 名古屋工業技術試験所：愛知県名古屋市北区平手町 1-1

ここに V_R は溶質の保持容量, V_s はカラム内の間けき水の容量, V_r は樹脂相内の水の容量を示す. 又, K_d は分布係数を示し, 式 (2) のように表される.

$$K_d = \frac{C_r}{C_s} \dots\dots\dots (2)$$

ここに C_r は樹脂相内の溶質の濃度, C_s は樹脂相の外側の移動相中の溶質の濃度を示す.

強酸性陰イオンの場合, 対応する酸の完全解離している水素イオンはイオン交換樹脂中の固定水素イオンによって完全に排除されるので樹脂相内には分布されない. 弱酸性陰イオンの場合は, 不完全に排除されるので樹脂相内にも水素イオンが分布し, K_d の相違によって分離が可能となる⁴⁾. 一方, 保持力を示す k' は式 (3) のように表される.

$$k' = \frac{V_R - V_0}{V_0} \dots\dots\dots (3)$$

ここに V_0 は非保持容量を示し, 強酸性陰イオンのような強電解質は式 (1) 及び式 (2) の関係から K_d がゼロ値となるので V_R と V_s は等しくなり, V_0 を求めるには V_s を実験的に求めればよいことになる. そこで, V_s を求めるために溶離液として 10^{-3} M 硫酸水溶液を用い, 試料液として水及び 100 ppm の塩化物イオンとリン酸イオンを含む混合水溶液の各々 0.5 ml をカラム内に導入し, 電量検出法でクロマトグラムを得た. 水の試料をカラム内に導入すると, クロマトグラムのベースラインよりも下にピークを示した. これを負のピークとし, ベースラインよりも上のピークを正のピークとする. この V_R は, 水を溶離液として用いた場合の塩化物イオンの V_R に相当した. 塩化物イオンとリン酸イオンの混合水溶液試料の場合は試料中の水の希釈による負のピークに塩化物イオンの正のピークが重なり, リン酸イオンの正のピークは塩化物イオンのピークよりも遅く, 水を溶離液として用いた場合のリン酸イオンの V_R に相当した. これらの結果から強酸性陰イオンの V_R と V_s 及び V_0 は一致し, 式 (3) に示す関係からその k' はゼロ値となる. 既報¹⁾ で述べた各種陰イオンの V_R から式 (3) を用いてそれらの k' を求め, k' と対応する酸の pK_1 との間には Fig. 1 に示すように直線関係が得られた.

Fig. 1 に示した関係から, 接近した k' を与える塩化物イオンとリン酸イオンを分離するためにはカラム効率を高くするかあるいはリン酸イオンの k' を増大させれば可能となる. そこで, 溶離液流量, カラム温度, 溶離液組成及びその濃度を検討した.

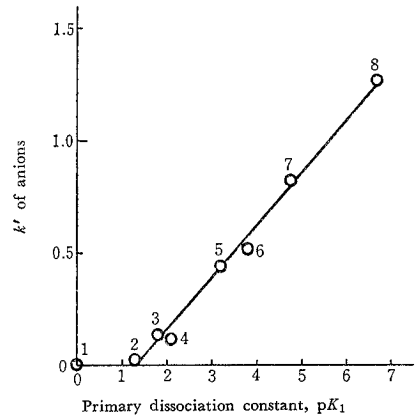


Fig. 1 Relationship between capacity factor (k') and primary dissociation constant (pK_1) of acid liberated by cation-exchange

- (1) Strong acids, such as HCl, HNO₃, H₂SO₄; (2) H₂C₂O₄; (3) H₂SO₃; (4) H₃PO₄; (5) HF;
 - (6) HCOOH; (7) CH₃COOH; (8) H₂CO₃;
- Column: Hydrogen type cation exchange resin (Hitachi-2613), 545×9 mm i.d., 55°C; Eluent: Water, 1 ml/min

3.2 水を溶離液とした場合の特性

3.2.1 溶離液流量の影響 塩化物イオンとリン酸イオンの共存試料において, リン酸イオンの分離効率を検討するため, 水を溶離液とし, カラム温度 50°C で溶離液流量を (0.25~2)ml/min まで変化させた. この場合のリン酸イオンの HETP 及び塩化物イオンとリン酸イオンとの間の R_s (以下, 塩化物イオンとリン酸イオンとの間の R_s を意味する) の結果を Fig. 2 に示す. その流量が少ないほど良好な結果を示し, 0.25 ml/min の流量のときの R_s は 1.03 であったが, 分析所要時間を考えると 1 ml/min が適当であった.

3.2.2 カラム温度の影響 Fig. 1 に示した関係からカラム温度の変化によってリン酸の pK_1 が変化すればその k' も変化し, その分離能の増大が考えられる. そこで, カラム温度を (26~80)°C まで変化させた場合, リン酸の pK_1 が温度上昇とともに増大するので⁵⁾, その k' は直線的に増大した. この結果を Fig. 3 に示す. しかしながら, 塩化物イオンの k' は変化しないので, 両者間の R_s も直線的に増大し, 更にカラム温度の上昇とともにリン酸イオンの HETP は減少した. (50~80)°C の範囲では, HETP の値の変化が少ないので, カラム温度は 50°C とし, 塩化物イオンからリン酸イオンを分離することができた.

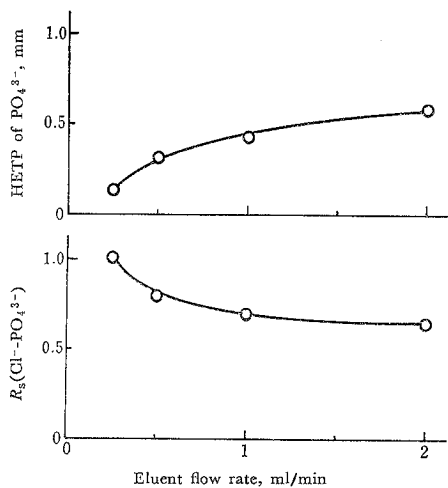


Fig. 2 Effect of eluent flow rate on HETP of PO_4^{3-} and R_s between Cl^- and PO_4^{3-}

Column temp.: 50°C ; Eluent: Water; Sample concn.: 100 ppm each

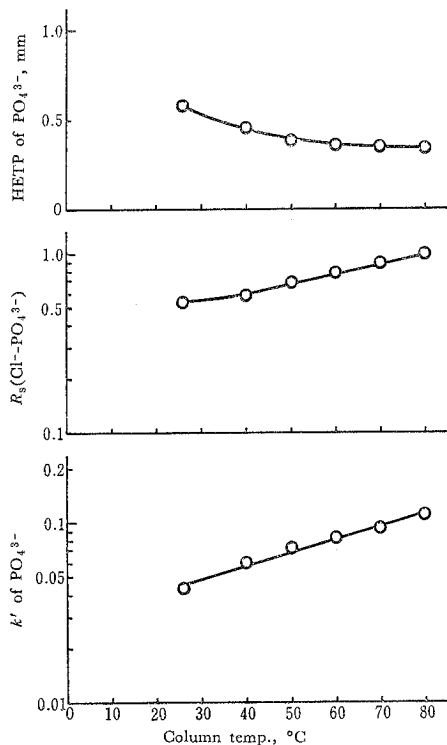


Fig. 3 Effect of column temp. on k' and HETP of PO_4^{3-} and R_s between Cl^- and PO_4^{3-}
 Cl^- : $k'=0$; Eluent: Water, 1 ml/min; Sample concn.: 100 ppm each

3.3 水と有機溶媒を溶離液とした場合の特性

3.3.1 溶離液組成 リン酸の pK_1 に影響を及ぼす因子としては水と有機溶媒の混合溶離液が考えられ、その場合の溶離液の粘度が分離効率に影響を及ぼす。そこで、水とメタノール、エタノール、1-プロパノール、1-ブタノール、*t*-ブチルアルコール、エチレングリコール、アセトンの 5% (v/v) 混合溶離液について比較検討したところ、誘電率及び粘度の小さいアセトンが良好な k' , R_s を示した。

3.3.2 アセトン濃度の影響 水とアセトンの混合溶離液において、アセトンを (0~70)% (v/v) まで変化させ、溶離液流量 1 ml/min, カラム温度 50°C の条件下

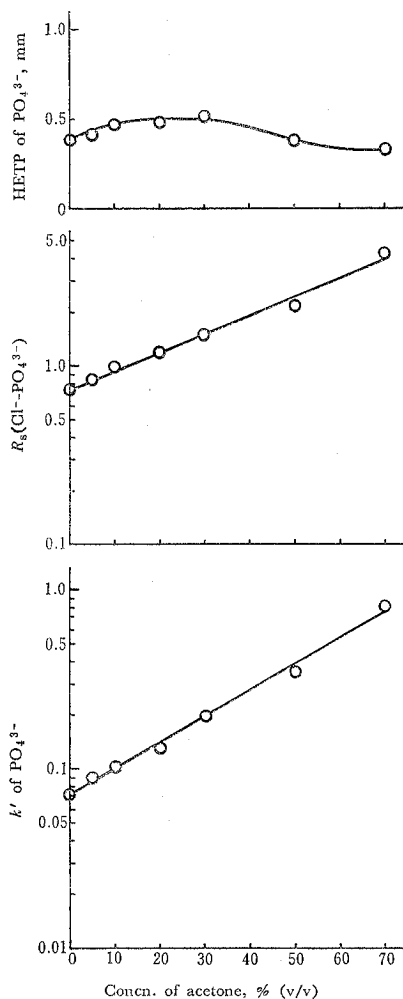


Fig. 4 Effect of concn. of acetone of k' and HETP of PO_4^{3-} and R_s between Cl^- and PO_4^{3-}
 Cl^- : $k'=0$; Column temp.: 50°C ; Eluent flow rate: 1 ml/min; Sample concn.: 100 ppm each

で, リン酸イオンの k' 及び R_s を検討した. その結果を Fig. 4 に示す. アセトン濃度の増大に伴って, リン酸イオンの k' 及び R_s は直線的に増大した. このことはアセトン濃度の増大により溶離液の誘電率が低下し, リン酸の pK_1 が増大するので k' が増大し, 塩化物イオンの k' は変化しないので R_s が増大したものである.

3.3.3 誘電率と k' の関係 3.2.2 及び 3.3.2 で述べたようにリン酸イオンの k' はカラム温度の上昇, アセトン濃度の増大によって直線的に増大した. それは溶離液の誘電率の低下によってリン酸の pK_1 が増大し, それに伴って k' が増大したためである. そこでカラム温度及び水-アセトン混合溶離液に対応する各々の誘電率⁶⁾ とリン酸イオンの k' の関係を検討した. 水を溶離液として用い, カラム温度を (26~80)°C まで変化させた場合の各々の温度に対応する誘電率とリン酸イオンの k' との関係と, カラム温度を 50°C とし, 水-アセトン系溶離液におけるアセトン濃度を (0~70%, v/v) まで変化させた場合の各々の濃度に対応する誘電率とリン酸イオンの k' との関係は Fig. 5 に示すように同一直線上にプロットすることができた.

以上の結果から, リン酸イオンのイオン排除のクロマトグラフィーにおいては溶離液の誘電率に依存して, その k' が直線的に変化することを認めた.

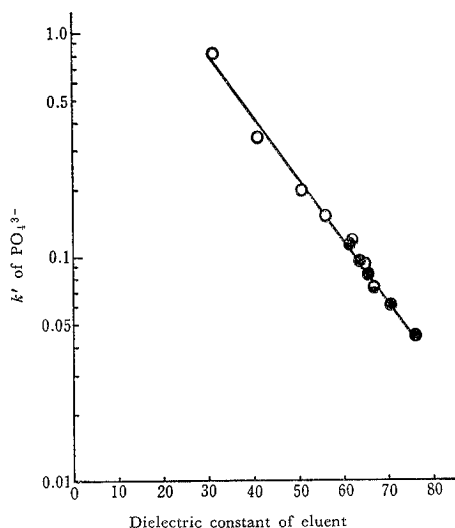


Fig. 5 Relationship between dielectric constant (ϵ) of eluent and k' of PO_4^{3-}

Cl⁻: $k' = 0$; Eluent flow rate: 1 ml/min; Sample concn. 100 ppm of PO_4^{3-} ; —●— Column temp.: (26~80)°C, eluent: water; —○— Column temp.: 50°C, eluent: (0~70%, v/v) acetone in water

3.4 試料導入容量

カラム温度 50°C, 溶離液は 20%(v/v) アセトン水溶液で, その流量は 1 ml/min の条件下において, 塩化物イオン及びリン酸イオンの各々 50 μ g 含む試料の導入容量を (0.25~2)ml まで変化させ, HETP, R_s を検討した. その結果, 0.5 ml までは変化なく, それ以上の容量では R_s が低下し, HETP は増大したことから 0.5 ml が適当であり, その場合, HETP 0.48 mm, R_s 1.20 が得られた.

3.5 リン酸イオンの電解効率

3.5.1 溶離液流量 リン酸イオンを 50 μ g 含む試料 0.5 ml をカラム内に導入し, 溶離液として水を用い, その流量を (0.25~2)ml/min まで変化させて, リン酸イオンのピーク面積から電量検出法の電解効率を検討した. その結果, 1 ml/min までは得られたピーク面積の変化が認められず, 2 ml/min では約 2% のピーク面積の減少が認められたので, 溶離液流量は 1 ml/min が適当であった.

3.5.2 アセトン濃度の影響 3.3.2 で述べたようにリン酸イオンの k' 及び R_s はアセトン濃度の増大とともに直線的に増大した. そこで, アセトン濃度を (0~70%, v/v) まで変化させた場合のリン酸イオンのピーク面積から電解効率を求めた. その結果を Fig. 6 に示す. リン酸イオンの電解効率は 30%(v/v) アセトン以上において低下し, 70%(v/v) では 61% となった. そのため 20%(v/v) アセトンが適当と考えられ, 電解効率は 98% が得られた.

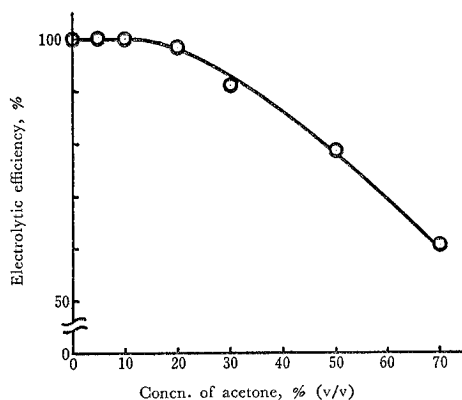


Fig. 6 Effect of concn. of acetone on electrolytic efficiency of PO_4^{3-}

Column temp.: 50°C; Eluent flow rate: 1 ml/min; Sample volume: 0.5 ml; Sample concn.: 100 ppm of PO_4^{3-}

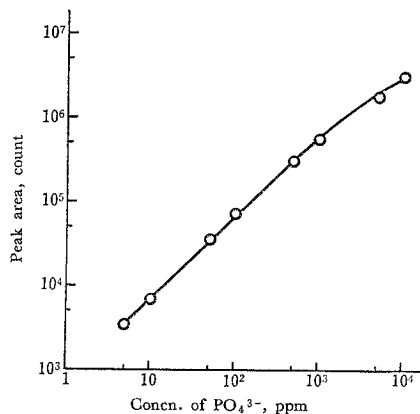


Fig. 7 Relationship between concn. of PO₄³⁻ and chromatogram peak area

Column temp.: 50°C; Eluent: 20% (v/v) acetone in water, 1 ml/min; Sample volume: 0.5 ml

3.5.3 リン酸イオン濃度とピーク面積の関係 カラム温度 50°C, 溶離液 20% (v/v) アセトン水溶液, 流量 1 ml/min, 試料導入容量 0.5 ml の条件下において, リン酸イオンの濃度とピーク面積の関係は Fig. 7 に示すように (5~1000) ppm の間で直線性が認められ, 溶離液として水を用いた場合と同様な結果であった.

4 結 言

強酸性陰イオンとリン酸イオンは接近した k' であり, イオン排他的に分離する条件を検討した. カラム温度の上昇, 水-アセトン系溶離液におけるアセトン濃度の増大などによる溶離液の誘電率の低下によって, リン酸イオンの k' は増大した. この場合強酸性陰イオンの k' は変化しないので, 両陰イオン間の R_s は直線的に増大し, 分離が可能である.

分離条件は, カラム温度 50°C, 溶離液 20% (v/v) アセトン水溶液, 流量 1 ml/min, 試料導入容量 0.5 ml において, 両陰イオン間の R_s は 1.20, 電解効率 98% が得られ, 良好な分離条件であることを認めた.

(1976年4月, 日本化学会第34春季年会において一部発表)

文 献

- 1) 田中一彦, 石原 豊, 砂原広志: 本誌, **24**, 235 (1975).
- 2) D. W. Simpson, R. M. Wheaton: *Chem. Eng. Progr.*, **50**, 45 (1954).

- 3) R. M. Wheaton: *ibid.*, **52**, 428 (1956).
- 4) 清山哲郎, 山辺武郎: “イオン交換樹脂”, p. 132 (1963), (日刊工業新聞社).
- 5) 藤代亮一, 和田悟郎, 玉虫伶太: “溶液の性質”, II, 現代物理化学講座 8 巻, p. 120, (1968), (東京化学同人).
- 6) G. P. Srivastava, Y. P. Varshini: *Z. Phys. Chem.*, (Leipzig), **213**, 30 (1960).

☆

Ion exclusion chromatography of phosphate ion using cation exchange resin. Kazuhiko TANAKA, Kunio NAKAJIMA and Hiroshi SUNAHARA (Government Industrial Research Institute, Nagoya, 1-1, Hirate-machi, Kita-ku, Nagoya-shi, Aichi)

In the separation and indirect determination of PO₄³⁻ by ion exclusion chromatography with a hydrogen type cation exchange resin, a flow coulometric detector was used for the detection of H⁺ in acid liberated by cation-exchange. The chromatographic conditions, such as column temperature, eluent composition, eluent flow rate and sample volume, were investigated in order to separate PO₄³⁻ from Cl⁻. The capacity factor (k') of various anions depended upon the primary dissociation constant (pK_1) of the corresponding acids, and the k' of Cl⁻ are similar to that of PO₄³⁻. The k' of PO₄³⁻ increased with lowering dielectric constant (ϵ) of the eluent due to the rise of column temperature. A linear relationship was obtained between the k' of PO₄³⁻ and the column temperature in the range of 26 to 80°C. No variation was observed for the k' of Cl⁻. The k' of PO₄³⁻ increased with lowering ϵ of the eluent by addition of acetone. No such effect was observed for the k' of Cl⁻. A linear relationship was obtained between the k' of PO₄³⁻ and the concentration of acetone at the range of 0 to 70% (v/v). The peak resolution (R_s) between Cl⁻ and PO₄³⁻ increased in proportion to the k' of PO₄³⁻ due to the lowering of ϵ of eluent. Under the chromatographic conditions of column temperature of 50°C, 20% acetone eluent, eluent flow rate of 1 ml/min and sample volume of 0.5 ml, the R_s between Cl⁻ and PO₄³⁻ was 1.20 and the electrolytic efficiency of PO₄³⁻ was 98%. A linear relationship was obtained between chromatogram peak area and concentration of PO₄³⁻ for the range of 5 to 1000 ppm.

(Received Aug. 13, 1976)

Keywords

Dielectric constant of eluent
Flow coulometry
Ion exclusion chromatography
Phosphate ion in chloride ion
Water-acetone eluent