

# 8-キノリノール錯体-MIBK抽出/黒鉛炉原子吸光法による食品中のアルミニウムの定量

藤田 久雄・毛利 孝明・西岡 千鶴・吉田 明美・黒田 弘之

Determination of Aluminium in Food by Graphite-Furnace AAS after Extracting with 8-Quinolinol-MIBK

Hisao FUJITA, Chizuru NISHIOKA, Akemi YOSIDA, Takaaki MOURI, and Hiroyuki KURODA

## I 緒言

アルミニウムはアルツハイマー症等との因果関係が論議されているが、食品・生体試料中の微量アルミニウム測定は、分解操作中の試薬・容器等からの汚染のため、分析値の再現性が悪く<sup>1)</sup>、汚染によるAl量は試料中のそれと同じレベルである経験がしばしばある。

また、黒鉛炉原子吸光法による食品中の微量アルミニウムの定量はナトリウム等食品中の共存物質の妨害を受ける<sup>2)</sup>。そこで、食品をマイクロウェーブで加熱分解して、アルミニウムを8-キノリノール錯体<sup>3)</sup>としてMIBK抽出し、黒鉛炉原子吸光法で定量する方法を検討した。汚染防止のため、試薬は超高純度試薬、分解容器はテフロン製、抽出容器は石英試験管を使用し、MIBK抽出液を移し変えずにそのまま黒鉛炉原子吸光度計に注入して測定した。

## II 実験方法

### 1. 試料

食品標準試料 {①NIST 1568a Rice Flour (米), ②NIST 1566a Oyster Tissue (カキ), ③NIES No. 7 茶葉 (TEA LEAVES), ④NIES No. 9 ホンダワラ (SARUGASSO)} 及び小麦粉を使用した。

### 2. 試薬

#### 2-1 アルミニウム標準溶液

関東化学製AAS用標準原液 (1000  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) を用い、0.05M硝酸で適当な濃度に希釈した。低濃度の希釈はPP製メスフラスコ、TPX試験管で重量法により行った。

#### 2-2 分解試薬

硝酸及び過酸化水素は多摩化学工業製の超高純度試薬TAMAPURE-AA-100を使用した。

#### 2-3 8-キノリノール錯体 (1%w/w)

8-キノリノール {MERCK (proanalysis)} 2gをテフロン瓶に秤取り、酢酸5mlを加え、わずかに加熱して溶かした後、精製水を加えて200gとする。

### <分解操作>

試料 (0.5g)	マイクロウェーブ分解条件
←硝酸 5ml	プログラム 1
←過酸化水素 2ml	250W 1分
マイクロウェーブ分解 (23分)	0W 2分
プログラム 1	250W 5分
冷却 (水中で20分)	400W 5分
硝酸 2ml	600W 5分
過酸化水素 1ml	VENT 5分
マイクロウェーブ分解 (25分)	プログラム 2
プログラム 2	250W 5分
冷却 (水中で20分)	400W 5分
蒸発乾固 (テフロン容器中)	550W 5分
←0.05M硝酸 15ml	700W 5分
加熱溶解 60分	VENT 5分
←0.05M硝酸	
定容 (20g)	
試験溶液	

### <抽出操作>

試験溶液	分取	Al (0.02~0.10 $\mu\text{g}$ )
		石英試験管 (15ml)
		←0.05M硝酸 全容 5mlまで
		←8-キノリノール溶液 200 $\mu\text{l}$
		←BTB溶液 40 $\mu\text{l}$
pH調整		←1Mアンモニア水
		pH約7
		←5M酢酸アンモニウム 0.5ml
振り混ぜ		軽く
		←MIBK 2ml
振り混ぜ		試験管振とう器
		激しく5分
静置分離		
MIBK層		
測定溶液		
黒鉛炉 (フレイムレス) 原子吸光		

図1 アルミニウム分析法フローシート

#### 2-4 5M酢酸アンモニウム溶液

酢酸アンモニウム {Merck (Suprapur)} 38.5gをテフロン瓶に秤取り、精製水に溶かして100gとする。テフロン瓶に保管する。

#### 2-5 BTB指示薬

ブロムチモールブルー0.008gをポリプロピレンの試験管に秤取り、1Mアンモニア0.0128mlを加えて精製水を加えて溶解後20gにした

## 2-6 20%塩化ナトリウム溶液

塩化ナトリウム（和光純薬 残留農薬用）20gを精製水に溶かして100mlとする。アルミニウムを除去するため、この溶液を分液漏斗に入れ、8-キノリノールクロロホルム溶液（8-キノリノール2gをクロロホルム100mlに溶かす）5mlを加え、激しく振り混ぜた後放置し、クロロホルム層を捨てる。この操作を、クロロホルム層が着色しなくなるまで繰り返す。次に水層にクロロホルム5mlを加え激しく振り混ぜた後放置し、クロロホルム層を捨てる。この操作を、水層に黄色が認められなくなるまで繰り返す。

## 2-7 0.05M硝酸

超高純度硝酸をテフロン瓶で希釈する。

## 2-8 その他試薬

洗浄用硝酸（和光純薬 原子吸光分析用）、高純度硝酸 [Merck (Suprapur)]、アンモニア水 [Merck (Suprapur)]、酢酸ブチル及び4-メチル-2-ペンタン（和光純薬 原子吸光分析用）、3メチル-1-ブタノール [関東化学 特級] その他は特級試薬を使用した。なお実験に用いた精製水は、蒸留水後、脱イオンしたもので、GFAASによってAlは検出されなかった。

## 3. 装置

### 3-1 機器

マイクロウェーブ分解システムは日本ゼネラル(株)MILESTONE MLS-1200MEGA (MDS-1000/6 高压分解ローラー、100mlTFM分解容器、MCR-6E濃縮ローラー)を使用した。

原子吸光分光光度計は島津製作所AA-6700F (GFA-6500)を使用した。

### 3-2 容器

容器からのアルミニウム汚染防止のため、TPX試験管、テフロン瓶、テフロン分液ロート、TFMテフロン分解瓶、石英試験管を使用した。マイクロピペット及びチップはFimnpipette Ky製を使用した。

## 3-3 器具の洗浄

使用する器具は全て20%硝酸（原子吸光分析用）溶液に1昼夜以上浸したものを、使用前に精製水で良く洗浄して用いた。さらにTFM分解容器は20%硝酸洗浄後、高純度硝酸1ml蒸留水15mlを加えてマイクロウェーブで加熱後、精製水で良く洗浄した。TPX試験管及び石英試験管は20%硝酸洗浄後、0.05M硝酸（超高純度）を満たしておき、使用前に精製水で良く洗浄した。

## 4. 分析操作

### 4-1 分解

乾燥試料0.5gを100mlTFM分解容器に量り取り、超高純度硝酸5ml及び超高純度過酸化水素2mlを加える。マイクロウェーブ分解システムを使用して、プログラム1の条件で分解する。冷却後、さらに超高純度硝酸2ml及び超高純度過酸化水素1mlを加えてプログラム2の条件で分解する。同システムで酸をマイクロウェーブ濃縮乾固した後、0.05M硝酸15mlを加えてTFM分解容器の蓋乗せて、125℃のホットプレート上で約1時間溶出する。冷後、TPX試験管に移しさらに0.05M硝酸で洗いこみ、重量法で20gとして試験溶液とする。

### 4-2 抽出操作

15mlの石英試験管に試験溶液5mlと8-キノリノール溶液（1%w/w）0.2mlとBTB指示薬40μlを加える。1Mアンモニア水を300μlを加え、さらに緑色になるまで滴加して中和し、5M酢酸アンモニウム溶液0.5mlを加える（pH6.7）。次にMIBK（4-メチル-2-ペンタン）2mlを加えて、試験管振とう器で5分間振り混ぜる。分離後上層MIBK相を検液として、容器の移し変えずにそのまま黒鉛炉原子吸光光度計に手動注入して吸光度を測定する。

### 4-3 測定条件

黒鉛炉原子吸光光度計の測定条件を表1に示す。

表1 黒鉛炉原子吸光光度計の測定条件

	温度 (%)	時間 (sec)	加熱モード	感度	ガス種類	インナーガス流量	サンプリング	前ステージ (sec)
1	120	30	Ramp	Regular	Gas #1	1.00	Off	0
2	250	10	Ramp	Regular	Gas #1	1.00	Off	0
3	600	30	Step	Regular	Gas #1	1.00	Off	0
4	600	5	Step	Regular	Gas #1	0.00	Off	0
5	2600	3	Step	Regular	Gas #1	0.00	On	2
6	2700	2	Step	Regular	Gas #1	1.00	Off	0
7	0	40	Step	Regular	Gas #1	1.00	Off	0

### Ⅲ 結果及び考察

#### 1. 検量線

アルミニウム標準液 (0.1 μg Al/ml) 0.1-1.0mlを石英試験管に段階的にとり、0.05M硝酸を加えて液量5mlとして、以下4-2の抽出操作を行ってアルミニウムの量と吸光度との関係を作成する。検量線を図2に示す。相関係数は0.997であった。

#### 2. 8-キノリノール錯体抽出時の溶媒及びpHの影響

酢酸及びアンモニア水でpHを調整した0.5M酢酸アンモニウム溶液5mlに0.2 μg/mlアルミニウム溶液を0.4ml添加して、8キノリノール溶液を0.2ml加えて、3種類の溶媒—酢酸ブチル、4-メチル-2-ペンタノン(MIBK)、3-メチルブタノール—で抽出操作を行った。抽出後の水層のpHとアルミニウム抽出溶媒の原子吸光度を測定し3図に示す。

吸光度は3-メチルブタノールが最も良く、次に4-メチル-2-ペンタノン(MIBK)、酢酸ブチルの順であった。pHの影響ではpH5.8~8.1ではほぼ一定であったがpH5.0では酢酸ブチル及び4-メチル-2-ペンタノン(MIBK)ではアルミニウム錯体を抽出できなかった。

抽出溶媒は3-メチルブタノールが最良であったが、不快臭があるため、4-メチル-2-ペンタノン(MIBK)を使用し、抽出時のpHは0.5M酢酸アンモニウムのpH6.7とした。

#### 3. 低濃度添加回収結果による検出限界の推定

アルミニウムを含まない食品を入手できないため、精製水0.5gに検出限界程度のアルミニウム0.1 μgを添加して、繰り返して回収試験を行い、分析値の変動から、標準偏差の3倍を本試験法の検出限界とした。表2に示すとおり、検出限界は0.09 μg/gであった。また、回収率は115%で、標準偏差0.030 μg/g、変動係数13.3%であった。

#### 4. 空試験値

日時を変えて繰り返し5回行った空試験値の変動を表3に示す。分解溶液全体(20ml)に平均0.045 μg含まれ、最高0.068 μg最低0.021 μg、標準偏差0.018 μgであった。この汚染量は検出限界に相当する量であった。

ここで使用した分解試薬は超高純度試薬でいずれもアルミニウムの含有量がAl<0.00002 μg/mlである。使用した硝酸全量7ml及び過酸化水素3mlからのアルミニウム汚染は0.0002 μg以下で無視できる。この汚染量

表2 低濃度添加回収結果による検出限界の算定

項目	結果
試料	精製水
試料量 (g)	0.500
Al添加量 (μg)	0.100
測定回数	5
平均値 (μg/g)	0.229
標準偏差	0.030
変動係数 (%)	13.3
回収率 (%)	114.5
検出限界値 (μg/g)	0.090

表3 空試験値

項目	n	アルミニウム	
		試料当り (μg/g)	容器当り (μg)
測定値	1	0.094	0.047
	2	0.041	0.021
	3	0.072	0.036
	4	0.136	0.068
	5	0.105	0.053
平均値		0.090	0.045
標準偏差		0.036	0.018
変動係数 (%)		39.8	39.8

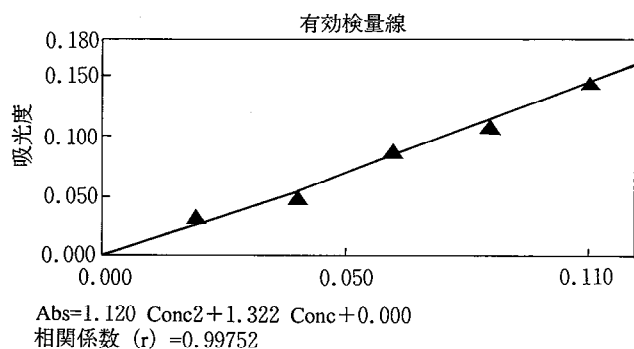


図2 アルミニウム検量線

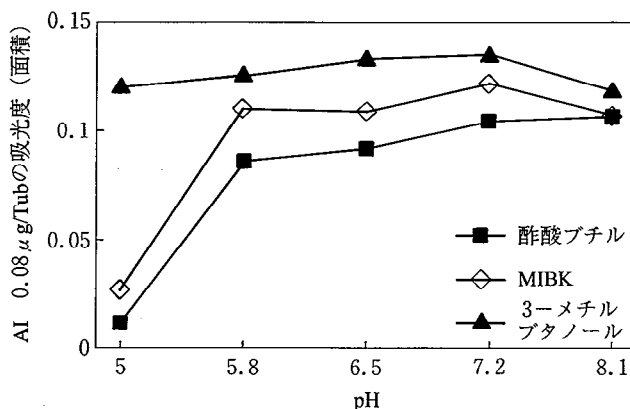


図3 8-キノリノール錯体の抽出溶媒及びpHの影響

表4 添加回収結果

試料	試料 (g)	添加量Al ( $\mu\text{g}$ )	20%NaCl (ml)	測定回数	平均値 ( $\mu\text{g/g}$ )	標準偏差 ( $\mu\text{g/g}$ )	変動係数 (%)	回収率 (%)
精製水	0.5	0.10	0	5	0.229	0.030	13.3	114.5
小麦粉	0.5	0.00	0	5	0.394	0.048	12.1	—
小麦粉	0.5	0.20	0	5	0.771	0.034	4.4	94.1
小麦粉	0.5	0.20	0.5	5	0.743	0.060	8.0	87.2

表5 食品標準試料の分析結果

試料	測定回数	平均値 ( $\mu\text{g/g}$ )	標準偏差 ( $\mu\text{g/g}$ )	変動係数 (%)	保証値・参考値 に対する割合 (%)	保証値 (参考値) ( $\mu\text{g/g}$ )
Rice Flour NIST 1568a	5	4.46	0.44	9.8	101.4	4.4 $\pm$ 1.0
Oyster Tissue NIST 1566a	5	167	8	4.8	82.6	202.5 $\pm$ 12.5
TEA LEAVES NIES No.7	5	708	41	5.8	91.4	775 $\pm$ 20
SARGASSO NIES No.9	5	205	10	5.1	95.5	(215)

(空試験値平均0.045 $\mu\text{g}$ )は規制性がない実験操作中の容器等からの汚染と考えられる。

検出限界を下げるためには、容器の洗浄方法等実験操作を再検討する必要がある。

#### 5. 添加回収結果

小麦粉に既知量のアルミニウム及び妨害物質の塩化ナトリウムを添加しその回収率を調べ4表に示す。0.4 $\mu\text{g/g}$ のアルミニウムを添加した小麦粉の回収率は94.1%、変動係数4.4%であった。0.4 $\mu\text{g/g}$ のアルミニウム及び20%塩化ナトリウムを添加した小麦粉の回収率は94.1%、変動係数8.0%であった。小麦粉のアルミニウム測定値は平均0.39 $\mu\text{g/g}$ で変動係数12.1%であった

#### 6. 標準試料の分析結果

食品標準試料を本法に従って測定した結果を表6に示す。アルミニウム測定値は保証値又は参考値と比較して、米粉 (Rice Flour) 101.4%、ホンダワラ (Sargasso) 95.5%、茶葉 (Tea Leaves) 91.4%、カキ (Oyster Tissue) 82.6%であった。変動係数は4.8~9.8%であった。

カキ及び茶葉のアルミニウム測定値は保証値よりやや低かったが、これはフッ化水素酸を用いた完全分解でないため、ケイ酸物質等の影響と思われる。

## IV まとめ

食品をマイクロウェーブで加熱分解して、アルミニウムを8-キノリノール錯体としてMIBK抽出し、黒鉛炉原子吸光法で定量する方法を検討した。

- 1) 本試験法の検出限界は0.09 $\mu\text{g/g}$ であった。
- 2) 空試験値の変動は分解溶液全体 (20ml) に平均0.045 $\mu\text{g}$ 含まれ、最高0.068 $\mu\text{g}$ 最低0.021 $\mu\text{g}$ 、標準偏差0.018 $\mu\text{g}$ であった。この汚染量は検出限界に相当する量であった。検出限界を下げるためには、容器の洗浄方法等実験操作中のアルミニウム汚染防止対策を再検討する必要がある。
- 3) 食品標準試料を本法に従って測定した結果、アルミニウム測定値は保証値又は参考値と比較して、米粉101.4%、ホンダワラ95.5%、茶葉91.4%、カキ82.6%であった。変動係数は4.8~9.8%であった。

#### 文 献

- 1) 岩佐, 松原, 中川: 分析化学, 36, T115 (1987)
- 2) 山垣, 吉井, 近藤: 分析化学, 46, 75 (1997)
- 3) 日本規格協会: JIS K 0102 (1993), p233