

イカ内臓の処理・利用技術の開発(第5報)
- イオン電極法によるイカ内臓のカドミウムの簡易迅速定量 -

富田 恵一, 若杉 郷臣, 高橋 徹, 長野 伸泰, 作田 庸一

Development of Processing and Utilizing Technology of
Squid Viscera (Part V)
- Rapid Determination of Cadmium in Squid Viscera using
Ion-Selective Electrode -

Keiichi TOMITA, Motoomi WAKASUGI, Touru TAKAHASHI
Nobohiro NAGANO, Youichi SAKUTA

抄 録

イカ内臓のカドミウム除去工程における原料, 処理物及び処理溶液中のカドミウム含有量を速やかに定量するため, イオン電極法による簡易迅速定量について検討を行った。イオン電極法において干渉が考えられる共存物について干渉の程度を調べるとともにその除去やマスクングについて実験を行った。また, 標準添加法による定量において, その計算に最小自乗法などを適用することにより誤差をさらに小さくする方法についても検討した。検討の結果, 本方法の定量値は既存の分析方法による定量値とほぼ一致し, 分析時間は4時間程度になることが分かった。さらに, 乾燥試料に対しても本方法を応用できることが分かった。

キーワード: イカ内臓, カドミウム, イオン電極, 迅速分析

Abstract

The cadmium determination used by ion-selective electrode was examined in order to rapidly determine cadmium content of raw material, processed product and the processing sulfuric acid solution in the removing cadmium process of the squid viscera. The removal and masking were examined, while the degree of the interference was examined on coexistence thing of which the interference of the potentiometric measurement was considered. And, the method for decreasing the error by applying least squares method, etc. to the calculation, further was also examined at the determination by standard addition method. It was proven that as a result of the examination, the analytical value by this method agreed for them by existing analytical method almost, and that the analysis time is in about 4 hours. In addition, the examination for applying this method for the dried sample was also carried out.

KEY-WORDS : squid viscera, cadmium, ion-selective electrode, rapid analysis

1. はじめに

イカ内臓等(イカゴロ)からカドミウムを酸処理及び電解により除去し、養魚用餌料として利用するためのプロセスにおいて、原料、各工程中の処理物や各種処理溶液、最終製品中のカドミウム濃度を知ることは工程管理上重要である。一般的に、これらのカドミウムを分析する方法は、含まれる有機物を灰化後、酸溶液とし、必要に応じて測定時に干渉を及ぼすナトリウム等を溶媒抽出等により分離し、原子吸光法やICP発光分光分析法などにより定量する。しかし、この分析法は正確ではあるが、分析に時間がかかることが多く、カドミウム除去処理工程にフィードバックするための分析法としては対応できない場合が多い。さらに、装置本体も高価であり、また、分解操作に必要なドラフトやガスなどの設備も必要になるなど初期設備投資が高額になる。

一方、簡便な分析方法としては、比色法、蛍光X線法、ポルタンメトリーなどいくつか考えられるが、その中で、装置が安価、比較的感度も高く取扱がやさしい、また、懸濁物質が含まれていても測定に支障がなく前処理操作を簡略化できる、といった特徴を持つイオン電極法による定量を検討した。イオン電極によるカドミウムの定量は、ホタテウロの脱カドミウム工程の管理分析法としてすでに検討され、実用化されているが、イカゴロは脂質や銅をホタテウロより多く含むなど性状や組成が異なり、そのまま適用することは困難と考えられることから、以下の検討を行った。

2. 実験

2.1 装置及び器具

電位測定にはいずれも電気化学計器株式会社製の、ポテンシオメータはpH/イオンメータMODEL IOL-50、イオン電極は7124L型、比較電極は4400-0.65C型またはNo.2535型(この電極のみ堀場製作所)、液温測定用電極は3051-0.65S型を用いた。液の攪拌にはマグネチックスターラーION STIR-8型を使用し、攪拌は7mm×25mmのPTFE攪拌子で600rpmとした。また、電極への光の影響を避けるために測定時は100mLまたは50mL褐色ビーカーを用いた。

また、比較及び半定量のための分析法として用いたICP発光分光分析法(以下ICP-AESと記載)及びICP質量分析法(以下ICP-MSと記載)には、セイコー電子工業株式会社製ICP発光分光分析装置SPS-1200AR型及び横河電機株式会社製ICP質量分析装置HP-4500型を使用した。銅の影響の検討時、生成した沈殿を観察するのに日本電子製走査型電子顕微鏡JSM-5800LV及びオックスフォードインストルメンツ製高速エネルギー分散型X線分析アナライザLink ISIS 300を使用した(以下SEM/EDSと表記)。ホモジナイズには家庭用のガラス製ジュースーを用いた。固液分離などに使用する遠心分離器は国産遠

心器製H-100 B2型を使用した。濾紙は東洋濾紙製5C-185mm、ディスパーザブルメンブランフィルタは東洋濾紙製DISMIC-25CS(孔径0.2μm)、限外濾過膜は加圧ディスパーザブルタイプである東洋濾紙製ウルトラフィルタユニット(分画分子量10,000)を用いた。アミノ酸組成の分析は日立製アミノ酸分析計L-8500型を使用した。

2.2 試薬

カドミウム標準液は電気化学計器株式会社製1,000mg/L硝酸カドミウム溶液を用い、必要に応じて希釈して使用した。イオン強度調整剤は工場排水測定用として浅野によって開発された¹⁾、表1に示す組成の液をMerck製Suprapur試薬の酢酸ナトリウム、リン酸水素二ナトリウム、硝酸カリウム、特級L-アスコルビン酸、関東化学製精密分析用エタノール、原子吸光分析用酢酸、特級サリチルアルデヒドオキシムを用いて調製して使用した。なお、サリチルアルデヒドオキシムはベンゼン、ヘキササン混合溶媒から再結晶により精製して使用した。分析用の純水はヤマト科学製Autostill WA73型蒸留イオン交換水を用い、試薬調製用には純水をMILLIPORE製超純水製造装置Milli-Q Academicで精製した超純水を使用した。カドミウム抽出等用の酸は関東化学製特級硫酸、pH調整用のアルカリは関東化学製特級水酸化ナトリウムを使用した。銅、鉄、鉛及び亜鉛の影響ならびにナトリウム濃度の測定にはキシダ化学製原子吸光分析用標準溶液(各1,000mg/L)を使用した。アミノ酸類はタウリンは関東化学製一級試薬、残りは関東化学製特級試薬を用いた。なお、塩基性アミノ酸であるリジン、アルギニン、ヒスチジンは塩酸塩を使用した。脱脂の検討には関東化学製特級エタノールを使用した。また、ICP-AES等での前処理の湿式分解には関東化学製電子工業用ELグレード硝酸、原子吸光分析用過酸化水素水及び原子吸光分析用過塩素酸を使用した。

表1 イオン強度調整剤の組成

酢酸ナトリウム3水和物	100g
L-アスコルビン酸	10g
リン酸水素二ナトリウム12水和物	100g
硝酸カリウム	100g
サリチルアルデヒドオキシム	10g
エタノール	50mL
酢酸	10mL
純水で1000mLに定容する	

2.3 試料

函館地区の水産加工場から平成13年4月(ICP-MSによる半定量用としてのみ使用)及び7月、平成15年5月下旬～6月上旬及び平成16年5月下旬～6月上旬に提供されたイカ内臓及びその脱カドミウム処理試作飼料等を用いて各種分析及び検討を行った。図1にイカ内臓の脱脂・重金属除去プロセス

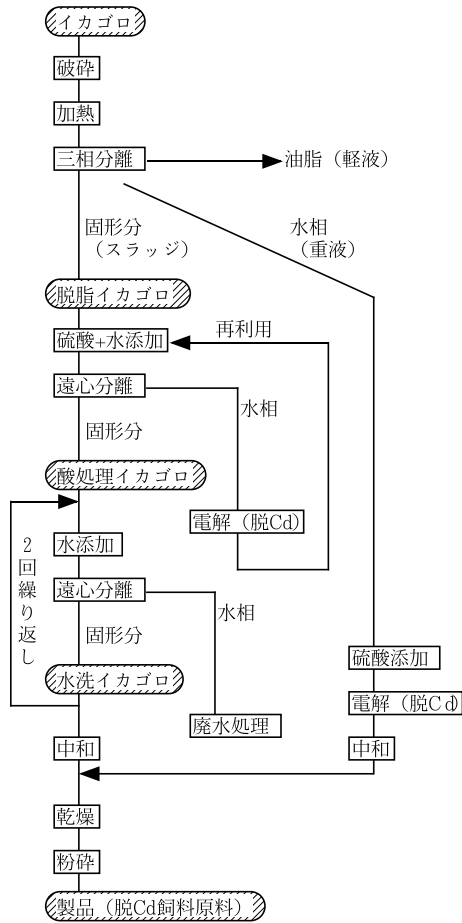


図1 イカ内臓の脱脂・重金属除去プロセス³⁾

ス・を示す。アミノ酸の干渉についての検討は、製品歩留まりを大幅に改善するため可溶分をほとんど回収する改良されたプロセスで試作した脱脂・脱カドミウムイカゴロ乾燥物(飼料原料)を用いた。これは遊離アミノ酸をさらに多く含むと考えられる。

2.4 分析フローの指針

図2に本研究における分析フロー指針とホタテウロにおける検討結果を示す。本分析法はイカゴロに酸を加え、含まれるカドミウムをフリーのイオンにし、各種濾過を行い脂質やタンパク質と分離し、酸の影響をなくすために中和し、妨害金属に対するマスキング剤を加え、各種の誤差を補正するために標準添加法によりカドミウムを定量する方法とした。

2.5 イカゴロに含まれる金属元素濃度

カドミウムイオン電極の測定に対しては銅、銀、鉛、鉄などが大量に含まれると大きな干渉があるので、イカゴロに含まれる元素の概略濃度を知る必要があることから、湿式分解後ICP質量分析法により半定量した。

2.6 浸出時間の影響

目的元素のカドミウム、干渉の大きい金属元素(銅、鉄、鉛)及び亜鉛について浸出挙動を調べた。浸出方法及び定量は次のとおりである。イカゴロを200gとりジューサーで粉碎し一部取り分けておく。粉碎した残りの内150gに2v/v%硫酸を150ml添加しジューサーで2min破碎攪拌しNo.5C濾紙(185mm)で濾過し、その濾液を1hごとに分取しそれぞれ分画分子量10,000の限外濾過フィルターで濾過した液を2mL分取して湿式分解しICP-AESで定量した。また、取り分けておいたイカゴロ粉碎物を2gとり同様に湿式分解後定量し浸出率を求めた。なお、鉛は定量値が低かったので測定項目から除外した。

2.7 分配比についての検討

飼料試作工程の中間生成物である脱脂イカゴロに希硫酸を加えてホモジナイズしスラリー全体が濃度平衡になったとき、カドミウムが水相に対してどのように分配されるか検討した。すなわち、一定量の脱脂イカゴロに対して加える希硫酸の量を1:1から1:9まで変化させて添加し、ホモジナイズ後No.5C濾紙で1hまでの濾液をとり、分画分子量10,000で限外濾過を行った液のカドミウム濃度を湿式分解ICP-AESで分析し、希硫酸によるイカゴロの希釈倍率と脱脂イカゴロ原料/濾液のカドミウム濃度比の関係を調べることににより、カドミウムの水相への分配比について検討した。

分析フロー	操作の必要性	ホタテウロでの検討結果 ¹⁾
浸出	Cdをフリーのイオンにする	2v/v%硫酸で十分浸出される。ホタテウロ:硫酸=1:1では濾液のCd濃度はホタテウロの1/2になる。
濾過	不溶性のタンパク質や油と分ける	濾過には濾紙による自然濾過が最も速く安価。
限外濾過	中和したとき再結合する可能性のある可溶性タンパク質を除去する	ホタテウロ中のCdは様々な分子量のタンパク質と結合しているとみられる。
中和	電極はpHの影響を大きく受けるので中性で測定する	緩衝液で対応可能。
マスキング	Cu, Fe, Pbなどは測定の妨害になるので沈殿や錯形成で除去する	ホタテウロ中に含まれるCu, Feについては妨害を除去できるマスキング剤の濃度を明らかにした。Pb, Ag, Hgなどはホタテウロ中にはほとんど含まれず、金属ではないが測定を強く妨害するシステインも含まれない。
標準添加測定	Cl, Brなどのハロゲンイオンは検量線を平行移動させてしまうので標準添加法による測定で精度を向上させる	ハロゲンによる電位のシフトは標準添加法でキャンセル可能。標準添加法では電位勾配を理論値を代入しても正確な値が測定される

図2 イオン電極によるイカゴロのカドミウム分析フロー指針

2.8 銅の干渉の除去

イカゴロは多量の銅を含むため、カドミウムイオン電極による測定では大きな妨害が考えられる。ホタテウロ測定時も干渉除去剤としてサリチルアルデヒドオキシムを添加して含まれる銅を沈殿分離によりマスキングした。すなわち、ホタテウロに含まれる銅 1 mg/Lまでの影響はサリチルアルデヒドオキシムを10mg/100mLになるように添加し、10min程度放置してから測定することにより除去できる。イカゴロに含まれる銅は最高200mg/kg-wet程度であるので、最終的に40倍に希釈される測定溶液中には最高5 mg/Lになると考えられる。サリチルアルデヒドオキシムを100mg/100mLになるようにエタノール溶液として加えて、銅10mg/L共存下でカドミウムの検量線を作成した。また、ホタテウロの場合は沈殿生成に10min程度の時間が必要だったので、銅溶液にサリチルアルデヒドオキシムエタノール溶液を添加して0, 15, 30, 60min経過してからカドミウム溶液を添加して検量線を作成することにより最適沈殿分離時間について検討した。

2.9 アミノ酸類の影響の検討

イカゴロに多量に含まれる有機物であるアミノ酸類の影響について検討した。まず、試作した脱脂・脱カドミウムイカゴロ乾燥物(飼料原料)に含まれる遊離アミノ酸量を80%エタノールで抽出後アミノ酸分析計により測定した。イオン電極測定時には、溶液を1/40に希釈するため、イカゴロ試料のアミノ酸量に対して測定溶液は1/40になる。試薬のアミノ酸17種類をその濃度をやや越える程度に混合し水酸化ナトリウムでpH約6に調整した溶液中でカドミウムの検量線を作成することによりアミノ酸類(タウリンを含む)の影響を調べた。

2.10 標準添加法における計算方法の検討

また、標準添加法による定量において、その精度に直接影響を及ぼすイオン電極の応答勾配を、理論値ではなく最小自乗法を用いて実測値より推定することにより、さらに誤差を少なくする方法などについて検討した。

2.11 実試料への適用

脱脂イカゴロ、酸処理及び水洗イカゴロについて湿式分解ICP-AESにより測定した値と本方法により測定した値について比較した。また、酸浸漬液及び水洗液について同様に湿式分解ICP-AESにより測定した値と本方法により測定した値についても比較した。

2.12 乾燥物への適用

乾燥粉砕後の最終製品は、脂質が一部残存しており、また乾燥処理のため堅硬で、酸溶液に浸漬してもカドミウムの溶出が抑制される懸念があることから、本方法の適用性についてさらに検討を行った。すなわち、飼料試作工程の中間生成

物である脱脂イカゴロ(粗脂肪分乾燥重量あたり20.7%)を105で乾燥させ、乳鉢で0.6mm程度以下に粉砕した物を試料として用いて、エタノールによる脱脂処理及び酸浸漬を行った。その溶液を限外濾過し湿式分解ICP-AESで定量し浸出率等を求めることにより最適な前処理法を検討した。

2.12.1 エタノールによる脱脂及び膨潤についての検討

エタノールにより脂肪分だけでなくカドミウムも浸出されると分析が困難になるため、エタノール浸出液中に含まれる各種金属元素濃度を調べた。すなわち、パイレックスガラス製の遠心管(50mL)に乾燥させた脱脂イカゴロ試料を1g取りエタノールを20mLになるまで加えて10min超音波洗浄を行い、1,500rpm(約360G)5min遠心分離し液層を駒込ピペット等で回収する操作を3回繰り返す。3回分の液層を混合してエタノール分を加熱して揮散させた後、検討試料そのものとともに、湿式分解後ICP-AESによりエタノール抽出分のカドミウム、亜鉛、銅、ナトリウムを定量した。

2.12.2 酸浸漬前処理としてのエタノール脱脂処理回数の検討

試料1gにエタノールを20mLになるように添加して10min超音波洗浄を行い、1,500rpm(約360G)5min遠心分離し液層を回収する操作を0~2回繰り返す。その後、固相に2v/v%硫酸を10mLになるまで加えて10min超音波洗浄を行い5min遠心分離した液をNo.5C濾紙で濾過し、分画分子量10,000で限外濾過した液について湿式分解ICP-AESにより測定した。エタノール抽出後、酸抽出するときに残存しているエタノールの量が規定できないので10mLの目盛りまで酸を加えて、固体が10倍に希釈されたと考えて希釈率を計算した。湿試料検討時の計算方法とは異なるが固液比が大きいので誤差が少ないと考えられる。

2.12.3 脱脂後の酸浸漬時間の影響の検討

試料を重量体積比で20倍以上のエタノールによって10minの超音波洗浄 - 1,500rpm 5min遠心分離脱脂を行った後、固相に2v/v%硫酸溶液を加えて10mLになるようにして、超音波洗浄による抽出時間に対する抽出率の変化を調べた。脱脂の影響の検討と同様、抽出後の硫酸溶液を5min遠心分離した液をNo.5C濾紙で濾過し、分画分子量10,000で限外濾過した液について湿式分解後ICP-AESにより測定した。

2.12.4 固液比とpHの影響についての検討

試料を1gまたは2.5gとり、重量体積比で10倍以上のエタノールによって10minの超音波洗浄 - 1,500rpm 5min遠心分離脱脂を行った後、固相に2v/v%硫酸溶液を加えて10mLになるようにして、超音波洗浄による抽出時間および固液比に対する抽出率の変化を調べた。

3. 結果と考察

3.1 含まれる金属元素

半定量結果を表2に示す。イカゴロはアルカリ金属やアルカリ土類元素の含有量は高いが、これらの元素はイオン電極に対してはほとんど干渉しない。一方、重金属元素としては鉄や銅の含有量が高く、イオン電極によるカドミウム測定に干渉する可能性があることが分かった。

表2 湿式分解ICP-MSによるイカゴロ及びホタテウロの半定量値

イカゴロ(mg/kg-wet)		ホタテウロ(mg/kg-wet)	
Na	3000	Na	3200
K*	2500	K*	820
Mg	530	Mg	510
Si*	410	Ca	360
Ca	340	Fe	120
Fe	190	Al	93
Cu	140	Si*	46
Zn	110	Zn	34
Cd	19	I	30
Br*	14	Br*	20
Sr	12	Cd	13
Al	8.5	Sr	8.1
B	6.7	Tr*	7.4
As	6.5	Mn	7.0
Mo	4.9		

4mg/kg以上検出されたもの
 *は正の干渉がある元素
 イカゴロはゲソ部分も含む
 ホタテウロは貝柱以外の軟体部全部

3.2 浸出時間の影響

イカゴロの重金属の定量結果を表3及び浸出率を図3に示す。イカゴロ150gに希硫酸を150mL加えていることから、浸出された液の濃度が原料濃度の1/2になったとき抽出率100%とした。本試料の場合、濾紙による濾過は比較的容易であり、1hで約10mL以上の比較的清澄な溶液が得られた。濾過時及び濾液の写真を図4に示す。イカゴロのカドミウム、亜鉛の浸出は速く1hですでにほぼ平衡に達していることから、カドミウムの浸出時間はホタテウロと同様、酸浸出粉碎後直ちに濾過して濾液が得られるまでの1hで十分であることが分かった。しかし、イカゴロの分析値を浸出液濃度の2倍として計算すると浸出率が100%を越えてしまうことから、これらの元素の固液分配については詳細に調べる必要がある。また、イカゴロの鉛の濃度は0.39mg/kg-wetと低く、イオン電極測定時には原料に対して1/40に希釈するため0.01mg/L程度になるので全く干渉しないことが分かった。一方、

イオン電極測定時に大きな干渉を与える銅は浸出が速く、1hでの浸出率は90%程度であり、測定溶液中では原料に対して1/40に希釈されても2mg/L程度と高く、干渉の抑制を検討する必要があることが分かった。また、鉄はイカゴロ中の濃度は高いが浸出が遅く、3hでも浸出率は30%程度で、1/40に希釈される測定溶液中では0.2mg/L程度にしかならないため、イオン強度調整剤に加えられているリン酸塩による沈殿分離で十分干渉を抑えられることが分かった。

表3 イカゴロの重金属濃度

元素	mg/kg-wet
Zn	38.1
Cd	6.92
Pb	0.39
Fe	28.0
Cu	85.2

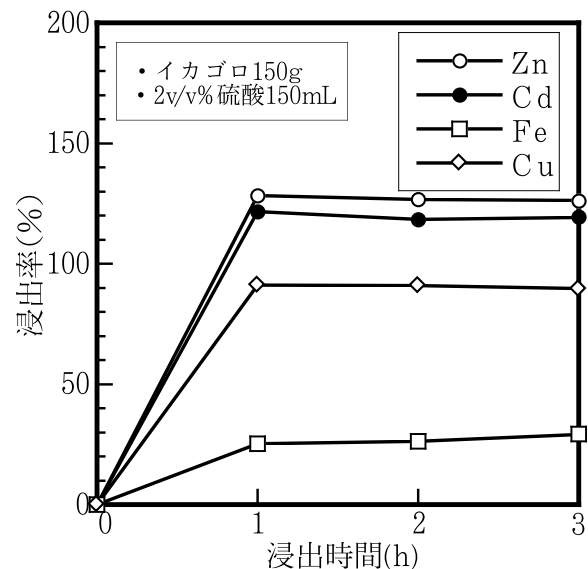


図3 重金属元素の浸出率に対する浸出時間の影響

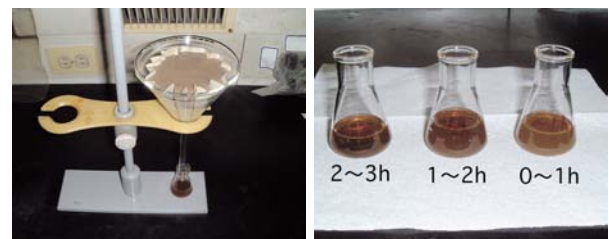


図4 濾紙による濾過及び濾過後の液

3.3 固液分配についての検討

希硫酸によるイカゴロの希釈割合とイカゴロ原料/濾液のカドミウム濃度比の関係を図5に示す。例えば、イカゴロ1に対し希硫酸1加えた時、溶液濃度はイカゴロ原料濃度に対

して1.595倍希釈されていることが分かった。各希硫酸添加量における両者の関係を最小自乗法で1次曲線に回帰させたときのy切片は0.567となった。これは、希硫酸添加後カドミウムが固液全体に分配された時、原料イカゴロを仮想的な液と見なしたときの量に相当し、本実験で用いたイカゴロの水分値63.8%と近いことから、含まれているカドミウムは、イカゴロにもともと含まれている水分に加えた希硫酸との含量に対してのみ分配され、詳細は分からないが、固体分や脂肪にはほとんど分配されないと現象的には考えることができる。

このことから、本法でイカゴロのカドミウムを分析する際、同時に水分を測定しておき、イカゴロの水分と添加した希硫酸量により希釈倍率を計算する必要があることが分かった。原料のイカゴロは脂質が多く、脱カドミウム工程中、特に分析が必要な中間製品は脱脂処理等の遠心分離処理のため水分が低くなることから、この補正がより有効になると考えられる。

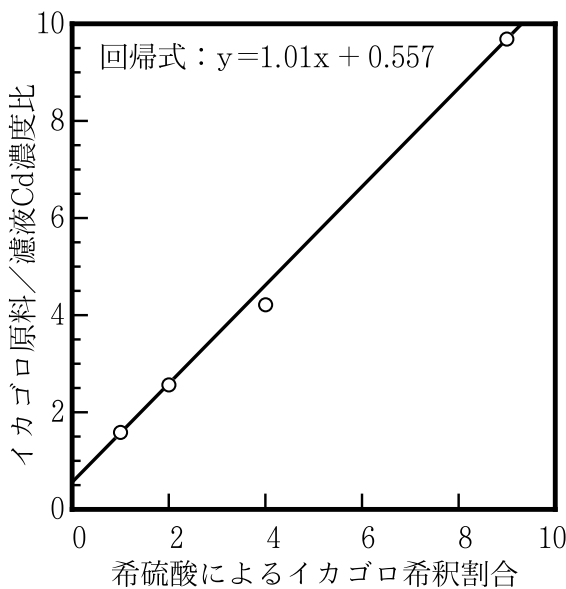


図5 カドミウムの固液分配

3.4 銅の干渉の除去

サリチルアルデヒドオキシムの添加後、放置時間を変化させカドミウムの検量線を作成した結果を図6に示す。銅10mg/L共存下、サリチルアルデヒドオキシムを10mg/100mL添加した溶液については電位応答が著しく遅く、測定不能になるほどの大きな干渉がみられた。しかし、サリチルアルデヒドオキシムを100mg/100mLになるように添加すると銅10mg/Lの共存下でも干渉がほとんどみられなくなった。さらに測定時、溶液に黄色沈殿が生じたのが観察された。また、添加後時間が経つにしたがって1hまでは干渉がさらに少なくなっていくことから、銅とサリチルアルデヒドオキシムの錯体の完全な沈殿生成には時間がかかることが分かった。以

上からイカゴロに多く含まれるCuの妨害はサリチルアルデヒドオキシムを100mg/100mLになるように加え放置し、沈殿を生成させることにより抑制できることが分かった。しかし、実試料溶液の分析時、15min程度の放置時間では測定すると電位応答が著しく遅くなり、分析値が正確でなかった。また、実試料の測定では試薬による実験に対し、サリチルアルデヒドオキシム添加後の測定溶液がゆっくり濁っていくことから、沈殿分離に必要な時間は30min程度が適当と考えられる。また、このとき生成した沈殿をメンブランフィルターで濾過しSEM/EDSにより分析した。EDSの結果を図7に示す。沈殿の特性X線スペクトルからは銅及び鉄が検出され、これらの元素が沈殿分離されていることが確認された。

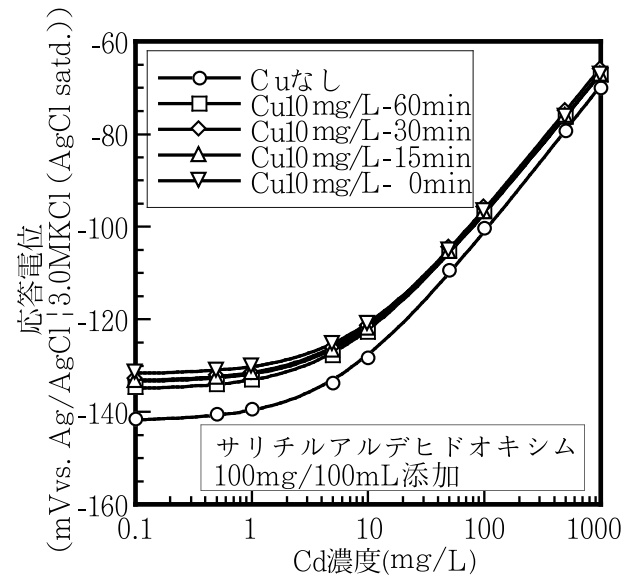


図6 カドミウムのイオン電極検量線に対する銅の影響及び干渉の除去

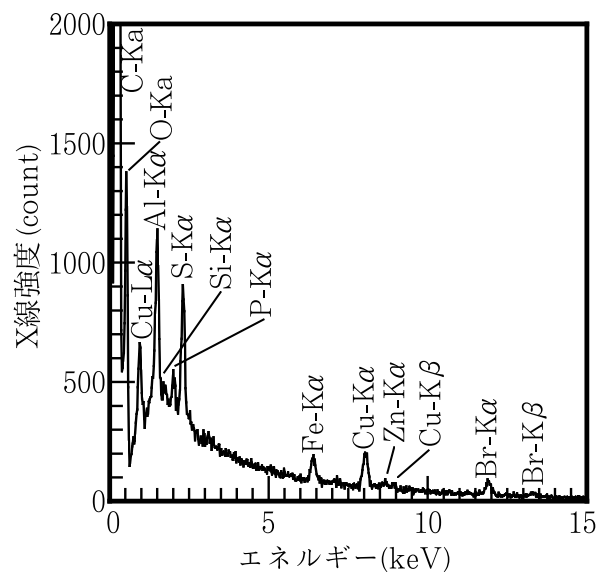


図7 イカゴロのイオン電極測定時に発生する沈殿の特性X線エネルギー分散スペクトル

3.5 アミノ酸類の影響の検討

試作した脱脂・脱カドミウムイカゴロ乾燥物(飼料原料)のアミノ酸含有量(主にタンパク質を構成する種類のみ)を1/40(イオン電極による測定時の希釈倍率)に希釈した濃度、及び実験に用いた混合溶液のアミノ酸濃度を表4に示す。

アミノ酸を添加して作成したカドミウムの検量線を図8に示す。可溶性の成分も含めイカゴロに含まれる脂肪分以外のすべての成分が回収されている脱カドミウム処理後の最終製品中では遊離アミノ酸は相当高くなっていると考えられるが、それとほぼ同等の多量のアミノ酸を含む試料でもその影響はほとんど見られないことから、アミノ酸による干渉はないと考えられる。

表4 試料に含まれる遊離アミノ酸量から計算したイオン電極法測定時におけるアミノ酸量と影響検討時の添加量

アミノ酸	脱Cdイカゴロ試料に含まれる量の1/40(mg/kg)	添加量(mg/L)
タウリン	308.5	400
アスパラギン酸	67.8	100
スレオニン	114.2	150
セリン	54.8	80
グルタミン酸	132.2	150
プロリン	125.9	150
グリシン	92.5	100
アラニン	205.3	250
バリン	168.9	200
シスチン	0.0	0
メチオニン	64.7	80
イソロイシン	125.9	150
ロイシン	141.4	150
チロシン	59.6	80
フェニルアラニン	70.9	100
トリプトファン	4.5	10
リジン	220.7	250
ヒスチジン	10.0	10
アルギニン	162.1	200

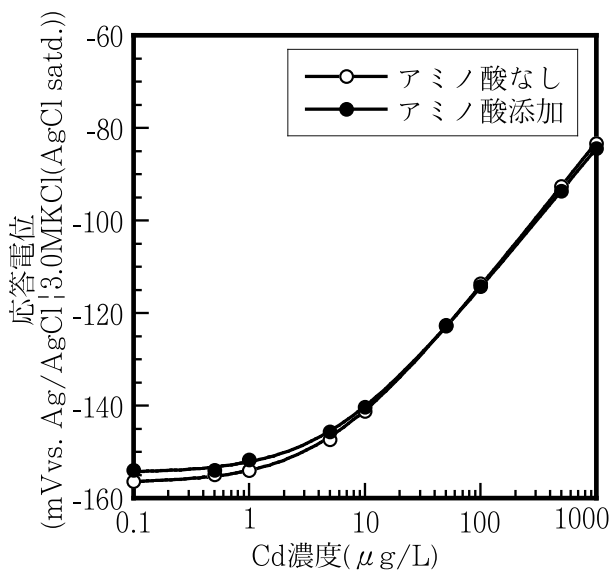


図8 カドミウムのイオン電極検量線に対するアミノ酸の影響

3.6 標準添加法における計算方法の検討

イオン電極の標準添加法では応答勾配を一般には理論値(2.303RT/nF)または検量線作成時に求めた値で行う。しかし、イカゴロ実試料では各カドミウム標準液添加量における応答勾配の計算値が添加量に対して系統的に変化することから、応答勾配が理論値(25で29.6mV/decade)から少し高い方にずれることが分かった。そこで、実際の測定時には複数点による標準添加を行うことから、測定濃度と同時に応答勾配も最小自乗法により推定する方法を用いると、湿式分解ICP-AESによる分析値との誤差が小さくなった。すなわち、一般にイオン電極において標準添加を行った場合、次式で表すことができる。

$$\Delta E = 1000a \frac{2.303RT}{nF} \log_{10} \left(\frac{V_0 X + \frac{v}{1000} m}{\left(V_0 + \frac{v}{1000} \right) X} \right) \dots (1)$$

ΔE：添加した時の電位の変化量(mV)

R：気体定数(JK⁻¹mol⁻¹)

T：絶対温度(K)

n：イオンの電荷

V₀：添加前の溶液の体積(mL)

X：添加前の液の濃度(μg/L)

v：添加液の体積(μL)

m：添加液の濃度(μg/L)

a：検量線の傾きの理論値からのずれ

本試験の場合、検量線の傾き：1000a2.303RT/(nF)をSと置くと、添加前の液量 V₀ = 40mL、添加液の濃度：m = 100 mg/L = 100,000 μg/Lであることから、vを独立変数、Eを従属変数としてSおよびXを最小自乗法により推定すると回帰式は、次式で表すことができる。

$$\Delta E = S \log_{10} \left(\frac{10X + \frac{v}{1000} 100000}{\left(40 + \frac{v}{1000} \right) X} \right) \dots \dots \dots (2)$$

図9に測定結果による検量線の傾きと添加前の溶液のカドミウム濃度の推定の例を示す。この例のように、応答勾配が理論値より大きくなる原因はカドミウムに対して弱い錯形成をする配位子が含まれている可能性が考えられるが詳細については不明である。この補正を行った計算値と行わない計算値と湿式分解ICP-AESによる分析値を比較した結果例を表5に示す。なお、イオン電極法の結果のいずれの値も水分を測定し、3.3節で検討した希釈率の補正を行っている。検量線の傾きの補正後の値は湿式分解ICP-AESに近くなり、分析の正確性の向上に有効であることが分かった。

またさらに、イオン電極は一般に検量線下限近くの極低濃度では理論応答勾配から外れ、例えばイオン電極の検量線の式は次式で表すことができる。

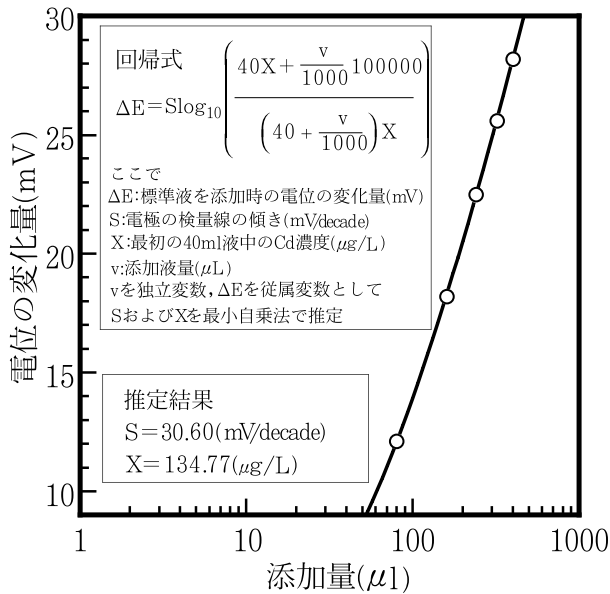


図9 標準添加測定における検量線の傾き等の推定

$$E = S \times \log(X+B) \dots\dots\dots(3)$$

- E : 応答電位 (mV)
- S : 応答勾配 (mV/decade)
- X : カドミウムイオンの濃度 (mg/L)
- B : 定数

ここでの定数Bを検量線作成時に最小自乗法により推定しあらかじめ求めておき、実試料測定時に標準添加による定量値から引き去ると、特に極低濃度領域での値の正確性を向上できる。

表5 検量線の傾き補正の分析結果に対する影響

湿式分解 ICP-AES	イオン電極 検量線の傾きの補正	
	補正なし	補正有り
Cd濃度 (mg/kg)	9.52	8.86

3.7 実試料への適用

以上の検討から導いたフローを図10に示した。イカゴロ及びその処理物について既存の分析方法と本方法による分析結果を図11に示した。酸浸漬液及び水洗液について同様に湿式分解ICP-AESにより測定した値と本方法により測定した値について図12に示した。これより既存の分析法と本方法による分析値はおおむね一致することが分かった。

3.8 乾燥物への適用

各回ごとのエタノール抽出液の写真を図13に示す。抽出液は褐色から黄色を示すがほとんど透明であった。抽出に用いた乾燥試料とエタノール抽出液の定量結果について表6に示す。これより、エタノールにはカドミウムはほとんど抽出されないことが分かった。

脱脂の影響について検討した結果を図14に示す。エタノール脱脂をしないと抽出率は低く、固液比20で1回以上脱脂を行うと抽出率はほぼ100%になることが分かった。

浸出処理時間を变化させた実験結果を図15に示す。これより超音波洗浄時間5min以上で抽出率はほぼ100%になることが分かった。

さらに、感度を向上させるために、固液比を下げて希釈率を下げるができるか検討するため、固液比を変えて抽出を行った結果を表7に示す。固液比10(1.0g : 10mL)ではほぼ100%抽出率が得られたが、固液比4(2.5g : 10mL)では抽出率は75.6%と低かった。このときの溶出液のpHを試験

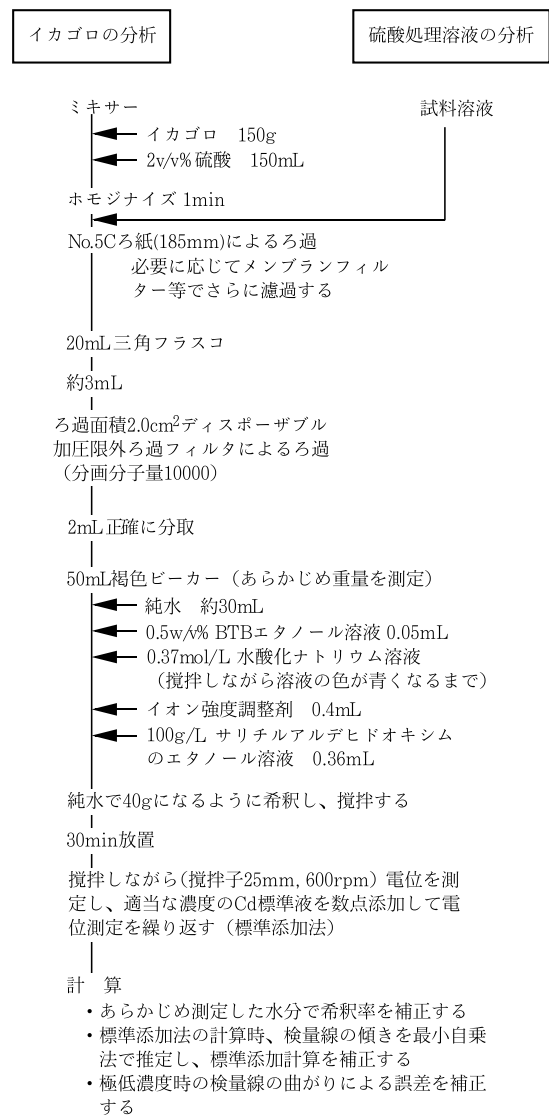


図10 確立した分析フロー

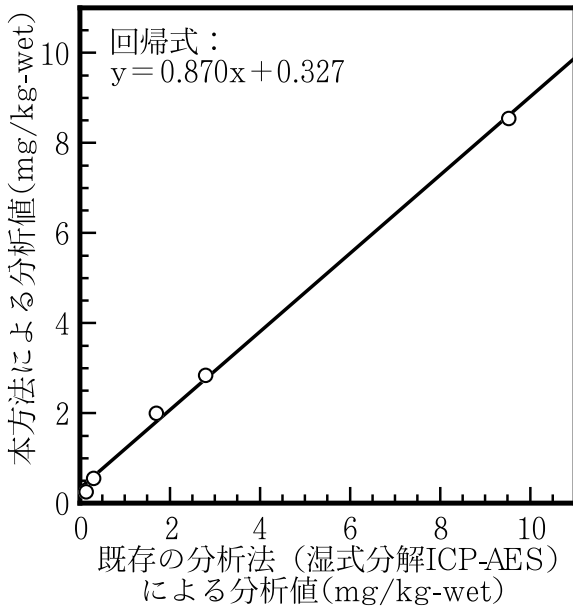


図11 イカゴロの本方法と既存の方法による分析結果

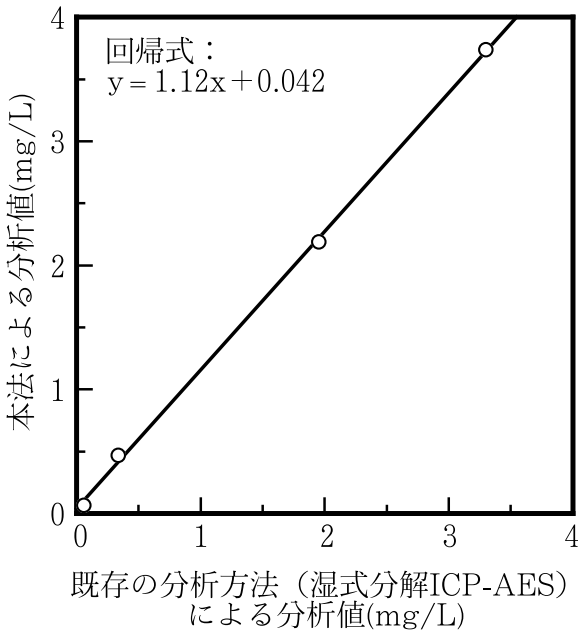


図12 酸処理溶液の本方法と既存の方法による分析結果

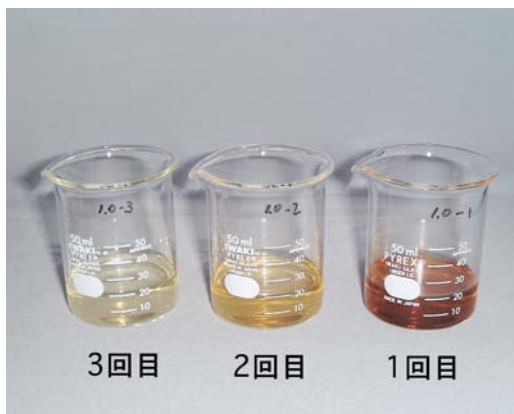


図13 乾燥物のエタノール脱脂

紙で測定したところpH3.0までしか低下していなかったため、pHを下げるために硫酸濃度を5v/v%にしたところ抽出液のpHは1.0となり抽出率は101.8%と満足できる値になった。これによりイカゴロのpH干渉能は大きく固液比を小さくしたときは抽出液のpHが十分低下するように酸を加えなければならないことが分かった。

一般に乾燥物抽出液の限外濾過は湿イカゴロ試料の場合よりもかなり時間を要することが多い。これは乾燥処理の際には、品温の上昇によりペプチドのようなタンパク質の分解物が多くなるためと考えられる。特に2.5g : 10mLの場合、限外濾過に1晩程度もかかったことから迅速な分析とは言えない。しかし、限外濾過溶液のイオン電極による測定値は湿式分解ICP-AESによる分析値28.6mg/kgに対して32.6mg/kgとおおむね一致し、定量値は大きな誤差を含まないことが分かった。これより、最終乾燥製品中のカドミウム濃度の分析は工程管理分析ほどは迅速性を強く要求されないため、処理現場で簡易な設備のみを用いて概略濃度を測定するには十分有用な方法であると考えられる。

表6 乾燥物の重金属のエタノール抽出率

元素	脱脂イカゴロ 乾燥物 mg/kg	エタノール抽出液 固体換算濃度 mg/kg	抽出率 %
Zn	201	6.7	3.3
Cd	27.1	0.11	0.41
Cu	406	8.4	2.1
Na	5900	1370	23.2

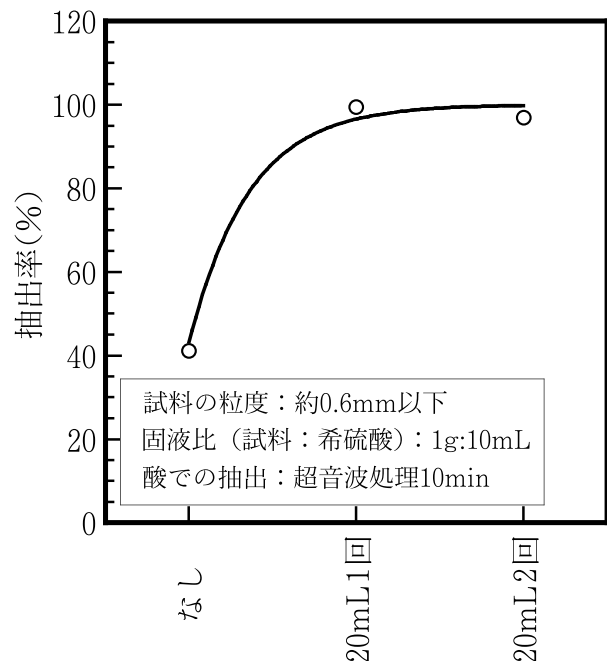


図14 重金属浸出に対する脱脂回数の影響

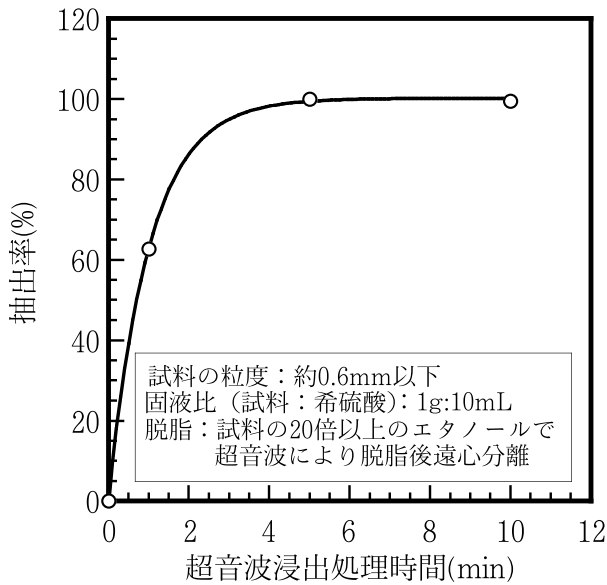


図15 重金属浸出に対する酸浸出時間の影響

表7 重金属浸出に対する固液比の影響

浸出率(%)	2v/v% 硫酸	5v/v% 硫酸
固液比1:10	99.6	
固液比1:4	75.6	101.8

試料の粒度：約0.6mm以下
脱脂：試料の10倍以上のエタノールで
超音波により脱脂後遠心分離

4. まとめ

以上の結果をまとめると

- (1) 酸によるイカゴロからのカドミウムの浸出は十分速く、1時間で平衡に達していることが分かった。妨害元素のうち、銅は浸出が速く量も多く含まれるので測定時に沈殿分離剤を多くする必要があるが、鉄は浸出が遅く3時間程度でも抽出率は低いためリン酸塩による除去方法で対応可能であることが分かった。
- (2) カドミウムは、イカゴロに含まれる水分と加えた希硫酸に分配されると見なされるので、試料含水率を同時測定して希釈率補正を行うことによって分析精度を向上させることができる。
- (3) 測定時の銅の干渉は100mg/100mLのサリチルアルデヒドオキシムを加え、30min程度反応させることで除去できることが分かった。
- (4) アミノ酸類はイカゴロには相当多く含まれるが、干渉はほとんど与えないことが分かった。しかし、標準添加法での測定時、検量線の傾きを最小自乗法で推定すると、理

論値より大きくなることから、弱く錯形成する未知の配位子の存在が示唆され、最小自乗法で濃度と検量線の傾きを同時に推定することにより測定精度を向上することができると考えられる。また、極低濃度測定時は検量線の低濃度の曲がりを補正することによりさらに、測定精度を向上することができると考えられる。

- (5) 以上の検討結果をイカゴロ分析に適用し、既存の方法と比較すると分析結果はおおむね一致し、良い相関が得られた。
- (6) 乾燥物を分析する場合、エタノール脱脂を行い、超音波による酸浸出を行うと良い結果が得られることが分かった。しかし、浸出後のpHが高いと浸出率が低下するので、pH1程度にする必要があることが分かった。

謝 辞

脱カドミウムイカゴロ試料の遊離アミノ酸組成分析に関しては、北海道立釧路水産試験場加工部開発技術科信太茂春科長に大変お世話になりました。この場をお借りして深く感謝を表します。

また、本研究で使用したICP発光分光分析装置は、日本自動車振興会の補助により整備したものであり、関係各位に感謝いたします。

引用文献

- 1) 富田恵一・若杉郷臣・齋藤隆之・長野伸泰・作田庸一：ホタテガイ副産物の有効利用システムの開発(第4報) - イオン電極法によるホタテガイ副産物中のカドミウムの迅速定量 - , 北海道立工業試験場報告, No.298, pp.11-17 (1999)
- 2) 浅野泰一：特許公開広報, 昭52-37392 (1977)
- 3) 若杉郷臣・富田恵一・長野伸泰・蓑嶋裕典・鎌田樹志・松嶋景一郎・作田庸一：イカ内臓の処理・利用技術の開発(第3報) - 脱脂・重金属除去プロセスの開発 - , 北海道立工業試験場報告, No.303, pp.37-43 (2004)
- 4) 若杉郷臣・富田恵一・高橋 徹・長野伸泰・作田庸一：イカ内臓の処理・利用技術の開発(第4報) - イカ内臓の飼料原料化プロセスの開発 - , 北海道立工業試験場報告, No.304, pp.41-51 (2005)