

原 著

## 高速液体クロマトグラフ法による牛乳および 乳飲料中のナトリウム，カリウム，マグネシウム， カルシウムイオンの同時測定

楊井理恵\*<sup>1</sup> 角田佳代\*<sup>2</sup> 藤井俊子\*<sup>3</sup>

### 要 約

ナトリウム，カリウム，マグネシウム，カルシウムイオンを同時測定する方法として，簡易で迅速に測定できる高速液体クロマトグラフ法 (HPLC) について報告する。

方法：分析カラムは，TSKgel Super IC-Cation( 4.6 mm i.d.×150 mm L.，TOSOH 製)を用い，移動相は0.75 mM 硫酸，0.25 mM 硫酸銅( II) 溶液( pH 2.6)，間接紫外外部 UV 法により230 nm で測定を行った。標準溶液の分析法バリデーションは，保持時間，ピーク面積を用いて，併行精度，室内再現精度，検出限界濃度，直線性，添加回収実験を実施した。

結果：4つの金属イオンは10分以内に同時分析できることが認められた。各イオンの併行精度は相対変動係数が2%以内，室内再現精度は5%以内を示した。検出限界濃度(  $\mu\text{g l}^{-1}$ ) は， $\text{Na}^+$ ，4.6； $\text{K}^+$ ，2.3； $\text{Mg}^{2+}$ ，2.1； $\text{Ca}^{2+}$ ，1.4であった。検量線は0.5~20.0  $\text{mg l}^{-1}$  の濃度範囲で，4つのイオンは良好な直線性を示した(  $r > 0.998$ )。添加回収率は添加濃度2.0  $\text{mg l}^{-1}$  で4つの金属イオンすべてにおいてほぼ100%を示した。

本 HPLC 法を用いて，20品目の牛乳および乳飲料中の4つのイオンを測定した。実測平均濃度±標準偏差(  $\text{mg l}^{-1}$ ) を見ると， $\text{Na}^+$  は $451 \pm 212$ ， $\text{Ca}^{2+}$  は $1206 \pm 551$ であった。これらの試料の実測濃度と表示濃度を比較した。

本 HPLC 法は，牛乳および乳飲料中のナトリウム，カリウム，マグネシウム，カルシウムイオンを同時分析する方法として，煩雑な前処理の必要のない，簡易で迅速な分析法であることが認められた。

### 緒 言

平成15年国民健康・栄養調査結果<sup>1)</sup>によると，カルシウムの平均摂取量は20歳以上で通常の食品を摂取する(すなわち，補助食品等を摂取しない)場合は518 mgで，食事摂取基準の目標量( 600 mg<sup>2)</sup>)を下回っており，カルシウムは摂取不測についての配慮が必要なミネラルである。一方，補助食品等からカルシウムを摂取している者は平成15年度調査では2.9%で，食生活や栄養素摂取の多様化に伴ってカルシウム強化食品やサプリメントで不足分を補う傾向にあり，今後，補助食品等からのカルシウムの摂取量( 顆粒，錠剤，カプセル，ドリンク状の製品からの摂取量及び通常の食品に強化されている部分

からの摂取量)は増加するものと考えられる。その場合，カルシウムの過剰摂取によって起きる健康障害( 泌尿器系結石，ミルクアルカリ症候群，高カルシウム血症，他のミネラルの吸収障害など)を考慮すると，カルシウムは過剰摂取についても配慮が必要なミネラルである。現行では，カルシウムの許容上限摂取量は18歳以上で1日2,300 mg<sup>2)</sup>と定められているが，カルシウムの濃度が2,600  $\text{mg l}^{-1}$  の乳飲料も市販されており，摂取量によっては許容上限摂取量を超える場合も考えられる。

次に，ナトリウムの平均摂取量は平成15年現在，1日11.2 g<sup>3)</sup>であり，目標量( 食塩相当量)の男性10 g未滿，女性8 g未滿を上回っている<sup>4)</sup>。食塩摂取量は平成7年以降年々減少傾向にあるものの，ナ

\*1 山口県立大学 生活科学部 栄養学科 \*2 川崎医療福祉大学大学院 医療技術学研究科 臨床栄養学専攻

\*3 川崎医療福祉大学 医療技術学部 臨床栄養学科

(連絡先) 楊井理恵 〒753-8502 山口県山口市桜島3丁目2-1 山口県立大学

E-Mail: yanai@yamaguchi-pu.ac.jp

トリウムは日本人の食事の中で過剰に摂取しがちなミネラルであるので、高血圧、がん等の一次予防の目的からも過剰摂取への対策を必要としている。

このように、摂取不足や過剰摂取が懸念されるミネラルについては、食品や飲料中のミネラル量を的確に把握する必要があり、そのためには簡易で迅速な測定法の確立が必要である。食品成分表に記載されている食品中の無機質の測定法は、ナトリウムとカリウムは原子吸光法、カルシウムとマグネシウムは干渉抑制剤添加・原子吸光法で測定されている<sup>5)</sup>。原子吸光法では試料の前処理が複雑であり、1分析に5~6時間を要する。近年では、キャピラリー電気泳動法(HPCE)を用いて金属イオン測定法に関する研究が行われはじめており<sup>6-13)</sup>、牛乳<sup>8)</sup>、ミネラルウォーター<sup>9-12)</sup>、水道水<sup>10-13)</sup>、リンゴ酢<sup>9)</sup>、オレンジジュース<sup>13)</sup>中のナトリウムイオン( $\text{Na}^+$ )、カリウムイオン( $\text{K}^+$ )、マグネシウムイオン( $\text{Mg}^{2+}$ )およびカルシウムイオン( $\text{Ca}^{2+}$ )の濃度について報告されている。高速液体クロマトグラフ法(HPLC)では、酸性雨中の陰イオン( $\text{Cl}^-$ 、 $\text{NO}_3^-$ および $\text{SO}_4^{2-}$ )および陽イオン( $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ および $\text{Ca}^{2+}$ )の同時測定について、弱酸型陽イオン交換カラムを用いた報告が見られた<sup>14-18)</sup>。小倉ら<sup>19)</sup>は、陰イオン・陽イオン同時分析カラムを用いてミネラルウォーター中の陰イオンおよび陽イオンを同時分析しているが、この場合1分析に約20分を要している。

本研究では、最近開発された陽イオン分析カラムを用いて、生体試料及び食品中の主要ミネラルである $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ および $\text{Ca}^{2+}$ の同時分析をHPLC法で試行する目的で、先ず $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ および $\text{Ca}^{2+}$ の標準混合溶液の分析法バリデーションを実施した。次に、牛乳および乳飲料のうちカルシウムの表示がある20品目の試料(特定保健用食品1品目、栄養機能食品3品目、通常食品17品目)について、4つの金属イオンの濃度を測定した。牛乳や乳飲料中の $\text{Ca}^{2+}$ は牛乳タンパク質であるカゼインと結合し安定なカゼインミセルとしてコロイド状に分散しているため、前処理として除タンパク操作が必要である。本研究では、酢酸を用いての徐タンパクを行った。試料20品目中の4つの金属イオンのうち、 $\text{Na}^+$ と $\text{Ca}^{2+}$ は濃度表示があったので、実測値と平均値の差について検討した。

## 方 法

### 1. 試薬および試薬調製法

ナトリウムイオン( $\text{Na}^+$ )、カリウムイオン( $\text{K}^+$ )、マグネシウムイオン( $\text{Mg}^{2+}$ )およびカルシウムイ

オン( $\text{Ca}^{2+}$ )の $1,000 \text{ mg } \ell^{-1}$ (ppm)標準溶液は、和光純薬工業株式会社製を用いた。超純水(比抵抗値 $18.2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$ )は、超純水製造装置(ミリポア、Elix 5 UV)から採取したものをを用いた。移動相に用いた蒸留水、 $0.1 \text{ mol } \ell^{-1}$ 硫酸、硫酸銅(II)は和光純薬株式会社製を使用した。

標準溶液は、上記の各金属イオンの $1,000 \text{ mg } \ell^{-1}$ 標準溶液を超純水を用いて、先ず、各 $100 \text{ mg } \ell^{-1}$ の標準混合溶液を調製した。この $100 \text{ mg } \ell^{-1}$ 標準混合溶液から超純水で $0.5 \sim 20.0 \text{ mg } \ell^{-1}$ の濃度になるように希釈し、メンブランフィルター(DISMIC-25、 $0.20 \mu\text{m}$ 、東洋濾紙株式会社製)を用いてろ過後、超音波洗浄器を用いて10分間脱気したものを分析に供した。

移動相は、蒸留水に $0.1 \text{ mol } \ell^{-1}$ 硫酸 $7.5 \text{ ml}$ 、硫酸銅(II) $39.90 \text{ mg}$ を加えて溶解し(pH 2.6)、 $1,000 \text{ ml}$ に定容した。

### 2. 試料および分析試料の調製法

試料の概要を表1に示す。

試料の調製は、試料 $10 \text{ ml}$ と超純水 $10 \text{ ml}$ をビーカーに取り、5%酢酸でpH 4.7に調整後、遠心分離( $3,000 \text{ r.p.m.}$ 、10分)した。上清をろ別し(ワットマン、No.2)、 $200 \mu\text{l}$ のろ液を超純水で $10 \text{ ml}$ に定容した(100倍希釈試料)。これをメンブランフィルターでろ過し、超音波洗浄器で10分脱気したものを分析に供した。

### 3. 分析装置と分析条件

#### 1) 分析装置

検出器 SPD-10Avp;送液ポンプ LC-10Adv;脱気装置 DGU-14A;カラムオープン CTO-10Avp;データ処理機、ワークステーション(CLASS-LC10);オートインジェクター、SIL-10Adv;コミュニケーションバスモジュール、CBM-10A;分析カラム、TSKgel Super IC-Cation(内径、 $4.6 \text{ mm}$ ;長さ、 $150 \text{ mm}$ ;TOSOH製)。

#### 2) 分析条件

測定温度、 $40$ ;測定波長、 $230 \text{ nm}$ ;注入量、 $20 \mu\text{l}$ ;流速、 $1.0 \text{ ml } \text{min}^{-1}$ 。

#### 4. 分析法バリデーション

分析法バリデーションのうち、併行精度、室内再現精度、検出限界、直線性および添加回収率を調べた。

##### 1) 併行精度(Repeatability)

短時間の間に同一条件下で測定する場合の精度を併行精度という。本研究では、各金属イオンが $10.0 \text{ mg } \ell^{-1}$ の標準混合溶液を、同一日に続けて10回分析し、保持時間、ピーク面積の相対変動係数(標準偏差/平均値 $\times 100$ 、Relative Standard Deviations、以下R.S.D.、%)で表した。

表1 試料の概要

試料 No.	種類	製造業者名	表示濃度 ( $\text{mg } \ell^{-1}$ )		1本当たりの 容量 ( $\text{m}\ell$ )
			$\text{Na}^+$	$\text{Ca}^{2+}$	
1.	牛乳	明治乳業KK	425	1,135	200
2.	乳飲料	明治乳業KK	580	2,600	200
3.	乳飲料	明治乳業KK	520	1,200	200
4. <sup>b</sup>	乳飲料	日本ミルクコミュニティKK	430	2,270	500
5.	乳飲料	日本ミルクコミュニティKK	411	1,100	180
6. <sup>b</sup>	乳飲料	日本ミルクコミュニティKK	257	2,333	300
7.	乳飲料	日本ミルクコミュニティKK	425	1,715	500
8.	乳飲料	日本ミルクコミュニティKK	365	1,245	200
9. <sup>b</sup>	乳飲料	オハヨー乳業KK	405	1,600	200
10. <sup>a</sup>	乳飲料	ネスレ・スノーKK	340	1,800	200
11.	乳飲料	森永乳業KK	663	1,104	240
12.	乳飲料	森永乳業KK	583	1,042	240
13.	乳飲料	森永乳業KK	235	650	200
14.	乳飲料	森永乳業KK	380	760	200
15.	乳飲料	蒜山酪農農業協同組合	260	900	180
16.	乳飲料	小岩井乳業KK	440	620	500
17.	乳飲料	小岩井乳業KK	310	715	200
18.	乳飲料	大山乳業農業協同組合	385	1,065	500
19.	乳飲料	大山乳業農業協同組合	315	660	200
20.	乳飲料	グリコ乳業KK	425	1,745	200

a, 特定保健用食品; b, 栄養機能食品.

## 2) 室内再現精度 (Intermediate precision)

同一施設内において、試験日、試験実施者、器具、機器等を変えて測定する場合の精度を室内再現精度という。本研究では、各金属イオンが $10.0 \text{ mg } \ell^{-1}$ の標準混合溶液を7日間1日1回 ( $n=3$ ) 分析し、保持時間、ピーク面積の R.S.D. で表した。

## 3) 検出限界 (Limits of detection)

試料中に存在する分析対象物の検出可能な最小濃度を検出限界濃度という。検出限界の設定には、シグナル対ベースラインノイズ比を $3 \sim 2:1$ とするのが一般的であるため、本研究ではベースラインにおけるノイズ面積の平均値の3倍値を用いた。

## 4) 直線性 (Linearity)

一定の濃度範囲内で試料中の分析対象物の濃度(量)と直線関係にある測定値を与える能力を調べた。本研究では、各金属イオンの濃度が $0.5, 1.0,$

$5.0, 10.0$ および $20.0 \text{ mg } \ell^{-1}$ の標準混合溶液についてピーク面積の測定値から求め、回帰直線と相関係数で示した。

## 5) 添加回収実験 (Analytical recovery)

添加回収率(%)は、添加後試料のピーク面積を添加前試料のピーク面積と標準混合溶液のピーク面積の和で除して百分率で表した。本研究では、試料 No. 1 に標準混合溶液(各 $2.0 \text{ mg } \ell^{-1}$ )を添加した。

添加後試料の調製法は、2倍希釈試料 $200 \mu\ell$ に各金属イオンが $100 \text{ mg } \ell^{-1}$ の標準混合溶液を $1,000 \mu\ell$ 加え、超純水で $10 \text{ ml}$ に定容した。これをメンブランフィルターでろ過し、超音波洗浄器で10分脱気したものを添加後試料として分析に供した。

## 5. 平均値の差の検定

4つの金属イオンのうち、試料には $\text{Na}^+$ と $\text{Ca}^{2+}$ の濃度表示があったので、試料中の $\text{Na}^+$ と $\text{Ca}^{2+}$ の

表示濃度と実測濃度の両群について，関連2群の平均値の差の検定<sup>20)</sup>を行った．

### 結果および考察

#### 1. 標準混合溶液のHPLCクロマトグラム

図1に金属イオン標準混合溶液(各10.0 mg l<sup>-1</sup>)のHPLCクロマトグラムを示した．

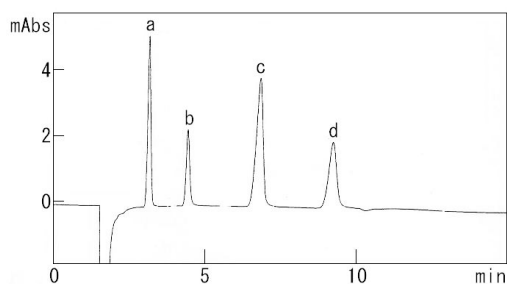


図1 標準混合溶液のHPLCクロマトグラム(各10.0 mg l<sup>-1</sup>)

a, Na<sup>+</sup>; b, K<sup>+</sup>; c, Mg<sup>2+</sup>; d, Ca<sup>2+</sup> .

保持時間の平均値±標準偏差(分)をピーク出現順にみると，Na<sup>+</sup>，3.2±0.003；K<sup>+</sup>，4.4±0.005；Mg<sup>2+</sup>，6.8±0.01；Ca<sup>2+</sup>，9.2±0.008であった．小倉らによるHPLCによる分析<sup>19)</sup>では1分析に20分を要したが，本法では4種類の金属イオンは10分以内に同時分析できることが認められた．

#### 2. 分析法バリデーション

##### 1) 併行精度と室内再現精度

併行精度を表2に，室内再現精度を表3に示した．

表2 併行精度

金属イオン	R. S. D. (%)	
	移行時間	ピーク面積
Na <sup>+</sup>	0.06	0.16
K <sup>+</sup>	0.05	1.03
Mg <sup>2+</sup>	0.03	0.50
Ca <sup>2+</sup>	0.02	0.12

各10.0 mg l<sup>-1</sup>標準混合溶液.

表3 室内再現精度

金属イオン	R. S. D. (%)	
	移行時間	ピーク面積
Na <sup>+</sup>	0.12	4.47
K <sup>+</sup>	0.19	4.47
Mg <sup>2+</sup>	0.44	2.22
Ca <sup>2+</sup>	0.44	4.83

各10.0 mg l<sup>-1</sup>標準混合溶液.

併行精度は，移行時間，ピーク面積のいずれにおいてもR.S.D.が2%以内となり，すべての金属イオンできわめて精度が高いことが認められた．室内再現精度は，移行時間，ピーク面積のいずれにおいてもR.S.D.が5%以内となった．

##### 2) 検出限界

表4に示したように，検出限界濃度(μg l<sup>-1</sup>)は，Na<sup>+</sup> 4.6；K<sup>+</sup> 2.3；Mg<sup>2+</sup> 2.1；Ca<sup>2+</sup> 1.4であった．

HPCEによる報告では，4つの金属イオンのすべてが100 μg l<sup>-1</sup><sup>9,11)</sup>，500~1,300 mg l<sup>-1</sup><sup>8)</sup>，および，20~120 mg l<sup>-1</sup><sup>12)</sup>等となっており，また，HPLCではNa<sup>+</sup> 19；K<sup>+</sup> 72；Mg<sup>2+</sup> 22；Ca<sup>2+</sup> 66であったので，本研究成績は検出限界濃度がこれらに比べてかなり低い値を示した．

表4 検出限界濃度

金属イオン	検出限界濃度
	(μg l <sup>-1</sup> )
Na <sup>+</sup>	4.6
K <sup>+</sup>	2.3
Mg <sup>2+</sup>	2.1
Ca <sup>2+</sup>	1.4

##### 3) 検量線

標準混合溶液の回帰直線と相関係数を表5に示した．

表5 回帰直線と相関係数

金属イオン	回帰直線	相関係数 (r)
Na <sup>+</sup>	y=3.8177x	0.9982
K <sup>+</sup>	y=2.0646x	0.9996
Mg <sup>2+</sup>	y=6.2239x	0.9999
Ca <sup>2+</sup>	y=3.9052x	0.9989

x, 濃度 (mg l<sup>-1</sup>) ; y, Area (mAbs×min)

濃度範囲, 0.5~20.0 mg l<sup>-1</sup>.

設定濃度範囲で各金属イオンのいずれも良好な直線性を示し，相関係数はすべてのイオンで0.998以上を示した．以後の試料中の金属イオン濃度これらの回帰直線を用いて測定した．

##### 4) 添加回収率

添加回収率(%)を表6に示した．

表6 添加回収率 (%)

金属イオン	添加回収率
Na <sup>+</sup>	100 ± 1.7
K <sup>+</sup>	98 ± 3.0
Mg <sup>2+</sup>	98 ± 2.4
Ca <sup>2+</sup>	96 ± 1.5

mean ± SD.

添加濃度2.0 mg ℓ<sup>-1</sup> の添加回収率は4つの金属イオンすべてにおいてほぼ100%を示した。

### 3. 試料の HPLC クロマトグラム

図2のAに市販牛乳の100倍希釈試料, Bに乳飲料の100倍希釈試料について HPLC クロマトグラムを示した。いずれの試料でも妨害ピークは認められず, 各金属イオンは同時分析が出来ることが認められた。

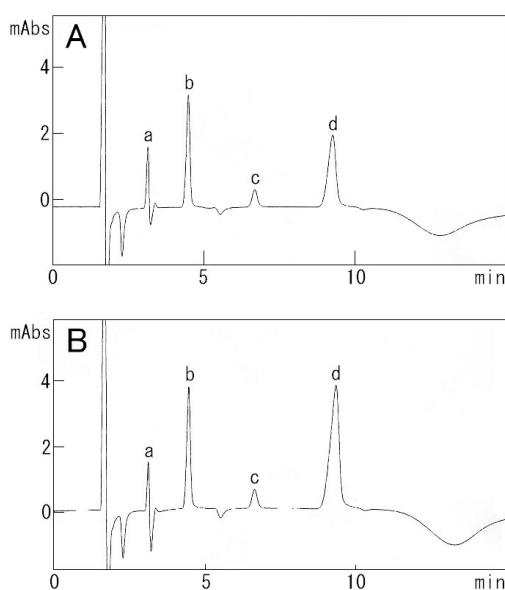


図2 100倍希釈試料の HPLC クロマトグラム  
A, 試料 No.1; B, 試料 No.9. a, Na<sup>+</sup>; b, K<sup>+</sup>; c, Mg<sup>2+</sup>; d, Ca<sup>2+</sup>.

### 4. 金属イオン濃度表示値と測定値の平均値の差の検定

試料中の Na<sup>+</sup> と Ca<sup>2+</sup> の表示濃度および実測濃度を表7に示した。

表示濃度と実測濃度における関連2群の平均値の差の検定を行った結果, Na<sup>+</sup> は両群に有意差が認められなかったが, Ca<sup>2+</sup> は実測濃度が表示濃度に対して有意に低いことが認められた (p < 0.05)。試料中の Na<sup>+</sup> と Ca<sup>2+</sup> の表示濃度と実測濃度を個別に比較したところ, Na<sup>+</sup> は表示濃度よりも実測濃度の

表7 試料の金属イオン濃度

試料 No.	Na <sup>+</sup>		Ca <sup>2+</sup>	
	表示濃度	実測濃度	表示濃度	実測濃度
1.	425	331	1,135	1,108
2.	580	312	2,600	2,397
3.	520	339	1,200	1,140
4.	430	555	2,270	2,261
5.	411	457	1,100	1,061
6.	257	345	2,333	2,043
7.	425	413	1,715	1,886
8.	365	406	1,245	1,106
9.	405	492	1,600	1,497
10.	340	378	1,800	1,427
11.	663	615	1,104	970
12.	583	1,193	1,042	962
13.	235	243	650	543
14.	380	303	760	734
15.	260	268	900	928
16.	440	531	620	568
17.	310	268	715	690
18.	385	378	1,065	1,013
19.	315	437	660	636
20.	425	311	1,745	1,156

濃度, mg ℓ<sup>-1</sup>.

方がかなり高いものがあった (No.12)。反対に, Ca<sup>2+</sup> は表示濃度よりも実測濃度が低いものがほとんどであった。

終わりに

摂取不足や過剰摂取が懸念されるミネラルについては, 消費者は食品や飲料中の表示に注目することが多い。本研究では, 摂取過剰が問題になっているナトリウムでは, 個別に見ると表示濃度よりも実測濃度の方がかなり高いものがあったが, 表示濃度と実測濃度で差が認められなかった。カルシウムは表示濃度が実測濃度よりも平均値では有意に高かった。これらのことから, 食品や飲料中の濃度を比較的簡易に測定できる方法の開発が望まれるので, 本 HPLC 法は有効であると考えられた。

本研究に御協力いただいた川崎医療福祉大学医療技術学部臨床栄養学科12期生大森美紀氏, 小宮聡美氏, 西原佑美氏に感謝します。

## 文 献

- 1) 厚生労働省健康局総務課生活習慣病対策室：平成15年国民健康・栄養調査結果の概要．臨床栄養，**10**(7)，972-973，2005．
- 2) 第一出版編集部編：厚生労働省策定 日本人の食事摂取基準(2005年版)．初版，第一出版株式会社，東京，135-143，2005．
- 3) 厚生労働省健康局総務課生活習慣病対策室：平成15年国民健康・栄養調査結果の概要．臨床栄養，**10**(7)，971-972，2005．
- 4) 第一出版編集部編：厚生労働省策定 日本人の食事摂取基準(2005年版)．初版，第一出版株式会社，東京，194-198，2005．
- 5) 香川芳子 監修；五訂食品成分表2002．初版，女子栄養大学出版部，東京，15，2002．
- 6) 本水昌二，森本浩司，桑原正良，小畑義光，泉国辰：キャピラリー電気泳動によるN，N'-ジ(2-ヒドロキシベンジル)エチレンジアミン-N，N'-二酢酸を用いる金属イオンの分離とカルシウム及びマグネシウムイオンの定量．分析化学，**42**，8-15，1993．
- 7) Qing Yang，Johanna Smeyers-Verbeke，Wen Wu，Mikhail S Knots and Desire L Massart：Simultaneous separation of ammonium and alkali，alkaline earth and transition metal ions in aqueous-organic media by capillary ion analysis．*Journal of Chromatography A*，**68**(1-2)，339-349，1994．
- 8) Hans Toepfer (Ed.)：New Cation Analysis Kit for CE．*Hewlett-Packard PEAK*，**2**，16-17，1999．
- 9) W Beck and H Engelhardt：Capillary electrophoresis of organic and inorganic cations with indirect UV detection．*Chromatographia*，**33**(7-8)，313-316，1992．
- 10) E Šimuničová，D Kaniansky and K Lokšáková：Separation of alkali and alkaline earth metal and ammonium cations by capillary zone electrophoresis with indirect UV absorbance detection．*Journal of Chromatography A*，**665**(1)，203-209，1994．
- 11) 佐藤康博：キャピラリー電気泳動による環境水試料の無機イオン分析．キャピラリー電気泳動ジャーナル CE アドバンス，59-62，2002．
- 12) 楊井理恵，河辺聡子，藤井俊子：飲用水中カリウム，ナトリウム，カルシウム，マグネシウムイオンのキャピラリー電気泳動法による同時分析．川崎医療福祉学会誌，**13**(1)，103-109，2003．
- 13) Andrea Weston，Phyllis R Brown，Allan L Heckenberg，Petr Jandik and William R Jones：Effect of electrolyte composition on the separation of inorganic metal cations by capillary ion electrophoresis．*Journal of Chromatography A*，**60**(1-2)，249-256，1992．
- 14) Kazuhiko Tanaka，Kazutoku Ohta，James S Fritz，Susumu Matsushita and Akiyoshi Miyanaga：Simultaneous ion-exclusion chromatography-cation-exchange chromatography with conductimetric detection of anions and cations in acid rain waters．*Journal of Chromatography A*，**671**(1-2)，239-248，1994．
- 15) K Tanaka，K Ohta，P R Haddad，J S Fritz，K-P Lee，K Hasebe，A Ieuji and A Miyanaga：Acid-rain monitoring in East Asia with a portable-type ion-exclusion-cation-exchange chromatographic analyzer．*Journal of Chromatography A*，**85**(1-2)，311-317，1999．
- 16) Kazuhiko Tanaka，Kazutoku Ohta，Paul R Haddad，James S Fritz，Akiyoshi Miyanaga，Wenzhi Hu and Kiyoshi Hasebe：Simultaneous ion-exclusion/cation-exchange chromatography of anions and cations in acid rain waters on a weakly acidic cation-exchange resin by elution with sulfosalicylic acid．*Journal of Chromatography A*，**88**(1-2)，167-174，2000．
- 17) Kazuhiko Tanaka，Kazutoku Ohta，Paul R Haddad，James S Fritz，Akiyoshi Miyanaga，Wenzhi Hu，Kiyoshi Hasebe，Kwang-Pill Lee and Corrado Sarzanini：High-performance ion-exclusion/cation-exchange chromatography of anions and cations in acid rain waters on a weakly acidic cation-exchange resin．*Journal of Chromatography A*，**92**(1-2)，239-245，2001．
- 18) Masanobu Mori，Kazuhiko Tanaka，Murad I H Helaleh，Qun Xu，Mikaru Ikedo，Yutaka Ogura，Shinji Sato，Wenzhi Hu，Kiyoshi Hasebe and Paul R Haddad：High-speed simultaneous ion-exclusion/cation-exchange chromatography of anions and cations on a weakly acidic cation-exchange resin column．*Journal of Chromatography A*，**99**(1-2)，219-224，2003．

- 19) 小倉豊, 佐藤真治, 三苫惠民: 陰・陽イオン同時分析カラム TSKgel SuperIC-A/C の開発. *TOSOH Research & Technology Review*, **47**, 65-70, 2003.
- 20) 市原清志: バイオサイエンスの統計学. 第5刷, 南江堂, 東京, 28-29, 1991.

(平成18年5月20日受理)

## Simultaneous Determination of Sodium, Potassium, Magnesium and Calcium Ions in Milk and Other Common Drinks by High-performance Liquid Chromatography

Rie YANAI, Kayo SUMIDA and Toshiko FUJII

(Accepted May 20, 2006)

Key words : high-performance liquid chromatography (HPLC), simultaneous determination, metal ions, milk and other common drinks

### Abstract

This paper describes a simple and rapid method for the simultaneous determination of sodium, potassium, magnesium and calcium ions using high-performance liquid chromatography (HPLC).

Methods : Optimized separations were carried out in a pH 2.6 mobile phase buffer (0.75 mM sulfuric acid, 0.25 mM copper sulfate (II)) on a super IC-Cation column (4.6 mm i.d.×150 mm L., TOSOH). Indirect UV detection was conducted at 230 nm. Analytical performance of the method is discussed in terms of retention times, peak area repeatability, intermediate precision, limits of detection, linearity and analytical recovery.

Results : The four metal ions were well separated from each other in less than ten minutes. Repeatability for all four ions on any given day showed relative standard deviations of less than two percent and intermediate precision on successive days showed relative standard deviations of less than five percent. The limits of detection ( $\mu\text{g } \ell^{-1}$ ) for sodium, potassium, magnesium and calcium ions were 4.6, 2.3, 2.1 and 1.4, respectively. Linearity was checked for concentrations ranging from 0.5 to 20.0  $\text{mg } \ell^{-1}$  of the standard solution and correlation coefficients for all cations were greater than 0.998. The mean recovery value for each ion was almost 100 %.

Using the proposed method, the four ions were determined in samples including twenty kinds of milk and common drinks. Mean concentrations with standard deviations ( $\text{mg } \ell^{-1}$ ) for sodium and calcium ions in the samples were  $451 \pm 212$  and  $1206 \pm 551$ , respectively. A comparison of determined and labeled values is presented.

The results show that the proposed HPLC method is simple, rapid, and does not require any preliminary treatment of the samples for the simultaneous determination of the four metal ions, i. e., sodium, potassium, magnesium and calcium, in milk and other common drinks.

Correspondence to : Rie YANAI

Department of Human Nutrition, Faculty of Human Life Sciences  
Yamaguchi Prefectural University  
Yamaguchi, 753-8502, Japan  
E-Mail: yanai@yamaguchi-pu.ac.jp  
(Kawasaki Medical Welfare Journal Vol.16, No.1, 2006 101-107)