

Nafion チューブを用いたイオン成分のポストカラム濃縮

竹内 政樹

徳島大学大学院医歯薬学研究部（薬学域）：770-8505 徳島市庄町 1-78-1

Post-column concentration of anions using Nafion membrane tubing

Masaki Takeuchi

Institute of Biomedical Sciences, Tokushima University Graduate School, 1-78-1 Shomachi, Tokushima 770-8505, Japan

In this tutorial review, the principle of on-line sample concentration by evaporation through a Nafion membrane tubing and its application to post-column concentration of anions by ion chromatography are described. As solution flows through the Nafion membrane tubing, drying nitrogen gas flows outside it to remove the solvent. The removal rate was increased with increasing sample residence time, drying gas flow rate, and device temperature. With the concentrator, the detection sensibility was improved, and the lower detection limit was obtained compared to that without the concentrator. The optimized system has successfully been applied to the determinations of perchlorate in atmospheric aerosol and orotic acid in urinary samples.

Keywords online-concentration, anion, ion chromatography, Nafion membrane tubing

1. 緒言

一般的に、分析システムの小型化に伴い試料の注入量が制限され、検出感度の低下を招く。試料の濃縮は生活環境及び人体に含まれる微量成分を定量するための有効な手段であり、溶媒抽出法、イオン交換法、共沈法、蒸留法及び固相抽出法など、多くの分離濃縮法が存在する。通常、これらの手法は試料の前処理として行う“プレ濃縮”である。プレ濃縮は分析化学用語において一般的なものであり、これまでにオンライン、オフラインを問わず有用なプレ濃縮法が数多く報告されている。一方、“ポスト濃縮”という表現は馴染み深いものではなく、試料を分離した後にオンラインで濃縮・検出を行った報告はほとんどない。

筆者らは、溶媒透過性メンブランチューブを用いて、クロマトグラフのプレカラム部だけでなくポストカラム部においても有効なオンライン濃縮法を検討してきた [1]。この濃縮法をイオンクロマトグラフィーと組み合わせることにより、環境試料や生体試料に含まれる陰イオン成分のポストカラム濃縮に成功している [2,3]。本稿では、溶媒透過性メンブランチューブとして Nafion チューブを用いたポストカラム濃縮法について、その原理と実試料への応用を解説する。

2. 溶媒透過性メンブランチューブによる濃縮法

2.1 濃縮機構

溶媒を蒸発させて目的物質を濃縮する方法は、古くから用いられている確実な濃縮法である。ロータリーエバポレ

ーターは、その代表的な濃縮装置であり、有機化学実験などで広く使用されている。今回紹介するオンライン濃縮器は、エバポレーターの濃縮機構をオンラインで実現するものである。図 1 にその濃縮機構を示す。溶媒 (H_2O) は、水蒸気として溶媒透過性メンブランチューブを透過し、チューブの外側を流れている不活性ガス (N_2) により除去される。一方、目的イオン (A^-) は膜壁を透過せず、チューブの内側を流れながら濃縮されてゆく。目的イオンのチューブ内滞留時間が長くなるにつれて (図 1 の $t=1 \rightarrow 2 \rightarrow 3$)、その濃縮率は上昇し、最終的に目的イオンは、後流の検出器で高感度に検出されることになる。

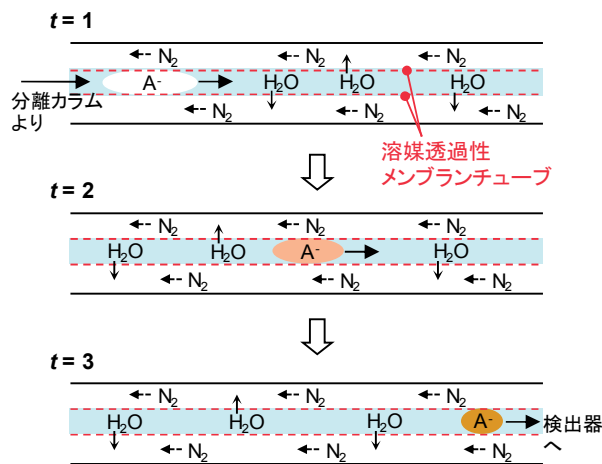


図1 ポストカラム濃縮機構 (A^- : 目的イオン, 溶液は左 → 右に流れ, 時間は $t=1 \rightarrow 2 \rightarrow 3$ の順に経過)。

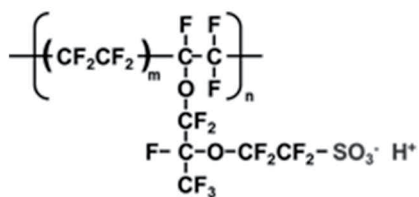


図2 Nafionの化学構造.

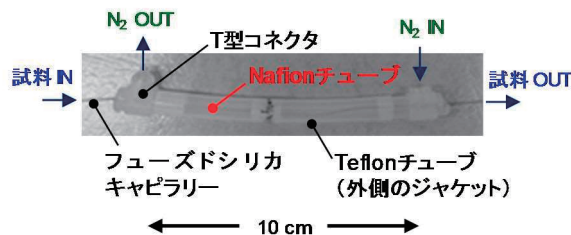


写真1 10 cmのNafionチューブを用いた濃縮器.

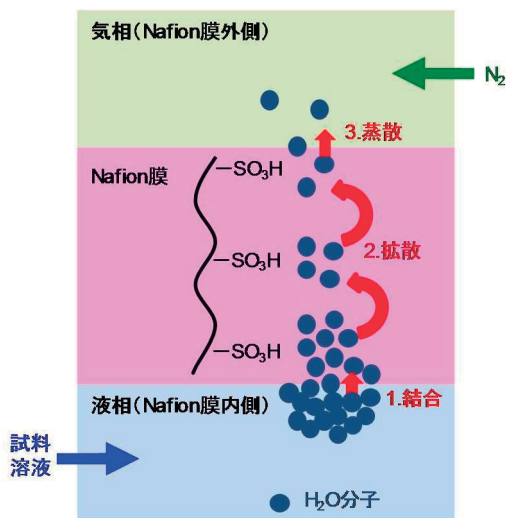


図3 Nafionチューブによる水分蒸発機構.

2.2 Nafion チューブ

Nafion は、炭素、フッ素からなる疎水性テフロン骨格とスルホン酸基を持つパーフルオロカーボン材料である。テトラフルオロエチレンとパーフルオロ [2-(フルオロスルフォニルエトキシ) プロピルビニルエーテル] の共重合体であり、図2のような化学構造を有する。スルホン酸基の強酸性がパーフルオロカーボン骨格の電子吸引性の源であり、陽イオンや極性化合物に対して透過性を有するが、陰イオンや無極性化合物に対しては透過性を持たない。さらに、多くの溶媒に不溶性で、強酸化剤や強塩基に対して高い耐性を持つ。食塩の電解や固体高分子形燃料電池におけるアノードとカソードを隔てる電解質膜 [4,5] として広く用いられている。

Nafion チューブによる水分蒸発機構を図3に示す。チューブ内壁のスルホン酸基が水分子にさらされると、水分子はチューブ内壁面のスルホン酸基に結合（溶解）する。内壁内部のスルホン酸基が保持している水分量は少ないため、水分子はチューブ内壁面から内部のスルホン酸基に移動する。Nafion チューブの外壁側に到達した水分子は、Nafion チューブの外に蒸散し、外側を流れる窒素などの不活性ガスにより除去される。従って、Nafion チューブ内に試料を流すことで、不揮発性試料の濃縮が行われる。なお、Nafion チューブは、パーマピュア社から1 mあたり10,620円から30,680円（平成29年4月現在）で販売されている。

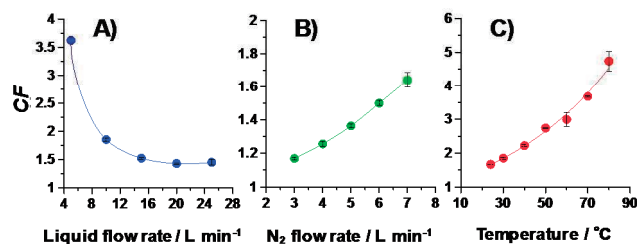


図4 濃縮パラメーターと濃縮係数(CF)の関係, $n = 3$. A) 試料流入流量の影響. B) N_2 ガス流量の影響. C) 濃縮器温度の影響. CFは、一定流量で連続的に流れるキャリヤー（純水）に、一定体積の硝酸イオン標準液を注入して、下流の吸光度検出器で吸光度を測定したときの、写真1の濃縮器あり、なしにおける硝酸イオンのピーク高さの比（濃縮器あり/濃縮器なし）より算出。

3. Nafion チューブを用いたオンライン濃縮器

3.1 濃縮器の製作

写真1は、長さ10 cmのNafionチューブ（内径89 μm 、外径203 μm ）を用いて製作したオンライン濃縮器である。両端にT型コネクタを接続したTeflonチューブの中に、長さ10 cmのNafionチューブが挿入されている。試料溶液は左側からNafionチューブの内側を通過し、 N_2 ガスはNafionチューブの外側を試料溶液とは逆向きに流れる仕組みになっている。なお、Nafionチューブは、メタノールと N,N -ジメチルホルムアミドの混合溶液（50/50, v/v）で煮沸後、手で引き伸ばして壁厚を薄くし、1 M塩酸で5分間煮沸することにより、Nafionチューブに含まれるスルホン酸基を全て H^+ 型にしたものを使用している。

3.2 濃縮パラメーター

溶媒透過性メンブランチューブによる溶媒（水分）除去率、すなわち試料の濃縮係数(CF)は、チューブの材質・厚さ、濃縮器の形状、試料の流入流量、除去ガス(N_2)の流量、濃縮器温度及びチューブ内外の圧力差などによって支配されている。図4は、上記の濃縮パラメーターのうち、試料の流入流量、 N_2 ガスの流量及び濃縮器温度の影響を写真1の濃縮器を用いて検討した結果を示している。CFは、試料流入流量の低下、すなわち試料のチューブ内滞留時間の増加、 N_2 ガス流量の増加、濃縮器温度の増加とともに上昇していることが分かる。

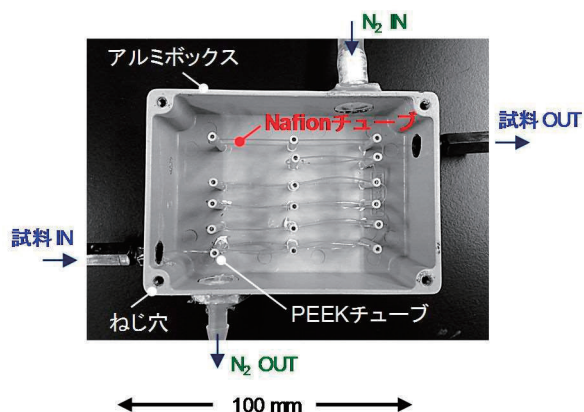


写真2 100 cmのNafionチューブを用いた濃縮器(アルミボックスの上蓋を外して撮影)。

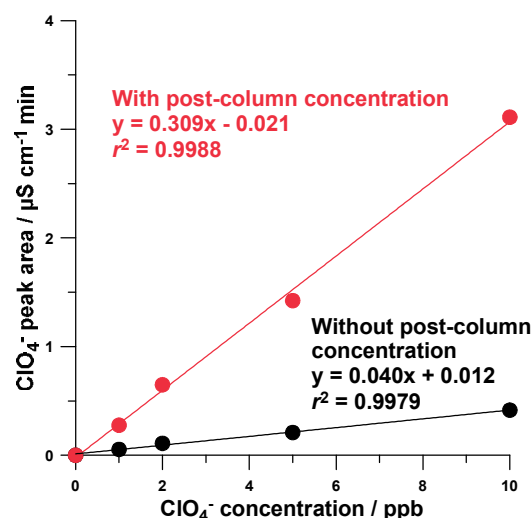


図5 ポストカラム濃縮ありとなしにおける過塩素酸イオンの検量線。

4. 実試料への応用

4.1 イオンクロマトグラフィー用ポストカラム濃縮器

写真2は、イオンクロマトグラフのポストカラム部で使用するために製作したオンライン濃縮器である。より高い溶液流量に対応するため、長さ100 cmのNafionチューブ(内径330 μm, 外径510 μm)を用いている。Nafionチューブは、PEEKチューブ(アルミボックスの底に固定され支柱の役割を果たす)の側面に開けた直径1 mm程度の穴を通り、写真2に示すようにアルミボックスに収納されている。また、アルミボックスの側面には、試料溶液とN₂ガスが流れる穴がそれぞれ2ヶ所ずつある。

4.2 大気エアロゾル中の過塩素酸イオン

ヒトは、その成長と恒常性維持に不可欠な甲状腺ホルモンを合成するためにヨウ素を摂取、吸収する必要がある。しかし、甲状腺によるヨウ素の取り込みは、過塩素酸イオン(ClO₄⁻)によって妨げられる。ClO₄⁻を多量に摂取すれば、甲状腺ホルモンを生産できなくなり、神経障害を引き起こす可能性がある[6,7]。ClO₄⁻は燃料エンジンや花火などに含まれ、環境中に拡散していると考えられるが、その動態に関する報告は少なく不明な点が多い。一般的に、ClO₄⁻の定量は質量分析計(MS)あるいはMSとイオンクロマトグラフを組み合わせた手法が用いられるが、著者らは、高価なMSを用いずにClO₄⁻を定量する手法を検討してきた。

図5は、写真2の濃縮器をイオンクロマトグラフのポストカラム部に導入して作成したClO₄⁻の検量線である。比較として、濃縮器を用いなかった場合の検量線も示している。検量線の決定係数は両検量線間に大きな違いが見られないが、検量線の傾きは濃縮器を用いることで約8倍高くなり、ClO₄⁻の検出感度は向上した。このイオンクロマトグラフ/ポストカラム濃縮法に粒子状物質の連続捕集器[8]を導入することで、大気エアロゾル中ClO₄⁻濃度を3時間毎に連続測定できるシステムの開発に成功している[2]。

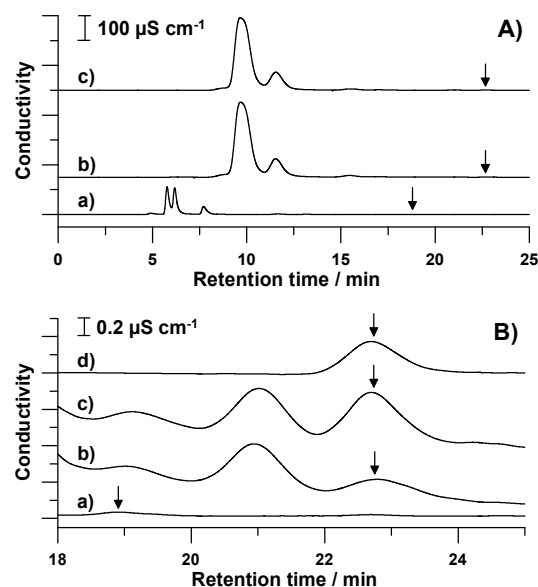


図6 尿試料のクロマトグラム。B) オロト酸のピーク付近を拡大したもの。a) 100倍希釈の尿試料を濃縮せずに分析。b) 100倍希釈の尿試料をポストカラム濃縮して分析。c) 100倍希釈の尿試料に0.5 ppmオロト酸標準液を添加した試料をポストカラム濃縮して分析。d) 0.5 ppmオロト酸標準液をポストカラム濃縮して分析。図中の矢印はオロト酸のピークを示す。

4.3 尿中のオロト酸

イオンクロマトグラフィーによる尿試料の分析では、分離カラムの劣化を抑えるために、遠心分離やフィルターろ過によるマトリックス成分の除去や試料の希釈といった前処理が必要となる。また、試料導入量を少なくすることによっても、分離カラムの劣化を抑制することができる。目的成分により違いはあるものの、一般的に、試料は10から100倍に希釈され、10から50 μLの試料がイオンクロマトグラフに導入される[9-12]。しかし、希釈倍率を高くし、

試料導入量を少なくすると、検出感度は低下し、微量成分の測定が困難となる。このような場合はポストカラム濃縮法が非常に有効である。

図 6 に、尿素サイクル異常症の診断指標に用いられる尿中オロト酸をイオンクロマトグラフ/ポストカラム濃縮法で分析したときのクロマトグラムを示す。オロト酸のピークは、濃縮なしで 19 分弱、ポストカラム濃縮ありの場合は 23 分弱に現れている。この尿試料では、濃縮なしの場合でもオロト酸のピークが見られるが、検出限界値を下回っていた (図 6Ba)。一方、ポストカラム濃縮を行うことで検出限界値以上のピーク値を得ることに成功した (図 6Bb)。また、このときの添加回収試験の回収率もほぼ 100% と良好な結果が得られており、ポストカラム濃縮法の有用性が示された [3]。

5. 結語

本稿では、Nafion チューブを用いたオンライン濃縮法について解説した。ここでは、イオンクロマトグラフィーと組み合わせた応用例を紹介したが、本濃縮法は非常にシンプルな手法であり、フローインジェクション分析法などの流れ分析にも応用可能である。また、試料のオンライン濃縮だけでなく、分析装置のインターフェースとしての使用も期待でき、今後の微量成分の測定に大きく貢献できると思われる。

6. 謝辞

本稿で紹介した研究は、2008-2009 年度科学研究費助成事業若手研究 (スタートアップ) (20850027)、2009 年度財団法人向科学技術振興財団研究助成、2011-2012 年度科学研究費助成事業若手研究 (B) (23710009) 及び 2012 年度公益財団法人クリタ水・環境科学振興財団研究助成の補助を得て行われた。

本稿執筆の機会を賜りました *J. Flow Inject. Anal.* 編集委員長の中秀治先生 (徳島大) 及び編集委員の皆様にご挨拶申し上げます。

文献

- [1] M. Takeuchi, P.K. Dasgupta, J.V. Dyke, K. Srinivasan, *Anal. Chem.* **79**, 5690 (2007).
- [2] M. Takeuchi, K. Yoshioka, Y. Toyama, A. Kagami, H. Tanaka, *Talanta* **97**, 527 (2012).
- [3] M. Takeuchi, N. Miki, K. Ishimine, H. Tanaka, *J. Flow Inject. Anal.* **32**, 97 (2015).
- [4] J. Zhang, F. Lan, D. Liang, Y. Xiao, S. Lu, Y. Xiang, *J. Membr. Sci.* **382**, 350 (2011).
- [5] Q. Duan, H. Wang, J. Benzinger, *J. Membr. Sci.* **392-393**, 88 (2012).
- [6] M. Tonacchera, A. Pinchera, A. Dimida, E. Ferrarini, P. Agretti, P. Vitti, F. Santini, K. Crump, J. Gibbs, *Thyroid* **14**, 1012 (2004).
- [7] F.J. Rovet, *Child Neuropsychol.* **8**, 150 (2002).
- [8] R. Al-Horr, G. Samanta, P.K. Dasgupta, *Environ. Sci. Technol.* **37**, 5711 (2003).
- [9] 嶋田義弘, *中国短期大学紀要* **32**, 101 (2001).
- [10] 野町祥介, 成田 慶, 小田千恵, 花井潤師, 福士 勝, 矢野公一, *札幌市衛研年報* **35**, 37 (2008).
- [11] F.Y. Zhao, Z.H. Wang, H. Wang, R. Zhao, M.Y. Ding, *Chin. Chem. Lett.* **22**, 342 (2011).
- [12] F. Zhao, Z. Wang, H. Wang, M. Ding, *J. Chromatogr. B*, **879**, 296 (2011).

(Received January 31, 2018)
(Accepted February 1, 2018)