

Feature Article

Pittcon解説

Ca²⁺ イオン電極を用いた食品試料中のカルシウムイオンの簡易測定 〈LAQUAtwin〉Ca²⁺ イオンメーターを用いた測定例

山内 悠

食品に含まれるカルシウムの量は、高周波誘導結合プラズマ発光分光分析法(ICP)、イオンクロマト法(IC)、原子吸光光度法(AAS)を使って調べるのが一般的である。こうした備え付けの大型装置を使用せずに、現場で簡便にできる測定方法として、新しい前処理操作法とCa²⁺イオンメーターとを組み合わせた測定方法を紹介します。イオン電極を使った測定は、遊離したカルシウムイオンだけしか測定できない。そのため、食品試料中では蛋白質とカルシウムとが結合するために、カルシウムの総量が測定できなかった。しかし、新しい前処理操作で試料を処理して、結合したカルシウム化合物を分離させ遊離カルシウムイオンにすることで、カルシウムの総量を測定することができた。

はじめに

カルシウムは、骨や歯の主要な成分であり、欠かすことのできない必須元素である。体重の1~2%をカルシウムが占めており、神経の働きや筋肉運動などの重要な役割を担う。カルシウムは牛乳などの乳製品や野菜、小魚に多く含まれている。これらの食品類を摂取することによって、我々は体内にカルシウムを取り込むことができる。これらの食品に含まれるカルシウム量は、一般的に高周波誘導結合プラズマ発光分光分析法(ICP)、イオンクロマト法(IC)、原子吸光光度法(AAS)、を用いて測定される^[1]。

しかし、それらの測定手法では、備え付けの大型装置や複雑な前処理が必要なため、製造現場などで簡便にカルシウム量を測定するには適していない。近年の食に対する安全・安心の関心の高まりから、現場で簡便に測定できる方法が求められている。この方法として、イオン電極がこれまで検討されてきた。

イオン電極は、溶液中のイオン濃度を作用電極と比較電極の二つの電極間で発生する電圧から求めることができる。その他の測定法に比べて、安価で小型な装置構成で測定ができる。しかし、イオン電極は、解離している遊離イオンだけに反応するため、食品に含まれる蛋白質や有機酸と結合したカルシウムを検出できない。イオン電極を使って、食品に含まれるカルシウム量を測定するには、前処理方法や標準液に工夫が必要になる。本稿では、試料のpHを調整してカルシウムイオンとの結合を解離させる新しい測定方法を紹介します。この方法を使うことで、これまでの複雑な手間を必要とせず、現場で手軽に測定ができ、ICPで測定した結果と相関がある値が得られる。イオン電極には、2012年9月に上市したコンパクト水質計〈LAQUAtwin〉

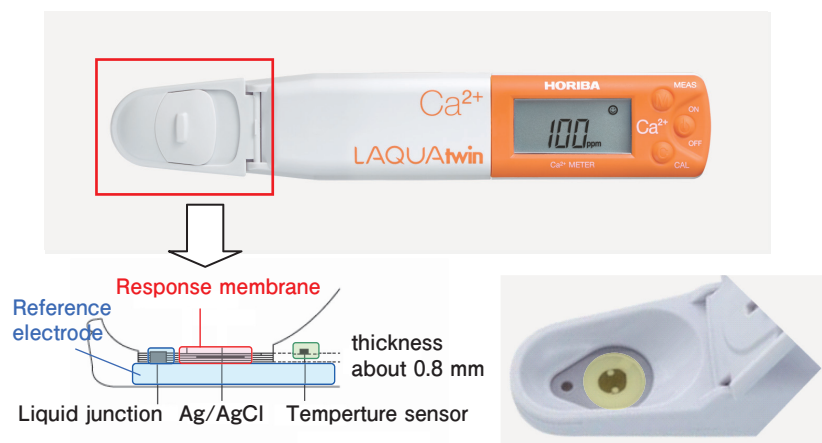


Figure 1 Illustration of the calcium ion meter(B-751)

Ca²⁺ イオンメーターを使って測定した。測定方法や測定事例に併せてこの特徴も紹介する。

実験

試料

カルシウムが含まれる食品試料として、乳製品飲料を用意した。2種類の牛乳と2種類の乳酸飲料のカルシウムを、あらかじめ室温にしてから測定した。

装置と標準液

カルシウムの測定には、堀場製(LAQUAtwin)Ca²⁺イオンメーター(B-751)を使った。(Figure 1参照)これは測定部と電位差計、表示部が一体型になったものである。測定部に薄さ約0.8 mmの平面シートを採用しており、比較電極の液絡部と応答膜が同一平面にある。それによって、サンプル量が300μLという微量測定が可能となっている。

試料を測定する前に、標準液でイオンメーターの校正を行った。150 ppmと2000 ppmのCa²⁺標準液(CaCl₂)を用意した。標準液には、Ca²⁺イオン電極の電位に影響を与えない支持電解質として0.1 mol/Lの塩化カリウムが添加されている。2点間で校正をして、センサのゼロ点とスパンを測定毎に校正した。Ca²⁺イオンメーターの測定結果と比較するために、HORIBA JOVINYVON製ACTIVA-M ICPを使って各試料のカルシウムの測定も行った。

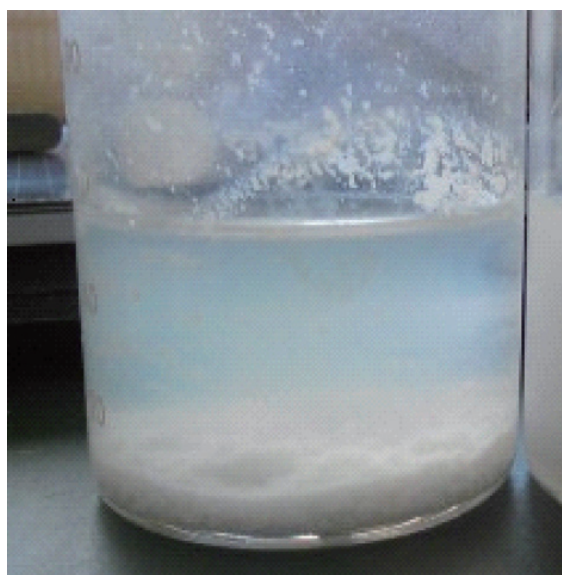


Figure 2 Illustration of milk product sample after pretreatment

前処理方法

乳製品飲料に含まれるカルシウムは、乳蛋白質の主成分であるカゼインや、乳酸などと結合した状態で試料に含まれている。これらのイオン結合を解離させるために、試料に強酸を添加してpHを2.0付近に調整した。その後、試料を10倍希釈して、pHを4.3~4.6に調整するためにトリス緩衝液の粉末を適量加えた。pHを4.3以上にする理由は、カルシウムイオン電極が試料のpHが酸性になると、pHによる影響を受けるためである^[2]。またpHを4.6以下にする理由は、カゼインの等電点である4.6以上に溶液のpHを高くすると、解離したカルシウムイオンが再びカゼインと結合してしまうからである。試料のpHの調整範囲を決定するために、イオンメーターを使ってpHの影響を確認した。このpH範囲内で溶液を静置させることで、カルシウムと結合する前のカゼインを取り除ける。静置させてから数分後に沈殿が生じてくるので、上澄み液だけを採取して測定した。以下に前処理手順の詳細を記載する。

前処理操作手順

1. 試料5 mLを用意する。
2. 5 mol/LのHCl 100μLを滴下する。
3. イオン交換水を45 mL加えて10倍希釈する。
4. Tris (hydroxymethyl)aminomethaneを約0.05 g加えてpHを4.3~4.6に調整する。
5. 試料に沈殿が生じるまで数分間静置させる。(Figure 2参照)
6. 上澄み液を5 mL採取する。
7. 上澄み液5 mLに対して支持電解質としてKClを0.0375 g加える。これを測定試料とする。

測定値に10倍を乗じた値を、各試料のカルシウムの総量とした。なぜなら、測定した試料は前処理操作で10倍希釈しているためである。ICPで同じ試料を測定する場合は、イオン交換水で直接試料を1000倍希釈したものを測定試料とした。

結果と考察

最初に試料のpHがイオンメーターに与える影響を調べた。イオンメーターの作用極と比較電極の間で発生する電圧(E)を、HClとNaOHを使ってpHを2から12に調整し

た、10⁻³ mol/LのCaCl₂と0.1 mol/L KClの溶液中で測定した。pH 7.5におけるこの溶液中で測定した電圧を基準にして、電圧の変動量をpHが与える影響の指標とした。pH 7.5のこの溶液における電圧 $E_{\text{pH } 7.5}$ 、とそれ以外のpHにおける電圧 $E_{\text{pH}(X)}$ 、との差 ΔE_{pH} を各pHのCaCl₂とKClの混合溶液中で求めた。Figure 3に各pHにおける ΔE_{pH} を示した。図中では3個のセンサの平均値を(◇)、最大値と最小値をエラーバーで示している。FigureからpH 5~pH 12までは、pHの変化に伴って電圧が変動する傾向は現れず、電圧は数mVしか変動しなかった。この程度の変化であれば、測定に大きく影響しないので無視できる。pH 4以下の領域になると、pHが低くなるにつれて水素イオン濃度の影響を受けるため、電圧が大きく変化した。pHが4から2へ変化することで、約60 mV変動した。Ca²⁺濃度の変化に換算すると、1/100の濃度変化に相当するため^[3]、この影響を回避する必要がある。そのためには、試料をpH 4以上に保つ必要がある。先述した前処理操

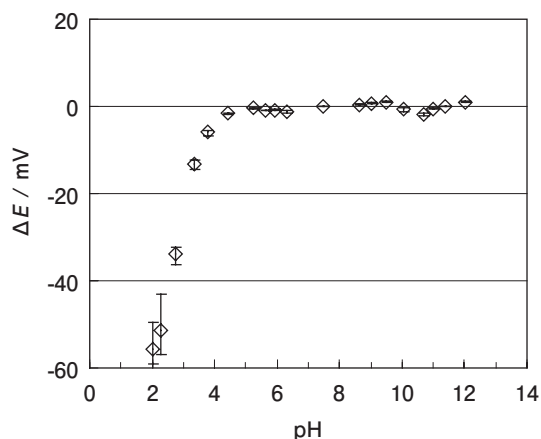


Figure 3 Dependence of voltages generated by the calcium ion meter on the hydrogen ion activity.

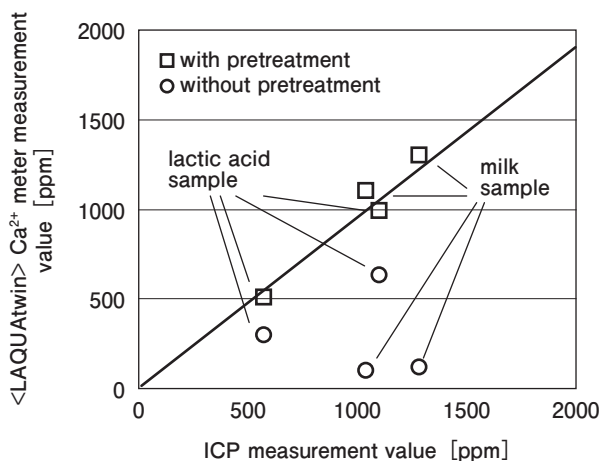


Figure 4 Relationship between measurement value using by calcium meter and ICP. Four samples were measured with pretreatment(◇)and without pretreatment(□).

作はこの結果を考慮した条件となっている。

前処理操作をした食品資料を、イオンメーターで測定した結果をFigure 4に示した。イオンメーターで測定した値と、ICPで測定した値をプロットしている。縦軸にイオンメーター、横軸にICPの値をそれぞれ示した。図中には前処理操作をして測定した値を(□)で、前処理操作をせずに測定した値を(○)で示した。前処理操作をしない場合は、ICPの測定値に対してイオンメーターの値は半分以下の値を示した。前処理操作をすることで、この値が増加してICPの値と近い値を示した。R²値(最小二乗法で算出した相関係数)は0.952で、ICPの測定結果と良い相関を示した。

Figure 4から前処理操作をすることで、イオンメーターの測定値がICPと良い相関を示すことがわかった。前処理操作をすることで、食品中の化合物とカルシウムとの結合が分解されて遊離カルシウムイオンとなるため、試料中のカルシウムの総量が測定できている。その結果、ICPの測定値と良い相関を得ることができた。

おわりに

今回用いた前処理操作を行うことで、イオン電極で乳製品飲料のカルシウムを測定できることを明らかにした。コンパクト計Ca²⁺イオンメーターと、紹介した前処理操作を組み合わせることで、製造現場などでも手軽にカルシウムを測定できる。ICPやICのような大型装置を使わなくても、信頼性ある測定ができることから、幅広い分野での応用が期待できる。食品に対する安心・安全への関心の高まりが、今後さらに高まっていくことが予想され、現場で正確な値をリアルタイムに測定できる手法が必要となってくる。そういった要望に今回紹介した測定方法やセンサが少しでも役にたてば幸いである。

参考文献

- [1] JIS K 0400-50-20, JIS K 0400-52-30
- [2] J. RUZICKA, E. H. HANSEN, J. CHR, TJELL, 160-173
- [3] 関口光夫, 高橋勝幸, イオン選択電極法入門読本



山内 悠

株式会社 堀場製作所
開発本部 アプリケーション開発センター
液体計測開発部