EDTA 法による食品中マグネシウム含有量の再吟味

The Scrutiny of Magnesium contents in Food by the EDTA-Method

(昭和 30 年 6 月 9 日受理)

神 谷 保 男 山 田 新 太 郎
(Yasuo Kamitani) (Shintaro Yamada)

(本論文の要旨は第9回栄養・食糧学会に於て報告した)

I は し が き

食品中のマグネシウム定量法として従来から用いられて来た方法としては、ピロリン酸マグネシウムとして秤る重量法、オキシソ臭素酸カリによる容量法、チアゾールイエローによる比色法、マグネソンによる比色法等があるが、永原氏はこれ等の諸法の中で精度の点からは重量法が最良であるが、操作が複雑であり多大の時間を要すること等から、簡単に迅速な方法が考えられるべきであると述べておる⁽¹⁾。

所が最近 Ethylenediamine Tetraacetic Acid の Disodium Salt (EDTA) と重金属及び Mg, Ca とが定量的に結合することが発見され⁽²⁾、これ等の定量用試薬として用いられつつある。夾雑物の少い場合、例えば上水等については EDTA 法は正確で迅速に定量出来て優れた定量法と云われている。併し本法をひとたび食品分析に適用しようとする場合には、EDTA の特性即ち種々のイオンにひろく結合する性質のために、種々の共存イオンがその定量を妨害し、これまでの動植物性食品に応用しようとした研究でも、常に此の共存イオンが問題になり難点とされていた。そこで我々はこの点に留意して次に述べる様な方法を試みた結果、養品中マグネシウムの定量に充分応用出来ると思われる結果を得たので、これを用いて主要食品二十余種類中のマグネシウム含有量を定量した。

II 実験方法

(1) 原法の検討と改変

(a) この定量法に使用する指示薬の Ca による発色が Mg による場合より不明瞭であり、共存イオンが加わると特にこの傾向が強いようなので、測定しようとする試料液から Ca を除いた後 Mg のみを定量することにした。このため Mg, Ca を同時に測定出来るという EDTA 法の一つの特徴が減るわけであるが、Willson⁽³⁾ もこの方法を推奨している。

(b) 定量の際の滴定法として、初めに Mg で呈色する指示薬 Eriochrome Black T (EBT) を加えて赤く

呈色させ、これを EDTA 溶液で青くなる迄滴定する直接滴定法と、測定しようとする Mg と結合してなお過剰となる一定量の EDTA 溶液を加え、指示薬を加えて塩化マグネシウム溶液で青から赤になる迄滴定する間接滴定法の二種があり、後者は試薬の消費量が多く而も操作がやや面倒であるが、精度は直接滴定法より多少すぐれて居り、Cu 等の妨害イオンの影響も幾分少く⁽⁴⁾、また検液中に Mg と正磷酸が共存する場合アンモニアでアルカリ性になると NH_4MgPO_4 の沈殿が生ずるが、EDTA を加えてからアルカリ性にするこの沈殿は生じない等の長所があるため間接滴定法によることにした。

(c) 間接滴定法によつた場合に滴定の終点は青色が葡萄酒様赤色に変つた所を採ることになっているが、我々の経験では青色が僅に赤味を帯びた所を終点とする方が正確に読めるように思われたので両者の読みを繰返して行つて検討してみた。即ち同一試料について赤くなり始めるときの滴定値と赤くなり切つたときの滴定値を読むことを夫々 3 回ずつ 23 個の試料について繰返した。その結果を推計学的に処理して見ると、変色の開始時で見たときと変色の終了時で見たときと、分散の値に明かに有意な差が認められる。即ち変色の開始時で読んだ方が滴定値が揃つていた。このことから滴定の終点は青色が僅に赤味を帯びた所を採用することにした。

(2) 妨害イオンの除去又は隠蔽

動植物性食品に含まれるイオンの中で EDTA と結合するものとしては、Mg, Ca, Fe, Cu, Mn, Al, Ni, Co, Cd, Zn 等があると思われるので滴定前に於けるこれ等のイオンの除去又は隠蔽は次のような方法で行つたが、Ca については予め醋酸 Ca として除いてあるのでここでは問題とはならない。

Diehl, Goetz⁽⁵⁾ は種々の妨害イオンの隠蔽に KCN を用いてその有効性を検べた実験に於て、Al に対しては KCN が無効であることを述べておる。柳沢氏⁽⁶⁾ が妨害イオンの各々についてその妨害値の大小を検討した実験によれば、Al はそれ等の中で最大の妨害値を示してお

る。また過去に行われた所の食品中 Al 含有量の成績⁽⁷⁾によると相当多量含まれていることになっている。これ等の事から Al の妨害を除くことは重要なことと考えられる。そこでそれには三価の金属と結合して沈澱させる所の安息香酸⁽⁸⁾を用いて除去することにした。

食品中に含まれている Fe には二価のものと三価のものがあるが、食品を酸化して試料液にする過程に於て Fe⁺⁺ はすべて Fe⁺⁺⁺ になるから、Fe もすべてこの安息香酸によつて沈澱除去されることになる。尚且残存してもそれは KCN で隠蔽されるから妨害は全く除かれるわけである。柳沢氏は EDTA 定量法は Fe, Mn, CO 等が多量に含まれている食品ではそれ等の妨害により Mg 量は高値を示すと述べておる⁽⁹⁾が、その懸念は Fe を安息香酸により除くことによつて軽減されることになり、Ni, Mn, Co に対して KCN はそれだけ有効に作用することになるわけである。

等 1 表
各妨害物質单独添加時の影響
(小数点 3 位以下四捨五入)

	添加量(mg)	実測値(mg)	実測値と理論値との差(mg)
Mg ⁺⁺	0	1.00	0
	0	1.01	+0.01
	0	1.00	0
Fe ⁺⁺⁺	1.00	1.00	0
	2.00	1.00	0
	4.00	1.01	+0.01
Al ⁺⁺⁺	1.00	1.00	0
	2.00	1.00	0
	4.00	1.02	+0.02
Mg ⁺⁺	0	0.50	0
	0	0.50	0
	0	0.50	0
Ca ⁺⁺	1.00	0.50	0
	2.50	0.50	0
	5.00	0.50	-0.01
Mg ⁺⁺	0	0.25	0
	0	0.25	0
	0	0.25	0
Mn ⁺⁺	0.25	0.25	0
	0.50	0.25	-0.01
	0.75	0.27	+0.02
Cu ⁺⁺	0.25	0.25	0
	0.50	0.25	0
	0.75	0.25	+0.01

そこで Mg SO₄7H₂O を Mg 標準液としてこれに主な妨害イオン Fe, Al, Ca, Mn, Cu を夫々段階的に添加した液について、上記の方法により隠蔽又は除去を行つてその影響を検討した結果、第 1 表のようになった。即ち Mg は 1mg, 0.5mg, 0.25mg の各濃度に於ては此の隠蔽除去法の影響を受けず、Fe は Mg の 4 倍量 (4mg) で 1% の誤差を生じ、Al は Mg の 4 倍量 (4mg) で 2%, Ca は 10 倍量 (5mg) で 1% の誤差を認めた。Mn は 2 倍量 (0.5mg), Cu は 3 倍量 (0.75mg) で影響を受けているが、従来の成績を⁽⁷⁾⁽⁹⁾見ると食品中の Mn 量、Cu 量が Mg 含有量の 2 倍乃至 3 倍に達することは極めて稀であり、此等に関する過去の報告を信用するならこの辺りの影響は支障がないものと考えられる。

(3) 改変法操作の総括

本定量法を行うに当り次の試薬を調製した。

(試 薬)⁽¹⁰⁾

イ EDTA: EDTA 2g を 1000ml の水に溶かし、反応促進のため約 0.05g の MgCl₂ を加える。

ロ MgCl₂ (滴定用): MgCl₂6H₂O の約 6~7g を 1000ml の水に溶かす。

ハ 指示薬: Eriochrome Black T (EBT) 0.5g, 塩酸ヒドロキシルアミン 4.5g をメチールアルコール 100cc に溶解する。

ニ 緩衝液: NH₄Cl 約 67.5g を 28% アンモニヤ水 570cc に溶解し、水を加えて 1000cc とする。

ホ 基準溶液: 塩化第二水銀 1g を正確に化学天秤にて秤取し、蒸留水で正確に 1000cc とする。使用の際は適当な濃度まで希釈して用いる。

ヘ 安息香酸: 水に溶かして 5% 溶液にする。

ト 飽和醋酸安門

チ メチールレッド

リ 1:4 塩酸溶液

ヌ 1:4 アンモニヤ水

ル 1:4 醋酸水

ヲ 20% KCN 溶液

(操 作)

先ず一定量の試料をろつぽに入れて灰化し、1:4 の塩酸溶液に溶かしてビーカに移し、濃塩酸 5cc を加えて蒸発乾涸を行い、更に濃塩酸 5cc と水約 5cc を加えて 2~3 分間熱した後、100cc のメスコルベンに移し、室温になるまで放冷してから標線まで水を加え、濾過したものを試料液とした⁽¹¹⁾。

20cc の標線の刻んである遠心沈澱管に上記の試料液を入れ (Mg 濃度 1~3mg 程度が適当)、5% 安息香酸 2cc、メチールレッド 1 滴を加え、更に 1:4 アンモニヤ水を 2~3cc 加えてアルカリ性にした後、1:4 塩酸溶液

を加えて液を微紅色 (pH 4~5) とし、約1時間放置する。次で標線まで水を加えて正確に 20cc とし細い硝子棒でよく攪拌してから遠心分離 (3000 回転, 15 分間) を行い、上澄液 10cc をビベットにて同様の遠心沈澱管に採取する。これに飽和醋酸安門 2cc を加え 1:4 醋酸水と 1:4 アンモニヤ水で pH 5 附近 (先に入れたメチールレッドが残っているから微紅色を呈する所) にして 4 時間以上放置する。(この際 pH 6.4 以上のアルカリ性にならぬよう注意) 再び前と同様に標線まで水を加えて 20cc とし攪拌した後遠心分離 (3000 回転, 15 分間) を行つてから上澄液 10cc をコールペンに採取する。(沈澱した醋酸 Ca を KMnO_4 で滴定すれば Ca 定量を行い得る) 次に 20% KCN 3cc を加えてから 1:4 HCl を加えて pH を稍酸性にし約 5 分間放置した後、EDTA 溶液 10cc を正確に加え、EBT 液数滴、緩衝液 4~5cc. 水を適宜加えてから MgCl_2 で滴定する。

III 回収試験

動植物性食品 5 種を選んで本定量法により Mg の回収試験を行つた所第2表のようになった。

即ち回収率は 99%~101% の間を動揺しており、このことから本定量法は $\pm 1\%$ 程度の誤差をもつものと考えられる。

第2表

食 品 (Mg濃度mg)	Mg添加量(γ)	実測値(mg)	回収率(%)
大 豆 (0.967)	500	1.460	99
		1.460	
		1.453	
甘 藷 (1.250)	500	1.736	99
		1.750	
		1.733	
鯰 (0.980)	500	1.482	100
		1.475	
		1.475	
白 米 (0.695)	500	1.181	99
		1.183	
		1.189	
ほうれん草 (1.137)	500	1.655	101
		1.651	
		1.620	

IV 食品中の Mg 含有量

以上述べた方法によつて主要食品 27 種の Mg 含有量を定量し、当教室高野等⁽¹²⁾が同一標本について Oxin 法

第3表 各定量法による食品中 Mg 量の比較

食 品 名	100g 中の Mg 量 (mg)			食 品 名	100g 中の Mg 量 (mg)		
	EDTA 法	Oxin 法	過去の成績		EDTA 法	Oxin 法	過去の成績
玄 米	119	115	(A) 118	鯰	25	25	
白 米	46	47	(A) 33	かまぼこ	13	11	
小 麦 粉	26	26	(C) 8	牛 肉	17	18	(A) 24
そば 粉	29	29		玉 葱	8	9	
さつまいも	25	25	(C) 29	ほうれん草	76	78	(C) 37
馬 鈴 薯	13	13	{(A) 28 {(C) 28	人 参	19	19	{(A) 21 {(C) 6
豆 腐	50	53		き ゃ べ つ	11	11	{(A) 15 {(C) 10
味 噌	113			大 根	9	9	
大 豆	193	191	{(B) 224 {(C) 211	か ぶ ら	6	6	(A) 17
そ ら 豆	125	125	(B) 180	かんぴょう	84	83	
小 豆	132	132	(C) 48	鶏 卵	13	14	(A) 11
落 花 生	192	200	{(C) 183 {(A) 180	林 檎	4	4	(A) 8
鯖	35	34		白 砂 糖	2	2	(C) 9
鰯	17	17	(A) 魚肉 22	食 塩	449	450	(C) 145

注 (A)……(13) 文献引用 (B)……(14) 文献引用 (C)……(6) 文献引用

により分析した結果、及びこれまでに各文献⁽⁶⁾⁽¹³⁾⁽¹⁴⁾に記載された成績と比較して見た。その結果は第3表の通りであるが、EDTA 改変法と Oxin 法との比較では数種類が3~4%の差を示したほかは殆どその値が一致した。従来の成績との比較ではほぼ同様の値を得たものが多かったが、白砂糖、食塩、小麦粉、小豆等相当に差を生じたものもあつた。白砂糖及び食塩については試料の種類の違いによつて Mg 含有量に大きい差のある性質のものであるから何ともいえないが、その他のものについては定量方法の相違が影響していると考えられる。

V む す び

Willson⁽⁹⁾は植物組織内の Ca, Mg を定量するために行われた EDTA に関する種々の研究を報告した中で、Mg の分析値についてはオキシ法と 15% 以内の誤差内で定量出来たが、なお Ca を酢酸塩処置法によつて除いた後に Mg の定量を行えば更に一致した結果を得るであろうといつておる。

我々の方法はこの方法に更に安息香酸を用いて Al, Fe を除去して定量したものであり、Oxin 法との比較では全く一致したものが多かった。

この場合に何故 AOAC による重量法と比較しなかつたかといへば、ピロ磷酸マグネシウムとして測定する重量法は、食品中に Mn 含有量の多いときは別に Mn を定量しなくてはならぬこと、理論的に精度はよくとも操作に当り熟練を要すること、試料を非常に多量用いなくては正確に秤れぬこと等の点から必ずしも拠り所とならぬと考えたためである。

要するに迅速に行える Mg 定量法として EDTA 法は優れた方法ということができ、正確度も実用的には充分であると思う。唯我々の改変法に於て安息香酸による Al, Fe の沈澱除去と、酢酸による Ca の沈澱除去を同時に行えるようにすれば操作は簡略化されるので今後研究したい所である。

稿を終るに臨み終始御懇篤なる御指導を賜つた石崎教授に満腔の謝意を表します。

参 考 文 献

1. 児玉等 規準食品分析設定報告 昭 27
2. Schwarzenbach and Ackermann: Helv. Chim. Acta, 31, 1029, 1948
3. A. E. Willson: Anal. Chem. 22, 1571, 1950
4. 日本薬剤師協会編, 衛生試験法 昭 27
5. Diehl, Goetz Hach: J. Am. Waterworks Assoc 42, 40 1950
6. 柳沢文正 新潟医学会雑誌 第67年下 1062 昭 28
7. 鷺見瑞穂等 食品化学 10 昭 23
8. 高津寿雄 有機分析試剤 30 昭 25
9. 藤巻良知等 栄養化学 53 昭 16
10. Chemical Times 5 66~71 昭 26
11. 永原太郎 食糧分析 108 昭 23
12. 高野晃一等 印刷中
13. 桜井芳人 栄養化学 229 昭 26
14. Mc Collum, E. V., 栄養新説(訳) 202 1941
(金沢大学医学部公衆衛生)

女子大学生の亜鉛代謝

13 人の自由食をとつている女子大学生について、亜鉛代謝をしらべた。食餌中の亜鉛量は 9.8~14.4mg であつて、尿中への排泄量は、0.6~1.8mg、糞便中へは 3.2~7.9mg であり、摂取された亜鉛の 8% が尿中へ、42% は糞便中に排泄された。全例とも陽性の亜鉛平衡を示

し、一日平均 6.6mg が体内に蓄積された。

Zinc Metabolism of young College women on selfselected diets. H. M. Tribble and F. I. Scoular. J. Nutr. 52; 209 (1954). (野 崎)

婦人のリボフラビン代謝

リボフラビン(B₂)代謝を7人の成人女子についてしらべた。食餌は調節され、B₁ 600γ 300μg/1000 Cal B₂ 1.2mg でその他の栄養素は National Research Councilの所要量を充していた。血清空腹時全 B₂ は平均 3.21 μg%, 遊離 B₂ (+FMN) は 1.41μg% で、24 時間尿中排泄量は 315~467μg で摂取量の 27~40% であつた。B₂ 2mg 経口負荷では、血清 B₂ は 30 分~1 時間で最高、5 時間で空腹時の値をとるが、尿中排泄量の最高は

1 時間後で 5 時間後に空腹時 1 時間尿中 B₂ 量と同じとなつた。尿中クレアチニン g 当り B₂ μg 量でみると 7 人中 2 人は B₂ 摂取量 1.2mg では不适当 (B₂ 200μg/クレアチニン, 以下) であつた。尚血清と尿との B₂ との間には関係を認めなかつた。

Riboflavin Metabolism of women on controlled diets Mei-Ling Wu, E. Warren and C. A. Storvick. J. Nutr 51, 231, (1953). (野 崎)