

## 吸光度検出イオンクロマトグラフィー による輸液中の無機イオンの定量

石川雅章<sup>①</sup>, 山本政利, 増井俊夫\*,  
早川和一, 宮崎元一\*\*, 中澤裕之,  
藤田昌彦\*\*\*

(1985年10月4日受理)

### 1 緒 言

輸液中には各種の無機イオンが体液の浸透圧維持や電解質の補給などの目的で処方されている。これらの無機イオンの定量は、 $\text{Na}^+$  及び  $\text{K}^+$  はフレイム光度法<sup>1)</sup> や原子吸光光度法<sup>2)</sup> で、 $\text{Mg}^{2+}$  及び  $\text{Ca}^{2+}$  は EDTA による滴定法<sup>3)4)</sup> で、又、 $\text{Cl}^-$  は硝酸銀による滴定法<sup>5)</sup> など、それぞれ行われている。しかし、これらの方法は操作が煩雑であるため、多数の検体を対象とする日常分析法としては不適當である。

ところで無機イオンの一斉分析法として電導度検出器を用いたイオンクロマトグラフィーが 1975 年 Small<sup>6)</sup> により報告され、現在各方面で頻りに利用されている。又、最近このイオンクロマトグラフィーの検出器として一般の高速液体クロマトグラフィーにおいて繁用されている紫外吸収検出器を用いた吸光度検出イオンクロマトグラフィー (PIC) が開発され<sup>7)8)</sup>、無機イオンやカルボン酸の分析条件の基礎的検討<sup>9)10)</sup> が行われて、環境や食品分野の分析に応用されている<sup>11)12)</sup>。又、PIC は従来の電気伝導度検出方式に比べ、1) 維持管理の面倒なサブレッサーが不要、2) 温度による感度変化が少ない、3) 検出器の利用範囲が広いなどの点で優れている。

そこで今回この PIC を用いて輸液中の無機イオンの定量を試みた。

### 2 実 験

#### 2.1 試 薬

無機イオンの標準液には和光純薬工業製特級品の塩化

\* 静岡県衛生環境センター：420 静岡県静岡市北安東 4-27-2

\*\* 金沢大学薬学部衛生化学教室：920 石川県金沢市宝町 13-1

\*\*\* 厚生省国立公衆衛生院：108 東京都港区白金台 4-6-1

ナトリウム、塩化カリウム、塩化マグネシウム、塩化カルシウム、リン酸一カリウム及び硫酸ナトリウムを水に溶かして 1000  $\mu\text{g}/\text{ml}$  水溶液を調製し、所定の濃度に希釈して用いた。水は脱イオン蒸留水を用いた。又その他の試薬はすべて市販特級品を用いた。

#### 2.2 装 置

高速液体クロマトグラフは、ポンプに日立製 635 型、検出器に応用分光製 Uvilog-8 型又は島津製 SPD-2A 型、オートサンプラーに協和精密製 KSST-601 型、データ処理装置にシックインスツルメンツ製 sic 7000A 型を組み合わせたものを用いた。

#### 2.3 測定条件

陽イオンの分離には応用分光製 ASC-4000 カラム (4.6 mm i.d.  $\times$  250 mm) を用い、カラム温度は室温、移動相は  $\text{Na}^+$  及び  $\text{K}^+$  の定量の場合は  $1 \times 10^{-4} \text{M}$  硫酸銅、 $\text{Mg}^{2+}$  及び  $\text{Ca}^{2+}$  の定量の場合は  $2 \times 10^{-3} \text{M}$  硫酸銅とした。流速は 1.5 ml/min、検出波長は 220 nm とした。又、陰イオンの分離には応用分光製 ASA-4000 カラム (4.6 mm i.d.  $\times$  250 mm) を用い、カラム温度は室温、移動相は  $1 \times 10^{-3} \text{M}$  フタル酸二ナトリウム (1 M 水酸化ナトリウムで pH 10 に調整)、流速は 1.5 ml/min、検出波長は 260 nm とした。

#### 2.4 実験操作

試料を水で 1~200 倍に希釈してメンブランフィルター (0.5  $\mu\text{m}$ ) で濾過した後、その一定量について PIC を行い、ピーク面積を測定し、あらかじめ作成した検量線より含有量を算出した。

### 3 結果及び考察

#### 3.1 分離条件の検討

輸液中に処方されている陽イオンの定量は、ポーラスポリマーにスルホン酸基を結合させた陽イオン交換樹脂を充てんした応用分光製 ASC-4000 を分離カラムとし、220 nm に吸収を有する硫酸銅の水溶液を移動相に用いて検討した。その結果、硫酸銅の濃度が  $2 \times 10^{-3} \text{M}$  では 2 価陽イオンである  $\text{Mg}^{2+}$  及び  $\text{Ca}^{2+}$  の分離は良好であったが、1 価の  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$  の分離が不十分で、しかも  $\text{Na}^+$  より前に負ピーク (吸光度の増加) が出現して定量を妨害した。そこで移動相に  $1 \times 10^{-4} \text{M}$  の硫酸銅を用いたところ、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$  が良好に分離し、負ピークの影響を受けずに  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$  を定量することが可能となった。この条件では  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$  よりかなり遅れて  $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$  が溶出してくるが、処方量が少ないことからベースラインの変動や妨害ピークは認められず、 $\text{Na}^+$ 、

$K^+$  の定量に影響はなかった。従って陽イオンの定量にはこの2種類の移動相を用いることとした。新谷ら<sup>13)</sup>は移動相に  $0.75 \times 10^{-3} M$  硫酸銅及び  $0.75 \times 10^{-3} M$  硫酸コバルトの混液を用いて血清中の1価及び2価陽イオンの同時定量を行っているが、この条件でもやはり  $Na^+$  より前に負ピークが出現するため、輸液の分析の場合には更に検討が必要と思われる。

次に陰イオンの分析はポーラスポリマーに4級アンモニウム基を結合させた陰イオン交換樹脂を充てんした応用分光製 ASA-4000 カラムを分離カラムとし、移動相に  $1 \times 10^{-3} M$  フタル酸二ナトリウムを用いたところ、輸液に処方されている  $Cl^-$ 、 $PO_4^{3-}$  及び  $SO_4^{2-}$  を良好に分離することができた。

### 3.2 検量線

各イオンの検量線の濃度範囲は輸液に処方されている濃度を考慮し、 $Na^+$ 、 $K^+$  ( $5 \sim 25 \mu g/ml$ )、 $Mg^{2+}$  ( $10 \sim 70 \mu g/ml$ )、 $Ca^{2+}$  ( $30 \sim 300 \mu g/ml$ )、 $Cl^-$  ( $10 \sim 50 \mu g/ml$ ) 及び  $PO_4^{3-}$ 、 $SO_4^{2-}$  ( $50 \sim 250 \mu g/ml$ ) にそれぞれ設定した。

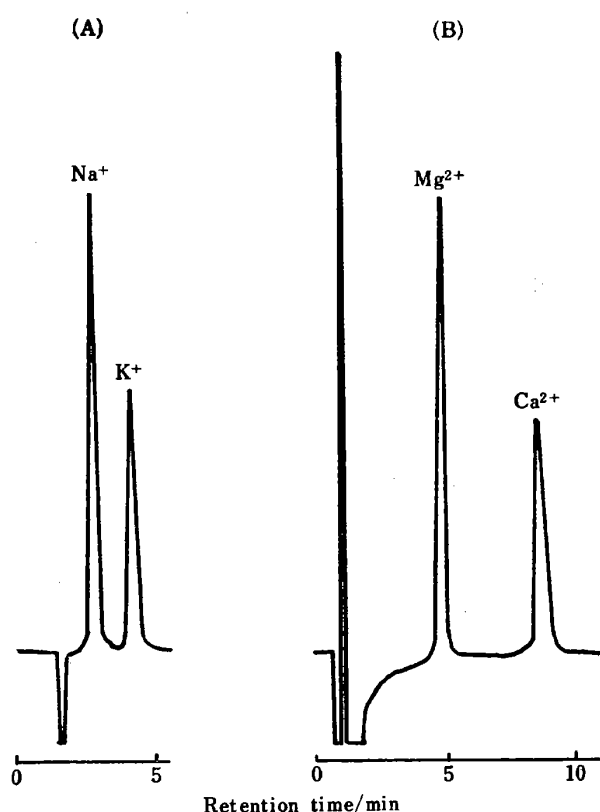


Fig. 1 Typical chromatograms of cations in a commercial infusion

Column: Ōyōbunkō ASC-4000 column (4.6 mm i.d.  $\times$  250 mm); Column temperature: room temperature; Eluent: (A)  $1 \times 10^{-4} M$  copper(II) sulfate, (B)  $2 \times 10^{-3} M$  copper(II) sulfate; Flow rate: 1.5 ml/min; Detection: 220 nm

又、各イオンとも高濃度になるとピーク高さよりピーク面積で測定するほうが相関係数が大きく (いずれも  $r = 0.9993$  以上)、直線性が良好であったので定量にはピーク面積法を用いることにした。

### 3.3 繰り返し精度

市販の輸液を本法により5回繰り返し分析したところ各イオンの定量値の相対標準偏差 (R.S.D.) はいずれも 2.0% 以下と良好であった。

### 3.4 市販輸液の分析

本法により分析した市販輸液中の陽イオンのクロマトグラムを Fig. 1 に示したが、1価及び2価の陽イオンとも有機酸や糖の処方された製剤でも妨害もなく良好なクロマトグラムが得られた。又、陰イオンのクロマトグラムを Fig. 2 に示したが陽イオンの場合と同様良好な結果が得られた。

生理食塩水、乳酸リンゲルなどの電解質輸液及び糖を含有する栄養輸液 10 検体を本法により定量し、その結果を Table 1 及び 2 に示した。各イオンがほぼ同濃度

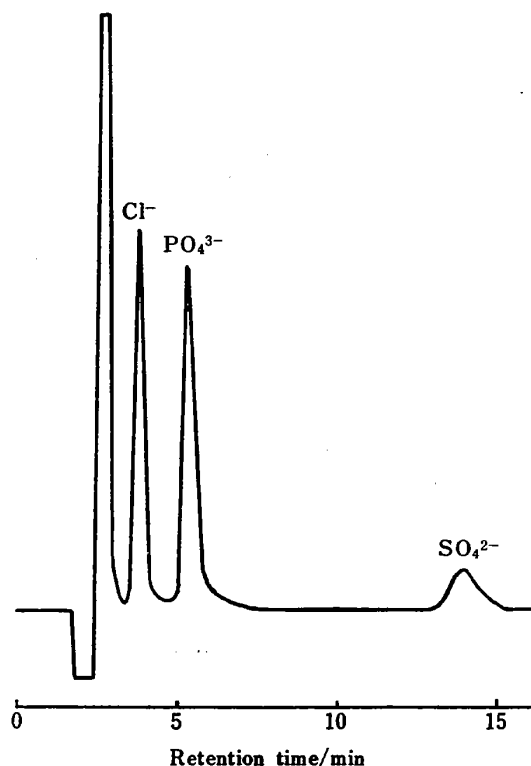


Fig. 2 Typical chromatogram of anions in a commercial infusion

Column: Ōyōbunkō ASA-4000 column (4.6 mm i.d.  $\times$  250 mm); Column temperature: room temperature; Eluent:  $1 \times 10^{-3} M$  disodium phthalate (pH 10); Flow rate: 1.5 ml/min; Detection: 260 nm

Table 1 Determination of cations in commercial infusions

No.	Found, ppm			
	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Ca <sup>2+</sup>
1	3524 (99.5) <sup>a)</sup>	—	—	—
2	—	40120(102.1)	—	—
3	3040(100.9)	* <sup>b)</sup>	—	69(115.7)
4	3257(102.6)	*	17 (97.2)	78(103.1)
5	—	1730(103.6)	176(103.5)	262(108.4)
6	1413 (98.1)	1450 (99.3)	94(104.0)	—
7	2903 (97.1)	*	—	58 (96.3)
8	2963 (99.1)	*	—	56 (93.5)
9	1870 (96.8)	777 (99.6)	—	—
10	1170(101.7)	781(100.1)	—	—

a) percent of declared, b) unmeasurable by the interference with large Na<sup>+</sup> peak

Table 2 Determination of anions in commercial infusions

No.	Found, ppm		
	Cl <sup>-</sup>	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>
1	5843 (108.4) <sup>a)</sup>	—	—
2	35406 (100.4)	—	—
3	3850 (100.0)	—	—
4	3854 (102.9)	—	—
5	—	—	687 (100.2)
6	645 (105.7)	2027 (106.7)	448 (124.4)
7	3819 (100.1)	—	—
8	3819 (100.1)	—	—
9	2160 (93.5)	* <sup>b)</sup>	—
10	1734 (99.1)	—	—

a) percent of declared, b) unmeasurable by the interference with large Cl<sup>-</sup> peak

処方されている場合は良好に分離し満足すべき結果が得られた。しかし、K<sup>+</sup> に比べて Na<sup>+</sup> が 20~40 倍高濃度処方されている場合や PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> に比べて Cl<sup>-</sup> が高濃度処方されている場合には、これらの分離が不十分となり正確な定量が困難であることが分かった。この点については更に検討を要する。

以上、輸液中に処方されている無機イオン Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Cl<sup>-</sup>, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> 及び SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> の定量に PIC を適用することにより、試料を水で希釈する簡単な前処理操作だけで糖や有機酸の妨害を受けず良好に定量できることが明らかとなった。一般の高速液体クロマトグラフを用い得るのは PIC の大きな利点であり、これにより容易に又、従来の分析法に比べて迅速かつ精度よく定量することができた。

(1985年4月, 日本薬学会)  
第105年会において一部発表

## 文 献

- 1) 高原喜八郎: 臨床検査, **29**, 162 (1985).
- 2) 田村善蔵, 由枝英剛: “生化学分析法”, p. 1 (1984), (南江堂).
- 3) 井上哲男: “医薬品・製剤の分析”, p. 203 (1975), (地人書館).
- 4) 野本昭三, 下里文子: 臨床検査, **29**, 511 (1985).
- 5) JIS K 0102, 工場排水試験方法 (1981).
- 6) H. Small, T. S. Stevens, W. C. Bauman: *Anal. Chem.*, **47**, 1801 (1975).
- 7) H. Small, T. E. Miller, Jr.: *Anal. Chem.*, **54**, 462 (1982).
- 8) 早川和一, 平木博美, 宮崎元一: 分化, **32**, 504 (1983).
- 9) M. Miyazaki, K. Hayakawa, S. Choi: *J. Chromatogr.*, **323**, 443 (1985).
- 10) 吉田育世, 早川和一, 宮崎元一: 衛生化学, **31**, 317 (1985).
- 11) 早川和一, 蛸名令子, 松本美枝子, 宮崎元一: 分化, **33**, 390 (1984).
- 12) 山本 敦, 松永明信, 関口久義, 早川和一, 宮崎元一: 衛生化学, **31**, 47 (1985).
- 13) 新谷英晴, 辻 楠雄, 大場琢磨: 分化, **34**, 109 (1985).

☆

#### Determination of inorganic ions in aqueous infusions by photometric ion chromatography.

Masaaki ISHIKAWA, Masatoshi YAMAMOTO, Toshio MASUI\*, Kazuichi HAYAKAWA, Motoichi MIYAZAKI\*\*, Hiroyuki NAKAZAWA and Masahiko FUJITA\*\*\* (\*Shizuoka Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science, 4-27-2, Kitaando, Shizuoka-shi, Shizuoka 420; \*\*Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kanazawa University, 13-1, Takara-machi, Kanazawa-shi, Ishikawa 920; \*\*\*The Institute of Public Health, 4-6-1, Shirokanedai, Minato-ku, Tokyo 108)

Determination of inorganic ions in aqueous infusions was studied by photometric ion chromatography (PIC) using a conventional HPLC system equipped with a UV monitor. Inorganic cations (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup> and Ca<sup>2+</sup>) could be separated on a strong cation exchange column, Öyöbunkō ASC-4000 column (4.6 mm i.d. × 250 mm), with 1 × 10<sup>-4</sup> M CuSO<sub>4</sub> for Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> and 2 × 10<sup>-3</sup> M CuSO<sub>4</sub> for Mg<sup>2+</sup>, Ca<sup>2+</sup> as eluents, and detected at 220 nm. Inorganic anions (Cl<sup>-</sup>, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> and SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) could be separated on a strong anion exchange column, Öyöbunkō ASA-4000 column (4.6 mm i.d. × 250 mm), with 1 × 10<sup>-3</sup> M disodium phthalate (pH 10) as an eluent, and detected at 260 nm. A sample solution was simply diluted with distilled water, and could be analyzed by PIC. Relative standard deviations (n=5) for above ions in a commercial infusion were below 2.0%.

(Received October 4, 1985)

#### Keyword phrases

photometric ion chromatography; inorganic anions and cations in aqueous infusions; high performance liquid chromatography system using ion exchange column.