

研究報告

食事試料の硝酸分解法の改良に関する報告

Nitric Acid Digestion Method Improvements for ICP-MS Analysis of Diet Samples

千葉啓子*¹, 猿渡英之*², 中塚晴夫*³, 渡辺孝男*⁴

Keiko CHIBA, Hideyuki SAWATARI, Haruo NAKATSUKA and Takao WATANABE

Keywords: digestion method, nitric acid, diet sample,

1. はじめに

我々は地域住民を対象に食事調査を行い、栄養摂取状況や有用・有害両面から環境由来の元素摂取の実態を把握し、地域や職業特性にあった食生活改善のアドバイス等を通じて地域住民の健康増進のサポートを行なっている。食事調査には陰膳実測法を用い、現物回収した食事試料から元素類を分析している^{1,2)}。元素分析には多元素を同時に測定できる誘導結合プラズマ質量分析法 (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry: ICP-MS) を用いており、食事内容を湿式分解(湿式灰化ともいう)による前処理を行ない、溶液として測定に供している。

今回は効率のかつ精度の高い湿式分解法について検討したので報告する。

2. 元素分析の前処理方法について

2-1 食事試料の準備

回収した1日分の食事は、食事票の記録に基づいて食品毎に分別・秤量した後、朝・昼・夕・間食毎にそれぞれ少量の精製水とともにミキサーにかけて均一にし、保存容器に移し、分析用検体とした。-30℃で凍結保存しておき、分析前に解凍して、市販のブレンダー(ブラウン マルチクイック プロフェッショナル MR 5555 M CA) で60~90秒間再度攪拌し、試料を十分均一な状態にしてから採取した。

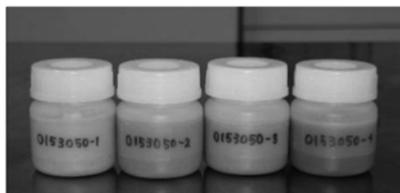


図1 1日の食事試料(1人分)
(左から朝食, 昼食, 夕食, 間食)

2-2 湿式分解法

固体試料の溶液化で、有機物の分解には湿式分解(湿式灰化ともいう)と乾式分解とがあり、食品、あるいは食事試料中の元素類を分析する場合は、酸を用いた湿式分解を行なうこ

とが多い。米、ポテト、魚肉³⁾、肉類⁴⁾などを湿式分解した報告例が多数みられる。分解に使用する酸は複数の種類を組み合わせる用いることが多く、今回は硝酸と過塩素酸を組み合わせ使用した。硝酸や硫酸は沸点が200℃以下であるため、ホットプレートの加熱がこの温度内であれば、金属が揮散せず、安定した測定値が得られると考える。これらの酸は不純物の含有を極力排除した超高純度の試薬を用い、容器・ピペット等はすべて希硝酸で洗浄し、金属フリーにしたものを使用して、出来る限り汚染を防いだ。また、試料調製にはメルクミリポア株式会社製 Milli-Q Advantage で製造した超純水を用いた。

以下に今回の食事試料の前処理操作の手順を示す。

- 1) ブレンダーで均一にした食事試料6gをテフロン試験管に採取する。
- 2) 硫酸(98%, 多摩化学 TAMAPURE-AA)を100μl加え、さらに硝酸(68%, 多摩化学 TAMAPURE-AA)を3ml加えたのち1晩静置する。硫酸はそれ自体では有機物の分解能は高くないが、硝酸と併用することで有機物の多い食事試料を分解するのに効果的に働く。また、1晩静置しておくことで酸を食事試料に十分馴染ませることができる。
- 3) 50~55℃にセットしたホットプレート(Barnstead International, Model No. HP72934)にアルミニウム製ヒートブロック(295×295×80mm)を載せ、これを用いて試験管を加熱し、試料を分解した。ヒートブロックには試験管を立てる49個の穴をあけ、ブロック全体にフッ素樹脂コーティングを施した。低温(50~55℃)での予備分解を2時間程度行なった後、使用している68%硝酸の沸点である120~121℃まで徐々に上げていく。一気に高温にせず、低温で予備分解を行なうことによって突沸を減らすことができる。次第に茶褐色~白色の酸性ガスが発生するようになるのでホットプレートは必ずドラフト内に設置して操作し、実験中はメガネ、マスク他保護具の装着を習慣づけておくことが重要である。
- 4) 約2時間後に硝酸を3ml加え、以後、試験管内の食事試料の分解状況を確認し、突沸しないよう注意しながら3~4回に分けて硝酸を3mlずつ加える。加える硝酸

*1 生活科学科食物栄養学専攻、*2 宮城教育大学教育学部、*3 宮城大学看護学部、*4 東北文教大学人間科学部

の総量は 12 ml を目安とする。酸を加えた後はボルテックスマキサーで十分攪拌してからホットプレートに戻す。加える酸の量が少なすぎると分解が進行しないし、溶液全体が黒ずんでくるので注意する。

5) 分解が進むと溶液が透明になっていき、さらに水分の蒸発も進む。ほぼ 24 時間で 5 ml 位まで液量が減少したところで、前もって硝酸：過塩素酸（70%，多摩化学 TAMAPURE-AA）を 3：1 の割合で混合させておいた硝酸を試験管に 5 ml 加える。過塩素酸は強い分解能を有するが、有機物と激しく反応するので、硝酸で十分分解が進んだ時点で加えることが望ましい。

6) 溶液が完全に透明になり、白煙の発生もなく、3～4 ml 位まで液量が減少したらホットプレートでの操作は終了となる。

7) 移し替えの試験管を用意し、分解後の溶液を移す。分解に用いたテフロン試験管は超純水ですすいで全量を移し、12 ml にメスアップして前処理はすべて終了となる。

ホットプレートを用いた湿式分解で問題となる点は二つある。一つ目は加温した際にホットプレート上のヒートブロックに温度ムラが生じる点である。ホットプレートによる分解は他の湿式分解方法に比較して長時間の操作が必要とされるが、加えて空試験（実験に使用している超純水 6 ml を入れた試験管）では液量の減少が遅く、3～4 ml に減るまでに食事試料より時間が掛かる。この行程では、プレート全体をできるだけ均一に加温し、49 本の試験管がほぼ同じペースで分解が進むことが望ましい。また、本実験で使用しているテフロン試験管は長さが 18 cm に作られていて上部 2/3 近くがヒートブロックから出た状態になる。挿し込まれた試験管の底部の温度は設定した 130～135℃に容易に到達し、試料の酸分解が進行するが、ヒートブロックの上部は長時間掛けても設定温度まで達することが難しく、試験管全体での分解効率がかかなり低いため、試験管上部を含めた均一な加温効果が求められ、改良策が必要とされた。

二つ目の問題点はホットプレートを用いた分解過程で発生する酸性ガス除去対策である。ユニシール分解法やマイクロ波分解法のような他の湿式分解法では分解容器が密閉系であるが、本法は開放系であり、わずかでも酸性ガスが発生する場合は実験者への影響だけでなく、ドラフトから漏れた酸性ガスによる実験室内の機器や備品の腐食などに関する安全性、さらにドラフトの局所換気で屋外に酸性ガスが排出された場合の外部環境への影響も懸念されることから、酸性ガスの回収と処理も重要な課題とされた。

3. 検討課題の対処

3-1 ヒートブロックの温度上昇ムラの解消

ヒートブロックの温度上昇ムラを最小限に抑える手段を検討した。まずヒートブロックの周囲を覆って熱を逃げ難くするカバーの取り付けを試みた。ホットプレートを 130～135℃まで加温するため、その温度上昇に耐える材質として試験管と同じ材質のテフロン製のシートを準備し、試験管の口から 1 cm ほど下の高さまでヒートブロックの周囲に巻き、熱が逃げるのを防ぐ方法をとった。ヒートブロックの周囲に 4 重にテフロンシートを巻き、テフロン製の紐で固定し、フェンス状にして温度変化を観察したが、試験管上部の温度上昇はわずかで、期待した効果は得られなかった。次に不燃加工した厚みのあるボードで同じ様に囲いをつけてみたが結果は同じで、これまでの試作検討から、上部を塞がない限りヒートブロック表面からの熱の逃げを防ぐことは難しく箱型のカバーを作製してブロック上にかぶせる方法が最も効果的であると判断された。そこで上面に試験管の先端が 1 cm くらい出るように円形の 49 個の穴を開けた酸分解器用保温カバー（材質：石膏ボード、寸法：300×300×150 mm、成瀬器械製）を作成してヒートブロックに被せる形で取り付けた（図 2）。発生する酸性ガスによるボックスカバーおよびビス止め部分の腐食などを考え、カバー全体に防腐ペイントを塗布した（図 2 の箱本体および角の金具部分）。この状態で温度変化や試験管内の分解反応の進み具合を観察した。カバーに覆われたことで熱が逃げ難くなって温度が速やかに上昇し、試験管の先端近くの高さでも設定温度付近まで到達して温度ムラが解消し、試料の分解反応の促進が認められた。個々の食事内容（組成）の違いにより分解時間に差が出るのは避けられないが、この改良により 1 回の前処理に掛かる時間はおよそ 1.5 日と良好な結果を得ることができた。



図 2 保温カバーを取り付けた状態

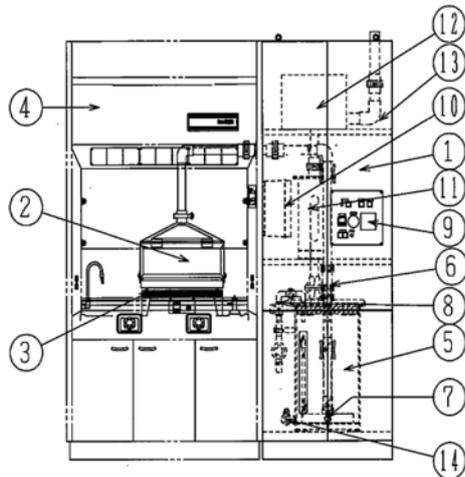
3-2 硝酸ガス除去対策

二つ目の検討課題に関しては、既存のドラフトで稼働している排気システムを含めた大規模な改修が必要と判

断されたことから、ドラフト改修工事に加え、あらたに酸性ガス回収装置を実験室内に設置した。

3-2-1 原理と装置の概要

図3、4にドラフト及び新規設置の白煙除去装置（株式会社ダルトン、東京）の図面を示した。



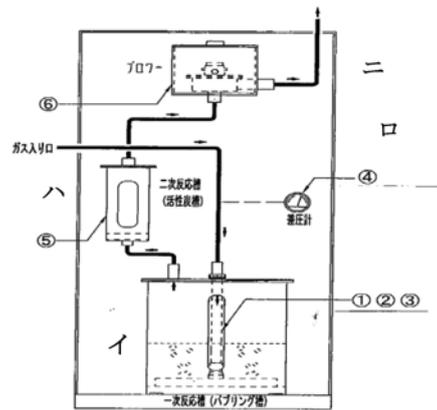
各部名称：

- | | |
|----------------|---------|
| ①酸性ガス白煙除去装置本体 | ⑧給水用バルブ |
| ②専用小型フード | ⑨操作パネル |
| ③ホットプレート | ⑩配電ボックス |
| ④ドラフトチャンバー等 | ⑪二次反応槽 |
| ⑤一次反応槽（バブリング槽） | ⑫ブローワー |
| ⑥薬液投入口 | ⑬排気管 |
| ⑦サンプリングコック | ⑭排水バルブ |

図3 ドラフト内及び連結した白煙除去装置の全体図と各部の名称

この装置の目的は、ドラフト内に設置した専用小型フード（図3②、図5）で発生した酸性ガスおよび白煙（ミスト）を除去することである。発生したガスを専用小型フードで囲う事によって処理対象ガスの風量を押さえて効率の高いガス処理を可能にする。処理されたガスはドラフト内の排気系統に戻され排気される（図3⑬）。専用フードの前面は折りたたみ式の扉になっていて、締め切った時にフード内で発生した酸性ガスを完全に閉じ込められるよう設計されている。フード上部の配管を通じて隣の白煙除去装置本体へガスが速やかに取り込まれ、処理するために一次反応槽（図3⑤）に送られる。一次反応槽には給水用バルブ（図3⑧）から水道水を供給し、必要に応じて薬液投入口（図3⑥）からアルカリ性の薬液を加える。この時、ブローワー（図3⑫）の運転により、槽内が高い減圧状態になっており、酸性ガスがバブリングされて溶けていく仕組みで、このフローどおり

に進めば分解反応中に発生した酸性ガスは外部に漏れることなく、一次反応槽に回収されることになる。



日常点検部位と点検項目：

イ. 一次反応槽点検窓

- ①薬液水位(上限, 下限の範囲内)
- ②薬液 pH 値 (pH12 以上が望ましい)
- ③バブリング状態 (発泡量の確認および薬液交換)

ロ. 差圧計

- ④圧力計 (運転風量の調整)

ハ. 二次反応槽

- ⑤活性炭 (湿り気が顕著であれば乾燥・交換)

ニ. ブローワー

- ⑥送風機 (異常な音や振動の有無を確認)

図4 白煙除去装置(図3の装置の右半分)と各部の名称



図5 専用小型フードに収納されたホットプレートとヒートブロックおよび上部に設置した箱型カバー

3-2-2 運転前の準備作業

1) 一次反応槽の点検

一次反応槽内に酸性ガスが入ってくると槽内の pH が強酸性に傾くので、装置の稼動前にサンプリングコック（図3⑦）を開いて少量の槽内薬液を採取し、pH がアルカリ性を示しているか確認する。安定した装置性能が発揮できる薬液 pH の目安値は 12 以上であるので、この

pH 値を保持できるよう、あらかじめ 1 mol/l NaOH 溶液を用意し、適宜、薬液投入口(図3 ⑥)から投入しておく。

次に反応槽内でバブリングするのに十分な水量が確保できているかを水位で確認しておく。水位が低過ぎるとバブリングが不十分となる。

pH が低いなど、薬液の劣化が進むと反応槽内の発泡量が増え、酸性ガスとの反応性が低くなるので、反応槽の薬液は長期間使用せず、定期的に全量を排水し、新しい薬液の交換を行なう。酸性ガスの回収に重要な箇所であり、点検・管理をこまめに実施する必要があることが確認された。

2) 二次反応槽の点検

酸性ガスの回収は殆どが一次反応槽で行なわれるが、回収し切れなかった場合、二次反応槽(図3 ⑪, 図4 ⑤)内の活性炭により酸性ガスを吸着する二次的な処理が行なわれる。活性炭の湿りが顕著であると風量が低下するので、活性炭の状態を二次反応槽の点検窓から確認し、場合によっては乾燥や交換を行なう。

3-2-3 装置の運転

- 1) 電源を投入し、ついでブLOWER運転スイッチを作動させ、風量調整を行なう(図3 ⑩)。
- 2) 小型フード前面の扉を開き、ホットプレート(図3 ③)に載せたヒートブロックに試料と酸の入ったテフロン試験管をセットする。セット後、扉を閉め、下部側面のキャッチクリップで前面扉を固定する。
- 3) ホットプレート電源を入れ、50~55℃にセットして加熱を開始する。その後は試料の分解の程度により、段階的に目的温度の130~135℃まで加温していく。
- 4) しばらくすると加熱された食事試料から酸性ガスが発生する。糖質の含有が多いと茶褐色の煙の場合もある。白煙がまっすぐ上に立ち昇ってフード上部の配管に吸い込まれていけば周囲への漏れがなく、良好に作動していることが視覚的にも確認できる。白煙が揺らいで試験管の周囲に拡散するようであれば、吸引力が余り強くない証拠なので風量調整ツマミを操作して排気風量を上げる。
- 5) 試験管内の溶液が透明になり、3~4mlに減量され、白煙が完全に発生しなくなれば作業終了であるので、試験管を取り出し、ブLOWERの停止スイッチ、装置の主電源の順に操作し、装置を停止させる。

4. まとめ

陰膳実測法により採取した食事試料から、元素類を分析するために、湿式分解による前処理を行なっている。今回、ホットプレートを用いた前処理過程で明らかになった課題を解決し、効率的かつ精度の高い湿式分解法の確立を目的として、以下の2点について改良を加えた。

- 1) ヒートブロックの温度上昇ムラの解消

箱型の保温カバーを作製してヒートブロック上面にかぶせる方法で、試験管内での酸分解が効率よく進行し、分解時間の短縮が可能となった。

2) 硝酸ガス除去装置の設置による安全性の確保

ドラフトおよび新規に設置した白煙除去装置を稼働させることにより、専用小型フード内での酸分解によって発生した酸性ガスの中和および白煙(ミスト)の除去・無害化がスムーズに行なわれ、安全性を十分確保した実験の実施が可能となった。

本研究は平成26年度文部科学省科学研究補助事業より助成金を受けて実施されたものです。

参考文献

- 1) 千葉啓子, 猿渡英之, 立身政信, 中塚晴夫, 渡邊孝男: 農業従事者のミネラル摂取状況(その1) マンガン摂取量について, 岩手県立大学盛岡短期大学部研究論集, 18, 29-34, 2016
- 2) 千葉啓子, 立身政信, 猿渡英之, 中塚晴夫, 渡邊孝男: 農業従事者におけるヨウ素摂取量についての検討, 岩手県立大学盛岡短期大学部研究論集, 15, 29-32, 2013
- 3) J.W. Jones, K.W. Boyer: Applications of Inductively Coupled Plasmas to Emission Spectroscopy (ed. R.M. Barnes), pp.83-104, Franklin Institute Press, Philadelphia, 1977
- 4) P. Schramel: Spectrochim. Acta. 38B, 199, 1983