技術論文

誘導結合プラズマ発光分析法によるコメ 1 粒中の無機元素
の定量進藤久美子^{®*}, 安井 明美^{*}

Determination of mineral contents in a single grain of rice by ICP-AES

Kumiko SHINDOH and Akemi YASUI^{*}

^{*} National Food Research Institute, Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, 2-1-2 Kannondai, Tsukuba-shi, Ibaraki 305

(Received 26 May 1997, Accepted 2 July 1997)

Pretreatment methods for the determination of mineral contents in a sample with a small amount of materials, such as a single grain of rice, were investigated. To pretreat a large number of samples with a small amount of materials simultaneously, two kinds of wet-digestion methods, nitric acid-hydrogen peroxide or nitric acid-perchloric acid, using a borosilicate glass test tube and a dry-blockbath, were tested. In digestion with nitric acid-hydrogen peroxide, the temperature of the dry-blockbath was maintained at 150°C, while in digestion with nitric acid-perchloric acid, the temperature was raised up to 250°C in the final step to evaporate perchloric acid. These methods enabled us to digest 32 samples simultaneously in 2 hours. Sample solutions were analyzed by ICP-AES. When nitric acid-hydrogen peroxide was used, the values of P, K, Mg, Ca, Zn, Mn, Fe and Cu measured in about 20mg (corresponding to a single grain of rice) of the certified reference material (NIES No.10 Rice Flour-Unpolished) were in good agreement with the certified values. The RSD of the measured values of Fe and Cu were larger than those of other minerals due to the low contents. When nitric acid-perchloric acid was used, the measured value of Mn was low. A high temperature (250°C) was considered to lead to a loss of Mn. By using a digestion method with nitric acid-hydrogen peroxide, we investigated the variations in the mineral contents in 100 single grains of unpolished and polished rice, "Nipponbare" (*Oryza sativa*) japonica cultivar, which grew in the same field. Each 2 σ value of unpolished rice corresponded to about 15% of the average concentration values of P, K, Mg and ranged from 20 to 40% of the average concentration values of Ca, Zn, Mn, Fe and Cu.

Keywords : determination of mineral contents; wet digestion; ICP-AES; variation in mineral contents in single grains of rice.

1 緒 言

官能検査に代わる炊飯米の評価方法として、動的粘弾性試験¹⁾²⁾や稲津による³⁾テクスチュロメーター、岡留ら

による改良型テンシプレッサー⁴⁾のような、炊飯米数粒もしくは1粒を用いた機器による物性測定手法が検討されてきた。これらの手法は迅速な測定法であるが、1粒を用いると相対標準偏差が大きいために、繰り返し測定が行われている。変動の原因として、炊飯米の食味特性に影響を及ぼすアミロース⁵⁾、タンパク質⁶⁾などの成

^{*} 農林水産省食品総合研究所: 305 茨城県つくば市観音台 2-1-2

分のほか、無機元素⁷⁾などの微量成分が考えられる。

コメ 1 粒による特性評価においては、1 粒の変動を把握する必要がある、そのためにはコメ 1 粒の成分含有量を測定できる少量試料の測定法の開発が必要である。コメのアミロースでは、玄米半粒 2 粒を用いた測定法が検討されており⁸⁾、タンパク質（窒素）ではインドフェノール法により玄米 1 粒中の含有量が求められ、穂内の着粒位置による含有量の変異も検討されている⁹⁾。又、水分、タンパク質では非破壊的な方法として光ファイバーを用いた近赤外分光法¹⁰⁾も検討されている。無機元素では、玄米 1 粒中の Mg, K を測定し、Mg/K 比を穂内の着粒位置で示した報告がある¹¹⁾。非破壊法あるいは胚（胚）を含まない半粒を用いれば、成分を測定した粒をそのまま育種材料として使うこともでき、こうした意味からも少量試料を用いる分析法確立の必要性は高い。

本報告では、コメ 1 粒のような少量試料中の無機元素測定法を検討した。食品の無機元素測定のための試料溶液調製には乾式灰化、湿式分解、希酸抽出などの前処理を行うが、乾式灰化の場合には、無機元素の多い玄米では灰化の途中で表面に塩が凝集して灰化が進まなくなり、一度可溶性塩を溶出させてから更に灰化が必要があること、希酸抽出の場合には、粒のままの玄米からは無機成分の抽出が行いにくいことなどから、湿式分解法を選択した。Tracy らは、乾重量 0.25~0.50 g の生体試料の分解に、容器として 10 ml の試験管を、試料分解装置として試験管を装てんし、温度と時間のプログラムできるアルミブロックを用いて湿式分解を行っている¹²⁾。少量の試料の分解には密閉式のテフロン分解容器が多用されているが、本報告ではコメ多数点をより迅速に処理するため、ホウケイ酸ガラス製ねじ付き試験管を用いて、これを多数装てんできる乾式ブロック浴で加熱分解した。分解が迅速に行われるよう、硝酸に過酸化水素あるいは過塩素酸を組み合わせた。この方法は 1 粒のような少量のコメ中の、P, K, Mg, Ca, Zn, Mn, Fe, Cu の測定の前処理法として適用可能であり、又この測定法を用いて、同一産地内の“日本晴”1 粒の無機元素の変異を明らかにしたので報告する。

2 実 験

2・1 試 料

少量の試料の前処理、測定法の検討には、国立環境研究所の“玄米粉末”標準試料 NIES No.10, Rice Flour-Unpolished, a~c の 3 種類を用いた。コメ 1 粒の無機元素の測定には“日本晴”玄米（1995 年、農業研究セ

ンター産）から未熟粒、被害粒を除いたものを用いた。又、この玄米をサタケ製のワンパス式精米機で歩留まり 90.6% にとうせい（搗精）し、砕粒等を除いた整粒で、胚がきれいに取り除かれている精白米も用いた。

玄米標準試料の乾重量は標準試料説明書に記載の常圧 85°C、4 時間の乾燥方法により求めた。コメ 1 粒の乾重量は、常圧 135°C、20 時間の通風加熱乾燥法¹³⁾で測定した。

2・2 試薬及び標準溶液

試料の分解に用いた硝酸、過酸化水素、過塩素酸はいずれも原子吸光分析用（和光純薬製）を、その後の試料溶液調製には、精密分析用 20% 塩酸（和光純薬製）を 20 倍に希釈して用いた。希釈には、イオン交換した水を逆浸透膜（ミリポア製、Milli-RO）を通し、更に活性炭-イオン交換樹脂-マイクロフィルター（0.22 μm ）（ミリポア製、Super-Q システム）を順次通過させたものを用いた。誘導結合プラズマ発光分析装置（ICP-AES）による測定では、検量線の作成には関東化学製の原子吸光測定用標準液を用いて、8 元素の混合標準液を調製した。

2・3 装置及び測定条件

加熱に用いた乾式ブロック浴はサイニクス製 AL-1000 を、ホウケイ酸ガラス製ねじ付き試験管はパイレックス製で、キャップはテフロンライナー付きの容量 11 ml（直径 16 mm×長さ 100 mm×口内径 9 mm）のものを用いた。無機元素の測定には ICP-AES、Leeman Lab 製 JICP-PS3000 UV を用いた。測定した元素と用いた波長は P (214.910), K (766.490), Mg (279.553), Ca (393.366), Mn (257.610), Zn (213.856), Fe (238.204), Cu (24.754 nm) である。プラズマガスは 13 l/min, 補助ガスなし、ネプライザーガス圧 40 psi, 観測位置は Mn で調整した。

2・4 無機元素含有量の測定

標準試料は約 20 mg, コメでは 1 粒を、微量てんびんで 0.1 μg まで重量を測定した後、ホウケイ酸ガラス製ねじ付き試験管に移し、硝酸-過酸化水素又は硝酸-過塩素酸による湿式分解を乾式ブロック浴で加熱することにより行った。

すなわち、硝酸-過酸化水素による分解は、硝酸 1 ml を加え、150°C で 1 時間分解した後、過酸化水素を 0.02~0.03 ml ずつ計 1 ml 滴下して更に分解し、そのまま 150°C で残った硝酸を蒸発させた。過酸化水素滴下

の時点で硝酸がかなり少量, あるいはなくなった場合には, 硝酸を 0.3 ml 加えてから過酸化水素を滴下した。

硝酸-過塩素酸による分解は, 硝酸 1 ml を加えて 150°C で分解し, 泡立ちや激しい褐色煙の発生が収まったところで, 試験管を乾式ブロック浴から下ろし, 過塩素酸 0.1 ml を加えて 210°C で更に分解した。液が黒褐色に変化したときには硝酸を加えて更に分解し, 分解液が透明あるいは淡黄色であることを確認してから 250°C で過塩素酸を蒸発させ, できるだけ乾固寸前に乾式ブロック浴から取り出して加熱を終了させた。

試験管内の分解物には 1% 塩酸 2 ml を加え, キャップを締めて振り混ぜ, 溶解させた後, ICP-AES で多元素同時定量し, 無機元素含有量を, 乾重量当たりもしくは 1 粒に含まれる全量で求めた。

3 結果及び考察

3・1 ホウケイ酸ガラス製ねじ付き試験管を用いた少量試料の分解

試験管は分解容器として細長いため, 硝酸での分解の初期や過酸化水素の滴下時にふきあがってこないように注意する必要があるが, 問題なく分解を行うことができた。

硝酸-過塩素酸分解は, 有機物の残った状態で過塩素酸を乾固させると爆発の危険があるので, 黒褐色への変色に注意を払う必要があるが, 今回は約 20 mg の玄米粉末標準試料, 玄米 1 粒とも, 残った過塩素酸がすべて無色あるいは淡黄色となり, 更に硝酸を加えて分解を要するものは出なかった。又, 加熱を過塩素酸の乾固寸前で終了させるため, 過塩素酸が残るが, ねじ付き試験管は, 分解容器として口が狭く, 細長いため, 乾式ブロック浴のアルミブロックの高さを試験管の長さに合わせて, 試験管内に充滿している過塩素酸蒸気が, 試験管を乾式ブロック浴から取り出して冷却したときに凝結し, 更に過塩素酸量が増えることが認められた。一般に試料溶液の酸濃度が高くなると ICP-AES の発光強度に影響を与えるため¹⁴⁾, 1% 塩酸で調製した玄米の測定モデル溶液へ過塩素酸の添加実験を行い, 分解終了時に残る過塩素酸の影響を検討した。その結果を Table 1 に示す。分解終了時に実際に残った過塩素酸量は 10 µl 程度と Table 1 で添加した量より少量であり, 測定値に与える影響は, ICP-AES の発光強度の点からも, 試料溶液の希釈の点からも, ほとんど無視できると考えられる。分解後残った酸を蒸発させる操作も含めて, 硝酸-過酸化水素, 硝酸-過塩素酸の分解とも, 本実験ではねじ付き試験管 32 本分の分解を約 2 時間で行うことがで

Table 1 Effect of amount of perchloric acid added on the measurement of mineral contents of a single grain of rice by ICP-AES

	HClO ₄ addition/µl)		
	0	25 [†]	50 [†]
P	100	98	98
K	100	98	94
Mg	100	99	99
Ca	100	99	98
Zn	100	99	99
Mn	100	100	98
Fe	100	99	98
Cu	100	100	100

Model solution for unpolished rice grain: 2ml of 1% hydrochloric acid solution containing P 30, K 30, Mg 15, Ca 1, Zn 0.3, Mn 0.3, Fe 0.1 and Cu 0.1ppm. [†] Calculated values except for the volume of HClO₄

きた。

3・2 玄米粉末標準試料の測定

粉末の均質化された玄米標準試料を用いて, 玄米 1 粒分の約 20 mg の試料の溶液化を行い, 測定値の正確さと精度を検討した。この結果を Table 2 に示す。

硝酸-過酸化水素分解では P, K, Mg, Ca, Zn, Mn とも保証値とよく一致しており, 測定値のばらつきも相対標準偏差で 5% 内に収まっていた。含有量の少ない Fe, Cu では, 採取試料が少量であることが強く影響してばらつきが若干大きくなっているが, 測定値は保証値と一致あるいは極めて近似していた。

硝酸-過塩素酸分解では, P, K, Mg, Ca, Zn の測定値は保証値と一致した。これらの元素では測定値のばらつきも相対標準偏差でほぼ 3% 以内に収まっており, 良好な結果であった。Fe と Cu はばらつきが大きくなっているが, 保証値と一致あるいは極めて近似していた。Mn の測定値は明らかに低値を示した。これを改善するため, 一連の分解をすべて 150°C でを行い, 残った過塩素酸を 150°C で加温しながら窒素を吹き込んで蒸発させることにより, 6 点並行分析の結果, NIES No.10-a で保証値 34.7±1.8 に対し 34.7±1.3, b が 31.5±1.6 に対し 30.1±1.7, c が 40.1±2.0 に対し 38.5±1.4 となり, Mn の損失を防ぐことができた。過塩素酸を蒸発させるために 250°C と高温にしたことが主な原因と考えられる。但しその操作は完了まで長時間を要した。過塩素酸の蒸発まで 2 時間で行うことが可能な今回の方法は, Mn を定量するための前処理法とし

Table 2 Measured values of sample of NIES No. 10 a~c Rice Flour-Unpolished (20 mg) digested with acid using a borosilicate glass test tube as a vessel

		Certified value	HNO ₃ -H ₂ O ₂ digestion [†]	HNO ₃ -HClO ₄ digestion [†]
		wt% (d.w.)		
P	a	0.340±0.007	0.336±0.013(4.0%)	0.339±0.007(2.1%)
	b	0.315±0.006	0.312±0.013(4.3%)	0.319±0.010(3.2%)
	c	0.335±0.008	0.327±0.007(2.2%)	0.333±0.007(2.2%)
K	a	0.280±0.008	0.279±0.012(4.3%)	0.280±0.004(1.5%)
	b	0.245±0.010	0.250±0.012(4.9%)	0.256±0.004(1.7%)
	c	0.275±0.010	0.281±0.010(3.5%)	0.283±0.006(2.2%)
Mg	a	0.134±0.008	0.134±0.005(3.9%)	0.135±0.003(2.5%)
	b	0.131±0.006	0.132±0.006(4.8%)	0.135±0.003(2.3%)
	c	0.125±0.008	0.126±0.003(2.6%)	0.129±0.002(1.8%)
		µg/g(d.w.)		
Ca	a	93±3	89.8±3.1(3.4%)	89.9±2.5(2.7%)
	b	78±3	76.4±2.4(3.2%)	78.1±2.4(3.1%)
	c	95±2	93.7±2.4(2.5%)	93.7±0.7(0.8%)
Zn	a	25.2±0.8	24.0±0.8(3.2%)	24.8±0.6(2.5%)
	b	22.3±0.9	21.4±0.6(2.8%)	22.5±0.4(1.9%)
	c	23.1±0.8	22.8±0.7(3.0%)	23.0±0.4(1.9%)
Mn	a	34.7±1.8	33.3±1.5(4.4%)	26.7±1.4(5.1%)
	b	31.5±1.6	30.0±1.5(4.9%)	24.5±1.8(7.4%)
	c	40.1±2.0	38.1±1.2(3.0%)	29.8±1.3(4.3%)
Fe	a	12.7±0.7	11.5±0.8(6.7%)	12.1±0.9(7.5%)
	b	13.4±0.9	13.4±1.9(14.3%)	13.0±1.5(11.4%)
	c	11.4±0.8	9.9±1.0(10.4%)	10.7±1.1(10.1%)
Cu	a	3.5±0.3	3.3±0.3(10.1%)	3.8±0.4(9.7%)
	b	3.3±0.2	3.2±0.1(3.8%)	4.0±0.4(9.5%)
	c	4.1±0.3	4.4±0.2(3.5%)	4.3±0.4(9.3%)

[†] Av±SD(RSD), n=6

Fig. 1 Variation of P concentration in single grains of "Nipponbare"

Table 3 Variation of mineral contents in single grains of unpolished rice "Nipponbare" ($n=100$)[†]

	P	K	Mg	Ca	Zn	Mn	Fe	Cu
Concentration								
	wt% (d.w.)			$\mu\text{g/g (d.w.)}$				
Av.	0.344	0.276	0.138	90.3	23.4	35.7	10.4	3.3
Max.	0.420	0.342	0.165	125	48.2	52.0	15.3	4.4
Min.	0.287	0.237	0.118	68.3	17.2	23.8	7.1	2.3
$2\sigma/\bar{X}, \%$	14.6	14.7	13.6	26.4	35.3	39.7	30.6	26.7
Content in single grains								
	μg							
Av.	66.7	53.5	26.7	1.75	0.45	0.69	0.20	0.06
Max.	80.1	62.0	31.9	2.33	0.78	1.06	0.30	0.09
Min.	55.1	43.1	21.8	1.11	0.30	0.42	0.12	0.04
$2\sigma/\bar{X}, \%$	16.4	15.3	16.5	24.6	32.9	39.9	35.9	29.8

[†] Wet digestion with $\text{HNO}_3\text{-H}_2\text{O}_2$. Dry weight of single grains: Av. 19.4mg, Max. 22.6mg, Min. 15.1mg, $2\sigma/\bar{X}$ 16.4%

Table 4 Variation of mineral contents in single grains of polished rice "Nipponbare" ($n=100$)[†]

	P	K	Mg	Ca	Zn	Mn	Cu
Concentration							
	wt% (d.w.)			$\mu\text{g/g (d.w.)}$			
Av.	0.111	0.076	0.030	51.8	17.1	10.5	3.0
Max.	0.135	0.114	0.041	78.0	25.9	18.1	4.2
Min.	0.094	0.059	0.024	38.8	13.2	6.2	2.1
$2\sigma/\bar{X}, \%$	15.3	23.4	23.8	28.3	29.1	38.1	28.7
Content in single grains							
	μg						
Av.	19.3	13.3	5.20	0.90	0.30	0.18	0.05
Max.	24.8	19.3	7.11	1.23	0.51	0.28	0.07
Min.	14.3	9.4	3.48	0.69	0.19	0.11	0.04
$2\sigma/\bar{X}, \%$	19.7	26.2	30.0	24.9	33.2	30.6	32.7

[†] Wet digestion with $\text{HNO}_3\text{-H}_2\text{O}_2$. Dry weight of single grains: Av. 17.4mg, Max. 21.1mg, Min. 13.8mg, $2\sigma/\bar{X}$ 18.9%

ては適さないが、上記の他の元素の定量には適用可能であり、分解が速やかに終了するほか、硝酸-過酸化水素分解のように過酸化水素を少量ずつ滴下する手間もなく、簡便な方法であった。

NIES No.10 “玄米粉末” 標準試料は均一性を保証するため、1 点の分析に 400 mg 以上を用いて分析するよう指示している。その 1/20 量を用いて行った結果、含有量の多い主要な無機元素の分析では試料量 20 mg でも十分な精度を持つ測定が可能であった。

以上の結果から、ホウケイ酸ガラス製ねじ付き試験管を用いた湿式分解を多数の少量試料の前処理として行う場合、硝酸-過塩素酸を用いた分解法では、P, K, Mg,

Ca, Zn, Fe 及び Cu に適用可能であると判断した。硝酸-過酸化水素を用いる方法はこれらの元素に加えて Mn にも適用可能である。これらの方法は、コメだけではなく、ほかの少量試料の分解にも用いることができると考えられる。

3・3 コメ 1 粒の主要無機元素の測定

3・1 及び 3・2 で検討したホウケイ酸ガラス製ねじ付き試験管を用いる湿式分解法のうち、硝酸-過酸化水素を用いた方法で実際の玄米 1 粒を溶液化して無機元素を測定した。同一産地内の 1 粒の無機元素含有量の変異を明らかにするため、農業研究センター産 “日本晴”

の玄米・精白米各 100 粒ずつを用い、P, K, Mg, Ca, Zn, Mn, Fe, Cu を測定した。P を例にして、乾重量当たりの濃度の分布を Fig. 1 に示す。又、これらの元素について、Table 3 に玄米の結果を、Table 4 に精白米の結果を示す。1 粒のまま分解を行ったので、反復測定がない 1 粒につき 1 点の分析結果であり、各元素の測定において Table 2 のようなばらつきを持つことには留意しなくてはならないが、乾重量当たりの濃度、1 粒中含有量とも 2σ で平均値に対し、玄米では P, K, Mg で 15% 前後、Ca, Zn, Mn, Fe, Cu で 20~40% の変動があった。精白米の場合には、Fe が玄米でも含有量が少量であるのに加え、搗精による減少率の大きな元素¹⁵⁾¹⁶⁾であることから、測定値に対してから試験値が高くなり、定量が難しかった。玄米に比較すると K, Mg の変動がそれぞれ 23.4%, 23.8% と大きくなったが、P, Ca, Zn, Mn, Cu は玄米とほぼ同様であった。K, Mg は特にコメ表面に多く分布していて搗精による減少率が大きい元素であり、削り方の微妙な差違で精白米中の含有量が左右されるために、精白米の変動が大きくなったと考えられる。

これら玄米、精白米の結果から、無機元素含有量においても、コメには粒による個体差が存在し、こうした成分の変異がコメ数粒もしくは 1 粒による機器での物性測定におけるばらつきの原因の一つになっていると考えられる。

本研究において試料を提供していただいた農林水産省農業研究センター稲育種研究室に感謝いたします。

(1996 年 3 月, 第 43 回日本食品科学工学会にて一部発表)

文 献

- 1) 杉山純一, 黒河内邦夫, 堀内久弥: 日本食品科学工学会誌, **37**, 61(1990).
- 2) 乙部和紀: ジャパンフードサイエンス, **33**(8), 41(1994).
- 3) 稲津 脩: 北海道立農業試験場報告, **66**, 10(1988).
- 4) 岡留博司, 豊島英親, 大坪研一: 日本食品科学工学会誌, **43**, 1004(1996).
- 5) 稲津 脩: 北海道立農業試験場報告, **66**, 34(1988).
- 6) 石間紀男, 平 宏和, 平 春枝, 御子柴穆, 吉川誠次: 食品総合研究所報告, **29**, 9(1979).
- 7) 堀野俊郎, 岡本正弘: 中国農業試験場報告, **10**, 1(1992).
- 8) 井ノ内直良, 池内南美, 高美 正, 朝岡正子, 不破英次: 応用糖質科学, **43**, 1(1996).
- 9) 鈴木保宏, 石川哲也, 池上 勝, 建部雅子, 小前幸三: 育種学雑誌, **44**(別 2), 251(1994).
- 10) 河野澄夫, 倉内美奈, 草間豊子, 阿部英幸: 日本食品科学工学会第 44 回大会講演集, p.51(1997).
- 11) 寺本 薫: 育種学雑誌, **45**(別 2), 232(1995).
- 12) M. L. Tracy, G. Möller: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **73**, 404(1990).
- 13) 堤 忠一: “食品分析法”, 第 2 版, 日本食品工業学会食品分析法編集委員会編, p.32(1984), (光琳).
- 14) 安井明美, 鈴木忠直, 進藤久美子: 食品総合研究所報告, **58**, 37(1994).
- 15) 堤 忠一, 大家千恵子: 食品総合研究所報告, **33**, 12(1978).
- 16) 進藤久美子, 安井明美: 食品総合研究所報告, **60**, 17(1996).

要 旨

コメ 1 粒のような少量試料中の無機元素測定法を検討した。コメ多数点をより迅速に処理するため、分解容器にハウケイ酸ガラス製ねじ付き試験管を用い、これを多数装てんできる乾式ブロック浴で加熱する湿式分解とし、硝酸に過酸化水素あるいは過塩素酸を組み合わせて分解を行った。硝酸-過酸化水素分解では 150°C で分解操作を行い、硝酸-過塩素酸分解では過塩素酸を蒸発させるため、最終段階で 250°C に温度を上げた。どちらの方法でも約 2 時間で 32 本の分解を行うことができた。試験管内の分解物は、1% 塩酸を加えて溶解させた後、誘導結合プラズマ発光分析装置で多元素同時定量し、無機元素含有量を求めた。コメ 1 粒分に相当する玄米標準試料の粉末約 20 mg を分解に用いて検討した結果、硝酸-過酸化水素による分解がコメ 1 粒のような少量な試料における、P, K, Mg, Ca, Zn, Mn, Fe, Cu の測定の前処理法として適用可能であった。含有量が低いため、Fe, Cu では相対標準偏差が少し高かった。硝酸-過塩素酸では Mn の値が低くなったが、過塩素酸を蒸発させるために高温にしたことが原因と考えられた。硝酸-過酸化水素分解で実際の玄米、あるいは精白米の 100 粒を用いて、1 粒中の無機元素濃度を測定し、含有量の変異を調べたところ、同一産地内の“日本晴”ではこれら元素の含有量は 2σ で平均に対し、玄米で P, K, Mg に 15% 前後、Ca, Zn, Mn, Fe, Cu に 20~40% の変動が見られた。