

塩中のヨウ化物及びヨウ素酸イオン同時定量法の確立

富士 恵一, 堀田 弘樹

神戸大学大学院海事科学研究科

概要

【緒言】著者らは、一時的等速電気泳動をオンライン濃縮法とするキャピラリーゾーン電気泳動法により、塩試料中ヨウ化物(I)およびヨウ素酸イオン(IO_3^-)を同時定量するために、各種分析条件について検討し、市販食塩の分析を試みた。

【実験】キャピラリーは、内径 75 μm 、全長 87.4 cm、有効長(キャピラリーの試料注入端から検出部までの長さ)75 cm であり、泳動液として 25 mM 塩化セチルトリメチルアンモニウム(CTAC)を添加した人工海水を用いた。CTAC は、電気浸透流を反転するとともに、Iの濃縮効果を高めるために、Iの移動度を低下する目的で用いた。試料として 0.15 mg/L Iおよび 0.30 mg/L IO_3^- (Iとして)を添加した 560 mM NaCl 溶液、ターミナルイオン溶液として 500 mM 2-(N-モルホリノ)エタンスルホン酸(pH 6.0)を用い、ターミナルイオン注入時間(5~10 秒)、試料注入時間(2~6 秒)、泳動電圧(試料注入側を陰極、7.0 ~ 8.5 kV)、検出波長(210, 221, 226 nm)について検討した。なお、溶液注入法は真空吸引法(50 kPa)を採用した。塩試料は、溶液中 NaCl 濃度が 560 mM となるように、市販食塩を水に溶解し 100 mL に定容後、0.45 μm のメンブランフィルターで濾過した。

【結果と考察】ターミナルイオンおよび試料注入時間増加に従い、Iおよび IO_3^- のピーク高さは増大したが、I, IO_3^- 、ターミナルイオンの分離を考慮し、注入時間としてターミナルイオンは 6~8 秒、試料は 4~5 秒が適切であると判断した。また、泳動電圧 7 kV では Iおよび IO_3^- を分離できなかった。7.5 kV 以上では両イオンのピーク高さはほぼ一定であり、検出時間は短くなったが、ベースライオンの安定性から、8.0 kV とした。さらに、Iおよび IO_3^- の検出波長として、それぞれもっとも高いピーク高さが得られた 226 nm および 210 nm とした。ターミナルイオン注入時間 8 秒、試料注入時間 5 秒、泳動電圧 8 kV としたところ、両イオンについて、ピーク面積およびピーク高さを用いた場合とも直線性の良い検量線が得られた。また、市販食塩を分析したが、Iおよび IO_3^- を検出できなかった。塩中 Iおよび IO_3^- 同時定量法としての本法の有用性が示唆されたが、試料調製法も含め、さらなる検討が必要である。

1. 研究目的

ヨウ素(I)は生体の必須元素の一つとされ、甲状腺ホルモンの構成要素として重要である¹⁻³⁾。これらのホルモンが不足すると、甲状腺機能低下症、甲状腺腫などのヨウ素欠乏症になりやすいと言われている。逆にヨウ素過剰摂取も同様の症状を引き起こすことが報告されている。ヨウ素を補充する方法として、ヨウ化物(I)あるいはヨウ素酸イオン(IO_3^-)を食塩に添加することが最も効果的で一般に

行われている²⁾。したがって、塩中のIおよび IO_3^- を定量することは、人間の健康維持のために重要である。

塩試験方法⁴⁾では、Iは添加物として含まれている場合、イオンクロマトグラフィー(IC)により定量することになっているが、 IO_3^- については記載がない。現在までに、製法別に分類された市販食用塩中のヨウ素(I)量が高周波誘導結合プラズマ質量分析法(ICP-MS)により定量されている⁵⁾。その他のI定量法としては、キャピラリーゾーン電気泳動法(CZE)⁶⁾、単一液滴マイクロ抽出(SDME) - ガスクロ

マトグラフィー (GC)–MS⁷⁾, ボルタンメトリー⁸⁾等が提案されている。IO₃⁻定量法としては、吸光光度法⁹⁻¹¹⁾, CZE¹²⁾, ヘッドスペースガスクロマトグラフィー (GC)¹³⁾等が開発されている。さらに、I⁻, IO₃⁻を個別に定量した例として、I⁻をヨウ化物イオン複合電極、IO₃⁻をヨウ素滴定法により定量した結果が報告されている¹⁴⁾。また、塩中に含まれる IO₃⁻を I⁻に還元した後、IC により I⁻と IO₃⁻との合計濃度を求め、還元操作を行わずに求められた I⁻濃度を差し引いて IO₃⁻を求める方法も提案されている¹⁵⁾。

一方、著者らは、海水中の I⁻, IO₃⁻の同時定量法として、塩化セチルトリメチルアンモニウム (CTAC) を添加した人工海水泳動液 (BGE) およびターミナルイオンとしてリン酸イオン (PO₄³⁻) を用い、一時的 (過渡的) 等速電気泳動 (tITP) をオンライン濃縮法とする CZE を開発した^{16,17)}。そこで本研究では、海水分析を目的に開発した tITP – CZE を塩試料中の I⁻, IO₃⁻定量に適用するため、種々の分析条件について検討した。さらに、これまでに得られた最適条件により、塩試料を分析した。

2. 研究方法

2.1 一時的 (過渡的) 等速電気泳動 (tITP) とは

オンライン濃縮法とは、キャピラリー内において、分析目的イオンゾーンを泳動中に濃縮する (ゾーンの幅を狭くすることにより、試料注入量を増加した場合でも分離効率を損なうことなく、感度を改善する方法である。また、等速電気泳動 (ITP) とは以下のような現象をいう¹⁸⁾。まず、キャピラリー内において、分析目的イオンよりも移動度の大きなリーディングイオン (L) を含むリーディング電解液 (LE) と移動度の小さなターミナルイオン (T) を含むターミナル電解液 (TE) の間に試料が挟まれた状態を作り出す。ついで、電圧を印加すると分析目的イオンは濃縮され、定常状態に達するとすべてのイオンは等速で泳動し、検出器に到達し、検出される。この現象を利用した分析法を ITP という。tITP とは、CZE において、一時的 (過渡的) に ITP 状態を作り出して分析目的イオンを濃縮し、その後、ゾーン電気泳動状態 (各イオンがそれぞれ固有の移動度にしたがって泳動する状態) に移行し、各分析目的イオンを分離、検出するオンライン濃縮法である。本法では、BGE 中の塩化物イオン (Cl⁻) が L として作用する。また、試料注入後、T として 2-(*N*-モルホリノ)エタンスルホン酸 (MES, pH 6.0) を注入した。本研究では、陽イオン界面活

性剤である CTAC を BGE に添加したが、これは、電気浸透流 (EOF) を反転するとともに I⁻とイオン対を形成させ、I⁻の移動度を低下するためである。これにより、I⁻は共存する Br⁻, NO₂⁻, NO₃⁻から分離され、また、IO₃⁻の移動度に近づくため、両者を効率よく同時濃縮できる。tITP の効果を最大にするためには、I⁻, IO₃⁻が検出器に到達する直前まで、両者が分離できる限り、できるだけ長く tITP 状態を保つようにすればよい。したがって、L, T の種類や注入量、試料注入量について最適条件を決定する必要がある。

2.2 装置

装置として、フォトダイオードアレイ検出器を備えた大塚電子製キャピラリー電気泳動装置を用いた (CAPI-3200; Otsuka Electronics Co., Ltd., Osaka, Japan)。恒温槽温度を 25 °C に設定し、検出波長 210, 221, 226 nm について検討した。キャピラリーは、ジーエルサイエンス製フューズドシリカ管 (内径 (I.D.) 75 μm, 外径 (O.D.) 375 μm, 全長 (total length) 87.4 cm, 有効長 (effective length, キャピラリーの試料注入端から検出器までの長さ) 75 cm のものを使用した (GL Sciences Inc., Tokyo, Japan)。pH 測定には、堀場製 pH メーター LAQUA を使用した (F-71; HORIBA, Ltd., Kyoto, Japan)。

2.3 試薬

試薬はすべて特級品を用いた。BGE として使用した人工海水は、日本工業規格 (JIS)¹⁹⁾に基づき、2 倍濃度の人工海水を調製した。BGE 調製法は以下のとおりである。250 mL メスフラスコに 2 倍濃度人工海水を 125 mL とり、別に調製した CTAC (Tokyo Chemical Industry Co., Ltd., Tokyo, Japan) 溶液を加え、水を標線まで加えた。TE として、pH 6.0 に調整した 500 mM 2-(*N*-モルホリノ)エタンスルホン酸 (MES, Nacalai Tesque, Inc., Kyoto, Japan) を用いた。I⁻, IO₃⁻保存溶液 (1000 mg/L) は、ヨウ化カリウム (Nacalai Tesque, INC.) およびヨウ素酸カリウム (Nacalai Tesque, INC.) より調製し、適宜希釈して使用した。I⁻, IO₃⁻の検量線作成等に用いた標準溶液 (0–0.15 mg/L I⁻および 0–0.30 mg/L IO₃⁻ (I として)) を含む 560 mM 塩化ナトリウム (NaCl) 溶液は以下のように調製した。すなわち、600 μL マイクロチューブに 1120 mM NaCl を 300 μL, 0.5 あるいは 1.0 mg/L I⁻ を 0–120 μL, 1.0 mg/L IO₃⁻ を 0–180 μL, 水を 30–300 μL とり、よく攪拌した。試料中の NaCl 濃度を 560 mM としたのは、BGE 中の塩化物イオン (Cl⁻) と同じ濃度と

するためである。キャピラリー洗浄及び MES の pH 調整に用いた水酸化ナトリウム (NaOH) は Nacalai Tesque, Inc. より入手した。すべての溶液は、使用前に 0.45 μm のメンブランフィルター (Advantec Co., Ltd, Osaka, Japan) で汙過した。溶液調製の際に使用した水は、超純水製造装置 (Direct-Q UV 3; Merck, Tokyo, Japan) により得られたものである。塩サンプルとして、2 種類の市販塩を分析した。

2. 4 定量操作法

新しいキャピラリーについては、水で 5 分、1 M NaOH で 40 分、水で 10 分洗浄した (真空吸引法, 50 kPa)。一日の分析開始前に、水を 5 分、BGE (20 mM CTAC を含む人工海水, pH 7.9) を 20 分流し、キャピラリーのコンディショニングを行った。まず、キャピラリー内に BGE を 240 秒充填し、試料溶液を 5 秒吸引 (50 kPa, 約 250 nL) した。試料吸引時間 1 秒は、試料体積で 50 nL に相当する。次いで、TE として 500 mM MES (pH 6.0) を 8 秒 (約 400 nL) 注入した後、試料注入側を陰極として電圧 (8.0 kV) を印加した。I、IO₃⁻ の検出波長は、それぞれ 226, 210 nm とした。検量線は、標準溶液を分析した際に得られたエレクトロフエログラムの I、IO₃⁻ のピーク面積およびピーク高さから作成した。一日の分析終了時は、水を 5 分、1 M NaOH を 20 分、水を 10 分流してキャピラリーを洗浄後、純水を満たしておいた。1 M NaOH による洗浄を行わないで、分析を続けると I、IO₃⁻ の分離が悪くなる傾向が見られた。

本法では、BGE 中の Cl⁻ が L として作用するとともに試料中の Cl⁻ の妨害を防ぐ役割も果たしている。また、試料注入後に TE を注入するだけで済み、汉過以外の前処理を一切必要としない簡便な分析法である。

3. 研究結果と考察

3. 1 キャピラリー長および CTAC 濃度

キャピラリー長が長ければ、試料注入量を増加できるため高感度化が期待でき、また、分離の面でも有利であると考える。通常のキャピラリー長 (全長 62.4 cm, 有効長 50 cm) ではなく、より長いもの (全長 87.4 cm, 有効長 75 cm) を使用することとした。ただし、キャピラリー長が長いと分析時間が長くなるため、今後、通常の長さのキャピラリーを用い、以下に述べる条件について詳細に検討したいと考えている。

2. 1 で述べたように、CTAC を BGE に添加したのは、EOF 反転および I と IO₃⁻ 対を形成させ、I の移動度を低

下するためである。CTAC を添加しない場合、I の移動度は $84.8 \times 10^9 \text{ m}^2 \text{V}^{-1} \text{s}^{-1}$ 、IO₃⁻ の移動度は $47.8 \times 10^9 \text{ m}^2 \text{V}^{-1} \text{s}^{-1}$ であり^{6, 20}、大きく異なる。tITP により、両イオンを同時に効率よく濃縮するためには、I の移動度を IO₃⁻ の移動度と同程度にする必要がある。そこで、CTAC 濃度を 6–25 mM と変化させたところ、20 mM より低い場合には I の移動度を十分に低下できず、同時濃縮できなかった。20 mM より高い場合には、I の移動度が低くなり過ぎ、I と IO₃⁻ との分離が不十分であった。そこで、BGE 中の CTAC 濃度は 20 mM とすることとした。

3. 2 ターミナルイオン溶液 (TE) の注入時間

著者らが以前確立した海水中の I、IO₃⁻ 定量法¹⁶⁾ にしたがって、TE として 2 M PO₄³⁻ 溶液を用い、I、IO₃⁻ 標準溶液を分析したが、IO₃⁻ について、海水分析時のような高濃縮効果は得られなかった。Wang ら¹²⁾ も著者らと同様に、t-IITP-CZE における TE として 1.5 M PO₄³⁻ 溶液を用い、塩中 IO₃⁻ を定量したが、驚くほど高い濃縮率 (t-IITP を利用しない場合の 35 倍) が得られたと報告している。海水分析に用いた装置は Perkin-Elmer 270A-HT (Foster City, CA USA) であり、今回使用した装置と異なる。現在のところ、期待通りの濃縮効果が得られなかった理由についてはわかっていないが、装置の検出器系の違いによるのではないかと考えている。そこで今回は、TE として PO₄³⁻ 溶液ではなく、500 mM MES (pH 6.0) を用い²¹⁾、I、IO₃⁻ の分離濃縮に対する TE 注入時間の影響について調べた。一般に、TE の注入時間が短過ぎると、分析目的成分が十分に濃縮されず、反対に長過ぎると分析目的成分同士あるいは T との分離が悪くなる。試料として、0.15 mg/L I と 0.30 mg/L IO₃⁻ を含む 560 mM Cl⁻ 溶液を 6 秒注入し、TE 注入時間を 4–10 秒と変化させ、泳動電圧として 8.0 kV 印加した。Fig. 1 は、注入時間による I、IO₃⁻ のピーク高さの変化を表している。縦軸は I、IO₃⁻ ピーク高さを 9 秒注入時のそれぞれのピーク高さに対する比で示した。Fig. 1 から明らかのように、TE 注入時間の増加とともに 9 秒まで両イオンのピーク高さは増大したが、10 秒では 9 秒とほぼ同程度であった。I、IO₃⁻、MES の分離も考慮すると、TE 注入時間としては 8–9 秒が最適であると考えられた。なお、今回は 1 回の分析時間が長かったため、各 TE 注入時間について分析は 1 回しか行わなかった。

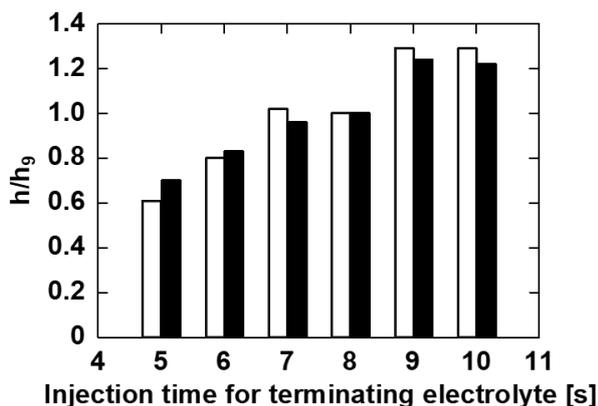


Fig. 1 Effects of injection time for terminating electrolyte (TE) on the peak height for I⁻ and IO₃⁻. h: peak height; h₉: peak height for 9 s injection of the TE; empty bars: I⁻; filled bars: IO₃⁻. Electrophoretic conditions: capillary, 87.4 cm total length (75 cm effective length) and 75 μm I.D. (375 μm O.D.); BGE, artificial seawater (pH 7.9) containing 20 mM cetyltrimethylammonium chloride (CTAC); sample: 0.15 mg/L I⁻ + 0.30 mg/L IO₃⁻ (as I⁻) / 560 mM Cl⁻, vacuum (50 kPa) injection period, 6 s (ca. 300 nL); terminating electrolyte: (500 mM 2-(N-morpholino)ethanesulfonic acid (MES), pH 6.0), vacuum (50 kPa) injection period, 5 – 10 s (ca. 250 – 500 nL); voltage, 8.0 kV with the sample inlet side as the cathode; wavelength for detection, 226 nm for I⁻ and 210 nm for IO₃⁻.

今後、通常長さのキャピラリーを用いて分析時間の短縮を検討した後、改めて同様の分析を複数回行いたいと考えている。

3. 3 試料注入時間

一般に、試料注入時間が長いほうが感度的には有利であるが、長過ぎると分析目的成分の分離が不十分になる。そこで、TE 注入時間を 9 秒に固定し、試料として、0.15 mg/L I⁻ と 0.30 mg/L IO₃⁻ を含む 560 mM Cl⁻ 溶液を 2–6 秒注入し、8.0 kV で泳動させた。**Fig. 2** から明らかなように、試料注入時間の増加とともに 5 秒まで、両イオンのピーク高さは増大したが、6 秒では 5 秒とほぼ同程度であった。縦軸は I⁻、IO₃⁻ ピーク高さを 5 秒注入時のそれぞれのピーク高さに対する比で表した。**3. 2** と同様に、分離状況も考慮すると、試料注入時間としては 4–6 秒が最適であると推察された。

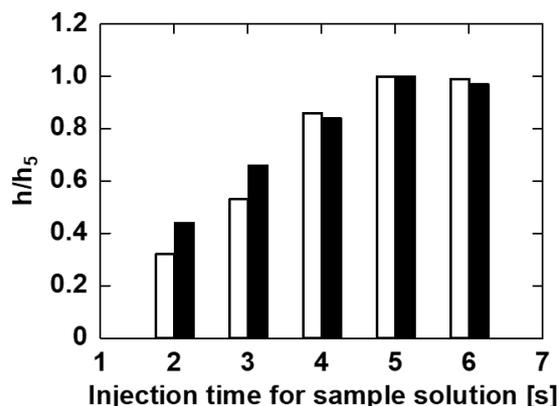


Fig. 2 Effects of injection time for sample solution on the peak height for I⁻ and IO₃⁻. h: peak height; h₅: peak height at 5 s injection of the sample solution; terminating electrolyte: (500 mM MES (pH 6.0), vacuum injection period, 9 s (ca. 450 nL); sample: 0.15 mg/L I⁻ + 0.30 mg/L IO₃⁻ / 560 mM Cl⁻, vacuum injection period, 2 – 6 s (ca. 100 – 300 nL). Other electrophoretic conditions and symbols are identical to those in Fig. 1.

3. 4 泳動電圧

一般に泳動電圧が高いほうが、分離の点から有利であり、分析時間も短くて済む。しかし、高過ぎると、泳動電流が増大し、気泡が発生し易くなり、泳動できなくなる可能性がある。そこで、0.15 mg/L I⁻ と 0.30 mg/L IO₃⁻ を含む 560 mM Cl⁻ 溶液を 5 秒、TE を 9 秒注入し、泳動電圧を 7.0–8.5 kV と変化させた。**Fig. 3** から明らかなように、泳動電圧の増加とともに泳動時間は短くなったが、I⁻ および IO₃⁻ のピーク高さはほぼ一定であった。なお、7.0 kV では、両イオンを分離することはできなかった。また、8.5 kV の場合、電圧印加 1 分後の電流値は 254 μA と高く (8.0 kV の場合は 235 μA)、泳動電圧として 8.0 kV を採用することとした。縦軸は両イオンのピーク高さを 8.0 kV の場合のそれぞれのピーク高さに対する比で表した。同時に、IO₃⁻ の泳動時間を 8.0 kV の場合の泳動時間に対する比で示した。

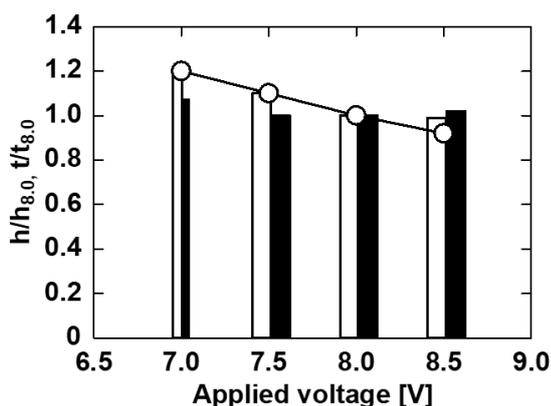


Fig. 3 Effects of applied voltage on the peak height for I⁻ and IO₃⁻ and migration time for IO₃⁻. h: peak height; h_{8.0}: peak height at 8.0 kV; t: migration time for IO₃⁻; t_{8.0}: migration time for IO₃⁻ at 8.0 kV; empty circle: migration time for IO₃⁻; sample: 0.15 mg/L I⁻ + 0.30 mg/L IO₃⁻ / 560 mM Cl⁻, vacuum injection period, 5 s (ca. 250 nL); terminating electrolyte: (500 mM MES (pH 6.0), vacuum injection period, 9 s (ca. 450 nL); applied voltage: 7.0 – 8.5 kV. Other electrophoretic conditions and symbols are identical to those in Fig. 1.

3. 5 検出波長

著者らが海水中 I⁻ および IO₃⁻を同時定量した際使用した装置の検出器は、通常の吸光検出器(単一波長設定)であった。この時、検出波長を 218 – 225 nm と変化させたところ、波長が長くなるにしたがって、I⁻のピーク高さは直線的に増大し、一方、IO₃⁻のピーク高さは直線的に減少した¹⁶⁾。両直線は 221 nm において交差したので、両イオンの検出波長として 221 nm を採用した。広川らは、フォトダイオードアレイ検出器を備えた装置を用い、海水中の I⁻ および IO₃⁻を定量したが、I⁻については 226 nm、IO₃⁻については 210 nm で検出した²¹⁾。著者らも今回はフォトダイオードアレイ検出器を備えた装置を使用したので、これら 3 つの波長について検討した。**Fig. 4** から明らかのように、I⁻については 226 nm、IO₃⁻については 210 nm においてもっともピーク高さが高かった。そのため、今回はこれらの波長を検出波長として採用した。しかし、ノイズの大きさを考慮すると、I⁻および IO₃⁻のピーク高さは、上記波長におけるピーク高さと比較してそれぞれ減少する(I⁻は-16%、IO₃⁻は-40%)ものの、ベースラインノイズの小さな 221 nm を両イオン

の検出波長とすることも考えられる。データを解析するうえでも一つのエレクトロフェログラムで済むため、手間が省ける。これについても、通常長さのキャピラリーを用いた実験時に再度検討する予定である。

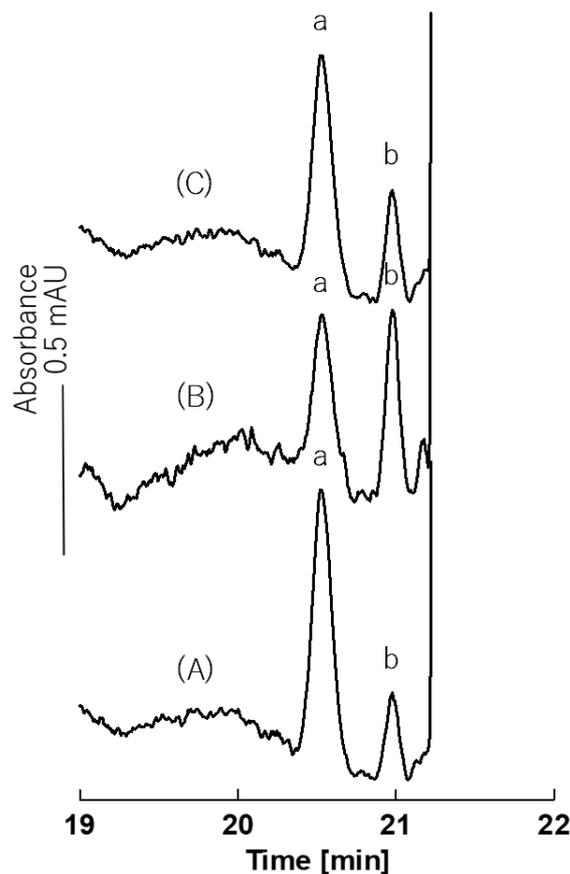


Fig. 4 Electropherograms of the standard solution for I⁻ and IO₃⁻ at different wave length. (A) 226 nm; (B) 210 nm; (C) 221 nm; a: I⁻; b: IO₃⁻; sample: 0.15 mg/L I⁻ + 0.30 mg/L IO₃⁻ / 560 mM Cl⁻, vacuum injection period, 6 s (ca. 300 nL); terminating electrolyte: (500 mM MES (pH 6.0), vacuum injection period, 9 s (ca. 450 nL); applied voltage: 8.0 kV. Other electrophoretic conditions are identical to those in Fig. 1.

3. 6 検量線

以下の分析条件により、I⁻ および IO₃⁻の検量線を作成した。キャピラリー:内径(I.D.)75 μm, 外径(O.D.)375 μm, 全長 87.4 cm, 有効長 75 cm, 泳動液:20 mM CTAC を添加した人工海水; 試料:0-0.15mg/L I⁻および0-0.30 mg/L IO₃⁻を含む 560 mM Cl⁻溶液, 注入時間 5 秒(約 250 nL); TE: 560 mM MES(1 M NaOH で pH 6.0 に調整), 注入時間, 8 秒(約 400 nL); 泳動電圧:8.0 kV(試料注入側を陰極); 検出波長:226 nm(I⁻), 210 nm(IO₃⁻)。その結果, I⁻の回帰式は, ピーク面積を用いた場合, $y = 26.8x + 1.05$ (x :濃度(0-0.15mg/L), y :ピーク面積(arbitrary units), 相関係数 $r = 0.9906$), ピーク高さを用いた場合, $y = 3.73x + 0.155$ (y :ピーク高さ(absorbance, mAU), $r = 0.9950$)であった。また, IO₃⁻の回帰式は, ピーク面積を用いた場合, $y = 6.28x + 1.00$ (x :濃度(0-0.30 mg/L), $r = 0.9947$), ピーク高さを用いた場合, $y = 1.21x + 0.187$ ($r = 0.9948$)であった。両イオンについて, ピーク面積, ピーク高さを用いた場合とも直線性の良い検量線が得られた(Figs. 5, 6)が, 両イオンともブランク値(560 mM Cl⁻溶液を分析した際の I⁻ および IO₃⁻と思われるピークの値)が比較的大きな値を示した。I⁻のブランクについては, メモリ効果によるという報告があるが^{21, 22}, 今後, これらの原因について解決する必要がある。Table 1 に本法の検出限界(LOD, $S/N = 3$), 相対標準偏差(RSD, $n = 4$)を示す。

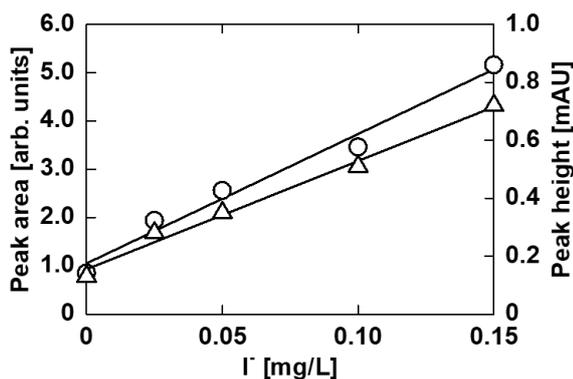


Fig. 5 Calibration graphs for I⁻. Peak area (circle) and peak height (up-pointing triangle). arb. units: arbitrary units; AU: absorbance unit; sample: 0 - 0.15 mg/L I⁻ / 560 mM Cl⁻, vacuum (50 kPa) injection period, 5 s (ca. 250 nL); terminating electrolyte: (500 mM MES (pH 6.0), vacuum injection period, 8 s (ca. 400 nL). Other electrophoretic conditions are identical to those in Fig. 1.

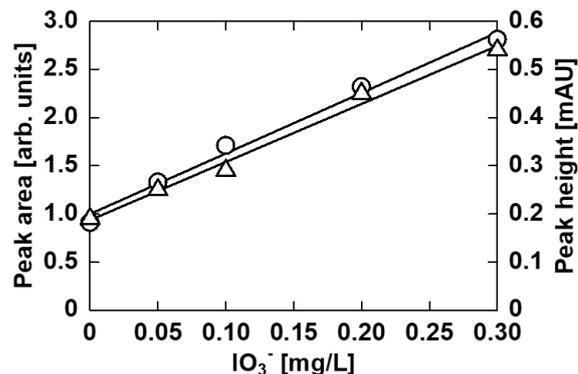


Fig. 6 Calibration graphs for IO₃⁻. Peak area (circle) and peak height (up-pointing triangle). arb. units: arbitrary units; AU: absorbance unit. sample: 0 - 0.30 mg/L IO₃⁻ / 560 mM Cl⁻. Other electrophoretic conditions are identical to those in Fig. 5.

Table 1 Relative standard deviation (RSD) and limit of detection (LOD)^{a)}

Analyte	RSD (% , $n = 4$) ^{b)}			LOD ^{b)} ($S/N =$ (mg/L)
	Time	Area	Height	
I ⁻	1.1	6.1	3.6	0.020
IO ₃ ⁻	0.94	4.3	4.7	0.095 (as I)

^{a)} Electrophoretic conditions are identical to those in Fig. 5

^{b)} 0.10 mg/L I⁻ + 0.20 mg/L IO₃⁻ (as I) / 560 mM Cl⁻

3. 7 市販塩の分析

2種類の市販塩 A, Bをそれぞれ 4.459 g, 3.648 gとり, 水 100 mL に溶解し, 0.45 μm のメンブランフィルターで濾過し, 分析用試料とした。塩 A, B 中の NaCl 含有量はそれぞれ 73.4 g/100 g, 89.7 g/100 g(包装用パッケージ表記)であり, 上記のように調製すると, 試料中の NaCl 濃度は 560 mM となる。これら試料を3. 6の分析条件により分析したが, I⁻ および IO₃⁻と思われるピークは検出されなかった。塩AをICP-MSにより分析したところ, I含有量は0.6 mg/kgであり, 4.459 g/100 mL 中の I濃度は, 0.027 mg/Lとなる。

Table 1 の LOD から考えると, すべての I が IO₃⁻として存在していた場合には検出不可能であるが, Iとして存在していた場合, 本法により検出できたはずである。検出できなかった原因として, 以下の2つが考えられた。①塩試料溶液中において, I が I⁻, IO₃⁻として存在していなかった。塩中の Iを定量する際, 塩中に含まれるすべての I⁻を完

全に溶出するために、超音波洗浄機および家庭用電子レンジによる処理が必要であった²⁴⁾。②本法の感度が不十分であった。

4. 結論と今後の課題

塩中 I⁻および IO₃⁻同時定量法としての本法の有用性が示唆された。すなわち、本法は、前処理を必要とせず、検量線を用いた定量が可能な簡単な方法であると言える。今後は、試料調製法も含め、ブランク出現の原因解明とブランク値の軽減、ノイズ軽減等による感度改善、通常長さ(全長 62.4 cm)のキャピラリー使用による分析時間の短縮等、さらなる検討が必要である。また、IC 等、他の分析法についても検討してみたい。

謝辞

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にお礼申し上げます[grant number 2112]。また、塩試料をご提供頂いた(株)赤穂化成様に感謝申し上げます。

6. 文献

- 1) Y. Kikuchi, T. Takebayashi and S. Sasaki, Iodine concentration in current Japanese foods and beverages, *Jpn. J. Hyg.*, **63**, 724-734 (2008) (Japanese)
- 2) Y. Fuse, Current medical topics and problems on iodine – an unique pattern of iodine nutrition in Japanese, *Biomed. Res. Trace Elements*, **24**, 117-152 (2013) (Japanese)
- 3) S. Kumorowulan, Y. D. Nurcahyani and L. Latifah, Household ionized salt, iodine intake, and thyroid dysfunction in reproductive age women in different regions of iodine adequacy, *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **66**, S468-S473 (2020)
- 4) The Salt Industry Center of Japan, “Methods for Salt Analysis”, 5th Ed., (https://www.shiojigyo.com/study/upload/book_methods_5.pdf) (accessed 2021.1.18) (Japanese)
- 5) Y. Nino, H. Nishimura and A. Koga, Amount of iodine in commercial edible salt, *Bull. Soc. Sea Water Sci., Jpn.*, **57**, 134-137 (2003) (Japanese)
- 6) P. Pantůčková and L. Křivánková, Fast and simple method for determination of iodide in human urine, serum, sea water, and cooking salt by capillary zone electrophoresis, *Electrophoresis*, **25**, 1102-1111 (2004)
- 7) K. Reddy-Noone, A. Jain and K. K. Verma, Liquid-phase microextraction–gas chromatography–mass spectrometry for the determination of bromate, iodate, bromide and iodide in high-chloride matrix, *J. Chromatogr. A*, **1148**, 145-151 (2007)
- 8) M. A. Jamilan, J. Abdullah, S. A. A. Ahmad and M. F. M. Noh, Voltammetric determination of iodide in iodized table salt using cetyltrimethylammonium bromide as ion-pairing, *J. Food Sci. Technol.*, **56**, 3846-3853 (2019)
- 9) R. L. G. N. P. Silva, A. F. de Oliveira and E. A. Neves, Spectrophotometric determination of iodate in table salt, *J. Braz. Chem. Soc.*, **9**, 171-174 (1998)
- 10) P. S. Kulkarni, S. D. Dhar and S. D. Kulkarni, A rapid assessment method for determination of iodate in table salt samples, *J. Anal. Sci. Tech.*, **4**, 1-6 (2013)
- 11) H. F. Galiga and F. B. Sevilla, Smartphone-based optical transduction for the rapid microscale assessment of iodate in table salt, *Talanta*, **232**, 122450 (2021)
- 12) T. Wang, S. Zhao, C. Shen, J. Tang, D. Wang, Determination of iodate in table salt by transient isotachopheresis-capillary zone electrophoresis, *Food Chem.*, **112**, 215-220 (2009)
- 13) W. -Q. Xie, K. -X. Yu and Y. -X. Gong, Determination of iodate in iodized edible salt based on a headspace gas chromatographic technique, *J. Chromatogr. A*, **1584**, 187-191 (2019)
- 14) M. Vithanage, I. Herath, S. S. Achinthya, T. Bandara, L. Weerasundara, S. S. Mayakaduwa, Y. Jayawardhana and P. Kumarathilaka, Iodine in commercial edible iodized salts and assessment of iodine exposure in Sri Lanka, *Arch. Public Health*, **74**, 1-7 (2016)

- 15) B. Rebarry, P. Paul and P. K. Ghosh, Determination of iodide and iodate in edible salt by ion chromatography with integrated amperometric detection, *Food Chem.*, **123**, 529-534 (2010)
- 16) K. Yokota, K. Fukushi, S. Takeda and S. Wakida, Simultaneous determination of iodide and iodate in seawater by transient isotachopheresis – capillary zone electrophoresis with artificial seawater as the background electrolyte, *J Chromatogr. A*, **1035**, 145-150 (2004)
- 17) K. Yokota and K. Fukushi, Simultaneous determination of iodide and iodate in seawater by capillary zone electrophoresis, *Bull. Soc. Sea Water Sci., Jpn.*, **58**, 75-79 (2004)
- 18) K. Fukushi, Capillary zone electrophoresis determination of inorganic ions in salts and its feasibility assessment, *Bull. Soc. Sea Water Sci., Jpn.*, **76**, 25-37 (2022) (Japanese)
- 19) Japanese Standards Association, Lubricants-determination of rust-preventing characteristics, JIS K 2510, 8-9, Tokyo (1998) (Japanese)
- 20) T. Hirokawa, Capillary electrophoresis for inorganic ions (1): introduction to capillary electrophoresis, *CE Advance*, **3**, 38-49 (1999) (Japanese)
- 21) Z. Huang, K. Ito, A. R. Timerbaev, T. Hirokawa, Speciation studies by capillary electrophoresis – simultaneous determination of iodide and iodate in seawater, *Anal. Bioanal. Chem.*, **378**, 1836-1841 (2004)
- 22) T. Hirokawa, T. Ichihara, K. Ito, A. R. Timerbaev, Trace ion analysis of seawater by capillary electrophoresis: determination of iodide using transient isotachophoretic preconcentration, *Electrophoresis*, **24**, 2328-2334 (2003)
- 23) K. Ito, T. Ichihara, H. Zhuo, K. Kumamoto, A. R. Timerbaev, T. Hirokawa, Determination of trace iodide in seawater by capillary electrophoresis following transient isotachophoretic preconcentration: comparison with ion chromatography, *Anal. Chim. Acta*, **497**, 67-74 (2003)
- 24) K. Fukushi, J. Tsujimoto, H. Hotta, H. Okamura, H. Inui, Determining fluoride in salts using capillary zone electrophoresis with transient isotachopheresis, *Salt Seawater & Sci. Tech.*, **2**, 10-16 (2022)

Simultaneous Determination of Iodide and Iodate in Salts

Keiichi Fukushi, Hiroki Hotta

Kobe University Graduate School of Maritime Sciences

Summary

Iodine, one of the essential elements for living organisms, plays important role in thyroid hormone synthesis. Low level of thyroid hormones in the blood is responsible for harmful effects of health known as iodine deficiency disorders such as hypothyroidism and goitrous tumor. Excessive intake of iodine also causes similar symptoms. Salt iodization as iodide (I^-) or iodate (IO_3^-) is the most effective strategy to prevent iodine deficiency disorder. It is therefore important to ascertain I^- and IO_3^- in salts to maintain human health. We proposed transient isotachopheresis – capillary zone electrophoresis for simultaneous determination of I^- and IO_3^- in salt samples. The optimum conditions obtained so far as follows. A polyimide-coated fused-silica capillary with 87.4 cm total length (75 cm effective length) and 75 μm I.D. (375 μm O.D.) was used. After the capillary was filled with a background electrolyte (artificial seawater containing 20 mM cetyltrimethylammonium chloride) for 240 s, the sample solution was vacuum-injected (50 kPa) for 5 s (250 nL) into the capillary. Voltage (8.0 kV) was applied for separation with the sample-inlet side as the cathode following an introduction of 500 mM 2-(*N*-morpholino)ethanesulfonate as the terminating ion for 8 s (400 nL). The injection period of 1 s corresponds to the sample volume of 50 nL. The detection wavelength of 210 and 226 nm was respectively adopted for I^- and IO_3^- . When solutions (560 mM Cl^-) containing different concentrations of I^- and IO_3^- were analyzed using the procedure, calibration graphs for I^- and IO_3^- were linear using both the peak area and peak height: a regression equation relating the area response to I^- concentration (x , 0–0.15 mg/L) was $y = 26.8x + 1.05$ (y , peak area (arbitrary units), correlation coefficient, 0.9906); $y = 6.28x + 1.00$, 0.9947) for IO_3^- (0 – 0.30 mg/L as I). The limit of detection ($S/N = 3$) for I^- and IO_3^- respectively reached 0.020 mg/L and 0.095 mg/L. The respective values of the relative standard deviation ($n = 4$) for I^- and IO_3^- were 1.1 and 0.94% (migration time), 6.1 and 4.3% (peak area), and 3.6 and 4.7% (peak height). The proposed method was applied for determining I^- and IO_3^- in commercial salts, but I^- and IO_3^- weren't detected. Further study is necessary to improve the noise level and blank values including sample preparation procedures.