食品中のカルシウムの微量定量 (第 1 報)

The Micro-analysis of Calcium in Foods. (Part I)

ムレキシド指示薬を使用するカルシウム定量法の検討

Examinations on the Quantitative Analysis of Calcium with Murexide Indicator

(昭和 28 年 5 月 13 日受理)

永 澤 信 後 藤 た へ
(Sin Nagasawa) (Tae Gotō)

従来、食品中のカルシウム定量法は、AOAC 法を始め数種が知られているが、いずれも $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ の沈澱によつて定量を行う方法であつて、妨害成分の除去、 $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ の生成、濾過、洗滌、溶解などの複雑な操作を含み、相當に多量の Ca^{++} でなければ $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ の溶解度や、操作に基く誤差が無視し得ないために、多量の原試料を処理せねばならず、1 試料の定量に數日を要することも珍しくない。したがつて試料が少量である場合や短時間に定量するような研究は極めて困難であつた。近來、水質分析に EDTA (Di-sodium ethylenediamine tetra-acetate) 試定法が賞用されているが、これも操作の途中に $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ の沈澱を生成しなければならぬ。しかも、ムレキシド (Murexide; Ammonium purpurate) を指示薬、EDTA 溶液を滴定試薬として Ca^{++} だけ

第 1 表 EDTA 滴定値	
を直接定量する方 (試料溶液濃度: $100 \gamma \text{Ca}^{++}/1 \text{cc}$)	
法が考案せられ、	(試料採取量: 毎回 1 cc)
Banks はこれを	0.195
作物成分に應用し	0.194
得ることを報告し	0.195
た。	0.194
Ca^{++} を含む鹽	0.195
基性溶液にムレキ	0.194
シドを加えると、	0.195
平均値	0.1946 $\pm$ 0.0001

第 2 表 濃度の異なる Ca^{++} 溶液に對する定量結果
(試料採取: 毎回 1 cc)

試料中の Ca^{++} (γ)	滴 定 値 (cc)	Ca^{++} の定量値 (γ)
20	0.041 0.041	0.041
40	0.082 0.083	0.083
60	0.124 0.124	0.124
80	0.163 0.163	0.163
150	0.292	0.292

$\text{Ca-purpurate complex}$ のために溶液は桃色を呈する。この溶液を EDTA 溶液で滴定し Ca^{++} が無くなれば、溶液中には紫色のムレキシドだけが存在することになる。桃色から青紫色への變色は少し馴れるとよく判る變色であつて、滴定終點として利用し得る。著者が、標準 Ca^{++} 溶液 (Kahlbaum 製分析用保證付 CaCO_3 を使用) について追試したところ第 1 表及び第 2 表のような結果を得た。このような微量滴定においてよく一致した値が得られることは、この方法の優秀性を示している。

しかしこの滴定は磷酸鹽が共存すると、ムレキシドの呈色が異常になり、微量分析では磷酸鹽は除去しなければならぬとされてきたが、Mason⁽²⁾ は、この目的に陽イオン交換樹脂を用い植物成分の定量に高い精密度で應用し得ることを述べた。著者は、その方法を追試して、植物性及び動物性食品一般に應用し得ること、また時間的にも技術的にも極めて有利な方法であることを確め、さらに一部の用具を改良したので以下に報告して研究者の便に供したい。

1. 特殊器具及び藥品

カラム管 第 1 圖(A) のようなガラス製の管で、コックは無くともよいが液を通す時に流速を調節し、また使用しないときに水を満しておくに便利である。

目盛管 第 1 圖(B) のようなガラス製の管で全容 10~30cc, 10 cc 毎に目盛しておく。この目盛管とカラム管とは、いづしよに木製臺架にかけるようにする(圖を参照)。

ビュレット 全容 0.5cc 程度のものがよい。Mason は普通型のマイクロビュレットを使用しているが、著者は富山博士が考案したものを参考にして作つてゐる。極く細い毛管にした先端を試料溶液に浸して使用するもので、滴定溶液が連続的に流出し微量の滴定に適している。メスビュレットや寒暄計用毛管を細工して自作出来る。

EDTA 溶液 NaOH 0.86 g を溶解した 800 cc の水溶液に、EDTA 結晶 4.0 g を溶解し、全容を 1 l に

第 1 図

する。保存中に濃度が變るから、 Ca^{++} 標準溶液を備えてときどき標定する。 Ca^{++} 標準溶液は分析用高純度(または純度のよく判つた)の CaCO_3 を 105°C で 3 時間乾燥してから正確に秤量し、最少量の分析用高純度 1N HCl で溶解し、一定量に稀釋して正確な濃度にする。

ムレキシド指示薬 メノウ乳鉢でよく磨りつぶしたムレキシド 0.01 g を 5 g のよく乾燥した分析用高純度 NaCl に混合し、なおよく磨り混ぜる。長期間の保存には耐えないからなるべく少量ずつ調製する。

そ の 他 高純度の HCl 及び NaOH。特級品でも市販品は多少 Ca^{++} を含むから注意する。陽イオン交換樹脂については後に述べる。

2. 操 作

樹脂カラムの製作 カラム管の底に厚さ約 1 mm に脱脂綿をつめ、その上に、水に浸して充分膨潤させた陽イオン交換樹脂を水と共に流し込み、樹脂層を 20 ~ 25 mm の厚さにし、その上には脱脂綿を厚さ約 1 mm に入れる。流し込んだ水が流出したのち、流出液に Ca^{++} が検出されるまで樹脂カラムに多量の Ca^{++} 溶液(約 1 % の CaCl_2 溶液でよい)を通す。水でよく洗つた(Ca^{++}

が検出されなくなるまで)のち、3 N HCl 溶液を流出液に Ca^{++} が検出されなくなるまで通す(HCl に Ca^{++} が含まれるために Ca^{++} が完全に無くなることは無理であろう。ブランクテストで補正する)。そののち樹脂カラムを 2 ~ 3 cc の水で洗い、コックを止め、水を満して保存する。樹脂カラムは乾燥させてはいけない。

試料溶液の処理 原試料は常法によつて灰化する。原試料は少量(通常 1 g 以下)でよいが、ルツボの清掃には特に注意し Ca の混入を防がなければいけない。灰は少量の高純度稀 HCl (又は HNO_3) に溶解し、その全部または一部を試料溶液にする。あらかじめ 2 ~ 3 cc の水で洗つた樹脂カラムに、試料溶液を正確に注入する。溶液がカラムを通過する流速は 0.25 cc/min 以下に保つ。試料溶液が完全にカラムを通つたのち、数 cc の水でカラムを洗う(以上の流出液は全部不要)。

Ca^{++} は樹脂に吸着され、磷酸イオンを含めて陰イオンはすべて除去される。つぎにカラム管の下に小型磁製皿(蒸發皿又はカセロール、直径 6 ~ 7 cm が適當)を受け、3 N HCl 溶液を目盛管からカラムに注入する。10 cc を通したならば止め、水 2 ~ 3 cc で洗う。樹脂に吸着されていた Ca^{++} はこの操作で全部 HCl 溶液に溶出し磁製皿に集められる。皿の中の溶液を穩かに蒸發乾燥し、HCl を完全に逐い出したのち、水 1 ~ 2 cc を加えて溶解し、4 % NaOH 溶液 0.1 cc を加えて鹽基性溶液にする。

滴 定 磁製皿の中の鹽基性溶液に、ムレキシド指示薬を小型藥匙で約 10 ~ 15 mg 加え、EDTA 溶液で滴定して桃色が青紫色に變色したところを終點とする。滴定量と EDTA 溶液の係数とから Ca^{++} 量が求められる。試薬の純度などの原因の誤差は全く同じ方法で行つたブランクテストによつて補正する。

以上の操作は試料溶液を調製してから 1 ~ 2 時間程度原試料の灰化に要する時間を加算しても數時間で完了する。

3. 改良點と試験成績

a) 器 具 カラム管にコックをつけた Mason は溶出に用いる HCl をピペットで注入するが、多數の樹脂カラムを取扱うと誤を起しがちなので、目盛管を用いることにした。

b) HCl の濃度 Mason は溶出に用いる HCl は 5 N にしている。しかし専門的な研究によると Ca^{++} の溶出には 3 N HCl (約 10 %) が最も能率がよく、それ以上は無益であるとされているので、3 N を使用してみたが結果は變りがなく、多少良い傾向さえ見られた。あとで HCl を逐い出すので、なるべくは稀薄なほうがよいから著者は 3 N に定めた。

c) 樹脂の種類及び HCl の量 Mason の使用した樹脂は Zeo. Karb 215 (水酸基及びスルホン酸基型) 及び Zeo. Karb 225 (スルホン酸基型) で、液の流速は 0.6 cc/min 以下、溶出は 5 N HCl 6 cc (4 cc で

第 3 表 IR-120 及び IRC-50 の試験

操 作	流出液中の Ca^{++} 量 (γ)		
	IR-120	IRC-50	
水 洗	0	0	0
Ca^{++} 100 γ 注入 つぎに 水洗	0	0	47 (吸着量 53 γ)
5 N HCl 8 cc つぎに 水洗	68	69	26
5 N HCl 6 cc つぎに 水洗	14	16	11
上 と 同 じ	1	3	1
合 計	83	88	38

少し不足) としている。しかし、この樹脂は現在入手し難いので、最も入手しやすい Amberlite IR-120 (スルホン酸基型) 及び Amberlite IRC-50 (カルボン酸基型) を使用して試験した。第 3 表のように IRC-50 に吸着も不完全、溶出も不完全で使用出来ない。IR-120 は吸着は完全であるが、Zeo. Karb では HCl 6 cc で完全に溶出するというのに IR-120 では 20 cc を用いても 80 数% しか溶出しない。相當に多數の試験をして HCl を 40 cc 位まで使用してみたが不充分であつた。この原因として、樹脂の内部表面に Ca^{++} と特に緊密に結合する部分があつて、そこに捕捉された Ca^{++} は容易に溶出出来ないという様な現象が想像されるので、前述のように一度 Ca^{++} を飽和させることにした。これによつて第 4 表の試験番號 A ~ E のように、結果は餘程改善された。しかし、まだ HCl は約 30 cc が必要であつたので HCl を通す流速を検討したところ、0.24 cc/min にすれば 15 cc でもほぼ溶出するが、數値に安定性がなく、20 cc は使用した方がよい。

つぎに、内部表面が大きいといわ

れている樹脂 Amberlite IR-112 を試験した。第 5 表に示したように、これでは HCl は 15 cc で充分であつた。

IR-120 及び IR-112 は何れもスルホン酸基型であつたが、水酸基及びスルホン酸基型の樹脂として、京都大學小田研究室製の KH-9 を試験したところ、結果は第 5 表の如く、HCl 10 cc で完全に溶出した。また、 Ca^{++} 1 mg までこの量の HCl で充分であつた。よつて著者が試験した範囲では KH-9 を推賞する。

d) 共存陽イオン Mason は Ca^{++} 200 γ に對して、Fe 12 γ 、Mn 12 γ 、Mg 20 γ は影響がないとしている。著者の試験では第 6 表のようであつた。

e) 實用試験 食品 5 種について、蓚酸カルシウム法と比較試験した結果は第 7 表の通りで、満足すべき一致を示している。

要 約

ムレキシンド指示薬を使用する Ca の微量定量法について

第 4 表 IR-120 の試験 (試料: Ca^{++} 100 γ を含む 1 cc)

流 速	流出液中の Ca^{++} 量 (γ)											
	0.7 cc/min					0.5 cc/min		0.24 cc/min				
試 験 番 號	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
3N HCl 10 cc	73					75	77	97	100	94	94	
15								100	97	100	101	100
16		83	86									
20	87					99	94	100	100			
25							99					
26		101	100									
30				100	100	100	99					
36		100	100			100	99					

第 5 表 Amberlite IR-112 及び KH-9 の試験

(試料: Ca^{++} 100 γ を含む 1 cc)
(HCl の流速: 0.25 cc/min)

試 験 番 號	流出液中の Ca^{++} 量 (γ)							
	IR-112				KH-9			
	A	B	C	D	A	B	C	D
3N HCl 5 cc					89			
6					89			
8					92	90		
10	89	96	100	93	99	99	100	100
15	98	100	100	100	100	100	100	100
20		100	100					

第6表 共存イオンの影響

(試料: $\text{Ca}^{++}100\gamma$ を含む)

共存イオン	滴 定 の 状 況	Ca^{++} 定量値 (γ)
Fe^{++} 1mg	終點の邪魔になるが、 馴れると滴定出来る。	$\begin{cases} 100 \\ 100 \end{cases}$
10 γ	差支ない。	100
Cu^{++} 100 γ	終點の邪魔になるが、 滴定は出来る。	$\begin{cases} 100 \\ 101 \\ 98 \end{cases}$
10 γ	やや終點がみにくい程 度。	$\begin{cases} 100 \\ 100 \end{cases}$
Al^{+++} 1mg	差支ない。	$\begin{cases} 101 \\ 99 \\ 100 \end{cases}$
Pb^{++} 1mg	差支ない。	$\begin{cases} 100 \\ 100 \\ 100 \end{cases}$
Zn^{++} 1mg	終點が見にくい。浮游 物が邪魔になる。	$\begin{cases} 98 \\ 100 \\ 99 \end{cases}$
10 γ	ほとんど差支ない。	100
Mg 1mg	差支はないが、浮游物 がある。	$\begin{cases} 100 \\ 99 \\ 100 \\ 101 \end{cases}$

て検討し、食品中の Ca 定量法として、短時間に正確な結果を得られ極めて良好な方法であることを確めた。

第7表 食品分析成績

試 料	Mason 法				修 酸 法	
	試料重量 (g)	試料溶液調製 量(cc)	試料溶液使用 量(cc)	試料 1g中のCa (mg)	試料溶液使用 量(cc)	試料 1g中のCa (mg)
大豆	5,000	100	4	1.61	80	1.62
			4	1.62		
			2	1.62		
ほう れん 草	1,000	100	2	0.65	96	0.61
			2	0.60		
まぐ ろ肉	1,000	100	2	0.25	88	0.25
			10	0.24		
脱脂 粉乳	5,000	100			92	11.94
	1,000	100	1	12.10		
			1	12.11		
白米	5,000	100	2	0.06	92	0.06
	1,000	100	10	0.06		
			10	0.06		
			10	0.06		
			10	0.06		

文 献

- 1) J. Banks; Analyst, 77 484 (1952)
 - 2) A. C. Mason; Analyst, 77 529 (1952)
- (東北大農・生活科学科食糧科学研究室)

甘 藷 の 収 穫 期 と ビ タ ミ ン 量 に つ い て

甘藷4品種の収穫期を早期(9月上旬)、中期(10月上旬)、後期(11月上旬、降霜後)に分ち、収穫期における夫々のカロチン、全カロチノイド及びビタミンC量並びに60°F.に貯蔵した際の之等含量の變化を測定した。色の濃い2品種は色の淡い品種より栽培中のカロチン、及び全カロチノイドの増加が速くであり、且何れの品種も、季節の進むにつれその含量は増加し、10月中に最高に達し降霜の少し前から減少の傾向を示す。カロチンの最高含量は色の濃いものでは、100g 當り3.5~5.8mg、色の淡いもので0.2~1.7mg位である。ビタミンC量も大體カロチノイドの場合と似ており、最高量は100g 當り44~54mgである。次に収穫期と貯蔵による之等含量との關係では、収穫期の相異が、60°F 貯蔵に際しての

カロチノイド合成能力に深く影響することが明かになった。即ち後期収穫のものは冷え込みのためにカロチン及びカロチノイドの増加が殆どみられなかつた。早、中期収穫のものは収穫後數カ月の間カロチン、及びカロチノイドの増加が續いた。濃黄色の品種で増加のみられないものもあつたが、結局カロチン量は出廻り期に収穫したものが一番高い。アスコロビン酸は収穫期による影響は殆どみられず、貯蔵中漸次減少し大體100g 當り15~25mgに落着く。収穫後に於けるカロチン及びカロチノイド合成能力の損耗は、甘藷に對する生理學的阻害を測定する敏感な規準として考えられる。

B. D. Ezell; J. N. Crowder; Plant Physiol.

(岩 田)