

# 葉菜中 8 元素の原子吸光定量のための試料磨砕時間の検討

鈴木妃佐子・安部公子・南 廣子

## Investigation of Sample Grinding Time for Atomic Absorption Spectrometry of Eight Mineral Elements in Leaf Vegetables

Hisako SUZUKI, Kimiko ABE and Hiroko MINAMI

### 緒 言

著者らは、葉菜中無機質 8 元素（ナトリウム、カリウム、カルシウム、マグネシウム、銅、マンガン、鉄、亜鉛）の同一試料溶液による同時定量を行う目的で、原子吸光法のための各種前処理法（乾式灰化法、湿式灰化法、密閉容器分解法、塩酸抽出法）を検討し報告した<sup>1)</sup>。その結果、磨砕した生鮮試料を直接温希塩酸で抽出する塩酸抽出法が、操作が簡便で多数の試料を同時に処理することができ、測定数値よりみても実用上、有用であることを確認した。

本研究では、生鮮試料の磨砕時間が測定値に与える影響について検討を行った。

### 方 法

#### 1. 試料と縮分

試料は、葉菜類の中から、日常よく用いられるホウレンソウを選んだ。冬季収穫のホウレンソウ（愛知県産丸葉種）1.6kg を、名古屋市内小売店より購入し、流水状態の水道水で 3 回、イオン交換水で 1 回洗浄後、キムワイプで水分を拭き取り、全草を常法に従い縮分した。縮分後、ホウレンソウの体軸に対して直角に約 0.5cm 幅に切り、よく混合して 200g 前後を秤取し、二重のポリエチレン袋に入れて凍結保存した。凍結は保存の他に磨砕を容易にするためである。

#### 2. 器具及び試薬

ポリエチレン製試験管、同小容器、合成樹脂製まないた等は 4 モル塩酸に 1 週間浸漬し、イオン交換水と再蒸留水で各 10 回洗浄後、乾燥させて二重のポリエチレン袋内に入れて保存した。乾燥はマイクロ波照射（ポリエチレン袋に入れて照射）またはアルミ加熱ブロックで加熱乾燥した。試料を切る包丁はステンレス製を使用し、試料の磨砕には、プラスチック製カップ付き家庭用ミキサー（ナショナル MX-1165）を使用した。試料の分取と希釈、標準溶液の調製には、マイクロピペット（ギルソン製 P-200, P-1000, P-5000）を用い、すべてを重量法で行った。重量測定には、長計量器製作所の電子天びん JP-300WP と JPS-160W を使用した。

標準保存溶液は、和光純薬工業の原子吸光分析用試薬（元素濃度 1000ppm）を用い、20% 塩酸と 10% 塩化ランタンは同じく和光純薬工業の精密分析用試薬を使用した。水は東洋科学製の蒸留水製造機による再蒸留水を、前述と同様に酸処理したコック付ポリエチレンタンクに保存して用いた。以下水はすべて再蒸留水を用いた。

試料の抽出と測定法の正確さを確認する目的で、無機物質含有量既知のアメリカ標準局 (National Bureau of Standards) 標準比較試料のうち、NBS-SRM 1573 Tomato Leaves を用い

てハウレンソウの場合と同様に塩酸抽出し測定を行った。Tomato Leaves は、Michigan State University の A. L. Kenworthy 指導のもとに調製されたものである。即ち同大学の農場で栽培したトマト草本の頂生部分を切り取り、風乾後磨砕し、オープン温度85℃で2時間乾燥後、充分混合してからポリエチレン繊維製のドラムの中でパックし、コバルト-60の照射を行って殺菌処理し、ポリプロピレン製のアメリカ標準ふるい（60メッシュ/1インチ）で繰り返しふるいにかけて調製された。無機成分測定値の大部分は Certified Values として、アメリカ標準局が保証した値である。この保証値は、精度（Accuracy）が確立された分析法か、若しくは二つ以上の信頼できる別々の分析法から得た値がベースとなっている。本実験で分析の対象とした8元素の中のナトリウムの分析値は記載されていない。

### 3. 試料溶液の調製

凍結保存したハウレンソウ試料を、等重量の水と共に、ミキサーカップに入れ、放置解凍後磨砕した。磨砕はミキサーの回転10分間と休止5分間をくり返して行い、磨砕時間は10分、20分、30分、40分とした。その磨砕時間ごとに混合した懸濁液、約4gをマイクロピペットで重量既知の10ml共栓試験管に取った。重量測定後、20%塩酸と水を加えて総重量8g、最終塩酸濃度を2%に調整した。生鮮試料200gの水和混合液より、4~5gの代表試料を採取することの適法性は検討済みである<sup>2)</sup>。この2%塩酸水和水和試料を試験管ミキサーで20秒間振盪混和後、アルミニウム加熱ブロックで80℃、20分間の加温抽出を行った。再び20秒間の振盪混和後、一晚放冷静置し、遠心分離（3500rpm、10分間）によって得た上澄液を試料溶液とした。

### 4. 原子吸光・フレイム測定法

原子吸光光度計日立208型を用い、ナトリウムとカリウムはフレイム分析法で、他の6元素は原子吸光法により測定した。各元素の測定条件は、使用説明書に従った。測定には、噴霧器に直結させたテフロン製小漏斗にマイクロピペットで100 $\mu$ lの試料溶液を注入し、瞬時に噴霧させる一滴法<sup>3)</sup>を用い、検量線法により、試料溶液中の元素濃度を求めた。主成分4元素（ナトリウム、カリウム、カルシウム、マグネシウム）の測定には各試料溶液を50倍に希釈し、微量成分（銅、マンガン、鉄、亜鉛）の測定には、試料溶液をそのまま用いた。カルシウムとマグネシウム測定時におけるリン酸等の干渉を抑制するため、希釈した測定用試料溶液及び標準溶液にランタンを0.5%共存させて測定した。

## 結果及び考察

ハウレンソウ中無機質8元素の測定値をTable 1に示した。ミキサーの磨砕時間別に6個の分取試料を別々に処理して元素濃度を求め、空試験値の補正をした後、生鮮試料100g中の元素量に換算したものである。平均値、空試験値、標準偏差値、標準偏差率も示した。空試験値は、試料を磨砕したミキサーに、試料磨砕時と等重量の水を入れて、各時間回転させ、その中の水約4gを10ml共栓試験管に取り、ハウレンソウ試料の調製時と同様に処理して測定した値である。

標準偏差率（標準偏差/測定値平均 $\times$ 100, R.S.D.と略する）により、測定値の再現性（ばらつき）を検討すると、磨砕時間40分のナトリウムとカルシウムのR.S.D.が4%を越す他は、各測定値ともR.S.D.が小さく、再現性に問題はないと考えた。

至適磨砕時間の検討のため、t検定を行い、その結果と判定をTable 2にまとめた。元素別に以下述べる。

ナトリウム：磨砕時間10分、20分に比べ、30分と40分の測定値が有意に高かった。30分と40

Table 1 Analytical results of eight elements in the extract of spinach

grinding time (min.)	Sample	Taken	Final	Na	K	Ca	Mg	Cu	Mn	Fe	Zn	
		g		mg								
											$\mu\text{g}$	
10	1	3.6572	7.5999	41.1	649	97.4	52.2	94.1	315	634	576	
	2	3.7793	7.8015	40.5	638	97.7	53.9	93.8	326	629	592	
	3	3.4543	7.4591	39.8	626	96.6	53.1	93.3	324	639	609	
	4	3.7547	7.7845	42.0	652	105.3	54.8	92.9	323	642	594	
	5	3.6703	7.6717	42.0	662	101.2	54.4	92.3	319	669	584	
	6	3.9180	7.9399	43.7	668	98.4	54.0	95.9	337	674	584	
	Blank 7		7.9390	0.7	0	2.0	0	3.3	0	26	0	
	Blank 8		7.9093									
		Average			41.5	649	99.4	53.7	93.7	324	648	590
		$\pm$ S.D.			1.4	15	3.3	0.9	1.2	7	19	11
	R.S.D.(%)			3.4	2.3	3.3	1.7	1.3	2.2	2.9	1.9	
20	10	3.0576	7.0594	40.2	651	89.4	53.0	99.0	341	670	593	
	11	3.3881	7.3674	43.0	667	96.4	53.9	96.0	338	643	619	
	12	3.3487	7.3226	41.9	655	92.8	54.4	96.5	339	685	598	
	13	3.3907	7.3359	43.3	657	93.3	53.8	96.9	338	690	585	
	14	3.3806	7.3139	42.8	657	91.7	52.3	92.8	336	676	586	
	15	3.3379	7.3179	43.4	659	94.7	53.5	99.5	333	666	596	
	Blank 16		7.9121	0.9	0	3.5	0	2.4	0	34	0	
	Blank 17		7.9167									
		Average			42.4	658	93.1	53.5	96.8	338	672	596
		$\pm$ S.D.			1.1	5	2.4	0.7	2.4	3	17	12
	R.S.D.(%)			2.6	0.8	2.6	1.3	2.5	0.9	2.5	2.0	
30	20	2.8854	6.8818	(52.0)	659	92.6	54.0	100.0	348	656	594	
	21	3.1213	7.1398	45.4	678	95.9	55.8	103.2	353	702	610	
	22	3.1334	7.0850	46.1	683	91.8	54.3	102.0	352	689	577	
	23	3.3256	7.3263	45.0	684	99.3	55.5	100.0	339	691	587	
	24	3.3101	7.2933	45.5	667	101.0	56.6	98.0	354	691	594	
	25	3.4381	7.4304	45.8	691	94.5	56.2	94.0	341	706	596	
	Blank 26		7.8727	0.8	0	3.4	0	1.6	0	38	0	
	Blank 27		7.9022									
		Average			45.6	677	95.9	55.4	99.5	348	689	593
		$\pm$ S.D.			0.4	12	3.7	1.0	3.3	6	18	11
	R.S.D.(%)			0.9	1.8	3.9	1.8	3.3	1.7	2.6	1.9	
40	30	3.7717	7.6873	44.2	603	93.3	54.1	97.1	340	(685)	605	
	31	3.6804	7.6919	41.3	559	87.2	51.3	100.9	339	610	586	
	32	3.8638	7.8782	45.0	616	94.3	53.9	99.7	(381)	602	598	
	33	3.5581	7.4389	46.2	603	95.1	55.6	99.6	337	592	591	
	34	3.6918	7.6827	46.6	606	98.9	56.1	100.5	347	608	608	
	35	3.5700	7.5761	44.8	584	94.2	54.9	96.3	336	593	586	
	Blank 36		7.9065	0.8	0	3.2	0	1.6	0	40	0	
	Blank 37		7.9129									
		Average			44.7	595	93.8	54.3	99.0	340	601	596
		$\pm$ S.D.			1.9	21	3.8	1.7	1.9	4	8	10
	R.S.D.(%)			4.3	3.5	4.1	3.1	1.9	1.2	1.3	1.7	

Samples were extracted with 2% hydrochloric acid solution at 80°C for 20min.; Contents per 100g of raw material; R.S.D.:Relative standard deviation. Remark:206.3g/420.0g

Table 2 t - Values test

grinding time (min.)	Na			K			Ca			Mg		
	$\bar{x}_A - \bar{x}_B$	$\phi$	$t_0$	$\bar{x}_A - \bar{x}_B$	$\phi$	$t_0$	$\bar{x}_A - \bar{x}_B$	$\phi$	$t_0$	$\bar{x}_A - \bar{x}_B$	$\phi$	$t_0$
10 : 20	-0.9	10	1.225 n.s.	- 9	10	1.273 n.s.	6.3	10	3.840 **	0.2	10	0.512 n.s.
30	-4.1	9	6.310 **	-28	10	3.493 **	3.5	10	1.424 n.s.	-1.7	10	2.906 *
40	-3.2	10	3.329 **	54	10	5.149 **	5.6	10	2.736 *	-0.6	10	0.735 n.s.
20 : 30	-3.2	9	5.442 **	-19	10	3.620 **	-2.8	10	1.562 n.s.	-1.9	10	3.675 **
40	-2.3	10	2.456 **	63	10	7.216 **	-0.7	10	0.427 n.s.	-0.8	10	1.101 n.s.
30 : 40	-0.9	9	1.011 n.s.	82	10	8.444 **	2.1	10	0.937 n.s.	-1.1	10	1.330 n.s.
	(min.) 10=20<30=40			(min.) 40<10=20<30			(min.) 40=30=20<10=30			(min.) 40=10=20<30=40		

  

grinding time (min.)	Cu			Mn			Fe			Zn		
	$\bar{x}_A - \bar{x}_B$	$\phi$	$t_0$	$\bar{x}_A - \bar{x}_B$	$\phi$	$t_0$	$\bar{x}_A - \bar{x}_B$	$\phi$	$t_0$	$\bar{x}_A - \bar{x}_B$	$\phi$	$t_0$
10 : 20	-3.1	10	2.776 **	-14	10	4.152 **	-24	10	2.315 *	- 6	10	0.922 n.s.
30	-5.8	10	4.091 **	-24	10	5.917 **	-41	10	3.915 **	- 3	10	0.492 n.s.
40	-5.3	10	5.770 **	-16	10	4.153 **	47	9	5.103 **	- 6	10	0.960 n.s.
20 : 30	-2.7	10	1.666 n.s.	-10	10	3.625 **	-17	10	1.767 n.s.	3	10	0.471 n.s.
40	-2.2	10	1.795 n.s.	- 2	10	1.075 n.s.	71	9	8.580 **	0	10	0.078 n.s.
30 : 40	-0.5	10	0.337 n.s.	8	10	2.371 *	88	9	10.210 **	3	10	0.451 n.s.
	(min.) 10<20=30=40			(min.) 10<20=40<30			(min.) 40<10<20=30			(min.) 10=20=30=40		

$t(10, 0.05)=2.23$     $t(10, 0.01)=3.17$    \* : Significant at 5 % level.    $\phi$  : Degree of freedom.  
 $t(9, 0.05)=2.26$     $t(9, 0.01)=3.25$    \*\* : Significant at 1 % level.

分の測定値間には有意差はなく、両者が適用磨砕時間であると言える。

カリウム：磨砕時間の間に40分<10分=20分<30分の関係が成立し、30分磨砕が至適条件である。最長時間の40分磨砕が最低の測定値を示した理由は判明しなかった。

カルシウム：最短時間である10分磨砕の測定値が、20分、30分、40分磨砕の測定値より有意に高かった。しかし、10分磨砕に次いで測定値が高かった30分磨砕は Table 2, Ca にみるように、10分、20分、40分磨砕のどれとも有意差はなかった。従って、10分磨砕が最適条件であり次いで30分磨砕が良い条件であると言える。

マグネシウム：30分磨砕の測定値が、10分、20分、40分磨砕に比べて有意に高かった。至適磨砕時間の30分に次いで高い測定値を示した40分磨砕は、10分、20分、30分磨砕のどの測定値とも有意差はなかった。10分~40分磨砕の各測定値間の差が少ないためと考えられる。

銅：20分、30分、40分磨砕の測定値相互間に有意差なく、10分磨砕との比較においてのみ1%有意水準で差が認められた。銅には20分、30分、40分磨砕のどれもが適用できると考える。

マンガン：磨砕時間10分~40分の間に10分<20分=40分<30分の関係がみられ、磨砕の至適時間は30分であった。

鉄：20分磨砕と30分磨砕の測定値相互間に有意差はなく、10分、40分磨砕との比較において有意差が認められた。20分及び30分が試料磨砕の適用時間であると言える。

Table 3 Analytical results of eight elements in NBS-SRM 1573 Tomato Leaves

	Na	K	Ca	Mg	Cu	Mn	Fe	Zn	Remarks
	$\mu\text{g/g}$	$\text{g}/100\text{g}$			$\mu\text{g/g}$				
Certified Values	—	4.46	3.00	(0.7)	11	238	690	62	certified values of constituent element
$\pm$ S.D.	—	0.03	0.03	—	1	7	25	6	
R.S.D. (%)	—	0.7	1.0	—	9.1	2.9	3.6	9.7	
Assayed Values	388	4.17	2.85	0.64	10	226	259	63	2% hydrochloric acid extraction at 80°C for 20 min.
Blank	0	0	0	0	0	0	0	0	
$\pm$ S.D.	31	0.21	0.17	0.02	0.5	7	11	3	
R.S.D. (%)	8.0	5.0	6.0	3.1	5.0	3.1	4.2	4.8	
Accuracy	—	0.94	0.95	(0.91)	0.91	0.95	0.38	1.02	

Number of analysis : 5 ; Accuracy : Ratio to the certified values

亜鉛：10分，20分，30分，40分間磨砕の測定値間に有意差は認められず，どの磨砕時間も適用できると考える。

以上を総括してみると，30分磨砕が適用できるのは，カルシウムを除く7元素であった。カルシウムは，至適磨砕時間の10分に次いで30分磨砕が良く，これを許容すれば，30分磨砕は8元素全部に適用できる。40分磨砕が適用できる元素は，ナトリウム，銅，亜鉛の3元素，若しくはこれに次いで良いマグネシウムを許容すれば4元素となるが適用範囲は小さかった。実験計画時には磨砕時間と測定値とは，ほぼ比例し次いで平衡に達すると予測したが，カリウムと鉄の測定値は，40分磨砕が最も低く，長時間磨砕が必ずしも良い結果を示さなかった。理由は解明できなかったが，既に述べたように，ばらつきの指標であるR.S.D.の値が基準より低く，再現性の良いところから誤差とは考えにくく，本実験条件では，30分磨砕が至適条件と考えられる。なお，今回試料として用いたハウレンソウの組織は軟く，試料野菜の種類によっては，物理的性状が異なるので，30分磨砕が適するかどうか，検討する必要があると思われる。

Tomato Leavesの測定結果と保証値をTable 3に示した。本実験の正確さを確認するためのAccuracy(精度)は，Certified Valuesを1として，比で示した。鉄のAccuracyは，著者らの方法では通常低い値しか得られないが，他元素(ナトリウム除く)のAccuracyは，0.91以上を示し，カルシウムのR.S.D.がやや高いものの，特に問題はないものと思われる。ナトリウムのR.S.D.が高いのは，測定液の希釈倍率が高過ぎたための誤差と推定する。

## 要 約

生鮮野菜を直接温希塩酸で抽出した試料溶液中の無機8元素(ナトリウム，カリウム，カルシウム，マグネシウム，銅，マンガン，鉄，亜鉛)を測定するため，試料の磨砕時間が測定値に与える影響を検討した。試料はハウレンソウを用い，ミキサーによる磨砕時間は10分，20分，30分，40分の4段階とした。測定は原子吸光・フレイム法で行った。その結果，30分磨砕が適用できる元素はナトリウム，カリウム，マグネシウム，銅，マンガン，鉄，亜鉛の7元素で最も多かった。40分磨砕が適用できる元素はナトリウム，銅，亜鉛の3元素であり，20分磨砕は鉄，10分磨砕はカルシウムの各1元素と少なかった。本実験条件では，試料の磨砕時間は30分間が適当であった。

## 文 献

- 1) 鈴木妃佐子・南 廣子・安部公子・平岩ひろみ・内田哲男：分析化学, **33**, 2, T5~9 (1984)
- 2) 内田哲男・安部公子・飯田忠三：分析化学, **31**, 12, 730~731 (1982)
- 3) 内田哲男・小島 功・飯田忠三：分析化学, **27**, 11, T44~48 (1978)