

助成番号 0618

塩水中の主要無機成分の同時分析法の開発

森 勝伸, 板橋 英之

群馬大学大学院工学研究科

概要【目的】 イオン排除/陽イオン交換型クロマトグラフィー(イオン排除/CEC)は、1本の陽イオン交換樹脂充填カラムと溶離液を用い、1回の試料注入により環境水中に含まれる主要な陰イオンと陽イオンを同時に測定するものであり、主に酸性雨のイオンバランス測定に用いられてきた。今回、我々の研究グループでは、イオン排除/CECの様々な研究分野への応用を考慮し、高マトリックス(塩, 有機酸, タンパク等)を含む試料への適用を目指すため、分離カラムに充填する陽イオン交換樹脂の最適化、そして生体試料中のタンパク成分の樹脂相への吸着抑制法の開発を中心に検討した。

【結果】 はじめに、5種類の弱酸性陽イオン交換樹脂を各々調製し、酒石酸とクラウンエーテルを混合した溶離液により陰イオンと陽イオンの同時分離に与える影響を検討した。その結果、粒径3 μm 、陽イオン交換容量0.15 meq./mlのポリメタクリレート担体とした弱酸性陽イオン交換樹脂を充填したカラムが最も良好な分析結果を与えることができた。

さらに溶離条件の最適化を行った結果、本法が海水試料(**Fig**)、市販食塩、あるいは有機酸、アミノ酸、アルコール等を含む食品試料中の無機イオン分析に適用可能であることを示した。このとき、これらの試料中のマトリックスがシステムピーク(dip)の領域に検出されるため、無機成分の検出を妨害することはなかった。一方、生体試料の分析では、タンパクや脂質といった高分子成分を含むため、これらがイオン交換樹脂に静電的あるいは疎水的に吸着し、分析結果に大きな影響を与えることが分った。そこで、タンパク質に対し可溶性を示す両イオン性界面活性剤 CHAPS を溶離液に1 mM 添加し、高分子成分の排除効果を調べた。その結果、繰り返し測定(20回)後も、高分子成分が無機イオン種の溶出挙動に影響を与えることなく、再現性のある分析結果が得られた。これにより、本法は前処理(除タンパク)無しで唾液試料中の無機成分を直接測定することができた。

【まとめ】 以上、本法は、陽イオン交換樹脂の最適化や両イオン性界面活性剤の利用により、海水、食品、唾液といった様々なマトリックスを含む試料中の主要陰イオンおよび陽イオンの同時分析を可能にすることができた。今後、この研究成果が環境分野だけでなく、主要無機成分の計測が重要な役割を果たす生化学及び食品分野への展開を期待している。

1. はじめに

水質化学計測器製造産業では、様々な環境水、排水、製造工程水中に含まれるイオン性水質汚濁成分のモニタリングシステムの開発が重要視され続けている。その中でもイオンクロマトグラフィー(IC)は、複数のイオン性成分を同時に定量できることから、水質管理における有用な計測手段として適用されており^[1]、分析時間の高速化、装置

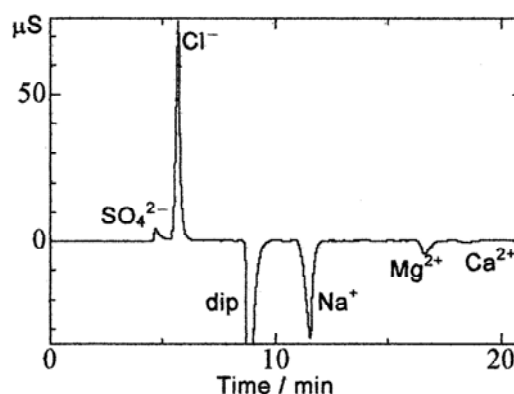


Fig. Separation of inorganic ions in 500-folds diluted seawater samples using a polymethacrylate-based weakly acidic cation-exchange resin column; and 5.5 mM tartaric acid / 3 mM 18-crown-6.

の自動化あるいは小型化に向けた研究開発が進められている。

1994年、田中らは酸性雨のイオンバランス測定を効率的に実施するため、雨水中の主要イオン(硫酸、塩化物、硝酸、ナトリウム、カリウム、アンモニウム、マグネシウム、カルシウムイオン)の同時分離計測を可能にするイオン排除/陽イオン交換型ICを開発した[特許2055752号]。この方

法は、1本の陽イオン交換樹脂カラムと1種類の溶離液を用い、イオン排除による陰イオンの分離と陽イオン交換による陽イオンの分離を一回の試料注入で行うものである^[2-4]。さらに、2003年に著者らは、イオン排除/陽イオン交換型 IC に用いるカラム充填剤である弱酸性陽イオン交換樹脂のサイズを微小化(3 μm)することによって、今まで30分要した分析時間を約4分まで短縮することができた(**Fig. 1**^[5])。これにより、イオン排除/陽イオン交換型 IC を導入したオンサイト分析が可能なポータブル型水質モニターの開発までに至っている^[6]。

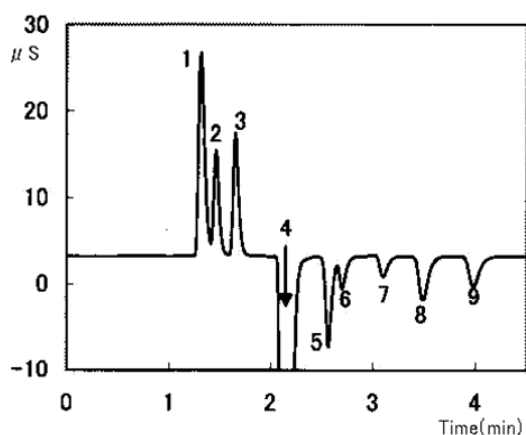


Fig. 1 High speed separation of inorganic anions and cations on conventional ion-exclusion/CEC.

1 = SO_4^{2-} , 2 = Cl^- , 3 = NO_3^- , 4 = dip, 5 = Na^+ , 6 = NH_4^+ , 7 = K^+ , 8 = Mg^{2+} , 9 = Ca^{2+}

次に、我々の研究グループでは、新たな研究分野への開拓を行うため、塩、有機酸、糖、タンパク等のマトリックスを含む試料への適用を試みた。これは、海水、生理活性物、食品等のマトリックス試料の主要無機成分のイオン組成がナトリウム、カリウム、マグネシウム、カルシウム、硫酸、塩化物イオンから構成されており、従来のイオン排除/陽イオン交換型 IC に適用できると判断したからである。しかしながら、その分離分析結果は、高濃度の塩化物イオンとナトリウムイオンにより全体の分離能が低く、各イオンの定量が困難であることがわかった。また、タンパクのような高分子有機化合物を含む試料を注入した際、試料中の高分子化合物がイオン交換樹脂に静電的あるいは疎水的に吸着し、分析結果の再現性の低下や分離カラムの寿命に影響を及ぼすことが分った。

そこで、我々は、上記の課題を鑑みて、マトリックスを含む試料へも対応可能な陰イオン及び陽イオンの同時分析システムを構築するため、以下の項目に従って検討した。

- 1) 陽イオン交換樹脂充填分離カラムの調製
- 2) 溶離液組成の最適化
- 3) 塩水中の主要無機成分の同時分析
- 4) 両イオン性界面活性剤添加による樹脂相への高分子成分の吸着抑制
- 5) 唾液試料中の主要無機成分の同時分析
- 6) 食品中の主要無機成分の同時分析

2. 実験

2.1 分離カラムの調製

本実験で使用したカラムに充填した弱酸性陽イオン交換樹脂の内訳を**Table 1**にまとめる。ここでは、異なった担体と陽イオン交換容量を有する弱酸性陽イオン交換樹脂を、長さ150 mm、内径6 mmのステンレス製カラムにそれぞれ充填した。なお、この実験に用いたイオン交換樹脂の粒径は3 μm に、陽イオン交換基はカルボキシル基($-\text{COOH}$)に統一した。以後、本実験で用いられたカラムは、**Table 1**で示された番号で説明する。

Table 1 Properties of cation-exchange resin packed to columns

Column	Base*	Cation-exchange capacity (meq./ml)
I	PS-DVB	0.10
II	PM	0.20
III	PM	0.15
IV	PM	0.10
V	PM	0.04

* PM = polymethacrylate; PS-DVS = polystyrene-divinylbenzene.

2.2 装置及び測定条件

本実験における陰イオン及び陽イオンの測定は、導電率検出器を備えた東ソー社製のIC-2001型イオンクロマトグラフを用い、専用のIC-WS型ワークステーションによって得られたデータの解析・管理を行った。試料注入量は30 μl 、カラム温度は40 $^{\circ}\text{C}$ 、そして流速は0.6 ml/minである。

2.3 溶離液

溶離液(移動相)は、対象となる実試料(海水、唾液等)中のイオン組成を考慮して酒石酸と18-クラウン-6の混合溶液を用いた。これらの濃度は、分析対象物に合わせ適宜調製した。

2.4 試薬

本実験において溶離液及び標準試料に用いた試薬は、

全て和光純薬製のものであり、研究の目的に応じて適宜調製した。陰イオン及び陽イオンの標準試薬は、硝酸カリウム、硝酸アンモニウム、硫酸ナトリウム、硫酸マグネシウム、塩化カルシウム及びチオシアン酸カリウムをそれぞれ0.1 M水溶液に調製し、適宜希釈して使用した。なお、溶離液及び標準試料の調製に用いた水は、いずれも脱イオン化した蒸留水である。

2.5 実試料の調製

本実験での人工海水は、NaCl 27.5 g, MgCl₂·6H₂O 4.98 g, MgSO₄ 3.42 g, CaCl₂ 1.14 gを100 mLを水に溶解したものを用いた^[7]。実際の海水試料は、愛知県常滑市、沖縄県石垣島並びに波照間島の沿岸部から採取し、0.45 μmのメンブランフィルターにより砂等の固形物を除去した。市販食塩は、海水から精製したもの5種類と岩塩から精製したもの4種類をそれぞれ水により0.1 g/Lの試料濃度になるよう調製した。唾液試料は、本研究室の学生から唾液を採取し、0.45 μmのメンブランフィルターにより固形物を除去した後、水により10倍希釈したものを用いた。食品分析に用いた黒砂糖、赤ワイン、米酢は、市販品を用いた。黒砂糖は、水により5 g/Lの試料濃度に調製した。赤ワインと米酢は水によりそれぞれ10倍希釈と25倍希釈したものを用いた。

3. 結果と考察

3.1 イオン交換容量の最適化

イオン排除/陽イオン交換型 IC での分離能は、充填する粒径の他にイオン交換基を固定する担体の種類やイオン交換容量(以下、交換容量)に依存するところが多い。そこで、5.5 mM 酒石酸/3 mM 18-クラウン-6を溶離液としたときの5種類のイオン交換樹脂カラム(**Table 1**)による陰イオン及び陽イオンの溶出挙動について検討した。**Fig. 2**に示されるように、ポリメタクリレート担体とした分離カラムでの陰イオンの分離能は、ポリスチレンジビニルベンゼン担体とした **column I** よりも優れていることが分った。これは、親水性ポリマーを担体とするイオン交換樹脂の方が、陰イオンに対し高い浸透作用を示すからである^[8]。

次に、イオン交換樹脂の交換容量の大きさを比較した場合では、交換容量が0.15 meq./mlの **column III** と0.10 meq./mlの **column IV** を用いたとき、課題とされてきた硫酸イオンと塩化物イオンの分離能を改善することができた。しかし、交換容量が最も低い **column V** (交換容量 0.04 meq./ml) は、陰イオン及び陽イオンの両方の分離能が減

少した。これは、陽イオンに対しては、陽イオンの分離に必要な交換容量が不足し、十分な交換作用を与えることができず、一方、陰イオンに対しては、樹脂相への浸透作用が排除作用と比べ極端に大きくなり、ピーク形状の対称性が崩れたものと推測される。

以上より、塩水中の分離分析においては、最も良好な陰イオンの分離が得られた **column III** (交換容量 0.15 meq./ml) を用いた。

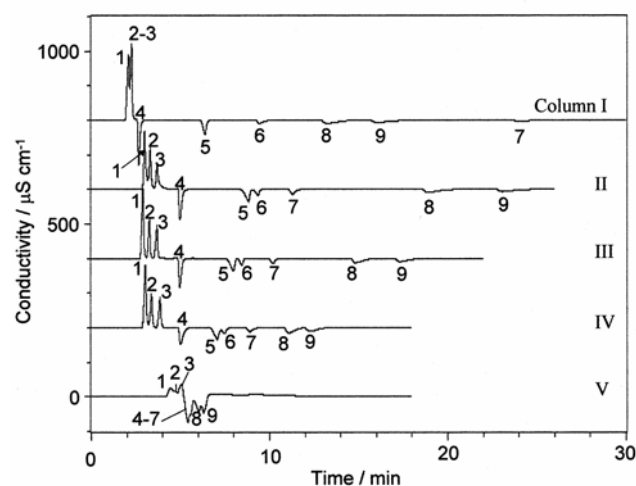


Fig. 2 Separation of inorganic ions on various cation-exchange resin columns. Conditions: eluent, 5.5 mM tartaric acid / 3 mM 18-crown-6; flow rate, 0.6 mL/min
Peaks, 1 = SO₄²⁻, 2 = Cl⁻, 3 = NO₃⁻, 4 = dip, 5 = Na⁺, 6 = NH₄⁺, 7 = K⁺, 8 = Mg²⁺, 9 = Ca²⁺.

3.2 溶離液組成の最適化

上記3.1において最適化された **column IV** を用いて溶離液の組成について検討を行った。溶離液には、強酸であるスルホサリチル酸、弱酸の酒石酸、リンゴ酸、クエン酸、コハク酸、プロピオン酸、サリチル酸、フタル酸、安息香酸が用いられた。対象となる陰イオン(硫酸、塩化物、硝酸イオン、チオシアン酸イオン)と陽イオン(ナトリウム、アンモニウム、カリウム、マグネシウム、カルシウムイオン)の良好な分離挙動が得られたのは、スルホサリチル酸と酒石酸の溶離液を用いたときであった。ただし、強酸であるスルホサリチル酸は、本法で用いられる導電率検出器に対し高い応答を示し、弱酸の酒石酸と比較して分離ベースラインが上昇したため、結果的に陰イオンの検出感度が減少することが分った。これより、本研究では酒石酸を溶離液として以後の検討を行った。

次に、溶離液に添加する酒石酸の濃度を最適化した。

酒石酸の濃度を増加すると、その濃度に依存して陰イオンの分離能が改善された。これは、溶離液中の酸濃度が増加すると、弱酸性陽イオン交換樹脂カラムの官能基であるカルボキシル基の解離が抑制され、陰イオンの樹脂相への浸透作用が大きくなるためである。一方、陽イオンの分離能は、陰イオンとは対照的に酒石酸濃度の増加に伴い分離能が減少した。これは、陽イオンの分離に必要な陽イオン交換基である解離したカルボキシル基の量が酸濃度の増加によって減少したためである。これより、溶離液中の酒石酸の濃度は、陰イオンと陽イオンの均等な分離能を与えるため慎重に検討した結果、溶離液に加える酒石酸の最適濃度を5.5 mMとした。

さらに、酒石酸のみでは、アンモニウムイオンとカリウムイオン、そして唾液中の主要陰イオンであるチオシアン酸の分離が見られないため、5.5 mM 酒石酸溶離液にカリウムイオンと選択的に会合する 18-crown-6 を添加した。結果的に、5.5 mM 酒石酸溶離液に添加する 18-crown-6 の濃度は7 mMとした。

3.3 海水及び市販食塩中の主要無機成分の同時分析

海水試料のような高濃度の塩(NaCl)を含む試料中のイオン分析では、高濃度のナトリウムイオンや塩化物イオンによって目的対象物のイオンの検出が妨害されることがある。本研究では、上記3.1と同じ溶離条件において、人工海水中の無機イオン成分の同時分析を行った。その結果、Fig. 3 に示されるように、500倍希釈した人工海水中の主要無機成分をマトリックスである塩化物イオンとナトリウムイオンと共に分離検出することができた。また、実際の海水試料及び市販食塩を溶解した塩水試料での分析にも可能であった。なお、このとき検出されたイオン(SO₄²⁻, Cl⁻, Na⁺, Mg²⁺, Ca²⁺)の回収率は91%~101%の範囲であった。

Table 2 は、海水中のイオン成分の測定結果を示す。

本法での測定結果では、海の表層から採取された海水試料中の各イオンの濃度は、採取場所に依存することなくほぼ同様の傾向を示した。このとき、我々が研究開発した水溶離液によるイオン排除型 IC^[9]を用い炭酸水素イオンを分離定量し、そしてポータブル型pHメーターより求めた水素イオン濃度を含め、海水のイオンバランスを算出した結果、いずれも1に近い値を示した。

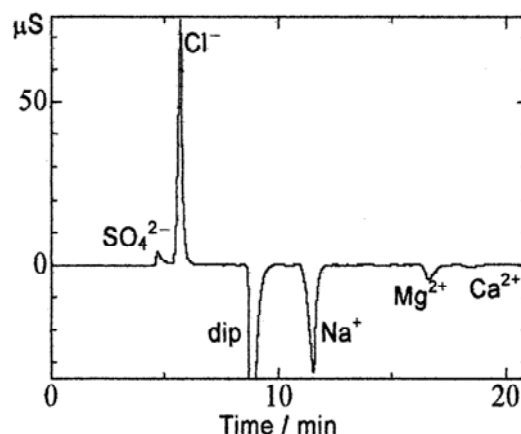


Fig. 3 Separation of inorganic ions in artificial seawater samples diluted to 500-fold with water. Column: III (0.15 meq./ml-capacity).

また、本研究では、市販食塩を水に溶解し、そのイオン成分の分析も行った。Table 3 は、市販食塩中のイオン成分の測定結果を示す。市販食塩の分析結果より、海水から加工したものには、海水試料と同様にカリウムイオンやマグネシウムイオンを含んでいるが、岩塩から加工したものは、それらのイオン濃度が低いことがわかった。

このように、本法は、イオン交換樹脂内の構造並びに交換基の容量を調節することによって、海水の基本水質の維持に必要なイオンバランス測定や、採取場所に関連した市販食塩中のイオン分析に応用することができた。

Table 2 Concentrations of common inorganic anions and cations in real seawater samples determined by the proposed method.

Sample	Concentration (mM)								I.B. ^{c)}
	H ⁺ ^{a)}	SO ₄ ²⁻	Cl ⁻	Na ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺	HCO ₃ ^{-b)}	
Tokoname (Aichi)	3 × 10 ⁻⁵	36.8	557	458	12.0	51.0	21.7	2.91	1.03
Hateruma (Okinawa)	3 × 10 ⁻⁶	42.1	644	538	16.8	58.2	23.6	3.66	1.02
Ishigaki (Okinawa)	5 × 10 ⁻⁶	41.0	628	519	13.8	57.2	24.3	3.13	1.05

^{a)} Concentration of H⁺ was estimated by pH meter.

^{b)} Concentration of HCO₃⁻ was determined according to reference [9].

^{c)} Ion balance of seawater was estimated according to reference [2]

Table 3 Concentrations of inorganic ions in real seawater and commercialized salt samples

Sample	Concentration (mM)					
	SO ₄ ²⁻	Cl ⁻	Na ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺
1 (seawater)	0.04	1.75	1.67	0.007	0.006	0.017
2 (seawater)	0.06	1.46	1.34	0.012	0.046	0.026
3 (seawater)	0.05	1.62	1.52	0.008	0.019	0.020
4 (rock salt)	0.04	1.76	1.68	N.D.	0.003	0.015
5 (rock salt)	0.04	1.73	1.66	N.D.	0.002	0.015
6 (rock salt)	0.04	1.74	1.67	N.D.	N.D.	0.016

a) N.D. = not detected

b) Concentrations of ions were when table salt samples were dissolved to 100 mg/l with water.

3. 4 唾液中の主要無機成分の同時分析

生体試料中のイオン分析を行う際、糖、有機酸、アミノ酸、タンパク質、脂質等のマトリックスの影響が懸念される。特に、タンパク質は、陽イオン交換樹脂に静電的あるいは疎水的相互作用により吸着し、分析結果に大きな影響を与える。実際の高濃度のリゾチウムやアミラーゼを含む唾液試料を注入し、5.5 mM 酒石酸と3 mM 18-クラウン-6溶液によるイオン排除/陽イオン交換分離を行ったところ、タンパクマトリックスの吸着と思われるピーク形状の減少、溶出時間の長期化が見られた。

そこで、本研究では、イオン成分の溶出挙動を維持しながら高分子のマトリックスの吸着を防ぐため、タンパクあるいは脂質に可溶化能を有する非イオン性界面活性剤及び両イオン性界面活性剤を臨界ミセル濃度以下で溶離液に添加した。その結果、非イオン性界面活性剤である0.1 mM Brji35を添加した場合は、イオン交換作用が失活され、全体の分離能が極端に低下した。一方、両イオン性界面活性剤である1 mM CHAPSを添加した際は、陰イオン及び陽イオンの溶出挙動に影響を与えることなく、連続繰り返し測定(20回)においても再現性(ピーク面積0.3 ~ 5.1%)のある分析結果が得られた。このように、高分子マトリックスに対して高い可溶化能を有する両イオン性界面活性剤を溶離液に導入することによって、簡便・迅速な主要イオン成分の分離分析が可能となった。

Fig. 4 は、1 mM CHAPS、5.5 mM 酒石酸そして7 mM 18-crown-6の混合溶液を溶離液としたときの喫煙者と非喫煙者からのそれぞれ唾液試料の無機成分の測定結果を示す。これより、喫煙者の唾液中のチオシアン酸イオンの濃度が非喫煙者のものと比べ明らかに高いことが分かる。チオシアン酸イオンは、口内の抗菌や解毒等に関連

するイオンであり、特に喫煙者の唾液中には高濃度で存在していることが知られている^[10]。**Table 4** は、本法によって測定された無機成分の定量結果を示したものである。チオシアン酸イオン以外にも、唾液中のナトリウムイオンとカリウムイオンの濃度比は、人の健康状態を確かめる重要な管理パラメーターとなっている^[11]。このように、本法は、代謝機能に重要な唾液中の無機成分の濃度変化について複数の情報を提供することができる。

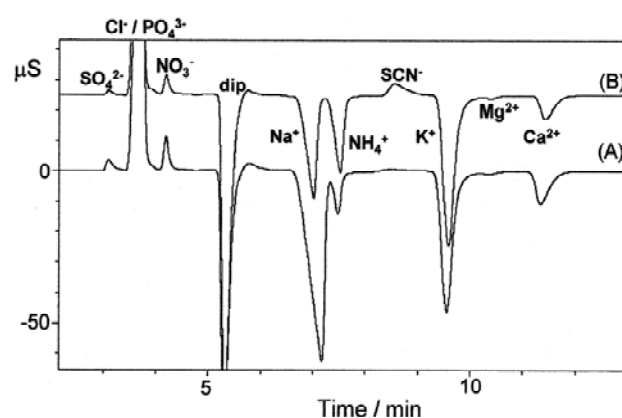


Fig. 4 Separation of inorganic ions in human saliva sample on ion-exclusion/CEC by elution with 5.5 mM tartaric acid, 7 mM 18-crown-6 and 1 mM CHAPS. Column: column IV (0.1 meq./ml-capacity). Saliva sample: (A) 1 (non-smoker) and (B) 3 (smoker) (see **Table 3**)

3. 5 食品試料中のイオン性成分の同時分析

イオン排除/陽イオン交換型 IC では、陰イオン、溶離液ディップ(システムピーク)、陽イオンの順に溶出される。このとき、糖、有機酸、アミノ酸、アルコール等の多くは、溶離液ディップの領域に溶出される^[12]。従って、これらの溶離ディップに溶出する成分をマトリックスとして含有する試料、主に食品中のイオン分析にも本法が適用可能である

Table 4 Concentrations of inorganic ions in real human saliva samples

Sample	Concentration (mM)							
	SO ₄ ²⁻	NO ₃ ⁻	SCN ⁻	Na ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺
1 Non-smoker	0.26	1.22	0.17	26.6	7.2	10.9	0.09	2.1
2 Non-smoker	0.28	0.83	0.37	15.7	7.8	11.5	0.06	2.24
3 Smoker	0.23	0.52	1.64	6.7	10.4	19.9	0.12	2.18
4 Smoker	0.21	0.82	0.69	10.9	6.5	13.5	0.09	1.85

* Sample 5-before was saliva “before smoking” and 5-after was “after smoking”.

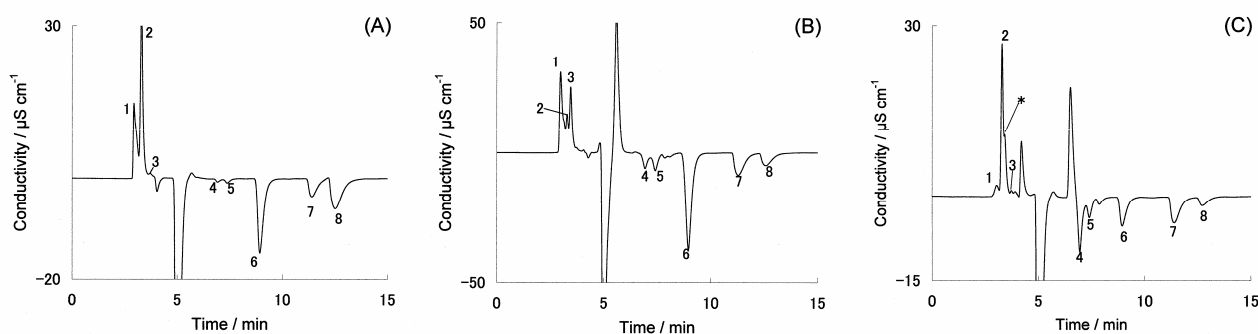


Fig. 5 Ion chromatograms of anions and cations in (A) brown sugar, (B) red wine and (C) rice vinegar. Sample preparations: A was dissolved to 5 g/l with water; and B and C were diluted to 10- and 25-fold with water, respectively. Eluent: 5.5 mM tartaric acid/3 mM 18-crown-6. Column: column IV (0.10 meq./ml-capacity). Peaks: 1 = SO₄²⁻, 2 = Cl⁻, 3 = NO₃⁻, * = PO₄³⁻, 4 = Na⁺, 5 = NH₄⁺, 6 = K⁺, 7 = Mg²⁺, and 8 = Ca²⁺.

と考えられる。ここでは、市販されている黒砂糖、米酢、赤ワイン中の無機イオン性成分の同時分析を行った。**Fig. 5**に示されるように、いずれの試料からも種々なマトリックス成分に妨害されることなく硫酸、塩化物、ナトリウム、カリウム、マグネシウム、カルシウムイオンの分離定量することができた。また、赤ワイン及び米酢中には、リン酸イオンと思われるピークも確認することができたが、塩化物イオンとのベースライン分離が達成されず、標準添加法による回収率も約60%程度であったため、十分な定量結果を得ることができなかった。

さらに、赤ワインのイオン分析では溶離液ディップ付近(**Fig. 5B**)に、米酢ではナトリウムイオンのピークの直前(**Fig. 5C**)に有機酸と思われる大きなピークが検出された。赤ワインには、クエン酸、コハク酸、リンゴ酸等が含まれており、米酢には先述の有機酸のほかに酢酸イオンが多く含まれているため、これらが同時に検出されたと推測される。ただし、これらの有機酸の存在による影響は見られず、塩化物イオンを除く主要無機成分の標準添加法による回収率は88%～97%の範囲となり、良好な分析結果を得る

ことができた。

4. まとめ

以上、本法は、陽イオン交換樹脂の最適化、並びに溶離液への両イオン性界面活性剤の添加により、海水、食品、唾液といった様々なマトリックスを含む試料中の主要陰イオンおよび陽イオンの同時分析に対応可能であることを示した。本法では、固形物除去や希釈のみで煩雑な前処理を行わずに試料を注入し、測定できる特徴を有するが、さらに前処理法を導入することによって、より高精度な測定が可能であると共にカラムに充填されたイオン交換樹脂の寿命を長期化することができると考えられる。

今後、この研究成果が環境分野だけでなく、上述の無機成分の計測が重要な生化学分野や食品分野等に展開することを期待している。

謝辞

実験の補助をしていただいた東ソー株式会社バイオサイエンス事業部に深謝いたします。本研究は、(財)ソルト

サイエンス研究財団、助成番号 0618 で行われたものであり、ここに謝意を表します。

参考文献

- [1] a) JISK0400-35-40; b) 水質基準に関する省令の制定及び水道法施工規則の一部改正等並びに水道水質管理における留意事項について(健水発第1010001号); c) 水質基準に関する省令の制定及び水道法施行規則の一部改正等について(健水発第1010004号)
- [2] K. Tanaka, K. Ohta, J.S. Fritz, S. Matsushita, A. Miyanaga, *J. Chromatogr. A*, **671** (1994) 239 - 248.
- [3] S-M. Kwon, K-P. Lee, K. Ohta, K. Tanaka, *J. Chromatogr. A*, **850** (1999) 79 - 84.
- [4] K. Tanaka, K. Ohta, P.R. Haddad, J.S. Fritz, W. Hu, K. Hasebe, A. Miyanaga, *J. Chromatogr. A*, **884** (2000) 167 - 174.
- [5] M. Mori, K. Tanaka, M.I.H. Helaleh, Q. Xu, M. Ikedo, Y. Ogura, S. Sato, W. Hu, K. Hasebe, P.R. Haddad, *J. Chromatogr. A*, **997** (2003) 219 - 224.
- [6] K. Idera, M. Koga, Y. Hirano, M. Mori, K. Tanaka, “On-site water quality monitoring using a portable-type ion chromatograph” Japan-China-Korea Joint Symposium on Ion Chromatography, 2004・Kasugai in Japan.
- [7] W. Hu, P. R. Haddad, K. Hasebe, K. Tanaka, P. Tong, C. Khoo, *Anal. Chem.*, **71** (1999) 1617 - 1620.
- [8] K. Tanaka, H. Chikara, W. Hu, K. Hasebe, *J. Chromatogr. A*, **850** (1999) 229 - 238.
- [9] M. Mori, M. Ikedo, W. Hu, M. I.H. Helaleh, Q. Xu, H. Itabashi, K. Tanaka, *J. Chromatogr. A*, **1092** (2005) 250 - 253.
- [10] W. Hu, H. Haraguchi, *Anal. Chim. Acta*, **285** (1994) 335 - 341.
- [11] a) A. B. Bendtsen, E. H. Hansen, *Analyst*, **16** (1991) 647 - 651; b) Y. Michigami, K. Fujii, K. Ueda, Y. Yamamoto, *Analyst*, **117** (1992) 1855 - 1858; c) X. Cai, Z. Zhao, *Anal. Chim. Acta*, **212** (1988) 43 - 48.
- [12] 多田芳光, 佐藤真治, 植田幹夫, 三苫惠民, 杉本忠則, 田中一彦, 第20回イオンクロマトグラフィー討論会講演要旨集(2003) 62 - 63.

No. 0618

Development of Simultaneous Analytical Method of Common Inorganic Species in Saline Water Samples

Masanobu Mori, Hideyuki Itabashi

Faculty of Engineering, Graduate School of Gunma University

Summary

We developed simultaneous determination method of common inorganic anions and cations in various matrix-containing samples such as saline water or biological samples. The method is based on penetration for anions and cation-exchange for cations to a weakly acidic cation-exchange resin in a single column with weak acid as eluent. This has been called ion-exclusion/cation-exchange chromatography (ion-exclusion / CEC). In this project, we must consider either ion-exchange resin or eluent conditions corresponding to ion analysis of saline and biological samples, in terms of resolution of anions and cations, proteins or lipid adsorption to the resin, etc. Through this study, an optimum column conditions was a polymethacrylate-based weakly acidic cation-exchange column with 3 μm -particle and 0.1 meq./ml-capacity, in terms of peak resolutions. It was possible to successfully determine SO_4^{2-} , K^+ , Mg^{2+} and Ca^{2+} from high concentration of Cl^- and Na^+ in saline water. In contrast, ion analysis in biological samples such as saliva was required to suppress adsorptions of large organic matrices, e.g., proteins or lipids, to the resin phase. The reproducible separations of anions and cations were obtained by addition of bile salt-type zwitterionic surfactant, CHAPS, into the elution with 5.5 mM tartaric acid / 3 mM 18-crown-6. Consequently, the combination of the resin and the eluent optimized was useful for the direct determination of common ions not only in human's mixed saliva but also in several food samples.