

報 文

水性二相系高速向流クロマトグラフィーによる無機イオンの分離

石井 一行^{1,3}, 田中 由香¹, 秦 恭子¹, 後藤 将治^{1,4},
齊藤 和憲¹, 南澤 宏明², 渋川 雅美^{®1}

Separation of inorganic ions by high-speed countercurrent chromatography with an aqueous biphasic system

Kazuyuki ISHII¹, Yuka TANAKA¹, Kyoko HATA¹, Masaharu GOTO¹, Kazunori SAITOH¹,
Hiroaki MINAMISAWA² and Masami SHIBUKAWA¹

¹ Department of Applied Molecular Chemistry, College of Industrial Technology, Nihon University, 1-2-1, Izumi-cho, Narashino-shi, Chiba 275-8575

² Department of Basic Science, College of Industrial Technology, Nihon University, 2-11-1, Shin-ei, Narashino-shi, Chiba 275-8576

(Received 13 May 2004, Accepted 30 June 2004)

The optimum experimental conditions for J coil planet centrifuge high-speed countercurrent chromatography (HSCCC) with aqueous biphasic systems consisting of polyethylene glycol (PEG) and sodium sulfate were investigated using some inorganic anions as model compounds. The PEG-rich upper phase was used as the stationary phase and the salt-rich lower phase was used as the mobile phase. In order to eliminate fluctuations of the base line of chromatograms owing to emulsification caused by excessive mixing of the two phases, water was mixed with the eluate from the column prior to UV detection. The resolution of iodate ion and iodide ion increased with an increase in the revolution speed of the Teflon tube column holder although the volume of the stationary phase retained in the column decreased. This was due to an improvement of the separation efficiency, shown as an increase in theoretical number of sample compounds. The increase in the flow rate of the mobile phase caused a decrease in the stationary phase volume. However, the resolution did not depend on the flow rate in the range studied. This may be interpreted in terms of relatively high distribution ratios of the inorganic anions used in this study. Separation of some inorganic anions and that of chromium(III) ion and chromate(VI) ion were easily accomplished by HSCCC with PEG#1000-16.7%(w/w) Na₂SO₄ aqueous biphasic system.

Keywords : high-speed countercurrent chromatography; aqueous biphasic system; inorganic ions; optimization.

1 緒 言

高速向流クロマトグラフィー (high-speed countercurrent chromatography, HSCCC) は強い遠心力とアルキメデスのスクリュウ効果によってカラム内に液体を固定し、その液体と混和しない他の液体を送液することにより、二相間での分配平衡を利用して分離を行うシステムである¹⁾。充填剤を用いないので、溶質の充填剤表面への不可

¹ 日本大学生産工学部応用分子化学科: 275-8575 千葉県習志野市泉町 1-2-1

² 日本大学生産工学部教養・基礎科学系: 275-8576 千葉県習志野市新栄 2-11-1
現在所属

³ ジーエルサイエンス株式会社販売推進部カスタマーサポートセンター: 358-0032 埼玉県入間市狭山ヶ原 237-2

⁴ マイルストーンゼネラル株式会社カスタマーサービス: 213-0012 川崎市高津区坂戸 3-2-1 KSP R&D A201

逆的な吸着による損失がないほか、通常の高速度液体クロマトグラフィー (HPLC) と比べて大量の試料を導入できるという利点を持つ。また、HSCCC における試料成分の分離条件を設定する際に液液抽出で得られた分配係数を利用することができるという特長も有している。HSCCC は多くの場合、タンパク質などの分離・分取に用いられているが、近年金属イオンの高感度、高精度分析のための前処理法のひとつとしても有用であることが報告されている²⁾。

一方、HSCCC に用いられている二相系のほとんどは有機溶媒-水系である。これは通常の有機溶媒は粘性が低いため移動相流量を大きくできること、有機溶媒と水の密度が一般に大きく異なるため分相しやすいこと、現在までに蓄積した膨大な液液抽出の分配係数値に基づいて有機溶媒や抽出試薬の選択ができることが理由として挙げられる。しかし、環境問題に対する意識が高まるに従って有機溶媒を用いない環境への負荷が小さい二相系の使用が求められている。

水性二相抽出法は、2種類の水溶性高分子、又は1種類の高分子と無機塩及び水から構成される二相系を利用する抽出法で、有機溶媒-水系と比べて毒性が低く、タンパク質の変性が生じにくいという特長をもち、現在、種々の生理活性物質の分離手法として利用されている³⁾⁴⁾。この点に着目し、水性二相系を HSCCC に導入する試みは既に行われており、Ito らはポリエチレングリコール (PEG)-リン酸カリウム系や PEG-デキストラン系を用いてタンパク質を分離する様々な HSCCC 装置を構築した^{5)~8)}。これまでにヒストンや血清タンパク質を含む生理活性タンパク質⁹⁾、組換えウリジンホスホリラーゼ¹⁰⁾、ヒトリボタンパク質¹¹⁾、乳酸デヒドロゲナーゼ¹²⁾、鶏の卵白タンパク質¹³⁾、コリンエステラーゼ¹⁴⁾、1本鎖 DNA 結合タンパク質¹⁵⁾、グルコシルトランスフェラーゼ¹⁶⁾などの分離・精製が達成されている。しかし、無機化合物の分離に水性二相系 HSCCC を適用した報告はなされていない。

そこで本研究では、最もよく利用されている水性二相系の一つである PEG-無機電解質水性二相系を用い、無機陰イオンをモデル化合物として、HSCCC の操作条件と分離性能の関係を検討した。また、得られた条件に基づいて無機陰イオンの相互分離及び Cr(III) と Cr(VI) の分離を試みた。

2 実 験

2.1 試 薬

水は、すべてヤマト科学製 AUTOPURE WD500 により精製した超純水を使用した。PEG は関東化学製の PEG#1000 (重量平均分子量 950~1050) と、PEG#4000 (重量平均分子量 2700~3400) を用いた。Na₂SO₄、KSCN は和光純薬製の試薬特級を、KIO₃、KI、KNO₃ は関東化学

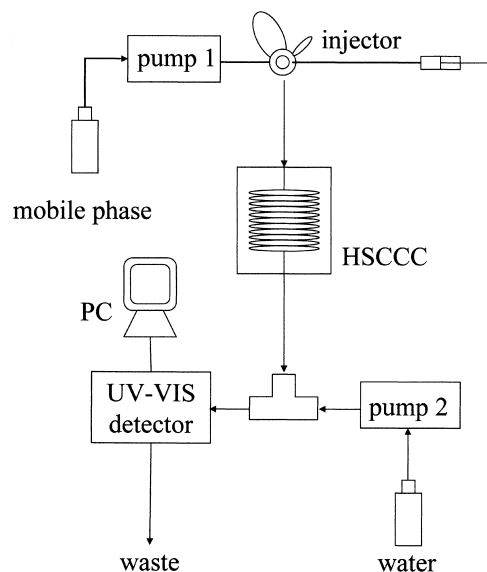


Fig. 1 Schematic diagram of HSCCC system

製の特級を用いた。H₂SO₄ は和光純薬製の精密分析用を用いた。Cr₂(SO₄)₃ と K₂CrO₄ は和光純薬製の試薬特級を用いた。

2.2 装 置

Fig. 1 に装置の概略を示す。HSCCC 装置は東日本セミコンダクタテクノロジーズ製 J 型高速向流クロマトグラフを用い、カラムチューブとして、内径 2 mm、チューブ内容積 60.5 ml のテフロンチューブを用いた。HSCCC ドラム回転部にはファンを取り付けて空冷を行った。移動相送液ポンプ (ポンプ 1) には日立製 L-6200 Intelligent Pump を用い、純水送液ポンプ (ポンプ 2) には日本分光製 880-PU Intelligent HPLC Pump を用いた。検出器には、日本分光製 875-UV Intelligent UV/VIS 検出器を用いた。サンプルループとしては、内容量 1 ml の PEEK 製チューブ (内径 1.9 mm, 外径 2.5 mm) を用いた。また、溶液の pH 測定は堀場製 pH メーター F-22 を用いて行った。

2.3 操 作

2.3.1 状態図の作成 濃度がそれぞれ 50% (w/w) と 20% (w/w) の PEG と Na₂SO₄ のストック溶液を二相に分離可能な所定の濃度になるように混合し、10 ml 目盛り付き遠沈管に入れて 25℃ の恒温水槽中に 1 時間浸した後、10 分間浸とうした。続いて遠心分離を 2000 rpm で 10 分間行い、再び恒温槽水中に浸した。これに水を 0.1 g ずつ加えて同様の操作を行い、一相となる組成を求めて、状態図を作成した。

2.3.2 HSCCC 測定 実験はすべて室温で行った。50% (w/w) PEG, Na₂SO₄, 水を所定量取って混合した後、

500 ml 又は 1000 ml 分液漏斗に入れ, 1 晩静置して上相, 下相をそれぞれビーカーに採取した. 上下各相は MILLI-PORE JHWPO 4700 (0.45 μm) メンブランフィルターを用いて吸引濾過した. その後超音波脱気し, PEG に富む上相を固定相, Na₂SO₄ に富む下相を移動相として用いた.

カラムの平衡化は, カラム内に固定相を満たした後にテフロンチューブ (カラム) を巻き付けたドラムを設定した速度で回転し, 次いで移動相を送液することによって行った. また, 移動相はわずかに固定相を含みエマルションを形成して流出するので, これによるベースラインノイズを防ぐため, ポンプ 2 を用いて純水を送液し, 検出器の前で移動相と合流させてエマルションを溶解消失させた.

KIO₃, KI, KSCN, KNO₃ は純水に溶解し, 濃度を 100 mM とした溶液をストック溶液とした. これを移動相で 1 mM に希釈したものを試料溶液として HSCCC に注入した.

また, Cr₂(SO₄)₃ は 5 mM, K₂CrO₄ は 100 mM に純水を用いて調製した溶液をストック溶液とし, これを移動相で 1 mM に希釈したものを試料溶液とした.

カラム内固定相体積 V_s は, 式 (1) により求めた.

$$V_s = V_l - V_a \quad (1)$$

ここで, V_l は全液相体積, V_a はカラムの平衡化の際に移動相により押し出された固定相液体の体積であり, いずれもメスシリンダーで測定した. V_l は固定相を満たした後, ドラムを回転せずに固定相液体を移動相で押し出し, その体積を測定した.

HSCCC 測定は同一試料について 2 回以上繰り返して行った. 保持体積についての相対標準偏差はいずれも 3% 以下であった.

3 結果及び考察

3.1 無機陰イオンの保持挙動に及ぼす HSCCC 操作条件の影響

HSCCC では用いる二相系の粘性や, ドラムの回転速度, 移動相流量が目的成分の分離に大きく影響する⁶⁾¹⁷⁾¹⁸⁾. 本研究では無機陰イオン (IO₃⁻, I⁻, NO₃⁻, SCN⁻) をモデル化合物として PEG-Na₂SO₄ 水性二相 HSCCC の操作条件, すなわち二相系の組成, ドラムの回転速度, 移動相流量と分離度との関係を検討した. 分離度 R_s は式 (2) により求めた.

$$R_s = 1.18 \times \frac{t_{R2} - t_{R1}}{W_{0.5h1} + W_{0.5h2}} \quad (2)$$

ここで, t_R は保持時間, $W_{0.5h}$ はピーク半値幅である.

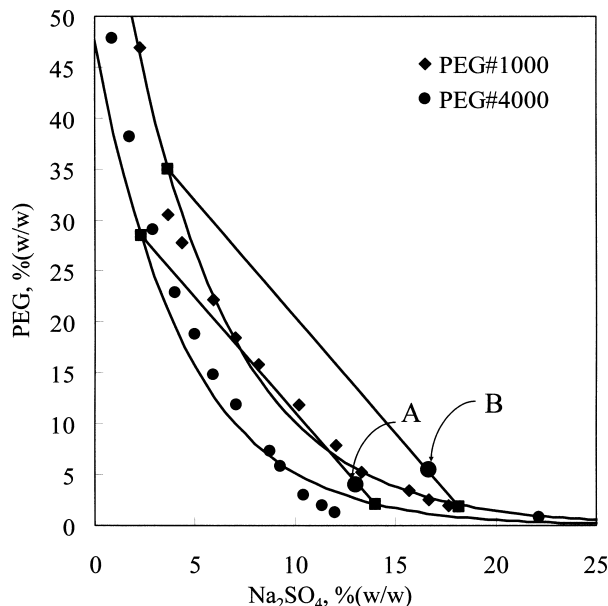


Fig. 2 Phase diagrams for PEG-Na₂SO₄ aqueous biphasic systems

Total composition of the aqueous biphasic system used in the HSCCC system: (A) 4.0% (w/w) PEG#4000-13.0% (w/w) Na₂SO₄, (B) 5.4% (w/w) PEG#1000-16.7% (w/w) Na₂SO₄

3.1.1 相組成の影響 Shibukawa らは, 水性二相抽出における無機陰イオンの分配挙動に及ぼす PEG-Na₂SO₄ 水性二相系の組成の影響について検討を行い, 総組成, すなわち PEG, Na₂SO₄, 水の 3 成分の質量百分率が等しい系どうして比較すると, PEG の分子量が大きいほど式 (3) で示される無機陰イオンの分配比 D の差が大きくなることを報告した¹⁷⁾.

$$D = \frac{\text{上相中に含まれる試料成分の濃度}}{\text{下相中に含まれる試料成分の濃度}} \quad (3)$$

また, 同一の PEG-無機電解質二相系では, 上下相における PEG の濃度差が大きいほど無機陰イオンの分配比の差が大きくなることも明らかにした. そこで, 平均分子量の異なる PEG#1000 又は PEG#4000 と Na₂SO₄ とから成る水性二相系を用い, HSCCC における無機陰イオンの保持を調べた. Fig. 2 に本研究で用いた PEG#1000-Na₂SO₄ 及び PEG#4000-Na₂SO₄ 水性二相系の状態図を示す. 当然のことながら, 無機陰イオンどうしの分離は分配比の差が大きいかほど容易になるため, PEG の分子量と濃度を大きくするほど, 分離度が大きくなると期待される. しかし, PEG の分子量と濃度を増加させると, 固定相として用いる PEG 相の粘性が大きくなり, それに伴ってカラム背圧

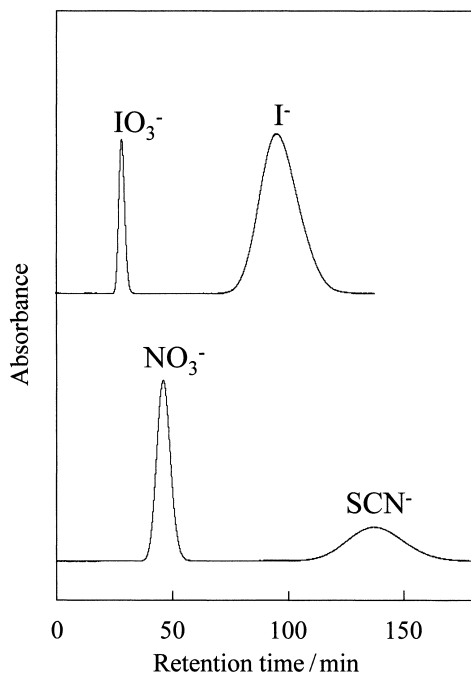


Fig. 3 Separation of inorganic anions by J coil planet centrifuge HSCCC

Total composition of the aqueous biphasic system: 5.4%(w/w) PEG#1000-16.7%(w/w) Na₂SO₄ (B in Fig. 2); Mobile phase: lower phase; Flow rate: 2.0 ml/min; Revolution speed: 1000 rpm; Detection wavelength: 220 nm

が大きくなった。種々検討した結果、Fig. 2中の点Aと点Bで示した総組成で二相系を形成し、これを用いることとした。二相系Aの組成はPEG#4000が4.0%(w/w)、Na₂SO₄が13.0%(w/w)であり、上相のPEG濃度は30%(w/w)である。二相系Bの組成はPEG#1000が5.4%(w/w)、Na₂SO₄が16.7%(w/w)であり、上相のPEG濃度は35%(w/w)である。点Bで示した二相系を用いて得られたIO₃⁻とI⁻及びNO₃⁻とSCN⁻の分離例をFig. 3に示した。

3・1・2 ドラム回転速度の影響 分離度がドラムの回転速度によってどのように変化するかを調べた。回転速度は500, 750, 1000 rpmとした。Fig. 4に二相系AとBを用いたときのIO₃⁻とI⁻の混合物の分離度に及ぼすドラムの回転速度の影響を示す。回転速度が大きくなるに従って分離度は大きくなるのが分かる。一般にこれまでの研究では、HSCCCにおける分離度のドラム回転速度依存性は、固定相保持百分率の変化によるものとされている⁶⁾¹⁸⁾¹⁹⁾。すなわち、分離度と固定相体積とは式(4)で表される関係があり、ドラム回転速度に依存して固定相体積が変化するので、分離度もそれに対応して変化すると説明されている²⁰⁾。

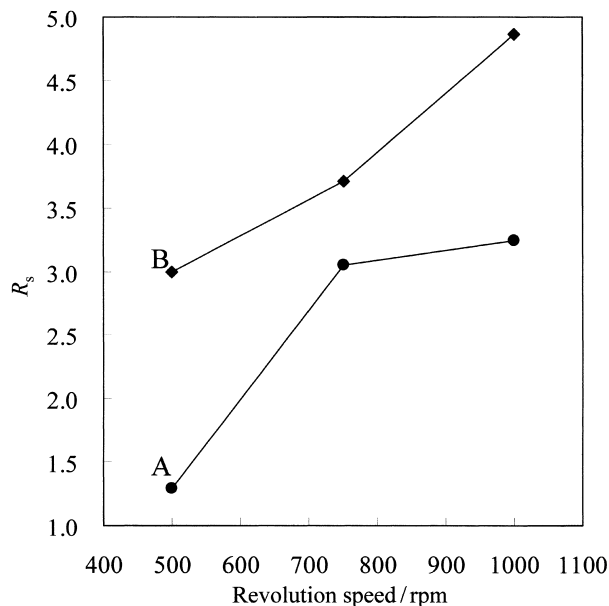


Fig. 4 Dependence of resolution of IO₃⁻ and I⁻ on revolution speed

Total composition of the aqueous biphasic system: (A) 4.0%(w/w) PEG#4000-13.0%(w/w) Na₂SO₄, (B) 5.4%(w/w) PEG#1000-16.7%(w/w) Na₂SO₄; Mobile phase: lower phase; Flow rate: (A) 3.0 ml/min, (B) 3.5 ml/min

$$R_s = \frac{1}{4}(\alpha - 1)N^{1/2} \left(\frac{D_1}{D_1 + V_m/V_s} \right) \quad (4)$$

ここで、 α は分離係数、 N は理論段数、 V_m は移動相体積、 D_1 は成分1の分配比である。

そこで、固定相保持百分率に及ぼすドラム回転速度の影響を調べた。Fig. 5に、二相系Aを用いたときの、流量1.0~3.0 ml/minにおけるドラム回転速度に対する固定相保持百分率の依存性を示す。ドラム回転速度と流量が大きくなると固定相の体積が減少することが分かる。式(4)は固定相保持百分率が大きいほど分離度が大きくなることを示している。したがって、Fig. 5の結果は、固定相保持百分率と分離度の関係に基づいてFig. 4に示した結果を説明できないことを示している。

そこで次に試料陰イオンの理論段数を検討した。Table 1にI⁻の理論段数 N のドラム回転速度依存性を示す。この表から、回転速度が大きいほど理論段数が大きくなっていることが分かる。このことは、ドラム回転速度が大きいほど固定相保持百分率が減少するが、その一方で理論段数が増加し、後者の効果が大きいいため、分離度が大きくなったことを示している。カラム内では固定相と移動相が分相とかくはんを繰り返している。回転速度が大きくなるに従ってこの回数が多くなるとともに、かくはんが激しくなる

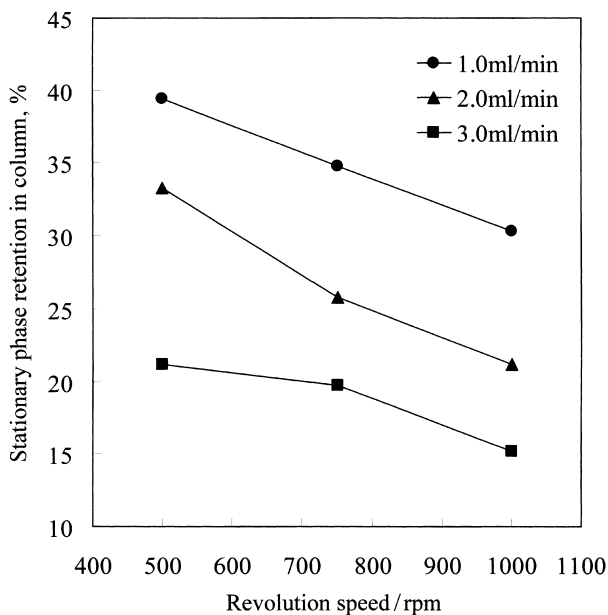


Fig. 5 Dependence of the stationary phase volume on revolution speed

Total composition of the aqueous biphasic system: A 4.0% (w/w) PEG#4000-13.0% (w/w) Na₂SO₄; Mobile phase: lower phase

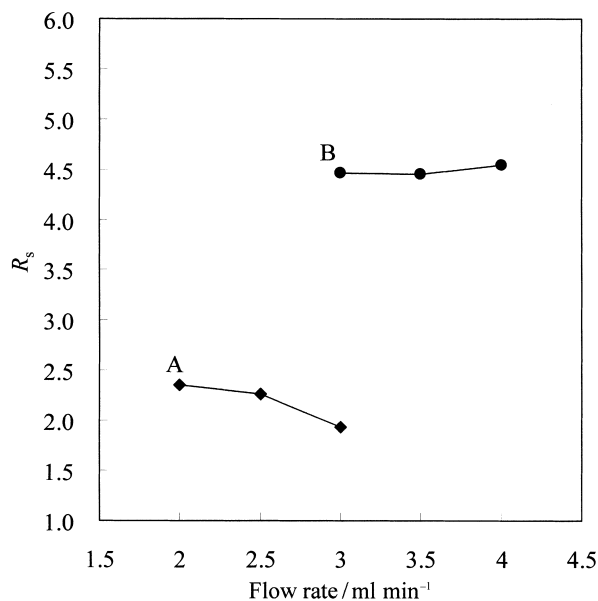


Fig. 6 Dependence of resolution of IO₃⁻ and I⁻ on flow rate

Total composition of the aqueous biphasic system: (A) 4.0% (w/w) PEG#4000-13.0% (w/w) Na₂SO₄; (B) 5.4% (w/w) PEG#1000-16.7% (w/w) Na₂SO₄; Mobile phase: lower phase; Revolution speed: 1000 rpm

Table 1 Theoretical plate number of I⁻ obtained by J coil planet centrifuge HSCCC

Composition	Revolution speed/rpm		
	500	750	1000
A ^{a)}	82	134	193
B ^{a)}	76	137	316

a) Total composition of aqueous biphasic systems: A—4.0% (w/w) PEG#4000-13.0% (w/w) Na₂SO₄, B—5.4% (w/w) PEG#1000-16.7% (w/w) Na₂SO₄; Flow rate: A—3.0 ml/min, B—3.5 ml/min

ことにより液滴のサイズが小さくなり、二相間の物質移動速度が大きくなって理論段数が増加したと推測される。

3・1・3 移動相流量の影響 分離度に及ぼす移動相流量の影響を調べた。移動相流量は二相系 A を用いた場合は 2.0~3.0 ml/min とし、二相系 B を用いた場合は 3.0~4.0 ml/min とした。それ以上の流量ではテフロンチューブ (カラム) が破裂した。経験的に得られたカラムの圧力限界は 45 kgf/cm² であった。Fig. 6 に移動相流量に対する IO₃⁻ と I⁻ の混合物の分離度の依存性を示す。Fig. 5 に示したように、固定相保持百分率は流量が大きくなると減少するにもかかわらず、各二相系とも流量に対する分離度の明らかな依存性は認められなかった。また、理論段数も実験を行った範囲で流量依存性は認められなかった。この結果は、I⁻ イオンの分配比が比較的大きいので、分離度に

及ぼす固定相保持百分率の影響が大きく現れなかったためではないかと推測される。

3・2 Cr(III)とCr(VI)の分離

カラムにかかる圧力、分析時間、分離度を考慮し、二相系 B を用いて、回転速度を 1000 rpm、流量を 3.5 ml/min に設定して Cr(III)と Cr(VI)の分離を試みた。なお、二相系は、硫酸を添加して pH 3.0 に調整した。Cr(III)と Cr(VI)の混合物を試料として得られたクロマトグラムを Fig. 7 に示す。両者はバッチ法による水性二相抽出で分離できるほど大きな分配比の差がないが、HSCCC を用いることにより完全に相互分離していることが分かる。

4 結 言

PEG-Na₂SO₄ 系 HSCCC における無機陰イオンの分離に及ぼす水性二相系の組成とその操作条件、すなわちドラムの回転速度と移動相流量の影響を検討した。用いる PEG の分子量が大きいほど、またその濃度が高いほど、無機陰イオンの分配比の差は大きくなるが、PEG の分子量と濃度の増加は溶液の粘性の増加をもたらし、カラム背圧が高くなって流量が制限されるという問題を生じた。このため、分離と溶液の粘性に関して適切な組成の二相系をあらかじめ検討して、総組成を設定する必要がある。

分離度はドラムの回転速度が大きいほど大きくなった。

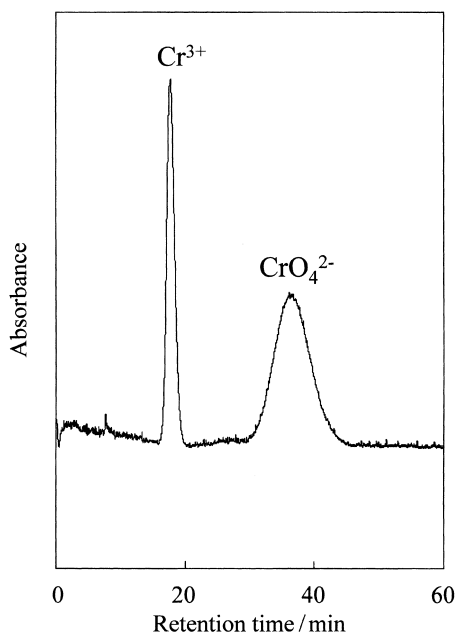


Fig. 7 Separation of Cr(III) and Cr(VI) by J coil planet centrifuge HSCCC

Total composition of the aqueous biphasic system: 5.4%(w/w) PEG#1000-16.7%(w/w) Na_2SO_4 (B in Fig. 2); Mobile phase: lower phase; Flow rate: 3.5 ml/min; Revolution speed: 1000 rpm; Detection wavelength: 220 nm

一方、移動相流量は分離度に大きな影響を与えなかった。一般に HSCCC の分離度に及ぼすドラム回転速度や流量の影響は、固定相保持百分率の変化に基づいて説明されているが、本研究により得られた結果は固定相保持百分率の変化では説明することができない。これに対して、理論段数を測定したところ、回転速度の増加とともに理論段数が大きくなったのに対して、移動相流量は大きくなるほど固定相保持百分率は減少したが、移動相流量に対する理論段数の依存性は認められなかった。このことは、ドラム回転速度及び移動相流量と分離度の関係は、理論段数の変化に基づいて説明できることを示している。すなわち、本研究で用いた系では、固定相保持百分率よりも理論段数のほうが分離度に大きな影響を及ぼすことが明らかになった。

得られた結果に基づいて最適条件を設定し、Cr(III)とCr(VI)の分離を試みたところ、良好な分離結果が得られた。この結果は、水性二相 HSCCC が無機化合物の分離にも有用であることを示している。

本研究の一部は、文部科学省より文部科学省科学研究費補助金(課題番号 14540563)及びハイテク・リサーチセンター整備事業の助成を受けて行った。記して謝意を表する。

(2002年5月, 第63回分析化学討論会において一部発表)

文 献

- 1) Y. Ito: "Principles, Apparatus and Methodology of High-Speed Countercurrent Chromatography" in "High-Speed Countercurrent Chromatography", Edited by Y. Ito, W. D. Conway, p. 3 (1995), (J. Wiley & Sons, New York).
- 2) E. Kitazume: "Separation of Rare Earth and Certain Inorganic Elements by High-Speed Countercurrent Chromatography" in "High-Speed Countercurrent Chromatography", Edited by Y. Ito, W. D. Conway, p. 415 (1995), (J. Wiley & Sons, New York).
- 3) B. Y. Zaslavsky: *Anal. Chem.*, **64**, 765A (1992).
- 4) R. D. Rogers, M. A. Eiteman (Ed.): "Aqueous Biphasic Separations, Biomolecules to Metal ions", (1995), (Plenum Press, New York).
- 5) Y. Ito, E. Kitazume, M. Bhatnagar, F. D. Trimble: *J. Chromatogr.*, **538**, 59 (1991).
- 6) Y. Shibusawa, Y. Ito: *J. Chromatogr.*, **550**, 695 (1991).
- 7) Y. Shibusawa, Y. Ito: *Prep. Biochem. Biotechnol.*, **28**, 99 (1998).
- 8) K. Shinomiya, Y. Kabasawa, K. Yanagidaira, H. Sasaki, M. Minoru, T. Okada, Y. Ito: *J. Chromatogr. A*, **1005**, 103 (2003).
- 9) Y. Shibusawa, Y. Ito: *J. Liq. Chromatogr.*, **15**, 2787 (1992).
- 10) Y. W. Lee, Y. Shibusawa, F. T. Chen, J. Myers, J. M. Schooler, Y. Ito: *J. Liq. Chromatogr.*, **15**, 2831 (1992).
- 11) Y. Shibusawa: *J. Chromatogr. B*, **699**, 419 (1997).
- 12) Y. Shibusawa, N. Misu, H. Shindo, Y. Ito: *J. Chromatogr. B*, **776**, 183 (2002).
- 13) Y. Shibusawa, S. Kihira, Y. Ito: *J. Chromatogr. B*, **709**, 301 (1998).
- 14) Y. Shibusawa, T. Hosojima, M. Nakata, H. Shindo, Y. Ito: *J. Liq. Chromatogr. Related Technol.*, **24**, 1733 (2001).
- 15) Y. Shibusawa, T. Kinebuchi, M. Shimizu, H. Shindo, Y. Ito: *J. Chromatogr. B*, **793**, 275 (2003).
- 16) A. Yanagida, M. Isozaki, Y. Shibusawa, H. Shindo, Y. Ito: *J. Chromatogr. B*, **805**, 155 (2004).
- 17) M. Shibukawa, K. Matuura, Y. Shinozuka, S. Mizuno, K. Oguma: *Anal. Sci.*, **16**, 1039 (2000).
- 18) K. Shinomiya, J.-M. Menet, H. M. Fales, Y. Ito: *J. Chromatogr.*, **644**, 215 (1993).
- 19) J.-M. Menet, K. Shinomiya, Y. Ito: *J. Chromatogr.*, **644**, 239 (1993).
- 20) A. P. Foucault: *Anal. Chem.*, **63**, 569A (1991).

要 旨

本研究では, 水性二相系高速向流クロマトグラフィー (HSCCC) による無機化合物の分離を目的として, 操作条件と分離性能の関係を検討した. HSCCC 装置としては J 型コイルプラネット向流クロマトグラフ, 水性二相系としてはポリエチレングリコール (PEG)- Na_2SO_4 系を用い, 無機陰イオン (IO_3^- , I^- , NO_3^- , SCN^-) をモデル化合物として, 二相系の組成, ドラムの回転速度及び移動相流量と分離度の関係を検討した. その結果, カラムを巻き付けたドラムの回転速度が大きいほど固定相保持百分率が減少したが, それにもかかわらず分離度は大きくなるという現象が観測された. 理論段数を測定したところ, 分離度の増加はほぼ理論段数の増加で説明できることが明らかになった. これは, 回転速度の増加に伴って二相のかくはんが激しくなり, 液滴が小さくなることによるものと推測される. 一方, 移動相流量は分離効率に大きな影響を与えなかった. 得られた結果に基づいて最適条件を設定し, Cr(III)と Cr(VI)の分離を試みたところ良好な分離結果が得られた.