

塩中の主成分イオンの超高感度同時機器分析法の開発

富士 恵一

神戸大学大学院海事科学研究科

概要 【緒言】昨年度助成研究において、塩中主成分イオンを定量するために、ヒドロキシプロピルメチルセルロース (HPMC) を添加した泳動液及び非接触型電気伝導度検出器 (C⁴D) を用いるキャピラリーゾーン電気泳動法 (CZE) を提案した。市販塩を分析した結果、本法は Na⁺, Cl⁻, SO₄²⁻ を陽イオン、陰イオン別に定量可能であることがわかった。今年度助成研究では、引き続き同様の方法により、主成分イオン濃度の参考値表示のある塩試料を用い、他の成分 (K⁺, Mg²⁺, Ca²⁺) の分離検出状況についても検討した。

【実験】検出法: C⁴D; キャピラリー: 内径 50 μm, 全長 80 cm, 有効長 (試料注入側から検出器までの長さ) 60 cm; 泳動液: 25 mM 2-(N-モルホリノ) エタンスルホン酸 + 25 mM L-ヒスチジン + 2 mM 18-crown-6 + 0.01% m/v HPMC; 試料注入法: 真空吸引法 (50 kPa で 3 秒, 33 nL); 泳動電圧: 20 kV。標準保存溶液 (Na⁺: 500 mg/L, K⁺: 1,000 mg/L, Mg²⁺: 200 mg/L, Ca²⁺: 500 mg/L) は、それぞれ NaCl, KCl, MgCl₂·6H₂O, CaCl₂ より調製し、Cl⁻, SO₄²⁻ 標準保存溶液 (Cl⁻: 1,000 mg/L, SO₄²⁻-S: 250 mg/L) は、それぞれ NaCl, Na₂SO₄ より調製した。まず、陽、陰イオンを個別に分析し、検量線を作成した。ついで、再現性 (RSD, %), 検出限界 (LOD, S/N=3), 定量限界 (LOQ, S/N=10) を求めた。さらに、参考値表示のある塩試料 (4 種類) を本法により分析した。

【結果と考察】ピーク面積を用いた場合、主成分イオンについて直線性の良い検量線が得られた (回帰式の相関係数は、0.9975–1.000)。泳動時間、ピーク面積、ピーク高さの日内 RSD (n=5) は、それぞれ、0.25–0.62%, 0.79–5.3%, 0.31–4.3% であり、再現性の良い結果が得られた。LOD 及び LOQ は、それぞれ、Na⁺: 0.11 及び 0.36 mg/L, K⁺: 0.012 及び 0.040 mg/L, Mg²⁺: 0.028 及び 0.093 mg/L, Ca²⁺: 0.014 及び 0.047 mg/L, Cl⁻: 0.11 及び 0.36 mg/L, SO₄²⁻-S: 0.015 及び 0.050 mg/L であった。塩試料を分析したところ、Na⁺, Cl⁻ について感度は十分であるが、正確さの改善が必要であった。K⁺, Ca²⁺, SO₄²⁻ については、検出されたが、感度の改善が必要であった。Mg²⁺ については、Na⁺ から分離検出できなかった。今後、以上の課題を解決するために、泳動液の種類及び試料注入法として電氣的注入法について検討し、CZE による塩中主成分イオンの高感度同時定量法を確立したい。

1. 研究目的

塩は製法、原料により主成分イオン (Na⁺, K⁺, Mg²⁺, Ca²⁺, Cl⁻, SO₄²⁻) 濃度が異なるため、品質保証・表示の観点から、これら濃度を明らかにする必要がある⁽¹⁾。主成分イオンは、現在、含まれるイオン濃度に応じて、容量法 (Cl⁻, Mg²⁺, Ca²⁺)、イオンクロマトグラフィー (SO₄²⁻)、ICP 発光分光分析法 (Mg²⁺, Ca²⁺)、炎光光度法 (K⁺) により個別に定量されている。また、塩化ナトリウム濃度は計算により求められている (結合計算法)⁽²⁾。しかし、さらに分析の効

率を上げるためのスクリーニング法として、あるいは、原料海水やかん水分析法として、これら陽イオン、陰イオンの同時定量法を開発することは意義あることと考える。

我々は、昨年度助成研究において、塩中主成分イオンを定量するために、ヒドロキシプロピルメチルセルロース (hydroxypropyl methylcellulose, HPMC) を添加した泳動液 (background electrolyte, BGE) 及び非接触型電気伝導度検出器 (capacitively coupled contactless conductivity detector, C⁴D) を用いるキャピラリーゾーン電気泳動法

(capillary zone electrophoresis, CZE) (CZE- C⁴D)を提案した。市販塩を分析した結果、本法は Na⁺, Cl⁻, SO₄²⁻を陽イオン、陰イオン別に定量可能であることがわかった。今年度助成研究では、引き続き同様の方法により、主成分イオン濃度の参考値表示のある塩試料を用い、他の成分 (K⁺, Mg²⁺, Ca²⁺) の分離検出状況についても検討した。なお、塩試料中陽イオンについては、間接吸光法 (Na⁺, K⁺, Mg²⁺, Ca²⁺ のように紫外-可視部に吸収を持たない成分を検出するために、吸収を有する成分を含む BGE を用い、分析目的成分を間接的に検出する方法、Indirect Detection (ID)) による CZE (CZE-ID) でも定量を試みた。

2. 研究方法

2.1 装置

装置として、C⁴D (Innovative Sensor Technologies, Strasshof, Austria) 製 TraceDec を備えた大塚電子 (Otsuka Electronics, Osaka, Japan) 製キャピラリー電気泳動装置 CAPI-3300 を用いた。キャピラリーはジーエルサイエンス (GL Sciences, Tokyo, Japan) 製フューズドシリカ管 (内径 50 μm, 外径 375 μm, 全長 (L_{tot}) 80 cm, 有効長 (キャピラリーの試料注入端から検出器までの長さ, L_{det}) 60 cm) である。間接吸光法の場合には、紫外-可視吸光検出器を備えたパーキンエルマー (PerkinElmer, Foster City, CA, USA) 製キャピラリー電気泳動装置 270A-HT を用いた。キャピラリーの内径 75 μm, 外径 375 μm, 全長 72 cm, 有効長 50 cm である。データ処理には、日立 (Hitachi, Tokyo, Japan) 製 D-2500 クロマトインテグレーターを使用した。pH 測定には、堀場 (Horiba, Kyoto, Japan) 製カスターニー-LAB pH メーター F-22 を使用した。今回、主として用いた試料注入法は、試料バイアルの反対側 BGE バイアルを真空状態に保ち、真空状態を保つ時間により試料注入量を調整する真空吸引法 (vacuum injection, VI) である。なお、感度改善及び陽イオン、陰イオンの同時定量のために有用性が期待される電氣的注入法 (試料バイアルの反対側 BGE バイアルの電極極性を分析目的成分と反対の極性にし、両電極間に電圧を印加し、その電圧の大きさ及び印加する時間により試料注入量を調整する方法、electrokinetic injection, EKI) についても若干、検討した。

2.2 試薬

試薬はすべて特級品を用いた。2-(*N*-モルホリノ)エタン

スルホン酸 (2-(*N*-morpholino)ethanesulfonic acid, MES) 及び *L*-ヒスチジン (*L*-histidine, HIS) はナカライテスク (Nacalai Tesque, Kyoto, Japan) から購入した。K⁺ と NH₄⁺ とを分離するために BGE に添加した 18-クラウン-6 (18-crown-6) 及び電気浸透流 (electroosmotic flow, EOF) を抑制するために BGE に添加した HPMC は Sigma-Aldrich (Milwaukee, WI, USA) から入手した。CZE-ID において、間接吸収試薬として用いた *N*-メチルベンジルアミン (*N*-methylbenzylamine), BGE の pH 調整に用いた 2-エチル-*n*-酪酸 (2-ethyl-*n*-butyric acid) は東京化成工業 (Tokyo Kasei Kogyo, Tokyo, Japan), クエン酸一水和物 (citric acid monohydrate) はナカライテスクから購入した。標準保存溶液 (Na⁺: 500 mg/L, K⁺: 1,000 mg/L, Mg²⁺: 200 mg/L, Ca²⁺: 500 mg/L) は、それぞれ NaCl (ナカライテスク), KCl (ナカライテスク), MgCl₂·6H₂O (ナカライテスク), CaCl₂ (ナカライテスク) より調製し、Cl⁻, SO₄²⁻ 標準保存溶液 (Cl⁻: 1,000 mg/L, SO₄²⁻-S: 250 mg/L) は、それぞれ NaCl (ナカライテスク), Na₂SO₄ (ナカライテスク) より調製した。これら保存溶液を適宜、希釈して分析用標準溶液とした。溶液調製の際に使用した純水は、ヤマト科学 (Yamato Kagaku, Tokyo, Japan) 製 WG220 型純水製造装置及びメルクミリポア (Merck Millipore, Tokyo, Japan) 製 Simpli Lab 超純水製造装置により得られたものである。なお、BGE, 標準溶液, 塩試料溶液は使用する前に 0.45 μm のアドバンテック (Advantec Toyo Kaisha, Tokyo, Japan) 製メンブランフィルターで濾過した。

2.3 塩試料及び分析用試料調製法

主成分イオン濃度参考値が示された 4 種類の塩試料を入手した。正確に 0.1 g を 100 mL メスフラスコに量りとり、水を加えて溶解し、標線を合わせた。この溶液 10 mL を 100 mL メスフラスコにとり、水を加えて希釈し (0.1 g/L), 分析用試料とした。

2.4 定量操作法

塩試料は、CZE-C⁴D の場合には、以下の操作法により分析した。まず、恒温槽温度を 25°C に設定した。新しいキャピラリーの場合には、1 mol/L NaOH で 30 分、水で 30 分、BGE で 10 分洗浄した。次いで、BGE (0.01% m/v HPMC を添加した, 25 mmol/L MES, 25 mmol/L HIS, 2 mmol/L 18-crown-6 の混合溶液) をキャピラリーに 4 分充填した。試料を VI (50 kPa) により 3 秒 (約 33 nL) 注入し、陽

イオン分析の場合には試料注入側を陽極、陰イオン分析の場合には試料注入側を陰極として 20 kV の電圧を印加した。なお、C⁴D における設定値は、Frequency: HIGH, Voltage: -6 dB, Gain: 50%とした。

CZE-ID の場合には、以下の操作法により、今回は、陽イオンのみを定量した。まず、検出器の波長を 214 nm, 恒温槽温度を 30 °C に設定した。新しいキャピラリーの場合には、1 mol/L NaOH で 40 分、水で 10 分洗浄した。次いで、BGE (10 mmol/L *N*-メチルベンジルアミン, 0.4 mmol/L クエン酸一水和物, 3 mmol/L 18-クラウン-6 の混合溶液の pH を 2-エチル-*n*-酪酸で 4.8 に調整した溶液) をキャピラリーに 3 分充填した。なお、この BGE は、我々が以前開発した BGE の組成⁽³⁾を少し修正したものである。試料を VI (16.9 kPa) により 3 秒(約 63 nL) 注入し、試料注入側を陽

極として 20 kV 印加した。なお陰イオンについては、今回、分析しなかったが、陰イオン分析用 BGE を用いれば、間接吸光法により定量可能である。

3 実験及び結果

3.1 検量線

Na⁺ (0, 10, 20, 30, 40, 50 mg/L), K⁺ (0, 0.05, 0.1, 0.15, 0.2, 0.25 mg/L), Mg²⁺ (0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mg/L), Ca²⁺ (0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 mg/L), Cl⁻ (0, 20, 40, 60, 80, 100 mg/L), SO₄²⁻-S (0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mg/L) 溶液を調製し、主成分イオンごとに分析し、検量線を作成した。これら検量線を **Figure 1** に示す。Na⁺, K⁺, Mg²⁺, Ca²⁺, Cl⁻, SO₄²⁻-S の検量線の回帰式は、ピーク面

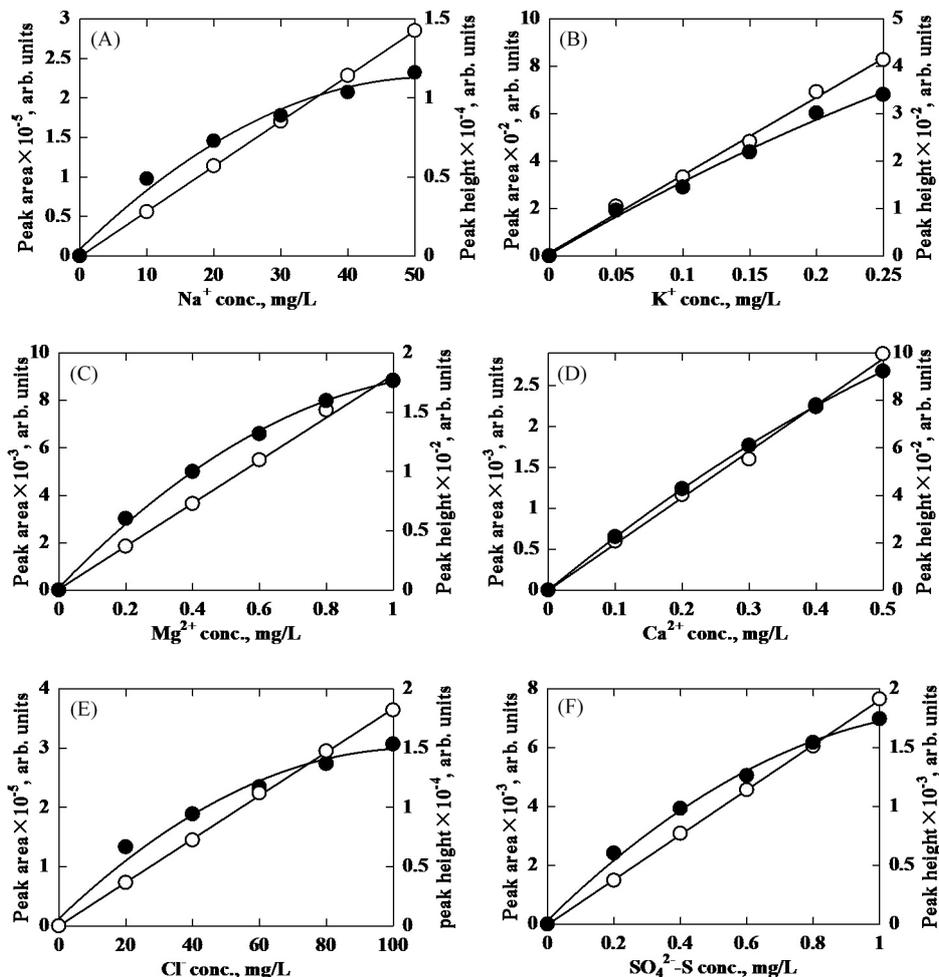


Figure 1. Calibration graphs for Na⁺ (A), K⁺ (B), Mg²⁺ (C), Ca²⁺ (D), Cl⁻ (E), and SO₄²⁻ (F) using CZE-C⁴D. (○) Peak area and (●) peak height. Electrophoretic conditions: capillary, $L_{tot} = 80$ cm, $L_{det} = 60$ cm, 50 μ m id \times 375 μ m od; BGE, a mixture of 25 mmol/L MES, 25 mmol/L HIS, 2 mmol/L 18-crown-6, and 0.01% m/v HPMC; voltage, 20 kV with the sample inlet side as the anode for cations and as the cathode for anions; detection, CCD. Sample, standard solutions; vacuum (50 kPa) injection period, 3 s (33 nL).

積を用いた場合、それぞれ、 $y=5.71 \times 10^3 x - 5.64 \times 10^2$ (x :濃度, y :ピーク面積, 相関係数 $r=1.000$), $y=3.28 \times 10^3 x + 1.41 \times 10$ ($r=0.9975$), $y=9.04 \times 10^3 x + 4.82 \times 10$ ($r=0.9986$), $y=5.66 \times 10^3 x + 7.62 \times 10^{-1}$ ($r=0.9986$), $y=3.66 \times 10^3 x + 3.45 \times 10^2$ ($r=0.9998$), $y=7.62 \times 10^3 x - 9.62$ ($r=0.9999$)であった。また、ピーク高さを用いた場合、それぞれ、 $y=-4.00x^2 + 4.12 \times 10^2 x + 4.33 \times 10^2$ (x :濃度, y :ピーク高さ, $r=0.9939$), $y=-1.09 \times 10^3 x + 1.64 \times 10^3 x + 3.75$ ($r=0.9966$), $y=-1.18 \times 10^3 x^2 + 2.91 \times 10^3 x + 2.35 \times 10$ ($r=0.9992$), $y=-9.61 x^2 + 2.33 \times 10^3 x + 5.00 \times 10^{-1}$ ($r=1.000$), $y=-1.26 x^2 + 2.69 \times 10^2 x + 6.44 \times 10^2$ ($r=0.9925$), $y=-1.07 \times 10^3 x^2 + 2.76 \times 10^3 x + 3.52 \times 10$ ($r=0.9982$)であった。ピーク面積を用いた場合、すべての主成分イオンについて、直線性の良い検量線が得られた。一方、ピーク高さを用いた場合、二次曲線となり、濃度が高いイオンほど曲線的になる傾向が見られた。

3. 2 再現性と感度

再現性(relative standard deviation, RSD, %)について

検討したところ、泳動時間(migration time), ピーク面積(peak area), ピーク高さ(peak height)の日内RSD(連続して5回分析)は、それぞれ、 Na^+ (30 mg/L, 0.33, 1.1, 0.64%), K^+ (0.2 mg/L, 0.62, 3.9, 1.4%), Mg^{2+} (0.6 mg/L, 0.43, 0.79, 0.44%), Ca^{2+} (0.3 mg/L, 0.59, 1.5, 0.42%), Cl^- (60 mg/L, 0.33, 0.93, 0.31%), $\text{SO}_4^{2-}\text{-S}$ (0.4 mg/L, 0.25, 5.3, 4.0%)であり、再現性の良い結果が得られた。検出限界(limit of detection, LOD, $S/N=3$)は、 Na^+ :0.11 mg/L, K^+ :0.012 mg/L, Mg^{2+} :0.028 mg/L, Ca^{2+} :0.014 mg/L, Cl^- :0.11 mg/L, $\text{SO}_4^{2-}\text{-S}$:0.015 mg/L であり、定量限界(determination limit, LOQ, $S/N=10$)は、 Na^+ :0.36 mg/L, K^+ :0.040 mg/L, Mg^{2+} :0.093 mg/L, Ca^{2+} :0.047 mg/L, Cl^- :0.36 mg/L, $\text{SO}_4^{2-}\text{-S}$:0.050 mg/L であった。

3. 3 塩試料の分析(CZE-C⁴D)

参考値表示のある塩試料(4種類)を本法により分析した。定量結果(CZE-C⁴D)を参考値(Reference)とともにTable 1に示す。Figure 2Aは、試料C中陽イオンを分析した際のエレクトロフェログラム、Figure 2Bは、陰イオンを

Table 1. Analytical results for principal components in salts (g / 100 g) using CZE-C⁴D^{a)} and CZE-ID^{b)}

Salt	Method	Na ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺	Cl ⁻	SO ₄ ²⁻ -S
A	CZE-C ⁴ D	39.15	0.15	ND	0.065	62.94	0.137
	Reference	39.14	0.10	0.026	0.027	60.57	0.0057
	CZE-ID	42.64	ND	0.047	0.13	-	-
B	CZE-C ⁴ D	44.21	0.107	ND	0.060	62.77	0.143
	Reference	38.53	0.086	0.081	0.059	59.80	0.012
	CZE-ID	41.62	ND	0.093	0.13	-	-
C	CZE-C ⁴ D	39.52	0.053	ND	0.106	65.08	0.18
	Reference	39.19	0.015	0.0067	0.041	60.45	0.037
	CZE-ID	41.82	ND	0.019	0.12	-	-
D	CZE-C ⁴ D	39.13	0.096	ND	0.16	63.77	0.33
	Reference	37.41	0.050	0.14	0.16	57.82	0.27
	CZE-ID	40.97	ND	0.16	0.18	-	-

a) Electrophoretic conditions are identical to those in Fig. 1.

b) Electrophoretic conditions: capillary, $L_{\text{tot.}} = 72$ cm, $L_{\text{det.}} = 50$ cm, 75 μm id \times 375 μm od; BGE, a mixture of 10 mmol/L *N*-methylbenzylamine, 0.4 mmol/L citric acid monohydrate, and 3 mmol/L 18-crown-6 adjusted to pH 4.8 with 2-ethyl-*n*-butyric acid; voltage, 20 kV with the sample inlet side as the anode; wavelength for detection, 214 nm. Sample, 0.1 g salt/1 L water; vacuum (16.9 kPa) injection period, 3 s (63 nL). Blue circle, the results obtained using CZE-C⁴D agreed with the reference values; green circle, the results obtained using CZE-ID agreed with the reference values.

分析した際のエレクトロフェログラムである。Na⁺, Cl⁻, SO₄²⁻については、定量するために十分な高さのピークが得られた。また、K⁺, Ca²⁺については、ピーク高さは十分ではないが、検出できた。Mg²⁺については、Na⁺から分離検出できなかった。定量結果を参考値と比較すると、試料 A, C の Na⁺, 試料 B, D の Ca²⁺については、ほぼ一致する定量結果が得られた。その他の主成分イオンについては、かなり異なる結果となった。その原因として、以下の三点が考えられる。一つ目は、塩試料を分析した日と検量線を作成した日が異なる点である。塩試料を分析した日に、各検量線の真ん中付近の濃度の標準溶液を一つ分析し、一点補正により検量線を補正し、補正した検量線により濃度を求めたが、これが誤差の一つの原因となっていることが考えられる。二つ目は、たとえば、SO₄²⁻の場合、検量線作成時の SO₄²⁻標準溶液には SO₄²⁻しか含まれていないが、塩試料溶液中には高濃度の Cl⁻が含まれており、SO₄²⁻の前に大きなピークとして検出される。この Cl⁻が SO₄²⁻のピーク高さに影響している可能性が考えられる。これらについては今後、標準添加法により定量し、確認する予定である。三つ目は、Na⁺, Cl⁻を除き、本法の感度が不十分な点である。3. 2に記載した LOQ と今回分析した塩試料中主成分イオン濃度とを比較すると、Na⁺(LOQ は 0.36 mg/L, 参考値は 37.41–39.19 mg/L)と Cl⁻(LOQ は 0.36 mg/L, 参考値は 57.82–60.57 mg/L)については、本法は十分な感度を有すると考える。しかし、K⁺(LOQ は 0.040 mg/L)については、塩試料のうち 1 種類が LOQ 以下(参考値は 0.015 mg/L), Mg²⁺(LOQ は 0.093 mg/L)は 3 種類が LOQ 以下(参考値は 0.0067, 0.026, 0.081 mg/L), Ca²⁺(LOQ は 0.047 mg/L)は 2 種類が LOQ 以下(参考値は 0.027, 0.041 mg/L), SO₄²⁻-S(LOQ は 0.050 mg/L)は 3 種類が LOQ 以下(参考値は 0.0057, 0.012, 0.037 mg/L)であり、高感度化が必要であることがわかる。今後、Mg²⁺を分離検出できるようにするとともに、本法の感度を改善する必要がある。

3. 4 塩試料の分析(CZE-ID)

3. 3で得られた塩試料の陽イオン定量結果について考察するために、同じ塩試料を間接吸光法により分析した。定量結果(CZE-ID)を Table 1 に示す。Figure 3A は、試料 C 中陽イオンを分析した際のエレクトロフェログラム、Figure 3B は、試料 D 中陽イオンを分析した際のエレクトロフェログラムである。Na⁺については、定量するために十

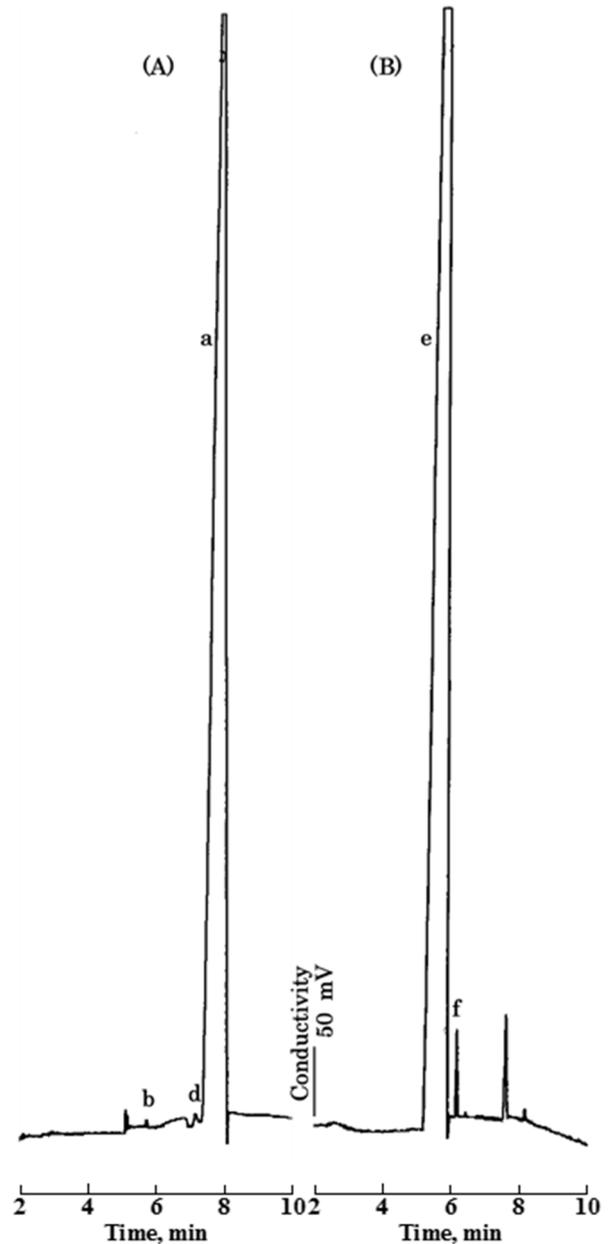


Figure 2. Electropherograms for cations (A) and anions (B) in the salt C in Table 1 using CZE-C⁴D. Identification of peaks: a, Na⁺; b, K⁺; c, Mg²⁺; d, Ca²⁺; e, Cl⁻; f, SO₄²⁻. Electrophoretic conditions are identical to those in Fig. 1.

分な高さのピークが得られた。また、Mg²⁺, Ca²⁺については、ピーク高さは十分ではないが、検出できた。K⁺についてはまったく検出できなかった。定量結果を参考値と比較すると、試料 B, D の Mg²⁺, 試料 D の Ca²⁺については、ほぼ一致する定量結果が得られた。その他の主成分イオンについては、かなり異なる結果となった。この原因とし

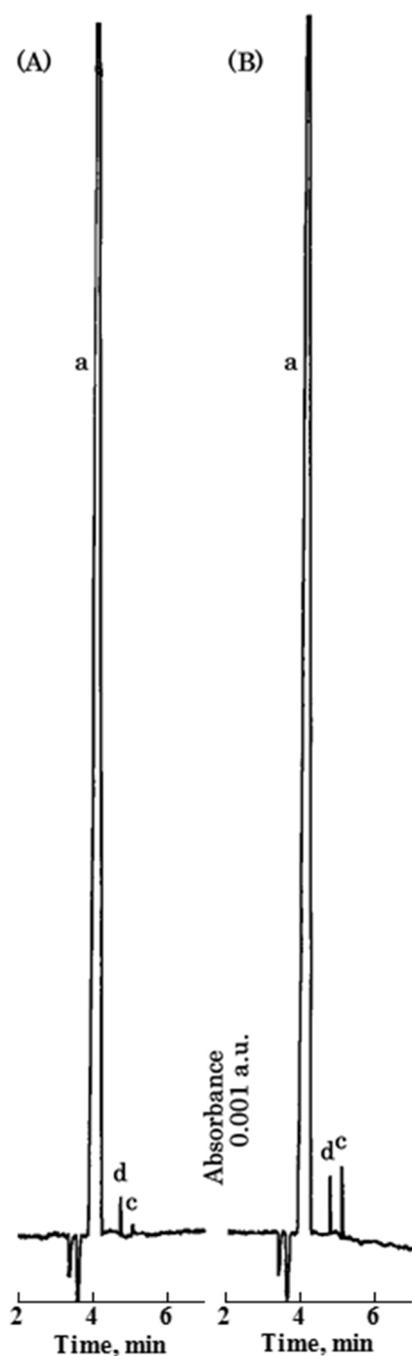


Figure 3. Electropherograms for cations in the salt C (Fig. 3A) and D (Fig. 3B) in Table 1 using CZE-ID. Electrophoretic conditions and identification of peaks are identical to those for b) in Table 1.

て、以下の二点が考えられる。一つ目は、塩試料を分析する際、塩試料中の各成分イオン濃度付近の標準溶液一つを分析し、得られたピーク面積を用い、比例計算により濃度計算を行ったことが誤差の一つの原因となっているこ

とが考えられる。二つ目は、 Na^+ 、 Cl^- を除き、本法の感度が不十分な点である。3. 2に記載したCZE- C^4D のLOQと比較すると、 Na^+ (CZE-IDは0.63 mg/L, CZE- C^4D 0.36 mg/L)については、ほぼ同様の値であり、CZE-IDは十分な感度を有すると考える。しかし、 K^+ (CZE-IDは0.50 mg/L, CZE- C^4D 0.040 mg/L)、 Mg^{2+} (CZE-IDは0.096 mg/L, CZE- C^4D 0.093 mg/L)、 Ca^{2+} (CZE-IDは0.10 mg/L, CZE- C^4D 0.047 mg/L)については、 Mg^{2+} を除き、CZE-IDのLOQは、CZE- C^4D のLOQの約2-10倍であった。すなわち、感度においてはCZE- C^4D のほうが良いことが示された。

3. 5 試料注入法の検討

今までは試料注入法として、VIを用いたが、高感度化及び陽イオン、陰イオン同時定量の可能性が期待されるEKIにより、 Na^+ 及び K^+ の検量線作成を試みた。EKIでは、試料注入側電極を陽極とし、注入電圧1 kV、注入時間1秒とした。Figure 4にこれらの検量線を示す。 Na^+ 及び K^+ とも直線性の良い検量線は得られなかった。EKI時の試料注入量は、以下の式⁴⁾で表される。

$$Q = (\mu_{ep} + \mu_{eo}) \pi r^2 E C t$$

ここで、 μ_{ep} : 分析目的成分の電気泳動移動度、 μ_{eo} : 電気浸透流の移動度、 r : キャピラリーの半径(内側)、 E : 電場の強さ、 C : 分析目的成分の濃度、 t : 注入時間である。この式より、直線性の良い検量線が得られなかった原因として、以下の二点が考えられる。一つ目は、EKI時の電圧が低過ぎ(1 kV)、試料注入に十分な E が得られず、時間も短過ぎた(1秒)ため、分析目的成分が十分な量注入されなかったことが考えられる。二つ目は、試料溶液の電気伝導度が大きく異なる場合、それに応じて E も異なる。たとえば、10 mg/L Na^+ 溶液の電気伝導度は、ごく低濃度 Na^+ 溶液(濃度0に近い側)の電気伝導度より高いため、 E が小さく、注入量は少なめになると予想される。10 mg/L以上では、 E に大きな差がないため、傾きは小さいが比較的、試料濃度に比例したピーク面積が得られたのではないかと考える。一方、 K^+ の場合には、濃度が0.25 mg/L以下と低く、各濃度試料において E に大きな差がないため、 Na^+ の場合より、直線性が見られる検量線が得られたのではないかと考える。

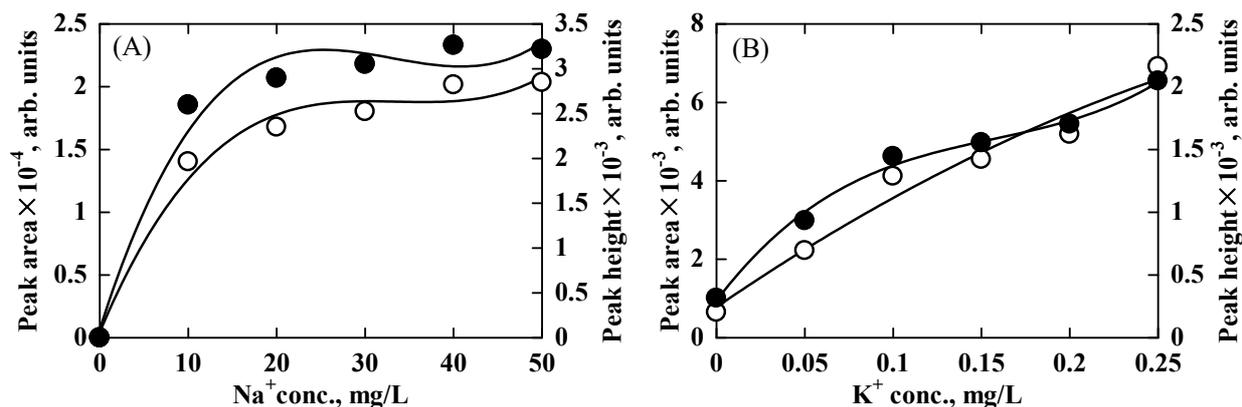


Figure 4. Calibration graphs for Na⁺ (A) and K⁺ (B) using CZE-C⁴D with EKI. Sample, standard solutions; EKI (1 kV for 1 s). Other electrophoretic conditions and symbols are identical to those in Fig. 1.

4. 結 言

CZE-C⁴Dは、塩中主成分イオン(Na⁺, K⁺, Mg²⁺, Ca²⁺, Cl⁻, SO₄²⁻)を陽イオン、陰イオン別に定量するための分析法として、潜在的有用性を有することを明らかにした。今後、次章に示す実験を行うことにより、塩中主成分イオンの高感度同時定量法を確立したい。

本研究を行うにあたり助成頂きました公益財団法人ソルト・サイエンス研究財団及び本実験に協力頂いた本学の堀 昇平学生に感謝申し上げます。

5. 今後の計画

今後、以下のような実験を行う予定である。

- ①Mg²⁺をNa⁺から分離し、検出できるようにする。そのために、現在のBGEにクエン酸等を添加し、Mg²⁺とクエン酸との相互作用を利用し、Mg²⁺の移動度を小さくし、Na⁺と分離する。この場合、Ca²⁺もMg²⁺と同様にクエン酸と相互作用するため、Ca²⁺の移動度も小さくなり、Na⁺との分離の改善が期待される。
- ②K⁺, Mg²⁺, Ca²⁺の感度を改善する。そのために、EKIについて検討する。この際、3.5で述べた、試料溶液の電気伝導度により注入量が異なる問題を解決するために、検量線法ではなく、標準添加法を用いる。
- ③Na⁺, Cl⁻, SO₄²⁻について、正確さを改善する。この場合

も標準添加法の効果について検討する。

- ④以上の検討後、確立された方法により、塩試料中主成分イオンを陽イオン、陰イオンごとに定量する。
- ⑤さらに、陽イオン、陰イオン同時定量について検討する。この際、昨年度の報告書で述べたように、試料注入時、キャピラリー、陰極、試料バイアルが接触し、キャピラリー先端と電極先端との距離が変化することによる注入量変動を防ぐために、陰イオン用試料バイアルとして、長い試料バイアル(長さ59 mm, 上部内径6 mm)ではなく、BGE用バイアル(長さ55 mm, 上部内径16 mm)を用いる(陽イオン用試料バイアルは長さ31 mm, 上部内径6 mm)。

6. 文 献

- 1) 尾方 昇: 日本海水学会誌 (*Bull. Soc. Sea Water Sci., Jpn.*), **57**, 17(2003)。
- 2) 野田 寧: Salt & Seawater Science Seminar 2014, "塩試験方法の変遷と特徴"。
- 3) K. Fukushi, S. Minami, M. Kitakata, M. Nishijima, K. Yokota, S. Takeda, S. -i. Wakida, *Anal. Sci.*, **22**, 1129 (2006)。
- 4) Robert Weinberger: "Practical Capillary Electrophoresis", p. 202 (1993), (Academic Press)。

Highly Sensitive Instrumental Analytical-Method for the Simultaneous Determination of Principal Components in Salts

Keiichi Fukushi

Kobe University

Summary

We investigated a capillary zone electrophoresis (CZE) method with a capacitively contactless conductivity detector (C⁴D) for the determination of major constituents, such as Na⁺, K⁺, Mg²⁺, Ca²⁺, Cl⁻, and SO₄²⁻, in salts. A polyimide-coated fused-silica capillary with 72 cm total length (50 cm effective length) and 75 μm id (375 μm od) was used. Applied voltage was set at 20 kV with the sample inlet side as the anode for cations and the cathode for anions. The background electrolyte (BGE) was a mixture of 25 mM 2-(*N*-morpholino)ethanesulfonic acid (MES), 25 mM L-histidine, 2 mM 18-crown-6, and 0.01% m/v hydroxypropylmethylcellulose (HPMC). A sample was vacuum-injected (50 kPa) into the CZE apparatus for 3 s (33 nL). Linear calibration graphs were obtained using peak area; correlation coefficient, $r = 0.9975$ – 1.000 . The values of the relative standard deviation (RSD, $n = 5$, intra-day) of migration time, peak area, and peak height were, respectively, 0.25–0.62%, 0.79–5.3%, and 0.31–4.3%. The limits of detection (LODs, $S/N = 3$) and the determination limits ($S/N = 10$) were 0.11 and 0.36 mg/L for Na⁺, 0.012 and 0.040 mg/L for K⁺, 0.028 and 0.093 mg/l for Mg²⁺, 0.014 and 0.047 mg/l for Ca²⁺, 0.11 and 0.36 mg/l for Cl⁻, and 0.015 and 0.050 mg/L for SO₄²⁻-S, respectively. The solutions of four kinds of salt (0.1 g/L) were analyzed using the proposed procedure. The LOQs for Na⁺ and Cl⁻ were sufficiently low, but the accuracy should be improved. The peaks for K⁺, Ca²⁺, and SO₄²⁻ were detected, but the LODs and LOQs were required to be improved. The Mg²⁺ peak was not separated from the Na⁺ peak. We intend to examine kinds of BGE and electrokinetic injection (EKI) for a sample solution to solve above problems and then to establish the sensitive CZE method for the simultaneous determination of the principal components in salts.