

原 著

キャピラリー電気泳動法による尿中ナトリウム，カリウム，カルシウム，およびマグネシウムイオンの同時測定

角田佳代*¹ 河辺聡子*² 松枝秀二*³ 藤井俊子*³

要 約

1) キャピラリー電気泳動法(HPCE)によりミネラル標準溶液(Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+})を分析した結果, 4つのミネラルは5.5分以内で分離移行した.

分析法バリデーション成績についてみると, 併行精度(R.S.D., %)および室内再現精度(R.S.D., %)は, 移行時間ではいずれのミネラルでも精度が高かった. ピーク面積では Na^+ 以外のミネラルは精度が高かった.

検出限界濃度(mg/L)は, Na^+ ; 0.07, K^+ ; 0.16, Ca^{2+} ; 0.07, Mg^{2+} ; 0.03であった.

検量線は, 尿中濃度測定に適する濃度範囲で良好な直線関係を示し, 相関係数もきわめて高いことが認められた.

尿への添加回収率は, すべてのミネラルで高い回収率が認められた.

HPCEによる尿中ミネラル濃度測定値と他の分析法による測定値は, Ca^{2+} 以外は相関が高いことが認められた. 以上のことから, 尿中の Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} は本HPCEにより同時測定が可能であることが認められた.

2) 本HPCEにより若年者群と高齢者群の24時間尿について尿中ミネラル(Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+})濃度を測定した. 24時間尿のミネラル排泄量では, Na^+ , K^+ は若年者群が高齢者群より有意に低値を示したことなどから, 年代差および居住環境の差による食品摂取状況の変動と尿中ミネラル量との関連が示唆された.

緒 言

ナトリウム(Na^+), カリウム(K^+), カルシウム(Ca^{2+}), マグネシウム(Mg^{2+})などのミネラルは体内でイオンの形で存在して酸塩基の平衡維持, 浸透圧の調節, その他種々の生理作用等に関わっている. 近年では, Na 摂取と高血圧, Ca 摂取と骨粗鬆症, Mg 摂取と心疾患や糖尿病との関連など, ミネラルと生活習慣病との関係¹⁾が明らかになってきている. そのため, 食生活におけるミネラルの摂取状況を的確に把握することが必要となり, 食事調査によってミネラル摂取状況の把握をする場合が多い. しかし, 食事調査では, 調査対象の記憶の曖昧さや思い込みなどにより, ミネラルの正確な摂取量を把握することが難しいといわれている²⁾. また, 最近

では, 加工食品の種類が多数になり多様化しているので, すべての加工食品の成分が食品成分表に記載されていないことなども, 食事からのミネラル摂取量を正確に把握することを困難にしている.

一方, 摂取ミネラル量を把握する方法として, 生体試料(尿)から得られる情報を用いることも有用であろうと考えられる. 現実には, 産業現場では, 有害物質の体内への取り込み量を代謝産物等の尿中濃度から推定する「尿による生物学的モニタリング」が実施されており³⁾, この手法をミネラル摂取状況調査に適用するために, 生体試料や飲食物中の簡易で, 精度の高いミネラル定量法について検討する必要がある. 生体試料や食品中のミネラル定量法は一般に原子吸光光度法(AAS)⁴⁾, 誘導プラズマ発光分光光度法(ICP)⁵⁾および高速液体クロマトグラフ法

*1 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 *2 川崎医療短期大学 介護福祉科

*3 川崎医療福祉大学 医療技術学部 臨床栄養学科

(連絡先) 角田佳代 〒701-0193 倉敷市松島288 川崎医療福祉大学

E-Mail: w6405004@std.kawasaki-m.ac.jp

(HPLC)⁶⁾などが用いられる。AASでは分析試料の前処理に時間を要すること、同時分析が不可能であること、および、極めて低濃度に試料を調製する必要があり、操作が煩雑である、などの短所がある。ICPは多種のミネラルの同時分析ができるが、機器が高価格である。HPLCは、ミネラルの同時測定ができるカラムの改良が進展している段階である。

最近発展しているキャピラリー電気泳動法(HPCE)では、尿のミネラル分析についてみると、初期の報告では、尿中主要ミネラルを短時間に分離定性し、カルシウムとクレアチニンの同時定量成績が示された⁷⁾。その後、尿中 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} の同時定量が報告されたが、これには測定数3例について精度の高い分析法であるとして報告された⁸⁾。最近では、栄養学的に必須である微量元素について、生体試料のうち尿と血清を臨床検査レベルの濃度にまで濃縮する方法を開発して、HPCEにより定量する研究にまで進展している⁹⁾。その他、汗¹⁰⁾や唾液¹¹⁾中のミネラルを定量した成績なども報告されており、HPCEによる飲食物¹²⁻¹⁴⁾中のミネラル分析の報告もみられる。

本研究では、尿中の Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} のHPCEによる同時測定法について検討するために、まず、標準溶液による分析法バリデーションを実施し、検量線の作成、添加回収実験を行った。次に、尿中ミネラルの同時分析をHPLCで実施し、本HPCEの成績と比較検討した。さらに、尿中 Na^+ と K^+ はイオン選択電極法¹⁵⁾、 Ca^{2+} はオルトクレゾールフタレインコンプレクソン法(*o*-CPC法)¹⁶⁾、 Mg^{2+} はキシリジルブルー法¹⁷⁾を用いて測定し、本HPCEの成績と比較検討した。その結果、本HPCE法による尿中ミネラル濃度は他の分析法による濃度との相関が高いことが認められた。そこで、若年者群($n=44$)および高齢者群($n=66$)の24時間尿を用いて本法により4つのミネラルの同時測定を実施した。

方 法

1. キャピラリー電気泳動法

1.1. 分析装置および分析条件

分析装置；キャピラリー電気泳動装置フォトダイオードアレイ検出器付(CAPI-3300, 大塚電子(株)製), キャピラリー；溶融シリカ製(75 μm I.D., 725 mm L., 有効長；600 mm)を用いた。

分析条件；印加電圧；25 kV, 測定温度；25℃, 測定波長；215 nm (Indirect UV)で行った。落差方式(25 mm×30 sec)で注入した。注入量は約10 nLと概算される。

1.2. 試薬

ミネラル標準溶液調製試薬として、アンモニウムイオン(イオンクロマトグラフ用, NH_4^+), ナトリウムイオン(イオンクロマトグラフ用, Na^+), カリウムイオン(イオンクロマトグラフ用, K^+), カルシウムイオン(イオンクロマトグラフ用, Ca^{2+}), マグネシウムイオン(イオンクロマトグラフ用, Mg^{2+})は、和光純薬工業(株)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。

泳動溶液試薬として、2-ヒドロキシイソ酪酸[(CH_3) α (OH)COOH = 104.10], 酢酸(CH_3COOH = 60.05, 精密分析用), イミダゾール($\text{C}_3\text{H}_4\text{N}_2$ = 68.08, 特級)は和光純薬工業(株)製を、18-CROWN-6($\text{C}_{12}\text{H}_{24}\text{O}_6$ = 264.3)はSIGMA製を、0.1 mol/L水酸化ナトリウム溶液(NaOH = 40.00)と0.05 mol/Lしゅう酸溶液($\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$ = 90.04)はナカライテスク(株)製を用いた。

1.3. 泳動溶液調製法

2-ヒドロキシイソ酪酸；5 mM(0.05205 g), 18-CROWN-6；2 mM(0.05286 g), 精密分析用酢酸；0.2%(200 μL), イミダゾール；10 mM(0.06808 g)を超純水で溶解し、100 mLに定容した。pHメーター(F-24, ホリバ製)を用いてpH 4.2に調整後、メンブランフィルター(DISMIC-25, ADVANTEC製0.2 μm)で濾過し、超音波洗浄器(SHARP製, SILENTSONIC)で15分間脱気を行った。以後の濾過、脱気ではすべてこの方法で行った。

1.4. 標準溶液調製法

各ミネラル1,000 mg/L標準溶液(原液)を1,000 μL ずつ採取し、超純水で10 mLに定容した。メンブランフィルターを用いて濾過し、超音波洗浄器で10分間脱気を行い、100 mg/Lの標準溶液とした。各濃度の混合標準溶液は100 mg/L標準溶液から超純水で希釈し、濾過、脱気を行った。

1.5. 標準溶液の分析

ミネラル混合標準溶液について、上記の分析条件でHPCE分析し、各ピークの移行時間(min), ピーク面積(mABU*sec)およびピーク高さ(mABU)を求めた。

1.6. 分析法バリデーション

(1) 併行精度

各ミネラル10.0 mg/Lの混合標準溶液を連続9~10回測定し、各ピークの移行時間、ピーク面積の相対標準偏差(R.S.D. (%))を算出し、併行精度とした。

(2) 室内再現精度

各ミネラル10.0 mg/Lの混合標準溶液を比較的連

続した5~6日間(1日3~6回)測定し,各ピークの移行時間,ピーク面積についてR.S.D.(%)を算出し,室内再現精度とした。

(3) 検出限界濃度 (mg/L)

平均ノイズ面積の3倍値を用いて,検量線から検出限界濃度(LOD, mg/L)を算出した。

1.7. 検量線の作成

ミネラル別に一定の濃度(mg/L) [Na⁺とK⁺が12.5, 25, 50および100, Ca²⁺が1.25, 2.5, 5および10, Mg²⁺が0.625, 1.25, 2.5および5]におけるピーク面積を求め,検量線を作成した。

1.8. 添加回収実験

(1) 標準溶液の調製

各ミネラルの混合標準溶液(1.0および10.0 mg/L)を調製した。

(2) 対照尿の調製

尿を500 μL採取し,50 mLに定容して100倍希釈尿とし,これを対照尿とした。

(3) 添加尿の調製

対照尿に各ミネラルイオンの添加濃度(mg/L)が1.0および10.0になるように標準溶液を加えたものを添加尿とした。

①1.0 mg/L 添加尿

100 mg/L 混合標準溶液を100 μL採取し,これを対照尿に加えて超純水を用いて10 mLに定容した。

②10.0 mg/L 添加尿

100 mg/L 混合標準溶液を1,000 μL採取し,これを対照尿に加えて超純水を用いて10 mLに定容した。

(4) 添加回収率

以下の式を用いて添加回収率を算出した。

添加回収率 (%)

$$= \frac{\text{添加尿のピーク面積}}{(\text{標準溶液のピーク面積} + \text{対照尿のピーク面積})} \times 100$$

2. 尿中ミネラル濃度の分析法別測定

2.1. 分析試料

健康な女性の尿(24検体)を超純水で100倍に希釈後,濾過,脱気したものをを用いた。

2.2. HPCEによる測定

尿中ミネラル濃度は,10.0 mg/L 標準溶液のピーク面積から比例換算して求めた。

2.3. 高速液体クロマトグラフ法(以下,HPLC)による測定

分析装置,分析条件および移動相の調製法は楊井ら¹⁸⁾の方法に従った。分析試料はHPCEと同様に100倍希釈尿を用いた。

2.4. その他の測定法

尿中Na⁺とK⁺濃度測定にはイオン選択電極法¹⁵⁾を,尿中Ca²⁺濃度測定にはo-CPC法¹⁶⁾を,尿中Mg²⁺濃度測定にはキシリジルブルー法¹⁷⁾による濃度測定を行った。

2.5. 分析法別測定値の相関

HPCEによる尿中ミネラル測定値に対するHPLCおよびその他の測定法による測定値の相関関係について調査した。

3. 対象群別の尿中ミネラル濃度

3.1. 尿試料の概要

若年者群(某大学学生,男性7名,女性37名の計44名,平均年齢;19歳)および高齢者群(〇県M町における健康教室の受講者,男性7名,女性59名の計66名,年齢分布;53~74歳,平均年齢;66±3.7歳)の24時間尿を用いた。

採尿後,尿量(mL)を秤量し,尿比重は尿比重屈折計ユリコンS_Eで,尿pHは広領域用濾紙で,尿中クレアチニン量(g/24時間,以後g/dとする)はJaffe法¹⁹⁾で測定した。

3.2. 尿中ミネラルの実測濃度と24時間排泄量

実測濃度(mg/L)は,100倍希釈尿を濾過,脱気した試料を分析し,K⁺とNa⁺は尿中ミネラル濃度を10.0 mg/L 標準溶液のピーク面積から比例換算し,Ca²⁺とMg²⁺は1.0 mg/L 標準溶液のピーク面積を用いて比例換算した。

24時間排泄量は,実測濃度に尿量を乗じて求めた。

3.3. 尿中ミネラルのクレアチニン補正濃度と比重補正濃度

クレアチニン補正濃度²⁰⁾と比重補正濃度²⁰⁾は次式を用いて算出した。標準比重は1.020として算出した。

$$\text{クレアチニン補正濃度} = \frac{\text{ミネラル濃度 (mg/L)}}{\text{クレアチニン (mg/L)}}$$

比重補正濃度 (mg/L)

$$= \text{実測値 (mg/L)} \times \frac{1.020 - 1.000}{\text{試料尿の比重} - 1.000}$$

3.4. 尿中ミネラル濃度の対象群別比較

若年者群と高齢者群の各濃度について,それぞれ対応のない2群の母平均の差の検定を行った²¹⁾。

結果および考察

1. ミネラル混合標準溶液の HPCE による測定

1.1. ミネラル混合標準溶液のキャピラリー
エレクトロフェログラム

図 1 に、ミネラル混合標準溶液各 10 mg/L のキャピラリーエレクトロフェログラムを示した。

標準溶液中の NH_4^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Na^+ 、 Mg^{2+} は 5.5 分以内に分離移行することが認められた。10 mg/L ミネラル混合標準溶液の移行時間 (min) は、 K^+ が 3.871、 Ca^{2+} が 4.689、 Na^+ が 4.927、 Mg^{2+} が 5.102 であった。溶液中のミネラル濃度による移行時間の変動は小さかった。

本実験成績より移行時間が若干速い例として、Olsäuskaite ら⁸⁾ および寺澤ら¹⁰⁾ の報告が見られるが、泳動溶液の組成やキャピラリーサイズ等の差異により移行時間に差が生じるのであろうと考えられた。

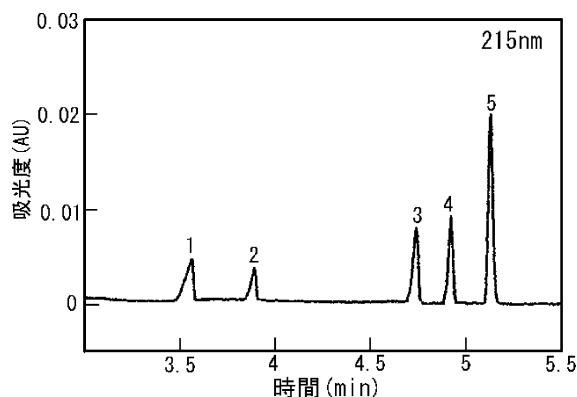


図 1 ミネラル混合標準溶液のキャピラリーエレクトロフェログラム
ピーク No.1: NH_4^+ 、2: K^+ 、3: Ca^{2+} 、4: Na^+ 、5: Mg^{2+}

1.2. 併行精度、室内再現精度、LOD

表 1 にミネラル混合標準溶液の 10.0 mg/L について、移行時間およびピーク面積による併行精度、室内再現精度、LOD を示した。

併行精度は移行時間では、いずれのミネラルでも 5% 以内となり移行時間の併行精度はきわめて高かった。ピーク面積では、 Na^+ の併行精度が 5% 以上となったが、他のミネラルは 5% 以内で併行精度

がきわめて高いことが認められた。

室内再現精度は移行時間では、いずれのミネラルでも 5% 以内となり移行時間の室内再現精度はきわめて高かった。ピーク面積では、 Na^+ の室内再現精度は 5% 以上となったが、他のミネラルは 5% 以内で室内再現精度が高いことが認められた。Mori らの報告¹¹⁾ ではピーク面積の室内再現精度について 5.39 から 9.03 の範囲であった。

LOD (mg/L) は、 Na^+ ; 0.07、 K^+ ; 0.16、 Ca^{2+} ; 0.07、 Mg^{2+} ; 0.03 であった。HPCE によるミネラルイオンの LOD (mg/L) については Padaruskas ら²²⁾ は Na^+ ; 0.3、 K^+ ; 0.6、 Ca^{2+} ; 0.2、 Mg^{2+} ; 0.1、Fukushi ら²³⁾ は Na^+ ; 0.2、 K^+ ; 0.4、 Ca^{2+} ; 0.2、 Mg^{2+} ; 0.1 と報告しており、本成績はそれらに比べて LOD がかなり低値を示した。

1.3. 検量線

尿中のミネラル含有濃度を考慮して、検量線の濃度範囲を設定して測定した。図 2 (1) に Na^+ と K^+ の、図 2 (2) に Ca^{2+} と Mg^{2+} の検量線を示した。いずれのミネラルも各濃度範囲内で、良好な直線性を示し、相関係数もきわめて高いことが認められた。

1.4. 添加回収率

表 2 にミネラル標準溶液の尿への添加回収率 (%) を示した。各ミネラルの添加濃度が 1.0 および 10.0 mg/L の添加回収率は、いずれのミネラルもほぼ 100% に近い回収率が得られた。

2. HPCE による分析

2.1. 尿のキャピラリーエレクトロフェログラム

図 3 に、100 倍希釈尿のキャピラリーエレクトロフェログラムを示した。

100 倍希釈尿の NH_4^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Na^+ 、 Mg^{2+} は 5.5 分以内に分離移行することが認められた。

尿の HPCE 分析成績において移行時間は Xu ら⁷⁾ が 10 分以内、Olsäuskaite ら⁸⁾ が 4 分以内と報告しており、移行時間の差異は、標準溶液の場合と同様に泳動溶液の組成やキャピラリーサイズ等の差異によるものであろうと考えられた。

2.2. 尿中ミネラル濃度の測定法別の比較

測定法別の比較を表 3-1 に x 軸に HPLC の尿中濃度を、y 軸に HPCE の尿中濃度をプロットしたも

表 1 分析法バリデーション成績

	併行精度 (R. S. D., %)		室内再現精度 (R. S. D., %)		LOD (mg/L)
	移行時間	ピーク面積	移行時間	ピーク面積	
Na^+	0.27	5.38	1.10	8.98	0.07
K^+	0.18	2.12	1.08	3.23	0.16
Ca^{2+}	0.26	3.18	1.14	3.96	0.07
Mg^{2+}	2.54	2.50	1.17	3.58	0.03

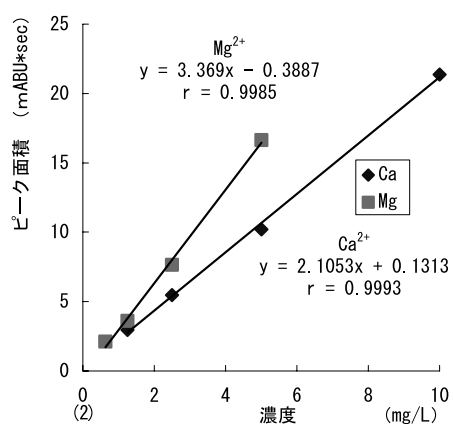
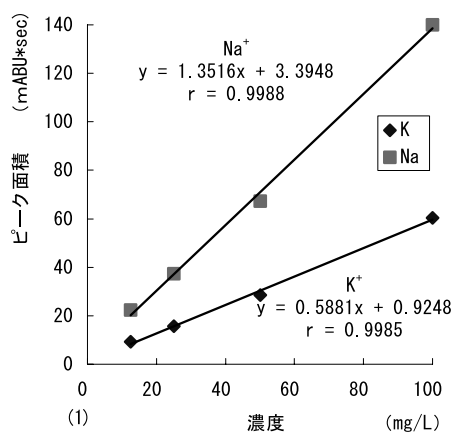


図2 ミネラル混合標準溶液の検量線
(1) K⁺ と Na⁺
(2) Ca²⁺ と Mg²⁺

表2 添加回収率 (%)

	mean ± SD	
	ミネラル添加濃度 (mg/L)	
	1.0	10.0
Na ⁺	103 ± 0.5	100 ± 1.1
K ⁺	104 ± 1.3	101 ± 0.4
Ca ²⁺	88 ± 2.8	105 ± 0.3
Mg ²⁺	108 ± 1.2	104 ± 0.5

の、表3-2にx軸にNa⁺とK⁺はイオン選択電極法、Ca²⁺はo-CPC法、Mg²⁺はキシリジルブルー法の尿中濃度を、y軸にHPCEの尿中濃度をプロットしたもので回帰直線と相関係数を示した。

尿中ミネラル濃度は、HPLCとHPCEではHPCEによる測定はHPLCの測定成績とCa²⁺以外は回帰直線の傾きがほぼ1に近似しており、相関係数も高いことが認められた。また、表3-2に示す他の各分析法とHPCEの比較においても同様の成績を

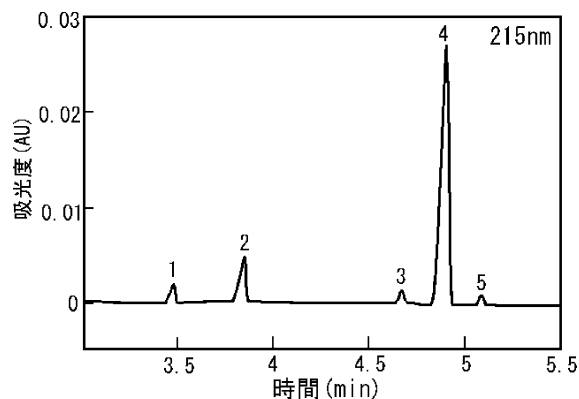


図3 尿のキャピラリーエレクトロフェログラム
ピーク No.1; NH₄⁺, 2; K⁺, 3; Ca²⁺, 4; Na⁺, 5; Mg²⁺

示した。なお、Ca²⁺についてはHPCEの測定値はHPLCまたはo-CPC法の測定値に相違が見られたので、今後検討する予定である。

3. 対象群別24時間尿中のミネラル濃度

3.1. 試料尿の概要

試料尿(24時間尿)について、尿量(mL)、クレアチニン量(g/d)、尿比重およびpHの測定値を表4に示した。

両群の各測定値について、対応のない2群の母平均の差の検定を行った結果、尿量とpHは若年者群が高齢者群より有意に低値を示した(p<0.05)のに対して、クレアチニン量と比重は若年者群が高齢者群より有意に高値を示した(p<0.05)。

尿量、クレアチニン量、尿比重およびpHの測定値は両群ともに参考値²⁴⁾の範囲内だった。

3.2. 尿中ミネラルの実測濃度(mg/L)と24時間排泄量

表5に尿中ミネラル実測濃度(mg/L)を示した。尿中Na⁺、Ca²⁺、Mg²⁺濃度(mg/L)は、若年者群が高齢者群に比べて有意に高値を示した(p<0.05)。尿中ミネラル濃度(mg/L)は、Na⁺が2,400~9,600、K⁺が1,250~5,000、Ca²⁺が45~400、Mg²⁺が15~480と報告²⁵⁾されており、本成績は両群ともにこの報告値の範囲内にあった。

表6に尿中ミネラル24時間排泄量を示した。

尿中ミネラルの24時間排泄量(g/dまたはmg/d)は、Na⁺、K⁺は若年者群が高齢者群に比べて有意に低値を示した(p<0.05)。尿中ミネラルの24時間排泄量は、Na⁺(g/d)が1.6~5.9、K⁺(g/d)が1~3.9、Ca²⁺(mg/d)が100~300、Mg²⁺(mg/d)が20~130と報告²⁴⁾されており、本成績はほぼこの報告値の範囲内にあった。

表 3-1 測定法別尿中ミネラル濃度の相関-HPCE と HPLC との比較

	測定法		回帰直線	相関係数
	x	y		
Na ⁺	HPLC	HPCE	y = 1.0748x - 0.1528	0.9943
K ⁺	HPLC	HPCE	y = 0.9688x - 0.1171	0.9730
Ca ²⁺	HPLC	HPCE	y = 0.8239x + 0.0442	0.9413
Mg ²⁺	HPLC	HPCE	y = 1.0955x + 0.0036	0.9497

n=24

表 3-2 測定法別尿中ミネラル濃度の相関-HPCE とイオン選択電極法, o-CPC 法, キシリジルブルー法との比較

	測定法		回帰直線	相関係数
	x	y		
Na ⁺	イオン選択電極法	HPCE	y = 1.0176x - 0.0526	0.9955
K ⁺	イオン選択電極法	HPCE	y = 0.9435x + 0.1082	0.9732
Ca ²⁺	o-CPC法	HPCE	y = 0.8243x + 0.0616	0.9595
Mg ²⁺	キシリジルブルー法	HPCE	y = 0.9868x + 0.0071	0.9665

n=24

表 4 分析試料の概要

	n	mean ± SD			
		尿量 (mL)	クレアチニン量 (g/d)	比重	pH
若年者群	44	886 ± 277*	1.12 ± 0.28*	1.020 ± 0.005*	6.7 ± 0.6*
高齢者群	66	1,538 ± 428*	0.76 ± 0.20*	1.013 ± 0.003*	7.0 ± 0.7*
参考値 ²⁴⁾	-	600 ~ 1600	1.00 ~ 1.50	1.006 ~ 1.022	4.8 ~ 7.5

*; p < 0.05, 参考値は範囲で示した.

表 5 尿中ミネラル実測濃度 (mg/L)

	mean ± SD			
	Na ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺
若年者群	3,408 ± 1,294*	1,430 ± 501	111 ± 41*	85 ± 26*
高齢者群	2,848 ± 1,049*	1,334 ± 459	72 ± 32*	47 ± 21*
参考値 ²⁵⁾	2,400 ~ 9,600	1,250 ~ 5,000	45 ~ 400	15 ~ 480

*; p < 0.05, 参考値は範囲で示した.

3.3 尿中ミネラルのクレアチニン補正濃度と比重補正濃度

クレアチニンは骨格筋の代謝産物であり, その排泄速度は脂肪を除く体重に比例する. 成人の1日当たりの排泄量は, 1.0 ~ 1.6 g (15 ~ 25 mg/kg 体重) である. 通常的环境下では, 食餌・水分負荷状態・利尿などによるクレアチニン排泄速度に対する影響は比較的少ない. 一方, 尿比重は尿中固形成分の濃度を示す実測濃度を標準比重で補正することによって, 尿排泄量の変動による影響を実測値に比べて小さくすることができるためといわれている. したがって, 産業現場などでは尿中排泄量を示す濃度として尿排泄量の変動による影響を少なくするために, クレアチニン補正值や比重補正值が使われている.

そこで, クレアチニン補正濃度と比重補正濃度

について計算し, 表7には対照群別の尿中ミネラルのクレアチニン補正濃度 (mg/mg・creatinine) を, 表8には対照群別の尿中ミネラル比重補正濃度 (mg/L) を示した.

尿中ミネラルのクレアチニン補正濃度 (mg/mg・creatinine) は, Na⁺, K⁺ は若年者群が高齢者群に比べて有意に低値を示した (p < 0.05) のに対して, Ca²⁺, Mg²⁺ は両群に有意差が認められなかった (p < 0.05).

尿中ミネラル比重補正濃度 (mg/L) は, Na⁺, K⁺ は若年者群が高齢者群に比べて有意に低値を示した (p < 0.05). Ca²⁺ は有意差がみられなかった. Mg²⁺ は若年者群が高齢者群に比べて有意に高値を示した (p < 0.05).

表6 尿中ミネラル24時間排泄量 (g/d または mg/d)

	mean±SD			
	排泄量(g/d)		排泄量(mg/d)	
	Na ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺
若年者群	2.9±1.10*	1.2±0.35*	95±35	71±18
高齢者群	4.2±1.79*	2.0±0.83*	104±46	68±27
参考値 ²⁴⁾	1.6~5.9	1~3.9	100~300	20~130

*:p<0.05, 参考値は範囲で示した。

表7 尿中ミネラルクレアチニン補正濃度 (mg/mg・クレアチニン)

	mean±SD			
	Na ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺
	若年者群	2.74±1.12*	1.14±0.42*	0.09±0.03
高齢者群	3.97±1.66*	1.87±0.86*	0.10±0.05	0.07±0.04

*:p<0.05

表8 尿中ミネラル比重補正濃度 (mg/L)

群	mean±SD			
	Na ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺
	若年者群	3,382±826*	1,418±326*	113±35
高齢者群	4,447±1,152*	2,127±662*	114±44	74±26*

*:p<0.05

おわりに

本 HPCE を用いてミネラル混合標準溶液を同時測定する方法について検討した結果,分析法バリデーション成績,添加回収率,分析法別相関等が良好な成績を示すことが認められた。さらに,本法による尿中ミネラル濃度の測定法を用いてヒト尿中の4つのミネラル濃度を測定した結果においても,良

好な成績が得られた。今後,本法を用いて尿中ミネラル排泄量を測定し,摂取ミネラル量との関係について研究を進めたい。

本研究にご協力いただきました方々に感謝いたします。本研究は平成17年度の川崎医療福祉大学総合研究費の助成を受けました。

文 献

- 1) 鈴木継美, 和田攻: ミネラル・微量元素の栄養学。初版, 第一出版, 東京, 57-58, 1994。
- 2) 君羅満, 工藤洋子, 高知リベカ, 羽場亮太, 渡邊昌: 主要ミネラルの1日摂取量と24時間尿中排泄量との関連。日本衛生学雑誌, **59**, 23-30, 2004。
- 3) 緒方正名, 原田章, 井上尚英, 河野慶三: 有機溶剤健康診断のすすめ方, 初版, (社)全国労働衛生団体連合会事務局, 東京, 220-221, 1990。
- 4) Hu J, Zhao X, Parpia B and Campbell TC: Dietary intakes and urinary excretion of calcium and acids: a cross-sectional study of women in China. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **58**, 398-406. 1993。
- 5) 三田有紀子, 石原健吾, 永田清美, 福田幸香, 安本教博: 尿中クロム濃度は運動不足が続くと増加する。日本栄養・食糧学会誌, **59**(4), 215-220, 2006。
- 6) 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。
- 7) Xu X, Th W, Kok, Kraak JC and Poppe H: Simultaneous determination of urinary creatinine, calcium and other inorganic cations by capillary zone electrophoresis with indirect ultraviolet detection. *Journal of Chromatography. B*, **661**, 35-45, 1994。
- 8) Olsäuskaite V, Paliulionyte V and Padarauskas A: Rapid analysis of cation constituents of urine by capillary electrophoresis. *Clinica Chimica Acta*, **293**, 181-186, 2000。

- 9) Hirokawa T, Yoshioka M, Okamoto H, Timerbaev AR and Blaschke G: High-sensitivity capillary electrophoresis determination of inorganic anions in serum and urine using on-line preconcentration by transient isotachopheresis. *Journal of Chromatography . B*, **811**, 165-170, 2004 .
- 10) 寺澤純子, 三矢光太郎, 石井晃, 津田孝雄: キャピラリー電気泳動法によるヒト汗中のナトリウム, カリウム, カルシウム, マグネシウム, アンモニウムイオンの定量. *BUNSEKI KAGAKU*, **50**(12), 813-817, 2001 .
- 11) Mori M, Hu W, Hasebe K, Tanaka S and Tanaka K: Use of phosphobetaine-type zwitterionic surfactant for the determination of alkali and alkaline earth metal ions and ammonium ion in human saliva by capillary electrophoresis. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **374**, 75-79, 2002 .
- 12) Haumann I, Boden J, Mainka A and Jegle U: Simultaneous determination of inorganic anions and cations by capillary electrophoresis with indirect UV detection. *Journal of Chromatography . A*, **895**, 269-277, 2000 .
- 13) 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 .
- 14) Sádecká J and Polonský J: Determination of inorganic ions in food and beverages by capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography . A*, **834**, 401-417, 1999 .
- 15) 浦山修, 中山年正, 入野勤, 松下誠, 森山隆則, 奥村伸生, 原諭吉, 笠原靖, 大澤進, 戸塚実, 家入蒼生夫, 河合誠, 木嶋祥磨, 山田俊幸, 西川隆: *臨床化学検査学*. 第1版, 医歯薬出版, 東京, 94-97, 2004 .
- 16) Connerty HV and Briggs AR: Determination of serum calcium by means of orthocresolphthalein complexone. *American journal of clinical pathology*, **45**(3), 290-296, 1966 .
- 17) Mann CK and Yoe JH: Spectrophotometric Determination of Magnesium with 1-Azo-2-hydroxy-3-(2,4-dimethylcarboxanilido) naphthalene-1'-(2-hydroxybenzene). *Analytica Chimica Acta*, **16**, 155, 1957 .
- 18) 楊井理恵, 角田佳代, 藤井俊子: 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, *川崎医療福祉学会誌*, **10**(1), 101-107, 2006 .
- 19) 林淳三, 浅野勉, 倉沢新一, 中島滋, 中村カホル, 藤森直江: *生化学実験*, 初版, 建帛社, 東京, 133, 1986 .
- 20) 緒方正名, 原田章, 井上尚英, 河野慶三: *有機溶剤健康診断のすすめ方*, 初版, (社)全国労働衛生団体連合会事務局, 東京, 124, 1990 .
- 21) 内田治: *すぐわかる EXCEL による統計解析*, 第2版, 東京図書株式会社, 東京, 56-61, 2004 .
- 22) Padarauskas A, Olsauskaitė V and Paliulionytė V: Simultaneous determination of inorganic anions and cations in waters by capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography . A*, **829**, 359-365, 1998 .
- 23) Fukushi K, Takeda S, Chayama K and Wakida S: Application of capillary electrophoresis to the analysis of inorganic ions in environmental samples. *Journal of Chromatography . A*, **834**, 349-362, 1999 .
- 24) 金井泉, 金井正光: *臨床検査法提要*, 改定第30版, 金原出版株式会社, 東京, 1993 .
- 25) 杉晴夫, 宮崎俊一, 石井邦雄, 金子章道, 栗原敏, 中山貢一, 吉岡利忠, 明間立雄: *人体機能生理学*, 第4版, 南江堂, 東京, 504-505, 2003 .

(平成18年11月1日受理)

Simultaneous Determination of Sodium, Potassium, Calcium, and Magnesium Ions in Urine by High-performance Capillary Electrophoresis

Kayo SUMIDA, Satoko KAWABE, Shuji MATUEDA and Toshiko FUJII

(Accepted Nov. 1, 2006)

Key words : capillary zone electrophoresis (HPCE), simultaneous determination, urine, cations, validation

Abstract

High-performance capillary electrophoresis (HPCE) was applied for the simultaneous determination of sodium, potassium, calcium and magnesium ions in human urine samples.

Separations were carried out in a pH 4.2 carrier electrolyte containing 10 mM imidazol, 5 mM 2-hydroxy-iso-butyric acid, 2mM 18-crown-6, and 0.2 % acetic acid. Indirect UV detection was conducted at 215 nm. An aliquot of a urine specimen with precipitate was diluted 1: 100 with distilled water, filtered through a 0.2 μ m membrane filter, degassed using an ultrasonic generator, and then injected directly into the capillary. The four cations were well separated in less than six minutes.

The repeatability, intermediate precision, limits of detection, linearity and the analytical recovery were determined. Urinary concentrations of the four cations in the urine samples determined by the proposed HPCE method were compared with those using high-performance liquid chromatography and the other methods.

Twenty-four hour urine samples were collected from 110 Japanese men and women aged 18-74 years. The mean value of the cation concentrations in mg l^{-1} were $\text{Na}^+ = 3,072$, $\text{K}^+ = 1,372$, $\text{Ca}^{2+} = 88$ and $\text{Mg}^{2+} = 62$.

The proposed method is simple, rapid, and does not require any preliminary treatment of the urine samples except diluting.

Correspondence to : Kayo SUMIDA

Master's Program in Clinical Nutrition, Graduate School of
Health Science and Technology,
Kawasaki University of Medical Welfare
Kurashiki, 701-0193, Japan
E-Mail: w6405004@std.kawasaki-m.ac.jp
(Kawasaki Medical Welfare Journal Vol.16, No.2, 2006 271-279)