

ノ ー ト

硫酸イオンの試料イオンに対するスタッキング効果を利用する
無機陰イオンのキャピラリー電気泳動/直接吸光分析高柳 俊夫^{®*}, 廣井 康子*, 本水 昌二*Direct photometric detection of inorganic anions by capillary zone
electrophoresis using stacking effect of sulfate ion on sample ions

Toshio TAKAYANAGI, Yasuko HIROI and Shoji MOTOMIZU*

*Faculty of Science, Okayama University, 3-1-1, Tsushima-Naka, Okayama-shi, Okayama 700

(Received 22 January 1996, Accepted 5 March 1996)

Stacking effect of sulfate ion on the analysis of inorganic anions by capillary zone electrophoresis was examined during the sample injection period. A used silica capillary was dynamically coated with tetradecyltrimethylammonium bromide (TDTMA⁺Br⁻) to control the electroosmotic flow. Analyte anions were directly detected by photometry at 214 nm. Five kinds of anions, namely bromide, nitrite, nitrate, molybdate, and tungstate, were detected. Anion separation was developed using 4×10^{-3} M sodium sulfate in the carrier solution. Peak heights for anions increased along with additional Na₂SO₄. The stacking effect was more effective for the anions with high mobility than those with low mobility. Calibration graphs for nitrate and nitrite showed good linearity in the concentration range of 10^{-6} to 10^{-5} M.

Keywords : capillary zone electrophoresis; inorganic anion; stacking effect; direct photometric detection.

1 緒 言

キャピラリー電気泳動による無機陰イオンの分析では、クロム酸イオンを用いる間接吸光分析法が広く用いられている^{1)~4)}。しかし、間接吸光試薬に基づくバックグラウンド吸収のためにベースラインが不安定になり、SN比が低下することが高感度化を妨げる一つの大きな問題であった。そこで、本研究では、紫外領域でのバックグラウンド吸収を極力抑えた泳動液を用い、分析対象陰イオンの吸収を利用する直接吸光分析法について検討を行った。通常のpH緩衝液のみを含む泳動液では検出ピークの分離が悪く、又近接したピークの重なりも見られたので、強電解質を泳動液に添加して試料ゾー

ンとの電導度の差を大きくすることにより、発現するスタッキング効果の利用を検討した。スタッキング試薬として、紫外領域に強い吸収を有さないこと、多価の陰イオンであることから、硫酸ナトリウムを選択した。通常のシリカキャピラリーでは電気浸透流の方向が陰イオンの泳動方向と異なるので、本研究では、第四級アンモニウムイオンでダイナミックコーティングしたものをを用いた⁵⁾。本法によると、 10^{-6} ~ 10^{-5} mol dm⁻³ (M) レベルの硝酸・亜硝酸イオンが良好に分離・検出できた。

2 実 験

2.1 装 置

キャピラリー電気泳動装置として、Applied Biosystems 270Aを用いた。装着したキャピラリーはジーエル

* 岡山大学理学部: 700 岡山県岡山市津島中 3-1-1

サイエンス製の全長 72 cm, 検出器までの有効長 50 cm, 内径 75 μm のものを用いた. 検出部分はポリイミドコーティングを除去して製作した. 得られたエレクトロフェログラムを日立 D-2000 Chromato-Integrator を用いて解析した.

2.2 試薬

ホウ酸, 四ホウ酸ナトリウムは和光純薬製のもの, 臭化テトラデシルトリメチルアンモニウム (TDTMA⁺ Br⁻) は東京化成製のものを用いた. 分析対象陰イオン試料は市販試薬特級品のナトリウム塩を水に溶解して用いた. 使用した水は, イオン交換/蒸留を行い, 更に Milli-Q Labo System (Millipore 製) で精製したものを用いた.

2.3 標準操作

泳動液として, 4×10^{-2} M ホウ酸と 2×10^{-3} M ホウ砂により pH を 8.1 に調整し, スタッキング試薬として 4×10^{-3} M の硫酸ナトリウムを添加したものを用いた. 泳動液にはダイナミックコーティング試薬として 1×10^{-4} M の TDTMA⁺ Br⁻ を添加して電気浸透流を制御した. 減圧法によりカソード側より 3 秒間試料を注入し (注入体積: 約 50 nl), 20 kV の電圧を印加して電気泳動を行った. 214 nm の吸光度を, アノード側でオンキャピラリー法で測定した. なお, 測定中, キャピラリーを 35°C の恒温室に保持した.

3 結果と考察

3.1 ピーク形状に及ぼす硫酸ナトリウムの効果

Fig. 1 に 5 種類の陰イオンを含んだ試料のエレクトロフェログラムを示す. 硫酸ナトリウムが添加されていない泳動液においても 5 種類の陰イオンを検出できるが, ピークの分離が悪く, 又ピーク間に重なりを生じるために定量は難しい. しかし, 4×10^{-3} M の硫酸ナトリウムを泳動液に添加した場合, いずれのイオンにおいても泳動時間は長く, ピーク形状は鋭敏になり, 各陰イオンは良好に分離されていることが分かる. 泳動時間の変化は, 添加した硫酸ナトリウムの電気浸透流への影響が主な原因と考えられる. 硫酸ナトリウム添加量と陰イオンのピーク高さとの関係を Fig. 2 に示す. 添加量の増加に伴い, それぞれのピークは高くなった. 一価イオンの硝酸・亜硝酸イオンなど, 移動度の大きなイオンは少量の添加でスタッキング効果が表れ, 2×10^{-3} M 以上の濃度領域でピーク高さはほぼ一定となった. それらよりも小さな移動度を有するモリブデン酸・タングステ

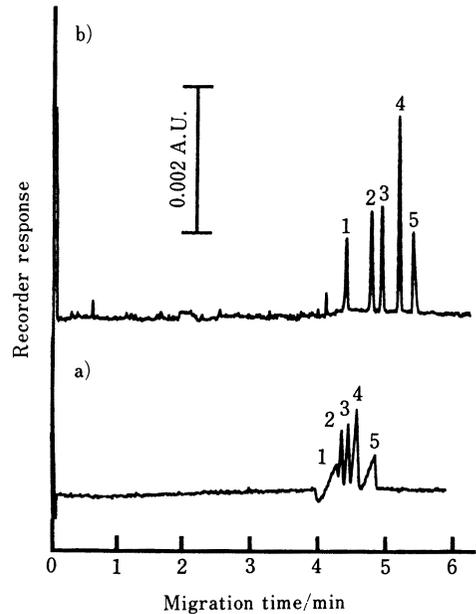


Fig. 1 Electropherograms of inorganic anions. Sample solution contains 5×10^{-5} M of Br⁻ and WO₄²⁻, and 1×10^{-5} M of NO₃⁻, NO₂⁻, and MoO₄²⁻. Carrier solution consists of 4×10^{-2} M boric acid + 2×10^{-3} M sodium tetraborate + 1×10^{-4} M TDTMA⁺ Br⁻ (pH 8.1). Concentration of sodium sulfate in the carrier solution is a) none and b) 4×10^{-3} M. CE conditions are cited in the text. 1: Br⁻; 2: NO₂⁻; 3: NO₃⁻; 4: MoO₄²⁻; 5: WO₄²⁻.

ン酸イオンのピーク高さの増加には更に多量の添加を必要とした.

3.2 印加電圧の効果

印加電圧を 10~30 kV で検討した. 移動時間から求めた見掛けの移動度は 13~15% 変化したが, 臭化物イオンを基準とした泳動時間の比には大きな変化が見られなかった. ピーク形状にもほとんど変化が見られなかった.

3.3 検量線, 検出限界及び再現性

硝酸・亜硝酸イオンに対する検量線を Fig. 3 に示す. 10^{-6} ~ 10^{-5} M レベルで良好な直線性を示した. SN 比を 3 としたときの検出限界は, 5.0×10^{-7} M (NO₃⁻) ~ 9.4×10^{-7} M (WO₄²⁻) であった. 4×10^{-5} M の硝酸イオンを 5 回繰り返し測定して相対標準偏差を調べ

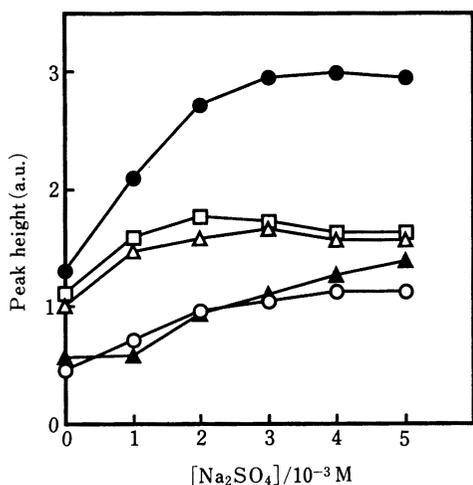


Fig. 2 Effect of Na_2SO_4 concentrations in the carrier solution on the peak height of analyte anions.

Concentrations of analyte anions and buffer component of the carrier are the same as in Fig. 1.

○: Br^- ; △: NO_2^- ; □: NO_3^- ; ●: MoO_4^{2-} ; ▲: WO_4^{2-} .

たところ、泳動時間に対して 0.16%、ピーク高さに対して 1.12% であり、再現性は良好であることが分かった。

3・4 共存イオンの影響

2×10^{-5} M の硝酸イオンに対して、 $0 \sim 5 \times 10^{-4}$ M の塩化物イオン及び $0 \sim 2.5 \times 10^{-4}$ M の硫酸イオンを添加してピーク高さの変化を調べたところ、その変化量は 5% 以内であった。すなわち、これらの濃度域では、スタッキング効果は阻害を受けないことを示している。

硫酸ナトリウムを泳動液中に添加することによって、分析陰イオンのピーク分離の改善とピーク形状の鋭敏化が達成された。河川水等の硝酸イオン、亜硝酸イオンの定量に十分適応可能であると思われる。

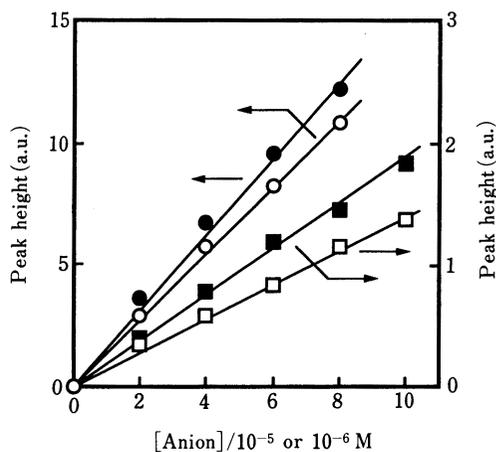


Fig. 3 Calibration graphs for nitrate and nitrite ions.

Concentration ranges of anions are $(0 \sim 10^{-4})$ M for ○, ● and $(0 \sim 10^{-5})$ M for □, ■. Open and closed symbols refer to NO_2^- and NO_3^- , respectively.

本研究は、(財)岡山工学振興会の助成を受けて行ったものであり、謝意を表します。

(1995年12月, 第15回キャピラリー電気泳動シンポジウムにて一部発表)

文 献

- 1) W. R. Jones, P. Jandik: *J. Chromatogr.*, **546**, 445 (1991).
- 2) W. R. Jones, P. Jandik: *J. Chromatogr.*, **608**, 385 (1992).
- 3) N. J. Benz, J. S. Fritz: *J. Chromatogr. A*, **671**, 437 (1994).
- 4) C. Stathakis, R. M. Cassidy: *Anal. Chem.*, **66**, 2110 (1994).
- 5) X. Huang, J. A. Lucky, M. J. Gordon, R. N. Zare: *Anal. Chem.*, **61**, 766 (1989).